

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA RANDOM PATERNLİ DORSAL DERİ
FLEPLERİNDE BOTULİNUM TOKSİN A’NIN CERRAHİ
GECİKTİRME ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aysel DOĞAN
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hıdır KILINÇ

MALATYA 2011

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA RANDOM PATERNLİ DORSAL DERİ
FLEPLERİNDE BOTULİNUM TOKSİN A’NIN CERRAHİ
GECİKTİRME ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aysel DOĞAN
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hıdır KILINÇ

MALATYA 2011

**Bu tez İnönü Üniversitesi Rektörlüğü tarafından 2009/56 proje numarası ile
desteklenmiştir.**

TEŐEKKÜR

Çalışma hayatımdaki ve eğitim sürecimdeki katkılarından dolayı Anabilim Dalı başkanımız Doç.Dr. Bilge Türk Bilen ve sevgili hocamız Doç.Dr. Hıdır Kılınç'a teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin oluőturulmasındaki katkılarından dolayı Biyokimya AD Öğretim Üyesi Doç.Dr. Elif Özerol'e, Patoloji AD Öğretim Üyesi Doç.Dr. Neőe Karadağ'a, Radyoloji AD Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Metin Doğan'a, istatistik hesaplamalarında Prof.Dr. Saim Yoloğlu'na ve İstatistik uzmanı Nazire Bulam'a, canlı alan oranlarının hesaplamalarını yapan İnönü Üniversitesi Yapı İőleri ve Teknik Daire Başkanlığı'nda görev yapan İnőaat Mühendisi Kemal Özkan'a teőekkürü bir borç bilirim.

Tüm özel ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyip bugünlere gelmemde katkıları olan tüm aile fertlerime minnetimi ayrıca belirtmek isterim.

Dr Aysel DOğAN

7. ÖZET

GİRİŞ: Günümüzde Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uygulamalarında flepler vücutta çeşitli nedenler ile oluşmuş geniş doku defektlerinin onarımında çok yaygın olarak kullanılmakta olup kısmi yada total flep kaybı sıklıkla karşılaşılabilecek problemlerden birisidir. Fleplerde distal nekroz gelişimini engellemek için deneysel ve klinik açıdan çeşitli ilaçlar ve yöntemler denenmiştir. Bunların içerisinde nekrozu engellemede bilinen en etkili kabul edilir yöntemlerden birisi flepte cerrahi geciktirme (delay) işlemidir. Bu işlemde operasyon öncesi ek bir cerrahi girişim gerekmesi nedeni ile son zamanlarda flep geciktirmesinin kimyasal ajanlar ile yapılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun için çeşitli kimyasal ajanlar denenmiştir, fakat herhangi bir ajanın kesin etkili olduğu konusunda bir fikir birliği yoktur. Bu çalışmamızda kimyasal geciktirme ajanı olarak botulinum toksin A kullanımının random paternli deri flebi üzerinde etkisinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Bu çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 36 adet erkek Wistar Albino cinsi ratlar kullanıldı. Her grupta 12 adet rat olacak şekilde 3 grup oluşturuldu. Grup 1'deki (Kontrol Grubu) ratların sırtından kaldırılan kaudal bazlı 3x9 cm boyutlarında random paternli deri flebine yalnız cerrahi geciktirme işlemi uygulandı. Grup 2'deki ratlara cerrahi geciktirme işleminin 1 hafta öncesinden planlanan kaudal bazlı flebin alanında standart altı noktaya çizim yapılarak BTx A intradermal olarak uygulandı. Grup 3'deki ratlara kaudal bazlı planlanan flep alanına standart altı noktadan BTx A intradermal olarak uygulandığı seansda cerrahi geciktirme işlemi gerçekleştirildi. Her gruptan 4 adet rata baryum sülfat ile anjiyografi yapıldı. Tüm ratlar deney bitiminde sakrifiye edildi. Fleplerdeki canlı ve cansız alanlar Auto-CAD 2009 programı kullanılarak hesaplandı ve yaşayabilirlik oranları yüzdelik cinsinden belirtildi. Ratlardan histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için doku örnekleri alındı. Histopatolojik olarak inflamasyon ve iyileşme derecesi, biyokimyasal olarak da dokuda Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini, Nitrik oksit (NO) ve Malondialdehid (MDA) miktarlarının düzeyleri araştırıldı.

BULGULAR: Deney sonunda fleplerin yaşayabilirlik oranları ortalama olarak Grup 1'de %71,76, grup 2'de %58,83 ve grup 3'de %85,27 hesaplandı. Ortalama SOD, MDA, NO düzeyleri grup 1'de sırası ile 1,53 U/mg protein, 30,23 nmol/g yaş doku, 0,30 µmol/g yaş doku, grup 2'de sırası ile 1,30 U/mg protein, 82,21 nmol/g yaş doku, 0,50 µmol/g yaş doku, grup 3'de 1,23 U/mg protein, 42,71 nmol/g yaş doku, 0,60

$\mu\text{mol/g}$ yaş doku olarak saptandı. Flep yaşayabilirlik oranları grup 3'de Grup 1 ve Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$); grup 2'nin grup 1'e göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farkı yoktu ($p > 0.05$). Anjiyografik görüntülerde grup 3'de diğer gruplara göre damar sayısında ve damarlar arası anastomozlarda artış görüldü. Biyokimyasal parametrelerde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu. Histopatolojik değerlendirmede ise BTx A uygulanan gruplarda inflamasyon artmış ve fleplerin yara iyileşmesi kötü olup bu bulgular grup 3'de en fazla olarak görüldü.

SONUÇ: Bu çalışmada botulinum toksininin cerrahi geciktirme ile aynı seansda yapılmasının, 1 hafta önceden yapılmasına ve tek başına cerrahi geciktirme uygulanmasına göre flep yaşayabilirlik oranlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdığı görüldü. Flep sağkalımındaki artışa cerrahi ile birlikte aynı seansda yapılan botulinum toksini uygulamasının katkısı, uygulamanın kolaylığı, ek cerrahi işlem gerektirmemesi, tek uygulamanın yeterli olması, özel teknik ve cihaz gerektirmemesi ayrıca vücutta çoğu bölgeye uygulanabilmesi nedenleri ile rekonstrüktif cerrahide klinik uygulama alanı bulabileceğini düşünmekteyiz. Fakat botulinum toksininin damarlar üzerinde yaptığı değişikliğin mekanizmasının tam anlaşılması amacıyla ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLolar DİZİNİ.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Deri Flepleri.....	4
2.1.1. Tarihçe.....	4
2.1.2. Flep Sınıflaması.....	6
2.1.2.1. Kanlanmasına Göre Deri Fleplerinin Sınıflaması.....	7
2.1.2.2. Mobilizasyonuna Göre Deri Fleplerinin Sınıflaması.....	8
2.1.2.3. İçeriğine Göre Deri Fleplerinin Sınıflaması.....	9
2.2. Flep Fizyolojisi.....	10
2.2.1. Derinin Kanlanması.....	10
2.2.2. Deri Kan Akımının Regülasyonu.....	15
2.2.3. Flep Kaldırılma İşlemi Sonrası Gelişen Değişiklikler.....	16
2.3. Geciktirme Yöntemi.....	17
2.3.1. Erken Teoriler.....	19
2.3.2. Sempatektomi-Vazodilatasyon Hipotezi.....	19
2.3.3. Hiperadrenerjik Durum Teorisi.....	20
2.3.4. Flep İçinde A-V Şant Hipotezi.....	20
2.3.5. Neovaskülarizasyon Hipotezi.....	21
2.3.6. Birleştirici Teori.....	24
2.4. Flep Kayıp Nedenleri ve Kaybı Azaltmak İçin Kullanılan Ajanlar.....	25
2.5. Pedikül Ayırma Zamanı.....	27
2.6. Botulinum Toksin A.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	38
3.1. Deney Protokolü.....	38
3.1.1. Operatif Teknik.....	38
3.1.2. Çalışma Yöntemi.....	39
3.1.2.1. Anjiyografik Yöntem.....	41

3.1.2.2. Flep Yaşayabilirlik Oranlarının Değerlendirme Yöntemi.....	42
3.1.2.3. Histopatolojik Değerlendirme Yöntemi.....	43
3.1.2.4. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemi.....	43
3.1.2.4.1. SOD Enzim Aktivite Tayini.....	44
3.1.2.4.2. NO Miktarının Tayini.....	45
3.1.2.4.3. MDA Miktarının Tayini.....	46
3.1.2.4.4. Doku homojenat, süpernatant ve ekstraktlarında protein tayini.....	47
3.1.2.5. İstatistiksel Değerlendirme Yöntemi.....	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. Fleplerin Yaşayabilirlik Oranlarının Sonuçları.....	49
4.2. Flep Makroskopik Görünümü.....	51
4.3. Anjiyografik Sonuçlar.....	51
4.4. Histopatolojik Sonuçlar.....	52
4.5. Biyokimyasal Sonuçlar.....	54
4.5.1. SOD Sonuçları.....	54
4.5.2. MDA Sonuçları.....	54
4.5.3. NO Sonuçları.....	54
4.6. İstatistik Sonuçları.....	55
4.6.1. Fleplerin Yaşayabilirlik Oranları.....	55
4.6.2. SOD Düzeyleri.....	56
4.6.3. MDA Düzeyleri.....	57
4.6.4. NO Düzeyleri.....	58
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ.....	71
7. ÖZET.....	72
8.SUMMARY.....	74
9. KAYNAKLAR.....	76

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1. Her üç gruptaki yaşayabilirlik oranlarının yüzdelik cinsinden hesaplanarak elde edilen sonuçları.

TABLO 2. Gruplar arasında inflamasyon, nekroz ve iyileşmede gecikme düzeylerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi.

TABLO 3. SOD seviyelerinin karşılaştırılması.

TABLO 4. MDA seviyelerinin karşılaştırılması.

TABLO 5. NO seviyelerinin karşılaştırılması.

TABLO 6. Fleplerin Yaşayabilirlik Oranları.

TABLO 7. SOD Düzeyleri.

TABLO 8. MDA Düzeyleri.

TABLO 9. NO Düzeyleri.

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** Deri fleplerinin vasküler anatomiye göre sınıflaması.
- Şekil 2.** Random paternli ve aksiyel paternli flep.
- Şekil 3.** İçeriğine göre fleplerinin sınıflaması.
- Şekil 4.** Derinin makrodolaşımı.
- Şekil 5.** Derinin kan dolaşımı.
- Şekil 6.** Choke anastomozlar ve gerçek anastomozlar.
- Şekil 7.** A-V anastomozlar.
- Şekil 8.** Derinin Mikrodolaşımı.
- Şekil 9.** Cerrahi geciktirme yapılmış ve yapılmamış fleplerde nekroz çizgisi ve “choke” damarlardaki değişiklikler.
- Şekil 10.** BTx'nin moleküler yapısı.
- Şekil 11.** Botulinum toksin serotipleri.
- Şekil 12.** BTx aktivitesinin sonlanma aşamaları.
- Şekil 13.** Mc Farlane random rat deri flebi.
- Şekil 14.** Flep boyutları.
- Şekil 15.** Geciktirme işleminin 1. aşaması.
- Şekil 16.** Geciktirme işleminin 1. aşamasında flebin görüntüsü.
- Şekil 17.** Geciktirme işleminin 2. aşamasında flebin görüntüsü.
- Şekil 18.** Abdominal artere kanül yerleştirilmesi.
- Şekil 19.** Hesaplanan flebin görüntüsü ve fotoğraflanması.
- Şekil 20.** Yaşayabilirlik oranının hesaplanması.
- Şekil 21.** Grup1'deki deneklere bir örnek.
- Şekil 22.** Grup 2'deki deneklere bir örnek.
- Şekil 23.** Grup 3'deki deneklere bir örnek.
- Şekil 24.** Grup 3'deki deneklerden birinin flebinin makroskopik olarak görünümü.
- Şekil 25.** Grup 1,2, ve 3'deki fleplerin mikroanjiyografik görüntüsüne birer örnek.
- Şekil 26.** Grup 1'de histopatolojik görünüm.
- Şekil 27.** Grup 2'de histopatolojik görünüm.
- Şekil 28.** Grup 3'de histopatolojik görünüm.
- Şekil 29.** Grup 1,2 ve 3' deki deneklerden elde edilen ortalama yaşayabilirlik oranlarının şematik olarak gösterilmesi.

Şekil 30. Grup 1,2 ve 3'deki deneklerin ortalama SOD seviyelerinin şematik olarak gösterilmesi.

Şekil 31. Grup 1,2 ve 3'deki deneklerin ortalama MDA seviyelerinin şematik olarak gösterilmesi.

Şekil 32. Grup 1,2 ve 3'deki deneklerin ortalama NO seviyelerinin şematik olarak gösterilmesi.

SİMGELER VE KISALTMALAR

- BTx A:** Botulinum toksin A
A-V: Arteriovenöz
ADP: Adenozin difosfat
ATP: Adenozin trifosfat
SOD: Süperoksit dismutaz
TRAM: Transvers Rektus Abdominis Muskulokutan
HE: Hemotoksilen-eozin
SF: Serum fizyolojik
SOD: Süperoksitdismutaz
MDA: Malondialdehit
NO: Nitrik oksit
BSA: Sığır serum albümini
XO: Ksantin oksidaz
A_K: Kör absorbansı
A_N: Numune absorbansı
Cd: Kadmiyum
NNDA: N-naftietilendiamin
TBA: Tiobarbitürik asit
TCA: Triklorasetikasit
FCF: Folin-Ciocalteu-Fenol
K_{st}: Standardın konsantrasyonu
A_{st}: Standardın absorpsiyonu
VEGF: Vasküler Endotelial Growth Faktör
PGI₂: Prostoglandin I₂
TXA: Tromboksan A

1.GİRİŞ

Günümüzde Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uygulamalarında flepler vücutta çeşitli nedenler ile oluşmuş geniş doku defektlerinin onarımında çok yaygın olarak kullanılmakta olup kısmi ya da total flep kaybı sıklıkla karşılaşılabilecek problemlerden birisidir.

Flep, kendi intravasküler dolaşımı ile yaşarken, verici bir bölgeden alıcı bir bölgeye aktarılabilen bir doku ünitesidir. Bu aktarım sırasında dolaşım korunur veya yeniden oluşturulur. Flepler, deri, deri-fasya, deri-kas, kas, deri-kas-kemik içerecek şekilde planlanabilir. Deri flepleri kanlanması yetersiz defektlerde, tam kat deri defektlerinin onarımında fonksiyonel ve estetik açıdan tatmin edici sonuç elde edebilmek için en uygun seçenektir. Ayrıca hayati dokuların örtülmesi, çıkıntılı sahalarda kontur sağlanması için de uygun bir tercihtir.

Flep cerrahisi son yüzyılda çok gelişmiştir, özellikle mikrocerrahi alanındaki gelişmeler ile serbest doku aktarımları sonrası doku defektlerinin onarımında çok iyi sonuçlar elde edilmiştir. Doku defektinin geniş olduğu durumlarda flep çok büyük hazırlanıp alıcı alana transfer edildiğinde sık görülen sorunlardan birisi flepte distal nekrozdur. Flep cerrahisinde kullanılan tekniklerde ve flep kan dolaşımı bilgilerindeki gelişmelere rağmen flep nekrozları halen önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Flep yaşayabilirliği üzerine olan araştırmalar halen yoğun bir şekilde devam etmektedir. Serbest fleplerde venöz ve yaygın iskemiye yol açan nedenler sorgulanırken, rastgele tasarlanmış olan fleplerde distal iskemiye ve

nekrozu artıran ya da azaltan faktörler halen tesbit edilmeye çalışılmaktadır. Bunu etkileyen faktörler çok sayıda olup flep planlamasındaki hatalar, vasküler pedikülün sıkışması, hematoma, hiperviskozite, hipovolemi, hipotermi ve enfeksiyon başta gelen nedenlerdir. Flep yaşayabilirliğini artırmak için yapılmış olan çalışmalarda ortak amaç, kan akımı ve doku oksijenasyonunu artırmak, doku metabolik ihtiyaçlarını azaltmak ya da reperfüzyona bağlı iskemik hasarı engellemektir. İstenmeyen kayıpları azaltabilmek amacıyla hastanın, defektin, verici bölgenin durumları ve cerrahi şartlar ideale getirilmeye çalışılmıştır.

Fleplerde distal nekroz gelişimini engellemek için deneysel ve klinik açıdan çeşitli ilaçlar ve yöntemler denenmiştir. Flebin kan akımını artırmak için; kan viskozitesinin azaltılması, oda ısısının artırılması, kalsiyum kanal blokerleri, periferik vazodilatörler, antitrombotik ve antikoagülan ajanlar kullanılmaktadır. İskeminin etkisini azaltmak için de antiinflamatuvar ilaçlar, antioksidan ilaçlar, hiperbarik oksijen tedavisi gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunların içerisinde nekrozu engellemede bilinen en etkili kabul edilir yöntemlerden birisi flepte cerrahi geciktirme uygulamasıdır.

Cerrahi geciktirme işlemi, flebin parsiyel kaldırılması ile yaratılan kontrollü iskemik ortam ile kan akımının ve iskemiye toleransının artırılmasıdır. Bu yöntemin uygulamasında asıl operasyon öncesi ek bir cerrahi girişim gerektirmesi nedeni ile son zamanlarda flep geciktirme işleminin kimyasal ajanlarla yapılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun için çeşitli kimyasal ajanlar denenmiş, ancak herhangi birinin kesin etkili olduğu konusunda bir fikir birliğine varılamamıştır. Çalışmalar sonucunda cerrahi geciktirme işlemine rakip bir yöntem henüz bulunamamıştır. Pediküllü fleplerin tanımlanmasından sonra araştırmacılar pedikül ayırma zamanı ile ilgili pek çok çalışma yapmış hastanın hastanede yatış süresini ve maliyeti azaltıp konforunu arttırmak için pedikül ayırma süresini minimuma indirmeye çalışmışlardır.

Son yıllarda kimyasal geciktirme amacıyla deneysel çalışmalarda Botulinum toksin A (BTx A) kullanılarak bu ajanın etkinliği araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada rat random deri fleplerinde BTx A ile kimyasal geciktirme uygulamasının etkili olduğuna dair veriler elde edilmiştir. 2009'da yapılan bir çalışmada random paternli kutanöz deri fleplerine BTx A uygulandığında flep mikrosirkülasyon sisteminde sempatik nöronlara selektif baskılanma yaparak vazodilatasyon ile kan akımını ve flep yaşayabilirliği arttırdığı gösterilmiştir. Son

yıllarda ayrıca vazospastik hastalıklarda BTx A kullanımının flepte damarlanmayı arttırdığı ve ülserlerin iyileştiği gösterilmiştir.

Biz bu çalışmamızda büyük defektlerin kapatılmasında pediküllü random paternli flepler kullanılırken en büyük sorun olan distal nekrozu azaltmayı ayrıca pedikül ayırma süresinin, böylece hastanede kalış süresinin kısaltılabilmesi için cerrahi geciktirmeye BTx A uygulamasının katkısının olup olmadığını göstermeyi planladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Deri Flepleri

2.1.1.Tarihçe

“Flep” kelimesi, aslı Flemenkçe olan “flappe” kelimesinden türemiş olup “gevşek ve geniş bir şekilde asılmış, yalnız bir tarafından tutan” anlamına gelmektedir (1,2).

Yaklaşık 3000 yıldan beri flepler kullanılıyor. İlk olarak M.Ö 1000 yılında Hindistan’da Kanghiara ailesi burun defektlerini pediküllü alın flebi ile onarmıştır (3,4). M.Ö 600 yılında Susruda Samhita’nın burun rekonstrüksiyonunda alın ve yüzün pediküllü fleplerini kullandığı rapor edilmiştir (1,3). 1597’de Tagliacozzi’nin distal bazlı kol flebiyle burun rekonstrüksiyonu yapmasından sonra, 19. yüzyılda İngiliz cerrah Carpue başarılı alın flepleri uygulayana kadar rekonstrüksiyon cerrahisi duraklama dönemine girdi (1,3). Fransızlar ilerletme tipi fleplerin orijinal tanımlayıcısı olarak bilinirler. Uzak pediküllü flepler ise ilk olarak Rönesans döneminde İtalyan literatüründe kaydedilmiştir. Sonraki flep gelişimi evreler halinde olmuştur. Flep evrimi 1. ve 2. Dünya savaşlarının da katkısıyla oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşti. 1950 ve 1960’lı yıllar, bölgesel aksiyel paternli fleplerin açıklandığı dönemdir. 1970’li yıllar, aksiyel ve random paternli flepler arasındaki ayırımın yapıldığı, kas, muskulokutanöz flep ve serbest fleplerin gerçekleştirildiği dönemdir. 1980’li yıllar fasyokutanöz fleplerin, osseöz ve osteokutanöz fleplerin, özelleştirilmiş serbest fleplerin gelişiminin gerçekleştiği dönemdir (2,3). Derinin kanlanmasıyla flep konusunda asıl gelişmeler başlamıştır. Carl Manchot 1889’da damarlar

konusunda ayrıntılı çalışmalar yapmış ve damarların beslediği anatomik deri bölgelerini yayınlamıştır (2,3). Fakat cerrahlar flep cerrahisinde vasküler anatomiden çok flep tasarımına yönelmiş ve çok sayıda değişik flep tanımlamışlardır. Tansini 1896'da mastektomi ardından meme rekonstrüksiyonu için latissimus dorsi kas flebini tanımlamış; Davis 1919'da aksiyel pediküllü kas-fasya fleplerini ve kompozit flepleri tanımlamış; Gillies 1920'de tüp haline getirdiği pediküllü flepleri kullanmış; Stark 1946'da osteomyelit tedavisinde iyi kanlanan kas flebini kullanmış; Owens, McGregor, Bakamjian gibi araştırmacılar 1950 ve 1960'larda saçlı deri, boyun, göğüs ön duvarı ve supraklavikuler bölgede pek çok aksiyel paternli flep tanımlamışlar; McGregor 1963'de alın flebi ile orta yüz rekonstrüksiyonu yapmış; McLean 1970' de geniş skalp defektini serbest omentum flebi ile onarmış; Orticochea'nın 1970'lerin başında aynı muskulokütan perforatör damarlar ile beslenen deri adası ve kas dokusunu rapor etmesinden sonra kas ve muskulokütan flepler çok kullanılmaya başlandı. Taylor 1973'de serbest kasık flebini uygulamış, 1980'den beri serbest flep uygulamaları oldukça gelişmiş ve yaygın şekilde kullanılır olmuştur.

1981'de Ponten'in belli bir deri adasının beslenmesini sağlayan septokütan perforatörleri fark etmesi fasyokütan flep kavramının gelişmesine yol açtı (1,3). Taylor ve Palmer 1987'de "anjiozom (angiosome)" kavramını tanımlayarak flep cerrahisine büyük katkı sağlamıştır. Anjiozom, tek bir arter tarafından beslenmesi sağlanan deri, deri altı ve derin doku kompozit (bileşik) ünitesidir. Vücudu oluşturan pek çok anjiozom arasında çapları değişebilen "choke" anastomotik damarları da bu araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır (5,6). Dhar ve Taylor yaptıkları deneysel çalışmada geciktirme işlemi sırasında "choke" damar dilatasyonunun kalıcı bir şekilde gerçekleşip, damar çapında artış ile sonuçlandığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar sonrasında geciktirme işleminin sadece cerrahi olarak değil çeşitli farmakolojik ajanlar (rezerpin, 6-OH dopamin, guanetidin, fenoksibenzamin, fentolamin) ile yapılabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda, bu ilaçlar ile flep canlılığının arttığı gösterilse de geciktirme için halen en kabul edilir sonuçlar cerrahi geciktirme ile alınmaktadır (7).

Teknolojideki gelişmeler sayesinde mikrocerrahi gerektiren serbest doku aktarımlarının daha düşük başarısızlık oranlarıyla yapılabilir olması nedeni ile eskiden tercih edilen basitten karmaşığa doğru giden rekonstrüksiyon merdiveni

kullanımı yerine, 1997'de rekonstrüksiyon üçgeni tanımlanarak, ideal form ve fonksiyona ulaşmak için cerrahın transpozisyon flebi, serbest doku aktarımı veya doku genişletme işlemlerinden istediği herhangi birini seçebileceği belirtilmiştir (1-3). Rekonstrüksiyon cerrahının bu tercihi doğru ve yerinde yapabilmesi için elbette öncelikle flep kanlanmasını ve fizyolojisini bilmesi gerekmektedir.

2.1.2. Flep Sınıflaması

Flep sınıflamaları çeşitlidir. Örneğin, Daniel ve Kerrigan flepleri kanlanma kaynağı, mobilizasyonları ve içerdikleri doku kompozisyonuna göre üç kategoride toplamıştır.

1- Kanlanma kaynağına göre

- a) Random flep
- b) Aksiyel flep

2- Flep aktarımının şekline ve yerine göre

A) Lokal flepler

- a) İlerletme flepleri (Advancement)
- b) Rotasyon flepleri
- c) Transpozisyon flepleri

B) Uzak flepler

- a) Direkt flepler
- b) Tüp flepler
- c) Serbest flepler

3- Flebin doku içeriğine göre

- a) Deri flepleri (kutanöz)
- b) Kas flepleri (muskuler)
- c) Fasya flepleri
- d) Kompozit doku flepleri (muskulokütan, fasyokütan, osseomuskulokütan vb.)

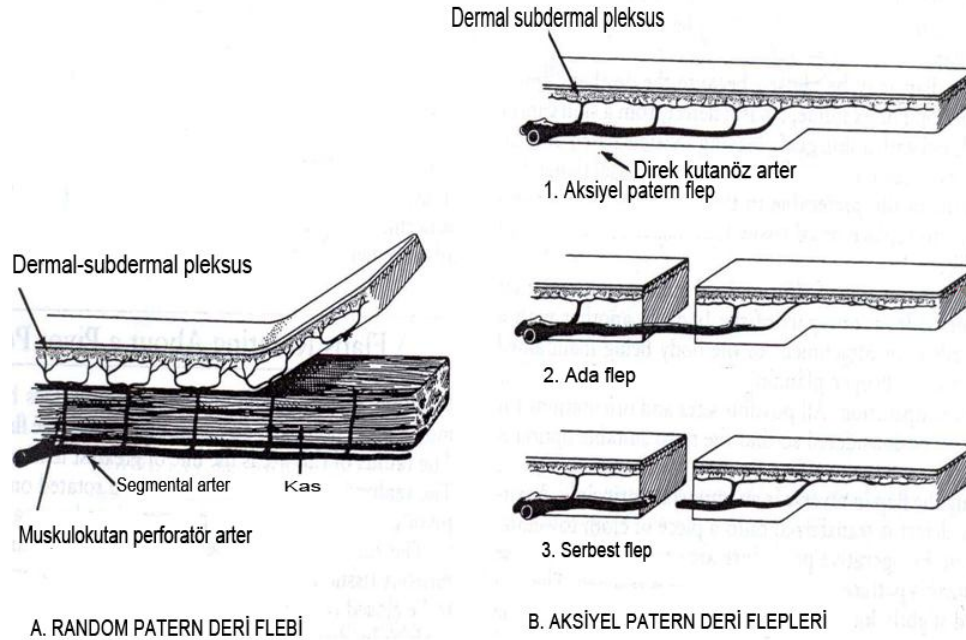
(4,5)

2.1.2.1. Kanlanmasına Göre Deri Flepleri Sınıflaması

Kanlanmasına göre Daniel ve Williams flepleri, kutanöz (random) ve ada (arteriyel) flepler olarak sınıflandırmışlardır. Ada flepleri deriden yoksun bir pedikül üzerinde gelişir (Şekil 1) (2). McGregor ve Morgan ise flepleri rastgele (random) ve aksiyel (arteriyel) flepler olarak sınıflandırmışlardır (Şekil 1).

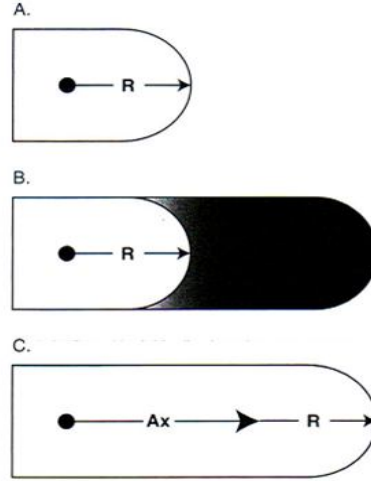
Rastgele Tasarlanan (Random Paternli) Flepler: Subkutan pleksustan beslenirler ve kendilerine ait arteriyel-venöz sistemleri yoktur. Bu nedenle boy/en oranına göre boyutları sınırlandırılır ve boyu eninin iki katından fazla olmamalıdır. Herhangi bir bölgeden hazırlanabilirler.

Aksiyel (Arteriyel Paternli) Flepler: Uzun aksı boyunca kasın üzerinde uzanan ve subkutan doku içerisinde tanımlanmış arteriyel-venöz sistemi olan deri flepleridir. Direk kutanöz arterin uzandığı bölgenin distalinde, rastgele subdermal pleksustan beslenen distal deri de flebe eklenerek flebin boyu daha da uzatılabilir (Şekil 2). Aksiyel flep, altındaki subkutan dokuyu da içereceğinden kalınlığı kişinin içerdiği yağ dokusuna göre değişkenlik gösterir. Bu flep pedikül etrafındaki diseksiyon miktarına göre yarımada, ada flep ya da serbest flep olarak da kaldırılabilir (3,4,8).



Şekil 1. Deri fleplerinin vasküler anatomiye göre sınıflaması.

Place MJ, Herber SC, Hardesty RA. Basic techniques and principles in plastic surgery. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM, 5th Editions. Grabb and Smith s Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997: 13-25



Şekil 2. Random paternli flep ve aksiyel paternli flep. A. Damarsal kaynağından tamamen random tabanlı beslenen flebin (R) olası perfüzyon alanı, B. Random tabanlı beslenen flebin olası perfüzyon alanı ötesinde hazırlanması nedeni ile oluşan distal nekroz, C. Bir flebin aksiyel tabanlı planlanması (Ax) ile distal kısmının random tabanlı perfüzyonu ile flebin boyunda uzama sağlanır (8).

2.1.2.2. Mobilizasyonuna Göre Deri Fleplerinin Sınıflaması

Lokal Flepler: Bir nokta etrafında dönenler ve defekte doğru ilerletilenler olarak iki gruba ayrılırlar. Defekte komşu alandan planlanlandıklarından defekt bölgesi ile renk ve doku uyumuna sahiptirler.

Rotasyon Flepleri: Sabit bir nokta etrafında yarım daire (semisirküler) şeklinde hazırlanıp defekte döndürülürler. Bu döndürme işlemi sırasında flep yarıçapında gerginlik olursa rotasyonu arttırmak için pivot noktasında flebin tabanından back-cut yapılması veya burrow üçgeni çıkarılması gerekebilir.

Transpozisyon Flepleri: Defekte komşu dokudan bir eksen etrafında dönecek şekilde hazırlanan dörtgen şekilli fleptir. En sık kullanılanı ise Limberg flebidir.

İnterpolasyon Flepleri: Aslında transpozisyon flebine benzerdir, farkı ise flebin pedikülünün sağlam doku köprüsü altından veya üstünden geçirilerek defekte döndürülmesidir. Nazolabial flep ve paramedian alın flebi güzel birer örnektir.

İlerletme Flepleri: Flebin hareket yönü flepten defekte doğru düz plandadır. Rotasyon veya laterale hareket olmaz.

- **Tek Pediküllü İlerletme Flepleri:** Dörtgen şeklinde flep, derinin elastikiyetinden faydalanılarak defekte doğru düz çizgide ilerletilir. İlerletmeyi arttırmak için flep tabanından iki taraflı burrow üçgeni çıkarılması gerekebilir.

- Çift Pediküllü İlerletme Flepleri: Defekte komşu ve paralel planda bir insizyon yapıp cilt altından defekte kadar diseksiyon yapılır. Flep defekte doğru lateral yönde ilerletilir ve donör alan deri grefti ile kapatılır.
- V-Y İlerletme Flepleri: Defekte komşu dokudan V şeklinde insizyon yapıp flep defekte ilerletilir ve donör alan Y şeklinde kapatılır.

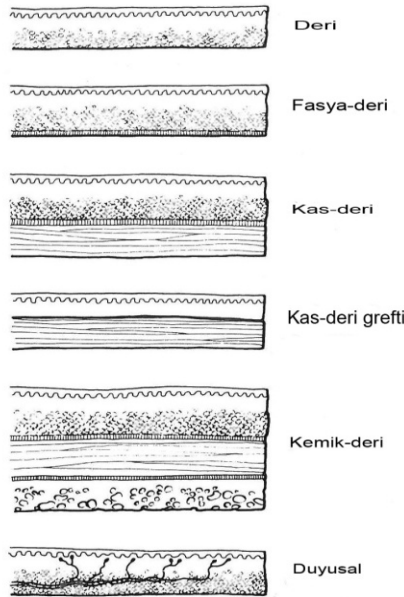
Uzak Flepler: Uzak flepler pediküllü veya serbest flep şeklinde aktarılabilir.

Pediküllü flepler: Defekte uzak fakat pozisyon ile komşu, getirilen bölgeden random paternli veya aksiyel paternli şeklinde hazırlanan flep ile defekt kapatılabilir. Flebin kendi dolaşımının başlaması için üç hafta beklenip pedikül ayrılır. Çapraz kol, çapraz bacak ve kasık flebi örneklerdir (3,8,9).

Serbest Flepler: Mikrocerrahideki gelişmeler sayesinde popüler olmuştur. Bu gelişme nedeni ile pediküllü uzak fleplere ilgi azalmıştır. Flep spesifik arter ve ven ile taşınarak defekte aktarılır. Böylece flebin dolaşımı alıcı alandaki arter ve ven anastomozu ile sağlanır.

2.1.2.3. İçeriğine Göre Deri Flepleri Sınıflaması

Deri flepleri, deri ve derialtı dokudan ibarettir. Deri flepleri başka dokuları da içerirse değişik isim alır. Deri, fasya-deri, kas-deri, kemik-deri, sensöriyal-deri flepleri olarak sınıflanabilirler (Şekil 3) (4,10).



Şekil 3. İçeriğine göre fleplerinin sınıflaması. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and Physiology of Skin Flap Surgery. In: McCharty JG, Saunders WB. Plastic surgery. Philadelphia. 1990: 278

2.2. Flep Fizyolojisi

2.2.1. Derinin Kanlanması

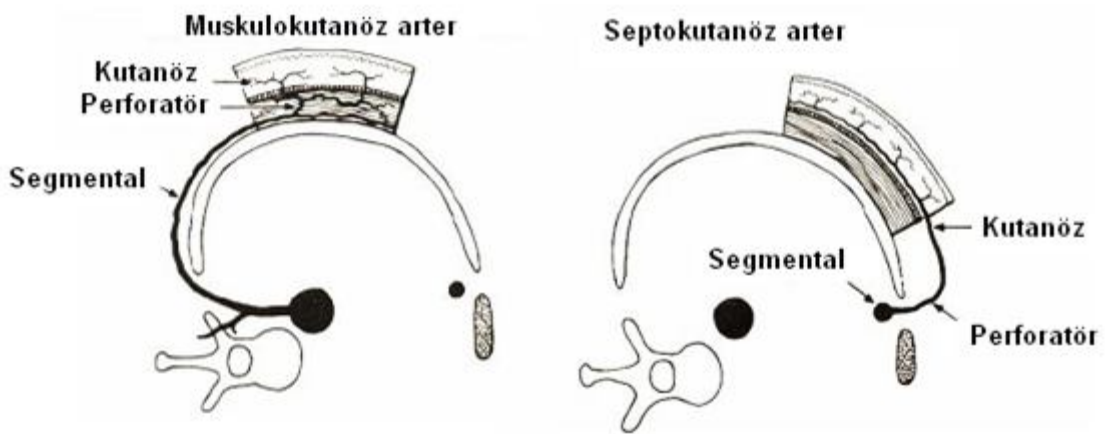
Deri vücudun en büyük organıdır. Derideki normal kan akımı 20ml/dk/100gr, kapiller yoğunluğu 16-55/mm² dir. Derinin dolaşımı zengin ve geniş olmasına rağmen derinin metabolik ihtiyaçları azdır. Bu nedenle mevcut deri dolaşımının az bir kısmı derinin yaşaması için yeterlidir. Bu da deri flepleri için bir avantajdır (11,12). Kan akımı kas dokusunda daha fazladır. Bu miktar metabolik ihtiyaçlara göre değişir. Flep canlılığını korumak için cerrahi planlaması sırasında doku özelliklerine göre bu ihtiyaç dikkate alınmalıdır. Bu flep cerrahisinde başarılı olmanın temel kuralıdır. Fleplerin mikrodolaşım perfüzyonu yakınındaki besleyici damarların komşuluğuna bağlı olduğundan aksiyel beslenme özelliğine sahip olan fleplerin canlılığı diğerlerine oranla daha iyidir. Random paternli flepler ise dominant bir artere sahip olmadığından aksiyel paternli fleplere oranla daha az güvenilir fleplerdir (13).

Flep cerrahisi milattan önceki zamanlarda başlamış olup, 20.yy'a gelene kadar bu fleplerin neden ve nasıl yaşadığı tam olarak anlaşılamamış ve genellikle deneyime, belirli en-boy oranlarına dayalı gelişigüzel kanlanan flepler kullanılmıştır. Damarların fasyal planları takip ettiği anlaşıldıktan sonra 1980'lerde fasyokütan flep modeli geliştirilmiş ve kutanöz dolaşım konusunda yeni terimler (aksiyel, random, direk kutanöz, muskulokutan, fasyokutan, septokutan ve perforatör gibi) ortaya çıkmıştır. Fleplerin hangi damarlardan kaynaklandığına dair ilk detaylı incelemeler Manchot tarafından 1889'da yapılmış ve kutanöz damarsal bölgeler tariflenmiştir. Bundan kısa bir süre sonra dermal ve subdermal tabakaları Spalteholz anatomik olarak, Braithwaite ise fonksiyonel olarak göstermiştir. Salmon yaptığı çalışma ile vücutta 80 tane kanlanma bölgesi tariflemiş bunlara ilave olarak perforatörler arasında bazı bağlantılar olduğunu belirtmiştir. Daniel ve Williams deri fleplerinin makrosirkülasyonunun segmental, anastomotik ve aksiyel damarlar olmak üzere üç kaynaktan geldiğini, perforatör damarların ise segmental arterlerden dallanarak beslediğini söylemişlerdir (2). Cormack ve Lamberty, anatomik, dinamik ve potansiyel alan olarak adlandırılan üç tip kutanöz damar alanı tanımlamışlardır (1,2). Anatomik alan, tek bir damar tarafından çevredeki damarlarla anastomoz yapmadan beslenip yaşayabilen alandır. Dinamik alan, cerrahi müdahale sonrası arteriyoller anastomozların kararsız intravasküler

basınç değişimleri sayesinde beslenen bölümünü ifade eder. Potansiyel alan ise komşu bir arter alanını da içeren deri adası ile birlikte yaşayabilen flep alanını anlatır ve flep yaşayabilirliğini arttırmak geciktirme işlemi ile mümkün olabilir. Bu çalışmaların ışığında bir flebin perfüzyonunu sağlayan arterlerin hedeflerine muskulokütanöz arter, septokütanöz arter ve direkt kütanöz arterler ile ulaşabildiği bildirilmiştir (1-3,14-18). Derinin kanlanması ana kaynağı aortadan çıkan segmental damarlardır. Segmental damarlar derinden yüzeyele, kaslar arasındaki fibröz septaları izleyerek bazıları direkt olarak deriye, çoğu ise kas içine giden dallara ayrılırlar. Bunlar şöyle sıralanır (4,9,10):

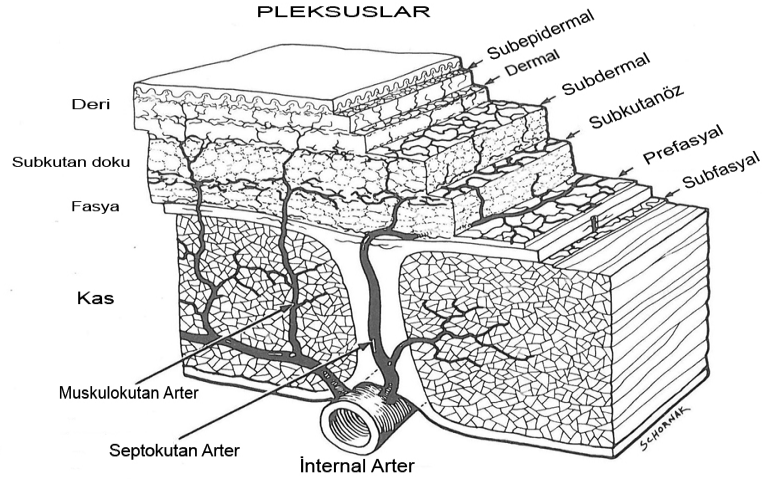
1. Muskulokütanöz arter: Deri ve subkutan doku bloğunun altındaki kastan derin fasyayı dik olarak perfore edip deriye ulaşan ve bu bölgeyi besleyen damardır.
2. Septokütanöz arter: Segmental veya muskulokütanöz damarlardan köken alıp kas fasyası ile subkutan dokunun süperfisiyel fasyası (intermuskuler fasyal septa) arasında ilerleyip direk olarak cilde ulaşan damardır.
3. Direkt kütanöz arter: Subkutan yağ doku içinde kas ve fasyanın hemen üstünde cilde paralel bulunan ve doğrudan cilde uzanan arterdir (Şekil 4).

Direk kütanöz venler arterler ile birlikte yol alırlar. Subdermiste birbiriyle bağlantılı damarlardan oluşurlar. Perforan venler, perforan arterler ile birlikte seyredip derin dokuda kaynak arterlere eşlik eden venlerine drene olurlar (4,9,10).



Şekil 4. Derinin makrodolaşımı (2).

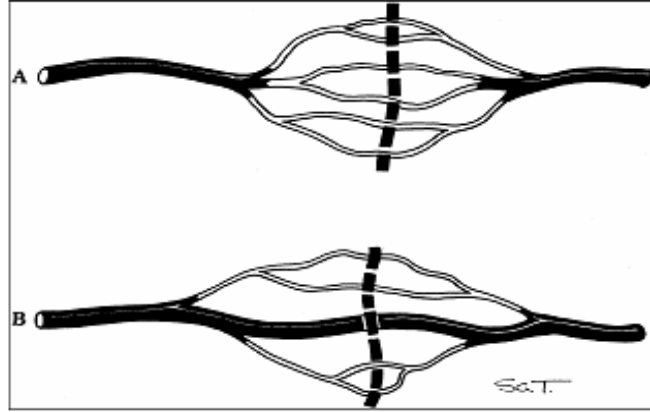
Bu kutanöz perforatörlerin sayısı, çapı, yönü vücudun değişik anatomik alanlarında farklılıklar gösterir. Kutanöz perforatörler birbiri ile bağlanıp zengin ağ yani pleksusları yaparlar. Pleksuslar şunlardır: faysal (subfasyal ve prefasyal), subkutan, subdermal, dermal ve subepidermal pleksustur (Şekil 5).



Şekil 5. Derinin kan dolaşımı (4).

Fasyal pleksus, kutanöz arterin derin fasyadan geçerek oluşturduğu pleksustur (11,12). Subfasyal pleksus, en derinde, fasyanın hemen altında ve diğerlerine göre küçük bir pleksustur. Prefasyal pleksus, büyük ve baskın bir pleksustur. Özellikle ekstremitelerde baskın olup daha çok fasyokutanöz damarlardan oluşur. Subkutanöz pleksus, subkutan yağ doku içerisinde yer alan superfisiyel fasya içindeki muskulokutan damarlardan oluşur. Gövdede baskın olan pleksustur. Subdermal pleksus, deriyi besleyen ana pleksustur. Subkutan pleksustan dermise uzanan damarlar tarafından oluşturulur. Deriye insizyon yapıldığında gözlenen kanama asıl bu pleksustandır. Üstte bulunan iki pleksusu besler. Yaygın anastomoz ağına sahiptir. Subkutan yağ dokusu ile retiküler dermis arasında yerleşen çok geniş A-V dolaşım ağına sahip olan bu pleksus her iki yönde verdiği dallar ile hem dermal hem de subkutanöz pleksus ile sıkı bir ilişki içindedir. Ayrıca dermal pleksusa verdiği dallar arasında bulunan anastomozlar kanlanmayı olağanüstü arttırmaktadır. Dermal pleksus, arteriollerden oluşur, kas yapılarına sahiptir ve ısı regülasyonunda görev alır. Subepidermal pleksus ise damar duvarında kas dokusu bulunmayan küçük damarlardan oluşmuştur. Kapillerler subepidermal pleksusta yer alır ve primer besleyici fonksiyona sahiptirler (4,10,16,19).

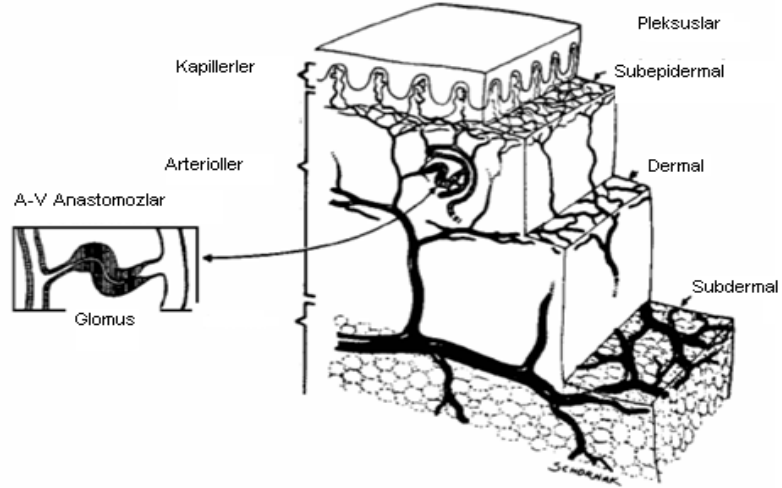
Taylor ve Palmer yaptıkları kadavra ve hayvan çalışmaları sonucunda muskulokutan veya septokutan orijinli bir kaynak arterden köken alıp ona eşlik eden venlere boşalan deri, deri altı ve derin dokuları kapsayan kompozit doku blokları bulunduğunu göstermiş, bunlara “anjiozom” adını vermiş ve anjiozomların haritasını çıkarmıştır. Anjiozomlar da daha küçük ünitelere yani kendisini oluşturan arteriyozomlar ve venozomlara bölünür. Ian Taylor bu anjiozomlar arasında bağlantıyı sağlayan çapı değişmeyen gerçek anastomozlar veya çapı daralmış olan choke anastomozlarını tariflemiştir. Bu choke damarları deride çok fazladır ve derinin kan akımı regülasyonunda önemlidirler. Böylece aksiyel flep olarak kaldırılacak dokunun güvenlik sınırlarının tahmin edilebilmesinde anjiozomlar ve choke anastomozları önemli bir yere sahiptir (Şekil 6) (5,12).



Şekil 6. A: Choke anastomozlar. B: Gerçek anastomozlar. Taylor GI. Derinin Kanlanması. In Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM, 6.Baskı. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Philadelphia. Lippincott Williams&Wilkins. 2009; 35. (13)

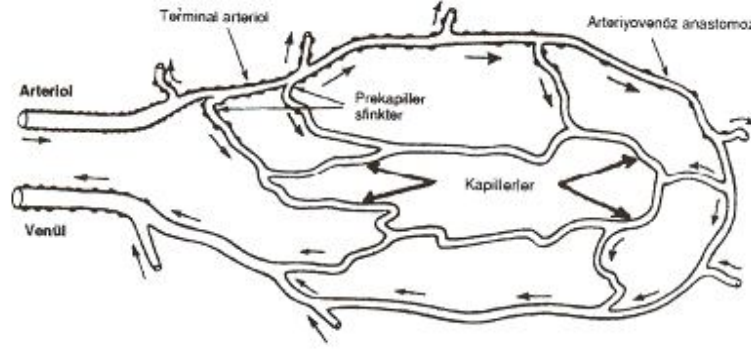
McGregor'un hastalar üzerinde yaptığı “fluorescein” enjeksiyon çalışmalarında “fluorescein” dağılımı Taylor ve Palmer'ın çalışmasında gösterilenden daha küçük alanlara olmuş ve komşu iki bölge arasında “watershed” denilen bölge, anjiozom kenarında tarif edilmiş olan “choke” arter bölgesiyle uyuşmamıştır. Venöz dolaşımda arteriyel dolaşıma benzer şekilde organize olmuştur ve bir ana ven tarafından drene edilen vücut bölgesine “venozom” denmektedir. Kan dolaşımının bu şekilde organize olmuş olması tek bir arter ve ven pedikülü üzerinde deri, kas ve kemik gibi çeşitli dokuları barındıran kompozit fleplerin hazırlanmasına olanak vermektedir (12,20). Flep mikrosirkülasyonu düzeyinde hücrel metabolizma (oksijenizasyon, besin

döngüsü, atık geri alımı) gerçekleşir. Mikrodolaşımı arterioller, kapillerler, venüller ve arteriovenöz (A-V) anastomozlar meydana getirir ve perfüzyonun büyük kısmı bu yapılarda gerçekleşir (1). Mikrodolaşım, çapları 300 mikrondan daha az olan arterioller ile başlar. Arterioller, direk kutanöz, fasyokutan ve muskulokutan sistemin terminal dallarından köken alırlar. Terminal arteriollerin çapları 10 ile 30 mikron arasında olup innerve düz kaslardan oluşan prekapiller sfinkterleri bulundurlar. Prekapiller sfinkterler sempatik sistem etkisi ile kan akımı kontrolündeki son noktalardır. Daha sonra terminal arterioller subdermal pleksusu oluştururlar (21). En uçta çapları 3-7 mikron arasında değişen kapillerler bulunur. A-V anostomozlar ile kan akımı bu anostomozlardan kapiller yatağa uğramadan geçer. Dolayısı ile beslenme fonksiyonundan ziyade ısı regülasyonunda rol alırlar (Şekil 7) (11,12).



Şekil 7. A-V anastomozlar. Reprinted with permission from Daniel RK, Kerrigan CL: Principles and Physiology of Skin Flap Surgery. In: McCarthy JG (ed), Plastic Surgery. Philadelphia, WB Saunders, 1990; 1:9.

İki tip A-V anastomoz vardır. İndirek anostomoz glomerül gibi kıvrımlı yapıda ve dar çaplıdır. Yoğun olarak otonomik sinirlerle innerve olur. Direk anastomoz daha az kıvrımlıdır ve gerçek anastomozdur. Daha seyrek otonomik innervasyonu vardır. Kapillerlerden sonra, çapları 8-30 mikron arasında değişen postkapiller venüller ile kanın geri dönüşü başlar. Kan, postkapiller venüllerden çapları 50 mikrona kadar genişleyen toplayıcı venüllere akar. Toplayıcı venüller ile beraber damar çeperinde perisitler ve düz kas hücreleri görülmeye başlar (Şekil 8) (22).



Şekil 8. Derinin Mikrodolaşımı (22).

2.2.2. Deri Kan Akımının Regülasyonu

Kutanöz kan akımının kontrolü lokal ve sistemik olmak üzere iki seviyede gerçekleşir. Sistemik kontrol nöral ve hümorale regülasyon ile sağlanır. Dominant olan nöral regülasyon, primer olarak vazokonstriksiyona neden olan sempatik lifler ve deride en fazla bulunan alfa adrenerjik reseptörler yoluyla gerçekleşir. Buna ek olarak A-V anastomozlardaki serotonerjik reseptörler de vazokonstriksiyonu uyarılmaktadır. Vazodilatasyonu sağlayan ise beta adrenerjik ve kolinerjik reseptörlerin uyarılmasıdır. Bunların hepsi beraber, arteriol ve A-V anastomozlar seviyesinde vasküler düz kas tonusunun kontrolünü gerçekleştirir. Hümorale regülasyon sistemik vazoaktif maddelerin kendilerine özgü reseptörleri üzerinden etki göstermeleri ile olur. Örneğin epinefrin ve norepinefrin alfa adrenerjik reseptörleri etkiler. Vazokonstriksiyona neden olan diğer maddeler serotonin, endotelinler, tromboksan A2 ve prostaglandin F2'dir. Vazodilatatör olanlar prostaglandin E1, prostaglandin I2, histamin, bradikinin, nitrik oksit, trombin, adenosin difosfat, lökotrien C4 ve D4'tür (3). Endotel hücresi deri kan akımı dengesinin korunmasında ana rol oynar. Asetilkolinin vazodilatatör etkisi için nitrik oksit (NO) üreten sağlam endotel şarttır ve buradan salınan serotonin, trombin, ADP ve histamin NO salınımını uyararak vazodilatasyona neden olurlar. Endotelinler endotel tarafından salınan bir grup polipeptittir ve direkt vazokonstriktör etki yaparlar. Direkt veya indirekt travmalara bağlı endotel hücre hasarında tromboz ve iskemi oluşur. Reperfüzyon ile NO salınımı azalır, nötrofil adezyonu artar ve vazokonstriksiyon olur (10,13,23,24).

Deri kan dolaşımını lokal olarak etkileyen metabolik faktörlerin tamamı vazodilatatör olarak etki eden hiperkapni, hipoksi, hiperkalemi ve asidozdur. Artmış doku perfüzyon basıncı, hipotermi ve hipertermi de regülasyonda görev alan fiziksel faktörlerdir. Reolojik faktörlerinde kan akımına etkisi vardır. Anemi hemodilüsyon nedeni ile flep kan akımını böylelikle de distal flep canlılığını arttırdığını gösteren çalışmalar vardır. Ancak bazı çalışmalarda bu etkinin minimal olduğu ya da hiç olmadığı, muhtemel azalmış oksijen sunumuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Polisitemi veya orak hücreli anemi de hemokonsantrasyon nedeni ile flep distalinde perfüzyonu bozabilir (3,13).

2.2.3. Flep Kaldırılma İşlemi Sonrası Gelişen Değişiklikler

Flep kaldırılma işlemi sonrası gelişen hemodinamik, anatomik ve metabolik değişiklikleri gösterebilmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu işlem, dokuya olan kan akımını kontrol eden hassas dengeyi bozar. Pediküllü flep kaldırıldıktan sonra sempatektomi nedeni ile vazokonstriktör nörotransmitter olan katekolamin salınımı ilk 18 saat içinde olur. Flep insizyonları sonrası damar bağlantılarının kesilmesi ile azalan perfüzyon basıncı da buna eklenince ilk 12 saat içinde flebin periferal kesimleri iskemik hale gelir. Sonrasında ise distal flep nekrozu oluşabilmektedir (25-28). Bu bölgenin yüzde kaçının yaşayacağı ilk 24 saat içinde besleyici kapillerlerin kan akımı değişikliklerine bağlıdır. Sasaki ve Pang domuzlarda yaptıkları random paternli flep çalışmasında kapiller kan akımı 0,01ml/dk/gr'dan az olan flep uç bölgelerinin yaşamadığını göstermişlerdir (28,29). Palmer ve Kerrigan işaretlenmiş mikroküreleri kullanarak, flep bazında kan akımı değişmese de genellikle 6-12 saat içinde distalde bu akımın normalin %20'sinin bile altına düştüğünü göstermişlerdir (25,30). Pang ve arkadaşları geciktirilmiş fleplerde ilk 6 saatte besleyici kan akımının normalde aynı bölgeye olan total kan akımının %10'undan daha düşük olduğunu daha sonra kapiller kan akımında 2. günün sonuna kadar hızlı bir artış olduğunu gözlemlemiş, fakat bu dramatik artışın sadece neovaskülarizasyon ile açıklanamayacağını, muhtemelen geciktirmenin erken safhasında vazokonstriksiyona neden olan nörohümöral maddelerin azalmasının, ilerleyen safhalarında ise lokal olarak salınan vazodilatatör maddelerin artmasının rol oynadığını düşünmüşlerdir (7,32,33).

Flep kaldırıldıktan sonra özellikle flebin distalinde iskemik ortamda metabolik değişiklikler olur. İskemik dokuda karbondioksit ve laktik asit düzeyi artar, oksijen, glukoz, ATP (adenozin trifosfat) düzeyleri düşer ve anaerobik metabolizmaya dönüş olur. İskemi aşikar olduğunda, pek çok metabolik vazodilatatörler (karbondioksit, laktat, prostaglandinler, histamin v.b.) hep birlikte etki ederek yavaş yavaş kan akımını arttırırlar. Postoperatif 12-48 saatlerden itibaren sempatik vazokonstriktörlerin azalmasıyla kan akımı daha da artar. Bu etkilerden yalnızca flep proksimali yararlanır, flep distalindeki iskemik hasar 12 saatten sonra geri dönmez. Glukoz tüketimi giderek artar ve postoperatif 3. günde en yüksek seviyede olup 7. günde normale döner. Anaerobik metabolizma sırasında toksik oksijen radikalleri artar ve bunlar hücrel hasara neden olurlar. Bu da lokal akut inflamasyonu, nötrofil birikimini ve adhezyonunu tetikler. Koruyucu süperoksit dismutaz (SOD) enzim seviyeleri flep distalinde azalır. Nötrofiller, iskemi reperfüzyon hasarında iki şekilde rol oynar. Direk damar endotel hasarı oluşturarak damar bütünlüğünü bozabilir; damar bütünlüğü bozulması ödem, kanama ve tromboza neden olur; bu da iskemi arttırır. Nötrofillerin diğer rolü de damar lümeninde agregre olarak mikrovasküler oklüzyon oluşturup iskemi arttırmalarıdır. Kısa süre içinde yeni bir denge kurulur, flep yatağında ve periferde yara iyileşmesi başlar. Sağlıklı zeminde 4-5. günlerde flep orijinal primer kan desteği olmaksızın yeterli kollateral dallanmalarla desteklenir (4). Kan akımı ancak 1-2 hafta içinde normalin %75'ine, 3-4 hafta içinde %100'üne döner. Bu nedenle deri flebinin distalini de yaşatmak için yeterli dolaşımın ilk 6-12 saatte sağlanması gerekir (2).

2.3. Geciktirme Yöntemi

Flep cerrahisi uygulanırken özellikle obez, sigara alışkanlığı olan, radyasyon tedavisi alan, operasyon sahasında skarlı olan ve operasyonda daha fazla deri gereksinimine ihtiyaç duyulan riskli vakaların cerrahisinde en sık karşılaşılan problem flep distalinde nekroz olmasıdır. Bu nekroz genellikle, küçük arteriollerde vazokonstriksiyon ve perfüzyon basıncında düşme ile flebin distaline yeterli kan akımının olmaması sonucu görülür (13,34,35). Distal flep canlılığını arttırmak için en çok kullanılan ve araştırılan mekanizma geciktirme yöntemidir. Uzun yıllar bu yöntem cerrahi geciktirme olarak uygulanmış fakat gelişen yeni flep teknikleri, mikrocerrahideki gelişmeler ile serbest fleplerin

kullanımının artması ve operasyon öncesi ek bir cerrahi işlem olması nedeni ile cerrahi geciktirme yönteminin popülaritesi azalmıştır. Alternatif olarak daha basit ve cerrahi gerektirmeyen veya minimal cerrahi gerektiren yöntemler yönünde araştırmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda vasküler pedikülün ligasyonu (36,37), hiperbarik oksijen tedavisi, hidrostatik dilatasyon (13), flep alanı çevresine sütür atma (38), lazer (39,40), flep alanına çeşitli sistemik ve topikal kimyasal ajanlar uygulaması gibi yöntemler denenmiştir. Epinefrin, doksazin mesilat, nitrogliserin bandı, tadalafil, nonivamid-nicoboxil kombinasyonu, VEGF, rezepin, dopamin ve guanetidin, fenoksibenzamin, fentolamin, talazolin ve timoksamin, klorpromazin, isoproteronol, metaproteronol, terbutalin, isoxsuprine, propranolol, hydralazin, diazoksit, dimetilsülfoksit, nifedipin gibi birçok kimyasal ajan denenmiştir (4,39, 41-55).

Geciktirme yönteminin sık kullanıldığı fleplere örnek olarak; alın flebi, kasık flebi, elde lokal flepler, pediküllü transvers rektus abdominis kas (TRAM) flebi, derin inferior epigastrik perforatör flebi verilebilir (13). Klasik cerrahi geciktirme tekniği flep kaldırılacak alana yapılan iki paralel insizyon ile olur (48). Günümüzde genellikle uygulanan cerrahi geciktirme tekniği ise kaldırılması planlanan flebin distal kısmının önceden kaldırılması ile yapılır. Cerrahi geciktirme tekniği, operasyondan belli bir süre önce flebin bir kısmını kaldırıp kontrollü iskemi yaratarak asıl operasyon öncesi dokuda kanlanmayı ve iskemiye toleransı arttırmak şeklinde ifade edilebilir (13,49).

Gaspere Tagliacozzi tarafından 16.yy'da biceps kasının üstündeki cilt ve cilt altı dokuya paralel kesiler yaparak burun rekonstrüksiyonu için planlanan kol flebine geciktirme uygulamasıdır. Fakat bu kavramın farkına varılıp popularize olması 1900'lü yılların başındadır (2,10). Geciktirme işleminin tanımlanması ise 1967'de Myers ve Chery tarafından yapılmıştır. 1974'de Reinisch distal flep kaybında kanın kapiller yataktan A-V şantlara geçtiğini gösteren bir mekanizma tanımlamış ve geciktirme yöntemi kullanılarak flep yaşamını etkili bir biçimde arttırılabileceğini bildirmiştir (56). Geciktirmenin etkinliği distalde iskemi olan bölgede belirgindir. Cerrahi olarak yapılan geciktirme işlemi sonrası kan akımındaki artışın başlama zamanının çeşitli hayvanlarda farklı olduğu gösterilmiş, en kısa süre Suzuki ve arkadaşları tarafından 1. günün sonu olarak sıçanlarda tespit edilmiştir (57,58).

2.3.1. Erken Teoriler:

Braithwaite 1950'de geciktirilmiş fleplerde damar sayısının artmadığını, subdermal pleksustaki damarların genişleyip dolaşımı, dolayısı ile flep yaşayabilirliğini arttırdığını belirtmiştir. Stark ve DeHaan iontoforez yöntemini kullanarak histaminin damarlanmayı arttırdığını, fakat flep sağkalımına etkisi olmadığını göstermiştir (3,59). Velander 1964'de geciktirmenin nonspesifik bir inflamatuvar reaksiyonun sonucu olduğunu söylemiştir. 1969'da Myers ve Cherry bipediküllü fleplerde merkezdeki damarları koruduklarında daha az geciktirme etkisi görüldüğünü ve hipoksinin asıl etkiyi yaratan faktör olduğunu göstererek Velander'in tezini çürütmüştür (59). Daha sonra McFarlane geciktirme işleminin aslında dokuları iskemiye alıştırdığını, fakat bunun ikincil önemde olduğunu savunmuştur (14,60). 1974'de Reinisch distal flep kaybında kanın besleyici kapiller yataktan A-V şantlara geçtiğini gösteren bir mekanizma tanımlamış ve geciktirme yöntemi kullanılarak flep yaşamının etkili bir biçimde arttırılabileceğini bildirmiştir (56). Boyd ve arkadaşları geçici hipoksinin vazodilatasyon için önemli bir uyarıcı olarak görev yaptığını böylece arteriollerin açılıp kan akımının arttığını bildirmişlerdir. Bu sayede 1990 yılında erken teorileri destekleyen sonuçları Boyd ve arkadaşları yayınlamıştır (1,61).

2.3.2. Sempatektomi-Vazodilatasyon Hipotezi:

1950'de Hynes tüp fleplerde yaptığı ter testine dayalı çalışma sonucunda geciktirme mekanizmasının sempatektomi ve bunun sonucunda oluşan damarlanma artışı olduğunu ilk kez vurgulamıştır (2,61). Geciktirme işleminin, flep kenarlarına yapılan kesi ile beraber sempatik liflerin de kesilmesi sonrası oluşan vazodilatasyona bağlı kan desteğinin artması ile yapılabileceği ancak 1970'li yıllarda popülerite kazanmıştır (2,61,62). Finseth ve Cutting bilateral pediküllü sıçan epigastrik flebinin bir pedikülünü önceden bağlayarak geciktirme yapabilmiş, mekanizma olarak da denervasyon ve/veya hipoksiye bağlı kalıcı vazodilatasyon geliştiğini göstermişlerdir (36,63). Jurell'in 1986 yılında yayınladığı çalışmasında geciktirilmiş ve geciktirilmemiş fleplerde sempatik denervasyon etkisini araştırmak için norepinefrin, ATP ve c-AMP düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca geciktirme uygulanan fleplerde nörotransmitterlerin kendiliğinden boşaldığını, daha sonra norepinefrinin azaldığını ve buna bağlı olarak vazodilatasyon olduğunu, ikinci ameliyatta ise

norepinefrin düzeylerinin daha da düşük olduğunu saptamış, antiadrenerjik ilaçlarla yaptığı çalışmalar da bunu desteklemiştir (63-65). Vazodilatatör ajanlarla (isoxuprine, guanethidine, hydralazine, phenoxybenzamine gibi) ameliyat öncesi ve sonrası tedavi edilen fleplerde yaşayabilirliğin artması sempatektomiye bağlı vazodilatasyon hipotezini desteklemiştir. Fakat geciktirme fenomeninin sempatektomiden minimum 48 saat sonra başlaması olayda etkin olan daha başka mekanizmaların varlığını düşündürmüştür (66-72).

2.3.3. Hiperadrenerjik Durum Teorisi:

Bu teoriye göre adrenerjik ortamı inaktive edecek "reuptake" mekanizması ortadan kalktığı için hiperadrenerjik bir durum oluşur. Bazı araştırmacılar bu durumun prekapiller sfinkterleri etkileyerek besleyici kapiller akımı azalttığını göstererek Reinisch'in teorisine karşı çıkmışlardır. Geciktirme işleminden sonra kan desteği azalır, fakat bu doku nekrozuna yol açacak ölçüde değildir. İkinci cerrahi işlem öncesine kadar vazokonstriktör maddelerin seviyesi normale döner ve işlemde vazokonstriktör maddelerdeki yükselme, geciktirmesiz kaldırılan fleplerdeki kadar değildir. Bu yüzden geciktirme yapılan fleplerde distal nekroz gelişimi daha azdır (9,10,13).

2.3.4. Flep İçinde A-V Şant Hipotezi:

Bu konudaki en geçerli hipotezler "A-V anastomoz-denervasyon süpersensitivitesi" ve "A-V shunt" hipotezidir. Reinisch 1974'de geciktirilmiş arteriyel fleplerde radyoaktif krom ile işaretli kan hücreleri ve stronsiyum ile işaretli mikroküreler kullanarak kan akımını gözlemlemiştir, sempatik denervasyonun "A-V shunt" ları prekapiller sfinkterlerden daha çok dilate ettiğini, bu nedenle flep içinde kanın besleyici kapiller yataktan geçmeden "A-V shunt" lardan geçerek dolaşıma katıldığı, sonuçta besleyici olmayan kan akımının artacağı hipotezini öne sürmüştür. Böylece oluşan iskemik duruma doku alışır. Geciktirme işlemi sırasında flep kan akımının flep tam kaldırıldığı kadar azalmadığını, "A-V shunt" lardaki vazodilatasyonun da iki haftada belli bir tonusa ulaştığını ve geciktirme işlemi sonrası flep tam olarak kaldırıldığında distalde "shunt" olayının olmadığını göstermiştir (7,13,73). Dorion ve arkadaşları da domuz TRAM flep modelinde mikroküre tekniğini kullanarak "A-V anastomoz-denervasyon süpersensitivitesi" ve "A-V shunt" akımının

geciktirmeyi açıklayacak ana mekanizma olamayacağını göstermişlerdir (74). Akut olarak kaldırılan flepte hiperadrenerjik bir durum ve buna bağlı vazokonstriksiyon olduğunu iddia eden araştırmacılardan bazıları da reserpin, 6-OH dopamin, propranolol, guanetidin ve fentolamini preoperatif olarak kullanıp flep yaşayabilirliğini arttırdıklarını iddia etmişlerdir. Fakat, benzer ilaçlar ve aynı mekanizmayı uygulayarak başarılı sonuçlar elde edemeyen araştırmacılar da vardır (1,75-77). Daha sonra Kerrigan ve Pang yaptığı çalışmalarında radyoaktif mikroküreler kullanarak bu teze karşı çıkmış ve aslında distalde nekroza neden olanın küçük arteriollerdeki vazokonstriksiyona bağlı distalde perfüzyon basıncının düşmesi olduğunu belirtmişlerdir (13,78). Kerrigan, flebin distalinde nekroz olan akut ve geciktirilmiş deney modelinde “choke” damarlarda kan akımında anlamlı bir değişiklik olmadığını bulmuş böylece bir flebin nekroza gitmesinde en önemli etkenin arteriyel yetmezlik olduğunu göstermiştir (76,78).

2.3.5. Neovaskülarizasyon Hipotezi:

German, Seitchik ve Kahn geciktirme sonrası tüp pedikülün uzun eksenine boyunca subdermal pleksusta küçük damarlarda longitudinal reorientasyon, damar sayısı ve çaplarında artış olduğunu belirtmişlerdir. McFarlane ve arkadaşları aynı longitudinal reorientasyonu rapor etmesine rağmen damar sayısı ve çapında artış saptamamışlardır (2). 1933 yılında Almanya’da fleplere yapılan geciktirme işlemi sonrası flep uzun aksı boyunca damarlarda longitudinal reorientasyonlar, subdermal pleksuslarda damarların sayı ve çapında artış tespit edilmiştir (13). Johnson kan damarlarının longitudinal reorientasyonunu, kan akımındaki artışın ise önce vazodilatasyon sonra anjiogenez ile olduğunu bildirmiştir. Geciktirme sonrası iyileşme sürecinde inflamasyon ve anjiogenezin önemli rolü olduğu görüşünü savunmuştur (79). Young, geciktirme işlemi uygulanmamış deri ile kıyaslandığında fleplerin distal kısmında kan akımında azalma saptaması flebin proksimalindeki damar anastomozlarındaki dilatasyonu desteklemiş ve sonuçta hipoksinin neovaskülarizasyonun en potent uyarıcısı olduğunu savunmuştur (80). Pang ve arkadaşları geciktirme işlemi uygulanmış fleplerde ilk 6 saatte kan akımının normalde aynı bölgeye olan toplam kan akımının %10’undan daha düşük olduğunu, daha sonra kapiller kan akımında 2. günün sonuna kadar hızlı bir

artış olduğunu gözlemlemiş, fakat bu artışın sadece neovaskülarizasyon ile açıklanamayacağını, geciktirmenin erken safhasında muhtemelen vazokonstrüksiyona sebep olan nörohümorale maddelerin azalması, ilerleyen safhalarında ise lokal olarak salınan vazodilatatör maddelerin artmasının rol oynadığını düşünmüşlerdir (7,81,82). Cerrahi geciktirme yerine anjiogenik ajanları kullanarak flep yaşayabilirliğini arttırmaya çalışan araştırmacılar umut verici sonuçlar almışlar ve geciktirme fenomeninin farmakolojik olarak da sağlanabileceğine yönelik umutları arttırmışlardır (83,84). Young'ın domuzlarda yaptığı fonksiyonel ve morfolojik çalışmasında ameliyattan 7 gün sonra damar sayısında ve dermis kalınlığında artış saptandığı belirtilmiştir (80). 1999'da Dhar ve Taylor yaptıkları çalışmada, flebe geciktirme işlemi sonrası yeni damar oluşumundan çok arterlerin çaplarında artış olduğunu bu artışın da en çok choke damarlarında olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca geciktirme işlemi sırasında oluşan olayları ayrıntılı olarak incelemişler ve aşamalar halinde ayırmışlardır (85).

Faz1: Bütün flep damarlarında 3. saatte vazospazm olur. Bu 24 saatte yavaş yavaş vazodilatasyona döner. Histolojik olarak hücresel elemanlarda minimal değişiklik olur.

Faz 2: 24-72. saat arasında flep arterlerinin çaplarında artış olur, özellikle choke damarlarının çapları 2-4 katına çıkar. Choke arterlerin endotelinde noktasal defektler olur ve damar dilatasyonuna bağlı damar duvarı inceler. İlk 48-72 saatte hücre bölünmesinde dramatik artış olur ve tüm tabakalarda hiperplazi görülür. Düz kas hücreleri aktiftir ve uzarlar.

Faz 3: 72 saat-7 gün arasında damar duvarında dilatasyon yavaş oranda artmaya devam eder. Ayrıca damar duvarındaki kalınlaşmaya bağlı damar boyutu artar.

Faz 4: 7 gün sonrasında ise choke damarlarda kalıcı ve geri dönüşümsüz dilatasyon olur. Deneysel modeldeki hayvanın türüne göre değişmekle birlikte postoperatif yaklaşık 3-5. günler arasında alıcı yatakla flep arasında neovaskülarizasyon gözlenir (57,80,85,86).

Önce Serafin ve daha sonra Garcia hem damar çapında hem de sayısında artış saptadıklarını belirten yayınlar yapmışlardır. Yine Garcia ve Ortega tavşanlarda geciktirmeden sonraki 3-7 gün içinde anjiogenezde artış olduğunu saptadıkları bir çalışma yapmışlardır (50,87,88). Lopez, geciktirilen

fleplerde anjiogenezi immünohistokimyasal olarak incelemiş ve postoperatif 48. saatten başlayıp 7. güne kadar süren kapillerlerde sayıca artışı göstermiştir (89). Geciktirmede cerrahi yerine anjiogenik ajanları kullanarak flep yaşayabilirliğini arttırmaya çalışan Brown, Höckel, Burke, Zhang ve Lineaweaver olumlu sonuçlar almışlar ve geciktirme etkisinin farmakolojik olarak sağlanabileceğine yönelik umutları arttırmışlardır (83,90-92).

Geciktirmenin geç döneminde iskeminin primer tetikleyici olduğu vasküler değişiklikler olur. Angiogenesis ve vaskulogenesis mekanizmaları ile yeni damar gelişimi olur. Anjiogenesis, daha önce varolan kapillerlerden yeni mikrodamarlar filizlenmesidir. Vaskulogenesis ise kemik iliğinden salınan endotelial öncü hücreler tarafından yeni damar oluşumudur. Anjiogenetik sitokinler, büyüme faktörleri (fibroblast büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü gibi) geciktirme süresince artarlar ve yeni damar gelişimine öncülük ederler. Bunlar endotel hücrelerin migrasyonunu, proliferasyonunu, kapiller tomurcuklanmayı uyarırlar. Yaptıkları çalışmada 72 saat içinde kemik iliği kaynaklı endotel öncü hücrelerinin iskemiye iyileştirdiğini göstermişler. Anjiogenesis ve choke damarlarında genişleme geciktirmenin erken döneminde olurken vaskulogenesis geciktirmenin daha geç safhalarında ve daha uzun süre geciktirme işlemi uygulanmışlarda olur. Endotel öncü hücreleri geciktirmenin 3-7. günlerinde bulunmasına rağmen maksimum etkinlikleri 2. haftada olur. Anjiogenesis ve choke damarlarında genişleme ise 48. saatte görülmeye başlar (93).

Myers ve Cherry geciktirme işleminin başarılı olabilmesi için aksiyel damarların bir kısmının kesilmesi ile parsiyel iskemi oluşturulmasının gerektiğini belirtmişler, böylece flebin iskemi periodunda direncinin arttırılabileceğini savunmuşlardır (4,9,49,56,85). "Ischemic preconditioning" dokunun kısa sürelerle iskemiye maruz bırakılmasıdır. Bu uygulama ile dokunun iskemiye direnci arttırılır. Bu ilk kez 1986'da Murray tarafından köpek miyokard infarktüsünün azaltılması için kullanılmış ve tanımlanmıştır. Daha sonra diğer organlarda da çalışılmıştır (93). "Ischemic preconditioning" kavramının dokuyu koruma mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Reese ve arkadaşlarının distal flep nekrozu ile ilgili yaptıkları deneysel çalışmalarında fleplerde nötrofil ve ürünlerinin birikiminin geciktirme işlemi ve iskemi periyotları ile azaltıldığı, dolayısıyla distal flep canlılığında artış sağlandığını tespit etmişlerdir. Hooper ve

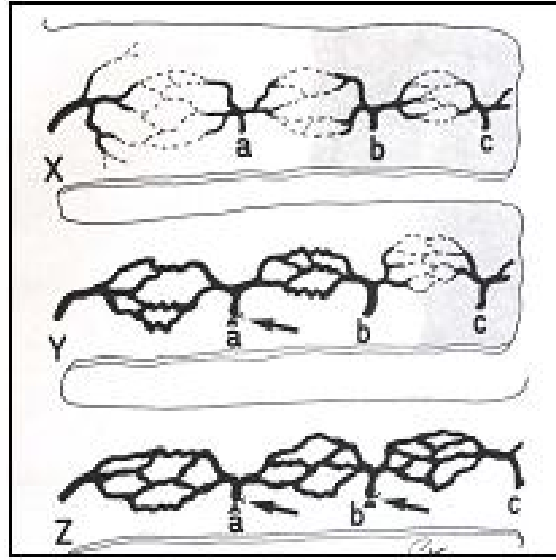
arkadaşları, proteinlerin fosforilasyonunu sağlayan protein kinaz C enziminin aktivasyonu ile hücrel korunmanın sağlanacağını ileri sürmüşlerdir. Bunun da "Ischemic preconditioning" kavramını taklit ettiğini bulmuşlardır (13). Ayrıca monofosforil lipid A da bu metodun geç fazını taklit eder. Ghali ve arkadaşları 2007'de vasküler delay uygulanan flebin ikinci kez elevasyonunda norepinefrinin tükenmiş olmasına bağlı vazodilatasyon olur. Choke damarlarında dilatasyon ve yeniden oryantasyon olur. Geciktirme uygulanmış hücrelerde enerji gereksinimi azalır, enerji metabolizması değişir, elektrolit dengesi daha iyi sağlanır, reaktif oksijen radikalleri azalır, aktive nötrofillerin salınımı azalır, apoptozis azalır, mikrosirkülasyon daha iyidir, bütün bunlar dokunun iskemiye toleransını artırır. Geç dönemde de dokuda metabolik değişiklikler olur. Oksijen ve glukoz kullanılır, araşidonik asit ürünleri dengelenir. Geciktirilmiş flebin tekrar ikinci kez elevasyonunda tromboksan ürünlerine cevabın körelendiğini, PGE₂ düzeyinin arttığını, dolayısıyla flep yaşayabilirliğinin arttığını göstermiştir. Geciktirme uygulanmazsa, bu metabolitlerin ani artması sonucu vasokonstrüksiyon lehine bozulan denge nedeni ile flepte progressif iskemi ve flep yaşayabilirliğinde azalma olur (93). İskemiye tolerans teorisinde random paternli deri flebinin periferinde kan akımı kesildiğinde flep pedikülünün aksı boyunca kan akımı güçlenir ve geciktirme işlemi sonrasında hücreler hipoksik ortama alışır. Böylece asıl ikinci operasyondan sonra doku nekrozu daha sınırlı olur (13,49).

2.3.6. Birleştirici Teori:

Geciktirme fenomeninde yukarıda bahsedilen mekanizmaların birden fazlasının rol oynadığını savunan çalışmalar mevcuttur (1,2,62,66,75,77,82,89). Cutting ve arkadaşları geciktirilmiş arteriyel fleplerde sempatektomi, doku iskemisi ve enflamasyon sonucunda prekapiller arteriollerde damar düz kasında gevşeme olduğunu, denerve olan A-V anastomozların yavaş kapanması sonucunda periferik damar direncinin arttığını ve flep distalindeki kan akımında azalma olduğunu fakat geciktirmenin ikinci gününden sonra deri damarlanmasının düzenlendiğini savunmuşlardır. Böylece, geciktirmenin mekanizmasında sempatektomi, yeni kollateral damar oluşumu ve var olan damarların dilatasyonunun rol oynadığını düşünmüşlerdir (77). Hoopes'un özetlediği geciktirme mekanizmaları (sempatektomi, damarların yeniden

düzenlenmesi, reaktif hiperemi, hipoksiye alışma, nonspesifik inflamatuvar reaksiyon) “choke” damarlarının tariflenmesinden sonra yeniden gözden geçirilmiş ve geciktirme fenomeninin mekanizması en kabul edilebilir şekilde şöyle açıklanmıştır:

1. Sempatektomi sonrası damarlanmada artış
2. Damarların longitudinal ekseninde paralel dizilimli hale gelmesi
3. Damarsal büyüme, genişleme
4. Hipoksiye metabolik adaptasyon
5. Anjiozomlar arasındaki “choke” damar dilatasyonu sonucu komşu anjiozomlar ile bağlantı artışı (Şekil 9) (86).



Şekil 9. Cerrahi geciktirme yapılmış ve yapılmamış fleplerde nekroz çizgisi ve “choke” damarlardaki değişiklikler (Oklar geciktirme için bağlanmış olan damarları, a,b,c ise bir anjiozomu besleyen kaynak damarlarını göstermekte) Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG: An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical Applications. Plast Reconstr Surg. 1992; 89: 408-418.

2.4. Flep Kayıp Nedenleri ve Kaybı Azaltmak İçin Kullanılan Ajanlar

Fleplerde kayıp en sık iskemi nedeni ile olur. Genel ekstremsel nedenler arasında sistemik vasküler hastalık, konjestif kalp yetmezliği, ritim bozukluğu, yüksek ya da düşük tansiyon, kronik tıkaçıcı akciğer hastalıkları, kötü beslenme, obezite, sigara kullanımı, şeker hastalığı, serebrovasküler hastalıklar, immüno-supresyon, radyasyon tedavisi görmüş olmak ve yaşlılıktır. Lokal ekstremsel nedenler ise flebin yanlış planlanması, kötü teknik, flebe baskı, gerilim, pedikülde vasküler trombus olması, pedikülün katlanması ve

enfeksiyondur. İntrensek nedenler içinde tek başına perfüzyon basıncında düşme yer alır. Flebin içeriği de kritik öneme sahiptir. Deri flepleri, kas fleplerine göre daha az kanlansa da iskemiye dayanıklılığı daha fazladır. Bu da derinin daha az metabolik ihtiyacının olmasından kaynaklanır (4,10,13,78,94). Çoğu vakada ekstrensek faktörler ameliyat öncesi iyi hazırlık, doğru teknik seçimi ve ameliyat sonrası dikkatli takip ile azaltılabilmesine karşın intrensek sebep olan iskeminin patogenezi sayısız çalışmaya rağmen henüz net olarak aydınlatılamamıştır. Bu neden ile flepte gelişen akut bir iskemi karşısında kan akımını arttırmaya ya da bir başka deyişle flepteki yetmezlik halini ortadan kaldırmaya yönelik yapılabilecek şeyler çok azdır.

Deri flebinin kenarlarının nemli ve sıcak tutulması, hiperbarik oksijen tedavisi ile flep yaşayabilirliğinin artırılacağı gösterilmiştir (2). Akson blokerlerinin (rezerpin, dopamin ve guanetidin) norepinefrin düzeyini düşürerek flep canlılığını arttırabileceği düşüncesi ile ilgili çalışmalar yapılmış ve çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Sonuç olarak bu ajanların sadece preoperatif verilebileceği önerilmiştir (2,13,95,96). Alfa reseptör blokerlerinden (fenoksibenzamin, fentolamin, talazolin, timaksamin ve klorpromazin) fentolamin, adrenalinin periferde düz kaslara etkisini geri çevirerek gevşetici rol oynayıp flep canlılığını artırır (4,97). Fenoksibenzamin ve fentolamin ile yapılan deneylerde çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (4,95). Angel, alfa adrenerjik blokaja ek olarak histamin ve serotonin reseptörlerine antagonist etkili olan klorpromazin ile yaptığı deneysel çalışmasında flep yaşamına yararlı etkilerini göstermiş olsa da diğer ajanlar gibi sonuçlar halen tartışmalıdır (4). Beta adrenerjik reseptörler, çizgili kasta cilde göre daha yoğun olarak bulunurlar. Bu nedenle bu reseptörleri aktive eden ajanların cilde olan etkileri sınırlıdır. Nonselektif beta adrenerjik bloker olan propranolol ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (4,91,93). Beta adrenerjik reseptör aktivatörleri (epinefrin, izoproteronol, metaproteronol, terbutalin, izoksuprin) birçok çalışmada araştırılmıştır (4,95-97). Direkt düz kas gevşeticilerden (hidralazin, nitrogliserin, diazoksit, dimetilsülfodioksit) hidralazin endotelden NO salınımını artırır ve düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyon yapar. Arteriollerin düz kaslarını gevşeterek periferik direnci azaltır (4,97). Preoperatif düşük doz hidralazin verildiğinde flep yaşamını arttırmada etkili olabileceğini düşündüren çalışmalar olmuştur (4,95,97). Nitrogliserin, düz kas hücreleri ve endotelden NO salınımını

arttırarak vasküler düz kas hücrelerinin gevşemesinde rol alır. Venöz sistem üzerine etkisi arteriyel sisteme göre daha fazladır (97). Çeşitli araştırmacılar flep kaybında venöz konjesyonu arteriyel yetmezliğe göre daha büyük bir problem olarak varsaymaktadır ve bu sebeple nitrogliserinin, dolaşım yetmezliği olan cilt fleplerinde yararlı olabileceğini düşünmektedirler. Rat ve domuzlarda yapılan araştırmaların çoğunda flep yaşamını arttırdığı belirtilirken bir çalışmada flep yaşamında artış bulunamamıştır (4,95,97). Dimetilsülfodioksit, doku ödemi azaltarak kan akımını etkilediği öne sürülmüş fakat bu etki ölçümler ile gösterilemediği için klinikte kullanım bulamamıştır (4,12,95). Kalsiyum kanal blokerleri iskemik durumdaki hücre membranında kalsiyum regülasyonu yapan kanalları dramatik şekilde değiştirir. Bu ajanlar vasküler yanıtı yapabilir. Hücrelere kalsiyum girişi inhibisyonu yaparak iskemik toleransı ve vasküler spazmın eşiğini arttırabilir. Pek çok araştırmacı çeşitli kalsiyum kanal blokerlerinin cilt fleplerinde flep yaşamını arttıracağını düşünerek denemeler yapmış fakat sonuçlar olumsuz olmuştur (4,95,97). Yukarıda bahsettiğimiz ajanlar dışında prostaglandinler ve blokerleri, kan reolojisini değiştiren ajanlar, steroidler ve serbest oksijen radikallerini temizleyen ajanlar çalışılmış fakat belirgin faydaları görülmemiş, bu konuda da fikir birliğine varılamamıştır (4,10). Günümüzde halen flepteki kan akımını etkileyerek, flep yaşayabilirliğini arttırıp iskemi ve nekrozu engellemede bilinen en etkili yöntem flep geciktirme işlemidir (10,56). Bu nedenle birçok çalışmacı geciktirme yöntemine yönelmiştir (13).

2.5. Pedikül Ayırma Zamanı

Rekonstrüktif cerrahide en önemli problemlerden birisi de pediküllü bir flebin en uygun pedikül ayırma zamanıdır. Flebin bulunduğu yer, hastanın yaşı, beslenme durumu, ek sağlık problemlerinin de bu zamanlamayı etkileyebilmesi cerrahın ideal pedikül ayırma zamanı konusunda kararsız kalmasına neden olur. Transpozisyonlarını takiben fleplerin yaşayabilirliği, pediküllerinin ayrılması sonrası maksimum sağkalımın sağlanabilmesi ve aksiyel paternli bir flebin iskemik random kısmının yaşayan oranının arttırılabilmesi çoğunlukla alıcı yataktan olan neovaskülarizasyona bağlıdır (80,86). Klinikte basamaklı flep transferlerinde pedikülün kesilmesinden önce yeterli neovaskülarizasyonun geliştiğinden emin olabilmek için en az 10-14 gün beklenmesi önerilmektedir. Bu uzun dönemde hareketleri kısıtlanan hastalarda kontraktürler, bası yaraları

gibi komplikasyonlar gelişebilmekte, iş ve güç kaybının daha uzun süre devam etmesine neden olabilmektedir (98). Geciktirmenin süresini Milton 7 gün, diğer birçok araştırmacı 2 hafta olarak bulmuştur (93). Morris ve Taylor yaptıkları çalışmada damarlarda dilatasyonun 2-3. gün arasında en hızlı olduğunu fakat 7 gün boyunca dilatasyonun devam ettiğini göstermişlerdir (99). Barker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fleplere 2,4,6,8,10,20,40 ve 80 gün geciktirme uygulayarak flep yaşayabilirliğini değerlendirmişler ve nekrozun anlamlı derecede azaldığını en erken geciktirme gününün 6. gün olduğunu göstermişlerdir (37). Restifo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 7 ve 14 gün uygulanan geciktirme zamanları arasında anlamlı fark bulmamışlardır (100). German ve arkadaşları köpeklerde 7 günde, insanlarda 10 günde flebin pedikülünün ayrılabilceğini belirtmişlerdir (101). Tsur ve arkadaşları sıçanlar ve domuzlarda yaptıkları deneylerde kaldırdıkları fleplerin pediküllerini farklı zamanlarda ayırmış ve bu ayırma işleminin domuzda 4, sıçanda 7 günde güvenle gerçekleştirilebileceğini göstermişlerdir (86,101). Douglas, Buchholz, Gatti ve Hynes gibi araştırmacılar da çalışmalarına katılan hastalarda 9-11. günde ayırdıkları fleplerde başarılı sonuçlar bildirmişlerdir (101-110). Klingenström ve Nylen kendi üzerlerinde tüp flep oluşturup bunları 7. günde ayırmış ve başarılı sonuçlar aldıkları için daha sonra hastalarındaki pediküllü flepleri de 7-14. günde ayırmışlar ve yine başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (111).

Deneysel çalışmalarda, flebin distal kısımlarında alıcı yatak damarları ile flep arasında 3-4 gün içinde damar bağlantıları gösterilmiş olsa da (112), klinik uygulamada cerrahlar flep nekrozu görmemek için halen fleplerini 14. gün civarında ayırmaktadır. Fakat neovaskülarizasyon üzerine etkisi olduğu bilinen anjiyojenik faktörlerin saptanıp flep deneylerinde kullanılmaya başlanması hem flep prefabrikasyonunun popülerleşmesinin sağlanması, hem de pedikül ayırma zamanının kısaltılabilmesi açısından ümit vaat etmektedir (98).

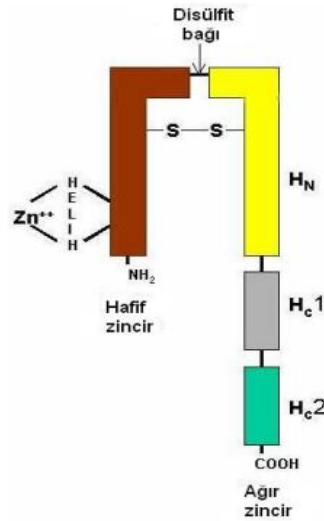
2.6. Botulinum Toksin A

Dr Justinus Kerner botulinum toksin zehirlenmesini 1817 yılında klinik olarak ilk tanımlayan kişidir. Daha sonra Prof van Ermengen botulinum toksininin kaslarda paralizi yaparak ölüme sebep olduğunu bildirmiştir. Toksinin kaynağı olan anaerobik sporlu basil "Bacillus botulinus" olarak adlandırmış ve ilerleyen zaman içinde ismi değişerek "Clostridium botulinum" haline gelmiştir. Botulizm için ilk antiserum 1897'de W. Kemper tarafından geliştirilmiştir. Botulinum toksininin ikinci serotipi (tip B) 1910'da Leuchs tarafından bulunmuştur. 1949'da Burgen botulinum toksininin etki mekanizmasını tanımlamıştır. 1973'de Scott tarafından hayvanlarda test edilen nörotoksin 1978'de yapılan pilot çalışmaların ardından, 1989'da strabismus, hemifasyal spazm ve blefarospazm tedavisi için ABD'de FDA (Food and Drug Administration) onayı ile kullanılmaya başlanmıştır. Botulinum toksin tip A'nın kozmetik kullanımı ise ilk olarak Jean Carruthers ve Alastair Carruthers tarafından rapor edilmiştir. Clostridium ailesinin iki ana ögesi olan Clostridium tetani ve Clostridium botulinum'un temel yapı ve fonksiyonel özellikleri benzerlik göstermektedir. Clostridium tetani merkezi sinir sistemi üzerine, Clostridium botulinum ise periferik sinir sistemi üzerine etkilidir. Botulinum toksini (BTx), sporlu, gram (+), anaerob Clostridium botulinum'un ekzotoksinidir (113). Botulinum sporları kaynadıktan sonra bile yaşamını sürdürebilmekle beraber, serbest toksin 80°C (176°F)'nin üzerinde, 10 dakikadan fazla tutulduğunda veya 7'nin üzerindeki pH değerlerinde kolayca ortadan kaldırılabılır (114).

Botulizmin 5 farklı klinik formu vardır.

1. İnfantil (intestinal) botulizm: Basil sporlarının yutulması sonrası bu sporların kalın barsakta açılması ile olur.
2. Besin (klasik) botulizmi: Basille kontamine yiyeceklerin tüketilmesi ile olur.
3. Yara botulizmi: Basille enfekte yaralarda oluşur.
4. İnhalasyon botulizmi: Biyolojik silah olarak kullanım sonrası literatürde üç olguda bildirilmiştir (114).
5. İyatrojenik botulizm: Tedavi amaçlı BTx uygulaması sonrasında bölgesel veya sistemik botulizm bulguları görülmesidir. Literatürde iki olguda bildirilmiştir (115).

Botulinum toksininin immünolojik olarak 8 serotipi tanımlanmış ve bunlar A,B,C1,C2,D,E,F ve G olarak adlandırılmıştır. Bütün serotipler, periferik sinir sisteminde, nöromüsküler bileşkenin presinaptik terminallerinden asetilkolin serbestleştirilmesini inhibe ederek gevşek bir paraliziye sebep olurlar (116). Toksin 150 kD molekül ağırlığında olup, ısıya duyarlı disülfid köprüleri ile birbirine bağlanmış, çinko bağlayıcı metalloendoproteaz içerir. Bu proteaz ile toxin aktif formuna dönüştürülür. Molekül ağırlığı 100 kD olan ağır ve molekül ağırlığı 50 kD olan hafif zincir polipeptid alt birimlerinden oluşmaktadır (117-122). Ağır zincirde C ve N terminalleri bulunmaktadır (Şekil 10). C terminali kolinerjik sistem terminaline affiniteden ve presinaptik reseptörlerin aracılık ettiği nörona bağlanmadan sorumludur. N terminali ise hafif zincirin endozomal membrana geçişini sağlar. Hafif zincir toksinin intrasellüler etkili parçasını oluşturmaktadır. Bu parça, endozom membranı ile presinaptik membranın birleşmesinden sorumlu SNARE (soluble N-ethyl maleimide-sensitive factor attachment proteine receptor) proteinlerine bağlanır (117,118).



Şekil 10. BTx'nin moleküler yapısı. BTx çinko endopeptidi olup, çinko bağlayıcı metalloendoproteaz içeren molekül ağırlığı 100 kD olan ağır ve molekül ağırlığı 50 kD olan hafif zincirden oluşmaktadır.

Normal fizyolojide, hücre sitoplazmasında yer alan bu proteinlerin bir bölümü endozom membranına, bir bölümü de bunlara karşılık olarak presinaptik hücre membranına yerleşir ve kalsiyum kanalı aracılığı ile hücre içerisine kalsiyum girişi ve sintagmin proteinin katkısıyla membranların füzyonu gerçekleşir. Böylece asetilkolin sinaptik aralığa boşalır.

Endozom; Klatrin gibi kılıf proteinlerinin membranı çevreleyip çukurcuk ve tomurcuklanarak vezikül oluşturması ile meydana gelir. Asetilkolin içeren sinaptik veziküller endozomdan tomurcuklanarak oluşur ve asetilkolin havuzuna katılır. Bu veziküller daha sonra asetilkolinin sinaptik aralığa boşalması için birleşim ve füzyon aşamalarından geçer.

Botulinum toksininin yol açtığı paralizi üç adımda gerçekleşir;

1. Bağlanma: Presinaptik kolinerjik reseptörlere geri dönüşsüz olarak bağlanır.
2. Hücre içine giriş: Nörotoksin reseptör bağımlı endositoz ile hücre içine girdikten sonra ağır ve hafif zinciri bağlayan disülfid bağları bilinmeyen bir mekanizma ile kırılır. Daha sonra ağır zincirin N terminali toksinin hücre içinde yer değiştirmesini ve hafif zincirin endozomal membrana geçişini sağlar.
3. Nörotransmitter salınımının inhibisyonu: Asetilkolin taşıyan veziküllerin hücre zarı ile birleşerek, içerdiği asetilkolini nöromusküler kavşağa veya ekrin bezlerinin otonomik boşluklarına bırakması için hücre içinde aktif SNARE kompleksinin bulunması gereklidir. BTx A'nın hafif zinciri intrasellüler etkili nörotoksin parçasını oluşturmaktadır. Bu parça, endozom membranı ile presinaptik membranın birleşmesinden sorumlu SNARE (soluble N-ethyl maleimide-sensitive factor attachment proteine receptor) proteinlerine bağlanır (117,118). Daha sonra çinko bağımlı endopeptidaz aktivitesi ile birkaçını parçalayarak kalsiyum kanalı aracılığı ile olan membran füzyonunu önler ve böylece asetilkolin salınımı engellenmiş olur (119-121).

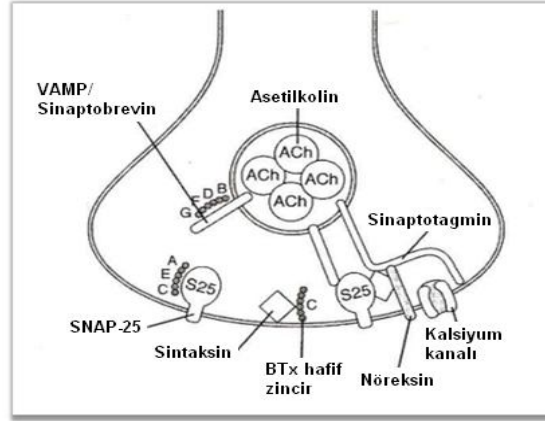
SNARE protein kompleksi üç temel yapıdan meydana gelmektedir. "Synaptobrevin" (VAMP = Vesicle-associated membrane protein), "SNAP25" (25kd synaptosome associated protein) ve "Sintaksin" dir. BTx'nin her bir serotipi farklı proteini ayırır.

Serotip A,C ve E: SNAP-25'i

Serotip C: SNAP 25'i ayırmanın yanında primer olarak Sintaksin üzerinden etkili olur.

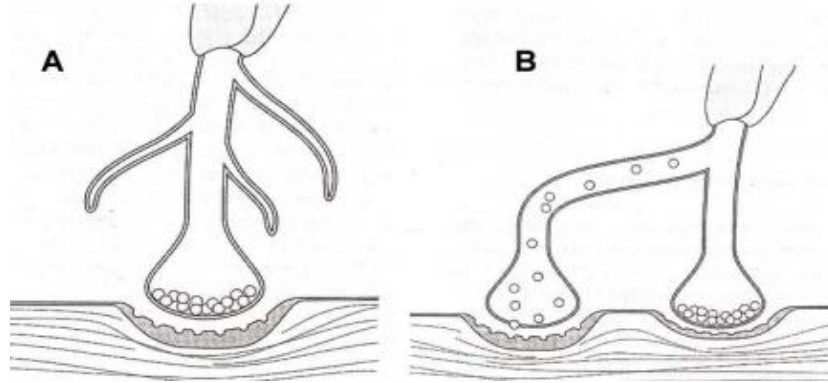
Serotip B, D, F ve G: Synaptobrevin (VAMP)'i ayırır (Şekil 11) (115,119-127).

Lokal olarak yapılan küçük miktarda BTx enjeksiyon yerinde kolinerjik motor sinir uçları tarafından tutulur ve nöromusküler aşırım bloğuna neden olur. Böylece toksin sistemik etki yapmadan lokalize paralizi yapar. Yeni motor sinir dallarının gelişmesi sonucu toksinin etkileri ortadan kalkar (37,117).



Şekil 11. Botulinum toksin serotipleri, asetilkolin salınımını SNARE reseptör kompleksinin farklı elemanlarını bloke ederek engeller. (Facial Plastic Surgery Clinics of North America 2003; 11.)

1. Başlangıçta, nonkollateral aksonal filizlenme oluşur. Bu sinir terminalleri, motor son plak bölgesinin ekspansiyonuna yol açıp yeni bir nöromüsküler bileşkenin inşa edilmesini sağlarlar. Bu yeni kollateral aksonlar, 28 günde iyileşir ve bütün nöral iletim yeni filizlenen aksonlar aracılığı ile olur (Şekil 12).
2. Orijinal ana terminaller nöral geçişi yeniden kazanır ve yeni oluşan aksonal filizlenmelerin sinaptik fonksiyonlarının kaybı ve eliminasyonları gözlenir. Bu yaklaşık 91 gün sonra tamamlanır ki BTx aktivitesinin klinik kaybı ile bağlantılıdır (113,115).



Şekil 12. BTx aktivitesinin sonlanma aşamaları.

A. Aksonal filizlenme, B. Sinir terminallerinin yeni fonksiyonel nöromüsküler bileşkeyi oluşturması ve sonrasında yeni terminalin gerileyip, ana terminalin tekrar işlev görmeye başlaması (Facial Plastic Surgery Clinics of North America 2003; 11.)

C serotipinin etki süresi A serotipine benzer. Diğer BTx serotipleri için (B,E,F) bu süre daha kısadır (124,127,128). BTx, asetilkolin sentezini, depolanmasını ve sinir boyunca elektriksel iletiyi etkilemez. Uzun süreli BTx

kullanımında geri dönüşümlü denervasyon atrofi gelişir. Ek olarak BTx'in duysal sistem üzerinde analjezik özelliği olduğu da bildirilmiştir (124,129).

BTx son 20 yıldır çok geniş yelpazede kullanım alanı bulmuştur. Çeşitli hiperkinetik-distonik bozukluklar (blefarospazm, spazmodik tortikollis, hemifasyal spazm, fokal distoniler gibi), akalazya, spazmodik disfoni, anal fissür, parmak krampı, parkinson tremoru, oddi sfinkter spazmı, sinkinezi, hiperhidrozis, migren tipi baş ağrısı, tetanoz, erişkin ve çocuklarda üst motor nöron sendromuna bağlı gelişen spastisite tedavisinde (serebral palsi, stroke, spinal kord yaralanması, travmatik kafa yaralanması, multipl skleroz, nörodejeneratif hastalıklar) (123), nistagmus, miyokimi, bruksizm, kekemelik, spastik mesane, hiperaktif çiğneyici kaslar (özellikle masseter hipertrofisi), aşırı idrar kesesi aktivitesi, perioperatif ve post operatif ağrı kontrolü, hipersalivasyon, mandibulanın öne alındığı ortognatik cerrahi operasyonlarda relapsı önlemek için EMG kontrollü geniohyoid kasın paralizisi, mandibular kondil fraktürlerinin kapalı redüksiyonla tedavisinde (113,130), ayrıca son yıllarda çok yaygın olarak yüz mimik kırıksıklıkları, fasiyal asimetri tedavisinde de kullanılmaktadır. Soğukta vasküler dokuda alfa 2 reseptörlerinin uyarılması ile vazokonstrüksiyon olur, bu reseptörlerin uyarımında fosfolipaz D, tirozin kinaz pp60 ve düşük molekül ağırlıklı protein RhoA kullanılır. BTx A'nın fosfolipaz D aktivasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (21,97). 2001'de Morris, BTx A'nın nöromuskuler kavşakta norepinefrin veziküllerinin salınımını bloke ederek domuz uterus arterinin düz kas hücrelerinde sempatik vazokonstrüksiyonu engellediğini ve kimyasal sempatektomi yaptığını göstermiştir (131). BTx A'nın vazospastik hastalıklarda kullanımı tesadüfen başlamıştır. 2003 yılında tanımlanamamış konnektif doku hastalığı olan bir hastaya palmar hiperhidrosiz nedeni ile BTx A enjeksiyonu yapılmış ve sonrasında hastanın reyno fenomenine bağlı ağrılarında azalma, parmak ucundaki ülserde iyileşme olduğu görülmüştür (132,133). 2007'de Van Beek 11 tane reyno fenomeni olan hastanın ellerine BTx A enjeksiyonu yapmış, araştırma sonucunda hastaların ağrılarında belirgin azalma, parmak uçlarındaki ülserlerde iyileşme ve atak sıklığında azalma olduğunu tesbit etmiştir. Böylece araştırmacı BTx A'nın düz kas hücrelerinde nöromusküler blokaj yaparak vazodilatasyona neden olduğunu savunmuştur (133). 2004 yılında Sycha, reyno hastalığı olan iki hastada pilot çalışma olarak BTx A kullanmıştır (134). Son birkaç yılda BTx A'nın bu etkilerini

ve mekanizmasını açıklamak üzere çalışmalar yapılmış. 2009'da Neumeister, iskemik parmaklarda BTx A tedavisini araştırmış, BTx A'nın norepinefrin, substans-P, glutamat, kalsitonin gen ilişkili protein gibi ağrı ile ilgili nörotransmitterleri etkilediğini varsaymış ve bu nörotransmitterlerin salınımında bloğa neden olarak sempatik stimülasyonu ve ağrıyı azalttığını göstermiş, böylece BTx A'nın iskemik parmaklarda vasküleriteyi düzelttiğini varsaymıştır (133,135). 2009'da Clemens, BTx A'nın sıçan femoral damar çaplarına ve anastomozların başarısına etkisini araştırmıştır. Bu amaçla cerrahiden 5 gün önce perivasküler 10 ünite BTx A uygulanan ratlarda, vazospazm ve trombozisin azaldığını, ven ve arterlerde dilatasyon olduğunu, anastomozun daha kolay ve kısa sürede yapıldığını göstermiştir (136). 2008'de Yıldırım, BTx A ile random paternli sıçan deri flebine cerrahi geciktirme işlemi yapmış ve fleplere 8 noktadan toplam 2,5 ünite botulinum toksin A uygulayarak flep yaşayabilirliğinin arttığını göstermiştir. BTx A'nın kullanımının pratik olduğunu ve klinikte kullanılabileceğini savunmuştur. Fakat BTx A'nın bu etkisinin patofizyolojisinin ve mekanizmasının daha fazla çalışmalarla araştırılması gerektiğini vurgulamıştır (137). 2009'da Kim, random paternli deri fleplerinde BTx A'nın sempatik nöronları baskılamasına bağlı vazodilatasyon yapacağını böylece flep kan akımını ve yaşayabilirliğini arttırabileceğini savunmuştur. Endotelial proliferasyonu ve kan akımını dolayısıyla da VEGF, CD31 gibi mediatörlerin salınımını arttırarak flep yaşayabilirliğini arttırabileceğini savunmuştur (138). 2009'da Arnold, sıçan deri fleplerinde BTx A uygulamasının flep sağkalımını arttırdığını belirtmiştir. Ayrıca perivasküler uygulanan 5 ünite BTx A sonrası 1,14 ve 28. günlerde damar çaplarını ölçmüş ve tüm ölçümlerde arter ile ven çaplarının anlamlı şekilde arttığını, bu artışın 14. günde maksimum seviyede olduğunu bildirmiştir (139,140). 2009'da Chenwang, kas-deri flebi genişletilmesinde BTx A uygulamasını araştırmış ve flepte direnci azalttığını, şişmeyi hızlandırdığını, genişleyen alanı arttırdığını ve flebin kontraksiyonunu azalttığını bulmuştur (141). 2005'de O'Reilly, aksiller hidradenit tedavisinde BTx A kullanımı sonrasında bölgesel lezyonların kaybolduğunu ve 10 aylık süreçte lezyonlarda tekrarlama görmediklerini bildirmiştir (142). Yüzdeki skarların genişlemesinin önlenmesi amacıyla yara dudaklarına BTx A enjeksiyonunun yara iyileşmesinde (143,144,) ve hipertrofik skar oluşumunun önlenmesinde faydalı olduğu bildirilmiştir (145). BTx A fleksör tendon onarımı yapılmış

hastaların kas origolarına uygulanmış ve tendon rüptürü oranlarının azaldığı bildirilmiştir (146). Subpektoral implant yerleştirilmesini takiben pektoral kas spazmını önlemek için BTx A uygulanmış ve hastaların ameliyat sonrası dönemi ağrısız geçirmesi, kozmetik sonucun daha iyi olması, geri dönüşümlü bir denervasyona sebep olmasından dolayı bu yöntemin nörektomiye tercih edilebileceği ifade edilmiştir (147,148). Ayrıca BTx A pektoral adaledeki kasılmaların protez üzerine yaptığı çekintilerin önlenmesi amacıyla kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (149). 2006'da Çelik, sıçan pektoral kas flebinde yaptıkları çalışmada cerrahi denervasyon ve BTx A ile yapılan kimyasal denervasyonun kas stabilizasyonu üzerine olan etkilerini araştırmış sonuçta iki yöntemin de kas stabilizasyonu sağladığını, denervasyon yapılan grupta daha fazla olmak üzere kaslarda atrofi görüldüğünü belirtmiştir (150).

Aminoglikozidler (gentamisin), siklosporin, D-penisilamin, kûrar tipi nondepolarizan blokerler, süksinilkolin gibi kas gevşeticiler, aminokinolonlar, kinidin, magnezyum sülfat ve linkozamid gibi ilaçlar BTx A'nın etkilerini değiştirirler. Bu ilaçların çoğu, nöromuskuler geçişte inhibisyon yaparlar ve BTx A'nın etkilerini arttırırlar. Klorokin ve hidroklorokin gibi aminokinolonlar hücre içerisinde BTx A ile etkileşip toksinin etkisini inhibe ederler (122,151,152).

Perkutan enjeksiyon sonrası o bölgede lokal ağrı, ödem, ekimoz, kanama, enfeksiyon olabilir. Genel bir halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, grip benzeri sendrom da bildirilmiştir. Kuru ağız hissi, deride kuruma, pullanma, geçici hiperestezi görülebilir. Yüz bölgesine yapılan uygulamalar sonucunda hayatı tehdit eden allerjik reaksiyonlar bildirilmemiştir. Nadiren erken dönemde enjeksiyon yapılan kaslarda güçsüzlük, blefarospazm ve hemifasiyal spazm tedavisi sonrasında pitozis, vertikal kayma, diplopi, epifora, kuru göz, lagofthalmi, nadiren entropiyon, ektropiyon, keratit, korneal perforasyon bildirilmiştir. Frontal bölgeye enjeksiyon sonrası kaş pitozisi, kaş asimetrisi ve kaşta kontur anomalileri görülebilir. Spazmodik tortikollis tedavisinde disfaji, lokal zayıflık ve semptomatik genel zayıflık bildirilmiştir. BTx A hedef dokudan atıldığında ya da yanlışlıkla kan damarına enjekte edildiğinde sistemik yan etkiler oluşabilir (153). Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında immunolojik ve karsinojenik yan etkiler tesbit edilmemiştir (152,154). BTx A'nın çocuklarda güvenilirlik ve etkinliği kanıtlanamadığından gebelik ve emzirme dönemlerinde kullanımı

önerilmemektedir (151). Botulinum toksinlerin teratojenitesi hakkında kesin bir bilgi yoktur. Ancak C kategorisinde bir ajan olarak kabul edilmektedir (155,156).

Botulinum enjeksiyonunun bazı avantajları; uygulama kolaylığı, duyuusal bozukluk yaratmaması, sistemik yan etki azlığı, etkilerinin 2-3 ayda geriye dönüşlü olması sayılabilir. Pahalı olması ve toksine karşı antikor gelişme olasılığı ise bazı dezavantajlarıdır (157). Tekrarlanmış tedavilerden sonra bazı hastalarda botulinum toksini enjeksiyonunun beklenen etkisine karşı klinik direnç oluştuğu gösterilmiş olup bu durum bioassay olarak botulinum toksinine karşı varlığı gösterilen antikorlar ile ilişkilidir (123). Nötralizan antikor gelişimi %5'den az oranda görülebilmektedir. Enjeksiyon dozu ve sıklığı ile ilişkili olabileceği, tekrarlanan dozların 300 MU'yi aşması durumunda riskin artabileceği düşünülmektedir (153). Btx A'nın toksik dozları, toksine hangi yöntem ile maruz kalındığına bağlı olarak değişir. 3500 MU insan zehirlenmesine yol açarken 30000 MU ağır zehirlenmeye neden olur. Yapılan çalışmalarda insan LD50'sinin 30-40 MU/kg olduğu gösterilmiştir (158).

Tedavide kullanılan BTx, Clostridium Botulinum'un çok miktarda toksin üreten suşlarından kültür yapılarak elde edilir. Elde edilen toksin ayrılır, çökeltir, saflaştırılır ve amonyum sülfatla kristalize edilir. Saflaştırılmış toz halindeki nörotoksin kompleksi 100 IU BTX A içeren flakonlar halinde ambalajlanmıştır. En sık kullanılan BTx preparatlarından Botox® -5°C, Dysport® +2-8°C'de saklanmaktadır. Serum fizyolojik ile sulandırıldıktan sonra her ikisi de +2-8°C'de aseptik şartlarda korunmalıdır. Botox® sulandırılırken çalkalanıp köpürdüğünde denatüre hale geçtiğinden, oldukça dikkatli ve nazikçe serum fizyolojik solüsyonu flakon iç duvarına doğru verilmelidir. Sulandırılmış bir flakon Botox® 100 IU içerir ve bir kişiye uygulama için yeterli gelir. Botox® 1-10 ml serum fizyolojik ile seyreltilerek kullanılır. Buna göre 2 ml serum fizyolojik ile seyreltilen Botox®, 0,1 ml'de 5 IU toksin bulunmaktadır. +4°C'de saklanan sulandırılmış Botox® preparatlarının aktivitesi 1. günün sonunda %90-100, 3. gün %70-80, 7. gün %40-50, 14. günde minimal olarak bulunmuştur. Sulandırıldıktan sonra buzdolabında 24 saatten fazla tutulmaması ve dondurucuda hiç saklanmaması önerilmektedir (116,159,160). BTx A, enjeksiyon bölgesinde 3 cm kadar etraf cilde yayılabilir (161). BTx A'nın ratlardaki etkin dozu 4 IU/kg, yüksek dozu ise 16 IU/kg'dır (162). Geniş alana yapılacak uygulamalar için örnek olabilecek uygulama, hiperhidrozis tedavisinde

uygulandığı şekilde 1 cm aralıklarla “elek düzeni” şeklinde enjeksiyon uygulamasıdır (161,163). BTx A uygulandıktan sonra hücre içinde aktivitesinin başlaması ile klinik etkilerinin görülmesi 3-5 gün arasında olmaktadır. Maksimum etkisi ise yaklaşık 30. günde görülür (161,164). Tek noktaya en fazla 50 IU Botox® yapılabilir. Enjeksiyonlar 3 aydan önce tekrarlanmamalıdır (122). 2002’de Aoki, fareler üzerinde yaptığı çalışmasında BTx A’nın maksimum kas paralizisi oluşturan dozu 29 IU/kg, etki süresini 36 gün olarak, hayvanların %50’sini öldüren dozu (LD50) 81,4 IU/kg olarak tespit etmiştir (165). 2009’da Clemens, sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmasında femoral bölgede perivasküler etki için 10 IU BTx A’nın uygulanabileceğini bildirmiştir (166). 2008’de Kim, random paternli flep yaşayabilirliğini arttırmayı hedeflediği bir çalışmada flep içine uygulanacak BTx A doz aralığının 0,5-2,5 IU (en optimal doz 1,5 IU) arasında olduğunu bildirmiştir (167). Kemirgenlerde yapılan bir çalışmada BTx A enjeksiyonu sonrası etkinin 24 saat içinde başladığı ve 4-6 hafta etkinin devam ettiği belirtilmiştir (168).

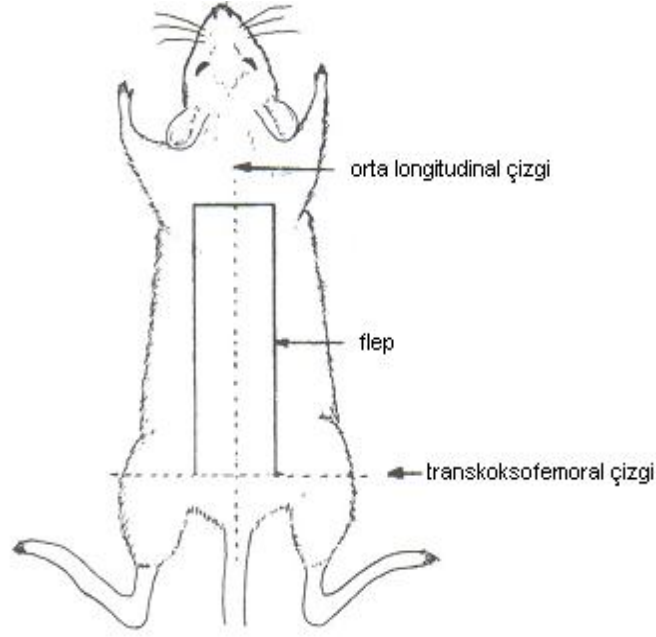
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde, İnönü Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi. Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 36 adet erkek Wistar Albino cinsi ratlar ile gerçekleştirilmiştir. Ratlara standart şartlarda (12 saat gün ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, 18-20 °C arasında sabit ısı odalarda) ve özel kafeslerde bakıldı. Deney öncesi ve sonrasında ratlar müstakil eşit büyüklükteki kafeslerde standart yem ve çeşme suyu ile ad libitum beslenmeye alındı. Sıçanların birbirine zarar vermesini önlemek amacıyla her kafeste 1 adet sıçan barındırılmıştır.

3.1. Deney Protokolü

3.1.1. Operatif Teknik

Girişim öncesi deney hayvanlarına Ketamin 100 mg/kg ile Xylazine 60 mg/kg anestezi ajanı im. uygulandı. Anestezi derinliği ekstremitelere çekme yanıtı ile değerlendirildi. Ağrılı uyarana yanıt alınmayınca cerrahi işleme başlandı. Ratlar yüz üstü yatırıldıktan sonra her iki ön ve arka ekstremitesi sabitlendi. Flep işaretlemesi yapılacak alan traş edildi. %10'luk Betadin ile antiseptik sağlandı. Ratların sırtından pannikulus karnozus tabakasını da içerecek şekilde en/boy 1/3 oranında 3x9 cm boyutlarında Khouri'nin modifiye ettiği McFarlane dorsal kaudal tabanlı random deri flebi planlandı (Şekil 13,14) (169,170).



Şekil 13. Mc Farlane random rat deri flebi.

McFarlane R.M., Heagy, F.C., Radin, S., Aust, J. C., Wermuth, R. E., A Study of The Delay Phenomenon In Experimental Pedicle Flaps, Plastic Reconstructive Surgery. 1965; 35: 245-62.

3.1.2.Çalışma Yöntemi

Çalışmada toplam 36 rat kullanıldı. Her grupta 12 rat olacak şekilde 3 grup oluşturuldu.

Grup 1 (Kontrol Grubu): Ratların sırtından kaldırılan kaudal bazlı random paternli flebe yalnız cerrahi geciktirme işlemi uygulandı.

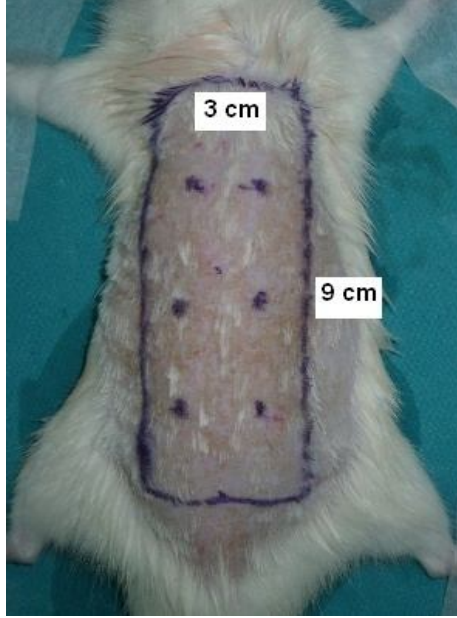
Grup 2 (Deney grubu): Cerrahi geciktirme işleminin 1 hafta öncesinden planlanan kaudal bazlı flebin alanında standart altı noktaya çizim yapılarak BTx A intradermal olarak uygulandı.

Grup 3 (Deney grubu): Kaudal bazlı planlanan flep alanına standart altı noktadan BTx A intradermal olarak uygulandığı seansta cerrahi geciktirme işlemi gerçekleştirildi.

9x3 cm'lik flep alanında boyuna üç eşit noktada ve enine iki eşit noktada toplam altı noktada BTx A enjeksiyon yerleri işaretlendi (Şekil 14). Kontrol grubuna herhangi bir farmakolojik ajan uygulanmazken diğer gruplara toplam 7,5 IU (3 diziem) BTx A (Botox®) belirlenen bu altı noktaya eşit dozda 1,25 IU (0,5 diziem) intradermal olarak enjekte edildi. BTx A dozu her rat için 30 IU/kg (250 gr'lık rata) olacak şekilde hesaplandı.

Geciktirme işlemi iki aşamalı olarak yapıldı.

1. aşama: Planlanan flebin uzun iki kenarının insizyonu ile tabanda pannikulus karnozus tabakası da dahil edilerek derin faysa üzerinden keskin diseksiyon ile flep eleve edildi (Şekil 15,16). Kanama kontrolü sağlandıktan sonra flep 5/0 prolen sutur ile orijinal yerine tekrar suture edildi.



Şekil 14. Flep boyutları.

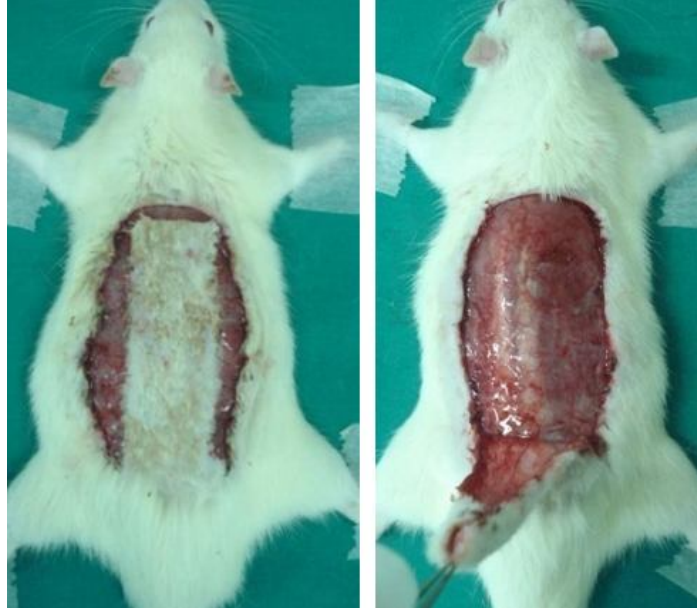


Şekil 15. Geciktirme işleminin 1. aşaması.



Şekil 16. Geciktirme işleminin 1. aşamasında flebin görüntüsü.

2. aşama: 7. gün sonunda daha önceki suturlar açılıp kaudal bazlı flebin kranial kısa kenarının da insizyonu yapılarak tekrar derin faysa üzerinden flep tabanından tamamen kaldırıldı. Sonra flep orijinal yerine tekrar suture edildi (Şekil 17). Flep kaldırılan ratlar cerrahi sonrası kafeslere tek olarak yerleştirilip izlendi.

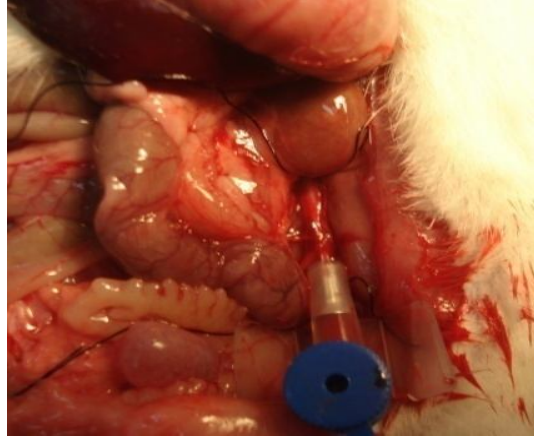


Şekil 17. Geciktirme işleminin 2. aşamasında flebin görüntüsü.

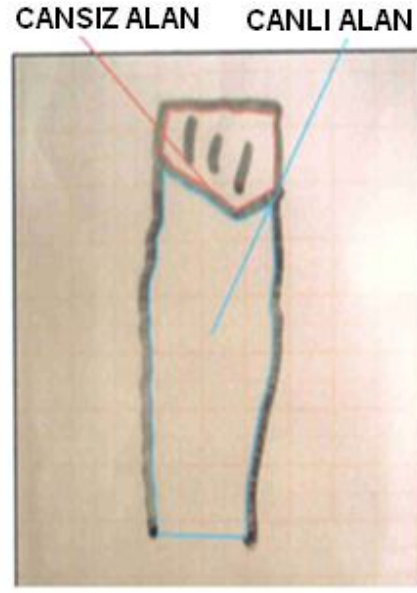
Çalışma döneminde grup 1'den 3 adet, grup 2'den 3 adet ve grup 3'den 1 adet hayvanın cerrahi sonrası flep tabanını yemesi üzerine flep yaşayabilirlik oranlarını etkileyebileceği düşünülerek çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan hayvanlar anestezi, cerrahi ve barınak koşullarını iyi tolere ettiler.

3.1.2.1. Anjiyografik Yöntem

Grup 1'den 4 adet, grup 2'den 4 adet, grup 3'den 4 adet toplam 12 adet rata anjiyografi uygulandı. Abdominal arter ve venin diseksiyonu sonrası bu damarlara 22 gauge'lik (mavi uçlu) kanül yerleştirildi (Şekil 18). 200 cc vücut ısısında ısıtılmış serum fizyolojik heparinize edildikten sonra arterden verilirken venden tüm kanın boşaltılması sağlandı. Daha sonra 75-100 ml'lik %60 baryum sülfat %40 serum fizyolojik karışımı manuel basınç ile arterden verildi. Venden baryum sülfat geldiği görüldüğünde ven bağlanarak baryum sülfat verilmeye devam edildi. Ratın kuyruk ve ayaklarında beyazlaşma görüldüğünde ise arter de bağlanarak işlem sonlandırıldı. İşlemi sonlanan ratlar -40 °C ısıda bir gün bekletildi. 25 kw/12 mas dozunda mamografi cihazı ile fleplerin çekimi için ratlar 1 saat öncesi oda ısısında bekletildi. Flepler ratların sırtından ayrıldıktan sonra proximal uçları işaretlenerek çekim yapıldı. Böylelikle fleplerdeki damar yapıları görüntülenmiş oldu.



Şekil 18. Abdominal artere kanül yerleştirilmesi.



$$\text{YAŞAYABİLİRLİK ORANI} = \frac{\text{CANLI ALAN}}{\text{CANLI A. + CANSIZ A.}}$$

Şekil 19. Hesaplanan flebin görüntüsü ve fotoğraflanması **Şekil 20.** Yaşayabilirlik oranının hesaplanması

3.1.2.2. Flep Yaşayabilirlik Oranlarının Değerlendirme Yöntemi

Tüm gruplarda flep canlı ve cansız alanlarının ölçümleri geciktirme işleminin ikinci aşamasından 1 hafta sonra tekrar anestezi verilerek yapıldı. Cerrahi masasına yüzüstü yatırılan hayvanların flepleri dijital fotoğraf makinesi (FUJIFILM) ile eşit uzaklıktan görüntülendi (Şekil 19). Her bir hayvan için şeffaf asetat kalıpları kullanılarak fleplerin canlı ve cansız alanları çizilip planimetrik kağıda aktarıldı.

Fleplerde oluşan keskin demarkasyon hattı canlı ve cansız alanların belirlenmesinde kolaylık sağladı. Tüm fleplerin yaşayabilirlik oranlarının hesaplaması ticari olarak ulaşılabilir bir bilgisayar programı olan Auto-CAD 2009 programı kullanılarak yapıldı ve oranlar yüzdelik cinsinden belirtildi (Şekil 20).

3.1.2.3.Histopatolojik Değerlendirme Yöntemi

Fleplerin yaşayabilirlik oranları hesaplandıktan sonra, histopatolojik değerlendirme için baryum anjiyografi yapılmamış ratların fleplerinin canlı ve cansız bölge arası geçiş zonunu da içeren 1,5 cm uzunluğunda tam kat deri örnekleri alındı. Örnekler %10'luk nötral formaldehid fiksasyonu sonrasında rutin doku takibine alınıp parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan 4 mikronluk kesitler alınıp hemotoksilen-eozin (HE) ile boyandı. Kesitler ışık mikroskopunda bir uzman patolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Değerlendirmede inflamasyonun yoğunluğu, baskın olan hücre tipine göre (nötrofil ya da mononükleer hücre baskınlığı), inflamasyonun dönemi ve bunlara bağlı olarak doku iyileşmesinin seyri, 1-3 arasında (+1: hafif inflamasyon, nötrofil miktarı daha az, mononükleer iltihap hücrelerine geçiş var, +3: ağır inflamasyon, yoğun nötrofil infiltrasyonu, belirgin nekroz, iyileşme gecikmiş ve +2: skor 1 ve 3 arasındaki diğer bulgular) skorlandı. Numunelerin fotoğrafları çekildi.

3.1.2.4.Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemi

Flepte canlı ve cansız alan geçiş zonuna gelmeden SOD enzim aktivitesi, MDA ve NO seviyelerini ölçmek için flebin 3-4 cm proksimalinden doku spesmen olarak alınıp alüminyum folyo içinde -70 °C dereceye ayarlı derin dondurucuda biyokimyasal testlerin yapılacağı güne kadar saklandı. Deneyden bir gün önce derin dondurucudan çıkarılan dokular bir gece süre ile buzdolabında (+4 C°) bekletilerek buzlarının çözülmesi sağlandı. Ertesi gün dokular soğuk SF (serum fizyolojik) ile yıkandı. Kurutma kağıtı ile kurulan dokular sonra tartılarak her bir örneğin yaş doku ağırlığı kayıt edildi. Homojenizasyon öncesi bistüri yardımı ile yaklaşık 0,2-0,4 gram ağırlığında küçük parçalara ayrılan doku örnekleri, içi buz dolu taşıma kaplarına yerleştirilmiş cam tüplere aktararak soğukluğu muhafaza edildi. Daha önce ikiye ayrılmış olan dokuların bir bölümünün üzerine soğuk 2 mL 150mM KCl eklenerek homojenizatörde 16000 devir/dakika hızda 2 dakika süre ile

homojenize edildi. Homojenat üzerine 1 mL daha 150 mM KCl ilave edildi ve 1 dakika süre ile tekrar homojenize edilerek süre 3 dakikaya tamamlandı. Homojenat vortekslelendikten sonra eppendorf tüplere aktarıldı ve bu homojenatlarda NO, MDA ve protein tayinleri yapıldı. Homojenatların bir bölümü, 1 saat süre ile 2200xg'de +6 C° soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Ayrılan süpernatantlar SOD ve protein tayinlerinde kullanıldı.

3.1.2.4.1. SOD Enzim Aktivite Tayini

Kullanılan Reaktifler: Substrat solüsyonu [0.3 mmol/L ksantin, 0.6 mmol/L. Na₂EDTA, 150 µmol/L NBT, 400 mmol/L Na₂CO₃, 1 g/L sığır serum albümini (BSA)], ksantin oksidaz (XO:167 Ü/L), 2M (NH₄)₂SO₄, 0.8 mmol/L CuCl₂. Kullanıldı.

Deneyin prensibi: Süperoksit dismutaz aktivitesi Sun ve arkadaşları tarafından tanımlanan (171), Durak ve arkadaşları tarafından modifiye edilen (172) NBT indirgeme yöntemi ile çalışıldı. Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbanans verir. Enzimin olmadığı ortamda meydana gelen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta, buradan aktivite hesabı yapılabilmektedir. Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir.

SOD aktivitesinin hesaplanması:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_K - A_N) / A_K \times 100$$

A_K: Kör absorbanansı

A_N: Numune absorbanansı

%50'lik inhibisyona 1 Ü denildiği için

$$\text{Aktivite (Ü/mL)} = [(\% \text{ inhibisyon} / 50) \times (1 / 0.1)] \text{ mL}$$

Spesifik aktivite (Ü/mg protein) = [Ü/mL/mg/mL protein]. Sonuçlar, Ü/mg protein olarak ifade edildi.

Deneyin yapılışı: Daha önce elde edilen homojenat süpernatantının bir kısmı 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5, v/v) karışımı içinde vortekslenip 1 saat süreyle 2200xg'de soğutmalı santrifüjde santrifüj edildi. Üstte oluşan etanol fazından SOD enzim aktivite tayini yapıldı.

	Kör	Numune
Substrat solüsyonu	2.85 mL	2.85 mL
Kloroform-Etanol Ekstraktı	-	0.100 mL
Bidistile su	0.100 mL	-
XO (167 Ü/l)	0.050 mL	0.050 mL

25 C°'de 20 dakika inkübasyon süresi başlatıldı.

CuCl ₂	1 mL	1 mL
-------------------	------	------

Distile suya karşı körden başlanarak numuneler 560 nm'de okundu.

3.1.2.4.2.NO Miktarının Tayini

Kullanılan reaktifler: Kadmiyum (Cd)granülleri, Glisin-NaOH tamponu (0.2 mol/L, Ph=9.7), 0,77 mmol/L N-naftietilendiamin (NNDA), 58 mmol/L sülfanilamid, 5 mmol/L CuSO₄, 0.1 mol/ L H₂SO₄, standart solüsyonu (10 mmol/L Na₂B₄ O₇ 0.1 mol/L NaNO₂), 55 mmol/L NaOH, 75 mmol/L ZnSO₄ kullanıldı.

Deneyin prensibi: Dokuda total nitrit miktarı deproteinize homojenattan Griess reaksiyonu ile belirlendi (173). Bu metotta total (nitrit+nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum granülleri, deproteinize numune süpernatantı ile 90 dk aralıklı karıştırılarak inkübe edildi. İnkübasyon sonunda nitratın tamamı nitrite redüklenir. Üretilen total nitrit, sülfanilamid ve N-naftietilendiamin (nnda) diazotizasyon reaksiyonu ile oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlendi.

Deneyin yapılışı: Organizmada endojen olarak üretilen nitrik oksidin doku ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, pek çok çalışmada total nitrit ve nitrat cinsinde hesaplanır. Çünkü nitrik oksit üretildiği bölgede saniyeler içinde okside olarak nitrite ve nitrate dönüşmektedir. Bununla beraber proteinden zengin homojenat, serum ve plazma gibi solüsyonlarda nonspesifik reaksiyonların önüne geçmek için homojenatlar önce deproteinize edildi.

Deproteinizasyon işlemi; 400 ml numune ve 2 ml ZnSO₄ eklenerek vortekslendi üzerine 1.250 ml NaOH ilave edilip vortekslendi ve 3500 g de 10 dak santrifüj edilerek numune olarak kullanılacak olan süpernatın elde edildi.

Aktif kadmiyum granüllü tüplerin üzerine 1 ml glisin tamponu ve 1 ml deproteinize numune eklendi; üzerine 2 ml deiyonize su ilave edildi. 90 dakika oda ısısında ara ara karıştırılarak inkübe edildi. inkubasyon sonunda tüp içeriğinde 2 ml alınıp 2.5 deiyonize su 1ml sülfanilamid 1 ml NNDA ilave edilip oda ısısında 1 saat inkübe edildi. Meydana gelen pembe rengin şiddeti 545 nm de köre karşı okundu.

Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi: Üzerindeki okside tabakanın uzaklaştırılması için 0.1 mol/L H₂SO₄ içinde bekletilen kadmiyum granüllerinden 2.5-3 g alarak 20 cc kapaklı plastik tüplere koyuldu. Deiyonize su ile yıkandıktan sonra 1-2 dakika CuSO₄ solüsyonu içinde bekletilerek granüllerin bakırla kaplanması sağlandı. Bakırla aktive edilen granüller, glisin tamponu ile yıkanarak 10 dakika içerisinde deneyde kullanıldı.

Hesaplama: Çözücü olarak 10 mmol/L Na₂B₄O₇ kullanılarak 0.1 mol/l NaNO₂ stok solüsyonu hazırlandı. Stok solüsyondan dilüsyon yapılarak hazırlanan standart solüsyonlar numune ile aynı şartlarda analiz edildi. Her bir standart için elde edilen absorban değerleri konsantrasyon miktarına göre grafiğe aktararak kalibrasyon doğrusu elde edildi. Bu grafiğe göre numunelerdeki total nitrit konsantrasyonu ölçüldü.

3.1.2.4.3.MDA Miktarının Tayini

Kullanılan reaktifler: %0,675 tiobarbitürik asit (TBA) çözeltisi, %10 triklorasetikasit (TCA) çözeltisi ve 20 mM/L 1,1,3,3-tetrametoksipropan (standart).

Deneyin prensibi: Esterbauer ve Cheeseman'nin metodu ile çalışıldı (174). En çok kullanılan lipid peroksidasyon tayin yöntemidir. Asidik ortamdaki tiobarbitürik asit ile 90-95 C° de reaksiyona giren malondialdehit (MDA) pembe renkli kromojen meydana getirir. Onbeş dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm de spektrofotometrik olarak okundu.

Deneyin yapılışı:

	NUMUNE	KÖR
Homojenat	0.5 ml	-
TCA %10	2.5 ml	2.5 ml
Deiyonize su	-	0.5 ml

90 C° 15 dakika bekletildikten sonra 3000×g'de 10 dakika santrifüj

Süpernatant	2 ml	2 ml
TBA %675	1 ml	MI

90 C° 15 dakika bekletilir, soğutulur ve köre karşı 532 nm'de okunur.

Hesaplama: 20 mM/L stok standart çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numuneler ile aynı şartlarda çalışıldı ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak MDA miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı.

2.1.2.4.4.Doku homojenat, süpernatant ve ekstraktlarında protein tayini

Kullanılan reaktifler: A reaktifi: 20 mmol CuSO₄, 34 mmol Na₃Sitrat, B reaktifi: 0.19 mmol Na₂CO₃, 0.1 mol NaOH ve Folin-Ciocalteu-Fenol (FCF) reaktifleri kullanıldı.

Deneyin prensibi: Protein miktarı Lowry metoduna göre tayin edildi (175). Bu yöntemde, alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşarak fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Fenol reaktifi) redükler ve koyu mavi bir renk oluşur. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Folin reaktifinin ilavesinde şunlara dikkat edilmesi gerekmektedir: Bu reaktif sadece asit ortamda dayanıklıdır. Fakat ifade edilen bu redükleme ise pH 10'da oluşmaktadır. Bu yüzden folin reaktifi süratle alkali bakır-protein çözeltisine ilave edilmeli ve vortekslenmelidir. Bu uygulama ile fosfomolibdat-fosfotungstat (folin) reaktifi parçalanmadan önce redüklenme olayı gerçekleşir.

Deneyin yapılışı: Standart grafiği çizmek için konsantrasyonu bilinen sığır serum albümininden hazırlanmış çözeltiler kullanıldı. “OD – mg/mL protein konsantrasyonu” grafiği çizilerek protein değerleri bu grafikten okundu. Standart ve numuneler köre karşı 700 nm’de okundu.

$$\text{Hesabı: Protein (mg/mL)} = (K_{st}/A_{st}) \times A_N$$

K_{st} : Standardın konsantrasyonu

A_{st} : Standardın absorpsiyonu

A_N : Numunenin absorpsiyonu

	Numune	Kör
Numune	10 µL	-
Deiyonize su	490 µL	500 µL
C Reaktifi (5/1:B/A)	2.5 mL	2.5 mL

Karıştırılır, 5-10 dakika beklenir.

D Reaktifi (1/1:FCF/d.s.)	0.25 mL	0.25 mL
---------------------------	---------	---------

30 dakika oda ısısında bekletilir ve 700 nm’de köre karşı OD okunur.

3.1.2.5. İstatistiksel Değerlendirme Yöntemi

Grupların biyokimyasal (SOD, MDA, NO) sonuçlar ile fleplerin yaşayabilirlik oranlarının sonuçları SPSS 16,0 windows programında analiz edildi. Nicel veriler ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri sunuldu. Üç gruba ilişkin biyokimyasal (SOD, MDA, NO) değerleri ve flep yaşayabilirlik oranlarının dağılımının normal dağılıma uygun olmadığı Shapiro Wilk testi ile saptandı ($p < 0,05$). Bu neden ile grupların karşılaştırılmasında nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis Varyans Analizi ve Bonferroni Mann Whitney U testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

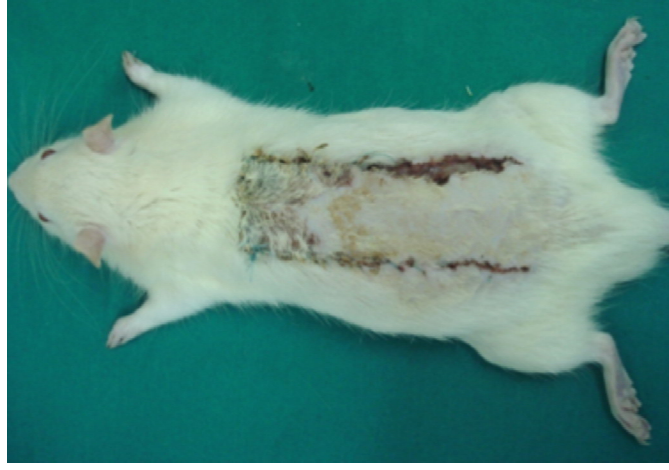
4.1.Fleplerin Yaşayabilirlik Oranlarının Sonuçları

Deney sonunda flep yaşayabilirlik oranları, grup 1’de %47,05 - %89,15 (ortalama %71,76); grup 2’de %45,45 –%85,36 (ortalama %58,83) ve grup 3’de %73,73 – %94,66 (ortalama %85,27) olarak bulundu. Bu oranlar karşılaştırıldığında grup 3’ün flep yaşayabilirlik oranları grup 1 ve 2’den, grup 1’in flep yaşayabilirlik oranları grup 2’den yüksekti. Mevcut dokularda yapılan hesaplama (Yaşayabilirlik Oranı: Canlı A/Canlı A +Cansız A) sonucu fleplerin yaşayabilirlik oranları gruplara ayrılıp tablo 1’de gösterilmiştir.

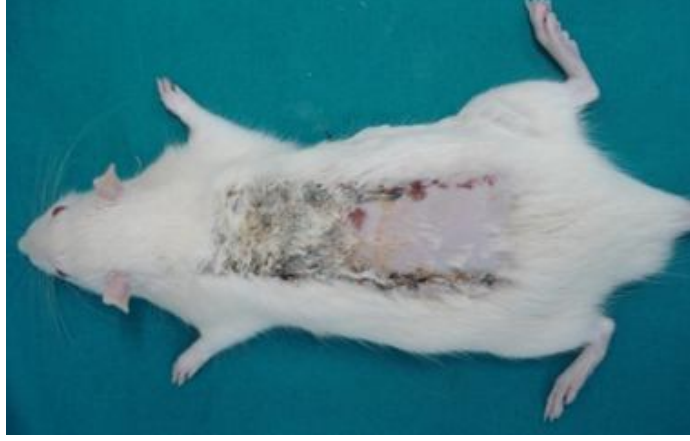
TABLO 1. Her üç gruptaki yaşayabilirlik oranlarının yüzdelik cinsinden hesaplanarak elde edilen sonuçları.

Ratlar.	Grup 1 Yaşayabilirlik oranı (%)	Grup 2 Yaşayabilirlik oranı (%)	Grup 3 Yaşayabilirlik oranı (%)
1	89,15	45,45	79,68
2	77,41	57,57	81,33
3	76,13	66,66	91,56
4	53,08	50,0	87,65
5	83,33	85,36	84,41
6	72,28	51,89	89,47
7	86,95	54,79	75,0
8	60,52	58,67	87,5
9	47,05	58,95	94,66
10			73,73
11			92,53
Ortalama	71,76	58,83	85,27

Aşağıda deney sonunda her üç grubun deneklerinden birer görüntü yer alıyor.



Şekil 21. Grup 1'deki deneklere bir örnek.



Şekil 22. Grup 2'deki deneklere bir örnek.



Şekil 23. Grup 3'deki deneklere bir örnek.

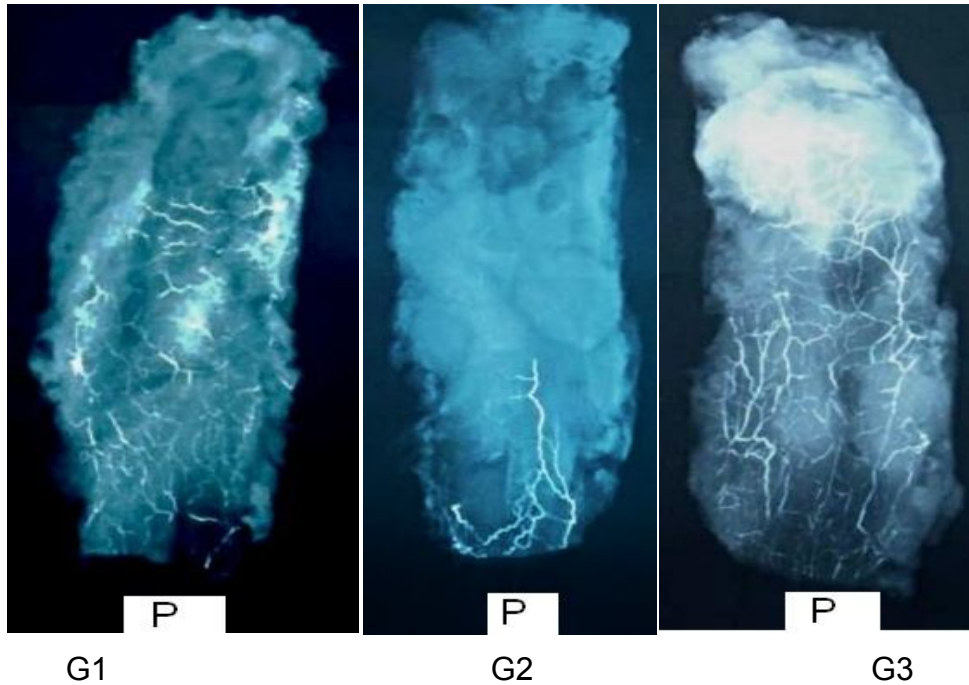
4.2.Flep Makroskopik Görünümü:



Şekil 24. Grup 3'deki deneklerden birinin flebinin makroskopik olarak görünümü, flepteki damarların dilatasyonu ve damarlar arası anastomozların arttığı görünmekte.

4.3.Anjiografik Sonuçlar:

Ratların fleplerine uygulanan anjiografik görüntüler incelendiğinde grup 3'de grup 1 ve 2'ye göre damar yapılarının daha belirgin olduğu ve damarlar arası anastomozların arttığı görüldü (Şekil 25).



Şekil 25. Grup 1,2 ve 3'deki fleplerin mikroanjiografik görüntüsüne birer örnek.

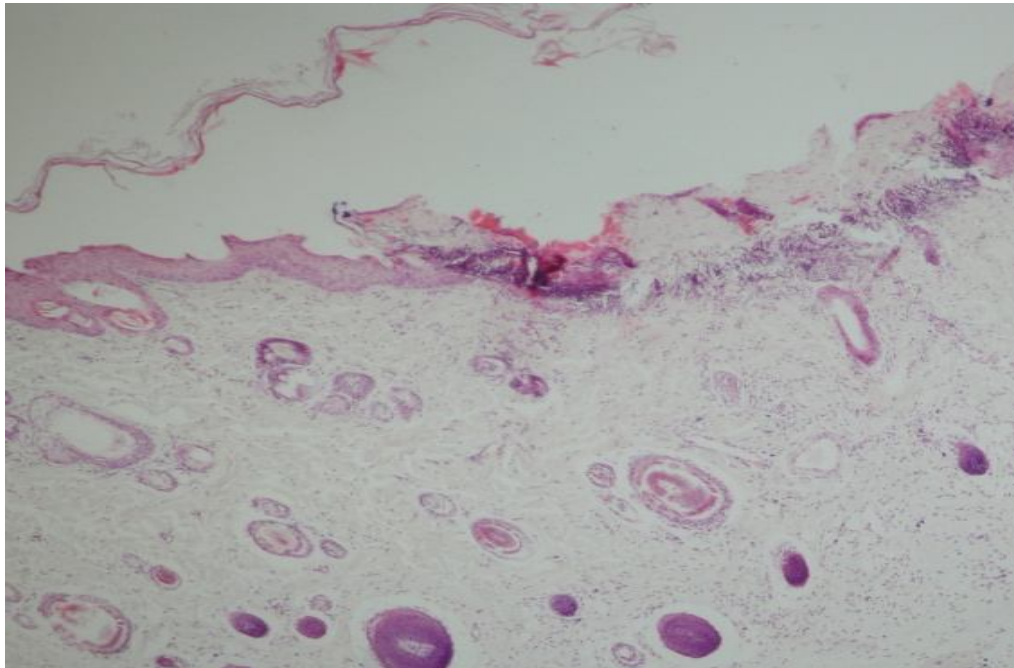
4.4.Histopatolojik Sonuçlar

Aynı patoloğ tarafından kr Şekilde değerlendirilen spesmenler inflamasyon, nekroz ve iyileşme oranlarına göre sınıflandırılmıŐtır (TABLO 2).

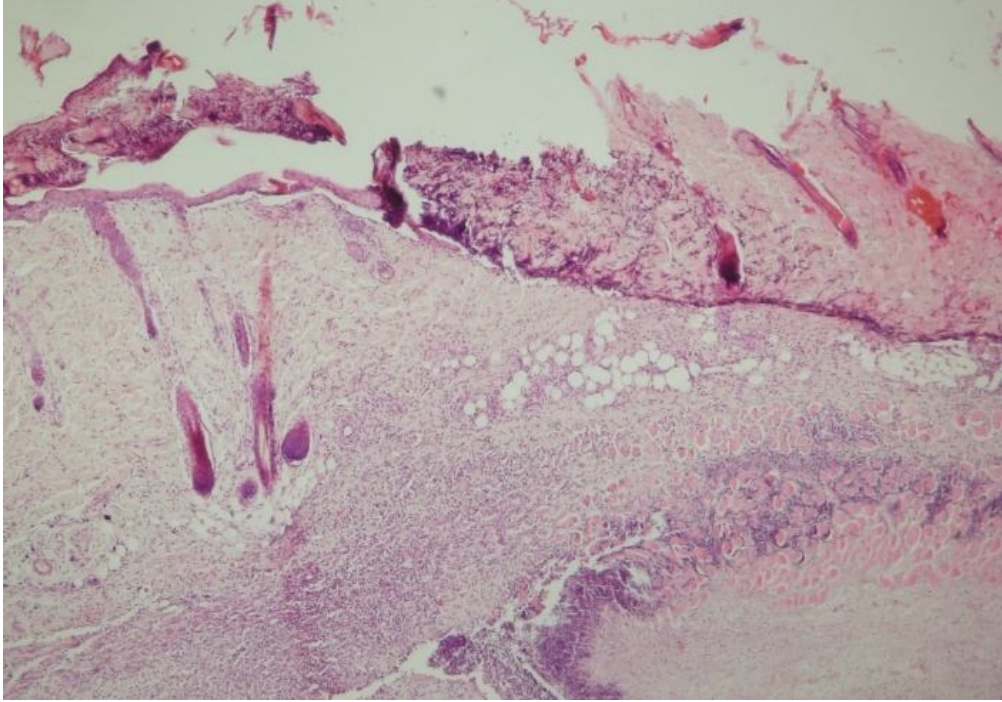
TABLO 2. Gruplar arasında inflamasyon, nekroz ve iyileşmede gecikme düzeylerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi.

<u>Ratlar</u>	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	+1	+2	+3
2	+1	+2	+3
3	+2	+3	+2
4	+1	+2	+2
5	+2	+1	+3
6			+3
7			+3
Ortalama	+1,4	+2	+2,71

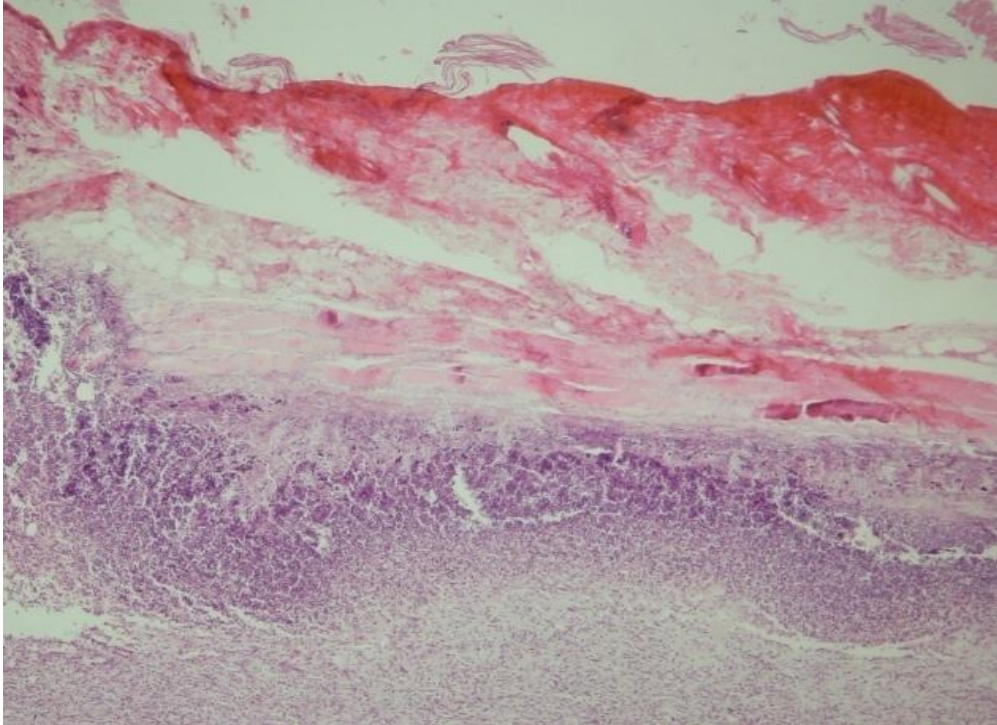
Grup 3'de, grup 1 ve grup 2'ye göre daha ağır inflamasyon ve iyileşmede gecikme görüldü. Yine grup 2'de iltihap ve inflamasyon grup 1'e göre daha fazlaydı (Şekil 26-28).



Şekil 26. Grup 1, akut inflamasyon daha az. (HE x40)



Şekil 27. Grup 2, orta derecede yoğunlukta inflamasyon var. (HE x40)



Şekil 28. Grup 3, devam eden ağır derecede inflamasyon, iyileşme bulgusu yok. (HE x40)

4.5.Biyokimyasal Sonuçlar

4.5.1. SOD Sonuçları

TABLO 3. SOD seviyelerinin karşılaştırılması.

Ratlar	Grup 1 SOD değerleri	Grup 2 SOD değerleri	Grup 3 SOD değerleri
1	2,968	2,308	1,336
2	1,392	0,949	1,292
3	1,044	1,148	0,42
4	0,649	0,803	1,889
5	1,623		

4.5.2. MDA Sonuçları

TABLO 4. MDA seviyelerinin karşılaştırılması.

Ratlar	Grup 1 MDA değerleri	Grup 2 MDA değerleri	Grup 3 MDA değerleri
1	1,424	88,813	9,027
2	44,48	100,397	45,652
3	31,95	47,699	104,007
4	23,207	91,954	12,182
5	50,123		

4.5.3. NO Sonuçları

TABLO 5. NO seviyelerinin karşılaştırılması.

Ratlar	Grup 1 NO değerleri	Grup 2 NO değerleri	Grup 3 NO değerleri
1	0,36	0,7	0,43
2	0,42	0,65	1,1
3	0,24	0,37	0,7
4	0,07	0,36	
5	0,41		

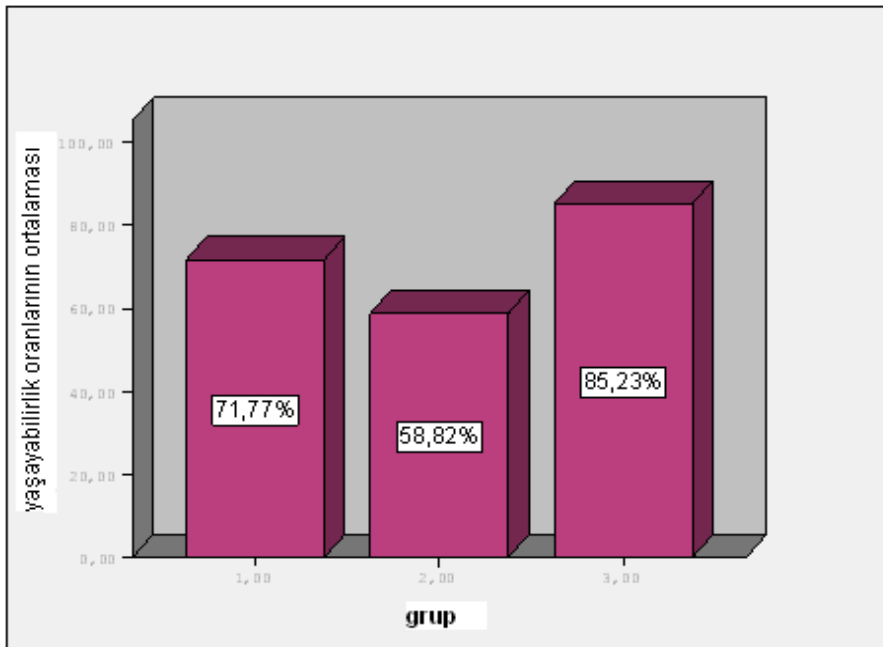
4.6. İstatistik Sonuçları

4.6.1. Fleplerin Yaşayabilirlik Oranları

TABLO 6. Fleplerin yaşayabilirlik oranları.

Grup	Sayı	Ortalama	Std. Sapma	En küçük Yaşaya bilirlilik oranı	En büyük Yaşaya bilirlilik oranı	P değeri
1	9	71,7667	15,01735	47,05	89,15	0,001
2	9	58,8156	11,66327	45,45	85,36	
3	11	85,2291	7,03462	73,73	94,66	

Tablo 6’da görüleceği üzere fleplerin yaşayabilirlik oranlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0.05$).



Şekil 29. Grup 1,2 ve 3’ deki deneklerden elde edilen ortalama yaşayabilirlik oranlarının şematik olarak gösterilmesi.

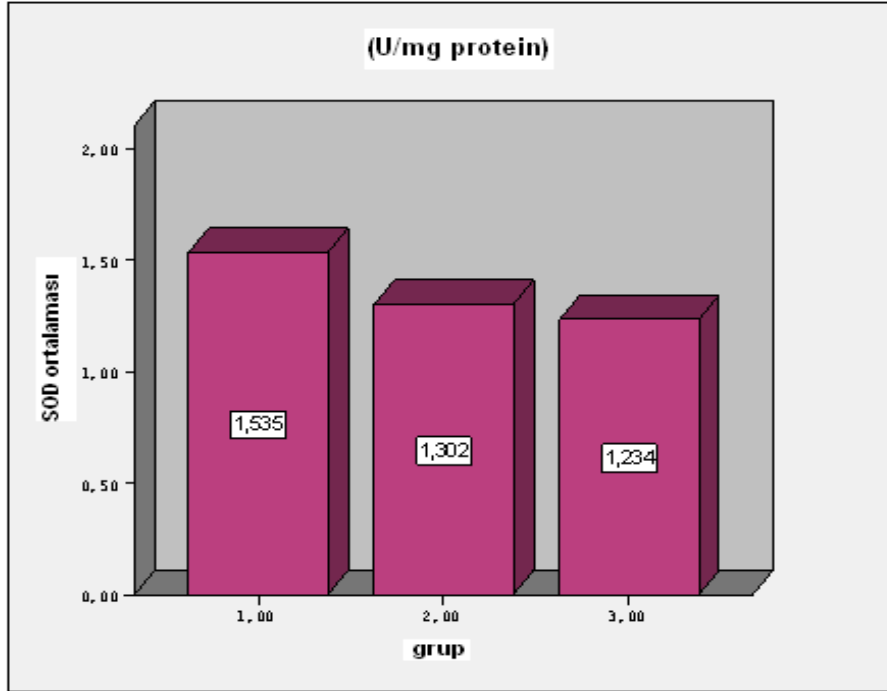
Fleplerin yaşayabilirlik oranlarına göre grup 3 ile grup 1 arasında ve grup 3 ile 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek fark saptandı ($p < 0,05$). Grup 1 ile grup 2 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

4.6.2. SOD Düzeyleri

TABLO 7. SOD düzeyleri

Grup	Sayı	Ortalama	Std. Sapma	En küçük SOD değeri	En büyük SOD değeri	p değeri
1	5	1,5352	,88144	,65	2,97	0,829
2	4	1,3020	,68541	,80	2,31	
3	4	1,2342	,60701	,42	1,89	

Tablo 7’de görüleceği üzere SOD değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).



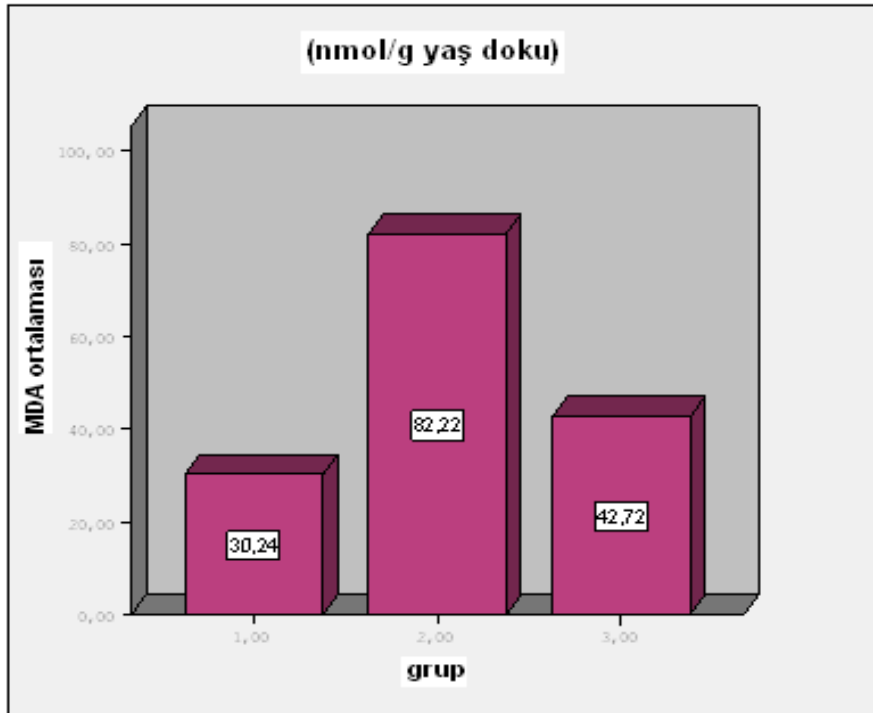
Şekil 30. Grup 1,2 ve 3’deki deneklerin ortalama SOD seviyelerinin şematik olarak gösterilmesi.

4.6.3. MDA Düzeyleri

TABLO 8. MDA düzeyleri.

Grup	Sayı	Ortalama	Std. Sapma	En küçük MDA değeri	En büyük MDA değeri	p değeri
1	5	30,2368	19,24097	1,42	50,12	0,119
2	4	82,2158	23,52531	47,70	100,40	
3	4	42,7170	44,09263	9,03	104,01	

Tablo 8’de görüleceği üzere MDA değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).



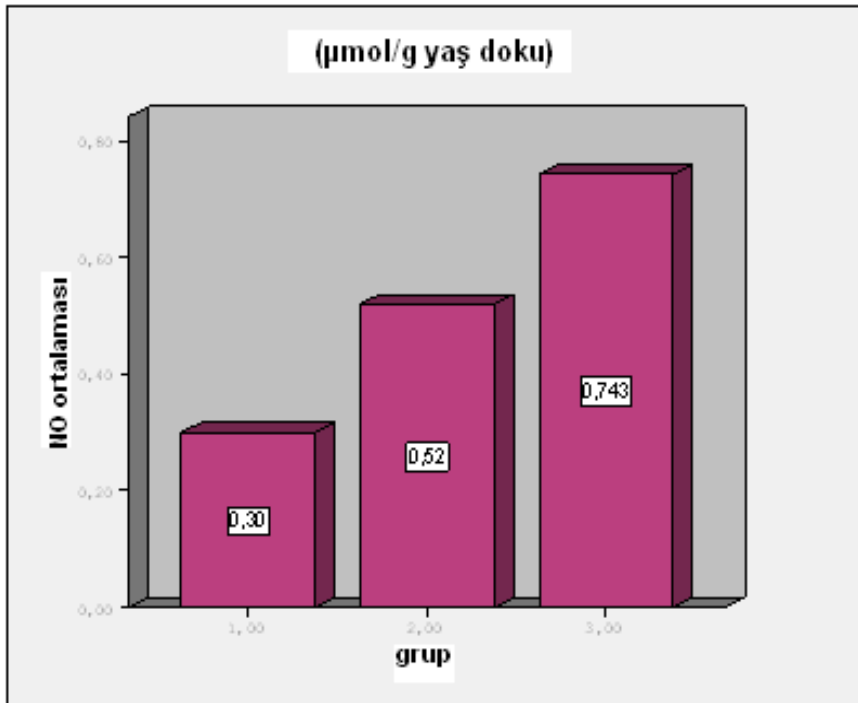
Şekil 31. Grup 1,2 ve 3’deki deneklerin ortalama MDA seviyelerinin şematik olarak gösterilmesi.

4.6.4. NO Düzeyleri

TABLO 9. NO düzeyleri.

Grup	Sayı	Ortalama	Std. Sapma	En küçük NO değeri	En büyük NO değeri	p deperi
1	5	,3000	,14714	,07	,42	0,54
2	4	,5200	,18019	,36	,70	
3	4	,6025	,39382	,18	1,10	

Tablo 9'da görüleceği üzere NO değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 32. Grup 1,2 ve 3'deki deneklerin ortalama NO seviyelerinin şematik olarak gösterilmesi.

5. TARTIŞMA

Rekonstrüktif Cerrahide flepler, vücutta çeşitli nedenlerle oluşmuş geniş doku defektlerinin onarımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Flep cerrahisi son yüzyılda çok gelişmiştir fakat geniş doku defektlerinin onarımı sırasında karşılaşılan en önemli problem olan flep distalindeki nekroz nedeni ile flep kullanımı kısıtlanmaktadır (13). Bu şekilde başarısız olan flep rekonstrüksiyonu, hastanede kalış süresini ve tedavi maliyetini yükselterek önemli bir sorun oluşturur (176).

Angel ve arkadaşları tarafından, klinik uygulamalarda geciktirmenin amacı bilinmeyen bir flebi yaşayabilir hale getirmek, bilinen bir flebin dolaşımını arttırarak yaşayabilirlik sınırını genişletmek olarak belirtilmiştir (176). Tüm flep rekonstrüksiyonlarında ana hedefler flep yaşayabilirliğini arttırmak, hastanede kalış zamanını ve maliyeti minimuma indirmek, hasta konforunu arttırmak, pediküllü fleplerde pedikül ayırma zamanını sağkalım oranını azaltmadan kısaltabilmek olmuştur. Bu amaçlar doğrultusunda, geciktirme etkisini ikinci bir ameliyatın risk ve masrafları olmaksızın, muhtemel mekanizmaları taklit ederek, daha basit şekilde sağlayacak farmakolojik ajanlar araştırılmış, fakat optimum bir madde henüz bulunamamıştır (34,40,49,50,59).

Yapılan araştırmalar sonucunda en etkin yöntem olarak fleplere geciktirme işleminin olduğu görülmüştür. Tagliacozzi'nin 16.yy'da mekanizmasını tam olarak anlamadan yaptığı ilk geciktirme işleminin üzerinden 400 yıldan fazla süre geçmiş olmasına rağmen patofizyolojisi tam olarak açıklanamamıştır (61). Bu fenomenin başlatıcısının "subletal iskemi" olduğu

düşünölmekte ve etkin olabilecek diğer mekanizmalar “A-V shunt” ların kapanması, dokuların hipoksiye alışması, daha önceden varolan damarların dilatasyonu sonucu flebe giden kan akımının artması şeklinde özetlenmektedir. Bu hipotezler “A-V shunt” ların kapanmasına neden olan ve dolaşımda bulunan katekolaminlere, flebin ilerleyici iskemi ve inflamasyonuna neden olan araşıdonik asit metabolitlerine, vazodilatasyonla sonuçlanan sempatektomi ve denervasyon hipersensitivitesine dayandırılmış fakat metabolik değişiklikleri yöneten faktörler henüz aydınlatılamamıştır (2,7,50).

Cerrahi geciktirme işleminde flep tamamen eleve edilmeden önce, flebin bir kısmı kaldırılıp iskemik ortam oluşturularak flep yaşayan alanının artırılması planlanır. Birçok araştırmada cerrahi geciktirmenin flep yaşayabilirliğini arttırdığı gösterilmiş, fakat mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Bunun için Dhar ve Taylor tarafından yapılan araştırmada flepte geciktirme işlemi ile yeni damar oluşumunda artış olmasından ziyade arterlerin çaplarında da artış olduğunu bunun en çok choke damarlarında görüldüğünü söylemişler; ayrıca geciktirme işlemi sırasında oluşan olayları ayrıntılı olarak inceleyip aşamalar halinde ayırmışlardır. Choke damarlarındaki dilatasyonun en çok 24-72. saatler arasında olduğunu, 7. güne kadar artmaya devam ettiğini ve bu dilatasyonun geri dönüşümsüz olduğunu göstermişlerdir (85). Geciktirilmiş fleplerde, vazokonstriksiyonla başlayıp vazodilatasyon, damar duvar hücrelerinde hipertrofi ve hiperplazi ile devam eden damarsal yapı değişiklikleri görölmektedir. Flep boyunca gelişen damarsal reoryantasyona anjiozomlar arasındaki “choke” damar dilatasyonu sonucu komşu anjiozomlarla bağlantı artışı eşlik etmektedir (5,6,75,77,85,177). Ghali ve arkadaşları, geciktirme işleminde erken ve geç dönemde gelişen olayları incelemişlerdir. Erken dönemde, sempatik tonusta değişmeye bağlı hiperadrenerjik durum olup, ağırlıklı olarak prekapiller sfinkterlerin etkilenmesi ile iskeminin arttığını, flebin sonraki elevasyonunda norepinefrinin tükenmiş olmasına bağlı vazodilatasyon olduğunu göstermişlerdir. Choke damarlarında dilatasyon ve yeniden oryantasyon olduğunu, geciktirme uygulanmış hücrelerde enerji gereksiminin azalıp, enerji metabolizmasının değiştiğini, elektrolit dengesinin daha iyi sağlandığını, reaktif oksijen radikallerinin azaldığını, aktive nötrofillerin salınımının azaldığını, apoptozisin azaldığını, mikrosirkülasyonun daha iyi olduğunu, bütün bunların dokunun iskemiye toleransını arttırdığını tesbit

etmişlerdir (93). Geç dönemde ise dokuda metabolik değişikliklerin olduğunu, oksijen ve glukozun kullanılıp, araşidonik asit ürünlerinin dengelendiğini, PGE₂ düzeyinin artmasına bağlı flep yaşayabilirliğinin arttığını saptamışlardır. Angiogenesis ve vaskulogenesis mekanizmaları ile yeni damar gelişimi olduğunu savunmuşlar, anjiogenesis ve choke damarlarında genişlemenin geciktirmenin erken döneminde olduğunu, vaskulogenesisin geciktirmenin daha geç safhalarında olduğunu tesbit etmişlerdir (93).

Geciktirmede hala en önemli sorun damar dilatasyonuna neden olan faktörün veya faktörlerin ne olduğudur. Katkısı olduğu düşünülen faktörler kan basıncının “fiziksel germe” etkisi ve hipoksi olarak düşünülmektedir (176). Hipoksi aynı zamanda neovaskularizasyon için oldukça önemli bir uyarıcı olup geciktirmenin mekanizmasını neovaskularizasyona dayandıran araştırmacılar da olmuştur (75,79,87-89).

Geciktirme işleminin birden fazla operasyon gerektirmesi, ağrı, enfeksiyon, kanama gibi komplikasyonlar araştırmacıları noninvaziv, kullanımı kolay farmakolojik ajanlara ve diğer geciktirme yöntemlerine yöneltmiştir (13). Sistemik olarak kullanılan farmakolojik ajanların ortaya çıkardığı yan etkiler nedeni ile son yıllarda lokal etkili farmakolojik ajanlar denenmektedir (178). Kerrigan, Pang ve arkadaşları 1980’de post operatif deri flebi kaybının primer etiyolojisinin arteriyel yetmezlik olduğunu göstermişlerdir (179). Bu nedenle günümüze kadar flepte kan akımını arttırmaya yönelik sayısız çalışmalar yapılmıştır. Deneysel olarak kan akımını arttırıp flepte iskemiye engellemeye yönelik denenilen rezepin, dopamin, guanetidin, talazolin, timoksamin, klorpromazin, epinefrin, isoproteronol, metaproteronol, terbutalin, isoxsuprine, hidralazin, nitrogliserin, diazoksit, dimetilsülfoksit, çeşitli kalsiyum kanal blokerleri, prostaglandinler ve blokerleri, kan reolojisini değiştiren ajanlar, steroidler, hiperbarik oksijen ve çeşitli kimyasal ajanlar kullanılırken ek olarak expander uygulaması, vasküler pedikülün ligasyonu veya embolizasyonu, flep çevresine sütür atma, klemp kullanımı, infrared ışın veya lazer uygulama, vakum uygulama gibi birçok farklı yöntemler denenmiştir (13,48). Araştırılan birçok ajan kontrol grubuna göre flep yaşayabilirliğini arttırsa da cerrahi geciktirme kadar etkili olamamıştır. Aynı ajanlar ile yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir (4,10,180). Flep cerrahisinde flep yaşamını arttırdığı konusunda üzerinde uzlaşılan tek yöntem cerrahi geciktirme tekniği olarak

kalmıştır (9,85,181,182). Birçok farmakolojik ajanın cerrahi geciktirme ile kombine edilince etkili olduğu gösterilmiştir. Bu da yine ek cerrahi gerektirmesi, postop aynı riskleri taşıması sebebiyle klinik kullanıma girmemiştir. Bu ajanlar sadece riskli hastalarda cerrahi geciktirmenin etkinliğini arttırmak için kullanılırsa avantaj sağlayabilir (34,54). Raposio ve arkadaşları, dimetilsülfoksiti hücre membran geçirgenliğini arttırması, hidrojenperoksiti ise lokal oksijen saturasyonunu arttırması amacıyla kullanmışlar ve bu iki ajanın beraber kullanıldığı flep modelinde yaşam oranlarında artış kaydetmişlerdir (183). Telloğlu ve arkadaşları, random paternli fleplerde glikozun oksidatif yoldan kullanımını, adenozin trifosfat sentezini arttıran ve laktat üretimi ile asidozu azaltması prensibinden yola çıkarak intraperitoneal karnitin kullanmışlar ve doza bağımlı olarak flep yaşam oranını arttırdığını göstermişlerdir (184). Nichter ve arkadaşları, organik bir nitrat olan ve düz kaslarda gevşemeye yol açan nitrogliserini deneysel olarak rat ve domuzda random paternli dorsal cilt fleplerinde lokal olarak kullandıklarında flep yaşam oranlarında anlamlı derecede artış olduğunu gözlemlemişlerdir (185). Goshen ve arkadaşları, alfa reseptör blokajı yapan fenoksibenzamin ve fentolamini subkutan ve lokal etkili krem formunda kullanarak sempatolitik etki yani vazodilatasyon ortaya çıkarmışlar, her iki kullanım yolunun da benzer sonuçlar doğurması üzerine sistemik etkisi daha az olan krem formunun kullanılmasını önermişlerdir (67). Linuma ve arkadaşları, alfa reseptör blokajı yapan lokal etkili vazodilatasyona yol açan ajanlardan kapsasin'i yavaş ilaç salınımına yol açan oflaksasin emdirilmiş silikon jel ile kombine ederek random paternli fleplerde kullanıp flep yaşam oranlarında artış kaydetmişlerdir (186). Karacaoğlu ve arkadaşları, cerrahi geciktirmeye alternatif oluşturabilmek için epinefrin ile yapılan kimyasal geciktirmeyi cerrahi geciktirme ile karşılaştırmışlar, kimyasal geciktirme ve cerrahi geciktirme uygulanan grupta, geciktirme yapılmayan gruba göre flep yaşayabilirliğinde anlamlı derecede artış saptamışlardır (49). Lineaweaver ve arkadaşları, vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ve cerrahi geciktirmenin flep yaşayabilirliği üzerine etkisini araştırmışlar ve preoperatif uygulanan VEGF enjeksiyonunun flep yaşayabilirliğini arttırdığını göstermişlerdir (50). Holzbach ve arkadaşları, VEGF gen terapisi ile cerrahi geciktirmenin benzer mekanizmalar gösterdiğini savunmuşlar, VEGF gen terapisi ile cerrahi geciktirme sonrası deri ve kasda VEGF düzeyi ile flep yaşayabilirliğini

karşılaştırmışlardır. Geciktirme sonrası deride VEGF düzeyi, cerrahi geciktirme ve VEGF gen terapisi uygulanan grupta anlamlı derecede yüksek bulunurken kastan yapılan ölçümlerde anlamlı fark saptamamışlardır. Flep yaşayabilirliği her iki çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla bulunmuştur (51). Karaçal ve arkadaşları, lidokain ve prilokain'i mikrocerrahi gerektiren uygulamalarda mekanik vazokonstriktör etkiyi azaltmak amacıyla lokal olarak random paternli fleplerde kullanmışlar ve flep yaşam oranlarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu kaydetmişlerdir (187). Davis ve arkadaşları, flep yaşam oranlarında artışa yol açtığı bilinen ilaçları birbiri ile kıyaslayan bir başka çalışma gerçekleştirmişler. Nifedipin, trolamin salisilat, nitrogliserin, trolamin salisilat-nitrogliserin kombinasyonu, nifedipin-trolamin salisilat-nitrogliserin kombinasyonlarını birbiriyle karşılaştırmışlar tüm deney gruplarında kontrol grubuna oranla yaşam oranları daha yüksek bulunmakla beraber en değerli sonuçları topikal uygulanan nitrogliserin-trolamin salisilat grubunda bulmuşlardır (188). Huemer ve arkadaşları, random paternli deri flebinde androjenik etkili olan nonivamid ve nicoboksil topikal kombinasyonunu cerrahi geciktirme ile karşılaştırmışlar, bu kombinasyonun flep yaşayabilirliği üzerine cerrahi geciktirme kadar etkili olmadığını fakat kontrol grubuna göre anlamlı fark olduğunu bulmuşlardır. Bu uygulamanın güvenli ve kolay olmasını avantaj olarak ileri sürmüşler ve her vakada olmasa da seçilmiş vakalarda kullanılabileceği belirtmişlerdir (189). Oh ve arkadaşları, ratlarda aksiyel paternli deri flepleri üzerinde tadanafil'in etkilerini araştırmışlar, flep nekroz alanlarının anlamlı olarak azaldığını göstermişler ve angiografik çalışma ile de choke damarlarında vazodilatasyonu tesbit etmişlerdir (55).

Fiziksel etkili yöntemleri içeren çalışmalara baktığımızda cerrahi insizyonun yerine klempleme, ligasyon, sütür, termokoagülasyon ve benzeri yöntemler denenmiştir. Ligasyon ve sütür atma gibi yöntemler her ne kadar kendini minimal invaziv olarak adlandırırsa da sonuçta hastaya bir girişim yapılmaktadır (48,85). Bu nedenle ligasyon yönteminde kanama, enfeksiyon, ağrı gibi cerrahi komplikasyonlar görülebilmektedir. Klempleme yöntemi ve lazerle termokoagülasyon yöntemlerinde cerrahi işlem yoktur ve cerrahi riskleri barındırmazlar. Klempleme yönteminin bazı dezavantajları, ağırlı bir yöntem olması, klempin kendisinin nekroz geliştirebilmesi ve sadece gevşek deri bölgelerine uygulanabilen bir yöntem olmasıdır (48). Lazer ile gerçekleştirilen

yöntemlerde en büyük sorun ise özel ve pahalı cihazların gerekliliği, yapılan araştırma sonuçlarının ise çelişkili olması nedeni ile her koşulda kullanılamaması laser kullanımını kısıtlamaktadır (40,44-47). Bu yöntemler cerrahi geciktirme işleminin yerini alamaz ancak cerrahi geciktirmeyi destekleyebilirler. Macionis ve arkadaşları, geciktirme amacıyla sıçanların sırt derisini kaudalde bir klemp ile sekiz gün boyunca sıkıştırarak iskemi yaratmayı amaçlamışlar, klempelenen deriden kaldırılan flep ile cerrahi geciktirme işlemi uygulanan ve geciktirme uygulanmadan kaldırılan kontrol grubundaki flepleri karşılaştırmışlardır. Çalışma sonunda flep yaşam oranları değerlendirildiğinde klempleme tekniği ile kontrol grubu arasında anlamlı, cerrahi geciktirme grubuna göre ise anlamsız fark tespit etmişler ve klemplemenin ancak gevşek deri dokusu olan sahalara uygulanabileceğini ve bunun cerrahi geciktirmeye göre tek dezavantaj olduğunu belirtmişlerdir (48). Barker ve arkadaşları, damar ve sinir yapısı direk gözlenebilen homozigot tüysüz fare kulaklarına ligasyon yaparak kulak distalde oluşan iskemi sonrasında kulağı aksiyel flep olacak şekilde kesip çalışma gruplarını sadece arter ligasyonu, ven ligasyonu, her ikisi olarak belirlemişlerdir. Bu gruplarında sempatektomi yapılan ve yapılmayan olarak alt gruplara ayırmışlar, alt grupları ise geciktirme işlem süreleri 0 (kontrol), 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 80 gün olacak şekilde daha alt gruplara ayırmışlardır. Çalışmanın sonucunda tüm gruplarda direk yapılan gözlemde 6. gün ve sonraki gruplarda yeni damar oluşumunda net artma ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak flep nekroz oranında da anlamlı bir düşme gözlemlenmiştir. Ana gruplarda nekroz oranını düşürmedeki başarı her iki damar ligasyonu yapılan grup, arter grubu ve ven grubu olarak sıralamışlar, ayrıca sempatektomiyi de beraberinde içeren gruplardaki nekroz oranını düşürmedeki başarıyı içermeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır (85). Ergün ve arkadaşları, ratlarda TRAM flep modelinde hidrostatik dilatasyon ile flep yaşayabilirliğini arttırmayı denemişler, sonuçta flep yaşayabilirliği üzerine en etkili yöntemin cerrahi geciktirme olduğunu fakat hidrostatik dilatasyon grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hidrostatik dilatasyon grubunda ven çapının arttığını, arter duvarının incelendiğini ve lümen çapının arttığını görmüşlerdir. Ayrıca flep yaşayan alanının da kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını görmüşlerdir (52). Scheufler ve arkadaşları, TRAM flep elevasyonu öncesi, anjiyografik olarak aynı taraf veya her iki taraf

inferior epigastrik arter embolizasyonu yaparak geciktirme uygulamış, nekroz ve komplikasyon oranlarının azaldığını görmüş ve bu yöntemin alternatif bir geciktirme yöntemi olabileceğini savunmuşlardır (190). Cohen ve arkadaşları, sıçanların sırt derisinde flash lamb pulsed dye lazer ile yaptıkları bir çalışmada, flep kaldırılacak alan çevresine 585 nanometre dalga boyunda 6 Joule/cm² oranında ışın uygulamışlar, uygulama sahasında selektif olarak subdermal ve subpapiller kan damarlarına termokoagülasyon ile iskemik ortam yaratmışlar ve sonuçta kontrol grubuna göre flep nekroz alanının %15.5 daha az olduğunu görmüşlerdir. Bu yöntemin cerrahi geciktirme ile anlamlı bir fark yaratmadığını saptamışlar, cerrahi geciktirmede gözlenen ağrı, kanama, enfeksiyon, skar gibi komplikasyonların kendi yöntemlerinde olmamasının bir avantaj olduğunu bildirmişlerdir (44-46). Bu çalışma sonrası aynı yöntem 2000 yılında Aslan ve 2003 yılında Erçöçen tarafından iki ayrı çalışmada kullanılmış ve bu çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (45,46). Reichner ve arkadaşları, Erbium: YAG lazer ve CO₂ lazer ile cerrahi geciktirmeyi karşılaştırmışlar, kontrol grubuna göre tüm gruplarda flep yaşayabilirliğinin arttığını, fakat geciktirme grupları arasında anlamlı fark olmadığını tesbit etmişlerdir (47). Ülkür ve arkadaşları, cerrahi geciktirmeye hiperbarik oksijen tedavisi eklemişler, hiperbarik oksijen tedavisinin cerrahi geciktirmenin süresini kısalttığını, kan akımını arttırdığını, cerrahi geciktirmenin etkinliğini arttırdığını saptamışlardır (53). Bu çalışmalarda görüldüğü gibi dokulara yapılan fiziksel etki ile dokuda iskemi yaratılarak cerrahi geciktirmede görülen fiziksel ve kimyasal değişiklikler oluşturulup flepteki dolaşımın erken düzelmesi amaçlanılmış, bazı çalışmalarda ise fiziksel etki ile kimyasal etki birlikte kullanılarak cerrahi geciktirme işleminin süresini azaltmak ve etkinliğini arttırmak amaçlanılmıştır. Bu çalışmalara örnek şunlardır: Cho ve arkadaşlarının 1998 yılında yaptığı çalışmada tavşan kulağında yapılan arteriyelize venöz flep üzerinde doksazosin mesilat ve nitrogliserini cerrahi geciktirme yöntemi ile birlikte kullanmışlardır. Çalışmada her ikisi de vazodilatatör etkili ilaçların ödem ve konjesyonu azaltıp dolaşımı düzenleyerek cerrahi geciktirmenin süresi ve başarısına etkisi olacağı düşünülmüştür. Çalışmada 5 grup kullanılmış, gruplar kontrol, cerrahi geciktirme, cerrahi geciktirme ile doksazosin mesilat, cerrahi geciktirme ile nitrogliserin ve her iki ilaçla birlikte cerrahi geciktirme olarak belirlenmiştir. Bu gruplar cerrahi geciktirmenin 4 ve 7 gün uygulandığı alt gruplara ayrılmıştır.

Çalışma sırasında nitrogliserin dozu belirtilmeyen transdermal flaster şeklinde günde bir kez, doksazosin mesilat ise oral yoldan 1mg/kg/gün şeklinde uygulanmıştır. Kombine gruplarda 3 gün ilaç kullanımını takiben 4 ve 7 gün sürecek olan cerrahi geciktirme işlemi yöntemine eklenmiştir. Sonuçta cerrahi öncesi işlem yapılmayan kontrol grubundaki fleplerde total nekroz görülmüştür. Dört günlük cerrahi geciktirmede flepte yaşam oranı %36.6, yedi günlük cerrahi geciktirmede %59.7 olarak saptanmıştır. Dört günlük cerrahi geciktirmenin yapıldığı kombine çalışmalarda doksazosin mesilatla %81.1, nitrogliserin flasterle %72.8, her ikisinin birlikte kullanımıyla %92.9 flep yaşam oranı saptanmıştır. Yedi günlük cerrahi geciktirmenin yapıldığı kombine gruplarda çalışmalarda doksazosin mesilatla %94, nitrogliserin flasterle %90.2, her ikisinin birlikte kullanımıyla %99 flep yaşam oranı saptanmıştır (34).

2003 yılından beri BTx A'nın vazodilatasyon yapıcı etkisi üzerine araştırmalar yapılmış, vazospastik hastalıklarda olumlu sonuçlar elde edilmiş ve tedavi amacıyla kullanmaya başlanmıştır (134,135). BTx A son 20 yıldır çok geniş yelpazede kullanım alanı bulmuştur. Blefarospazm, strabismus, servikal distoni, tortikollis, akalazyza, spazmodik disfoni, anal fissür, parmak krampı, parkinson tremoru, oddi sfinkter spazmı, sinkinezi, hiperhidrozis, migren tipi baş ağrısı, tetanoz, serebral palsy, vb. Ayrıca son yıllarda çok yaygın olarak yüz mimik kırışıklıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (162-164,191). Botulinum toksini hücre membranı üzerinde bulunan SNARE proteinlerine bağlanarak etki göstermektedir. Bizim çalışmamızda kullandığımız BTx A preparatı ise bir SNARE proteini olan SNAP-25'e bağlanır ve nöromusküler bileşkede asetilkolin salınımını bloke eder. Asetilkolin salınımının blokajı, motor nöronlarda ve çizgili kasta geçici felç etkisi yaratmaktadır. Nöromusküler bileşkedeki bu etkinliğinin öğrenilmesi sonucu toksin birçok alanda tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Çizgili kaslar yanında düz kas gama nöronlarını etkilemesi ise refleks hiperaktivitenin de engellenebileceğini gösterir. Toksin ayrıca parasempatik ve postganglionik kolinerjik liflerden de asetilkolin salınımını inhibe eder. Bu etki mekanizması ise düz kasların aşırı çalıştığı akalazyza ve hiperhidrozis gibi durumlarda tedavi amacıyla kullanımını olanaklı kılar. Botulinum toksininin otonom sinir sistemi ve damar düz kaslarına olan etkisi, sempatik vazokonstriktif durumlarda da kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Bu amaçla Sycha ve arkadaşları BTx A preparatını reynaud fenomeni bulunan hastalarda kullandılar

(134). Reynaud fenomeni bilindiği gibi arteriyel yetersizlik sonucu gelişen ve epizodik olarak periferik organların iskemisi ile sonuçlanan bir hastalıktır. Mekanizması tam olarak anlaşılmassa da çeşitli tetikleyiciler sonucu anormal sempatik vazokonstriktif hiperaktiviteden şüphelenilmiştir (192). Reynaud fenomeninde tedavide sempatotolitik ilaçlar kullanılmakta ve cerrahi olarak da sempatektomi uygulanmaktadır (193,194). BTx A'nın presinaptik kolinerjik inhibisyon ile nörojenik relaksasyona yol açması ve toksinin tekrarlayan elektriksel uyarılara karşın izometrik arteriyel vazokonstrüksiyon sıklığını %70-80 oranında azaltması teorisinden yola çıkan araştırmacılar reynaud fenomeni bulunan hastalarda tedavi amacıyla BTx A kullandılar. Sonuçlar klinik olarak (ağrı, uyuşukluk, soğuk hassasiyeti) ve deri kan akımını lazer doppler flowmetre kullanarak değerlendirdiler. 19 ve 65 yaşlarındaki, tedaviye dirençli 2 kadın hastaya uygulanan BTx A tedavisi sonucu 1 hafta sonra klinik olarak iyileşme ve 6 hafta sonra deri kan akımında yükselme saptadılar (131). Sempatik vazokonstriksiyon bilindiği gibi alfa reseptörleri üzerinden kaynaklanmaktadır. Alfa 2 reseptörlerinin sinyal iletiminde ise fosfolipaz D aktivitesi önemli rol oynamaktadır. BTx'nin fosfolipaz D aktivitesini azalttığı bilinmektedir (21). 2005 yılında Van Beek ve arkadaşları aynı zamanda reynaud fenomeni de bulunan bir hastaya palmar hiperhidroz tedavisi nedeni ile BTx A uyguladılar ve hastanın 3 ay içinde reynaud fenomeninden kaynaklanan ağrısının azaldığını ve ülserasyonların düzeldiğini gördüler. Bunun üzerine 11 hastaya tedavi amacıyla BTx A uyguladılar. Vazospazm ve siyanoz sıklığında azalma ve ülserasyonlarda gerileme kaydettiler. Enjeksiyondan 2 gün önce ve 1 hafta sonra yaptıkları deri sıcaklık ölçümlerinde ise 4 derece kadar farklılık kaydettiler ve bunu BTx'nin direkt vazospazmı engellemesine ve alfa 2 reseptörlerin damar düz kası üzerine etki göstermesinin engellemesine bağladılar (133). Kalsitonin ilişkili peptid güçlü bir vazodilatatördür ve yara iyileşmesinde rol oynar. BTx'nin kalsitonin ilişkili peptid miktarında yükselmeye yol açtığı kas çalışmalarından bilinmektedir (195). 2007 yılında Matic ve arkadaşları BTx'nin kas perfuzyonu üzerinde etkisini incelediler. Bu amaçla New Zaeland tipi 20 tavşanın masseter kasına 25 IU botulinum toksini uyguladılar. Normalde paralize bir kasta aktif olarak kasılan kasa göre kan akımının daha düşük olması beklenirken dinamik bilgisayarlı tomografi perfüzyon görüntülemesinde, toksin ile paraliziye uğratılmış masseter kasında kontrol grubuna göre toplam kan akımı, kan hacmi ve yüzey geçirgenlik

oranında yükselme saptadılar. Bu durumu kalsitonin ilişkili peptid miktarındaki yükselmeden kaynaklanabileceği yorumunda bulundular. Paralize edilmiş bir kasın glikoz kullanım oranının düşmesi beklenirken pozitron emisyon tomografi incelemelerinde, toksin ile zayıflatılmış kasın glikoz kullanım oranını kontrol grubuna göre daha yüksek olarak buldular. Bu durumu yine aynı peptidin glikoliz miktarını artırma etkisine bağladılar (168,196).

BTx A son yıllarda plastik cerrahide deneysel flep cerrahisi alanında kullanılmaya başlanmış olup bu konuda yeterli çalışma pek yoktur. Bunlardan ilki Kim ve arkadaşları tarafından 2009 yılında incelenmiştir. Kim ve arkadaşları, random paternli kutanöz deri fleplerinin yaşayabilirliği üzerine BTx A'nın etkilerini araştırmış ve olumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Ayrıca VEGF ve CD31 salınımının arttığını da göstermişlerdir. Bu çalışmada deney grubundaki ratlarda 2x8 cm'lik kranial bazlı random paternli fleplere 1,5 IU botulinum toksini enjeksiyonu cerrahi sırasında yapılmış ve flep yaşam oranları 1. haftada elde edilmiştir. Flep yaşam oranları deney grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise iki deney grubunda (grup2 ve 3) 3x9 cm'lik kaudal bazlı random paternli fleplere cerrahi sırasında (grup 3) ve cerrahiden bir hafta önce (grup 2) altı noktaya eşit dozlarda toplam 7,5 IU botulinum toksini enjeksiyonu yapıldı ve flep yaşam oranları enjeksiyondan sonra 2. ve 3. haftalarda elde edildi. Bu çalışmadaki grup 3 Kim ve arkadaşlarının çalışmasındaki deney grubuna denk düşmektedir. Grup 3'deki flep yaşayabilirlik oranı grup 2 ile kontrol grubuna (grup1) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ve BTx A'nın cerrahiden 1 hafta önce yapılmasının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark sağlamadığı görüldü. Kim ve arkadaşları BTx A'nın kullanımının pratik olduğunu ve klinikte rahatlıkla kullanılabileceğini savunmuşlar, fakat BTx A'nın deri fleplerindeki bu etkisinin patofizyolojisinin ve mekanizmasının daha fazla çalışmalarla araştırılması gerektiğini de vurgulamışlardır (138). 2008 yılında Yıldırım ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada rat dorsal deri flebi üzerinde çalışmamızdan farklı olarak 2x7 cm'lik kranial bazlı flep kullanılmış ve botulinum toksini'nin dozu ise 2,5 IU olarak ayarlanılmıştır. Enjeksiyonu takiben 2. haftada yapılan ölçümler sonucunda deney grubunun flep yaşam oranı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Deney grubu çalışmamızda grup 3'e denk gelmektedir ve 3x9

cm'lik kaudal bazlı dorsal random paternli rat deri flebine altı eşit noktada toplamda 7,5 IU botulinum toksini yapıldı. Yıldırım ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak grup 2'de ise cerrahiden 1 hafta önce botulinum toksini enjeksiyonu yapıldı fakat grup 2'nin flep yaşayabilirlik oranı bakımından diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı görüldü (137). Bu iki ayrı çalışma bizim çalışmamızdaki grup 3 ile benzer sonuçlar göstermektedir. 2009'da Clemens ve arkadaşları, hayvan modelinde BTx A ile anastomotik trombozisin önlenebileceği düşüncesi ile bir araştırma yapmışlar ve BTx A uygulanan ratlarda, vazospazm ve trombozisin azaldığını, ven ve arterlerde dilatasyon olduğu, anastomozun daha kolay ve kısa sürede yapıldığını tespit etmişlerdir (136). 2009 yılında Chenwang ve arkadaşları, kas-deri flebi genişletilmesinde BTx A uygulamasını araştırmış sonuçta flepte direncin azaldığını, şişmenin hızlandığını, genişleyen alanın arttığını ve flebin kontraksiyonunun azaldığını savunmuşlardır (141). Cerrahi geciktirme ve değişik ajanların kullanıldığı kimyasal geciktirme işleminde bu işleminin ne zaman yapılması gerektiği konusunda literatürde kesin bir sonuca ulaşamamıştır. Yapılan birçok çalışmada araştırmacılar 7 ve 14 gün geciktirme zamanını savunmaktadır (37,93 ,99,100). BTx A'nın kullanımında vasküler yapı üzerine etkisi ve dolayısıyla da geciktirmenin ne zaman yapılması gerektiği konusunda net bir çalışma yoktur. Literatürde bu ajanın kas dokusu üzerine olan etkisi konusunda klinik ve deneysel veriler mevcuttur. Buna göre BTx A'nın kas dokusu üzerindeki etkisi doz bağımlıdır ve geri dönüşümlüdür. Uygulamadan 6 saat sonra kas zayıflığı başlar fakat tam paralizinin olması ve klinik etkilerinin görülmesi 7 günde olur, 4-6 ay arası ise etkisi devam eder (141,197). Biz çalışmamızda geciktirme işlemi için bu verileri dikkate alarak cerrahiden 7 gün önce ve cerrahi sırasında BTx A uyguladık, fakat bu sürenin ne olduğu konusunda kesin bir bilgi olmadığı için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Etkisinin erken başlamasının gösterilmesi durumunda geciktirme süresinin kısa tutulabilmesi daha uygun klinik kullanım alanı yaratacaktır. Bu çalışmada kimyasal sempatektomi yaptığı daha önce gösterilmiş BTx A ile random paternli deri flebinin yaşayabilirliğini arttırmayı ve hangi günlerde bu artışın daha fazla olduğunu göstermeyi amaçladık. Bu çalışmada flep elevasyonu sırasında hem makroskopik hem de anjiyografik olarak grup 3'de flep damarlarının belirgin olarak dilate olduğunu ve damarlar arası anastomozların

arttığını gözlemledik. Grup 2’de ise damar yapısında dilatasyon ve damarlar arası anastomozların artışı izlenmedi. Grup 3’deki fleplerde inflamasyon ve iyileşmede gecikmenin en çok görülmesine rağmen yaşayabilirlik oranlarının ortalama değeri %85,27 idi ve bu değer diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. BTx A’nın vasküler yatak üzerindeki etkisinin başlama zamanı doğru tahmin edildiğinde bu sürenin daha kısa olması durumunda flep cerrahisinde geciktirme işleminden doğan tedavi süresinin uzamasının da önüne geçilebilmiş olacaktır. BTx A uygulaması basit, tek seansta yapılan bir işlemdir ve etkisi uzun sürelidir. Ek cerrahi, özel teknik ve cihaz gerektirmez. Vücudun flep olarak kullanılacak çoğu bölgesine uygulanabilir. Cerrahi işlem gerektirmediği için enfeksiyon, kanama, ağrı gibi riskleri de yoktur. Dolayısıyla BTx A’nın klinikte kullanım alanı bulabileceğini düşünmekteyiz. Flep yaşam oranlarındaki bu artış ile hastalarda ek operasyon ihtiyacının, morbiditenin, hastanede kalış sürelerinin azalması, sosyal ve ekonomik yönden olumlu sonuçlar doğuracağı gibi hasta psikolojisi üzerinde de destekleyici etki göstereceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Botulinum toksini motor son plak etkisi sayesinde uzun süredir çeşitli hastalıklarda kullanım alanı bulmuş olup son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar ışığında otonom sinir sistemine olan etkisi sayesinde vazodilatatör özelliğinden yararlanılmaktadır. Bu deneysel çalışmamız flep yaşam oranlarında artış sonucu botulinum toksininin otonom sinir sistemi üzerinden de etkili olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada botulinum toksininin cerrahi geciktirme ile aynı seansda yapılmasının, 1 hafta önceden yapılmasına ve tek başına cerrahi geciktirme uygulanmasına göre flep yaşayabilirlik oranlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdığı görüldü.

Flep sağkalımındaki artışa cerrahi ile birlikte aynı seansda yapılan botulinum toksini uygulamasının katkısı, uygulamanın kolaylığı, ek cerrahi işlem gerektirmemesi, tek uygulamanın yeterli olması, özel teknik ve cihaz gerektirmemesi ayrıca vücutta çoğu bölgeye uygulanabilmesi nedenleri ile rekonstrüktif cerrahide klinik uygulama alanı bulabileceğini düşünmekteyiz.

Fakat botulinum toksininin damarlar üzerinde yaptığı değişikliğin mekanizmasının tam anlaşılması amacıyla ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

AMAÇ: Günümüzde Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uygulamalarında flepler vücutta çeşitli nedenler ile oluşmuş geniş doku defektlerinin onarımında çok yaygın olarak kullanılmakta olup kısmi yada total flep kaybı sıklıkla karşılaşılabilecek problemlerden birisidir. Fleplerde distal nekroz gelişimini engellemek için deneysel ve klinik açıdan çeşitli ilaçlar ve yöntemler denenmiştir. Bunların içerisinde nekrozu engellemede bilinen en etkili kabul edilir yöntemlerden birisi flepte cerrahi geciktirme (delay) işlemidir. Bu işlemde operasyon öncesi ek bir cerrahi girişim gerekmesi nedeni ile son zamanlarda flep geciktirmesinin kimyasal ajanlar ile yapılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun için çeşitli kimyasal ajanlar denenmiştir, fakat herhangi bir ajanın kesin etkili olduğu konusunda bir fikir birliği yoktur. Bu çalışmamızda kimyasal geciktirme ajanı olarak botulinum toksin A kullanımının random paternli deri flebi üzerinde etkisinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER: Bu çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 36 adet erkek Wistar Albino cinsi ratlar kullanıldı. Her grupta 12 adet rat olacak şekilde 3 grup oluşturuldu. Grup 1'deki (Kontrol Grubu) ratların sırtından kaldırılan kaudal bazlı 3x9 cm boyutlarında random paternli deri flebine yalnız cerrahi geciktirme işlemi uygulandı. Grup 2'deki ratlara cerrahi geciktirme işleminin 1 hafta öncesinden planlanan kaudal bazlı flebin alanında standart altı noktaya çizim yapılarak BTx A intradermal olarak uygulandı. Grup 3'deki ratlara kaudal bazlı planlanan flep alanına standart altı noktadan BTx A intradermal olarak uygulandığı seansda cerrahi geciktirme işlemi gerçekleştirildi. Her

gruptan 4 adet rata baryum sülfat ile anjiyografi yapıldı. Tüm ratlar deney bitiminde sakrifiye edildi. Fleplerdeki canlı ve cansız alanlar Auto-CAD 2009 programı kullanılarak hesaplandı ve yaşayabilirlik oranları yüzdelik cinsinden belirtildi. Ratlardan histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için doku örnekleri alındı. Histopatolojik olarak inflamasyon ve iyileşme derecesi, biyokimyasal olarak da dokuda Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini, Nitrik oksit (NO) ve Malondialdehid (MDA) miktarlarının düzeyleri araştırıldı.

BULGULAR: Deney sonunda fleplerin yaşayabilirlik oranları ortalama olarak Grup 1'de %71,76, grup 2'de %58,83 ve grup 3'de %85,27 hesaplandı. Ortalama SOD, MDA, NO düzeyleri grup 1'de sırası ile 1,53 U/mg protein, 30,23 nmol/g yaş doku, 0,30 µmol/g yaş doku, grup 2'de sırası ile 1,30 U/mg protein, 82,21 nmol/g yaş doku, 0,50 µmol/g yaş doku, grup 3'de 1,23 U/mg protein, 42,71 nmol/g yaş doku, 0,60 µmol/g yaş doku olarak saptandı. Flep yaşayabilirlik oranları grup 3'de Grup 1 ve Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$); grup 2'nin grup 1'e göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farkı yoktu ($p>0,05$). Anjiyografik görüntülerde grup 3'de diğer gruplara göre damar sayısında ve damarlar arası anastomozlarda artış görüldü. Biyokimyasal parametrelerde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu. Histopatolojik değerlendirmede ise BTx A uygulanan gruplarda inflamasyon artmış ve fleplerin yara iyileşmesi kötü olup bu bulgular grup 3'de en fazla olarak görüldü.

SONUÇ: Bu çalışmada botulinum toksininin cerrahi geciktirme ile aynı seansda yapılmasının, 1 hafta önceden yapılmasına ve tek başına cerrahi geciktirme uygulanmasına göre flep yaşayabilirlik oranlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdığı görüldü. Flep sağkalımındaki artışa cerrahi ile birlikte aynı seansda yapılan botulinum toksini uygulamasının katkısı, uygulamanın kolaylığı, ek cerrahi işlem gerektirmemesi, tek uygulamanın yeterli olması, özel teknik ve cihaz gerektirmemesi ayrıca vücutta çoğu bölgeye uygulanabilmesi nedenleri ile rekonstrüktif cerrahide klinik uygulama alanı bulabileceğini düşünmekteyiz. Fakat botulinum toksininin damarlar üzerinde yaptığı değişikliğin mekanizmasının tam anlaşılması amacıyla ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Botulinum toksin A, cerrahi geciktirme, random paternli deri flebi, flep yaşayabilirliği.

8.SUMMARY

OBJECTIVE: Nowadays flaps are used commonly in the practice of Plastic,Reconstructive and Esthetic Surgery for reapering the wide tissue defects, which are caused by different factors. Partial or total flap lost is one of the most common problems, which may occurs. Different methods and various drugs have been used for prevention the development of distal necrosis of flaps. Among these, the most well-known procedure in prevention necrosis is surgical Delay Procedure on flaps. This method requires an additional surgical intervention before the main operation that is why new trials focus on matching it with chemical agents. Many diverse chemical agents have been used for this purpose, but there is not a total agreement for any of them is definitely more effective. The point of this study is to investigate the effect of botulinum toxin A as a chemical delay agent on random pattern skin flaps.

MATERIAL AND METHODS: In this study, 36 male Wistar Albino rats weighing between 200-250 gr., were used. The rats were divided into three groups, 12 rats in each. In group 1(control group), from the dorsum of the rats 3x9 cm big random pattern skin flaps, caudally based, were elevated so the surgical delay was utilized. In group 2- one week before the procedure, in the area of the planed caudal based flap, the botulinum toxin A was injected in six certain points intradermally. In group 3 in the same session with the injecting of the botulinum toxin A in the planed caudal based flap area the surgical delay procedure was utilized. Angiography with barium sulfate was performed on the four rats from each group. All the rats were sacrificed in the end of the research.

The surviving area was measured by using Auto-CAD 2009 and the survivability rate was given in percentage. Tissue samples were obtained for histopathological and biochemical evaluation. Histopathologically the grade of inflammation and healing, biochemically tissue Superoxide-dismutase (SOD) enzyme activity, Nitric-oxid (NO) Malonilaldehyd (MDA) levels has been investigated.

RESULTS: In the end of the research the survivability rate of the flaps were calculated for group 1 71.76%; for group 2 58.83% and for group 3 85.27%. The mean SOD, MDA, NO levels were for group 1 in order: 1.53 U/mg protein, 30.23 nmol/g wet tissue, 0,30 μ mol/g wet tissue, for group 2 in order: 1.30 U/mg protein, 82.21 nmol/g wet tissue, 0,50 μ mol/g wet tissue, for group 3 in order: 1.23 U/mg protein, 42.71 nmol/g wet tissue, 0,60 μ mol/g wet tissue. Flap survivability rate was found statistically significant in group 3 in comparison to group 1 and 2 ($p < 0.05$). There was no statistical significance between group 2 and 1 ($p > 0.05$) in angiographic images of group 3 there has been bigger increase in the amount of vessels and the anastomosis between the vessels. There was no statistical significance in biochemical parameters between groups. Histopathologically in botulinum toxin injected groups(2 and 3) the inflammation was raised and the healing of the flaps were not good, where the group 3 had this signs the most significantly.

CONCLUSION: In this study, it was seen that when botulinum toxin was done with surgical delay in the same séance, statistically significant increase the rate of flap viability than when it was done before a week and which it was applied only surgical delay. Due to the contribution of botulinum toxin practice which has done with surgical in the same séance to increase the rate of flap viability, convenience of application, does not requiring additional surgical, only one application is sufficient, does not requiring special technical and device, and also implementation most regions of the body, we think that it can find implementation area in reconstructive surgery. But further studies are needed in order to completely understand the mechanism of chance on vessel which is done by botulinum toxin.

Key Words: Botulinum toksin A, surgical delay, random pattern skin flap, flap viability.

9. KAYNAKLAR

1. Cormack GC, Lamberty BGH: Introduction and the microcirculation. In: The Arterial Anatomy of Skin Flaps, Editor: Cormack GC, Churchill Livingstone, London 1994; 1-32
2. Kayser MR, Hodges PL: Surgical flaps. Select Read Plast Surg 1995; 8: 1-58.
3. Mathes SJ, Hansen SL. Flap Classification and Applications. In: SJ. Mathes, Second Edition. Plastic Surgery. Philadelphia: Elsevier, 2006; 365-481.
4. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. McCarthy JG (editor). Plastic surgery. Philadelphia. W.B. Saunders. 1990; 1: 275-327.
5. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG: An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical Applications. Plast Reconstr Surg 1992; 89: 408-18.
6. Taylor GI, Palmer JH: The vascular territories (Angiosomes) of the body: Experimental study and clinical applications. Br J Plast Surg 1987; 40: 113-141.
7. Pang CY, Forrest CR, Morris SF: Pharmacological augmentation of skin flap viability: A hypothesis to mimic the surgical delay phenomenon or a wishful thought. Ann Plast Surg 1989; 22: 293-306.
8. Thorne CH. Techniques and Principles in Plastic Surgery. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH, Sixth Edition. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2007; 3-14.
9. Fisher J, Gingrass MK. Basic Principles of Skin Flaps. Georgiade GS, Riefkohl R, Levin LS (editors). Georgiade Plastic, Maxillofacial and

- Reconstructive Surgery. Third edition. Baltimore, Maryland. Williams & Wilkins. 1997; 19-28.
10. Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. Achauer BM, Eriksson E, Wilkins EG, VanderKam VM (editors). Plastic surgery indications operations and outcomes. St. Louis, Missouri. Mosby. 2000; 1: 261-88.
 11. Taylor GI, Ives A, Dhar S. Vascular Territories. In: Mathes SJ, Second Edition. Plastic Surgery. Philadelphia: Elsevier, 2006; 317-63.
 12. Taylor GI. The Blood Supply Of The Skin. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH, Sixth Edition. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2007; 33-41.
 13. Vedder, N. B. , Flap Physiology. Mathes Plastic Surgery, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006; 1: 483-506.
 14. Cormack GC, Lamberty BGH: The ischemic flap. In: The Arterial Anatomy of Skin Flaps, Editor: Cormack GC, Churchill Livingstone, London 1994, 47-69.
 15. Gumener R, Montandon D: Distally based forearm fasciosubcutaneous flap: Discussion. Plast Reconstr Surg 2004; 114: 397-99.
 16. Achauer, B. M. Eriksson, E., Guyuron, B., Coleman, J. J., Russell, R. C. , Vander Kolk, C. A., Plastic Surgery Indications, Operations and Outcomes, Mosby, St. Louis Missouri, 2000; 1: 261-90.
 17. Weinzweig, J. Çeviri Arıncı A., Plastik Cerrahinin Sırları, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2007; 646.
 18. Huang LH, Neiva EF, Soehren SE, Giannobile WV, Wang HL: The effect of platelet-rich plasma on the coronally advanced flap root coverage procedure: a pilot human trial. J Periodontol 2005; 76: 1768-77.
 19. Brown, D. L. and Borschel G. H., Michigan Manual of Plastic Surgery, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2004; 418.
 20. Galiano, R. D. and Mustoe T. A., Wound care. Grabb & Smith's Plastic Surgery 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins-Wolters Kluwer, Philadelphia, 2007; 23- 32.
 21. Jinsi-Parimoo A, Deth, RC. Reconstitution of alpha2D adrenergic receptor coupling to phospholipase D in a PC12 cell lysate. J. Biol. Chem 1997; 272: 14556.
 22. George B, Lamberty H., Healy C., Flaps: Physiology, Principles of Design and pitfalls. (In). Cohen M. Mastery of Plastic and Reconstructive

- Surgery, Little, Brown and Co., Boston, 1994; 1: 56-57.
23. Khibani KT, Kerrigan CL. The Effect of the Nitric Oxide Donor SIN-1 on Ischemia-Reperfused Cutaneous and Myocutaneous Flaps. *Plast Reconstr Surg*. 2002; 110: 169-76.
 24. McDonald WS, Lo TP, Jr.S. B, Thurmond M, Jones C, Cohen R, Miller A, Beasley D. Role of Nitric Oxide in Skin Flap Delay. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113: 927-31.
 25. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72: 766-77.
 26. Kerrigan CL, Daniel RK. Monitoring acute skin-flap failure. *Plast Reconstr Surg*. 1983; 71: 519-24.
 27. Kerrigan CL, Daniel RK. Skin flap research: a candid view. *Plast Reconstr Surg*. 1984; 13: 383-87.
 28. Sasaki GH, Pang CY: Pathophysiology of skin flaps raised on expanded pig skin. *Plast Reconstr Surg*. 1984; 74: 59-67.
 29. Myers MB: Investigation of skin flap necrosis. In: *Skin Flap*, Editors: Grabb WC, Myers MB, Little Brown Comp, Boston 1975; 3-10.
 30. Kerrigan CL, Rollin DK: Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1982; 70: 541-49.
 31. Pang CY, Forrest CR, Morris SF: Pharmacological augmentation of skin flap viability: A hypothesis to mimic the surgical delay phenomenon or a wishful thought. *Ann Plast Surg*. 1989; 22: 293-306.
 32. 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. *Plast Reconstr Surg* 1986; 78: 68-74.
 33. Suzuki S, Isshiki N, Ohtsuka M, Maeda T: Experimental study on "delay" phenomenon in relation to flap width and ischaemia. *Br j Plast Surg* 1988; 41: 389-94.
 34. Cho BC, Lee MS, Lee JH, Byun JS, Baik BS, The Effect of Surgical and Chemical Delay Procedures on the Survival of Arterialized Venous Flaps in Rabbits. *Plast Reconstr Surg*. 1998; 102: 1134-43.
 35. Erdmann D, Sundin BM, Moquin KJ, Young H, Georgiade GS. Delay in Unipedicled TRAM Flap Reconsruction of the Breast: A Review of 76 Consecutive Cases. *Plast Reconstr Surg*. 2002; 110: 762-7.

36. Cutting C, Bumsted R, Bardach J, Mooney M, Johnson S. Changes in quantitative norepinephrine levels in delayed pig flank flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1982; 69: 652-5.
37. Barker JH, Frank J, Bidiwala SB, Stengel CK, Carroll SM, Carroll CM, et al. An animal model to study microcirculatory changes associated with vascular delay. *Br J Plast Surg.* 1999; 52: 133-42.
38. Odland, R. M, Kim, P, Nadler, D, Poole, DV. Nonsurgical delay of skin flaps: Effect of a suture delay technique on blood flow and survival. *Laryngoscope* 1995; 105: 523-8.
39. Acikel C, Kenkel JM, Nojima K, Hoopman JE, Saboorian MH, Brown SA: Nonsurgical delay of dorsal rat cutaneous flap using a long-pulsed 1064-nm Nd: YAG Laser with a contact cooling device. *Plast Reconstr Surg.* 2005; 116: 1411-20.
40. Acikel C, Kenkel JM, Ozturk S, Nojima K, Hoopman JE, Gokaslan ST, Brown SA: Evaluation of Flashlamp-pumped pulsed-dye laser (585nm) in nonsurgical delay of dorsal rat cutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 2005; 115: 2032-41.
41. Scheufler O, Andresen R, Kirsch A, Banzer D, Vaubel E. Clinical results of TRAM flap delay by selective embolization of the deep inferior epigastric arteries. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 105: 1320-9.
42. Bekerecioğlu M, Kutluhan A, Uğraş S, Akpolat N. The effect of the suture-induced delay phenomenon on skin flap survival and lipid peroxidation in rats. *Ann Plast Surg.* 1998; 40: 606-11.
43. Restifo RJ, Ahmed SS, Rosser J, Zahir K, Zink J, Lalikos J, Thomson JG. TRAM flap perforator ligation and the delay phenomenon: development of an endoscopic/laparoscopic delay procedure. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 101: 1503-11.
44. Cohen M, Kattan A, Gat A, Almogi N, Katzir A, Villan A. Comparison of flash lamp pulsed dye laser (585 nm) and conventional surgery in the delay of random dorsal rat flaps. *Lasers Surg Med.* 1999; 25: 178-86.
45. Aslan G, Karacal N, Görgü M, Erdoğan B. Nonsurgical delay of cutaneous flaps using the flashlamp pumped pulsed dye laser. *Ann Plast Surg.* 2000; 44: 277-81.

46. Erçöçen AR, Kono T, Kikuchi Y, Kitazawa Y, Nozaki M. Efficacy of the flashlamp-pumped pulsed dye laser in nonsurgical delay of skin flaps. *Dermatol Surg.* 2003; 29: 692-9.
47. Reichner DR, Scholz T, Vanderkam VM, Gutierrez S, Steward E, Evans GR. Laser flap delay: comparison of Erbium: YAG and CO₂ lasers. *Am Surg.* 2003; 69: 69-72.
48. Macionis V. Clamp delay: an effective new method of nonsurgical delay. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 106: 1321-5.
49. Karacaoğlu E, Yüksel F, Turan SO, Zienowicz RJ. Chemical delay: An alternative to surgical delay experimental study. *Ann Plast Surg.* 2002; 49: 73-81.
50. Lineaweaver WC, Lei M-P, Mustain W, Oswald TM, Cui D, Zhang F. Vascular Endothelium Growth Factor, Surgical Delay, and Skin Flap Survival. *Annals of Surgery* 2004; 239: 866-87.
51. Holzbach T, Taskov C, Neshkova I, Holm PS, Konerding MA, Schams D, Gansbacher B, Biemer E, Giunta RE. Angiogenesis VEGF165 gene therapy with Ad VEGF-a new delay procedure for flaps. *Handchir Microchir Plast Chir* 2005; 37: 365-74.
52. Ergun O, Yuksel F, Ulkur E, Celikoz B. Effect of hydrostatic dilation on flap viability of the transverse rectus abdominis musculocutaneous flap model in rats. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 120: 68-77.
53. Ulkur E, Karagoz H, Ergun O, Celikoz B, Yildiz S, Yıldırım S. The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on the Delay Procedure. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 119: 86-94.
54. Huemer GM, Froschauer SM, Pachinger T, Kwasny O, Schoffl H. A comparison of pretreatment with a topical combination of nonivamide and nicoboxil and surgical delay in a random pattern skin flap model. *Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008; 2.
55. Oh M, Chang H, Minn KW. The effects of tadalafil on axial-pattern skin flap survival in rats. *Dermatol Surg.* 2008; 34: 626-30.
56. Pratt MF. Evaluation of random skin flap survival in a porcine model. *Laryngoscope.* 1996; 106: 700-12.
57. Myers MB, Cherry G: Differences in the delay phenomenon in the rabbit, rat and pig. *Plast Reconstr Surg.* 1971; 47: 73-8.

58. Suzuki S, Isshiki N, Ogawa Y, Goto M, Hayashi O: The minimal requirement of circulation for survival of undelayed and delayed flaps in rats. *Plast Reconstr Surg.* 1986; 78: 221-7.
59. Myers MB: Attempts to augment survival in skin flaps- Mechanism of the delay phenomenon. In: *Skin Flap*, Editors: Grabb WC, Myers MB, Little Brown Comp, Boston 1975; 63-79.
60. McFarlane RM, Heagy FC, Rodin S, Aust SC, Wermuth RE: A study of the delay phenomenon in experimental pedicle flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1965; 35: 245-62.
61. Boyd JB, Markland B, Dorion D, Pang CY, Morris S: Surgical augmentation of skin blood flow and viability in a pig musculocutaneous flap model. *Plast Reconstr Surg.* 1990; 86: 731-8.
62. Cutting C, Bardach J, Finseth F: Haemodynamics of the delayed skin flap: a total blood-flow study. *Br J Plast Surg.* 34: 133-135, 1981
63. Jurell G: Adrenergic nerves and the delay phenomenon. *Ann Plast Surg* 1986; 17: 493-7.
64. Jurell G, Hjemdahl P, Ferdholm BB: On the mechanism by which antiadrenergic drugs increase survival of critical skin flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1983; 72: 518-25.
65. Jurell G, Jonsson CE: Increased survival of experimental skin flaps in rats following treatment with antiadrenergic drugs. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1976; 10: 169-72.
66. Finseth F, Adelberg MG: Prevention of skin flap necrosis by a course of treatment with vasodilator drugs. *Plast Reconstr Surg.* 1978; 61: 738-43.
67. Goshen J, Wexler MR, Peled IJ: The use of two alpha blocking agents, Phenoxybenzamine and Phentolamine in ointment and injection form to improve skin flap survival in rats. *Ann Plast Surg.* 1985; 15: 431-5.
68. Neligan P, Pang CY, Nakatsuka T, Lindsay WK, Thomson HG: Pharmacologic action of Isoxsuprine in cutaneous and myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1985; 75: 363-74.
69. Sasaki A, Harii K: Lack of effect of Isoxsuprine on experimental random flaps in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1980; 66: 105-8.
70. Toomey JM, Conoyer JM, Oguna JH: Vasodilating agents in augmentation of skin flap survival. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1979; 87: 757-62.

71. Wexler MR, Kalisman M, Yeschura R: The effect of Phenoxybenzamine, Phentolamine and 6-Hydroxydopamine on skin flap survival in rats. *J Surg Res.* 1985; 19: 83-6.
72. Whitman DH, Berry RL, Green DM: Platelet Gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55: 1294-9.
73. Reinisch JF: The pathophysiology of skin flap circulation: The delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg.* 1974; 54: 585-98.
74. Dorion D, Boyd JB, Pang CY: Augmentation of transmidline skin perfusion and viability in transverse rectus abdominis myocutaneous (TRAM) flaps in the pig. *Plast Reconstr Surg.* 1991; 88: 642-9.
75. Aarts HF: Regional intravascular sympathetic blockade for better results in flap surgery: An experimental study of free flaps, island flaps, and pedicle flaps in the rabbit ear. *Plast Reconstr Surg.* 1980; 66: 690-8.
76. Kerrigan CL, Rollin DK: Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg.* 1982; 70: 541-9.
77. Cutting C, Robson MC, Koss N: Denervation supersensitivity and the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1978; 61: 881-7.
78. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg.* 1983; 72: 766-77.
79. Johnson K, Hunt TK, Brennan SS: Tissue oxygen measurements delayed skin flaps: A reconsideration of the mechanisms of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg.* 1988; 82: 328-36.
80. Young CMA: The revascularization of pedicle skin flaps in pigs: A functional and morphologic study. *Plast Reconstr Surg.* 1982; 70: 455-64.
81. 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. *Plast Reconstr Surg.* 1986; 78: 68-74.
82. Suzuki S, Isshiki N, Ohtsuka M, Maeda T: Experimental study on "delay" phenomenon in relation to flap width and ischaemia. *Br j Plast Surg.* 1988; 41: 389-94.
83. Marek CA, Amiss LR, Morgan RF, Spotnitz WD, Drake DB: Acute thrombogenic effects of fibrin sealant on microvascular anastomosis in a rat model. *Ann Plast Surg.* 1998; 41: 415-9.

84. Zhang F, Oswald T, Lin S, Caib Z, Leia M, Jones M, Angela MF, Lineaweaver WC: Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the effect of exogenous VEGF on survival of a random flap in the rat. *Br J Plast Surg.* 2003; 56: 653-659.
85. Dhar SC, Taylor GI. The Delay Phenomenon: The Story Unfolds. *Plast Reconstr Surg.* 1999; 104: 2079-91.
86. Tsur H, Daniller A, Strauch B: Neovascularization of skin flaps: Route and timing. *Plast Reconstr Surg.* 1980; 66: 85-93.
87. Garcia PB, Nieto CS, Ortega JMR: Morphological changes in the vascularization of delayed flaps in rabbits. *Br J Plast Surg.* 1991; 44: 285-90.
88. Serafin D, Shearin C, Georgiade NG: The vascularization of free flaps: Aclinal and experimental correlation. *Plast Reconstr Surg.* 1977; 60: 233-41.
89. Lopez JLA, Nieto CS, Garcia PB, Ortega JMR: Evaluation of angiogenesis in delayed skin flaps using a monoclonal antibody for the vascular endothelium. *Br J Plast Surg.* 1995; 48: 479-86.
90. Zhang F, Waller W, Lineaweaver WC: Growth factors and flap survival. *Microsurgery* 2004; 24: 162-7.
91. Zhang F, Richards L, Angel MF, Zhang J, Liu H, Dorsett-Martin W, Lineaweaver WC: Accelerating flap maturation by vascular endothelium growth factor in a rat tube flap model. *Br J Plast Surg.* 2002; 55: 59-63.
92. Zhang F, Fischer K, Timek EK, Guo M, Cui D, Martin WD, Buncke HJ, Lineaweaver WC: Improvement of skin paddle survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat TRAM flap model. *Ann Plast Surg.* 2001; 46: 314-9.
93. Ghali S, Butler PE, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular delay revisited. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119: 1735-44.
94. Chang DW, Wang B, Robb GL, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, et al. Effect of obesity on flap and donor-site complications in free transverse rectus abdominis myocutaneous flap breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 105:1640-8.
95. Kerrigan CL, Daniel RK. Monitoring acute skin-flap failure. *Plast Reconstr Surg.* 1983; 71: 519-24.

96. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Adrenergic antagonists. In: Mycek MJ, Champe PC, Second Edition. Lippincott s Illustrated Reviews: Pharmacology. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 7: 71-80.
97. Kayaalp O. Periferik Vazodilatörler. In: Kayaalp O, 10. Baskı. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2002; 465-72.
98. Khouri RK, Brown DM, Leal-Khouri SM, Tark KC, Shaw WW: The effect of basic Fibroblast Growth Factor on the neovascularization process: skin flap survival and staged flap transfers. *Br J Plast Surg.* 1991; 44: 585-8.
99. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is asurgical delay effective? An experimental study. *Plast Reconstr Surg.* 1995;95: 526-33.
100. Restifo RJ, Syed SA, Ward BA, Scoutt LM, Taylor K. Surgical delay in TRAM flap breast reconstruction: a comparison of 7- and 14-day delay periods. *Ann Plast Surg.* 1997; 38: 330-3
101. Douglas B, Buchholz RR: The blood circulation in pedicle flaps: An accurate test for determining its efficiency. *Ann Surg.* 1943; 117: 692-709.
102. Gatti JE, LaRossa D, Brousseau DA, Silverman DG: Assessment of neovascularization and timing of flap division. *Plast Reconstr Surg.* 1984; 73: 396-402.
103. Gehring S, Hoerauf H, Laqua H, Kirchner H, Klüter H: Preparation of autologous platelets for the ophthalmologic treatment of macular holes. *Transfusion* 1999; 39: 144-8
104. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT: Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004; 91: 4-15
105. Currie LJ, Sharpe JR, Martin R: The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements: A Review. *Plast Reconstr Surg.* 2001; 108: 1713-26.
106. Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Schumerth S, Butler EL, Cerra F: Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet-derived wound healing formula. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170: 56-60.
107. Krupski WC, Reilly LM, Perez S, Moss KM, Crombleholme PA, Rapp JH: A prospective randomized trial of autologous platelet-derived wound healing

factors for treatment of chronic nonhealing wounds: Apreliminary report. J Vasc Surg. 1991; 14: 526-36.

108. Knighton DR, Fiegel VD, Austin LL, Ciresi KF, Butler EL: Classification and treatment of chronic nonhealing wounds: Successful treatment with autologous Platelet-derived wound healing factors(PDWHF). Ann Surg. 19886; 204: 322-30.

109. Weibrich G, Kleis WKG, Buch R, Hitzler WE, Hafner G: The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schütze platelet-rich plasma kit. Clin Oral Impl Res 2003; 14: 233-9.

110. Landesberg R, Roy M, Glickman RS: Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich Plasma Gel preparation. J Oral Maxillofac Surg. 2000; 58: 297-300.

111. Klingenström P, Nylén B: Timing of transfer of tubed pedicles and cross-flaps. Plast Reconstr Surg. 1996; 37: 1-12.

112. Nakajima T: How soon do venous drainage channels develop at the periphery of a free flap? A study in rats. Br J Plast Surg. 1978; 31: 300-8.

113. Shelosky, L. History of the clinical use of Botulinum toxin type A. In Sommer, B. Sattler, G. (Eds.), Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine. 1st edition. Berlin-Vienna: Blackwell Science,2001; 1-7.

114. Esra Çelik Soylu, Doktora tezi, Pediküllü kas fleplerinin stabilizasyonunda Botulium Toksin-A'nın kullanılması T.C.Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği İstanbul 2005.

115. Lam, S.M. The basic science of botulinum toxin. Facial Plast. Surg. Clin. N. Am. 2003; 11: 431-8.

116. Huang, W, Foster, J.A., Rogachefsky, A.S. Pharmacology of botulinum toxin. J. Am. Acad. Dermatol. 2000; 43: 249-59.

117. Kane, MAC. Botulinum Toxin. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH, Sixth Edition. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Philedelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2007; 475-9.

118. Levinson, W. Temel Bakteriyoloji. In: Levinson W, Jawetz E, 5. Baskı. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Barış kitabevi, 1999; 34,97.

119. Baumann L, Black L. Botulinum toxin type B (Myobloc). Dermatol Surg 2003; 29: 496-500.

120. Dutton JJ, Fowler AM. Botulinum toxin in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 2007; 52: 13-31.
121. Davletov B, Bajohrs M, Binz T. Beyond BOTOX: advantages and limitations of individual Botulinum neurotoxin. *Trends Neurosci.* 2005; 28: 446-52.
122. Kirazlı Y, Çeliker R, Elibol B ve ark. Spastisite Konsensus Bildirisi. *Romatol Tıp Rehab.* 2004; 15: 137-47.
123. Karatepe AG. Spastisite Tedavisi. *Ege Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi.* 2004; 10: 93-102.
124. Anthony HV, Schapira MD. Synaptic transmission. In: Anthony H.V., Schapira, MD, DSc, FRCP, FMed Sci, eds. *Neurology and Clinical Neuroscience*, Philadelphia: Elsevier Inc. 2007; 108-16.
125. Dressler D, Saberi F.A. Botulinum toxin: Mechanisms of action. *European Neurology* 2005; 53: 3-9
126. Jankovic J. Botulinum toxin in clinical practice. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 951-7.
127. Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C. Neurotoxins affecting neuroexocytosis. *Physiol Rev.* 2000; 80: 717-66.
128. Coffield J, Considine RV, Simpson LL. The site and mechanism of action of botulinum neurotoxin. In: Jankovic J, Hallet M (eds). *Therapy with botulinum toxin.* Marcel Dekker. 1994; 3-13.
129. Brin MF, Aoki KR. Botulinum toxin type A: pharmacology. In Nathaniel H. Mayer, David M. Simpson eds. *Spasticity: Etiology, evaluation, management and the role of botulinum toxin, We move,* 2002; 110-24
130. Canter HI, Kayikcioglu A, Aksu M, Mavili E. Botulinum toxin in closed treatment of mandibular condylar fracture. *Ann Plast Surg.* 2007; 58: 474-8.
131. Morris J, Jobling L, Gibbins IL. Differential inhibition by botulinum neurotoxin A of cotransmitters released from autonomic vasodilator neurons. *Am. J. Physiol.* 2001; 281: 2124.
132. Fregene A, Ditmars D, Siddiqui A. Botulinum toxin type A: a treatment option for digital ischemia in patients with Raynaud's phenomenon. *J Hand Surg Am.* 2009; 34: 446-52.
133. Van Beek AL, Lim PL, Gear AJ. Management of Vasospastic Disorders with Botulinum Toksin A. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 119: 217-26.

134. Sycha T, Graninger M, Auff E, Schnider P. Botulinum toxin in the treatment of Raynaud's phenomenon: A pilot study. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 312–3.
135. Neumeister MW, Chambers CB, Herron, MS. Botoks Therapy for Ischemic Digits. *Plast Reconstr Surg*. 2009; 124: 191-200.
136. Clemens MW, Higgins JW, Wilgis EFS. Prevention of anastomotic thrombosis by botulinum toxin A in an animal model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009; 123: 64-70.
137. Yıldıırım AM, Okur I, Orter Z, Uysal A, Nonsurgical Delay of Dorsal Rat Cutaneous Flap Using Botulinum Toxin Type A. *Plast Reconstr Surg*. 2008; 122: 53-4.
138. 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. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009; 62: 906-13.
139. Arnold PB, Merritt W, Rodeheaver GT, Campbell CA, Morgan RF, Drake DB. Effects of perivascular Botulinum Toxin-A application on vascular smooth muscle and flap viability in the rat. *Ann Plast Surg*. 2009; 62: 463-7.
140. Arnold PB, Campbell CA, Rodeheaver G, Merritt W, Morgan RF, Drake DB. Modification of blood vessel diameter following perivascular application of botulinum toxin-a. *Hand (N Y)*. 2009; 4: 302-7.
141. Ghenwang D, Shiwei B, Dashan Y, Qiang L, Bin C, Muxin Z, Pengcheng L, Senkai L. Application of botulinum toxin A in myocutaneous flap expansion. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2009; 124: 1450-57.
142. O'Reilly DJ, Pleat JM, Richards AM. Treatment of hidradenitis suppurativa with botulinum toxin A. *Plast Reconstr Surg*. 2005; 116: 1575-6.
143. Venus MR. Use of botulinum toxin type A to prevent widening of facial scars. *Plast Reconstr Surg*. 2007; 119: 423-4; author reply 424.
144. Wilson AM. Use of botulinum toxin type A to prevent widening of facial scars. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117:1758-66; discussion 1767-8.
145. Zhibo X, Miaobo Z. Botulinum toxin type A affects cell cycle distribution of fibroblasts derived from hypertrophic scar. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008; 61: 1128-9.
146. De Aguiar G, Chait LA, Schultz D, Bleloch S, Theron A, Snijman CN, Ching V. Chemoprotection of flexor tendon repairs using botulinum toxin. *Plast Reconstr Surg*. 2009; 124: 201-9.

147. Senior, M.A., Fourie, L.R. Botox and the management of pectoral spasm after subpectoral implant insertion. *Plast. Reconstr. Surg.* 2000; 106: 224-5.
148. Richards, A., Ritz, M., Donahoe, S. et al. Botox for contraction of pectoral muscles. *Plast. Reconstr. Surg.* .2001; 108: 270-1
149. Cattin T, Govender S. Botulinum toxin for tethering of breast implant. *Plast Reconstr Surg.* 2005; 116: 686-8.
150. Celik E, Tercan M, Uzunismail A, Sağlam A. Versatility of botulinum toxin: a use in stabilization of pedicled muscle flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2006; 117: 462-7.
151. Mannor GE. Practical aspects of cosmetic Botulinum toxin. *Int Ophthalmol Clin.* 2005; 43: 99-106.
152. Vartanian AJ, Dayan SH. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am* 2003; 11: 483-92.
153. Klein AW. Complications with the use of Botulinum toxin. *Int Ophthalmol Clin.* 2005; 43: 163-9.
154. Carruthers JD, Lowe NJ, Menter MA, Gibson J, Eadie N. Double-Blind, Placebo-Controlled Study of the Safety and Efficacy of Botulinum Toxin Type A for Patients with Glabellar Lines. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 112: 21-30.
155. Aoki R. The development of BOTOX –Its history and pharmacology. *Pain Digest*,1998; 337-41.
156. Aoki RK. Preclinical update of BOTOX (botulinum toxin type -A) purified neurotoxin complex relative to other botulinum toxin preparations. *Eur J Neurology.* 1999; 6: 3-10.
157. Aras MD, Çakıcı A. İnme Rehabilitasyonu İçinde; Oğuz H, Dursun E, Dursun N (yazarlar), *Tıbbi Rehabilitasyon*, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004; 589-617.
158. Schantz EJ, Johnson EA. Preparation and Characterization of Botulinum Toxin Type A for Human Treatment. In: Joseph Jankovic, Mark Hallet. *Therapy with Botulinum Toxin*, New York: Marcel Dekker: 1994; 41-50.
159. Lowe, N.J. Botulinum toxin type A for facial rejuvenation. *Dermatol. Surg.* 1998; 24: 1216-8.
160. Kim HS, Hwang JH, Jeong ST, Lee YT, Lee PK, Suh YL, Shim JS. Effect of muscle activity and botulinum toxin dilution volume on muscle paralysis. *Dev Med Child Neurol*, 2003; 45:200-6.

161. Rohrich RJ, Janis JE, Fagien S, Stuzin JM. The Cosmetic Use of Botulinum Toxin. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 112: 177-187.
162. Allergan Corporation. Botox Cosmetic (Botulinum Toxin Tipe A) Purified Neurotoxin complex. Irvine, Clif: Allergan corporation 2002.
163. Lam DGK, Choudhary S. Use of a Grid to Simplify Botulinum Toxin Injection for Axillary Hyperhidrosis. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 112: 1741-2.
164. Kane M. Nonsurgical Treatment of Platysmal Bands with Injection of Botulinum Toxin A. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 112: 115-122.
165. Roger Aoki K. Botulinum neurotoxin serotypes A and B preparations have different safety margins in preclinical models of muscle weakening efficacy and systemic safety. *Toxicon.* 2002; 40: 923-8.
166. MarkW. Clemens, M.D. James P. Higgins, M.D. E.F. Shaw Wilgis, M.D. Prevention of Anastomotic Thrombosis by Botulinum Toxin A in an Animal Model *Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 123: 64.
167. Taek Kyun Kim, Eun Jung Oh, Jae Young Chung, Jae Woo Park, Byung Chae Cho, Ho Yun Chung The effects of botulinum toxin A on the survival of a random cutaneous flap *Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 2009; 62: 906-13.
168. Matic DB, Lee TY, Wells RG, Gan BS. The effects of botulinum toxin type A on muscle blood perfusion and metabolism. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 120: 1823-33.
169. Kbouri RK, Angel MF, Edstrom LE, Standardizing the dorsal rat flap *Surg. Forum;* 1986; 37: 590-4.
170. McFarlene RM, De Young G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg.* 1965; 35: 177.
171. Sun, Y. Oberley, L.W. Li, Y.A. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Cli. Chem.* 1988; 34: 497-500.
172. Durak, I. Yurtaslani, Z. Canbolat, O. Akyol, O. A methodological approach to superoxide dismutase activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin. Chem. Acta.* 1993; 214: 103-4.
173. Cortas NK and Wakid NW. Determination of inorganik nitrate in serum and urine by a kinetic camium- reduction method. *Clin chem.* 1990; 36: 1440-3.

174. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal *Methods Enzymol.* 1990; 186: 407-21.
175. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193: 265-75.
176. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM. The critical relationship between free radicals and degrees of ischemia: Evidence for tissue intolerance of marginal perfusion. *Plast Reconstr Surg.* 1988; 81: 233-9.
177. Hoopes JE, Su CT, Im MJ: Enzymatic responses to skin flap elevation following a delay procedure. *Plast Reconstr Surg.* 1980; 66: 369-372.
178. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg.* 1984; 73: 943.
179. Hochberg J, Raman M, Cilento E, Kemp K, Barrett M, Thomas R, et al. Development and evaluation of an in vivo mouse model for studying myocutaneous flap microcirculation and viability before and after suturing or stapling. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1994; 14: 67-72.
180. Ghavami A, Nutt MP, Hardy SP. Heat Shock Protein and High-Dose Aspirin: Effects on Random Skin Flap Survival in a Rat Model. *Ann Plast Surg.* 2002; 48: 60-7.
181. Valdas M. Clamp Delay: An Effective New Method of Nonsurgical Delay. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 106: 1321-5.
182. Hoşnuter M, Babuççu O, Kargi E, Altınyazar C. Dual Preconditioning: Effects of Pharmacological Plus Ischemic Preconditioning on Skin Flap Survival. *Ann Plast Surg.* 2003; 50: 398-402.
183. Raposio E, Santi PL. Pharmacological enhancement of cutaneous flap survival with topical dimethyl sulphoxide and hydrogen peroxide. *Br J Plast Surg.* 1998; 51: 551-4.
184. Telliöğlu AT, Uras KA, Yılmaz T, Alagözölü H, Tekdemir İ, Karabağ O. The effect of carnitine on random-pattern flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108:959-62.
185. Nichter LS, Sobieski MW, Edgerton MT. Efficacy of topical nitroglycerin for random-pattern skin-flap salvage. *Plast. Reconst. Surg.* 1985; 75: 847-52.
186. Linuma T, Sawada Y. Topical application of capsaicin and flap survival. *Br J Plast Surg.* 1996; 49: 319-20.

187. Karaçal N, Ambarcıoğlu Ö, Topal U, Mamedov T, Kutlu N. Enhancement of dorsal random-pattern skin flap survival in rats with topical lidocaine and prilocaine (EMLA): enhancement of flap survival by EMLA. *J Surg Res.* 2005; 124: 134-8.
188. Davis RE, Wachholz JH, Jassir D, Perlyn CA, Agrama MH. Comparison of topical anti-ischemic agents in the salvage of failing random-pattern skin flaps in rats. *Arch Facial Plast Surg.* 1999; 1: 27.
189. Huemer GM, Wechselberger G, Otto-Schoeller A, Gurunluoglu R, Piza-Katzer H, Schoeller T. Improved dorsal random-pattern skin flap survival in rats with a topically applied combination of nonivamide and nicoboxil. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 111: 1207-11.
190. Scheufler O, Andresen R, Kirsch A, Banzer, D, Vaubel, E. Clinical results of TRAM flap delay by selective embolization of the deep inferior epigastric arteries. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 106: 1660-1.
191. Carruthers JD, Lowe NJ, Menter MA, Gibson J, Eadie N. Double-Blind, Placebo-Controlled Study of the Safety and Efficacy of Botulinum Toxin Type A for Patients with Glabellar Lines. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 112: 21-30.
192. Freedman RR, Janni P. Role of cold and emotional stress in Raynaud's disease and scleroderma. *BMJ.* 1983; 287: 1499-502.
193. Blunt RJ, Porter JM. Raynaud syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 1981; 10: 282-308.
194. Tindall JP, Whalen RE, Burton EE Jr. Medical uses of intra-arterial injections of reserpine: treatment of Raynaud's syndrome and some of vascular insufficiencies of the lower extremities. *Arch Dermatol.* 1974; 110: 233-7.
195. Tarabal O, Caldero J, Ribera J. Regulation of motoneuronal calcitonin gene-related peptide (CGRP) during axonal growth and neuromuscular synaptic plasticity induced by botulinum toxin in rats. *Eur. J. Neurosci.* 1996; 8: 829.
196. Faulkner JA, Maxwell LC, White TP. Adaptations in skeletal muscle. In J W McNamara, Jr. (Ed.), *Muscle Adaptation in the Craniofacial Region.* Monograph No. 8, Craniofacial Growth Series. Ann Arbor: University of Michigan, 1978.
197. Vartanian AJ, Dayan SH. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am* 2003; 11: 483-92.