

Ratlarda Transvers Rektus Abdominis Kas Deri Flep Modelinde Nebivololün Perfüzyona Etkileri

Effect of Nebivolol on Rat TRAM Flap Viability

Mehtap Karameşe¹, Mustafa Keskin¹, Zekeriya Tosun², Nedim Savacı¹

Selçuk Üniversitesi, ¹Meram Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D., ²Selçuklu Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D., KONYA.

Özet

Meme rekonstruksiyonu; meme kanserinin cerrahi tedavisinin bir parçası olarak düşünülmektedir. Rekonstrüksiyon seçenekleri arasında bulunan transvers rektus abdominis kas deri flebinin (TRAM) belirli beslenme zonlarındaki perfüzyon yetersizlikleri, cerrahi sonrası görülen komplikasyonların artmasına neden olmaktadır. Periferik vazodilatasyonla kanlanma artırıldığında, flep viabilitesi artmakta ve komplikasyon riski azaltılabilmektedir. Nebivolol, üçüncü kuşak beta-adrenoreseptör blokleri olup nitrik oksit aracılığıyla periferik vazodilatasyon yapmaktadır. Çalışmada otuz adet, 250-300 gr ağırlığında Sprague- Dawley rat, beş deney grubuna ayrıldı. Tüm gruplarda TRAM flep kaldırıldı. Kontrol grubu kabul edilen birinci gruba ilaç uygulanmadı. İkinci gruba cerrahi işlemden 24 saat önce 100 mg/kg nebivolol (Vazoksen, Abdi İbrahim) oral gavaj yöntemi ile başlandı ve postoperatif 7 gün uygulamaya devam edildi. Üçüncü gruba cerrahi işlemden 24 saat önce 100 mg/kg nebivolol, verildi. Peroperatif dönemde ve postoperatif 7 gün devam edildi. Dördüncü gruba cerrahi işlemden 7 gün önce 100 mg/kg nebivolol başlandı ve postoperatif dönemde 7 gün devam edildi. Beşinci gruba cerrahi işlemden 7 gün önce 100 mg/kg nebivolol kullanıldı. Peroperatif veya postoperatif dönemde ilaç kullanılmadı. Yedinci gün, tüm ratlarda kan laktat düzeyi ölçüldü ve fleplerin fotoğrafları çekilerek, nekroz alanlarının yüzdeleri belirlendi. Kan laktat değerlerinin, istatistiksel olarak tüm gruplarda kontrol grubuna (grup 1) göre belirgin farklılık gösterdiği bulundu. En anlamlı fark kontrol grubu ile (grup 4) arasında tespit edildi. Fleplerin nekroz oranlarının değerlendirilmesinde, istatistiksel olarak grup 1'e göre diğer tüm gruplarda anlamlı fark mevcuttu ($p<0.005$). Kontrol grubuna göre, preoperatif ve postoperatif dönemde nebivolol'un kullanıldığı grup 4'te belirgin fark mevcuttu. Bu çalışma, nebivololün, TRAM flepde perfüzyonu artırarak iskemiye bağlı nekrozun azaltılmasında faydalı bir ilaç olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Rat TRAM flep model , nebivolol, flep yaşayabilirliği

GİRİŞ

Flep ile rekonstrüksiyon plastik cerrahinin en sık kullandığı operasyon yöntemlerinden biridir. Yeni flep planlamaları ve cerrahi tekniklere rağmen iskemik nekroz halen en önemli problemdir. TRAM flep ile yapılan meme rekonstruksiyonunda, belirli beslenme zonlarında perfüzyon sıkıntılarının olması, cerrahi sonuçları etkilemektedir (1,2).

Abstract

Breast reconstruction is an essential part of the breast cancer therapy. The transverse rectus abdominis musculocutaneous (TRAM) flap has been widely used for reconstruction of the breast. Partial loss of the flap is still a major problem. The deficiency of flap perfusion may cause partial necrosis of the flap. Periferic vasodilatation may increase flap viability. The aim of this study is evaluation of affect of nebivolol on rat TRAM flap perfusion. Nebivolol is a selective $\beta 1$ adrenergic receptor antagonist that causes a direct vasodilator effect attributed to the action on vascular nitric oxide (NO). In this study 30 male sprague-dawley rats were used. A pedicled TRAM flap based upon the the right inferior epigastric artery was elevated and reapproximated. Animals were randomly assigned to 5 treatment groups (n:6). Group 1 received no nebivolol. Groups 2 through 5 were administered 100 mg/kg nebivolol orally 24 hours preoperatif; in addition groups 2 to 4 received orally postoperatif for 7 days. Group 3 also received intraoperatively; groups 4 and 5 were given nebivolol orally for 7 days before the 24 hours preoperatif treatment. Seven days after surgery skin paddles were photographed and assessed for viability. In seventh day blood lactate levels were measured. Statically significant differences were found in all experimental groups relative to the controls. Group 4 displayed the greatest improvement in flap viability, significantly better than other nebivolol groups. This study indicates that nebivolol may provide a useful pharmacologic tool for reducing ischemia-reletad necrosis in TRAM flaps.

Key Words: Rat TRAM flap, flap viability, nebivolol.

Nebivolol, kardiyologlar tarafından güvenle kullanılan, daha az yan etki potansiyeline sahip üçüncü jenerasyon beta adrenoreseptör antagonistidir. β adrenoreseptör antagonistlerinin neden olduğu periferik vasküler direnci artırma özelliği nebivololde görülmemektedir. Tam tersine nitrik oksit salınımı ile vasküler relaksasyon yapar ve kronik

Tablo 1. Çalışma grupları

| Nebivolol (100mg/kg tek doz oral gavaj ile) | Grup I (kontrol) | Grup II | Grup III | Grup IV | Grup V |
|---|------------------|---------|----------|---------|--------|
| Preoperatif 7 gün | | | | X | X |
| 24 saat önce | | X | X | X | X |
| Peroperatif | | | X | X | |
| Post op 7 gün | | X | X | X | |

kullanımında endotelial disfonksiyonu önlemektedir (3-7).

Bu çalışmada, ratlarda, transvers rektus abdominis kas deri flep modeli oluşturularak, flepteki güvensiz beslenme zonlarında, sistemik uygulanan nebivololün etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmamız için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik kurulu 21.1.2007 tarihli 2007-3 numaralı onay alındı.

Çalışmamızda otuz adet 250-300 gr ağırlığında Spraque-Dawley rat kullandı ve ratlar beş deney grubuna ayrıldı (Tablo 1).

Kontrol grubu olan grup I deki hayvanlar hiçbir ilaç uygulaması almadı.

Grup II de cerrahi işlemden 24 saat önce 100 mg/kg nebivolol, oral gavaj yöntemi ile başlandı ve postoperatif 7 gün, günde tek doz olarak uygulamaya devam edildi.

Grup III de cerrahi işlemden 24 saat önce, peroperatif ve postoperatif 7 gün, günde tek doz olarak uygulamaya devam edildi.

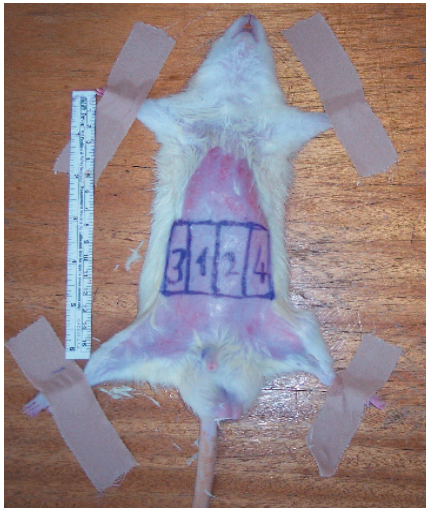
Grup IV de cerrahi işlemden 7 gün önce 100 mg/kg nebivolol başlandı ve postoperatif dönemde 7 gün günde tek doz olarak devam edildi.

Grup V de cerrahi işlemden 7 gün önce 100 mg/kg nebivolol günde tek doz olarak kullanıldı. Peroperatif veya postoperatif dönemde ilaç kullanılmadı.

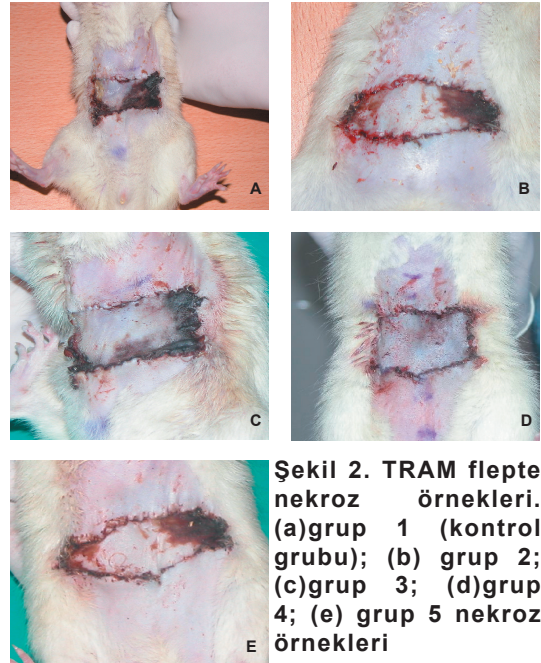
Tüm ratlara 35 mg/ kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, 50 mg/ ml flakon Pfizer), 5 mg/kg ksilozin (Ronpun® flakon, Bayer) ile intramuskular anestezi uygulandı. Literatürde tanımlanan sağ inferior epigastrik arter tabanlı TRAM flep modeli kullanıldı (8-10) (Şekil 1). Flep eleve edildikten sonra 4/0 monofilaman poliamid (nylon®, Doğan) suturele tekrar yerine suture edildi.

Fleplerin fotoğrafları Kodak Easy Share Z760 digital fotoğraf makinesi ile çekildikten sonra dijital ortama aktarıldı. 7. günde tüm fleplerde meydana gelen nekroz yüzdesi hesaplandı. Şeffaf milimetrik kâğıt, fotoğraf çıktılarının üzerine yerleştirilerek her flepte oluşan nekrozun, flebe göre oranı belirlendi.

Tüm ratlardan 7. gün kan laktat düzeyi bakıldı. Laktat değerleri Spinreact ticari kiti kullanılarak Mannheim marka



Şekil 1. Rat TRAM flep modelinde beslenme zonları.



Şekil 2. TRAM flepte nekroz örnekleri. (a) grup 1 (kontrol grubu); (b) grup 2; (c) grup 3; (d) grup 4; (e) grup 5 nekroz örnekleri

5010 model yarı otomatik spektrofotometri cihazında 505 nm'de okutuldu. (Boehringer İngelheim, Almanya)

Fotoğraf değerlendirmesine göre hesaplanılan nekroz oranının (flep alanı/ nekroz alanı) istatistiksel analizi Mann Whitney U testi uygulanarak yapıldı. Kan laktat değerlerinin gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak Anova Varyans analizi ile değerlendirildi (SPSS 13,0 paket programı).

BULGULAR

Nekroz Oranları

Kontrol grubunda özellikle zon 3 ve 4'te belirgin olmak üzere nekroz saptanmıştır (şekil 2). Kontrol grubunun nekroz yüzdesi ortalama % 39.20; grup 2 nekroz oranı %25.042; grup 3 nekroz oranı 17.0386, grup 4 nekroz oranı 6.9161 ve grup 5 nekroz oranı 11.2281 olarak bulunmuştur (şekil 3). İstatistiksel olarak grup 1'e göre diğer tüm gruplarda anlamlı fark mevcuttu ($p < 0.005$). Fakat grupların birbiri arasında anlamlı fark tespit edilemedi ($p > 0.005$).

Kan Laktat Değerleri

Kan laktat değerleri kontrol grubunda ortalama 91.58 mg/ml; grup 2 de 70.64 mg/ml; grup 3 de 76.41 mg/ml; grup 4'de 57.76 mg/ml; grup 5'de 64.56 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Kan laktat değerleri grafik üzerinde değerlendirildi (şekil 4). İstatistiksel olarak tüm gruplar kontrol grubuna (grup 1) göre belirgin farklıdır ($p < 0.005$). En anlamlı fark kontrol grubu ile nebirolln, preoperatif ve postoperatif dönemde kullanıldığı grup (grup 4) arasında tespit edildi. Diğer grupların birbiri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.005$).

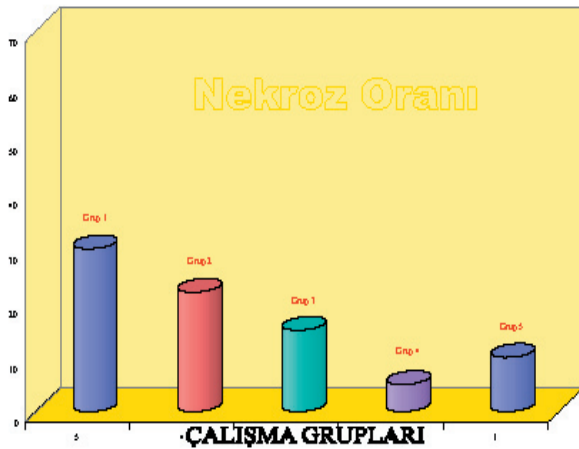
TARTIşMA

Meme rekonstruksiyonu amacıyla transvers rektus abdominis kas deri flebi (TRAM) kullanılması ilk olarak Hartrampf tarafından 1982'de tarif edilmiştir (11,12). Tek pediküllü TRAM flebin cilt adası, 4 perfüzyon zonuna ayrılır. Zon III ve IV, flebin lateral kenarlarını oluşturmakta ve kanlanma açısından sıkıntılı bölgelerdir. Doncatto ve ark.nın yaptıkları çalışmaya göre nekroz oranı flep yüzeyinin %15'i

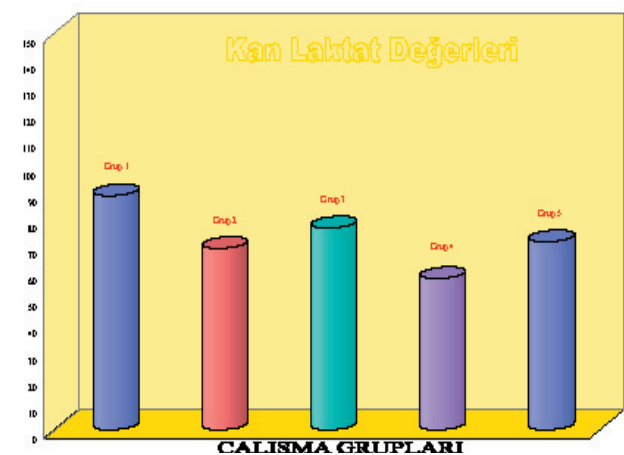
(%2-42) olarak hesaplanmıştır (13). Klinik uygulamada bu nekroz oranını azaltmak ve flep yaşayabilirliğini artırmak için plastik cerrahi genel prensipleri içinde en güvenilir yöntem, "delay (geciktirme)" prosedürüdür. "Delay" prosedüründeki amaç flebe gelen kan akımını artırmaktır. Derin inferior epigastrik arter bağlanır. Çalışmalarda "delay" işlemi ile abdominal bölgeye kan akımında artış olduğu ve süperior epigastrik arterin tek dominant arter haline geldiği gösterilmiştir. şayet delay yapılsa kutanöz kan akımı komple değişir. Kan akımı daima bazal seviyenin üstünde kalır. 'Choke' damarlar dilate olur ve kutanöz kan akımı daha güvenli olur. Bu durum flep nekroz ihtimalini önemli ölçüde azaltır (14). Fakat cerrahi yapılan delaylerin hastaya ek operasyon stresi yükleme ve maddi olarak da külfet getirdiği unutulmamalıdır. Çünkü cerrahi delay için hasta genel anestezi almalı, TRAM flebi besleyen minör vasküler pediküller bağlanmalı, postoperatif dönemde de hasta takibi yapılmalıdır.

Bu durum araştırmacıları nekrozu önlemeye, flep yaşayabilirliğini artırmaya yönelik ilaçları kullanmaya zorlamıştır. Fleplerde venöz konjesyon, erken postoperatif dönemde azalmış doku oksijenizasyonuna neden olur. Mikrodolaşımdaki intravasküler trombozis, flep hasarının patofizyolojisi ile ilgilidir (15). Koagülasyon mekanizmasına etkili ilaçlar, flep yararına olabilir. Bu amaçla çok kullanılan heparin, postoperatif trombozisi antiinflamatuvar etkinlikten ziyade antikoaglatif etkinlikle korurlar. Nötrofil toplanmasını azalttığı ve vasküler trombozu önlediği düşünülmektedir. Heparin lökositlerin hareketlerini, adezyonunu ve inflame dokudaki birikimini önler (16-17).

Asetil salisilik asit etkisini antikoagülan ajan olarak gösterir. Siklooksijenazı irreversibl olarak bloke eder. Oral olarak kullanım kolaylığına sahiptir. Kan viskozitesini artırıci etkileriyle flep yaşayabilirliğini artırır. Fakat aspirin ve heparinin her zaman kanamayı artırıci ve hematom yapma riskleri mevcuttur. Sonuçta hematom da flep kaybının nedenidir (18). Bu nedenle özellikle çok emek harcanan



şekil 3. Çalışma gruplarının nekroz alanlarının birbirlerine oranı



şekil 4. Kan laktat değerlerinin grafik olarak incelenmesi

operasyonlarda kar zarar ilişkisi göz önüne alınarak hematoma ve tromboz ikileminde kalınarak kullanılabilir.

Doku plasminojen aktivatörü (TPA), benzer antitrombolitik etkililerle kas fleplerinde, trombojenik durumlarda kapiller perfüzyonu artırır. Fakat flepte, flep altında, donör alanda kanama ile ilgili komplikasyon geliştirme riskleri vardır (19).

İskemik hasarlarda ciddi inflamatuvar cevap ve mikrovasküler kan akım paterni değişiklikleri olur. Postoperatif dönemde sistemik metilprednisolon uygulamasının flep yaşayabilirliğini artırdığı gösterilmiştir. Fakat kortikosterooidler; diabetik hastalarda, gastrointestinal sistem kanaması riski olan hastalarda dikkatli kullanılır (20).

Antitrombolitik, antifibrinolitik etkilerinden dolayı özellikle mikrocerrahi operasyonlarından sonra sık kullanılan Reomacrodex (dextran 40)'in ise hipersensitivite reaksiyonları (anafilaksi, ürtiker, göğüs ağrısı, nazal konjesyon, şipotansiyon), kanama zamanının uzaması, kapiller kanama, renal disfonksiyon, karaciğer enzim düzeylerinde yükselme gibi yan etkileri mevcuttur (21).

Flep yaşayabilirliği incelenirken hücresel düzeyde ele aldığımızda iskemik fleplerde enerji metabolizması anaerobik faza dönerler. Hücresel solunum bozulduğunda irreversibl hasar başlar. Deneysel olarak bu aşamanın durdurulduğu ve laktat ölçümünün değerlendirildiği, direkt PDH-k inhibitörü olan dikloroasetat ile yapılmış çalışmalar vardır. Fakat bu ilacın toksisitesi, kanserojenöz özellikleri henüz çalışılmamıştır (22).

Seify ve Ufuk yaptıkları çalışmada ise cerrahi delaye alternatif olarak insan vasküler endotelial (human vascular endotelial growth factor 'VEGF') büyüme faktörünün etkilerini araştırmışlardır. Kontrol grubunda gözlenen %50'lik nekroza karşılık VEGF kullanılan grupta perfüzyon anlamlı olarak iyi bulunmuş (23).

Zhang ve ark. ise VEGF plasmid DNA'sını silipofectamine ile incorpore ederek rat üst karın duvarı subkutan fasyal tabakasına enjekte etmişlerdir. Sonuçlarında flebin perfüzyonunda çok iyi gelişmeler bulmuşlar (24). Fakat bu ajanların klinik kullanımları yoktur.

Bizim yaptığımız çalışmanın da ana fikri flebe kan akımını artıran ilaç kullanmaktır. Bu amaçla tek doz alınabilen, sistemik etkili, yan etkisi az, etkinliği iyi ilaçların kullanıma sokulması büyük kolaylık sağlayacaktır. En azından delay işlemi uygulanmış olsa da kan akımını artırıcı, beslenmeyi kolaylaştırıcı ilaçların kullanılması gerekmektedir. Nebivolol bu alanda devrim niteliği taşımaktadır. Üçüncü jenerasyon beta adrenoreseptör antagonisti olan nebivolol, aynı sınıftaki ön ilaçlardan farklı olarak β -1 adrenoreseptörleri selektif bloke eder (25). β adrenoreseptör antagonistlerinin yaptığı periferik vasküler direnci artırma özelliği yoktur. Tam tersine vasküler relaksasyon yapar. Böylece periferik vazodilatasyon yaparak kanlanmayı artırır. Yapılan çalışmalar vazodilatör etkinin adrenerejik reseptör antagonizmasından değil de vasküler endotelial nitrik oksit (NO) salınımını stimüle ederek olduğunu göstermiştir (26). Nitrik oksit salınımı iki farklı hücre içi mekanizma ile olur. Endotelial nitrik oksit sentetaz enzimi (eNOS) aktivitesinin; kalsiyum kalmodulin kompleksi üzerinden fosforilasyonu veya kalsiyum bağımsız kinaz fosforilasyonunun artırılması ile olur (27). Nebivololün

endotel hücrelerinde kalsiyum bağımsız yolla NO üretimini artırdığını gösteren çalışma vardır (28). β -2 adrenerejik reseptörler NO salınımını artırır. Nebivolol selektif olarak β -1 blokasyonu yaptığı için etkisi daha güçlü olmaktadır.

Nebivololün, faydalı bir özelliği olan oksidatif streslerden koruyucu mekanizması gösterilmiştir (29). Oksidatif stresler, endotel fonksiyonunda kayıpla sonuçlanır. Nebivolol, oksidatif stresler ortaya çıktıktan sonraki endotelial disfonksiyonu azaltır. Hatta nebivolol bu etkileri vazodilatasyon etkisi ortaya çıkmadan önce gösterir (30).

Nebivolol ile özellikle kardiologlar tarafından yapılan hipertansiyon çalışmalarında, nebivololün süperoksit formasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Çalışmada, metoprololünde içinde bulunduğu ilaç grubundan farklı olarak, nebivolol, endotelial fonksiyonları iyileştirdiği ve vasküler oksidatif stresleri azalttığı gösterilmiştir (31).

Burada tartışmalı olan konu Nebivololün hipotansiyon yapıcı etkisidir. Çünkü flep yaşayabilirliğinde tansiyon düzeylerinin değişmesi olumsuz bir etkidir. Fakat hipotansiyonun flep nekrozuna neden olduğunu kanıtlayan yayın olmamasına rağmen bu durumun risk yarattığını gösteren çalışma mevcuttur (32).

Nebivololün fleplerde kutanoz viabiliteyi artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ratlarda yapılan random patenli cilt fleplerinde kan akımını artırdığı, laser doppler flowmeter ile tespit edilmiştir (33). Ayrıca, literatürde nebivololün asetilkolin üzerinden kutanoz vazodilatasyon yaptığını gösteren insan çalışması bulunmaktadır (34). Bizim çalışmamızda ise muskulokutan flep modeli oluşturularak elde edilen sonuçlara göre kontrol grubu ile kıyaslandığında nebivololün kullanıldığı gruplardaki iskeminin bu kadar az çıkması yüz güldürücü olmuştur. nebivolol kullanılan tüm gruplarda, kontrol grubuna göre flebin zon 3 ve zon 4 perfüzyonunda belirgin artış saptanmıştır. Kan laktat düzeyi de kontrol grubuna göre nebivolol gruplarında belirgin olarak düşüktür.

Nebivolol hem preoperatif dönemde hem de postoperatif dönemde kullanıldığında çok belirgin olarak iyi sonuçlar alınmaktadır. Nebivololün sadece preoperatif veya sadece postoperatif dönemde kullanımları da sonuçları olumlu düzeyde artırmaktadır. Yani elektif olarak meme rekonstrüksiyonu yapılacak hastalara operasyon öncesi dönemden başlanmak üzere nebivolol kullanılması ve bunun postoperatif dönemde de devam edilmesi TRAM flep yaşayabilirliğini artırmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- Chargari C, Kirova YM, Forquet A. Breast reconstruction after breast-cancer surgery. N Engl J Med 2009;360:420-1.
- 2- Kroll SS, Baldwin B. A comparison of outcomes using three different methods of breast reconstruction. Plast Reconstr Surg 1992;90:455-62.
- 3- Munzel T, Gori T. Nebivolol the somewhat-different beta-adreneregic receptor blocker. J Am Coll Cardiol 2009;54:1491-9.
- 4- Baldwin CM, Keam SJ. Nebivolol: in the treatment of hypertension in the US. Am J Cardiovasc Drugs 2009;9:253-60.
- 5- Mason RP, Giles TD, Sowers JR. Evolving mechanisms of action of beta-blockers: focus on nebivolol. J Cardiovasc

- Pharmacol 2009;54:123-8.
- 6- Maffei A, Lembo G. Nitric oxide mechanisms of nebivolol. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2009;3:317-27.
 - 7- Tzemos N, Lim O, Mac Donald M. Nebivolol reverses endothelial dysfunction in essential hypertension a randomized, double-blind, crossover study. *Circulation* 2001;104:511-14.
 - 8- Zhang F, Lineaweaver WC, Kao S. Microvascular transfer of the rectus abdominis muscle and myocutaneous flap in rats. *Microsurgery* 1993;14:420.
 - 9- Dunn RM, Huff W, Mancoll J. The rat rectus abdominis myocutaneous flap: a true myocutaneous flap model. *Ann Plast Surg* 1993;31:352.
 - 10- Bayramiçli M. *Deneysel Mikrocerrahi*. İstanbul 2005:515-9.
 - 11- Hartrampf C, Schefflan M, Black P. Breast reconstruction with a transverse abdominal island flap. *Plast Rec Surg* 1982;69:216-25.
 - 12- Hartrampf CR Jr. *Breast reconstruction with living tissue*. New York: Raven Pres, 1990.
 - 13- Doncatto LF, da Silva JB, da Silva VD, et al. Cutaneous Viability in a Rat Pedicled TRAM Flap Model. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119:1425-30.
 - 14- Erdmann D, Sundin BM, Moquin KJ, et al. Delay in unipedicled TRAM flap reconstruction of the breast: A review of 76 consecutive cases. *Plast. Reconstr. Surg* 2002;110:762-7.
 - 15- Scheufler O, Exner K, Andresen R. Investigation of TRAM flap oxygenation and perfusion by near-infrared reflection spectroscopy and color-coded duplex sonography. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:141-9.
 - 16- Shalom A, Friedman T, Westreich M. Effect of aspirin and heparin on random skin flap survival in rats. *Dermatol Surg* 2008; 34:785-90.
 - 17- Torkvist L, Lofberg R, Raud J, et al. Heparin protects against skin flap necrosis: relationship to neutrophil recruitment and anti-coagulant activity. *Inflamm Res* 2004;53:1-3.
 - 18- Akan M, Cakir B, Misirlioglu A, et al. Effects of clopidogrel and high dose aspirin on survival of skin flaps in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2005;39:7-10.
 - 19- Krapohl BD, Siemionow M, Zins JE. Tissue-plasminogen activator restores muscle flap perfusion in the rat. *J Hand Surg Am* 1999;24:1036-44.
 - 20- Willemart G, Knight KR, Morrison WA. Dexamethasone treatment prior to reperfusion improves the survival of skin flaps subjected to secondary venous ischaemia. *Br J Plast Surg* 1998;51:624-8.
 - 21- Jallali N. Dextran in microsurgery: a review. *Microsurg* 2003; 23:78-80.
 - 22- Tyner TR, Tong W, Donovan K, et al. Dichloroacetate Reduces Tissue Necrosis in a Rat Transverse Rectus Abdominis Musculocutaneous Flap Model. *Ann Plast Surg* 2006;56:320-6.
 - 23- Seify H, Bilkay U, Jones G. Improvement of TRAM flap viability using human VEGF-induced angiogenesis: A comparative study of delay techniques. *Plast Rec Surg* 2003; 112:1032-39.
 - 24- Zhang F, Yang F, Hu EC, et al. Vascular endothelial growth factor gene therapy in improvement of skin paddle survival in a rat TRAM flap model. *Rec Microsurg* 2005;21:391-6.
 - 25- Cheng JW. Nebivolol: a third generation beta- blocker for hypertension. *Clin Ther* 2009;31:447-62.
 - 26- Kalinowski L, Dobrucki L.W, Szczepanska-Konkel M, et al. Third-generation beta-blockers stimulate nitric oxide release from endothelial cells through ATP efflux a novel mechanism for antihypertensive action. *Circulation* 2003;107:2747-52.
 - 27- Parenti A, Filippi S, Amerini S, et al. Inositol phosphate metabolism and nitric-oxide synthase activity in endothelial cells are involved in the vasorelaxant activity of nebivolol. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292:698-703.
 - 28- Gosgnach W, Boixel C, Nevo N, et al. Nebivolol induces calcium-independent signaling in endothelial cells by a possible beta-adrenergic pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38:191-9.
 - 29- Ulisse G, Pasini AF, Stranieri C, et al. Effects of Nebivolol on Endothelial Gene Expression during Oxidative Stress in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Mediators Inflamm* 2008;2008:367-590.
 - 30- De Groot AA, Mathy MJ, von Zwietaen PA, et al. Antioxidant activity of Nebivolol in the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;43:148-53.
 - 31- Oelze M, Daiber A, Brandes RP, et al. Nebivolol inhibits superoxide formation by NADPH oxidase and endothelial dysfunction in Angiotensin II-treated rats. *Hypertension* 2006; 48:677-84.
 - 32- Al-Benna S, Grob M. Primary hypotension: a contraindication to free tissue transfer? *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7):2509.
 - 33- Gideroglu K, Alagoz S, Uygur F, et al. Effects of nebivolol on skin flap survival: A randomized experimental study in rats. *Current Therapeutic Research* 2008;69:449-58.
 - 34- Kubli S, Feihl F, Waeber B. Beta-blockade with nebivolol enhances the acetylcholine-induced cutaneous vasodilation. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:238-44.