



T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



**SERBEST FLEPLERDE “CERRAHİ
GECİKTİRME İŞLEMİ”NİN REPERFÜZYON
HASARINA OLAN ETKİSİNİN FARKLI İSKEMİ
SÜRELERİNDE ARAŞTIRILMASI**

Arş. Grv. Dr. Murat Tüzüner

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nurten TURHAN HAKTANIR

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK
CERRAHİ ANABİLİMDALI**

Afyonkarahisar 2009

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

SERBEST FLEPLERDE
“CERRAHİ GECİKTİRME İŞLEMİ”NİN
REPERFÜZYON HASARINA OLAN ETKİSİNİN
FARKLI İSKEMİ SÜRELERİNDE ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat TÜZÜNER

AFYONKARAHİSAR – 2009

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

SERBEST FLEPLERDE
“CERRAHİ GECİKTİRME İŞLEMİ”NİN
REPERFÜZYON HASARINA OLAN ETKİSİNİN
FARKLI İSKEMİ SÜRELERİNDE ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat TÜZÜNER

TEZ DANIŞMANI: Yrd. Doç. Dr. Nurten TURHAN HAKTANIR

AFYONKARAHİSAR – 2009

TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : Serbest Fleplerde “Cerrahi Geciktirme İşlemi”nin Reperfüzyon Hasarına Olan Etkisinin Farklı İskemi Sürelerinde Araştırılması

Tezi Hazırlayan : Dr. Murat Tüzüner

Tez Savunma Tarihi :

Tez Kabul Tarihi :

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nurten Turhan Haktanır

İş bu çalışma jürimiz tarafından PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANA BİLİM DALI’ nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Üye

Üye

Üye

Üye

ONAY

DEKAN

Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU

TEŞEKKÜR

BaŐta, asistanlığım süresince plastik cerrah olma yolunda benimle değer biçilemez bilgi ve deneyimlerini paylaŐan, bana plastik cerrah olmanın ayrıcalığını hissettiren sayın Doç. Dr. Yavuz DEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Nurten TURHAN HAKTANIR'a gösterdikleri emek, gayret ve desteklerinden dolayı sonsuz teŐekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Asistanlık eğitimine birlikte baŐladıđımız günden beri çalıŐmaktan hep memnun olduğum Dr. Nazlı Sancaktar'a destekleri, anlayıŐı, paylaŐtikları ve güler yüzü için teşekkür ederim.

Bu tezin hazırlanması aşamasında değerli bigilerini benimle paylaŐan sayın Doç. Dr. Ahmet KAHRAMAN'a, Yrd. Doç.Dr. Nurhan DOĞAN'a, çalıŐmalarımnda bana yardımcı olan Arş. Gör. Bio. Halit Buğra KOCA'ya, Arş. Gör. Bio. Ayhan VURMAZ'a ve Arş. Gör. Türker ÜSTÜN'e teŐekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu günlere gelmemde bana maddi ve manevi olarak gösterdikleri sonsuz desteklerinden dolayı değerli aileme ve her zaman yanımda olan sevgili eŐime minnettarım.

Murat Tüzüner

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
KISALTMALAR	III
TABLolar ÇİZELGESİ	IV
ŞEKİLLER ÇİZELGESİ	V
I- GİRİŞ	1
II- GENEL BİLGİLER	3
A-) DERİNİN ANATOMİSİ VE KANLANMASI	3
B-) FLEP TANIMI VE DERİ FLEPLERİ	12
C-) FLEP KAN AKIMININ DÜZENLENMESİ	17
D-) İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI	20
E-) GECİKTİRME FENOMENİ	28
III- GEREÇ ve YÖNTEM	31
A-) DENEKLER, BARINMA, BESLENME	31
B-) KULLANILAN ALET VE MALZEMELER	31
C-) DENEY	32
1-) CERRAHİ GECİKTİRME AŞAMASI	33
2-) DENEY AŞAMASI	36
3-) SONUÇLANDIRMA AŞAMASI	43
D-) DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ	46
1-) KLİNİK & PLANİMETRİK DEĞERLENDİRME	46
2-) BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	48
3-) İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	49
IV- BULGULAR	51
1-) PLANİMETRİK ANALİZ SONUÇLARI	51
2-) BİYOKİMYASAL SONUÇLAR	53
3-) İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR	54
V- TARTIŞMA	56
VI- SONUÇ	63
VII- ÖZET	64
VIII- SUMMARY	66
IX- KAYNAKLAR	68

KISALTMALAR

GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
SOD	: Süper oksit dismutaz
MDA	: Malondialdehit
ATP	: Adenozin trifosfat
ADP	: Adenozin difosfat
NADH	: Nikontinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikontinamid adenin dinükleotid fosfat
XO	: Ksantin oksidaz
PAF	: Platelet aktive edici faktör
NO	: Nitrik oksit
EDTA	: Etilendiaminatetraasetik asit
NBT	: Nitro blue tetrazoliumklorid
CAT	: Katalaz
CPK	: Kreatin fosfokinaz
GR	: Glutasyon redüktaz

TABLULAR

	Sayfa
Tablo I : Reaktif oksijen ürünleri ve kimyasal gösterimleri	23
Tablo II : Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	28
Tablo III : Gruplardaki fleplerin canlı ve nekroze alanlarının cm ² cinsinden büyüklükleri ve oranları	52
Tablo IV : Gruplardaki ratlarda doku SOD, GSH-Px, MDA, GSH ölçüm değerleri	53
Tablo V : “fark 1-4 ” grubu ve “fark 2-5 ” grubuna ait değerler	54
Tablo VI : Karşılaştırmaların p değerleri (Student’ s t testi sonucu)	55

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1 : İnsan derisinin kesiti	5
Şekil 2 : Kutanöz makrosirkülasyon	7
Şekil 3 : Septokutanöz damar tipleri	10
Şekil 4 : Muskülokutanöz ve septokutanöz damarlar arasındaki farklar	11
Şekil 5 : Rotasyon flebi	14
Şekil 6 : Transpozisyon flebi	14
Şekil 7 : İnterpolasyon flebi	15
Şekil 8 : İlerletme flebi	15
Şekil 9 : Rastgele tasarımı deri flebi	16
Şekil 10 : Aksiyel tasarımı deri flebi	17
Şekil 11 : Karın derisinde “cerrahi geciktirme” için flep kenarlarının insizyonu ve flebin zeminden eleve edilmesi	34
Şekil 12 : Flebin yerine dikilmesi	35
Şekil 13 : Sağ kasık bölgesinde “serbest flep modeli” oluşturulacak sağ yarı karın flebinin çizimi	36
Şekil 14 : Sağ yarı karın flebinin ada flep olarak kaldırılması	38
Şekil 15 : Femoral arter, ven, süperfisial inferior epigastrik arter, ven ve kas dalları	39
Şekil 16 : “Serbest flep modeli” oluşturulması	39
Şekil 17 : Flebin yerine dikilmesi	40
Şekil 18 : Flepten biyopsi alınan bölge	42
Şekil 19 : Sonlandırma aşamasında 3. gruptan bir rat	45
Şekil 20 : Sonlandırma aşamasında 5. gruptan bir rat	45
Şekil 21 : Flep çiziminde yaşayan nekroz alanı ile 1 cm ² lik alanın boyanması	46
Şekil 22 : Flep nekroz alanının piksel sayımı	47
Şekil 23 : Yaşayan flep alanının piksel sayımı	47
Şekil 24 : Milimetrik kağıttan 1 cm ² lik alanın piksel sayımı	48
Şekil 25 : Planimetrik kayıt	51

I-GİRİŞ

Doğumsal veya edinsel doku defektlerinin uygun şekil ve fonksiyonda onarımı Plastik Cerrahi'nin temel konularındandır. Yarayı analiz ederken kapatmak için en basitten başlayıp "rekonstrüktif merdiven" içinde daha komplekse doğru gidilmelidir (tablo1). Bu gidiş sırası primer onarım, deri grefti, lokal flep, mikrovasküler serbest flep şeklinde ilerleyerek herhangi bir rekonstrüktif durumun ana çerçevesi oluşturulabilir (1). Çoğu zaman defektlerinin kapatılmasında en uygun fonksiyonel ve estetik yaklaşım fleplerin kullanılmasıdır.

Flebin boyu uzadıkça flep yaşayabilirliğinde azalma ve flep distalinde kayıp görülmektedir (2). Artan anatomik çalışmalar ile flep tasarımlarının ve anjiozomların tanımlanmasına rağmen, halen flep nekrozu rekonstrüktif cerrahi için sorun teşkil etmektedir (3, 4). Flep nekrozu olduğu zaman sekonder iyileşmeye yardımcı olmak amacıyla zaman alan ve tekrarlayan pansumanlar ve hatta ikinci bir operasyon gerekebilmektedir. Bu durum hastanede yatış süresini, morbiditeyi ve maliyeti arttırmaktadır (2).

Flep sağkalımını belirleyen en önemli etkenlerden birisi iskemidir. Serbest doku aktarımları sonrasında iskemiden kaynaklanan doku yıkımının patofizyolojisinde reperfüzyon hasarı ve oluşan serbest radikallerin önemli bir etken olduğu inancı giderek artmaktadır. Son 20 yılda pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, reperfüzyon hasarının patofizyolojisi halen tümüyle anlaşılabilmiş değildir (5).

İskemik doku anaerob metabolizmaya yönelir ve toksik süperoksit radikallerin üretiminde artış olur. Bu radikaller direkt sitotoksik etki gösterebilir ve mikro dolaşımı bozan lökosit birikmesine yol açar (7, 8). Reperfüzyon sonrası oluşan oksijen radikalleri doğrudan hücre hasarı yapar (7, 9). Özellikle endotelial hücrelerde olmak üzere platelet ve lökositlerin hücre membranlarını etkileyerek lipit peroksidasyonuna neden olurlar (10). Reaktif oksijen gruplarının konsantrasyonu başlıca GSH, GSH-Px, SOD, CAT antioksidan sistemleri ile kontrol edilir (11).

Önkoşullama yöntemlerinden biri olarak kabul edilen cerrahi geciktirme (delay) işlemi, flep sağkalımını klinik olarak arttırdığı defalarca gösterilen tek gerçekçi yöntemdir (12, 13). Bu yöntemde, flep kısmi olarak kaldırılmakta ve flep distalinde nekroza yol açmayacak kadar iskemi ile flebin iskemiye dayanıklılığı artırılmaktadır (14). Günümüz birçok flep araştırmasında odaklanılan konu iskemik önkoşullamadır (15).

Serbest fleplerde iskemi çalışmalarının daha az oranda olmasından ve reperfüzyon hasarına kaçılmaz olarak maruz kalmasından dolayı çalışmamızı rat karın derisinde oluşturduğumuz serbest flep modelinde yapmayı tasarladık. İskemi- reperfüzyon hasarını, daha önce birçok çalışmada gösterildiği gibi (16, 17) temel antioksidan sistemlerini oluşturan GSH ve SOD sistemlerindeki enzim ve madde miktarlarının (SOD, GSH, GSH-px) tayini ve yine reaktif oksijen gruplarının etkisi ile hücre duvarındaki lipid peroksiadasyon ürünü olan MDA miktarının tayini ile göstermeyi planladık.

Çalışmamızın amacı, cerrahi geciktirme işlemi ile kanlanmasını arttırdığımız dokudan, farklı iskemi süreleri ile oluşturulan serbest flep modellerinde, iskemi reperfüzyon hasarlarını karşılaştırarak iskemi süresinin bu hasardaki etkisini göstermektir.

II-GENEL BİLGİLER

A-DERİNİN ANATOMİSİ VE KANLANMASI

DERİNİN ANATOMİSİ

Deri tüm vücudu sararak solunum, sindirim ve ürogenital sistemlerde devam eden ,total yokluğu hayatla bağdaşmayan önemli bir organdır (18).

Vücut ısısının regülasyonunda önemli yere sahiptir. Kapiller vazokonstriksiyon ile ısı kaybı azalırken, vazodilatasyon ısı kaybını sağlar. Yine ter bezlerinin fonksiyonu ile ısı kaybı sağlanır. Deri ihtiva ettiği sebese glandlardan dolayı geniş bir glandüler sistem olarak da değerlendirilmelidir (18).

Deri epidermis ve dermis olmak üzere iki temel tabakadan oluşur (şekil 1). Embriyolojik olarak farklı tabakalardan gelişir ve karakteristik özellikleri farklıdır (18). Dış tabaka olan epidermis dört ana hücre tipi içerir: keratinositler, melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri. Çok katlı yassı epitel beş tabakadan veya stratumdan oluşur: stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum bazale. Dermis, epidermisten çok daha kalındır ve hücresel olmayan bağ doku elemanları olan kollajen, elastin ve temel madde miktarı yönünden nispeten daha zengindir. Sinirler, kan damarları, lenfatikler, kas lifleri, pilosebase üniteler, apokrin ve ektrin üniteler dermis içerisinde yer alır (şekil 1). Epidermal papillalara bitişik olduğu için papiller dermis adını alan tabaka, fibroblastları, mast hücrelerini, histiositleri, Langerhans hücrelerini ve lenfositleri içerir. Retiküler dermis, papiller dermisen derininde yer alır ve papiller dermisten daha kalındır ve alttaki yağ dokuya uzanır. Retiküler dermis, gevşek olarak yerleşmiş elastin lifleri arasında dağılan büyük kollajen liflerini içerir (19).

EPİDERMİS

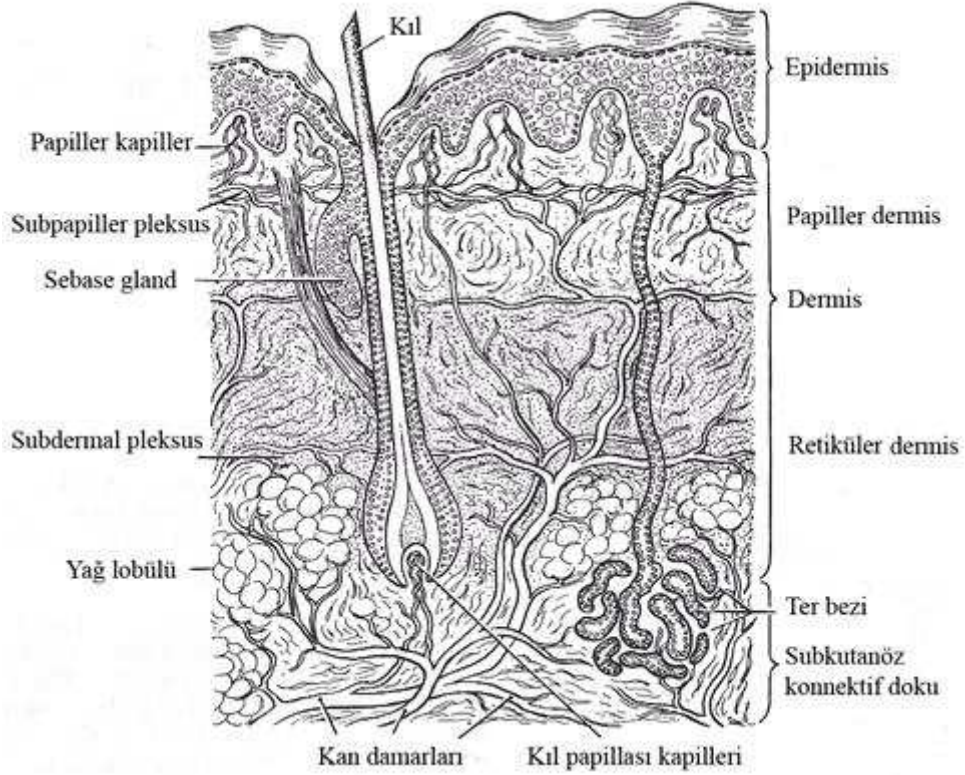
Epidermis, en üst tabakası su geçirmeyen ve dış dünya ile teması sağlayan tabakadır. İnsan embriyosunda 12. haftada farklılaştığı tespit edilmiştir (Medawar 1953) (20). Germinatif veya bazal tabaka sık sık kendini yeniler ve ölmekte olan hücreleri ve keratini yüzeye doğru iter (Flemming 1884) (21). Her epidermal hüce

ortalama 10 günde yüzeye ulaşır (18). Yanık veya abrazyon gibi yüzeysel bir yaralama sonucunda hasarlandığında, doku sıvıları bu bölgeden kaybedilirken dışarıdan da ilaç absorpsiyonu ve bakteri invazyonu oluşur. Yüzeysel yaralanmalarda germinatif tabaka sağlam olduğu için iyileşme skarsız oluşur. Sinir lifleri germinatif tabakada sonlandığından yüzeysel yaralanmalar ağrılı olur. Kollajen lifleri içermediğinden gerilmelere çok dayanıklı değildir (22). Spinozum tabakası veya dikensi hücre tabakasında hücreler daha geniştir ve birbirlerine ince fibriller olan tonofibriller ile bağlıdır. Daha üstte hücrelerin stoplazmalarında granüller mevcuttur. Saydam bir bant şeklinde en dış tabakayı granülozum tabakasından ayıran lusidum tabakası vardır. Korneum tabakası sert ve kalın en dış tabakadır (18).

Epidermis diğer dokulardan daha çok travmaya maruz kalır. En dış keratin tabakası koruyucu tabakadır. Oral, nazal ve ürogenital boşluklarda keratin tabaka yoktur (18).

DERMİS

Dermiste fibroblastlar tarafından oluşturulan fibröz protein olan kollajen mevcuttur (22). Papiller (yüzeysel) ve retiküler (derin) olmak üzere iki tabakadan oluşur (şekil 1). Papiller dermis aralıklı dizilmiş elastik ve retiküler kollajen lifler içerir. Kapiller içerir. Retiküler dermis dallanmış sıkı ve yüzeye paralel kollajen lifler içerir. Hücreler dışındaki alan mukopolisakkaritler (hyaluronik asit, kondroitin sülfat, keratan sülfat, dermatan sülfat, heparin, heparan sülfat) ve glikoproteinlerden oluşur ve jel benzeri yapı oluşturur (18). Epidermis kollajenden zengin ve düzensiz olan dermisin üzerine oturur ve buda bu yapıların mekanik olarak ayrılmasını engeller. Dermis epidermal devamlılığı olan deri eklerini (yağ bezleri, sebace bezler, kıl folikülleri) ihtiva eder (şekil 1). Derinin beslenmesi dermiste mevcut olan kan damarlarından sağlanır. Epidermiste kan damarları yoktur (22).



Şekil - 1 : İnsan derisinin kesiti. "Kazanjian ve Converse'den" (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 8-1.)

DERİNİN KANLANMASI

Derinin arter ve venlerinin bilinmesi flep ve insizyonların planlanması için esastır. 1889'da Manchot, 1893'de Spalteholz ve 1936'da Salmon gibi anatomistler tarafından bu damarların ayrıntılı çalışmaları (23, 24, 25) yapılmış olmasına rağmen İngilizce olarak yayınlanamamıştır. Bu nedenle İngilizce konuşan dünya bu deri damarlarının anatomisine yeterince önem verememiş ve cerrahlar deri fleplerini random olarak planlamışlardır (26).

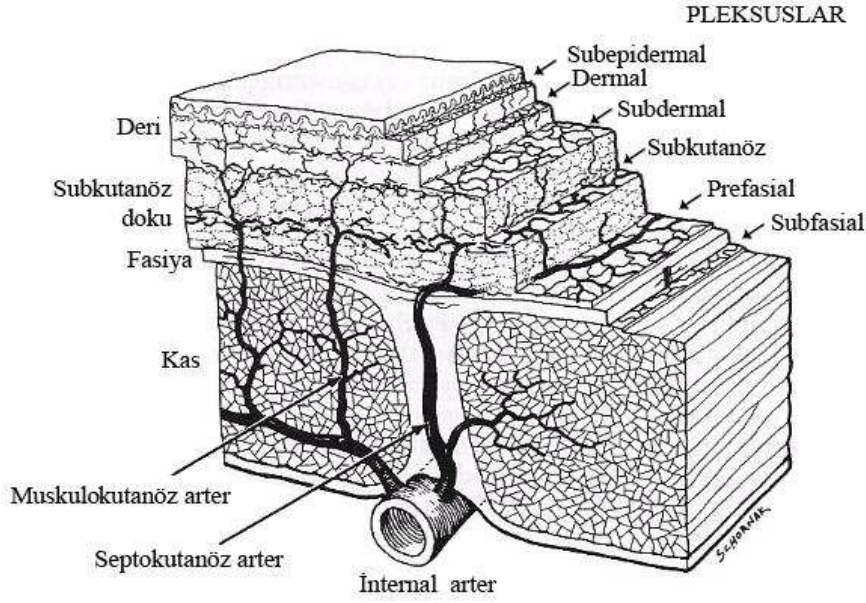
Deri dolaşımının sınıflandırılma girişimlerinde ve terimlerinde sıklıkla vasküler anatomiden çok flep tasarımına dayanan bir artış olmuştur. Yeni flep olarak tarif edilen ada, fasyal, nörokutanöz, direkt, indirekt, aksiyel, random, süper, septal, arteriyel, muskülokutanöz, perforator ve diğerleri, temelinde farklı gözlerle görülmüş aynı fleplerdir. Converse "sınıflandırma için en doğru

yaklaşımın flebin vasküler temeli" olduğunu bildirmiştir (27). Zaman bu tespitin doğruluğunu desteklemiştir.

Deri vücudun en büyük organıdır. Dolaşımı zengin ve geniş olmasına rağmen bileşenlerinin metabolik ihtiyaçlarının az olması nedeniyle yaşayabilirliği için mevcut deri dolaşımının yalnızca küçük bir parçası yeterlidir, bu gerçek çeşitli deri fleplerinin sağkalımına ve tasarımına temel oluşturur (26).

Kutanöz arterler direkt alttaki kaynak arterlerden veya derin dokuları, özellikle kasları besleyen kaynak arter dallarından indirekt olarak köken alırlar. Buradan kutanöz arterler kasların arasında veya içinde derin dokuların bağ dokusu çatısını takip eder ve derin fasyanın dış yaprağının altında değişken bir uzaklıkta ilerler (26). Genellikle belirli sabit noktalardan kutanöz perforatörler olarak bu yapıları delerler. Derin fasyayı geçtikten sonra fasya ve alt yüzdeki yağ dokusunu besleyen dallar vererek arterler, değişken bir mesafede derin fasyanın yüzeyinde ilerler. Daha sonra subkutan yağ dokusunun lobülleri arasında kıvrılarak ilerler sonunda deriyi beslemek için tekrar değişken mesafelerde ilerleyecekleri subdermal pleksusa ulaşırlar. Kutanöz arterler ve venler uzun kanallar veya damar sisteminin oluşturduğu zincir sistemi ile beraber ilerler (26) (şekil 2).

Kutanöz perforatörlerin yoğunluğu, hacmi ve yönü çeşitli anatomik kavramlara temel oluşturan vücudun büyüme, farklılaşma ve fonksiyonel gereksinimlerine göre oluşur (26). Genelde baş, boyun, gövde ve proksimal ekstremitte damarları önkol, bacaklar, eller ve ayaklardaki karşılarından geniş ve birbirlerinden daha geniş aralıklıdır. Kutanöz perforatörlerin çapı ve uzunluğu değişken olmakla beraber hepsi birbirleriyle bağlanarak dermis, subdermis, subkutanöz yağ dokusunun altında ve derin fasyanın dış yüzeyinde özellikle iyi gelişmiş horizontal tabaka halinde üç boyutlu "vücut örtüsü" oluşturur (26) (şekil 2).



Şekil - 2 : Kutanöz makrosirkülasyon (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 9-6)

Birbirine komşu kutanöz damarlar arasındaki bağlantı ya çapı değişmeyen gerçek anastomozlarla veya çapı daralmış "choke" anastomotik damarlarla olur. Bu "choke" anastomozlar deride (deri ve deri altı dokuda) daha fazladır ve sağlam deriye kan akımını regülasyonunda önemli olabilir. Bu "choke" damarlar flep ucu ve flep tabanı arasındaki flebe kan akımına başlangıçta direnç sağlayarak deri flebi sağ kalımında önemli bir rol oynar (26).

Kutanöz venler de subdermiste belirgin tabakalanma gösteren birbirleriyle bağlantılı kanallardan oluşan üç boyutlu bir ağ oluşturur. Bu venlerin çoğu kanı belirli bir yöne yönlendiren kapakçıkları olmasına rağmen sıklıkla avalvüler (kapakçiksız) venler ile bağlıdırlar. Bu avalvüler venler valfleri ters yöne açılabilen komşu venöz adalar arasında akım iki yönlü olmasına imkan tanıyarak akım ve basınç dengesini sağlar (26).

Dermal ve subdermal pleksustan gelen venler ya sıklıkla kutanöz sinirlerle ve zincir gibi bağlanmış longitudinal arter sistemi ilişkili geniş çaplı venlerin oluşturduğu "çevre yolu" horizontal sistemindeki venöz drenajı ya da alternatif olarak derin fasyayı delen kutanöz arterlerle beraber aşağı dik olarak inen ortak bir kanaldan çevresel tarzda venöz drenajı toplar. Bu perforan venler direkt ve

indirekt kutanöz arterlerle beraber kalarak en sonunda derin dokudaki kaynak arterlerin vena komitantesine drene olur. Böylece deri vücutta bölgeden bölgeye çapı, şekli, yoğunluğu ve yönü değişen damarlardan oluşmuş devamlılık gösteren arter ve ven ağı ile beslenir ve drene olur (26).

Tüm fleplerin özellikle de fasyokutanöz ve septokutanöz fleplerin planlanmasında damarların bağ dokusu çatısını izledikleri gerçekliği esastır. Sıklıkla karışan yüzeysel ve derin fasyanın arasındaki ayırım önemlidir (26).

Yüzeysel fasya dermisi derin fasyanın dış tabakasına bağlayan bal peteği şeklinde gevşek bağ dokusudur. Derin fasya da genellikle yüzeysel fasyaya göre daha az esnek olan bal peteği şeklinde bağ dokusudur. Derin fasya gövdede bir kılıf, ekstremitelerde ise bir çorap gibi kasları sarar. Bazı yerlerde yoğun bazı yerlerde gevşek intermusküler septaları ile periostla devam ettiği yerlerde dış tabakayı iskelete asar. Derin fasya bu septalardan ve periosttan kasların içine intramusküler septa olarak devam eder (26).

Kutanöz perforatörler genellikle kaynak arter veya onun kasa verdiği dallardan birinden kasa girmeden önce veya sonra çıkarlar ve derin fasyanın dış tabakasını delmek için sırasıyla direkt veya indirekt kutanöz damarlar olarak derin fasyanın intermusküler veya intramusküler konnektif dokularını takip ederler (26).

Kutanöz damarların bir kısmı sinir, periost ve bazı bezler gibi diğer derin yapılara giden dallardan köken alırlar. Kutanöz damarlar derin fasyadan çıktıktan hemen sonra dermise ulaşmak için yüzeysel fasyanın bağ dokusu çatısını takip eder (26).

Bazı bölgelerde bağ dokusu içerisinde ilerleyen arterlerin pulsasyonuna ve venlerin genişlemesine imkân tanıyacak şekilde gevşektir. Diğer bölgelerde bağ dokusu derin fasyanın dış tabakası, intermusküler septa ve periost gibi yoğun fibröz kılıflar oluştururlar. Böyle yerlerde damarlar yoğun fasyanın içinde değil yanında veya üzerinde ilerler (26).

Damarlar doku planlarına sabit kenarlardan geçerek, hareketli planlarda da ilerleyerek dağılırlar. Bu düşünce ile damarların derin fasyadan sabit yerlerde

çıkıldığı görülebilir. Uzun ve güvenli flepler derinin sabit olduğu yerlerde aksı derinin en hareketli olduğu hatta paralel olarak planlanmalıdır. Sabit noktalar arasındaki mesafe arttıkça güvenli flep boyutları da artar (26).

Damarlarda denge kuralı Debreuil-Chambardel tarafından tarif edilmiştir (25). Temel olarak bu kavrama göre "aynı bölgedeki anatomik adaları besleyen komşu arterler birbirleriyle ters bir ilişki içindedirler". Eğer bir damar küçükse diğeri bunu dengelemek için büyüktür ya da bu durumun tersi geçerlidir (26).

DERİNİN KANLANMASININ SINIFLANDIRILMASI

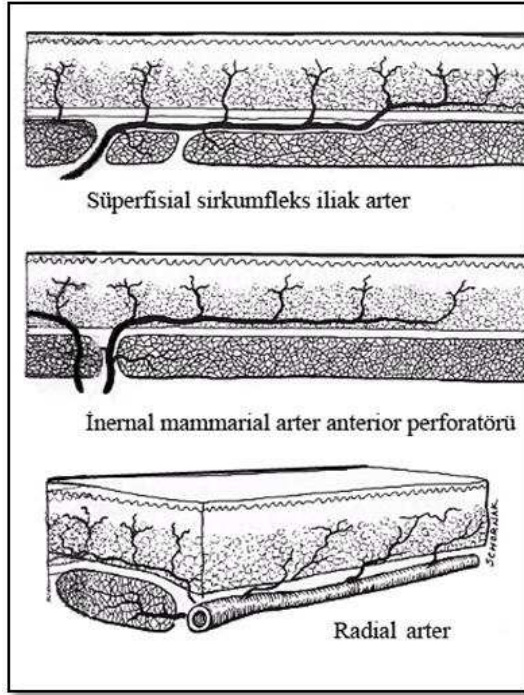
Flep diseksiyon ve planlamasına göre tarif edilmiş olan aksiyel, random, kutanöz, fasyokutanöz, septokutanöz ve muskükutanöz gibi flebin planlamasına odaklanan eski terimlerden çok deri dolaşımının anatomi ve fizyolojisini temel alan sınıflandırmaların birbirinden ayırt edilmesi esastır.

En eski ve basit, fakat en iyi sınıflandırmalardan biri 1983 yılında Spalteholz tarafından önerilmiştir (24). Spalteholz kutanöz damarları besledikleri alanlardaki rollerine göre ana (dominant) ve minör (bütünleyici) olarak iki gruba ayırmıştır.

1-DİREKT KUTANÖZ DAMARLAR

Bu damarlar besledikleri alanın beslenmesine primer (dominant) katkıları vardır ve özellikle ekstremitelerde iyi gelişmiştir. Bu damarlar alttaki kaynak arterden veya kasa girmeden önceki kasın dallarından birinden köken alır. Bu damarlar kasların ve intermusküler septumun içindeki diğer derin yapıların arasından geçip fasyanın dış tabakasını ulaştıkları en kısa yoldan delerek esas ulaşacakları yer olan deriye ulaşırlar. Özellikle derinin hareketli olduğu gövde, baş, boyun, kollar ve uylukta genellikle geniş ve birbirlerinden iyi bir şekilde ayrılmışlardır. Kutanöz sinirlere eşlik ettikleri yerler dışında önkol ve bacakta daha küçük ve çok sayıdadır. Avuç içi ve ayak tabanında küçük damarların oluşturduğu sıkı bir ağ vardır (şekil 3, 4).

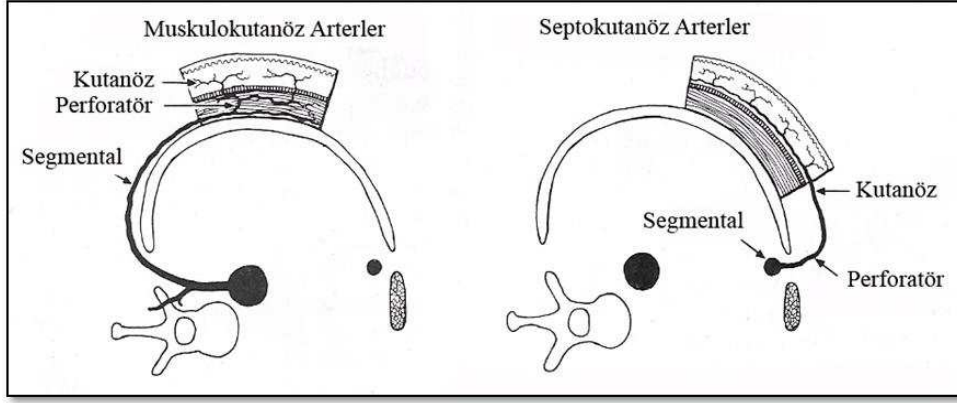
Her olguda bu kutanöz damarlar derin dokunun bağ iskeletini deriye doğru takip ederler. Kas ve tendonların arasından bazen "septokutanöz damarlar" olarak gerçek intermusküler septuma çok yakın bir şekilde geçerler. Eğer kaynak arter radial, ulnar veya femoral arterde olduğu gibi yüzeye yakınsa derin fasyanın dış tabakasındaki seyirleri kısa olabilir. Ters olarak eğer kaynak arter profunda brakii'nin kutanöz perforatörleri, lateral femoral sirkumfleks ve peroneal arterlerde olduğu gibi derin yerleşimli ise boyları uzundur.



Şekil - 3: Septokutanöz damar tipleri (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 9-10)

2-İNDİREKT KUTANÖZ DAMARLAR

Bu damarlar kaynak arterlerden köken alır ve derin fasyanın dış tabakasını delmeden önce vertikal veya oblik olarak genellikle kası ve derin dokuları deler (Şekil 4). Bunlar oldukça geniş olabilirler, derinin kan dolaşımının esas (dominant) kısmını sağlar ve özellikle gövdede (örneğin internal torasik, interkostal ve derin inferior epigastrik muskülokutanöz perforatörler) iyi gelişmiştir. Alternatif olarak deriye ikincil kan dolaşımı sağlayan terminal dallar şeklinde küçük damarlar olarak çıkabilirler. Bunlar başlıca çeşitli derin dokuları özellikle kasları besleyen damarların terminal dalları olarak sıklıkla sayıları çok olan küçük damarlardır.



Şekil - 4: Muskulokutanöz ve septokutanöz damarlar arasındaki farklar (McCarthy Plastic Surg. Vol.1 Şekil 9-9)

ANJİOZOM KAVRAMI

Manchot ve Salmon çalışmalarının gözden geçirilmesi ve tüm vücudun deri ve alttaki derin dokuların kan dolaşımına ait çalışmaların birleştirilmesi; vücudu anatomik olarak "anjiozom" olarak adlandırılan üç boyutlu vasküler alanlara ayrılmasını sağlamıştır (28). Bu üç boyutlu anatomik alanlar deri ve kemik arasında uzanan bir kaynak arter (segmental veya dağıtıcı) ve buna eşlik eden ven(ler) tarafından beslenir. Her anjiozom eşleşen arterizom (arteriyel alanlar) ve venozom (venöz alanlar) alt gruplarına ayrılabilir.

Bu deri, kemik, kas ve diğer dokulardan oluşan kompozit bloklar bir yap-bozun parçaları gibi birbirleriyle uyumludurlar. Her anjiozom her dokuda çapında değişiklik olmayan gerçek (basit) anastomotik arterler veya çapı küçülen "choke" (retiform) anastomotik damarlarla komşu anjiozoma bağlantılıdır. Venöz tarafta kapaksız venler (çift yönlü veya titreşen) sıklıkla anastomotik arterlere uyarlar ve özellikle derin dokularda anjiozomun sınırlarını belirlerler.

Her anjiozom alttaki kaynak arter ve ven üzerinden kompozit flep olarak birlikte veya ayrı olarak aktarılacak her doku tabakasının anatomik güvenli sınırını belirler. Bu anatomik bilgi birçok kas-deri flebinin tasarımı için temel oluşturur.

PLEKSUSLAR

Derinin kan akımını getiren musk lakutan z ve septokutanöz arterler deri ve deri komşuluğunda tanımlanmış 5 adet pleksus oluşturur (fasiyal, subkutanöz, kutanöz, subdermal, dermal, subepidermal) (29) (şekil 2).

Fasiyal Pleksus: Subfasial ve prefasiyal olarak ayrılır. Prefasiyal pleksus fasiyal pleksus sisteminin dominant pleksusudur. Vücut bölgesine göre bazen muskülokutanöz bazen de septokutanöz arterden dominant olarak dal alırlar.

Subkutanöz Pleksus: Her iki arterden de (muskülokutanöz ve septokutanöz) dallar olarak oluşur.

Kutanöz (subdermal) Pleksus: Oblik ve vertikal yönde yoğun damar arklarından oluşur.

Dermal ve Subepidermal Pleksuslar: Derinin gerç k sirkülasyonunu sağlarlar. Dermiste ve dermal papillarda bulunurlar.

Deride kapillerlerin yoğunluğu $150/mm^2$ dir. Dolaşımın yaklaşık %70 i deride termoregülasyonun sağlanması için kullanılır. Deriye olan kan dolaşımının sadece %1-20'si beslenme içindir. Büyük çoğunluğu termoregülasyon ve kan basıncı fonksiyonu içindir (29).

B-FLEP TANIMI VE DERİ FLEPLERİ

FLEP VE DERİ FLEBİ TANIMI

Flep, bir dokunun vasküler desteği ile aktarımı olarak tanımlanır. Deri ve deri altı dokuları içeren fleplere ise deri flepleri denilmektedir.

Çeşitli şekillerde olabilen deri flepleri mobilizasyonuna, kanlanmasına ve içerdiği dokulara göre sınıflandırılmaktadır (29).

Bilinen ilk flep kullanımı milattan önce 1000 yılındadır. Hindistan'da Kanghiara ailesi burun defektlerini pediküllü alın flebiyle onarmıştır (29, 30). Tarihi çok eski olan flep cerrahisi asıl sıçramayı yirminci yüzyılın ikinci yarısında deri kan dolaşımı bilgilerinin artması ve cerrahi operasyon mikroskobunun

kullanıma girmesiyle yapmıştır. Bu dönemde deri flepleri arasındaki farklar net biçimde ortaya konmuş ve vücudun çeşitli bölgelerinde çok sayıda farklı flep tarif edilmiştir (29, 30).

DERİ FLEPLERİNİN SINIFLANDIRMALARI

Deri flepleri mobilizasyonuna, kanlanması ve içerdiği dokulara göre sınıflandırılmaktadır.

1-MOBİLİZASYONUNA GÖRE DERİ FLEPLERİ SINIFLANDIRMASI

a-LOKAL FLEPLER: Verici alana komşu olan defektlerin kapatılmasında kullanılırlar. Alıcı alan ile renk ve yapı açısından benzer özelliklere sahiptir.

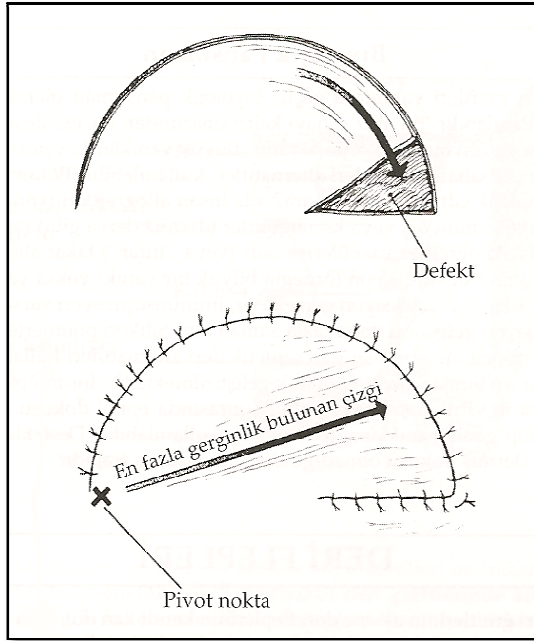
1-Rotasyon Flebi: Sabit bir nokta etrafında yarım daire şeklinde hazırlandığından dolayı pivot fleplerdendir. Defekt alanına rotasyon şeklinde aktarılır. Bu dönüşün arttırılması için flebin ucuna "back cut" eklenmeli veya Burrow'un tarif ettiği gibi üçgen şeklinde doku çıkarılması faydalıdır. Verici alan deri grefti veya primer onarım ile kapatılır (şekil 5).

2-Transpozisyon Flebi: Bitişindeki bir defekti kapamak için hazırlanan, bir eksen üzerinde yanlara doğru hareket edebilen dörtgen fleptir. Pivot fleplerin diğeridir. Verici alan deri grefti, primer onarım veya sekonder flep ile kapatılabilir (şekil 6).

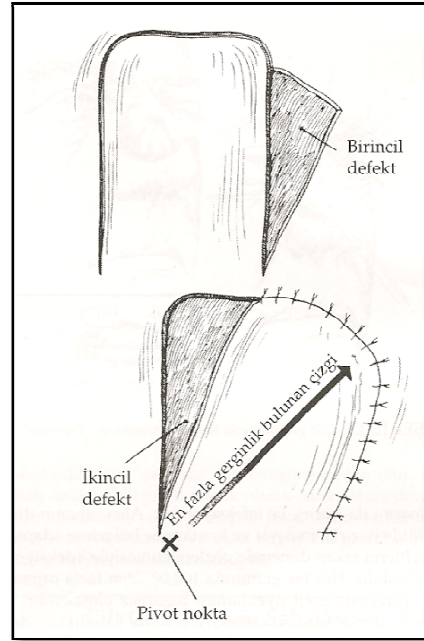
3- İnterpolasyon Flebi: Hareket özelliğine göre aslında bir transpozisyon flebidir. En önemli özelliği donör saha ile defekt alanı arasında sağlam doku bulunmasıdır. Flep, defekt alanının hemen yanından planlanmaz. Pedikülün kompozisyonuna göre kutanöz, fasyokutan olabilir. Pedikülü bitişik dokunun altından veya üstünden geçer. Flep re-vaskülarize olduğunda pedikül ayrılır. Delto-pektoral (Bakamjian) flep, Littler nörovasküler parmak pulpa flebi gibi ada flepleri ve subkutan pediküllü flepler bu gruba örnektir (şekil 7).

4-İlerletme Flepleri: Herhangi bir rotasyon veya lateral hareket olmaksızın, derinin esnetilerek direkt olarak defekte doğru düz bir eksen üzerinde kaydırılmasıdır. Genellikle "rectanguler" olarak hazırlanır. Bu şekilde flep

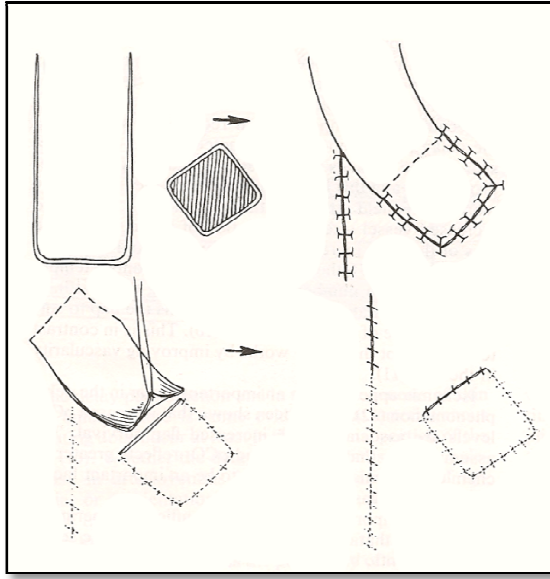
tabanının her iki yanında oluşan doku fazlalıkları; üçgen şekilde flep ile defekt alanı arasındaki mesafeye eşit boyda doku çıkarılmasıyla çözülür. Tek pediküllü olanlarında, ilerletme dokunun elastikiyeti ve Burrow üçgenlerinin çıkartılması ile sağlanır. Bipediküllü ilerletme fleplerinde defektin uzun eksenine paralel bir kesi yapılır ve flep tabanından diseksiyon yapılarak laterale ilerletilir. Verici saha deri grefti ile kapatılır. V-Y ve Y-V ilerletme flepleri yöntemin modifikasyonu olarak kullanılır. V-Y ilerletme flepleri parmak ucu defektlerinin onarımı ve nazal kolumella uzatılmasında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (şekil 8).



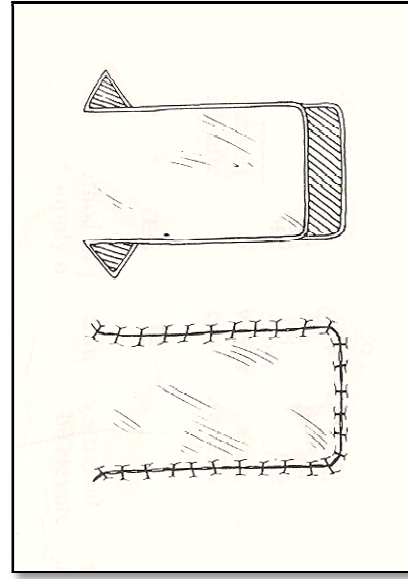
Şekil - 5: Rotasyon flebi (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 1-10)



Şekil - 6: Transpozisyon flebi (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 1-11)



Şekil - 7: İnterpolasyon flebi (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 5-8)



Şekil - 8: İlerletme flebi (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 5-9)

b-UZAK FLEPLER: Alıcı alana uzak bir bölgeden hazırlanan fleplerdir.

1-Direkt Flepler: Vasitasız flepler olarak da adlandırılır. Defekt alanı deri greftiyle yada lokal fleplerle kapatılamıyorsa endikedir. Hazırlanan flep defekt alanına kısmi olarak aktarıldıktan sonra flebin kendi dolaşımının başlaması için genellikle üç hafta kadar beklenip, pedikül tamamen ayrılarak flep defekt alanına aktarılır. Serbest fleplerin gelişimiyle önemini kaybetmiştir. Çapraz kol, çapraz bacak, çapraz parmak flepleri örnek olarak verilebilir.

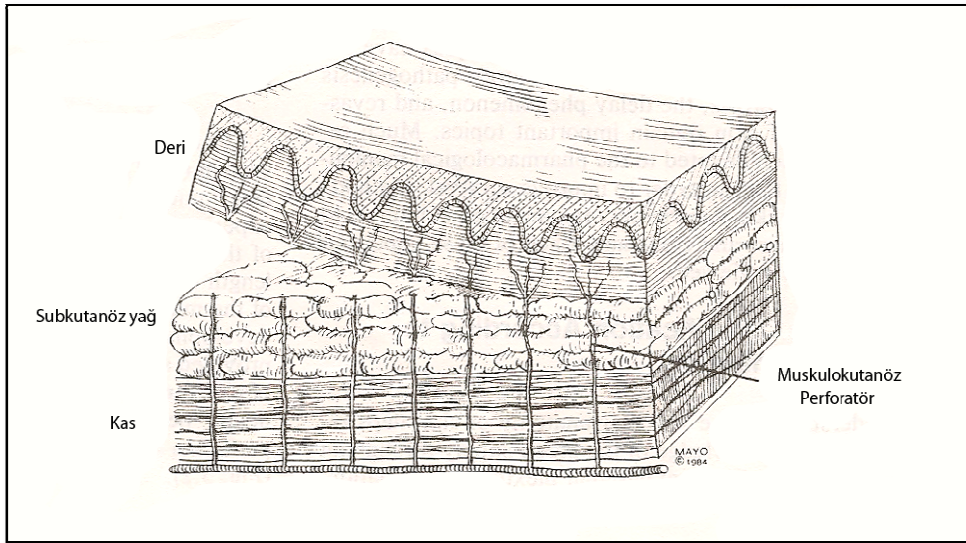
2-İndirekt Flepler: Vasıtalı flepler olarakda bilinirler. Flep eleve edildikten sonra, eleve edilen kısım tüp hale getirilerek kola nakledilir. Üç hafta sonra pedikülü ayrılarak kesilen uç, defekt alanına aktarılır. Üç hafta sonra flebin kola aktarılan kısmı kesilir ve tamamen defekt alanına aktarılır. İndirekt fleplerin de direkt flepler gibi artık sadece tarihi önemi vardır.

3-Serbest Flepler: İstenilen şekilde hazırlanan dokuların, besleyici damarları ile birlikte verici alandan alınıp, uzaktaki alıcı alan damarlarına mikrocerrahi teknikle taşınması prensibine dayanır.

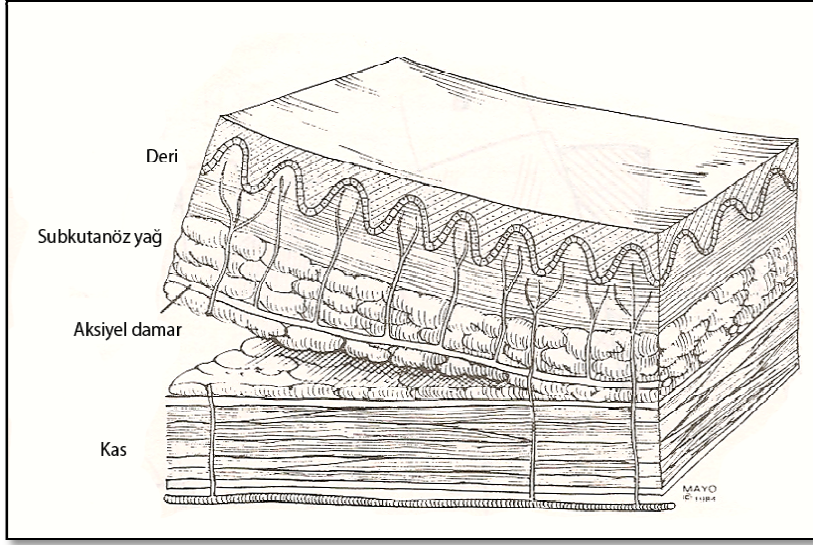
B-KANLANMASINA GÖRE DERİ FLEPLERİ SINIFLANDIRMASI

1-Rastgele Tasarlanan (Random Paternli) Flepler: Random paternli fleplerin geliştirilmesi sırasında deriye kan temin eden kaynağın subdermal pleksustur. Arteriyal ve venöz kanal ağı olan subdermal pleksus deriye paralel şekilde bulunur ve yüzeyine bitişiktir. Lokal kutanöz flepler olarak da bilinen random paternli deri flepleri bu subkutan pleksuslar ile beslenirler. Pedikülünden spesifik bir arter ve ven geçmez. Vücudun herhangi bir bölgesinden hazırlanabilir. Boyu eninin iki katını geçmez (31, 1) (şekil 9).

2-Aksiyel Tasarımlı (Arteriyel) Flepler: Anatomik olarak özel bir arteriyel-venöz sistemleri vardır. Pedikülünden spesifik arter ve ven geçer. Subkutan dokuda flep aksı boyunca uzanan bir artere sahip direkt kutanöz yolla veya fasyanın yanında ya da içindeki bir damardan fasyokutan yolla beslenir. Direkt kutanöz arterler kas ile subkutan doku arasında ilerledikleri için flep proksimalde subkutan dokunun tüm kalınlığını içerir. Boyları direkt kutanöz arterin boyuna ek olarak, dermal-subdermal pleksusla beslenen distal deriye de bağlıdır. Rastgele tasarımı fleplerden daha uzun boylu olarak planlanabilir. Venöz drenajları hem yüzeysel hem de derin venlerle olur. Avantajları flebin boyu eninin 5-6 katı kadar hazırlanabilir olmasıdır. Aksiyel paternli flepler; yarımada, ada ve serbest flepler olarak hazırlanabilir (31, 1) (şekil 10).



Şekil 9: Rastgele tasarımı deri flebi (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 5-2)



Şekil 10: Aksiyel tasarımlı deri flebi (McCarthy Plastic Surgery Vol.1 Şekil 5-3)

c-İÇERDİĞİ DOKULARA GÖRE DERİ FLEPLERİ SINIFLANDIRMASI

Deri flepleri deri ve derialtı dokudan ibarettir. Deri flepleri başka dokuları da içerirse değişik isim alır. Flep deri ile beraber kas dokusu da içeriyorsa muskülokutan flep olarak isimlendirilir. Buna transversus abdomis kası ve üzerindeki deriyi içeren transversus abdominis muskülokutan flebi örnek verilebilir. Yine deri ve fasyayı birlikte içeriyorsa fasyokutan flep, kemik ve deri dokusunu içeriyorsa osteokütan flep olarak isimlendirme yapılır (29, 1).

C-FLEP KAN AKIMININ DÜZENLENMESİ

Flep fizyolojisi mikrosirkülasyon seviyesinde başlar. Mikrosirkülasyon ayrıca derinin termoregülasyonunda da rol alır. Endotel aracılı vazokonstriksiyon, nöral kontrol, sıcaklık, viskozite gibi bir çok faktör kan akımının regülasyonunu etkiler. Arteriol kapiller, venül ve arteriovenöz anastomozlar derinin mikrosirkülasyonunu oluştururlar. Bu seviyede besin alışverişi ve atıkların uzaklaştırılması gerçekleştirilir. Sempatik innervasyon primer olarak arteriyoller, prekapiller sfinkterler ve arteriovenöz anastomozlar üzerinden etkili olur. Derideki normal total kan akımı 20ml/dk/100gm. dır (15).

Daniel ve Kerrigan, deri kan akımının sistemik ve lokal faktörlerle düzenlendiğini göstermiştir (32). Öncelikle sistemik ve lokal kontrol olarak

ayırıştır. Sistemik kontrol nöral ve hümorale olarak sağlanır. Nöral kontrol sempatik adrenerjik sinirler vasıtasıyla (alfa adrenarjikler vazokonstrüksiyon, beta adrenarjikler vazodilatasyon), hümorale kontrol ise serotonin (vazokonstrüksiyon), tromboksan A2 (vazokonstrüksiyon), prostoglandin F2 alfa (vazokonstrüksiyon), bradikinin (vazodilatasyon), histamin (vazodilatasyon), prostoglandin E₁ (vazodilatasyon), gibi nöromediatörler vasıtasıyla sağlanır. (32, 29).

Lokal etkiler (otoregülasyon) metabolik ve fiziksel faktörler aracılığıyla düzenlenir. Vazodilatasyona yol açan hiperkapni, hipoksi, asidoz ve hiperkalemi metabolik faktörler olarak yer alır. Bu faktörler deride yüksek metabolik ihtiyacı olduğu kas dokusundaki kadar etkili değildir. Fiziksel faktörlerden izole kutanöz damarlarda distansiyona cevap olarak vazokonstrüksiyonu başlatan ve arterial basınçtan bağımsız olarak kapiller kan akımını sabit seviyede idame ettiren myojenik refleks kan akımını etkiler. Lokal hipotermi (direkt olarak damar duvarındaki düz kaslara etki etmektedir) ve kan vizkositesindeki artış (hemotokrit > %45) kan akımını azaltır (32, 29). Kim ve arkadaşları hemotokritin etkilerini araştırdıkları çalışmada pediküllü muskükutan flep üzerinde normovolemik aneminin önemli etki oluşturmadığını tespit etmişlerdir (33).

Kan akımı regülasyonu ile ilgili bu aynı konseptler kaslara da uygulanabilir. Sistemik kontrole ilgili olarak, kasların deriden daha fazla kapiller yoğunluğa sahip olmasına rağmen arterio-venöz şantları yoktur. Ayrıca kas dokusunun metabolik ihtiyacı deriden daha fazla olduğu için otoregülasyon daha önemlidir. Egzersiz ve arterial hipotansiyon gibi nöronal kontrol refleks vazokonstrüksiyona neden olurken hipertansiyonda vazodilatasyonla sonuçlanabilir (32, 29).

Kan akımı regülasyon mekanizması kasta ve deride farklıdır. Myojenik tonüsün kutanöz damarlar üzerinde etkisi az iken kas regülasyonunda önemlidir. Sempatik vazokonstrüktörler deri kan akımı regülasyonunda ağır basmaktadır.

Bir flep kaldırıldığında vasküler dengesinin güçlü şekilde bozulmasına bağlı önemli bir çok değişiklik oluşur. Primer değişiklik sempatik innervasyonun kesilmesi ve iskemidir. Flebin yaşayabilmesi için yeterli besin sirkülasyonu sağlanmalı ve iskeminin etkileri minimuma indirilmelidir. Hoopes flep

pedikülünün kesilmesi ve transfer aşamalarındaki sirkülatuar hadiseleri detaylandırmıştır (34).

İlk 24 saat: İlk 6 saatte dolaşım progresif olarak düşer. 6-12 saat arası plato yapar ve bundan sonra artmaya başlar. Dikkate değer konjesyon ve ödem ilk 24 saatte olup, arteriollerde ve kapiller damarlarda dilatasyon vardır.

1-3 gün: İlk 48 saatte sirkülasyonda çok az ya da hiç düzelme yoktur. Longitudinal anastomozların sayısı ve çapı artar, pediküldeki küçük damarların sayısı artar.

3-7 gün: Sirkülatuar yeterlilik progresif olarak artar. 7. günde plato yapar. 2-3. günlerde görülmeye başlayan flep yatak arasındaki vasküler anastomozlar 5-7. günlerde fonksiyonel hale gelir. Fonksiyonel damarların sayı ve büyüklükleri artar. Damarlar flebin uzun aksı boyunca reoryante olur.

1. hafta: Flep ile ana yatak arasındaki dolaşım iyidir. Pulsatil kan akımı preoperatif seviyelere ulaşır.

7-14 gün: Vaskülarizasyonda daha fazla dikkate değer artış olmaz. Arteriyal patern normale döner. Radyoizotop çalışmalar dolaşımın etkinliğinin normalin üzerinde olduğunu gösterir. Bu durum 3. haftada normale döner.

2 hafta: Vasküler sistemde progresif düzelme olur. Flep ile yatak arasındaki anastomozların matürasyonu devam eder.

3 hafta: Vasküler yatak operasyon öncesi duruma yaklaşır. Flep dolaşımının %90'ını elde eder. Pedikülle alıcı saha arasındaki vasküler bağlar tam olarak gelişir.

4 hafta: bütün damarların çapında azalma olur. Az sayıda yeni biçimlenmiş damar kalır.

Çoğu araştırmacı pediküllü fleplerde nekrozun primer nedeninin venöz yetmezlik olduğunu düşünmektedir. 1967 de Fujino yeterli arterial girişe rağmen venöz çıkışta azalmanın muhtemel flep nekrozuyla sonuçlanacağı sonucuna

varmıştır (35). Tsuzuki ve arkadaşları arterial giriş idame ettirildiği takdirde, hafif venöz yetmezliğin deneysel flep canlılığını etkilemediğini ancak, arterial giriş bozulduğu zaman hafif venöz yetmezliğin dahi flep canlılığını azaltacağını tespit etmişlerdir (36). Angel ve arkadaşları sıçan modellerinde sekonder iskemi çalışmışlardır. Yaptıkları bu çalışmalarda venöz obstrüksiyonun flep canlılığına sekonder iskemiden daha fazla bozucu etkilere sahip olduğunu tespit etmişlerdir (37). Kerrigan ve Daniel'in yaptıkları çalışmalarda ise flep kaybının birinci nedeninin arterial girişin yetersizliği olarak tespit etmişlerdir (29). Deri flep kaybının altında yatan vasküler kollapsı açıklamak için iskemi, inflamasyon ve sempatektomi kombinasyonlarını ileri sürmüşlerdir. Ayrıca yeterli besin sirkülasyonu sağlanamazsa flep hasarı geri dönüşümsüz hale gelir (38).

May tavşanlarda serbest epigastrik fleplerde sirkülatuar değişiklikleri çalışmıştır. Serbest fleplere iskemi periodu uygulandığı zaman vasküler parankimal hücrelerde sürekli ödem ve şişliği fark etmiştir (39). Beraberinde kapiller lümeninde daralma, iskemik dokudaki vasküler yapılar içindeki durgun kanda trombüs oluşumu tespit etmiştir. Flepler 4 saat iskemiye maruz kalırlarsa yaşayabilirler. 4-8 saat arası iskemilerde flepte geriye dönebilen hemodinamik ve hücreyel olaylar ortaya çıkar. 8-12 saatte flepteki değişiklikler gittikçe kötüleşir ve 12 saatin sonunda geri dönüşümsüz hal alır (39). Kan akımının tekrar tesis edilemeyeceği bu durum, "no-reflow" fenomeni olarak bilinir ve flep ölümünün habercisidir (39). Flep fizyopatolojisinin anlaşılması, distal flep nekrozu ve delay fenomeni üzerindeki araştırmalarda yoğunlaşmıştır.

D-İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

1-İSKEMİ

Akut iskemilerde doku hasarının temel nedeni, oksijen ve enerji kaynaklarının tüketilmesi ve anaerobik metabolizmanın egemen olmasıdır. Fizyolojik olarak kasın enerji kaynağı olan kimyasal ürünler ATP ve CPK' dır. İskemiden sonra ATP depoları inorganik fosfat ve kreatinin ATP ye çevrilmesi ile 3 saate kadar başlangıç düzeyinde tutulabilir (40). Ancak iskemi devam ettiği takdirde enerji eksikliğine bağlı olarak aşağıdaki olaylar oluşur:

1-1- ASİDOZ: Doku hipoksi veya anoksisi, krebs döngüsüyle aerobik oksidasyonda azalmaya ve hücrede bulunan ATP miktarında düşüşe neden olur. Bu durum ADP ile fosfat birikimine ve anaerobik glikolizde artmaya neden olur. Sonuçta laktik asit ve pürivik asit oluşur. Laktat artışı ve H⁺ birikimi ile doku pH'sında düşmeye neden olur. Laktik asit ve düşük pH, protein denatürasyonu, enzim fonksiyonlarında kayıp, NADH rejenerasyonunun engellenmesi ve serbest radikal oluşumu gibi iskemik hasar oluşturan etkenlerin gelişimini arttırır (41).

1-2- MAKROMOLEKÜL SENTEZİNİN DURMASI: ATP seviyesindeki azalma ile birlikte fosfolipid, protein, polisakkarid ve nükleik asitlerin spontan veya enzim kaynaklı parçalanmalarının ardından bu yapı taşlarının yeniden sentezlenememesi nedeniyle hücre bütünlüğü bozulmaya başlar. Aynı zamanda hücre içi Ca²⁺ artışının neden olduğu fosfolipaz, lipaz, proteaz ve endonükleaz enzim aktivasyonları da bu parçalanmaya katkıda bulunur (41).

1-3- İYON DENGESİNİN BOZULMASI: İskeminin ciddiyetine ve süresine göre hücre membranının fizyolojik bütünlüğü bozulmaya başlar. İskeminin ilk etkilediği yer mitokondridir. ATP miktarındaki net azalma Na⁺/K⁺ ATPaz enzimini inhibe eder. Buna bağlı olarak hücre içi Na⁺ ve su artışı ile hücrede şişme meydana gelir. Hücre içinde Ca²⁺ artması sonucunda fosfolipaz aktivitesi artarak fosfolipidlerin parçalanmasına neden olur. Araşidonik asit ortaya çıkarak serbest radikal oluşturan siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolları aktive olur (15).

İskeminin süresi, şiddeti ve hücrenin tipine göre hasar geri dönüşümsüz hale gelerek hücre ölümü gerçekleşir (42).

2-REPERFÜZYON

Oksijenin yeniden girişine izin veren reperfüzyon paradoksal olarak doku hasarını hızlandırır (15, 43). Klinikte bu durum tromboliz, embolektomi, by-pass cerrahisi, organ transplantasyonu, turnike uygulamaları, replantasyon, mikrovasküler serbest doku aktarımı gibi durumlarda görülür. Mitokondriyal

seviyede oksidatif fosforilasyonun yeniden kullanıma girmesi şeklinde ortaya çıkar. Bu sistem membran potansiyellerini düzeltir, yüksek hücre içi Ca^{2+} 'un ATP sentezini arttırması için mitokondriye akışını sağlar. Mitokondriler, yeterli ADP ve ATP varlığında, piridin nükleotidleri redükte durumdaysa yüksek konsantrasyonlarda Ca^{2+} depolayabilirler.

Ani oksijenlenme ile serbest oksijen radikalleri artar ve oksidatif stres oluşur. Mitokondriyal piridin nükleotidleri ve glutatyon seviyeleri düşer, mitokondri porları açılarak şişer ve sonuçta fonksiyonları bütünüyle inhibe olur (44).

Mitokondriler hücrede serbest radikallerin ana kaynaklarıdır (43). Serbest radikaller mitokondrilere çok hasar vermektedir. Bu nedenle stratejik olarak farmakolojik ajanlarla serbest radikal oluşumunun önlenmesi ya da ortamdaki temizlenmesinin hücre hasarını azaltacağı düşünülmektedir (45).

NÖTROFİLLERİN ROLÜ

İskemi sürecinden sonra reperfüze olan bölgeye lökositlerin, özellikle polimorfonükleer lökositler olan nötrofillerin infiltrasyonu reperfüzyon hasarının önemli bir nedenidir (46). Yapılan çalışmalarda, iskemik hücrelerin, nötrofil ve trombositlerin vasküler endotele adezyonuyla inflamatuvar yanıtı açan, kemoatraktan maddeleri ve adhezyon moleküllerini salgıladıkları gösterilmiştir (47). Nötrofil kemotaksisine neden olan en önemli etken, XO reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalleridir.

Nötrofiller, adhezyon molekülleri aracılığı ile etkileşime girdikleri endotel hücreleri arasında ilerleyerek (diapedez olayı) ekstravasküler dokuya doğru göç ederler. Aktive olmuş nötrofiller reperfüzyon sırasında gelen moleküler oksijeni kullanıp seri reaksiyonlar sonucunda süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), hipoklorik asid (HOCl) ve kloraminleri oluşturarak, ileri doku hasarına neden olurlar (15). Reperfüzyon döneminin en önemli mikrovasküler patolojisi olan kan akışının geri dönmemesi fenomenine (no reflow), aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı ve nötrofillerin kapillerlerdeki

agregasyonları ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçları oluşturduğu bildirilmiştir (48).

Reperfüzyon hasarının patogenezinin lökosit infiltrasyonunun sorumlu olduğu, birçok çalışma ile de kanıtlanmıştır (49, 50).

3-SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, dış orbitallerinde tek sayıda ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Dış orbitallerde ortaklanmamış elektron bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için serbest radikaller yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapıdadırlar ve tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler (15).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (Tablo - I). Daha az olarak karbon ve kükürt merkezli radikaller de vardır.

Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$
Perhidroksi radikali	HO_2^{\cdot}
Hidroksil radikali	OH^{\cdot}
Peroksil radikali	ROO^{\cdot}
Alkoksil radikali	RO^{\cdot}
Singlet oksijen	$O_2^{\cdot-}$
Nitrik oksit	NO_2
Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$
Hidrojen peroksit	H_2O_2
Organik hidroperoksi	$ROOH$

Tablo - I :Reaktif oksijen ürünleri ve kimyasal gösterimleri

SERBEST RADİKALLERİN KAYNAKLARI

Reaktif oksijen ürünleri, aerobik canlılarda az miktarlarda ama sürekli üretilirler. Toksik etkilerden biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller sorumludurlar (51). Organizmada serbest radikal yapan olayların başlıcaları; mitokondrial elektron transport zinciri, ksenobiyotiklerin metabolizması, fagositik

hücrelerin aktivasyonu, prostaglandin sentezi ve iyonize radyasyondur. Bunların yanısıra reaktif oksijen ürünlerinin hücrel metabolizmayı arttıran aşırı egzersiz, kronik inflamasyon, infeksiyonlar gibi durumlarda, çeşitli toksinlere ve ilaçlara maruz kalmada, stres, iskemi-reperfüzyon, travma, yaşlanmaya bağlı olarak da arttığı bilinmektedir (15).

A-HÜCRESEL SERBEST RADİKAL OLUŞUM MEKANİZMALARI

1-MİTOKONDRIYAL SOLUNUM ZİNCİRİ

Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı, elektron transport zinciridir (15).

2-KSANTİN OKSİDAZ (XO)

İskemi reperfüzyon sırasında en önemli serbest radikal kaynağıdır (52). XO, memeli dokularında bulunan, birçok endojen ve eksojen kaynaklı substratın oksidasyonuna katılan bir enzimdir.

İskemi sürecinde, hücre içindeki ATP, hipoksantin ve ksantine dönüşerek hücrel enerji miktarında azalmaya neden olur. Hipoksantin ve ksantin, XO için iyi birer substrattırlar. Reperfüzyonun başlaması ile ortama katılan moleküler oksijen, iskemik süreçte birikmiş olan hipoksantin ve ksantin ile XO aracılığı ile reaksiyona girerek O_2^- ve H_2O_2 açığa çıkarır.

Reperfüzyonun başlaması ile endotel hücreleri moleküler oksijen ile ilk temas eden hücreler olur. Bundan dolayı kapiller endotel hücreleri, reperfüzyon hasarından ilk etkilenen hücrelerdir. Bu nedenle serbest oksijen radikallerinin ana üretim merkezi olmaları muhtemeldir. Kapiller endotel hücrelerinin hasarı bir kemotaktik stimulus halini alır (53).

B-HÜCRE DIŞI SERBEST RADİKAL OLUŞUM MEKANİZMALARI

1 – KATEKOLAMİNLER

İskemi sırasında ve flep oluşturulurken sempatik sinir uçlarından bölgesel katekolamin salınımı artar. Bu katekolaminlerin monoaminooksidaz ile yıkılıp

oksidasyona uğramasıyla fazla miktarda elektron açığa çıkar. Moleküler oksijen bir elektron alarak O_2^- radikalleri oluşur (54).

2- POLİMORFONÜKLEER LÖKOSİTLER

Aktive nötrofiller, bakterisidal rollerinin bir kısmı olarak zorunlu şekilde süperoksit üretirler. Yüzeylerindeki NADPH oksidaz, O_2^- oluşumundan sorumludur (54).

Nötrofiller, myeloperoksidaz aktivitesine de sahiptirler ve H_2O_2 ile HOCl radikali oluştururlar. Makrofajlarda nitrik oksit sentaz sisteminin OH^- oluşturduğu da gösterilmiştir. Radikaller yalnızca plazma membranı ile bakteri arasındaki yüzünde oluşmasına rağmen, bir miktar reaktif oksijen ürününün kaçışı olmaktadır.

SERBEST RADİKALLERİN ETKİLERİ

Serbest radikaller nükleik asitler, serbest aminoasitler, proteinler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu molekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmadaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geridönüşümlü yada geri dönüşümsüz etkiler meydana getirirler. Çeşitli patolojik durumlarda normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşmasıyla ya da organizmanın antioksidan sisteminin yetersiz kalmasıyla artan serbest radikaller, hücrenin çeşitli bileşenlerini etkileyerek hücre hasarına yol açarlar. Bunun sonucunda, hücrelerde ve dokularda yapısal değişiklik ve fonksiyonel kayıplardan hücre ölümüne kadar gidebilen pek çok olumsuz sonuçlar ortaya çıkar (15).

A- HÜCRE İÇİ ETKİLERİ

1-MEMBRAN LİPİDLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Serbest radikallerin hedef yapılarından birisi hücre membranı lipidleridir. Lipid peroksidasyonu; serbest radikaller tarafından başlatılan, membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır. Hücre membranlarının oksijen radikallerine maruz kalması lipid

peroksidasyon reaksiyonlarını uyarır. Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalin hidroksil radikali olduğu düşünülmektedir (55).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanır. Bu ürünlerin başlıcaları MDA ve 4-hidroksinonenal'dir. Meydana gelen aldehytlerden en önemlisi olan MDA, lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sık olarak kullanılır (55).

2-PROTEİNLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Proteinler, radikallerin etkilerine lipidlere oranla daha az hassastır. Sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere duyarlılığı çok fazladır. Sistin, histidin, metionin, triptofan, tirozin içeren proteinler oksidanlara en duyarlı olanlardır (15). Gelişmekte olan doku ve yeni sentez edilen proteinler üzerinde serbest oksijen radikallerinin daha da toksik bir etkiye sahip oldukları bildirilmiştir (56).

3-NÜKLEİK ASİTLER ÜZERİNE ETKİLERİ

DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona giren serbest radikaller, DNA dizininde çatlaklar meydana getirerek bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine neden olurlar. Oksidatif DNA hasarı, büyük ölçüde yaşlanma ve kanser gelişimine katkıda bulunur (57).

4-KARBONHİDRATLARA ETKİLERİ

Serbest radikaller monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler, proteine bağlanabilme özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterirler (15).

B-HÜCRE DIŞI ETKİLER

1-KEMOTAKSİS

Serbest radikaller, endotel hücrelerinden kemotaktik faktör ya da proinflamatuvar moleküller olarak adlandırılan histamin, PAF, LTB4 salınımına yol açarlar. Bu kemotaktik faktörlerin etkisi, dolaşımdaki lökositlerin patoloji bölgesinde yoğunlaşmalarını ve endotel ile ilişkilerinin artmasını sağlamaktır.

2-ADHEZYON VE YUVARLANMA

Serbest radikaller, nötrofil ve endotel hücrelerinden selektin moleküllerinin yanı sıra adhezyon moleküllerinin de açığa çıkmasını sağlar.

Endotel hücrelerine yapışan nötrofillerden, iskemik dokuya direk radikal transferini hızlandırır. Bu geçiş, kapiller düzeyde endotel hücrelerinin arasının açılarak damarın bariyer yapısını yitirip, oluşan aralıklardan nötrofillerin dokuya kaçması şeklinde gerçekleşir (47).

Normal koşullarda dolaşımdaki lökositler, damar endoteli ile nadiren temasta bulunurlar. Selektinlerin etkileşimi sonucu lökositlerde yuvarlanma olayı gerçekleşir.

3-NO (NİTRİT OKSİT) İNHİBİSYONU

Serbest oksijen radikalleri, NO'ı inhibe ederler. Damarlarda gevşemeye sebep olması, ilk tesbit edilen fonksiyonu olmakla beraber organizmada birçok biyolojik olayda görev alır. Kas, deri, barsak ve kalp gibi birçok organ sisteminde var olduğu bilinmektedir. Endotel hücreleri, lökositler gibi pekçok hücreden salınabilir. NO, lökosit endotel adhezyonunu önleyen en önemli endojen moleküldür. Ancak NO salınımı, reperfüzyon hasarı sürecinde ortaya çıkan süperoksitin, endotel hücrelerine etkisi ile inhibe olur (58).

Adhezyondan sonra özellikle nötrofiller endotel hücrelerinin arasından diapedez ile dokuya geçerek burada birikirler ve aktif oksijen (respiratuvar patlama), proteolitik enzim ve inflamatuvar sitokinlerle doku hasarını başlatırlar (59).

4-ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ

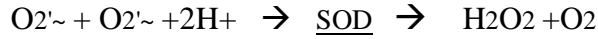
Organizmada fizyolojik ya da patolojik yollarla sürekli şekilde serbest radikaller oluşmaktadır. Antioksidanlar reaktif oksijen ürünlerini ve meydana getirdiği hasarları önleyen bileşiklerdir (60) (Tablo - II).

ENZİMATİK	ENZİMATİK OLMAYAN	
Süperoksit dismutaz	Glutasyon	Flavonoidler
Katalaz	α -tokoferol (vitamin E)	Metal bağlayıcılar
Glutasyon transferaz	Askorbik asit (vitamin C)	Melatonin
Glutasyon peroksidaz	β -karoten (vitamin A)	Bilirubin
Glutasyon redüktaz	Ubikinonlar (Koenzim Q)	Diğerleri (sitokinler, aminoasitler)

Tablo - II : Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar

1-Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit anyon radikalinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.



Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit anyon radikalinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Bu reaksiyon oksidatif strese karşı ilk savunma olarak da adlandırılır. Çünkü süperoksit, zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulur (15).

2-Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Sitoplazmada ve mitokondride bulunan bu enzim, yapısında aktivasyonu için gerekli selenyum içermektedir. H_2O_2 , organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini katalizler (15, 51).

E-GECİKTİRME (DELAY) FENOMENİ

Fleplerin elevasyonunu takiben, çeşitli nedenlerle distal bölgelerinde nekroz gelişebilir. Yaşayabilen flep alanındaki bu azalmanın en önemli nedeni çoğunlukla yanlış planlamaya bağlı oluşan yetersiz kan akımıdır (61). Flep distalinde yetersiz kan akımı perfüzyon basıncında düşme veya küçük arteriollerdeki vazokonstriksiyon nedeniyle oluşur (15).

Geciktirme fenomeni distal flep canlılığını düzeltmede klinik olarak da uygulanabilen tek güvenilir metottür. Geleneksel geciktirme prosedürü flebin her

iki kenarının insizyonunu ve distal kısmının yatağından ayrılmasını takiben uygun bir bekleme dönemi sonrası transferini kapsar. Bu şekilde flep bir defada kaldırılabilen boyundan daha fazla uzunlukta nekroze olmadan hazırlanabilir. Aşamalı olarak kaldırılması nedeniyle flep distalinin iskemiye direncini arttırarak yaşayabilen flep alanında artış sağlayan geciktirme fenomeninden sorumlu mekanizma geçen yarım yüzyıl boyunca bir çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (15).

1933 yılında Germann ve arkadaşlarının geciktirme fenomeni ile ilgili yapılan erken çalışmalarda fleplerin uzun aksı boyunca küçük damarlarda ki longitüdünel re-oryantasyonlar, damar boyutlarında artış ve subdermal pleksuslarda ki küçük damarların sayıca artışı tespit edilmiştir (64). Braithwaite 1951 de delay işleminin flep damar sayısını arttırmadığını ancak özellikle subdermal venlerin çapında da genişleme olduğunu savunmuştur (63).

Dhar ve Taylor geciktirme işlemiyle flepte oluşan ilk olayın yeni damar gelişimi değil, mevcut damarlarda genişleme olduğunu iddia etmişlerdir (64). Operasyondan 48-72 saat sonra şok damarlarında progresif olarak genişleme yaşandığını belirtmişlerdir. Şok damarlarında ki bu genişlemenin sürekli ve geri dönüşümsüz olarak oluştuğunu iddia etmişlerdir (64). Taylor yaptığı çalışmalar sonrası cerrahi geciktirme işlemiyle flebin uzunluğuna en az bir anatomik vasküler alanın eklendiğini iddia etmektedir (65). Hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar birkaç gün gibi kısa süreli geciktirmenin önemli miktarda flep koruması sağlayabildiğini göstermekle birlikte uzun geciktirme periyotlarının klinik olarak 2-3 hafta olan alışılmış dönemlere ihtiyaç duyduğunu göstermektedir (66).

Myers ve Cherry geciktirme işleminin başarılı olabilmesi için fleplerin bir bölümünde aksiyel damarların ayrılması gerekliliğini belirtmişlerdir (67). Bu sayede parsiyel bir iskemi yaratılarak flebin sonraki iskemi periyoduna direncinin arttırılabileceğini iddia etmişlerdir (67). Transvers rektus abdominis kas-deri flebi gibi geniş random komponenti olan aksiyel fleplerde geciktirme işlemiyle distalde kan akımında artış ve doku canlılığında artış tespit edilmiştir (68).

"Ischemic preconditioning" dokunun kısa periyotlarla ölümcül olmayan iskemiye tabi tutulması işlemidir. Bu uygulama uzamış iskemik olaylarda hasarlı dokuya direnç kazandırır (15). "Ischemic preconditioning" kavramı ilk olarak Murry ve arkadaşları tarafından sıçan miyokard infarktüsünün azaltılması amacıyla kullanılmıştır (69). Ayrıca bu işlemin deneysel kas-deri ve kas fleplerinde dokunun canlılığını düzelttiği gösterilmiştir. Bu olayın koruyucu etkisinin erken ve geç dönemde olmak üzere iki fazda oluştuğu bildirilmektedir. Erken fazın 'Ischemic preconditioning' uygulamasından hemen sonraki ilk 4 saatte etkili olduğu, geç fazın ise ilk 24 saatte maksimum olmak üzere 72 saat sürdüğü belirtilmiştir (70, 71).

'Ischemic preconditioning' kavramının dokuyu koruma mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Reese ve arkadaşlarının distal flep nekrozuyla ilgili yaptıkları deneysel çalışmalarda fleplerde nötrofil ve ürünlerinin bikiminin geciktirme işlemi ve iskemi periyotlarıyla azaltıldığı, dolayısıyla distal flep canlılığında artış sağlandığı tespit edilmiştir (72).

Milton tarafından yapılan çalışmalarda ikinci kez oluşturulan geciktirme işlemiyle ilkinin yarısı kadar sürede tam iskemiye direnç sağlandığı iddia edilmiştir. Bu durum "Ischemic preconditioning" kavramının önemini vurgulamaktadır (73).

"Ischemic preconditioning" kavramının olumlu etkilerinin oluşmasındaki tam mekanizma araştırılmaktadır. Bu mekanizmaların daha iyi anlaşılması hem mekanik hem de farmakolojik "preconditioning" tekniklerinin gelişmesine neden olarak iskemiye bağlı doku hasarını azaltmada ve rekonstrüktif potansiyelimizin gelişmesinde önemli katkılar sağlayabilir (15).

III-GEREÇ VE YÖNTEM

Bu bilimsel çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin desteği ile deneysel çalışma olarak gerçekleştirildi. Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Bölümü laboratuvarında yapıldı.

A-DENEKLER, BARINMA, BESLENME

Deney, olası kayıplar da hesaba katılarak toplam 48 denekte yapıldı. Denek olarak ağırlıkları 250 -300 gr. arasında değişen 48 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Bölümüne bağlı hayvan üretim merkezinden temin edildi.

Deney hayvanları deney öncesi ve sonrası Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Bölümü laboratuvarında, birbirinden bağımsız kafeslerde her kafeste 2 hayvan olacak şekilde, ısısı 20-24 °C olan ve 12 saat gün ışığı alan barındırıldı.

Ratlar standart rat yemi ile beslendi. İçme suyu olarak standart çeşme suyu verildi. Yeme ve içmelerinde kısıtlama yapılmadı.

B-KULLANILAN ALET VE MALZEMELER

Ambalaj köpüğü, mavi renkli plastik dosya, pano raptiyesi, kağıt bant, traş bıçağı, etvel, kalem, işçi eldiveni, masa lambası, saat, latex eldiven, insülin enjektörü, steril gazlı bez, iyotlu antiseptik solusyon (Betadin), serum fizyolojik, bistüri (15 no.), cerrahi aletler (penset, makas, bistüri sapı, klemp), mikrocerrahi portegü, penset, makas, mikro damar klembi, Vikril sütün (4.0), mikrocerrahi sütün (10.0 Ethilone), loupe gözlük (6x), kan tüpleri, eppendorf tüpleri, soğutucu soğuk su kalıpları (plastik), digital fotoğraf makinesi (Samsung Digimax S-600)

C-DENEY

Deney temel olarak 3 aşamada gerçekleştirildi.

1-Cerrahi Geciktirme aşaması (1. cerrahi aşama): Cerrahi geciktirme grubunun oluşturulması.

2-Flep aşaması (2. cerrahi aşama / Deney aşaması): Serbest flep modelinin oluşturulması, doku örneği alınması.

3-Sonuçlandırma aşaması: Fleplerde planimetrik değerlendirme yapılması.

Öncelikle rastgele seçilen ratların yarısına (24 adet) cerrahi geciktirme işlemi yapılması planlandı (1. cerrahi aşama). Geciktirme süresinin tamamlanmasını takiben bu ratların her grupta 8 rat olmak üzere 3 gruba ayrılması planlandı (1., 2., 3. grup). 1.grubdaki ratlara 120 dakika total iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulması, 2.grubdaki ratlara 240 dakika total iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulması, 3.grubdaki ratlara iskemi uygulanmadan serbest flep modeli oluşturulması planlandı. Ardından herhangi bir işlem uygulanmamış kalan ratların (24 adet) rastgele 3 gruba ayrılması planlandı (4., 5., 6. grup). 4.grubdaki ratlara 120 dakika total iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulması, 5.grubdaki ratlara 240 dakika total iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulması, 6.grubdaki ratlara iskemi uygulanmadan flep oluşturulması planlandı. Sonuç olarak her grupta 8 rat olmak üzere toplam 6 grup oluşturulması planlandı.

1. Grup: Cerrahi geciktirme uygulanmış ve 120 dk. sıcak iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulacak grup.

2. Grup: Cerrahi geciktirme uygulanmış ve 240 dk. sıcak iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulacak grup.

3. Grup: Cerrahi geciktirme uygulanmış ve iskemi uygulanmadan flep oluşturulacak grup (grup 1 ve 2 için kontrol grubu).

4. Grup: Cerrahi geciktirme uygulanmamış ve 120 dk. sıcak iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulacak grup.

5. Grup: Cerrahi geciktirme uygulanmamış ve 240 dk. sıcak iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulacak grup.

6. Grup: Cerrahi geciktirme uygulanmamış ve iskemi uygulanmadan flep oluşturulacak grup (grup 4 ve 5 için kontrol grubu).

Tüm ratlardan serbest flep modeli oluşturulması takiben 24 saat sonra flep medial kenarlarından, flebin alt kenarına yaklaşık 3 cm uzaklıktaki flep alanından deri biyopsileri alınması planlandı.

Sonuçlandırma aşamasında tüm gruplardaki fleplerde oluşan nekroz alanları planimetrik olarak kayıt edildi.

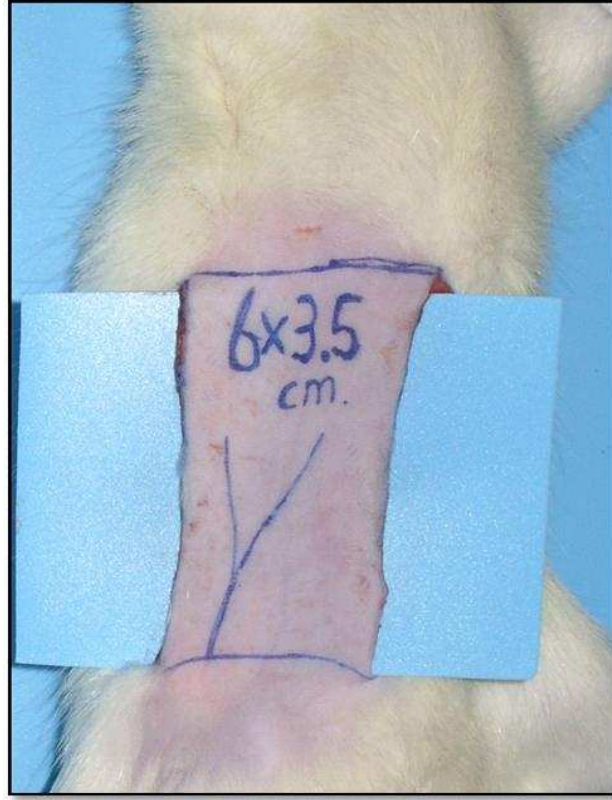
1-CERRAHİ GECİKTİRME AŞAMASI

Cerrahi geciktirme işlemi, cilt fleplerinin cerrahi geciktirmesinde sık kullanılmış olan flebin longitudinal aksisine paralel kenarlarının insize edilmesi ve flebin zeminin serbestleştirilmesi yöntemi ile yapıldı.

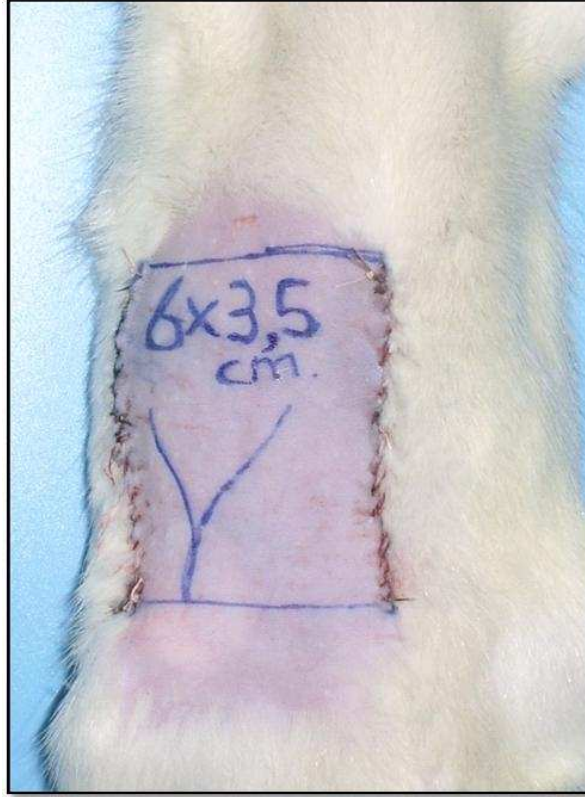
Deney hayvanlarının anestezi sol uyluklarından i.m. Ketamin 100 mg/kg (Ketalar amp, EIP) ve Xylazine 60 mg/kg (Bayer) yapılarak sağlandı. Operasyonlara ağırlı uyarana yanıt kesildiğinde başlandı.

2. cerrahi aşamada (deney aşamasında) serbest flep olarak kaldırılacak diktörtgen şeklindeki flebin medial ve lateral kenarları boyunca cilt insizyonları ve flebin zeminin total olarak derin fasiyadan serbestleştirildi (Şekil - 11). Flepler tekrar yerine konularak insizyonlar tek tek suture edildi (Şekil - 12).

Hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar birkaç gün gibi kısa süreli geciktirmenin önemli miktarda flep koruması sağlayabildiğini göstermekle birlikte uzun geciktirme periyotlarının klinik olarak 2-3 hafta olan alışılmış dönemlere ihtiyaç duyduğunu göstermektedir (74). Geciktirme süresi olarak farklı çalışmalarda farklı süreler kullanılsa da çoğu çalışmada 2 haftalık süre kullanılmıştır. Biz çalışmamızda fleplerin yerlerine dikildiği günden sonra 2 haftalık geciktirme süresi ile geciktirme fenomeni oluşturduk.



Şekil - 11 : Karın derisinde “cerrahi geciktirme” için flep kenarlarının insizyonu ve flebin zeminden eleve edilmesi.



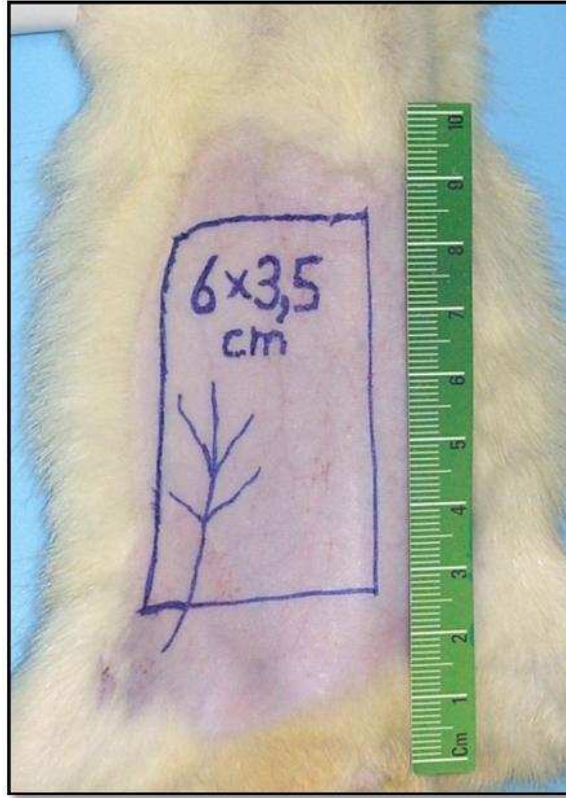
Şekil - 12 : Flebin yerine dikilmesi.

CERRAHİ GECİKTİRME AŞAMASI VE DENEY GRUPLARI

Çalışmada kullanılacak toplam 48 ratın yarısı (24 adet) rastgele seçilerek cerrahi geciktirme işlemi uygulandı. Bu ratlar bir sonraki aşama olan deney aşamasında 1., 2. ve 3. grubu oluşturacak olan ratlardır.

2-DENEY AŞAMASI (Serbest Flep Modellerinin Oluşturulması) FLEP ANATOMİSİ

Sıçanda epigastrik arter flebi olarak da isimlendirilen karın flebi; ksifoid üst sınır, pubis alt sınır ve yanlarda her iki aksiller çizgi sınırları içinde kalan alanı içerir (75, 76). Flep dolaşımı her iki taraftaki yüzeysel inferior epigastrik arterin medial dalları ve eşlik eden venleri tarafından sağlanmaktadır. Süperfisial inferior epigastrik arterin lateral dalları nekroz alanı büyüklüğü çalışmada değişkenliği azaltmak için flebe dahil edilmemektedir (75, 76). Bu çalışmada tek pedikül ile serbest flep modeli oluşturacağımız için, flebi yarı karın flebi olarak, 6 x 3.5 cm boyutlarında, Zaccaria'nın tarif ettiği (56) ada flebi gibi planladık (Şekil - 13). Flepler Nishikawa ve arkadaşlarının tarif ettiği (77) gibi inguinal yağ doku, panniculus carnosus ve cilt dahil edilerek adipomuskülokutanöz olarak kaldırıldı. Tüm flepler ratların sağ kasık bölgesinden kaldırıldı.



Şekil - 13 : Sağ kasık bölgesinde “serbest flep modeli” oluşturulacak sağ yarı karın flebinin çizimi.

OPERASYONA HAZIRLIK VE ANESTEZİ

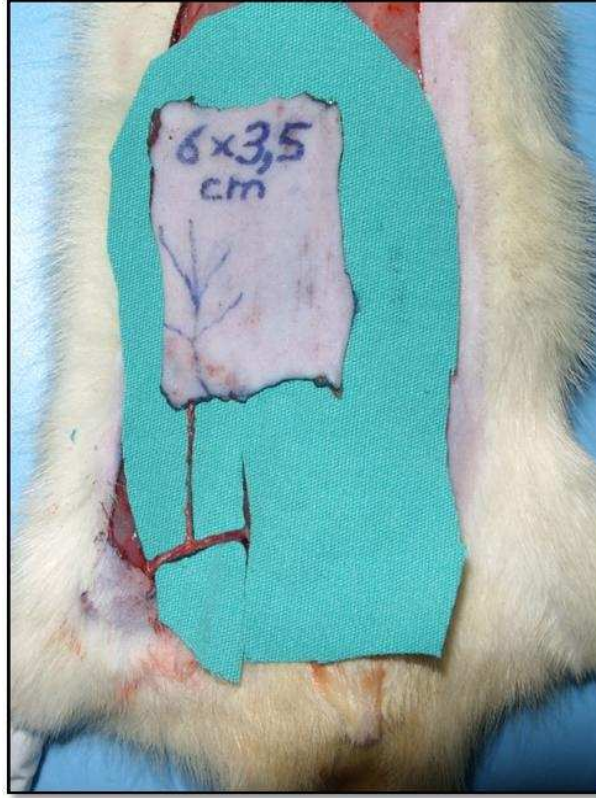
Ratların sağ taraf karın derileri uygun büyüklükte traş edilip supin pozisyonunda operasyon masasına yatırılarak ön ve arka ekstremiteleri operasyon masasına sabitlendi. Operasyon yapılacak bölge %10'luk iyot çözeltisi (Betadin) ile silinerek antisepsi sağlandı.

Deney hayvanlarının anestezisi sol uyluklarından i.m. Ketamin 100 mg/kg (Ketalar amp, EIP) ve Xylasine 60 mg/kg (Bayer) yapılarak sağlandı. Operasyonlara ağrılı uyarana yanıt kesildiğinde başlandı.

CERRAHİ TEKNİK

1- SAĞ YARI KARIN ADA FLEBİNİN KALDIRILMASI

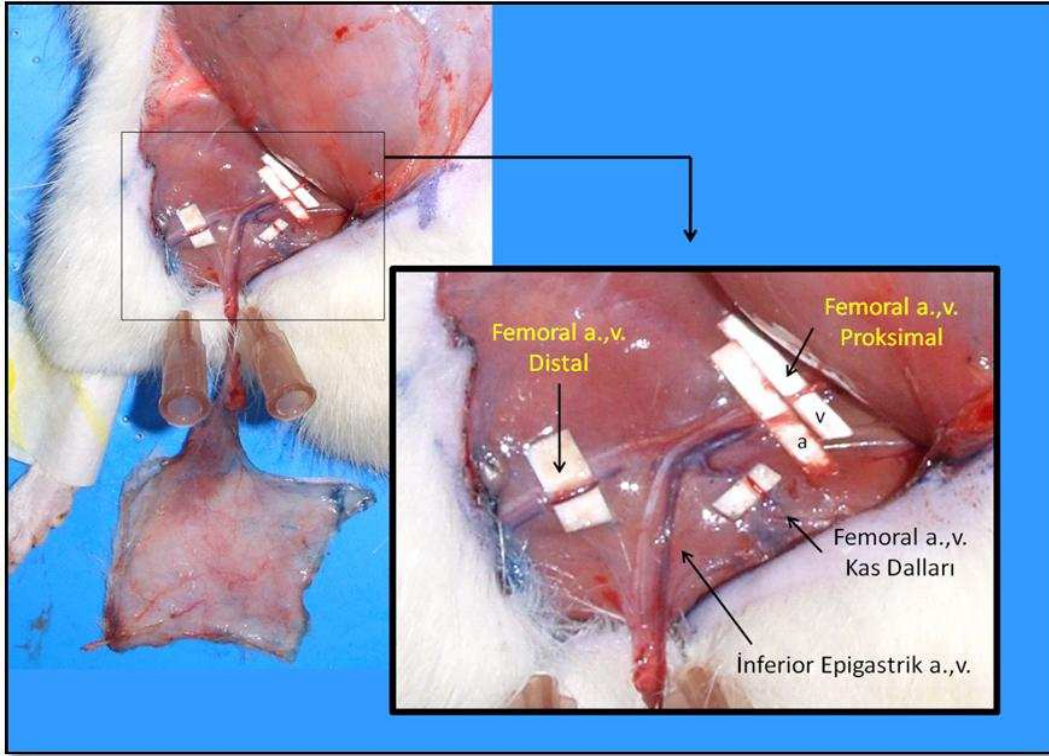
Uygun temizlik ve operasyon pozisyonunu takiben flep çizim bölgelerinden yapılan insizyonu takiben, künt ve keskin diseksiyonlar ile inguinal yağ doku, panniculus carnosus ve cilt dahil edilerek 6 cm boyunda ve 3.5 cm eninde adipomuskülokutanöz flep pedikül komşuluğuna kadar kaldırıldı. Ardından flep, 6x lup büyütme altında uygun diseksiyonlar ile süperfisial inferior epigastrik arter ve ven femoral arter ve venden dallandıkları yerden itibaren flebe kadar diseke edilerek pediküllü ada flep olarak tamamlandı (Şekil - 14). lup büyütme altında uygun diseksiyonlar ile femoral arter ve ven ortaya konuldu (Şekil - 15). Ardından femoral arter ve ven femoral sinir korunarak süperfisial inferior epigastrik arter ve ven dalını verdikten sonra distalde 10.0 Ethilone sütürler ile ligate edildi. Yine proksimalde süperfisial inferior epigastrik arter ve ven dalını vermeden önce mevcut kaslara giden arter ve ven dalları da 10.0 Ethilone sütürler ile ligate edildi.



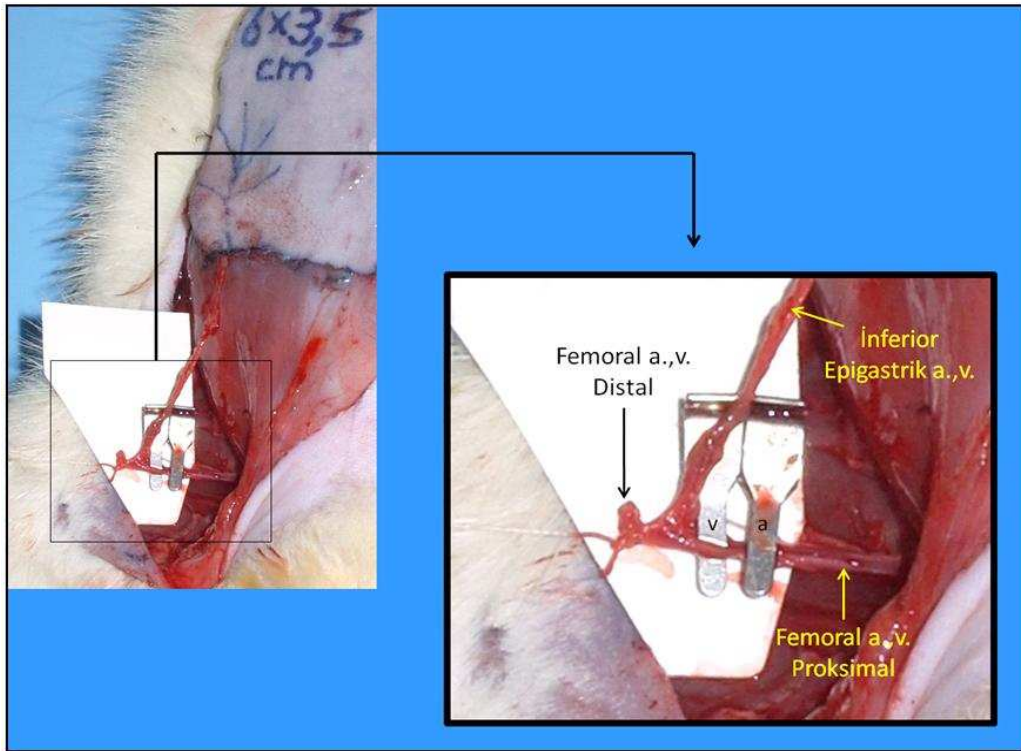
Şekil - 14 : Sağ yarı karın flebinin ada flep olarak kaldırılması.

2-SERBEST FLEP MODELİNİN OLUŞTURULMASI

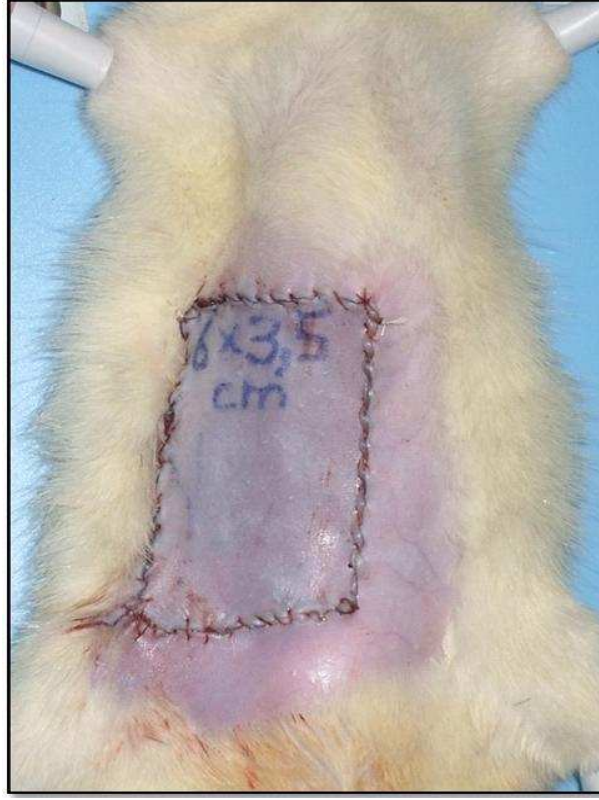
Sağ yarı karın ada flebinin süperfisial epigastrik arter ve ven pedikülü ile kaldırılmasını takiben femoral arter ve ven, süperfisial inferior epigastrik arter ve ven dallanma bölgesinin proksimalinde femoral sinir korunarak 6x lup büyütme altında uygun diseksiyonlar ile birbirinden izole edildi (resim 5). Ardından birbirinden izole edilen bölgede önce arter olmak üzere femoral arter arter ve ven ardışık olarak mikro damar klempleri (Acland) ile klemlendi. Arterial ve venöz dolaşımı total olarak kesilen flep serbest fleplerlerde sıcak iskemi süresinin başlangıcı olarak eşleştirildi. Klemplerin klemlili kaldığı süre ise serbest fleplerdeki sıcak iskemi süresi ile eşleştirilerek “serbest flep modeli” oluşturuldu (Şekil - 16). Planlanan iskemi süreleri dolduğunda klempler önce ven klembi olmak üzere ardışık olarak açıldı. Flepler yerlerine tek tek suture edildi (Şekil - 17).



Şekil - 15 : Femoral arter, ven, süperfisial inferior epigastrik arter, ven ve kas dalları



Şekil - 16 : "Serbest flep modeli" oluşturulması



Şekil - 17 : Flebin yerine dikilmesi

DENEY GRUPLARI VE SERBEST FLEP MODELLERİNİN OLUŞTURULMASI

1. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmış ve deney aşamasında 120 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan grup.

Grubu oluşturmak için rastgele seçilen “cerrahi geciktirme işlemi” uygulanmış 8 ratta tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben “serbest flep modeli” 120 dakikalık sıcak iskemi süresi ile oluşturuldu.

2. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmış ve deney aşamasında 240 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan grup.

Grubu oluşturmak için rastgele seçilen “cerrahi geciktirme işlemi” uygulanmış 8 ratta tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben “serbest flep modeli” 240 dakikalık sıcak iskemi süresi ile oluşturuldu.

3. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmış ve deney aşamasında iskemi uygulanmadan flep oluşturulan grup (1. ve 2. grup için kontrol grubu).

Grubu oluşturmak için rastgele seçilen “cerrahi geciktirme işlemi” uygulanmış 8 ratta tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben “serbest flep modeli” iskemi uygulanmadan oluşturuldu.

Grupdan bir rat postoperatif 1. günde exitus oldu.

4. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmamış ve deney aşamasında 120 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan grup.

Grubu oluşturmak için rastgele seçilen “cerrahi geciktirme işlemi” uygulanmamış 8 ratta tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben “serbest flep modeli” 120 dakikalık sıcak iskemi süresi ile oluşturuldu.

5. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmamış ve deney aşamasında 240 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan grup.

Grubu oluşturmak için rastgele seçilen “cerrahi geciktirme işlemi” uygulanmamış 8 ratta tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben “serbest flep modeli” 240 dakikalık sıcak iskemi süresi ile oluşturuldu.

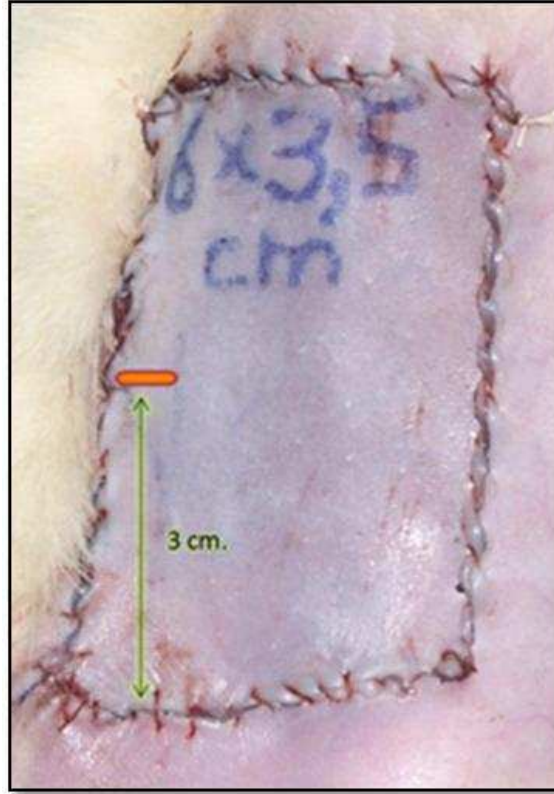
6. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmamış ve deney aşamasında iskemi uygulanmadan flep oluşturulan grup (4. ve 5. grub için kontrol grubu).

Grubu oluşturmak için rastgele seçilen “cerrahi geciktirme işlemi” uygulanmamış 8 ratta tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben “serbest flep modeli” iskemi uygulanmadan oluşturuldu.

Ratlarda serbest flep modeli oluşturulmasını takiben 24 saat sonra biyokimyasal analiz için deri biyopsileri alındı. Biyopsiler flebin lateral kenarından ve inferior kenara 3 cm uzaktıktaki flep dokusundan alındı (Şekil - 18). Altı gruptan toplam 47 doku biyopsisi alındı. Biyopsi alınan insizyon yerleri vikril sütürler ile suture edildi.

Alınan dokular buz soğukluğunda serum fizyolojik solüsyonu ile yıkanarak önceden hazırlanmış ve gruplara göre etiketlenmiş soğuk Eppendorf tüplerine konuldu. Tüm örneklerin alınmasının bitimine kadar buz soğukluğunda muhafaza edildi. Ardından biyokimyasal analiz için kullanılmak üzere $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuya konuldu.

Tüm gruplardaki ratlar için 1 haftalık flep iyileşme süresini takiben deneyin sonuçlandırma aşamasına geçildi.



Şekil - 18 : Flepten biyopsi alınan bölge

3-SONUÇLANDIRMA AŞAMASI

1 haftalık flep iyileşme süresi dolunca tüm gruplardaki ratlar tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Bütün flepler, nekroz gelişmemişse tüm flep alanı, nekroz gelişmiş ise kalan flep alanı ve nekroz gelişen alanı olmak üzere üzerine konulan saydam film tabakaya (asetat) çizilerek planimetrik olarak kayıt edildi. Flepler kayıt edildikten sonra tüm ratlar intrakardiyak hava verilerek sakrifiye edildi.

DENEY GRUPLARI VE SONUÇLANDIRMA AŞAMALARI

1. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmış ve deney aşamasında 120 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan 8 rat tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Flep alanı nekroz gelişmişse nekroz alanını da gösterecek şekilde planimetrik olarak kayıt edildi.

2. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmış ve deney aşamasında 240 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan 8 rat tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Flep alanı nekroz gelişmişse nekroz alanını da gösterecek şekilde planimetrik olarak kayıt edildi.

3. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmış ve deney aşamasında iskemi uygulanmadan serbest flep modeli oluşturulan 8 rattan bir tanesi postoperatif 1. Gün içerisinde exitus oldu. Kalan 7 rat tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Flep alanı nekroz gelişmişse nekroz alanını da gösterecek şekilde planimetrik olarak kayıt edildi.

4. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmamış ve deney aşamasında 120 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan 8 rat tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Flep alanı nekroz gelişmişse nekroz alanını da gösterecek şekilde planimetrik olarak kayıt edildi.

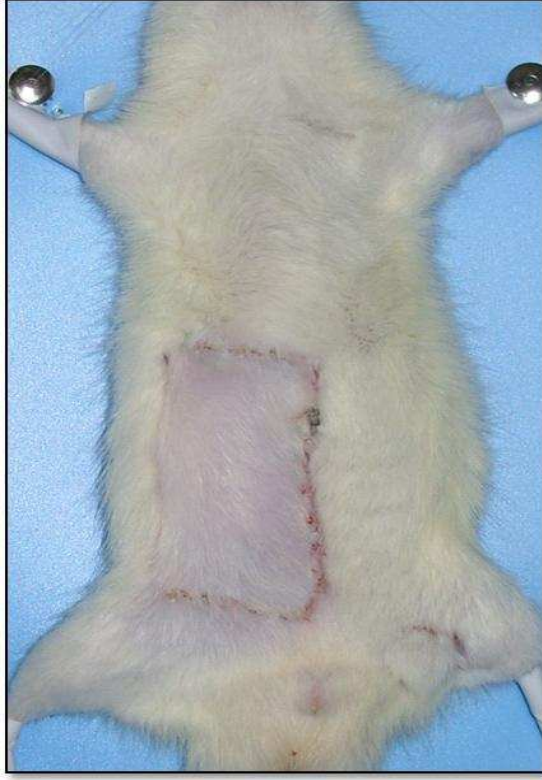
5. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmamış ve deney aşamasında 240 dakika sıcak iskemi ile serbest flep modeli oluşturulan 8 rat tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Flep alanı nekroz gelişmişse nekroz alanını da gösterecek şekilde planimetrik olarak kayıt edildi.

6. Grup: Öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmamış ve deney aşamasında iskemi uygulanmadan serbest flep modeli oluşturulan 8 rat tarif edilen anestezi uygulanmasını ve hazırlığı takiben operasyon masasına alındı.

Flep alanı nekroz gelişmişse nekroz alanını da gösterecek şekilde planimetrik olarak kayıt edildi.

Sonuçlandırma aşamasından örnek resimler Şekil - 19 ve 20'de gösterilmiştir.



Şekil - 19 : Sonlandırma aşamasında 3.gruptan bir rat

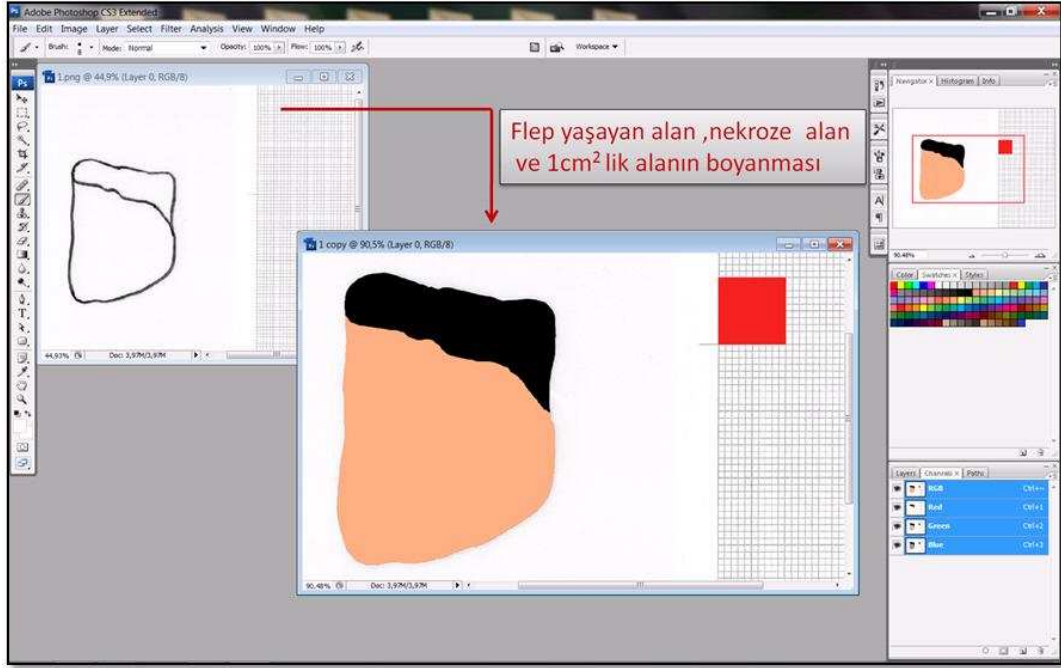


Şekil - 20 : Sonlandırma aşamasında 5.gruptan bir rat

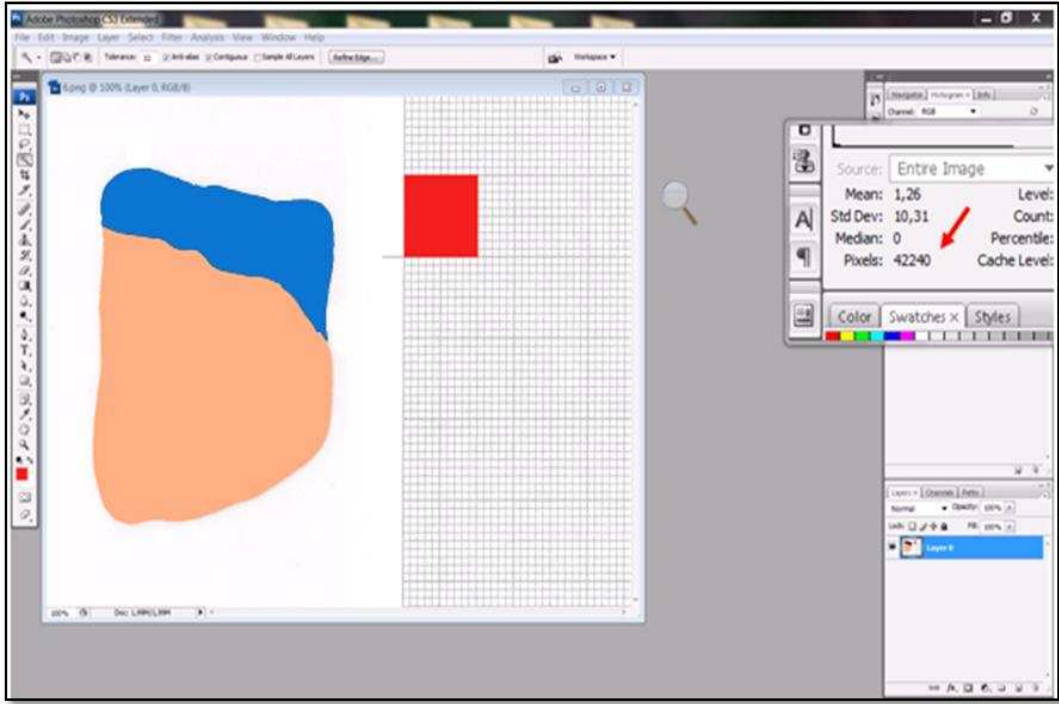
D-DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

1-KLİNİK VE PLANİMETRİK DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ

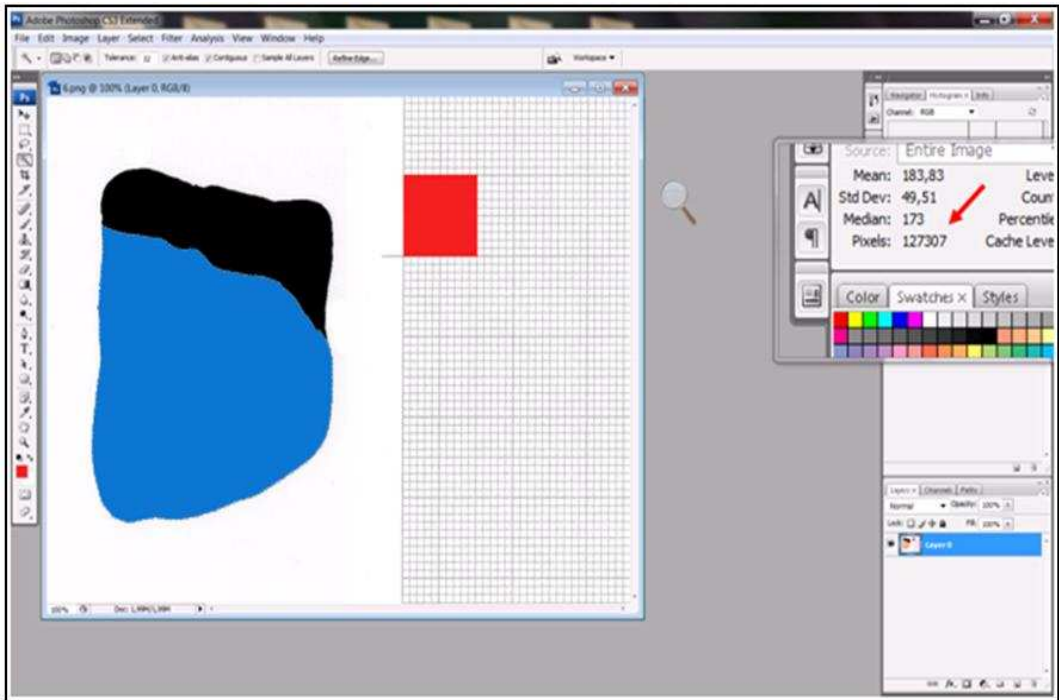
Asetatlara çizilmiş olan alanlar teknik resim çizim kağıdı (milimetrik çizim kağıdı) ile birlikte, tarayıcı yardımı ile bilgisayar ortamına digital fotoğraf olarak aktarıldı. Çizilen şekillerdeki yaşayan ve nekroze flep alanları ve milimetrik kağıttaki 1 cm² lik alan Photoshop (Adobe® Photosop® CS3 Extended) ve Microsoft Paint (Windows® 7 Ultimate Version 6.1 Build 7600) bilgisayar programları yardımı ile boyanarak alanların büyüklükleri piksel (digital fotoğrafın en küçük görsel parçası) sayısı olarak belirlendi. Ardından 1 cm² lik alana karşılık gelen piksel sayısı kullanılarak nekroze olmuş ve yaşayan flep alanlarının piksel sayıları cm² cinsinden hesaplandı (şekil 21, 22, 23, 24).



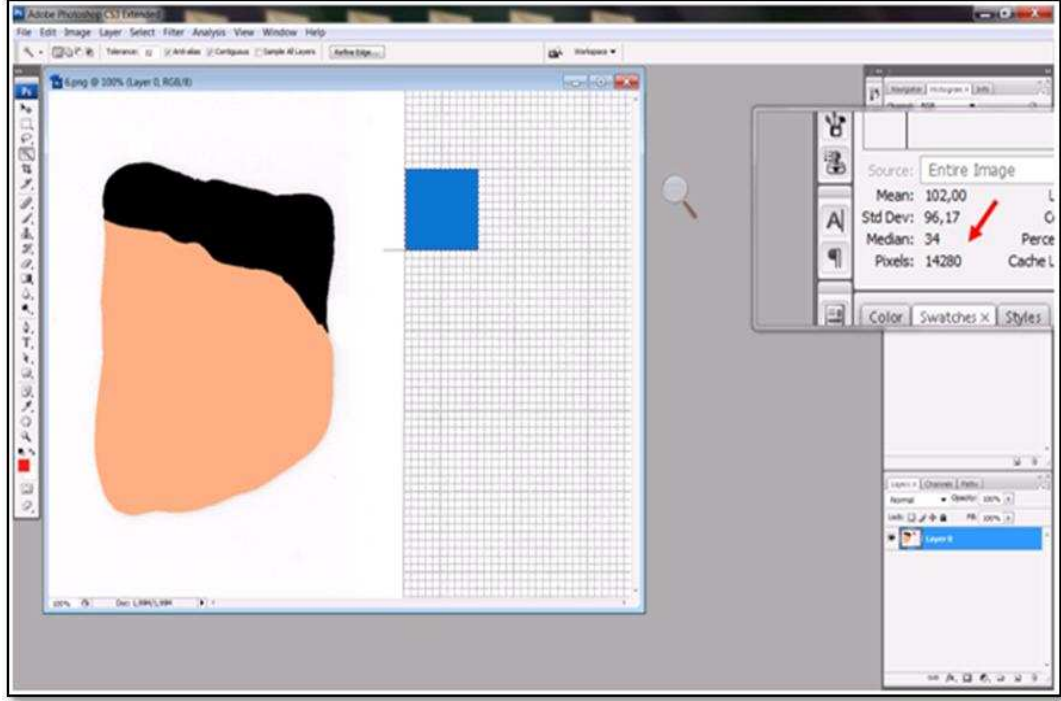
Şekil -21 : Tarayıcıdan bilgisayara digital fotoğraf olarak alınan flep çiziminde yaşayan flep alanı ,flep nekroz alanı ve milimetrik kağıtta 1 cm² lik alanın boyanması



Şekil - 22: Flep nekroz alanının (mavi) bilgisayar programı ile piksel sayımı (kırmızı ok)



Şekil - 23: Yaşayan flep alanının (mavi) bilgisayar programı ile piksel sayımı (kırmızı ok)



Şekil - 24: Milimetrik kağıttan 1 cm² lik alanın (mavi) piksel sayımı (kırmızı ok)

2-BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Biyokimyasal değerlendirme flep dokularında GSH, GSH-Px, SOD, MDA düzeylerinin tayini için yapıldı.

Madde miktarı çalışılacak dokular öncelikle hassas terazi ile tartıldı. Ardından her bir doku örneği makroskopik olarak parçalara ayrıldı. Her doku örneği gram olarak ağırlığını 10'a tamamlayan (1 gr doku + 9 ml tampon) miktar kadar tampon çözeltisi (KH₂PO₂-0,68 gr.-100ml ve K₂HPO₂-0,87 gr.-100ml) ile karıştırıldı ve homojenizatör ile doku homojenizatları elde edildi.

GSH ve MDA miktarı ölçümü Chromsystem kitleri kullanılarak Chromsystem kolon kullanan Agilent 1100 cihazında 'High Pressure Liquid Chromatography' yöntemi ile yapıldı. Sonuçlar GSH ve MDA için µmol/gr. doku cinsinden bulundu.

GSH-Px aktiviteleri Paglia ve Valantine (78) tarafından geliştirilen yöntem esas alınmaktadır. GSH-Px, kümen peroksit (ROOH) varlığında indirgenmiş glutatyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) dönüşmesini katalizler. Kümen peroksidin bulunduğu ortamda oluşan GSSG, GR ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'ye yükselmesi sırasında absorbans farkının 340 nm'de okunması ile ölçülür. Sonuçlar U/gr. doku cinsinden bulundu.

SOD aktiviteleri, prensibini oksijen ve fotoredüksiyonla indirgenen riboflavinin reaksiyonu sonucu oluşan O₂⁻ (süperoksit radikali) ile NBT'in redüksiyonunu SOD'un inhibe etme yeteneğinin oluşturduğu Winterbourn ve ark. spektrofotometrik metoduna göre çalışıldı (79). Reaktiflerin eklenmesini (EDTA + NaCN, NBT, Sodyum fosfat tamponu, Riboflavin) takiben oluşan rengin absorbansı Shimadzu UV-1601 spektrofotometresinde 560 nm dalga boyunda hava körüne karşı okundu ve % inhibisyon hesaplandı. Aynı işlem SOD standartları ile tekrarlanarak standart grafiği kullanılarak sonuçlar hesaplandı. Sonuçlar U/gr. doku cinsinden bulundu.

3-İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ

İstatistiksel karşılaştırma ve değerlendirme için "SPSS Statistics 17.0" bilgisayar programı "Windows 7 Ultimate" işletim sisteminde çalıştırılarak kullanıldı.

Gruplar (1., 2., 3., 4., 5., 6. gruplar) 5 parametre açısından (SOD değerleri, GSH-Px değerleri, GSH değerleri, MDA değerleri, nekroz oranları) birbirleri ile karşılaştırıldı. Karşılaştırmalar 1. ve 2. grubun kontrol grubu ile (3. grup) karşılaştırılması, 4. ve 5. grubun kontrol grubu (6. grup) ile karşılaştırılması, 1. ve 2. grubun karşılaştırılması, 1. ve 4. grubun karşılaştırılması, 2. ve 5. grubun karşılaştırılması, 3. ve 6. grubun karşılaştırılması, 4. ve 5. grubun karşılaştırılması şeklinde yapıldı. Yine 1. grubun değerleri ile 4. grubun değerleri arası fark büyüklük sırasına göre alınarak (en büyükten en büyük, en küçükten en küçük) büyük değerdeki azalma % cinsinden hesaplanarak yeni değerler oluşturuldu. Bu gruba "fark 1-4" grubu adı verildi. Aynı hesaplama 2. grubun değerleri ile 5.

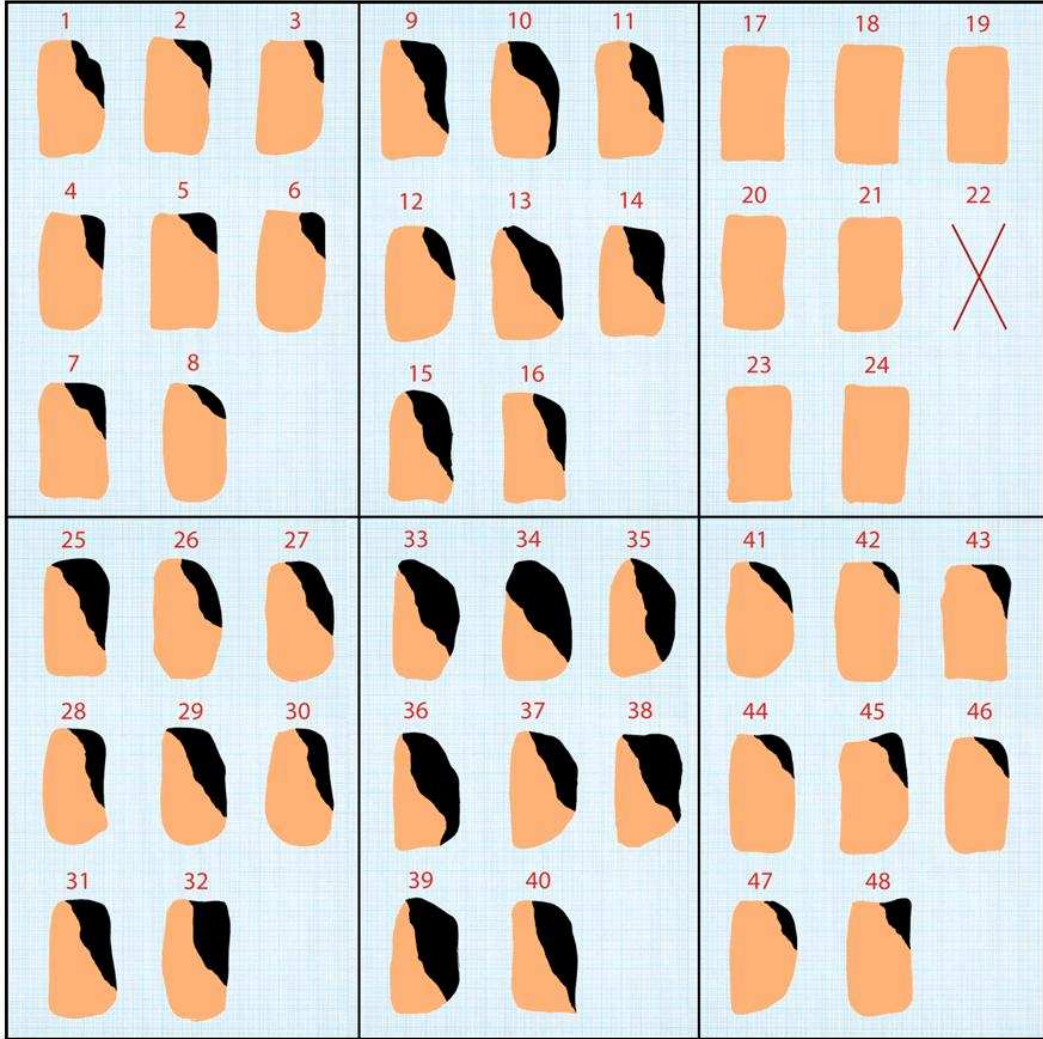
grubun değerleri arasında da yapıldı. Bu gruba da “fark 2-5” grubu adı verildi. Bu değerler bize cerrahi geciktirme işleminin flep nekrozunu azaltma oranlarını göstermektedir. Yüzde cinsindeki değerlerden oluşan 2 ayrı fark grubu oluşturuldu ve bu gruplarda arasında karşılaştırıldı. Sonuç olarak her iki iskemi süresi için flep nekrozlarındaki azalma oranları karşılaştırılmış oldu.

Öncelikle tüm grupların tanımlayıcı analizleri yapıldı (ortalama, standart sapma, standart hata). Karşılaştırmalar öncesinde karşılaştırma testinin belirlenmesi için karşılaştırılacak gruplara öncelikle değerlerin normal dağılıma uyup uymadığının belirlenmesi için normalite testi (Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk) yapıldı. Testte p değerinin 0,05’ten büyük çıkması grubun değerlerinin normal dağılım gösterdiği yönünde yorumlandı. Normalite testi sonucuna göre uygun karşılaştırma testi (Student’s t testi) ile karşılaştırmalar yapıldı. P değerinin 0.05 den küçük bulunması fark olduğu yönünde yorumlandı.

IV-BULGULAR

1-PLANİMETRİK ANALİZ SONUÇLARI

Tüm fleplerin canlı ve nekroze alanların planimetrik kayıtları şekil 25’de gösterilmiştir. 1-8 numaralı ratlar 1. gruba, 9-16 numaralı ratlar 2. gruba, 17-24 numaralı ratlar 3. gruba, 25-32 numaralı ratlar 4. gruba, 33-40 numaralı ratlar 5. gruba, 41-48 numaralı ratlar 6. gruba ait ratlardır.



Şekil - 25: Planimetrik kayıt

Gruplardaki fleplerin canlı ve nekroze alanlarının cm^2 cinsinden büyüklükleri ve oranları Tablo III’te gösterilmiştir. 1-8 numaralı ratlar 1. gruba, 9-16 numaralı ratlar 2. gruba, 17-24 numaralı ratlar 3. gruba, 25-32 numaralı ratlar

4. gruba, 33-40 numaralı ratlar 5. gruba, 41-48 numaralı ratlar 6. gruba ait ratlardır.

Grup	Rat	Yaşayan Flep alanı		Nekroze Flep alanı	
		cm ²	%	cm ²	%
1	1	15,1	84,8	2,7	15,2
	2	16,4	89,2	2,0	10,8
	3	16,8	93,2	1,2	6,8
	4	15,7	87,6	2,2	12,4
	5	17,5	89,1	2,1	10,9
	6	17,8	90,1	2,0	9,9
	7	16,6	85,2	2,9	14,8
	8	16,0	92,5	1,3	7,5
2	9	13,5	70,7	5,6	29,3
	10	12,7	69,9	5,5	30,1
	11	14,5	80,1	3,6	19,9
	12	16,2	88,8	2,0	11,2
	13	11,5	64,9	6,2	35,1
	14	12,6	72,4	4,8	27,6
	15	11,2	67,9	5,3	32,1
	16	13,4	80,4	3,3	19,6
3	17	19,0	100	0	0
	18	19,8	100	0	0
	19	18,4	100	0	0
	20	18,0	100	0	0
	21	18,2	100	0	0
	22	X	X	X	X
	23	18,8	100	0	0
	24	19,5	100	0	0
4	25	12,0	65,3	6,4	34,7
	26	14,9	81,7	3,3	18,3
	27	14,5	78,3	4,0	21,7
	28	13,5	80,1	3,4	19,9
	29	11,4	65,1	6,1	34,9
	30	14,0	80,2	3,5	19,8
	31	12,9	70,2	5,5	29,8
	32	12,5	66,7	6,2	33,3
5	33	9,4	54,8	7,7	45,2
	34	8,7	47,3	9,6	52,7
	35	10,3	61,0	6,6	39
	36	8,9	51,7	8,3	48,3
	37	12,2	71,8	4,8	28,2
	38	9,9	56,8	7,5	43,2
	39	10,7	61,2	6,8	50,1
	40	8,5	49,3	8,7	39,2
6	41	15,4	89,2	1,9	10,8
	42	17,5	95,8	0,8	4,2
	43	16,8	89,3	2,0	10,7
	44	16,9	90,8	1,7	9,2
	45	16,6	88,3	2,2	11,7
	46	16,2	92,3	1,4	7,7
	47	15,4	91,2	1,5	8,8
	48	16,0	87,7	2,2	12,3

Tablo - III: Gruplardaki fleplerin canlı ve nekroze alanlarının cm² cinsinden büyüklükleri ve oranları

2-BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

Fleplerden alınan dokular yöntemde belirtildiği şekilde hazırlanarak SOD, GSH-Px, MDA, GSH miktarları ölçüldü. Sonuçları Tablo IV’de gösterilmiştir.

Grup	Rat	GSH-Px (U/gr. doku)	SOD (U/gr. doku)	GSH (µmol /gr. doku)	MDA µmol /gr. doku)
1	1	3199	27,25	148,20	33,10
	2	2152	50,54	80,55	16,23
	3	975	32,17	85,35	25,24
	4	2851	18,86	75,84	58,35
	5	3405	25,50	60,07	36,15
	6	1732	10,74	100,63	21,36
	7	5783	19,69	112,05	9,90
	8	2732	39,23	78,74	17,12
2	9	312	6,44	57,41	68,32
	10	108	3,76	32,25	59,23
	11	506	2,78	83,36	104,00
	12	206	9,23	29,71	63,15
	13	431	2,89	27,32	54,75
	14	134	2,34	37,32	29,44
	15	526	1,11	47,46	72,14
	16	229	2,91	16,11	45,38
3	17	5362	39,00	162,20	7,14
	18	4648	42,35	99,20	8,18
	19	10874	33,74	129,23	10,10
	20	5090	58,82	147,84	6,25
	21	2948	37,43	89,52	16,19
	22	x	x	x	x
	23	6045	70,48	110,40	13,10
	24	3932	32,56	160,22	26,33
4	25	1122	10,20	40,12	66,12
	26	837	3,26	25,23	29,25
	27	619	4,71	60,12	45,10
	28	336	20,24	32,15	88,26
	29	1318	8,86	35,50	49,30
	30	993	9,03	88,32	64,22
	31	324	10,34	19,41	16,10
	32	637	4,85	43,30	54,61
5	33	100	0,62	24,12	120,77
	34	42	1,58	5,23	134,31
	35	138	1,15	20,40	86,60
	36	79	3,85	19,22	65,35
	37	26	1,23	40,36	201,30
	38	119	1,70	24,47	109,21
	39	184	1,97	20,50	59,55
	40	152	0,72	28,70	97,21
6	41	3259	20,18	72,16	25,20
	42	3779	32,85	59,66	23,32
	43	1953	27,23	25,42	10,11
	44	4586	9,17	78,54	31,10
	45	3061	16,55	92,26	24,42
	46	2144	50,00	121,10	40,41
	47	759	31,20	65,25	28,26
	48	4206	13,74	80,23	9,80

Tablo - IV: Gruplardaki ratlarda doku SOD, GSH-Px, MDA, GSH ölçüm değerleri

3-İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI

Yöntem kısmında tarif edilen “fark1-4” ve “fark 2-5” gruplarına ait değerler 5 parametre için hesaplanmış ve Tablo V’de gösterilmiştir.

	GSH-Px	SOD	GSH	MDA	Nekroz
Fark 1-4 (%)	77,2	60,0	40,4	33,9	56,4
	67,1	73,6	46,4	45,3	57,3
	69,0	68,3	57,0	48,5	62,8
	70,6	66,9	53,0	53,8	63,4
	76,7	65,3	55,9	56,7	50,2
	71,2	75,4	59,2	62,0	50,3
	80,6	75,0	66,7	44,5	62,1
	66,8	69,7	67,7	38,5	62,8
Fark 2-5 (%)	65,0	58,3	51,6	48,3	33,4
	70,0	69,4	50,0	46,3	35,9
	68,0	54,8	48,4	43,2	37,7
	61,9	45,7	35,4	42,2	35,2
	56,3	57,4	36,4	39,1	36,1
	61,7	58,6	31,3	28,5	49,2
	68,7	69,2	29,7	18,0	49,7
	75,9	44,1	67,5	30,8	60,3

Tablo - V: “fark 1-4” grubu ve “fark 2-5” grubuna ait değerler.

Grupların değerleri arasında fark olup olmadığı yönündeki karşılaştırma testi öncesi yapılan normalite testlerinde tüm grupların tüm değerlerinin normal dağılıma uyduğu görüldü ($p>0.05$).

Grupların değerlerinin arasında fark olup olmadığı 5 parametre (SOD değerleri, GSH-Px değerleri, GSH değerleri, MDA değerleri, nekroz oranları) açısından birbirleri ile karşılaştırıldı. SOD enzim düzeyi karşılaştırmasında 4. grup ile 5. grup değerleri arasında fark olmadığı ($p>0.05$), GSH değerleri karşılaştırmasında fark gruplarının değerleri (fark1-4, fark 2-5) arasında anlamlı fark olmadığı ($p>0.05$), kalan tüm diğer karşılaştırmalarda gruplar arası değerlerde anlamlı fark olduğu ($p<0.05$) görüldü. Karşılaştırmaların p değerleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Karşılaştırma	GSH-Px (p)	SOD (p)	GSH (p)	MDA (p)	Nekroz (p)
Grup 1-2	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001
Grup 1-3	0,023	0,030	0,030	0,037	0,001
Grup 1-4	0,001	0,001	0,001	0,023	0,001
Grup 2-3	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001
Grup 2-5	0,010	0,035	0,042	0,045	0,001
Grup 3-6	0,025	0,015	0,003	0,026	0,001
Grup 4-5	0,001	0,002	0,033	0,016	0,001
Grup 4-6	0,002	0,010	0,025	0,007	0,001
Grup 5-6	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Fark (1-4)/(2-5)	0,037	0,007	0,051	0,046	0,001

Tablo - VI : Karşılaştırmaların p değerleri (Student's t testi sonucu). Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.005$ değeri gruplar arası anlamlı fark olduğu anlamına gelmektedir.

V-TARTIŞMA

Cilt defektlerinin kapatılmasında en uygun fonksiyonel ve estetik yaklaşım fleplerin kullanılmasıdır. Planlanan flebin boyu uzadıkça flep yaşayabilirliğinde azalma olmakta ve bu durum kendisini özellikle distalde nekroz ve sonucunda doku kaybı olarak göstermektedir (80, 15, 81).

Flep cerrahisinde ortaya çıkan komplikasyonun nedeni ne olursa olsun komplikasyon flebin parsiyel veya tam nekrozu ile sonuçlanmaktadır (69). Anatomi, fizyoloji ve cerrahi teknik üzerindeki çalışmalarla artan bilgi, mikrocerrahinin gelişmesi, deri kan dolaşımı hakkında çok daha fazla bilgi olması ve uzun yıllardır yapılan araştırmalara rağmen flep nekrozu rekonstrüktif cerrahide önemli bir problem olmaya devam etmektedir (82, 29, 30, 83).

Kullanımı gittikçe yaygınlaşan serbest doku aktarımlarında total flep kaybının çok az bir oranda olduğu seriler olmakla birlikte kimi serilerde total flep kaybı % 16 seviyesine ulaşmıştır. Flep kaybı sonucu oluşacak komplikasyonlar nedeni ile hastanın geçireceği ameliyat sayısı, hastanede kalış süresi, ekonomik sıkıntı, fizyolojik ve psikolojik rahatsızlık artmakta, hatta ekstremitte kaybı ve ölüm gerçekleşebilmektedir (83, 84, 85). Rekonstrüksiyon basamağında üst sıralarda bulunmasından dolayı serbest fleplerin kaybının önlenmesi ayrı bir önem taşır.

Flep kaybı; mikrosirkülasyonu bozan infeksiyon, arterioskleroz, hipotansiyon, malnütrisyon gibi sistemik nedenlerle, bası, gerginlik, pedikülde katlanma, hematoma gibi lokal dış etkenlerle veya anastomozda tromboz sonucu yetersiz besleyici akım gibi bir iç nedenle gerçekleşebilir (86).

Kerrigan, Pang ve arkadaşları deri flebi kaybının primer etiyolojisinin arteriyel yetmezlik olduğunu göstermişlerdir (86, 87). Bu nedenle günümüze kadar flepte kan akımını arttırmaya yönelik sayısız çalışmalar yapılmıştır.

DeneySEL olarak kan akımını arttırıp flepte iskemiye engellemeye yönelik denenen akson blokerleri, reseptör blokerleri, direkt düz kas gevşeticileri,

prostoglandinler ve blokerleri, kan reolojisini değiştiren çeşitli ajanlar, steroidler, hiperbarik oksijen ve serbest oksijen radikallerini temizleyen çeşitli ilaçların çoğu faydasız bulunmuştur. Kalan bir kısım ilacın ise klinik kullanıma girmesi konusunda bir uzlaşıya varılamamıştır (29, 88). Cerrahi geciktirme yöntemi, flep cerrahisinde flep yaşamını arttırdığı konusunda üzerinde uzlaşılan tek yöntem olarak kalmıştır (30, 64).

Cerrahi flep geciktirmesi dışında expander kullanımı, vasküler pedikülün ligasyonu veya embolizasyonu, flep çevresine sütür atma, klemp kullanımı, infrared ışın veya lazer uygulama, vakum uygulama, çeşitli sistemik ve topikal kimyasal ajanlar gibi çeşitli yöntemler geciktirme için denenmiştir (89). Yöntemler çok çeşitli olsa da flep geciktirmesini başarabilmek için üç temel yaklaşım vardır. Çalışmaların bir kısmında flep sahasında fiziksel etki ile, bir kısmında fiziksel ve kimyasal etki ile, kalan kısımda ise kimyasal etki ile geciktirme işlemi denenmiştir. Fiziksel etki ile yapılmaya çalışan geciktirme yöntemlerinde amaç flep kaldırılacak sahada invaziv veya minimal invaziv girişimlerle kanlanmayı azaltıp iskemi yaratmaktır.

Cerrahi flep geciktirmesindeki temel düşünce flebin tamamını kaldırmadan önce flebin distal kısmının kaldırarak oluşan iskemik ortam aracılığıyla flebin kalan kısmının kanlanmasını arttırmak veya iskemiye toleransı arttırmaktır. (89).

Çalışmamızda oluşturduğumuz flebin geciktirmesi için etkinliği güvenilir (15) yöntem olan cerrahi geciktirme yöntemini kullanıldı. Yöntemde amacımız serbest flep modeli oluşturmak için ada flep olarak kaldırılacak dokunun kanlanmasını arttırmak olmuştur. Teknik olarak daha önceki bir çok çalışmada (90, 91, 92, 93) geleneksel olarak uygulandığı gibi, flep olarak kaldırılacak dokunun kenarlarının paralel insizyonu ve zeminden serbestleştirilmesi şeklinde yapıldı. Böylece dokunun kanlanmasını, doku nekrozu yapmayacak şekilde azaltarak dokuda hipoksi sağlandı. Geciktirme benzer çalışmalarda (93, 90, 65) olduğu gibi 2 hafta suresince uygulandı.

Cerrahi geciktirme sonucu flepte damar boylarında artış, subdermal damarlarda sayıca artış meydana gelir (94, 95). şok damarlarda belirgin olarak

genişleme oluştuğu ve bunun geri dönüşümsüz olduğu düşünülmektedir (64). Sonuç olarak flebin kanlanması artış sağlanarak flebin iskemiye toleransı artmaktadır. Böylece flep canlılığı artarak flep sağ kalımları artmaktadır (15, 65). Cerrahi geciktirme ile flep sağ kalımını arttıran çok çalışma mevcuttur (96, 92, 91).

Çalışmamızda da benzer şekilde cerrahi geciktirme işleminin tek başına flep sağ kalımını arttırdığı görülmektedir. Cerrahi geciktirme yapılan gruplar için kontrol grubu olan ve sadece cerrahi geciktirme yapılarak flep oluşturulan 3. grup ile cerrahi geciktirme yapılmayan gruplar için kontrol grubu olan ve sadece flep uygulanan 6. grup karşılaştırıldığında cerrahi geciktirmenin anlamlı olarak flep sağ kalımını arttırdığı görülmektedir. Aynı iskemi süresi ile serbest flep modeli oluşturulan cerrahi geciktirme uygulanan ve uygulanmayan gruplar (1. grup ile 4. grup, 2. grup ile 5. grup) karşılaştırıldığında da cerrahi geciktirmenin anlamlı olarak flep sağ kalımını arttırdığı görülmektedir (Tablo - VI).

Flep cerrahisinde doku nekrozları yetersiz perfüzyon sonucu oluşabildiği gibi eğer yeniden perfüzyon sağlanırsa iskemi-reperfüzyon hasarını olarak tanımlanan (15) bir seri reaksiyonlar sonucu da oluşur. Çoğu zaman iskemi tek başına doku nekrozuna neden olsa da, bazen iskemi sonrası reperfüzyon sağlandığında iskemik hasara ek olarak reperfüzyon hasarı da doku nekrozuna neden olur.

Yetersiz perfüzyon ve iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan flep nekrozunun, doku ve damarlarda oluşan bir seri değişiklikler sonucunda gerçekleştiği kabul edilmektedir (5). Reperfüzyon sırasında, kan elemanları ve iskemik doku arasındaki etkileşimler sonucunda hasarlar artar (97).

İskemi sürecinden sonra reperfüze olan bölgeye lökositlerin, özellikle polimorfonükleer lökositler olan nötrofillerin infiltrasyonu reperfüzyon hasarının önemli bir nedenidir (46).

Ani oksijenlenme ile serbest oksijen radikalleri artar ve oksidatif stres oluşur (46). Serbest radikaller, hücrenin çeşitli bileşenlerini etkileyerek hücre

hasarına yol açarlar. Bunun sonucunda, hücrelerde ve dokularda yapısal değişiklik ve fonksiyonel kayıplardan hücre ölümüne kadar gidebilen pek çok olumsuz sonuçlar ortaya çıkar (15).

Reperfüzyon sonucu dokuların yeniden oksijenlenmesi paradoksal olarak doku hasarını hızlandırır (15, 43). Klinikte bu durum tromboliz, embolektomi, by-pass cerrahisi, organ transplantasyonu, turnike uygulamaları, replantasyon, mikrovasküler serbest doku aktarımı gibi durumlarda görülür.

Dokularda oluşan serbest radikallerin uzaklaştırılması için organizmaların temel antioksidan sistemleri mevcuttur. Bu sistemlerin en önemli enzimlerinden birisi SOD ve GSH-Px'dir (15). Serbest radikallerin özelliklede superoksit radikalinin ortamdaki uzaklaştırılması reperfüzyon hasarının zararlı etkilerinin oluşmasını engellemede önemlidir. GSH-Px, substratı olan GSH'ı kullanarak oksijen radikallerini zararsız hale getirir. Yine SOD enzimi de superoksit radikalini zararsız bileşiklere indirgeyerek bu radikalın zararlı etkisini ortadan kaldırır. Serbest radikallerin en önemli etkilerinden biri hücre zarı lipitlerinin peroksidasyonuna ve bozulmasına neden olarak hücre zarına hasar vermesidir (98, 99).

Çalışmamızda reperfüzyon sonucu oluşan serbest radikal hasarının büyüklüğünü, bu antioksidan enzim aktivitelerinin (GSH-Px, SOD) ve antioksidan madde (GSH) düzeylerinin ölçümü ile gösterdik. Ayrıca reperfüzyon sonucu hücre membranı hasarı yapan lipit peroksidasyonunu MDA düzeyinin ölçümü ile gösterdik.

İskemi-reperfüzyon çalışmalarında biyokimyasal ölçüm zamanı değişken olmakla birlikte çoğunlukla reperfüzyonu takiben 12. veya 24. saatte yapılmaktadır (100, 101, 102). Bu çalışmalarda doku örnekleri fleplerin sabit noktalarından alınmıştır. Çalışmamızda da benzer şekilde biyokimyasal ölçüm serbest flep modelinde reperfüzyonu takiben 12. saatte alınan doku örneklerinde yapıldı. Dokular fleplerin sabit noktalarından yapılan biyopsiler ile alındı.

Serbest flep cerrahisinde iskemi kaçınılmazdır. Bu flepler anastomozların tamamlanmasını takiben sağlanan reperfüzyon sonucu reperfüzyon hasarına maruz kalırlar. Serbest doku aktarımı sırasında sıcak iskemi süresince dokuların total iskemiyeye maruz kalmasını takiben reperfüzyon hasarı oluşmaktadır. Serbest fleplerde ve serbest flep modeli deneylerinde güvenli iskemi süresini gösteren çalışmalar yapılmıştır (103, 104). Bu çalışmalarda iskemi süresi ile flep nekrozlarının ilişkili olduğunu gösteren deneysel çalışmalar vardır. Brian ve arkadaşları kedilerde yaptıkları deneyde 3 saatin altındaki iskemi sürelerinin güvenli olduğunu göstermiştir (104). Partsavas ve arkadaşları yaptıkları deneyde farklı iskemi süreleri ile yaptıkları serbest flep modellerinde 2 saatten sonra flep nekrozlarının başladığını göstermiştir (103). Bu çalışmalarda kesinleşmiş bir süre olmamakla birlikte genellikle bu sürenin 2-3 saat olduğundan daha fazla bahsedilmektedir.

Çalışmamızda iskemi reperfüzyon hasarının etkilerini gözlemek amaçlandığı için flep modelimizi, klinikte reperfüzyon hasarına kaçılmaz olarak maruz kalan serbest flep olarak oluşturduk. Sıcak iskemi süresi olarak 120 ve 240 dakikayı seçtik. Bu sürelerden birisi güvenli iskemi süresi olarak gösterilen 3 saatten daha az diğeri ise daha çoktur. Serbest flep cerrahisi uygulamalarında flepte damar trombozu, planlama hataları sonucu alıcı damarda anastomoz yapılamaması sonucu alıcı alanın değiştirilmesi gereksinimi veya damar grefti gereksinimi gibi sıcak iskemi süresinin uzadığı durumlarda güvenli iskemi süresi uzayabileceğinden serbest flep modelimizde uzun iskemi süresi de kullandık.

Çalışmamızda geciktirme işlemi uygulansın veya uygulanmasın serbest flep modeli oluşturulan gruplardaki (1., 2., 4., 5. gruplar) ratlarda her iki iskemi süresinde de fleplerde belirli oranlarda nekroz gelişmiştir. Gruplar kontrol grupları ile kıyaslandığında (1. ve 2. grup 3. grup ile 4. ve 5. grup 6. grup ile) nekrozların iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluştuğu görülmektedir (Tablo - VI). Biyokimyasal sonuçlar da bunu desteklemektedir (Tablo - VI). Uzun iskemi süresinde (240 dk.) nekrozların görülmesi serbest fleplerde güvenli iskemi süresi için yapılan çalışmalardaki bulgulara benzerdir. Ancak kısa iskemi süresinde (120 dk.) de nekrozların görülmesi bu çalışmalarda bahsedilen güvenli iskemi süresi ile

uyumlu değildir. Bu uyumsuzluğun kullandığımız yarı karın flebinin, flep sağkalım deneylerinde sık kullanılan ve sağkalım-nekroz sınırında bir büyüklüğe sahip olmasından, ayrıca damar pediküllü ada flep olarak planlandığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

İskemi süresi uzadıkça fleplerde iskemi-reperfüzyon hasarı artmaktadır. Bu yapılan çalışmalarda da görülmektedir (103, 105, 106).

Çalışmamızda da benzer şekilde iskemi süresi uzadıkça oluşan flep nekrozu anlamlı şekilde artmaktadır. Bu artış fleplere cerrahi geciktirme uygulansın veya uygulanmasın oluşmaktadır. Cerrahi geciktirme işlemi uygulanmış ve farklı iskemi sürelerinde serbest flep modeli oluşturulan gruplar (1. ve 2. grup) kendi arasında ve cerrahi geciktirme işlemi uygulanmamış ve farklı iskemi sürelerinde serbest flep modeli oluşturulan gruplar (4. ve 5. grup) kendi aralarında kıyaslandığında iskemi süresi arttıkça iskemi-reperfüzyon hasarından kaynaklanan flep nekrozunun anlamlı olarak arttığı görülmektedir (Tablo - VI). Biyokimyasal sonuçlarda 4. ve 5. gruplar arası SOD değerleri karşılaştırması dışında bunu desteklemektedir (Tablo - VI).

Cerrahi geciktirme işlemi flepte kan akımını arttırarak flep sağ kalımını arttırmaktadır. Çalışmamızda, bu etkinin serbest flep modeli oluşturulmuş fleplerde de etkili olup olmadığını ve bu etkinin iskemi süresinden nasıl etkilendiğini gösterdik.

Kısa iskemi süresi (120 dk.) ile serbest flep modeli oluşturulmuş gruplar (1. ve 4. grup) kendi içinde, uzun iskemi süresi ile (240 dk.) serbest flep modeli oluşturulmuş gruplar (2. ve 5. grup) kendi içinde kıyaslandığında cerrahi geciktirme işleminin her iki iskemi süresi ile oluşturulan serbest flep modelinde flep yaşabilirliğini arttırdığı görülmektedir (Tablo - VI). Biyokimyasal sonuçlar da bunu desteklemektedir (Tablo - VI).

İskemi süresinin etkisini göstermek için yöntem de bahsedildiği gibi aynı iskemi sürelerinde serbest flep modeli oluşturulan grupların verileri arasındaki farklar (flep yaşayabilirliğine olan faydanın büyüklüğü) 5 parametre için alınarak

her iskemi süresi için fark grupları oluşturuldu (fark 1-4 grubu ve fark 2-5 grubu) (Tablo - V) ve bu gruplar 5 parametre açısından karşılaştırıldı.

Karşılaştırmalar sonucunda, kısa iskemi süresi (120 dk.) ile serbest flep modeli oluşturulan fleplerde cerrahi geciktirme işleminin flep yaşayabilirliğini daha fazla arttırdığı ve bunun biyokimyasal olarak 4 parametreden biri hariç (GSH değerleri) desteklendiği görülmektedir (Tablo - VI). GSH değerleri dışında diğer 4 parametresi için yapılan karşılaştırmalarda (GSH-Px değerleri, SOD değerleri, MDA değerleri, nekroz oranları) fark görülmesi ve GSH değerleri için yapılan karşılaştırmanın p değerinin 0.050'e çok yakın olması (0.051) bu karşılaştırmanın da (GSH değerleri) anlamlı olabileceği yönünde düşündürücüdür.

VI-SONUÇ

Cerrahi geciktirme işleminin serbest flep cerrahisi öncesi uygulanması serbest flep yaşabilirliğini arttırmaktadır. Bu fayda iskemi süresi kısa olan serbest flep cerrahisinde iskemi süresi uzun serbest flep cerrahisinden daha fazladır. Cerrahi geciktirme işleminin serbest flep cerrahisi öncesinde uygulanması faydalı bir işlemdir ve faydası iskemi süresi kısa olan flepler için daha fazladır.

Plastik cerrahide rekonstrüksiyonun vazgeçilmez tedavi yöntemlerinden biri olan flep cerrahisinde serbest fleplerin yeri büyüktür. Uygulanacak iskemi süresine bakılmaksızın geciktirme işlemi ile flep kaybı azaltılabilir. Bu fayda kısa iskemi süresi ile uygulanan serbest flep cerrahisinde daha belirgindir. Sonuçta serbest flep cerrahisindeki başarı arttırılarak hastanın iyileşme süresi kısaltılabilir. Böylece iyileşmenin hastada oluşturduğu fizyolojik ve psikolojik stres ile tedavinin maddi yükü azaltılabilir.

ÖZET

GİRİŞ: Rekonstrüktif cerrahide geniş doku defektlerinin onarımı halen zor ve tartışmalıdır. Flepler bu defektlerin onarımında tartışmasız önemli bir yere sahiptir. Fleplerde sağkalımın artması hastaların daha erken iyileşmesini sağlar. Böylece hastanın maruz kaldığı fiziksel ve psikolojik stresin azalır. Ayrıca tedavinin hastaya getirdiği maddi yükte azalır. Flep sağkalımını arttırmaya yönelik yapılmış çok çalışma mevcuttur. Serbest fleplerdeki sağkalımı arttırmaya yönelik çalışmalar genel flepler de yapılanlara oranla daha azdır. Bu çalışmada amacımız cerrahi geciktirme sonrası oluşturulan serbest fleplerin iskemi süresinin, serbest fleplerin yaşabilirliğini nasıl etkilediğini göstermektir.

GEREÇ ve YÖNTEM: Çalışmada 48 rat kullanıldı. Ratlar her grupta 8 rat olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Serbest flep modeli 6 x 3,5 cm boyutlarında oluşturulan abdominal deri ada flebi ile yapıldı. Cerrahi geciktirme işlemi flebin uzun kenarından yapılan paralel insizyon ve flebin zeminden ayrılması şeklinde yapıldı. 1. , 2. , ve 3. gruptaki ratlarda cerrahi geciktirme işlemi uygulandı. Flepler 2 hafta boyunca takip edildi. Ardından tüm ratlarda femoral arter ve ven pediküllü abdominal deri ada flebi kaldırıldı. Serbest flep modeli 1. ve 4. grupta 120 dakika sıcak iskemi süresi ile 2. ve 5.grupta 240 dakika sıcak iskemi süresi ile oluşturuldu. 3. ve 6. grupta flepler iskemiye maruz bırakılmadan oluşturuldu.. Fleplerin yerlerine sütüre edilmesini takiben 24 saat sonra fleplerden deri biyopsileri alındı. Dokularda biyokimyasal olarak malondialdehit, glutatyon, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz düzeyi ölçüldü. Flepler yerlerine sütüre edildikten sonra 1 hafta takip edildi. Sonra ratlar sakrifiye edilerek fleplerin nekroz olan ve yaşayan alanları planimetrik olarak hesaplandı.

BULGULAR : Fleplerin yaşayan alanları 1. , 2. , 3. , 4. , 5. ve 6. gruplarda sırasıyla %16.4, %13.2, %16.4, %13.2, %9.6, %16.3 bulundu. Cerrahi geciktirme uygulanmış ve 120 dakika iskemi süresi ile oluşturulan fleplerin yaşayan alanlarının, cerrahi geciktirme uygulanmamış ve 120 dakika iskemi süresi ile oluşturulan fleplerin yaşayan alanlarından daha fazla olduğu bulundu (p= 0.001). Benzer şekilde 240 dakika iskemi süresi ile oluşturulan fleplerin yaşayan

alanlarının, aynı iskemi süresi ile oluşturulan ancak öncesinde cerrahi geciktirme uygulanmayan fleplerin yaşayan alanlarından daha fazla olduğu bulundu ($p=0.001$). İskemi uygulanmamış olan kontrol gruplarında (3. ve 6. grup) cerrahi geciktirme uygulanmış olan fleplerin yaşayan alanları daha fazla bulunmuştur ($p=0.001$). 1. ve 4. gruptaki fleplerin yaşayan alanlarının farkı, 2. ve 5. gruptaki fleplerin yaşayan alanlarının farkından daha fazla bulunmuştur ($p=0.001$). Biyokimyasal değerlerin tüm bu bulguları desteklediği görüldü. Sadece bir karşılaştırmada (1. ve 4. gruplar arasındaki GSH değerinin farkları ile 2. ve 5. gruplar arasındaki GSH değerlerinin farkları) istatistiksel olarak fark olmadığı görüldü ($p=0.051$).

SONUÇ: Geciktirme işlemi serbest flep yaşayabilirliğini artıran bir yöntemdir. Serbest fleplerde iskemi süresi uzadıkça iskemi reperfüzyon hasarı artan oranda flep kaybına neden olmaktadır. Serbest fleplerde cerrahi öncesi ‘cerrahi geciktirme’ uygulanması flep yaşayabilirliğini arttırmada faydalı bir yöntemdir ve bu fayda, iskemi süresi daha kısa olan serbest fleplerde daha fazladır.

Anahtar kelimeler: İskemi reperfüzyon hasarı, cerrahi geciktirme, serbest flep modeli

SUMMARY

INTRODUCTION: Reconstruction of large tissue defects is still a major problem. Flaps play a prominent role in reconstruction of such tissue defects. The increase in flap survival leads to earlier recovery of the patient, resulting in decreased physical and psychological stress, which is also cost effective. Many studies have been performed to find out the appropriate method to increase flap survival, but studies on enhancement of free flap survival are in smaller number. The purpose of this study is to investigate the effect of warm ischemia time on free flap survival following surgical delay.

MATERIALS and METHODS: The study was carried out using 48 rats. These rats divided in to 6 groups, 8 in each. Free flap model was performed on abdominal skin island flap measuring 6 x 3.5 cm. Surgical delay was performed by undermining the flap after insicing it's longitudinal borders parallely. Surgical delay was performed in groups 1, 2 and 3. Flaps were followed for 2 weeks. Then, abdominal skin island flap were raised in all rats based on femoral artery and vein. In groups 1 and 4 the flaps were subjected to 120 minutes of warm ischemia, in groups 2 and 5 flaps were subjected to 240 minutes of warm ischemia. In groups 3 and 6, flaps were performed without subjecting to ischemia. All the flaps were resutured to their original places. Twenty-four hours after the flaps were resutured, skin biopsies were taken at standart points. Biochemical measurements of the tissue malonedialdehyde, glutathione, glutathione peroxidase, super oxide dismutase levels were carried out. All the flaps were observed for 1 week following resuturation to their original places. Then all rat sacrificed and surviving areas of flaps were measured by planimetric technique.

RESULTS : Surviving areas in flaps were found to be %16.4, %13.2, %16.4, %13.2, %9.6, %16.3 in groups 1,2,3,4,5 and 6 respectively. The survival in the flaps with 120 minutes of ischemia time with surgical delay was significantly higher than flaps with 120 minutes of ischemia time without surgical delay ($p=0.001$). Similary, the survival was also higher in flaps with 240 minutes of ischemia time, which underwent surgical delay compared to the flaps of the same

ischemia time but without surgical delay ($p= 0.001$). In control groups (groups 3 and 6), in which no ischemia were applied, the survival was higher in flaps with surgical delay ($p= 0.001$). The difference in surviving area in groups 1 and 4 was higher than the difference between groups 2 and 5 ($p= 0.001$). It was found that biochemical results compatible with all of these findings. One comparison (Differences of glutathione levels between groups 1 and 4., and between groups 2. and 5.) was found not statistically significant ($p= 0.051$)

CONCLUSION: The delay procedure is an effective method for improving free flap survival. As the flap's ischemia time prolongs, ischemia reperfusion damage causes decreased flap survival at an increasing rate. Application of "surgical delay" prior to surgery on a free flap is a beneficial procedure for increasing flap survival and this benefit is more with flaps having shorter ischemia durations.

Key words: Ischemia- reperfusion injury, surgical delay, free flap model

VII-KAYNAKLAR

- 1: Charles H Thorne. Techniques and principles in plastic surgery. In: Charles H Thorne, Scott P Bartlett, Robert W Beasley, Sherrell J Aston, Geoffrey C Gurtner. Grabb & Smith's Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007:03-15.
- 2: Meirer R, Kamelger FS, Huemer GM, Wanner S, Piza-Katzer H. Extracorporeal shock wave may enhance skin flap survival in an animal model. The British Association of Plastic Surgeons 2005; 58:53-57.
- 3: Banic A, Greulich M. Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study. Plast Reconstr Surg 1995; 95:1195-1203.
- 4: Geddes CR, Morris SF, Neligan PC. Perforator flaps: evolution, classification, and applications. Ann Plast Surg 2003; 50(1):90-99.
- 5: Zhang F, Waller W, Lineaweaver WC. Growth factor and flap survival. Microsurgery 2004; Apr:162-167.
- 6: Im MJ, Su CT, Anthenelli RM. Skin-flap metabolism in rats: Oxygen consumption and lactate production. Plast Reconstr Surg 1983; 71:685-688.
- 7: Gute DG, Ishida T, Yarimizi K. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. Mol Cell Biochem 1998; 179(1-2):169-187.
- 8: Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. The Role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. Ann Surg 1983; 198(1):87-90.
- 9: May JW, Chait LA, O'Brien JV, Hurley JV. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. Plast Reconstr Surg 1978; 61:256-267.
- 10: Hess ML and Manson NH. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol 1984; 16: 969.
- 11: Mates M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. Toxicology 2000; 153:83-104.

- 12: Restifo RJ, Ward BA, Scutt LM. Timing, magnitude, and utility of surgical delay in the TRAM flap: II. Clinical studies. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99(5):1217-1223.
- 13: Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM. An anatomic review of the delay phenomenon : II. Clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89(3):408-418.
- 14: Myers MB. Attempts to augment survival in skin flaps: Mechanism of the delay phenomenon. In: Grabb C, Myers MB. *Skin Flaps*. Boston: Little, Brown, 1975:65-79.
- 15: Vedder NB. Flap physiology. In: Mathes SJ. *Mathes Plastic Surgery*. Philadelphia: Saunders, 2006, vol:1;483-506.
- 16: E Eryaman, V Işıksaçan, M Şaroğlu, G Gülanber, N Işıksaçan. Free Oxygen Radicals and Flap Survival. *Türk Otolarengoloji Arşivi* 1999; Cilt 37:Sayı 3-4.
- 17: YK Çoban, EB Kurutas, and H Çıralık. Ischemia-Reperfusion Injury of Adipofascial Tissue: An Experimental Study Evaluating Early Histologic and Biochemical Alterations in Rats *Mediators of Inflammation* 2005; 5:304–308.
- 18: R Rudolph, Donald L. Ballantyne, Jr. Skin Grafts. In: Joseph G McCarthy, James W May, J William Littler. *McCarthy Plastic Surgery*. Philadelphia: Saunders, 1990; Vol.1:Part 8
- 19: Alfred Culliford IV and Alexes Hazen. Dermatology for plastic surgeons In: Charles H Thorne, Scott P Bartlett, Robert W Beasley, Sherrell J Aston, Geoffrey C Gurtner. *Grabb & Smith's Plastic Surgery*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007:105-115.
- 20: Medawar PB. *The Micro-anatomy of the Mammalian Epidermis*. London, University of London, 1953.
- 21: Flemming W. Zur Kenntniss der Regeneration der Epidermis beim Säugethier. *Arch Mikr Anat* 1884, 23:148
- 22: Thomas J. Krizek. Biology of tissue injury and repair. In: Gregory S Georgiade, Nicholas G Georgiade, Ronald Riefkohl, William J Barwick. *Textbook Of Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992; Vol 1:3-9.

- 23: Manchot C. The cutaneous arteries of the human body. New York:Springer Verlag, 1989.
- 24: Spalteholtz, W. Die Verteilung der Blutge-fäße in der Haut. Arch Anat Entwicklungsgesch 1893: 1–54.
- 25: Salmon M. Arteries of the skin. In: Taylor GI, Tempest M, eds. London: Churchill-Livingstone; 1988
- 26: G. Ian Taylor. The blood supply of the skin. In: Charles H Thorne, Scott P Bartlett, Robert W Beasley, Sherrell J Aston, Geoffrey C Gurtner. Grabb & Smith's Plastic Surgery. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007:33-42.
- 27: Converse JM. Reconstructive Plastic Surgery. Philadelphia:WB Saunders, 1977:193.
- 28: Taylor GI, Palmer JH. The Vascular territories(angiosomes) of the body:Experimental study and clinical applications. Br Plast. Surg 1987; 40:113.
- 29: Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: Joseph G McCarthy, James W May, J William Littler. McCarthy Plastic Surgery. Philadelphia: Saunders, 1990; Vol.1:275-329.
- 30: Fisher J. Basic Principles of Skin Flaps. In: Gregory S Georgiade, Nicholas G Georgiade, Ronald Riefkohl, William J Barwick. Textbook Of Plastic,Maxillofacial and Reconstructive Surgery. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992; Vol 1:29-41.
- 31: Mathes S. J., Hansen S. L. Flaps Classification and Applications. In: Mathes SJ. Mathes Plastic Surgery. Philadelphia:Saunders Elsevier, 2006:365-481.
- 32: Daniel RK, Kerrigan CL. Skin flaps: an anatomical and hemodynamicapproach. Clin Plast Surg 1979;6:181.
- 33: Kim KZ, Thompson DH, George TF, et al: Effect of anemia on survival of myocutaneous flaps in the pig. Otolaryngol Head Neck Surg 1994;111:509.
- 34: Hoopes JE. Pedicle flaps-An overview. In: Krizek J, Hoopes JE (Eds.). Symposium on Basic Science in Plastic Surgery. St Louis, Mosby 1976; 8:241-259.

- 35: Fujino T: Contribution of the axial and perforator vasculature to circulation in flaps. *Plast Reconstr Surg* 1967; 39:125.
- 36: Tsuzuki K, Yanai A, Tange I, Bandoh Y: The influence of congestion and ischemia on survival of an experimental vascular pedicle island flap. *Plast Reconstr Surg* 1989; 84:789.
- 37: Angel MF, Mellow CG, Knight KR, O'Brien BM: Secondary ischemia time in rodents: contrasting complete pedicle interruption with venous obstruction. *Plast Reconstr Surg* 1990; 85: 789.
- 38: Cutting CB, Robson MC, Koss N: Denervation supersensitivity and the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg*. 1978; 61(6):881-7.
- 39: May JW. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* 1978; 61: 256.
- 40: Haris K, Walker P. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol* 1986; 250(19): H213-H220
- 41: İşlek H, İşlek S, Güner G. Biochemical mechanism tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. *Nörol Bil D*, 2000; Part 1(17): 2
- 42: Suval WD, Duran WN. Microvascular transport and endothelial cell alterations precede skeletal muscle damage in ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 1987; 154:211-218
- 43: Kristian T, Siesjö BK. Calcium-related damage in ischemia. *Life sci*. 1996; 59:357-367.
- 44: Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*. 1999; 341:233-249.
- 45: Morin D, Hauet T, et al. Mitochondria as target for antiischemic drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001; 49:151-174.
- 46: Belkin M, LaMorte W. The role of leukocytes in the pathophysiology of skeletal muscle ischemic injury. *J Vasc Surg* 1989. 10: 14-18, *est* 1997; 4: 684-691.

- 47: Horgan MJ, Ge M, et al. Role of ICAM-1 in neutrophil mediated vascular injury after occlusion and reperfusion. *Am J Physiol* 1991; 259:L315-L319.
- 48: Okada Y, Copeland BR, Fridridge R, Koziol JA, Zoppo DGJ. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994; 25:1847-54.
- 49: Korthuis RJ, Grisham MB, Granger DN. Leukocyte depletion attenuates vascular injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1998; 254:H823-H827.
- 50: Schlag MG, Harris KA, Potter RF. Role of leukocyte accumulation and oxygen radicals in ischemia-reperfusion-induced injury in skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 280(4):H1716-H1721.
- 51: Mates JM, Gomez CP, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 1999, 32:595-603.
- 52: Ernest L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta*, 1995; 127.1:195-204.
- 53: Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischaemia. *Am J Physiol* 1988; 251:G567-G574.
- 54: Bast A, Doelman C. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med.* 1991; 91:2-13.
- 55: Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengelyi etkileyen kosullar. *Klinik Gelişim*, 1998; 11:336-341.
- 56: Zaccaria A, Weinzweig N et al. Vitamin C reduces ischemia reperfusion injury in a rat epigastric island skin flap. *Ann Plast Surg* 1994; 33:620-623.
- 57: Kolanjiappan K, Ramachandran CR, Manoharan S. Biochemical changes in tumor tissues of oral cancer patients. *Clin. Biochem.* 2003, 36:61-65.
- 58: Lefer DJ, Scalia R, et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischaemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest* 1997; 4:684-691

- 59: Most D, Hoyt J, et al. Parenchymal cytokine expression precedes clinically observed ischaemia in dorsal flaps in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98: 856-861.
- 60: Chi. N, Watanabe A, Shi H. Diverse functions of antioxidants. *Free Rad. A Res.* 2000; 33: 809-817.
- 61: Alper M, Flepler. *Estetik Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi.* İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 2003; 47-62.
- 62: German WJ, Finesilver EM, Davis JS: Establishment of circulation in tubed skin flaps; experimental study. *Arch Surg* 1933; 26:27.
- 63: Braithwaite F. Some observations on the vascular channels in tubed pedicles. *Br J Plast Surg* 1951; 4:28.
- 64: Dhar SC, Taylor GI. The delay phenomenon. The story unfolds. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104:2079-2091.
- 65: Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG. An anatomic review of the delay phenomenon. II. Clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* 1992; 89:408-416, discussion:417-418
- 66: Sasaki A, Fukuda O, Soeda S. Attempts to increase the surviving length in skin flaps by a moist environment. *Plast Reconstr Surg* 1979; 64:526-531.
- 67: Myers MB, Cherry G. Mechanism of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1969; 44: 52.
- 68: Ribuffo D, Muratori L, Antoniadou K, et al. A hemodynamic approach to clinical results in the TRAM flap after selective delay. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99:1706.
- 69: Murry CE, Jennings JB, Reimer KA, Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74:1124-1136
- 70: Mounsey RA, Pang CY, Forrest C. Preconditioning: a new technique for improved muscle flap survival. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 107(4):549.

- 71: Zahir KS, Syed SA, Zink JR, et al. Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flaps in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102:140-150, discussion:151-152.
- 72: Rees R, Punch J, Shakeen K, et al: The stress response in skin: the role of neutrophil products in preconditioning. *Plast Reconst Surg* 1993; 92:110.
- 73: Milton SH. Experimental studies on island flaps. II. Ischemia and delay. *Plast Reconstr Surg* 1972; 49:444.
- 74: Teoman Eskitaşçioğlu, Selman Karacı, Özlem Canöz, Eser Kılıç, and Galip K Günay. The Impact of Lidocaine on Flap Survival Following Reperfusion Injury. *Journal of Surgical Research* 2009; 05:046.
- 75: Petry JJ, Wortham KA. The anatomy of the epigastric flap in the experimental rat. *Plast Reconstr Surg* 1984; 74 (3):410-414.
- 76: Dunn RM, Mancoll J. Flap models in the rat: A review and reappraisal. *Plast Reconstr Surg* 1992; 90(2):319-328.
- 77: Nishikawa H, Manek S, Green SJ, The oblique rat groin flap. *Br J Plast Surg* 1991; 44:295
- 78: Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70:158.
- 79: Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 1975; 85:337-342.
- 80: Kayser MR. Surgical flaps. *Selected Readings in Plastic Surgery.* 1999; 9:2.
- 81: Payette JRBS, Kohlenberg E, Leonardi L.Ph.D, Pabbies A, Kerr P, Liu K.Ph.D. and Sowa MG.Ph.D Assessment of skin flaps using optically based methods for measuring blood flow and oxygenation. *Plast. Reconst. Surg* 2005; 115:539-546.
- 82: Matsumura H, Yoshizawa N, Vedder NB, Watanabe K. Preconditioning of the Distal Portion of a Rat Random-Pattern Skin Flap. *Br J Plast Surg* 2001; 54:58-61.

- 83: Banic A, Greulich M.: Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95:1195-1203.
- 84: Batchelor A, Davison P, Sully L. The salvage of congested skin flaps by the application of leeches. *Br J Plast Surg* 1984; 37:358-60.
- 85: Schusterman MA, Kroll SS, Eber RS ve ark. Intraoral soft tissue reconstruction after cancer ablation: A comparison of the pectoralis major flap and free radial forearm flap. *Am J Surg* 1991; 162:397- 405.
- 86: Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72(6):766-777.
- 87: Pang CY, Neligan PC, Forrest CR, Nakatsuka T, Sasaki GH. Hemodynamics and vascular sensitivity to circulating norepinephrine in normal skin and delayed and acute random skin flaps in the pig. *Plast Reconstr Surg* 1986; 78(1):75-84.
- 88: Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. In: Achauer BM, Eriksson E, Wilkins EG, Vander Kam VM . *Plastic surgery indications operations and outcomes*. St. Louis, Missouri, Mosby, 2000; Vol. 1:261-288.
- 89: Valdas M. Clamp Delay: An Effective New Method of Nonsurgical Delay. *Plast Reconstr Surg* 2000; 106:1321-1325.
- 90: Odland Rick M, PhD Poole, David V Rice, Reginald D Jr, Koobs Dick H. Use of the Tunable Dye Laser to Delay McFarlane Skin Flaps. *Archives of Otolaryngology .Head & NeckSurgery* 1995; 121(10):1158-1161.
- 91: Karacalar Ahmet, İdil Oytun, Demir Ahmet, Güneren Ethem, Şimşek Tekin, Özcan Mesut. Delay in Neurovenous Flaps: Experimental and Clinical Experience. *Annals of Plastic Surgery* 2004; 53(5):481-487.
- 92: İslamoğlu Kemal, Tetik Gülsüm, Özgentaş H. Ege. Effect of the Delay Phenomenon on Survival of Rat Island Skin Flaps with Total Venous Occlusion. *Journal of Reconstructive Microsurgery* 2003; 19:473-475
- 93: Erçöçen Ali Rıza, Kono Taro, Kikuchi, Yuji, Kitazawa, Yoshihiko, Nozaki, Motohiro. Efficacy of the Flashlamp-Pumped Pulsed-Dye Laser in Nonsurgical Delay of Skin Flaps. *Dermatologic Surgery* 2003; 29(7):692-699.

- 94: Seitchik MW, Kahn S. The effects of delay on the circulatory efficiency of pedicled tissue. *Plast Reconstr Surg* 1964; 33:16.
- 95: German WJ, Finesilver EM, Davis JS. Establishment of circulation in tubed skin flaps; experimental study. *Arch Surg* 1933; 26:27.
- 96: Cho, Byung-Chae, Lee, Mu-Sang, Lee, Jung-Hyung, Byun, Jin-Suk, Baik Bong-Soo. The Effects of Surgical and Chemical Delay Procedures on the Survival of Arterialized Venous Flaps in Rabbits. *Plastic & Reconstructive Surgery* 1998; 102(4):1134-1143.
- 97: Pang CY. Ischemia-induced reperfusion injury in muscle flap Pathogenesis and major source of free radicals. *Reconstr Microsurg* 1990; 6:77-83
- 98: Elliott M, Kandaswami C, Theoharides TC.: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*. 2000; 52(4):673-751.
- 99: Nijveldt RJ, Nood E, Hoorn DEC, Boelens PG, Noreen K, Leeuwen PAM: Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. *Clin. Nutr.* 2001, 74:418-425.
- 100: Gideroğlu K, Yılmaz F, Aksoy F, Buğdaycı G, Sağlam I, Yılmaz F. Montelukast Protects Axial Pattern Rat Skin Flaps Against Ischemia/Reperfusion Injury. *J Surg Res*. 2008; 157:181-186
- 101: Askar İ, Oktay MF, Gürlek A. Protective effects of some antineoplastic agents on ischemia-reperfusion injury in epigastric island skin flaps. *Microsurgery* 2006; 26(3):193-9
- 102: Ünal Şakir, Özmen Selahattin, Demir Yavuz, Yavuzer Reha, Latifoglu Osman, Atabay Kenan. The Effect of Gradually Increased Blood Flow on Ischemia-Reperfusion Injury. *Annals of Plastic Surgery* 2001; 47(4):412-416.
- 103: Partsafas, Aaron W, Bascom, Daphne A, Jorgensen Scott A, Wax Mark K. Effects of Tisseel and FloSeal on Primary Ischemic Time in a Rat Fasciocutaneous Free Flap Model. *Laryngoscope* 2004; 114(2):301-304.

104: Brian D. Teunissen, , Richard Walshaw, Joe G. Hauptman, Daniel A. Degner and Andrew H. Jackson. Evaluation of Primary Critical Ischemia Time for the Deep Circumflex Iliac Cutaneous Flap in Cats. *Veterinary Surgery* 2004; 33(5):440-445.

105: Marie Westin' Per Hedén. Sensory denervation with capsaicin does not influence the critical ischemia time in rat island flaps. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery* 1989; 23(3):173-176.

106: Picard-Ami, Luis A. Jr, Thomson, J. Grant Kerrigan, Carolyn L. Critical Ischemia Times and Survival Patterns of Experimental Pig Flaps. *Plastic & Reconstructive Surgery* 1990; 86(4):739-743.