

## Danazol kullanımının dorsal rat flebi canlılığı üzerine etkileri

Altan Yücetaş<sup>1</sup>, Mehmet Bozkurt<sup>2</sup>, Emin Kapı<sup>3</sup>, Nihal Kılıncı<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Siirt Devlet Hastanesi Plastik Rekonst. ve Estetik Cerrahi Kliniği, Siirt

<sup>2,3</sup> Dicle Üniv. Tıp Fak. Plastik Rekonst. ve Estetik Cerrahi AD, Diyarbakır

<sup>4</sup> 18 Mart Üniv. Tıp Fak. Patoloji AD, Çanakkale

### ÖZET

Vücudun dış örtü tabakası olan cildin büyük defektlerinin kapatılması, rekonstrüktif cerrahinin önemli sorunlarından biridir. Cilt defektlerinin kapatılmasında en uygun fonksiyonel ve estetik yaklaşım, fleplerin kullanılmasıdır. Büyük defektlerin kapatılmasında kullanılan fleplerin boyutları da sınırlıdır. Planlanan flebin boyu uzadıkça flep yaşayabilirliğinde azalma gözlenmektedir. Bu durum kendisini özellikle flep distalinde nekroz ve doku kaybı olarak göstermektedir. Bu sorunları giderebilmek için kan akımını arttıran sempatotik ajanlar ve antikoagülanlar, kanın reolitik özelliğini değiştiren ajanlar kullanılmış, ayrıca iskemik hücrelerde hücre zarı stabilizasyonu sağlanmaya çalışılmıştır.

Danazol, antienflamatuar etkisi bulunan, endometriozis tedavisinde kullanılan zayıf etkili bir gonadotropik hormondur. Bu ajan, dokulara olan antienflamatuar etkisini çok değişik mekanizmalarla gösterir. Bu çalışmada deney hayvanı olarak dişi, erişkin Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Deneysel dorsal rat flebi modelinde random paternli deri flebinin distal kısmında nekroz gelişimini azaltmak ve flebin yaşayabilirliğini arttırmak için antiinflamatuar ve antikoagülan etki mekanizmalarına sahip olabilen danazol kullanılmıştır. Bu yazıda danazolün antienflamatuar etki mekanizmasının yanında, flep canlılığına etkisi üzerine değinilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Danazol, deri flebi, nekroz

### ABSTRACT

#### Effect's of Danazol use on the viability of dorsal rat flap

Repaire of large skin defects is one of the most challenging problem on reconstructive surgery. As known that, the most suitable functional and aesthetic way for flaps are preferable for aesthetic and functional results. But flaps which used for large skin defects length are limited. When the flap's height lengthens, flap surviving decreases. In this situation, necrosis and tissue lost is encorded. To prevent this problems, symphatolytic agents and anticoagulans which increases blood flow and changes reolytic property of blood are used. Moreover, cell membrane stabilization is attempted to be maintained.

Danazol is antiinflammatory agent in the treatment of endometriosis and it has weak gonadotropic activity. In this study twenty female, adult Sprague-Dawley rat were included. Danazol can decrease random pattern skin flap necrosis due to the fact that danazol has anticoagulant and anti-inflammation property. Danazol may used for increasing survival of flap by decreasing development of necrosis on distal part of random pattern skin flap. In this article, we mentioned antiinflammatory mechanism of danazol and influence viability of flap.

**Key words:** Danazol, skin flap, necrosis

### GİRİŞ

Defektlerin onarımında kullanılan fleplerin yaşayabilirliği birçok faktörden

etkilenmektedir. Bu faktörler flebin boyu, dolaşım sistemine ait vasküler faktörler, ek sistemik hastalık, yaş gibi birçok özelliği

**Yazışma Adresi:** Yrd. Doç. Dr. Mehmet BOZKURT, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Diyarbakır

Tel.: 0-532-2760209 E-mail: drmbzkurt@yahoo.com

**Geliş Tarihi :** 25.03.2008

**Yayına Kabul Tarihi :** 20.06.2008



içermektedir<sup>1</sup>. Flep canlılığının olumsuz yönde etkilendiği durumlarda sonuç olarak kısmi ya da tam flep nekrozuyla karşılaşılır.

Flep nekrozu olduğu zaman sekonder iyileşmeye yardımcı olmak amacıyla zaman alan ve tekrarlayan pansumanlar ve hatta ikinci bir operasyon gerekebilmektedir. Bu durum hastanede yatış süresini, morbiditeyi ve maliyeti arttırmaktadır<sup>2</sup>. Bu sorunları giderebilmek için kan akımını arttıran sempatotik ajanlar ve antikoagülanlar, kanın reolitik özelliğini değiştiren ajanlar kullanılmış, ayrıca iskemik hücrelerde hücre zarı stabilizasyonu sağlanmaya çalışılmıştır. Flep canlılığını negatif yönde etkileyen en önemli faktörlerden biri, enflamasyon oluşmasıdır. Danazol, endometriozis tedavisinde kullanılan, sitokinler üzerinden etki göstererek antienflamatuvar role sahip bir ajandır<sup>3</sup>. Dorsal rat flebi, random pediküllü ve deneysel çalışmalarda medikal ajanların dolaşım üzerine etkisinin değerlendirildiği sık kullanılan bir tekniktir<sup>4,5,6</sup>. Bu yazıda, danazolün flep yaşayabilirliği üzerine etkisini deneysel karşılaştırmalı bir çalışma ile sunmak istedik.

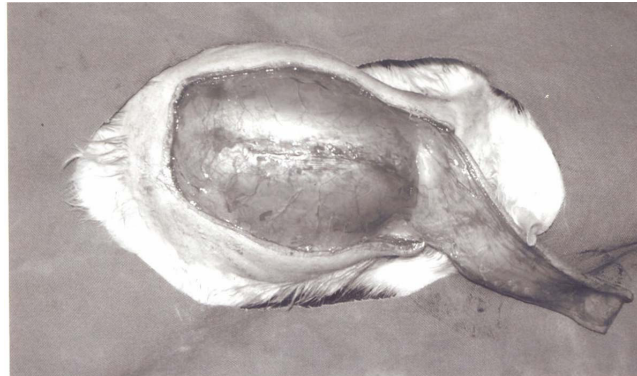
#### GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu (DEHEK) onayı alınarak Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezinde (DÜSAM) yapıldı. Çalışmanın tümü aynı araştırmacı tarafından yürütüldü. Çalışmamız süresince hayvan hakları ile ilgili olarak Ulusal Sağlık

Enstitüsünce (NIH) belirlenen “Hayvan Haklarının Korunması” hususundaki esaslara özenle uyuldu.

Çalışmada deney hayvanı olarak dişi, erişkin, 250 -300 gr. ağırlığında Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Danazol’ün etkinlik ve yan etki profili cinsler arasında farklılık gösterebildiği için deneklerin tek cins (dişi) olmasına özen gösterildi. Çalışmada sıçanların sırt bölgesinden random paternli deri flebi hazırlanması planlandı. Denekler randomizasyon programına göre seçilmiş, her biri 10’ar adetden oluşan kontrol ve danazol grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Deneysel hayvanına intramüsküler (I.M.) 90 mg./kg. Ketamine-HCL (hidroklorür) (ketalar 50 mg./ml. 10 ml. flk. Phizer Warner Lambert) ve 10 mg./kg. Xylazine-HCL (Rompun 50 ml. Bayer) uygulamasıyla anestezi sağlandı. Anestezi derinliği çene ve iskelet kası tonusuyla izlendikten sonra sırtlarındaki tüyler tıraşlandı. Polyvinylpyrrolidone iod (Batticon sol. 1000 ml. Adeka) ile lokal saha temizliği yapıldı. Sonrasında sıçanın sırt bölgesinde pedikülü sefalik tarafta olan 2.5 x 8 santimetre ebadında flep planlandı. Çizilen flep kenarlarından 15 no’lu bistüri ile insizyon yapıldıktan sonra künt disseksiyon ile deri ve pannikulus karnosus’u içerecek şekilde random paternli deri flebi kaldırıldı (Resim 1).



Flep 4/0 atravmatik ipek ile aynı alana sütüre edildi. İşlemler sırasında katı asepti kuralları uygulandı. Operasyon sırasında sıçanın idrar ve dışkı çıkarması durumunda uygulanan ilk dozun üçte bir oranında yeniden anestetik ajan verilerek anestezinin devamı



sağlandı. Bu aşamaya kadar yapılan işlemler tüm deney gruplarına aynı şekilde uygulandı.

Randomize olarak iki gruba ayrılan deneklerden 1. deney grubu, kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruptaki deneklere, plasebo amacıyla preoperatif 1. saatte ve postoperatif 1. günden itibaren izotonik NaCl (izotonik sodyum klorür % 0.9 1000 mililitre Eczacıbaşı/Baxter) 1 cc. olarak gavaj yoluyla verildi. 2. deney grubundaki sıçanlara 3.6 miligram/100 gram Danazol (Danasin tab. 50 miligram, Koçak) 100 mililitrelik su içinde 1000 miligram olacak şekilde süspansiyon haline getirilerek toplam 1 mililitre gavaj yoluyla preoperatif 1. saatte verildi. Postoperatif 1. günden itibaren total doz bir defada ve 24 saatte bir olacak şekilde verildi. Sıçanların ilacı yutup yutmadıkları kontrol edildi, doz gerekirse tekrarlandı.

Postoperatif dönemde hayvanlar tek tek kafeslere yerleştirilip, ısı ve nem oranı sabit odaya alınarak aynı tür yiyeceklerle beslendiler. Çalışmada kullanılan sıçanların araştırma süresince bulunduğu kafeslerde hareket özgürlüğü kısıtlanmadı; yiyecek ve suyu yeterli ölçüde sağlandı. Fizyolojik

gereksinimleri (işemesi, dışkılaması, vücut sıcaklığını devam ettirmesi, normal hareket ve postür ayarlamaları gibi) kısıtlanmadı. Hayvanlar günlük olarak kontrol edildi. Birinci deney grubuna verilen izotonik NaCl solüsyonu ve 2. deney grubuna verilen danazol süspansiyonu postoperatif 7. güne kadar devam edildi. Postoperatif yedinci günde, siyah alanlar ve eskar formasyonu nekroz olarak değerlendirildi (Resim 2) ve bütün fleplerde nekroz alanları milimetrik saydam kağıtlarla ölçülüp kaydedildi. Bu ölçüm sırasında tam kalınlıktaki nekroz alanları nekrotik flep alanlarına dahil edildi. Epidermoliz alanları ise daha sonradan epitelizasyon ile iyileştiğinden dolayı yaşayan flep alanına dahil edildi. Deri flebinde nekroz ve yaşayabilen alanlar şeffaf film tabaka üzerinde işaretlendi. Kaydedilen canlı flep alanları tüm flep alanına bölünüp, canlı flep alan yüzdeleri bulundu. Saydam kağıt üzerinde işaretlenen flep nekroz alanları bilgisayar ortamına aktarılarak SPSS programı ile değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirmede "Student's t-testi" kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.



**Resim 2**

Postoperatif yedinci günde, nekroz ve canlı doku hattından biyopsi alınarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Histopatolojik olarak; cerrahi materyal bir gün süre ile % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Takip eden günde mikroskopik inceleme için rutin takip işlemlerinden sonra parafin bloklara

gömüldü. Bloklardan 4 mikrometre kalınlığında hazırlanan kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

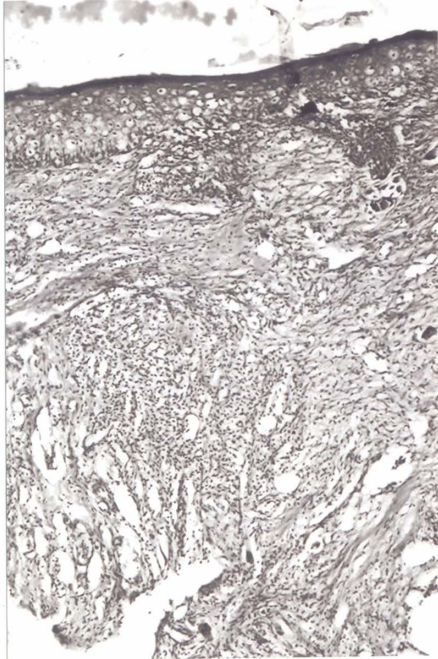


### BULGULAR

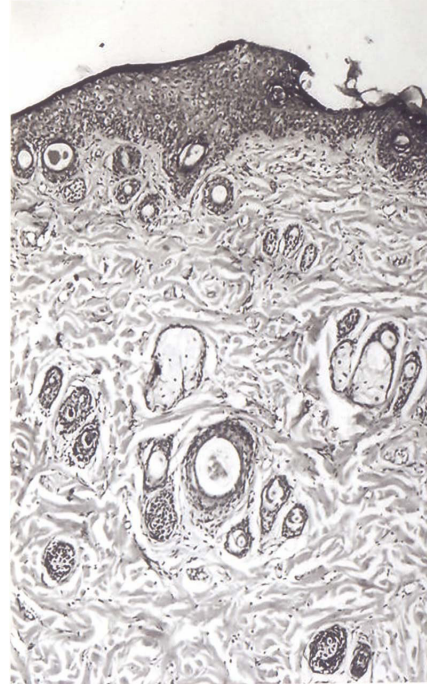
Sıçanların sırt bölgesinden hazırlanan sefalik pediküllü random paternli deri fleplerinin postoperatif yedinci günde makroskopik olarak değerlendirilmesi sonrası danazol grubunda distal flep nekrozunun kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü (Tablo 1). İstatistiksel olarak değerlendirme yapıldığında; yine aynı şekilde danazol kullanılan grupta, kontrol grubuna kıyasla flep nekroz oranlarında anlamlı derecede azalma gözlemlendi ( $p < 0.05$ ).

Histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde; 1. grupta mikroskopik inceleme-

ede; histopatolojik kesitlerde, çok katlı yassı epitelle örtülü dokuda, epidermiste yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu, dermiste ödem ve ter bezleri ile kıl foliküllerinin yerini iltihabi hücre infiltrasyonunun aldığı izlendi (Resim 3). 2. grupta ise mikroskopik incelemede; histopatolojik kesitlerde, çok katlı yassı epitelle örtülü dokuda, epidermiste minimal iltihabi hücre infiltrasyonu, dermiste deri ekleri ve damarlar etrafında çok az sayıda iltihabi hücre infiltrasyonu ve minimal ödem izlendi (Resim 4).



Resim 3 (H&E, X100).



Resim 4 (H&E, X100).

### TARTIŞMA

Cerrahi travma ve iskemi, flepte akut olarak inflamatuvar cevabın oluşmasına neden olur. Flep elevasyonu sırasında oluşan inflamasyon ve sonuçta ortaya çıkabilen ödem nedeni ile yıkıcı bir etki oluşabilir. Bu durum da iskemik fleplerin yaşayabilirliğini azaltmaktadır.

Endometriozis üzerine yapılan çalışmalarda, bu hastalıkta sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin arttığı ve inflamasyonun yoğun olarak görüldüğü

tespit edilmiştir<sup>7,8,9</sup>. Bu hastalığın patogeneğinde sitokinlerin rolü üzerine odaklanmıştır<sup>10,11,12</sup>. Yapılan çalışmalarda endometriozis tedavisinde kullanılan danazolün doza bağımlı olarak sitokinleri azalttığı tespit edilmiştir<sup>3,8,13</sup>. Sitokinler, inflamasyona cevap olarak başlıca nötrofil, makrofaj ve endotel hücrelerinden sentez edilen proteinler olup, inflamasyonun düzenlenmesinde ve devamında önemli role sahip mediyatörlerdir<sup>14,15,16</sup>. Bu etkilerini özellikle endotelial adezyon moleküllerinin

yüzey düzenlenmesini ve endotelin yüzey trombojenisitesini arttırarak sağlarlar. Ayrıca proinflatuar sitokinlerden olan TNF-alfa ise hem nötrofil hem de endotel bağımlı adezyonu sağlar<sup>17</sup>. Önemli sitokinlerden olan TNF-alfa ve IL-1'in, adezyon moleküllerine etkileri bulunmaktadır. Bunun yanı sıra bu sitokinlerin; nötrofil sayısını, prostoglandin sentezini, platelet aktive edici faktörü arttırarak inflamasyonun devamını sağlama gibi etkileri de vardır<sup>14,16,17</sup>. Çalışmalar, doku hasarı ile dokuda nötrofil birikimi arasında sıkı bir ilişki olduğunu göstermiştir<sup>14,17,18</sup>. Deneysel iskemi reperfüzyon modellerinde, dolaşımdaki nötrofillerin yok edilmesiyle doku hasarının azaltıldığı ispat edilmiştir. Hızlı intravasküler nötrofil birikimi progressif olarak perfüzyon azalmasına neden olmaktadır<sup>18</sup>. Sitokinler intravasküler alanda adezyon moleküllerini arttırarak, nötrofillerin damar içindeki hareketlerinde yavaşlama oluşmasına neden olurlar. Sonuçta nötrofiller damar endoteline yapışma eğilimi gösterirler. Sitokinlerin bir diğer etkisi de, dolaşımdaki nötrofil sayısını arttırmaktır<sup>20</sup>. Tüm bu etkiler nedeniyle, nötrofiller damar lümeni içerisinde birikerek agrege olur ve mikrovasküler oklüzyon oluşur, iskemi artarak devam eder, sonuçta da hücre ve dokuda hasar artmaya başlar. Nötrofiller direkt olarak damar endotelinde hasar oluşturarak da vasküler bütünlüğü bozabilir. Bu durum ödem, kanama ve trombozla sonuçlanabilir<sup>17,18</sup>.

Deri flep kaybının altında yatan vasküler kollapsı açıklamak için iskemi, inflamasyon ve sempatektomi kombinasyonları ileri sürül-müştür. Ayrıca yeterli besin sirkülasyonu sağlanamazsa flep hasarının geri dönüşümsüz hale geldiği ifade edilmiştir<sup>19</sup>.

Protein C ve protein S, pıhtılaşma sisteminde rol oynayan faktör 5a ve faktör 8a'yı inaktive etme yeteneğine sahip, vitamin K'ya bağımlı iki proteindir. Antikoagülan özelliindedirler<sup>21</sup>. Ruiz-Arguelles ve ark. yaptıkları çalışmada danazol kullanımıyla serbest protein-S

miktarında artış tespit edilmiştir<sup>22</sup>. Al-momen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada danazolün hem protein-C hem de protein-S'yi arttırdığı belirtilmiştir<sup>23,24</sup>. Herediter tip-1 protein S eksikliğinde danazol kullanımıyla ilgili yapılan bir çalışmada bu ilacın kullanımıyla protein S aktivitesinde artış tespit edilmiştir. Aynı çalışmada danazolün plazminojeni, doku plazminojen aktivatörlerini arttırdığı ve plazminojen aktivatör inhibitör 1'i azalttığı tespit edilmiştir<sup>25</sup>. Güçlü antikoagülan aktiviteye sahip olan plazminojen aktivatörleri iki tiptir. Birincisi plazmada bulunan ve ürokinaz benzeri aktivatörlerdir ve plazminojeni direkt olarak aktive ederler. İkincisi doku plazminojen aktivatörleridir. Bunlar başlıca endotel hücreleri tarafından sentez edilirler ve fibrine yapıştığı zaman aktive olurlar. Fibrine olan ilgisi nedeniyle doku plazminojen aktivatörleri daha güçlü antikoagülan özelliğe sahiptir. Plazminojen ayrıca bir bakteri ürünü olan streptokinaz tarafından da aktive edilir<sup>21</sup>. Flep yaşayabilirliğini arttırmak amacıyla çeşitli plazminojen aktivatörleri kullanılmıştır. Güçlü antikoagülan olan bu ajanların fleplerde distal ve global nekrozu azaltabildiği belirtilmiştir<sup>26,27,28</sup>.

Danazolün antikoagülan etkisi protein C, protein S ve plazminojen aktivasyonu dışında, plateletlerin uyarılmasını engelleyen p-selektini inhibe ederek de olur<sup>18,23</sup>. Danazolün p-selektini inhibe etmesi plateletlerde azalmanın haricinde sayısız süre gelen trombojenik olayların da baskılanmasına neden olur. Danazol kullanımıyla trombin oluşumunda azalma meydana gelir. Bu durum platelet ve endotelial hücrelerin aktive olabileme kabiliyeti ile von-willebrand faktör salınımının yanı sıra, platelet ve lökositlerin p-selektin aracılı etkileşimini azaltmakta, dolayısıyla fibrin birikimi için potansiyeli en aza indirmektedir<sup>23</sup>.

PAF gibi lipid mediatörleri integrin/ICAM-1 aracılı nötrofillerin damar endoteline adezyonunu başlatmada önemli rol oynarlar. Kas-deri flebi iskemi-

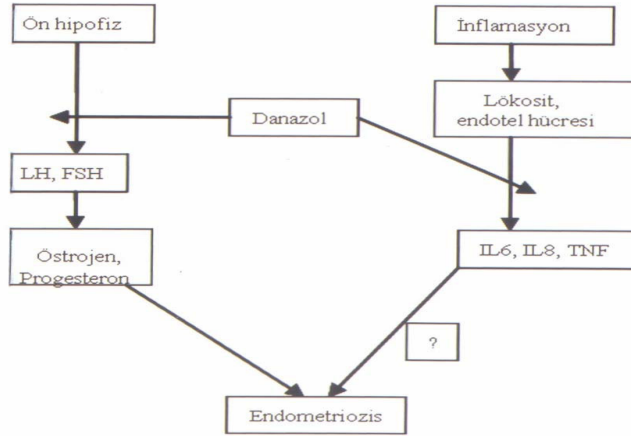


reperfüzyon modelinde PAF inhibisyonunun nötrofil birikimini azalttığı ve hem deri hem de kas canlılığını arttırdığı gösterilmiştir. PAF salınımının artmasını sağlayan

Steroid yapıda olan ve antiinflamatuvar etkinliğe sahip danazolün prostoglandin sentezi ve tromboksan-A2'ye etkinliği araştırılmamıştır. Ancak danazolün inflamasyonda düzenleyici role sahip olan

sitokinlerin danazol tarafından doza bağımlı olarak azaltıldığı bir çok çalışmada gösterilmiştir<sup>18</sup>. Danazol bu etkisi sayesinde flep yaşayabilirliğini arttırabilir.

sitokinlere etkinliği bilinmektedir<sup>8,13,29</sup>. Danazol prostoglandinlerin ve tromboksan-A2'nin sentezini arttıran sitokinleri baskılayarak distal flep nekrozunu azaltabilir (Şekil 1).



**Şekil 1**

Danazolün dokulara olan etkisini çok değişik mekanizmalarla gösterdiği görülmüştür<sup>30</sup>. Bu çalışmada görülen flebin distalinde nekroz gelişimini azaltarak, yaşayabilirliğini arttırması bu karmaşık etki mekanizmalarıyla oluşmuş olabilir. İnflamasyonda rol alan hücrelerin ve kimyasal maddelerinin trafiğini düzenleyen sitokinleri baskılayarak, nötrofil-endotel hücre adazyon moleküllerini direkt ve indirekt yolla etkileyerek inflamasyonu baskıladığı düşünülmektedir<sup>3,8,17</sup>. Ancak sitokinler tarafından aktive edildiği düşünülen nötrofil ve endotel kaynaklı adezyon moleküllerinin danazol kullanımıyla değişip değişmediği şimdiye kadar yapılan çalışmalarda genellikle tartışmalı sonuçlar vermiştir<sup>23</sup>. Bu ilacın inflamasyonu baskılaması ise birçok çalışmada gösterilmiştir<sup>8,13,29</sup>. Danazol inflamasyonu baskılayarak nötrofillerin direkt veya indirekt olarak doku hasarı oluşturmasını engelleyebilir, doku ödemi

azaltabilir, dolayısıyla flep yaşamına katkı sağlayabilir. Deri flebinin distalinde nekroz gelişimini azaltarak, yaşayabilen doku alanında artış sağlaması antiinflamatuvar etkisi yanında antikoagülan etkisinin katkısıyla da oluşmuş olabilir.

Sonuç olarak cilt defektlerinin kapatılmasında en sık kullanılan cerrahi yöntem olan random paternli deri fleplerinin yaşayabilirliğinin arttırılması amacıyla bu güne kadar birçok çalışma yapılmıştır. Danazol'un random paternli deri flebinin yaşayabilirliği üzerine etkisi araştırılmamıştır. Mide-bağırsak sisteminden iyi absorbe edilen danazolün kullanım kolaylığı, avantajıdır. Ancak birçok organda farklı fizyolojik mekanizmalarla değişik etkilere yol açması, yan etkileri arttırmaktadır. Bu durum, dezavantajıdır. Ancak antiinflamatuvar etkinliği ile antikoagülan etkinliğinin doza bağımlı olarak değişmesi ilacın avantajı olabilir. Dolayısıyla flep



yaşayabilirliğine katkı sağladığı ve olumsuz etkilerinin daha az görüldüğü doz aralığının bulunması için çalışmaların sürmesi gerekmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Yavuz M, Flepler. Acarturk S (ed). *Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Ders Notları*, No:21. Adana, 2002: 17-22.
2. Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. Achauer BM (ed). *Plastic Surgery Indications, Operations and Outcomes*, 2<sup>nd</sup> ed. California, 2000: 261-290.
3. Fan QU, Zhou J, Baozhang MA. The effect of chinese herbs on the cytokines of rats with endometriosis. *J Altern Complement Med* 2005; 11:627-630.
4. Carvalho EN, Ferreira LM, Carvalho NAS et al. Viability of random pattern dorsal skin flap in diabetic rats. *Acta Cir Bras* 2005; 20:225-229.
5. Gulmez SE, Serel S, Uluç A ve ark. Dipyron increases the blood flow of arterial dorsal skin flaps. *Aesthetic Plast Surg* 2008; 32: 766-770.
6. Ghazinezami B, Rahimpour S, Gholipour T et al. Pharmacologic preconditioning of random-pattern skin flap in rats using local cyclosporine and FK-506 interaction with nitric oxide system. *Ann Plast Surg* 2007;59:435-440.
7. Kyama CM, Debrock S, Mwenda JM, et al. Potential involvement of the immune system in the development of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;2:123-127.
8. Mori H, Nakagawa M, Itoh N et al. Danazol suppressed the production of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor by human monocytes. *Am J Reprod Immunol* 1990; 24:45-50.
9. Harada T, Iwabe T, Tarakawa N. Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 76:1-10.
10. Markowska J, Kowalska M, Gogacz M et al. Cytokines and endometriosis. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2004; 31:269-270.
11. Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49:285-296.
12. Iwabe T, Harada T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53:19-25.
13. Matalliotakis I, Neonaki M, Zolindaki A et al. Changes in immunologic variables (TNF-a, sCD8 and sCD4) during danazol treatment in patients with endometriosis. *Int J Fert Women's Med* 1997; 42:211-214.
14. Clarkson TB, Herndan CN, Holleman IL, Flaps. Morehead RP (ed). *Human Pathology: An Introduction to Medicine*, 1<sup>st</sup> ed. UK, 1965: 97-127.
15. Ozmen N, Cebeci BS, Kardesoğlu E. Kalp yetersizliğinde inflamatuvar göstergeler. *Anadolu Kardiyol Derg* 2006; 6:51-54.
16. Lichtman AH, Jordan SP. Immunology. Abbas AK (ed). *Cellular and Molecular Immunology*, 5th. ed. UK, 2003: 243-275.
17. Kumar V, Cotran RS. Acute and Chronic Inflammation. Robbins SL (ed). *Basic Pathology*, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia, 1992: 25-46.
18. Vedder NB. Flaps. Mathes SJ (ed). *Plastic Surgery*. 2th ed. Philadelphia, 2006: 483-506.
19. Fracs J, Byrd H. Surgical flaps. Kayser MR (ed). *Selected Readings in Plastic Surgery*, vol 9, number 2. Byler, 1999: 3-44.
20. Monaco JL, Lawrence TM. Acute wound healing; An overview. *Clin Plast Surg* 2003; 57-65.
21. Özbay G. Kan akımı bozuklukları ve şok. *Cerrahpasa Tıp Fak Derg* 1992;61-82.
22. Ruiz-Argulles GJ, Ruiz-Argulles A, Perez-Romano B et al. Protein S deficiency associated to anti-protein S antibodies in a patient with mixed connective-tissue disease and its reversal by danazol. *Acta Haematol* 1993; 89: 206-208.
23. Ledford MR, Horton A, Wang G et al. Efficacy of danazol in a patient with congenital protein s deficiency: Paradoxical evidence for decreased platelet activation with increased thrombin generation. *Thromb Res* 1997;87:473-482.
24. Al- Momen AK, Gader AMA, Shamena AR et al. Significant elevation of Protein C and Protein S levels in thrombotic disorders by low dose danazol. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991; 2: 495-499.
25. White INH. Metabolic activation of acetylenic substituents to derivatives in the rat causing the loss of hepatic cytochrome p-450 and haem. *Biochem J* 1978;174: 853-861.
26. Tonks AM. Streptokinase salvage of a rectus abdominis free flap. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95:933-936.

27. Senderoff DM, Zhang WX, Israeli D et al. The additive beneficial effect of UW solution and urokinase on experimental microvascular free-flap survival. *J Reconstr Microsurg* 1993;9:197-202.

28. Khouri RK, Koudsi B, Kaiding F et al. Prevention of thrombosis by topical application of tissue factor pathway inhibitor in a rabbit model of vascular trauma. *Ann Plast Surg* 1993; 30: 398-402.

29. Akoum A, Lemay A, Paradis I et al. Secretion of interleukin-6 by human endometriotic cells and regulation by proinflammatory cytokines and sex steroids. *Hum Reprod* 1996; 11:2269-2275.

30. Morley KD, Parke A, Hughes GRV. Systemic lupus erythematosus: two patients treated with danazol. *BMJ* 1982;1431-1432.

