

GİRİŞ VE AMAÇ

Plastik cerrahi teknikleri arasında flep uygulamaları önemli yer tutmaktadır. Son yıllarda sadece içerdiği venöz sistem vasıtasıyla yaşayabilen “venöz flepler” gündeme gelmiştir (1). Venöz fleplerin diğer fleplere kıyasla bazı avantajları vardır. Örneğin, yüz ve el gibi bölgelerin flep kaplaması gerektiren durumlarında, yüzeysel venlerin beslediği venöz flepler ince bir kaplama sağlarlar. Ayrıca flebin yaşaması için büyük bir arterin sakrifiye edilmesine gerek kalmaması ve elin kompoze doku kayıplarında tek aşamalı onarımlara izin vermeleri de önemli avantajlarındandır. Bununla birlikte venöz fleplerin yaşam oranları ile ilgili sorunlar vardır. Çeşitli tipleri bulunan bu flepler, her zaman tamamıyla yaşamamaktadır. Yaşam oranlarını artırmak için flebin venöz sisteminin arteriyel bir sisteme anastomozu gibi teknik yöntemlerin de önerildiği (2) venöz fleplerde, metabolik değişiklikler de araştırılmaktadır (3-7).

Nitrik oksit (NO) son yıllarda flep fiziolojisinde üzerinde sık durulan endojen bir maddedir. Normal şartlarda vasküler tonusu düzenlemekte önemli rolü varken, fleplerdeki iskemi durumlarında artmakta (8,9) ve flep yaşamını olumsuz etkilemektedir. Bu olay fleplerde nitrik oksit sentez inhibitörlerinin verilmesinin flep yaşam oranını artırması ile gösterilmiştir (10,11). Fakat sentez öncüleri verilerek flep yaşamının artırıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (12). Bu çelişkili durum nitrik oksit'in çift etkili bir madde oluşundan kaynaklanabilir; vazodilatasyon yaparak fleplerde perfüzyonu artırıp olumlu etki gösterebilirken, öte yandan da kendisi veya süperoksit ile oluşturduğu ürünler sitotoksik etkiler yapabilmektedir.

Arteriyel kan akımı ile beslenen fleplerde bile belli bir oranda iskemi olduğunu göz önüne alırsak, venöz fleplerde de iskemi olacağı açıktır. Dolayısıyla nitrik

oksit'in artmış olma ihtimali vardır. Fakat bu konu ulaşabildiğimiz kaynaklara göre literatürde yer almamıştır. Bu çalışma ile deneysel iskemik venöz fleplerde nitrik oksit seviyelerinde olabilecek değişiklikler tespit edilecek, oluşturulacak gruplara nitrik oksit'in artmasını sağlayan sentez öncüleri ve nitrik oksit'in azalmasını sağlayan sentez inhibitörleri verilerek flep yaşamında olabilecek değişiklikler araştırılacaktır. Çalışmada hem sentez öncülerinin hem de sentez inhibitörlerinin verilmesinin nedeni, NO'in flep yaşamı üzerindeki olası etkilerinin daha güçlü olarak vurgulanabilmesidir; hem artışının, hem de azalışının flep yaşamı üzerinde zıt yönlerde etki göstermesi halinde NO'in flep yaşamına etkisi güçlü bir şekilde tartışılabilecektir. Ayrıca yukarıdaki nedenlerle, teorik olarak nitrik oksit'in hem artmasının, hem de azalmasının olumlu etkiler oluşturma ihtimali vardır. Venöz fleplerle ilgili olarak bu bilgiler literatürde yer almamaktadır ve çalışmaları venöz fleplerin patofizyolojisinin anlaşılmasına önemli katkılar sağlayacaktır. Çalışmada olumlu sonuçlar alınması halinde, klinikte sınırlı olarak kullanılmakta olan ve yaşam oranlarının artırılmasına ihtiyaç bulunan venöz fleplerin yaşam oranlarını ve kullanım alanlarını artırmak mümkün olabilecektir.

GENEL BİLGİLER

FLEPLERLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

Plastik cerrahi pratiğinde geniş yer tutan fleplerin kullanımı sekizinci yüzyıla kadar dayanır. Bu dönemde pediküllü deri flepleri, cerrahi geciktirme yapılmış flepler, tüp pediküllü flepler çokça kullanılmıştır; bu süreç I. ve II. Dünya Savaşı'na kadar sürmüştür. 1950'li ve 1960'lı yıllarda bölgesel aksiyel yapıli flepler özellikle baş-boyun bölgesinin onarımında kullanılmaya başlamıştır. Ayrıca, bu dönemin ortalarında kas-deri flepleri, sonlarına doğru kemik-kas-deri flepleri tanımlanmıştır. 1970'ler random ve aksiyel yapıli flepler arasındaki farklılıkların irdelendiği, kas, kas-deri fleplerinin geliştirildiği ve serbest fleplerin uygulanmaya başlandığı dönemdir. 1980'lerden sonra fasyakütanöz sistem perforatörleri tanımlanmış, osteofasyakütanöz flepler geliştirilmiştir. Venöz flepler de ilk olarak bu dönemde tanımlanmıştır. Ayrıca bu dönemde perforatör sistem incelenmiş ve perforatör bazlı flepler kullanıma girmiştir (13).

Flep sınıflaması

Günümüzde çeşitliliği çok artmış olan flepler, farklı özelliklerine göre sınıflamalara ayrılmıştır. Henüz geniş bir uzlaşa sağlanamasa da bunlar içerisinde en sık kullanılanlardan birisi fleplerin kanlanmasına göre yapılan sınıflamadır.

Fleplerin kanlanmaları iki farklı damar grubu ile olur (14):

1-Muskülokütanöz arterler: İki çeşit deri flebinin hazırlanabilmesini sağlar:

a- Random deri flebi: Muskülokütan perforatör ile beslenir.

b- Kas-deri flebi: Perforatör, kas ile kasın üzerindeki deriyi besler.

2-Septokütanöz arterler: İki çeşit deri flebinin hazırlanmasına olanak sağlar:

a- Fasyakütan flep: Fasyakütan arterden beslenir.

b- Aksiyel (Arteriyel) flep: Aksiyel bir damardan beslenir.

DERİNİN KANLANMASI

İnsanda derinin kanlanması muskülokütanöz arterler ve septokütanöz arterler aracılığı ile olur. Muskülokütanöz arterler random yapılı fleplerin kaldırılabilmesine olanak tanırken, septokütanöz arterlerden aksiyel yapılı flepler hazırlanır (14).

Deri, kan desteğini üç farklı anatomik seviyede bulunan beş ayrı katmanın birbiri ile köprü oluşturması ile meydana getirdiği vasküler ağ ile sağlar. Bu anatomik seviyeleri fasya, subkütan yağ dokusu ve deri oluştururken, vasküler pleksuslar ise, fasyal pleksus, subkütanöz pleksus, subdermal pleksus, dermal pleksus, ve subepidermal pleksustan oluşur (14).

Fasyal pleksus kas fasyası ile ilişkilidir. Prefasyal, intrafasyal ve subfasyal olmak üzere üç komponenti vardır. Bunların içinde en önemli olanı prefasyal komponenttir. Bunun nedeni septokütanöz ve muskülokütanöz arterlerin derin fasyayı geçtiklerinde verdikleri dallardan oluşmasıdır (14).

Subkütan pleksus, yüzeysel fasya seviyesinde subkütan yağ dokusunu yoğun ve gevşek yağ dokusu olmak üzere ikiye ayıran önemli bir vasküler yapıdır. Bu fasyal plan hayvanlarda panniculus carnosus, insanda platysma kası ve Camper-Scarpa fasyasına karşılık gelmektedir (14).

Subdermal pleksus, retiküler dermis ile subkütan yağ dokusu arasında yer alır. Derinin kan desteğinden primer olarak sorumludur. Çok sayıda arteriyol yoğun bir şekilde dik veya oblik olarak bu pleksusa girerken aynı zamanda bir kısmı aşağıya subdermal yağ dokusuna geri döner (14).

Dermal ve subdermal pleksuslar derinin gerçek kan dolaşımından sorumludurlar. Arteriyol ve venüllerden oluşmuştur. Birbirlerine çok yakın olarak seyredirler ve her iki yapı arasında glomus adı verilen arteriyovenöz anastomozlar bulunur. Subdermal pleksusta bulunan arteriyollerde devamlı kas yapısı bulunurken dermal pleksusta bulunan arteriyollerde bu devamlılık görülmez. Bu özellikler, subdermal pleksusta bulunan arteriyollere dağıtım fonksiyonu kazandırır. Dermal pleksustakiler ise ısı düzenlenmesinde etkindir. Subepidermal pleksusun papiller uzantıları ise kapillerleri oluşturur; hiç kas yapısı bulundurmazlar ve bundan dolayı derinin beslenme ve metabolit değişimini üstlenirler (14).

Deri perfüzyonunu sağlayan mikrodolaşım ünitesi arteriyol, prekapiller sfinkter, kapiller, postkapiller sfinkter, venül ve bu yapının önünde (proksimalinde) yer alan arteriyo-venöz şanttan oluşur (15). Arteriyovenöz şantlar kanın kapiller yatağa uğramadan geçmesini ve böylece deriye gelen kan akımının artmasını sağlarlar. Sempatik inervasyondan zengindirler (14).

Poiseuille kanununa göre damarlardan geçen kan miktarı, damar çapının dördüncü kuvveti ile ters orantılıdır (15). Bu nedenle, damar çaplarını değiştiren vasküler düz kaslar mikrodolaşımda önemli rol oynarlar.

Deriye gelen kan miktarını düzenleyen iki ana fizyolojik kontrol sistemi vardır. Bu kontrol sistemleri derinin mikrodolaşımını değiştirerek deriye gelen kan akımını ayarlarlar. Dolayısıyla deri fleplerinin yaşamları ile doğrudan ilişkilidirler. Bunlar *sistemik* ve *lokal* kontrol sistemleridir (14).

Sistemik kontrol, nöral ve hormonal düzenleme ile sağlanır. Sempatik sinir sistemi damar düz kaslarındaki alfa (α) reseptörleri uyararak vazokonstriksiyon, beta (β) reseptörleri uyararak vazodilatasyon oluşturur. Sempatik denervasyon, sempatik tonusu ortadan kaldıracığı için damarların genişlemesine ve kan akımının artmasına sebep olur. Hormonal düzenleme ise, dolaşımdaki katekolaminler, prostaglandinler gibi vazoaaktif maddelerin damar düz kaslarını etkileyerek vazokonstriksiyon veya vazodilatasyon yapması ile sağlanır (14).

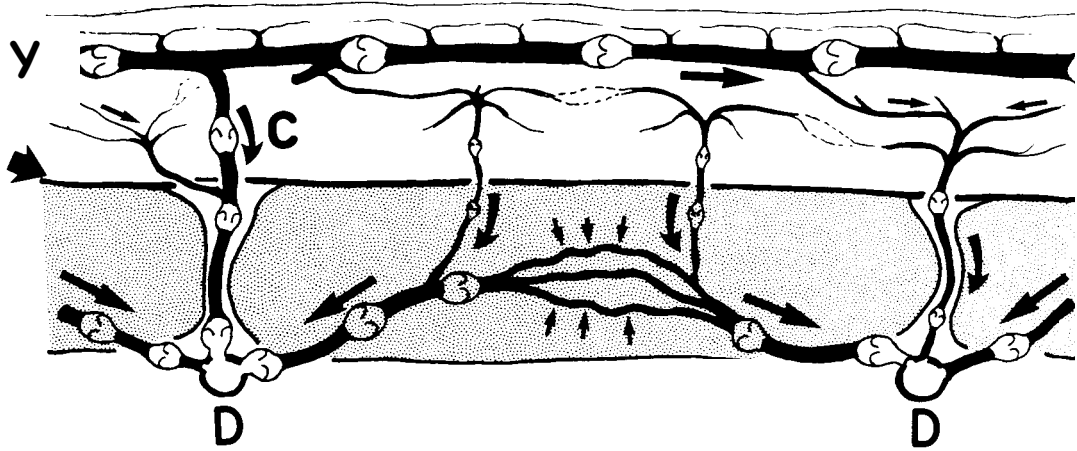
Lokal kontrol ise metabolizma yıkım ürünleri, sıcaklık değişimi ve lokal faktörlerin devreye girmesi ile oluşur. Örneğin pCO₂'de artış (hiperkapni), PO₂'de azalma (hipoksi), pH'da düşme (asidoz), vazodilatasyon etkisi oluşturur (14).

Derinin venöz drenajı

Derinin venöz drenajı iki sistemle gerçekleşir (16). Birincisi subdermal venöz sistemdir ki, venöz dönüşün büyük bir kısmı bu sistemle gerçekleşir; ikincisi ise deri ve deri altı dokuları drene eden ve arterlere eşlik eden “vena comitantes” lerdir. Her iki sistem birbirleri ile bağlantı oluştururlar ve içlerindeki kapakçıkların yardımı ile kanı derin venöz sisteme aktarırlar. Akım yönü çoğunlukla yüzeyelden derine doğrudur, ancak elin palmar yüzü ile ayağın plantar yüzünde bu akım ters yöndedir.

Subkütan venleri derin venlere bağlayan sistemin adı ise “vena communicantes”tir. Derin arterlere eşlik edebilirler. “Vena comitantes” ler ise genellikle küçük arterlere eşlik ederek subkütan yağ dokusunun derin kısmını drene eder (Şekil 1).

Venlerdeki kapakçıklar venöz kanı yüzeyelden derin venlere yönlendirmede fonksiyon kazanmışlardır. Ada fleplerinde kapakçıkların venöz kana verdikleri akım yönü göz önünde tutulmazsa venöz akım bozulabilir ve sonuç olarak flep venöz yetmezlikten kaybedilebilir (16).



Şekil 1. Derinin venöz drenajı (D: Derin venöz sistem, Y: Yüzeyel venöz sistem, C: Vena communicantes)

VENÖZ FLEPLER

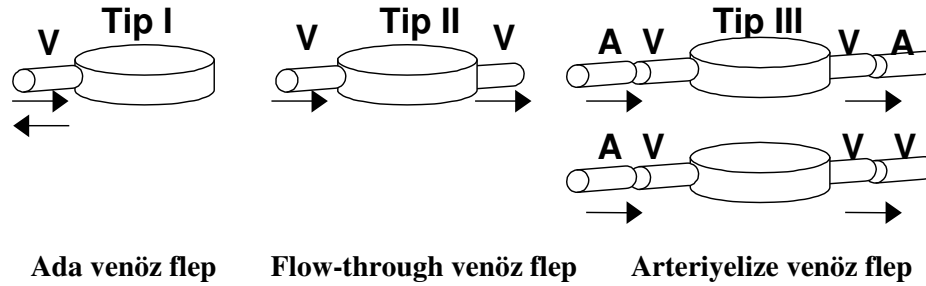
Venöz flepler deri altı venöz sistem aracılığı ile canlılığını koruyan, kompozit doku kayıplarının onarımına da izin veren, lokal veya serbest flep olarak kullanılabilen dokulardır.

İlk venöz flep sınıflaması Thatte ve Thatte (17) tarafından yapılmıştır. Günümüzde venöz flep kavramı hala tartışmalı olsa da tüm dünyada kabul gören geçerli sınıflama Ueda' nın yaptığı sınıflamadır (Şekil 2) (18).

Tip I Venöz Flep (Tip I VF) : Flebi besleyen ve drene eden venin aynı olduğu, flebin tek pedikülle beslendiği venöz flep modelidir.

Tip II Venöz Flep (Flow-Through=İçinden akımlı, üzerinden akımlı) (Tip II FTVF) : Flebe giren ve çıkan ven aynıdır. Distal uçtan girip proksimal uçtan çıkan tek ven ile beslenir.

Tip III Venöz flep (Arteriyelize Venöz Flep, Tip III AVF) : Tip II (flow-through) venöz flebin serbest bir flep gibi proksimal damarının alıcı yataktaki bir arterle, distal damarının ise alıcı yataktaki bir arter veya bir venle anastomoz edildiği venöz flep modelidir.



Şekil 2. Venöz fleplerin şematik olarak sınıflaması

Venöz fleplerin tarihsel gelişimi

Venöz fleplerle ilgili ilk çalışma 1980' lerin başına kadar dayanır. O zamana kadar klasik flep modelleri ve bunların beslenmesi iyi tanımlanmış, fizyolojik mekanizmalar değişmez kurallar olarak görülmüştür. Klasik fleplerin perfüzyonu William Harvey tarafından tarif edilen ve "Harverian Model" olarak da bilinen ana arter, arteriyol, kapiller, venül, toplayıcı ven sırasını izlerken (19) venöz flepler ilk kez bu dolaşım modelinin dışına çıkarak büyük tartışmalar başlatmıştır. Bu tartışmaların nedeni o güne kadar bilinen klasik doku beslenme modeline aykırı şekilde beslenen bir flep tariflenmesidir (1).

Venöz flep kavramı 1981’de Nakayama ve arkadaşlarının (20) arteriyelize edilmiş ven pediküllü flepte venöz sistem aracılığı ile kan dolaşımının sağlanabileceği düşüncesinden yola çıkılarak ortaya atılmıştır. Sıçan karın duvarında yapılan bu deneysel çalışma aynı zamanda venöz fleplerle ilgili yapılan ilk çalışmadır.

Daha sonra yapılan bir diğer çalışmada sıçanlarda süperfisyal inferior epigastrik ven ile femoral arter arasında arteriovenöz fistül oluşturulmuş ve üç hafta sonra bu fistül aracılığı ile arteriyelize edilmiş venöz fleplerin yaşamının artırıldığı gösterilmiştir (2). Yapılan bu iki çalışma arteriyelize venöz fleplerle (tip III venöz flep) ilgili öncü çalışmalardır.

Literatür incelendiği zaman, venöz fleplerle ilgili tartışmaların iki ana sorun üzerinde toplandığı görülmektedir. Birincisi bu dokuların nasıl yaşayabildiğinin açıklanabilmesi, ikinci ise bazı avantajları olmasına rağmen canlı kalabilen alanlarının kısıtlı olması sorununun nasıl aşılabacağıdır.

Tip I ve Tip II venöz fleplerin karşılaştırıldığı ilk çalışma olan 1985’deki Baek ve arkadaşlarının araştırmasında (1), tek pediküllü (Tip I VF) venöz fleplerin yaşamadığı, bipediküllü (Tip II FTVF) venöz fleplerin ise yaşayabildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, hemodinamik ve mikroanjiyografik incelemelere dayanarak venden kapillerlere geri akım olduğu, kanın bu ileri geri hareketi sayesinde flebin canlı kalabildiği bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışma Tip II (FTVF) venöz fleplerin tanımlandığı ilk çalışma da olmuştur (1). Ancak Thatte ve arkadaşları 1989’da radyoaktif işaretleme ile yaptıkları dinamik kompüterize görüntülemenin kullanıldığı araştırmada bu ileri-geri hareketin Tip I venöz fleplerde de gerçekleştiğini göstermiş ve Baek’in bu görüşüne katılmamışlardır (21). Ayrıca Baek ve arkadaşlarının Tip I venöz fleplerin yaşam oranlarının düşük olduğu yönündeki görüşüne, 1987 yılında Thatte ve Thatte (22), Tip I venöz fleplerle ilgili yaptıkları çalışmada karşı çıkmışlar, Tip I venöz fleplerin yaşam oranlarının iyi olduğunu savunmuşlardır. Yine Thatte ve Thatte (23) 1987 yılında sol ön kolda hipertrofik skarı bulunan bir hastada skar eksizyonu sonrası oluşan defekti, hazırladıkları sefalik bazlı Tip I venöz fleple onardıklarını, benzer bir flebi alt ekstremitede de başarılı bir şekilde uyguladıklarını bildirmişlerdir.

Chavoïn ve arkadaşları (24) ise venöz fleplerde “hemodinamik model” adı verdikleri ve kapilleroskopinin kullanıldığı çalışmalarında kanın venülden arteriyovenöz şant aracılığıyla arteriyole ve oradan kapillerlere geçtiği, dokunun

beslenmesi için gerekli olan besleyici madde ve metabolit değişimini bu şekilde sağladığını ileri sürmüştür. Bu çalışmada arteriovenöz şantların çokluğu nedeni ile venöz fleplerin ancak el ve ayak distalinde uygulandıkları takdirde yaşayabileceği söylenmişse de sonraki yapılan çalışmalarda vücudun diğer bölgelerinde de venöz fleplerin yaşayabildiği gösterilmiştir (23).

Sasa ve arkadaşları, köpek safen ve sefalik ven bazlı FTVF modelini kullandığı radyoaktif mikrosfer ile yaptığı çalışmasında venöz kanın postkapiller venül seviyesine kadar geri akımla gittiği, venül seviyesinde besleyici madde değişimini gerçekleştirdiğini ileri sürmüş, venöz kanın besleyici madde taşıma görevi dışında flebin yatak ile hızlı revaskülarizasyonuna katkıda bulunduğunu söylemiştir (25).

Amarante ve arkadaşları (26), 1988'de köpeklerde yaptıkları çalışmada Tip I venöz flep olarak kaldırdıkları fleplerin yaşamadığını, aksine kaldırdıkları Tip II (FTVF) venöz fleplerin tümünün yaşadığını göstererek Baek ve arkadaşlarının (1) bulgularını desteklemişlerdir. Ayrıca Tip II venöz fleplerin, giren veya çıkan veni ya da her ikisi birden başka venlere anastomoz edilerek değişik bölgelere taşınabileceğini göstermişlerdir (26).

Noreldin ve arkadaşlarının (27) sıçanlarda inferior epigastrik ven bazlı Tip I venöz flepler üzerinde yaptıkları çalışmalarda perivenöz areolar dokunun korunması ile venöz flep yaşam oranlarının arttığını, bunun da perivenöz areolar doku içindeki arter kanını taşıyan az sayıda arteriyoller aracılığı ile oluştuğunu bildirilmiştir. Bu çalışma, venöz fleplerin nasıl canlı kalabildiği ile ilgili yapılan temel çalışmalardan biridir. Bu araştırma sonuçları, Adamo ve arkadaşlarının 1996'da (28), Tercan ve arkadaşlarının 1997'de (29), yaptıkları çalışmalarda buldukları benzer bulgular ile desteklenmiştir.

Suzuki ve arkadaşları, tavşan kulağı venöz flep modelini kullandıkları deneysel çalışmada, flebin tabandan plazma emilmesiyle ve hızlı revaskülarizasyonla canlılığını sürdürdüğünü ileri sürmüştür (30). Aynı görüşü Fukui (31) ve Dvir (32), yaptıkları çalışmalarda desteklemişlerdir.

Matsushita ve arkadaşları tavşan torako-epigastrik ven bazlı FTVF modelinde yaptıkları çalışmada venöz kanın venöz sistemi doldurup vasküler yapıları açık tutarak flebin yatakla hızla revaskülarizasyon sağladığını, bu fleplerin hızlı

revaskularizasyon ile hayatta kaldığını ileri sürmüş (5), Xui ve ark'ları (33) ise tavşan torako-epigastrik ven bazlı FTVF modelinde yaptıkları çalışmada flebin tabanla değil, yatak kenarı ile hızlı revaskularizasyon gerçekleştirdiğini ve bu sayede canlılığını sürdürdüğünü söyleyerek Matsushita ve arkadaşlarının (5) görüşüne karşı çıkmıştır.

Venöz fleplerin yaşayabilir boyutlarının nasıl artırılacağı ile ilgili çalışmalar, yaşam hipotezlerinden sonra, literatürde ikinci sıklıkta yer almaktadır. Bir çok avantajları olmasına rağmen büyük boyutlarda hazırlandıklarında yaşamlarında karşılaşılan sorunlar, bu flepleri sadece elin küçük doku kayıplarında kullanılabilir hale getirmiştir. Bu nedenle klinik kullanımı kısıtlıdır.

FTVF'lerin daha geniş boyutta kaldırılabilmesi için ilk çalışma, 1993'te Ueda ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu deneysel çalışmada tavşan kulağı dorsal yüzündeki santral venin ön dalı, flow through ven olarak kullanılmıştır. Bu flepler 8x1,5 cm boyutlarda tam kat kompoze kulak dokusundan hazırlanmış ve sırası ile 2,7,14 ve 21 günlük cerrahi geciktirme uygulanmıştır. Cerrahi geciktirme ile canlı alanlarda artış sağlanmıştır (18).

Tokato ve arkadaşları 1993'te tavşanlarda yaptıkları çalışmada sol epigastrik veni, tavşan karın ön duvarının altına gömerek prefabrike etmiş, 2, 3, 4, ve 6 hafta sonra kaldırdığı fleplerin altına silikon örtü koyarak tekrar yerine sütüre etmiş ve 10 gün sonra flep canlılığı değerlendirildiğinde prefabrikasyondan üç hafta sonra kaldırılan fleplerde canlılık oranlarının kontrol grubuna göre yaklaşık olarak üç kat arttığını gözlemlemiştir (34).

Flep boyutunu artırmak için yapılan bir başka çalışma da Fukui ve arkadaşlarının 1989'da yaptıkları çalışmadır (35). Bu çalışmada flep içinden geçen aksiyel ven ve yapılan anastomoz sayısındaki artışın flep canlılığını artırdığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca klinik uygulamalara da yer verilmiş, içinden geçen aksiyel ven sayısının üç olduğu bir vakada 6x6 cm'lik boyutta bir FTVF kaldırıldığı ve bu flebin %100 canlı kaldığı gösterilmiştir.

Alıcı yataktaki anastomoz sayısının artırılması ile flep canlılığının arttığı gösterilen başka bir çalışma ise Nishi'nin 1994'te yaptığı klinik çalışmadır (36). Bu çalışmada kasık, ayak dorsumu, ve ön koldan kaldırılan serbest FTVF'lerde anastomoz sayısını artırarak flep boyutunda bir artma sağlandığı bildirilmiştir.

İnada ve arkadaşlarının 1993'te yaptığı tavşan kulağı arteriyelize venöz flep çalışmasında, drenajın birden çok ven tarafından sağlandığı durumlarda flep yaşamının arttığı gösterilmiştir (37). Bu deneysel çalışma, yapılan bir klinik vaka sunumuyla desteklenmiş, bu vaka sunumunda 40 yaşındaki bir erkek hastada önkol proksimal lateralinde kemiği açıkta bırakan bir defekte safen ven bazlı ve üç venle drene olan 10x15 cm boyutunda arteriyelize venöz fleple rekonstrüksiyon yapılmış ve flep %100 canlı kalmıştır.

Venöz fleplerle ilgili ilk klinik uygulamalar el parmaklarında doku defektlerinin arteriyelize venöz fleplerle rekonstrüksiyonu ile 1984'te Honda ve arkadaşları (38) tarafından yayınlanmıştır. 1987' de Yoshimura ve arkadaşları (39), başarılı tip III AVF uygulamalarını rapor etmişlerdir.

Bipediküllü venöz fleplerin (Tip II FTVF) ilk klinik uygulamaları Tsai ve arkadaşları (40) tarafından elde kompozit doku kayıpları için yapılmıştır. Ayrıca arteriyelize venöz flepler (Tip III VF) ile bipediküllü venöz fleplerin (Tip II FTVF) serbest flep olarak kullanıldığı başarılı bir çok klinik uygulama literatürde yerini almıştır (37,41-43).

FTVF'ler, klinikte serbest yada pediküllü olarak kullanılabilir (35,36,40,44). Aksiyel tek ven içeren FTVF'te canlı dokunun aksiyel vene belirli uzaklıkta olması gerekliliği, fleplerin zorunlu olarak dar kaldırılmasına ve ancak küçük defektlerde yararlanılabilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle bu tip venöz fleplerde yapılacak çalışmalarla yaşayabilen flep boyutunun artırılmasına ihtiyaç vardır.

FLEP NEKROZUNUN NEDENLERİ

Patterson ve Myers'e göre (45,46) flep nekrozunun en önemli nedeni vasküler yetmezliktir. Flep beslenmesi açısından en kritik dönem ilk 48 saattir. Eğer bu dönem de flep dolaşımı yeterli düzeyde tutulabilirse nekroz olmayacağı bildirilmiştir (46).

Flep altında hematoma oluşmasının önemli bir nekroz nedeni olduğu çok eskilerden beri bilinmektedir. Hematom flep nekrozu ilişkisinin klasik açıklaması, dermal dolaşımın basıya uğraması şeklinde yapılmıştır (47). Ancak Mulliken ve Healey'e göre (48) nekroz nedeni, salt hematoma bağlı iç basınç artması değil, kan yıkım ürünlerinin oluşturduğu, toksik bir durumdur.

Ödemin flep nekrozundaki etkisi tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen damar tıkanmalarına zemin hazırladığı düşünülmektedir (47).

Klinik gözlemlerde, yaşlı hastalarda flep nekrozlarının daha çok geliştiği farkedilmiştir. Yapılan çalışmalarda deri kan akımının yaşla doğru orantılı olarak azaldığı saptanmıştır (49).

Doku perfüzyonunun tehlikeli sınır altına inmemesi, kan basıncının yeterli düzeyde olmasına bağlıdır. Bu nedenle ameliyat sonrası dönemde hipotansiyon ataklarının flep nekrozlarına neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda flepte sistolik kan basıncının 50-90 mmHg olduğu saptanmıştır. Bu basıncı aşan gerginlik, sargı, flaster, katlanma gibi nedenler flebi nekroza götürür (47).

Radyoterapi özellikle derin vasküler ağda oluşturduğu hasarla deri dolaşımını önemli ölçüde bozmaktadır. Bu nedenle radyoterapi uygulanmış sahalardan hazırlanacak fleplerin nekroz tehlikesi daha fazladır (45).

Fleplerde oluşan venöz yetmezlik, flep nekrozunun önemli bir sebebidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, venöz yetmezliğin arteriyel yetmezlikten daha tehlikeli, flepte oluşturduğu harabiyetin ise arteriyel yetmezlikten daha fazla olduğu gösterilmiştir (50,51).

Sigara tüketimi, flep nekrozunda önemli bir dış etken olarak karşımıza çıkar. Nikotin, doğrudan vasküler yapılara etki ederek vazokonstriksiyona neden olur. Ayrıca kan viskozitesini artırır. Bu iki etki, flepte dolaşım bozukluğuna neden olur (52,53).

Her kaldırılan flep farklı oranlarda iskemiktir. Kaldırılan flep boyutu ve uzunluğu artarsa iskemi şiddeti artar. İskemi genelde pediküle uzakta kalan alanlarda daha fazladır. Bu iskemi ne kadar şiddetli ise o kadar fazla nekroz görülür (14).

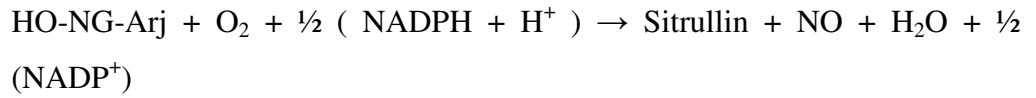
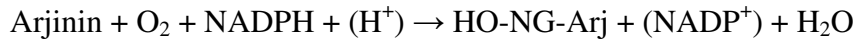
NİTRİK OKSİT

NO eşleşmemiş atomu bulunan, reaktif, diatomik bir gazdır (54). Lipofildir ve biyolojik membranlardan hızlıca geçebilir. Biyolojik sistemlerde yarı ömrü 3-30 saniyedir (55). Damar düz kaslarının endotel aracılıklı gevşemesi, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, nörotransmisyon, ve sitotoksite gibi değişik fizyolojik ve patolojik fonksiyonlara aracılık eder. NO çift yönlü etkilere sahiptir. Yapımındaki

yetmezlik, hipertansiyon, impotans, enfeksiyonlara duyarlılık, ve aterogeneze neden olurken; fazla yapımında, septik şok, inflamatuvar hastalıklar, transplant rejeksiyonu, inme ve karsinogenez gelişimi görülür (54).

Nitrik oksit sentezi

NO yapımı, sitrullin yapımına paralel olarak arjinin'in guanidino grubunun terminal nitrojen atomunu kaybetmesi ile gerçekleşir. Moleküler oksijen ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) sentezin diğer substratlarıdır ve reaksiyonu nitrik oksit sentaz (NOS) katalize eder. Arjininden NO yapımı beş elektronun oksidasyonunu gerektiren iki basamaklı bir işlemdir.



Sonuçta NO ve sitrullin oluşur. Arjinin'in, guanidin grubundaki nitrojen atomunun yerini alan analogları NOS'ı inhibe ederler.

Nitrik Oksit Sentaz

NOS enzimi, Flavin mono nükleotid (FMN), Flavin adenin dinükleotid (FAD), tetrahydrobiopiterin (BH₄), "heme" kompleksi, ve "non heme" demir içeren kompleks bir enzimdir. Kalmodulin bağlanma noktası taşır. NOS'ın iki ana formu vardır. Bunlar yapısal (constitutional) NOS (cNOS), ve indüklenebilir NOS'dır (iNOS). cNOS'ın vasküler endotelial (eNOS), ve nöronal (nNOS) alt tipleri vardır (54). Bunların hücre içi aktiviteleri kalsiyum bağımlıdır. Düşük düzeylerde ve sabit miktarda NO sentezlerler, vasküler tonusun ayarlanması ve sinyal iletiminde rol alırlar(54).

iNOS makrofaj, nötrofil, ve trombositlerde bulunur, kalsiyum bağımsızdır. İnflamatuvar ve patolojik durumlarda rol alır (54,56,57). Bakteriye endotoksinler, sitokinler, veya bakteriyel lipopolisakaritler iNOS sentezini uyarır, glukokortikoidler yapımını inhibe ederler (54). Uyarılmış makrofaj ve nötrofiller, yüksek miktarlarda NO ve süperoksit radikalleri üretirler. Bunlar da fagosite edilmiş bakterileri öldürür. Aşırı yapımı hipotansiyona yol açar (54). NOS'ın tüm izoformları deride bulunur (57). Keratinositler, Langerhans hücreleri, dermal fibroblastlar, melanositler ve

melanoma hücreleri de değişik uyarılarla iNOS oluşturabilirler. Deride ayrıca terde bulunan nitritlerin nonenzimatik indirgenmesi ile de NO oluşur. Bu derinin bariyer fonksiyonuna katkıda bulunur (58).

Nitrik oksitin biyolojik görevleri

NO:

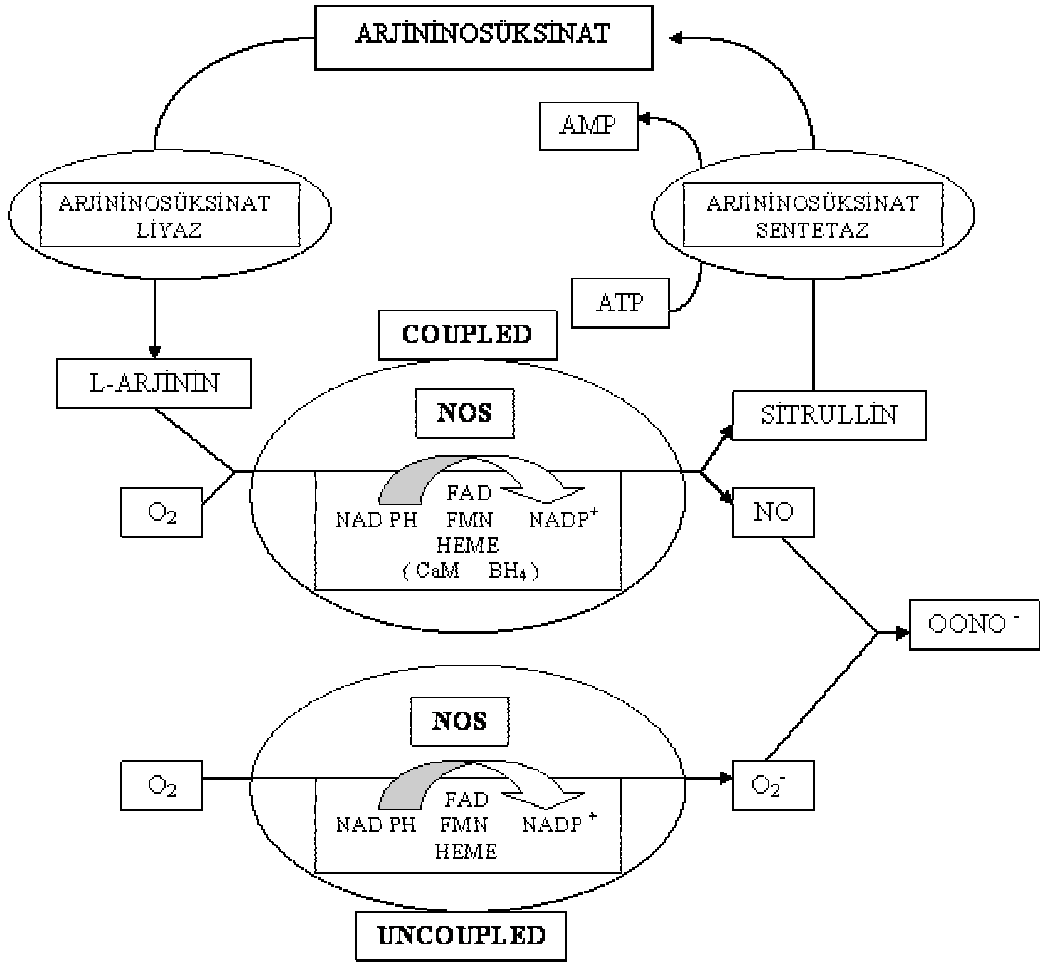
1. Hemoglobinle etkileşerek onu hasara uğratar,
2. Guanil siklaz'ı aktive eder,
3. Süperoksit anyonları ile etkileşerek peroksinitrite dönüşür,
4. Tiol grupları ile etkileşir,
5. ADP-ribosil transferaz'ı aktive eder. (56,59)

Normal dokularda cNOS aktivitesi görülürken, iNOS aktivitesi yoktur (8,60). İskemi durumunda ise cNOS düzeyi azalırken, iNOS düzeyi artmaktadır. Buna paralel olarak, endotel hasarının morfolojik bulguları ve lökosit sayısı artmaktadır. İskemi hasarında NO çift yönlü rol alır. İlk olarak endotel kaynaklı cNOS aktivitesi ile doku koruyucu, bazal kan akımını sürdürücü, trombosit agregasyonunu ve nötrofil yapışmasını önleyici rol oynarken, diğer yandan iNOS' ın uyarılması ile gerçekleşen aşırı NO yapımı sitotoksititeye yol açar. cNOS aktivitesinin azalması kan damarlarında vazokonstriksiyon ile kan akımının azalmasına neden olur. Çünkü NO deri kan akımının sürdürülmesinde önemlidir. cNOS aktivitesinin azalması ile trombosit agregasyonu ve nötrofil yapışması da artar. iNOS aktivitesinin artması ile yapılan aşırı miktardaki NO, peroksinitrit gibi serbest radikaller oluşturarak doku hasarına neden olur (8). Eğer L-arjinin depoları yeterli ise, elektronlar NOS tarafından bu aminoaside transfer edilerek NO oluşur. Bu “coupled reaksiyon” olarak adlandırılır. Ama L-arjinin depoları azalmış ise, NOS elektronları doğrudan oksijene transfer ederek süperoksit anyonlar oluşturur. Buna da “uncoupled reaksiyon” denir (Şekil 3) (61).

NO vasküler endotele nötrofil yapışmasının kuvvetli bir inhibitörüdür. Nötrofillerin yapışması ile endotel hücreleri ve nötrofiller etkileşirler ve lökositler aktive olur. Bu süperoksit radikalleri ve diğer hücre hasarlayıcı ürünlerin oluşumuna ve doku hasarına yol açar. İskemi–reperfüzyon hasarında da bu mekanizma rol alır

(62). Dışardan L-arjinin verilmesi NO yapımını artırır ve lökositlerin aktivasyonunu engelleyerek dokuları iskemi-reperfüzyon hasarından korur (62).

NO'in üç redoks formu vardır; nitrosonium (NO^+), nitroksil anyonu (NO^-), ve serbest radikal (NO^\cdot). Her formun farklı kimyasal özellikleri vardır. NO^\cdot metallerle etkileşerek onları nitroziller, NO^\cdot ile süperoksit (O_2^\cdot) etkileşerek peroksinitriti (ONOO^-) oluşturur, veya tiol grupları ile etkileşir (63). Özellikle "heme" grubu içeren enzimlerle etkileşerek onların aktivitelerini bozar.

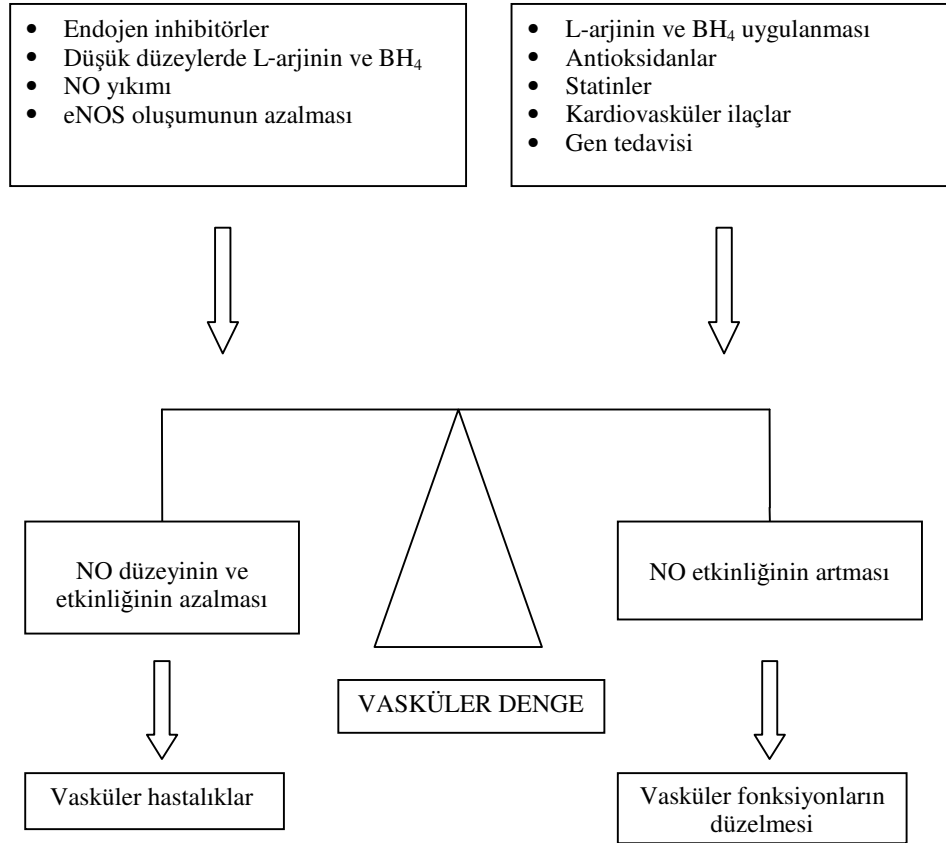


Şekil 3. NO sentez yolunda oksijenin NOS ile "coupled" ve "uncoupled" reaksiyonu.

Nitrik oksitin vasküler dengeye etkileri

Düşük konsantrasyonlardaki (nanomolar) NO vasküler dengenin düzenlenmesinde önemli rol oynar (Şekil 4) (64). Bunlar arasında:

1. Vasküler tonusun düzenlenmesi
2. Trombosit adezyonun ve agregasyonunun inhibisyonu
3. Proliferasyonun ve apoptozisin düzenlenmesi
4. Hücre içi redoks olaylarının ayarlanması
5. Lökosit adezyonunun inhibisyonu
6. Hücre sel solunumunun inhibisyonu vardır.



Şekil 4. NO'in vasküler dengeye etkileri (64)

NO'in bazal salınımı, bazal vasküler tonusun sürdürülmesinde kritik rol oynar (63). NO' in herhangi bir nedenle salınımındaki yetmezlik kan basıncında yükselmeye neden olur. NO yapımındaki yetmezlik esansiyel hipertansiyon patogenezinde rol oynar (63). NO yapımındaki lokal eksiklik etkilenen organda vazospazma neden olur. Hepatorenal sendrom, preeklampsi, Raynaud hastalığı bu mekanizmaya örnektir (60). Zıt olarak fazla NO yapımı, septik şokta olduğu gibi,

aşırı vazodilatasyona neden olarak hipotansiyon oluşturur. NO endotel hücrelerinin stoplazmasında yapılır, komşu düz kas hücreleri içine difüzyonla girerek “heme” taşıyan bir enzim olan “solubl guanylyl cyclase”a (sGC) bağlanır. Aktive olan sGC stoplazmik cGMP’yi artırır ve hücre içi kalsiyumun (Ca^{+2}) azalmasına neden olur. Bu da kalsiyum-kalmodulin-miyozin hafif zincir kinaz kompleksinin oluşumunu azaltır ve vasküler düz kas hücrelerinde regülatör olan miyozin hafif zincirinin fosforilasyonunu değiştirerek gevşemeye yol açar. NO hücre içi kalsiyumu cGMP bağımlı olarak veya doğrudan azaltır (63).

Endotelde NO yapımı trombositlerin adezyonunu, agregasyonunu ve oluşmuş pıhtıya yeni trombositlerin yapışarak pıhtının büyümesini engeller. Trombositlerin hemostatik tıkaç oluşturması yara iyileşmesinde kritik öneme sahiptir, ancak aşırı aktiviteleri de arteriyel trombozis ve felçlere yol açar. NO’in antitrombosit etkileri de cGMP aracılığı ile olur (55,56,63,64).

NO vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu da inhibe eder. Vasküler düz kas hücrelerinin çoğalması damar lümeninin daralmasına ve ateroskleroza yol açar. NO proliferasyonu cGMP bağımlı veya cGMP bağımsız olarak azaltır. cGMP bağımlı mekanizma kalsiyum üzerinden olur. cGMP bağımsız mekanizmada ise “arjininaz” ve “ornitin dekarboksilaz” gibi enzimleri inhibe ederek DNA sentezinde gerekli poliaminlerin yapımını azaltarak etkili olur (63). NO antiproliferatif etkilerine ek olarak damar düz kas hücre apopitozunu da artırır. NO vasküler hücrelerin apopitozunun modülasyonunda da önemli rol oynar. Düşük dozlarda endotel hücrelerini tümör nekroz faktör (TNF) gibi apopitozisi uyarıcı maddelerin etkilerine karşı korurken, yüksek dozlarda apopitozisi uyarıcı etkiye neden olur. Hücre koruyucu etkileri cGMP bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla olurken, apopitozisi uyarıcı etkileri cGMP bağımsızdır (63). NO anjiogenezisin sürdürülmesinde de etkilidir. Sadece endotelial hücre apopitozunu inhibe etmekle kalmaz, endotel hücre proliferasyonunu ve göçünü de artırır (63).

Serbest radikal olarak nitrik oksit

Bir serbest radikal olarak NO hücre içi redoks ortamını değiştirebilme yeteneğindedir. Düşük miktardaki NO hücre içi reaktif oksijen ürünlerini azaltırken, yüksek miktardaki NO, peroksinitrit oluşumuna yol açarak oksidatif hasarı artırır.

Vasküler hücrelerdeki eNOS'ın ürettiği NO miktarı antioksidan düzeydedir. NO'in primer antioksidan etkilerinden biri hücre içi süperoksiti (O_2^-) azaltmasıdır.

Bu etkisini:

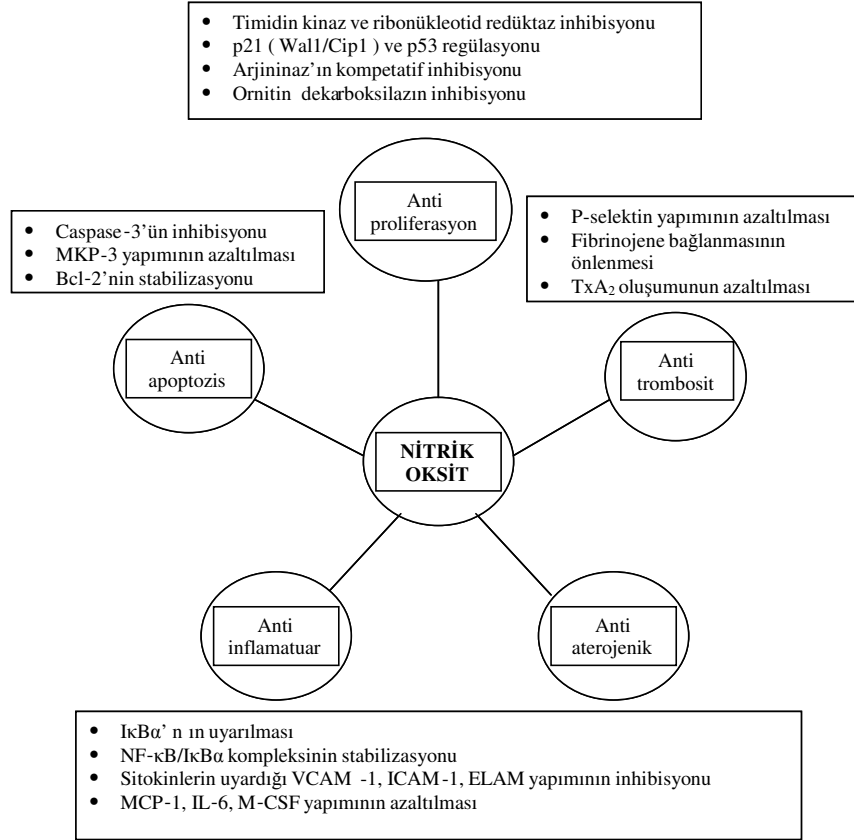
1. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz,
2. Heme-oksijenaz (bilirubin yapımını katalize ederek (O_2^-) azaltır),
3. Ferritin (ferrik demir iyonlarını bağlayarak (O_2^-) oluşumunu azaltır) yapımını artırarak gösterir (63).

NO, (O_2^-) ile birleşerek peroksinitrit'i ($ONOO^-$) oluşturur. Bu güçlü bir oksidandır ve oksidatif strese katkıda bulunur. Normal koşullarda peroksinitrit oluşumu sınırlıdır, çünkü SOD, (O_2^-) ile etkileşimde NO ile yarışır. Ancak iNOS etkisiyle hücre içi NO düzeyi yükseldiğinde peroksinitrit oluşumu baskın hale gelir. Peroksinitrit ve onun serbest radikal ürünleri, serbest tiol gruplarını oksitleyerek, lipid peroksidasyonunu ve protein hasarını artırır (63). NO lipoproteinlerin oksidasyonunu engeller ve bu şekilde membranları serbest radikal aracılı oksidatif hasardan korur (55). NO lökositlerin damar endoteline tutunma yeteneğini de değiştirir. Lökosit adezyonu inflamatuvar cevabın çok kritik bir basamağıdır ve artması aterogeneze eğilimi artırır. NO vericileri ve endojen NO, lökosit adezyonunu azaltır (55,56,63,64).

NO, "heme" taşıyan mitokondrial enzimlerin fonksiyonlarını düzenler. Mitokondri aktivitesi ile ATP üretilir ve bu apoptozisde düzenleyicidir, vasküler hücre fonksiyonunda ve hücre ölümünde kritik rol oynar. NO hücre solunumu mitokondrial düzeyde inhibe eder ve bu değişik hücre solunumu etkiler. Fizyolojik miktarlarda NO hücre solunumu geri dönüşümlü olarak inhibe eder. Bu seviyelerde önemi az olan kompleks II (süksinat) ile etkileşir, kompleks I (glutamat-malat) ile etkileşmez. Bu hücrelerin enerji ve oksijen kullanımını düzenler, apoptozise karşı koruyucu rol oynar. Yüksek miktarlardaki NO varlığında ise peroksinitrit oluşumu ile hücre solunumu geri dönüşümsüz olarak inhibe edilir. Bu durum ise oksidatif strese ve vasküler patolojiye neden olur (Şekil 5) (59,63).

NOS inhibitörleri kollajen birikiminde azalma ve yara geriliminde bozulmayla yara iyileşmesinde yetmezliğe neden olur. Yara iyileşmesinin bozuk olduğu diyabet, malnutrisyon, kronik steroid kullanımı gibi durumlarda NO düzeyi de

azalmıştır. NO anjiogeneziste merkezi rol oynar, anjiogenezisi artırır. Güçlü bir anjiogenik ajan olan vasküler endotelyal growth faktör (VEGF) eNOS'ı aktive ederek NO'ı artırır ve etkisini bu yolla gösterir. NO'in VEGF'den bağımsız anjiogenezisi uyarıcı etkisi de vardır. Bunda uyarılmış monositlerin salgıladığı “substance P” ve “transforming growth faktör-β1” (TGF-β1) rol alır (65).



Şekil 5. NO'in farklı biyolojik görevleri ve etki mekanizmaları (64).

Nitrik oksitin flep patofizyolojisinde rolü

NO ile ilgili yukarıdaki bilgiler ışığı altında NO'in flep yaşamını etkileyebileceği düşünülerek çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir çoğunda NO sentez inhibitörleri veya substratları kullanılarak flep yaşamları ve NO düzeylerinde oluşan değişiklikler değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda her zaman birbirini doğrulayan sonuçlar elde edilememiştir ve çelişkili sonuçlar da vardır. NO sentez öncüleri kullanılarak flep yaşam oranının artırıldığı (12,62,66-70) çalışmalar

yanında, NO sentez inhibitörlerinin flep yaşamını artırdığı (9-11,71), azalttığı (12,66,72) veya değiştirmedığı (72,73) çalışmalar da bildirilmiştir.

Aşağıdaki tablolarda, fleplerde NO öncüleri ve NOS inhibitörleri ile yapılmış çalışmalar ve elde edilen sonuçlar görülmektedir (Tablo 1,2) (74). Bu çalışmalarda, NO vericisi veya substratlarının uygulanması ile flep yaşamı her zaman artmış, buna karşılık NOS inhibisyonunun flep yaşamına etkisinin ise değişken olduğu görülmüştür. Tüm bu çalışmalar arteryel kan akımıyla beslenen fleplerde yapılmıştır. Literatürde bu konuda venöz fleplerle yapılmış bir çalışma yoktur. Son yıllarda üzerinde sık durulan ve doku lokal kan akımının düzenlenmesinde temel rol oynayan NO'in, venöz fleplerdeki durumunun belirlenmesi, venöz fleplerin yaşam mekanizmalarının anlaşılmasına ve canlılık oranlarının artırılmasına önemli katkılar yapacaktır.

Tablo 1. NO vericisi ve NOS substratlarının deneysel modellerde flep yaşamına etkisi				
Araştırmacı, yıl	Verilen madde	Fizyolojik etkisi	Flep yaşamı	Flep modeli
Komorowska,2004	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Sıçan, İE deri flebi
Kuo,2004	Nitrosglutasyon	NO vericisi	Artma	Sıçan, İE deri flebi
Kuo,2004	Nitrosglutasyon	NO vericisi	Artma	Sıçan, İE deri flebi
Zhang,2004	Ön koşullandırma	iNOS uyarılması	Artma	Sıçan, grasilis kas flebi
Zhou,2004	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Sıçan, random deri
Mittermayr,2003	S-nitros insan serum albumini	NO vericisi	Artma	Sıçan, epigastrik ada flebi
Du,2002	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Sıçan, random deri
Khiabani,2002	SIN-1	NO vericisi	Artma	Domuz, ada deri, Kas-deri flebi
Kuntscher,2002	Spermine/NO	NO vericisi	Artma	Sıçan, kremaster kas flebi
Lovett,2001	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Domuz, kas flebi
Wang,2000	Sodyum nitroprussid	NO vericisi	Artma	Sıçan, kremaster kas flebi
Meldrum,1999	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Sıçan, kas flebi
Cordeiro,1998	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Domuz, ada kas-deri flebi
Erçöçen,1998	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Sıçan, random deri
Um,1998	L-arjinin, L-NAME	NOS substratı, NOS inhibisyonu	Artma, Azalma	Sıçan, random deri
Cordeiro,1997	L-arjinin	NOS substratı	Artma	Sıçan, ada adipokutan flep

Tablo 2. NOS inhibitörlerinin deneysel modellerde flep yaşamına etkisi				
Araştırmacı, yıl	NOS inhibitörü	Fizyolojik etkisi	Flep yaşamı	Flep modeli
Azizzadeh, 2003	L-NAME, L-arjinin	Kısmi seçici eNOS inhibisyonu NOS substratı	Azalma Etkisiz	Sıçan, arterial İnversiyonlu serbest flep
Kane, 2001	S-metil-izotioüre, Aminoguanidin, Aminoetiltioüre, NIO, L-NAME	iNOS inhibisyonu iNOS inhibisyonu iNOS inhibisyonu NOS inhibisyonu Kısmi seçici eNOS inhibisyonu	Azalma Azalma Azalma Etkisiz Artma	Sıçan, İE ada deri flebi
Gribbe, 1999	Deksametazon	iNOS inhibisyonu	Artma	Sıçan, deri flebi
Guo, 1997	L-NAME	Kısmi seçici eNOS inhibisyonu	Artma	Domuz, deri flebi
Knox, 1996	L-NAME	Kısmi seçici eNOS inhibisyonu	Artma	İE ada deri flebi
Knox, 1994	L-NAME, NIO, Aminoguanidin	Kısmi seçici eNOS inhibisyonu NOS inhibisyonu iNOS inhibisyonu	Artma Artma Artma	Sıçan, Random deri flebi
Phan, 1994	NIO	NOS inhibisyonu	Artma	Tavşan, kas flebi
NIO, N-iminoetil-L-ornitin; İE, inferior epigastrik arter				

GEREÇLER VE YÖNTEM

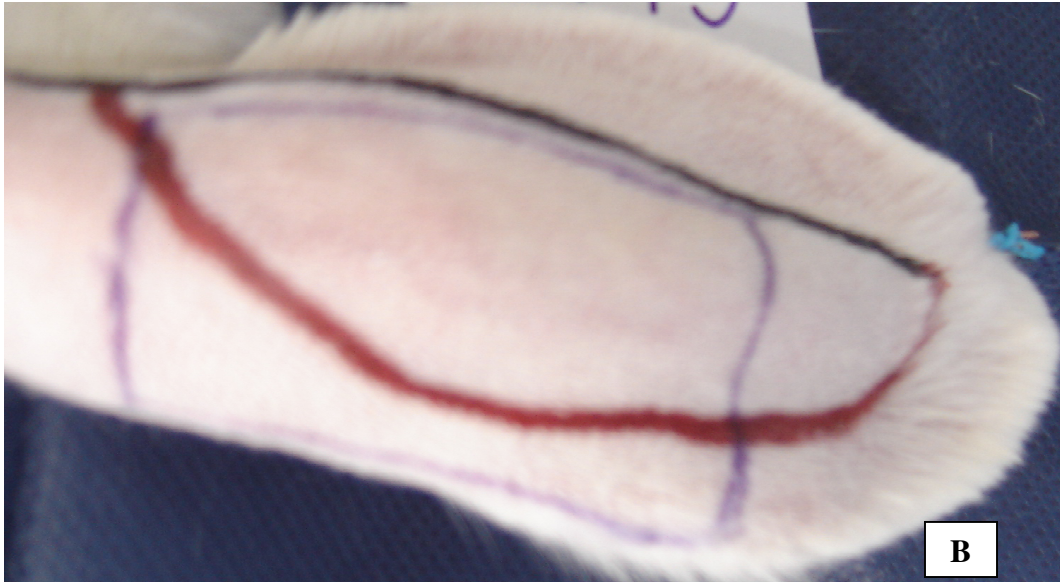
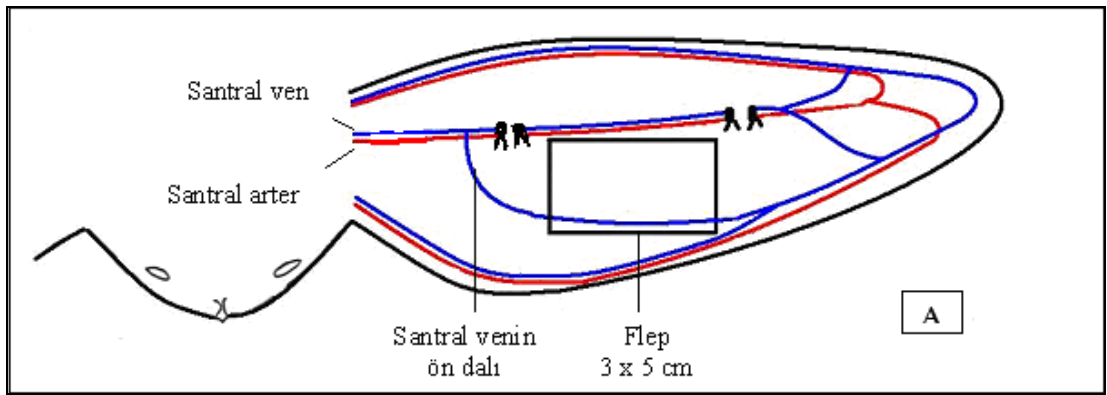
Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun izni ile (Proje No: TT-04-07) Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde, Ekim 2004–Mayıs 2005 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada denek olarak ağırlıkları 2100–3600 gr arasında değişen 36 adet Yeni Zellanda tipi 6 aylık, erkek, beyaz tavşan kullanıldı. Anestezi 50 mg/kg ketamin ve 1 mg/kg midazolamın intramüsküler olarak verilmesi ile sağlandı.

FLEP MODELİ

Çalışmada İnada ve arkadaşlarının 1992'de yaptıkları 3x3 cm'lik tek venli FTVF modeli, modifiye edilerek kullanıldı (Şekil 6) (75). Bu modelde tavşan kulağında santral venin ön dalı üzerinde yerleşik, flebe giren ve çıkan diğer tüm vasküler yapıların kesildiği, 3x5 cm'lik flep hazırlanmakta ve alttaki kıkırdağın perikondriumu ile birlikte kaldırılmaktadır. Bu haliyle hazırlanan fleplerde, flebin tamamı yaşadığından, iskemi oluşturmak amacıyla flep kaldırılmadan önce santral arter, kulak proksimal ve distalinde bağlanmaktadır. Böylece FTVF şeklinde hazırlanan flepte İnada'nın çalışmasına göre % 44'lik nekroz gelişmektedir (75). Aynı modelin kullanıldığı bir başka çalışmada da fleplerde % 60'lık nekroz gelişmiştir (76).

Yukarıdaki modele uygun olarak tavşan kulaklarında, anestezi altında elektrikli tıraş makinesi ile tıraşlandıktan ve steril şartlar sağlandıktan sonra santral

arter, distal ve proksimalden 1 cm'lik uzunlukta yapılan insizyonlarla, x4 büyütme sağlayan bir cerrahi loop kullanılarak 6/0 ipekle bağlanıp kesildi. İnsizyonlar 5/0 ipekle sütüre edildi. Santral venin ön dalının içinden geçtiği 3x5 cm lik flep deri kalemi ile işaretlendikten sonra perikondriumun flebe dahil edildiği, tek venli FTVF kaldırıldı. Santral venin ön dalı flebe girdiği ve çıktığı yerde tamamen iskeletize edildi (Şekil 7). Flepler daha sonra orijinal yerlerine 4/0 atravmatik keskin iğneli ipek sütür ile dikildi. Ancak ön çalışmalarda bu şekilde hazırlanan flep modellerinde standart bir nekroz gelişmediği görüldü. Bu nedenle flepler hazırlanırken, santral artere ek olarak, santral ven de proksimal ve distalde bağlandı.



Şekil 6. Flep modelinin şematik görünümü (A) ve fotoğrafı (B)



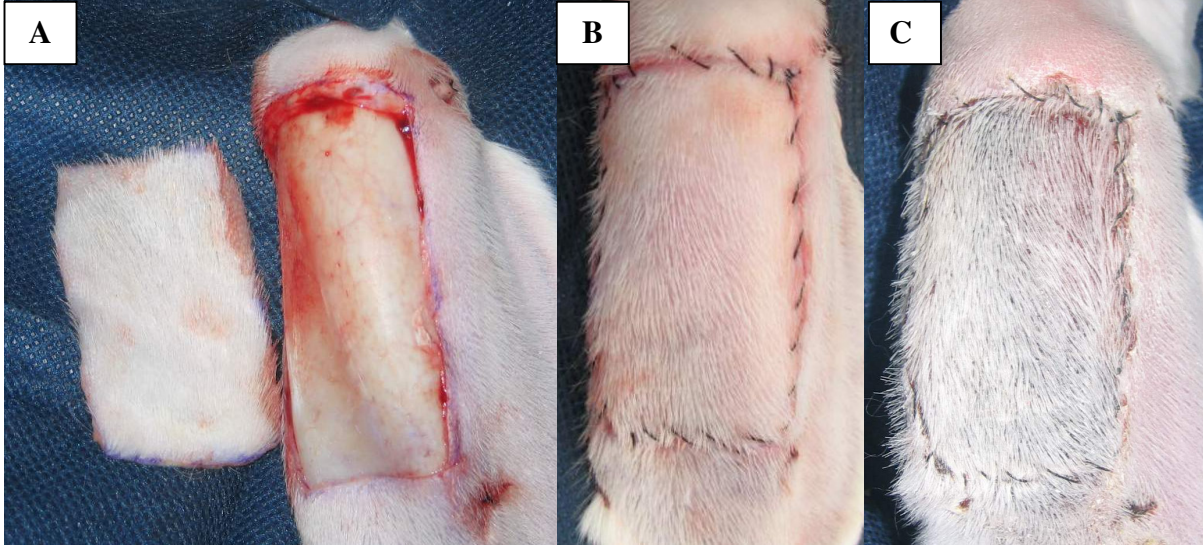
Şekil 7. Flebin tamamen kaldırılmış ve damarın iskeletize edilmiş haldeki görüntüsü

Ayrıca flepler hazırlanırken santral sinirin kesilmesine de dikkat edildi; çünkü sinir vasa nervorum'ları aracılığı ile kulak distaline belli bir oranda kan akımı sağlamaktadır ve bu bölgede tanımlanmış nörokutanöz flep vardır (77).

Cerrahi işlem öncesi ve sonrası antibiyotik profilaksisi uygulanmadı.

Ön Çalışma:

Asıl deneye başlamadan önce yukarıda tarif edilen fleplerin kompoze greft şeklinde yaşamadığını göstermek için iki tavşanın ikişer kulağında ön çalışma yapıldı. Tariflenen boyut ve lokalizasyondaki deri adası, alttaki kıkırdağa kadar insize edildi. Tüm vasküler bağlantıları kesildi ve perikondrium ile birlikte kıkırdaktan tamamen ayrılan dokular kompoze greft şeklinde tekrar orijinal yerine dikildi. Bu şekilde kompoze greft haline getirilen bölgede bir hafta içinde tamamen nekroz gelişti. Böylece literatürde de benzerlerinin olduğu gibi (3,37,75) planlanan flebin kompoze greft gibi yaşamadığı görüldü (Şekil 7).



Şekil 8. Flep alanının kompoze greft olarak kaldırılmış (A), yerine dikilmiş (B), yedinci gün tam kat nekroz gelişmiş hali(C).

Deney Planı:

Denekler üç gruba ayrıldı.

Kontrol grubu, 14 tavşan 20 flep

L-arjinin tedavi grubu, 10 tavşan 20 flep

L-NAME tedavi grubu, 10 tavşan 20 flep

Kontrol grubu

Bu gruptaki 10 hayvanın sağ kulaklarında santral venin ön dalından 2 cc kan ile flep alanı dışında kalan ve hiçbir vasküler yapının hasarlanmayacağı bir bölgeden 1x1 cm'lik tamkat doku örneği alındı. Doku örneği alınan bölge 5/0 ipek ile primer kapatıldı. Bu örnekler tavşan kulağının normal kan ve doku NO düzeyini belirlemede kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı. Bu işlemten 15 gün sonra flepler hazırlandı. Flepler hazırlandıktan 24 saat sonra tüm hayvanların sağ kulaklarında flebi drene eden venden 2 cc kan ve flep distalinden 1x1 cm tamkat doku örneği alındı. Örnekler tavşan kulağından hazırlanan venöz fleplerin kan ve doku NO düzeyini belirlemede

kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı. Yedinci gün hiçbir işlem yapılmamış sol kulaklardaki fleplerin yaşam alanları asetata çizilip fotoğrafları çekildi. Hayvanlara flepler hazırlandıktan hemen sonra 2 cc/gün SF intraperitoneal olarak 3 gün verildi.

Kontrol grubundaki kalan 4 hayvanın ise her iki kulağında santral arter ve ven bağlandıktan 24 saat sonra santral venin ön dalından kan örneği alındı. Bu örnekler -20 °C'de saklanarak santral arter ve veni bağlanmış kulakların kan NO düzeyini belirlemek için kullanıldı. Bu değerler, kontrol grubunda flep oluşturmadan önce alınan kanlardaki NO değerleri ile karşılaştırılarak, venöz flep oluşturmadan, tek başına santral arter ve venin bağlanmasının kan NO düzeyine etkisi olup olmayacağını araştırmak için kullanıldı.

L-arjinin tedavi grubu

Flepler hazırlandıktan 24 saat sonra tüm hayvanların sağ kulaklarında flebi drene eden venden 2 cc kan, flep distalinden 1x1 cm tamkat doku örneği alındı. Örnekler tavşan kulağından hazırlanan venöz fleplerin L-arjinin tedavisi sonrası NO kan ve doku düzeylerinde oluşan değişiklikleri belirlemede kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı. Yedinci gün hiçbir işlem yapılmamış sol kulaklardaki fleplerin yaşam alanları asetata çizilip fotoğrafları çekildi. Hayvanlara flepler hazırlandıktan hemen sonra 1 gr/kg/gün L-arjinin intraperitoneal olarak 3 gün verildi.

L-NAME tedavi grubu

Flepler hazırlandıktan 24 saat sonra tüm hayvanların sağ kulaklarında flebi drene eden venden 2 cc kan, flep distalinden 1x1 cm tamkat doku örneği alındı. Örnekler tavşan kulağından hazırlanan venöz fleplerde, L-NAME tedavisi sonrası NO kan ve doku düzeylerinde oluşan değişiklikleri belirlemede kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı. Yedinci gün hiçbir işlem yapılmamış sol kulaklardaki fleplerin yaşam alanları asetata çizilip fotoğrafları çekildi.

Hayvanlara flepler hazırlandıktan hemen sonra 50 mg/kg/gün L-NAME intraperitoneal olarak 3 gün verildi.

Verilen ilaç dozları literatürde kullanılmış dozların ortalama bir değeri olarak belirlendi (9,11,12,62,66). Tüm kan örnekleri heparinle yıkanmış tüplere alındı.

Alınan kanlar onbin devir/dakikada 3 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı. Plazmalar -20°C 'de biyokimyasal analiz için saklandı. Fleplerden alınan tüm doku örnekleri flep distalinde nekroz beklenen mor renkli alan ile pembe renkli alan arasındaki geçiş bölgesinden alındı. Alınan doku örnekleri hiçbir işlem yapılmadan -20°C 'de saklandı.

Flep Canlılık Oranlarının Belirlenmesi

Yedinci günün sonunda nekrotik ve canlı alanların tamamen belirginleştiği izlendi. Flep ile canlı ve nekroz alanları asetata çizildi. Bunlar tarayıcı yardımı ile bilgisayar ortamına aktararak özel bir program yardımı ile canlılık oranları hesaplandı (78).

NİTRİK OKSİT DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Biyokimyasal ölçümlerde, Sigma firmasının analitik saflıktaki kimyasal maddeleri kullanıldı. Çalışma gününe kadar, -20°C 'de dondurularak saklanan flep doku örneklerinden, doku homojenatlarının hazırlanması sırasında yapılan tüm işlemler, buz içerisinde ve 4°C 'de yürütüldü. Homojenizasyon işlemi homojenizatör ile gerçekleştirildi.

Doku örnekleri 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile $\frac{1}{4}$ (w/v) oranında homojenize edildi. Homojenatlar -20°C 'de donduruldu. Bir gün sonra homojenatlar çözdürüldü, 13200 rpmde, 4°C 'de 30 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı alındı.

NO ölçümü

Örneklere total protein tayini, Lowry metodu ile ölçüldü (79). NO düzeyleri, protein üzerinden verildi.

Bir serbest radikal olan NO, oksijenli ortamlarda stabil değildir ve spontan olarak moleküler oksijen ile reaksiyona girerek çeşitli nitrojen oksit ürünlerine dönüşmektedir. Bu oluşan ürünlerden en stabil olanları nitritler (NO_2^-) ve nitratlardır (NO_3^-). NO_3^- , Aspergillus nitrat reduktaz enzimi yardımı ile NO_2^- haline indirgendi ve

bunu takiben NO₂'nin tayini Griess reaksiyonu ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi (80).

Doku örnekleri ¼ oranında tampon ile dilue edildi. Deney ortamına, final konsantrasyonda olacak şekilde 50 µmol/L NADPH, 5 µmol/L FAD ve 200 U/L nitrat redüktaz reaktifleri eklendi. Daha sonra doku örnekleri 37 °C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, numuneler ZnSO₄ ile deproteinize edildi ve 15000 g'de 5 dakika santrifüj edilerek, elde edilen deproteine süpernatant, Griess reaktifi ile reaksiyona sokuldu ve spektrofotometrik olarak 540 nm'de okundu. Yukarıdaki işlemler, kör olarak yapıldı ve standartlara da aynı şekilde uygulandı. Standartlar üzerinden karşılaştırılarak absorbans değerleri, konsantrasyon değerlerine çevrildi (80).

İstatistik

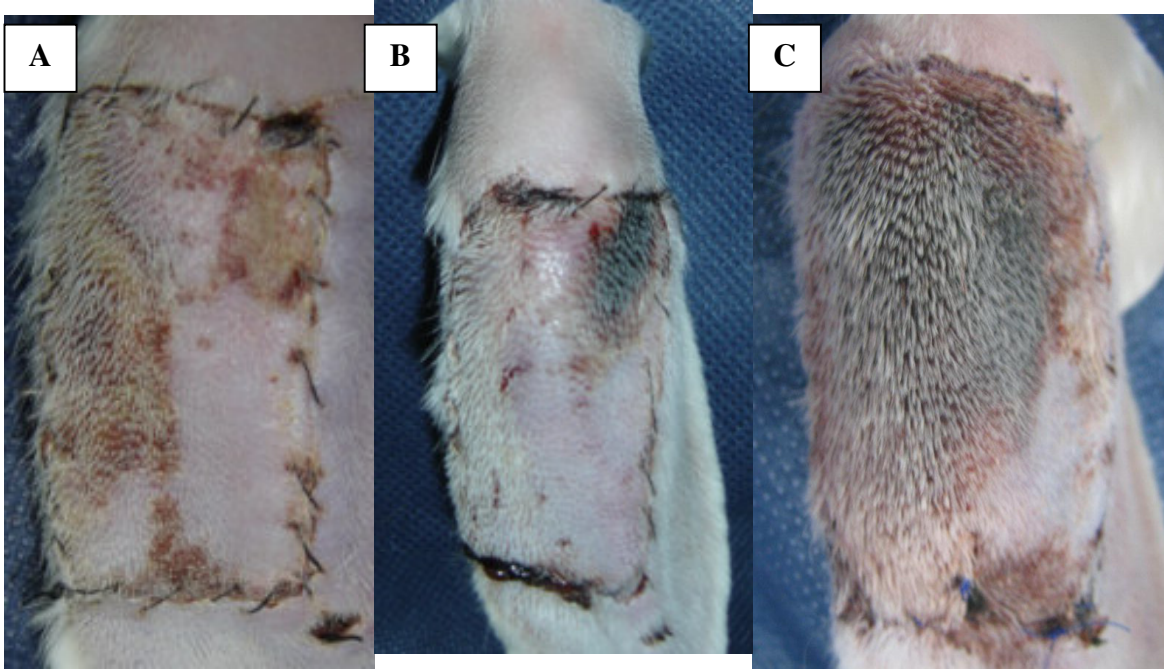
Gruplar arasında araştırılan parametreler açısından fark olup olmadığını görmek için Kruskal-Wallis testi uygulandıktan sonra, gruplar arasında fark olması halinde, farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu görmek için Mann-Whitney *U* testi yapıldı. Kontrol grubunda, normal kan NO değerleri ile santral damarların bağlanmasıdan sonra alınan kan NO değerleri de Mann-Whitney *U* testi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunda, flep kaldırılmadan önceki ve kaldırıldıktan sonraki NO düzeyleri tekrarlayan örnekler için Wilcoxon testi ile karşılaştırıldı. Flep canlılık oranları ile NO düzeyleri, kan NO değerleri ile doku NO değerleri arasında ilişki olup olmadığı, Pearson korelasyon analizi ile araştırıldı. "p" değerinin 0.05' e eşit veya küçük olması hali ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm istatistik işlemleri bilgisayar ortamında, SPSS 11.5 paket programı ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

Gruplar arasında hayvanların ağırlıkları açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Postoperatif 24. saatte kontrol ve L-arjinin tedavi grubundaki fleplerde çevreye göre belirgin bir ödem varlığı gözlemlendi. Bu gruplardaki fleplerin rengi daha canlı görünümdeydi ve flep içindeki venöz pediküle uzak kısımlarda morluk vardı. L-NAME grubunda ise belirgin bir ödem yoktu ve flepler daha soluk görünümde idi. L-NAME grubunda flep altında belirgin bir seroma oluşumu görülmezken, diğer iki grupta hemen hemen tüm hayvanlarda az ya da çok miktarda seroma izlendi. Üçüncü günden itibaren nekroz hattı belirginleşmeye başladı, ancak tam bir demarkasyon hattının oluşmadığı görüldü. Postoperatif yedinci günde demarkasyon hattı belirginleşti. Hiçbir flepte enfeksiyon bulguları gözlenmedi.

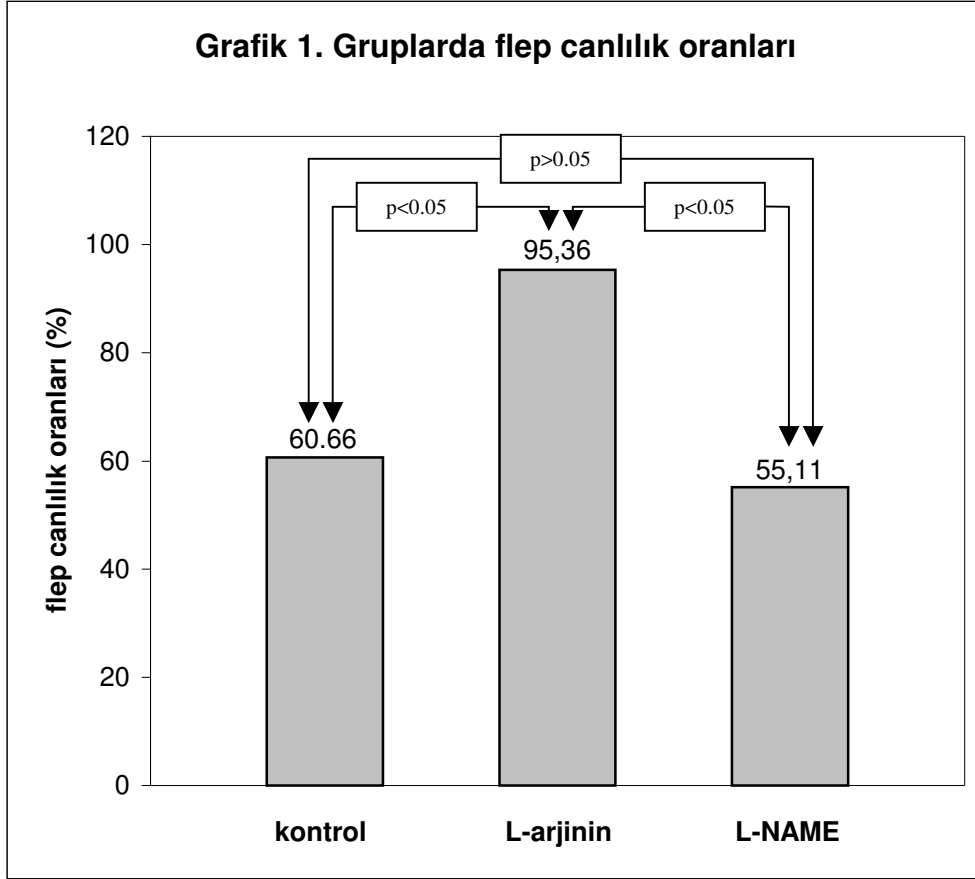
Flep canlılık oranları

Kontrol grubunda ortalama flep canlılık oranı 60.66 ± 14.11 , L-arjinin grubunda 95.36 ± 5.74 , ve L-NAME grubunda 55.11 ± 13.10 olarak bulundu (Tablo3, Şekil 9). Flep yaşam oranları açısından gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p<0.0004$). Buna göre L-arjinin grubunda, hem L-NAME grubuna, hem de kontrol grubuna kıyasla flep canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştı ($p<0.0004$). L-NAME grubu ile kontrol grubu arasında ise canlılık oranları açısından anlamlı fark yoktu (Grafik 1) ($p>0.05$).



Şekil 9. Yedinci gün sonunda flep canlılığı, (A) kontrol, (B) L-arginin, (C) L-NAME

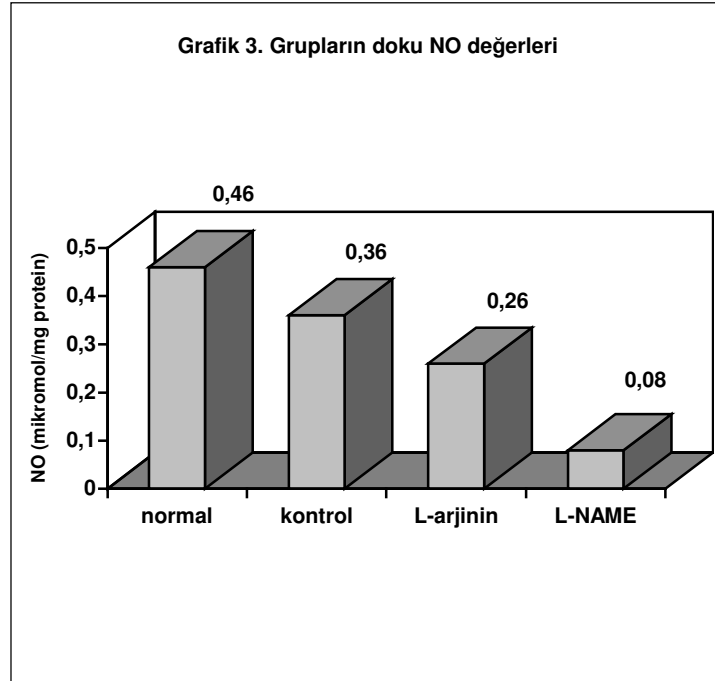
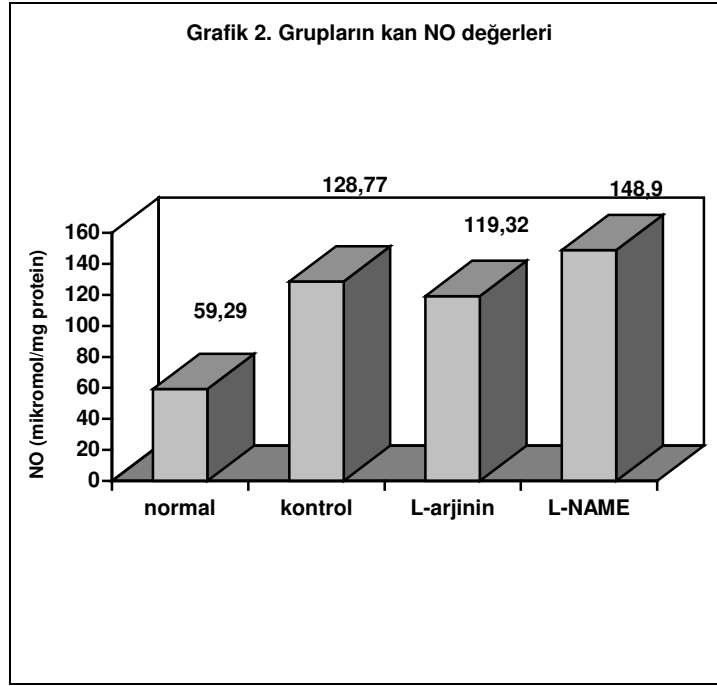
Tablo 3. Gruplarda ayrıntılı flep canlılık yüzdeleri			
N	Kontrol	L-arginin	L-NAME
1	52.08	100	62.23
2	37.96	100	45.20
3	50.11	100	58.54
4	69.25	88.77	48.68
5	56.51	88.79	32.59
6	57.02	85.20	51.12
7	79.00	95.40	67.55
8	82.98	95.51	59.09
9	52.81	100	79.22
10	68.92	100	46.88
Ort ± SD	60.66 ± 14.01	95.36 ± 5.74*	55.11 ± 13.10
* p<0.05			



Nitrik oksit düzeyleri

Tavşan kulağının normal NO düzeyleri, kanda ortalama 59.29 (± 44.22) mikromol/mg protein, dokuda ise 0.46 (± 0.36) mikromol/mg protein olarak bulundu. Venöz flebin ortalama NO düzeyleri ise kanda 128.77 (± 76.19) mikromol/mg protein, dokuda 0.36 (± 0.11) mikromol/mg protein idi. Venöz flep NO kan düzeyinde, normal kan düzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış var iken ($p < 0.06$), venöz flep NO doku düzeyi, normal dokuya kıyasla değişmemişti ($p > 0.05$).

L-arjinin uygulanan gruptaki NO kan düzeyi 119.32 (± 63.91) mikromol/mg protein, doku düzeyi 0.26 (± 0.22) mikromol/mg protein, L-NAME grubunda NO kan düzeyi 148.90 (± 96.20) mikromol/mg protein, doku düzeyi ise 0.08 (± 0.03) mikromol/mg protein olarak ölçüldü (Grafik 2,3).



Tüm gruplardaki kan ve doku NO düzeyleri Tablo 4 ve 5’de ayrıntılı olarak verilmiştir. Gruplar arasında kan NO düzeyi açısından anlamlı bir fark yok iken ($p>0.05$), doku düzeyi açısından anlamlı fark vardı ($p<0.001$). Doku NO düzeyi,

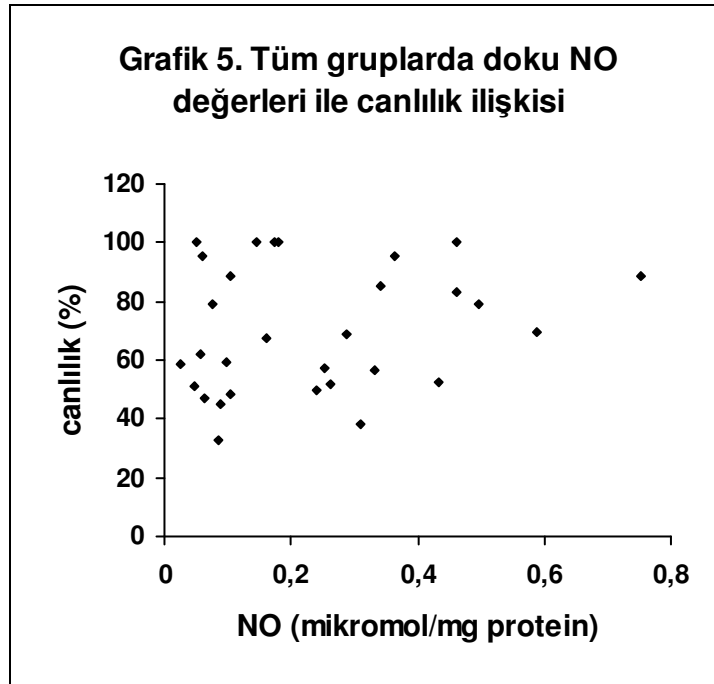
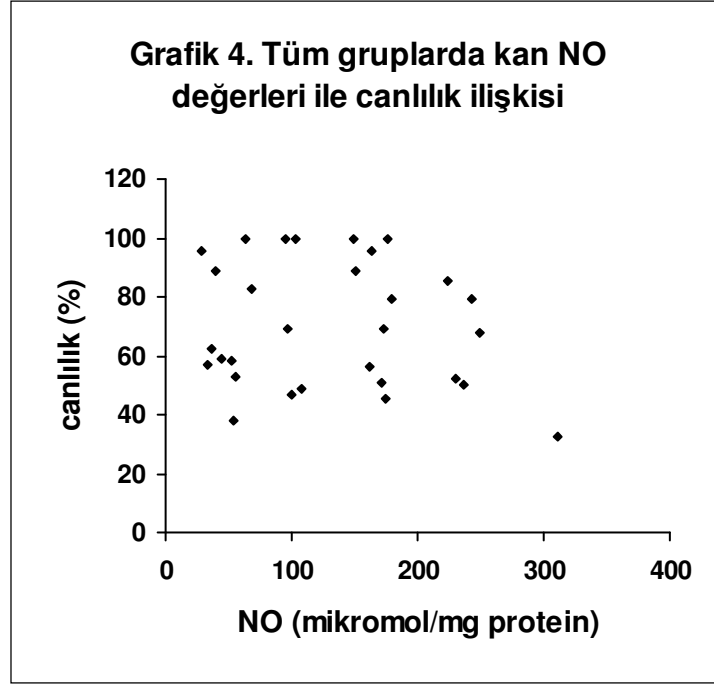
Tablo 4. Grupların kan ve doku NO değerleri								
	NO değeri (mikromol/mg protein)							
	Normal		Kontrol		L-arjinin		L-NAME	
N	Kan	Doku	Kan	Doku	Kan	Doku	Kan	Doku
1	12.51	0.40	230.25	0.26	103.16	0.17	35.74	0.05
2	45.74	0.10	53.48	0.31	148.96	0.46	174.45	0.08
3	18.64	0.19	236.38	0.24	176.70	0.14	51.87	0.02
4	24.12	0.61	96.70	0.58	150.25	0.10	107.35	0.10
5	52.51	0.56	161.87	0.33	39.29	0.75	310.58	0.08
6	88.64	0.17	33.80	0.25	224.45	0.34	172.19	0.04
7	152.19	1.02	179.29	0.49	28.00	0.36	249.61	0.16
8	29.29	1.12	68.64	0.46	163.16	0.06	45.09	0.09
9	102.19	0.23	54.77	0.43	95.41	0.18	242.19	0.07
10	67.03	0.16	172.51	0.28	63.80	0.04	99.93	0.06
Ort ±SD	59.29 ±44.22	0.46 ±0.36	128.77 ±76.19	0.36 ±0.11	119.32 ±63.91	0.26 ±0.22	148.90 ±96.20	0.08 ±0.03

L-NAME grubunda, kontrol ve L-arjinin gruplarına kıyasla anlamlı şekilde azaldı (sırasıyla $p<0.0001$ ve $p<0.05$), kontrol ve L-arjinin grupları arasında ise anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Santral arter ve venin bağlanması NO düzeyini etkileyip etkilemediğini belirlemek amacıyla, damarlar bağlandıktan sonra alınan kanlardaki NO değerleri (48.68 ± 9.00 mikromol/mg protein) ile normal tavşan kulağı kan NO değerlerinin (59.29 ± 44.22 mikromol/mg protein) karşılaştırılmasında, aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$).

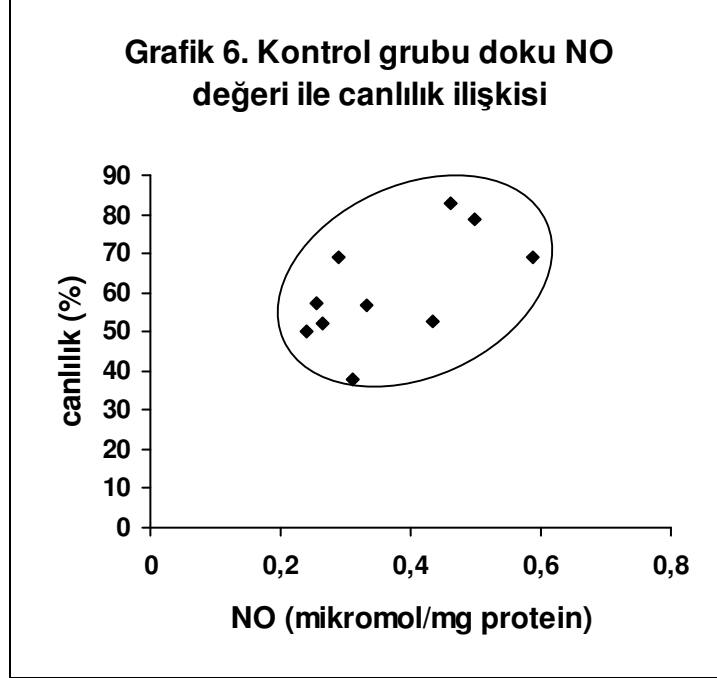
Tablo 5. Grupların ortalama NO kan ve doku değerleri				
	Normal	Kontrol	L-arjinin	L-NAME
Kan	59.29 ± 44.22	128.77* ± 76.19	119.32 ± 63.91	148.90 ± 96.20
Doku	0.46 ± 0.36	0.36 ± 0.11	0.26 ± 0.22	0.08 ⁺ ± 0.03
* normal dokuya kıyasla $p<0.05$, + kontrol ve L-arjinin gruplarına kıyasla $p<0.05$				

Kontrol grubu venöz flep NO doku düzeyi ile flep canlılığı arasında pozitif bir korelasyon bulundu; doku NO düzeyi arttıkça flep canlılığı arttı ($p<0.06$) (Grafik 10). Kontrol grubu venöz flep NO kan değeri ve, diğer gruplarda venöz flep kan ve doku NO değerleri ile flep canlılığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$) (Grafik 4,5,6).

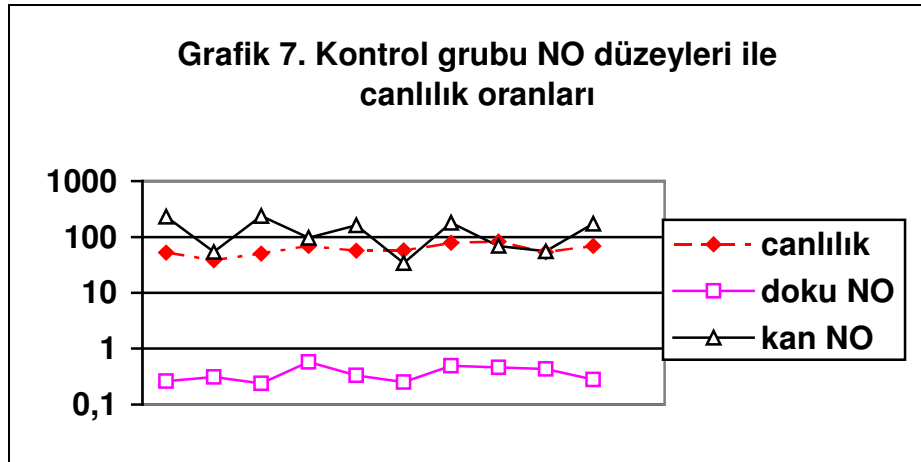


Grupların hiçbirinde NO'in kan değerleri ile, doku değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı. Tüm gruplarda venöz flep kan NO değerleri, normal kan NO değerlerinden anlamlı şekilde yüksek iken, venöz flep doku NO

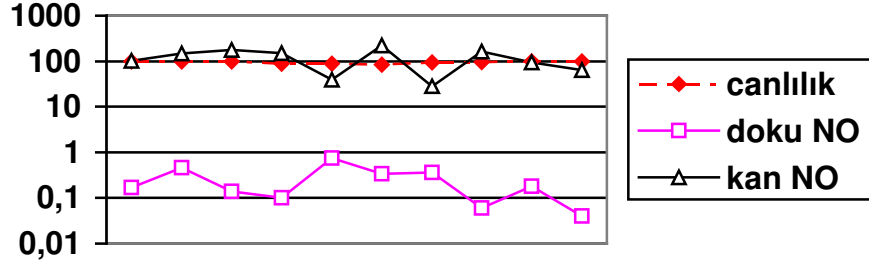
değerleri ise normal doku NO değerlerinden düşüktü. Ancak bu düşüş sadece L-NAME grubunda anlamlı düzeyde idi ($p<0.05$).



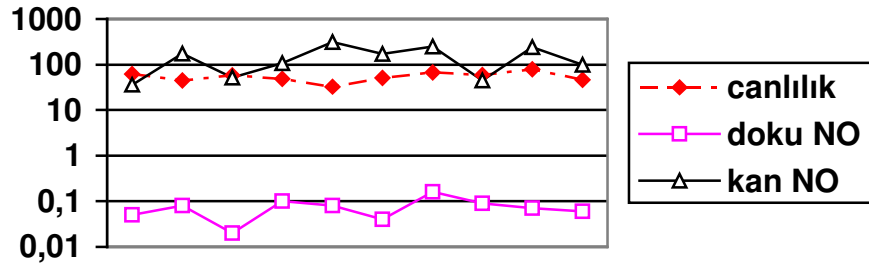
Grupların kendi içlerinde, NO değerleri ve flep canlılık oranları birebir eşleştirilmiş olarak Grafik 7, 8, 9 da verilmiştir.



Grafik 8. L-arjinin grubu NO düzeyleri ile canlılık oranları



Grafik 9. L-NAME grubu NO düzeyleri ile canlılık oranları



TARTIŞMA

Plastik cerrahi pratiğinde, fleplerin yaşayabilir alanlarını artırmak veya karşılaşılan flep nekrozlarını azaltmak amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Bu amaçla değişik cerrahi ve farmakolojik yöntemler denenmiştir. Venöz fleplerde de canlılığı artırmak amacıyla cerrahi ve farmakolojik yöntemler çalışılmıştır (18,34-37). Ancak flep yaşamı tek etkene bağlı, basit bir olay değildir. Flep yaşamı bir çok etkenin rol aldığı çok karmaşık mekanizmalar içeren bir süreçtir. Bu nedenle flep yaşamını düzeltmek için bu mekanizmaların anlaşılması gerekmektedir. Konvansiyonel fleplerde bu amaçla yapılmış çok çeşitli çalışmalar vardır (13-16,47,48,51-53,81). Ancak venöz flep kavramı nispeten yeni bir konudur ve bu konuda yapılmış araştırmalar daha azdır. NO de son yıllarda flep yaşamı konusunda üzerinde sık durulan maddelerden biridir. Ancak ulaşılabildiğimiz kadarıyla venöz fleplerde NO değerleri ile ilişkili bir çalışma literatürde yer almamıştır. Bu nedenle çalışmamız bir ilk olarak önemlidir ve elde edilen sonuçlar iskemik venöz flep patofizyolojisinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada flep modeli olarak İnada ve arkadaşlarının tariflediği tavşan kulağı tek venli FTVF modeli modifiye edilerek kullanıldı (75). Baek ve arkadaşlarının tariflediği köpek safen FTVF (1), Sasa ve arkadaşlarının (25) tariflediği köpek sefalik FTVF, Matsushita ve arkadaşlarının (5) kullandığı tavşan torako-epigastrik FTVF modellerinde flepler perfüzyonca zengin kas dokusu üzerindedir. Bu durum fleplerin vasküler yataktan kısmen de olsa beslenmesine neden olabilir (30-32). Kullanılan bu flep modeli perfüzyonu olmayan kıkırdak dokusu

üzerinde olduğundan flep-taban ilişkisi, yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine, hiç olmayacaktır. Ön çalışmada literatürdeki benzer çalışmalarda olduğu gibi, kıkırdak üzerine kompoze greft olarak yerleştirilen flep bölgesinde tamamen nekroz gelişmesi bu hipotezi doğrulamıştır (3,37,75). Perikondriumla birlikte kaldırılan fleplerde taban beslenmesinin olmaması, bu yolla flep yaşamına olabilecek katkıları ortadan kaldırmayı ve sonuçların daha basit olarak tartışılabilmesini sağlamıştır. Ayrıca bu modelde flep dokusu ince olduğundan tam kat nekrotik demarkasyon hattı keskin sınırlarla belirlenebileceğinden elde edilecek verilerin değerlendirilebilmesinin daha kolay olacağı düşünülmüştür.

Bu çalışmada biyokimyasal ölçümler hem dokuda, hem de kanda yapılarak, dokuda meydana gelen, ancak dolaşıma yansımayacak değişiklikler de belirlenmeye çalışılmış, yine alınan kan örneklerinin flebi temsil edip etmediği yönünde doğabilecek şüphelerin gerçekliği belirlenmeye çalışılmıştır. Doku örneklerinin alındığı bölge flebin kritik bölgesidir, yani nekroz gelişecek ve yaşayacak alanlar arasındaki geçiş bölgesidir. Eğer flep yaşamına olumlu etki sağlanırsa kurtarılacak flep bölgesi burası olacaktır.

Bu çalışmada elde edilen kan ve doku NO değerleri arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Ulaşılabildiği kadarı ile NO'in araştırıldığı flep çalışmalarının hiçbirinde doku ve kan değerlerine birlikte bakılmamış ve hangisinin daha değerli olduğuyla ilgili bir öneri yapılmamıştır. Dolayısıyla kan ve doku NO değerlerinin birbirini yansıtıp yansıtmadığını bilmiyoruz. Bu çalışmanın sonuçları dikkate alındığında, bu iki değer birbirini yansıtmadığını söyleyebiliriz. Elde edilen kan ve doku NO değerlerinin birbirini yansıtmasının nedeni bu flebin dolaşımının "Harverian model"den farklı olması da olabilir. Flep venöz bir ağdan beslendiği için dokularda oluşan metabolik değişiklikler, dolaşıma yansımamış olabilir, veya sistemik yolla uygulanan etken madde flebe yeterince ulaşmadığı için NO düzeyini etkilememiş olabilir. Venöz flepten alınan kanla eş zamanlı olarak sistemik kan da alınarak elde edilen değerlerin karşılaştırılması ile bu konuda bir fikre ulaşılabilir. Bu konuda kesin bir sonuca varabilmek için sadece bu amaca yönelik yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada örnek alınan flepler canlılık değerlendirmesinde kullanılmamıştır; fakat yine de bu fleplerle, aynı tavşanın diğer kulağındaki işlem yapılmamış fleplerin canlılık oranları birbirine benzerdi. Buna göre modelimizdeki

örnek alma işlemi flep canlılığını değiştirmediğinden, aynı modelin kullanılacağı çalışmalarda denek sayısının sınırlı tutulması için örnek alınan fleplerin canlılık değerlendirilmesi için de kullanılması uygun görünmektedir.

Xiu ve ark. (6) ile Tuncer (3) FTVF'lerde SOR gidericiler kullanarak flep yaşamını artırmışlardır. Yapılan çalışmalarda total venöz kanla beslenen sistemlerde, arteriyel kanla beslenen sistemlere nazaran pO_2 'nin azaldığı bildirilmiştir (82). Thatte ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise venöz fleplerde kan akımının $1/2-1/3$ oranında azaldığı gösterilmiştir (21). Yine Matsushita ve arkadaşlarının (5) 1993'te yaptıkları araştırma sonuçları, venöz fleplerde glukoz oranının belirgin bir şekilde düştüğünü, laktat-glukoz oranının ise belirgin bir şekilde yükseldiğini göstermiştir. Atabay ve arkadaşlarının (4) FTVF ler üzerinde yaptığı başka bir çalışmada iskemi-reperfüzyon sonrasında, Tuncer'in çalışmasında (3) ise venöz flepte SOR'lerinin son ürünlerinde bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Angel ve arkadaşlarının (7) yaptığı bir başka çalışmada ise venöz fleplerde ATP miktarının kontrol doku ve arteriyel flebe göre azaldığı gösterilmiştir. Tüm bu veriler venöz fleplerin iskemik flepler olduğunu desteklemektedir. Bu durumda iskemi durumlarında artan NO'in venöz fleplerde de artması beklenir (1,8,9). Yapılan bu çalışmada da, venöz flep NO kan değerleri, doku değerlerine yansınmasa da, normal kan değerlerine göre anlamlı olarak arttı. Bu sonuç venöz fleplerin iskemik olduğunu desteklemektedir. Venöz bir pedikülle beslenen bu fleplerde kan akımı arteriyel fleplere oranla azdır (21). Böylece muhtemelen dokular ile kan arasında normalden farklı şekilde gerçekteşen metabolit değişimi yetersiz olmaktadır. Buda venöz fleplerdeki iskemiye katkıda bulunabilir.

L-arjinin beklendiği gibi, literatürdeki bilgilere uygun olarak, kontrol grubuna göre flep yaşamını artırdı ($p<0.001$), ancak literatürde arteriyel fleplerde yapılan çalışmaların çoğunun aksine NO kan ve doku düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik yapmadı ($p>0.05$) (62,73,83); bu beklenmeyen bir sonuçtu. Yine beklenmeyen bir başka sonuç olarak, arteriyel fleplerde yapılan çalışmalarda NO düzeyini düşürerek flep yaşamını artırdığı (11,72,73) veya azalttığı (12,66) bildirilen L-NAME, venöz flep yaşamında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik yapmadı ($p>0.05$); ama doku NO düzeyini kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalttı ($p<0.001$).

Flep yaşamı ile ilgili bu çalışmadakine benzer bir sonucu Meldrum ve ark. sıçan iskelet kası iskemi-reperfüzyon modelinde elde etmişlerdir. Bu çalışmada L-

arjinin kas canlılığını artırmış, L-NAME ise canlılığı değiştirmemiştir (73). Onların da belirttiği gibi, verilen L-NAME, NO yapımını inhibe edip doku kan akımını azaltarak kas canlılığını olumsuz yönde etkilerken, NOS inhibisyonu ile de SOR oluşumunu engelleyerek bu zararlı etkilerini dengelemiş olabilir. Literatürde NOS inhibisyonu ile elde edilen sonuçların değişik olmasının nedeni, verilen NOS inhibitörlerinin birbirinden farklı olması, değişik zamanlarda, değişik dozlarda ve değişik yollarla uygulanmaları olabilir. Bizim çalışmamızda da L-arjinin flep canlılığını kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artırdı. L-NAME ise doku NO seviyesini azaltırken flep canlılığını değiştirmedir.

Cordeiro ve ark. yaptıkları çalışmada, NO öncüsü L-arjinin uyguladıkları hayvanlarda flep yaşamının diğer gruplara göre anlamlı olarak arttığını, buna karşılık flep dokusundaki nötrofil içeriğinin ve nötrofillerin myeloperoksidaz aktivitesinin azaldığını, L-arjinin ile birlikte bir NOS inhibitörü olan L-NAME verildiğinde ise bu etkilerin nötralize olduğunu göstermişlerdir (66). Yine aynı çalışmacılar, sıçanlarda yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar almışlardır (69). NO potent bir vazodilatatördür ve rezistans damarlarında bazal vasküler tonusun sürdürülmesinde önemli rol oynar. Artmış NO aktivitesi cGMP aracılığı ile damar düz kaslarını gevşetir ve doku kan akımını artırır (62). Khiabani ve ark. NO vericisi uygulanması ile flep canlılığının arttığını, artmış olan myeloperoksidaz aktivitesinin ise azaldığını göstermişlerdir (62). Yine Erçöçen ve ark. L-arjinin uygulamasının sıçan random yapılı deri fleplerinde, flep yaşamını artırdığını göstermişlerdir (68). Um ve ark. L-arjinin verilmesinin flep yaşamını ve kan akımını artırdığını, bununla beraber peroksinitrit aracılı doku hasarının göstergesi olan 3-Nitro-L-tyrosine'nin de arttığını, NOS inhibitörü uygulanması ile de oluşan olumlu etkilerin geriye döndürüldüğünü göstermişlerdir (12). İskemik fleplerde serum NO konsantrasyonu artar. NOS inhibitörleri bunu azaltır (9). Aynı zamanda serbest oksijen radikallerini, inflamatuvar mediatörleri, nötrofilik aktivasyonu ve vasküler endotelial hücre hasarını azalttığını da bildirmişlerdir (9). Knox ve ark. sıçanlarda yaptıkları çalışmada, iskemiye takiben NOS inhibitörü olan L-NAME uygulamasının epigastrik ada fleplerinde flep yaşamını artırdığını göstermişlerdir (11). Bunun mekanizmasını da iskemi sırasında fleplerde oluşan redoks değişiminden dolayı NO'in sitotoksik yönde etki göstermesi şeklinde açıklamışlardır. Çünkü NO'in hücre koruyucu veya hasarlayıcı etki göstermesinde hücre içi redoks ortamının durumu önemlidir (11). Tüm bu

çalışmalardan anlaşıldığı gibi NO çift yönlü etkilere sahiptir. Ancak bugüne kadar bu farklı etkiler aynı çalışmada ortaya konulamamıştır. Bizim alışmamızda belki de NO'in bu farklı etkileri bir arada ortaya çıkmıştır. L-arjinin uygulaması NO'in vazodilatatör ve sitoprotektif etkileri aracılığı ile flep yaşamını artırırken, L-NAME verilmesi NO'in neden olduğu doku hasarlayıcı etkileri baskılamış olabilir. NO miktarının azalmasına rağmen flep yaşamının bozulmaması da bunu destekler.

Eğer L-arjinin depoları yeterli ise elektronlar NOS tarafından bu aminoaside transfer edilerek NO oluşturulur. Ama L-arjinin depoları azalmış ise NOS elektronları doğrudan oksijene transfer ederek süperoksit anyonlar oluşturur (61). Bu alışmada L-arjinin verilmesi ile NO miktarı artmadığı halde, canlı flep alanı önemli ölçüde artmıştır. Bunun nedeni, verilen L-arjinin'in, NOS'ın elektronları oksijene aktarıp SOR oluşturmasını engellemesiyle doku hasarını azaltması ve flep yaşamına olumlu katkı sağlaması olabilir. Çünkü "uncoupled reaksiyon" sonucu oluşan peroksinitrit, NO aracılı doku hasarından sorumlu maddedir (8,61). Nitekim bu hipotezimizi doğrular sonuçlar tavşan iskelet kası iskemi-reperfüzyon modelinde yapılan çalışmada elde edilmiştir (83). Bu çalışmada verilen L-arjinin süperoksit oluşumunu önleyerek iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmış, diğer yandan vazodilatasyon için gerekli NO seviyesinin devamlılığını sağlamıştır. Huk ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada ayrıca kan NO değerleri invivo monitörize edilmiş ve; NO değerlerinin iskemi periyodunun başlangıcında yükseldiği, 1-2 dakika yüksek kaldıktan sonra, 50 dakika içinde bazal vasküler tonusun sürdürülmesini sağlayan bazal değerlere indiği, 2.5 saatlik iskemiden sonraki reperfüzyon periyodunda ise bazal değerlerin de altına indiği grlmştir. NOS inhibitörü uygulaması sonrası başlangıçta görülen NO artışı çok önemsiz miktarda olmuş ve kısa süre sonra da NO değerleri bazal değerlerin altına inmiş, reperfüzyon sonrası ise bu düşüş daha da belirginleşmiş ve NO değerleri tedavisiz gruptan 4-8 kat fazla azalmıştır. L-arjinin tedavisiyle ise, başlangıçta görülen NO artışı daha fazla olmuş, bu artış daha uzun sürmüş ve reperfüzyon periyodu da dahil NO değerleri hiçbir zaman bazal seviyenin altına inmemiştir. Yani bu çalışmada da grldğu gibi, NO düzeyindeki değişim sürekli bir artış şeklinde değil, dalgalanma şeklinde olmaktadır. Dolayısıyla NO lm farklı zamanlarda yapılırsa, elde edilecek NO değerleri de farklı olacaktır. Bu bize L-arjinin uygulaması ile NO düzeyinde artış tespit edememize rağmen flep canlılığında artış olmasını açıklayabilir; bizim örnekleme zamanımız NO'in artış dönemine tesadüf etmemiş

olabilir. Yine bu çalışmada NO ve SOR yapımı arasında ters korelasyon olduğu görülmüştür. Oksijen de NOS'ın substratıdır ve ortamda yeterli L-arjinin olmadığında NOS oksijeni, SOR'ine çevirir. NOS inhibitörleri SOR oluşumunu engeller, ancak birlikte NO yapımını da engellediği için vazokonstriksiyona neden olur.

Bu çalışmada yukarıdaki beklenmeyen sonuçlara ek olarak NO düzeyindeki değişikliklerle, flep canlılığı arasında da anlamlı bir ilişki bulunamadı; L-arjinin grubunda flep yaşamı arttığı halde NO miktarı değişmezken, buna karşılık L-NAME grubunda flep canlılığı değişmediği halde NO düzeyi azaldı. Bu sonuçlar bize NO'in venöz flep patofizyolojisinde rolü olmayabileceğini de düşündürmüştür. Arteriyel fleplerin yaşamında NO'in rolü her ne kadar çok sayıda çalışma ile ortaya konulmuşsa da (8,9,11,12,62,66,67), venöz flepler onlardan farklıdır. Çünkü venöz flepler sadece içerdiği venöz sistem aracılığı ile yaşarlar, venöz sistemin yapısı da arteriyel sistemden farklıdır. Venöz sistemde damar duvarlarındaki kas tabakası belirgin değildir, NO ise etkisini damar düz kaslarını gevşeterek gösterir. Bu nedenle de miktarındaki değişmeler venöz flep canlılığını etkilememiş olabilir. Bu son argüman doğru kabul edildiğinde, yukarıda beklenmeyen olarak adlandırdığımız tüm sonuçlar açıklanır hale gelmektedir.

SONUÇLAR

Venöz flepte kan NO düzeyi normal kan değerlerine kıyasla artarken doku düzeyi değişmemiştir. L-arjinin flep canlılığını kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artırırken NO düzeyini değiştirmemiş, L-NAME ise flep canlılığını değiştirmedeği halde, doku NO düzeyini azaltmıştır. Tüm bu sonuçlar ışığında, NO'in venöz flep patofizyolojisindeki rolünü anlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır. Bu çalışmalarda:

- Venöz fleplerde NO düzeyi ile birlikte flep kan akımının da değerlendirilmesi,
- Venöz fleplerde farklı zamanlardaki NO düzeyi değişiminin araştırılması,
- Venöz flep NO değerlerindeki değişimin sistemik değerlerle kıyaslanması,
- NO aracılı doku hasarının göstergesi olan 3-Nitro-L-tyrosin düzeyine bakılması,
- NOS subtiplerinin aktivitesinin değerlendirilmesi,
- Bizim çalışmamızın sonuçlarının test edilmesi, faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Baek SM, Weinberg H, Song Y, Park CE, Biller HF. Experimental study in the survival of venous flaps without arterial inflow. *Plast Reconstr Surg*. 1985;75:88.
2. Voukidis T. An axial-pattern flap based on the arterialised venous network: an experimental study in rats. *Br J Plast Surg*. 1982;35:534.
3. Tuncer A. Tavşan kulağı “flow-through” venöz flep modelinde serbest oksijen radikal düzeyleri, ve serbest oksijen radikal gidericilerinin serbest oksijen radikal düzeyleri ile flep yaşamına etkisi. Uzmanlık tezi. Erciyes Üniversitesi. Kayseri - 2003
4. Atabey A, Gezer S, Vayvada H, Kırkcalı G, Menderes A, Karaca C, Barutçu A. İshemia-reperfusion injury in flow-through venous flap. *Ann plast Surg*. 1998;40:612
5. Matsushita K, Firrel JC, Oeden L, Tsai TM. Blood flow and tissue survival in rabbit venous flap. *Plast Reconstr Surg*. 1993;91:127
6. Xiu ZF, Chen ZJ. The effect of glutathione, superoxide dismutase and adenosine triphosphate on venous flap survival. *Eur J Plast Surg*. 1996;19:170
7. Angel MF, Knight KR, Dvir E. Biochemical analysis of venous flap in the dog. *J Surg Res*. 1992;53:24.
8. Gribbe Ö, Lundeberg T, Samuelson U. E, Wiklund P. Nitric oxide synthase activity and endothelial ultrastructure in ischaemic skin-flaps. . *Br J Plast Surg*. 1997;50:483.
9. Hideo O, Hajime I, Masaki A, Miyuki T, Hirotoimo I. Physiological Roles of Endotelium-derived Nitric Oxide in the Epigastric Island Flaps of Rabbits. *Ann Plastic Surg* 1997; 39: 608.
10. Gribbe O, Lundeberg T, Samuelson UE, et al. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. *Ann Plast Surg* 1999 42(2): 180

11. Knox LK, Angel MF, Gamper T, Amiss LR, Morgan RF. Secondary ischemic tolerance improved by administration of L-NAME in rat flaps. *Microsurgery* 1996; 17: 425.
12. Um SC, Suzuki S, Toyokuni S, et al. Involvement of nitric oxide in survival of random pattern skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1998 101(3): 785.
13. Cormack CG, Lamberty GH. Introduction. In: *The arterial anatomy of skin flap* (2nd ed). Livingstone C, Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, Tokyo. 1994; pp:2.
14. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: Mc Carthy JG, May JW, Littler JW (eds), *Plastic Surgery, Volume I*. WB Saunders Company, Philadelphia 1990; pp:275.
15. Cutting BC., Robson CM., Koss N. Denervation supersensitivity and the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1978;61:881.
16. Taylor GI, Palmer JH, Mc Manamy D. The vascular territories of the body (angiosome) and their clinical applications. In: Mc carthy JG, May JW, littler JW (eds), *Volume I WB Saunders company, Philadelphia*. 1990; pp:353.
17. Thatte MR, Thatte RL. Venous flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1993;91:747
18. Ueda K, Harada T, Magasaka S, Oba S, Innoue T, Harashina T. An experimental study of delay of flow-through venous flaps. *Br J Plast Surg*.1993;46:56.
19. Guyton AC. *Textbook of medical physiology* (9nd ed.) WB Saunders CO, Philadelphia 1996; pp:161.
20. Nakayama Y, Soeda S, and Kasai Y. Flaps Nourished by arterial inflow through the venous system: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg*.1981;67:328.
21. Thatte MR, Kander NB, Khakkar DV, Varade MA, Thatte RL. Static and dynamic computerised traced studies, vital dye staining and theoretical mathematical calculation to ascertain the model of survival of single cephalad channel venous island flaps. *Br J Plast Surg*. 1989;42:405.
22. Thatte RL, Thatte MR. A study of the saphenous venous island flap in the dog without arterial inflow using a non-biological conduit across a part of the length of the vein. *Br J Plast Surg*. 1987;40:11.

23. Thatte RL and Thatte MR. Cephalic venous flap. *Br J Plast Surg.* 1987;40:16.
24. Chavoïn JP, Rouge D, Vachaud M, et al. Island flaps with an exclusively venous pedicle: A report of eleven cases and a preliminary hemodynamic study. *Br J Plast Surg.* 1987;40:149.
25. Sasa M, Xian W, Breidenbach W, Tsai TM, Shibata M, Firrel J. Survival and blood flow evaluation of canine venous flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1988;82:319.
26. Amarante J, Costa H, Reis J, Socares R. Venous skin flaps: An experimental study and report of two clinical distal island flaps. *Br J Plast Surg.* 1988;141:132.
27. Noreldin AA, Fukuta K, and Jackson IT. Role of perivenous areolar tissue in the viability of venous flaps: An experimental study on the inferior epigastric venous flap of the rat. *Br J Plast Surg.* 1992; 45:18.
28. Adamo C, Rubino C. Venous flaps and perivenous areolar tissue: an experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg.* 1996;12:179.
29. Tercan M, Günay GK, Bekerecioğlu M, Özyazgan İ. Venöz ada flep yaşamında perivasküler areolar dokunun rolü ve arteriovenöz fistülün venöz flep yaşamına etkisinin değerlendirilmesi. *Türk Plast Cer Derg.* 1997;5:171.
30. Suzuki Y, Isshiki N, Ishikawa K, Koyama H. Viability and quantitative dermofluorometry of experimental arterialised and non-arterialised venous flaps. *Br J Plast Surg.* 1993;46:273.
31. Fukui A, Maeda M, Tamai S. The pedicled venous flap. An experimental study. *Br J Plast Surg.* 1993;46:68.
32. Dvir E, Hickey MJ, Hurley JV, et al. A histological and carbon perfusion study of cephalic and saphenous venous flaps in the dog. *Br J Plast Surg.* 1994;47:263.
33. Xiu ZF, Chen ZJ. The microcirculation and survival of experimental flow through venous flaps. *Br J Plast Surg.* 1996;49:41.
34. Takato T, Komura Y, Yonehara H, Zuker RM. Prefabricated venous flaps: An experimental study in rabbits. *Br J Plast Surg.* 1993;46:122.
35. Fukui A, Inada Y, Maeda M, Tamai S, Mizumoto S, Yajima H, et al. Pedicled and “flow-through” venous flaps; clinical applications. *J Reconstr Microsurg.*

- 1989;5:235.
36. Nishi G. Venous flap for covering skin defect of the hand. *J Reconstr Microsurg.* 1994;101:313.
 37. Inada Y, Fukui A, Tamai S, Mizumoto S. The arterialised venous flap: experimental studies and a clinical case. *Br Plast Surg.* 1993;46:61.
 38. Honda T, Nomura S, Yamauchi S, Shimamura K, Yoshimura M. The possible applications of a composite skin and subcutaneous vein graft in the replantation of amputated digits. *Br J Plast Surg.* 1984;37:607.
 39. Yoshimura M, Shimada T, Imura S, et al. The venous skin graft method for repairing skin defects of fingers. *Plast Reconstr Surg* 1987;79:243.
 40. Tsai TM, Matiko JD, Breidenbach W, Kutz JK. Venous flaps in digital revascularization and replantation. *J Reconstr Microsurg.* 1987;3:113.
 41. Koshima I, Soeda S, Nakayama Y, Fukuda H, Tanaka J. An arterialised venous flap using the long saphenous vein. *Br J Plast Surg.* 1991;44:23.
 42. Yilmaz M, Menderes A, Karaca C, Barutcu A. Free arterialized venous forearm flap. *Ann Plast Surg.* 1995;34:88.
 43. Cheng TJ, Chen HC, Tang YB. Salvage of a devascularized digit with free arterialized venous flap: a case report. *J Trauma.* 1996;40:308.
 44. Inada Y, Fukui A, Tamai S, Kakihata T, Maeda M. The sliding venous flap for covering skin defects with blood supply on the lateral aspects of fingers. *Br J Plast Surg.* 1991;44:368.
 45. Patterson SJT, Berry JW, Wiernic G. The effect of radiation on the survival of experimental skin flaps. In: *Skin Flaps.* Editors: Grabb, WC, Myers, M.B., Little Brown Comp., Boston. 1975; pp:39.
 46. Myers MB, Cherry G. Augmentation of tissue survival by delay: an experimental study in rabbits. *Plast Reconstr Surg.* 1967;39:397.
 47. Myers MB. Investigation of skin flap necrosis. In: *Skin Flap,* Editors: Grabb WC, Myers MB. Little Brown Comp, Boston 1975; pp:3.
 48. Mulliken JB, Healey NA. Pathogenesis of skin flap necrosis from an underlying hematoma. *Plast Reconstr Surg* 1979;63:540.

49. Pierzga JM, Frymoyer A, Kenney L. Delayed distribution of active vasodilation and altered vascular conductance in aged skin. *J Appl Physiol.* 2003; 94: 1045.
50. Angel MF, Mellova CG, Knight KR, O'Brien BMcC. Secondary ischemia time in rodents: Constrasting complete pedicle interruption with venous obstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1990;85:789.
51. Gampper TJ, Zhang F, Mofakhami NF, et al. Benefical effect of hyperbaric oxygen on island flaps subjected to secondary venous ischemia. *Microsurgery.* 2002; 22: 49.
52. Reus WF, Robson MC, Zachary L. Acute effects of tobacco smoking on blood effect of the delay phenomenon on the vascularity of rabbit abdominal cutaneous island flap. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99:183.
53. Lawrance WT, Murphy RC, Robson MC. The detrimental effect of cigarette smoking on flap survival: An experimental study in the rat. *Br J Plast Surg.* 1984;37:216.
54. Bhagavan NV. Metabolism and Synthesis of Nitric Oxide. *Medical biochemistry*, (4nd ed), chapter 17 pp: 345.
55. Schroeder RA, Kuo PC. Nitric Oxide: Physiology and Pharmacology. *Anesth Analg.* 1995; 81: 1052.
56. Wallis JP. Nitric oxide and blood: a review. *Transfussion Medicine.* 2005; 15: 1.
57. Weller R. Nitric oxide: a key mediator in cutaneous physiology. *Clin and Exp Dermatol.* 2003; 28: 511.
58. Virag L, Szabo E, Bakondi E, Bai P, Gergely P, Hunyadi J. Nitric oxide-peroxinitrite-poly(ADP-ribose)polymerase pathway in the skin. *Exp Dermatol.* 2002; 11: 189.
59. Mateo AO, Artinano AA. Nitric oxide reactivity and mechanisms involved in its biological effects. *Pharmacological Research.* 2000; 42: 421.
60. Daniela BG, Thomas R, Victoria KB. Nitric oxide in human skin: Current status and future prospects. *J Invest Dermatol.*1998; 110: 1.
61. Zamboni WA. Discussion; Use nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia-reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102: 2049.

62. Khiabani KT, Kerrigan CL. The effects of the nitric oxide donor SIN-1 on ischemia-reperfused cutaneous and myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg*. 2002;110: 169.
63. Walford G, Loscalzo J. Nitric oxide in vascular biology. *J Thromb Haemost*. 2003; 1: 2112.
64. Rubio AR, Segula MAM. Nitric oxide, an iceberg in cardiovascular physiology: far beyond vessel tone control. *Arc Med Research*. 2004; 35: 1.
65. Luo J, Chien A. Nitric oxide: a newly discovered function on wound healing. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005; 26: 259.
66. Corderio PG, Santamaria E, Hu Q-Y. Use nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia-reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102: 2040.
67. Küntscher MV, Juran S, Menke H, Gebbard MM, Erdmann D, Germann G. The role of pre-ischaemic application of the nitric oxide donor spermine/nitric oxide complex in enhancing flap survival in a rat model. *Br J Plast Surg*. 2002;55:430.
68. Erçöçen AR, Apaydın İ, Emiroğlu M, Gültan MS, Ergün H, Yormuk E. The effects of L-arjinin and iloprost on the viability of random skin flaps in rats. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg*. 1998; 32: 19.
69. Corderio PG, Mastorakos DP, Hu Q-Y, Kirschner RE. The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1997;100: 1227.
70. Kuo YR, Wang F-S, Jeng S-F, et al. Nitrosoglutathione promotes flap survival via supression of reperfusion injury-induced superoxide and inducible nitric oxide synthase induction. *J Trauma*. 2004; 54: 1025.
71. Knox LK, Stewart AG, Hayward PG, Morrison WA. Nitric oxide synthase inhibitors improve skin flap survival in the rat. *Microsurgery* 1994;15:708.
72. Kane AJ, Barker JE, Mitchell GM, et al. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity promotes ischaemic skin flap survival. *Br J Pharmacol* 2001;132:1631.
73. Meldrum DG, Stephenson LL, Zamboni WA. Effects of L-NAME and L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle. *Plast Reconstr Surg* 1999;103:935.

74. Topp SG, Zhang F, Chatterjee T, Lineaweaver WC. Role of Nitric Oxide in Surgical Flap Survival. *J Am Coll Surg*. 2005. 201; 4: 628.
75. İnada Y, Hirai T, Fukui A, et al. An experimental study of the flow-through venous flap: Investigation of the width and area of survival with one flow-through vein preserved. *J Reconstr Microsurg*. 1992;18:297.
76. Coruh A, Abacı K, Gunay GK. The effect of topical nitroglycerine on the survival of ischemic flow-through venous flaps in rabbits. *J Reconstr Microsurg*. 2004;20(3):261.
77. Salgarello M, Selvaggi G, Lahoud P, Fadda G, Farallo E, Neurocutaneous island flap: An experimental model using the rabbit ear. *Ann Plast Surg*. 2004; 53: 146.
78. Özyazgan İ, Yılmaz A. Deneysel çalışmalarda flep canlılık yüzdesinin hesabı için basit bir bilgisayar programı. Poster bildiri, XXVI. Ulusal Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kongresi Özet Kitabı, Ankara 2004, ss 274.
79. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1991,193: 265.
80. Bories PH, Bories C. Nitrate Determination in Biological Fluids by an Enzymatic One-Step Assay with Nitrate Reductase. *Clin Chem*.1995; 41(6): 904.
81. Suzuki S, Miyachi Y, Niwa Y, et al. Significance of reactive oxygen species in distal flap necrosis and its salvage with liposomal SOD. *Br J Plast Surg*. 1989;42:559.
82. Nichter SL, Jasayeri MA. The physiologic basis for nonconventional vascular perfusion. *Plast Reconstr Surg*. 1995;95:406.
83. Huk I, Nanobashvili J, Neumayer C, et al. L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Circulation*. 1997. 15; 96(2): 667.