



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**RAT DERİ FLEBİNDE İSKEMİK
ÖNKOŞULLAMA ve İSKEMİK
SONKOŞULLAMA YÖNTEMLERİNİN
BİRLİKTE KULLANILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Asım USLU

Antalya 2009



T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**RAT DERİ FLEBİNDE İSKEMİK
ÖNKOŞULLAMA ve İSKEMİK
SONKOŞULLAMA YÖNTEMLERİNİN
BİRLİKTE KULLANILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Asım USLU

Tez Danışmanı: Doç. Dr. O. Koray COŞKUNFIRAT

“Kaynak gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

Antalya 2009

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı'nın yetiştirdiği bir uzman olmanın verdiği sevinç ve onurla;

Büyük emekler sarf ederek bugünlere ulaşmamı sağlayan aileme,

Tez çalışmamda ve tüm uzmanlık eğitim sürecinde büyük emek veren ve yardımları ile beni destekleyen saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. O. Koray Coşkunfırat'a,

Uzmanlık eğitimi süresince destek ve katkılarını her zaman gördüğüm hocalarım; Sayın Doç. Dr. Kemal İslamoğlu ve Doç. Dr. Ömer Özkan'a

Altı yıl boyunca birlikte zevkle çalıştığım Dr. Gülsüm Menevşe, Dr. M. Bahadır Dikici, Dr. İlkay Söyüncü, Dr. Özlenen Özkan, Dr. Anı Çinpolat, Dr. Gamze Bektaş, Dr. Harun Şimşek, Dr. Polat Biçici ve Dr. Seçkin Aydın'a,

Plastik Cerrahi Kliniği'nin tüm hemşire ve personeline,

Rat temininde gösterdiği kolaylıklar nedeniyle Doç. Dr. Necdet Demir'e

Tez sonuçlarını değerlendirmede istatistiksel analizleri yapan Anıl Aktaş'a,

Tez çalışmamı yaptığım Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde yardımlarını esirgemeyen Erol Nizamoğlu ve İbrahim Çalışkan'a

TEŞEKKÜR EDERİM.....

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ii
Şekiller Dizini	iii
Çizelgeler Dizini	iv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. GEREÇ ve YÖNTEM	11
3.1. İskemik Önkoşullama Protokolü	13
3.2. İskemik Sonkoşullama Protokolü	14
3.3. Deney Protokolü	15
3.3.1. Grup 1	15
3.3.2. Grup 2	16
3.3.3. Grup 3	16
3.3.4. Grup 4	16
3.4. Canlı Flep Alanının Ölçülmesi	16
3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi	17
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	23
5.1. İskemik Önkoşullama	24
5.1.1. Klasik İskemik Önkoşullama	25
5.1.2. Uzak İskemik Önkoşullama	27
5.2. İskemik Sonkoşullama	33
6. SONUÇ	38
7. ÖZET	39
8. ABSTRACT	41
9. KAYNAKLAR	43

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	Adenozin TriFosfat
cm	Centimeter
g	Gram
İgM	İmmünoglobulin M
İÖ	İskemik Önkoşullama
İR	İskemi Reperfüzyon
İS	İskemik Sonkoşullama
K	Potasyum
mm	Milimetre
mm ²	Milimetre kare
mPTP	Mitochondrial permeability transition pore
Na	Sodyum
NO	Nitrik oksit
pH	Power of hidrojen
TRAM	Transverse rectus abdominis myocutaneous flap

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Flep dizaynı	12
Şekil 3.2. Epigastrik arter deri flebi	13
Şekil 3.3. Mikrovasküler klemp	13
Şekil 3.4. İskemik önkoşullama prosedürü, (A) iskemi, (B) reperfüzyon	14
Şekil 4.1. Grup 1'e ait rat fotoğrafı	21
Şekil 4.2. Grup 2'ye ait rat fotoğrafı	21
Şekil 4.3. Grup 3'e ait rat fotoğrafı	22
Şekil 4.4. Grup 4'e ait rat fotoğrafı	22

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Sıçan ağırlık çizelgesi (g)	11
Çizelge 4.1. Gruplarda fleplerin canlı kalan alanlarının yüzdesi	18
Çizelge 4.2. Gruplara göre yaşayan flep alanlarının değerleri	19



1. GİRİŞ

Rekonstrüktif cerrahide fleplerde gözlenen nekroz ve replantasyonlarda uzun süre iskemi sonrası reperfüzyon hasarı, halen büyük bir sorun olarak varlığını devam ettirmektedir. Günümüzde, gerek serbest flep cerrahisi konusunda elde edilen tecrübeler ve gerekse kullanılan malzemelerin daha iyi olması nedeniyle, serbest flep kullanılarak doku rekonstrüksiyonu giderek artmaktadır. İskemi süresi, serbest doku transferinde kısadır. Fakat bazen, gerek intraoperatif meydana gelen sorunlara ve gerekse postoperatif arter veya ven tıkanıklığı gibi sorunlara bağlı olarak bu iskemi zamanı kritik düzeye ulaşabilmektedir. Bu kritik zamanı aşan iskeminin sonucunda revaskülarizasyon yapılsa da flepte kayıp gözlenmektedir. Fleple doku rekonstrüksiyonu denildiği zaman sadece kan damarı, sinir, kemik, kıkırdak gibi yapıların üzerinin kapatılması düşünülmemelidir. Aynı zamanda flepler; volüm ve kontur rekonstrüksiyonu (meme rekonstrüksiyonu), vaskülerize enteral fleplerle özofagus ve farinks rekonstrüksiyonu, fonksiyonel kas rekonstrüksiyonu (fasiyal palsy) ve kompozit rekonstrüksiyon (mandibula rekonstrüksiyonunda kemik, deri, ağız mukozası rekonstrüksiyonu) amacıyla da kullanılmaktadır. Yapılmış bir meme rekonstrüksiyonundaki parsiyel nekroz memenin şeklini bozmakta, ağız ve özofagus için kullanılan intestinal vaskülerize fleplerdeki nekroz fistül gibi sorunlar doğurmaktadır. Zaten kendisi zor ve kompleks olan bu tür rekonstrüktif işlemlerde flepteki postoperatif dönemde gelişebilecek nekroz, ek cerrahi girişimler gerektirmekte, sonuçları olumsuz yönde etkilemekte, yapılan işin maliyetini artırmakta ve iyileşme sürecini oldukça uzatmaktadır.

Flep yaşayabilirliğini artırmak için “delay” işlemi pratikte sık kullanılmaktadır. Vasküler delay işleminde, önce flebi besleyen vasküler yapıların bir kısmı, flep defekte transfer edilmeden kesilir. Bunun sonucunda meydana gelen sublethal iskemi; normalde kapalı olan choke damarlarını açarak iskemik bölgeye kan akımının gitmesine, flep içindeki damarların daha longitudinal olarak yeniden düzenlenmesine ve anjiogenezis ile yeni damar yumrularının oluşmasına

neden olmaktadır (1). Ayrıca flep içindeki damarlar delay stresine damar çaplarını artırarak da cevap verirler.

Delay işlemi her zaman ikinci bir operasyon gerektirdiği için flep yaşayabilirliğini artırmak amacıyla başka yöntemler aranmıştır. Murry ve arkadaşları (2) tarafından, köpek miyokardında, “iskemik önkoşullama (İÖ)”nın kas yaşayabilirliğini artırdığı ilk kez gösterilmiştir. Bunu takiben kalp kasının yaşayabilirliğini artırmak ve İÖ’nün mekanizması anlamak amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Daha sonra bunlardan yola çıkılarak İÖ’nün deri ve kas fleplerinin yaşayabilirliğini artırdığı çalışmalarla gösterilmiştir.

Zhao ve ark. (3,4) “iskemik sonkoşullama (İS)”nın, kalpte miyokard enfarkt alanını azalttığını göstermişlerdir. Moon ve ark. (5) İS işleminin, ratlarda deri flebi yaşayabilirliğini artırdığını göstermişlerdir.

Uzamış iske mi, dokunun tolere edeceği iske mi süresini aşarsa geniş nekroz kaçınılmazdır (6). İlginç olarak belli bir süreden sonra kan akımının sağlanması bu süreci hızlandırır (7). İske mik dokuya kan akımının sağlanması “iske mi reperfüzyon(İR)” hasarıyla sonuçlanır. İÖ, İR hasarından korumada etkilidir. İÖ yaklaşık 20 yıl önce tanımlanmasına rağmen klinik kullanımı çok sınırlıdır. İR hasarını azaltmak için son zamanlarda tanımlanmış olan İS’nin, daha fazla klinik kullanımı olacak gibi gözükmektedir.

Bu çalışmada, İÖ ve İS işlemlerinin flep yaşayabilirliğini artırdığını tekrar teyit etmeyi, bu iki yöntemin flep yaşayabilirliğini artırma etkisini karşılaştırmayı ve aynı flepte bu iki işlemin birlikte yapılmasının ek yarar sağlayıp sağlamayacağını göstermeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

Rekonstrüktif cerrahide, defektleri kapatmak amacıyla geniş deri ve kas fleplerine ihtiyaç artarak devam etmektedir. Bu amaçla aksiyel, random paternli flepler ve rekonstrüktif basamağın en sonunda yer alan serbest doku transferleri kullanılmaktadır. Yaşayan flep alanını artırmak için, fleplerin vasküler anatomisi hakkında daha fazla bilgi sahibi olunması nedeniyle, flep dizaynları daha iyi yapılmaktadır. Ayrıca yaşayan flep alanını artırmak için muskülerokütan ve fasyokütan flepler gibi flep dizaynları yapılmaktadır. İlaveten anjiozom konsepti nedeniyle, flebin kan akımının dinamik paterni hakkında daha fazla bilgi edinilmiştir. Tüm bunlara rağmen, parsiyel ve total flep nekrozu rekonstrüktif cerrahide büyük bir sorun olarak varlığını devam ettirmektedir.

İskemik flep komplikasyonları iki türlü nekroz sonucu meydana gelir. Bunlardan birincisinde, geniş bir defekti rekonstrükte etmek için, flebin kan akımı flebin her tarafını besleyemeyecek düzeyde büyük flep kaldırılır ve distal kısımlarda nekroz meydana gelir (8). İkincisinde ise, reperfüzyon yaralanması dediğimiz hasar flepte total nekroz doğurabilir (9). Burada flepteki nekroz alanı, iskemi süresi ile artmaktadır. İskemi süresi kısaltılarak flepteki nekroz oranı azaltılabilir (10).

İskemi reperfüzyon (İR) hasarı, klinikte sık karşılaşılan hücre ölümü nedenlerindendir. Koroner arter hastalıkları, tromboembolik tedavi, balon anjioplasti, kardiyopulmoner bypass, oklüzif arter hastalığı, stroke, turnike uygulanması, muskülerokütan doku transferi ve amputé olmuş parçanın replante edildiği durumlarda bu tür hasarla karşılaşılabilir. Uzun süren iskemi sonrasında kan akımının sağlanması, iskemik hücrelerin ölüm sürecini hızlandırır. Bunun altta yatan mekanizması halen tam olarak anlaşılamamasına rağmen, oksijenden türeyen serbest radikaller hücre ölümünde pivot rol oynamaktadır (11). İR’da biyokimyasal süreç içinde üretilen ve oksijenden türeyen serbest radikaller; süperoksit (O₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil (OH) radikalleridir (11). Reperfüzyon esnasında bu radikallerin oluşması önemli ölçüde artmaktadır. Normalde antioksidan sistem, bu radikalleri hücre viabilitesine zarar vermeyecek

düzeyde tutar (11,12). Reperfüzyon hasarında doku nekrozu; endotel disfonksiyonu (13), serbest radikaller üretilmesi (14), NO'nin tükenmesi (15) ve sitokinlerin serbestleşmesine (16) bağlı olarak meydana gelmektedir.

Benzer şekilde iskelet kasının reperfüzyonu sırasında, oksijenden türeyen serbest radikallerin oluştuğu gösterilmiştir (17). Kas dokusu, reperfüzyon esnasında moleküler oksijene maruz kalınca, bu serbest radikaller oluşmaktadır. Bu teoriyi destekleyen çalışmalarda, iskemi sonrası reperfüzyonun erken döneminde, kas dokusunun daha az oksijene maruz bırakılmasının, daha az kas nekrozu meydana getirdiği bulunmuştur (18,19).

İskelet kasının sıcak iskele miye maruz kaldığı çok sayıda cerrahi prosedür vardır. Bunlara örnek olarak; elektif kas ve vasküler rekonstrüktif cerrahi, vasküler klemp ve turnike altında yapılan cerrahi, travma cerrahisi, amputasyon ve vasküler tıkanıklık verilebilir (20). İnsan kasında sıcak iskemi süresi 2,5 saate kadar uzatılabilir (21). Fakat iskemi süresi, travma cerrahisinde değişik nedenlerle operasyon için gecikme ve elektif cerrahide trombüs, vazospazm gibi komplikasyonlar nedeniyle uzayabilir. İskelet kasında İR hasarının şiddeti değişkendir. Kasta fonksiyon kaybı ve parsiyel nekrozdan, geniş kas kaybı sonucunda gelişen asidoz, hiperkalemi ve miyoglobünürü nedeniyle ölümle sonuçlanabilir (22).

İR yaralanmasında çalışılan temel mediyatörler, serbest radikaller ve nötrofillerdir (23,24). Çalışmalarda, direkt nötrofiller üzerine etkili ajanların, İR hasarını azaltmada faydalı olduğu bulunmuştur. İR hasarında en erken meydana gelen olay endotel hücre disfonksiyonudur ve sonunda nitrik oksit (NO) sentezi azalır (25). İn vitro çalışmalarda, NO'nin diğer etkilerinin yanında, nötrofil adezyonunu da inhibe ettiği gösterilmiştir (26). NO, endotel hücreleri ve polimorfonükleer lökositler gibi hücreler tarafından üretilen labil bir gazdır. L-arginin'den nitrik oksit sentaz enzimi ile sentezlenir. Bu gaz labil olduğundan direkt olarak inhalasyonla uygulanması zordur. Bunun yerine çalışmalarda, NO'nin prekürsörü olan L-arginin kullanılmaktadır ve bu, nitrik oksit sentaz enziminin varlığında nitrik okside dönüşür (27). İskemik cilt ada fleplerinde reperfüzyondan hemen önce L-arginin verilerek, doku İR hasarına karşı korunmuş ve flep nötrofil sayısı azaltılmıştır (28).

Geniş kas flepleri kaldırıldığı zaman, deri fleplerinde olduğu gibi distalde iskemi ve nekroz gözlenebilmektedir (29). Primer vasküler pedikülden uzaklaştıkça, flepte iskemi artar. Proksimal flep alanından distal flep alanına, kan akımının dereceli olarak azalması ise, dereceli iskemi olarak adlandırılır (30). Flepde nekroz oranı, proksimal vasküler pedikülün distal segmenti perfüze etme yeteneği ve perfüzyon için geçen zamana bağlıdır (31). Bu nedenle flebin iskemiye dayanma süresinin uzatılması artmış flep yaşayabilirliğini doğurur.

Parsiyel flep nekrozunun arteryel yetmezlikten kaynaklandığı gösterilmiştir (8). Flep yaşayabilirliğini artırmak amacıyla farmakolojik ajanlar kullanılarak yapılan çalışmalar tutarlı sonuçlar doğurmamışlardır (32,33). Flep modellerinde, flep yaşayabilirliğini artırmak için çok sayıda çalışma olmasına rağmen, flep yaşayabilirliğini artıran ve klinikte kullanılan güvenli tek yol vardır, bu da delay işlemidir. Hayvan modellerinde, delay yapılarak flep yaşayabilirliğinin %100 artırıldığı gösterilmiştir (34). Fakat burada, flebi kısmen iskemik yapmak amacıyla, flep elevasyonundan 7-14 gün önce ek bir cerrahi girişim daha gerekmektedir (34,35). Günümüzde pratik uygulamada ayrı cerrahi işlem gerektirse de, delay işlemi kullanılmaya devam edilmektedir. Aynı zamanda delaye alternatif olacak uygulamalar da araştırılmaya devam edilmektedir.

Serbest flep transferinde %90-%100 oranında başarı vardır (36). Fakat total flep nekrozu meydana geldiği zaman, hasta için çok ciddi sorunlar doğurabilir Serbest doku naklinde iki tür iskemi vardır. Serbest flebin revaskülarizasyonu tamamlanıncaya kadar kaldığı iskemiye primer iskemi denilmektedir. Serbest flep transferi esnasında birkaç saat süren primer iskemi vardır ve bu da flep yaşaması için bir tehlike arz etmemektedir. Sekonder iskemi ise, revaskülarizasyondan sonra arter veya vende trombüs, king ve eksternal bası gibi nedenlere bağlı meydana gelen ikinci iskemik periyottur (37). İskemik dokuya kan akımının erken sağlanması oldukça önemlidir. Buna ilaveten reperfüzyon fazının modülasyonunun da, dokuyu koruduğuna ait veriler vardır (10,38). Bunun farkına varan cerrahlar, flep transferinde primer ve sekonder iskemi zamanlarını kısaltmışlar, ilaveten reperfüzyon hasarını önlemek amacıyla, değişik farmakolojik yaklaşımlar üzerinde çalışmışlardır (39,40). Dokunun tolere

edeceği iskemi süresinin aşılması ve tekrarlayan iskemi/reperfüzyon fazları, flepte teknik bir sorun gözlenmese de, nekroz meydana getirebilmektedir (9,10).

Uzun süren iskemi sonrasında ani dolaşımın sağlanması sonucunda meydana gelen reperfüzyon yaralanması, rekonstrüktif cerrahide büyük bir problem olarak varlığını sürdürmektedir. Bunu önlemek veya azaltmak için deneysel çalışmalar devam etmektedir. Çok sayıda klinisyen ve araştırmacı, İR hasarının patofizyolojik mekanizmasını anlamaya çalışarak, İR hasarını azaltmak için farmakolojik ajanlar ve mekanik girişimler üzerinde çalışmışlardır. Bu amaçla deneysel olarak etkinliği gösterilmiş çok sayıda farmakolojik ajan olsa da, bunların klinikte kullanımı çok sınırlıdır. Farmakolojik ajanlara ilaveten son iki dekatta, İÖ üzerinde de oldukça çok çalışılmıştır.

Kardiyovasküler cerrahide, koroner arterin oklüzyonu ve takibinde reperfüzyonu sikluslarının tekrarlanması, kalp kasını, bundan sonra gelişebilecek daha uzun süreli iskemiye daha dayanıklı hale getirir. Murry ve ark. (2) köpek kalbinde yaptıkları çalışmada, anestezi altında köpeğın göğsünü açarak koroner artere 4 siklus halinde, 5 dakika iskemi, 5 dakika reperfüzyon uygulamışlar. Daha sonra kalbi daha uzun süre iskemiye maruz bırakmışlar. Çalışmanın kontrol grubunda ise kalbe İÖ yapmadan direkt iskemi uygulamışlar. Sonuçta, İÖ yapılan grupta enfarkt alanının, kontrol grubuna göre daha az olduğunu bulmuşlar. Bu fenomen İÖ olarak tanımlanmıştır. Murry ve ark.'nın çalışması İÖ'nın ilk uygulamasıdır (2).

İÖ iki ayrı fazda koruyucu etkisini gösterir. Erken faz; iskemiden dakikalar sonra başlar ve 2-6 saatte sonlanır. Bu faz, değışik mediyatörlerin serbestleşmesi ve kompleks sinyal yollarının aktivasyonu sonucu gerçekleşir (41,42). Geç faz ise İÖ işleminden 12-24 saat sonra başlar ve 3-4 gün sonra sonlanır (42). Bu ikisi arasındaki ana fark ise; İÖ'nın erken fazında var olan proteinlerde değışiklik görülürken, geç fazında dokuda yeni hücre koruyucu proteinler sentez edilmektedir (43). Ayrıca hayvansal çalışmalar, İÖ'nın erken ve geç dönemde farklı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Erken etkide sadece miyokardın ölümü engellenirken, geç etkide buna ilaveten miyokard fonksiyonu da korunmaktadır (43). Bu nedenle İÖ, miyokardı uzun dönemde (48-72 saat) iskemik olaylardan daha iyi korumaktadır.

İskelet kas flebinde ise ilk olarak 1992 tarihinde Mounsey (44) İÖ'nün koruyucu etkisini göstermiştir. Araştırmacılar yaptıkları deneysel çalışmada domuz kullanılmışlar ve hayvandan kaldırılan 8x11 cm'lik latissimus dorsi flebine, 10 dakika iskemi 10 dakika reperfüzyon olacak şekilde, 3 defa İÖ yapmışlar. Daha sonra flepleri 4 saat sıcak iskemiye maruz bırakmışlar. Bu çalışmada, İÖ yapılan kas fleplerinde nekroz oranının daha az olduğunu gösterilmiştir. Bu etki, İÖ'nün erken dönemde ortaya çıkan koruyucu etkisine bağlı olarak meydana gelmiştir. Takibinde Carrol ve ark. (45), rat latissimus dorsi flebinde İÖ'nün erken ve geç dönemde ortaya çıkan koruyucu etkisini göstermişlerdir. Bu çalışmada, kontrol grubunda meydana gelen %24'lük nekroz oranı, İÖ yapıldıktan sonra erken dönemde flep iskemiye maruz bırakılırsa %14, geç dönemde iskemiye maruz bırakılırsa %11 olarak bulunmuştur. Bu da İÖ'nün kas flebinde erken dönemde ve geç dönemde koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. Pang ve ark.'da (46) domuz latissimus dorsi kas flebine, flep kaldırılmadan önce İÖ yaparak, kas flebinde nekrozun %44 oranında azaldığını göstermişlerdir. Gürke ve ark. (47) ise, ratın arka ekstremitesinde yaptıkları çalışmada, iskemik önkoşullamanın sadece kastaki enfarkt alanını azaltmadığını, aynı zamanda İÖ yapılan grupta post iskemik kas fonksiyonunun daha iyi olduğunu göstermişlerdir.

İÖ ile ilgili çalışmaların çoğunluğu kas flepleri üzerinde yapılmıştır. İlk defa Zahir ve ark. (48) tarafından İÖ'nün deri ve kas-deri flepleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Ratlarda yapılan çalışmada, araştırmacılar deri flebi modeli olarak ratın sırtından kaldırılan deri flebini ve kas-deri flebi modeli olarak rektus abdominis kas-deri flebini kullanmışlar. İÖ işlemi sonrasında flep pedikülünü klempleyip fleplere 0, 2, 4, 6, 10 ve 14 saat iskemi uygulamışlar. Deri flep modelinde, İÖ'dan sonra flebe 6, 10 ve 14 saat iskemi uygulanınca, İÖ'nün kontrol grubuna göre koruyucu etkisini gösterdiğini bulmuşlar. Bu kas flebinde daha belirgin bulunmuştur ve 2, 4, 6 ve 10 saatlik iskemide, İÖ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. İÖ yapılarak kritik iskemi zamanı (flebin %50'sinin nekroze gittiği iskemi zamanı), deri flep modelinde 6,9 saatten 12,4 saate ve kas-deri flebinde 3,6 saatten 9,2 saate yükseltilmiştir.

Ayrıca son zamanlardaki çalışmalar İÖ'nün uzak bölgelerde de koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. 1993 tarihinde Przyklenk ve ark. (49), sol sirkümfleks koroner artere İÖ yaptıktan sonra, sol anterior inen koroner artere iskemi yapmışlar. Sol anterior inen koroner arterin beslediği bölgede de İÖ'nün koruyucu etkisinin olduğunu göstermişler. Daha sonrasındaki çalışmada, iskelet kasında da bununla uyumlu sonuçlar bulunmuştur (50).

İÖ sistemik olarak da iskemiye karşı dokuları korumaktadır. Kharbanda ve ark. (51) insan kolunda yapmış oldukları çalışmada, İÖ'nün uzak bölgede de koruyucu etki gösterdiğini bulmuşlardır. Araştırmacılar aynı çalışmanın hayvan modelinde, domuzun arka ekstremitesine yapılan İÖ'nün kalpteki enfarkt boyutunu azalttığını göstermişlerdir.

İÖ'nün İR hasarından korumada etki mekanizması karışıktır. NO (52), bradikinin (53), adenosin (54), K ATP kanalları (55), ısı şok proteinleri (56), cyclooxygenase 2 (57) gibi mediyatörlerin İÖ'da rol oynadığı gösterilmiştir.

İÖ, dokudaki perfüzyonun fonksiyonel kapasitesini artırır ve reperfüzyon hasarı sürecinde meydana gelen lökosit aracılı enflamasyonu azaltır (58,59). Mitokondriyal ATP bağımlı K kanalları İÖ'da efektör mekanizmada rol oynamaktadır (55). Moleküler düzeyde mitokondriyal K ATP kanalları gösterilememiş olsa da, K ATP kanalını açan ilaçlar (diazoxide) İÖ gibi etki gösterirken (58,59), K ATP kanalını kapatan ilaçlar (glibenclamide) İÖ'nün etkisini ortadan kaldırmaktadır (40).

Reperfüzyon hasarını azaltmak için ilaçlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, reperfüzyon öncesi verilen bazı ilaçların reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir. Bu da farmakolojik önkoşullama olarak adlandırılır (60). İnhalasyon anestezisi ilaçları (61), bradikin (62), cyclosporine A (62), eritropoetin (63), NO (64), hidrojen sulfid (65), sodyum nitrat (66), fosfodiesteraz inhibitörleri (67), adenosin monofosfatın aktive ettiği protein kinaz aktivatörleri (68), muskarinik ajanlar (69), anjiotensin (AT1) agonistleri (70), endotelin (71), ATP-sensitif potasyum kanalını açan ajanlar ve adenosin (72) reperfüzyon sırasında verilince, kardiyoprotektif özellikleri gösterilmiş olan ilaçlardır. Farmakolojik önkoşullamaya ilave örnekler olarak, monofosforil lipit A (73), dexamethasone (74) ve morfin (75) uygulanmasını gösterebiliriz. Opioidlerin, deri fleplerine lokal

olarak uygulanmasının, İÖ'ya benzer etkileri olduğu gösterilmiştir (75). Behtash ve ark. (76), ratlarda yapmış oldukları deri flebi çalışmasında, siklosporin ve FK-506'nın, gerek flebe lokal uygulanmasının, gerekse subefektif dozda L-arginin ile birlikte sistemik olarak verilmesinin, farmakolojik önkoşullamaya neden olduğunu göstermişlerdir.

İÖ diğer formu olan anesteziik önkoşullamanın, miyokardı iskemiye karşı İÖ'ya benzer şekilde koruduğu gösterilmiştir (61,77). İÖ'nın miyokardiyumu iskemiden korumada etkili olan çok sayıda mekanizması vardır (77), fakat anahtar etkilerden bir tanesi, hücre içinde kalsiyum birikmesinin önlenmesi ile meydana gelmektedir. İR hasarına bağlı gelişen hücre ölümünde kalsiyum birikimi majör rol oynamaktadır (78).

Klinik uygulamada total flep nekrozu ile oldukça nadir karşılaşmaktadır. Fakat parsiyel nekroz daha sıktır. Örneğin pediküllü transvers rektus abdominis flebinde parsiyel nekrozla, %30 gibi büyük bir sıklıkla karşılaşmaktadır (79). Bu komplikasyonun İÖ ile önemli ölçüde azaltılabileceği düşünülmektedir. En son çalışmalar, standardize edilmiş ve iyi planlanmış flep modelleriyle, flep nekrozunda önemli azalma sağlandığını göstermiştir. Fakat klinik uygulamada flepte nekrozu azaltmak amacıyla, pedikülün aralıklı klemplenip/reperfüze edilmesi esasına dayanan İÖ kullanılmamaktadır. Çünkü bu işlem operasyon süresini uzatacaktır (79).

İskemik sonkoşullama (İS); uzamış iskemi sonrasında reperfüzyon sağlanırken, bunun tekrarlayan iskemi/reperfüzyon siklusları halinde yapılması işlemi olarak tanımlanmıştır (3). Bununla ilgili ilk çalışma 1992 yılında Zhao tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Zhao, tavşan modelinde koroner arter iskemisi sonrası İS işlemini, İÖ'ya benzer şekilde 5 dakika iskemi ve 5 dakika reperfüzyon olacak şekilde yapılmıştır. Sonuçta İS grubu ile kontrol grubu arasında nekroz açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu nedenle bu çalışma yayınlanmamıştır. Daha sonra reperfüzyon hasarının hızlı ortaya çıkışı anlaşılarak bu zaman aralığı saniyelere azaltılmıştır. Vinten-Johansen ve Zhao ilk olarak 2003 yılında, İS işleminin enfarkt boyutunu azalttığını, endotel disfonksiyonu azalttığını ve İÖ'ya benzer etki gösterdiğini bulmuşlardır (3).

İS'nın etki mekanizmasını anlamak için yapılan çalışmalarda, serbest oksijen radikallerinin (3) ve mitokondride kalsiyum yükünün azaldığı (80) gösterilmiştir. İlave olarak Yang (81) tavşan modelinde, İS'nın mitokontriyal K ATP kanallarını, intrasellüler sinyal kinazı (ERK/akt) ve NO salınımını aktive ettiğini göstermiştir. Son olarak Yang (82) İS'da adenozin reseptörlerinin de etkili olduğunu göstermiştir. İlave olarak K ATP kanal blokörü olan glibenklamide, İS'nın koruyucu etkilerini ortadan kaldırmıştır (81).

İÖ, reperfüzyon hasarından korunmada oldukça faydalı olmasına rağmen, klinik kullanımı oldukça sınırlıdır. Çünkü sağlam dokuya iskemi yapılması gerekmektedir ve bu zaman alıcı bir işlemdir. Fakat iskemiye uğramış organın reperfüzyon hasarından korunmasında etkisi gösterilmiş ve iskemi/reperfüzyon siklusları kısa olan İS'nın kullanılması, pratikte daha kolay ve elverişli olacak gibi gözükmektedir. Çalışmaların çoğunluğu İÖ ve İS'nın benzer mekanizmalarla etki ettiğini göstermiştir (81,82,83).

Bu çalışmada, ratlarda epigastrik arter deri flebinde, iskemi ve İR hasarından korunmada, İÖ ve İS'nın etkilerini karşılaştırmayı ve İÖ ile İS işleminin birlikte yapılmasının, ek yarar sağlayıp sağlamayacağını göstermeyi planladık.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Bakım ve Kullanım Kurulu izni ve onayı alınarak yapılmıştır.

Deney hayvanı olarak, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi tarafından temin edilen ve ağırlıkları 300-450 g. arasında değişen 40 adet erkek Wistar cinsi sıçan kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Deney hayvanları oda ısısında (21-24 santigrad derece), ayrı ayrı kafeslerde tutulmuştur. Deney süresince ratlara standart rat yemi ve musluk suyu verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sıçan ağırlık çizelgesi (g)

Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4	
Rat no	Ağırlık	Rat no	Ağırlık	Rat no	Ağırlık	Rat no	Ağırlık
1	360	1	380	1	400	1	400
2	420	2	450	2	420	2	370
3	450	3	420	3	420	3	420
4	440	4	400	4	400	4	350
5	380	5	410	5	350	5	400
6	440	6	350	6	400	6	380
7	410	7	310	7	400	7	350
8	420	8	370	8	450	8	450
9	410	9	350	9	380	9	300
10	440	10	390	10	440	10	360

Cerrahi işlem, hayvanlar tartıldıktan sonra genel anestezi uygulanarak yapılmıştır. Genel anestezi sağlamak amacıyla hayvana 35 mg/kg xylazine ve 10 mg/kg ketamin intramusküler olarak verilmiştir. Cerrahi işlem sırasında ihtiyaç olduğu takdirde intramusküler olarak ek doz ketamin yapılmıştır. Sıçanlarda sol epigastrik arterin medial dalı pediküllü, 6x3 cm boyutlarında epigastrik arter deri flebi kaldırılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Flep dizaynı.

Anesteziyi takiben sıçanların abdomen derisi ve kasık bölgesi tıraşlandı ve sonra povidone iodine ile temizlendi. Sıçanın 4 ekstremitelerinin distaline ince flaster, ekstremitenin dolaşımını bozmayacak şekilde sarıldı. Sonra sıçan supin pozisyonda ameliyat masasına yatırıldı ve sıçanın 4 ekstremitesi flasterlerin uzun ucuna enjektör ucu saplanarak tespit edildi. Daha sonra alt abdomenden 6x3 cm ebadında aksiyel paternli epigastrik arter deri flebi kaldırıldı (Şekil 3.2. Epigastrik arter deri flebi). Olası pedikül yaralanması durumunda, sağ epigastrik arterin de kullanılabileceği düşünülerek, epigastrik arterin medial pedikülü her iki tarafta korundu. Daha sonra sağ epigastrik arter ve ven 5/0 ipekle 2 yerden bağlanarak kesildi. Böylece flebin beslenmesi sadece sol epigastrik arterin medial dalından sağlanır hale getirildi. Global iskemi süresinin bitiminde damardaki klempini almak veya İS yapmak amacıyla tekrar kısa süreli anesteziye ihtiyaç duyuldu. Bunu sağlamak için, sıçanlar içinde eterli pamuk bulunan kuvözde hareketsiz oluncaya kadar tutuldu. Hayvan hareketsiz olur olmaz kuvözden çıkarılıp bu kısa işlemler yapıldı.



Şekil 3.2. Epigastrik arter deri flebi.

3.1. İskemik Önkoşullama Protokolü

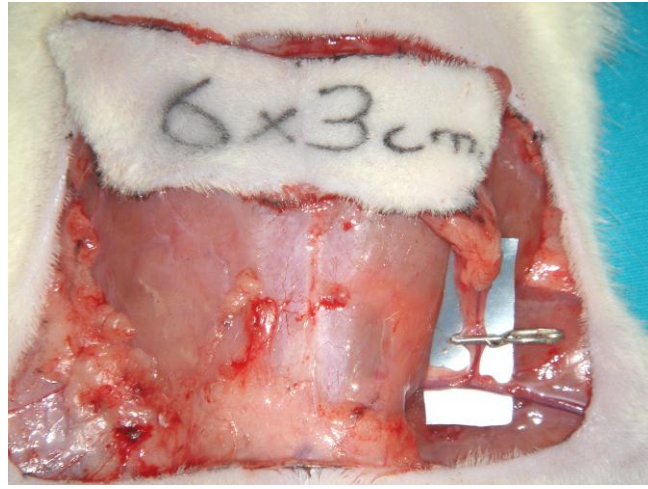
Tarif edilen flepler kaldırıldıktan sonra, pediküldeki arter ve vende akımı kesecek şekilde 12x4 mm boyutlarında mikrovasküler klempler ile iskemik önkoşullama yapıldı (Şekil 3.3). 1 saatlik sürede mikrovasküler klempler 10 dakika kapalı (iskemi), 10 dakika açık (reperfüzyon) olacak şekilde, toplam 3 siklus İÖ işlemi yapıldı (Şekil 3.4.). İskemi periyotlarından sonra pedikülde akımın kontrolü lup ile yapıldı.



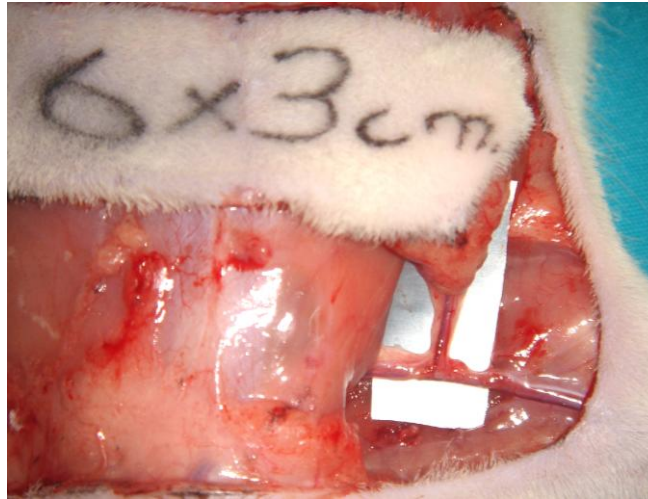
Şekil 3.3. Mikrovasküler klemp.

3.2. İskemik Sonkoşullama Protokolü

Tarif edilen flepler kaldırıldıktan sonra, pediküldeki arter ve vende akımı kesecek şekilde, 12x4 mm. boyutlarında mikrovasküler klempler ile önce 6 saat iskemide tutuldu. Reperfüzyonun başladığı ilk 3 dakikalık sürede, mikrovasküler klempler 15 saniye açık (reperfüzyon), 15 saniye kapalı (iskemi) olacak şekilde toplam 6 siklus İS işlemi yapıldı.



(A)



(B)

Şekil 3.4. İskemik önkoşullama prosedürü, (A) iskemi, (B) reperfüzyon

3.3. Deney Protokolü

40 adet rat, her grupta 10 adet rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Cerrahi uygulanan tüm hayvanlara, fleplerine zarar vermemeleri için, röntgen filminden yapılmış boyunluklar takıldı.

Grup 1: Kontrol grubu.

Grup 2: İskemik önkoşullama grubu.

Grup 3: İskemik sonkoşullama grubu.

Grup 4: İskemik önkoşullama + iskemik sonkoşullama grubu.

3.3.1. Grup 1

Cerrahi işlemden önce ketamine ve xylazine ile genel anestezi yapıldı. Daha önce tariflendiği gibi epigastrik arter deri flebi kaldırıldı. Pedikül tamamen diseke edildikten sonra, pediküle 12x4 mm ebatlarında, arter ve ven akımını tamamen kesecek mikrovasküler klempt konuldu. Flepler 6 saat iskemiye maruz bırakıldı. Klempt yerinde dururken flept yerine 4/0 ipek suturele dikildi. Flept yerine dikilirken, önce flebin 4 köşesine ve flebin kısa kenarlarının tam ortasına birer adet suture konuldu. Uzun kenarların 1/3'lük kısımlarına (birbirine eşit uzaklıkta 2 suture olacak şekilde) ikişer adet suture konuldu. İlave olarak pedikülün olduğu köşede ikişer adet suture konuldu. Sonra pedikülün olduğu köşedeki 5 dikişin dışındaki flept alanı devamlı dikiş tekniği ile suture edildi. Daha sonra cerrahi alanlar povidone iodine ile temizlendi ve hayvan kafesine konuldu. 6 saat iskemi süresini takiben, hayvana eterle kısa süreli anestezi uygulandı. Hayvan tekrardan ameliyat masasına yatırıldı. Flebin sol alt köşesindeki 3 adet suture alındıktan sonra mikrovasküler klempt çıkarıldı. Pedikülde flebe kan akımının olup olmadığı lup ile doğrulandıktan sonra köşeye tekrardan 3 adet ipek suture konuldu.

3.3.2. Grup 2

Aynı şekilde flep kaldırıldı. İskemi uygulamadan önce, tarif edildiği şekilde İÖ yapıldı. En son reperfüzyon periyodunu takiben pedikül tekrardan klemlendi ve sonra flep yerine suture edildi. Flep 6 saat iskemide tutuldu. 6 saat iskemi sonrası flebin köşesinden 3 adet suture alındıktan sonra, mikrovasküler klemp yine aynı şekilde çıkarıldı. Sirkülasyon kontrol edilip flebin köşesine 3 adet ipek suture konuldu.

3.3.3. Grup 3

Grup 1'deki işlemler aynen yapıldı. Bu grupta, grup 1'e ilaveten, 6 saatlik iskemi sonrası tarif edilen şekilde İS işlemi yapıldı. En son klemp açıldıktan sonra, pedikülün açıklığından son kez emin olundu, sonra flep köşesine sutureler konuldu.

3.3.4. Grup 4

Grup 2'de olduğu gibi İÖ işlemi yapıldı. Sonra flebin pedikülü klemlenip flep 6 saat süreyle iskemide tutuldu. 6 saat iskemi sonrası grup 3'te olduğu gibi İS işlemi yapıldı. Son olarak pedikülün açıklığı kontrol edilip, flep köşesine ipek sutureler konuldu.

Deneyden 1 hafta sonra sıçanlar içinde eterli pamuk bulunan kuvözlere atılarak sakrifiye edildi.

3.4. Canlı Flep Alanının Ölçülmesi

Ratlar cerrahi işleminden 7 gün sonra sakrifiye edildi ve işlem esnasında yapıldığı gibi supin pozisyonda ameliyat masasına tespit edildi. Yaşayan ve nekroza giden flep alanlarının haritası asetat kâğıdına çizildi. Bu çizimler milimetrik kâğıt üzerine aktarıldı. Yarım kareler bir, yarımdan az kareler sıfır kabul edilerek nekroz ve yaşayan alanlar mm² olarak hesaplandı.

Çalışma esnasında grup 1'deki ratlardan bir tanesi öldü. Grup 2 ve 4'teki ratlardan birer tanesi flebini yedi. Bu nedenle bu sıçanlar çalışmadan çıkarıldı.

3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Yaşayan flep alanının toplam flep alanına yüzde olarak oranı hesaplanılarak gruplar karşılaştırıldı. İstatistiksel değerlendirme için SPSS (Statistical Package for Social Sciences, versiyon 17.0, SPSS İnc., Chicago,USA) yazılımı kullanıldı. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farkı analiz etmek için; ikili gruplar için Mann-Whitney U testi, dörtlü gruplar için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Sonuçlar %5'lik hata payı ($\alpha=0,05$) ile değerlendirildi.



4. BULGULAR

İşlemden 7 gün sonra sıçanlar sakrifiye edilerek nekroze giden ve sağlıklı flep alanlarının ölçümü milimetrik kâğıt kullanılarak yapıldı. Yaşayan kısımların ve fleplerin toplam alanları hesaplandı. Daha sonra fleplerin yüzde kaçının sağlam kaldığı hesaplandı. Çizelge 4.1’de her gruptaki fleplerin canlı kalan alanlarının, total flep alanlarına oranı, yüzde olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Graplarda fleplerin canlı kalan alanlarının yüzdesi

	Yaşayan flep yüzdesi (%)			
No	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	25	95	62	94
2	0	79	67	90
3	0	67	69	Flebi yedi
4	Öldü	85	68	81
5	17	80	39	41
6	0	87	69	73
7	36	71	75	86
8	26	Flebi yedi	56	49
9	0	63	70	54
10	0	91	53	76

Grup 1’de yaşayan flep alanları yüzdelерinin ortalaması $11,56 \pm 4,83$, grup 2’de bu ortalama $79,78 \pm 3,65$, grup 3’te bu ortalama $62,80 \pm 3,39$ ve grup 4’te ise bu ortalama $71,55 \pm 6,36$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Gruplara göre yaşayan flep alanlarının değerleri

Grup		N	Minimum	Maksimum	Mean		Std. Deviation
		Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Kontrol	Yasama yüzdesi	9	,00	36,00	11,55	4,83	14,50
	Valid N (listwise)	9					
İskemik önkoşullama	Yasama yüzdesi	9	63,00	95,00	79,77	3,65	10,95
	Valid N (listwise)	9					
İskemik sonkoşullama	Yasama yüzdesi	10	39,00	75,00	62,80	3,38	10,70
	Valid N (listwise)	10					
İskemik önkoşullama+ sonkoşullama	Yasama yüzdesi	9	41,00	94,00	71,55	6,36	19,08
	Valid N (listwise)	9					

Bu dört grup birlikte Kruskal-Wallis Testi kullanılarak karşılaştırıldı. Dört grup arasında yaşayan flep alanlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,001$). Gruplar arasında fark bulunduğu için Mann-Whitney U Testi kullanılarak ikili gruplar karşılaştırıldı.

Kontrol grubu ile İÖ grubu karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,001$). Buna göre İÖ yapılan grupta yaşayan flep alanı, kontrol grubundan daha fazladır.

Kontrol grubu ile İS grubu karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,001$). Buna göre İS yapılan grupta yaşayan flep alanı, kontrol grubundan daha fazladır.

Kontrol grubu ile İÖ ve İS'nin birlikte yapıldığı grup karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,001$). Buna göre İÖ ve İS'nin birlikte yapıldığı grupta yaşayan flep alanı, kontrol grubundan daha fazladır.

Özet olarak Mann-Whitney U testi kullanılarak ikili gruplar halinde kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, bu gruplar arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark bulunmuştur. Buna göre; İÖ, İS ve İÖ + İS işlemlerinin yapılması ile, yaşayan flep alanı kontrol grubuna göre artmıştır.

Daha sonra flep yaşaması üzerinde olumlu etki sağladığı gösterilen bu üç grup Mann-Whitney U testi kullanılarak birbiri ile karşılaştırıldı.

İÖ yapılan grup ile İS yapılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,008$). Buna göre İÖ yapılan grupta yaşayan flep alanı, İS yapılan gruptan daha fazladır.

İÖ yapılan grup ile İÖ ve İS'nin birlikte yapıldığı grup karşılaştırıldığında; yaşayan flep alanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,453$).

İS yapılan grup ile İÖ ve İS'nin birlikte yapıldığı grup karşılaştırıldığında; yaşayan flep alanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,141$).



Şekil 4.1. Grup 1'e ait rat fotoğrafı (7. günde flepte tama yakın nekroz gözlendi).



Şekil 4.2. Grup 2'ye ait rat fotoğrafı (7. günde flep distalinde parsiyel nekroz gözlendi).



Şekil 4.3. Grup 3'e ait rat fotoğrafı (7. günde flep distalinde parsiyel nekroz gözlendi).



Şekil 4.4. Grup 4'e ait rat fotoğrafı (7. günde flep distalinde parsiyel nekroz gözlendi).

5. TARTIŞMA

Flep cerrahisinde iki majör komplikasyon vardır; bunlardan birincisi, pediküllü fleplerde yetersiz kan akımı nedeniyle parsiyel flep nekrozu, ikincisi ise serbest doku naklinde flebin parsiyel veya tamamen kaybına neden olacak İR hasarıdır. Baş-boyun ve meme rekonstrüksiyonlarında kullanılan pediküllü fleplerde parsiyel flep nekrozu %25 oranında gözlenmektedir (84,85). Bu komplikasyonlar, hastanede kalış süresini ve cerrahi girişim sayısını artırmaktadır. Fleplerin, genelde kanser cerrahisi sonrası baş-boyun ve memede oluşacak defektlerin rekonstrüksiyonunda kullanıldığını düşünürsek, flepte görülecek herhangi bir kayıp operasyon sonrası kemoterapi ve radyoterapide gecikmeye neden olacaktır.

Akut iskemi ve enfarktın tedavisinde altın standart reperfüzyonun sağlanmasıdır. Fakat bazen reperfüzyonun sağlanması, İR hasarı dediğimiz hücre ölümüyle sonuçlanan olaylar zincirini başlatmaktadır. Klinikte İR hasarı ile sıkça karşılaşmaktadır. Buna; serbest doku transferi, replantasyon, posttravmatik kompartman sendromu, büyük damarlarda emboli ve trombüsü örnek verebiliriz. Kas dokusu iskemiyi deriden daha az tolere eder. Kas dokusunda iskemiden 4 saat sonra yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. İskemi süresinde kasta, glikojen ve ATP tükenmekte ve kas bu enerji kaynaklarını reperfüzyon esnasında yeniden restore edememektedir.

İR hasarının patofizyolojisine baktığımızda; uzamış iskemide dokularda glikoliz artar ve laktik asit birikir. Bunun sonucunda hücre içi pH azalır (86). ATP miktarının azalması sonucu NA/K ATPase inhibe olur ve hücre içinde kalsiyum ve sodyum artar (87). Kalsiyumun artması dereceli olarak hücre yapısını bozar. Eğer iskemi süresi kritik süreyi aşarsa nekroz kaçınılmaz hale gelir (6). İskemik dokuda nekrozu önlemek amacıyla reperfüzyonun sağlanması definitif tedavidir. Postiskemik dokuda kan akımının aniden sağlanması, reaktif oksijen radikallerinin birikmesine ve enflamasyon benzeri olaylara neden olur (88).

Günümüzde gerek mikrocerrahi konusunda elde edilen deneyimler ve gerekse kullanılan materyal ve aletlerin daha iyi olması nedeniyle, serbest flepte başarısızlık oranı oldukça azalmıştır. Serbest flep başarısızlığı genelde

mikrovasküler trombus nedeniyle meydana gelmektedir (36). Fakat bazen yeterli vaskülarizasyon sağlanmasına rağmen, flep İR hasarı nedeniyle kurtarılamamaktadır. İR hasarına bağlı flep kaybının sıklığı konusunda yeterli bilgi yoktur. Çünkü çalışmalarda vasküler trombus ve İR hasarına bağlı flep başarısızlıkları birbirinden ayrı olarak değerlendirilmemiştir. Bu nedenle İR hasarının azaltılması, serbest doku naklindeki zaten az olan başarısızlık oranını daha da azaltacaktır.

Flepler dizayn edilirken, aksiyel paternli flep dizayn edilerek ve fasya gibi yapılar flebe dahil edilerek, pediküllü fleplerde nekroz oranı azaltılabilir (89,90). Ayrıca flebe cerrahi delay yaparak, nekroz oranı azaltılabilir. Tanım olarak delay; dokuyu kronik sublethal iskemiye maruz bırakarak, flep yaşayabilirliğini artırma işlemidir ve 16. yüzyıldan beri kullanılmaktadır (91). Delay işleminde hipoksiye cevap olarak flepteki aksiyel choke damarları büyür (34). Fakat bu işlem, 1-2 hafta aralıkla ikinci bir operasyonu gerektirmektedir ve tedavi süresini uzatmaktadır. Reperfüzyon yaralanmasında, dokuda nötrofil birikmesi ve mikrosirkülasyonda bozulma meydana gelmektedir (92). Delay yapılan fleplerde, delay yapılmadan kaldırılan fleplere göre daha fazla yaşama ve daha az nötrofil enflamasyonu gösterilmiştir (30). Delay işlemini de İÖ'nün bir çeşidi olarak tanımlayabiliriz. Klinikte delay işlemi; distal kısımda nekroz gözlenmeden büyük flep ile rekonstrüksiyon gerektirecek vakalarda sık olarak kullanılmaktadır.

5.1. İskemik Önkoşullama

İÖ; dokuya hasar vermeyecek iskemi/reperfüzyon siklusları tekrarlanarak, dokuda, bundan sonra gelecek olan iskemi periyodu ve iskemi/reperfüzyon için koruyucu ve adaptif mekanizmaların uyarılması işlemidir. İÖ ilk olarak Murry (2) tarafından tanımlanmıştır. Murry köpek kalbinde yaptığı çalışmada, 5 dakika iskemi 5 dakika reperfüzyon periyodunu 4 defa tekrarlayarak, bundan sonra gelen 40 dakikalık iskemide, yaptığı bu işlemin koruyucu rolü olduğunu bulmuştur.

İÖ ile ilgili kalp ve diğer organlarda yapılan çalışmalardan sonra Mounsey ve ark. (44) bu fenomeni ilk olarak domuz latissimus dorsi flebinde kullanmışlar. Mounsey, domuzun latissimus dorsi flebinde 3 siklus halinde, 10 dakika iskemi,

10 dakika reperfüzyon ile İÖ yapmış. Bunun sonrasında gelen 4 saatlik global iskemide, İÖ yapılan grupta kasta daha az nekroz geliştiğini göstermiştir.

Bundan sonra İÖ, başka yazarlar tarafından başka flep modellerinde çalışılmıştır (45,59,48,93). Wang ve ark. (58) yaptıkları çalışmada, rat cremaster kas flebinde İÖ sonrası 4 saat iskemi yapılıncı vazokonstriksiyon, trombüs ve kapiller no-reflow olmadığını göstermişler. Zahir ve ark (48) ratta yaptıkları çalışmada, deri ve kas-deri flebi modelinde, İÖ yapılan grupta yaşayan flep oranını, iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası, İÖ yapılmayan gruptan 2-5 kat daha fazla bulmuşlar.

İÖ etkisini, İÖ yapılan dokuda gösterebileceği gibi (klasik İÖ), İÖ yapılan yerden çok uzakta bir dokuda da gösterebilir (uzak İÖ).

5.1.1. Klasik İskemik Önkoşullama

İÖ iki ayrı dönemde koruyucu etkisini gösterir. Erken faz; iskemiden dakikalar sonra başlar ve 2-6 saatte sonlanır. Bu faz, değişik mediyatörlerin serbestleşmesi ve kompleks sinyal yollarının aktivasyonu sonucu gerçekleşir (41,42). Geç faz ise, İÖ işleminden 12-24 saat sonra başlar ve 3-4 gün sonra sonlanır. Bu ikisi arasındaki ana fark ise; İÖ'nün erken fazında var olan proteinlerde değişiklik görülürken, geç fazında dokuda yeni hücre koruyucu proteinler sentez edilmektedir (42).

Nitrik oksit (52,94,95,96), ısı şok proteinleri (97,98), adenosin (99,100), adenosin trifosfat duyarlı potasyum kanalları (101), siklooksijenaz-2 (102) ve bradikinin tarafından sinir stimülasyonu (53) İÖ'nün mekanizması içinde yer almaktadırlar. İÖ'nün akut etkileri protein sentezinden bağımsız olarak meydana gelirken, geç etkileri için protein sentezi gerekmektedir (103). Başlangıçta, İÖ'nün erken sürede ortaya çıkan etkisinin, kollateraller aracılığıyla dokuya artmış kan akımını sağlanmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Fakat bu görüş, Murry'nin köpek kalbinde yaptığı çalışmada, İÖ grubunda kontrol grubuna göre kollateral kan akımında fark bulamaması üzerine terkedilmiştir (2).

Fakat Adanalı ve ark. (59), İÖ'nün ratta kas flebi üzerinde erken ve geç etkisini araştırmak için yapmış oldukları çalışmada; İÖ'nün erken etkisinin,

fonksiyonel kapiller perfüzyonun, arteriyollerin çapının artmasına ve lökosit aracılı reperfüzyon hasarının azalmasına, geç etkisinin ise, sadece lökosit aracılı reperfüzyon yaralanmasının azalmasına bağlı olarak meydana geldiğini göstermişlerdir. Bu çalışma Pang ve ark. (46) tarafından domuz latissimus dorsi flebinde yapılan ve sonuçta İÖ artmış kan akımı ile ilişkilidir sonucu bulunan çalışma ile de desteklenmiştir. Öte yandan Wang ve ark. (104) yaptıkları çalışmada, İÖ'dan 24 saat sonra, cremaster kas flebinde kapillerin ve arteriyollerin çapının arttığını göstermişlerdir.

Carroll ve ark. (45) yapmış oldukları rat çalışmasında latissimus dorsi kas flebini kullanmışlar. Kontrol grubunda tüm kası herhangi bir işlem yapmadan, erken İÖ grubunda flebi İÖ yaptıktan hemen sonra ve İÖ'nın geç etkisini araştırdıkları grupta ise flebi İÖ yaptıktan 24 saat sonra kaldırmışlar. Sonuçta, İÖ yapılan iki grupta kontrol grubuna göre daha az nekroz gözlenirken, her 3 grupta laser-doppler kullanılarak yapılan perfüzyon ölçümleri arasında fark bulunamamıştır. Buradan da, İÖ'nın koruyucu etkisinin, kas flebi perfüzyonunda değişiklikten kaynaklanmadığı sonucu çıkarılmıştır. Ayrıca İÖ'nın, proksimal pedikül distali besleyinceye kadar, distal parçanın iskemiye toleransını artırarak etkisini gösterdiğini savunmuşlardır. Fakat bu çalışmada, gruplarda flep kaldırıldıktan sonra kasta nekrozu artıracak ikinci bir iskemi periyodu yapılmamıştır. Çalışma sadece kasın distalindeki zonda İÖ'nın etkilerini araştırmıştır.

İÖ'nın etkisini ve nasıl etkili olduğunu anlamak için yapılan çalışmalarda, daha çok kas ve kas-deri flep modelleri kullanılmıştır. İÖ ile ilgili deri flep modelinde ilk çalışmayı, Zahir ve ark. (48) yapmıştır. Araştırmacılar ratta deri ve kas-deri fleplerinde yaptıkları çalışmada, İÖ'nın her iki flep modelinde de İR hasarına karşı koruyucu rolünün olduğunu bulmuşlar. Bu koruyucu etkinin, deri flebinde, kas-deri flebine göre daha uzun süre iskemi sonrası meydana geldiğini göstermişler. Bu da derinin iskemiye kasa göre daha dayanıklı olmasından kaynaklanabilir.

İÖ'nın erken etkisini anlamak için diğer teori ise, bunun moleküler mekanizmasına dayanmaktadır. Kalp kasında İÖ, potasyum adenosin trifosfat kanallarında hızlı fosforilizasyon yaparak potasyumun hücre dışına çıkışını artırır

(105). Adenozin, bradikinin, katekolaminler ve nitrik oksit İÖ'nün farmakolojik ajanları olarak bilinmektedir ve bunların hepsi etkisini adenozin trifosfat bağımlı potasyum kanallarında göstermektedirler (106,107). Bu sonuçlar kalp kası için yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Deri ve kas flebinde İÖ'nün mekanizmasını anlamak amacıyla yapılmış sınırlı çalışma vardır. Bazı çalışmalar, iskelet kasında adenozin ve potasyum kanallarının rol oynadığını göstermiştir (108,109). Fakat bunun etki mekanizmasını anlamak için deri ve kas fleplerinde çok çalışma yapılması gerekmektedir.

İÖ'nün geç ortaya çıkan etkisi, erken ortaya çıkan etkisi gibi detaylı bir şekilde çalışılmamıştır. Geç etkide proteinlerin rol oynadığına inanılmaktadır. Currie (110) yapmış olduğu çalışmada, İÖ'dan 24 saat sonra artmış ısı şok protein 70i seviyesini buldu. Isı şok protein 70i'yi fazla sentezleyen transgenetik farelerde, iskemi sonrası, azalmış enfarkt alanı, azalmış lökosit aracılı enflamasyon ve daha iyi post iskemik kas kontraksiyonu bulunmuştur (111).

5.1.2. Uzak İskemik Önkoşullama

İÖ'nün sadece iskemi/reperfüzyon yapılan dokuyu değil, uzak dokuları da koruduğu anlaşılmıştır. Bu ilk olarak Przyklenk tarafından uzak İÖ olarak tanımlanmıştır (49). 1993 yılında Przyklenk ve ark. köpek kalp modelinde, İÖ'nün kalp kasında sadece iskemi reperfüzyon yapılan damarın beslediği alanı değil, iskemiye maruz bırakılınca İÖ yapılmamış kalp kası alanlarını da koruduğunu göstermişlerdir (49). Vendouw ve ark. (112) ilk olarak gerçek uzak İÖ'yı tanımlamışlardır. Bunlar yapmış oldukları rat çalışmasında, mezenterik artere iskemi yaparak, bunun kalp kası üzerinde iskemiye karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir. Birnbaum ve ark. (113) ekstremitte iskemisinin miyokard enfarktüsü üzerinde koruyucu etkilerini göstermişlerdir.

Kharbanda ve ark. (51) İÖ'nün uzak etkisi için, hem insan çalışması hem de deneysel domuz çalışması yapmışlar. İn vivo insan deneyinde bir taraftaki kola turnike ile İÖ yapmışlar. Kontrol grubunda kola herhangi bir işlem yapmamışlar. Daha sonra turnike yardımı ile karşı kola 20 dakika iskemi yapmışlar. Kontrol grubunda, reperfüzyonun 15. dakikasında asetilkoline endotelin cevabını önemli

ölçüde azalmış olarak (endotel disfonksiyonu) bulmuşlar. Benzer şekilde domuz çalışmasında da, domuzun alt ekstremitesinde turnike ile İÖ yapıldıktan sonra, domuzun miyokardı iskemide bırakılmış. İÖ grubunda, 40 dakika iskemi sonrası miyokartta nekroz oranı daha az bulunmuş. Bunlardan da İÖ'nün hayvan ve insanlarda sistemik etkilerinin olduğu sonucu çıkarılmıştır.

Addison ve ark. (50) domuzlarda yapmış oldukları çalışmada, domuzun arka ekstremitesinde turnike ile 3 siklus halinde 10 dakika süreli iskemi, 10 dakika reperfüzyon yapmışlar. Daha sonra kaldırdıkları kas fleplerine 4 saat iskemi uygulamışlar. İskemi sonrası kontrol gruba göre enfarkt alanını, İÖ yapıldıktan sonra kaldırılan latissimus dorsi kas flebinde %55, grasilis flebinde %60, rektus abdominis kas flebinde %55 daha az bulmuşlar.

Vücudun değişik yerlerinde (örn; ekstremiteye turnike ile) flep kaldırılmadan önce İÖ yapılarak, kaldırılacak olan flep iskemiye daha dayanıklı hale getirilebilir (114,115). Markus ve ark. (116) rat modelinde İÖ'nün uzak etkisini de araştırmışlar. 40 ratı 4 gruba ayırarak epigastrik adipokütanöz flep modelinde çalışmışlar. Kontrol grubu yani sadece 3 saat iskemi yapılan grup, flebe İÖ + iskemi grubu, karşı ekstremita femoral damara İÖ + flebe iskemi grubu ve karşı ekstremiteye İÖ + flebe iskemi gruplarında fleplerdeki iskemi oranlarını karşılaştırmışlar. Sonuçta kontrol grubuna göre diğer 3 grupta daha az nekroz gözlemlendiğini göstermişler. Yaşayan flep yüzdesi İÖ ve femoral artere İÖ yapılan grupta, ekstremiteye turnike ile İÖ yapılan gruptan daha yüksek olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna göre yazarlar, İÖ'nün uzak dokular üzerinde de etkili olduğu ve bunun klinikte, flep kaldırılması esnasında operasyon süresini uzatmadan, flep yaşamasına olumlu etkisi olacak şekilde kullanılabileceği sonucunu çıkarmışlardır. Bu nedenle İÖ sadece flepteki lokal bir reaksiyon değildir, sistemik etkileri olan bir fenomendir.

Markus ve ark. (117) yapmış oldukları başka bir rat çalışmasında, uzak iskemik önkoşullamanın geç dönemde kas flebi yaşayabilirliği üzerinde olumlu etkisi olduğunu göstermelerine rağmen bu etkiyi adipokütanöz flepte gösterememişlerdir. Bu çalışmada adipokütanöz flebi 3 saat iskemide tutmuşlardır. Kontrol grubunda flepteki nekroz oranını $60,8 \pm 18$, geç uzak İÖ yapılan grupta ise bunu $67 \pm 12,2$ olarak bulmuşlar ve bu fark istatistiksel olarak

anlamalı değildir. Fakat 3 saatlik iskemi süresi muhtemelen adipokütanöz flep için yeterli bir süre olmadığı için, iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Daha önceki hayvan çalışmaları, İÖ'nün uzak etkisinin İÖ'nün lokal etkisine benzer şekilde adenosin, bradikinin, norepinefrin salınımını ve K kanallarının aktivasyonunu içerdiğini göstermiştir (118). Hormonal faktörlere ilaveten İÖ'nün uzak etkisi otonom sinir sistemi ve sirkülasyondaki platelet gibi hücrelerin modülasyonunu da içermektedir (53,119). İR hasarında, endotel disfonksiyonu ve azalmış NO biyoaktivitesi de önemli rol oynamaktadır. Son çalışmada (50) İÖ'nün uzak etkisinin bazı klinik yararlar doğurabileceği ve bunun klinikte kullanılmaya elverişli olabileceği sonucuna varılmıştır.

İÖ'da etkili olduğu gösterilmiş mediyatörlerin başında NO gelmektedir. NO, NO sentaz enzimi ile L-arginin'den endojen olarak sentezlenen reaktif bir serbest radikaldir. NO sentaz enziminin de iki formu vardır; yapısal NO sentaz ve indüklenabilir NO sentaz. Molekülün farklı oksidasyon-redüksiyon durumu nedeniyle, NO hem koruyucu hem de hasar verici rol oynayabilir (120). Fizyolojik durumda yapısal NO sentaz tarafından sentezlenen NO bazal vazodilatör tonu sağlar (121). Ayrıca platelet adezyonunu ve agregasyonunu inhibe eder (122). İndüklenen NO sentaz tarafından sentezlenen NO, mikrobiyal patojenleri ve tümör hücrelerini öldürmek için makrofajların sitotoksik aktivasyonunda rol oynar (123). Ayrıca bu hidroksil radikallerini oluşturarak doku hasarında rol oynayabilir (124).

NO'nin flep yaşaması üzerindeki etkisi, çok sayıda çalışmada araştırılmıştır. Hayvan deri ada flebindeki çalışmalarda, iskemi/reperfüzyondan sonra NO'nin serum seviyesinin arttığı gösterilmiştir (125). Random cilt flebinde, kalsiyumdan bağımsız NO sentaz aktivitesinin, flebin iskemik kısımlarında arttığı bulunmuştur (126). NO prekürsörü olan L-argininin, nötrofil aracılı doku enflamasyonunu azalttığı ve flep yaşamasını düzelttiği gösterilmiştir (28). L arginin ile yapılan deneysel domuz çalışmasında, iskemi sonrası reperfüzyon esnasında verilen L-arginin flep yaşamasını artırırken, L- arginin ile birlikte NO sentaz inhibitörü verilmesi bu etkiyi ortadan kaldırmıştır (127).

Zhang ve ark. (128) ratta grasilis kas flebinde yaptıkları çalışmada, İÖ yapılan grupta uyarılabilir NO sentaz enzimini, reperfüzyondan 1 saat sonra

kontrol grubuna göre yüksek bulurken, iskemiden 4 saat sonra bu enzimi kontrol grupta daha yüksek bulmuştur. Sonuçta uyarılabilir NO sentaz geninin regülasyonunun İÖ'da rol oynadığı kanısına varılmıştır.

Potasyum kanalları da İÖ mekanizmasında rol oynamaktadır. Beheshtian ve ark. (129) ratta dorsal bipediküllü deri flebine lokal olarak adenoazin, morfin, diazoxide vererek farmakolojik İÖ ve flep distalini aralıklı iskemide bırakarak klasik İÖ işlemini yapmışlar. Bunların flep yaşamasındaki olumlu etkileri, potasyum kanal blokörü olan glibenklamide ile ortadan kaldırılmıştır. Buradan sonuç olarak, İÖ'de potasyum kanallarının rol oynadığını söyleyebiliriz (129). Yine İÖ da potasyum kanallarının etkisini araştıran insan çalışmasında, ön kola İÖ yapılmış. İÖ'nün endotel fonksiyonu üzerindeki olumlu etkisinin, potasyum kanal blokörü olan glibenklamide tarafından önlendiği bulunmuş. Potasyum kanalını açan diazoxide iskemi öncesi verilerek, İÖ grubuna benzer endotel fonksiyonu gösterilmiştir (130).

Tatlıdede ve ark. (131) yapmış oldukları fare çalışmasında, lateral dorsal arter pediküllü deri flebini kullanmışlar. Peptit P8 enjekte edilen grupta flep yaşaması açısından, İÖ yapılan gruba benzer sonuçlar bulmuşlar. Bu peptit, reperfüzyon yaralanmasına neden olan antikorların bağlanma bölgelerine, doğal yaralanma antijenleriyle yarışarak bağlanır ve reperfüzyon yaralanmasını önler. Reperfüzyon yaralanmasının önemli bulgularından bir tanesi de immünoglobulin M'in artması ve sonuçta komplemanın aktive olarak hücre hasarı doğurmasıdır. Bu çalışmada kontrol grubunda flep damarında gözlenen İgM ve kompleman C3 birikimi, P8 peptidi ile azaltılmıştır. Bu çalışma, P8 peptidinin kendi mekanizmasını aktive ederek, iskemi reperfüzyona bağlı doku hasarını önlediğini savunmuştur.

İlaveten deri flebinde opioidlerin (132), siklosporinin ve FK-506'nın farmakolojik önkoşullama yaptığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (76). Bu çalışmalarda bu ilaçlar flep üzerine lokal olarak uygulanmıştır. Böylece sistemik yan etkilerden kaçınılmıştır.

Kliniğimizde daha önce ratlarda yapılan ve bu son çalışma ile aynı flep modelini içeren çalışmada ise; iskemik önkoşullamanın flep yaşamasının erken ve geç döneminde olumlu etkilerinin olduğunu ve bu olumlu etkilerin

cyclooxygenase-2 reseptörlerinin antogonize edilerek kaldırılacağını gösterdik (57).

Pediküllü random paternli flepler cilt ve cilt altı defektleri kapatmada klinik uygulamada sıkça kullanılmaktadır. Fakat vasküleritesi güvenilirmez olduğu için, distalde parsiyel flep nekrozu sık karşılaşılan bir durumdur. Daha önceki çalışmalarda hep aksiyel paternli fleplerde İÖ yapılmıştır. Matsumura ve ark. (133) ratlarda yapmış oldukları çalışmada, random paternli flepte hem İÖ etkisini hem de lokal adenozinin etkisini araştırmışlar. Ratların sırtından random paternli bipediküllü flepler kaldırdıktan sonra, İÖ grubunda flebin kraniyal kısmına İÖ yapmışlar, farmakolojik önkoşullama grubunda flebin kaudal kısmına adenozin enjekte etmişler. Daha sonra flebin kaudal kısmını kesmişler ve 7 gün sonra İÖ ve farmakolojik önkoşullama yapılan grupta, kontrol gruba göre, flep distalinde nekrozu daha az gözlemişler. Random flebin İÖ'sı delay işlemine alternatif olabilir. Her ne kadar bu işlem operasyon süresini 1 saat kadar uzatsa da, delaydeki ikinci bir operasyon gereksinimi ortadan kaldıracaktır. Adenozin ile farmakolojik önkoşullama, operasyon süresini uzatmadan yapılabilecek gibi gözükse de, bu konuda çok sayıda klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Mikrovasküler cerrahide İR yaralanması önemli bir problemdir. Özellikle serbest doku nakli ve replantasyonda primer iskemi ve sekonder iskemi sorun olarak varlığını devam ettirmektedir. Flep transferinde, primer iskemi süresi genelde kısa olduğu için sorun yaratmamaktadır. Fakat amputasyonlarda primer iskemi süresi sorun olarak karşımıza çıkabilmektedir. Serbest fleplerde asıl sorun sekonder iskemiden kaynaklanmaktadır. Çünkü sekonder iskemi sürecinin farkına varılması, olgunun ameliyata alınması ve sorunun çözülmesi hayli uzun bir süre alacaktır. Coşkunfırat ve ark. (37) ratta epigastrik deri flep modelinde yaptıkları çalışmada, İÖ yaptıkları fleplere önce 2 saat iskemi ve 24 saat sonra tekrardan 4 saat arteryel veya venöz iskemi yapmışlar. Bu nispeten serbest doku nakli ve sonrasında gelişebilecek arter veya ven sorunlarının deneysel taklidi olarak düşünülebilir. Çalışma sonucunda, İÖ'nın geç dönemde arterden veya venden kaynaklanan iskemik olaylar üzerinde olumlu etkisinin olduğu bulunmuştur.

İÖ'nın deneysel çalışmalarda flep yaşayabilirliğini artırdığına dair çok sayıda veri olmasına rağmen, plastik cerrahide İÖ'nın klinik kullanımına ilişkin

sınırlı sayıda veri vardır. Restifo ve Thomson 6 hastalık bir seride İÖ'nün klinik kullanımından bahsetmişlerdir (79). Bunlar 6 hastada transvers rektus abdominis musk lok tan flebini kullanmışlar. Nekroz için 5 tanesi yüksek, 1 tanesi düşük risk içeren hastada, fleplere İ  yaparak, fleplerde nekroz oranının azaldığını göstermişlerdir.

Ortopedik ve periferik vasküler cerrahi İ 'dan önemli ölçüde fayda görmemektedir. Çünkü deri ve kas dokusu burada kısa süreli (1-2 saat) iskemiye maruz kalmaktadır ve bu durumda da İ 'nın klinik yararını görmek pek mümkün değildir. Kuntscher ve ark. (115), Addison ve ark. (50) rodent ve domuzlar üzerinde yapmış oldukları deneysel çalışmada, kas flebi üzerinde uzak bir ekstremiteye yapılacak İ 'nın etkisini araştırmışlar. Sonuçta da flep kaldırılırken, ekstremiteye uygulanan turnike yardımıyla yapılan İ 'nın etkili olduğunu bulmuşlar. Bu  alışmalarda, İ  işleminin, cerrahi s reye etkisi olmadan ve flebi direkt iskemide bırakmadan, pratik uygulamalarda kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu işlem sigara içen, obez, radyoterapi almış hastalar gibi yüksek riskli hastalarda, postoperatif olabilecek parsiyel flep kaybını ve flepte yağ nekrozu oranını azaltabilir.

İ 'nın klinikte kullanımı sınırlıdır. Cheng ve ark. (134) eldeki defekt için 13 tane pediküllü kasık flebi yapılan hasta grubunda, pedikülü daha erken ayırmak amacıyla, fleplere günlük değişen zaman dilimlerinde İ  işlemini yapmışlar. Çalışmanın sonucunda, flep pedikülünü ortalama postoperatif 8,3 günde ayırmayı başarmışlar. Bu da İ 'nın klinik uygulanabilirliğine başka bir örnektir. Alt ekstremita rekonstrüksiyonunda alıcı damarda sorun nedeniyle cross-leg işleminin hasta için ne kadar sıkıntılı bir işlem olduğu düşünülürse, flebi en kısa sürede alıcı yataktan beslenir hale getirmek için İç işlemi bir seçenek olabilir.

İ 'nın hem iskemiye toleransı arttırdığı hem de İR hasarını azalttığı deneysel çalışmalarla ispatlanmasına rağmen, bu yöntemin klinik uygulamalarda kullanılmasını engelleyen sorunlar vardır. Klasik erken ortaya çıkan İ  ile ilgili sorun; işlem cerrahi prosedürü uzatacak ve sağlıklı doku iskemiye maruz bırakılacaktır. Klinik uygulamada ise bu sorun uzak bir organa, örneğin operasyon esnasında ekstremiteye uygulanacak İ  ile aşılabilir. Klasik geç ortaya çıkan

İÖ'nün klinik uygulanmasındaki sorun ise, flebe İÖ yapmak için ek bir cerrahi ve anestezi uygulanması gerekecektir.

5.2. İskemik Sonkoşullama

İskemik dokuya kan akımının birden sağlanması serbest oksijen radikallerinin üretilmesi ve enflamasyon benzeri bir olayla sonuçlanır (135). Reperfüzyonun başlattığı bu patofizyolojik olay reperfüzyon hasarı olarak adlandırılır. İÖ'da olduğu gibi, doku iskemiye alıştırılıyorsa bu reperfüzyon içinde gereklidir, yani doku reperfüzyona da alıştırılmalıdır. 1998 yılında Wang ve ark. (93) bu hipotezi test etmek amacıyla yaptıkları çalışmada (isim olarak İS yerine aralıklı reperfüzyon demişler), cremaster kas flebinin pedikülünü klempleyip kası 4 saat iskemide tuttukten sonra, 4 siklus olacak şekilde 5'er dakikalık iskemi/reperfüzyon yapmışlar. Bu çalışmada hayvanları 4 gruba ayırmışlar. 1) Kontrol grubu, 2) İÖ grubu, 3) Aralıklı reperfüzyon grubu, 4) İÖ + aralıklı reperfüzyon grubu. Sonuçta İÖ ve aralıklı reperfüzyonun, dokunun reperfüzyon hasarından korunmasında etkili olduğunu bulmuşlar. Fakat İÖ, bunların içinde en etkili yöntem olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, aralıklı reperfüzyonla, dokunun kendi serbest radikallerini temizlemesine olanak sağlandığı düşünülmüştür.

Bundan 5 yıl sonra Zhao ve ark. (3) aynı modeli domuz kalbinde uygulayarak yaptığı çalışmada, önce sol anterior inen koroner arteri klempleyip, bu arterin beslediği kalp kası bölgesinde 60 dakika iskemi yapmışlar. İskemi sonrası reperfüzyonun hemen başında, toplam 3 siklus 30 saniye iskemi, 30 saniye reperfüzyon yapmışlar. Bunun sonucunda, yapılan işlemin enfarkt alanını azalttığını göstermişler. Bu çalışmanın sonunda Zhao, daha önce Wang'ın yapmış olduğu çalışmada (93) “aralıklı reperfüzyon” olarak tanımladığı işlemi “iskemik sonkoşullama(İS)” olarak tanımlamıştır. Bundan sonra İS, reperfüzyon hasarı çalışmalarının odağı haline gelmiştir.

Wang'a göre İS tanımı yanlış bir tanımdır. İÖ'da yapılan işlem, iskemi öncesi dokuyu iskemiye alıştırmaktır. Fakat reperfüzyon başlangıcında yapılan işlem dokuyu reperfüzyona alıştırmak olduğu için, Wang, bunun “reperfüzyon önkoşullaması” olarak tanımlanması gerektiğini savunmuştur (136).

İS ile ilgili kalp, beyin ve transplantasyon cerrahisinde çok sayıda çalışma vardır. Moon ve ark (5) ilk defa rat cilt flep modelinde İS'nin etkisini araştırmışlar. Epigastrik flep modeli kullanarak flebi 4 saat iskemiye maruz bırakmışlar. İskemi sonrası İS grubunda, 15 saniye iskemi 15 saniye reperfüzyon olacak şekilde 6 siklus İS yapmışlar. Çalışmanın sonunda İS yapılan grupta, kontrol grubuna göre daha az enflamatuar hücre enflamasyonu ve daha az nekroz gözlemişler. Bu çalışma İS'nin İR hasarından cilt flebini koruduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Loukogeorgakis ve ark. (137) insan önkolunda, İS'nin iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisini araştırmışlar. Çalışmanın sonucu olarak, 20 dakika iskemi sonrasında, 10 saniyelik ve 30 saniyelik iskemi/reperfüzyon periyotları 3 siklus tekrarlanarak yapılan İS'nin, endotel üzerinde koruyucu etkisi olduğunu bulmuşlar. Fakat İS işlemine reperfüzyondan 1 dakika sonra başlanırsa, bu koruyucu etki bulunamamıştır. Bu nedenle İS'da, iskemi/reperfüzyon periyoduna iskemiden hemen sonra başlanması gerekmektedir. Ayrıca bu çalışmada, İS işleminin kan basıncı, arter çapı ve kalp hızı üzerine etkisinin olmadığı bulunmuştur. Bu çalışma, İS'nin iskemi reperfüzyonda endoteli koruduğunu gösteren ilk insan çalışmasıdır.

İS'nin reperfüzyonun erken safhasında oksijen radikallerini nasıl azalttığı tam olarak bilinmemektedir. Moon'a göre İS, uzun süre oksijen almamış dokuya reperfüzyon esnasında aşırı miktarda oksijen gitmesini önler (5). Bu dereceli oksijene maruz kalma serbest oksijen ve nitrojen radikallerinin oluşmasını azaltır. İS'nin serbest oksijen radikallerini azaltmasının yanında, kalsiyum birikmesini azaltarak (80), adenosin reseptörlerini stimüle ederek (82), mitokondriyal K-ATP kanallarını açarak (82), fosfoditilinositol-3- kinaz sinyal transdüksiyonunu aktive ederek (82,61) ve mitokondriyal permeabilityyi inhibe ederek de (138) etkili olduğu gösterilmiştir.

Miyokardiyumda reperfüzyon hasarında mitokondriyal geçirgen geçiş porlarının (mPTP, mitochondrial permeability transition pore) açılması ve mitokondride kalsiyum birikmesi, nekrotik ve apoptotik hücre ölümünde anahtar olaydır (139). McAllister ve ark. (20) İS'nin iskelet kasını reperfüzyon

yaralanmasından koruduğunu ve bunu mitokondriyal geçirgen geçiş porlarını (mPTP) inhibe edilerek meydana getirdiğini göstermişlerdir.

Random paternli fleplerde, distalde nekroza gidecek alan ne kadar azaltılırsa veya ne kadar büyük random paternli flep kaldırılırsa bu rekonstrüktif cerrahi için daha yararlı olacaktır. Hoşnuter ve ark. (74) random paternli fleplerin distal kısmının yaşayabilirliğini artırmak için, ratın sırtından bipediküllü flep kaldırarak çalışma yapmışlar. Bir grupta flebin distaline sadece İÖ, bir grupta flebin distaline lokal olarak dexamethasone ve bir grupta ise flep distaline hem İÖ hem de dexamethasone yapmışlar. Çalışma sonucunda flepte yaşayan alanın oranı, İÖ ve dexamethasone grubunda kontrol grubuna göre daha fazlayken, flepte en fazla yaşam oranı dual önkoşullama yapılan grupta gözlenmiştir. Dexamethasone flepte ödem formasyonunu, nötrofil toplanmasını, uyarılabilir NO sentaz enzimini ve serbest radikallerin toplanmasını inhibe etmektedir (140,141,142). Yazarlar bu çalışmanın sonucunda, bu şekilde dual korumanın kolay bir şekilde klinik kullanıma adapte edilebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca lokal uygulanması nedeniyle dexamethasonun sistemik yan etkileri görülmeyecektir.

Deyhimy ve ark. (143) rat kalbinde yaptığı çalışmada; bir gruba sevoflurane kullanarak İÖ, bir gruba sevoflurane kullanarak İS ve bir gruba da yine sevoflurane kullanarak hem İÖ hem de İS yaparak, bu grupları karşılaştırmışlar. Sonuçta her üç grupta da flep yaşamasında kontrol grubuna göre artmış bir oran gözlenirse de, sevoflurane ile hem İÖ hem de İS yapılan grupta artı bir fayda bulunamamıştır.

Bu çalışmada, ratlarda epigastrik arter deri flebinde, iskemide flep yaşayabilirliği ve reperfüzyon hasarı için İÖ ve İS işlemlerinin koruyucu etkilerini karşılaştırmayı ve bu ikisinin birlikte yapılmasının ek yararı olup olmayacağını bulmayı planladık. Flep modeli olarak daha önceki yaptığımız çalışma ile aynı flep modelini kullandık (57).

Bu çalışmada İÖ, 10 dakika iskemi 10 dakika reperfüzyon siklusunun 3 defa tekrarlanması ile yapıldı. İÖ işlemi toplam 1 saat süre aldı. Rat miyokardiyumunda yapılan çalışmaya baktığımızda (Yellon ve ark.) 5 dakika iskemi, 10 dakika reperfüzyon şeklinde yapılan bir çalışma vardır (144). İÖ

sürecinde, kastaki fosfat enerji stogunun tükenme süresi merkezi bir rol oynar ve bu süre iskelet kasında kalp kasına göre daha uzundur (46). Literatürde, ratta latissimus dorsi kas flebinde 30 dakika iskemi, 10 dakika reperfüzyon şekilde yapılan İÖ'nün, kas üzerinde iskemiye karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir (45). Wang ve ark. (145) rat TRAM flebinde, en iyi İÖ modelini bulmak için yaptıkları çalışmada; 10 dakika iskemi, 5 dakika reperfüzyon şeklinde tekrarlayan iskemi/reperfüzyon siklusu, 2 veya 3 defa tekrarlanırsa, flepte en iyi koruma sağlanır sonucunu bulmuşlar. Fakat deri iskemiye kalp ve iskelet kasına göre çok daha iyi tolere ettiği için, daha önceki Zahir ve ark. (48) yapmış olduğu çalışmayı örnek alarak, İÖ yaparken, 10 dakika iskemi, 10 dakika reperfüzyon olacak şekilde toplam 3 siklus İÖ yaptık. Yine aynı çalışmada, İÖ'nün deri flebinde 6 saat iskemiyle birlikte kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etkisinin olduğu bulunması nedeniyle, iskemi süresini 6 saat olarak belirledik (48).

Miyokardda İS işlemine, iskemiden hemen sonra başlanması önemlidir. Yang ve ark. (81) tavşanda yaptıkları çalışmada, İS'ya reperfüzyondan 10 dakika sonra başlanırsa, bu işlemin koruyucu etkisini kaybettiğini bulmuşlar. Diğer çalışmalar ise, kalpte İS'da 1 dakikalık gecikmenin, İS'yı etkisiz kılacağını göstermişler. (4,146)

Muskülokütan fleplerde tanımlanmış standart İS modeli bulunmamaktadır. Bu çalışmada, daha önceki deri flebindeki yapılan çalışmadaki İS modelini örnek aldık (5). Daha önceki çalışmalarda reaktif oksijen radikallerinin reperfüzyonun erken döneminde en fazla biriktiği (147,148), nötrofil adezyonu ve endotel disfonksiyonu sonrasında enflamatuar reaksiyonun erken dönemde başladığı gösterilmiştir (149,25). İS'da iskemi/reperfüzyon süreleri için literatüre baktığımızda; kalbe ait 6 siklus 10 saniye iskemi/ 10 saniye reperfüzyon örneğine (3), köpekte açık kalp modelinde 3 siklus 30 saniye iskemi, 30 saniye reperfüzyon örneğine rastladık (4). Bu verilere ve daha önceki Moon ve ark. (5)'nın ratta deri flep modelinde yapmış oldukları çalışmaya uyarak, İS'yı 15 saniye iskemi, 15 saniye reperfüzyon siklusu 6 defa tekrarlanacak şekilde yaptık. Genel kanı olarak iskemik dokunun reperfüzyonu esnasında, reperfüzyonun ilk

dakikaları flep yaşayabilirliği açısından oldukça kritik rol oynamaktadır ve İS işlemi bu zaman içinde yapılmalıdır.

Bu çalışmada İÖ ve İS'yi karşılaştırmanın yanında, flep yaşayabilirliğini daha da artırabilir miyiz düşüncesiyle bir grupta aynı flebe hem İÖ hem de İS işlemini birlikte yaptık. Sonuçta bu ikisinin birlikte yapılmasının flep yaşamasında ek olumlu etki sağlamadığını gördük. Bu sonuç Deyhimy ve ark. (143) yapmış olduğu çalışma ile tutarlıdır. İÖ'nün erken koruyucu etkisinin olduğu dönemde aynı flebe İS yaptık. Daha önceki verdiğimiz verilere bakarsak, İÖ'nün erken ortaya çıkan etkisi ve İS aynı mediyatörler üzerinden etkilerini göstermektedir. Muhtemelen bundan dolayı yaşayan flep alanında, bu iki işlemi birlikte yaparak, bunların tek başına uygulanmasına göre ek bir yarar sağlanmadı. İÖ'nün geç ortaya çıkan etkileri yeni protein sentezi ile birliktedir. Bu nedenle İÖ'nün geç ortaya çıkan etkileri zamanında yapılan İS'nin ek yarar sağlayacağını düşünmekteyiz. Ayrıca flep yaşamasını İÖ'nün İS işlemine göre daha fazla artırdığını bulduk. Bu da daha önce Wang ve ark. (93) yaptıkları ve İS yerine aralıklı reperfüzyon terimini kullandıkları çalışmanın sonuçları ile tutarlıdır.

Tüm bu elde edilen bulguları klinik kullanıma yorumlarsak, İS işlemi pratikte daha kullanılır bir yöntem olacak gibi gözükmektedir. Çünkü İÖ'da olduğu gibi doku önceden iskemide bırakılmıyor ve işlem reperfüzyon esnasında yapılarak toplam 3 dakika süre alıyor. İÖ'nün klinik uygulaması kısıtlıdır. Flebin cerrahi işlemlerde ne kadar süre iskemide kalacağı belli değildir, dolayısıyla İÖ işlemi gereksiz olabilir. Oysa iskeminin uzadığı durumlarda İS yapılması uygundur. İS, reperfüzyon ve revaskülarizasyonun olduğu klinik durumlarda (anjioplasti, transplantasyon, vasküler cerrahi, replantasyon, nörocerrahi, kardiyak cerrahi) kullanılabilir.

6. SONUÇ

İskemi sonrasında deri flep yaşayabilirliği üzerinde İÖ'nün, İS'nin ve bu ikisinin birlikte yapılmasının etkilerini karşılaştırdık. Bu üç (İÖ, İS ve İÖ + İS) grupta da, flep yaşaması açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak şekilde yarar bulduk.

İÖ ve İS gruplarını karşılaştırdığımızda, iskemi sonrası flep yaşamasında İÖ'nün daha etkili olduğunu gördük.

Fakat flep yaşayabilirliği açısından İÖ ile İÖ + İS ve İS ile İÖ + İS grupları karşılaştırıldığı zaman, bunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bulduk.

Tüm bunların sonucunda; iskemi sonrası flep yaşamasında İÖ ve İS'nin olumlu etkisi vardır ve bu etki İÖ'da daha belirgindir. Fakat İÖ ve İS'nin birlikte yapılması flep yaşaması açısından, bunların tek başına uygulanmasına göre anlamlı bir fayda sağlamamıştır. Bu da İÖ ve İS'nin aynı mediyatörler üzerinden etkili olmasından kaynaklanabilir.

7. ÖZET

Rat deri flebinde iskemik önkoşullama ve iskemik sonkoşullama yöntemlerinin birlikte kullanılması

Rekonstrüktif mikrocerrahide uzamış iskemi sonrası dolaşımın aniden sağlanması sonucunda oluşan reperfüzyon hasarı halen çözülmemiş problem olarak varlığını sürdürmektedir. Biz rat epigastrik deri flebi modelinde iskemik önkoşullama (İÖ) ve iskemik sonkoşullama (İS) işleminin birlikte yapılmasının, iskemi-reperfüzyon (İR) hasarına karşı koruyucu etkisini ve avantajlarını araştırdık.

40 adet Wistar ratta 6x3 cm'lik epigastrik deri flebini kullandık. İÖ; iskemi öncesinde 10 dakika iskemi, 10 dakika reperfüzyon siklusunun 3 defa tekrarlanması ile yapıldı. İS; iskemi sonrasında 15 saniye tam reperfüzyon, 15 saniye tam oklüzyon siklusunun 6 defa (total süre 3 dakika) tekrarlanması ile yapıldı. İskemi süresi tüm fleplerde 6 saat idi.

Hayvanlar her grupta 10 hayvan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup 1: Kontrol grubu. Flebin pedikülü vasküler klemple klemplenip, flebe 6 saat iskemi yapıldı. Grup 2: İÖ grubu. 6 saat iskemi öncesi İÖ yapıldı. Grup 3: İS grubu. 6 saat iskemi sonrası İS yapıldı. Grup 4: İÖ + İS grubu. 6 saat iskemiden önce İÖ yapıldı, iskemiden sonra İS yapıldı. Cerrahi işleminden 1 hafta sonra fleplerin yaşayan alanı değerlendirildi ve yaşayan flebin total flep alanına yüzdesi kayıt edildi. Toplam 3 rat (grup 1: 1 rat öldü, grup 2: 1 rat flebini yedi, grup 4: 1 rat flebini yedi) çalışmadan çıkarıldı.

İÖ, İS ve İÖ + İS yapılan gruplarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmış flep nekroz alanı gözlemlendi. İstatistiksel analizde grup 2 ve 3 arasında anlamlı fark bulunurken, grup 2 ve 4 arasında ve grup 3 ve 4 arasında anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç olarak İÖ ve İS'nın deri flebi modelinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu rolü vardır. İÖ ve İS'nın birlikte yapılmasının, bunların tek başlarına yapılmasına göre flep yaşamada ek faydası yoktur.

Anahtar sözcükler: İskemik önkoşullama, iskemik sonkoşullama, iskemi reperfüzyon hasarı, deri flebi.



8. ABSTRACT

Combined use of ischemic preconditioning and postconditioning in the rat skin flap.

Reperfusion injury by the abrupt restoration of circulation after the prolonged ischemia has been remained unsolved problem in the reconstructive microsurgery. We hypothesized that the combination of ischemic preconditioning and ischemic postconditioning would result in preservation of rat epigastric skin flap after ischemic period.

We used 6x3 cm sized epigastric skin flap in 40 Wistar rats. Ischemic preconditioning was performed before ischemic period by 3 cycles of 10 minutes of repeated ischemia/reperfusion periods. A cycle of 15 seconds of full reperfusion, followed by 15 seconds of complete reocclusion was repeated six times (3 min of total intervention) after ischemic period and prior to the unlimited reperfusion. Global ischemia period was 6 hours in all flaps.

The animals were allocated randomly into 4 groups, each group containing 10 animals. Group 1: Control group. Six hours of complete ischemia was induced by clamping the pedicle using a vascular clamp. Group 2: Ischemic preconditioning group. IP was performed prior six hours of complete ischemia. Group 3: Ischemic postconditioning group. After six hours of complete ischemia ischemic postconditioning was performed. Group 4: Ischemic preconditioning plus ischemic postconditioning group. Prior six hours of ischemia preconditioning was performed. After that 6 hours ischemia was performed. Finally postconditioning was performed after final ischemia. Flap viability was assessed 1 week after the surgical procedure, and surviving flap area was recorded as a percentage to the whole flap area. Total 3 rats (group 1: 1 rat died, group 2: 1 rat because of autocannibalization, and group 4: 1 rat because of autocannibalization) were excluded from this study.

Preconditioned, postconditioned and preconditioned + postconditioned animals demonstrated a significantly lower area of flap necrosis than the control group. Statistical analyses revealed meaningful differences between groups 2 and

3. However, there was no statistical difference between groups 2 and 4 and groups 3 and 4.

As a conclusion, ischemic preconditioning and postconditioning have protective effects on ischemia-reperfusion injury in the epigastric skin flap model. The combination of preconditioning and postconditioning offered no additional benefit over either intervention alone in the skin flap model .

Key words: Ischemic preconditioning, ischemic postconditioning, ischemia-reperfusion injury, skin flap.



9. KAYNAKLAR

1. Stephen J. Mathes and Jamie Levine. Muscle and their blood supply. Sixth Edition by Charles H. Thorne . Grabb and Smith's Plastic Surgery. 2007. p.43.
2. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986 ; 74(5):1124-1136.
3. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: Comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 579-588.
4. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 74-85.
5. Moon JG, Lim HC, Gye MR, Oh JS. and Park JW. Postconditioning attenuates ischemia-reperfusion Injury in rat skin flap Microsurgery 2008; 28: 531-537.
6. Strock PE, Majno G. Microvascular change in the experimental tourniquet ischemia. *Surg Gynecol Obstet* 1969; 129: 1213-1224.
7. Quinones-Baldrich WJ, Chervu A, Hernandez JJ, Colburn M, Moore WS. Skeletal muscle function after ischemia: "No reflow" verse reperfusion injury. *J Surg Res* 1991; 51: 5-12.
8. Kerrigan, C. L. Skin flap failure: Pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72: 766.
9. Zelt, RG, Olding, M, Kerrigan, CL, and Daniel, RK. Primary and secondary critical ischemia time of myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 1986; 78: 498.
10. Picard-Ami, LA, Jr, Thomson, JG, and Kerrigan, CL. Critical ischemia times and survival patterns of experimental pig flaps. *Plast Reconstr Surg* 1990; 86: 739.
11. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Cellular injury and cellular death. In: Schoen FJ, ed. *Robbins-pathologic basis of disease*, Ed. 5. Philadelphia: W.B. Saunders Co 1994:1-34.

12. Kouchoukos N, Blackstone E, Doty D, Hanley F, Karp R. Myocardial management during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. Kirklin/Barratt-Boyes cardiac surgery, Ed. 3. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003: 131-153.
13. Petrishchev NN, Vlasov TD. [Endothelium function in ischemiareperfusion (a literature review)]. Ross Fiziol Zh ImIMSechenova 2000; 86: 148.
14. Goode HF, Webster NR, Howdle PD, et al. Reperfusion injury, antioxidants and hemodynamics during orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1994; 19: 354.
15. Langle F, Roth E, Steininger R, Winkler S, Muhlbacher F. Arginase release following liver reperfusion. Evidence of hemodynamic action of arginase infusions. *Transplantation* 1995; 59: 1542.
16. Gerlach J, Jorres A, Schon M, et al. Systemic liberation of interleukin-8 in the perioperative phase of liver transplantation. *Transpl Int* 1997; 10: 401.
17. Lindsay T, Romaschin A, Walker PM. Free radical mediated damage in skeletal muscle. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 1989; 5: 157.
18. Hearse DJ, Humphrey RM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium arrested rat heart: A study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 1973; 5: 395.
19. Wright JG, Fox D, Kerr JC, Valeri CR, Hobson RW. Rate of reperfusion blood flow modulates reperfusion injury in skeletal muscle. *J Surg Res* 1988; 44: 754.
20. McAllister SE, Ashrafpour H, Huang N, Cahoon NJ, Moses MA, Neligan PC, Forrest CR, Lipa JE, Pang CY. Postconditioning for salvage of ischemic skeletal muscle from reperfusion injury: Efficacy and mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 295: 681-689.
21. Ecker P, Schnackerz K. Ischemic tolerance of human skeletal muscle. *Ann Plast Surg* 1991; 26: 77-84.
22. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the perfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 2002.2;10: 620-630.
23. Walker, PM, Lindsay, T F, Labbe, R, et al. Salvage of skeletal muscle with free radical scavengers. *J Vasc Surg* 1987; 5: 68.

24. Lee, C, and Kerrigan, CL. Neutrophil localization following reperfusion of ischemic skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 910.
25. Tsao, PS, Aoki, N, Lefer, DJ, Johnson, G, III, and Lefer, A. M. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990; 82:1402.
26. Kurose, I, Wolf, R, Grisham, M. B, et al. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide. *Circ Res* 1994; 74: 376.
27. Hecker, M., Sessa, W. C., Harris, H. J., et al. The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: Cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1990; 87: 8612.
28. Cordeiro, PG, Mastorakos, DP, Hu, QY, et al. The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1997;100: 1227.
29. Carroll, S. M., Heilman, S., Stremel, R., et al. Vascular delay improves latissimus dorsi muscle perfusion and muscle function for use in cardiomyoplasty. *Plast. Reconstr. Surg.* (in press). 1997; 99: 1329-1337.
30. Rees, R, Punch, J, Shaheen, K, et al. The stress response in skin: The role of neutrophil products in preconditioning. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92: 110.
31. Pang, CY, and Forrest, CR. Acute pharmacologic preconditioning as a new concept and alternative approach for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis. *Biochem Pharmacol* 1995; 49: 1023.
32. Pang, CY, Forrest, CR, and Morris, SF. Pharmacological augmentation of skin flap viability: A hypothesis to mimic the surgical delay phenomenon or a wishful thought. *Ann Plast Surg* 1989; 22: 293 .
33. Kerrigan, CL, and Daniel, RK. Principles and Physiology of Skin Flap Surgery. In J. G. McCarthy (Ed.), *Plastic Surgery: Vol. 1, General Principles*. Philadelphia: Saunders, 1990. Pp. 275-328.
34. Myers MB, and Cherry, G. Mechanism of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1969; 44: 52.

35. Myers, MB. Attempts to Augment Survival in Skin Flaps: Mechanism of the Delay Phenomenon. In W. C. Grabb and M. B. Myers (Eds.), *Skin Flaps*. Boston: Little, Brown, 1975, Pp. 65-79.
36. Khouri, R. K. Avoiding free flap failure. *Clin Plast Surg* 1992; 19: 773.
37. Coskunfirat OK, Ozkan O, MD, and Dikici MB. The Effect of Ischemic Preconditioning on Secondary Ischemia in Skin Flaps. *Ann Plast Surg* 2006; 57: 431-434.
38. Granger, ND, and Korthuis, RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 311-332.
39. Kerrigan, CL, and Daniel, RK. Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1982; 70: 541.
40. Pang, CY, Forrest, CR, Mounsey, R, et al. Pharmacologic intervention in ischemia-induced reperfusion injury in the skeletal muscle. *Microsurgery* 1993; 14: 176.
41. Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 69-75.
42. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 1897-1918
43. Bolli R, Li QH, Tang XL, Guo Y, Xuan YT, Rokosh G et al. The late phase of preconditioning and its natural clinical application-gene therapy. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 189-199.
44. Mounsey, R, Pang, CY, and Forrest, C. Preconditioning: A new technique for improved muscle flap survival. *Otolaryngol. Head Neck Surg* 1992; 107: 549.
45. Carroll C, Carroll S, Overgoor M, Tobin G, Barker J. Acute Ischemic Preconditioning of Skeletal Muscle Prior to Flap Elevation Augments Muscle-Flap Survival. *Plastic and reconstructive surgery*. July 1997; 100(1): 58-65.
46. Pang, CY, Yang, RZ, Zhong, A, Xu, N, et al. Acute ischemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 782.

47. Gürke, L, Marx, A, Sutter, PM, et al. Ischemic preconditioning improves post-ischemic skeletal muscle function. *Am Surg* 1996; 62: 391-394.
48. Zahir KS, Syed SA, Zink JR, Restifo RJ, Thomson JG. Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flaps in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 140-150; discussion 151–152.
49. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87: 893-899.
50. Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Khan A, Zhong A, Moses M et al. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 1435-1443.
51. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschitzky JA et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002; 106: 2881-2883.
52. Parratt JR, Vegh A. Endothelial cells, nitric oxide and ischaemic preconditioning. *Basic Res Cardiol*. 1996; 91: 27-30.
53. Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol*. 2000; 278: 1571-1576.
54. Cohen MV, Baines CP, Downey JM. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor of KATP channel. *Ann Rev Physiol*. 2000; 62: 79-109.
54. Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM, et al. Mitochondrial K(ATP) channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2002; 55: 429-437.
56. Latchman DS. Heat shock proteins and cardiac protection. *Cardiovasc Res* 2001; 51: 637-646.
57. Dikici M, MD, Coskunfirat K, and Uslu A. Effect of Cyclooxygenase-2 on Ischemic Preconditioning of Skin Flaps. *Annals of Plastic Surgery* July 2009; 63 (1): 100-104.
58. Wang WZ, Anderson G, Maldonado C, et al. Attenuation of vasospasm and capillary no-reflow by ischemic preconditioning in skeletal muscle. *Microsurgery* 1996; 17: 324-329.

- 59.** Adanali G, Ozer K, Siemionow M. Early and late effects of ischemic preconditioning on microcirculation of skeletal muscle flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 1344-1351.
- 60.** Gross ER, Gross GJ. Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 212-221.
- 61.** Chiari PC, Bienengraeber MW, Pagel PS, Krolikowski JG, Kersten JR, Warltier DC. Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 2005; 102: 102-109.
- 62.** Lim SY, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 530-535.
- 63.** Mudalagiri NR, Mocanu MM, Di Salvo C, Kolvekar S, Hayward M, Yap J et al. Erythropoietin protects the human myocardium against hypoxia/reoxygenation injury via phosphatidylinositol-3 kinase and ERK1/2 activation. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 50-56.
- 64.** Johnson G III, Tsao PS, Lefer AM. Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med* 1991; 19: 244-252.
- 65.** Lefer DJ. A new gaseous signaling molecule emerges: cardioprotective role of hydrogen sulfide. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 17907-17908.
- 66.** Shiva S, Sack MN, Greer JJ, Duranski M, Ringwood LA, Burwell L et al. Nitrite augments tolerance to ischemia/reperfusion injury via the modulation of mitochondrial electron transfer. *J Exp Med* 2007; 204: 2089-2102.
- 67.** Das A, Xi L, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. *J Biol Chem* 2005; 280: 12944-12955.
- 68.** Calvert JW, Gundewar S, Jha S, Greer JJ, Bestermann WH, Tian R et al. Acute metformin therapy confers cardioprotection against myocardial infarction via AMPK-eNOS-mediated signaling. *Diabetes* 2008; 57: 696-705.
- 69.** Yao Z, Gross GJ. Acetylcholine mimics ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in dogs. *Am J Physiol* 1993; 264: 2221-2225.

70. Fryer RM, Auchampach JA, Gross GJ. Therapeutic receptor targets of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 520-525.
71. Erikson JM, Velasco CE. Endothelin-1 and myocardial preconditioning. *Am Heart J* 1996; 132: 84-90.
72. Budde JM, Velez DA, Zhao Z, Clark KL, Morris CD, Muraki S et al. Comparative study of AMP579 and adenosine in inhibition of neutrophil-mediated vascular and myocardial injury during 24 h of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 294-305.
73. Maldonado C, Stadelmann WK, Ramirez S, Quan EE, Barker JH. Preconditioning of latissimus dorsi muscle flaps with monophosphoryl lipid A. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111(1): 267-74.
74. Hosnutter M, Babuccu O, Kargi E, Altinyazar C. Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. *Ann Plast Surg* 2003; 50(4): 398-402.
75. Kiumehr S, Demehri S, Rabbani S, et al. Preconditioning of the rat random-pattern skin flap: modulation by opioids. *Br J Plast Surg* 2005; 58: 58-64.
76. Behtash G, Sina R, Taha G, Mehdi G, Hamed S, Shahram EM, Seyed H, and Ahmad RD. Pharmacologic Preconditioning of Random-Pattern Skin Flap in Rats Using Local Cyclosporine and FK-506 Interaction With Nitric Oxide System. *Annals of Plastic Surgery* 2007; 59(4): 435-40.
77. Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning, Part 1: Signaling and cytoprotective mechanisms. *Br J Anaesth* 2003; 91: 551-65.
78. Steenberg C, Fralix TA, Murphy E. Role of increased cytosolic free calcium concentration in myocardial ischemic injury. *Basic Res Cardiol* 1993; 88: 456-70.
79. Restifo, RJ, and Thomson, JG. The preconditioned TRAM flap: Preliminary clinical experience. *Ann Plast Surg* 1998; 41: 343.
80. Sun HY, Wang NP, Kerendi F, et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca²⁺ overload. *Am J Physiol* 2005; 288: 1900-1908.

- 81.** Yang XM, Proctor JB, Cui L, et al. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1103-1110.
- 82.** Yang XM, Philipp S, Downey JM, et al. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation. *Basic Res Cardiol.* 2005; 100: 57-63.
- 83.** Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, Yellon DM (2005) Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol* 2005; 288: 971-976.
- 84.** Mehta, S, Sarkar, S, Kavarana, N, Bhathena, H, and Mehta, A. Complications of the pectoralis major myocutaneous flap in the oral cavity: A prospective evaluation of 220 cases. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98: 31.
- 85.** Shrotria, S, Webster, DJT, Mansel, RE, and Hughes, LE. Complications of rectus abdominis myocutaneous flaps in breast surgery. *Eur J Surg Oncol* 1993 19: 80.
- 86.** Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-266.
- 87.** Granger DN. Ischemia-reperfusion: Mechanism of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation* 1999; 6: 167-178.
- 88.** Korthuis RJ, Granger DN, Townsley MI, Taylor AE. The role of oxygen derived free radicals in ischemia induced increases in canine skeletal muscle in postischemic skeletal muscle vascular permeability. *Circ Res* 1985; 57: 599-609.
- 89.** Daniel, R. K., and Kerrigan, C. L. Skin flaps: An anatomical and hemodynamic approach. *Clin Plast Surg* 1979; 6: 181.
- 90.** Thomson, JG, and Kerrigan, CL. Fasciocutaneous flaps: An experimental model in the pig. *Plast Reconstr Surg* 1989; 83: 110.
- 91.** Cormack, GC, and Lamberty, BGH. *The Arterial Anatomy of Skin Flaps.* New York: Churchill-Livingstone, 1986.

- 92.** Vedder, NB, Winn, RK, Rice, CL, Chi, EY, Arfors, KE, and Harlan, JM. Inhibition of leukocyte adherence by anti-CD 18 monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in the rabbit ear. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1990; 87: 2643.
- 93.** Wang WZ, Anderson G, Firrell JC, Tsai TM. Ischemic preconditioning versus intermittent reperfusion to improve blood flow to a vascular isolated skeletal muscle flap of rats. *J Trauma* 1998; 45: 953-959.
- 94.** Ma, XL, Weyrich, AS, Lefer DJ, et al. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 1993; 72: 403.
- 95.** McCall, T, Whittle, BJR, Boughton-Smith, NK, et al. Inhibition of fMLP-induced aggregation of rabbit neutrophils by nitric oxide. *Br. J. Pharmacol.* 95 (Suppl): 1988; 517.
- 96.** Peralta C, Hotter G, Closa D, et al. Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: role of nitric oxide and adenosine. *Hepatology.* 1997; 25: 934-937.
- 97.** Wang BH, Ye C, Stagg CA, et al. Improved free musculocutaneous flap survival with induction of heat shock protein. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 101: 776-784.
- 98.** Kume M, Yamamoto Y, Saad S, et al. Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *J Lab Clin Med.* 1996; 128: 251-258.
- 99.** Ely, SW, Mentzer, RM, Jr, Lasley, RD, et al. Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance ischemia and reperfusion with adenosine. *J. Thorac Cardiovas Surg* 1985; 90: 549.
- 100.** Pang CY, Neligan P, Zhong A, et al. Effector mechanism of adenosine in acute ischemic preconditioning of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol.* 1997; 273: R887- R895.
- 101.** Pang CY, Neligan P, Xu H, et al. Role of ATP-sensitive K⁺ channels in ischemic preconditioning of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol* 1997; 273: 44-51.

- 102.** Mounsey RA, Pang CY, Forrest C. Preconditioning. A new of cyclooxygenase-2 as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning in mice. *Basic Res Cardiol*. 2000; 95: 479-484.
- 103.** Nandagopal K, Dawson TM, Dawson VL. Critical role for nitric oxide signaling in cardiac and neuronal ischemic preconditioning and tolerance. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001; 297: 474-478.
- 104.** Wang, W. Z., Tsai, T. M., and Anderson, G. L. Late preconditioning protection is evident in the microcirculation of denervated skeletal muscle. *J Orthop Res* 1999; 17: 571.
- 105.** Gurke, L., Mattei, A., Chaloupka, K., et al. Mechanisms of ischemic preconditioning in skeletal muscle. *J Surg Res*. 2000; 94: 18.
- 106.** Goto, M, Liu, Y, Yang, XM, Ardell, JL, Cohen, MV, and Downey, JM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1995; 77: 611.
- 107.** Hu, K, and Nattel, S. Mechanism of ischemic preconditioning in rat hearts: Involvement of alpha 1B-adrenoreceptors, pertussis toxin sensitive G-proteins, and protein kinase C. *Circulation* 1995; 92: 2259.
- 108.** Schroeder, CA, Jr, Lee, HT, Shah, PM, Babu, SC, Thompson, CI, and Belloni, FL. Preconditioning with ischemia or adenosine protects skeletal muscle from ischemic tissue reperfusion injury. *J Surg Res* 1996; 63: 29.
- 109.** Weselcouch, EO, Sargent, C, Wilde, MW, and Smith, AM. ATP-sensitive potassium channels and skeletal muscle function in vitro. *J. Pharmacol Exp Ther* 1993; 267: 410.
- 110.** Currie, RW. Effects of ischemia and perfusion temperature on the synthesis of stress-induced (heatshock) proteins in isolated and perfused rats. *J. Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 795.
- 111.** Marber, MS, Mestrl, R, Chi, SH, Sayen, MR, Yellon, DM, and Dillman, WH. Overexpression of the rat inducible 70-kD, heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury. *J Clin Invest* 1995; 95: 1446.

- 112.** Verdouw PD, Gho BC, Koning MM, et al. Cardioprotection by ischemic and nonischemic myocardial stress and ischemia in remote organs. Implications for the concept of ischemic preconditioning. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 30: 27-42.
- 113.** Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA. Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply combined with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in rabbit. *Circulation* 1997; 96:1641.
- 114.** Küntscher MV, Schirmbeck EU, Menke H, et al. Ischemic preconditioning by brief extremity ischemia before flap ischemia in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 2398-2404.
- 115.** Küntscher MV, Kastell T, Sauerbier M, et al. Acute remote ischemic preconditioning on a rat cremasteric muscle flap model. *Microsurgery* 2002; 22: 221-226.
- 116.** Markus VK, Eva US, Henrik M, Ernst K, Martha MG, and Günter G. Ischemic Preconditioning by Brief Extremity Ischemia before Flap Ischemia in a Rat Model. *Plastic and reconstructive surgery*. June 2002; 109: 2398-2404.
- 117.** Markus VK, Thomas K, Holger E, C. Heitmann Günter G. Late Remote Ischemic Preconditioning in Rat Muscle and Adipocutaneous Flap Models *Annals of Plastic Surgery* July 2003; 51 (1): 84-90.
- 118.** Nakano A, Cohen MV, Downey JM. Ischemic preconditioning: from basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacol Ther.* 2000; 86: 263-275.
- 119.** Hata K, Whittaker P, Kloner RA, et al. Brief myocardial ischemia attenuates platelet thrombosis in remote, damaged, and stenotic carotid arteries. *Circulation*. 1999; 100: 843-848.
- 120.** Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*. 1993; 364: 626-632.
- 121.** Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43: 109-142.
- 122.** Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 87: 5193-5197.

- 123.** Hibbs JBJr, Taintor RR, Vavrin Z, et al. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988; 157: 87-94.
- 124.** Radi R, Beckman JS, Bush KM, et al. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem.* 1991; 266: 4244-4250.
- 125.** Oshima H, Inoue H, Aihara M, et al. Physiological roles of endothelium-derived nitric oxide in the epigastric island flaps of rabbits. *Ann Plast Surg.* 1997; 39: 608-614.
- 126.** Gribbe O, Lundberg T, Samuelson UE, et al. Nitric oxide synthase activity and endothelial ultrastructure in ischaemic skin-flaps. *Br J Plast Surg.* 1997; 50: 483-490.
- 127.** Cordeiro P, Santamaria E, Hu Qun-Ying. Use of a Nitric Oxide Precursor to Protect Pig Myocutaneous Flaps from Ischemia-Reperfusion Injury. *Plast and Reconstr Surg.* November 1998; 102(6): 2040-2048.
- 128.** Zhang F, Tanya O, Jessica H, Jacob G, Man-Ping L, William C. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase in Ischemic Preconditioning of Muscle Flap in a Rat Model. *Annals of Plastic Surgery* June 2004; 52 (6): 609-613.
- 129.** Beheshtian A, Demehri S, Kiumehr S, Salmasi AH, Ghazinezami B, Rahimpour S, Amanpour S, Rabbani S, Mohagheghi MA, and Dehpour AR D ATP-Sensitive Potassium Channels Mediate the Anti-Ischemic Properties of Ischemic and Pharmacologic Preconditioning in Rat Random-Pattern Skin Flap *Annals of Plastic Surgery.* July 2006; 57 (1): 94-99.
- 130.** M.W. Broadhead, RK, Kharbanda, MJ, Peters, RJ. MacAllister. kATP Channel Activation Induces Ischemic Preconditioning of the Endothelium in Humans In Vivo Circulation October 12, 2004; 110: 2077-2082.
- 131.** Tatlıdede HS, Adrian DM, Michael CM, John TN, Kyle RE, Mark AR, Francis DM, William GA. Improved Survival of Murine Island Skin Flaps by Prevention of Reperfusion Injury. *Plastic and Reconstructive Surgery* May 2009; 123 (5): 1431-1439.

- 132.** S. Kiumehr, S, Demehri, S, Rabbani, S, Amanpourb MA. Mohagheghi. Preconditioning of the rat random-pattern skin flap: modulation by opioids A.R. Dehpoura, The British Association of Plastic Surgeons 2005; 58: 58-64.
- 133.** H. Matsumura, N, Yoshizawa, NB. Vedder and K. Watanabe Preconditioning of the distal portion of a rat random-pattern skin flap British Journal of Plastic Surgery 2001; 54: 58-61.
- 134.** Cheng MH, Chen HC, Fu-Chan Wei, Shang-Wen Su, Shwu-Hwei Lian and Eric Brey. Devices for Ischemic Preconditioning of the Pedicled Groin Flap. The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care March 2000; 48, (3): 552-557
- 135.** Lucchesi BR. Myocardial reperfusion injury-role of free radicals and mediators of inflammation. In: Sperelakis N, Kurachi Y, Terzic A, Cohen MV, editors. Heart Physiology and Pathophysiology. San Diego, CA: Academic; 2001: 1181-1210.
- 136.** Wang WZ. Investigation of reperfusion injury and ischemic preconditioning in microsurgery. Microsurgery 2009; 29: 72 - 79.
- 137.** Loukogeorgakis SP, T. Panagiotidou A, Yellon D, Deanfield J, MacAllister R. Postconditioning Protects Against Endothelial Ischemia-Reperfusion Injury in the Human Forearm Circulation 2006 February; 21: 1015-1019.
- 138.** Argaud L, Gateau-Roesch O, Raissy O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. Circulation 2005; 111: 194-197.
- 139.** Halestrap AP, Clarke SJ, Javador SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion: a target for cardioprotection. Cardiovasc Res 2004; 61: 372-385.
- 140.** Gribbe O, Lundeberg T, Samuelson U-E, et al. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. Ann Plast Surg 1999; 42: 180-184.
- 141.** Rees R, Smith D, Li T-D, et al. The role of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in skin ischemia. J Surg Res 1994; 56: 162-167.

- 142.** Willemart G, Knight K-R, Morrison W-A. Dexamethasone treatment prior to reperfusion improves the survival of skin flaps subjected to secondary venous ischaemia. *Br J Plast Surg* 1998; 51: 624-628.
- 143.** Deyhimy DI, Fleming NW, Brodtkin IG, Liu H. Anesthetic Preconditioning Combined with Postconditioning Offers No Additional Benefit Over Preconditioning or Postconditioning Alone *Anesthesia & Analgesia* August 2007; 105 (2): 316-323.
- 144.** Yellon, D. M., Alkhulaifi, A. M., Browne, E. E., and Pugsley, W. B. Ischemic preconditioning limits infarct size in the rat heart. *Cardiovasc. Res.* 1992; 26: 983.
- 145.** Wang H, Li Z, and Liu X. Effects of various protocols of ischemic Preconditioning on rat tram flaps. *Microsurgery* 2008; 28: 37-43.
- 146.** Philipp S, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning must be initiated in less than 1 minute following reperfusion and is dependent on adenosine receptors and PI3-kinase (Abstract). *Circulation* 2004;110 (Suppl III): 804.
- 147.** Garlick PB, Davies MJ, Hearse DJ, Slater TF. Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Circ Res* 1987; 61: 757-760.
- 148.** Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 1404-1407.
- 149.** Lefer AM, Tsao PS, Lefer DJ, Ma XL. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *FASEB J* 1991; 5: 2029-2034.

