



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RAT ABDOMİNAL ADA FLEP MODELİNDE BOTULİNUM
TOXİN-A UYGULAMASININ NEOVASKÜLARİZASYON
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Ali Cem OKTAY
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yavuz DEMİR

MERSİN - 2019



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RAT ABDOMİNAL ADA FLEP MODELİNDE BOTULİNUM
TOXİN-A UYGULAMASININ NEOVASKÜLARİZASYON
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Ali Cem OKTAY
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yavuz DEMİR

Bu tez, 2018-3-TP3-3033 kodlu proje olarak Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

MERSİN - 2019

TEŐEKKÜR

Bu tezin planlanması, hayata geçirilmesi ve tamamlanmasında fikren, madden ve manen desteğini esirgemeyen, çalışmanın her aőamasında yüksek tecrübelerinden faydalanma imkanı bulduğum kıymetli hocam ve tez danıőmanım **Prof. Dr. Yavuz DEMİR**'e, uzmanlık öğrenimim süresince mesleki ve sosyal anlamda yüksek vizyonlarından yararlanma fırsatı bulduğum, bilgi ve tecrübelerini cömertçe paylaőan ve Mersin Üniversitesi Plastik Cerrahi ailesinin bir parçası olmama imkan tanıyan değerli hocalarım **Prof. Dr. őakir ÜNAL**, **Prof. Dr. Alper SARI**, **Prof. Dr. Yavuz BAŐTERZİ**, **Prof. Dr. Nazım GÜMÜŐ** ve **Yrd. Doç. Dr. Göktekin TENKEKİ**'ye őükranlarımı sunuyorum.

Uzmanlık eğitimi sürecimin baőlarında birlikte çalışma fırsatı bulduğum, desteklerini ve bildiklerini asla esirgemeyen ağabeylerim **Dr. Vasfi ÇELİK**, **Dr. Onur SERİN**, **Dr. Hilmi Berkant TUNÇ** ve **Abdulcebbar SİYER**'e, gece gündüz beraber çalıőtığımız ve beni hiç yarı yolda bırakmayan değerli kardeőlerim **Dr. Duran EKİ**, **Dr. Baver ACABAN**, **Dr. Erkan PİNEGÖZ**, **Dr. R. Okan ÜSTÜN**, **Dr. Vahip KARPINAR**, **Dr. Murat AKSA** ve **Dr. A. Meriç KAHRAMAN**'a, kıymetli hemőirelerimiz **Serap RANDA**, **Hatice G. AKTAŐ** ve **Nesli FİN**'e sonsuz teőekkür ediyorum.

Tezimin deneysel aőamalarına büyük katkı veren **Vet. Hek. Tamer YENER**'e, patolojik değerlendirmeleri özveriyle yapan **Yrd. Doç. Dr. Ferah TUNCEL**'e ve istatistiksel çalışmaları gerçekleőtiren **Arő. Gör. Merve TÜRKEGÜN**'e içtenlikle teőekkür ederim.

Doğumumdan bugüne, bir gün olsun yalnız bırakmayan, tüm edinimlerimin mimarları anne ve babam **Nezihe – Mehmet OKTAY**'a ve canım kardeőim **Dr. Ezgi OKTAY**'a en kalbi teőekkürlerimi sunuyorum.

Hayat arkadaőım, en büyük destekçim, güzel eőim **Dr. Özgün OKTAY**'a ve göz bebeğimiz **Atlas Cem OKTAY**'a varlıkları için minnetarlığımı sunuyorum.

Dr. Ali Cem OKTAY

Mersin – 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa Numarası
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	7
GİRİŞ	8
GENEL BİLGİLER	10
GEREÇ VE YÖNTEM	36
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	44
BULGULAR	46
TARTIŞMA	64
SONUÇ	73
KAYNAKLAR	74
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	83
ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ	84
TABLolar DİZİNİ	87
EKLER : EK1- ETİK KURUL ONAYI	88

ÖZET

Plastik ve rekonstrüktif cerrahide önemli ve sık kullanılan yöntemlerden biri cilt flepleridir. Flep operasyonlarının başarısı flep vaskülarizasyonları ile doğrudan bağlantılıdır. Bu çalışmada ratlarda abdominal deri ada flep modeli kullanılarak botulinum toksin-a (BTX-a) uygulamasının fleplerin periferik neovaskülarizasyonlarında etkili olup olmadığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 10 grupta toplam 50 adet erkek sprague dawley cinsi rat kullanıldı. Ratların her birinde vasküler saplı abdominal deri ada flebi kaldırılarak tabandan vaskülarizasyonu engellemek amacı ile flep tabanına silikon tabaka yerleştirildi, gruplar operasyon öncesi BTX-a ve serum fizyolojik (SF) uygulananlar, BTX-a ve SF ile kimyasal geciktirme işlemi uygulananlar ve herhangi uygulama yapılmayanlar şeklinde ayrıldı. Operasyon sonrası dönemde gruplara göre 5. ve 10. günlerde vasküler pediküller kesildi, 7 günlük bekleme süresinin ardından 4 kadran biyopsi alındı. Alınan biyopsiler CD31 ve VEGF ile boyanarak vasküler yapıların özellikleri incelendi, damar sayıları ve çapları belirlenerek neovaskülarizasyon değerlendirildi. Kontrol grupları ve BTX-a uygulanan gruplar karşılaştırılarak bu uygulamanın nicelik ve nitelik olarak neovaskülarizasyon üzerine etkisi yorumlandı.

Fleplerin sağ kalım oranlarına bakıldığında en yüksek değer BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulanarak 10 gün sonra pedikülü kesilen grupta elde edildi. 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip ve BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulanan grubun değerleri, aynı pedikül bekleme süresine sahip gruplardan yüksek, 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip gruplarla benzer bulundu. Damar çapları ve damar duvar kalınlıklarının değerlendirilmesinde de BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulanan deneklerde diğerlerine oranla anlamlı ve olumlu farklılıklar tespit edildi.

Çalışmanın sonucunda BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulamasının sağ kalım oranlarını arttırdığı, periferik neovaskülarizasyonu desteklediği ve flep dolaşımlarını arttırdığı tespit edildi. Buna göre iki seanslı flep operasyonlarda

BTX-a kimyasal geciktirme işlemi ile ikinci seansın daha erken dönemde yapılabileceği ve flep başarı oranlarına katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler : botulinum toksin, flep, geciktirme, neovaskülarizasyon



ABSTRACT

Skin flaps are widely used in plastic and reconstructive surgery. Success in these procedures is directly related with the vascularization of flaps. This study was performed to evaluate the effect of botulinum toxin-a (BTX-a) on peripheral neovascularization of flaps on rat abdominal skin island flap model.

In this study, 50 male sprague dawley rats were used in 10 groups. We elevated abdominal island flap in each rat and put a silicon sheet under the flaps before suturing them to their beds for preventing neovascularization from recipient bed. The rats were divided as groups with application of SF and BTX-a without delay, application of SF and BTX-a with delay and those used as sham control groups. Vascular pedicles of the flaps were divided at 5th and 10th days following the operation. Following pedicle division at day 7, biopsies were taken from four quadrants of the flaps. The biopsies were stained with CD31 and VEGF to evaluate of characteristics of vascular structures. Neovascularization was evaluated by determining vessel numbers and vessel diameters. Control and study groups were compared in terms of quantity and quality of neovascularization.

We observed that survival rates were highest in the group with chemical delay with BTX-a in which the pedicle were divided 10 days after flap elevation. Survival rate in the group with BTX-a chemical delay in which pedicle was divided in 5th day was higher compared to the groups with same pedicle division time, whereas the survival rate in this group was similar to the groups in which the pedicle was divided at 10 days post operatively. In groups with BTX-a chemical delay vessel diameters and vessel wall thicknesses were significantly higher compared to the other groups.

As a result, our study show that chemical delay application with BTX-a increased survival rates, peripheral neovascularization and flap vascularization. Therefore, we suggest that with the use of chemical delay with BTX-a pedicle division time may be shortened in two session flap operations and this may contribute to higher flap success rate.

Keywords: botulinum toxin, delay, flap, neovascularization

GİRİŞ

Plastik ve rekonstrüktif cerrahinin klinik pratiğinin en önemli kısımlarından birisi doku defektleri ve bu defektlerin onarımıdır. Defekt onarımında kullanılan en güvenilir ve ideal yöntemlerden birisi deri flepleridir. Fleplerle ilgili tecrübeler özellikle son yarım yüzyılda giderek artmıştır. Günümüzde vasküler anatominin giderek daha iyi bilinmesi sayesinde birçok farklı flep tanımlanmıştır. Bu flepler dolaşımları korunarak (randomize, vasküler saplı flepler) veya yeniden sağlanarak (serbest flepler) defekt üzerine getirilmekte, ilerleyen safhalarda getirilen dokunun dolaşımının neovaskülarizasyon ile etraf dokudan sağlanması beklenmektedir. Bu mekanizmanın gerçekleşmediği hallerde pedikül kaybına bağlı kısmi veya total nekroz gibi beklenmeyen erken ve geç dönem komplikasyonlar gelişebilmektedir. İki aşamalı interpolasyon fleplerinde ise yaklaşık 3 haftalık bekleme süresinin ardından pedikülün kesiliyor olması, periferik neovaskülarizasyonu daha hayati bir konuma getirmektedir. Yeterli neovaskülarizasyonun gerçekleşmemesi rekonstrüksiyonun başarısız olması anlamına gelir. Alıcı saha ile flep arasında gelişmesi beklenen bu neovaskülarizasyonu arttırmak amaçlı kesin bir protokol bulunmamaktadır.

Son yıllarda BTX-a uygulamalarının yeni vasküler oluşumları arttırdığı, anjiogenezi ve neovaskülarizasyonu destekleyecek VEGF (vasküler endotelial growth faktör) ve CD31 ekspresyonunu arttırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır. 2016 yılında Qi TANG ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada yağ greftlerine uygulanan BTX-a'nın endotelial proliferasyonu ve anjiogenezi arttırdığı gösterilmiştir. Temiz G. ve ark. tarafından 2015 yılında yapılan çalışmada transvers rektus abdominis muskulokutanöz fleplerinde BTX-a uygulaması cerrahi öncesi yapılmış ve fleplerin iskemiye dayanıklılıklarında ve vaskülaritelerinde artış gösterilmiştir. BTX-a'nın vaskülarizasyon ve anjiogenez üzerine pozitif etkilerini gösteren çalışmalar olsa da fleplerde periferik neovaskülarizasyon ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma, BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulamasının fleplerde meydana gelen neovaskülarizasyonu ne derecede etkileyeceğini araştırmak üzere planlandı. Flep planlandığı esnada yapılacak BTX-a uygulamasının, tüm

işlemler sonunda CD31, VEGF, damar sayıları ve çapları gibi parametreler karşılaştırılarak neovaskülarizasyonu arttırıp arttırmadığı, bu bağlamda klinik başarıya katkı sağlayıp sağlamayacağını gösterilmesi amaçlandı.



GENEL BİLGİLER

DERİ FLEPLERİ

Flep Tanımı

Vasküler dolaşımı korunarak veya yeniden oluşturularak donör sahadan alıcı sahaya aktarılan dokular flep olarak tanımlanır. Flep olarak aktarılan yapı deri, kas, fasya ve kemik gibi tek bir doku içerebileceği gibi bu dokuların kombinasyonu şeklinde kompozit olarak da taşınabilir.

Primer onarım, sekonder iyileşme ve greftleme gibi seçeneklerin kullanılmadığı durumların yanı sıra daha iyi kozmetik ve fonksiyonel sonuç alabilmek adına kullanılan flep teknikleri plastik ve rekonstrüktif cerrahinin en önemli enstrümanlarından^{1,2}.

Tarihçe

3000 yıla yakın bir süredir flepler ile doku onarımı gerçekleştirilmektedir. M.Ö. 600 yılında Susruda Samhita alın ve yüzden pediküllü flepler kaldırarak burun defektlerinin onarımını sağladığını raporlamıştır. Bundan sonraki dönemde 16. yüzyıl sonlarına kadar herhangi kayda rastlanmamış olup Tagliacozzi 1597 yılında kaleme aldığı 'De Curtorum Chirurgia' adlı eserinde distal pediküllü kol flepleri ile burun rekonstrüksiyonu yaptığından bahsetmiştir. 19. yüzyıl sonlarına kadar flep cerrahisi ampirik yöntemlerle uygulanmış, asıl gelişmeler 1889 yılında Manchot tarafından deri beslenmesinin tanımlanması sonrasında gerçekleşmiştir. 1896 yılında Tansini latissimus dorsi kas-deri flebini, 1920 yılında Gilles tüp flepleri tanımlamıştır. 1950-75 yılları arasında hem flep fizyolojisinin daha iyi anlaşılması hem de operasyon mikroskoplarının kullanıma girmesi sayesinde mikrocerrahi uygulamalar hız kazanmıştır. 1972'de McLean insanda ilk serbest flep deneyimini gerçekleştirmiş, geniş skalp defektini serbest omentum flebi ile onarmıştır. 1973'te ise Taylor serbest kasık flebini tanımlamıştır. O yıllardan sonra serbest flepler başarılı ve yaygın şekilde uygulanmaya devam etmiştir. 1987 yılında Taylor tarafından anjiozomların

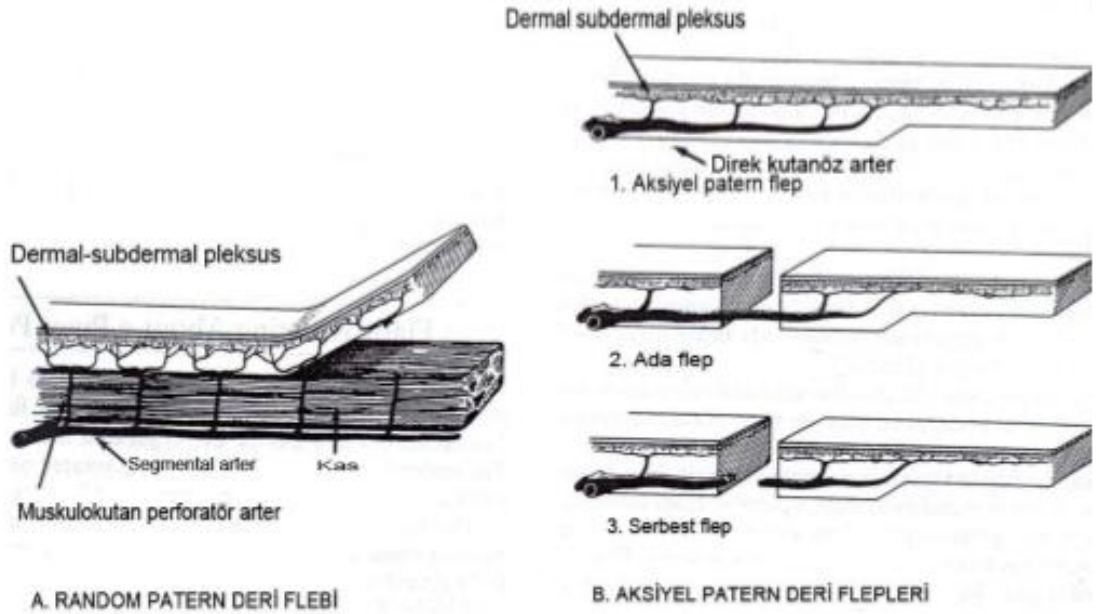
tanımlanması üzerine ise perforatör fleplerin kullanım alanı ve güvenilirliği artmıştır^{1,3,4}.

Flep Sınıflaması

Flepler kanlanma paternlerine, mobilizasyon şekillerine, ihtiva ettikleri dokulara ve defekte olan uzaklıklarına göre sınıflandırılabilirler.

Kanlanma paternine göre deri flepleri

Tüm flep teknikleri dokuların vasküler dolaşımının korunarak taşınması prensibine dayanır. Bu dolaşım tanımlanabilen veya tanımlanamayan vasküler yapılar sayesinde sağlanır. Tanımlı ise aksiyel, değil ise random patern olarak adlandırılır (Şekil 1).



Şekil 1: Deri fleplerinin vaskler 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)

-Random (rastgele) patern flepler :

Belirli bir arteriyel veya venöz sisteme sahip değildirler, subkutan pleksustan rastgele beslenen deri flepleridir. Genellikle lokal deri flepleri olarak kullanılırlar. Flep yaşayabilirliğinde en/boy oranı önem arz eder ve ekseriyetle 1:2'den az olmaması tercih edilir.

-Aksiyel patern flepler :

Tanımlanmış bir vasküler sistem tarafından beslendiği bilinen fleplerdir. Daha güvenilirdir. Direk kutanöz veya muskulokutanöz arterler ve eşlik eden venler flebin uzun aksı boyunca vaskülariteyi sağlar. Bu sistemin oluşturduğu subdermal pleksus sayesinde flep boyu uzatılabilir. Bu tür flepler yarımada, ada veya serbest flepler olarak değerlendirilebilir^{1,2,5}.

Mobilizasyonlarına göre deri flepleri

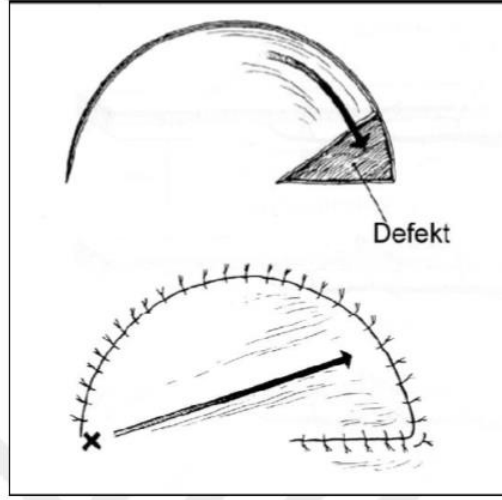
Flepler rekonstrükte edilen alana mesafelerine göre lokal ve uzak flepler olarak sınıflandırılabilir.

Lokal flepler :

Bu flepler rekonstrükte edilen alana komşu bölgelerden hazırlanırlar. Fleplerin hareket şekillerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılır.

-Rotasyon flepleri :

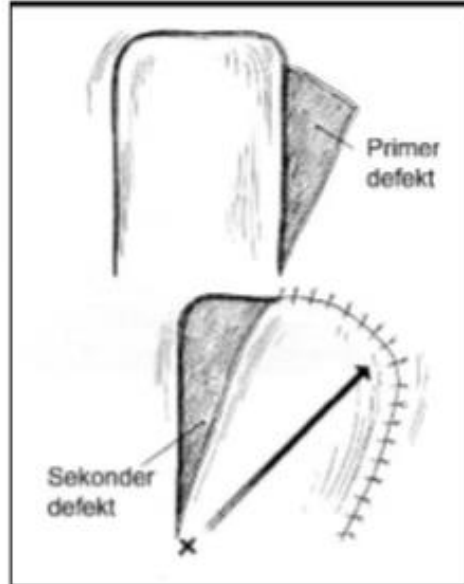
Defekt üzerinde belirlenecek pivot nokta etrafında dönecek ve defekt üzerini kapatacak şekilde yarım daire şeklinde planlanırlar (Şekil 2). Yarım daire çapının defekt kenar uzunluğunun 4 katı olması istenir. Gerginliğin azaltılması amacı ile 'back cut' insizyonu yapılabilir, 'burrow üçgeni' çıkarılabilir.



Şekil 2. Rotasyon flebi, defektin 3–5 katı uzunluğunda planlanmaktadır. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

-Transpozisyon flepleri :

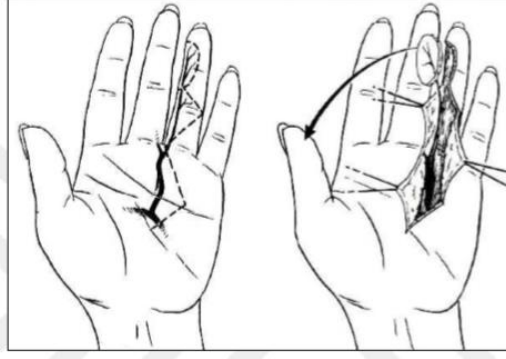
Defekt komşuluğunda bir eksen üzerinde kaydırılarak defekti kapatacak şekilde tasarlanan, sıklıkla dörtgen şekilli fleplerdir (Şekil 3). Donör alan primer sütürasyon, greft veya ikincil bir flep (bilobe flepler) ile kapatılabilir. Limberg flepleri en sık tercih edilen transpozisyon fleplerindedir.



Şekil 3. Transpozisyon flebi. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

-İnterpolasyon flepleri :

Flep defekt yakınlarında planlanır ancak defekte bitişik değildir. Pedikülün bir tünelden veya bir deri adası üzerinden geçirilmesi gerekir. Parmak pulpa flebi, alın flebi gibi flepler bu gruba dahildir (Şekil 4).



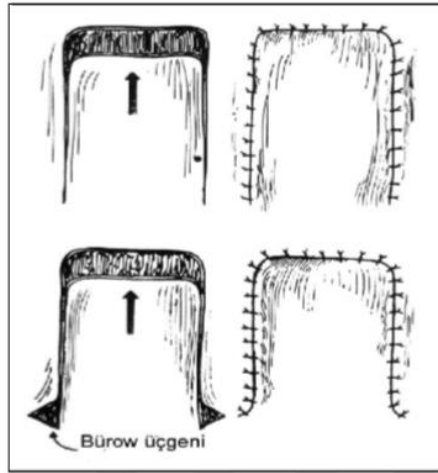
Şekil 4. İnterpolasyon flebi. (Reconstructive Surgery, Principles, Anatomy & Technique, 1997)

-İlerletme flepleri :

Flep defekte doğru düz bir eksende ilerleme hareketi yaparak defekti kapatır. Herhangi bir rotasyon veya yana kayma hareketi yapmaz.

-Tek pediküllü ilerletme flepleri :

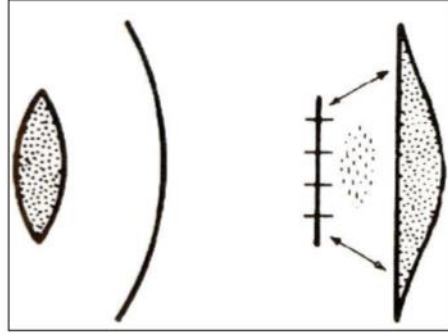
Flep derinin elastikiyeti kullanılarak defekte doğru doğrusal ekseninde ilerletilir. Yanlardan burrow üçgenleri çıkarılarak ilerleme kolaylaştırılmalıdır (Şekil 5).



Şekil 5. Tek pediküllü ilerletme flebi. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

-Bipediküllü ilerletme flepleri :

Defektin uzun kenarına paralel yapılan insizyon sonra tabandan diseke edilen flep kova sapı şeklinde kaldırılır ve yana (defekt üzerine) transpoze edilir (Şekil 6). Donör alan deri grefti ile kapatılır.



Şekil 6. Bipediküllü ilerletme flebi. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

-V-Y ilerletme flebi :

Defekt kapatılmak üzere V şeklinde insizyon yapılır, flep tabanı korunarak defekte doğru ilerletilir (Şekil 7). Donör alanın primer suture edilmesi ile insizyon hatları Y şeklini aldığından bu şekilde isimlendirilmiştir.



Şekil 7. V-Y ilerletme flebi. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)

Uzak flepler :

Defekt ile komşuluğu bulunmayan, bir pedikül üzerinde veya mikrocerrahi yöntemler ile taşınan fleplerdir.

-Uzak pediküllü flepler :

Ekstremitelerin hareket kabiliyetleri kullanılarak flebin pedikülü ayrılmadan defekt alanına götürüldüğü ya da defektin ekstremitede olduğu haller defektin flebin bulunduğu alana fikse edildiği yöntemlerdir. Flebin defekt etrafından beslenmeye başlaması üzerine pedikül kesilir. Bu süre genelde 3 haftadır. Üst ekstremitede defektlerinde sıklıkla kullanılan kasık flebi bu tür fleplere bir örnektir.

-Serbest flepler :

Tanımlanmış bir anjiozomu besleyen arter ve ven diseke edilir, ardından alıcı sahada belirlenen arter ve vene mikrocerrahi yöntemlerle anastomoz yapılır. Mikrocerrahideki gelişmelere bağlı olarak son yıllarda oldukça popüler ve başarılı bir yöntem haline gelmiştir. Böylelikle uzak pediküllü fleplere rağbet azalmıştır.

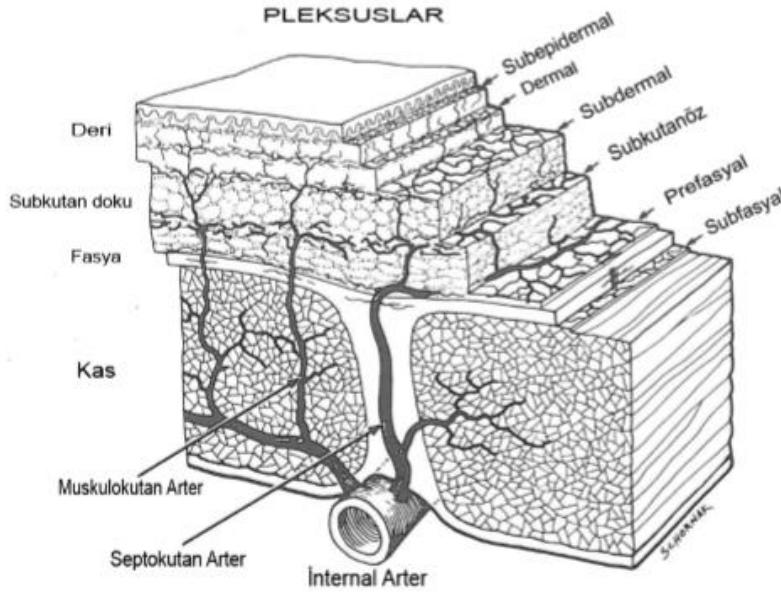
İçerdikleri Dokulara Göre Flepler

Flepler ihtiyaca ve donör alan özelliklerine göre deri, deri-fasya, kas, kas-deri, kas-deri-kemik flepleri olarak kaldırılabilir ve içerdikleri dokularla adlandırılırlar^{1,2,5}.

FLEP FİZYOLOJİSİ

Vücudun en büyük organı deridir. Bölgeden bölgeye değişim göstermekle beraber genellikle zengin bir vasküler ağa sahiptir. Bu zengin kanlanmaya karşılık derinin metabolik ihtiyaçları çok yüksek değildir. Flep dizaynında derinin metabolik ihtiyaçlarını karşılamaya yeterli vasküler desteğin korunması, flep başarısının temel kuralıdır ve derinin zengin vasküler ağa sahip olması önemli bir avantajdır. (A 5,6)

Derinin beslenmesi aortadan çıkan segmental arterler ve bu arterlerden köken alan perforatör arterlerce sağlanır. Segmental arter dallarının kimisi kas fasyaları arasında seyrederek deriye ulaşır ve septokutan perforatör (direk kutanöz) arterler olarak adlandırılır. Bir diğer kısım ise segmental arterlerden ayrıldıktan sonra kas içerisine girer ve kası delerek deriye doğru devam eder. Bu gibi arterler ise muskulokutanöz perforatör arter olarak adlandırılır (Şekil 8). Perforatör flepler deri altı planda anastomozlar yaparak zengin pleksuslar oluştururlar^{6,7}.



Şekil 8. Derinin kan dolaşımı. (Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and Physiology of Skin Flap Surgery. In: McCharty JG, Saunders WB. Plastic surgery. Philadelphia: 1990: 282)

-Fasyal pleksus :

Segmental arterden köken alan perforatör arterler derin fasya seviyesinden geçerken dallar verir. Bu dallar fasya üzerinde ve altında pleksuslar oluşturur, bu pleksuslar prefasyal ve subfasyal olarak adlandırılırlar. Prefasyal pleksus dominanttır, subfasyal pleksus ise nispeten daha zayıftır. Flep beslenmesi açısından özellikle prefasyal pleksusun flebe dahil edilmesi çok önemlidir.

-Subkutanöz pleksus :

Subkutan yağ doku içerisinde yer alır, yüzeysel ve derin olarak subkutan yağ dokuyu ikiye ayırır. Horizontal planda lineer yerleşimli arter ve venlerden oluşur. Ağırlıkla muskulokutanöz perforatörlerden beslenir. Ekstremitelere nazaran gövdede daha baskındır.

-Subdermal pleksus :

Deri dolaşımını sağlayan dominant pleksustur. İnsizyon esnasında kanamanın görüldüğü katmandır. Subkutanöz ve dermal pleksusla yoğun bağlantı içerisindedir, seviye olarak da subkutan doku ile retiküler dermis arasındadır. Deri fleplerinin dolaşımının sağlanabilmesi için bu pleksusun korunması önemlidir.

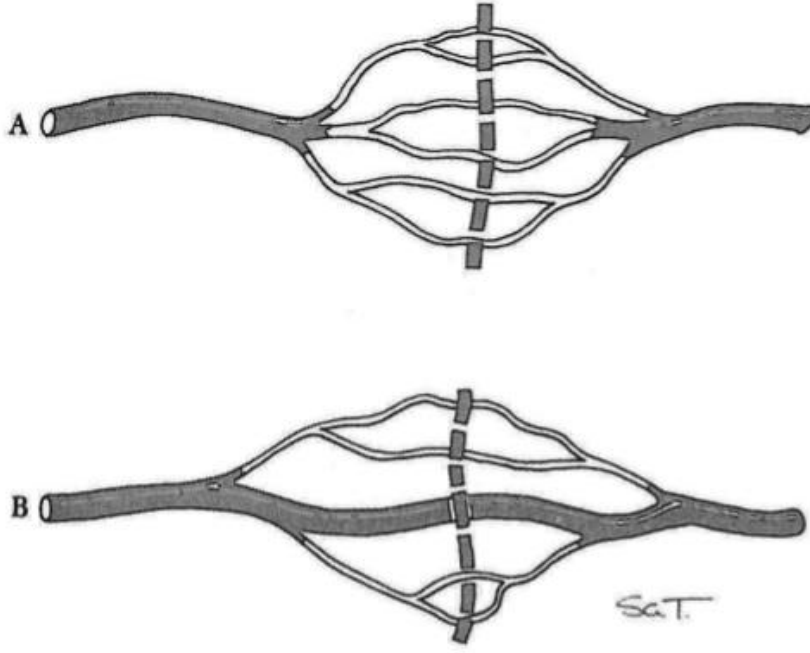
-Dermal pleksus :

Genellikle arteriollerden oluşur. Deri termoregülasyonunda önemli rol oynar.

Epidermal pleksus :

En yüzeysel pleksustur. Küçük damarlardan oluşur. Termoregülasyona katılır⁸.

Perforatör arterlerin deri altında yaptıkları gerçek anastomozların yanı sıra normal şartlarda kullanılmayan, gerek halinde açılan 'choke' adı verilen anastomozlar da mevcuttur (Şekil 9). Flep kanlanmasının regülasyonunda bu anastomozlar önemli rol oynar^{6,7}.



Şekil 9. A. Choke anastomozlar . B. Gerçek anastomozlar. (Taylor GI. Derinin Kanlanması. In Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM, 6.Bask. Grabb and Smiths Plastic Surgery. Philadelphia. Lippincott Williams&Wilkins. 2009;35)

Derinin venleri de arterlerine eşlik ederler. Perforatör arterlerin etrafında genellikle iki adet konkomitan ven bulunur ve ana toplardamarlara dökülürler. Bu şekilde derinin kan drenajı sağlanır.

Ian Taylor, deri kanlanması hakkında yaptığı çalışmalar sonucunda anjiozomları tanımlamıştır. Anjiozomlar tek bir perforatör arterin beslediği kemik, kas ve deri alanını tarifler. Aksiyel fleplerin planlaması anjiozomlara göre yapılmalıdır. Böylece doku beslenmesi daha güvenilir olacaktır^{6,7}.

Deri Kan Akımının Düzenlenmesi

Deri kan akımı hem lokal hem de sistemik değişkenlere göre düzenlenir. Her bir değişkenin özelliğine göre vazokonstriksiyon ya da vazodilatasyon gerçekleşir ve kan akım miktarı değişir. Bu etkenlerin sınıflandırması hem etkilerine hem de lokal ya da sistemik oluşlarına göre yapılmıştır (Tablo 1).

Lokal etki metabolik ve fiziksel etkenlere bağlı oluşur. Metabolik vazodilatör etkenler hipoksi, asidoz ve hiperkarbidir. Hipertermi fiziksel vazodilatör olup hipotermi ve yüksek kan viskozitesi fiziksel vazokonstriktördür.

Sistemik kontrol ise nörolojik ve humoral etkenlerle sağlanır. Bunlardan nöral sistem baskın olan sistemdir. Sempatik sistem tarafından uyarılan alfa adrenerjik ve seratonerjik reseptörler vazokonstriksiyona, beta adrenerjik reseptörler ise vazodilatasyona sebep olurlar. Humoral sistemde ise salgı bezleri ile kan akımına dahil edilen sistemik vazoaktif maddeler spesifik reseptörlerine bağlanarak kan akımını düzenler. Böbrek üstü bezlerinden salgılanan epinefrin ve norepinefrin alfa adrenerjik reseptörlere etki eder ve vazokonstriksiyona neden olur. Yine serotonin, tromboksan A₂ ve prostoglandin F₂ de vazokonstriksiyon yaparlar. Prostoglandin E₁, lökotrien C₄ ve D₄, prostoglandin I₂, histamin ve bradikinin sistemik humoral vazodilatördürler. Endotel hücreleri salgıladıkları vazoaktif maddelerle damar genişliğini regüle eder. Asetilkolin endotelden Nitrik Oksit (NO) salınımına neden olur ve vazodilatasyon gerçekleşir, ancak bu etkinin sağlanabilmesi için sağlam endotel tabakası şarttır. Aynı şekilde trombin, adenzin difosfat (ADP), serotonin ve histamin de bu mekanizma ile vazodilatasyon yaparlar. Bunun yanında endotelden endotelin denilen bir grup polipeptid salınır. Bu polipeptidler damar duvarında kasılmaya neden olur ve vazokonstriksiyon gerçekleşir. Endotelde hasar veya kayıp sonrasında ise baskın olan vazodilatasyon etkisi ortadan kalkar, iskemi gelişir, reperfüzyona bağlı NO salınımı azalacağından süreç hızlanarak devam eder^{9,10,11,12}.

Tablo 1. Deri dolaşımını düzenleyen lokal ve sistemik etkenler.

	Vazokonstriktör	Vazodilatör
Metabolik	-	Hipoksi, Asidoz Hiperkarbi
Fiziksel	Viskozite Hipotermi	Hipertermi Sempatektomi
Nörojenik	Alfa Adrenerjik Seratonerjik	Beta Adrenerjik, Kolinerjik
Humoral	PGF ₂ , Trombaksan A ₂ Endotelinler	Nitrik Oksit, Bradikinin Histamin, Prostosiklin, Trombin Adenozin difosfat, Prostaglandin

Flep İskemisi, Nedenleri ve Patofizyolojisi

Her flebin kaldırıldıktan sonra dolaşımı yeniden düzenlenir. Bu süreçte özellikle erken dönemde iskemi kaçınılmazdır. Bunun nedenleri ekstrensek ve intrinsek faktörler olarak ayrılabilir. Ekstrensek faktörler vakadan vakaya çok değişiklik göstermekle beraber en önemlileri enfeksiyon, düzensiz kan basıncı, sigara, vasküler hastalıklar, radyoterapi komplikasyonları, obezite, ileri yaş, akciğer hastalıkları olarak sayılabilir ve bunlar sistemik etkenlerdir. Lokal ekstrensek faktörlere pedikül veya flebe bası, trombüs ve cerrahi başarısızlık gibi örnekler verilebilir. Ekstrensek etkenler iyi bir ameliyat öncesi değerlendirme, ameliyat esnası ve sonrasında gösterilecek özen ile saf dışı bırakılabilir. İntrensek tek etken ise yetersiz flep kan akımıdır^{5,8,9,10,13,14}.

Flep kaldırıldıktan sonra kan dolaşımı ile ilgili önemli değişikliklerden biri nörojenik innervasyonun kesilmesi ile gerçekleşir. Vasküler tonusun en önemli belirleyicilerinden biri sempatik sinir sistemi stimülasyonlarıdır. Bazal vasküler tonustan sorumludur. Bir flep etrafı kesilerek kaldırıldığında sempatik innervasyonu sağlayan lifler de kesilmiş olur. Bu tip bir sempatektomiden sonra

flep dolaşımı bozulur ve salınan nörotransmitterler aracılığı ile akut dönemde vazokonstriksiyon gelişir ve iskemi meydana gelir. Bu hiperakut dönemde meydana gelen adrenerjik durum yerini nonadrenerjik sürece bırakır. Böylece gelişen vazodilatasyon ile flep dolaşımı sağlanır. Bu sürecin ilk 6-12 saat içerisinde dengeye ulaşması beklenir. Aksi halde geri dönüşümsüz hasar meydana gelebilir^{5,8,9,10,15}.

Anatomik Değişimler :

Yapılan ilk anatomik çalışmalarda flebin kaldırıldığı erken dönemde subdermal pleksustaki vasküler yapıların (özellikle arterler) sayısı ve çapında artış gösterilmiştir. Sonraki dönemde yapılan mikroanjiyografik çalışmalarda daha detaylı sonuçlara ulaşılmış, yeni longitudinal damarların oluşmadığı ancak transvers anastomozlarda genişleme olduğu gösterilmiştir. Flep tabanında meydana gelen damar sayısı ve çap artışı, iskemi ve cerrahi travmaya yanıt olarak düşünülmektedir. Bu süre 2-3 hafta boyunca devam etmektedir⁸.

Hemodinamik Değişimler :

Flep eleve edildiği anda pedikül distalinde kan akımında azalma meydana gelir. İlk gün flep distalindeki dolaşım %18 civarında olup 2 hafta içerisinde %90 seviyelerine ulaşır. Bazı araştırmacılar bu durumun arteriovenöz şantlar nedeniyle distal bölgeye yeterli kan akımının ulaşamadığından kaynaklandığını iddia etmiş olsalar da, bu durumu kanıtlayacak herhangi veri ortaya konulamamıştır^{8,15}.

Metabolik Değişimler :

Flepte yaşanan metabolik değişimler çoğunlukla iskeminin ortaya çıkardığı sonuçlardır. Özellikle flep distalinde azalan kan akımı ve yetersiz oksijen miktarı anaerobik metabolizmayı tetikler. Bunun sonucu olarak oksijen, glukoz ve adenosin trifosfat (ATP) miktarları azalırken, karbon dioksit (CO₂) ve laktik asit miktarları artar. Anaerobik metabolizmaya dönüş toksik oksijen radikallerinde artışa, bu da inflamasyon ve nötrofil göçüne neden olur. Nötrofiller damar

endotelinde hasara neden olurlar, damar bütünlüğünün bozulması ödem, kanama ve tromboza yol açar. Nötrofillerin damar cidarına agregasyonu sonucunda ise damar lümeninde oklüzyon ve iskemide artış meydana gelir⁸.

Flebin kaldırıldığı andan itibaren meydana gelen patofizyolojik süreçler şu şekilde özetlenebilir. Flep elevasyonu sırasında hem arterler de hem de sempatik sinirler kesilir. Bu durum dolaşım miktarında dramatik bir azalmaya sebep olur. İlk 18 saatte hem kan akımında azalma hem de katekolamin deşarjı nedeniyle perfüzyon basıncı çok azalır. Perfüzyon basıncındaki azalma nedeniyle doku beslenmesinin 12 saat boyunca sağlanamaması halinde dönüşümsüz hasarlar meydana gelebilir. Akut dönemde meydana gelen iskemi nedeniyle ortaya çıkan metabolitlere (CO₂, laktat, histamin, prostaglandinler vb.) yanıt olarak vazodilatasyon gelişir ve perfüzyon artmaya başlar. İlk 12 saatten sonra vazokonstriktörlerin etkisi azalmaya başlar ve kan akımı daha da artar. Tüm bu durumlardan flep distali daha çok etkilenir. Yara iyileşmesini takiben 4-5. günlerde yeni kollateraller oluşur ve flep dolaşımı yeni dengesini kurmaya başlar⁸.

Flep Kaybının Önlenmesi Amacı İle Kullanılan Ajanlar

Kan dolaşımı önce de belirtildiği üzere sistemik ve lokal mekanizmalarla kontrol edilmektedir. Flep kaybının önüne geçmek amacıyla bu mekanizmalara etki edecek birçok farmakolojik ajan denenmiştir. Sistemik mekanizmalar humoral ve nöral sistemler olup baskın olan nöral sistemdir. Nöral sistemde sempatik lifler ve alfa adrenerjik reseptörler vazokonstriksiyon yaparken, beta adrenerjik reseptörler vazodilatasyondan sorumludur. Genel mantık vazokonstriksiyona sebep olan faktörleri etkisizleştirmek, vazodilatasyonu desteklemek yönündedir. Bu amaçla adrenerjik (vazokonstriktör) etkenler antiadrenerjiklerle bloke edilmeye çalışılmıştır. Bu yolla akut dönemde meydana gelen katekolamin deşarjının etkileri azaltılmak istenmiştir. Diğer sistemik vazokonstriktörler serotonin, tromboksan A₂ ve Prostaglandin F₂alfa iken vazodilatörler prostoglandin E₁, Prostosiklin, Histamin, Bradikinin ve Lökotrien C₄ – D₄'tür^{3,8,16}.

Alfa Reseptörlere Etkili Ajanlar :

Alfa adrenerjik reseptörler vazokonstriksiyona neden olur. Alfa reseptör blokörleri çeşitli mekanizmalarla adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin deşarjını önlerler. Fenoksibenzamin, klorpromazin, fentolamin, talazolin ve timoksamin bu ajanlardan bazılarıdır. Fentolaminin periferde adrenalinin etkilerini bertaraf ettiğini, böylece flep yaşayabilirliğini arttırdığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Fentolaminin alfa reseptör blokörü etkisinin yanı sıra düz kas gevşetici etkisi de vardır^{8,17}. Klorpromazin alfa reseptör bloğu yaparak direk vazodilatör etkilidir, bunun yanında histamin ve serotonin reseptörlerine antagonist etki yapar. Angel, rat dorsal flebinde klorpromazini çalışmış, olumlu sonuçlar bildirmiş olsa da, bu ajan da diğer ajanlar gibi henüz genel kabul görmemiştir^{8,18}.

Beta Reseptörlere Etkili Ajanlar :

Beta reseptörler vazodilatasyon yaparlar. Bu reseptörleri aktive eden ajanlardan epinefrin, metaproteronol, terbutalin, izoksuprin, isoproteronol, bloke eden ajanlarda ise propranolol ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır^{8,17,19,20}. Bu reseptörler daha çok çizgili kasta bulunurlar, bu nedenle ciltteki etkileri sınırlıdır. Propranolol non-selektif beta adrenerjik blokördür, bazı rat ve domuz çalışmalarında kullanılmış olsa da sonuçlar çelişkilidir^{8,17,19}.

Sempatolitik Ajanlar :

Guanitidin ve rezerpin katekolamin salınımını azaltan ajanlardır. Operasyon öncesi dönemde verilmelerinin faydalı olduğuna dair çalışmalar mevcuttur^{8,18}.

Düz Kas Gevşeticiler :

Düz kas gevşemesi sağlayarak vazodilatasyon yapan ajanlara hidralazin, nitrogliserin, diazoksit ve dimetilsülfoksit gibi örnekler verilebilir. Hidralazin endotelden NO salınımını sağlar, düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyona

neden olur. Böylece arteriollerin düz kasları gevşer, periferik direnç azalır. Preoperatif uygulandığında faydalı olduğuna dair çalışmalar mevcuttur^{8,17,19}. Bir diğer düz kas gevşetici nitrogliserindir. Düz kas hücreleri ve endotelden NO salınımını sağlar. Daha çok venöz sistem üzerine etkilidir. Venöz yetmezliklerde daha sık tercih edilir. Kimi yazarlarca flep beslenmesindeki problemlerin altında venöz yetmezlik en az arteriyel yetmezlik kadar sorumlu görülmektedir. Bu varsayım ile nitrogliserinin flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri olacağı düşünülmüştür. Yapılan birçok çalışmada da pozitif bulgular ortaya konulmuştur¹⁷.

Kalsiyum Kanal Blokörleri :

Normal şartlar altında vazodilatasyon sağlayan bu ajanlar, iskemi halindeki hücrelerde beklenen sonuçları vermemiştir. Denemeler çoğunlukla vasküler yanıtızlıkla sonuçlanmış, araştırmacılar flep yaşamını arttıracak herhangi sonuca ulaşamamışlardır^{8,17,19}.

Nitrik Oksit Uyarıcıları :

Nitrik oksit (NO) endotelial hücrelerde nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi tarafından lipofilik L-arginin kullanılarak üretilir. Yarı ömrü kısadır. Vazorelaksasyonda, anjiogenezde, nörotransmisyonunda, trombosit agregasyonunun baskılanmasında, immün sistemde ve hücre içi haberleşme mekanizmalarında etkin rol oynar. NOS enzimi iki kategoride incelenir; cNOS (constitutive - yapısal) ve iNOS (inducible - uyarılabilir) . cNOS daha az miktarlarda NO üretimi sağlayabilirken, daha çok fizyolojik koşullarda kullanılan enzimdir. iNOS ise inflamasyon durumlarında özellikle konak savunma sistemleri tarafından kullanılır ve çok daha fazla NO sentezleyebilme kapasitesine sahiptir. Nitrik oksitin mikrovasküler yataktaki düz kas hücrelerinin gevşeyebilmesini sağlayabilmesinden ötürü flep modellerinde yaşayabilirliği arttırdığı düşünülmektedir. Hayvan deneylerinde bu durum gösterilebilmiştir. Aynı zamanda ortamda vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF) de arttırdığından flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etki göstermektedir. Kısa yarı ömrü ve hipotansif etkisinden dolayı klinik kullanımı yaygınlaşmamıştır^{21,22}.

Sildenafil flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri gösterilebilmiş bir diğer ajandır. Fosfodiesteraz inhibitörüdür. Guanilat siklaz üzerinden NO sentezini uyarır. NO'ya göre daha özgün hedef hücrelere etkilidir. NO'nun etkinlik süresini arttırır. Daha sınırlı ve kontrollü hipotansiyon yapar.

Yukarıda bahsedilen ajanlara ek olarak hiperbarik oksijen, steroidler, prostoglandin analog ve inhibitörleri ile serbest radikal temizleyicileri gibi birçok ajan flep yaşayabilirliğini arttırmak adına çalışılmış ancak klinik kullanım açısından ortak bir konsensüs oluşturacak sonuçlara ulaşılamamıştır^{8,15,19,23,24}.

GECİKTİRME FENOMENİ

Flep cerrahisi esnasında en çok karşılaşılan sorun nekrozdur ve sıklıkla flep distalinde meydana gelir. Problem sempatik dalların kesilmesi, katekolamin salınımı, küçük arteriollerde vazokonstriksiyon, perfüzyon basıncının azalması ve tüm bunların sonunda yeterli kan akımının sağlanamaması ile doku beslenme problemlerinin oluşmasıdır. Flep kaybının azaltılması amacıyla cerrahi geciktirme yöntemleri geçtiğimiz yüzyıl başlarından beri kullanılmaktadır. Amaç flebin repozisyonu öncesi kanlanma paterninin yeniden düzenlenerek distal nekrozun önüne geçmektir. Bunun için flep yerinden kaldırılmadan insizyonlar yapılır ve asıl cerrahi öncesi bir süre beklenir. Cerrahi geciktirme uzun yıllar kullanıldıktan sonra kimyasal geciktirme keşfedilmiş, bunun üzerine birçok araştırmacı bu konu üzerine yoğunlaşmış, birçok ajan denenmiştir⁹.

Geciktirme fenomenini açıklayan bir takım teoriler mevcuttur. Bunlar şu şekilde özetlenebilir :

- İskemi tolerans :

Geciktirme uygulanan hücreler iskemik koşullara uyum yeteneklerini arttırırlar. Böylece flebin taşındığı seansta karşılaşılabilecekleri iskemik koşullara daha iyi uyum sağlarlar ve hayatta kalırlar. Böylece nekroz sınırlanır.

- Hiperadrenerjik durum :

Dokuda cerrahiye yanıt olarak erken dönemde epinefrin ve norepinefrin düzeyleri çok yükselir. Bunun sonucu gelişen vazokonstriksiyon doku perfüzyonunu azaltarak nekroza sebep olabilir. Geciktirme işleminde ise bu etki nekroza sebep verecek seviyede değildir. Geciktirme işleminden operasyon zamanına kadar geçen sürede katekolamin seviyeleri normale döner, ikinci cerrahi sırasındaki hormon seviyeleri ilk seferdekine oranla daha az olur. Böylece geciktirme sonrası gerçekleşen vazokonstriksiyon ve nekroza sebep olma ihtimali daha düşüktür.

- Sempatektomi vazodilatasyonu :

Erken dönemde sempatektomiye bağlı olarak katekolamin deşarjı ve vazokonstriksiyon olsa da geç dönemde sempatik innervasyonun azalmasına bağlı vazodilatasyon gelişir. Böylece geciktirilmiş doku, flep olarak eleve edildiğinde kan dolaşımı daha fazla olacaktır.

Geciktirme fenomeniyle ilgili erken dönem çalışmalardan birinde (Almanya, 1933) longitudinal aksta küçük damarların çaplarında, subdermal pleksustaki küçük damarlarınsa sayılarında artış gösterilmiştir⁹. 1951 yılında Braithwaite yaptığı çalışmada geciktirme işlemi sonrasında damar sayısında artış olmadığını ancak özellikle subdermal pleksustaki venlerin çapların anlamlı artış olduğunu savunmuştur³.

Dhar ve Taylor 1999 yılında yaptıkları çalışmalarında geciktirme işlemi sonrasında yeni damarların oluşmasından ziyade mevcut damarların kalibrasyonunda artış, bunun yanında choke damarlarında progresif dilatasyon olduğunu göstermişlerdir. Yani normalde kapalı olan anastomozların açılarak potansiyel vasküler anatomik alanların kullanılmaya başlandığını belirtmişlerdir²⁵. Aynı zamanda geciktirme işlemi esnasında gerçekleşen aşamaları incelemiş ve yayınlamışlardır.

Faz 1 :

3. Saatte tüm dokuda vazospazm gerçekleşir. 24 saatin sonuna doğru yerini vazodilatasyona bırakır.

Faz 2 :

24-72. saatler arasında geciktirmeye uğratılan doku içerisindeki damarların tamamında vazodilatasyon söz konusudur. Özellikle choke arterlerinde bu değişim en fazladır. Histolojik olarak choke damar endotellerinde noktasal defektler, genişlemeye bağlı damar cidarında incelme, yoğun hücre proliferasyonu ve hiperplazi görülür. Damar düz kasları uzar.

Faz 3 :

3-7 gün arasında süreç yavaşlasa da vazodilatasyon artmaya devam eder. Damar duvarlarının kalınlaştığı ve buna bağlı hacim artışı gözlenir.

Faz 4 :

7. günden sonra choke damarlarındaki genişleme geri dönüşümsüz hale gelir²⁵.

Geciktirme işlemi sonrası bekleme süresi ile ilgili çalışmalar yapılmış, hayvan deneylerinde birkaç günlük kısa süreli beklemelede bile sonuç alınabilirken klinik uygulamalarda 2-3 haftalık bekleme süreleri tavsiye edilmektedir²⁶. Holzbach ve ark. 2009 yılında geciktirme sürelerini araştırmak üzere ratlar üzerinde çalışmışlar, 3,5 ve 7 günlük bekleme süreleri sonrasında değerlendirme yapmışlardır. Gruplar vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), nekroz ve perfüzyon yüzdesi parametreleri üzerinden karşılaştırılmış, 3. günde VEGF en yüksek bulunurken perfüzyon artışı ve nekroz azlığı açısından 5 gün beklenen grup diğerlerine göre üstün bulunmuştur. 7. gün cerrahi geciktirme grubu ile kontrol grubu damar oluşumu açısından CD31 antijeni ile değerlendirilmiş, istatistiksel anlamlı olmasa da geciktirilmiş grubun kontrol grubuna göre daha fazla boyandığı gösterilmiştir²⁷.

2007 yılında Ghali ve ark. geciktirme fenomenini inceleyen çalışmaları gözden geçirmişlerdir. Erken dönemde sempatik sinir liflerinin kesilmesine bağlı

hiperadrenerjik durumun iskemiye neden olduğu, bu durumun post operatif 30. saatte sona erdiği söylenmiştir. Böylece bir sonraki elevasyonda katekolaminlerin etkisinin azaldığı, choke damarlarında vazodilatasyon olduğu ve komşu vasküler anatomik yapılarla birleşme gerçekleştiği belirtilmiştir. Geciktirmeye maruz bırakılan hücrelerin metabolik ihtiyaçlarının azaldığı, iskemiye dirençlerinin arttığı, bununla birlikte reaktif oksijenlerin temizlendiği ve etkilerinin azaldığı ifade edilmiştir. Bunlara ek olarak elektrolit dengesinin sağlandığı, nötrofil adezyonunun ilerleyen günlerde azaldığı, buna bağlı apoptoziste azalma, mikrosirkülasyonda iyileşme gözlemlendiği de söylenmiştir. Tüm bunlar hücre nekrozunun sınırlandırılmasında avantaj sağlar sonucuna varmışlardır²⁸.

Geç dönemde ise oksijen ve glukoz kullanımının arttığı, böylece araşidonik asit metabolitlerinin etkisinin azaldığı iddia edilmiştir. Aynı çalışmada Murphy'nin rat deri modelinde erken dönemde araşidonik asit yıkımı sonucunda metabolitlerinin yükseldiğini, prostoglandin ve tromboksan ürünleri arasındaki dengenin bozulduğunu, bu durumun vazokonstriksiyon lehine çalıştığını gösterdiğinden bahsedilmiştir. Geciktirilmiş flebin yeniden kaldırıldığı durumda ise araşidonik asit metabolitlerine cevapta körelme, PGE₂ seviyesinde artış, buna bağlı flep yaşayabilirliğinde artış gösterilmiştir²⁸.

Geç dönemde gerçekleşen değişimler iskeminin tetiklediği süreçlerdir. Yeni damar gelişimi başlar ve bu süreçler anjiogenez ve vaskülogenez ile tarif edilir. Var olan damarların yeni mikrodamarlar oluşturması (filizlenme) anjiogenezdir. Vaskülogenez ise yeni damar oluşumdur ve bu oluşum kemik iliğinden köken alan öncü hücreler tarafından gerçekleştirilir^{29,30,31,32}. Bu süreci tetikleyen sitokinler (fibroblast büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü) geciktirme işlemi ile artar ve yeni damar oluşumuna öncülük eder. Endotel hücre migrasyonu, proliferasyonu ve kapiller tomurcuklanma uyarılır. Anjiogenez, geciktirme işleminin erken dönemlerinde (48. saat) hızla artar. Vaskülogenez ise daha geç dönemlerde etkinleşir. Öncül endotel hücrelerinin 3. günde ortamda görülmelerine rağmen tam etkinlik sağlamaları 2. haftada gerçekleşir²⁸.

Yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında geciktirmenin süresinin ne kadar olması gerektiği de önemli bir tartışma konusu olmuştur. Milton, 7 gün geciktirmenin yeterli olduğunu, Restifo ve ark. 7 gün ile 14 gün arasında fark olmadığını, geri kalan aratırmacıların büyük kısmı ise 2 haftalık geciktirme süresinin uygun olacağını savunmuşlardır^{28,33}. Barker ve ark. çalışmalarında deneklere 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40 ve 80 günlük bekleme süreleri uygulamış, nekrozun önlenmesi için en az 6 günlük sürenin beklenmesi gerektiği sonucuna varmışlardır³⁴.

Geciktirme yöntemlerinin önemi son yıllarda gelişen cerrahi tekniklerle beraber azalmış görülmektedir. Ancak hala sık kullanılan bazı fleplerde (alın flebi, kasık flebi, pediküllü transvers rektus abdominis kas-deri(TRAM) flebi, tenar ve crossfinger flepler, derin inferior epigastrik perforatör flebi gibi) bu fenomen hayati değere sahiptir. Obezite, radyoterapi maruziyeti, sigara kullanımı gibi flep nekroz ihtimalini arttıran durumlarda da flep güvenliğini arttırmak amacıyla kullanımı önemlidir⁹.

Cerrahi geciktirme yönteminin yanı sıra geciktirme işlemi birçok farklı yöntemle de denenmiştir. Klemple geciktirme, pedikül ligasyonu, hiperbarik oksijen gibi tekniklerin yanı sıra kimyasal geciktirme amacıyla epinefrin, doksazin mesilat, nitrogliserin bant, timoksamin, klorpromazin, isoproteronol, metaproteronol, VEGF, rezerpin, dopamin ve guanetidin, fenoksibenzamin, fentolamin, tadalafil, hidralazin, diazoksit, dimetilsfoksit, nifedipin, terbutalin, izoksuprin ve propranolol gibi birçok ajan kullanılmıştır^{35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49}.

VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)

İlk olarak tümör hücrelerinden salgılanan ve vasküler geçirgenliği arttıran bir madde olduğu düşünülmüş, bu sebeple 'vasküler permeabilite faktörü' (vascular permeability factor) şeklinde isimlendirilmiştir. Daha sonraları yapılan çalışmalarda fizyolojik ve patolojik süreçlerde en kuvvetli anjiogenez ve vaskülogenez uyarıcısı olduğu görülmüş, ismi VEGF olarak değiştirilmiştir^{31,50,51,52,53,54}.

VEGF'in 7 alt tipi vardır. Bunlar VEGF-A (Human-VEGF olarak da adlandırılır), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PlGF (Plasental büyüme faktörü) ve VEGF-F (yılan zehiri) 'dir. Çalışmalarda çoğunlukla VEGF olarak bahsedilen büyüme faktörü VEGF-A diğer adıyla Human-VEGF'tir^{55,56}.

VEGF, mast hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Mast hücreleri, hemopoetik sistemin öncü hücrelerinden köken alırlar ve farklılaşmalarını periferde gerçekleştirirler.

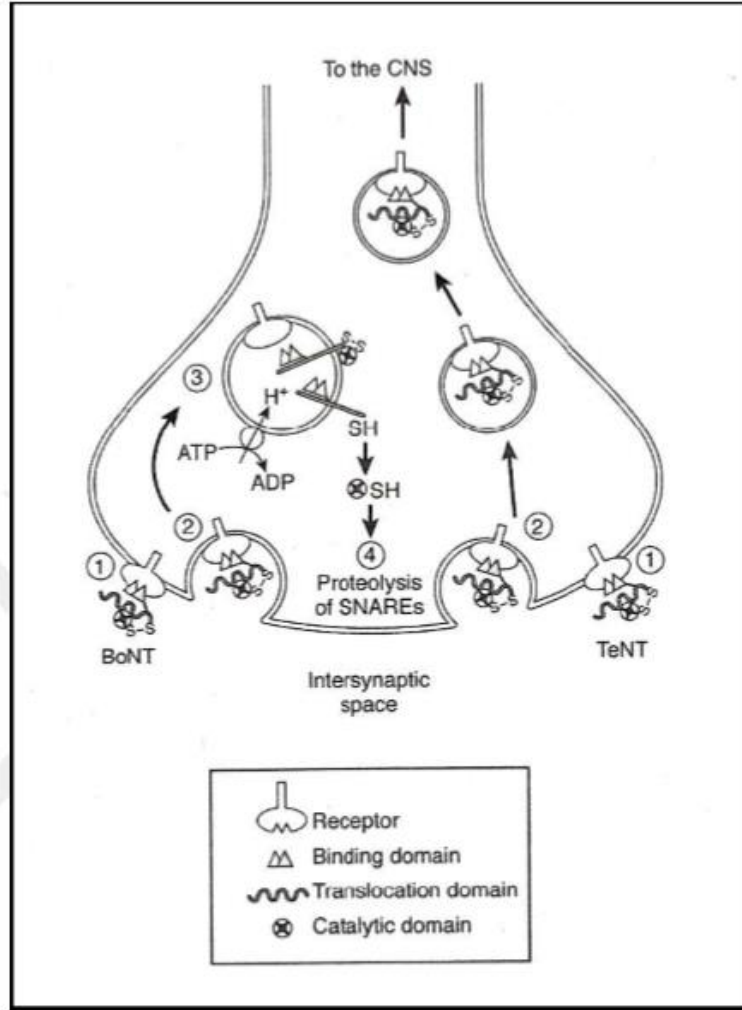
BOTULİNUM TOKSİN-A (BTX-a)

Clostridium Botulinum, Clostridium Tetani ile birlikte Clostridium ailesinin ana üyeleridir. Temel yapısal ve fonksiyonel benzerlik gösterirler. Cl. Tetani merkezi sinir sistemine etkili iken Cl. Botulinum salgıladığı ekzotoksin ile periferik sinir sistemine etkilidir. Bu toksin 'Botulinum Toksin' (BTX) olarak adlandırılır. BTX'in serotipleri A, B, C1, D, E, F ve G olarak adlandırılır ve 7 adettir. Botulinum sporları kaynatılma sonrasında bile işlevlerini sürdürebilirler ancak serbest haldeki toksin 80 °C üzerinde 10 dakika tutulduğunda veya 7 üzeri pH'da kolaylıkla eradike edilebilir. Bu toksinin klinikte neden olduğu 5 tip botulizm tablosu vardır. Bunlar; intestinal (infantil) botulizm, besin (klasik) botulizmi, yara botulizmi, inhalasyon botulizmi ve iatrojenik botulizmdir. İntestinal botulizm yutulan sporların barsaklarda aktivasyonu sonrası meydana gelir ve infantlarda görülür. Besin botulizmi alınan gıdalardan; yara botulizmi ise yara kontaminasyonundan kaynaklanır. İnhalasyon botulizmi biyolojik silah maruziyeti ile görülürken iatrojenik botulizm tedavi amaçlı BTX enjeksiyonu nedeniyle lokal veya jeneralize kas felci gelişmesidir. İnhalasyonel ve iatrojenik botulizm literatürde çok kısıtlı sayıda olguda gösterilmiştir⁵⁷.

Yapısal Özellikler ve Etki Mekanizması

Botulinum nörotoksini 100 kd ağır zincir ve 50 kd hafif zincir olmak üzere 150 kd'luk inaktif polipeptidler şeklinde bulunup, tripsin benzeri bakteriyal proteaz ile aktifleşir. Bu iki zincir birbirine disülfid bağları ile bağlanır ve bu bağ ısıya

duyarlıdır. Isı maruziyeti ile disülfid bağları kopar ve nörotoksin inaktif olur⁵⁸. Ağır zincir nöron üzerindeki reseptöre bağlanır. Böylece nörotoksin hücre içerisine alınır. Nöromusküler kavşakta asetilkolin salınımından Synaptobrevin (VAMP = Vesicle associated membrane protein), Sinaptosomal İlişkili Protein 25 (SNAP-25) ve Syntaxin'den meydana gelen SNARE kompleksi sorumludur. Hafif zincir nöron içine girdikten sonra çinko bağımlı endopeptidaz aktivitesi ile proteolitik etkinlik kazanır, SNARE kompleksini parçalar ve asetilkolin salınımını engelleyerek presinaptik blok yapar (Şekil 10)^{58,59,60}.



Şekil 10. Botulinum toksin etki mekanizması.

Toksinin, norömusküler kavşağa asetilkolin veziküllerinin salınmasını engellemesi ilgili kasta felce neden olur. Toksinin lokal enjeksiyonu bölgesel etki eder, enjeksiyon bölgesindeki kaslarda paralizi gelişir. Bu etki 3-6 ay sürer. Yeni motor sinir dallarının gelişmesi ile toksinin etkileri ortadan kalkar^{34,59}.

Botulinum Toksinin Kullanım Alanları

Klinikte yaklaşık 30 yıldır hem nöromusküler hastalıkların tedavisinde hem de kozmetik amaçlı kullanılmaktadır. Blefarospazm, strabismus, spazmodik disfoni, anal fissür, parkinson tremoru, servikal distoni, tortikollis, akalazyza, oddi sfinkter spazmı, sinkinezi, hiperhidrozis, migren tipi baş ağrısı, tetanoz, serebral palsi gibi hastalıkların yanı sıra üst yüz kırışıklıklarının giderilmesi gibi kozmetik amaçlar botulinum toksinin örnek kullanım alanları olarak gösterilebilir.

DeneySEL Çalışmalar ve Klinik Tecrübeler

Botulinum toksinin vazodilatör etkisi bilinmektedir. Bu etkiyi alfa₂ reseptörlerini aktive eden fosfolipaz D'yi inaktive ederek gerçekleştirdiği gösterilmiştir^{61,62}.

Morris ve ark. 2001 yılında domuz uterin kası üzerinde yaptıkları çalışmada BTX'in katekolamin veziküllerinin deşarjını önlediğini, böylece kimyasal sempatektomi yaptığını göstermişlerdir⁶³. Klinik kullanımlar ise daha çok tesadüfi ve ampirik yaklaşımlara dayalı olarak başlamıştır. 2003 yılında Raynaud fenomeni olan bir hastaya hiperhidroz nedeniyle BTX enjeksiyonu yapılmasının ardından, hastanın Raynaud fenomenine bağlı şikayetlerinin gerilediği görülmüştür. Bunun üzerine 2007'de Van Beek tarafından 11 Raynaud fenomenli hastaya BTX tedavisi uygulanmış, hastaların atak sıklıklarında azalma, ağrı şiddetinde gerileme ve parmak ucu ülserlerinde düzelme tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda BTX-a'nın düz kas hücrelerinde nöromusküler blokaj ile vazodilatasyon yaptığı savunulmuştur⁶⁴. İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda BTX-a'nın norepinefrin, substans-P, glutamat gibi ağrı ile ilişkili nörotransmitterleri etkilediği, nöropatik yolları ayırarak sempatik tonusu azalttığı gösterilmiştir. 2009'da Kim, random patern deri flepleri üzerinde BTX ile yaptığı çalışmada BTX'in sempatik blok ile vazodilatasyon etkisinin

yanında, endotelyal proliferasyonu ve kan dolaşımını arttıran VEGF ve CD31 gibi mediatörlerin salınımını da arttırdığını göstermiştir⁶⁵.

Uygulama Tekniği, Doz ve Saklama Koşulları Önerileri

BTX-a liyofilize toz halinde Dysport® (Ipsen; Maidenhead, UK), Neuroblock® (Elan Pharmaceuticals) ve Botox® (Allergan; Irvine, Calif.) ticari isimleri ile piyasada bulunmaktadır. Doz hesabı ünite (U) veya mouse unit (MU) üzerinden yapılır. 1 ünite, periton içersine enjeksiyon sonrasında 18-22 gr dişi Swiss-Webster farelerinin yarısını öldürebilen doz olarak belirlenmiştir. 1 ünite Botox® yaklaşık olarak 4 Dysport® ünitesinin etkinliğine sahiptir. İnsanda ise LD50 (70 kg bireyler için median lethal doz) 2500-3000 U Botox® olarak belirlenmiş olup, spastisite tedavisinde çıkılan en yüksek doz 400 U'dur^{66,67}. Yüz mimik kırışıklıklarının tedavisinde tek seans için önerilen en yüksek doz 60 U'dur⁶⁸. Ratlarda BTX-a'nın etkin dozu 4U/kg iken yüksek doz 16U/kg'dir⁶⁹. Toksinin uygulandığı yerde yaklaşık 3 cm'lik çapa sahip bir dairesel alana yayılarak etkisini bu alanda gerçekleştirdiği gösterilmiştir⁷⁰. Bu dozlarda uygulanan lokal toksinin sistemik etki göstermesi beklenmemektedir⁷¹. BTX'a bağlı allerjenik ya da ürtikeryal reaksiyon bildirilmemiş, insan ve hayvanda uzun dönem takipler sonrası karsinojenik, immünojenik ve başkaca zararlı yan etkiler tespit edilmemiştir. Olası bir sistemik reaksiyonda 24 saat içerisinde antitoksin verilmesi önerilmektedir⁷².

Botox® -5 °C, Dysport® ise +2-8 °C'de saklanmalıdır. Preparatlar sulandırıldıktan sonra Dysport®'un 8 saat içerisinde kullanılması önerilir, Botox® preparatlarının sulandırıldıktan sonra aktivitesi 1. gün sonunda %90, 3. gün %70-80, 7. gün %40-50, 14 gün sonunda ise %0'a yakın bulunmuştur. Sulandırılan Botox® preparatlarının yeniden dondurulmasının herhangi pozitif etkisi gösterilmemiş olup, ideal kullanım şekli sulandırılma sonrası +4°C' de saklanarak ilk 24 saatte tüketilmesidir⁷².

BTX-a'nın kas üzerine etkileri literatürde kesin şekilde tanımlanmıştır. Ancak deri üzerine etkileri hala araştırma konusudur. Özellikle hipoksik ortamlarda anjiogenez ve vaskülogenez üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir⁶⁵. Biz

Çalışmamızda rat abdominal ada deri flebi modelinde BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulayarak deri fleplerinde anjiogenez, vaskülogenez ve sağ kalım üzerine etkilerini araştırmayı, bu mekanizmalarla neovaskülarizasyonu nasıl etkilediğini göstermeyi amaçladık.



GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 28/05/2018 tarihli 25 sayılı kararı (Bkz. EK-1) ile MEÜ Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Denek olarak Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı (ANKARA) 'ndan temin edilen ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 50 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Deneysel öncesi, esnası ve sonrasında ratlar müstakil ve eşit büyüklükteki kafeslerde oda sıcaklığında (24°C) tutuldu, standart yem ve çeşme suyu ile ad libitum beslenmeye alındı. 12 saat karanlık, 12 saat gün ışığı altında olacak şekilde laboratuvar ortamında himaye edildi.

Deneysel, rat andominal deri ada flebi modelinde, BTX ile kimyasal geciktirme uygulanması halinde, fleplerde ve insizyon hatlarında meydana gelecek vaskülogenez ve anjiogenezin artış artmayacağını tespiti hedeflendi. Bu amaç ile, hiç işlem uygulanmadan flepleri eleve edilen, serum fizyolojik (SF) ve BTX-a enjeksiyonu sonrası flepleri eleve edilen ve BTX-a ve SF ile kimyasal geciktirme uygulandıktan sonra flepleri eleve edilen denekleri içerecek şekilde gruplar oluşturuldu. Fleplerin kaldırılmasını ve yerine iadesini takiben gruplara göre 5. ve 10. günlerde pediküllerin kesilmesi, pedikül kesimini takiben 7. günde biyopsilerin alınması, alınan biyopsilerin VEGF ve CD31 ile boyanarak vaskülarite (damar sayısı ve boyutları) parametreleri üzerinden histolojik olarak incelenmesi planlandı ve uygulandı.

SF ve BTX-a Enjeksiyonu

Enjeksiyon yapılmak üzere Botox® 100 U liyofilize toz halinde toksin 10 cc SF ile sulandırıldı. Enjeksiyon işlemi uygulanacak ratlara işlem öncesi Ketamin 100 mg/kg ve Xylasin 60 mg/kg uygulandı. Ağrılı uyaran yanıtı ortadan kalkınca enjeksiyon işlemine başlandı. Flep olarak kaldırılması planlanan bölge işaretlendi (Şekil 11). Flep üzerinde 5 ve insizyonların dışında kalan alanda 5 nokta eşit aralıklı olarak belirlendi (Şekil 12). Her rat için 8U/kg olarak belirlenen toplam doz 10 noktanın her birine eşit miktar enjekte edilecek şekilde uygulandı.

SF uygulanan kontrol gruplarında enjeksiyon miktarının eşit olması amacıyla 0.8 cc/kg olarak hesaplanan toplam SF miktarı eşit miktarlarda 10 noktaya enjekte edildi.

Cerrahi Yöntem

Enjeksiyon işlemi uygulanacak ratlara işlem öncesi Ketamin 100 mg/kg ve Xylazine 60 mg/kg uygulandı. Ağrılı uyaran yanıtı ortadan kalkınca işleme başlandı. Sağ femoral arterin süperfisial epigastrik arter dalı baz alınacak şekilde 4x3 cm'lik deri ada flebi dizayn edildi (Şekil 11). Sırasıyla medial, lateral ve süperior kenarlar kesildikten sonra süperiordan inferiora diseksiyon yapıldı. Süperfisial epigastrik arter bulunup korunarak diseke edildi (Şekil 13). Pedikül korunacak şekilde inferior insizyon gerçekleştirilerek flep eleve edildi (Şekil 14). Flep yerine iade edilmeden önce tabandan beslenmesini önlemek maksadı ile flep tabanı büyüklüğünde silikon tabakalar kesilerek 4/0 polipropilen ile flep altına tespit edildi (Şekil 15). Ardından flep yerine iade edildi. Cilt 4/0 polipropilen ile suture edildi (Şekil 16).

Flep yerine adapte edildikten sonra periferik neovaskülarizasyonun gelişmesine imkan tanıyacak şekilde 1-5. gruplarda 5 gün, 6-10. gruplarda ise 10 gün beklendik sonra pedikül kesim işlemi gerçekleştirildi. İnferior insizyonun yaklaşık 1 cm altından yeni bir horizontal insizyon ile girildi. Flep pedikülü olan inferior epigastrik arter bulundu, bağlandı ve kesildi (Şekil 17). İnsizyon suture edilerek işleme son verildi.

Deney Grupları

Kontrol grubu (herhangi işlem yapılmayan), SF ve BTX-a geciktirme grupları ile geciktirme yapılmadan enjeksiyon yapılan SF ve BTX-a grupları oluşturuldu ve grup 1'den grup 5'e sıralandı. 1-5. Gruplarda deri ada flebi kaldırıldıktan 5 gün sonra pediküller kesildi. Aynı tedavi protokolü uygulanan 6-10. gruplarda ise flep operasyonundan 10 gün sonra pediküller kesildi.

Grup 1 (Kontrol5 Grubu):

Bu gruptaki ratlarda herhangi bir enjeksiyon işlemi uygulanmadan abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve yerlerine iade edildi. Post operatif 5. gün pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 2 (SF5Delay Grubu) :

Bu gruptaki ratlara operasyondan 7 gün önce SF enjeksiyonu yapılarak geciktirme uygulandı. Abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve flepler yerlerine iade edildi. Operasyondan 5 gün sonra pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 3 (BTX5Delay Grubu) :

Bu gruptaki ratlara operasyondan 7 gün önce BTX-a enjeksiyonu yapılarak geciktirme uygulandı. Abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve flepler yerlerine iade edildi. Operasyondan 5 gün sonra pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 4 (SF5 Grubu) :

Bu gruptaki ratlarda SF enjeksiyonu ile aynı seansta abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve yerlerine iade edildi. Post operatif 5. gün pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 5 (BTX5 Grubu) :

Bu gruptaki ratlarda BTX-a enjeksiyonu ile aynı seansta abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve yerlerine iade edildi. Post operatif 5. gün pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 6 (Kontrol10 Grubu):

Bu gruptaki ratlarda herhangi başka işlem uygulanmadan abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve yerlerine iade edildi. Post operatif 10. gün pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 7 (SF10Delay Grubu) :

Bu gruptaki ratlara operasyondan 7 gün önce SF enjeksiyonu yapılarak geciktirme uygulandı. Abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve flepler yerlerine iade edildi. Operasyondan 10 gün sonra pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 8 (BTX10Delay Grubu) :

Bu gruptaki ratlara operasyondan 7 gün önce BTX-a enjeksiyonu yapılarak geciktirme uygulandı. Abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve flepler yerlerine iade edildi. Operasyondan 10 gün sonra pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 9 (SF10 Grubu) :

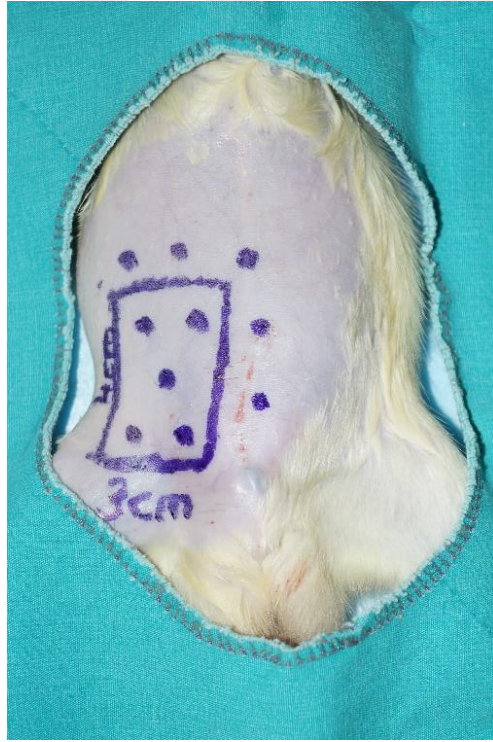
Bu gruptaki ratlarda SF enjeksiyonu ile aynı seansta abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve yerlerine iade edildi. Post operatif 10. gün pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.

Grup 10 (BTX10 Grubu) :

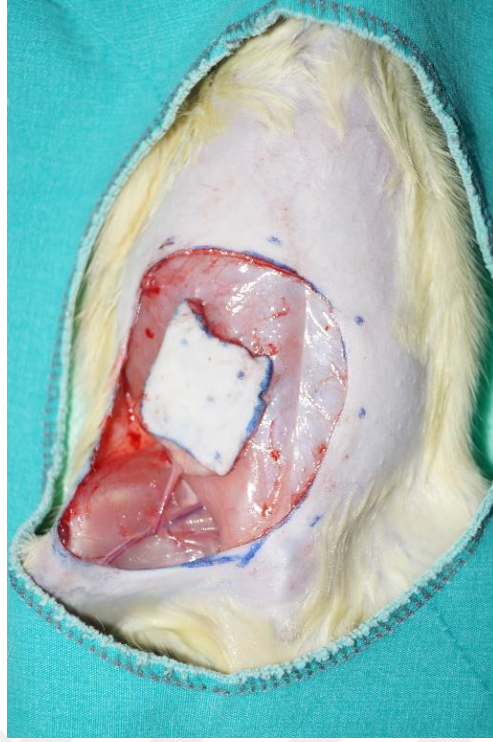
Bu gruptaki ratlarda BTX-a enjeksiyonu ile aynı seansta abdominal deri ada flepleri kaldırıldı, flep tabanlarına silikon tabaka yerleştirildi ve yerlerine iade edildi. Post operatif 10. gün pedikül kesildi. Pedikül kesimini takiben 7 gün beklendikten sonra 4 kadrandan biyopsi alındı.



Şekil 11. Flebin çizimi.



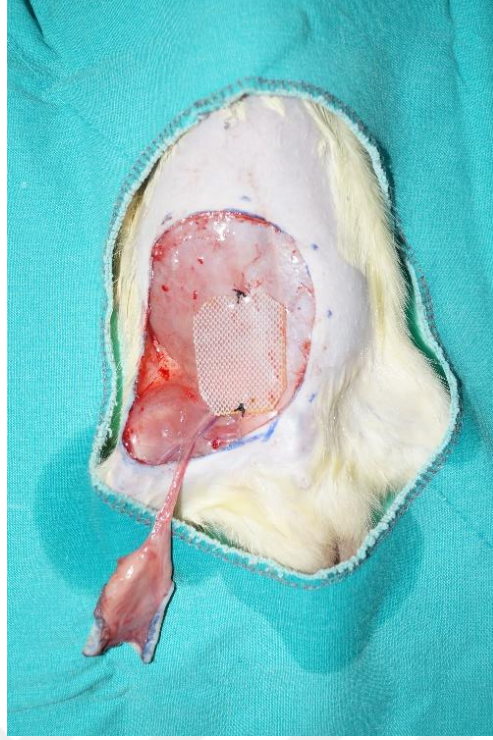
Şekil 12. Enjeksiyon alanları.



Şekil 13. İnsizyonlar ve pedikül diseksiyonu.



Şekil 14. Flebin kaldırılışı.



Şekil 15. Flebin altına silikon tabaka konulması.



Şekil 16. Flebin yerine sütüre edilmesi.



Şekil 17. Pedikülün bağlanma öncesi diseksiyonu.

Yaşayan Alan Değerlendirmesi

Tüm ratlarda deney süresinin bitimini takiben fleplerde yaşayan ve nekroze alanlar asetatlı kağıt üzerine çizilerek planimetrik kağıtlara aktarıldı. Yaşayan ve nekroze alanlar yüzde olarak hesaplanarak kaydedildi.

Histopatolojik Değerlendirme

Tüm ratlarda standart olarak süperior, medial, inferior ve lateral insizyon hatlarını örnekleyecek şekilde 4'er adet yaklaşık 1 cm²'lik biyopsiler alındı (Şekil 18). Alınan örnekler tespit amacı ile %10 formaldehit solüsyonu içerisine konuldu. +4 °C'de 24 saat saklandı. Dokular usulüne uygun parafine gömüldü ve kesitler alındı. CD31 ve VEGF antikorları ile boyanan kesitler mikroskop altında histomorfolojik olarak değerlendirildi.



Şekil 18. Deney sonunda flep ve flep etraındaki sağlam dokunun histopatolojik olarak değerlendirilebilmesi için alınan biyopsilerin yerleşimi.

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizi STATISTICA Version 13.3 programı ile yapılmıştır. Her gruptaki her bir deneğin flep ve flep etrafındaki sağlam dokularından elde edilen damar çapı ve duvar kalınlığına ait ölçümler kaydedilmiştir. Bu ölçümlerin normal dağılım kontrolü Shapiro Wilk testi ile yapılmıştır. Normal dağılıma uygunluk gösteren her bir deneğin ilgili ölçümü aritmetik ortalama ile özetlenmiştir. Normal dağılım göstermeyen her bir deneğin ilgili ölçümü ise medyan ile özetlenmiştir. Ve böylece grupların ölçüm değerleri elde edilmiştir.

Tablolarda sürekli değişken olan damar çapı ve duvar kalınlığı ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri ile özetlenmiştir.

Normal dağılım kontrolü için Shapiro Wilk testi, grupların varyanslarının homojenlik kontrolü için Levene istatistiği kullanılmıştır.

Normal dağılıma uygunluk gösteren ve grup varyansları homojenlik gösteren çap ve duvar kalınlığı için ikiden fazla bağımsız grup ortalamalarını karşılaştırmak amacıyla parametrik testlerden olan Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) yöntemi kullanılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda farklılık çıkan grupları tespit etmek için çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey ve Fisher's LSD testleri kullanılmıştır.

Tüm karşılaştırmalar için istatistik önem düzeyi (p) $\leq 0,05$ olarak alınmıştır.



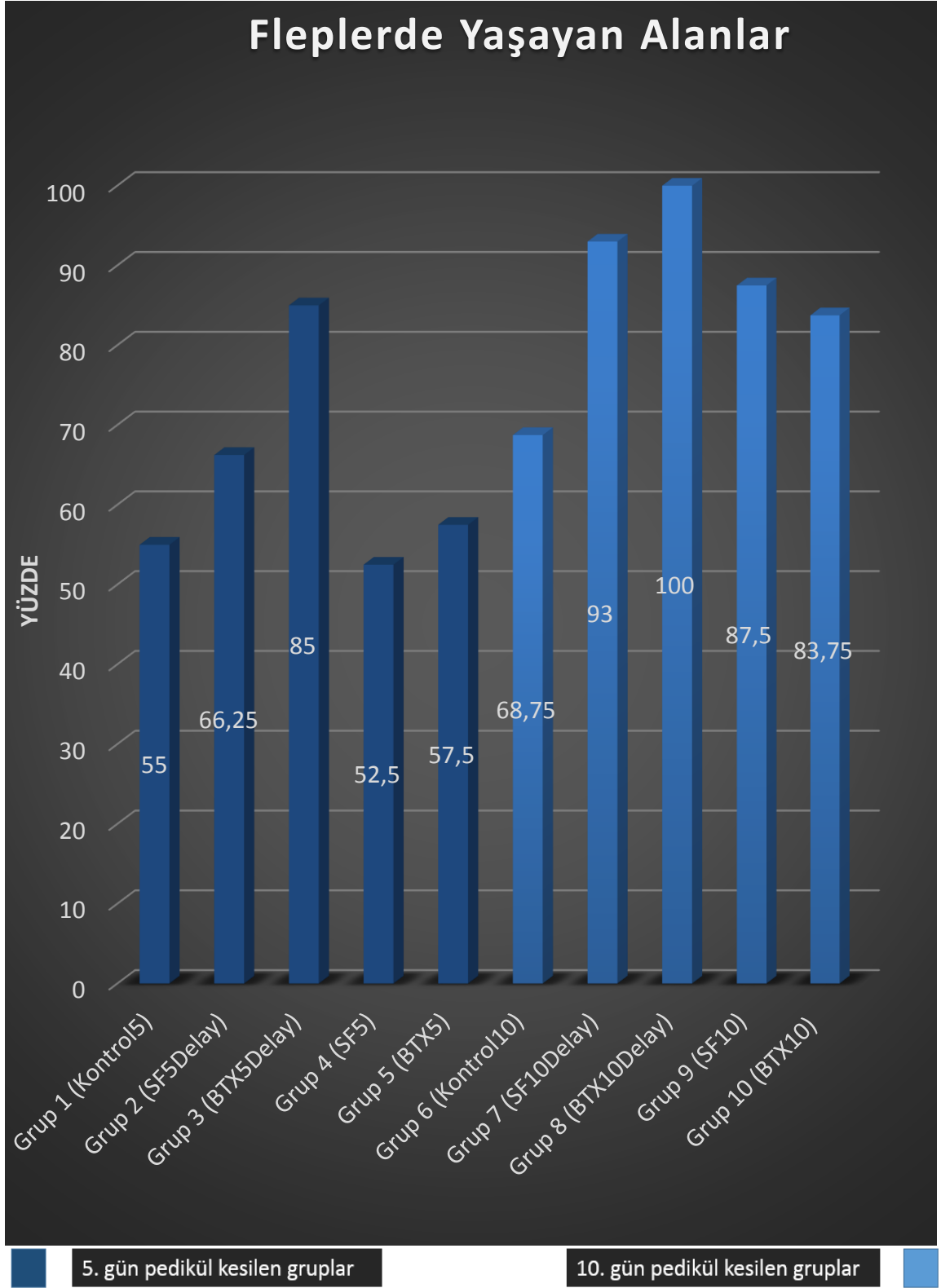
BULGULAR

FLEPLERDE YAŞAYAN ALAN DEĞERLENDİRMESİ

Tüm gruplarda deney süresinin sonunda fleplerin yaşayan ve nekroze alanları planimetrik kağıda aktarılarak ölçüldü (Şekil 20-21-22). İstatistiksel çalışmaya göre flep yaşama oranları gruplar arasında anlamlı şekilde farklı bulunmuştur (Tablo 2 – Şekil 19). BTX-a ile kimyasal geciktirme sonrası 5 günlük pedikül bekleme süresi uygulanan grup 3 ile geciktirme uygulanmadan SF yapılarak 5 günlük pedikül bekleme süresi uygulanan grup 4 arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). BTX-a ile kimyasal geciktirme sonrası 10 günlük pedikül bekleme süresi uygulanan grup 8 ile grup 6 (Kontrol10), grup 7 (SF10Delay) ve grup 9 (SF10) arasında da anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 2. Fleplerde yaşayan alan değerlendirme sonuçları.

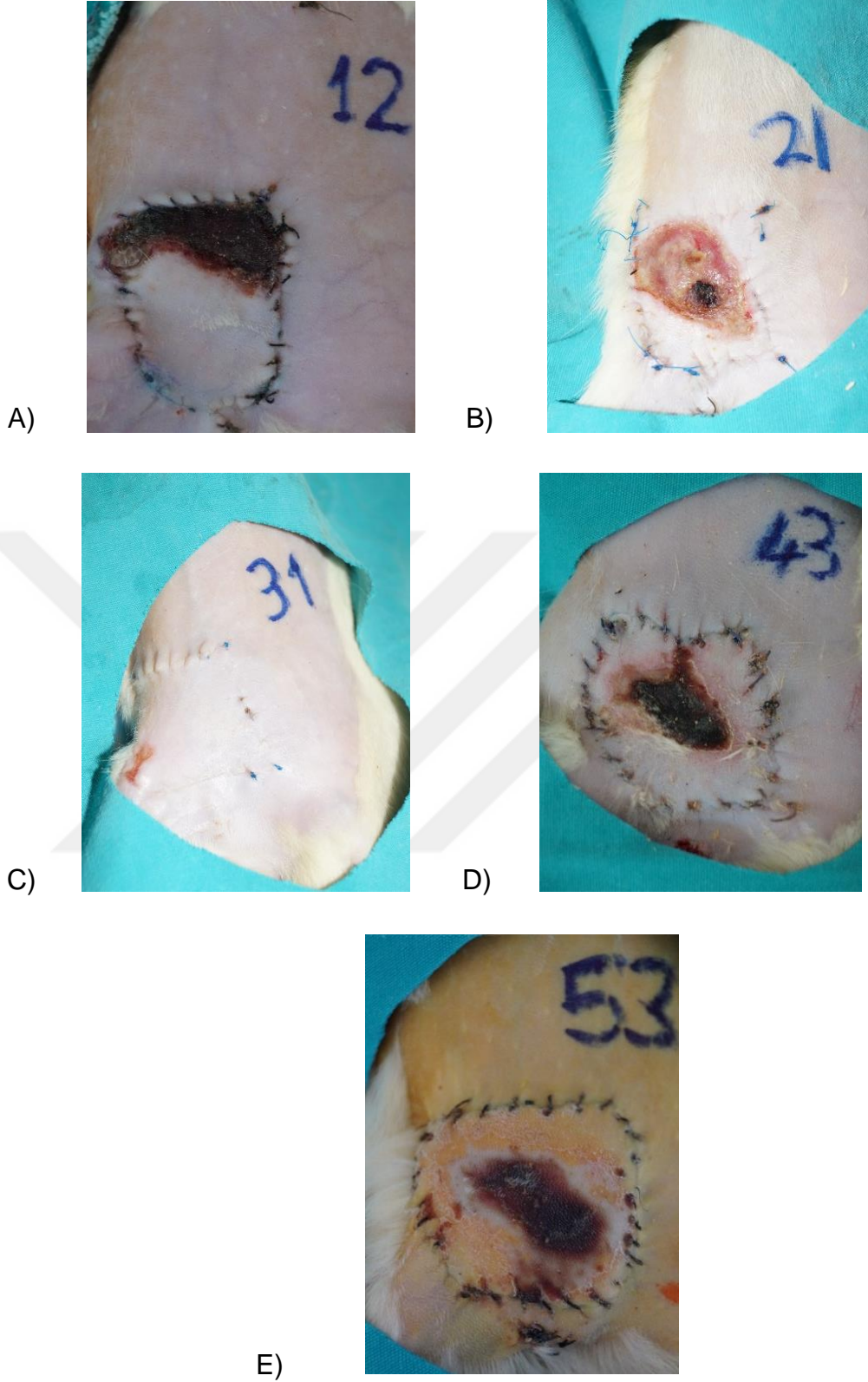
	FLEPLERDE YAŞAYAN ALANLAR					
	Gruplar	N	Mean (yüzde)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	55,0000	27,38613	15,00	75,00
	Grup 2 (SF5Delay)	4	66,2500	39,44933	25,00	100,00
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	85,0000	17,32051	60,00	100,00
	Grup 4 (SF5)	4	52,5000	25,00000	20,00	80,00
	Grup 5 (BTX5)	4	57,5000	40,31129	,00	90,00
10 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	68,7500	25,28998	40,00	90,00
	Grup 7 (SF10Delay)	5	93,0000	10,95445	75,00	100,00
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	100,0000	,00000	100,00	100,00
	Grup 9 (SF10)	4	87,5000	9,57427	80,00	100,00
	Grup 10 (BTX10)	4	83,7500	13,14978	65,00	95,00



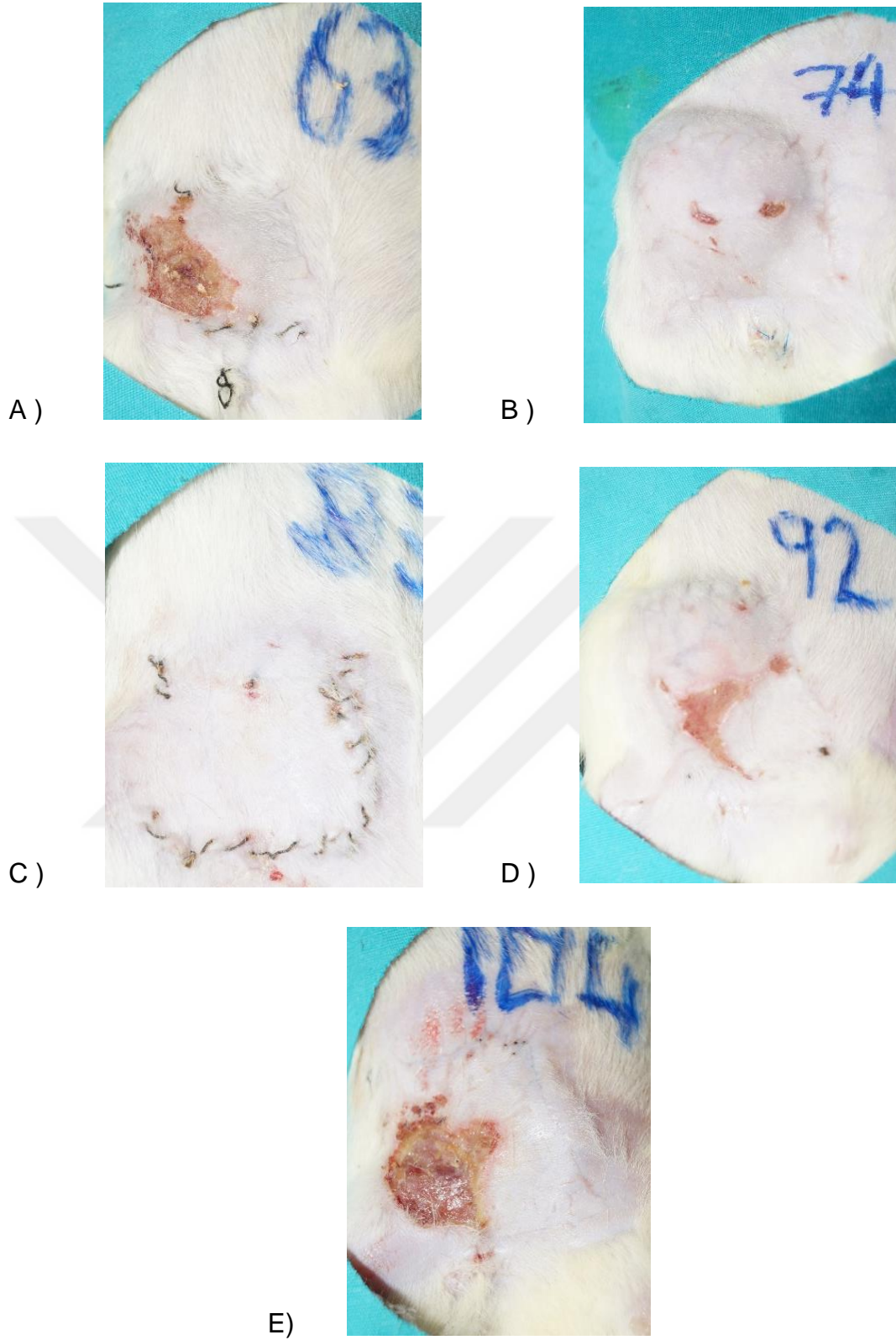
Şekil 19. Flelerde yaşayan alan değerlendirme sonuçlarının grafiği.



Şekil 20. Fleplerde yaşayan – nekroze alanların planimetrik çizimi.



Şekil 21. 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip grupların deney sonu flep görüntüleri. Grup 1 –KONTROL5- (A), Grup 2 –SF5DELAY- (B), Grup 3 –BTX5DELAY- (C), Grup 4 –SF5- (D) ve Grup 5 –BTX5- (E)



Şekil 22. 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip grupların deney sonu flep görüntüleri. Grup 6 -KONTROL10- (A), Grup 7 -SF10DELAY- (B), Grup 8 -BTX10DELAY- (C), Grup 9 -SF10- (D) ve Grup 10 -BTX10- (E)

Histopatolojik Değerlendirme

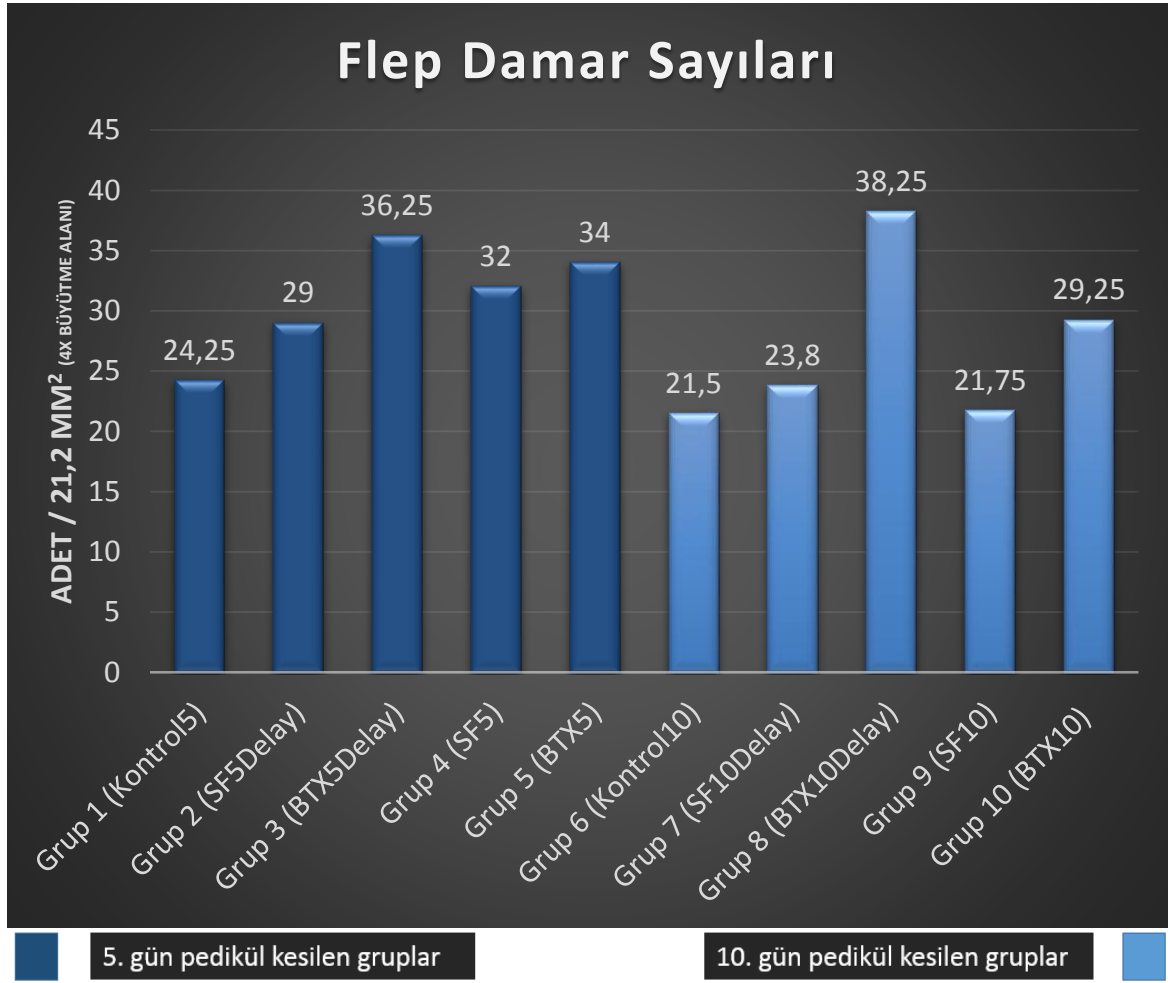
Deney sonunda tüm gruplarda her denekte aynı bölgeden olmak üzere flep ve flep etrafındaki sağlam dokuları içerecek şekilde 4 kadrandan biyopsi alındı. Biyopsiler CD31 ve VEGF immünohistokimyasal markırlarıyla boyandı. Vasküler yapılar bu şekilde ortaya konularak ışık mikroskobu altında damar sayısı, damar duvarları ve damar lümenleri incelendi ve ölçüldü.

Damar sayıları

Fleplerden alınan biyopsilerde damar sayıları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 3 – Şekil 23). BTX-a ile kimyasal geciktirme ve 10 gün sonra pedikül kesimi yapılan grup 8 (BTX10Delay)'in damar sayılarının grup 6 (Kontrol10, $p=0,02$), grup 7 (SF10Delay, $p=0,04$) ve grup 9 (SF10, $p=0,02$)'a oranla anlamlı derecede fazla olduğu tespit edildi.

Tablo 3. Flep damar sayıları.

	FLEP DAMAR SAYILARI					
	Gruplar	N	Mean (adet/ 21,2 mm ²)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	24,2500	4,03113	20,00	29,00
	Grup 2 (SF5Delay)	4	29,0000	3,65148	25,00	33,00
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	36,2500	7,50000	26,00	44,00
	Grup 4 (SF5)	4	32,0000	8,52447	20,00	39,00
	Grup 5 (BTX5)	4	34,0000	9,48683	26,00	47,00
10 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	21,5000	8,34666	10,00	29,00
	Grup 7 (SF10Delay)	5	23,8000	3,49285	20,00	28,00
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	38,2500	4,50000	33,00	44,00
	Grup 9 (SF10)	4	21,7500	3,59398	19,00	27,00
	Grup 10 (BTX10)	4	29,2500	6,07591	22,00	36,00

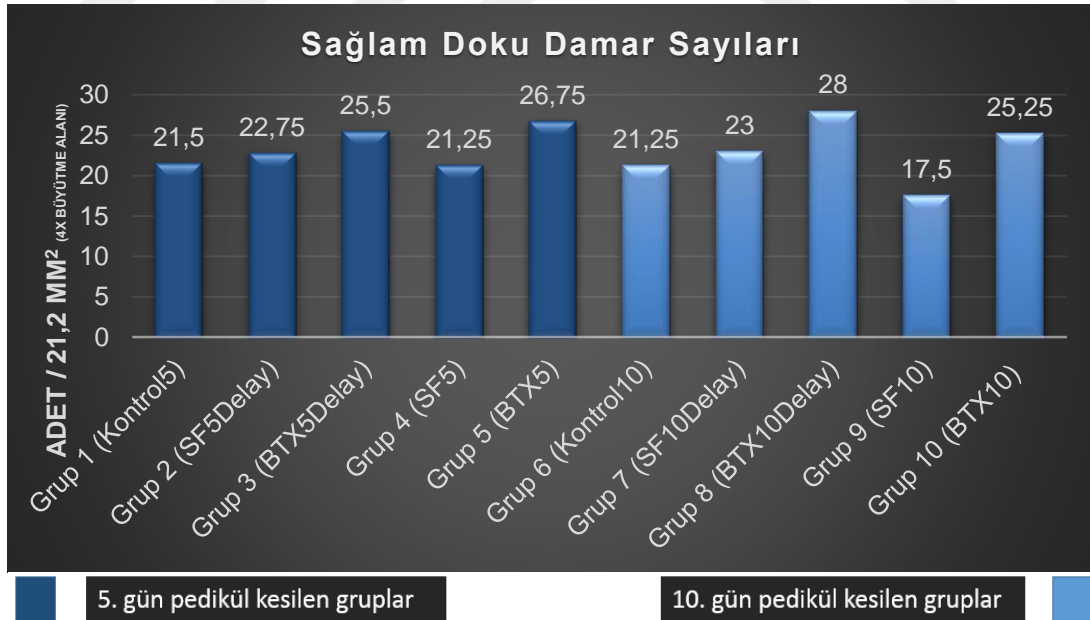


Şekil 23. Flep damar sayıları grafiği.

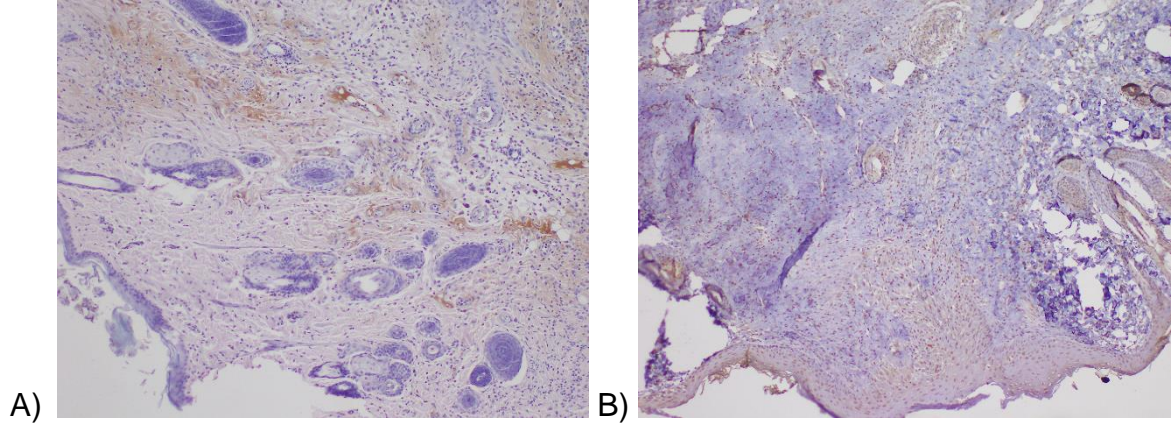
Flep etrafındaki sağlam dokulardan alınan biyopsilerde damar sayıları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi (Tablo 4 – Şekil 24). BTX-a uygulanan gruplarda (Grup 3 (BTX5Delay), Grup 5 (BTX5), Grup 8 (BTX10Delay) ve Grup 10 (BTX10)) damar sayılarının diğer gruplardan yüksek olduğu gözlemlendi.

Tablo 4. Flep etrafındaki sağlam doku damar sayıları.

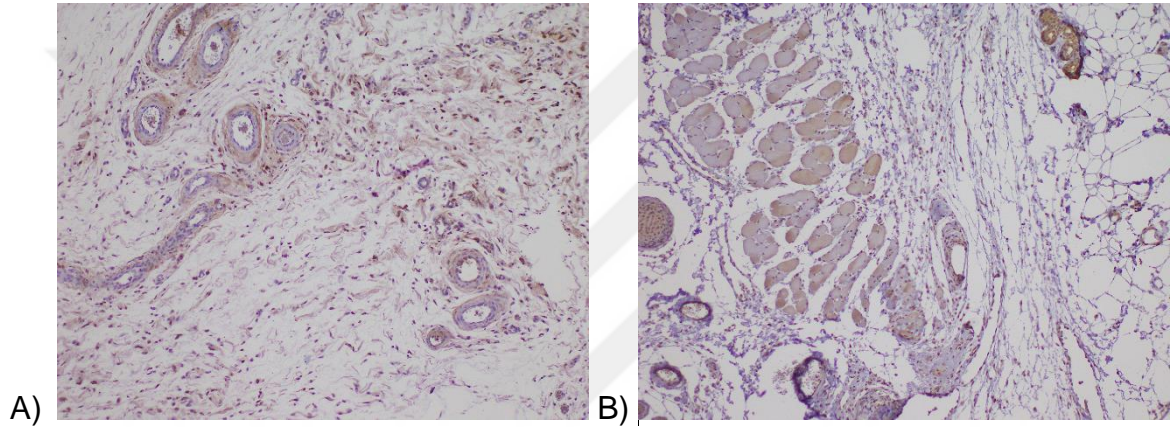
SAĞLAM DOKU DAMAR SAYILARI						
	Gruplar	N	Mean (adet/mm ²)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 g¼n bekleme sonrası pedik¼l¼ kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	21,50	1,00000	20,00	22,00
	Grup 2 (SF5Delay)	4	22,75	6,94622	18,00	33,00
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	25,50	6,13732	18,00	33,00
	Grup 4 (SF5)	4	21,25	6,89807	14,00	30,00
	Grup 5 (BTX5)	4	26,75	4,64579	21,00	31,00
10 g¼n bekleme sonrası pedik¼l¼ kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	21,25	3,30404	19,00	26,00
	Grup 7 (SF10Delay)	5	23,00	2,12132	20,00	26,00
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	28,00	3,91578	24,00	33,00
	Grup 9 (SF10)	4	17,50	3,69685	13,00	21,00
	Grup 10 (BTX10)	4	25,25	4,92443	19,00	31,00



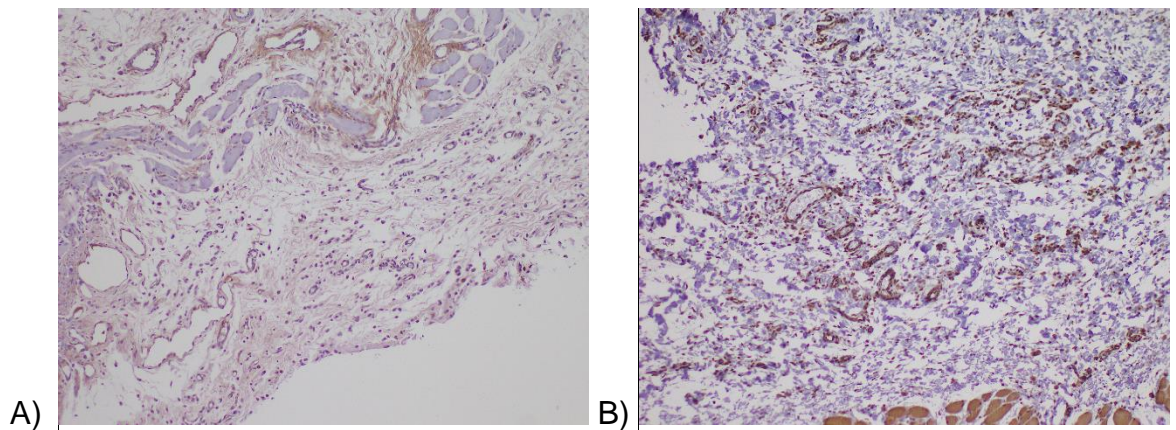
Şekil 24. Flep etrafındaki sağlam dokuların damar sayıları grafiği.



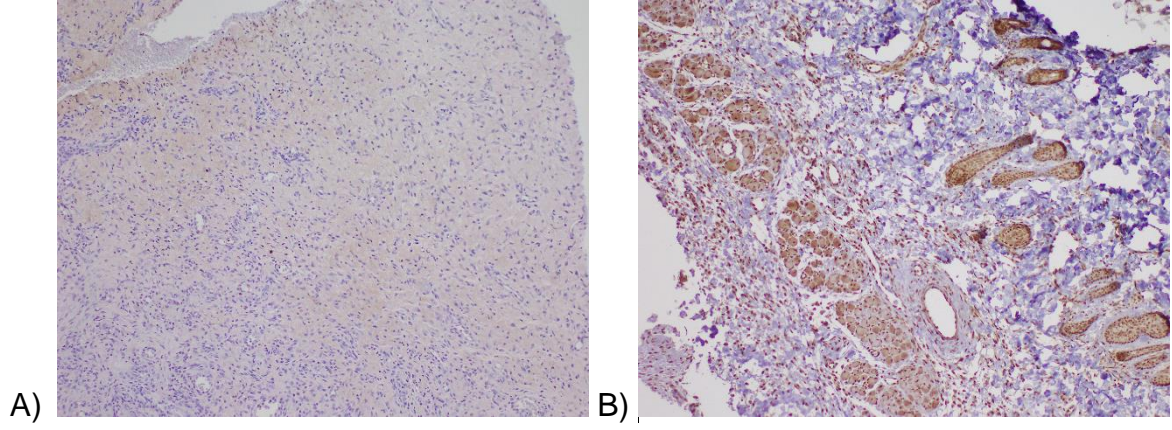
Şekil 25. Grup 1 (KONTROL5) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünüşleri.



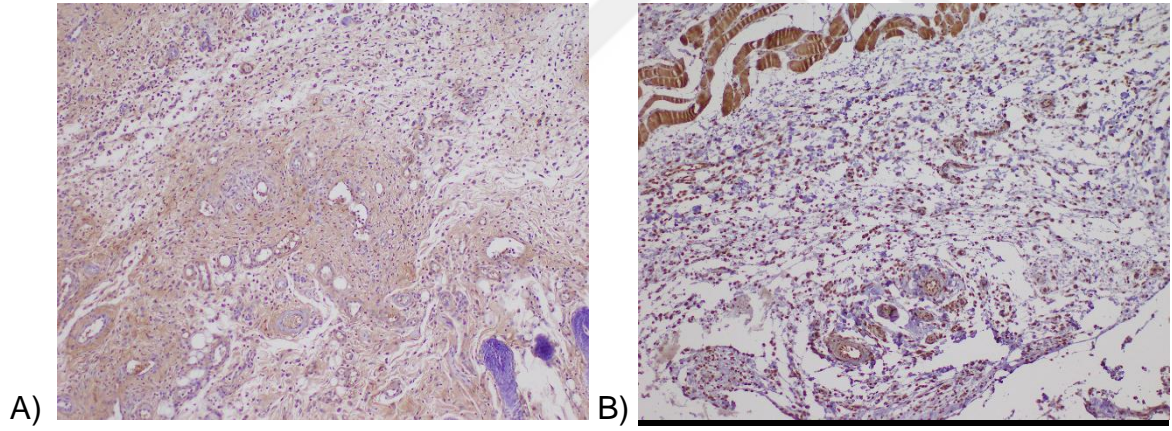
Şekil 26. Grup 2 (SF5Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünüşleri.



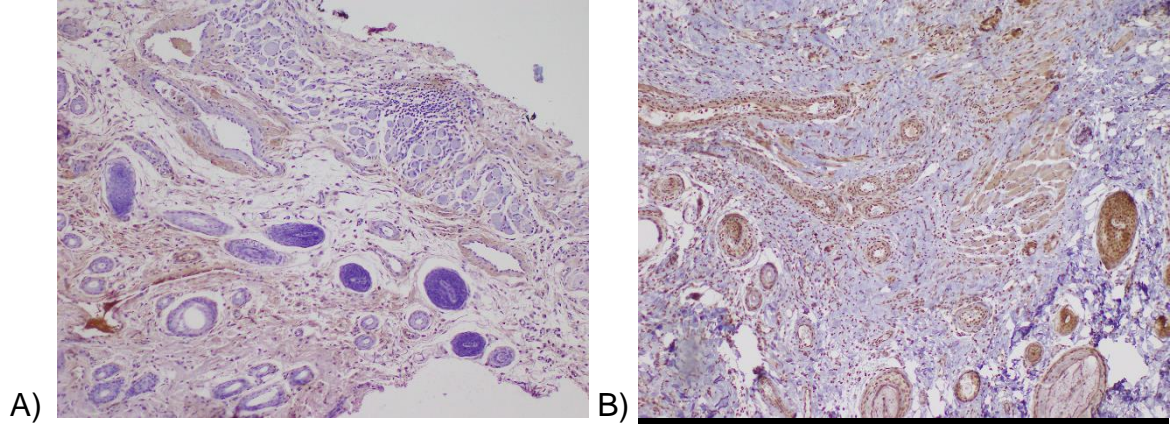
Şekil 27. Grup 3 (BTX5Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünüşleri.



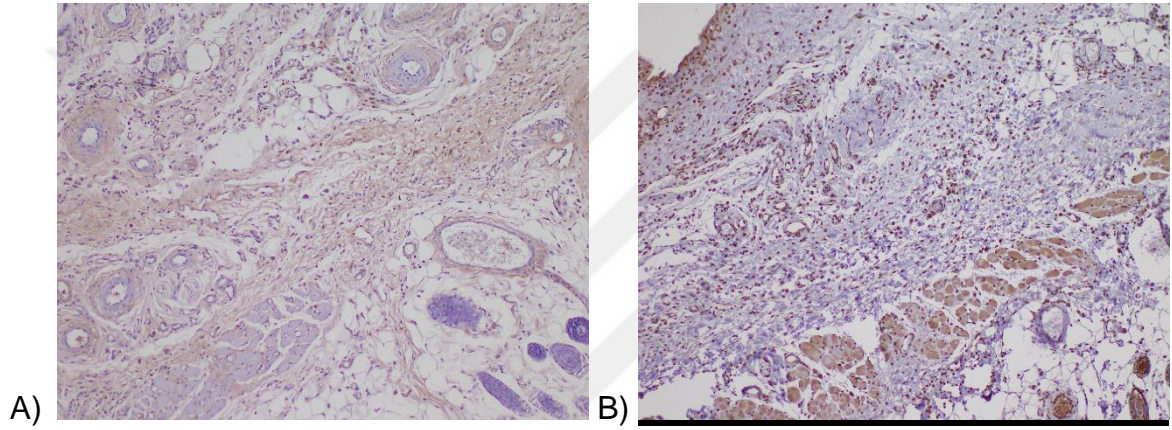
Şekil 28. Grup 4 (SF5) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümüleri.



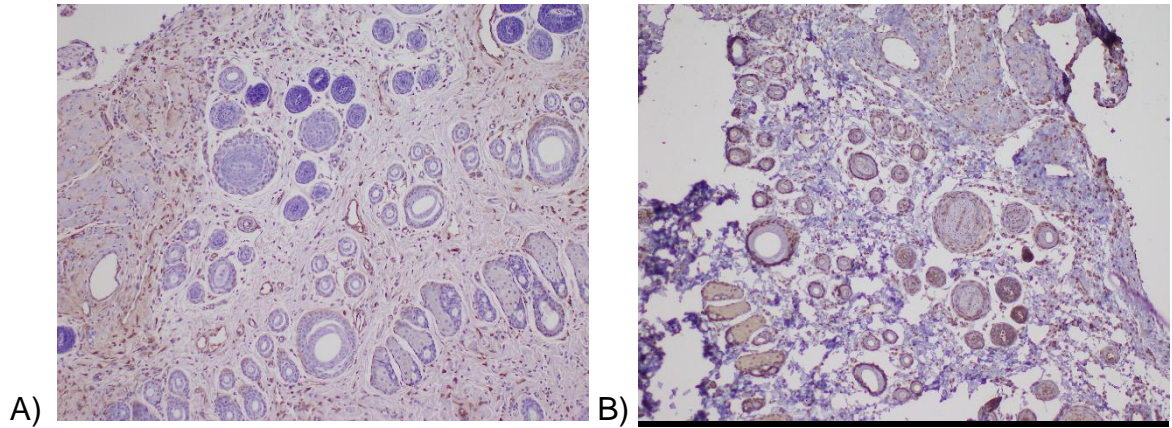
Şekil 29. Grup 5 (BTX5) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümüleri.



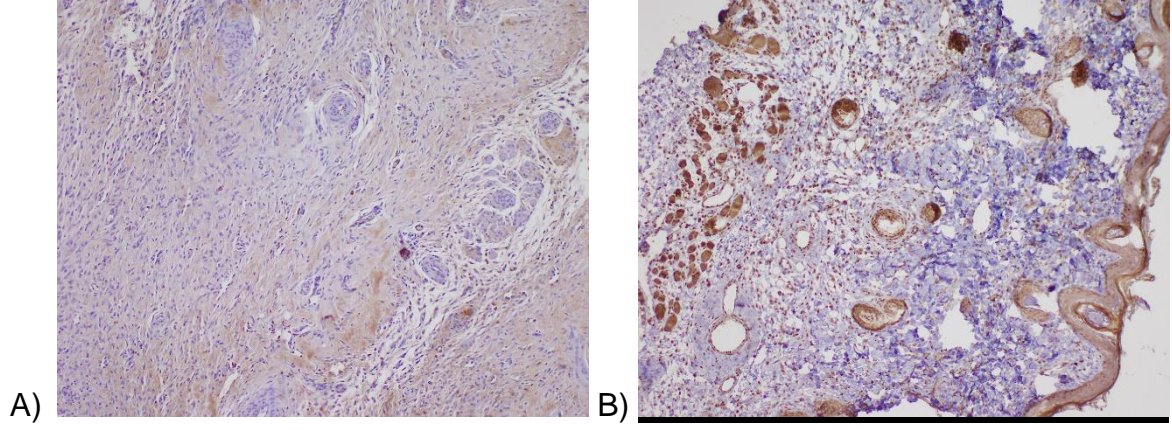
Şekil 30. Grup 6 (KONTROL10) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.



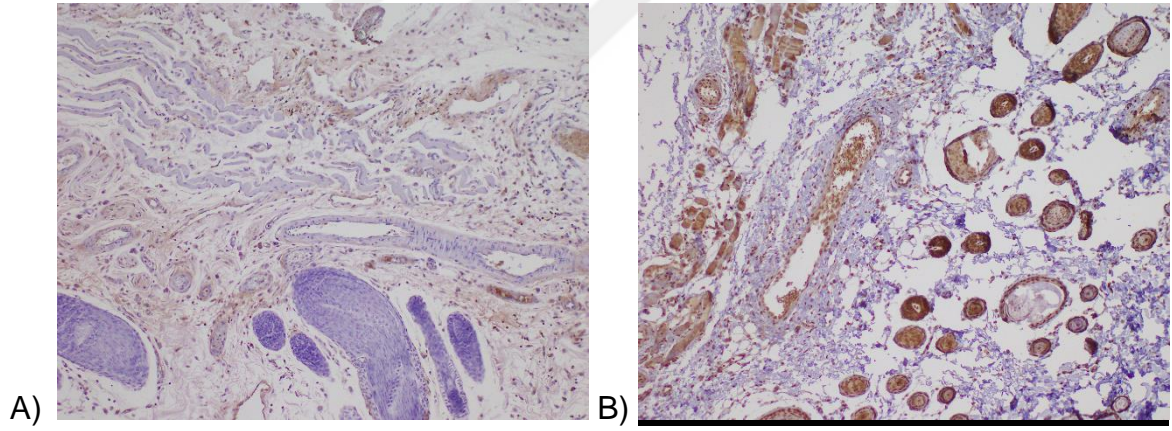
Şekil 31. Grup 7 (SF10Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.



Şekil 32. Grup 8 (BTX10Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.



Şekil 33. Grup 9 (SF10) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünüşleri.



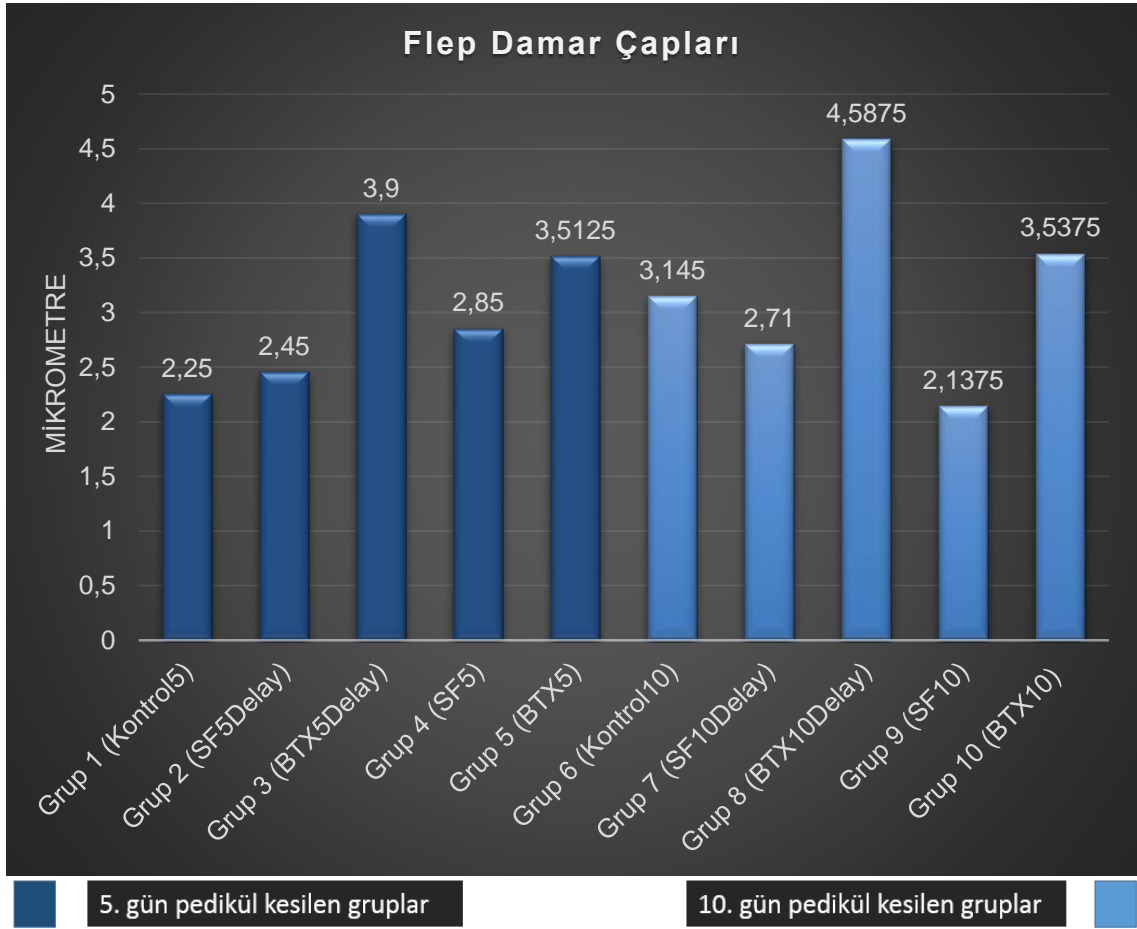
Şekil 34. Grup 10 (BTX10) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünüşleri.

Damar apları

Fleplerden alınan biyopsilerde damar çapları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 5 – Şekil 35). Grup 8 (BTX10Delay)'in damar çapları ortalaması Grup 1 (Kontrol 5, $p=0,007$), Grup 2 (SF5Delay, $p=0,018$), Grup 7 (SF10Delay, $p=0,035$) ve Grup 9 (SF10, $p=0,004$)'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu. BTX-a uygulanan gruplarda (Grup 3 (BTXDelay50), Grup 5 (BTX5), Grup 8 (BTX10Delay) ve Grup 10 (BTX10)) damar çaplarının diğ er gruplardan yüksek olduğu gözlemlendi.

Tablo 5. Flep damar çapları.

		FLEP DAMAR ÇAPLARI					
		Gruplar	N	Mean (μm)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	2,2500	,36968	1,90	2,70	
	Grup 2 (SF5Delay)	4	2,4500	,36968	2,20	3,00	
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	3,9000	1,28323	2,00	4,80	
	Grup 4 (SF5)	4	2,8500	,69522	1,90	3,50	
	Grup 5 (BTX5)	4	3,5125	1,40022	2,10	5,40	
10 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	3,1450	,94891	2,00	4,23	
	Grup 7 (SF10Delay)	5	2,7100	,61786	1,85	3,35	
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	4,5875	,44041	4,20	5,20	
	Grup 9 (SF10)	4	2,1375	,65749	1,40	3,00	
	Grup 10 (BTX10)	4	3,5375	,14930	3,35	3,70	



Şekil 35. Flep damar çapları grafiği.

Flep etrafındaki sağlam dokulardan alınan biyopsilerde damar çapları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 6 – Şekil 36). Grup 8 (BTX10Delay)'in sağlam doku damar çaplarının Grup 1 (Kontrol5, $p=0,006$), Grup 2 (SF5Delay, $p=0,02$), Grup 4 (SF5, $p=0,01$), Grup 6 (Kontrol10, $p=0,02$), Grup 9 (SF10, $p=0,004$) ve Grup 10 (BTX10, $p=0,02$)'a göre anlamlı derecede geniş olduğu görülmüştür. Grup 3 (BTX5Delay)'n sağlam doku damar çaplarının Grup 1 (Kontrol5, $p=0,035$) ve Grup 9 (SF10, $p=0,02$)'a göre anlamlı derecede geniş olduğu görülmüştür. Grup 5 (BTX5)'in Grup 1 (Kontrol 5, $p=0,02$) ve Grup 9 (SF10, $p=0,01$)'a göre anlamlı derecede geniş olduğu görülmüştür.

Tablo 6. Flep etrafındaki sağlam dokuların damar çapları.

	SAĞLAM DOKU DAMAR ÇAPLARI					
	Gruplar	N	Mean (µm)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	2,0125	,20565	1,75	2,25
	Grup 2 (SF5Delay)	4	2,3150	,51727	1,70	2,86
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	3,1875	,98351	1,80	4,00
	Grup 4 (SF5)	4	2,2375	,81586	1,50	3,40
	Grup 5 (BTX5)	4	3,3000	,57155	2,60	3,90
10 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	2,3000	,64807	1,60	3,10
	Grup 7 (SF10Delay)	5	2,5300	1,26866	1,60	4,70
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	3,5625	,82601	2,50	4,50
	Grup 9 (SF10)	4	1,9250	,26300	1,70	2,20
	Grup 10 (BTX10)	4	2,2750	,55603	1,90	3,10



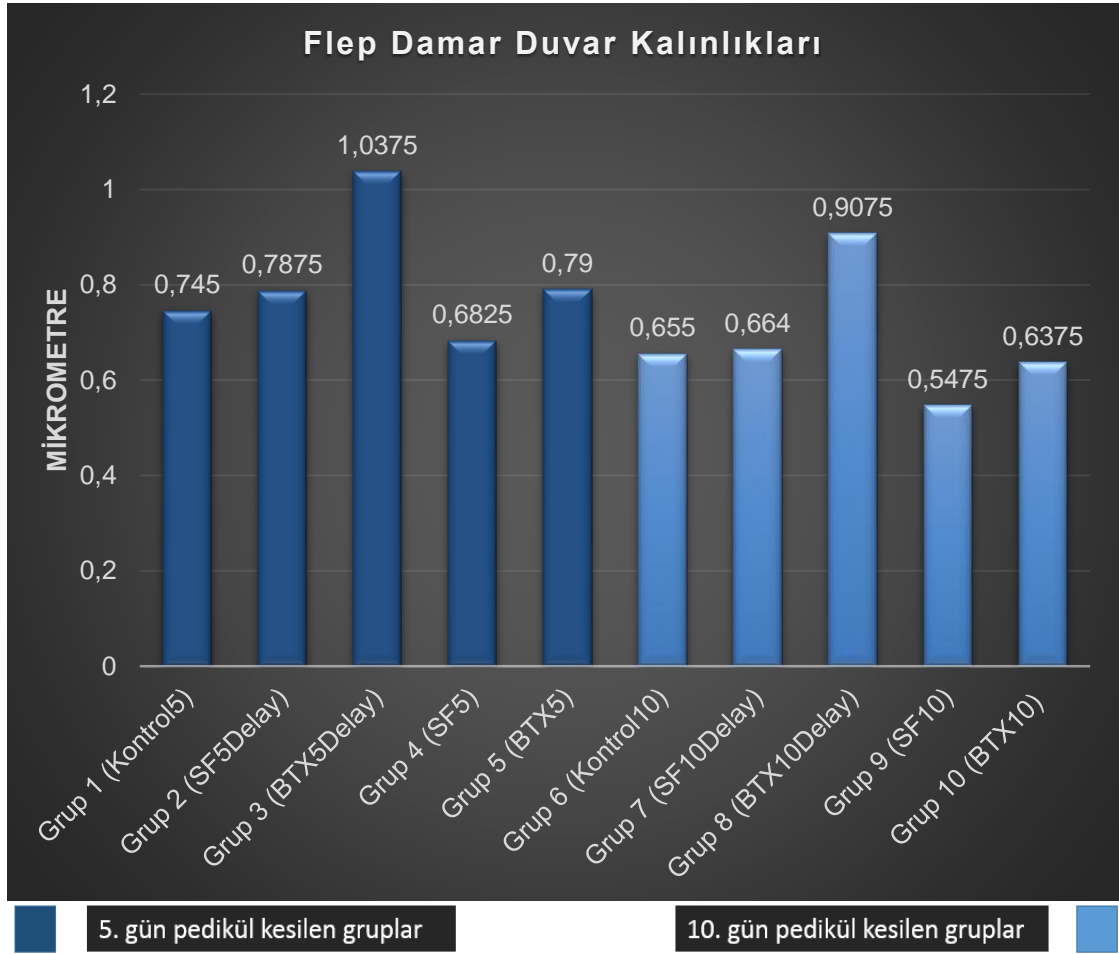
Şekil 36. Flep etrafındaki sağlam dokuların damar çapları grafiği.

Damar Duvar Kalınlıkları

Fleplerden alınan biyopsilerde damar duvar kalınlıkları incelendiğinde yalnız bir grup arasında anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 7 – Şekil 37). Grup 3 (BTX5Delay)'ün flep damar duvar kalınlığının Grup 9 (SF10, $p=0,035$) 'a göre anlamlı yüksek olduğu görüldü.

Tablo 7. Flep damar duvar kalınlıkları.

FLEP DAMAR DUVAR KALINLIKLARI						
	Gruplar	N	Mean (mikrometre)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	,7450	,19908	,51	,92
	Grup 2 (SF5Delay)	4	,7875	,14361	,60	,90
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	1,0375	,22911	,81	1,33
	Grup 4 (SF5)	4	,6825	,15327	,54	,89
	Grup 5 (BTX5)	4	,7900	,20281	,50	,93
10 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	,6550	,21424	,48	,93
	Grup 7 (SF10Delay)	5	,6640	,16257	,45	,90
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	,9075	,16358	,70	1,10
	Grup 9 (SF10)	4	,5475	,27451	,35	,95
	Grup 10 (BTX10)	4	,6375	,17970	,50	,90

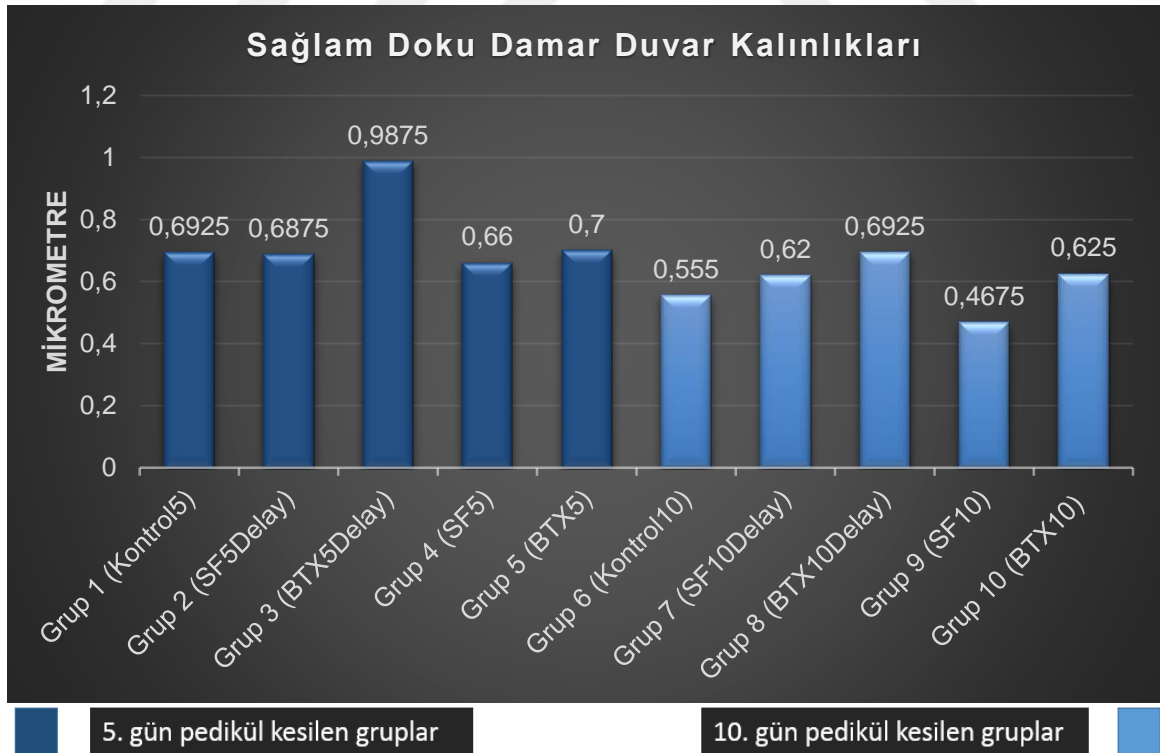


Şekil 37. Flep damar duvar kalınlıkları grafiği.

Flep etrafındaki sağlam dokulardan alınan biyopsilerde damar duvar kalınlıkları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 8 – Şekil 38). Grup 3 (BTX5Delay)'ün damar duvar kalınlığı bakımından Grup 6 (Kontrol10, $p=0,01$), Grup 7 (SF10Delay, $p=0,002$) ve Grup 9 (SF10, $p=0,04$)'a göre anlamlı yüksekliği tespit edilmiştir.

Tablo 8. Flep etrafındaki sağlam dokuların damar duvar kalınlıkları.

	SAĞLAM DOKU DAMAR DUVAR KALINLIKLARI					
	Gruplar	N	Mean (µm)	Std. Deviation	Minimum	Maximum
5 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 1 (Kontrol5)	4	,692	,16581	,46	,85
	Grup 2 (SF5Delay)	4	,687	,14953	,60	,91
	Grup 3 (BTX5Delay)	4	,987	,21930	,67	1,16
	Grup 4 (SF5)	4	,660	,04690	,59	,69
	Grup 5 (BTX5)	4	,700	,20149	,40	,83
10 gün bekleme sonrası pedikülü kesilen gruplar	Grup 6 (Kontrol10)	4	,555	,08583	,48	,67
	Grup 7 (SF10Delay)	5	,620	,08916	,52	,70
	Grup 8 (BTX10Delay)	4	,692	,22322	,50	,91
	Grup 9 (SF10)	4	,467	,12738	,30	,60
	Grup 10 (BTX10)	4	,620	,18912	,47	,90



Şekil 38. Flep etrafındaki sağlam dokuların damar duvar kalınlıkları grafiği.

TARTIŞMA

Plastik ve rekonstrüktif cerrahinin en önemli ilgi alanlarından biri doku defekt rekonstrüksiyonlarıdır. Bu alanda kullanılan tekniklerden en etkin olanı flep cerrahisidir. Özellikle 20 yy. başlarından itibaren bu teknik üzerine bilgiler artmış, uygulama alanları genişlemiştir. Başlangıçtan random paternler üzerinde planlanan doku flepleri vasküler anatominin anlaşılmasına başlanmasıyla yerini aksiyel fleplere bırakmıştır. 1970'li yıllarda mikrocerrahi alanında başlayan devrim niteliğindeki gelişmelerin hızla devam etmesi günümüzde serbest fleplerin de oldukça yaygın kullanılabilmesini sağlamıştır. Bu sayede çok başarılı rekonstrüksiyonlar gerçekleştirilebilmektedir. Tüm bu gelişmelere rağmen hala en önemli problem özellikle flep distalinde meydana gelen perfüzyon bozuklukları ve nekrozlardır. Bu durumun önüne geçmek üzere denenen en geçerli yöntem geciktirme tekniğidir. Klasik olarak geciktirme işlemi cerrahi olarak gerçekleştirilir. Rekonstrüktif girişim öncesi cilt insizyonları yapılarak flep cerrahi olarak geciktirilir. Geciktirme işlemi sayesinde flebin vaskülaritesinde ve yaşayabilirliğinde artış olduğu bilinmektedir ve bunun hangi mekanizmalarla gerçekleştiği deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Cerrahi geciktirmenin ek operasyon ihtiyacı gerektirmesi uygulanabilirliği önündeki en önemli engeldir. Bu nedenle alternatif olarak geciktirme işleminin kimyasal olarak yapılması düşünülmüş ve birçok çalışmada farklı ajanlarla bu fikir denenmiştir. Henüz cerrahi geciktirmeye alternatif olabilecek kimyasal bir ajan kesin kanıtlarla ortaya konulamamıştır. Ancak botulinum toksin ve benzeri ajanlar bu alanda umut vadeden çalışmalara konu olmuştur. Bu alanda daha çok çalışmaya ve bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamız bu ihtiyacın giderilmesine katkı sağlamak amacıyla planlanmıştır^{9,73,74,75}.

Cerrahi geciktirmenin mekanizmaları son dekatlarda ortaya konulmaya başlanmıştır. Geciktirme esnasında meydana gelen iskemik durum ve flep metabolizmasının bu duruma verdiği yanıtlar flep yaşayabilirliğini arttırmaktadır. İskemiye yanıtın en önemli sonuçlarından biri vaskülaritede artıştır. Bu durum birkaç ayrı mekanizma ile gerçekleşmektedir. 1999'da Taylor ve Dhar yaptıkları çalışmada baskın mekanizmanın damar çaplarında artış ve normalde inaktif

haldeki choke damarlarının açılması olduğunu iddia etmişlerdir. Choke damarlarının açılması sayesinde komşu anjiyozomlarla vasküler irtibat artmakta ve flebin kanlanması artış görülmektedir. Aynı çalışmada geciktirme sonrası meydana gelen hadiseler, oluş zamanları üzerinden ayrıntılı şekilde incelenmiştir. Damar dilatasyonundaki artışın ve choke damarlarının açılmasının 24-72. saatler arasında en fazla olduğu, 7. güne kadar bu durumun devam ettiği ve sonrasında bu dilatasyonun geri dönüşümsüz olduğu gösterilmiştir²⁵.

Nörojenik mekanizmalar flep yaşayabilirliğini etkileyen süreçlerin en önemlilerindedir. Erken dönemde meydana gelen sempatik liflerin kesilmesine bağlı katekolamin deşarjı, buna bağlı prekapiller sfinkterde konstriksiyon ve iskemi flep yaşamını tehdit eden bir süreçtir. Geciktirme sonrası bu süreç rekonstrüksiyon öncesi gerçekleştiğinden flep kaldırıldığında tükenmiş olan katekolamin depoları flep yaşamını tehdit edememektedir. Ghali ve ark. 2007'de yaptıkları çalışmada hem bu durumu göstermiş hem de diğer mekanizmaları ortaya koymuşlardır. Geciktirme uygulanmış dokuda enerji metabolizmasının değiştiğini, choke damar oryantasyonu sayesinde vaskülaritenin arttığını, elektrolit dengesinin daha hızlı sağlandığını, inflamatuvar süreçlerin hafifleyerek nötrofil göçünde, serbest oksijen radikal miktarında ve apoptoziste azalma olduğunu göstermişlerdir. Erken dönemde gerçekleşen değişikliklerin geç dönemde glukoz ve oksijen kullanımını arttırdığını, böylece araşidonik asit yıkım ürünlerinin birikmediğini, PGE₂ miktarının da yükseldiğini belirtmişlerdir. Bu durum geç dönem flep metabolizmasını olumlu yönde etkilemektedir. Aynı çalışmaya göre anjiogenez ve choke damar dilatasyonu erken dönemin komponenti iken vaskülogenezin geç dönemde meydana geldiği gösterilmiştir²⁸.

Cerrahi geciktirmenin, yukarıda anlatıldığı gibi vasküler, metabolik ve nörojenik mekanizmalar üzerinden flep yaşayabilirliğini arttırdığı gösterilmiş ve ispatlanmıştır. Ancak bu uygulamanın ek cerrahi girişim gerektirmesi, ağrı, enfeksiyon riski ve maliyet gibi dezavantajları bulunmaktadır. Hem geciktirmenin getirilerinden faydalanmak hem de bu dezavantajları ortadan kaldırmak isteyen

araştırmacılar kimyasal geciktirme üzerine yoğunlaşmış ve bu konuda pek çok çalışma gerçekleştirmişlerdir.

Petersson ve ark. musklokutanz fleplerde oksitosinin etkisi üzerine çalışmışlar, kontrol grubuna göre subkutan ve intravenöz oksitosin uygulanan deneklerde flep yaşayabilirliği üzerine anlamlı artış olduğunu gstermiřlerdir⁷⁶.

Lu ve ark. deri fleplerinde bFGF uygulaması üzerine çalışmışlar ve flep yaşam alanlarında artış tespit etmiřlerdir⁷⁷. Pu ve ark. ise TRAM flebine ECGF uygulamışlar, çalışmanın 7. gününde hem fleplerin yaşayan alanlarında hem de neovaskülarizasyonda artış gzlemlemiřlerdir⁷⁸.

Buemi ve ark. ratlarda rekombinant insan eritropoetini (rHuEPO) kullanmışlar, uygulamanın VEGF düzeylerini arttırdığını, yara iyileşmesini hızlandırdığını, artmış protein sentezi ile birlikte anjiogenezi de arttırdığını gstermişlerdir^{79,80}. Saray ve ark. ise ratlarda EPO'nun kısa ve uzun vadeli etkilerini araştırmış, kısa vadede EPO'nun flep yaşayabilirliğini arttırdığını ancak uzun süreli EPO uygulamasının vazokonstriksiyona neden olarak nekrotik alanları arttırdığını gstermiřlerdir⁸¹.

Holzbach VEGF ile cerrahi geciktirmeyi karşılaştıran bir çalışma gerçekleştirmiş, hem kas hem deri flebinde uygulamalar yapmıştır. Çalışma sonucunda VEGF terapisi ve cerrahi geciktirme işlemlerinin benzer mekanizmalar ile etki gösterdiğini iddia etmiş ve kontrol gruplarına göre anlamlı derecede olumlu etki gösterdiğini savunmuştur. Lineaweaver da aynı Şekilde VEGF uygulayarak cerrahi geciktirmeyle benzer sonuçlar elde ettiğini raporlamıştır^{16,45}. 2008 yılında Oh, ratlarda tadanafilin aksiyel patern flepler üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışması sonucunda tadanafil uygulaması ile nekrotik alanlarda anlamlı azalma sağlandığını göstermiştir. Fleplerin komşu anjiozomlarla olan ilişkisini anjiografi ile değerlendirmiş ve choke damarlarında vazodilatasyon, buna bağlı kan akımında artış olduğunu gstermiřtir⁴⁹.

Kimyasal ajanların tek başına kullanılabilmesinin yanı sıra cerrahi geciktirmeye ek olarak uygulandığı çalışmalar ve modeller de tanımlanmıştır. Cerrahi gereksinimini ortadan kaldırmadığından ötürü yaygınlaşmamıştır. Ancak çok

riskli hastalarda cerrahi geciktirmeye ek olarak uygulanması tavsiye edilmektedir^{48,82}.

Botulinum toksin son 30 yıldır çok geniş bir klinik yelpazede kullanılmaktadır. Spazm nedenli blefarospazm, tortikollis, akalazyza, strabismus, servikal distoni ve anal fissür gibi hastalıkların yanı sıra hiperhidrozis ve migren gibi rahatsızlıkların da tedavisinde kullanılmaktadır. Kozmetik amaçlı olarak çok yaygın bir şekilde yüz mimik kırışıklıklarının giderilmesi amacıyla da uygulanmaktadır^{69,83,84,85}. 2003 yılından beri vazospastik hastalıkların tedavisi amacıyla kullanmakta olup vazodilatör etkisi bilinmektedir^{64,86}.

BTX-a'nın plastik cerrahinin deneysel flep cerrahisi alanındaki kullanımı 2000'li yılların ortalarından itibaren başlamıştır. Bu çalışmalar genel itibari ile BTX-a'nın flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. 2008'de Yıldırım, BTX-a ile rat dorsal deri fleplerinde çalışmış, flep yaşayabilirliğini arttırdığını göstermiştir. Pratik kullanımı sayesinde klinik uygulamanın başarılı olacağını savunmuştur. Ancak mekanizma ile ilgili yeterli bilgi olmadığını vurgulamış ve yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğundan bahsetmiştir⁸⁷. 2009 yılında Kim, random paternli deri fleplerinde BTX-a'nın flep yaşam alanlarında artış sağladığını belirlemiş, CD-31 ve VEGF miktarlarında artış olduğunu tespit etmiştir⁶⁵. Aynı yıl Clemens mikrocerrahide BTX-a kullanarak anastomotik trombozun azaltılabileceğini iddia etmiş, vasküler yapılarda meydana gelen dilatasyon sayesinde anastomoz süresinin de kısaldığını savunmuştur⁸⁸.

BTX-a'nın kas üzerine etkileri bilinmektedir ve bu etki doz bağımlıdır. Uygulamayı takip eden 6. saatte kas gevşekliği başlar, 7. günde paralizi etkisi tamamlanır ve 4-6 ay süre ile etki eder^{72,89}. Ancak BTX-a'nın vasküler yapılar ve neovaskülarizasyon ile ilgili etkileri tam olarak ortaya konulamamıştır. BTX-a uygulamalarının cerrahi geciktirme anlamında olumlu sonuçlar verdiği gösterilmiş olmakla beraber, bu durumun gerçekleşme mekanizması, anjiogenez ve vaskülogenez üzerine etkileri henüz tam olarak gösterilememiştir. Aynı zamanda geciktirmenin ne süre ile yapılması gerektiğine dair de kesin kanı yoktur. Yapılan çalışmalarda 7 ila 14 gün arasında süreler tercih edilmiş ancak kesin kanıta dayandırılmamıştır.

BTX-a'nın flep viabilitesine ve anjiogeneze olan olumlu etkileri ortaya konulmuş olsa da etki mekanizması henüz netleştirilememiştir. Bu mekanizma son zamanlarda popüler bir araştırma konusu olmuştur. Park ve ark.'ın 2014'te BTX-a'nın etki mekanizmasını incelemek üzere rat transvers rektus abdominis kas deri flebi modelinde yaptıkları çalışmada anjiogenezdeki artışın, Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) üzerinden VEGF sentezi ile gerçekleştiği gösterilmiştir⁹⁰. Bu mekanizmanın hipoksiye maruz kalan alanlarda daha etkili olduğu iddia edilmiştir. Öyle ki deney ve kontrol gruplarındaki en anlamlı fark en fazla hipoksiye maruz kalan 3. ve 4. bölgelerde tespit edilmiştir.

2015 yılında Kim ve ark. yaptıkları çalışmada rat propellar flep modeli üzerinde BTX-a etki mekanizmalarını incelemiştir. Çalışmada perforatör damarlar 180 ve 360 derece rotat edilmiş, fleplere operasyondan 3 gün önce serum fizyolojik ve BTX-a enjeksiyonu yapılmıştır. Post operatif 1, 3 ve 5. günlerde biyopsiler alınmış, flep yaşayabilirliği ve gen ekspresyonları araştırılmıştır. BTX-a enjeksiyonu ve 360 derece rotasyon uygulanan fleplerde yaşayan alan %90 iken, kontrol grubunda %30 olarak ölçülmüştür. Deney gruplarında arter çaplarında artış olduğu görülmüştür. Moleküler inceleme sonrasında BTX-a uygulanan gruplarda SF uygulananlara göre HIF-1 α postop 1. günde 9 kat artarken VEGF'in düştüğü, postop 3. günde ise VEGF'in 3.78 kat arttığı ancak HIF-1 α seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir. 180 ve 360 derece rotat edilen fleplerde BTX-a'nın farklı yolları aktive ederek VEGF ekspresyonunu sağladığı sonucuna varılmıştır. Buna göre daha iyi perfüze olduğu kabul edilen 180 derece rotat edilmiş fleplerde NF- κ B (Nükleer Faktör κ B) / HIF-1 α / VEGF yolağı BTX-a tarafından indüklenirken, kötü perfüzyona sahip olduğu kabul edilen 360 derece rotat edilmiş fleplerde mTOR (mechanistic target of rapamycin) / HIF-1 α / VEGF yolağının indüklendiği iddia edilmiştir⁹¹.

Biz çalışmamızda, daha önceden kimyasal geciktirme için kullanılan ve etkileri ortaya konulmaya çalışılan BTX-a uygulamasının periferik neovaskülarizasyona etkilerini araştırmayı amaçladık. Bunun için 10 grupta toplam 50 adet erkek sprague dawley cinsi rat kullanıldı. Gruplar BTX-a ve serum fizyolojik uygulananlar ile herhangi uygulama yapılmayanlar ve geciktirme uygulanıp

uygulanmayanlar şeklinde ayrıldı. Ratların her birinde vasküler saplı abdominal deri ada flebi kaldırılarak tabandan vaskülarizasyonu engellemek amacı ile flep tabanına silikon tabaka yerleştirildi. Operasyon sonrası dönemde gruplara göre 5. ve 10. günlerde vasküler pediküller kesildi, 7 günlük bekleme süresinin ardından 4 kadrandan biyopsi alındı. Alınan biyopsiler CD31 ve VEGF ile boyanarak vasküler yapıların özellikleri incelendi, damar sayıları ve çapları belirlendi.

Deney sonunda her denekte fleplerin yaşayan ve nekroze giden alanları ölçüldü. 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip gruplarda en iyi flep yaşam oranlarının BTX-a ile geciktirme uygulanan grupta olduğu görüldü. Bu grup ile geciktirme yapılmaksızın SF uygulanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

10 günlük pedikül bekleme süresine sahip gruplarda en yüksek sağ kalım oranları BTX-a ile geciktirme uygulanan grupta tespit edildi, bu grupta flep kaybı görülmedi ve 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip kontrol ve SF gruplarıyla arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu durum, BTX-a ile geciktirme uygulamasının flep sağ kalımına olumlu etkisinin olduğu şeklinde yorumlandı.

Tüm gruplara bakıldığında 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip fleplerin sağ kalım oranı açısından daha iyi sonuçlara sahip olduğu görülürken, BTX-a ile geciktirme uygulanan 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip fleplerin de bu oranlara benzer sağ kalım oranlarına sahip olduğu gözlemlendi. Bu durum, iki seanslı operasyonlarda BTX-a ile geciktirme uygulanması halinde pedikül kesilme zamanlarının erkene çekilebileceğine dair umut vadeden bir sonuç olarak yorumlanabilir. Aynı zamanda benzer pedikül bekleme sürelerine sahip olgularda BTX-a ile geciktirme uygulamalarıyla flep yaşam oranlarının artırılabilirliği düşünülmektedir.

Biyopsilerin histopatolojik değerlendirmesinde birim alana düşen damar sayıları karşılaştırıldı. Hem 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip ilk 5 grupta

hem de 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip son 5 grupta en yüksek değerler BTX-a ile geciktirme yapılan gruplarda görüldü.

Birim alana düşen ortalama damar sayılarında BTX-a ile geciktirme uygulanan 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip grubun ortalama değerlerinin, 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip SF ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekliğe sahip olduğu hesaplandı. En yüksek iki ortalamanın BTX-a ile geciktirme uygulanan gruplarda görülmesi, BTX-a ile geciktirme uygulamasının damar sayılarını arttırmada pozitif etkili olduğunu düşündürmüştür. BTX-a uygulanan ancak geciktirme yapılmayan gruplardaki değerlerin, SF uygulanan ve geciktirme yapılmayan gruplara göre yüksek olması BTX-a uygulamasının pozitif etkisi olarak değerlendirilebilir, ancak bu gruplar arasında istatistiksel anlamlı sonuç elde edilmemiştir.

Deneyde periferik neovaskülarizasyona etkileri değerlendirilmek üzere fleplerin etrafında kalan bölgelere de BTX-a ve SF uygulandı. Flepler üzerinde damar sayıları açısından BTX-a uygulamasının pozitif etkileri görülmüş olmakla beraber flep etrafındaki sağlam dokuda da BTX-a uygulanan deneklerde bir artış tespit edildi. Flep etrafındaki sağlam dokularda en yüksek damar sayıları geciktirmeli veya geciktirmesiz BTX-a uygulanan gruplarda tespit edilse de diğer gruplarla aralarında istatistiksel anlamlı bir fark elde edilmedi.

Flep beslenmesine etki eden en önemli etkenlerden biri vazodilatasyon-vazokonstriksiyon dengesinin kurulmasıdır. İyi beslenme sağlanabilmesi açısından damar çapları önem arz eder ve yüksek damar çapları daha iyi kanlanmanın belirleyicilerindendir. Aynı zamanda vaskülogenez esnasında oluşan yeni damarların olgunluğunu ve işlevselliğini değerlendirebilmek açısından da damar çapları önemlidir. Deneyin bu açılarından değerlendirilebilmesi amacı ile fleplerden alınan biyopsilerde damar çapları ölçülerek karşılaştırıldı.

Damar çaplarının ortalama değerleri karşılaştırıldığında 5 günlük pedikül bekleme süresi uygulanan ilk 5 grupta en yüksek değer BTX-a ile geciktirme uygulanan grupta ölçüldü. Gruplar arasında herhangi istatistiksel anlamlılık

tespit edilmemiş olsa da gruplar arasındaki farkın flep beslenmesi açısından önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

10 günlük pedikül bekleme süreli son 5 grupta da en yüksek değer BTX-a ile geciktirme uygulanan grupta tespit edildi ve 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip SF ve kontrol gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu. Tüm gruplar içerisinde en yüksek değerler yine BTX-a uygulanan gruplarda, en yüksek iki değerse BTX-a ile geciktirme uygulanan gruplarda tespit edildi. Bu durum BTX-a'nın operasyon sonrası fleplerde meydana gelen vazokontriksiyonu sınırlandırdığı gibi sonrasında meydana gelen süreçlerde vaskülogenezi desteklediği ve choke damar vazodilatasyonunu arttırdığı şeklinde yorumlanabilir.

Flep etrafındaki sağlam dokulardan alınan biyopsilerde damar çapları karşılaştırıldığında ise BTX-a uygulanan gruplarda damar çaplarının diğer gruplara göre anlamlılık ifade edecek şekilde yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum BTX-a'nın sadece hipoksik durumlarda veya post operatif süreçlerde değil, fizyolojik şartlarda da vazodilatasyona sebep olabildiği şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca bu durumun iki aşamalı fleplerde etraf dokudan gerçekleşen neovaskülarizasyonu destekleyebileceği düşünülerek, flebin getirileceği bölge etrafına BTX-a uygulamalarının klinik açıdan değerlendirilmesi ve ek çalışmalarla araştırılması uygun olacaktır.

Çalışmamızda fleplerden alınan biyopsilerde aynı zamanda damar duvar kalınlıkları da ölçüldü. En yüksek iki değer BTX-a ile geciktirme uygulanan gruplarda ölçüldü. Damarlardaki vazodilatasyona ek olarak damar duvar kalınlıklarındaki artış BTX-a ile geciktirme yönteminde sadece vazodilatasyonun değil, angiogenez ve vaskülogenezin de desteklendiği, böylece damar duvarında bulunan hücre sayılarında da artış olduğu yönünde değerlendirildi. Flep etrafındaki sağlam dokulardan alınan biyopsilerde en yüksek damar kalınlığı 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip BTX-a geciktirme grubunda ölçüldü. Periferik neovaskülarizasyon açısından bu sonuç, BTX-a'nın etkili olduğu şeklinde yorumlandı.

Çalışmamızda periferik neovaskülarizasyonu değerlendirebilmek amacı ile ratlarda abdominal deri ada flepleri kaldırdık ve tabanlarına koyulan silikon tabakalar sayesinde sadece periferik neovaskülarizasyonla hayatta kalabilecekleri şekilde 5. ve 10. günlerde pedikülleri kestik. Flep yaşayabilirliği, damar çapları, sayıları ve damar duvar kalınlıkları değerlendirildiğinde neredeyse tüm parametrelerde BTX-a ile önceden geciktirme uyguladığımız grupta daha başarılı sonuçlar elde ettik. Bu sonuçlarla BTX-a ile geciktirmenin periferik neovaskülarizasyonu arttırdığı, aynı zamanda flep içerisindeki dinamikleri de flep yaşayabilirliği yönünde etkilediği kanaatine vardık. 5 günlük pedikül bekleme süresi uyguladığımız BTX-a geciktirme grubunda elde edilen sonuçların, 10 günlük bekleme süresine sahip BTX-a uygulanmayan gruplara nazaran çoğu parametrede benzer ya da daha başarılı bulunmuş olması, iki seanslı operasyonlarda BTX-a uygulaması ile ikinci seans bekleme sürelerinin kısaltılabileceği şeklinde yorumlanabilir. Aynı zamanda flep etrafına uyguladığımız BTX-a enjeksiyonlarının da damar sayısı, damar çapı ve damar duvar kalınlığındaki artışlarla periferik neovaskülarizasyonu desteklediği düşüncesindeyiz.

Çalışmamız, literatürde ada fleplerinde BTX-a'nın periferik neovaskülarizasyonunu değerlendiren başka çalışma olmadığından, önem arz etmektedir. Çalışma sonuçları BTX-a'nın periferik neovaskülarizasyonu desteklediği yönündedir. Klinik açıdan değerlendirildiğinde BTX-a uygulamasının, tek seansta yapılabilecek, anestezi, ek cerrahi, özel teknik ve gereç gerektirmeyen bir işlem olup tedavi sürelerini kısaltabilecek ve başarı oranlarını arttıracak olmasından dolayı pratik ve faydalı olacağı kanaatindeyiz. Enfeksiyon, kanama, ağrı gibi komplikasyonlarının olmaması da yaygın klinik kullanımı destekleyebilir.

Birçok parametrede anlamlı sonuç elde etmiş olsak da kullanılan grup sayısının fazla, her bir gruptaki denek sayısının az oluşu sonuçların istatistiksel anlamlılığı açısından kısıtlayıcı olmuştur. Daha sonra konuyla ilgili yapılacak çalışmalarda az sayıda spesifik grubun çok sayıda denekle çalışılmasının istatistiksel sonuçların anlamlılığını destekleyebileceğini düşünüyoruz.

SONUÇ

BTX-a uygulamasının periferik neovaskularizasyon üzerine etkisini inceleyen, öncü olma niteliğindeki çalışmamızda, BTX-a ile kimyasal geciktirme uyguladığımız deneklerdeki fleplerde, benzer pedikül bekleme süresine sahip SF uygulanan ve herhangi bir işlem yapılmayan deneklerdeki fleplere oranla daha iyi sağ kalım oranları, daha iyi vaskularizasyon ve daha iyi damar yapısal özellikleri tespit ettik. Bu sonuçlarla BTX-a uygulamasının periferik neovaskularizasyonu pozitif yönde etkilediği sonucuna vardık.

BTX-a kimyasal geciktirme işlemi uygulanan 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip deneklerde elde ettiğimiz sonuçların, 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip ve BTX-a uygulanmayan deneklerde elde ettiğimiz sonuçlara göre benzer veya daha iyi olduğunu gördük. Bu sayede BTX-a ile kimyasal geciktirme uygulanarak iki seanslı operasyonlarda bekleme sürelerinin kısaltılabileceğini düşünmekteyiz.

BTX-a'nın kolay temini, kolay kullanılabilirliği, düşük komplikasyon profili ve elde ettiğimiz sonuçların başarı düzeyi düşünüldüğünde klinikte yaygın kullanılabileceği ve flep cerrahisi başarısında olumlu sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Mathes SJ, Hansen SL. Flap Classification and Applications. In: SJ. Mathes, Second Edition. Plastic Surgery. Philadelphia: Elsevier, 2006: 365-481
2. Thorne CH. Techniques and Principles in Plastic Surgery. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH, Sixth Edition. Grabb and Smiths Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2007: 3-14
3. Kayser MR. Surgical flaps. In: Kayser MR. Selected Readings in Plastic Surgery, 1999:9;2
4. Miller, T. A. (1985). The Tagliacozzi flap as a method of nasal and palatal reconstruction. Plastic and reconstructive surgery, 76(6), 870-875.
5. Fisher J, Gingrass MK. Basic Principles of Skin Flaps. In: Georziade GS, Riefkohl R, Levin LS, Third Edition. Georziade Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. Baltimore, Maryland: Williams& Wilkins, 1997: 19-28
6. Taylor GI, Ives A, Dhar S. Vascular Territories. In: Mathes SJ, Second Edition. Plastic Surgery. Philadelphia: Elsevier, 2006: 317-363
7. Taylor GI. The Blood Supply Of The Skin. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH, Sixth Edition. Grabb and Smiths Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2007: 33-51
8. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and Physiology of Skin Flap Surgery. In: McCharty JG. Plastic surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990: 275-327

9. Vedder NB. Flap Physiology. In: SJ. Mathes, Second Edition. Plastic Surgery. Philadelphia: Elsevier, 2006: 483-506
10. Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. In: Achauer BM, Eriksson E, Wilkins EG, VanderKam VM. Plastic Surgery Indications, Operations, and Outcomes. St. Louis, Missouri: Mosby, 2000: 261- 288.
11. 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: 169-176
12. 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;113:927-931
13. Aşkar İ, Bozkurt M, Oktay MF, Gürlek A, Keleş C. Salutary Effect of Radioopaque Contrast Media on the Survival Random-Pattern Skin Flaps in the Rat: An Experimental Study. *Willey InterSciens* 2003.
14. Chang DW, Wang B, Robb GL, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Langstein HN, Kroll SS. Effect of obesity on flap and donor-site complications in free transverse rectus abdominis myocutaneous flap breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 1640
15. Shalom A, Herbert M, Westreich M. Effect of Aspirin on Random Pattern Flap Survival in Rats. *Eur J Plast Surg* 2000; 23:21
16. 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
17. Kayaalp O. Periferik Vazodilatörler. In: Kayaalp O, 10. Baskı. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2002;465-472
18. Lamberty, B.G.H., Healy, C. Flaps: Physiology, principles of design, and pitfalls. *Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery*. Little, Brown and Company, 1th edition. 56, 1994.
19. Kerrigan CL, Daniel RK. Monitoring acute skin-flap failure. *Plast Reconstr Surg* 1983; 71:519-524

20. 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
21. Um SC, Suzuki S, Toyokuni S, et al. Involvement of nitric oxide in survival of random pattern skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101: 785.
22. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, et al. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and Mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287: 1219.
23. Kuru B, Dinç S, Çamlıbel M, Durmuş E, Alagöl H. Efficacy of Postoperative Steroids on Ischemic Skin Flap Survival in Rats. *Eur J Plast Surg* 2003; 26: 79
24. Ghavami A, Nutt MP, Hardy SP. Heat Shock Protein and High-Doze Aspirin: Effects on Random Skin Flap Survival in a Rat Model. *Ann Plast Surg* 2002; 48: 60
25. Dhar SC, Taylor GI. The delay phenomenon: the story unfolds. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104: 2079-2091
26. Sasaki A., F.O., Soeda S., Attempts to increase the surviving length in skin flaps by a moist environment. *Plast Reconstr Surg.* 64; 526-531, 1979.
27. Holzbach T, Neshkova I, Vlaskou D, et al. Searching for the right timing of surgical delay: angiogenesis, vascular endothelial growth factor and perfusion changes in a skin-flap model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2009. 62(11): p. 1534-42.
28. Ghali S, Butler PE, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular delay revisited. *Plast Reconstr Surg*, 2007;119(6):1735-44.
29. Folkman J. What is the evidence that tumours are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst*:82:4-6, 1990. 86.
30. Colville-Nash PR, Scott DL. Angiogenesis and rheumatoid arthritis: pathogenic and therapeutic implications. *Ann Rheum Dis* 51: 919-25, 1992. 87.

31. Klagsburn M, D'amore PA. Regulators of angiogenesis. *Ann Rev Physiol* 53: 217-39, 1991. 88.
32. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: Balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1: 149, 1995.
33. 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(4):330-3
34. Barker JH, Frank J, Bidiwala SB, Stengel CK, Carroll CM, Van Aalst V, Anderson GL. An animal model to study microcirculatory changes associated with vascular delay. *Br J Plast Surg* 1999;52(2):133-42
35. Bekereciolu 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(6): 606-11
36. 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(6): 1503-11
37. 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(7): 1660-1
38. 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(2):178-86.
39. 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
40. 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

41. 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(1):69-72
42. Acikel C, Kenkel JM, Nojima K, Hoopman JE, Saboorian MH, Brown SA. Evaluation of flashlamp-pumped pulsed dye laser(585 nm) in nonsurgical delay of dorsal rat cutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 2005;115:2032-41
43. Macionis V. Clamp delay: an effective new method of nonsurgical delay. *Plast Reconstr Surg* 2000;106(6):1321-5.
44. Karacaoğlu E, Yüksel F, Turan SO, Zienowicz RJ. Chemical delay: An alternative to surgical delay experimental study. *Ann Plast Surg* 2002;49(1):73-81
45. Holzbach T, Taskov C, Neshkova I, Holm PS, Konerding MA, Schams D, Gansbacher B, Biemer E, Giunta RE. Angiogenesis VEGF165 gene therapy with AdVEGF-a new delay procedure for flaps. *Handchir Microchir Plast Chir* 2005;37:365-74
46. 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
47. 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(1): 86-94
48. 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
49. Oh M, Chang H, Minn KW. The effects of tadalafil on axial-pattern skin flap survival in rats. *Dermatol Surg* 2008;34:626-30
50. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 6: 389-95, 2000.

51. Currie LJ, Sharpe JR, Martin R: The use of fibrin glue in skin grafts and tissueengineered skin replacements: A Review. *Plast Reconstr Surg* 108(6): 1713-1726, 2001.
52. Gurunluoglu R, Ozer K, Skugor B, Lubiatowski P, Carnavale K, Siemionow M: Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene. *Ann Plast Surg* 49(2):161-169, 2002.
53. O'Toole G, MacKenzie D, Buckley MF, Lindeman R, Poole M: A review of therapeutic angiogenesis and consideration of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *Br J Plast Surg* 54:1-7, 2001.
54. Petersen W, Pufe T, Zantop T, Tillmann B, Mentlein R: Hypoxia and PDGF have a synergistic effect that increases the expression of the angiogenetic peptide Vascular Endothelial Growth Factor in Achilles tendon fibroblasts. *Arch Orthop Trauma Surg* 123: 485-488, 2003.
55. Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C1358-66.
56. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surgical Oncology* 2004; 87: 95-104
57. Lam, S.M. The basic science of botulinum toxin. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.* 2003; 11: 431
58. Huang, W, Foster, J.A, Rogachefsky, A.S. Pharmacology of botulinum toxin. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2000; 43: 249
59. Kane, MAC. Botulinum Toxin. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH, Sixth Edition. *Grabb and Smiths Plastic Surgery*. Philedelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2007:475-479
60. Levinson, W. Temel Bakteriyoloji. In: Levinson W, Jawetz E, 5. Baskı. *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*. Barış kitabevi, 1999;34,97
61. Kayaalp O. Nöromusküler Bloke Edici İlaçlar. In: Kayaalp O, 10.Baskı. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2002;817

62. 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.
63. 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.
64. Van Beek AL, Lim PL, Gear AJ. Management of Vasospastic Disorders with Botulinum Toksin A. *Plast Reconstr Surg* 2007;119(1): 217-226.
65. 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(7): 906-13.
66. Williams PB, Hankins DB. Long-term pretreatment with pentoxifylline increases random skin flap survival. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120: 65
67. Eroğlu L, Karacaoğlan N, Uysal OA. The effect of pentoxifylline on venous flap survival. *Eur J Plast Surg* 2001; 24: 169
68. Lowe, N.J. Botulinum toxin type A for facial rejuvenation. *Dermatol. Surg.* 1998; 24: 1216- 1218
69. Allergan Corporation. Botox Cosmetic (Botulinum Toxin Tipe A) Purified Neurotoxin complex. Irvine, Clif.: Allergan corporation 2002.
70. Rohrich RJ, Janis JE, Fagien S, Stuzin JM. The Cosmetic Use of Botulinum Toxin. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112: 177-187
71. Shelosky, L. Pharmacology and Toxicology. In Sommer, B., Sattler, G. (Eds.), *Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine*. 1st edition. Berlin-Vienna: Blackwell Science, 1–7, 2001.
72. Vartanian, A.J., Dayan, S.H. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.* 2003;11: 483
73. Myers M.B.: Attempts to augment survival in skin flaps: Mechanism of the delay phenomenon. In Grabb C., Myers M.B. *Skin Flaps*. Boston:Little Brown, 65-79, 1977.
74. Kerrigan CL, Daniel RK. Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconst Surg.* 1982;70:541.

75. 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.
76. Petersson M, Lundeberg T, Sohlstrom A, Wiberg U, Uvnas-Moberg. Oxytocin increases the survival of musculocutaneous flaps. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1998; 357: 701–4.
77. Lu WW, Ip WY, Jing WM, Holmes AD, Chow SP. Biomechanical properties of thin skin flap after basic fibroblast growth factor (bFGF) administration. *Br J Plast Surg.* 2000; 53: 225–9.
78. Pu LL, Ahmed S, Thomson JG, Reid MA, Madsen JA, Restifo RJ. Endothelial cell growth factor enhances musculocutaneous flap survival through the process of neovascularization. *Ann Plast Surg.* 1999; 42: 306–12.
79. Michele Buemi, Mariarosaria Galeano, Alessio Sturiale, et. al. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and healing of ischemic skin wounds. *Shock.* 2004; 22: 169–173.
80. Buemi M, Vaccaro M, Sturiale A, et. al. Recombinant human erythropoietin influences revascularization and healing in a rat model of random ischaemic flaps. *Acta Derm Venereol.* 2002; 82: 411–7
81. Saray A, Ozakpinar R, Koc C, Serel S, Sen Z, Can Z. Effect of chronic and short-term erythropoietin treatment on random flap survival in rats: an experimental study. *Laryngoscope.* 2003; 113: 85–9.
82. 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; 102:1134-114
83. 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
84. Lam DGK, Choudhary S. Use of a Grid to Simplify Botulinum Toxin Injection for Axillary Hyperhidrosis. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112: 1741-1742

85. Kane M. Nonsurgical Treatment of Platysmal Bands with Injection of Botulinum Toxin A. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112 : 115-122.
86. Neumeister MW, Chambers CB, Herron, MS. Botoks Therapy for Ischemic Digits. *Plast Reconstr Surg* 2009;124(1): 191-200
87. Yldrm AM, Okur I, Orter Z, Uysal A, Nonsurgical Delay of Dorsal Rat Cutaneous Flap Using Botulinum Toxin Type A. *Plast Reconstr Surg* 2008;122:53-54.
88. 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(1): 64-70.
89. 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(5):1450-57.
90. Park TH, Lee SH, Park YJ, et al. Presurgical botulinum toxin a treatment increases angiogenesis by hypoxia-inducible factor-1 α /vascular endothelial growth factor and subsequent superiorly based transverse rectus abdominis myocutaneous flap survival in a rat model. *Annals of plastic surgery*, 2016, 76.6: 723-728.
91. Kim, S. Y., Lee, S. H., Lee, B, et. al. The protective effects of botulinum toxin a against flap necrosis after perforator twisting and its underlying molecular mechanism in a rat model. *Annals of plastic surgery*, 2016, 77(2), 242-248.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
BTX-a	: Botulinum toksin-a
CO₂	: Karbon dioksit
cNOS	: Constitutive-yapısal nitrik oksit sentetaz
HIF-1α	: Hypoxia- inducible factor 1 α
iNOS	: İnducible-uyarılabılır nitrik oksit sentetaz
LD50	: Lethal doz
mU	: Mouse unite
mTOR	: Mechanistic target of rapamycin
NO	: Nitrik oksit
PGE₂	: Prostoglandin E ₂
PIGF	: Plasental büyüme faktörü
SF	: Serum fizyolojik
SNAP 25	: Sinaptosomal ilişkili protein 25
U	: Ünite
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1: Deri fleplerinin vaskler anatomiye göre sınıflaması	12
Şekil 2: Rotasyon flebi, defektin 3–5 katı uzunluğunda planlanmaktadır	14
Şekil 3: Transpozisyon flebi	14
Şekil 4: İnterpolasyon flebi	15
Şekil 5: Tek pediküllü ilerletme flebi. (Grabb and Smith's Plastic Surgery, 1997)	15
Şekil 6: Grabb and Smith's Plastic Surgery	16
Şekil 7: V-Y ilerletme flebi	16
Şekil 8: Derinin kan dolaşımı	18
Şekil 9: A. Choke anastomozlar B. Gerçek anastomozlar	20
Şekil 10: Botulinum toksin etki mekanizması	33
Şekil 11: Flebin çizimi	41
Şekil 12: Enjeksiyon alanları	41
Şekil 13: Flebin kaldırılışı	42
Şekil 14: Flebin kaldırılışı	42
Şekil 15: Flebin altına silikon tabaka konulması	43
Şekil 16: Flebin yerine suture edilmesi	43

Şekil 17: Pedikülün bağlanma öncesi diseksiyonu	44
Şekil 18: Deney sonunda flep ve flep etraındaki sağlam dokunun histopatolojik olarak değerlendirilebilmesi için alınan biyopsilerin yerleşimi	45
Şekil 19: Fleplerde yaşayan alan değerlendirme sonuçlarının grafiği	48
Şekil 20: Fleplerde yaşayan – nekroze alanların planimetrik çizimi	49
Şekil 21: 5 günlük pedikül bekleme süresine sahip grupların deney sonu flep görüntüleri. Grup 1 –KONTROL5- (A) , Grup 2 –SF5DELAY- (B) , Grup 3 –BTX5DELAY- (C) , Grup 4 –SF5- (D) ve Grup 5 –BTX5- (E)	50
Şekil 22: 10 günlük pedikül bekleme süresine sahip grupların deney sonu flep görüntüleri. Grup 6 –KONTROL10- (A) , Grup 7 –SF10DELAY- (B) , Grup 8 –BTX10DELAY- (C) , Grup 9 –SF10- (D) ve Grup 10 –BTX10- (E)	51
Şekil 23: Flep damar sayıları grafiği	53
Şekil 24: Flep etrafındaki sağlam dokuların damar sayıları grafiği	54
Şekil 25: Grup 1 (KONTROL5) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.	55
Şekil 26: Grup 2 (SF5Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.	55
Şekil 27: Grup 3 (BTX5Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri	55
Şekil 28: Grup 4 (SF5) CD31 (A) ve VEGF (B) histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.	56
Şekil 29: Grup 5 (BTX5) CD31 (A) ve VEGF (B)	56

histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.

Şekil 30: Grup 6 (KONTROL10) CD31 (A) ve VEGF (B) **57**

histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.

Şekil 31: Grup 7 (SF10Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) **57**

histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri

Şekil 32: Grup 8 (BTX10Delay) CD31 (A) ve VEGF (B) **57**

histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri

Şekil 33: Grup 9 (SF10) CD31 (A) ve VEGF (B) **58**

histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri

Şekil 34: Grup 10 (BTX10) CD31 (A) ve VEGF (B) **58**

histokimyasal boyamaları sonrası histolojik görünümleri.

Şekil 35: Flep damar çapları grafiği **60**

Şekil 36: Flep etrafındaki sağlam dokuların damar çapları grafiği **61**

Şekil 37: Flep damar duvar kalınlıkları grafiği **63**

Şekil 38: Flep etrafındaki sağlam dokuların damar duvar **64**

kalınlıkları grafiği

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No:
Tablo 1: Deri dolaşımını düzenleyen lokal ve sistemik etkenler	22
Tablo 2: Fleplerde yaşayan alan değerlendirme sonuçları	47
Tablo 3: Flep damar sayıları	52
Tablo 4: Flep etrafındaki sağlam doku damar sayıları	54
Tablo 5: Flep damar çapları	59
Tablo 6: Flep etrafındaki sağlam dokuların damar çapları	61
Tablo 7: Flep damar duvar kalınlıkları	62
Tablo 8: Flep etrafındaki sağlam dokuların damar duvar kalınlıkları	64

EKLER

EK-1 : ETİK KURUL ONAYI

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
28/05/2018	08	25

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yavuz DEMİR'in sorumluluğunda yapılması tasarlanan "Rat Abdominal Ada Flep Modelinde Botulinum Toxin-A Uygulamasının Neovaskülarizasyon Üzerine Etkisi" adlı araştırma için hazırlanmış olan ve 21/05/2018 tarihinde sunulan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ile ilgili belgeler ve araştırmada deney hayvanları üzerinde yapılacak tüm işlemler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

Başkan
Prof. Dr. Ali NAYCI

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Üye

Prof. Dr. Yusuif ÇAMLICA
Üye

Prof. Dr. Ş. Necat YILMAZ
Üye

Yrd. Doç. Dr. Leyla ŞAHİN
Üye

Doç. Dr. Gülhan TEMEL
Üye

Dr. Vet. Hek. Tamer YENER
Üye

(Katılmadı)
Uzm. Vet. Hek. Cem FIRAT
Üye

(Katılmadı)
Avukat Lale DAĞLI
Üye