

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**PREFABRİKE NÖRO-OSSEÖZ FLEP:
SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA**

Dr. Haldun Onuralp KAMBUROĞLU

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA

2009

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**PREFABRİKE NÖRO-OSSEÖZ FLEP:
SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA**

Dr. Haldun Onuralp KAMBUROĞLU

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI:

Prof. Dr. Tunç ŞAFAK

ANKARA

2009

Bu çalışma jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı:	Prof.Dr. Tunç ŞAFAK (Hacettepe Üniversitesi)	İmza
Üye:	Prof.Dr.Abdullah KEÇİK (Hacettepe Üniversitesi)	İmza
Üye:	Prof.Dr. M. Emin MAVİLİ (Hacettepe Üniversitesi)	İmza
Üye:	Prof.Dr. Figen ÖZGÜR (Hacettepe Üniversitesi)	İmza
Üye:	Doç.Dr. Aycan KAYIKÇIOĞLU (Hacettepe Üniversitesi)	İmza

ÖZET

KAMBURUĞLU H.O., PREFABRİKE NÖRO-OSSEÖZ FLEP: SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA, HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ, ANKARA, 2009

Bu çalışmada periferik bir sinir ile kemik dokusunun vasküler indüksiyon yolu ile prefabrike edilebileceği ve bunun flep olarak kullanılabileceği hipotez edilmiş, bu hipotezi test etmek için sıçanlarda deneysel çalışma planlanmıştır. Çalışmada 300 –350 gramlık 30 adet erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. On adet hayvanda anatomik diseksiyon çalışmaları yapılmıştır. Deney grubunda sıçanların siyatik sinirleri femur meduller kavitelerine, femur dolaşımı sınırlandırıldıktan sonra implante edilmiş, kontrol grubu olan sağ bacaklarda ise ek olarak sinir kemiğe giriş noktasından 8/0 absorbe olmayan dikiş ile bağlanmıştır. Altı haftalık gecikme süresini takiben flepler kaldırılmıştır. Sekiz adet hayvana Tc^{99m} metilen difosfanat ile sintigrafik inceleme ve kemik metabolik aktivite tayini, 8 adet hayvana mikroanjiyografik inceleme ve 4 adet hayvana ise histolojik inceleme yapılmıştır. Gözlem ile deney tarafındaki tüm fleplerin yaşadığı, kontrol tarafındakilerin ise yaşamadığı görülmüştür. Hem radyoaktif madde tutulumu hem de kemik metabolik aktivitesi açısından deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0.001). Mikroanjiyografik ve histolojik incelemelere göre, deney tarafı siyatik sinirlerin dahili dolaşımında belirgin ölçüde artma görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre, prefabrike nöro-osseöz flebin güvenli dolaşıma sahip tekrarlanabilir ve kolay uygulanabilir bir model olması nedeni ile klinik çalışmalara öncü olabileceği sonucuna varıldı. Vasküler indüksiyon aracı olarak bir periferik sinirin kullanılıp, prefabrike kemik flebi hazırlanması, literatürde ilk defa tariflenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Prefabrikasyon, Neovaskülarizasyon, Vasküler İndüksiyon, Sinir, Kemik

ABSTRACT

KAMBUROĞLU H.O., PREFABRICATED NEURO-OSSEOUS FLAP: EXPERIMENTAL STUDY ON RATS, HACETTEPE UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE, THESIS in PLASTIC RECONSTRUCTIVE and AESTHETIC SURGERY DEPARTMENT, ANKARA, 2009

In this study, it has been hypothesized that an osseous tissue can be prefabricated with a peripheral nerve by vascular induction. An experimental study on rats has been planned to investigate this hypothesis. Thirty Wistar rats with weighting between 300 to 350 grams have been used. Anatomic dissection has been performed on 10 rats. In the study group, the sciatic nerves were placed linearly in the medullary cavities of the ipsilateral femurs which have intact metaphyseal circulations. In control group same procedure performed and right sciatic nerves were sutured with 8/0 nonabsorbable sutures at the bony entrance of the flap. After 6 weeks of latency period, the flaps were elevated. Scintigraphic investigation with Tc-99 and metabolic activity assessment have been performed on 8 rats, microangiographic investigation has been performed on 8 rats, and histological study has been performed on 4 rats. All flaps in the experimental group was viable, on the other hand none of the flaps in control group was viable by inspection. There was statistically significant difference between experimental and control groups both by radioactivity counts and metabolic activity assessment ($p=0.001$). According to microangiographic and histological investigations there was significant dilatation on the experimental groups' sciatic nerve perivasculature. According to the results of this study, the created flap would premise further clinical investigations due to its easy performability, reproducibility and robust circulation. Also this is the first report on literature that a bony tissue prefabricated with vascular induction by a peripheral nerve.

Keywords: Prefabrication , Neovascularization, Vascular Induction, Nerve, Bone

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Periferik Sinir Anatomisi	2
2.2. Periferik Sinir Histolojisi	4
2.2.1 Nöronlar ve Schwann Hücreleri	4
2.2.2. Bağ Dokusu Elemanları	6
2.3. Periferik Sinir Dolaşım	8
2.4. Kemik Anatomisi	12
2.5. Kemik Histolojisi	13
2.6. Kemik Dolaşımı	15
2.7. Kemik Neovaskülarizasyonu	17
2.8. Prefabrikasyon ve Prelaminasyon	18
2.9. “Delay” Cerrahi Geciktirme	20

2.9.1. Cerrahi Geciktirmenin Erken Etkileri	20
2.9.2. Cerrahi Geciktirmenin Geç Etkileri	22
2.10. Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi	22
2.11. Sıçan Femur Anatomisi	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Anestezi	25
3.2. Anatomik Çalışma	25
3.2.1. Vasküler İndüksiyon ile Prefabrikasyon İçin Uygun Periferik Sinirin Araştırılması	26
3.2.2. Vasküler İndüksiyon ile Prefabrikasyon İçin Uygun Kemığın Araştırılması	27
3.3. Prefabrike Nöro-Osseöz Flep Modeli Araştırılması	29
3.3.1. Siyatik Sinir Diseksiyonu	29
3.3.2. Kemik Flebinin Hazırlanması	29
3.3.3. Gruplar	31
3.3.4. Flep Kaldırılması	32
3.3.5. Flep Yaşamsallığının Gözlem ile Değerlendirilmesi	34
3.3.6. Mikroanjiyografik Yöntemler	34
3.3.7. Flep Yaşamsallığının Kemik Sintigrafisi ile; Gözlem, Sayısal Olarak ve Kemik Metabolik Aktivite Tayini Yöntemleri ile Değerlendirilmesi	35
3.3.8. Histolojik Yöntemler	35
3.3.9. İstatistiksel Analiz	36

4. BULGULAR	37
4.1. Flep Yaşamsallığının Gözlem ile Değerlendirilmesi	37
4.2. Mikroanjiyografik Bulgular	37
4.3. Flep Yaşamsallığının Kemik Sintigrafisi ile; Gözlem, Sayısal ve Kemik Metabolik Aktivite Tayini Olarak Değerlendirme Bulguları	38
4.3.1. Kemik Sintigrafisinin Gözlem ile Değerlendirilmesi	38
4.3.2. Kemik Sintigrafisinin Sayısal Olarak Değerlendirilmesi	39
4.3.3. Flep Yaşamsallığının Metabolik Aktivite Tayini ile Değerlendirilmesi	40
4.4. Histolojik Değerlendirme	41
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ	52
7. KAYNAKLAR	53

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	: Yüzde
‰	: Binde
B	: Beta
°C	: Santigrat derece
a.	: Arteria
BMP	: Bone Morphogenic Protein
cc	: Santimetre küp
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
FGF-2	: Fibroblast Growth Factor-2
gr	: Gram
H ⁺	: Hidrojen
kV	: Kilovolt
m.	: Musculus
mAs	: Mili amper saniye
mm	: Milimetre
µCi	: Mikroküri
ml	: Mililitre
µm	: Mikrometre
n	: Nervus

PDGF : Platelet Derived Growth Factor

pH : Hidrojenin gücü

SD : Sprague Dowley

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences

sn : Saniye

Tc^{99m} : Teknetium^{99m}

TGF- β : Transforming Growth Factor-Beta

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

VEGF-R1 : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1

VEGF-R2 : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Medulla spinalis ve spinal sinir	3
Şekil 2.2. Periferik sinirin yapısı	5
Şekil 2.3. Periferik sinirin ışık mikroskobunda enine kesit görüntüsü Ep:Epinöriyum Pe:Perinöriyum Masson Trichrome x200	6
Şekil 2.4. Sinir fibrilinin görüntüsü. Pe:Perinöriyum, En:Endonöriyum NF:Sinir Fibrili, MK: Miyelin Kılıf, Kap:Kapiller Masson Trichrome x465	7
Şekil 2.5. Periferik sinirin Breidenbach ve Terzis sınıflaması	9
Şekil 2.6. Taylor'ın periferik sinirleri arteriel dolaşimleri ve sinir dallanmalarına göre sınıflaması	10
Şekil 2.7. Pinal ve Taylor'ın periferik sinirleri venöz dolaşimlerine göre sınıflandırması	11
Şekil 2.8. Kemiğin yapısı	12
Şekil 2.9. Volkmann kanalları ve Havers Sistemi	13
Şekil 2.10. Dekalsifiye kompakt kemiğin ışık mikroskobu görüntüsü HK: Havers kanalı, Kap: Kapiller, Os: Osteosit, SÇ: Sement Çizgileri (Osteonların Sınırı), K:Kanaliküller Hematoksilen Eozin x240	14
Şekil 2.11. Kemik dolaşımı. 1. Besleyici arter (Diafiziyel sistem), 2. Periosteal sistem, 3. Metafiziyel damar, 4. Epifiziyel damar, 5. Epifiz plağının hizası, 6.Eklem kıkırdağı, 7. Eklem kapsülü, 8. Kortikal kemik, 9. Periost, 10. Kansellöz kemik	16

Şekil 2. 12.	Sıçan femurunun fleksör (solda) ve ekstensör (sağda) yüzleri 1. Trokanter major, 2. Trokanter minör, 3. Trokanter tertius, 4. Besleyici damarın giriş noktası	24
Şekil 3.1.	Siyatik sinirin femur posteriorundaki fleksör grup kaslarla ilişkisi ve mezonöral vasküler yapısı görülüyor	26
Şekil 3.2.	Sıçan siyatik sinirinin implantasyonu için hazırlanmış meduller kavite ve siyatik sinir görülüyor	27
Şekil 3.3.	Sinirin kemiğe 3 dikiş ile sabitlendiği implantasyon modeli	28
Şekil 3. 4.	Sinir implantasyonu için hazırlanan meduller kavite ile proksimal ve distal delikler	28
Şekil 3.5.	Sıçan uyluk bölgesinin posterior görünümü 1. M.Gluteus Superficialis, 2.M.Biceps Femoris, 3.M.Semitendinosus, 4. M.Gluteus Medius ve Profundus, 5. M.Vastus Lateralis, 6.M.Adductor Magnus, 7. M.Sakrokoksigeus Dorsalisin Medial ve Lateral parçaları, 8. Crista İliaca	30
Şekil 3.6.	Sinirin 2 dikiş ile meduller kaviteye implante edilmiş hali	31
Şekil 3.7.	Kontrol grubunda sinirin kemiğe giriş yaptığı noktadan bağlandığı görülüyor	32
Şekil 3.8.	Aynı hayvanda deney ve kontrol gruplarının hazırlanmış görüntüsü	32
Şekil 3.9.	Deney grubunda flebin kaldırılmış hali	33
Şekil 3.10.	Kontrol Grubunda flebin kaldırılmış hali	33

- Şekil 3.11.** Çalışma ve kontrol grubu flepleri kaldırıldıktan sonraki görünüm (Çalışma grubunun medullasında aktif kanama olmakla beraber (sol) kontrol grubunun medullasından kanama görülemiyor (sağ)) 33
- Şekil 4.1.** Aynı hayvana ait sol ve sağ femurların mikroanjiyografik görüntüleri. Solda, çalışma grubu flebinde perinöral tutulum gözlenirken, sağda, kontrol grubu flebinde perinöral kurşun oksit tutulumu görülüyor 37
- Şekil 4.2.** Aynı hayvana ait sol ve sağ femurların mikroanjiyografik görüntüleri. Solda, çalışma grubu flebinde perinöral tutulum gözlenirken, sağda, kontrol grubu flebinde çalışma grubuna göre daha az tutulum gözleniyor 37
- Şekil 4.3.** Sıçan femurlarının radyoaktif madde tutulumları. 1. ve 3. sütun hayvanların çalışma grubu femurlarını 2. ve 4. sütun ise aynı hayvanların kontrol grubu bacaklarını göstermektedir 38
- Şekil 4.4.** Siyatik sinir (*), siniri saran bağ dokusu ve çevre kemik doku damarlardan zengin olarak dikkati çekiyor (HEX100) 41
- Şekil 4.5.** Büyük mikroskop büyütmesinde kemik doku içine doğru uzanan damarlar ve bağ dokusunda çok sayıda damar (oklar) izleniyor (HEX200) 42
- Şekil 4.6.** Kontrol grubu örneğinde dejenere siyatik siniri (*) saran epinöriumda (E) az sayıda damar (oklar) ve komşuluğunda kemik dokusu izleniyor (HEX100) 43

TABLULAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 4.1. Kontrol ve deney gruplarında radyoaktivite tutulum miktarları	39
Tablo 4.2. Kontrol ve deney gruplarında dakikada gram doku başına tutulan radyoaktif madde miktarı	40

1. GİRİŞ

Günümüzde rekonstrüksiyon seçeneklerinin genişlemesi ile doku defektlerini onarmak kadar onarılan dokunun işlevsel ve estetik öğelere sahip olması da önem kazanmıştır. Konvansiyonel rekonstrüksiyon seçeneklerinin yetersiz kaldığı durumlarda flep prefabrikasyonu ve prelaminasyonu kurtarıcı olabilmektedir¹. Prefabrikasyon ve prelaminasyon aynı zamanda ihtiyaca yönelik işlevsellikte ve estetik yapıya sahip flep oluşturulmasına da imkan vermektedir².

Özellikle baş boyun bölgesi³ ile alt ekstremitedeki⁴ kemik defektleri çoğu zaman mikrocerrahi ile rekonstrüksiyonu gerekli kılmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda alternatif bir rekonstrüksiyon seçeneği sunabilecek, kemik prefabrikasyonunu araştırmayı planladık.

Sinir bazlı flepler güvenli dolaşimleri, kolay hazırlanabilmeleri ve mikrocerrahi gerektirmemeleri gibi nedenlerden ötürü son 10 yılda oldukça popülerlik kazanmışlardır. Özellikle Akyürek ve arkadaşlarının 2004 yılında herhangi bir kutanöz arter, ven, faysa ya da subkutan doku içermeyen ve sadece sinirin kendi dolaşımı ile beslenen nöral ada flebini tarif etmeleri⁵, bizi “kemik prefabrikasyonunun vasküler indüktif aracı bir sinir olabilir mi?” sorusunu sormaya yönlendirdi.

Hipotezimiz periferik bir sinirin dahili dolaşımı ile kemik dokusunun prefabrike edilebileceği ve flep olarak kaldırılabilceğidir. Bu hipotezi test etmek amacı ile sıçan femurlarının vasküler indüksiyon yöntemi ile prefabrikasyonunun gerçekleştirileceği deneysel çalışma planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

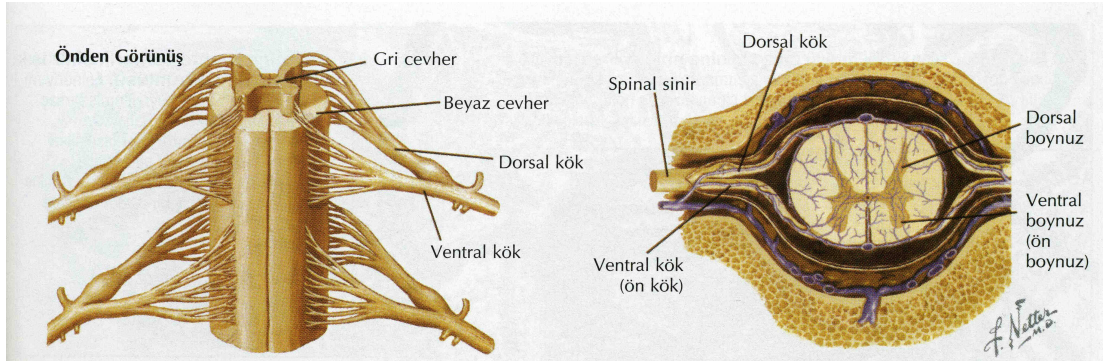
2.1. Periferik Sinir Anatomisi:

Merkezi sinir sistemini vücudun dorsal boşlukları olan kafatası boşluğu ve omurga kanalı içinde yer alan encephalon ve medulla spinalis oluştururken, buralara bağlanan, nervi spinales, nervi kraniales, pleksuslar ve ganglionlar ise periferik sinir sistemini oluşturur⁶⁻⁷.

Merkezi ve periferik sinir sisteminin temel hücresi olan nöronlar fonksiyonel olarak 7 tipe ayrılır;

1. Genel somatik afferent nöronlar: Deri, iskelet kasları, eklemler ve bağ dokusundan genel duyuyu alırlar.
2. Genel visseral afferent nöronlar: İç organlardan genel duyu alırlar.
3. Özel somatik afferent nöronlar: Görme, işitme ve denge duyusunu alırlar.
4. Özel visseral afferent nöronlar: Koku ve tat duyusunu alırlar.
5. Genel somatik efferent nöronlar: Merkezi sinir sisteminde yer alan bu nöronların aksonları periferdeki, miyotomlardan orijin almış iskelet kaslarını inerve ederler.
6. Genel visseral efferent nöronlar: Merkezi sinir sisteminin ilgili bölümlerindeki otonom nöronların aksonları kalp kası, düz kaslar ve dış salgılı bezlerin inervasyonu ile ilgili olarak periferdeki otonom ganglionlara ulaşırlar.
7. Özel visseral efferent nöronlar: Farinks arkuslarından orijin alan farinks ve larinks kasları ile mimik kasları inerve ederler⁷.

N.Spinalis, medulla spinalisin ön boynuzundaki nöronların aksonları ile spinal gangliondaki nöronların periferik uzantılarının foramen intervertebrale hizasında birleşerek oluşturduğu yapıdır. Radiks anterior (motor kök), vertebral kanal içinde ön boynuz hücrelerinden kaynak alan aksonların oluşturduğu omurilik ile foramen intervertebrale arasında kalan bölümdür. Radiks posterior (duyusal kök) ise, spinal ganglion nöronlarının merkezi uzantılarının oluşturduğu, foramen intervertebrale ile omuriliğin arka boynuzu arasındaki bölümdür. Dolayısıyla spinal sinir motor ve duyu liflerinden oluşmakta olup karma bir sinirdir⁶⁻⁷ (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Medulla spinalis ve spinal sinir⁸.

Spinal sinirler 31 çift olup, her bir omurilik segmentinden birer çift olmak üzere, tüm omurilik boyunca sağdan ve soldan simetrik olarak çıkarlar. 31 çift spinal sinirin çıkış yerlerine göre dağılımı:

- | | |
|----------------------------|---------|
| 1. <i>Nervi Cervicales</i> | 8 çift |
| 2. <i>Nervi Thoracici</i> | 12 çift |
| 3. <i>Nervi Lumbales</i> | 5 çift |
| 4. <i>Nervi Sacrales</i> | 5 çift |
| 5. <i>Nervus Coccygeus</i> | 1 çift |

Foramen intervertebraleden çıkan spinal sinir, ramus anterior ve ramus posterior olarak iki dala ayrılır. Her iki dal, her iki kökten de lifler taşır. Bunlardan r. posteriorlara ait lifler daha ince olup sırt derisi ve sırt kaslarının inervasyonunu sağlarlar. Ramus anteriorlardan kaynak alan lifler ise gövdenin ön ve yan bölümleri ile ekstremitelerin inervasyonunu sağlarlar. Bu lifler, dallanma ve dalların birleşmelerinin sık olduğu bölgelerde (servikal, brakial, lumbal ve sakral) pleksus yaparlar⁷.

2.2. Periferik Sinir Histolojisi:

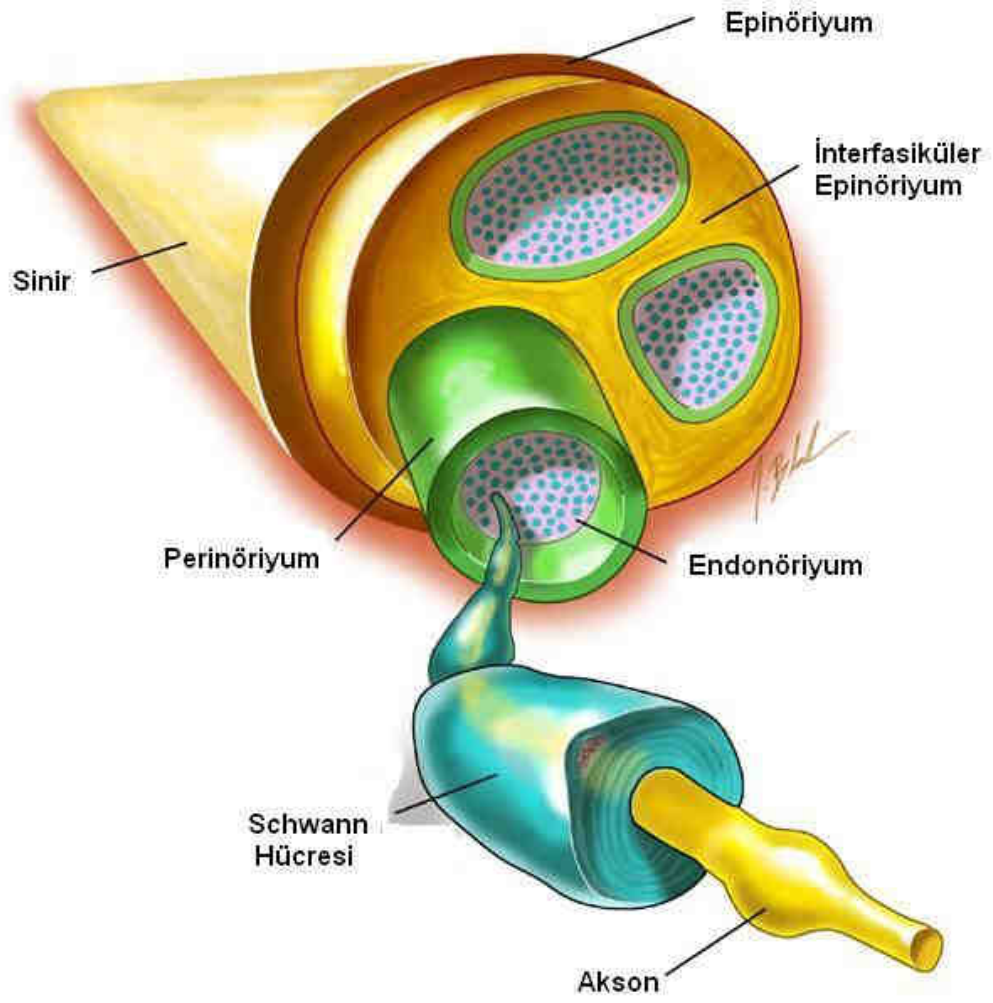
2.2.1 Nöronlar ve Schwann Hücreleri

Nöron, sitoplazmik uzantılarının kaynaklandığı bir hücre gövdesine sahip olan ileri düzeyde kutuplaşmış bir hücredir. Sinir fibrilleri olarak bilinen uzantıların boyu 1,5 metreye kadar çıkabilmektedir. Uzantılardan aksonlar hücre gövdesinden impulsları iletirken, dendritler hücre gövdesine doğru uyarıyı iletirler. Soma, çekirdek ve onu çevreleyen perikaryon (çekirdek çevresi) olarak bilinen sitoplazmadan oluşur. Somanın hacmi hücrenin tip ve fonksiyonuna göre değişir. Medulla spinalisin ön boynuz motor nöronları merkezi sinir sisteminin en büyük nöronlarıdır. Uzantılarının miktarına göre nöronlar;

1. Multipolar (en yaygın ve karakteristik olanlarıdır, bir akson ve birçok dendrit taşırlar)
2. Bipolar (birisi akson diğeri dendrit olmak üzere iki uzantı taşırlar ve görsel, işitsel ve koku sistemlerinde bulunurlar).
3. Pseudounipolar (akson ve dendrite ayrılan kısa bir uzantıya sahiptirler).

olarak 3 gruba ayrılırlar⁸.

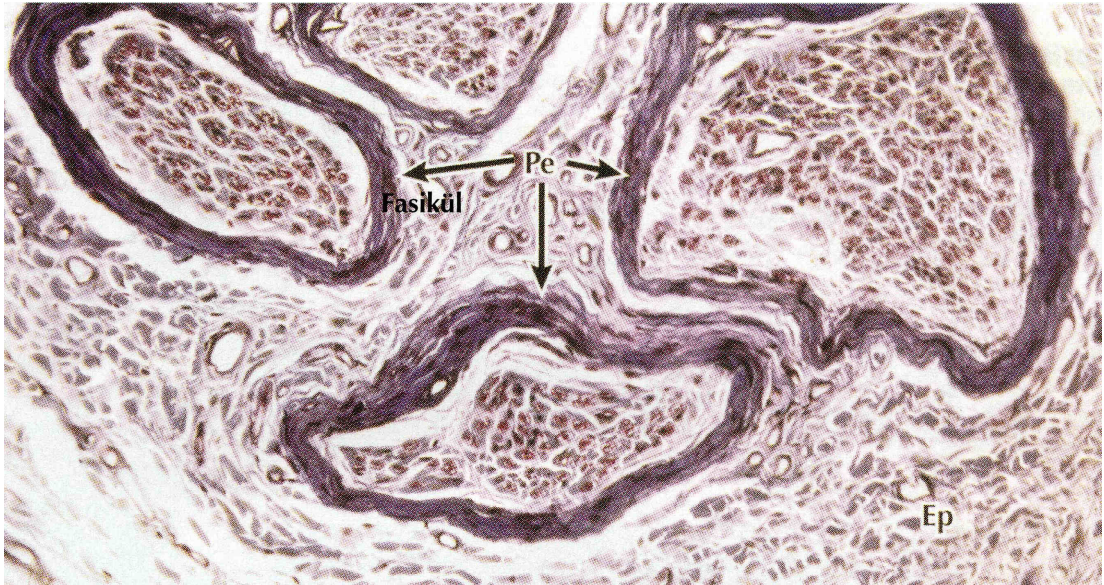
Periferik sinir sisteminin başlıca destek hücresi olan Schwann hücreleri, miyelinli veya miyelinsiz tüm sinir liflerini sarar (Şekil 2.2). Miyelinli liflerde, var olan elektriksel izolasyon ve sinir impulslarının Ranvier boğumları arasında atlayarak iletilmesi nedeniyle, sinir iletimi daha hızlı sağlanır⁹. Sinir iletiminin hızıyla akson çapı ve miyelin kılıfın kalınlığı (konsantrik halka sayısı) arasında direk ilişki vardır. Miyelinli sinir liflerinde ileti hızı 5-100m/sn arasında iken ve miyelinsiz sinir liflerinde bu rakam 0,2-2 m/sn hızına düşmektedir. Schwann hücrelerinin sinir fibriliyle ilişkisi miyelinli ve miyelinsiz liflerde farklıdır. Schwann hücresi miyelinsiz bir sinir fibrilinde 20'nin üzerinde lifi çevrelerken bu rakam miyelinli liflerde bire düşmektedir. Schwann hücresi dışarıdan bir bazal laminayla sınırlandırılmıştır⁸.



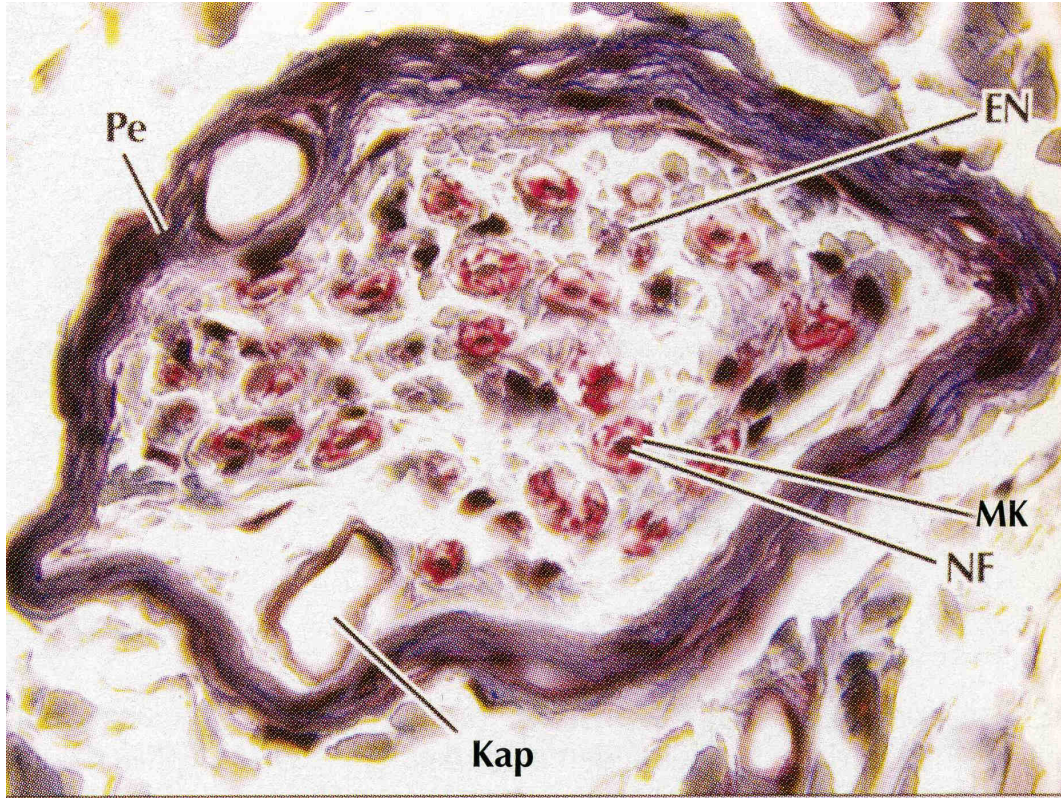
Şekil 2.2. Periferik sinirin yapısı¹⁰.

2.2.2. Bağ Dokusu Elemanları:

Sinir lifleri, bol miktarda kollajen ve kan damarı barındıran, elastinden fakir endonörium tabakası tarafından sarılmıştır (Şekil 2.2). Sinir liflerinin kümeleşmesi ile oluşan fasiküller, kollajen ve elastin içeren perinörium tarafından sarılır. Santral sinir sisteminde suda çözünen maddelerin serebral parankime geçişini kısıtlayan ve serebral kapiller endotelial hücreler arasında bulunan kan beyin bariyerinin devamı, periferik sinir sisteminde perinöriumun olarak kabul edilir. Perinöriumun iç tabakası ile endonöriumun endotelial hücreleri iç ve dış basınçlar ile longitudinal gerilime karşı temel dayanaktır¹¹⁻¹². Bu kan sinir bariyeri, endonöral ortam için immünolojik kalkan vazifesi görmekle beraber homeostaz sağlanması ile de görevlidir¹³⁻¹⁴. Endonöral ya da perinöral boşluklarda herhangi bir lenfatik akım söz konusu olmadığı için enfeksiyon varlığında perinörium güçlü bir bariyer görevi görür^{13, 15} (Şekil 2.3-2.4).



Şekil 2.3. Periferik sinirin ışık mikroskopunda enine kesit görüntüsü. Ep: Epinörium Pe: Perinörium⁸ Masson Trichrome x200.



Şekil 2.4. Sinir fibrilinin görüntüsü. Pe:Perinörium, En:Endonörium, NF:Sinir Fibrili, MK: Miyelin Kılıf, Kap: Kapiller⁸ Masson Trichrome x465.

Fasiküller periferik sinirlerde 3 farklı tipte bulunurlar. Bunlar tüm sinirin tek bir fasikül tarafından oluşturulduğu monofasiküler tip, birkaç fasikülün siniri oluşturduğu oligofasiküler ve çok miktarda fasikülün oluşturduğu polifasiküler tiplerdir¹⁶. Epinörium ise 2 tabakadan oluşmaktadır. Sinirin tüm fasiküllerini saran epinörium eksternal epinörium, fasiküller arası bağ dokusu ise internal epinörium olarak adlandırılır. Son katman ise segmental kan damarlarını barındıran ve anatomik planlar arasında sinirin kaymasına olanak veren mezonörium tabakasıdır. Her ne kadar varlığı literatürde tartışma konusu olsa bile günümüzde birçok yazar tarafından kabul edilmiştir¹⁷⁻²⁰. Mezonörium içinde bulunan vasa nervorumlar sinire giden kan miktarını, etkisi altında oldukları sempatik sinir sisteminin uyarıları ile ayarlarlar²¹.

2.3. Periferik Sinir Dolaşımı

1768 yılında Isenflamm ve Doerffler vasa nervorumlarla ilgili ilk yayını yaptıklarından beri sinirlerin dolaşımı ile ilgili literatürde bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir²². Quenu ve Lejars sinir dolaşımı ile ilgili detaylı çalışmalarda bulunmuşlar ve bir ekstremitenin major arteriyel dolaşımlarından biri zarar gördüğünde, sinirin üzerindeki ve içindeki vasküler anastomozların tüm ekstremitayı kanlandıracak kollateral gelişimine temel olduğunu göstermişlerdir²³. Sunderland, 1945’de periferik sinirlerin tüm uzunlukları boyunca, içlerindeki vasküler yapıların dallanmaları ve birbirleri ile anastomoz yapmaları nedeni ile iyi gelişmiş birer vasküler ağa sahip olduklarını belirtmiştir^{19, 24-25}.

Özellikle 2. Dünya savaşından sonra doğan ihtiyaçtan ötürü sinir iyileşmesi ve dolaşımı üzerindeki çalışmalar tekrar hızlanmış ve 1950 yılında Strange tarafından pediküllü sinir flebi tariflenmiştir. 1976’da mikrocerrahinin gelişmesi ile Taylor ve Ham serbest vaskülerize sinir flebini tariflemişlerdir²⁶.

Periferik sinirlerin dolaşımı ekstrensik ve intrensik olmak üzere 2’ye ayrılır²⁷. Epinöriyumun dışında kalan tüm damarlar ekstrensik sistemi oluştururken, epinöriyumun içinde kalan damarlar intrensik sistemi oluştururlar. Ekstrensik sistem besleyici sistem olarak çalışır ve intrensik sisteme akışı sağlar. İntrensik sistem ise hücre metabolizması ve fonksiyonlarından sorumludur. Vasa nervorumlar eksternal sistemden köken alıp internal sistemde sonlanırlar²⁴. Terzis sinirin bu besleyici damarlarını hem ekstrensik hem intrensik diye sınıflamıştır²⁸. Dominant pedikül mikrocerrahi ile transfer edilebilecek kadar kalın ($\geq 0.8\text{mm}$) ve sinir boyunca belli bir mesafe kat eden damar olarak tanımlanmıştır²⁸⁻²⁹. Kalan kısım ise serbest segment olarak adlandırılır.

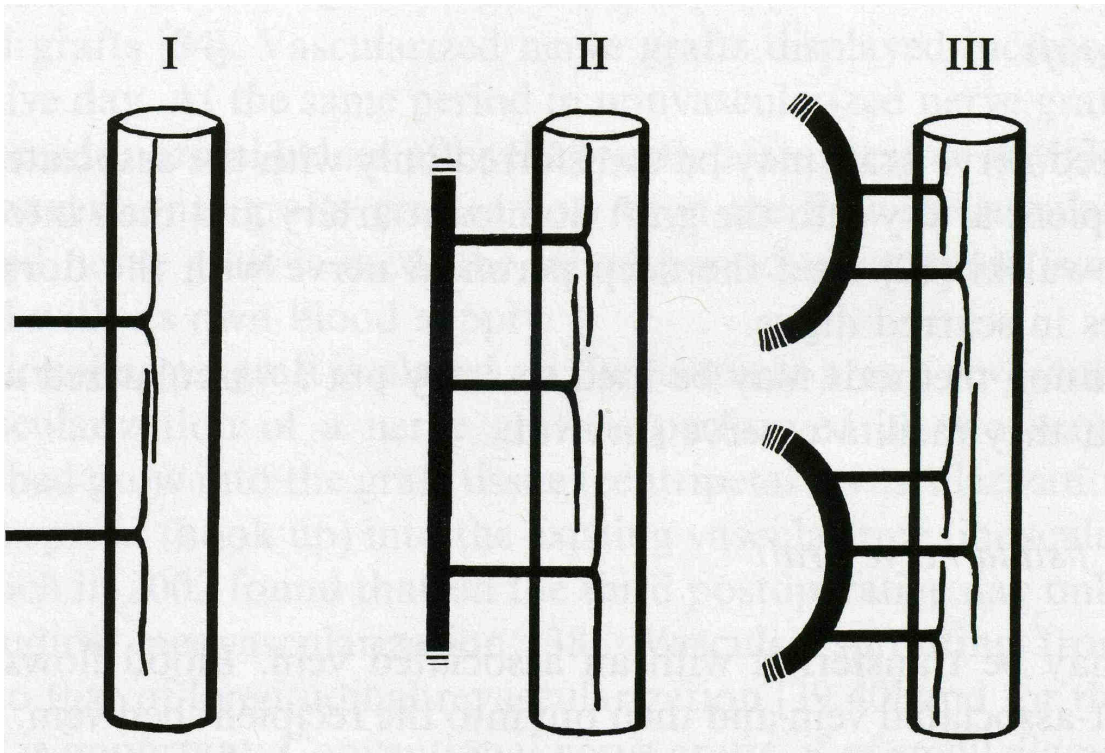
Periferik sinirin dolaşımı kas ya da fasya fleplerine benzer şekilde Breidenbach ve Terzis sınıflamasına göre 3’e ayrılabilir²⁸⁻²⁹.

Tip 1 de dominant pedikül bulunmamaktadır. Sinirin dolaşımı intrensik

sitemden ya da muskulo-kutanöz ya da faysa-kutanöz perforatörlerden direk sinire giren damarlar sayesinde olmaktadır. Bu tip sinirlerde sinir boyunca eşlik eden damar yoktur. Medial brakial kutanöz sinir ile femoral kutanöz sinirler bu gruba örnektirler.

Tip 2 de bir dominant pedikül vardır. Superfisiel radial sinir (*a.radialis*) ve sural sinir (*a.suralis superficialis*) bu gruba örnek olarak verilebilir.

Tip 3 sinirlerde birden fazla dominant pedikül söz konusudur. Tip 3 sinirlerin en tipik örneği ise ulnar sinirdir (*a.ulnaris* ve *a.collateralis ulnaris superficialis*) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Periferik sinirin Breidenbach ve Terzis sınıflaması³⁰.

Taylor ve Palmer'in anjiozom teorisine göre tüm vücut belirli arterler tarafından beslenen üç boyutlu doku bloklarından oluşmaktadır³¹. Sinirlerin arterlerle olan ilişkilerini de araştıran Taylor sinirleri, sinirin ve eşlik eden arterlerin dallanıp

dallanmamasına göre 5 tipe ayırmıştır^{26, 32-34} (Şekil 2.6). İdeal olarak serbest transferi düşünülen sinirin yapısı tip A, B ya da C olmalıdır³².

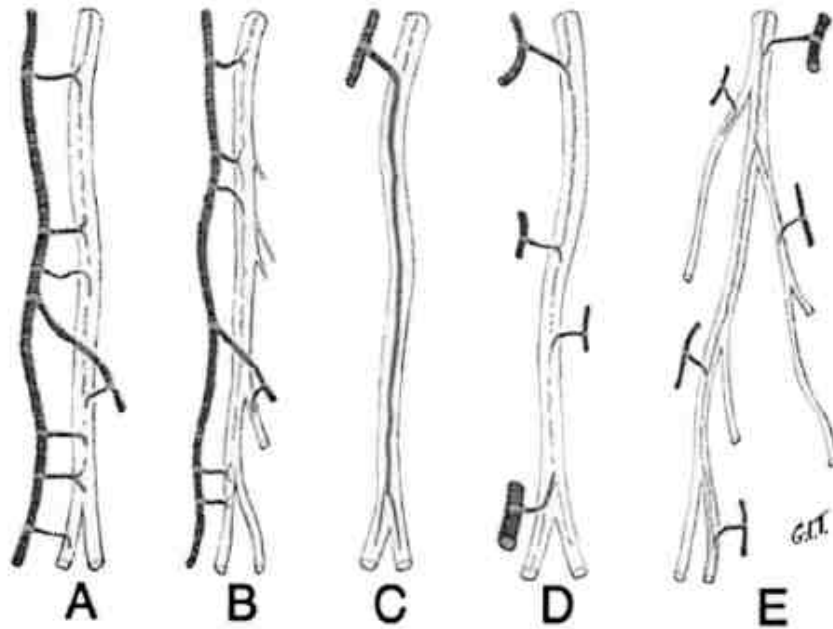
Tip A: Dallanma göstermeyen sinire eşlik eden tek bir arter ve segmental beslenme,

Tip B: Tip A ile benzer yapı olmakla beraber sinirde dallanma vardır,

Tip C: Seyri sırasında dallanma göstermeyen sinirin üzerinde tek bir arter,

Tip D: Dallanma göstermeyen sinirin farklı kaynaklardan segmental beslenmesi,

Tip E: Dallanma gösteren sinire farklı kaynaklardan segmental kan akımı olmasıdır^{32, 35}.



Şekil 2.6. Taylor'ın periferik sinirleri arteriel dolaşım ve dallanmalarına göre sınıflaması³².

Bu sınıflamaya göre siyatik sinir tip B olarak kabul edilirken bazen tip C yapısı da

görülebilmektedir³².

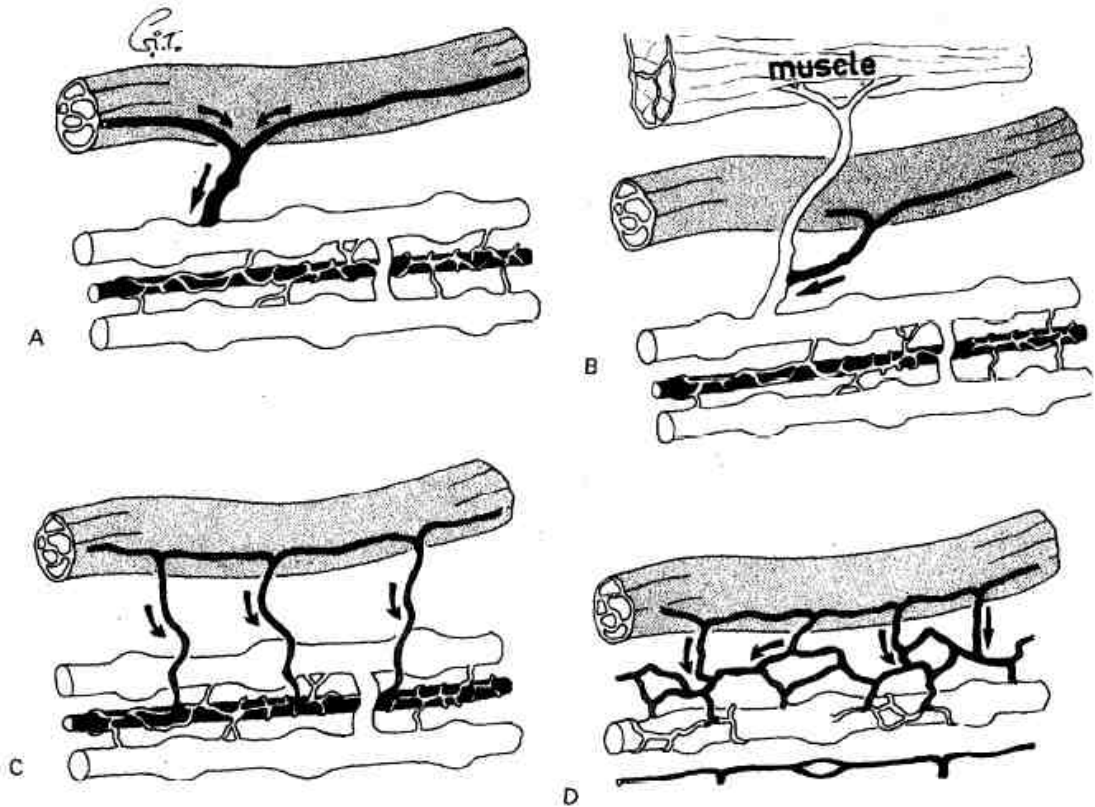
Pinal ve Taylor sinirlerin venöz drenajı üzerine yaptıkları çalışmada sinirleri 4 tip olarak tanımlamışlardır³⁵ (Şekil 2.7). Buna göre;

Tip A: Vena nervorumlar direk olarak sinirin vena komitanlarına drene olur,

Tip B: Vena nervorumlar musküler bir ven aracılığı ile indirek olarak drene olur,

Tip C: Vena nervorumlar periarteriel venöz pleksusa drene olurlar,

Tip D: Vena nervorumlar perivenöz venöz pleksusa drene olurlar.

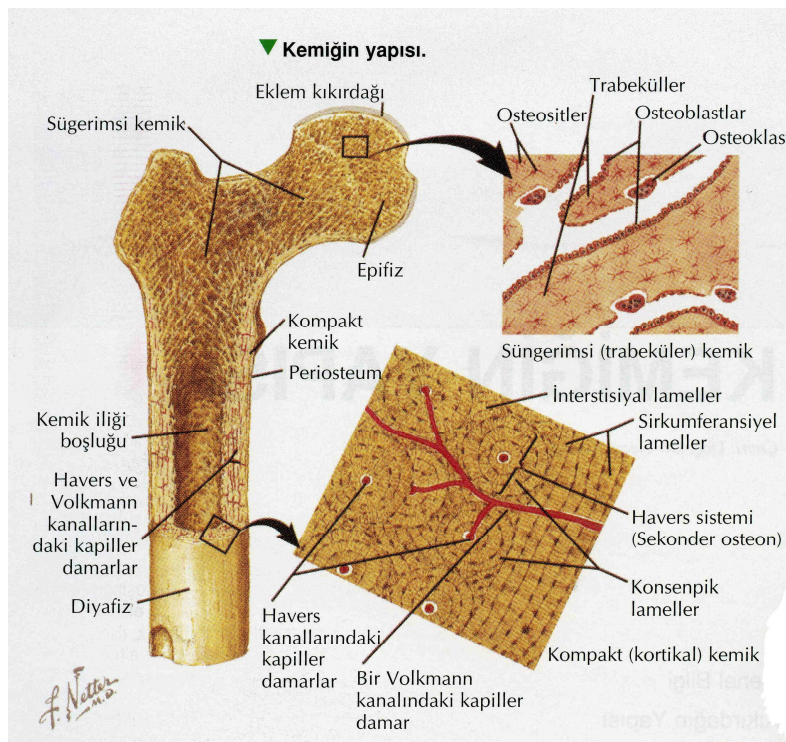


Şekil 2.7. Pinal ve Taylor'ın periferik sinirleri venöz dolaşımlarına göre sınıflandırması³⁵.

Siyatik sinir baldır bölgesinde derin sistemin perforatörlerine drene olurken diz bölgesinde direk popliteal vene, bacak bölgesinde ise anterior ve posterior tibial sinirlere eşlik eden arterlerin etraflarındaki pleksuslara ya da musküler venlere drene olurlar³⁵.

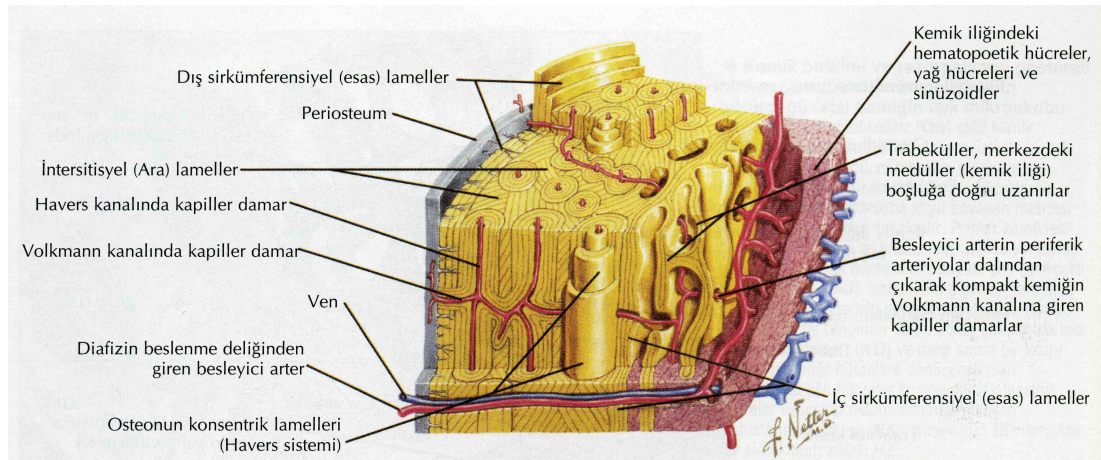
2.4. Kemik Anatomisi:

Kemik insan vücuduna yapısal destek veren ve aynı zamanda iç organları koruyan kompleks bir organ sistemidir. İnsan iskeleti embriyolojik olarak iki ayrı kemik tipinden oluşmuştur. Enkondral kemikler, kıkırdak öncünün kemikleşmesi ile oluşurken, membranöz kemikler mezenkimal öncülerin direk ossifikasyonu ile oluşur. Enkondral kemiklere örnek apendiküler iskeletin uzun tübüler kemikleridir. Membranöz kemikler ise aksial ve kraniofasiyal iskelette bulunurlar. Tüm kemiklerin kortikal ve kansellöz komponentleri vardır. Kemğin kortikal, ya da düzgün ve daha güçlü dış yüzeyi yapısal destek sağlar. Bu kemik dokusu lamellar bir yapı gösterir ve lakünlerin içinde osteositleri barındırır. Havers kanalları besleyici damarları içerirler ve Volkmann kanallarının içerisinde yer alan, kemik iliği ile periost arası uzanan damarlarla anastomoz yaparlar. Her Havers kanalını saran lakün kemiğin temel ünitesi olup osteon ya da Havers sistemi olarak bilinir³⁶ (Şekil 2.8-2.9).



Şekil 2.8. Kemğin yapısı³⁷.

Kortikal kemiğin dış yüzü periost ile kaplı olup, iki katlı bu membran kırık iyileşmesi ve anjiogenezde önemli role sahiptir. Dış katman fibröz yapıda olup fibrositleri andıran düz hücreler içerir. İç katman kemik hücre öncülerini içerir ve bol sitoplazmalı yuvarlak hücrelerden oluşur. Kortikal kemiğin iç yüzü endosteum denilen fibröz bir örtü ile kaplıdır. Görevi tam olarak bilinmemekle beraber kemik iyileşmesinde rolü olduğu düşünülmektedir. Kortikal kemiğin içindeki kavitede, kansellöz kemik ve kemik iliği bulunur. Kortikal kemik ve kemik iliği için destek vazifesi gören kansellöz kemik, değişik kalınlıklarda trabeküller kemikten oluşmuş olup en kalın yerlerinde olgun osteonları barındırır³⁶ (Şekil 2.8–2.9).



Şekil 2.9. Volkmann kanalları ve Havers Sistemi³⁷.

Uzun kemiklerin orta bölümü diafiz (diaphysis), iki uç bölümü epifiz (epiphysis), bunların arasında kalan kısa bölüme ise metafiz (metaphysis) denir³⁸.

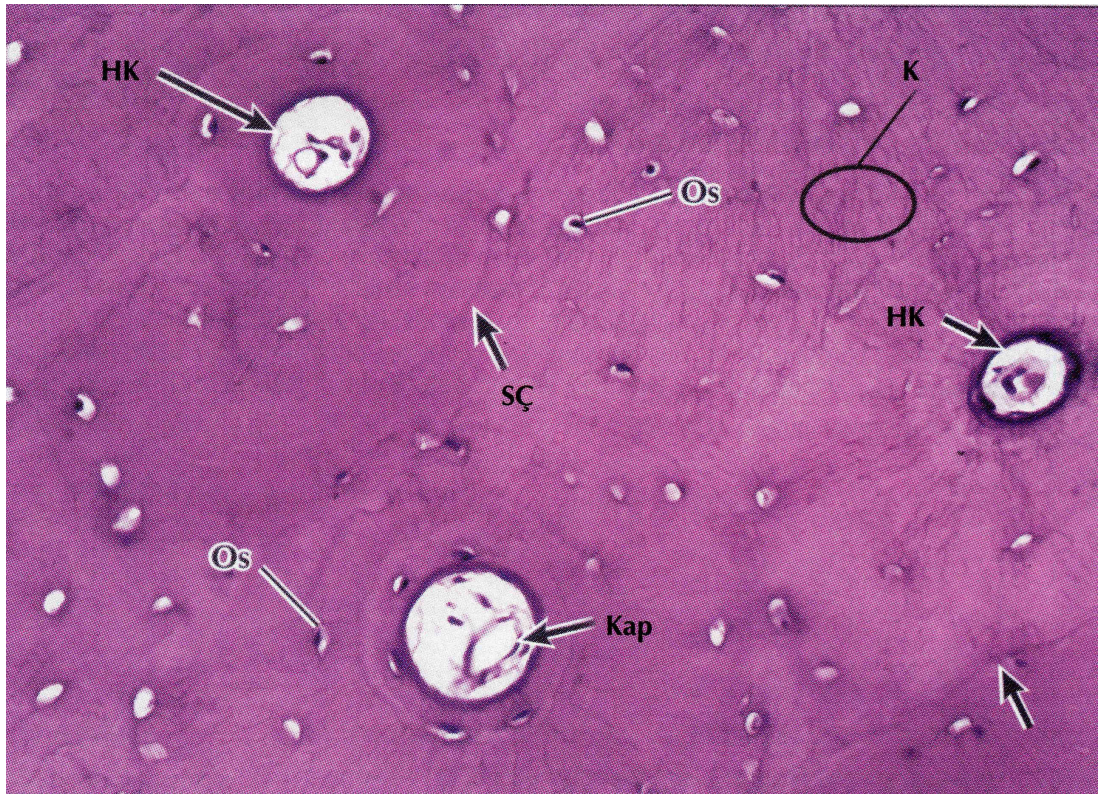
2.5. Kemik Histolojisi:

Olgun lamellar kemik yaklaşık %93 katı maddeden, %7 sudan oluşur³⁹. Solid komponent organik ve inorganik olarak ikiye ayrılabilir. İnorganik komponent tüm kemik ağırlığının %70'ini oluşturur ve temel maddesi kalsiyum-fosfattır. Organik komponent ise hücreler ve ekstraselüler matriksten oluşur. Kemik oluşmasında ve yeniden şekillenmesinde temel görevi olan üç hücre tipi, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar, organik komponentin hücresel bileşenini oluştururlar³⁶.

Tip I kollajen ile osteopontin, osteokalsin gibi kollajen olmayan glikoproteinlerden meydana gelen osteoidi sentezleyen ve salgılayan polarize olmuş

hücelere osteoblast denir. Aynı zamanda, mineralizasyonu artıran bir hücre yüzey proteini olan alkalen fosfataz da bu hücelere tarafından üretilir. Osteoblastlar, paratiroid hormon, östrojen ve progesteron için reseptörlere sahiptir³⁷.

Osteositler, kemiğin olgun hücreleridir ve çekirdek sitoplazma oranları yüksektir. Lakünalar içerisinde ekstraselüler sıvılarıyla birlikte yer alırlar. Osteositler mineralize matriks içerisindeki kanaliküllere doğru çok sayıda sitoplazmik uzantı gönderir. Kanaliküller içindeki ekstraselüler sıvı, bazı moleküllerin, oksijenin ve besin maddelerinin difüzyon ile taşınmasına izin verir. Ayrıca kemik matriksin devamlılığı osteositler tarafından sağlanır. Osteolitik osteolizis adı verilen bir işlemle, kalsiyum iyonları ve diğer minerallerin ekstraselüler sıvıyla değiş tokuşunda yer alırlar³⁷ (Şekil 2.10).



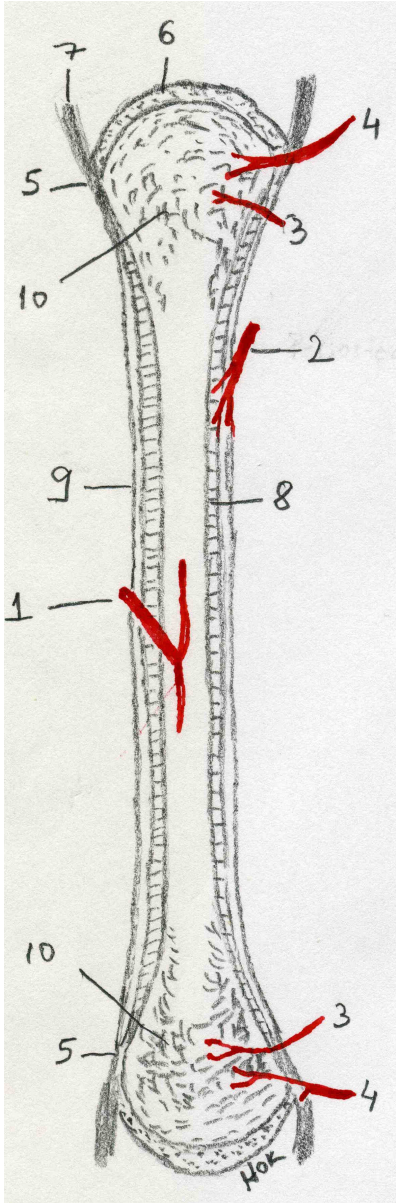
Şekil 2.10. Dekalsifiye kompakt kemiğin ışık mikroskobu görüntüsü. HK: Havers kanalı, Kap: Kapiller, Os: Osteosit, SÇ: Sement Çizgileri (Osteonların Sınırı), K:Kanaliküller Hematoksilen-Eozinx240³⁷.

Çok çekirdekli dev hücreler olan osteoklastlar aktif olarak kemik rezorpsiyonu yaparlar. Matriksteki inorganik mineraller H^+ iyonlarının ekstraselüler ortama salınması ile çözünür. Organik matriks bileşenleri ise lizozomların salgıladığı, aralarında kollajenazın da bulunduğu hidrolitik enzimlerin ortama salgılanması ile yıkılırlar. Parçalanmış kollajen lifleri ve kalsiyum tuzu kristalleri hücre içine alınarak dolaşıma geçmek üzere ekstraselüler sıvıya verilir³⁷.

2.6. Kemik Dolaşım:

Kemik, kardiyak atımın %10 ila 20'sini alan, zengin vasküler ağa sahip bir organdır. Kan damarları kemik iliği içeren alanlarda daha fazla yoğunlaşmaktadır. Temel olarak kan akımı 3 mekanizma ile olur⁴⁰⁻⁴² (Şekil 2.11).

1. Meduller Sistem; diafiz primer kan akımını sağlar ve besleyici arterden köken alır. Bir ya da iki diafizel besleyici arter ilk olarak kortikal kemiği oblik olarak geçer. Daha sonra çıkan ve inen dallarına ayrılan bu arterler iç 2/3 korteks ile meduller kaviteyi beslerler³⁶.
2. Metafiziyel ve Epifiziyel Sistem; Metafiziyel sistem, proksimal ve distal metafizlerdeki kansellöz kemiğin dominant kan akımını sağlarken epifiziyel sistem aynı bölgelerin epifiziyel kan akımını sağlar. Damarlar temel olarak komşu eklemlerin dolaşımını sağlayan arterlerden köken alırlar ve diafiziyel kapillerlerle anastomoz yapıp kemik iliği, kortikal kemik, trabeküler kemik ve eklem kıkırdağında sonlanırlar. Büyüyen kemiklerde bu sistemler epifiz plağı ile birbirlerinden ayrılmıştır³⁶.
3. Periosteal Sistem; Dış 1/3'lük korteksin beslenmesinde temel rolü olan periosteal sistem aynı zamanda fasyal ve tendinöz bağlantıların olduğu bölgeleri de besler³⁶.



Şekil 2.11. Kemik dolaşımı. 1.Besleyici arter (Diafiziyel sistem), 2. Periosteal sistem, 3. Metafiziyel damar, 4. Epifiziyel damar, 5. Epifiz plâğının hizası, 6.Eklem kıkırdağı, 7. Eklem kapsülü, 8. Kortikal kemik, 9. Periost, 10. Kansellöz kemik

Venöz sistem genellikle arteriel akıma eşlik eder ve sıklıkla kemiklerin eklem yüzlerine yakın foraminalardan kemiği terk eder. Arteriel (afferent sistem) sistem ile venöz (efferent sistem) sistem arası anastomozlar sıklıkla kemik iliği sinüsoidlerinde veya Havers kanalı arteriollerinde gerçekleşir³⁶. Bu nedenle olgun kemikte yumuşak dokudakine benzer kapiller yataklar yoktur⁴³. Kan ve intertisiyel sıvının primer akım yönü merkezden dışarı doğru olmakla beraber, bu endosteumdan periosteuma doğru, kapiller basınca benzer bir basınç farkı ile olur⁴⁴⁻⁴⁵. Lenfatik sistem ise periostta oldukça gelişmiştir.

2.7. Kemik Neovaskülarizasyonu:

Kemik gelişiminde ve kırık iyileşmesinde neovaskülarizasyonun önemli bir yeri olmasına rağmen detayları halen aydınlatılamamıştır. Kesin olan şudur ki anjiogenetik sitokinler bu mekanizmaların en temel taşlarıdır. Bu kavram ilk olarak 1963 yılında Trueta tarafından ortaya atılmıştır⁴⁶. Direkt etkili sitokinler; vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2)'dir. Öte yandan yeni damar oluşumu, inflamatuvar sitokinler, indirek ve direkt etkili anjiogenik faktörler, anjiogenez inhibitör faktörleri ve lokal çevre arasındaki kompleks etkileşim sonucunda olmaktadır³⁶.

VEGF, dimerik heparin bağlayan bir glikoprotein olup yeni damar oluşan alanlarda yüksek miktarlarda sentezlenir ve endotelial hücre mitozu için en güçlü uyandır⁴⁷. VEGF'nin fare genomundan silinmesi, damarsal gelişim gerçekleşmeyeceği için hayatta bağdaşmaz. VEGF'nin temel fizyolojik etkileri; vasküler geçirgenliğin artması, damarsal tomurcuklanmayı sağlayan yıkıcı enzimlerin ekspresyonunu ve aktivitesini arttırması, endotelial hücre migrasyonunun ve adezyonunun düzenlenmesini sağlayan moleküllerin sayısını arttırmasıdır⁴⁸⁻⁴⁹. Ayrıca VEGF'nin biyolojik etkileri diğer direkt ve indirek etkili sitokinlerle sinerjistikdir. VEGF'nin intraselüler sinyal mekanizması VEGF-R1 (diğer adıyla Flt-1) ve VEGF-R2 (diğer adıyla Flk-1) denilen iki tirozin kinaz yüzey reseptörü ile sağlanır⁴⁹.

Vasküler yaralanma ve vazokonstrüksiyona sekonder doku hipoksisinin, anjiogenez ve kırık iyileşmesi sırasında yeni kemik oluşumuna olumlu etkisi vardır. Bu hipotezin temeli hipoksinin osteoblastlar tarafından üretilen VEGF için bilinen en güçlü uyaran olmasıdır⁵⁰. Öte yandan geçici hipoksi anjiogenez ve osteogenez üzerine olumlu etkilere sahipken, devamlı ya da kronik hipoksi neovaskülarizasyonu azaltır⁵¹. Spector ve arkadaşları pH ve laktat konsantrasyonunun kemik dokusunda VEGF üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve asidik ortamın VEGF üzerine, normoksik ve hipoksik ortamlarda negatif etkisi olduğunu göstermişlerdir⁵²⁻⁵³.

FGF-2 gelişim ve yaralanma sırasında, endotelial hücre migrasyonunu, proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu indükleyici heparin bağlayıcı bir büyüme faktörüdür⁵⁴⁻⁵⁵. FGF-2 aracılığındaki anjiogenez VEGF bağımlı olup, osteoblastlar

tarafından VEGF ekspresyonu da FGF-2 bağımlıdır⁵⁶⁻⁵⁷. Osteoblastlar tarafından üretilen FGF-2 kemik ekstraselüler matriksinde bol miktarda olup, yeni oluşan damarların endotelial hücreleri, epifiziyel büyüme plağının çoğalan kondrositleri ve osteoblastlar için uyarıcıdır⁵⁸⁻⁶⁰.

Neovaskülarizasyonun indirek düzenleyici büyüme faktörleri ise, *Bone Morphogenic Protein* (BMP), *Transforming Growth Factor-β* (TGF- β) ve *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF)'dür³⁶.

2.8. Prefabrikasyon ve Prelaminasyon:

Prefabrikasyon, ilk tarif edildiği şekli ile daha sonraki aşamada transpoze ya da transplante edilecek yapılara yeni ve dominant bir vasküler pedikül sağlanmasıdır⁶¹⁻⁶³. Sık uygulanan şekli ile uygun bir arter ve ven, planlanan flep bölgesinde fasya içine ya da subkutan dokuya gömülür. Ortalama 6 hafta sonra yeni vasküler pedikülü üzerinden flep kaldırılabilir. Bu yöntem rekonstrüksiyon için tercih edilen dokunun pratik olarak klasik yöntemlerle transfer edilemediği durumlarda kullanılır. Pribaz ve Yao'nun tanımladığı şekli ile prefabrikasyon, transfer öncesi vasküler pedikülün rekonstrüksiyon için kullanılacak dokuya aşılmasını tarif ederken, prelaminasyon kalan tüm dokuların transfer öncesi rekonstrüksiyon için kullanılacak dokuya aşılmasını tarif etmektedir^{61, 64}. Bu tanımdan farklı olarak Khouri ve arkadaşlarının 1992 yılında yayınladıkları makalede, prelaminasyon prefabrikasyonun bir alt tipi olarak kabul edilmiş ve prefabrikasyon; cerrahi geciktirme (*delay*), doku genişletici kullanımı, greftleme (prelaminasyon), aşamalı transfer ile vasküler indüksiyon, alloplastik madde kullanımı ve doku mühendisliği olarak 5 tipe ayrılmıştır¹. Günümüzde her iki tanım da literatürde kullanılmaktadır.

Vasküler prefabrikasyon kavramının temelleri Beck ve Tichy'nin 1930'larda yaptıkları çalışmalara dayanmaktadır⁶⁵. Araştırmacılar kalp yetmezliğinde pektoral kası epikardiyumun üzerine taşıyarak myokardial doku perfüzyonunu desteklemeye çalışmışlardır. 1946 yılında Vinberg internal mamarial arterleri koroner arterlerin yanına taşıyarak bu yapılar arasında spontan kollateralizasyon geliştiğini göstermiştir⁶⁶. Diller ve arkadaşları köpekler üzerinde yaptıkları deneyde mezenter damar

pediküllü bir ileum segmentinin tam kat cilt greftini besleyebileceğini göstermişlerdir⁶⁷. Washio bu modeli geliştirerek ileum segmentinin iç yüz mukozasını soyduktan sonra karın derisinin altına yerleştirerek deneysel bir flep modeli tariflemiştir⁶⁸. Erol ve Spira 1980 yılında yaptığı deneysel çalışmada vasküler taşıyıcı olarak omentum kullanmış ve oluşturdukları ada flebini mikrocerrahi ile serbest doku olarak nakledebilmişlerdir⁶⁹. 1981 yılında Yao cilt flebini vasküler taşıyıcı ile prefabrike etmiş ve bunu klinikte de uygulamıştır⁷⁰. Ancak vasküler taşıyıcı kullanımının klinikteki ilk örneği Orticochea'nın yüzeysel temporal damarları kullanarak kulak arkasında flep prefabrike etmesi ve bu flep ile burun rekonstrüksiyonu gerçekleştirmesidir⁷¹. İlk prefabrike serbest flep ise 1982 yılında Yao tarafından serbest medial uyluk flebi olarak gerçekleştirilmiştir⁶¹. 1980 ve 1990 yılları arasında vasküler taşıyıcı kullanımı ile flep prefabrikasyonu oldukça popülerlik kazanmıştır. Bu yöntemle Hirase ve arkadaşları tarafından kas, kemik ve yağ dokusu prefabrikasyonları başarı ile yapılmıştır⁷²⁻⁷⁸.

Deneysel ortamda en sık damarsal taşıyıcı modeli olarak kullanılan yapı, çevrelerinde ince bir kas kılıfı ile diseke edilen femoral-safen damar veya damar-sinir demetidir. Damarsal taşıyıcı olarak diseke edilen bu uzun pedikül karın bölgesine ve sırtta taşınabilmektedir. Damarların etrafında bırakılan 1–2 mm.'lik kas kılıfı, diseksiyon sırasında ve sonrasında bir güvenlik bölgesi olmakta ve pedikülün altına yabancı cisim yerleştirilmesi durumunda bile damarları korumaktadır⁷⁹.

Flep prelaminasyonunun tarihi daha eski olmakla beraber ilk örnek 1900'lü yılların başlarına Nelaton'un kıkırdak greftlerini alın flebine, transfer öncesi aşılamaşınadır⁸⁰⁻⁸¹. Gilles tarafından da prelaminasyon uygulanarak benzer kullanım alanları gösterilmiştir⁸². Furnas 1987 yılında temporal faysa flebini cilt grefti ve parietal kemik ile prelamine ederek geniş yarık damaklı hastalarda başarı ile kullanmıştır⁸³. 1976 yılında köpeklerin femoral damarları üzerine yerleştirdiği greftler vaskülerize olunca bu dokunun femoral damarlar üzerinde flep gibi kullanılabilceğini gösteren Erol, klinikte de temporal faysa flebini greftleyip yüz rekonstrüksiyonunda "sekonder flep" olarak kullanmıştır⁸⁴. 1990'lı yıllarda doku mühendisliğinin de gelişmesi ile prelaminasyon yeni bir boyut kazanmıştır. Khouri¹ ve arkadaşları osteoindüktif proteinlerle kas dokusunda yeni kemik oluşturmuşlar,

Sakata⁸⁵ ve Vacanti⁸⁶ deneysel olarak sentetik iskelet üzerinde kondrosit nakli ile trakea, Cao⁸⁷ ise kulak oluşturmaya başarmıştır. Son yıllarda prelaminasyonun en sık kullanıldığı alanların başında yüz bölgesi gelmekle beraber, radial önkol flebini cilt ve kıkırdak ile prelamine ederek oldukça başarılı burun rekonstrüksiyonu sonuçları tariflenmiştir^{80-81, 88-89}.

2.9. “Delay” Cerrahi Geciktirme:

Vasküler geciktirme plastik cerrahların yüzlerce yıldır uyguladığı bir tekniktir. 15. yüzyılda Viano ailesi burun rekonstrüksiyonunda kullanılacak tek pediküllü kol flebinin altına 1 ay öncesinden steril keten koyarak geciktirme işlemi uygulamışlardır⁹⁰. Bu kavram daha sonra 16. yüzyılda Gaspar Tagliacozzi tarafından kol flebinin geciktirilmesinde kullanılmış olup⁹¹, tekniğin daha detaylı tanımı 19. yüzyılda Hamilton tarafından yapılmıştır⁹². Gilles tüp pedikül flep tariflerinde de cerrahi geciktirmenin öneminden bahsetmiştir⁹³. Yüzlerce yıl kullanılmasına rağmen geciktirme işlemi ile ilgili ilk deneysel çalışma 1965 yılında Milton tarafından yapılmıştır. Domuz modelinde 2 hafta geciktirilmiş ve tabandan serbestlenmiş bipedüküllü flebin, tabandan serbestlenmiş “U” şekilli tek pediküllü flebe göre daha fazla yaşadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada geciktirme için en uygun sürenin 2 hafta olduğu sonucuna varılmıştır⁹⁴. 1967 de Myer tarafından tavşanlarda yapılan bipedüküllü flep çalışmasında ise optimal sürenin 8-10 gün arasında olduğu belirtilmiştir⁹⁰.

Cerrahi geciktirmenin etkileri erken ve geç dönem olarak iki ana başlık altında incelenebilir.

2.9.1.Cerrahi Geciktirmenin Erken Etkileri:

Sempatik Tonusda Değişme: Flep kaldırılmasını takip eden en erken zamanda, hiperadrenarjik durumun, iskeminin temel nedeni olduğu düşünülmektedir. Bu durum, kesildikten sonra uçlarından noradrenalin salan sempatik sinirlerden kaynaklanmaktadır. Hiperadrenarjik faz 30 saat kadar sürebilmekle beraber, prekapiller sfinkterlerde vazokonstrüksiyona ve sonuçta göreceli bir iskemiye neden olmaktadır⁹⁵. Hiperadrenarjik faza müteakiben flep kaldırıldığında sinirlerin

norepinefrin depoları boşaldığı için sonuç vazodilatasyon olmaktadır. Finseth ve Cutting tarafından yapılan çalışmalarda da sempatektomiye takiben kaldırılan fleplerin yaşamsallığının daha fazla olduğu görülmüştür⁹⁶⁻⁹⁷.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda, sinirin damarlarındaki kan akımının ayarlanması, siniri besleyen damarların çevresindeki perivasküler sinirler vasıtası ile olduğu gösterilmiştir. Sinirin kan akımının nörojenik uyarılarla değişiminin daha çok transperinöral arteriollerle olmasının sebebi, transperinöral arteriollerden sonra görülen postarterioller kapiller olan endonöral damarlarda tam bir kas yapısı bulunmamasındandır⁹⁸⁻⁹⁹. Epinöriyum ve perinöriyumdaki damarlarda adrenerjik sinir uçlarının varlığı bu damarların sempatik olarak inerve olduğunu gösterir¹⁰⁰. Perivasküler sinir ağı, damarların kanlanması sağladığı sinirden köken alır, yani sinirler kendi kan ihtiyaçlarını kendileri düzenlerler ve fonksiyonel ihtiyaçlarına göre kan akımını ayarlarlar¹⁰¹. Ayrıca noradrenerjik, seratinerjik, peptiderjik yolakların varlığı vasa nervorumların perivasküler ağlarının sadece sempatik değil, parasempatik ve somatik sistemlerce de inerve olduğunu gösterir. Vazoaktif intestinal peptid, 5-hidroksitriptamin ve P-maddesinin varlığı, tavşanların siyatik, vagus ve paravertebral sempatik sinirlerinde gösterilmiştir. Bu vazoaktif maddeler de sinirlerin kanlanmasında önemli role sahiptir^{94, 102-103}.

“Choke” Damarların Dilatasyonu ve Damarların Reorientasyonu: Geciktirme sonrası flep damarlarının sayısı ve boyutlarında değişme olduğu ve bu damarların uzun aks boyunca yönelim gösterdiği yapılan anatomik çalışmalarda gösterilmiştir. Taylor bu etkinin en fazla komşu vasküler alanların birbirlerine bağlandığı *choke* damarlarda olduğunu göstermiştir¹⁰⁴⁻¹⁰⁵. Bu değişimin 48–72 saat içerisinde en üst seviyesine ulaştığı belirtilmektedir¹⁰⁶.

Doku Metabolizmasında Erken Değişiklikler: Geçici iskemik önkoşullamanın fleplerin iskemiye karşı toleransını arttırdığı çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir¹⁰⁷. Bu sistem ilk olarak Murry tarafından köpek kalp modeli üzerinde 1986 da tariflenmiştir¹⁰⁸. İskemik ön koşullanma iskemi/reperfüzyon hasarına karşı bifazik mekanizma ile gerçekleşir, zira ilk aşama 2–3 saat süren güçlü başlangıç uyarını iken ikinci aşama 48–96 saat süren daha az güçlü uzamış uyarandır¹⁰⁹.

Adenosin, bradikinin, katekolaminler, opioidler ilk aşamanın temel mediyatörleri olmakla beraber ikinci aşama daha çok hücre fizyolojisinin değişmesine bağlıdır¹⁰⁷. Buna bağlı olarak ön koşullanmış dokularda enerji gereksinimi azalır, daha iyi bir elektrolit homeostazı oluşur, daha az aktif oksijen radikalleri bulunur, aktive nötrofillerin salınımı azalır ve daha iyi bir mikrosirkülasyon sağlanmış olur¹⁰⁷.

2.9.2. Cerrahi Geciktirmenin Geç Etkileri:

Doku Metabolizmasında Geç Değişiklikler: Geç değişiklikler temel olarak araşidonik asit metabolizmasındaki ürünlerin dengelenmesi ile ilgilidir. 14 günlük geciktirme sürecinin sonunda tromboksan üretiminde azalma ve prostaglandin E2 düzeyinde artma ile karakterizedir¹¹⁰.

Neovaskülarizasyon: Geciktirmeyi takiben dokuda anjiogenetik sitokinlerin (FGF¹¹¹, VEGF¹¹²) miktarları yükselir. Kemik iliği kaynaklı endotelyal progenitör hücreler, 72. saatte iskemik dokuda belirmeye başlarlar. Bu hücreler 21. günde fonksiyonel damarları oluşturmuş olurlar¹¹³. Literatürde anjiogenez başlangıcının ve *choke* damar genişlemesinin ilk bir haftada olması nedeni ile geciktirme işleminin 1 hafta yeterli olacağını savunan yazarlar^{90, 106, 114} olmakla beraber cerrahi geciktirmenin geç etkilerinden faydalanmak için en uygun sürenin en az 2 hafta olduğunu savunan yazarlar^{110, 115-118} da vardır.

2.10. Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi:

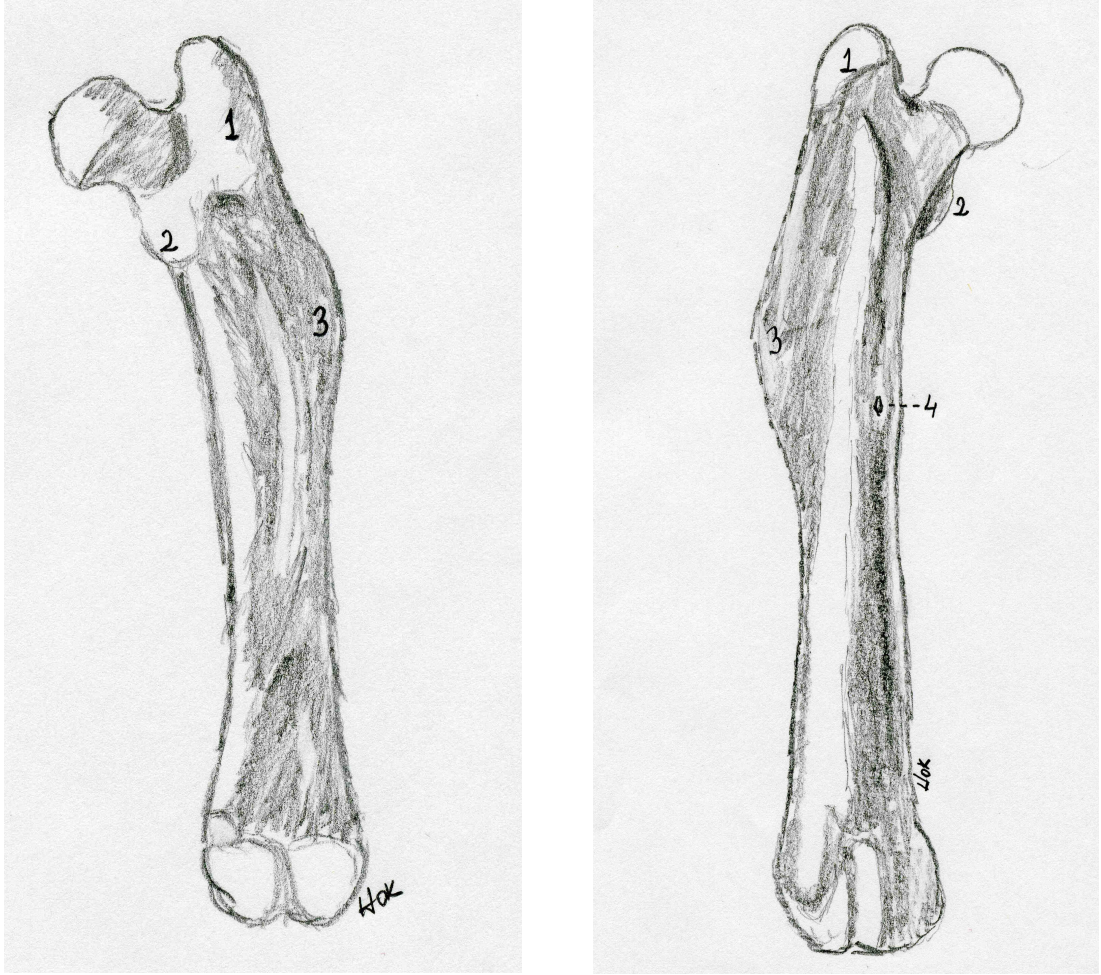
Dördüncüden altıncıya kadar olan lomber spinal sinirler birinci sakralden gelen dalların katılımıyla kalın bir lumbo-sakral trunkus ve daha aşağıdaki sakral sinirlerin de katılımıyla pudental pleksusları oluşturur. Lumbosakral pleksus dolaşımını sağlayan inferior gluteal arter ile beraber seyrederek siyatik siniri oluşturur. Pudental ve siyatik sinirler iskiyum dorsalindeki olukta, kuyruk köküne kadar birlikte seyrettikten sonra, siyatik sinir, siyatik çentikte uyluğa geçer, pudental sinir ise pelvis içinde ve daha derin planda kalır. Siyatik sinir pelvis içinde gluteus medius, gluteus profundus ve tensor fasya lata kaslarını inerve eden süperior gluteal

siniri ve bunun hemen arkasında da piriformis, obturator internus ve süperior gemellus kaslarını inerve eden inferior gluteal sinir dalını verir. Siyatik sinir siyatik insisurayı çaprazlayarak uyluğa geçerken önce kaudal yönde ilerleyip siyatik çıkıntı seviyesinde dallanarak bu bölge derisine dağılan posterior kutanöz sinir dalını verir. Bunun hemen altında ise m.gluteus süperfisiyalise giden n.gluteus inferior dalı siyatik sinirden ayrılır. Uyluğun yukarı bölümünde siyatik sinir iki ana dalı olan tibial ve ortak peroneal sinirlere ayrılarak sonlanır. Ortak peroneal sinir diz eklemine giden bir artiküler dal ve tensor fasya lata kasını delerek yüzeyleşen ve kruris derisinin duyusunu sağlayan sural dalını verir. Bundan sonra biceps femoris kası altında ilerleyen ortak peroneal sinir diz seviyesine ulaşır. Burada tarsal eklem fleksörlerine ve ayak parmaklarının uzun ekstensörlerine motor dallar verip yüzeysel ve derin peroneal sinirlere ayrılır. Yüzeysel peroneal sinir ekstensör digitorum longus ve peroneus brevis kasları arasından yüzeysel plana geçip ayak sırtına doğru ilerledikten sonra dört ortak dijital sinire ve parmak iç yüzlerindeki dijital sinir çiftlerine ayrılarak sonlanır. Derin peroneal sinir ise interosseöz membran boyunca ilerleyip tarsal eklem seviyesinde parmakların inervasyonuna katılır. Ancak bu sinirin ayrıntılı diseksiyonu ile tam dağılımını belirlemek zordur. Siyatik sinirin ikinci ana dalı tibial sinirdir. Tibial sinir en proksimalde kuadratus femoris, kaudofemoralis ve semitendinosus kaslarına giden motor dallarını verdikten sonra inferior kutanöz sural dal ve kalça eklemine giden bir artiküler dal verip gastroknemius kasının iki başı arasında ilerleyerek tarsal eklem ekstensörleri ve parmak uzun fleksörlerini inerve eder. Ayak bileği eklemi seviyesinde ise n. plantaris medialis ve lateralis dallarına ayrılıp bunlardan çıkan dallarla parmak aralıklarında sonlanır¹¹⁹.

2.11. Sıçan Femur Anatomisi:

Sıçan femur yapısı insan femur yapısına benzemekle beraber anatomik olarak bazı farklılıklar bulunmaktadır. Sıçanlarda, insanda olmayan 3.trokanter mevcuttur (Şekil 2.12). Femurun fleksör yüzünün alt ucunda, hemen kondillerin proksimalinde, triceps suraenin tendonu ile ilişkili sesamoid kemikler için 2 adet eklem yüzeyi bulunmaktadır. Ayrıca diz eklemindeki semilunar kıkırdaklar ossifiedir¹²⁰.

Geometri olarak Wistar sıçanların femur şekli SD sıçanlara göre insan femuru ile daha fazla benzerlik göstermektedir¹²¹.



Şekil 2.12. Sıçan femurunun fleksör (solda) ve ekstensör (sağda) yüzleri. 1. Trokanter major, 2. Trokanter minör, 3. Trokanter tertius, 4. Besleyici damarın giriş noktası

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Laboratuvarında, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Nükleer Tıp Ünitesi'nin desteği ile gerçekleştirildi. Hayvanların tüm cerrahi işlemleri, bakımları ve izlemleri bu laboratuvarında yapıldı. Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı (Karar numarası: 2008/76-7) .

Çalışmada 30 adet 300–350 gr. ağırlığında, erkek Wistar cinsi sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar standart çevresel koşullar sağlanacak şekilde, oda sıcaklığında, hareket alanları kafeslerle sınırlandırılarak ve her kafeste birer sıçan olacak şekilde barındırıldı. Beslenmelerinde standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanıldı. Çalışma yapılacak sıçanlara çalışmadan 6 saat önce sıvı ve yiyecek kısıtlaması yapıldı. Profilaktik antibiyoterapi uygulanmadı.

Çalışma, anatomik çalışma (n= 10) ve prefabrike nöro-osseöz flep çalışması (n=20) olmak üzere iki kısımdan oluşturuldu.

3.1. Anestezi

Tüm hayvanlarda anestezi intraperitoneal xylazine (10mg/kg-Rompun ®, Bayer, Türkiye) ve ketamin (30 mg/kg - Ketalar ®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) karışımı ile sağlandı. Anestezi derinliği ekstremite çekme yanıtı ile değerlendirildi. Deney devam ederken sıçanın idrar ve dışkı çıkarması durumunda uygulanan ketamin dozunun üçte bir oranı yeniden verilerek anestezinin devamı sağlandı.

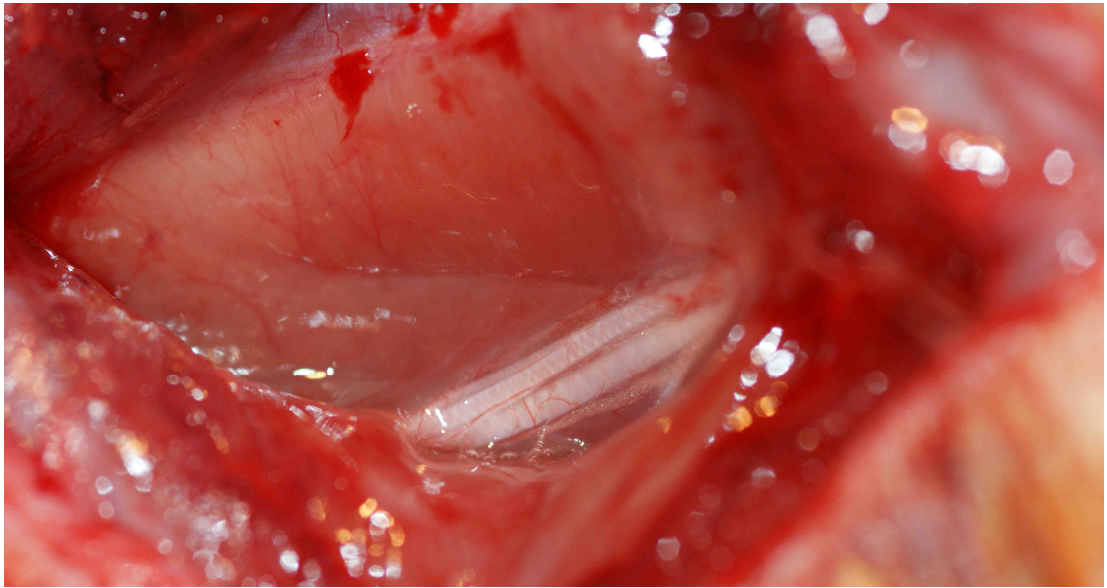
3.2. Anatomik Çalışma:

Anatomik çalışma için 10 adet sıçan kullanıldı. Bu sıçanlarda vasküler indüksiyon ile prefabrikasyon için uygun periferik sinirin araştırılması, sıçan siyatik

sinirinin anatomisi ile beslenme şekli ve prefabrikasyon için uygun kemiğin araştırılması yapıldı.

3.2.1. Vasküler İndüksiyon ile Prefabrikasyon İçin Uygun Periferik Sinirin Araştırılması:

Çalışmanın başlangıcında, flep prefabrikasyonunda kullanılması düşünülen sinirin belirlenmesi amacı ile anatomik diseksiyonlar gerçekleştirildi. Sıçanların brakial pleksusları, femoral sinirleri ve siyatik sinirleri diseke edildi (Şekil 3.1). Bu sinirlerin kalibrasyonları, rotasyon arkları ve komşu kemiklerle olabilecek ilişkileri değerlendirildi. Diseksiyonlar sırasında sinirin kurummasını engellemek için % 9'luk serum fizyolojik ile yıkama yapıldı. Perinöral damarları dilate etmek için lokal anestetik kullanılmadı.

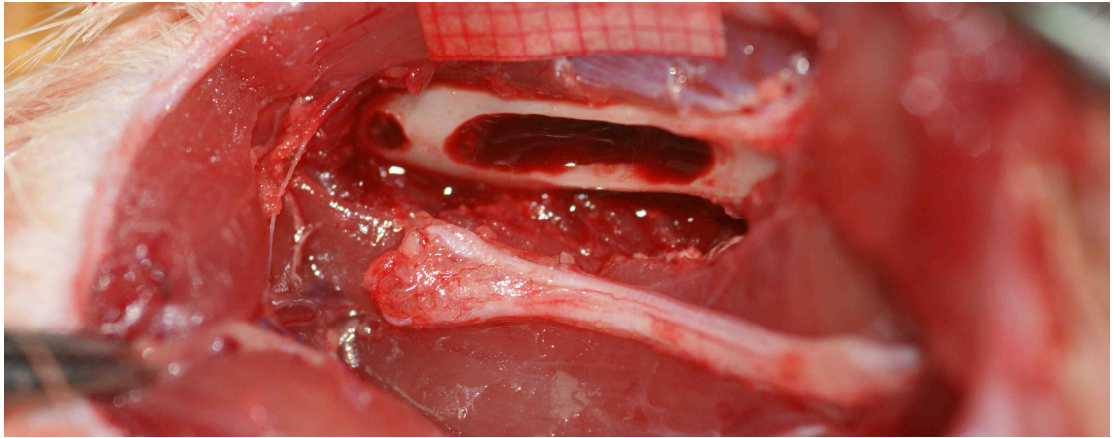


Şekil 3.1. Siyatik sinirin femur posteriorundaki fleksör grup kaslarla ilişkisi ve mezonöral vasküler yapısı görülüyor.

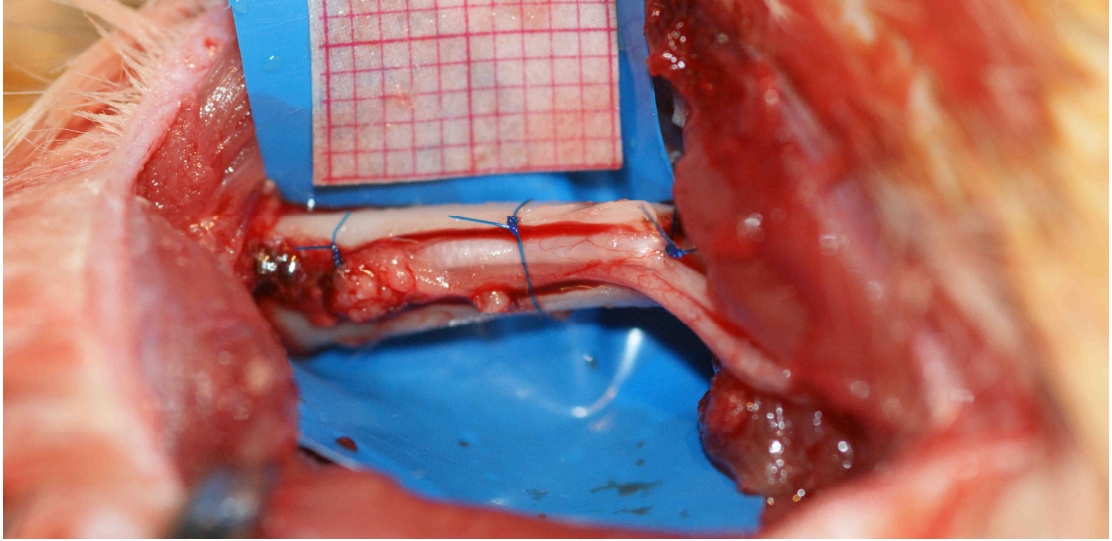
3.2.2. Vasküler İndüksiyon ile Prefabrikasyon İçin Uygun Kemiğin Araştırılması:

Kemik flebi hazırlamak amacı ile siyatik sinirin rotasyon arkı içinde kalan femur ve iliak kemik incelendi. Optimum yüzey teması ve minimum pedikül gerginliği için çeşitli sinir implantasyon şekilleri tasarlandı (Şekil 3.2–3.4).

İlk tasarımda femur posterolateral yüzünde 1 cm uzunluğunda ve 2 mm genişliğinde sulkus oluşturuldu. Distal uçta siniri sabitlemek için, hazırlanan sulkustan ayrı bir delik açıldı (Şekil 3.2). Sinir implante edildikten sonra distal ucu 6/0 absorbe olmayan suturele (Prolene, 6/0 polypropylene, Ethicon, İngiltere) distalde açılan deliğe sabitlendi. Ayrıca aynı suturele kemiğin etrafı da dönülerek sinirin sulkus içerisinden taşması da engellenmiş oldu. Bu safhada proksimalde oluşan yaylanma nedeni ile 3. bir dikiş sinirin kemiğe girdiği yerde, sinirin mezonöriyumu ile femurun çevresi arasına konuldu(Şekil3.3).

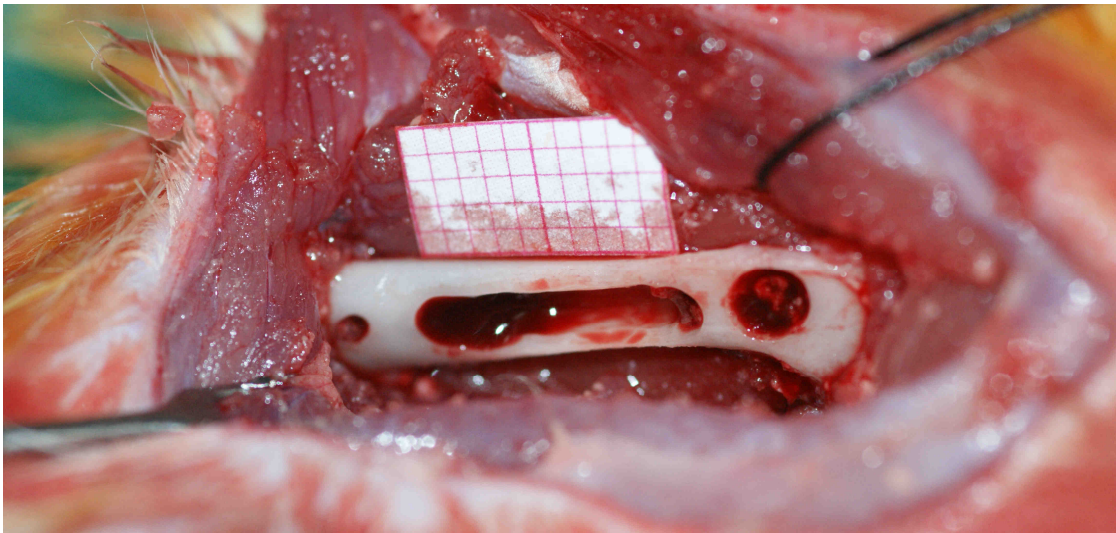


Şekil 3.2. Sıçan siyatik sinirinin implantasyonu için hazırlanmış meduller kavite ve siyatik sinir görülüyor.



Şekil 3.3. Sinirin kemiğe 3 dikiş ile sabitlendiği implantasyon modeli.

İkinci tasarımda femurun posterolateral yüzünde 1cm boyunda 2mm eninde sulkus oluşturulduktan sonra, bu sulkusun distalinde 1 mm çaplı, proksimalinde ise 2mm çaplı 2 adet delik açıldı (Şekil 3.4). Daha sonra sinir proksimal deliğin içerisinden geçirilerek distaldeki deliğe aynı 6/0 absorbe olmayan dikiş ile sabitlendi. Sinirin sulkustan taşmasını engellemek amacı ile kemiğin etrafı aynı suturelerle dönüldü. Sinirin proksimal delikten girişinin perinöral dolaşımına zarar vermeyecek kadar gevşek olmasına dikkat edildi.



Şekil 3.4. Sinir implantasyonu için hazırlanan meduller kavite ile proksimal ve distal delikler.

3.3. Prefabrike Nöro-Osseöz Flep Modeli Araştırılması:

3.3.1. Siyatik Sinir Diseksiyonu:

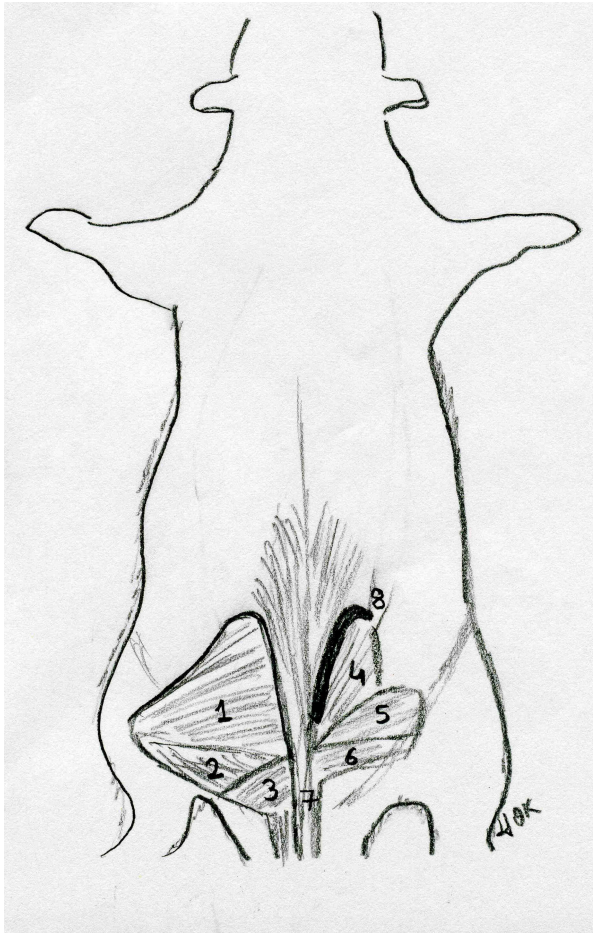
Ketamin-ksilazin anestezisini takiben toplam 20 adet hayvan, prone pozisyonda ekstremiteleri ve kuyrukları flaster ile masaya sabitlenecek şekilde pozisyonlandırıldı. %10'luk Polivinilpirolidon İyot (Batticon, Adeka İlaç, Türkiye) çözeltisi ile cerrahi saha temizliği ve 5 dakika beklemeyi takiben uygun şekilde örtüldü. Femur palpe edilerek, femurun posterolateralinden diz ile sakrum arasına düz bir kesi yapıldı. Kesinin her iki kenarındaki cilt uygun ekartörlerle ekarte edildikten sonra siyatik sinirin röflesi biceps femoris ile semimembranöz kaslar arasında görüldü. 6x mikroskopik büyütme altında (Carl Zeiss, fl70, Opmi Pico, Almanya) siyatik sinir mezosundan 5 numara mikrocerrahi forsepsi ile tutularak mikro-makas ile distalden proksimale doğru çevre dokulardan ayrıldı. Siyatik sinirin peroneal ve tibial dallarına ayrıldığı noktası, diseksiyonun en distal noktası olarak belirlendi. Diseksiyon esnasında aşırı traksiyon ya da pensetle siniri ezmek gibi manevralardan kaçınıldı. Siyatik sinirin temel dolaşımı inferior gluteal arterden sağlandığı için proksimaldeki diseksiyon sınırı burası olarak belirlendi. Vasa nervorum ile popliteal damarların yaralanmamasına özen gösterildi. Popliteal damarların dallarından olan kanamalar bipolar koter ile (Malis Bipolar Coagulator, Codman, Amerika Birleşik Devletleri) kontrol altına alındı. Diseksiyonlar sırasında sinirin kurummasını engellemek için % 9'luk serum fizyolojik ile yıkama yapıldı. Perinöral damarları dilate etmek için lokal anestetik kullanılmadı.

3.3.2. Kemik Flebinin Hazırlanması:

Sinir diseksiyonunu takiben femur, posterolateral yaklaşımla m.gluteus superficialis ve m.biceps femoris kasları arasından görüntülendi (Şekil 3.5). Fleksör ve ekstensör yüzdeki tüm kaslar, her iki metafiz arasındaki bölgede femurdan uzaklaştırıldı. Femur meduller kavitesine implante edilmesi planlanan sinirden kemiğe doğru neovaskülarizasyonun artırılması amacı ile eş zamanlı geciktirme uygulanmasına karar verildi. Bu amaçla periosteal sistemden gelen kan akımı, kemiğin etrafındaki periost soyularak; meduller sistemden gelen kan akımı ise sirkumferansiyel periost soyma işlemi sırasında anteromedial yüzden giren besleyici

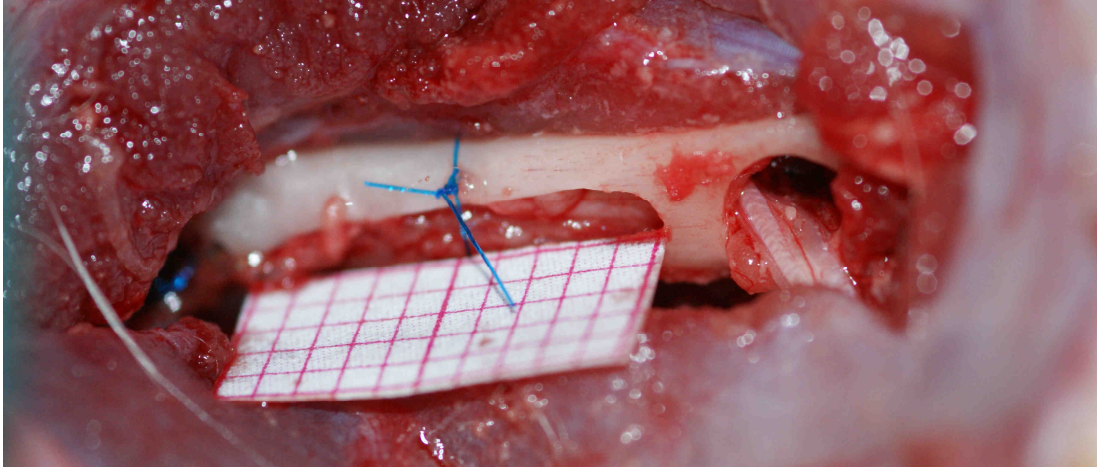
damar kesilerek sağlandı. Bu yöntemle tüm kemiğin dolaşımı proksimal ve distal meta-epifiziyel sistemlere bırakıldı. Takiben tur yardımı ile (BM21A Balkan Motor, Türkiye) kemiğin posterolateral yüzünde üçüncü trokanterin hemen proksimalinde 2 mm. çaplı bir delik açıldı. Bunun yaklaşık 1mm. distalinden, distale doğru 2mm. kalınlığında ve 1 cm. uzunluğunda sulkus oluşturuldu. Sulkusun bitiminin 2 mm distalinde ise 1mm. çaplı bir delik daha açıldı (Şekil 3.4).

Sinirin peroneal ve tibial dalları verdiği en distal noktadan ayrıldıktan sonra 6/0 absorbe olmayan dikiş ile ucundan sabitlendi. Daha sonra sinir proksimal delik ve sulkustan geçilerek meduller kaviteye yerleştirildi. Sinirin distal ucu, distal deliğe aynı 6/0 absorbe olmayan dikiş ile tespit edildi. Sinirin yerinden oynamasını engellemek amacı ile femur diafizinin ortasına sirkumferansiyel olarak bir adet 6/0 absorbe olmayan sütür konuldu (Şekil 3.6).



Şekil 3.5. Sıçan uyluk bölgesinin posterior görünümü.

1. *M. Gluteus Superficialis,*
2. *M. Biceps Femoris,*
3. *M. Semitendinosus,*
4. *M. Gluteus Medius ve Profundus,*
5. *M. Vastus Lateralis,*
6. *M. Adductor Magnus,*
7. *M. Sakrokoksigeus Dorsalisin Medial ve Lateral parçaları,*
8. *Crista İliaca*



Şekil 3.6. Sinirin 2 dikiş ile meduller kaviteye implante edilmiş hali.

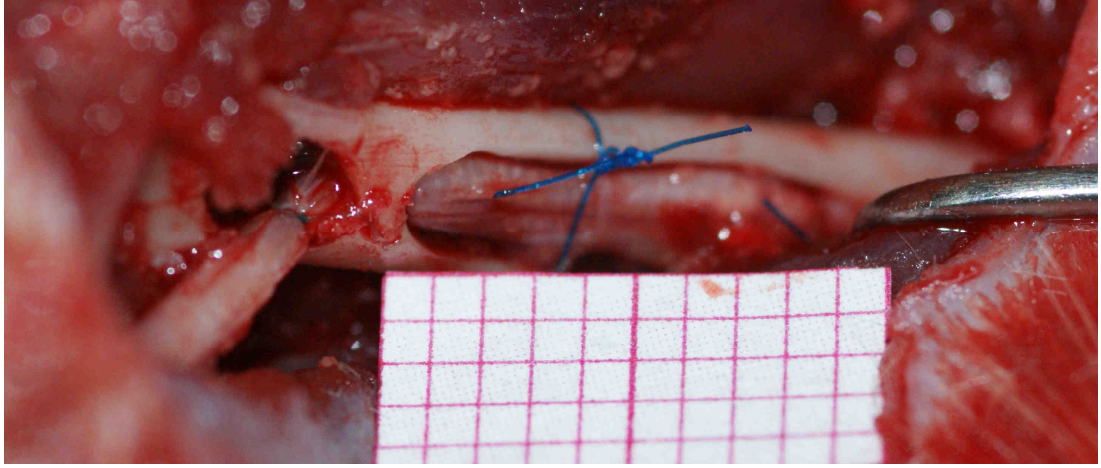
Sadece sinirden oluşan pediküle herhangi bir arter, ven, faysa ya da subkutan doku dahil edilmedi. Diseksiyon aşamaları dijital fotoğraf makinesi ile kaydedildi (Sony DSC Alpha 350, Sigma 105 mm Macro Lens, Japonya). Çevre dokulardan olan kanamalar bipolar koagulatör ile kontrol altına alındı. Cilt 2/0 ipek (Doğsan, Türkiye) ile suture edildi. Neovaskülarizasyon için 6 hafta beklenmesi planlandı.

3.3.3. Gruplar:

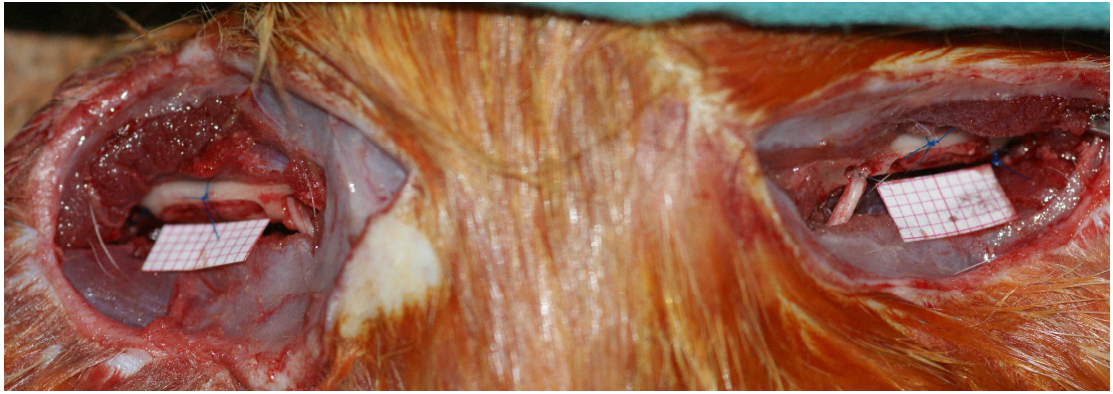
Tarif edilen kemik flebi prefabrikasyonu 20 hayvanın hem sağ hem de sol femurlarına uygulandı ve aşağıdaki gruplar oluşturuldu.

Deney Grubu: 20 hayvanın sol femurlarından 6 haftalık bekleme takiben kaldırılan flepler deney grubu olarak belirlendi.

Kontrol Grubu: 20 hayvanın sağ femurlarından 6 haftalık bekleme takiben kaldırılan flepler kontrol grubu olarak belirlendi. Flep hazırlama aşamaları deney grubu ile aynı olan kontrol grubunda, ek olarak siyatik sinir, femur meduller kavitesine yerleştirildiği anda kemiğe giriş noktasından 8/0 absorbe olmayan dikiş (8/0 Ethilon, Ethicon, İngiltere) ile bağlandı (Şekil 3.7). Bu sayede deney grubunda neovaskülarizasyonun sinir üzerinden oluşması sağlanırken, kontrol grubunda bunun gerçekleşmesi engellenmiş oldu (Şekil 3.8).



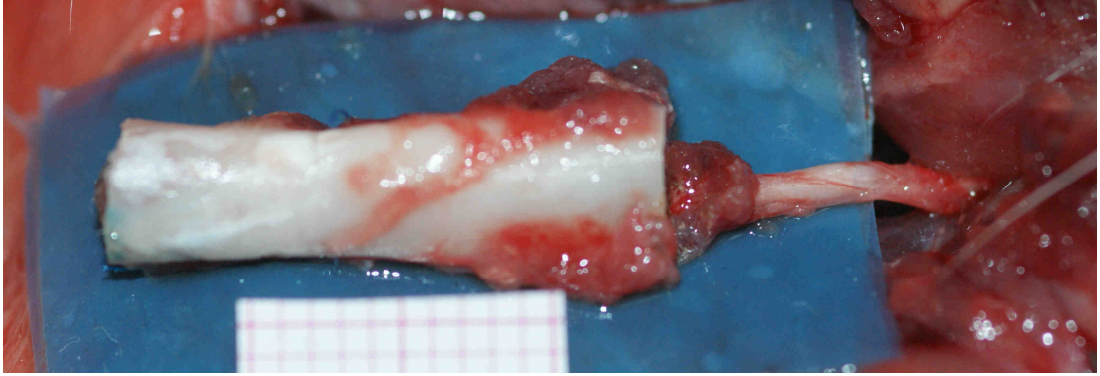
Şekil 3.7. Kontrol grubunda sinirin kemiğe giriş yaptığı noktadan bağlandığı görülüyor.



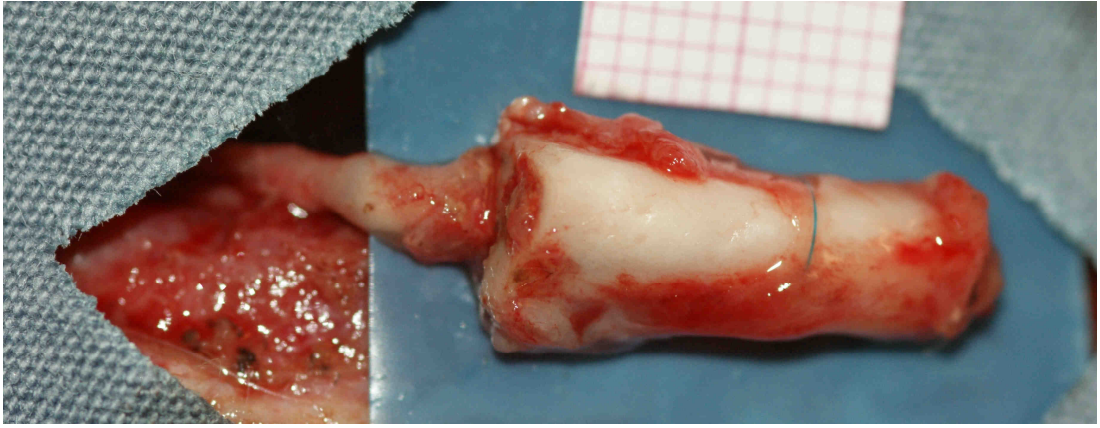
Şekil 3.8. Aynı hayvanda deney ve kontrol gruplarının hazırlanmış görüntüsü.

3.3.4. Flep Kaldırılması:

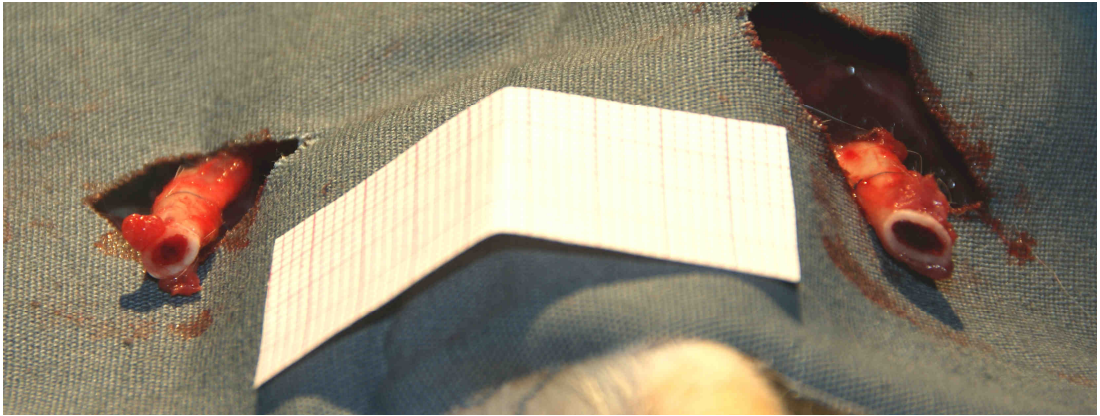
Neovaskülarizasyon için 6 hafta beklendikten sonra hayvanlar ketamin+ksilazin anestezisi ile uyutuldu. Prone pozisyonda masaya dört ekstremitelelerinden sabitlenen hayvanlara uygun temizlik ve örtünmeyi takiben eski skarlarından insizyon yapıldı. Femur çevre dokulardan siyatik sinirin kemiğe giriş noktasına hasar verilmeyecek şekilde tümüyle serbestlendi. Femur, oluşturulmuş sulkusun distalindeki ve proksimalindeki daha önce açılmış delikler seviyesinden sinire zarar verilmeyecek şekilde el motoru ile kesildi (Dremel 25 El Motoru, Dremel Co., Amerika Birleşik Devletleri). Takiben siyatik sinirin femur dışında kalan bölümü tüm çevre dokulardan serbestlendi. Bu işlem hem kontrol hem de deney grubuna aynı şekilde uygulandıktan sonra vücuda sadece siyatik sinir ile bağlı kemik flebi elde edilmiş oldu (Şekil 3.9-3.11).



Şekil 3.9. Deney grubunda flebin kaldırılmış hali.



Şekil 3.10. Kontrol Grubunda flebin kaldırılmış hali.



Şekil 3.11. Çalışma ve kontrol grubu flepleri kaldırıldıktan sonraki görünüm. (Çalışma grubunun medullasında aktif kanama olmakla beraber (sol) kontrol grubunun medullasından kanama görülemiyor (sağ)).

Deney ve kontrol gruplarında kaldırılan bu fleplerin yaşamsallığı;

- 1) Gözlem (20 adet hayvan)
- 2) Mikroanjiografi (8 adet hayvan)
- 3) Sintigrafi (8 adet hayvan)
- 4) Histolojik inceleme (4 adet hayvan)
- 5) İstatistiksel analiz yöntemleri ile değerlendirildi.

3.3.5. Flep Yaşamsallığının Gözlem ile Değerlendirilmesi:

Toplam 20 adet hayvan bu yöntemle değerlendirildi. Bilateral flepler kaldırıldıktan hemen sonra meduller kanama açısından deney grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldı ve her flep ayrı ayrı not edildi.

3.3.6. Mikroanjiografik Yöntemler:

Sekiz adet hayvana mikroanjiografik inceleme planlandı. Hazırlanan flepler bilateral kaldırıldıktan sonra çevre dokulardan kontaminasyonu asgari düzeye indirmek için flepler vücuda sadece sinir ile bağılyken nemli bir spanç ile sarıldı. Kırk ml. kurşun oksit solüsyonu literatürde daha önce tariflendiği şekli ile 50 °C sıcaklıkta hazırlandı ¹²². Enjeksiyon için karotis arter seçildi. Supin pozisyonda yatan sıçanın boyun orta hattında mandibulanın 5 mm. inferiorundan başlayan ve sternuma kadar uzanan vertikal bir kesi yapıldı. Cilt altı yağ dokusu ekarte edildikten sonra sternohyoid kasın hemen lateralinden diseksiyona devam edildi. Sternomastoid kas ve omohyoid kaslar rezeke edilerek karotis görüntülendi. Karotis etrafi dönüldükten sonra proksimalden askıya alındı ve kateterize edildi. Hazırlanan solüsyondan 30 cc intraarteriel olarak verildi. Takiben, bu aşamada sadece sinir pedikülü ile vücuda bağıly olan flep, sinir pedikülü de dahil edilerek mümkün olan en proksimal noktadan vücuttan ayrıldı. Örnekler 8 saat 4°C sıcaklıkta buzdolabında

bekletildikten sonra 32cm mesafeden 22kV ve 5mAs ile direk radyografileri (Mammomat Novation, Siemens, Almanya) çekildi¹²².

3.3.7. Flep Yaşamsallığının Kemik Sintigrafisi ile; Gözlem, Sayısal Olarak ve Kemik Metabolik Aktivite Tayini Yöntemleri ile Değerlendirilmesi:

Sekiz adet hayvanın bilateral flepleri kaldırıldıktan sonra çevre dokulardan kontaminasyonu asgari düzeye indirmek için flepler vücuda sadece sinir ile bağlıken nemli birer spanç ile sarıldı. Hayvanlar supin pozisyona getirildikten sonra yukarda tarif edildiği şekilde karotis arter kateterizasyonunu takiben intraarteriel 0,5 $\mu\text{Ci}/\text{gr}$ $\text{Tc}^{99\text{m}}$ metilen difosfanat verildi. Hayvanlar anestezi altında 4 saat daha yaşatıldıktan sonra spesmenler vücuttan ayrıldı. Kemik doku etrafındaki tüm yumuşak dokular sıyrıldıktan sonra flebin pedikülü olan sinir, meduller kavite de dahil olmak üzere kemik dokudan uzaklaştırıldı. Elde edilen kemiklere genel maksatlı, düşük enerjili, iğne deliği kolimatörlü gama kamera ile tarama gerçekleştirildi (Elscont SPX, Elscint Co., İsrail). Oluşan görüntüler gözlem ile değerlendirildikten sonra gama tarayıcının saydığı radyoaktif madde tutulum miktarı aynı hayvanın karşı kemiği ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Metabolik aktivite tayini, literatürde daha önce tariflendiği gibi, tüm kemikler hassas tartı ile (Precisa BJ610C, Precisa, İsviçre) tartıldıktan sonra dakikadaki gram doku başına radyoaktif madde sayımı hesaplanarak gerçekleştirildi. Elde edilen değerler hayvanların karşı kemikleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı¹²³⁻¹²⁴.

3.3.8. Histolojik Yöntemler:

Dört adet hayvandan toplanan 8 adet kontrol ve çalışma grubu flebi, %10 tamponlu nötral formalinde tespit edildikten sonra De Castro solüsyonunda dekalsifiye edildi. Dekalsifiye olan kemik örnekleri rutin histolojik doku takip yöntemine göre, alkolden geçirilerek dehidrate edildikten sonra ksilolde şeffaflandırmayı takiben parafine gömüldü. Alınan 5 mikronluk kesitler,

hematoksilen eozin ile boyandıktan sonra Leica DM6000 ışık mikroskop görüntü analiz sistemi ile incelendi ve görüntüler dijital olarak kaydedildi.

3.3.9. İstatistiksel Analiz:

Bağımsız iki grup arası aritmetik ortalamaların karşılaştırılması için parametrik olmayan testlerden Mann-Whitney U testi seçildi. Hesaplamalar SPSS 13.0 programı ile kişisel bilgisayarda gerçekleştirildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Örneklem büyüklüğü çalışmanın gücü %95'den fazla olacak şekilde seçildi. Çalışma sonucunda çalışmanın gücü G-Power 3.1.0 programı ile post-hoc analiz yapılarak hesaplandı.

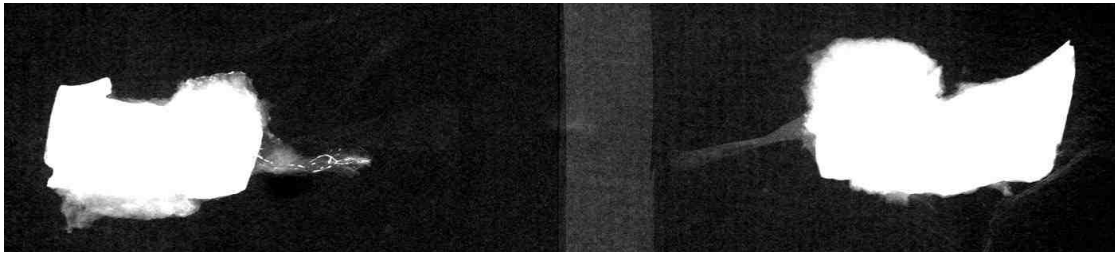
4. BULGULAR

4.1. Flep Yaşamsallığının Gözlem ile Değerlendirilmesi:

Makroskobik gözlem sonucunda çalışma grubundaki tüm kemiklerin meduller boşluğundan kanama gözlenirken, kontrol grubundaki hiçbir flepte bu durum gerçekleşmedi (Şekil 3.10). Ayrıca çalışma grubundaki sinirlerin vasa nervorumlarında dilatasyon gözlenirken (Şekil 3.8) kontrol grubundaki sinirlerin vasa nervorumlarında silinme mevcuttu (Şekil 3.9).

4.2. Mikroanjiyografik Bulgular:

Perinöral ve intranöral vasküler ağ, deney grubu fleplerinin tümünde mikroanjiyografi ile genişlemiş olarak görüntülendi. Kontrol grubu fleplerinin yarısında hiç tutulum gözlenemezken, diğer yarısında, çalışma grubuna nazaran oldukça az miktarda perinöral ve intranöral vasküler tutulum izlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Aynı hayvana ait sol ve sağ femurların mikroanjiyografik görüntüleri. Solda, çalışma grubu flebinde perinöral tutulum gözlenirken, sağda, kontrol grubu flebinde perinöral kurşun oksit tutulumu görülüyor.

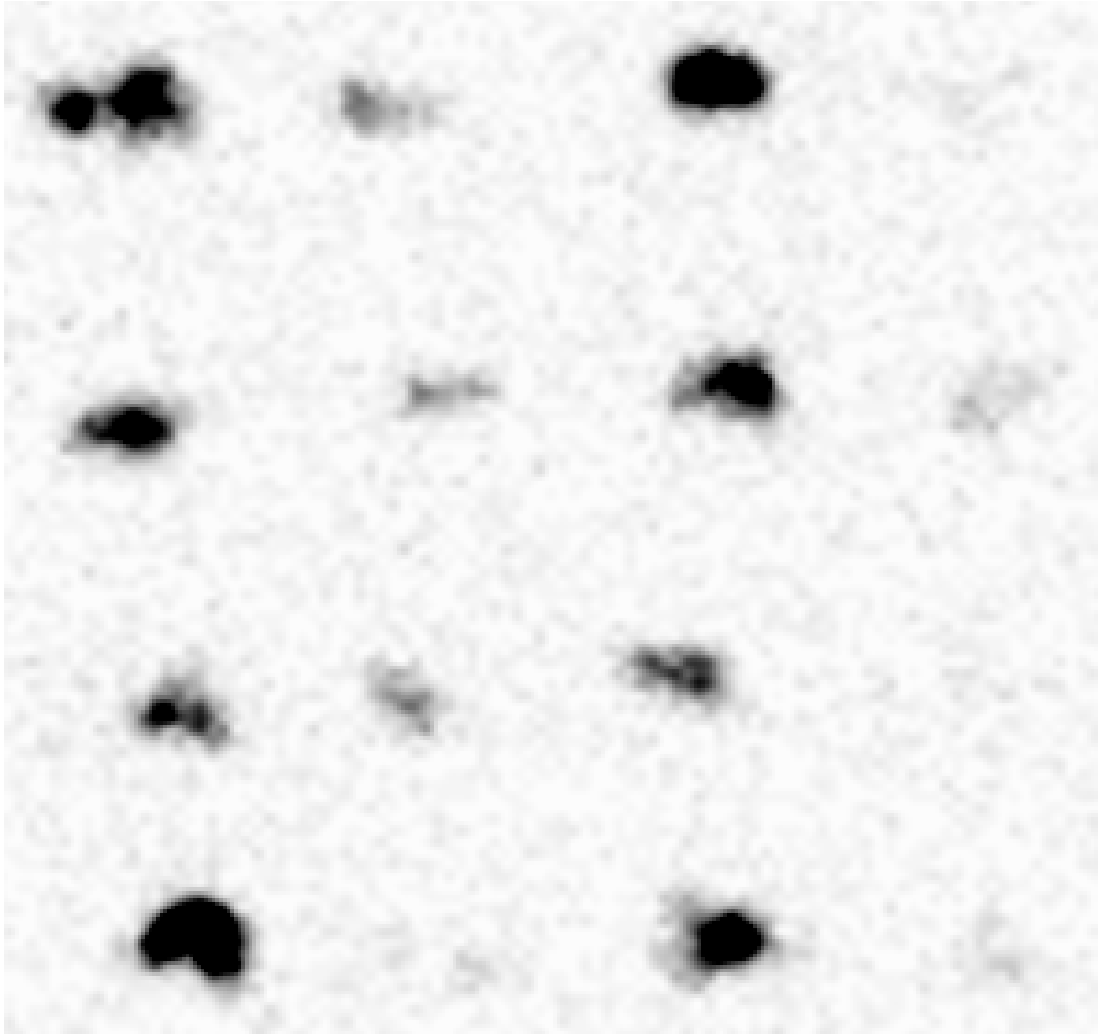


Şekil 4.2. Aynı hayvana ait sol ve sağ femurların mikroanjiyografik görüntüleri. Solda, çalışma grubu flebinde perinöral tutulum gözlenirken, sağda, kontrol grubu flebinde çalışma grubuna göre daha az tutulum gözleniyor.

4.3. Flep Yaşamsallığının Kemik Sintigrafisi ile; Gözlem, Sayısal ve Kemik Metabolik Aktivite Tayini Olarak Değerlendirme Bulguları:

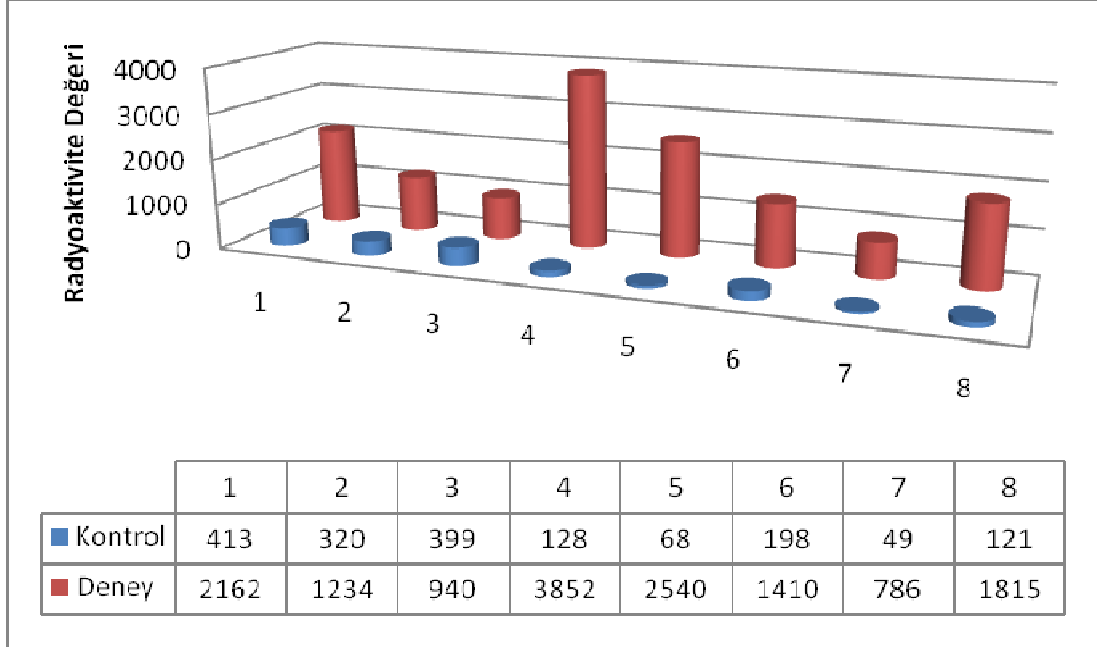
4.3.1. Kemik Sintigrafisinin Gözlem ile Değerlendirilmesi:

Sintigrafik görüntüleme sonucunda deney grubundaki hayvanların kemiklerinin tümünde radyoaktif madde tutulumu net olarak gözlenirken kontrol grubunda tutulum; hayvanların yarısında hemen hemen hiç olmamakla beraber oldukça az olarak gözlemlendi. (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Sıçan femurlarının radyoaktif madde tutulumları. 1. ve 3. sütun hayvanların çalışma grubu femurlarını 2. ve 4. sütun ise aynı hayvanların kontrol grubu bacaklarını göstermektedir.

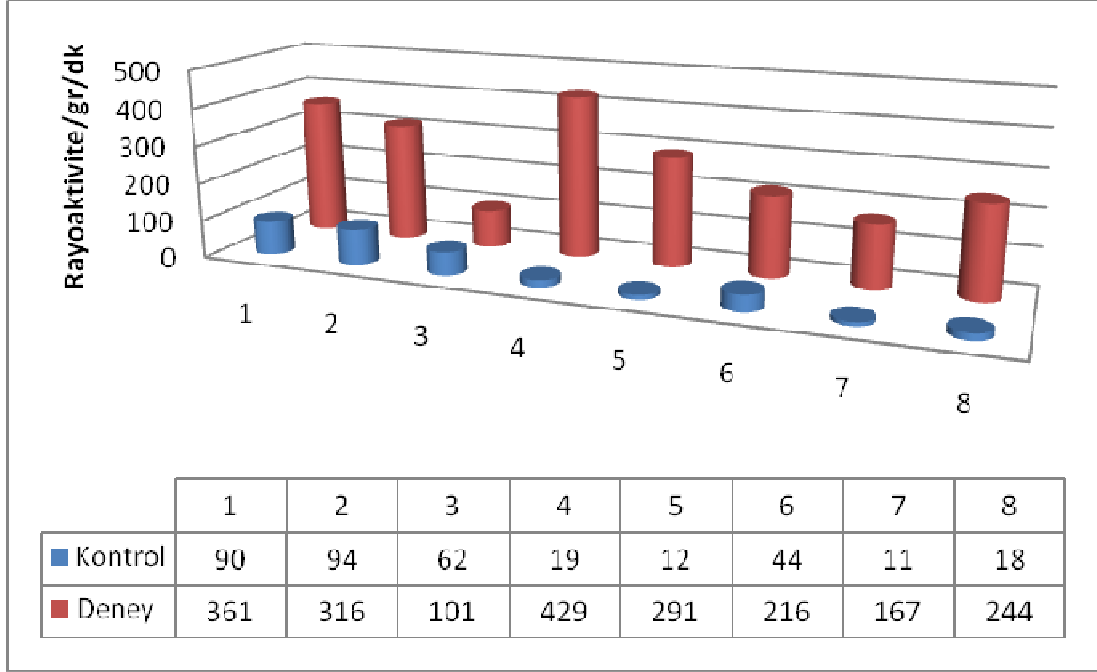
4.3.2. Kemik Sintigrafisinin Sayısal Olarak Değerlendirilmesi:



Tablo 4.1. Kontrol ve deney gruplarında radyoaktivite tutulum miktarları.

Deney grubu femurlarının tümünde kontrol grubuna göre daha yüksek radyoaktif madde tutulumu tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Kontrol grubu dağılımı için minimum değer: 49, maksimum değer:413, ortalama:212±51,7 bulunmuştur. Deney grubu dağılımı için minimum değer: 786, maksimum değer:3852, ortalama: 1842,3±356,4 olarak bulunmuştur. İki grup arası istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.001$). Bu çalışmanın gücü ($1-\beta$) 0,9944 olarak bulunmuştur.

4.3.3. Flep Yaşamsallığının Metabolik Aktivite Tayini ile Değerlendirilmesi:

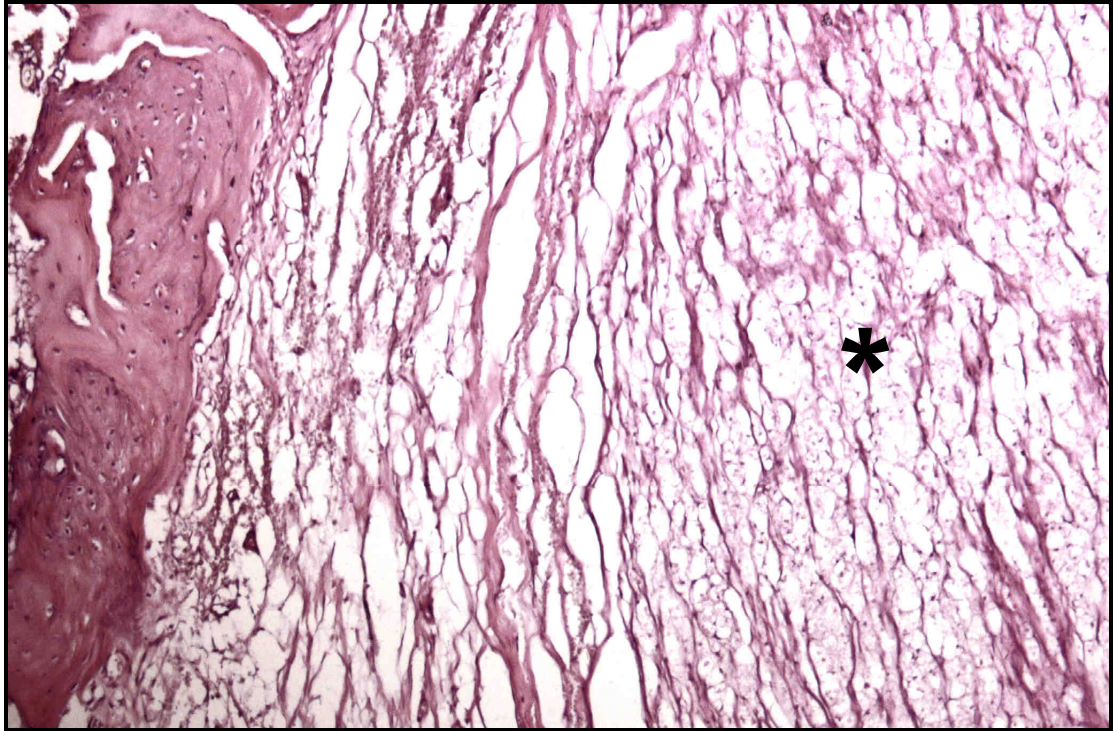


Tablo 4.2. Kontrol ve deney gruplarında dakikada gram doku başına tutulan radyoaktif madde miktarı.

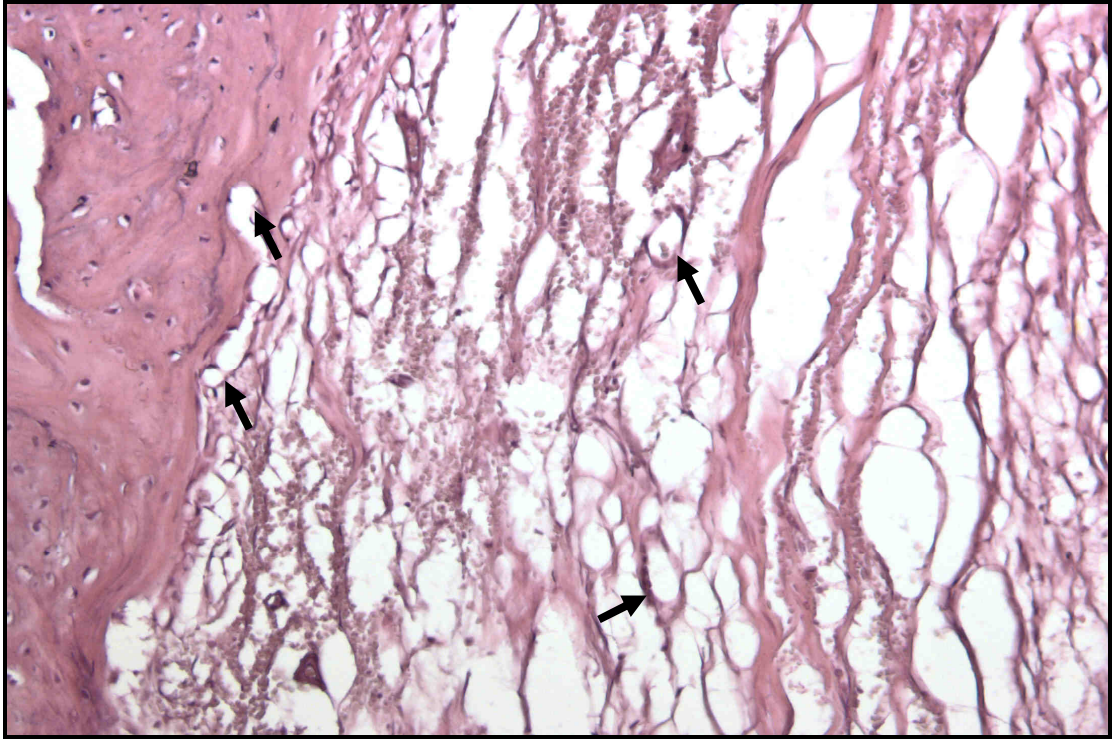
Deney grubu femurlarının tümünde kontrol grubuna göre, gram doku başına dakikadaki radyoaktif madde tutulumu daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.2). Kontrol grubu dağılımı için minimum değer: 11, maksimum değer:94, ortalama: $43,7 \pm 12,2$ bulunmuştur. Deney grubu dağılımı için minimum değer: 101, maksimum değer:429, ortalama: $265,6 \pm 37,9$ olarak bulunmuştur. İki grup arası istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.001$). Bu çalışmanın gücü ($1-\beta$) 0,9998 olarak bulunmuştur.

4.4. Histolojik Değerlendirme:

Deney grubunda, kemik doku medullası içine yerleştirilmiş siyatik sinirin ile epinöriyumunun canlılığını sürdürdüğü gözlendi. Siyatik sinirin internal ve eksternal epinöriyumu ile kemik dokuda çok sayıda damar izlendi. Epinöriyumda bulunan çok sayıda damarın evre kemik dokuya doğru uzandığı dikkati çekti (şekil 4.4 – 4.5)..

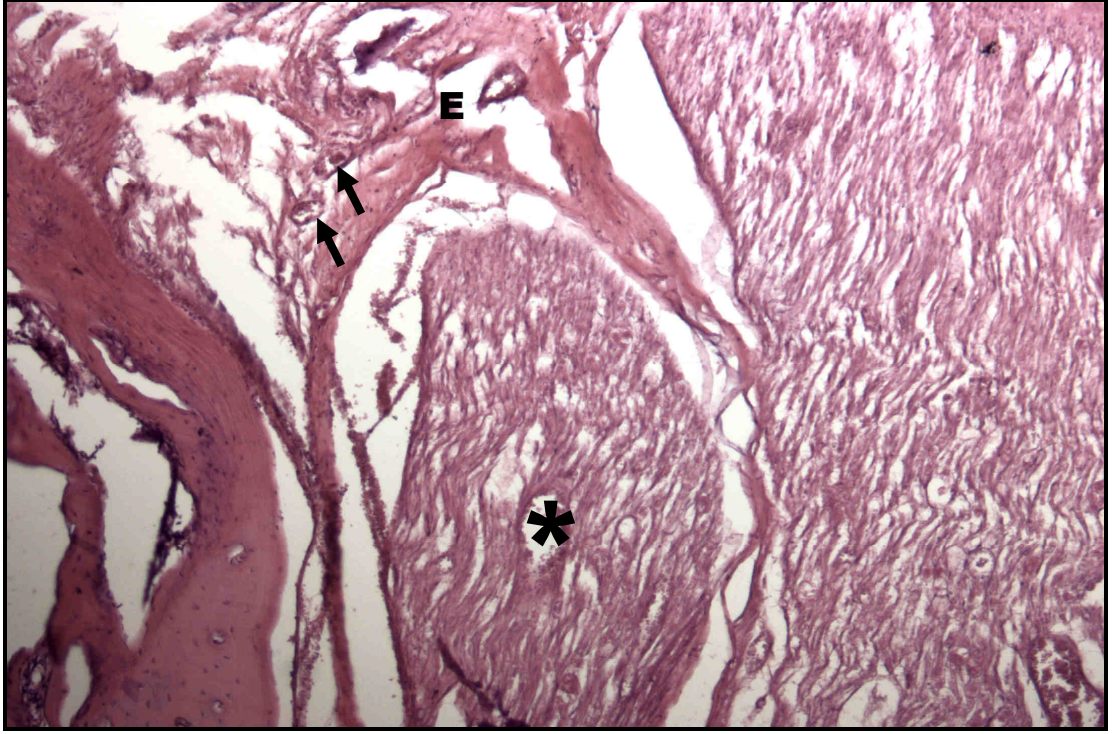


şekil 4.4. Siyatik sinir (*), siniri saran bağ dokusu ve evre kemik doku damarlardan zengin olarak dikkati çekiyor (HEX100).



Şekil 4.5. Büyük mikroskop büyütmesinde kemik doku içine doğru uzanan damarlar ve bağ dokusunda çok sayıda damar (oklar) izleniyor (HEX200).

Kontrol grubunda epinöriyumun dejenere olarak normale göre daha ince olduğu saptandı. Epinöriyumdaki damarların sayısal olarak azaldığı gözlemlendi. Siyatik sinirde ise aksonların silindiği perinöriyumun incelerek fasiküllerin çevresinden yer yer ayrıldığı görüldü. Çalışma grubunun aksine kontrol grubunda epinöriyumdan kemik dokuya doğru damarların uzanmadığı ve yeni damarlanmanın olmadığı dikkati çekti (Şekil 4.6) .



Şekil 4.6. Kontrol grubu örneğinde dejenere siyatik siniri (*) saran epinöriumda (E) az sayıda damar (oklar) ve komşuluğunda kemik dokusu izleniyor (HEX100).

5. TARTIŞMA

Kemik flebi prefabrikasyonu temel olarak 3 yolla yapılabilir. İlk yöntem bir vasküler taşıyıcı üzerine kemik grefti yerleştirmek ve daha sonra bu dokuyu flep olarak kullanmaktır. İkinci yöntem, mezenkimal kök hücreleri ve büyüme faktörlerini üçboyutlu bir iskelet yapı ile vasküler zemin üzerinde birleştirmek ve daha sonra bunu kemik flebi olarak kullanmaktır. Bu yöntem özellikle 90'lı yıllarda doku mühendisliğinin de gelişmesi ile popülerlik kazanmış ve oldukça başarılı sonuçlar doğurmuştur. Son yöntem ise dolaşımı korunan bir kemik segmentinin başka bir vasküler pedikül kullanılarak prefabrike edilmesi ve oluşturulan flebin yeni pedikül üzerinden kaldırılmasıdır. Bu yöntem diğerlerine nazaran daha karmaşık olması ve daha fazla teknik detay gerektirmesi nedeni ile ancak son 10 yılda popülerlik kazanmaya başlamıştır.

İlk yöntem tüm kemik flebi prefabrikasyonlarının da ilk örneği olup Erol ve Spira tarafından 1980 yılında gerçekleştirilmiştir. Domuzlarda yapılan bu çalışmada cilt, kas ve kostal kemik grefti içeren doku, omentum ile vaskülerize edilmiştir. Kemigin yaşamsallığı sintigrafik ve mikroanjiyografik çalışmalarla da gösterilmiştir⁶⁹. 1982 yılında Keçik tarafından 20 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada ise kostal kemikler jejunum ve ileum segmentleri üzerinde prefabrike edilmiştir. Altı haftalık bekleme takiben flepler başarı ile kaldırılmış ve kemik dokusunun canlılığını devam ettirdiği gösterilmiştir¹²⁵. 1988 yılında Hirase ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları deneysel çalışmada superfisiyel inferior epigastrik damarları vasküler taşıyıcı olarak kullanmışlar ve bu damarların etrafına eksternal oblik kası cilt adası ile birlikte sararak myo-kutan, bu yapının içine krista iliakadan bir parça kemik grefti de ekleyerek osteo-myo-kutan prefabrike flep elde etmişlerdir. Yazarlar bu çalışmada sadece 2 hafta kadar kısa bir sürede flebin yeni pedikülü üzerinden kaldırılabilceğini göstermişlerdir⁷⁴.

Vaskülerize olan ve olmayan kemik greftleri arasında iyileşme prensipleri oldukça farklıdır. Vaskülerize olmayan kemik greftlerinde, kemik bir çatı görevi görmekte ve yeni kemik oluşumu osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon ile gerçekleşmektedir¹²³. Öte yandan vaskülerize kemik transferinde, hücrelerin yaşamsallığı korunduğu için iyileşme çok daha kısa sürede olmaktadır¹²³. Sonuç olarak alıcı yatağın dolaşımına bağımlı kemik greftlerine nazaran kemik fleplerinde

osteogenez daha üstündür^{123, 126-128}. Yukarıda tariflenen yöntemlerin tümünde yaşamsallığı alıcı yatağın dolaşımına bağlı kemik greftleri kullanılması nedeni ile çalışmamızda bu prefabrikasyon yöntemi tercih edilmedi.

İkinci yöntemin ilk örneği ise 1991 yılında Khouri ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Sıçan uyluk addüktör kaslarının vasküler yatak olarak kullanıldığı bu deneysel çalışmada, addüktör kas flebi bir silikon tüp içerisine yerleştirilmiş ve buraya demineralize kemik matriksi ile o zamanlar yeni bulunmuş olan osteogenin eklenmiştir. Yazarlar 10 gün sonra silikon tüpün şekline uygun yeni kemik oluşumunu rapor etmişlerdir¹²⁹. Doku mühendisliği, mezenkimal kök hücre ve büyüme faktörleri eşliğinde gerçekleştirilen tüm kemik prefabrikasyonları hemen daima kemik oluşumu için bir iskelete ihtiyaç duymaktadır. Literatürde bu iskelet için politetrafloroetilen¹³⁰, L-Polilaktik asit ile hyaluronik asit¹³¹, seramik silindirler¹³² ve hidroksiapatit¹³³ gibi birçok madde kullanılmıştır. Bu tip çalışmaların klinik kullanımı açısından en dikkat çekici örneği Warnke ve Terheyden'in 2004 yılında yayınladıkları makaledir. Bu çalışmada tümör rezeksiyonu sonrası mandibulasında 7 cm.'lik defekt oluşan hastada, latissimus dorsi kası içerisine yerleştirilen teflon ve titanyum iskelet, iliak kemikten alınan kansellöz kemik ve kemik matriks proteini-7 (BMP-7) ile birleştirilerek 7 hafta beklenmiş ve takibinde oluşan kemik ile mandibula başarılı bir şekilde rekonstrükte edilmiştir. Doku mühendisliği ile prefabrikasyon yöntemlerinde hemen daima bir çatıya ihtiyaç duyulması ve bu yöntemlerin klinik kullanımda özellikle maliyetleri yüzünden güncel yer bulamayışları nedeni ile çalışmamızda bu teknikle kemik prefabrikasyonu tercih edilmedi.

Üçüncü yöntem olan vasküler indüksiyon ile kemik prefabrikasyonu için literatürde oldukça sınırlı sayıda örnek vardır. Şafak ve arkadaşları 1999 yılında tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 25 Yeni Zelanda tipi beyaz tavşanın skapulalarını, subskapularis ve teres major kasları üzerinden, aksiller arter bazlı olarak kaldırmışlardır. Thorakodorsal kutanöz perforatörü bağlanmış ve kısmi kaldırılmış cilt adası altına flebi implante ettikten sonra 4 haftalık bekleme süresini takiben, prefabrike flebi aksiler arter bazlı olarak kaldırmışlardır. Bu çalışmanın kontrol grubunda ise 15 adet Yeni Zelanda tipi beyaz tavşanın skapulaları greft olarak cilt altına implante edilmiş ve 4 haftalık bekleme süresini takiben

thorakodorsal arter perforatörü üzerinden tüm yapı flep olarak kaldırılmıştır. Yazarlar bu iki grubun kemik metabolik aktivitesini karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmuşlardır ($p<0.01$). Her iki grubu karşı taraf sağlam skapula ile karşılaştırdıklarında ise kemik metabolik aktivitesi açısından %95 güvenlik limitleri dahilinde anlamlı fark görülememiştir. Mikroanjiyografik bulgularda ise cilt beslenmesinin deney grubunda, çalışma grubuna göre daha fazla yeni damar oluşumu ve kanlanma zenginliği içerdiğini göstermişlerdir. Yazarlar bu deneysel çalışmayı 2 klinik örnekle de desteklemişlerdir. Deney grubundaki teknikle iliak flep prefabrikasyonunu takiben oluşturulan kompozit flepler bir hastada mandibula, bir başka hastada ise metakarp rekonstrüksiyonu amacı ile başarı ile kullanılmıştır¹²³.

Vasküler indüksiyon ile kemik flebi prefabrikasyonu ile ilgili diğer bir önemli çalışma ise Akyürek ve arkadaşları tarafından 2003 yılında Yeni Zelanda tipi beyaz tavşanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Otuz hayvanda bipediküllü dorsal cilt flepleri, dorsal yüzeylerindeki kaslar uzaklaştırılarak çıplaklaştırılmış skapula üzerine yerleştirilmiş ve 4 hafta sonra kaudal pediküllü cilt adası kullanılarak kemik dokusu prefabrike flep olarak kaldırılmıştır. Kontrol grubunda ise 20 hayvanın skapulaları cilt altına greft olarak konulmuş ve 4 hafta sonra aynı kaudal pedikül üzerinden flep olarak kaldırılmıştır. Kemik metabolik aktivitesi açısından kontrol ve deney grupları arasında anlamlı fark gözlenirken, deney grubu ile karşı tarafa ameliyat edilmemiş skapula arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bununla beraber kontrol grubu ile karşı taraf ameliyat edilmemiş skapula arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur¹²⁸. Bu başarılı örneklerden yola çıkarak çalışmamızda, kemik dokusunun canlılığını yitirmediği model olan vasküler indüksiyon ile kemik prefabrikasyonu yöntemi tercih edildi.

Keser ve arkadaşlarının 2003 yılında 18 Yeni Zelanda tipi tavşan üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hayvanların derin inferior epigastrik arter ve venlerini periton ve kas kılıfı eşliğinde kaldırıp aynı taraf femurlarına yerleştirmişler ve 4 hafta sonra osteoindüksiyon ile oluşturdukları prefabrike flebi başarı ile kaldırmışlardır¹³⁴.

Literatürde flep prefabrikasyonu için önerilen süre 4^{123, 128, 134} ile 8¹³⁵ hafta arasında değişmektedir. Ono ve arkadaşları 1993 yılında tavşanlarda femoral damar implantasyonu ile abdominal cilt prefabrikasyonu yaptıkları bir çalışmada minimum flep kaldırılması için gereken sürenin 6 hafta olduğunu ifade etmişlerdir. 1,2 ve 4.

haftada kaldırılan flepler ile 6. haftada kaldırılan fleplerin yaşamsallığı açısından istatistiksel olarak fark bulunmuştur ($p<0.01$)¹³⁶. Gill ve arkadaşlarının 1998 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışma kemik prefabrikasyon süresi üzerine daha spesifiktir. Bu çalışmada iliak kemik greftini superfisiel inferior epigastrik sistem üzerinden prefabrike eden araştırmacılar neovaskülarizasyonun 6 haftada tamamlandığını vurgulamışlardır¹³⁷. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, prefabrike kemik flebinin güvenli kaldırılması için gerekli süre 6 hafta olarak belirlendi.

Bir periferik sinirin dolaşımı daha önce de belirtildiği gibi ekstrensik ve intrensik mekanizmalar vasıtası ile olmaktadır²⁷. Mezonöriyum tabakası vasa nervorumları barındırır ve hem ekstrensik hem de intrensik olarak kabul edilir²⁸. Epinöriyum tabakasının içinde kalan dolaşım ise intrensik sistem olarak adlandırılır¹⁷⁻²⁰. Besleyici sistem olan ekstrensik sistem hücre metabolizması ve fonksiyonlarından sorumlu intrensik sistem ile vasa nervorumlar vasıtası ile ilişki kurar^{24, 28}. 2004 yılında Akyürek ve arkadaşları sinirin bu güçlü dolaşımına güvenerek 92 sıçan üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada lateral femoral kutanöz sinir üzerinden başka hiçbir arter ya da venin eşlik etmediği bir ada flebi kaldırmışlardır. Geciktirme olmaksızın kaldırılan flebin yaşamsallığının %38,2, 2 haftalık geciktirmeyi takiben ise %94,5 olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar bu makalede, yarattıkları flebin klinik kullanımına sural sinir bazlı 2 flep ile örnek vermişlerdir⁵.

Özkan ve arkadaşları 2006 yılında 94 sıçan üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada siyatik sinirin biceps femoris dalı üzerinden nöromusküler ve nöromuskülokutan flepler kaldırmışlardır. 2 haftalık geciktirmeyi takiben nöromusküler flebin yaşamsallığı 86.4 ± 6.14 bulunurken konvansiyonel kas flebinin yaşamsallığı 89.6 ± 4.48 olarak bulunmuştur. Deri adası yaşamsallığı açısından geciktirilmiş nöromusküler flebin yaşamsallığı 67 ± 30.29 bulunurken konvansiyonel kas-deri flebinin deri adası yaşamsallığı 97 ± 4.21 olarak bulunmuştur. Kas fleplerinde konvansiyonel fleplere yakın sonuçlar elde eden araştırmacılar deri fleplerindeki farkı cerrahi tekniğe bağlamışlardır¹³⁸.

Bayram ve arkadaşları 2006 yılında 30 adet sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada, vasküler indüksiyon aracı olarak sinir kullanıp, sıçan dorsal derisinde cilt adası prefabrike etmeyi başarmışlardır. İki aşamalı geciktirme ile gerçekleştirdikleri

çalışmalarında, deney grubunu, flebi kaldırdıktan sonra sinir pedikülünü kesip yerine greft olarak iade ettikleri kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında, iki grup arası istatistiksel olarak anlamlı fark görmüşlerdir. Çalışmalarında mikroanjiyografik ve histolojik olarak, geciktirme işlemleri sonrası sinir çevresindeki damarlanmanın arttığını görmüşlerdir¹³⁹.

Benzer flep modellerinden biri de 2008 yılında Sönmez ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmadır. Altmış sıçan üzerinde yapılan bu çalışmada gluteus maksimus kas flebi 2 haftalık cerrahi geciktirmeyi takiben 96.1 ± 7.8 yaşamsallık oranı ile başarılı bir şekilde kaldırılmıştır¹⁴⁰. Sönmez ve arkadaşları 2007 yılında yayınladıkları bir başka makalelerinde lateral femoral kutanöz sinir bazlı kaldırdıkları deri nöral ada flebini interfasiküler diseksiyonla 2 parçaya ayırdıktan sonra 2 haftalık geciktirme uygulamışlar ve yaşamsallık oranını 98.5 ± 2.8 olarak bulmuşlardır¹⁴¹.

Bu çalışmalardan ilham alarak, vasküler indüksiyon ile kemik prefabrikasyonu için kullanılacak vasküler yapının bir sinir olmasına karar verdik. Aday sinirlerden femoral sinir yeterli kalibrasyona sahip olmaması ve damar sinir paketine yakınlığı nedeni ile diseksiyonunun daha güç olmasından ötürü, prefabrikasyonun vasküler indüksiyon aracı olarak tercih edilmedi. Diğer bir aday yapı olan brakial pleksus ise diseksiyonu zorlaştıracak anatomik zenginliği ve birden çok dallanmaya sahip olduğu için düşünülmedi. Üçüncü sırada ise sıçandaki en kalın periferik sinir olan siyatik sinir üzerinde duruldu. Taylor tarafından arteriel dolaşımı tip B olarak sınıflanan siyatik sinirin oldukça zengin bir dolaşımı vardır. Embriyolojik dönemde var olan *arteria comitans nervi ischiadici*'nin sebat etmesi durumunda sinir Tip C olarak da sınıflanabilir³². Femur meduller kavitesine uygunluğu, zengin dolaşımı, kolay diseksiyonu ve inferior gluteal arterden çıkan ana besleyici damarın kolay korunabilmesi nedenleri ile prefabrikasyonun vasküler indüksiyon aracı olarak siyatik sinir tercih edildi. Mezonöral beslenmesi inferior gluteal arterden sağlanan siyatik sinir diseksiyonlarında, proksimalde arterin girdiği bölge korunarak oluşturulan pivot noktaya istinaden, sinirin femur boyunca uzanabildiği, iliak kemik üzerine ise yeterli uzunlukta gelmediği görüldü. Ayrıca krista iliaka kullanıldığı takdirde sinirin kemik üzerine krista traşlandıktan sonra tek bir yüzeyden sabitlenebileceği için yeterli stabilizasyon sağlanamayabileceği

düşünüldü. Bu noktada, femurun diğer bir avantajının, azami temas yüzeyi açısından, hayvanların femur meduller kavitelerinin çapı ile siyatik sinirlerinin kalınlıklarının bire bir örtüşmesi olduğu gözlemlendi. Sinirin kemiğe implantasyonu için tasarlanan iki yöntemden ilkinden, üç dikişle tam stabilizasyon sağlanmasına rağmen perinöral dolaşım etkilenebileceği için vazgeçildi (Şekil 3.3). Tasarlanan ikinci yöntemin, sinirin mezonöriumundan geçen herhangi bir dikiş olmaması ve siniri traksiyona uğratmaması nedeniyle, daha uygun olduğu düşünüldü ve çalışmamızda kullanılmasına karar verildi (Şekil 3.6).

Periferik sinirlerin hem ekstrensik hem de intrensik vasküler yapıları olarak kabul edilen vasa nervorumları, epinöriumla sıkı bağlantılı bir vasküler ağ oluştururlar. Epinöriumda arteriollerin ve venüllerin longitudinal yerleşimi karakteristiktir. Yüzeysel epinöral sistem, epinöriumun hemen altında yer alırken derin epinöral sistem ise fasiküler demetler arasındadır¹⁰². Valf mekanizması olarak fonksiyon gören perinöral vasküler ağ oblik yerleşimlidir.¹⁴²⁻¹⁴³ Endonöriumdaki vasküler ağ da epinöriyuma benzer şekilde longitudinal yapıda olup baskın olan özel bir kan akım yönü yoktur. Bununla beraber bu vasküler ağ büyük rezerv kapasitesine sahiptir. Normal şartlar altında fonksiyonel olmayan bu rezerv kapasite sinir kaldırıldığında aktifleşir^{102, 142}. Tüm bu sistemler arasında birden çok anastomoz mevcuttur. Bell tarafından sıçan siyatik siniri üzerinde yapılan çalışmalarda endonöral kapillerlerin çapları ortalama 6-10 µm iken kas dokusu içerisindeki kapillerlerinin çapı ortalama 3-6 µm olarak bulunmuştur¹⁴⁴⁻¹⁴⁵. İstirahat halinde iskelet kasına olan kan akım miktarı 3-4 ml/dk/100gr. dokudur. Bu miktar egzersiz anında 25 kat artabilir¹⁴⁶. Maki siyatik sinir için bu değeri tavşanlarda 3ml/dk/100gr doku olarak bulurken Tshetter bu değeri köpek siyatik siniri için 4,7ml/dk/100gr. doku olarak bulmuşlardır. Maki ve arkadaşları sinirin cerrahi olarak kaldırıldığında, (çalışmamızdaki yöntem ile) kan akımının kaldırılmamış halinden daha fazla olduğunda dikkat çekmişlerdir. Bu şekilde kaldırılan bir sinirin kendi çapının 59 ile 67 katı uzunlukta (ortalama 63) siniri besleyebildiğini göstermişlerdir¹⁴⁷. Lundborg tarafından tavşanlarda hesaplanan bu rakam ise 1/45 (çap/boy)'dir¹⁴⁸. Benzer sonuçlar Lux ve arkadaşlarının köpek siyatik sinirlerinde²¹ yaptıkları çalışmalarda da vardır. Lundborg ve Lux'ün her ikisinde bu kan akışının sebeplerinden birinin cerrahi manipülasyon olabileceğinden bahsetmişlerdir. Lundborgun bu fenomen için bir

başka açıklaması ise iskemi teorisi. Başlangıçta kapalı olan intranöral damarların iskemi ve cerrahi stres ile açıldığını, bunun da sinir kan akımını arttırdığını savunmaktadır¹⁴⁸. Bu etki çalışmamızdaki mikroanjiyografik ve histolojik bulgularla da örtüşmektedir. Zira iskemi ve neovaskülarizasyonun temel olduğu deney taraflarının tümünde siyatik sinir damarların 6 hafta sonunda genişlediği ve sayıca arttığı görülmüştür. Ayrıca çalışmamızın histolojik sonuçlarına göre, sinir yüzeyindeki neovaskülarizasyonun sadece sayı ve çap artışı olarak sonuçlanmakla kalmadığı, aynı zamanda kemiğe doğru invazyon göstererek fonksiyonellik kazandırdığı da görülmektedir. Aynı etkinin kontrol gruplarında olmamasının sebebi, sinirin bağlanmasından ötürü implante edilen alanda kemiğe doğru kan akımı gerçekleşmeyeceği için kompanzuar dilatasyonun ve neovaskülarizasyonun gerekli olmayışıdır. Ancak yukardaki çalışmalarda tariflenen iskemi bazlı akut dilatasyon (45 dk. içerisinde) tüm sinirlerde görülmüştür.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızdaki ortalama 2/20'lik sinir çap/boy oranının kemik dokusunu beslemek için yeterli olabileceği düşünüldü. Ancak alıcı yatağın metabolizmasını yavaşlatmak ve neovaskülarizasyonu hızlandırmak için cerrahi geciktirmeye ihtiyaç duyuldu. Bu amaçla cerrahi geciktirme işlemi olarak sinir implantasyonu ile eş zamanlı femurun her iki metafizi arasında kalan periost soyuldu, besleyici arter kesildi ve dolaşım sadece epi-metafiziyel sisteme bırakıldı. Taylor ve Minabe'ye göre komşu arteriel ağlardan birinin gelişmiş olması diğerinin zayıf kalmasına ya da birinin zayıf olması diğerinin bunu kompanse edecek kadar fazla gelişmesine yol açmaktadır¹⁴⁹. Bu nedenle cerrahi manipülasyonla dolaşımı arttırılan sinirin geciktirme işlemi ile dolaşımı yavaşlatılan kemiğe implantasyonunun summatif etkiye neden olduğu ve neovaskülarizasyonu olumlu etkilediği düşünülmüştür.

Flep canlılığını değerlendirdiğimiz sintigrafik çalışmalarla elde edilen metabolik aktivite sonuçlarına göre deney grubundaki tüm fleplerde canlılık izlenmiştir. Kontrol gruplarındaki minimal radyoaktif madde tutulumu çevre dokulardan kontaminasyon olarak yorumlanmıştır. İstatistiksel olarak da bu fark %99'lük güvenlik aralığında anlamlıdır (p=0.001). Hayvanlar arasındaki radyoaktif madde tutulumları arasındaki fark ise cerrahi manipülasyona ve hayvanların farklı metabolik aktivitelere sahip olabileceğine bağlanmıştır.

Bu çalışmayı filogenetik olarak uygulanabilecek en düşük düzey canlı olan sıçanlarda yapmayı uygun bulduk. Tanımlanan bu flep modeli klinikte, özellikle tibia defektlerinde, damarsal problemlerden ötürü serbest doku aktarımı ile kemik rekonstrüksiyonu yapılamayacak vakalarda, fibulanın bir duyu siniri ile prefabrike edilip taşınması için kullanılabilir.

Tariflenen flebin avantajları;

1. Teknik olarak kolay hazırlanabilmesi,
2. Mikrocerrahi tekniği ve gereçleri gerektirmemesi,
3. Pivot noktası üzerinden oldukça geniş rotasyon arkına ve uzun pediküle sahip olması,
4. Major bir arter harcanmaması,
5. Ameliyat süresini kısaltması olarak sayılabilir.

Tariflenen flebin dezavantajları ise;

1. Tüm prefabrike fleplerle ortak noktası olan 2 seanslı cerrahiye ihtiyaç duyulması,
2. Vasküler taşıyıcı için bir periferik sinir harcanmasıdır.

6. SONUÇ:

Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre, prefabrike nöro-osseöz flebin güvenli dolaşıma sahip tekrarlanabilir ve kolay uygulanabilir bir model olması nedeni ile klinik çalışmalara öncü olabileceği sonucuna varıldı. Vasküler indüksiyon aracı olarak bir periferik sinirin kullanılıp, prefabrike kemik flebi hazırlanması, literatürde ilk defa tariflenmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Khouri RK, Upton J, Shaw WW. Principles of flap prefabrication. *Clin Plast Surg* 1992;19:763-71.
2. Baudet J, Martin D. Principles of Prefabricated Flaps. In: Strauch B, Vasconez LO, Hall-Findlay EJ, Lee BT, eds. *Grabb's Encyclopedia of Flaps Third Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2009:412.
3. Hurvitz KA, Kobayashi M, Evans GR. Current options in head and neck reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2006;118:122e-33e.
4. Yazar S, Lin CH, Wei FC. One-stage reconstruction of composite bone and soft-tissue defects in traumatic lower extremities. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1457-66.
5. Akyurek M, Safak T, Sonmez E, Ozkan O, Kecik A. A new flap design: neural-island flap. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1467-77.
6. Moore KL. Overview of Anatomy. In: *Clinically Oriented Anatomy*; 1992:27-31.
7. Yıldırım M. Sinir Sistemine Giriş - Spinal Sinirler. In: Yıldırım M, ed. *İnsan Anatomisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2006:199-203.
8. Ovalle WK, Nahirney PC. Sinir Dokusu. In: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P, eds. *Netter Temel Histoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 2009:101-30.
9. Koester J, Siegelbaum S. Local signaling: passive electrical properties of neuron. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, eds. *Principles of Neural Science*, 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2000:430-50.
10. Online; Feller A. Recovery and Repair in the Nerves and Spinal Cord. www.backpainguide.com/Chapter_Fig_folders/Ch10_Recover_Folder/Ch10_Images/10-1_Nerve_Struct.jpg. Giriş: 30/11/2009.

11. Sunderland S. Nerve and Nerve Injuries, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1978.
12. Oldfors A. Permeability of the perineurium of small nerve fascicles: an ultrastructural study using ferritin in rats. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1981;7:183-94.
13. Shanthaveerappa TR, Bourne GH. Perineural epithelium: a new concept of its role in the integrity of the peripheral nervous system. *Science* 1966;154:1464-7.
14. Olsson Y, Reese TS. Permeability of vasa nervorum and perineurium in mouse sciatic nerve studied by fluorescence and electron microscopy. *J Neuropathol Exp Neurol* 1971;30:105-19.
15. Larson DL, Rodin AE, Roberts DK, O'Steen WK, Rapperport AS, Lewis SR. Perineural lymphatics: myth or fact. *Am J Surg* 1966;112:488-92.
16. Millesi H, Terzis JK. Nomenclature in peripheral nerve surgery. Committee report of the International Society of Reconstructive Microsurgery. *Clin Plast Surg* 1984;11:3-8.
17. Kline DG, Hackett ER, Davis GD, Myers MB, Nobel W, Black D. Letter: Microcirculation of peripheral nerves. *J Neurosurg* 1975;42:114.
18. Millesi H. The nerve gap. Theory and clinical practice. *Hand Clin* 1986;2:651-63.
19. Sunderland S. Blood supply of nerves of the upper limb in man. *Archives of Neurology and Psychiatry* 1945;53:91.
20. Lundborg G. A method for long term in vivo studies on the microcirculation of a peripheral nerve. *Adv Microcirc* 1970;3:91.

21. Lux P, Breidenbach W, Firrell J. Determination of temporal changes in blood flow in vascularized and nonvascularized nerve grafts in the dog. *Plast Reconstr Surg* 1988;82:133-44.
22. Isenflamm JF, Doerffler JF. *De Vasis Nervorum*. Erlangen; 1768.
23. Quenu J, Lejars F. Les arteres et les veines des nerfs. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences* 1890;111:608.
24. Sunderland S. Blood supply of the peripheral nerves. Practical considerations. *Archives of Neurology and Psychiatry* 1945;54:280.
25. Sunderland S. Blood supply of the sciatic nerve and its popliteal divisions in man. *Archives of Neurology and Psychiatry* 1945;54:283.
26. Taylor GI, Ham FJ. The free vascularized nerve graft. A further experimental and clinical application of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg* 1976;57:413-26.
27. Lundborg G. Intraneural microvascular pathophysiology as related to ischemia and nerve injury. In: Daniel RK, Terzis JK, eds. *Reconstructive Microsurgery*. Boston: Little BrownCo.; 1977:334-41.
28. Terzis JK, Breidenbach WC. The anatomy of the free vascularized nerve grafts. In: Terzis JK, ed. *Microreconstruction of nerve injuries*. Philadelphia: W B Saunders; 1987:101-16.
29. Breidenbach W, Terzis JK. The anatomy of free vascularized nerve grafts. *Clin Plast Surg* 1984;11:65-71.
30. Terzis J, Kostopoulos V. Vascularized Nerve Grafts: A Review. *Atlas of Hand Clinics* 2005;10:101-24.
31. Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg* 1987;40:113-41.

32. Suami H, Taylor GI, Pan WR. Angiosome territories of the nerves of the lower limbs. *Plast Reconstr Surg* 2003;112:1790-8.
33. Taylor GI. Nerve grafting with simultaneous microvascular reconstruction. *Clin Orthop Relat Res* 1978:56-70.
34. Taylor GI. Free vascularized nerve transfer in the upper extremity. *Hand Clin* 1999;15:673-95, ix-x.
35. Del Pinal F, Taylor GI. The venous drainage of nerves; anatomical study and clinical implications. *Br J Plast Surg* 1990;43:511-20.
36. Mehrara BJ, McCarthy JG. Repair and Grafting of Bone. In: Mathes SJ, ed. *Plastic Surgery Second Edition*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006:639-718.
37. Ovalle WK, Nahirney PC. Kemikğin Yapısı. In: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P, eds. *Netter Temel Histoloji*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2009:131-56.
38. Yıldırım M. Osteoglia. In: Yıldırım M, ed. *İnsan Anatomisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2006:53.
39. Heppenstall RB. Fracture healing. In: Heppenstall RB, ed. *Fracture Treatment and Healing*. Philadelphia: W B Saunders; 1980:64.
40. Rhinelander FW. The normal microcirculation of diaphyseal cortex and its response to fracture. *Journal of Bone & Joint Surgery American Volume* 1968;50:784-800.
41. Trueta J. Blood supply and the rate of healing of tibial fractures. *Clin Orthop Relat Res* 1974:11-26.
42. Trueta J, Caladiaz AX. A Study of the Blood Supply of the Long Bones. *Surg Gynecol Obstet* 1964;118:485-98.
43. Rhinelander FW. The normal circulation of bone and its response to surgical intervention. *J Biomed Mater Res* 1974;8:87-90.

44. Rhinelander FW. Tibial blood supply in relation to fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1974;34-81.
45. Otter MW, Palmieri VR, Cochran GV. Transcortical streaming potentials are generated by circulatory pressure gradients in living canine tibia. *J Orthop Res* 1990;8:119-26.
46. Trueta J. The role of vessels in osteogenesis. *Journal of Bone and Joint Surgery British Volume* 1963;45:402-18.
47. Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999;13:1055-66.
48. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999;13:9-22.
49. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18:4-25.
50. Steinbrech DS, Mehrara BJ, Saadeh PB, et al. VEGF expression in an osteoblast-like cell line is regulated by a hypoxia response mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;278:C853-60.
51. Heppenstall RB, Goodwin CW, Brighton CT. Fracture healing in the presence of chronic hypoxia. *J Bone Joint Surg Am* 1976;58:1153-6.
52. Spector JA, Mehrara BJ, Greenwald JA, et al. Osteoblast expression of vascular endothelial growth factor is modulated by the extracellular microenvironment. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C72-80.
53. Owen TA, Aronow M, Shalhoub V, et al. Progressive development of the rat osteoblast phenotype in vitro: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol* 1990;143:420-30.

54. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocr Rev* 1997;18:26-45.
55. Ribatti D, Urbinati C, Nico B, Rusnati M, Roncali L, Presta M. Endogenous basic fibroblast growth factor is implicated in the vascularization of the chick embryo chorioallantoic membrane. *Dev Biol* 1995;170:39-49.
56. Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, et al. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries: an autocrine mechanism contributing to angiogenesis. *J Cell Biol* 1998;141:1659-73.
57. Mandriota SJ, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor-induced in vitro angiogenesis and plasminogen activator expression are dependent on endogenous basic fibroblast growth factor. *J Cell Sci* 1997;110 (Pt 18):2293-302.
58. Wezeman FH, Bollnow MR. Immunohistochemical localization of fibroblast growth factor-2 in normal and brachymorphic mouse tibial growth plate and articular cartilage. *Histochem J* 1997;29:505-14.
59. Debiais F, Hott M, Graulet AM, Marie PJ. The effects of fibroblast growth factor-2 on human neonatal calvaria osteoblastic cells are differentiation stage specific. *J Bone Miner Res* 1998;13:645-54.
60. Mehrara BJ, Mackool RJ, McCarthy JG, Gittes GK, Longaker MT. Immunolocalization of basic fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptor-1 and receptor-2 in rat cranial sutures. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:1805-17; discussion 18-20.
61. Yao ST. Microvascular transplantation of prefabricated free thigh flap. *Plast Reconstr Surg* 1982;69:568.
62. Pribaz JJ, Fine N, Orgill DP. Flap prefabrication in the head and neck: a 10-year experience. *Plast Reconstr Surg* 1999;103:808-20.

63. Mathes SJ, Hansen SL. Flap Classification and Applications. In: Mathes SJ, ed. Plastic surgery. Philadelphia: Saunders, Elsevier; 2006:408.
64. Pribaz JJ, Fine NA. Prelamination: defining the prefabricated flap--a case report and review. *Microsurgery* 1994;15:618-23.
65. Beck CS TV. Production of collateral circulation to the heart. *American Heart Journal* 1935;10:849.
66. Vineberg AM. Development of anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery. *J Thorac Surg* 1949;18:839-50, illust.
67. Diller JG, Hartwell SW, Anderson R. Mesenteric vascular pedicle in full thickness skin grafts. *Surg Forum* 1965;16:471.
68. Washio H. An intestinal conduit for free transplantation of other tissues. *Plast Reconstr Surg* 1971;48:48-51.
69. Erol OO, Spira M. Development and utilization of a composite island flap employing omentum: experimental investigation. *Plast Reconstr Surg* 1980;65:405-18.
70. Yao ST. Vascular implantation into skin flap: experimental study and clinical application: a preliminary report. *Plast Reconstr Surg* 1981;68:404-10.
71. Orticochea M. A new method for total reconstruction of the nose: the ears as donor areas. *Br J Plast Surg* 1971;24:225-32.
72. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. Neovascularized free fat flaps: an experimental model. *J Reconstr Microsurg* 1988;4:197-201.
73. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. Neovascularized bone, muscle, and myosseous free flaps: an experimental model. *J Reconstr Microsurg* 1988;4:209-15.

74. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. Prefabricated sensate myocutaneous and osteomyocutaneous free flaps: an experimental model. Preliminary report. *Plast Reconstr Surg* 1988;82:440-6.
75. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. Neovascularized free cutaneous cartilage flap transfer with microsurgical anastomosis: an experimental model in the rabbit. *Ann Plast Surg* 1988;21:342-7.
76. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. Creation of neovascularised free flaps using vein grafts as pedicles: a preliminary report on experimental models. *Br J Plast Surg* 1989;42:216-22.
77. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ, Newlin LY. Customized prefabricated neovascularized free flaps. *Microsurgery* 1987;8:218-24.
78. Valauri FA, Hirase Y, Buncke HJ. Prefabricated neovascularized free muscle flaps: pedicle variations. *J Reconstr Microsurg* 1988;4:203-7.
79. Bayramiçli M. Deneysel Flep Modelleri. In: Bayramiçli M, ed. *Deneysel Mikrocerrahi*. İstanbul: ARGOS; 2005:663-72.
80. Pribaz JJ, Fine NA. Prefabricated and prelaminated flaps for head and neck reconstruction. *Clin Plast Surg* 2001;28:261-72, vii.
81. Pribaz JJ, Weiss DD, Mulliken JB, Eriksson E. Prelaminated free flap reconstruction of complex central facial defects. *Plast Reconstr Surg* 1999;104:357-65; discussion 66-7.
82. Gillies H. A new free graft applied to the reconstruction of nostril. *British Journal of Surgery* 1942;30:305.
83. Furnas DW. Temporal osteocutaneous island flaps for complete reconstruction of cleft palate defects. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1987;21:119-28.
84. Erol OO. The transformation of a free skin graft into a vascularized pedicled flap. *Plast Reconstr Surg* 1976;58:470-7.

85. Sakata J, Vacanti CA, Schloo B, Healy GB, Langer R, Vacanti JP. Tracheal composites tissue engineered from chondrocytes, tracheal epithelial cells, and synthetic degradable scaffolding. *Transplant Proc* 1994;26:3309-10.
86. Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg* 1994;29:201-4; discussion 4-5.
87. Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg* 1997;100:297-302; discussion 3-4.
88. Mathy JA, Pribaz JJ. Prefabrication and prelamination applications in current aesthetic facial reconstruction. *Clin Plast Surg* 2009;36:493-505.
89. Taghinia AH, Pribaz JJ. Complex nasal reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2008;121:15e-27e.
90. Myers MB, Cherry G. Augmentation of tissue survival by delay: an experimental study in rabbits. *Plast Reconstr Surg* 1967;39:397-401.
91. Cormack GC, Lamberty BGH. *The Arterial Anatomy of Skin Flaps* 2nd Edition. New York: Churchill Livingstone; 1994.
92. Prince D. A new classification and brief exposition of plastic surgery. In: Strauch B, Vasconez LO, Hall-Findlay ED, eds. *Grabb's Encyclopedia of Flaps* 2nd edition. Philadelphia: Lippincot-Raven; 1998.
93. Gilles HD. The tubed pedicle in plastic surgery. *N Y J Med* 1920;111:1.
94. Milton SH. The effects of "delay" on the survival of experimental pedicled skin flaps. *Br J Plast Surg* 1969;22:244-52.
95. Pearl RM. A unifying theory of the delay phenomenon--recovery from the hyperadrenergic state. *Ann Plast Surg* 1981;7:102-12.

96. Finseth F, Cutting C. An experimental neurovascular island skin flap for the study of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1978;61:412-20.
97. Cutting CB, Bardach J, Finseth F. Haemodynamics of the delayed skin flap: a total blood-flow study. *Br J Plast Surg* 1981;34:133-5.
98. Amenta F, Mione MC, Napoleone P. The autonomic innervation of the vasa nervorum. *J Neural Transm* 1983;58:291-7.
99. Beggs J, Johnson PC, Olafsen A, Watkins CJ, Cleary C. Transperineurial arterioles in human sural nerve. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991;50:704-18.
100. Rechthand E, Hervonen A, Sato S, Rapoport SI. Distribution of adrenergic innervation of blood vessels in peripheral nerve. *Brain Res* 1986;374:185-9.
101. Appenzeller O, Dhital KK, Cowen T, Burnstock G. The nerves to blood vessels supplying blood to nerves: the innervation of vasa nervorum. *Brain Res* 1984;304:383-6.
102. Lundborg G. Intraneural microcirculation. *Orthop Clin North Am* 1988;19:1-12.
103. Selander D, Mansson LG, Karlsson L, Svanvik J. Adrenergic vasoconstriction in peripheral nerves of the rabbit. *Anesthesiology* 1985;62:6-10.
104. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG. An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:408-16; discussion 17-8.
105. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, Minabe T. An anatomic review of the delay phenomenon: I. Experimental studies. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:397-407; discussion 17-8.
106. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is a surgical delay effective? An experimental study. *Plast Reconstr Surg* 1995;95:526-33.

107. Ghali S, Butler PE, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular delay revisited. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:1735-44.
108. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-36.
109. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993;88:1264-72.
110. Murphy RC, Lawrence WT, Robson MC, Hegggers JP. Surgical delay and arachidonic acid metabolites: evidence for an inflammatory mechanism: an experimental study in rats. *Br J Plast Surg* 1985;38:272-7.
111. Wong MS, Erdmann D, Sweis R, et al. Basic fibroblast growth factor expression following surgical delay of rat transverse rectus abdominis myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:2030-6.
112. Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W, Oswald TM, Cui D, Zhang F. Vascular endothelium growth factor, surgical delay, and skin flap survival. *Ann Surg* 2004;239:866-73; discussion 73-5.
113. Tepper OM, Capla JM, Galiano RD, et al. Adult vasculogenesis occurs through in situ recruitment, proliferation, and tubulization of circulating bone marrow-derived cells. *Blood* 2005;105:1068-77.
114. Ozgentas HE, Shenaq S, Spira M. Study of the delay phenomenon in the rat TRAM flap model. *Plast Reconstr Surg* 1994;94:1018-24; discussion 25-6.
115. Pang CY, Forrest CR, Neligan PC, Lindsay WK. Augmentation of blood flow in delayed random skin flaps in the pig: effect of length of delay period and angiogenesis. *Plast Reconstr Surg* 1986;78:68-74.
116. Jonsson K, Hunt TK, Brennan SS, Mathes SJ. Tissue oxygen measurements in delayed skin flaps: a reconsideration of the mechanisms of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1988;82:328-36.

117. Sano K, Hallock GG, Rice DC. The relative importance of the deep and superficial vascular systems for delay of the transverse rectus abdominis musculocutaneous flap as demonstrated in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:1052-7; discussion 8-9.
118. Park S, Tepper OM, Galiano RD, et al. Selective recruitment of endothelial progenitor cells to ischemic tissues with increased neovascularization. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:284-93.
119. Bayramiçili M. Laboratuvar Sıçanı Anatomisi. In: Bayramiçili M, ed. *Deneysel Mikrocerrahi*. İstanbul: ARGOS; 2005:181.
120. Greene EC. *Anatomy of the Rat*. Philadelphia: Transactions of the American Philosophical Society; 1935.
121. Jager M, Sager M, Lensing-Hohn S, Krauspe R. The critical size bony defect in a small animal for bone healing studies (I): Comparative anatomical study on rats' femur. *Biomed Tech (Berl)* 2005;50:107-10.
122. Rees MJ, Taylor GI. A simplified lead oxide cadaver injection technique. *Plast Reconstr Surg* 1986;77:141-5.
123. Safak T, Akyurek M, Ozcan G, Kecik A, Aydin M. Osteocutaneous flap prefabrication based on the principle of vascular induction: an experimental and clinical study. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:1304-13.
124. Top H, Mavi A, Barutcu A, Yilmaz O. Osteocutaneous flap prefabrication in rats. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:574-84.
125. Keçik A. Combined repair of the mucous membrane and bone in jaw deformities. An experimental study. *Turkish Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* 1982;2:59.
126. Manson PN. Facial bone healing and bone grafts. A review of clinical physiology. *Clin Plast Surg* 1994;21:331-48.

127. Burstein FD, Ariyan S, Chicarilli Z, Canalis RF. The effect of periosteal preservation on osteogenesis in a canine rib autograft model: tetracycline fluorescence incident photometry. *J Craniofac Surg* 1994;5:161-71.
128. Akyurek M, Ozkan O, Bozkurt MF, Safak T. Preserving osseous viability in osteocutaneous flap prefabrication: experimental study in rabbits. *J Reconstr Microsurg* 2003;19:571-6.
129. Khouri RK, Koulsi B, Reddi H. Tissue transformation into bone in vivo. A potential practical application. *JAMA* 1991;266:1953-5.
130. Mankani MH, Krebsbach PH, Satomura K, Kuznetsov SA, Hoyt R, Robey PG. Pedicled bone flap formation using transplanted bone marrow stromal cells. *Arch Surg* 2001;136:263-70.
131. Vogelien E, Jones NF, Huang JI, Brekke JH, Lieberman JR. Healing of a critical-sized defect in the rat femur with use of a vascularized periosteal flap, a biodegradable matrix, and bone morphogenetic protein. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:1323-31.
132. Casabona F, Martin I, Muraglia A, et al. Prefabricated engineered bone flaps: an experimental model of tissue reconstruction in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:577-81.
133. Holt GE, Halpern JL, Dovan TT, Hamming D, Schwartz HS. Evolution of an in vivo bioreactor. *J Orthop Res* 2005;23:916-23.
134. Keser A, Bozkurt M, Taner OF, Akan M, Sensoz O. Prefabrication of bone by vascular induction: an experimental study in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2004;38:257-60.
135. Kostakoglu N, Manek S, Green CJ. The development of neovascularisation in flap prefabrication with vascular implantation: an experimental study. *Br J Plast Surg* 1997;50:428-34.

136. Ono H, Tamai S, Yajima H, Fukui A, Inada Y, Mizumoto S. Blood flow through prefabricated flaps--an experimental study in rabbits. *Br J Plast Surg* 1993;46:449-55.
137. Gill DR, Ireland DC, Hurley JV, Morrison WA. The prefabrication of a bone graft in a rat model. *J Hand Surg Am* 1998;23:312-21.
138. Ozkan O, Akyurek M, Safak T, Acar B, Ozgentas HE, Kecik A. Neuromuscular and neuromusculocutaneous flaps in the rat. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2006;59:279-90.
139. Bayram C. Prefabrike Nörokutan Ada Flebi Modeli: Sıçan Siyatik Sinirinde Deneysel Çalışma [Deneysel Çalışma]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
140. Sonmez E, Safak T, Kecik A. Gluteus maximus neural-island flap model in the rat. *Ann Plast Surg* 2008;61:325-9.
141. Sonmez E, Ozdemir H, Safak T, Kecik A. A modification of the neural-island flap: 'split neural-island flap'. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2009;62:85-92.
142. Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg Am* 1975;57:938-48.
143. Lundborg G. The intrinsic vascularization of human peripheral nerves: structural and functional aspects. *J Hand Surg Am* 1979;4:34-41.
144. Bell MA, Weddell AG. A morphometric study of intrafascicular vessels of mammalian sciatic nerve. *Muscle Nerve* 1984;7:524-34.
145. Bell MA, Weddell AG. A descriptive study of the blood vessels of the sciatic nerve in the rat, man and other mammals. *Brain* 1984;107 (Pt 3):871-98.
146. Guyton Ac. *Guyton Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: W B SAunders; 1991.

147. Maki Y, Firrell JC, Breidenbach WC. Blood flow in mobilized nerves: results in a rabbit sciatic nerve model. *Plast Reconstr Surg* 1997;100:627-33; discussion 34-5.
148. Lundborg G. Ischemic nerve injury. Experimental studies on intraneural microvascular pathophysiology and nerve function in a limb subjected to temporary circulatory arrest. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1970;6:3-113.
149. Taylor GI, Minabe T. The angiosomes of the mammals and other vertebrates. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:181-215.