

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**OMEGA-3 YAĞ ASİDİ'NİN TOTAL VENÖZ YETMEZLİK  
OLUŞTURULMUŞ  
ADA FLEPLERDE YAŞAYABİLİRLİK ÜZERİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI  
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

**Dr. Amirali Navaei**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Erdem Yormuk**

2007-ANKARA





## ÖNSÖZ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Erdem YORMUK, Prof. Dr. Mustafa R. ÖZBEK, Prof. Dr. Kutlu SEVİN, Prof. Dr. M. Serdar GÜLTAN, Prof. Dr. Murat EMİROĞLU, Prof. Dr. Zeki CAN ve Op. Dr. Savaş Serel 'e beni yetiştirdikleri için teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Ayrıca başından sonuna tezimin her aşamasında yardım eden Dr. Amirhasan Navaei'ye, yoğun çalışma temposuna rağmen özveride bulunup değerli bilgileriyle tezime katkıda bulunan Dr. Aycan Erkan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|  |     |
|--|-----|
| Kabul ve Onay  | i   |
| Önsöz  | ii  |
| İçindekiler  | iii |
| Şekiller   | iv  |
| Tablolar   | v   |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                      | 1   |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                             | 2   |
| 2.1. Rat Epigastrik Flep Anatomisi                   | 2   |
| 2.2. Hemostaz ve Koagülasyon Mekanizmaları           | 4   |
| 2.3. Omega-3 Yağ Asidi ve etki mekanizmaları         | 5   |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>                            | 10  |
| 3.1 Deney Hayvanları                                 | 10  |
| 3.2. Gereçler  | 11  |
| 3.3 Yöntem   | 13  |
| 3. 4. Nekroz Yüzdesinin Ölçümü ve Patolojik İnceleme | 18  |
| <b>4. BULGULAR</b>                                   | 20  |
| 4.1. Makrosopik Bulgular                             | 20  |
| 4.2. Planimetrik Bulgular                            | 24  |
| 4.3. Histopatolojik Bulgular                         | 25  |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                                   | 27  |
| <b>6. SONUÇ</b>                                      | 38  |
| <b>7. ÖZET</b>                                       | 39  |
| <b>8. SUMMARY</b>                                    | 40  |
| <b>9. KAYNAKLAR</b>                                  | 41  |

## ŞEKİLLER

|   |    |
|---|----|
| Şekil 2.1: Rat epigastrik flebinin anatomisi  | 3  |
| Şekil 2.2: Rat epigastrik flebinin anatomik eksplorasyonu   | 3  |
| Şekil 2.3: Alfa-Linolenik Asit'in kimyasal yapısı( 18:3, ALA).  | 5  |
| Şekil 2.4: Sonucunda Araşidonik asitten yapılan 3-serisi Eikoznoidler; TMX A3, PGI3, vs. gibi ürünlerde artış görülmektedir | 8  |
| Şekil 3.1: Cerrahi gereçler   |    |
| Şekil 3.2: Rat karnının tüylerden temizlenmiş hali..  | 13 |
| Şekil 3.3: Rat karnında 3x6 cm boyutlarında epigastrik felp planlaması.   | 14 |
| Şekil 3.4: Epigastrik fleplerin ada flep olarak kaldırılmış hali.   | 15 |
| Şekil 3.5: Epigastrik ada fleplerin yakından görünümü.  | 15 |
| Şekil 3.6: İnferior epigastrik arter, ven ve siniri içeren pedikülün görünümü   | 16 |
| Şekil 3.7: İnferior epigastrik venin izolasyonu ve segment çıkarılması.   | 16 |
| Şekil 3.8: Orogastrik kateterden yapılan ilaç enjeksiyonu.  | 18 |
| Şekil 4.1: Kontrol grubunda postoperatif 1. saatte flepteki venöz yetmezlik   | 21 |
| Şekil 4.2: Kontrol grubunda postoperatif 3. günde fleplerdeki total nekroz gelişimi.  | 22 |
| Şekil 4.3: Deney grubunda postoperatif 1. saatteki flebin görünümü.   | 22 |
| Şekil 4.4: Deney grubunda postoperatif 3. günde flebin görünümü.  | 23 |
| Şekil 4.5 Deney grubunda sadece bir denekte ortaya çıkan postoperatif 7. gün flep görünümü.                                 | 23 |
| Şekil 4.11: Deney grubunda postoperatif 3. günde flepteki nekroz görünümü .(H.E.X10)  | 25 |
| Şekil 4.12:Kontrol grubunda postoperatif 3. günde flepteki nekrozun görünümü. (H.E.X5)                                      | 26 |

## TABLÖLAR

|  |    |
|--|----|
| Tablo 4.1: Sağ taraf fleplerindeki nekroz yüzdelerinin karşılaştırılması | 24 |
| Tablo 4.2: Sol taraf fleplerindeki nekroz yüzdelerinin karşılaştırılması | 24 |

## 1. GİRİŞ

Doku kayıplarının onarımı Plastik Cerrahi'nin başlıca amaçlarından birini oluşturur. Bunun içinde temel iki yöntem flep ve greft uygulamalarıdır. Yapılarının daha karmaşık olması ve kapatılması güç olan doku kayıplarının onarımında kullanılmaları nedeni ile flepler her zaman yoğun bir ilgi odağı olmuşlardır.

Moleküler biyoloji dalında gelişmelerle birlikte plastik cerrahi alanında özellikle flap çalışmalarında birçok farmakolojik ajanın moleküler mekanizmaları araştırılmaya başlanmıştır. Değişik doku faktörleri ve hücrel sinyal moleküllerinin flap yaşayabilirliği üzerinde ki etkileri halen araştırma konusu olmaya devam etmektedir.

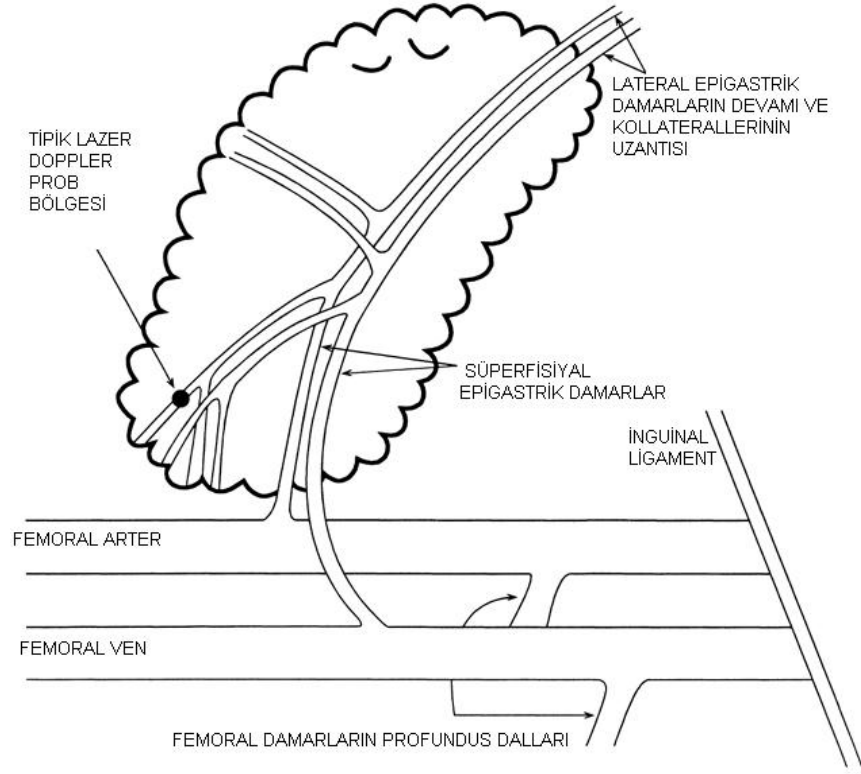
Günümüzde popüler olan ve birçok araştırmaya konu olmuş bir diğer madde ise Balık yağıdır. Balık yağı, omega-3 yağ asitlerinden zengin bir besin olması ve özellikle kalp-damar sistemi üzerinde gösterdiği koruyucu etkiler nedeniyle ün kazanmıştır. Omega-3 yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) ailesinden olup besinler aracılığıyla vücudun kullanımını için sağlanması zorunludur.

Bu çalışmada total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde Omega-3 yağ asitlerinin vazokonstrüksiyon , trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu azaltarak flep yaşayabilirliği üzerindeki etkisi araştırılmış böylece yeterince bilgi sahibi olmadığımız bu konuda temel bilgiye katkı sağlanması amaçlanmıştır.

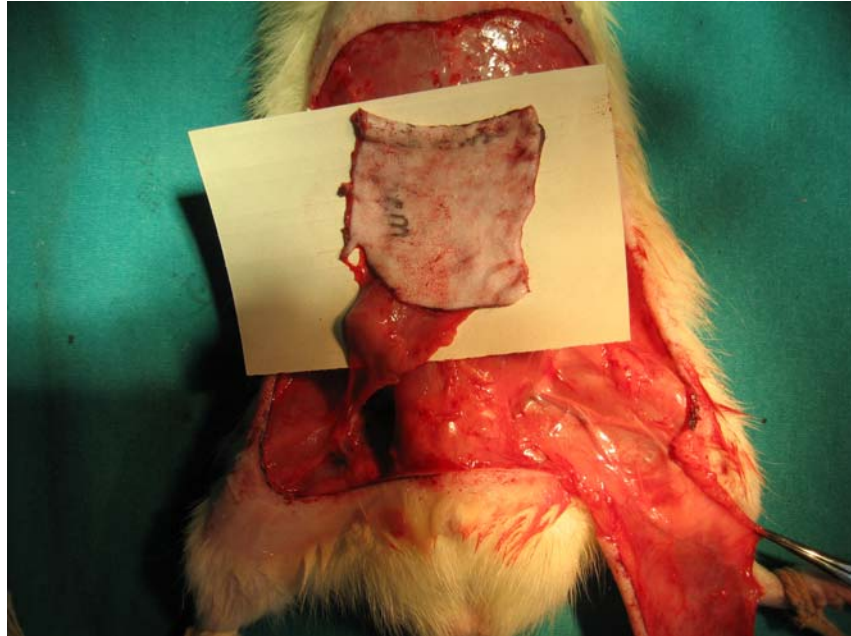
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Rat Epigastrik Flep Anatomisi

Ratlarda epigastrik flep aşağıda kasıktan başlayıp yukarıda ksifoide kadar, medialde orta hatttan başlayıp lateralde ise abdominal derinin bitip sırt derisinin başladığı sınıra kadar planlanabilir. Epigastrik flebin pedikülü süperfisiyel epigastrik arter ve ven'dir. Süperfisiyel epigastrik damarların vasküler patterni sabittir, çok fazla değişkenlik göstermez. Ana süperfisiyel epigastrik trunkus kasıkta femoral arter ve venden dallanarak karın duvarı derisine girer. Ana trunkusun küçük bir dalı medial karın derisine uzanarak sefalik yönde vertikal olarak çıkar ve internal mammarial damarlar ile anastomoz yapar. Süperfisiyel epigastrik trunkusun büyük bir kısmı geniş bir damar olarak yukarı doğru midlateral hatta uzanarak lateral torasik arter dalları ile anastomoz yapar (Şekil 2.1). Süperfisiyel epigastrik trunkusun lateral dallanması değişkenlik gösterir. Aynı şekilde lateral torasik arterden kollateral ile beslenmesi de değişkenlik gösterir. Ratlarda epigastrik flep planlanacağı zaman distal uç proksimal uca göre daha iskemik olduğundan süperfisiyel epigastrik trunkusun lateral dalı mümkün olduğunca flebin uç kısmına kadar flebe dahil edilir (Şekil 2.2). Süperfisiyel epigastrik trunkusun lateral dalının anatomisi sabit olmadığından flep kaldırılırken medialden laterale doğru kaldırılmalı ve damarlar flebin altında görüldüğünde bu damarlar flebe dahil edilerek lateral insizyon yapılır (4).



Şekil 2.1: Rat epigastrik flebinin anatomisi.



Şekil 2.2: Rat epigastrik flebinin anatomik eksplorasyonu.

## 2.2. Hemostaz ve Koagölasyon Mekanizmaları

Hemostaz, kan kaybının önlenmesi ve kanamanın durdurulması olarak tanımlanabilir. Hemostazı sağlayan mekanizmalar:

1.Kan kaybının önlenmesi amacıyla:

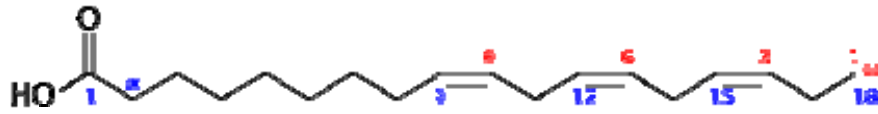
- Damarların yapısal bütünlüğünün sağlanması
- Trombosit fonksiyonlarının yerine getirilmesi

2.Kanamanın durdurulması amacıyla:

- Damar yapılarında reaksiyonel değişikliklerin (vazokonstrüksiyon gibi) oluşması
- Trombosit pıhtısının meydana gelmesi
- Kanın koagölasyonu, olarak sıralanmaktadır.

### 2.3. Omega-3 Yağ Asidi ve Etki Mekanizması

Omega-3 yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) ailesinden olup besinler aracılığıyla vücudun kullanımı için sağlanması zorunludur. Omega-3 terimi ("n-3", "ω-3" olarak da kullanılır) ilk çift bağın, karbon zincirin ucundaki (ω) metil grubundan itibaren sayılınca 3. karbon-karbon bağı olduğu anlamına gelir (şekil 2.3). İnsan beslenmesinde önemli olan omega-3 yağ asitleri şunlardır: alfa-linolenik asit (18:3, ALA), eikosapentaenoik asit (20:5, EPA) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, DHA). Bu üç doymamış yağda, sırasıyla 18, 20 veya 22 karbonlu bir zincirde 3, 5, veya 6 çift bağ vardır. Çift bağların hepsi *cis*-biçimindedir, yani hidrojen atomları çift bağın aynı tarafındadır. Balık yağı özellikle EPA ve DHA için önemli bir besin kaynağıdır. Yabani Somon, Ringa balığı, Uskumru, Hamsi ve Sardalye gibi yağlı soğuk su balıkları Omega-3 yağ asitlerinden zengindirler. Rat'ların normal günlük besinleri ALA, EPA ve DHA ÇDYA 'larından fakirdir fakat besinlerine balık yağı eklenmesiyle birlikte dokulardaki EPA ve DHA düzeylerinde belirgin artış gösterilmiştir.(88)



Şekil 2.3: Alfa-Linolenik Asit'in kimyasal yapısı( 18:3, ALA).

Yapılan araştırmalar sonucunda n-3 ÇDYA'lerinin plazma lipid düzeyi regülasyonu, insülin etkisi, kalpdamar sistemi ve bağışıklık sistemi, sinir gelişimi ve görme duyusu gibi normal sağlık koşullarındaki ve kronik hastalıkların mekanizmalarında rol oynayan çeşitli fizyolojik olaylarda etkisi gösterilmiştir.(88)

Omega-3 ÇDYA'lar sindirildikten sonra neredeyse bütün hücrelere yayılırlar ve hücre zar yapısı ve işlevi, eikozanoid sentezi, hücre sinyal iletimi ve gen ekspresyonu gibi çok sayıda işlevde görev alırlar. Ancak hücrelerin ÇDYA'ların kompozisyonunda meydana gelen değişikliklere gösterecekleri tepkiler hücreye özel lipid metabolizması ve yağ asidi ile regüle edilen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunda meydana gelen değişikliklerle belirlenir.

Besinle alınan esterifiye olmamış yağ asitleri (YA) vücuda girdikten sonra hızlı bir biçimde YA taşıyıcılarıyla hücre içine taşınır ve Acyl-Coa sentaz enzimi aracılığıyla YA-Coa tioesterlerine çevirilirler. YA-Coa'lar nötr lipidler kolesterol ve trigliserol ve yüklü lipidlerin ( fosfolipidler, sfingolipidler, plazmatogenler) sentezi için substrat olarak kullanılırlar, aynı zamanda elongasyon, desatürasyon, beta oksidasyon ve protein açılasyon reaksiyonlarında görev alırlar. 18 ile 20 ve 22 karbonlu ÇDYA'lerinin hücre içi metabolize olduğu yöntemler hücrenin bir çok regülatuar mekanizmasını etkilemektedir böylece çok sayıda fizyolojik mekanizmayı aynı anda etkilemiş olurlar. Burada ben özellikle bu mekanizmaların bazılarını değinmek istiyorum.(88)

Lipid raftları ÇDYA'ların etki gösterdiği en önemli odaklardan birisidir. Lipid raftları hücre zarında kolesterol ve sfingolipidlerden zengin, birçok zar protein'ine (src kinaz, G-proteini, kaveolin ve Gp 43 ailelerinden) yataklık eden ve hücre zarı invajinasyonu, endositoz, kolesterol alışverişi ve sinyal iletimi gibi geniş fonksiyonlara sahip alanlardır. ÇDYA'lar Lipid raftların protein ve fosfolipid'lerine etki ederler. Bu etkilerden en iyi tanımlanmış olanlarından bir tanesi ÇDYA'ların anti-inflamatuar özellikleridir.

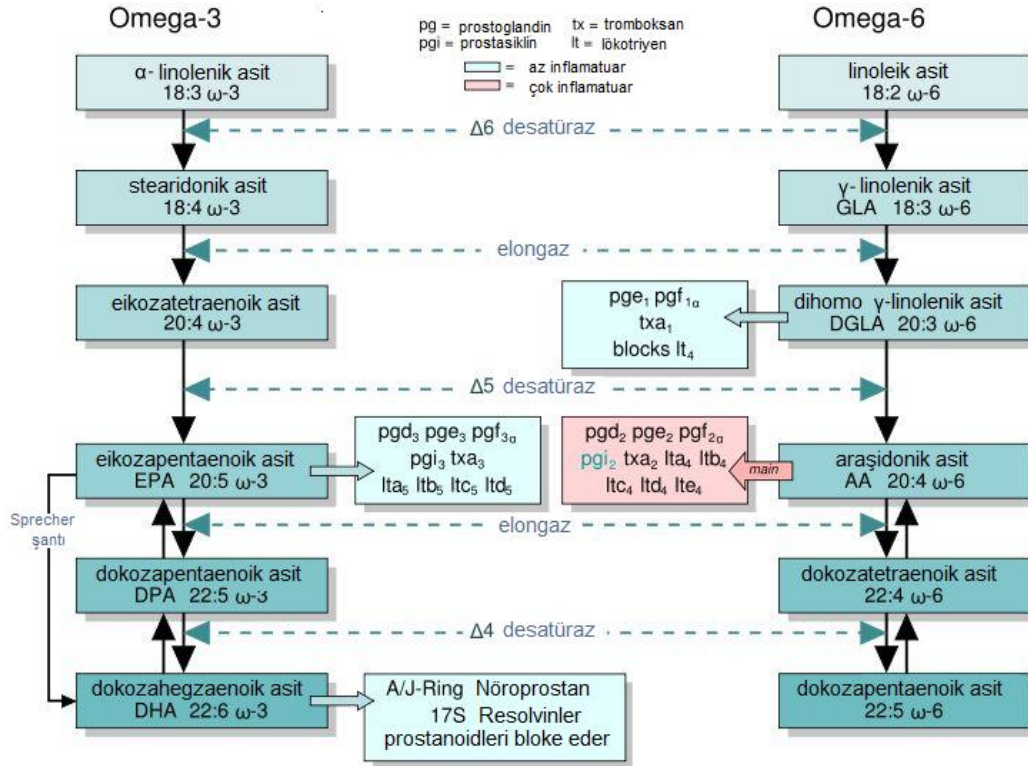
Anti inflammatuar özellikleri iki şekilde; Eikozanoid'ten bağımsız ve Eikozanoidler üzerindeki etkiler sonucu oluşur. Eikozanoid'ten bağımsız olarak ÇDYA'lar (n-6 ve n-3 her ikisi de) Lipid raftların fosfolipid kompozisyonunu değiştirerek T-hücre aktivasyonu için gerekli ko-stimülatör yüzey proteinlerinin(src kinaz ailesinden Lck ve Fyn) hücre zarına tutunmasını azaltarak bu proteinlerin sayısını azaltırlar böylece THR( T-hücre Reseptörü) iletimi azalır ve inflamasyon gerçekleşemez.(88)

ÇDYA'ların Eikozanoidler üzerinde yaptığı değişiklikler ise Anti-inflamatuar, Anti-agregasyon ve vazodilatasyon gibi etkiler yaratır. ÇDYA'lar Eikozanoidlerin değişik mekanizmalarla aktivitelerini değiştirmeleri nedeniyle önemli regülatörlerinden biri olma niteliğini taşırlar.

Eikozanoidler, ÇDYA'lardan fosfolipazların etkisiyle fosfolipidlerden koparıldıktan sonra siklooksijenaz (COX1,2), lipooksijenaz (LOX) ve sitokrom p450 monooksijenaz (CYP) enzimleri aracılığıyla yapılırlar.

COX ürünleri tromboregülatuar, inflammatuar ve kemoatraktan özellikler gösterirken LOX ürünleri vasküler geçirgenlik, vazokonstrüksiyon ve bronkokonstrüksiyon üzerine etki gösterirler. ÇDYA'lar daha önceden de söylediğimiz gibi Eikozanoid yapımını birden çok mekanizmayla regüle ederler. N-3 ÇDYA'lar Araşidonik asite kıyasla COX ve LOX enzimleri için daha az substrat özelliği taşırlar aynı zamanda bu enzimlerle etkileşime girdiklerinde enzimin etkinliğini azaltan yapısal değişikliklere yol açarlar. Bunlara ek olarak n3 ÇDYA'lar Eikozanoidlerin peroksizomal yıkımını da arttırlar.(88)

Bu değişiklikler sonucunda Araşidonik asitten yapılan Eikozanoidlerde ( 2-serisi eikozanoidler; TXA2, vs.) azalma olurken n3 ÇDYA'larından yapılan Eikoznoidlerde ( 3-serisi Eikoznoidler; TMX A3, PGI3,vs.) artış görülmektedir (şekil -2.4).(90)



Şekil 2.4: Sonucunda Araşidonik asitten yapılan 3-serisi Eikoznoidler; TMX A3, PGI3, vs. gibi ürünlerde artış görülmektedir

Eikozanoid içeriğinde oluşan bu değişiklikler sonucunda aşağıdaki etkiler oluşur: 1) etkin proinflammatuar olan prostaglandin E2 (PGE2), Tromboksan B2 (TXB2), lökotrin B4 (LTB4), 5-hidroksi eikosatetraenoik asit (5-HETE) ve lökotrin E4'ün (LTE4) azalmasıyla Anti-inflamatuar etki, 2) TMXA2/TMXA3 oranının azalması, PGI3 artması (91) ve PDGF gen ekspresyonunun azalması (93) sonucunda trombosit fonksiyonunu düzeltici ve anti-agregan etki, 3) PGI3 ve PGI2 birikmesi ( PGI2 düzeyi diğer 2-serisi Eikoznoidlerden farklı olarak etkilenmez) sonucunda vazorelaksasyon etkisi meydana gelir.(90)

Omega-3 Yağ asitlerinin damar üzerindeki endotel bağımlı vazorelaksasyonu prostanoide (eikozanoid) bağımlı ve prostanoide bağımsız olarak iki mekanizmayla gerçekleşmektedir (94). Prostanoide bağımsız olarak

meydana gelen vazorelaksasyon NO ve endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EBHF) aracılığıyla gerçekleştiği iyi bilinmektedir (94). EBHF potasyum kanalları üzerinde etki ederek hiperpolarizasyona sebep olur ve vazorelaksasyon meydana gelir. NO'nun vazorelaksasyon mekanizması yukarıda belirtilmiştir. ÇDYA'ların NO salınımını arttırmasıyla ilgili yapılan mekanizma araştırmalarında EPA'nın normalde hücre zarında lipid raflarındaki Kaveolin proteinlerine yapışık olarak bulunan eNOS'u yerinden kopartarak aktivasyonuna sebep olduğu böylece kalsiyumdan bağımsız olarak NO'yu arttırdığı gösterilmiştir (95). 2000 yılında B.Engler tarafından yapılan araştırmada EPA'nın Endotel bağımsız olarak Prostanoid yapımı aracılığıyla potasyum ATP kanalı aktivasyonu üzerinde etki ettiği gösterilmiştir. ÇDYA'ların diğer vazodilatör ajanların etkisini arttırdığı değişik çalışmalarda gösterilmiş olsa da halen moleküler düzeyde daha net bir bilgi elde edilememiştir.

Omega-3 yağ asitlerinin bir diğer özelliği de oksidatif stres üzerindeki etkisidir. İdrarda GC-MS F' isoproston düzeyi bilinen en iyi in vivo oksidatif stres göstergesidir. Yapılan araştırmalarda EPA ve DHA'nın ayrı ayrı veya birlikte kullanımından sonra oksidatif stresin azaldığı gösterilmiştir. Bu etkinin olası mekanizmasının n3-ÇDYA'ların immün modülasyon etkisine ve lökosit aktivasyonunu azaltmasına bağlı olduğu düşünülüyor (Mori ve Beilin, 2004)(96).

Bu çalışmadan hedeflenen; NO mekanizmasıyla damar gevşemesine yol açan, Trombosit agregasyonunu azaltan, antioksidan etkisi bulunan, oral kullanımı nedeniyle kullanışlı ve aynı zamanda ucuz olan EPA ve DHA'dan zengin balık yağının oral kullanımının flap yaşayabilirliği üzerinde etkilerinin değerlendirilmesidir. Daha önceden n3-ÇDYA'ları üzerinde birçok araştırma yapılmıştır ve çok sayıda biyokimyasal mekanizmaları ve klinik etkileri konusunda geniş bilgiler bulunmaktadır fakat flap yaşayabilirliği konusunda ilk kez bu araştırmada kullanılmaktadırlar.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Deneyisel çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Yetiştirme Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 14.11.2007 tarih ve 120-34510 sayılı yazı ilişigindeki Etik Kurul onayı alınmasını takiben başlanmıştır.

#### **3.1 Deney Hayvanları**

Çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Yetiştirme laboratuvarından sağlanan, ağırlıkları 250-300 gram arasında, toplam 50 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Ratlar uygun kafeslerde,  $21\pm 2^{\circ}$  C sıcaklık ve ışıkların sabah saat 7:00'da yakılarak 12 saat karanlık-12 saat aydınlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Ratlar standart yemle beslendi ve herhangi bir diyet ya da su kısıtlaması yapılmadı.

Her bir grupta 20 adet olmak üzere ratlar, randomizasyon yöntemi ile kontrol ve deney olmak üzere iki gruba ayrıldı.

### 3.2. Gereçler

Araştırmada kullanılan cerrahi gereçler ve sarf malzemeleri:

- 1- Temel cerrahi gereçler (bistüri, penset, portegü, vb.) (şekil 3.1)
- 2- Isıtmalı cerrahi masa
- 3- Canon SD 550 digital fotoğraf makinesi



Şekil 3.1: Cerrahi gereçler.

- 4- Omega-3 yağ asidi
- 5- Absolu alkol
- 6- Ketamin
- 7- Ksilazin

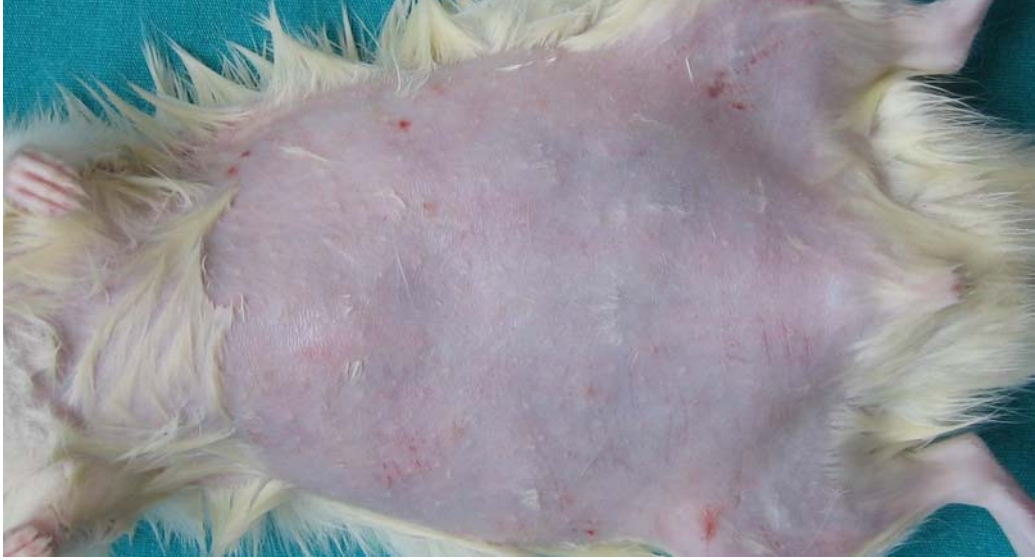
8- Tıraş Bıçağı

9- Batikon

10- 4/0 cerrahi ipek sütür

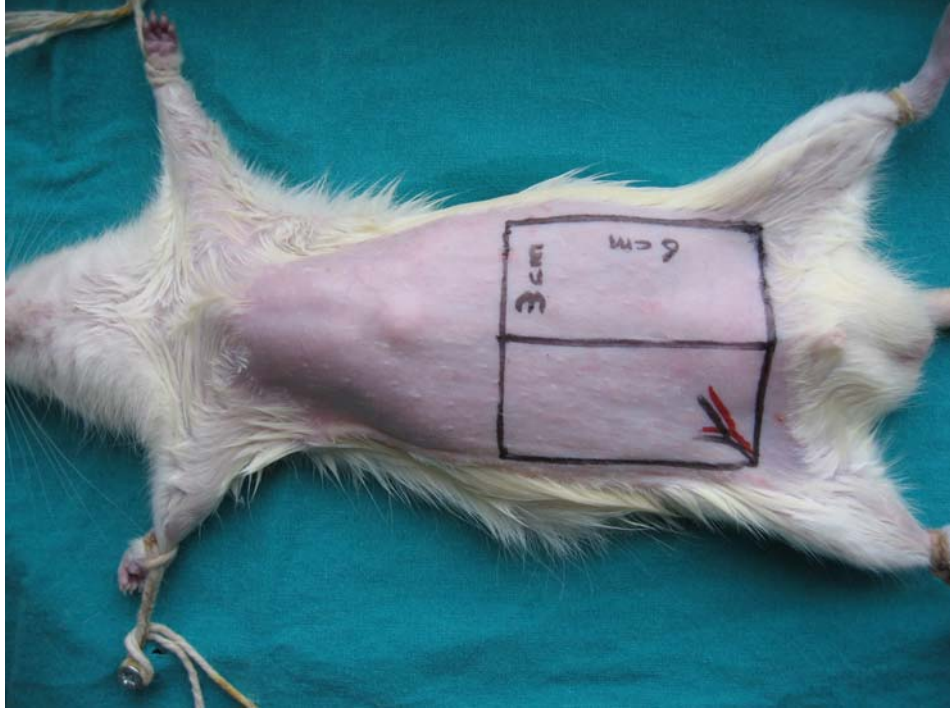
### 3.3 Yöntem

Ratlar deneye başlarken buldukları kafeslerden alınıp tek başlarına ayrı bir kafese kondular. Daha sonra intraperitoneal yoldan verilen 80 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anesteziye edildi. Anesteziden 45 dakika sonra ikinci doz olarak 40 mg/kg ketamin + 5 mg/kg ksilazin uygulandı. Cerrahi işlemin tamamı hayvanların ısı kaybına uğramalarını önlemek için ısıtmalı cerrahi masada yapıldı. Anesteziyi takiben abdominal bölge traş edildi ve cerrahi alan alkol ve Batikon'la temizlendi (Şekil 3.2).



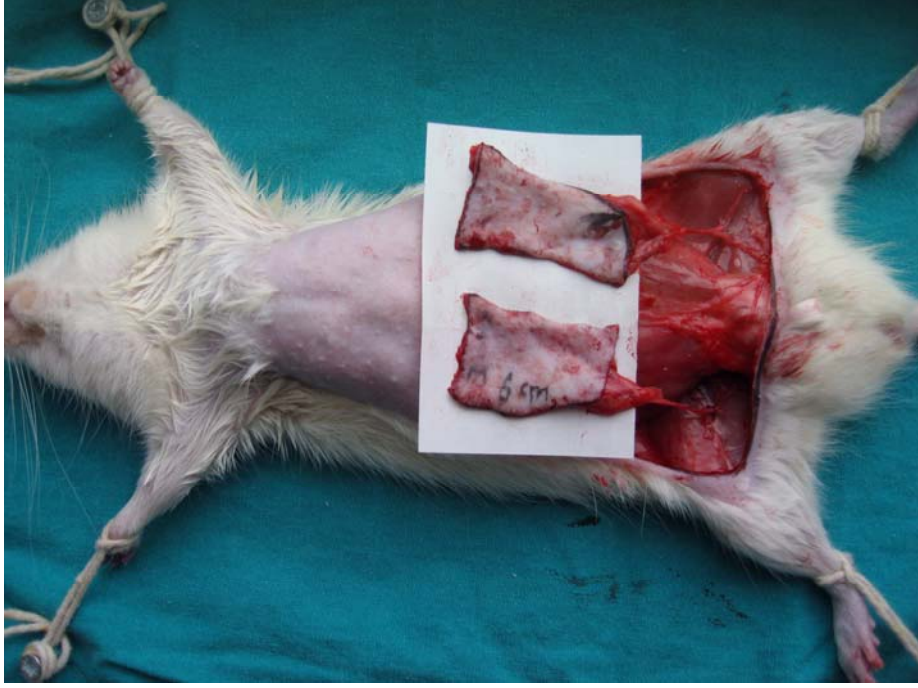
Şekil 3.2: Rat karnının tüylerden temizlenmiş hali.

Ratın karnında orta hat çizilerek yukarıda ksifoidi aşağıda simfizis pubisi geçmeyecek şekilde 2 adet 3x6 cm boyutlarında epigastrik flep planlandı (4), (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Rat karnında 3x6 cm boyutlarında epigastrik felp planlaması.

Ölçüm yapıldıktan sonra orta hattın insizyona başlanıp flep medialden laterale doğru diseke edildi. Flep pedikülü inferior epigastrik arter, inferior epigastrik ven ve siniri içerecek şekilde ada flep olarak kaldırıldı (Şekil 3.4, 3.5, 3.6). Arter, ven ve sinir birbirinden ayrıldı. Total venöz yetmezlik oluşturmak için ven alttan ve üstten segment makas kullanılarak çıkarıldı (Şekil 3.7). Ayrıca kendine ait dolaşımı olduğu için inferior epigastrik sinirde denerve edildi. Denervasyon yapılmasının bir diğer amacı ve yararı ise postoperatif dönemdeki ağrıyı önleyerek flep dolaşımını etkilemesi olası bazı medyatörlerin salınımını ortadan kaldırmaktır (3, 14).



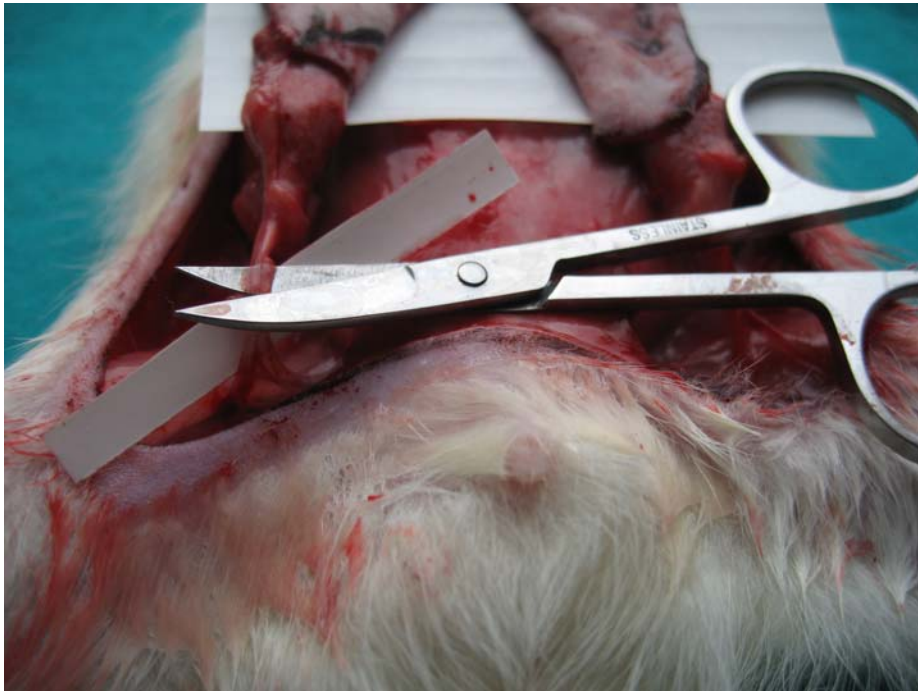
Şekil 3.4: Epigastrik fleplerin ada flep olarak kaldırılmış hali.



Şekil 3.5: Epigastrik ada fleplerin yakından görünümü.



Şekil 3.6: İnförör epigastrik arter, ven ve siniri içeren pedikülün görünümü.



Şekil 3.7: İnförör epigastrik venin izolasyonu ve segment çıkarılması.

Inferior epigastrik ven bağlanmadan 120 dakika önce, 7 gün boyunca her sabah tekrarlanmak üzere , kontrol grubuna 1 ml fizyolojik salin, deney grubuna 15 mg/kg Omega-3 yağ asidi, orogastrik kateterden enjekte edildi (Şekil 3.8). Inferior epigastrik venden segment çıkartılmasını takiben flepler 4/0 cerrahi ipek ile suture edildi. Hayvanların postoperatif dönemde fleplerine ve birbirlerine zarar vermelerini engellemek için, cerrahi alana her gün Batikon ile pansuman yapıldı ve hayvanlar ayrı kafeslere kondular.

Uygulanan yöntem, hayvanda “orta ya da ciddi derecede rahatsızlık ya da ağrı yarattığından, “CCAC İnvazivlik Kategorisi”ne göre “D” kategorisindedir.

Yapılan pilot çalışmalarda, kontrol gruplarında total nekroz postoperatif 1. günde izlendiği için, ratlar postoperatif 3 gün boyunca yakından izlendi ve postoperatif 3. gün yukarıda açıklanan anestezi protokolü altında önce nekroz alanı Grid yöntemiyle ölçüldü daha sonra patolojik inceleme için flepteki nekrotik ve sağlam dokudan biyopsi örnekleri alındı. Alınan örnekler patolojik inceleme için % 10'luk formaldehit içinde 24-48 saat saklandı.

Deney protokolü sona erince ratlara yüksek doz eter inhalasyonu ile sakrifiye edildi.



Şekil 3.8: Orogastrik kateterden yapılan ilaç enjeksiyonu.

Aşağıdaki parametreler kontrol ve deney gruplarında karşılaştırılarak Omega-3 yağ asidi'nin total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebi yaşayabilirliği üzerindeki etkisi belirlenmiştir:

1. Flep nekroz gelişme zamanı,
2. Flep 3. gün nekroz yüzdesi (Grid yöntemi ile belirlendi),
3. Flep patolojisi.

### **3. 4. Nekroz Yüzdesinin Ölçümü ve Patolojik İnceleme**

Yapılan pilot çalışmalarda, kontrol gruplarında total nekroz postoperatif 1. günde izlendiği için, sıçanlar postoperatif 3 gün boyunca yakından izlendi ve postoperatif 3. gün yukarıda açıklanan anestezi protokolü altında önce nekroz alanı Grid yöntemiyle ölçüldü, daha sonra patolojik inceleme için flepteki nekrotik ve sağlam dokudan biyopsi örnekleri alındı.

Patolojik inceleme için alınan örneklere formol tespiti sonrası rutin parafin takip uygulandı. Parafin bloklardan hazırlanan 6 mikrometre kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Histopatolojik değerlendirmeler ışık mikroskopunda yapıldı. Mikroskobik değerlendirmelerde epidermis, dermis, kas tabakası ve subkutan yağ dokusunda izlenen ödem, konjesyon ve nekroz gibi iskemik değişiklikler değerlendirildi.

Deney protokolünün uygulanmasından sonra atıklar, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Yetiştirme Laboratuvarında ortadan kaldırılmaları sağlandı.

## 4. BULGULAR

Çalışmada total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde Omega-3 yağ asidi'nin etkinliği araştırıldı. Bunun için her bir grupta 20 adet olmak üzere ratlar, randomizasyon yöntemi ile kontrol ve deney olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubuna steril serum fizyolojik, deney grubuna ise Omega-3 yağasidi uygulandı. Deneyler sırasında kontrol grubundaki ratlardan 4 tanesi flebini yediği için değerlendirmeye alınmadı. Deney grubunda ise yine 5 adet rat flebini yediği için değerlendirmeye alınmadı.

### 4.1. Makrosopik Bulgular

Kontrol grubunda inferior epigastrik venin bağlanmasını takiben 1. saatte venöz yetmezlik bulguları olan ödem, morarma ve yüzeysel venlerde dilatasyon gözlemlendi (Şekil 4.1). Kontrol grubundaki hayvanlarda postoperatif 3. günde fleplerde total nekroz'a doğru giden bir görünüm gözlemlendi (Şekil 4.2).

Deney grubunda ise inferior epigastrik ven bağlandıktan 1 saat sonra venöz yetmezlik bulguları olan ödem, morarma ve yüzeysel venlerde dilatasyon dramatik bir şekilde daha az bir düzeyde gözlemlendi (Şekil 4.3). Postoperatif 1. günde ise flepte venöz yetmezlik bulguları olan morarma, ödem, venlerde konjesyon ve dilatasyonun ortaya çıktığı gözlemlendi. Deney grubunda postoperatif 2. günde venöz yetmezlik bulgularının iyice şiddetlendiği gözlemlendi . Postoperatif 3. günde fleplerde nekroz geliştiği tespit

edildi (Şekil 4.4). Deney gurubundan bir denek tamamen iyileşti ve flep 7. günde tamamen normal deri rengine döndü (Şekil 4.5). Bazı çalışmalarda rat deri fleplerinin tam kalınlıkta deri grefti olarak da yaşamını sürdürebileceklerini yazmışlardır (30).



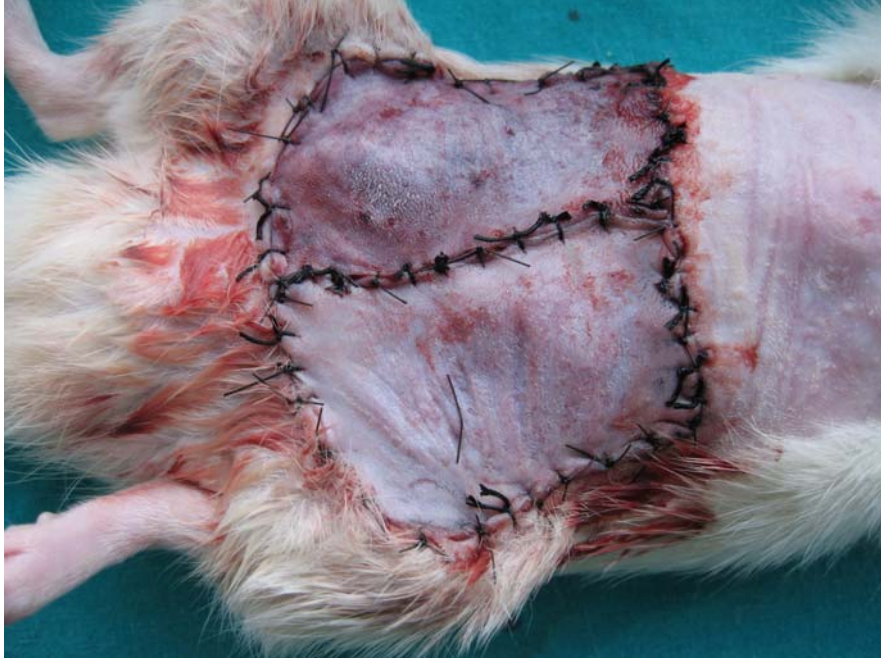
Şekil 4.1: Kontrol grubunda postoperatif 1. saatte flepteki venöz yetmezlik.



Şekil 4.2: Kontrol grubunda postoperatif 3. günde fleplerdeki total nekroz gelişimi.



Şekil 4.3: Deney grubunda postoperatif 1. saatteki flebin görünümü.



Şekil 4.4: Deney grubunda postoperatif 3. günde flebin görünümü.

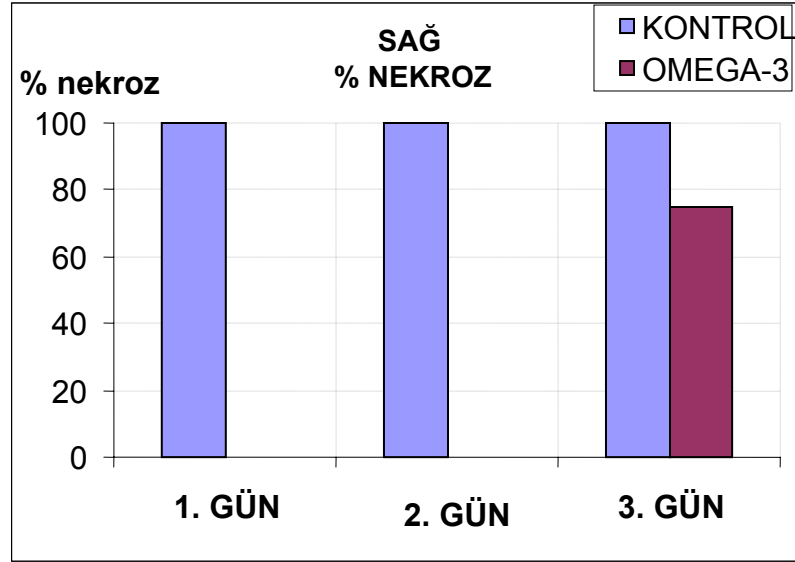


Şekil 4.5: Deney grubunda sadece bir denekte ortaya çıkan postoperatif 7. gün flep görünümü.

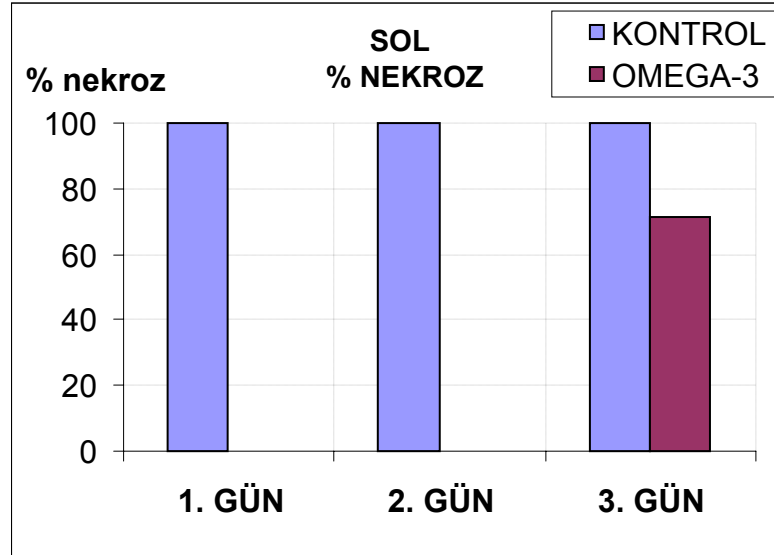
## 4.2. Planimetrik Bulgular

Milimetrik asetat kağıdı kullanılarak fleplerin nekroz olan ve yaşayan kısımları Grid yöntemi ile ölçülerek gruplara göre nekroz yüzdeleri sağ ve sol taraftaki fleplerin ayrı ayrı karşılaştırıldı. Deney grubu ve kontrol grubu arasında çok belirgin farklar olduğu görüldü. Bu sonuçlar Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de görülmektedir.

Tablo 4.1: Sağ taraf fleplerindeki nekroz yüzdelerinin karşılaştırılması.



Tablo 4.2: Sol taraf fleplerindeki nekroz yüzdelerinin karşılaştırılması.

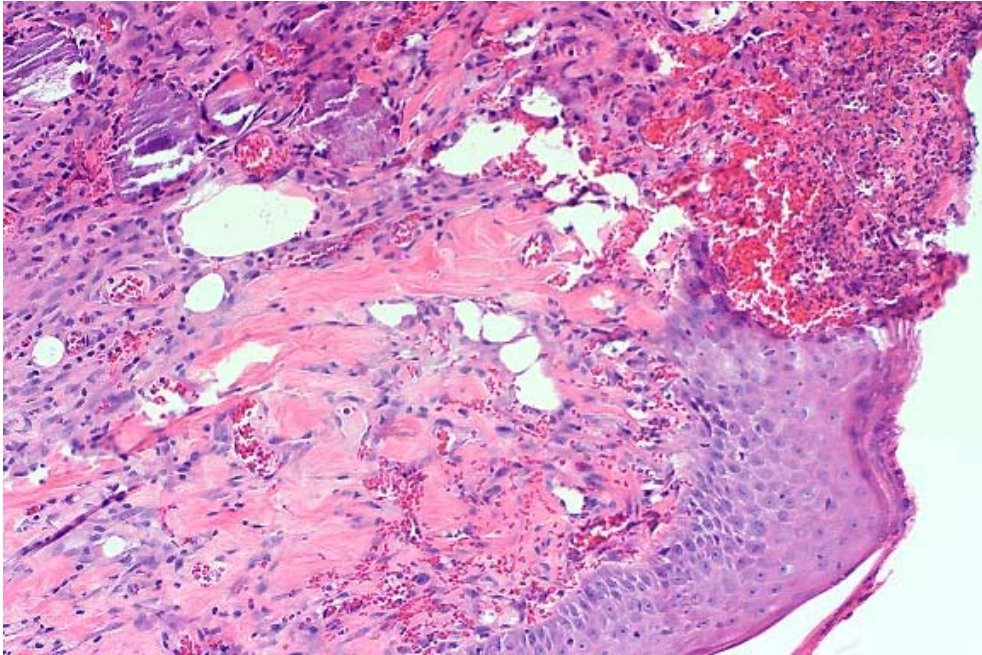


#### 4.4. Histopatolojik Bulgular

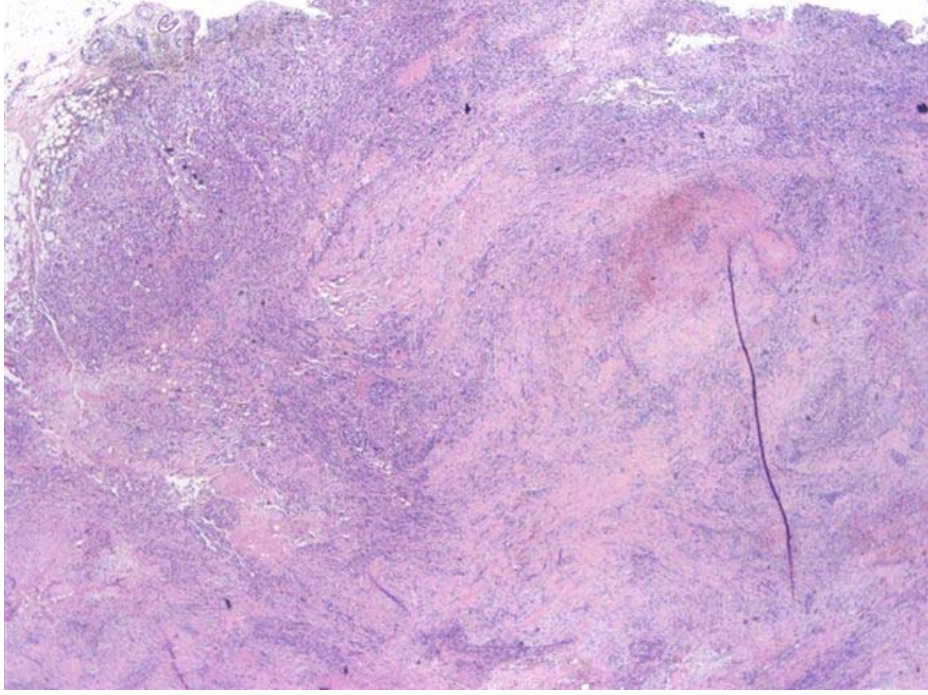
Hem kontrol hem de deney grubundaki ratlardan postoperatif 3. gün alınan biyopsiler histopatolojik olarak incelendi.

Kontrol gruplarından postoperatif 3. gün biyopsilerin histopatolojik incelemesinde tüm katlarda yaygın nekroz saptandı. (Şekil 4.12).

Deney gruplarından postoperatif 3. gün alınan biyopsilerde ise nekroz olmadığı, yaygın ödem ve konjesyonun olduğu, epidermis, dermis ve kaslarda parsiyel iskemi olduğu, görüldü (Şekil 4.11). Deney gruplarından postoperatif 3. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde ise erken nekroz bulguları saptandı (Şekil 4.11). Nekrozun kontrol grubunda olduğu gibi yaygın olmadığı yer yer nekroze epidermis ve normal epiderminin bir arada olduğu izlendi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: Deney grubunda postoperatif 3. günde flepteki nekroz görünümü .(H.E.X10)



Şekil 4.12: Kontrol grubunda postoperatif 3. günde flepteki nekrozun görünümü. (H.E.X5)

#### 4. TARTIŞMA

Değişik doku faktörleri ve hücre sel sinyal moleküllerinin flap yaşayabilirliği üzerindeki etkileri halen araştırma konusu olmaya devam etmektedir.

Son yıllarda özellikle Nitroz oksit (NO) flap çalışmalarında doku hasarını ve iskeminin zararlı etkilerine karşı etkili bir ajan olma potansiyeli olmasına yönelik büyük ilgi toplamıştır. NO önemli bir biyolojik sinyal molekülü olup nöronal sinaps'larda sinyal iletimi, immün sistem savunma mekanizmasında ( serbest radikal olarak aynı zamanda patolojik etkiler içerir) ve damarlarda bazal tonusun ayarlanmasında görev almaktadır.

1987'de endotel bağımlı relaksing faktör (EDRF) yani NO'in tanımlanmasından sonra NO'in flap yaşayabilirliği üzerinde ki etkileri konusunda birçok araştırma yapılmıştır. Her ne kadar bu araştırmaların sonucunda değişik sonuçlar elde edildiyse de son zamanlarda bu konuda endojen ve eksojen NO'in flap yaşayabilirliğini uzattığı konusunda bir fikir birliğine ulaşılmıştır.(88)

Nitroz Oksit L-arginin'den Nitroz oksit sentetaz enzimi (NOS) aracılığıyla oluşur. NOS enziminin farklı dokularda görev yapan üç izoformu bulunur, bunlar; Ca-kalmodulin mekanizmasıyla çalışan endotel NOS (eNOS) ve nöronal NOS; Ca-kalmodulinden bağımsız indüklenebilir NOS (iNOS). Bunlardan sadece eNOS ve iNOS damar işlevinde görev alırlar. eNOS, endotel ve trombosit'lerde bulunur ve damarların bazal tonusunun ayarlanmasından ve trombosit agregasyonunun negatif geri beslemesinden ( feedback) sorumludur. iNOS ise makrofaj, nötrofil, mast hücresi, trombosit ( sadece belirli sitokinlerin varlığında), kas ve endotel hücrelerinde bulunur. NO sentezlendikten sonra etraftaki damarların düz kaslarına girer ve çözünür Guanilat siklaz enzimini aktive ederek cGMP'yi artırır. cGMP, sonrasında kalsiyum pompasını aktive ve kalsiyum kanallarını inhibe ederek hücre içi kalsiyum düzeyini azaltır böylece damarın gevşemesini sağlamış olur. Trombosit'lerde ise eNOS'la üretilen NO aynı mekanizmayla hücre içi kalsiyum düzeyini düşürür. Böylece Trombosit agregasyonunu azaltır

(negatif geri besleme). Yapılan çalışmalarda NO uygulamalarında flap reperfüzyonu sonrası endotel üzerinde ki selektin'lerin azalmasına bağlı olarak dokuda nötrofil sayısında ve NADPH oksidaz enzimi aktivitesinde belirgin azalma görülmüştür. İskemik dokuda NO azalır, bu nedenle reperfüzyon sonrası dokuda nötrofil birikimine bağlı olarak inflamasyon ve ödem aynı zamanda platelet agregasyonuna bağlı olarak tromboz ve iskemi meydana gelir(88).

NO kullanımının olası iki yan etkisi bulunmaktadır. Bunlardan birincisi NO'in kendisi doku içerisinde reaktif oksijen radikallerine dönüştüğünden dokuda inflamasyon hasarına ve ödeme yol açar. Diğer yan etkisi ise sistemik hipotansiyona yol açması sonucu flap dokusunun perfüzyonunun bozulması ihtimalini arttırır(88).

Flap transferi sırasında oluşan iskemi sonrasında reperfüzyon sağlandığında dokuda bir hasar meydana gelir ve flap yaşıyabilirliğini etkilenir. Bu hasarın temel sorumlusu reperfüze olan dokuda kan akımının azalmasıdır (doku damarlarında heterojen kanlanma olur, distal mikrovasküler yapılarda akım hızı ,eritrosit geçiş hızı, perfüze olan kapiller uzunluğu azalır). Bunun gerçekleşmesinde doku ödemi (damarlara bası yapar), hücre zarı hasarı sonrası endotel şişmesi (ozmotik denge bozulur), damar spazmı, nötrofil adezyonu ( inflamasyona sebep olarak doku hasarı yapar) ve sekonder trombus oluşumu (damar lümenini oblitere eder) rol oynamaktadır. Her ne kadar NO bu mekanizmaların ana etkeni olmasa da önemli bir kısmında rol oynamaktadır. NO'in reperfüzyon hasarı üzerinde primer terapötik etkisinden sorumlu olan trombosit agregasyonunu ve doku nötrofil birikimini azaltması olduğu belirtilmiştir. NO'in doku üzerindeki koruyucu etkileri yanında kendisi oksijen radikalleri oluşturarak doku hasarına yol açtığı bilinmektedir. Bu iki karşıt etki şu şekilde açıklanmıştır; İskemik dokuda erken infalamasyon devresinde NO yapıldığında o dokuda ek inflamasyon oluşumunu azaltarak koruyucu etki gösterirken geç evrelerde yapılan NO oksidatif hasarı arttırarak zararlı etki göstermektedir(88).

Günümüzde popüler olan ve birçok araştırmaya konu olmuş bir diğer madde ise Balık yağıdır. Balık yağı, omega-3 yağ asitlerinden zengin bir besin olması ve özellikle kalp-damar sistemi üzerinde gösterdiği koruyucu etkiler nedeniyle ün kazanmıştır.

Ada kas deri fleplerinde ve ada deri fleplerinde venöz drenajın akut obstrüksiyonu hem kasta hem de subkutan dokuda oksijen basıncının düşmesine neden olur (18, 19). Flep yaşayabilirliğinde venöz iskemi arteriyel iskemiden daha belirleyicidir (20, 21). Bunun da muhtemel nedeninin serbest oksijen radikallerinin uzaklaştırılmasındaki yetersizlik olduğu öne sürülmüştür (16).

Total venöz oklüzyon pediküllü fleplerde, serbest doku aktarımlarında ve replantasyonlarda önemini koruyan ve sık rastlanan klinik bir sorun olarak hala karşımıza çıkmaktadır (15). Hematom, pedikülün katlanması ve anostomoz hattında tromboz gibi çeşitli sebepler total venöz oklüzyona neden olabilir. Neden ne olursa olsun ilk önce trombus oluşur bu da arkasında kalan mikrosirkülasyonda staza ve arteriyel tromboza neden olur, sonra da flep nekrozu gelişir (15). Daha önceki çalışmalarda akut venöz oklüzyonun genel arteriyovenöz oklüzyondan daha belirleyici olduğu gösterilmiştir (16, 17). Konjesyon total veya kısmi akımın kaybı olarak ikiye ayrılabilir. Kısmi venöz oklüzyonun tedavisi medikal veya kimyasal sülük uygulamasıdır. Günümüzde total venöz oklüzyonun tedavisi ise cerrahi re-eksplorasyon yaparak venöz akımı tekrar sağlamaktır. Eğer anatomik problem düzeltilemezse sülük uygulanır (1).

Deneysel konjesyone flep ve venöz travma modeli az sayıdadır (22, 23, 24). Danile ve arkadaşları ratlardaki epigastrik ada flepte total venöz oklüzyon yaratarak hiperbarik oksijen ve sülük uygulamanın etkilerini karşılaştırmışlardır (1). Takeshi ve arkadaşları ise tavşan kulağındaki deri flebinde veni bağlayarak konjesyon meydana getirmiş ve düşük molekül ağırlıklı heparinin etkisini araştırarak flep yaşayabilirliğini arttırmada etkili bulmuşlardır (3).

Bu çalışmada daha önce tavşanda tanımlanmış olan konjesyone flep modelini (3) rat epigastrik ada flebinde (1) uygulayarak total venöz yetmezlik

oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde Omega-3 Yağ Asid'i uygulamasının vazokonstrüksiyon, trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu azaltarak flep yaşayabilirliği üzerindeki etkisi araştırıldı, böylece yeterince bilgi sahibi olmadığımız bu konuda temel bilgiye katkı sağlanması amaçlandı. Literatür gözden geçirildiğinde bugüne kadar bu şekli ile başka bir çalışmaya rastlanmadı.

Flep kaldırılması sırasında kan akımını sağlayan damarlardan başka duysal sinirler ve sempatik sinir lifleri de kesilir. Palmer rat sırtından kaldırdığı fleplerde esas nöral ağrı adrenerjik liflerin oluşturduğunu göstermiştir (31).

Adrenerjik liflerin kesilmesi, adrenal ve nöradrenalin salınımına, özellikle flep distalinde vazokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonuna yol açar. Postoperatif ilk 12 saat içinde gelişen hiperadrenerjik durumda zaten azalmış olan kan akımı daha da düşer. Bunun sonucu olarak 12-48 saat içinde bu mediatörler tükenirler. Trombosit agregasyonu Tromboksan A2 salınımı ile vazokonstrüksiyonu indükler. Gelişen iskemi sonrası açığa çıkan metabolik vazodilatatörler (CO<sub>2</sub>, Laktat, Prostaglandinler, Histamin) 12-48 saatte yalnızca kan akımı iyi olan proksimal kısımlarda kan akımını arttırabilir (32, 33, 34).

Cilt ve kas fleplerinde temel enerji kaynağı aerobik metabolizmadır. Flebin az kanlanan distal kısımlarında aerobik ve anaerobik metabolizma ürünlerinin hasarı fazla iken, daha iyi kanlanan proksimal kısımlarında değişiklik izlenmez. Kaldırılan flepte ilk gözlenen değişiklik, distal kısımda yüksek enerjili fosfometabolitlerdeki düşmedir (25, 26). Ardından ATP de giderek düşeceğinden ilk beş saatte laktat düzeyi maksimum seviyeye ulaşır (27). Yapılan domuz modeli çalışmalarında flep sağlıklı beslenemiyor olsa da, flebin 4-16 saat yaşayabildiği gözlenmiştir (28). Compbell ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, ratlarda random paternli deri flepleri için "kritik iskemi" zamanı'nın 8-12 saat olduğunu ortaya koymuşlardır (29). Bazı çalışmalarda rat deri fleplerinin tam kalınlıkta deri grefti olarak da yaşamını sürdürebileceklerini yazmışlardır (30).

Flep proksimalinden uzaklaştıkça artan metabolizma ürünleri nedeniyle hiperozmolarite, asidoz ve lokal hemokonsantrasyon gelişir. Bu olaylara bağlı olarak eritrositlerdeki deforme olma özelliği azalır. Çünkü 7-8 mikron çaplı eritrositlerin 5-7 mikron çaplı damarlardan geçebilmesi için deforme olması gerekmektedir. Buna bağlı olarak kapiller dolaşım yavaşlar, tıkanır ve eritrosit göllenmesi gelişir. Dolaşımın yavaşlaması hipoksiyi daha da arttırarak yetmezliği kısır döngü halinde daha geniş bir alana yayar (35, 36). Postoperatif ilk 6 saatte gelişen vazospazm 12. saatte hipoksinin etkisinde geri dönüşümsüz duruma geçer ve zaten distalde kötü olan dolaşım iskemik hasarla sonlanır. Akım düzelmedikçe hücrel ölüm 13. saatte meydana gelir (30, 37, 38).

Deri flep nekrozunun sebepleri hakkında bir çok teori ileri sürülmüştür. Myers ve Cherry, flepte arteriyel ve venöz yetmezliğin birlikte olduğu zaman nekroz oluşumuna neden olduğu görüşündedirler. Kerrigan'a göre, flep nekrozunun başta gelen sebebi arteriyovenöz şantların açılmasından daha çok arteriyel bir yetersizliğin varlığıdır. Reinisch ise flep proksimal ucunda arteriyovenöz şantların oluştuğunu, bununda kapiller kan akımını azaltarak flep nekrozuna neden olduğunu savunmuştur. Arteriyel ve/veya venöz yetmezlik, proksimal arteriyovenöz şantların açılması distal flep nekrozununa yol açmakla beraber en önemlisi venöz yetmezliktir (39, 40, 41, 42).

Flep yaşayabilirliğini arttırmada çeşitli yöntemler ve tedaviler birçok araştırmacı tarafından denenmiştir (3, 22, 43, 44, 45, 46, 47). Bunlar antitromboz, vazodilatasyon ve neovaskülarizasyon üzerine yoğunlaşmıştır. İntravenöz ve intraarteriyel ürokinaz, streptokinaz, prostaglandin E<sub>1</sub>, prostaglandin I<sub>2</sub> ve topikal kapsaisin uygulaması fibroblast büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü flep yaşayabilirliğini arttırdığı bilinen tedavilerdir (20, 48, 49).

Hiperbarik oksijen tedavisinin random patternli fleplerin yaşayabilirliğini arttırdığını gösteren çalışmalar vardır (50, 51). Hiperbarik oksijenin tedavisinin; eritrositlerdeki yüksek oksijen taşıma kapasitesini arttırması, kollajen sentezini artırarak fibroblast stimülasyonu ve neovaskülarizasyonda artış sağlayarak flep canlılığında faydalı olacağını araştırmacılar tarafından

ileri sürmüştür. Bu araştırmacıların hemen hepsi hiperbarik oksijenin özellikle postoperatif ilk iki günde yararlı olduğunu, daha sonraki günlerde flep canlılığında anlamlı farklılık elde edilemeyeceğini vurgulamışlardır (52, 53, 54, 55, 56). Hiperbarik oksijen tedavisinin iskemi sırasında ve iskemiden sonra da uygulandığında flep yaşayabilirliğini arttırdığını destekleyen çalışmalar vardır (57). Yine yapılan çalışmalarda hiperbarik oksijen tedavisinin total venöz oklüzyonlu fleplerin yaşayabilirliği üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalar da vardır (1). Yine aynı çalışmada tek başına hiperbarik oksijen tedavisi yerine beraber sülük uygulamanın daha etkin olduğu vurgulanmıştır.

Cerrahi olarak düzeltilemeyen total venöz oklüzyonda sülük uygulamasının faydalı olduğu görüşünü savunan çalışmalar vardır (58, 59, 60). Sülüğün salivasında bulunan antikoagülan madde yaradan 48 saatten fazla kanama yapacak kadar potent bir antikoagülandır.

Klinik uygulamada düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımı yaygın kabul görmüştür (14, 61). Yarı ömrünün uzun olması ve biyoyaralanımının daha fazla olması nedeniyle konvansiyonel heparinden daha iyidir (60). Düşük molekül ağırlıklı heparinin subkutan enjeksiyonu sadece deri fleplerinde değil, ratlarda serbest doku aktarımlarında da mikrosirkülasyonu arttırdığı gösterilmiştir (3). Heparin plazma antitrombin III'ün aktivitesini arttırarak aktive olmuş pıhtılaşma faktölerinin XII, XI, X, IX, II ve kallikreini nötralize ederek etki gösterir (14). Düşük molekül ağırlıklı heparin antitrombotik etki sağlarken sınırlı hemoraji potansiyeli taşımaktadır (3).

Mikrosirkülasyonda trombüsü önlemek için antitrombositer etkisi olmayan (heparin ve hirudin) veya orta derecede antitrombositer etkisi olan (asetil salisilik asit) birçok ilaç kullanılmıştır (62).

Hirudin, aspirin, klopidogrel ve heparin bizim modelimizde daha önceki çalışmalarda denenmiş ve çeşitli derecelerde etkili bulunmuşlardır (69, 70).

Omega-3 yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) ailesinden olup besinler aracılığıyla vücudun kullanımı için sağlanması zorunludur. Omega-3 terimi ("n-3", "ω-3" olarak da kullanılır) ilk çift bağın, karbon zincirinin ucundaki (ω) metil grubundan itibaren sayılınca 3. karbon-karbon

bağı olduğu anlamına gelir ( şekil 2.3). İnsan beslenmesinde önemli olan omega-3 yağ asitleri şunlardır: alfa-linolenik asit (18:3, ALA), eikosapentaenoik asit (20:5, EPA) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, DHA). Bu üç doymamış yağda, sırasıyla 18, 20 veya 22 karbonlu bir zincirde 3, 5, veya 6 çift bağ vardır. Çift bağların hepsi *cis*-biçimindedir, yani hidrojen atomları çift bağın aynı tarafındadır. Balık yağı özellikle EPA ve DHA için önemli bir besin kaynağıdır. Yabani Somon, Ringa balığı, Uskumru, Hamsi ve Sardalye gibi yağlı soğuk su balıkları Omega–3 yağ asitlerinden zengindirler. Rat'ların normal günlük besinleri ALA, EPA ve DHA ÇDYA 'larından fakirdir fakat besinlerine balık yağı eklenmesiyle birlikte dokulardaki EPA ve DHA düzeylerinde belirgin artış gösterilmiştir.(88)

Yapılan araştırmalar sonucunda n-3 ÇDYA'lerinin plazma lipid düzeyi regülasyonu, insülin etkisi, kalpdamar sistemi ve bağışıklık sistemi, sinir gelişimi ve görme duyusu gibi normal sağlık koşullarındaki ve kronik hastalıkların mekanizmalarında rol oynayan çeşitli fizyolojik olaylarda etkisi gösterilmiştir.(88)

Omega-3 ÇDYA'lar sindirdikten sonra neredeyse bütün hücrelere yayılırlar ve hücre zar yapısı ve işlevi, eikozanoid sentezi, hücre sinyal iletimi ve gen ekspresyonu gibi çok sayıda işlevde görev alırlar. Ancak hücrelerin ÇDYA'ların kompozisyonunda meydana gelen değişikliklere gösterecekleri tepkiler hücreye özel lipid metabolizması ve yağ asidi ile regüle edilen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunda meydana gelen değişikliklerle belirlenir.

Besinle alınan esterifiye olmamış yağ asitleri (YA) vücuda girdikten sonra hızlı bir biçimde YA taşıyıcılarıyla hücre içine taşınır ve Acyl-Coa sentaz enzimi aracılığıyla YA-Coa tioesterlerine çevirilirler. YA-Coa'lar nötür lipidler kolesterol ve trigliserol) ve yüklü lipidlerin ( fosfolipidler, sfingolipidler, plazmatogenler) sentezi için substrat olarak kullanılırlar, aynı zamanda elongasyon, desatürasyon, beta oksidasyon ve protein acylasyon reaksiyonlarında görev alırlar. 18 ile 20 ve 22 karbonlu ÇDYA'lerinin hücre içi metabolize olduğu yöntemler hücrenin bir çok regülatuar mekanizmasını etkilemektedir böylece çok sayıda fizyolojik mekanizmayı aynı anda

etkilemiş olurlar. Burada ben özellikle bu mekanizmaların bazılarını değinmek istiyorum.(88)

Lipid rafları ÇDYA'ların etki gösterdiği en önemli odaklardan birisidir. Lipid rafları hücre zarında kolesterol ve sfingolipidlerden zengin, birçok zar proteinine (src kinaz, G-proteini, kaveolin ve Gp 43 ailelerinden) yataklık eden ve hücre zarı invajinasyonu, endositoz, kolesterol alışverişi ve sinyal iletimi gibi geniş fonksiyonlara sahip alanlardır. ÇDYA'lar Lipid Raftların protein ve fosfolipid'lerine etki ederler. Bu etkilerden en iyi tanımlanmış olanlarından bir tanesi ÇDYA'ların anti-inflamatuar özellikleridir.

Anti-inflamatuar özellikleri iki şekilde; Eikozanoid den bağımsız ve Eikozanoidler üzerinde ki etkiler sonucu oluşur. Eikozanoidden bağımsız olarak ÇDYA'lar (n-6 ve n-3 her ikisi de) Lipid rafların fosfolipid kompozisyonunu değiştirerek T-hücre aktivasyonu için gerekli ko-stimülatör yüzey proteinlerinin(src kinaz ailesinden Lck ve fyn) hücre zarına tutunmasını azaltarak bu proteinlerin sayısını azaltırlar böylece THR( T-hücre Reseptörü) iletimi azalır ve inflamasyon gerçekleşemez .(88)

ÇDYA'ların Eikozanoidler üzerinde yaptığı değişiklikler ise Anti-inflamatuar, Anti-agregasyon ve vazodilatasyon gibi etkiler yaratır. ÇDYA'lar Eikozanoidlerin değişik mekanizmalarla aktivitelerini değiştirmeleri nedeniyle önemli regülatörlerinden biri olma niteliğini taşırlar.

COX ürünleri tromboregülatuar, inflammatuar ve kemoatraktan özellikler gösterirken LOX ürünleri vasküler geçirgenlik, vazokonstrüksiyon ve bronkokonstrüksiyon üzerine etki gösterirler. ÇDYA'lar daha önceden de söylediğimiz gibi Eikozanoid yapımını birden çok mekanizmayla regüle ederler. N-3 ÇDYA'lar Araşidonik asite kıyasla COX ve LOX enzimleri için daha az substrat özelliği taşırlar aynı zamanda bu enzimlerle etkileşime girdiklerinde enzimin etkinliğini azaltan yapısal değişikliklere yol açarlar. Bunlara ek olarak n3 ÇDYA'lar Eikozanoidlerin peroksizomal yıkımını da arttırlar.(88)

Bu değişiklikler sonucunda Araşidonik asitten yapılan Eikozanoidlerde ( 2-serisi eikozanoidler; TXA2, vs.) azalma olurken n3 ÇDYA'larından yapılan

Eikoznoidlerde (3-serisi Eikoznoidler; TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>,vs.) artış görülmektedir.(90)

Eikozanoid içeriğinde oluşan bu değişiklikler sonucunda aşağıdaki etkiler oluşur: 1) etkin proinflatuar olan prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Tromboksan B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) , lökotrin B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) , 5-hidroksi eikosatetraenoik asit (5-HETE) ve lökotrin E<sub>4</sub>'ün (LTE<sub>4</sub>) azalmasıyla Anti-inflatuar etki, 2) TXA<sub>2</sub>/TXA<sub>3</sub> oranının azalması, PGI<sub>2</sub> artması (91) ve PDGF gen ekspresyonunun azalması (93) sonucunda trombosit fonksiyonunu düzeltici ve anti-agregan etki, 3) PGI<sub>2</sub> ve PGI<sub>1</sub> birikmesi ( PGI<sub>1</sub> düzeyi diğer 2-serisi Eikoznoidlerden farklı olarak etkilenmez) sonucunda vazorelaksasyon etkisi meydana gelir.(90)

Omega-3 Yağ asitlerinin damar üzerindeki endotel bağımlı vazorelaksasyonu prostanoid(eikozanoid) bağımlı ve prostanoid bağımsız olarak iki mekanizmayla gerçekleşmektedir (94). Prostanoid bağımsız olarak meydana gelen vazorelaksasyon NO ve Endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EBHF) aracılığıyla gerçekleştiği iyi bilinmektedir (94). EBHF potasyum kanalları üzerinde etki ederek hiperpolarizasyona sebep olur ve vazorelaksasyon meydana gelir. NO'in vazorelaksasyon mekanizması yukarıda belirtilmiştir. ÇDYA'ların NO salınımını arttırmasıyla ilgili yapılan mekanizma araştırmalarında EPA'nın normalde hücre zarında lipid raflarındaki Kaveolin proteinlerine yapışık olarak bulunan eNOS'u yerinden kopartarak aktivasyonuna sebep olduğu böylece kalsiyumdan bağımsız olarak NO'yu arttırdığı gösterilmiştir (95). 2000 yılında B.Engler tarafından yapılan araştırmada EPA'nın endotel bağımsız olarak Prostanoid yapımı aracılığıyla potasyum ATP kanalı aktivasyonu üzerinde etki ettiği gösterilmiştir. ÇDYA'ların diğer vazodilatör ajanların etkisini arttırdığı değişik çalışmalarda gösterilmiş olsada halen moleküler düzeyde daha net bir bilgi elde edilememiştir.

Omega-3 yağ asitlerinin bir diğer özelliği de oksidatif stres üzerindeki etkisidir. İdrarda GC-MS F' isoproston düzeyi bilinen en iyi in vivo oksidatif stres göstergesidir. Yapılan araştırmalarda EPA ve DHA'nın ayrı ayrı veya birlikte kullanımından sonra oksidatif stresin azaldığı gösterilmiştir. Bu etkinin

olası mekanizmasının n3-ÇDYA'ların immün modülasyon etkisine ve lökosit aktivasyonunu azaltmasına bağlı olduğu düşünülüyor (Mori ve Beilin, 2004)(96).

Bu çalışmadan hedeflenen; NO mekanizmasıyla damar gevşemesine yol açan, Trombosit agregasyonunu azaltan, antioksidan etkisi bulunan, oral kullanımı nedeniyle kullanışlı ve aynı zamanda ucuz olan EPA ve DHA' dan zengin balık yağının oral kullanımının flap yaşayabilirliği üzerinde etkilerinin değerlendirilmesidir. Daha önceden n3-ÇDYA' ları üzerinde birçok araştırma yapılmıştır ve çok sayıda biyokimyasal mekanizmaları ve klinik etkileri konusunda geniş bilgiler bulunmaktadır fakat flap yaşayabilirliği konusunda ilk kez bu çalışmada kullanılmaktadırlar.

Trombosit fonksiyonlarını etkileyen ajanlar her zaman flep cerrahisi ile uğraşan cerrahların ilgi odağı olmuşlardır. Geçtiğimiz birkaç yılda trombosit fizyolojisinin anlaşılması ile antitrombositer ajanların klinik kullanımı da artmıştır. Örneğin asetil salisilik asit zayıf antitrombositer etkiye sahip olmakla beraber miyokard enfarktüsünden ölümleri önlemektedir. Trombositler trombüs oluşturmak için birbirlerine çok büyük bir glikoprotein kompleksi ile bağlanırlar, buna glikoprotein IIb/IIIa denir. Glikoprotein IIb/IIIa aracılı trombosit agregasyonunu inhibe eden ajanlar akut trombotik hastalıklarda giderek daha sık kullanılmaktadır (71).

Hem klinik hem de deneysel çalışmalarda trombüs oluşumunu engelleyerek flep yaşayabilirliğini arttırmada sayısız ilaç kullanılmıştır. Aspirin (72), düşük molekül ağırlıklı dekstran (73), insan rekombinant doku plazminojen aktivatörü (74) ve ürokinaz (75) antitrombotik etki ile flep yaşayabilirliğini arttırmada kullanılmaktadır. Ancak bunlarda cerrahi esnasında veya sonrasında kanamayı arttırarak hematoma neden olabilmektedir (76).

Omega-3 Yağ Asidi'nin bu çalışmada verilen dozu 15 mg/ kg'dır. Omega-3 Yağ Asidi'nin temel atılım yolu safra ve feçestir. Son yıllarda birçok çalışmacının ilgi odağı olmuş bir ilaçtır.

Yine Omega-3 Yağ Asidi trombozu önleyici olarak etkinliği deneysel olarak araştırılmış ve etkili bulunmuştur.

Omega-3 Yağ Asidi'nin iskemi ve reperfüzyon hasarı sonrası flep yaşayabilirliğini arttırmasındaki etkisi deneysel olarak ilk defa bu çalışmada ele alınmıştır.

Yapılan bu çalışmada elde edilen makroskopik ve histopatolojik sonuçlar literatürdeki bulgularla desteklenmektedir. Tedavi gruplarından postoperatif 1. günde alınan biyopsilerin yapılan histopatolojik incelemelerinde epidermis, dermis, subkutan yağ dokusu ve kas tabakası birbirinden ayrılabilir, kontrol grubunda ise aynı günde yaygın nekrozun bulgusu olarak herhangi bir tabakanın ayrımı yapılamamaktadır. Yine tedavi gruplarında kıl follikülleri ve yağ dokusunun boşlukları izlenebilmekte fakat kontrol grubunda ise bunlara rastlamak mümkün değildir. Tedavi gruplarında ödemin bulgusu olarak kollajen ve kas lifleri tek tek izlenmekte, damarlarda konjesyon görülmektedir. Bunlar venöz yetmezliği düşündüren histopatolojik bulgulardır. Bu sonuçlardan yola çıkarak flebin venöz yetmezlikte olduğunu ancak buna rağmen yaşayabilirliğini koruduğunu söyleyebiliriz. Bu bulgular Lozano ve Miyawaki'nin çalışmaları tarafından da desteklenmektedir (3, 82).

Yine elde edilen nekroz yüzdelerinin kıyaslanmasından elde edilen sonuçlar aynı çalışmacıların bulgularına paraleldir. Bu çalışmada kontrol gruplarına nekrozun postoperatif 1. günde % 100 olması, tedavi gruplarında ise nekrozun belirgin bir şekilde daha az görülmemesi Omega-3 Yağ Asidi'nin venöz yetmezlikteki fleplerde 1. günde nekroz gelişimini azalttığının önemli bir bulgusudur.

## 6. SONUÇ

Total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde Omega-3 Yağ Asidi'nin flep yaşayabilirliği üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen veriler şöyle özetlenebilir:

1. Makroskopik ve histopatolojik incelemeler sonucunda postoperatif 1. günde kontrol gruplarında total nekroz geliştiği, tedavi grubunda ise fleplerin venöz yetmezlikte olmasına rağmen yaşadıkları,
2. Kontrol ve tedavi gruplarında nekroz yüzdeleri karşılaştırıldığında sonuçların tedavi grupları lehine olduğu görüldü.

Bu bulgular çalışmanın başlangıcında kurulan hipotezi desteklemektedir. Sonuçlar göstermektedir ki total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde Omega-3 Yağ Asidi'nin flep yaşayabilirliği üzerine etkilidir. Omega-3 Yağ Asidi'nin kontrol gruplarında 1. günde görülen nekrozun tedavi gruplarında görülmesini azaltmaktadır. Ancak klinik pratikte kardiovasküler alanlarda rutin olarak kullanılan Omega-3 Yağ Asidi'nin flep cerrahisinin klinik pratiğinde uygulanması için, ileri deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

## 7. ÖZET

### **Omega-3 Yağ Asidi'nin Total Venöz Yetmezlik Oluşturulmuş Rat Epigastrik Ada Flebinde Yaşayabilirlik Üzerine Etkisinin Araştırılması**

Bu çalışmanın amacı total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde Omega-3 Yağ Asidi'nin flep yaşayabilirliği üzerine etkisini araştırmaktır.

Çalışmada inferior tabanlı rat epigastrik ada flebi kullanıldı. Çalışma 40 adet Wistar Albino cinsi erkek rat üzerinde yapıldı. Ratlar random olarak deney ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubuna steril salin, deney grubuna ise Omega-3 Yağ Asidi uygulandı. Ratlar postoperatif 3 gün izlendi. Üçüncü günün sonunda yüksek doz eter anestezi ile kurban edildi.

Değerlendirme makroskopik gözlem, Grid yöntemi ile flep nekroz yüzdelerinin karşılaştırılması, histopatoloji ile yapıldı.

Makroskopide kontrol grubunda postoperatif 1. günde total nekroz gelişirken, deney grubunda 1. günde fleplerin venöz yetmezlikte olduğu ancak nekroz gelişmediği gözlemlendi. Deney gruplarında ise nekroz 3. günde gözlemlendi. Makroskopik bulgular histopatolojik inceleme ile doğrulandı. Grid yöntemi ile ölçülen nekroz yüzdeleri kontrol ve deney grupları arasında karşılaştırıldığında belirgin farklar gözlemlendi.

Elde edilen bulgulara dayanılarak total venöz yetmezlik oluşturulmuş ada fleplerde Omega-3 Yağ Asidi'nin flep yaşayabilirliğini arttırdığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Omega-3 Yağ Asidi, venöz yetmezlik, flep yaşayabilirliği

## 8. SUMMARY

### **The Effect of Omega-3 Fatty Acid on Survival of Rat Epigastric Island Flap Subjected to Total Venous Insufficiency**

The purpose of this study was to determine the effect of Omega-3 Fatty Acid on survival of rat epigastric island flap subjected to total venous insufficiency.

Rat epigastric island flap was used in this study. The study was done in 40 male Wistar Albino rats. Animals were randomly assigned to two groups: control and treatment. Sterile saline was administered to the rats in the control group. Omega-3 Fatty Acid was administered to the rats in the treatment group. The rats were observed for the postoperative three days. The rats were sacrificed by high dose ether anaesthesia at the end of the third day.

Evaluation was done by macroscopic examination, histopathologic examination and the measurement of flap necrosis with the Grid method.

In the first postoperative day total necrosis was determined in the control group while venous insufficiency was observed in the treatment group on macroscopic examination. Total necrosis was also determined on the third postoperative day in the treatment group. Macroscopic evidences were confirmed with histopathologic examination.

According to the obtained results at the end of the experimental research, Omega-3 Fatty Acid was found to be effective on survival of rat epigastric island flap subjected to total venous insufficiency.

**Key Words:** Omega-3 Fatty Acid, venous insufficiency, flap survival

## 9. KAYNAKLAR

1. Daniel DL, Stephenson LL, Zamboni WA. Effect of Hyperbaric Oxygen and Medicinal Leeching on Survival of Axial Skin Flaps Subjected to the Total Venous Occlusion. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1999; 104(4): 1029-1032.
2. Kuo YR, Jeng S, Wang FS, Huang HC, Wei FC, Yang KD. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonist (Abciximab) Inhibited Platelet Activation and Promoted Skin Flap Survival after Ischemia/Reperfusion Injury. *Journal of Surgical Research*. 2002; 107: 50-55.
3. Miyawaki T, Jackson IT, Elmazar H, Bier UC, Barakat K, Andrus L, Williams F. The Effect of Low-Molecular-weight Heparin in the Survival of a Rabbit Congested Skin Flap. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2002; 109(6): 1994-1999.
4. Petry JJ, Kathleen A, Wortham BA. The Anatomy of the Epigastric Flap in the Experimental Rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1984; 74(3): 410-413.
5. Ariboğan A. Hemostaz ve Koagülasyon Mekanizmaları. Erişim: [<http://lokman.cu.edu.tr/anestezi/anestezi-not/yogun.htm>]. 2004; Erişim Tarihi: 27. 06. 2004.
6. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Trombogenesis *Basic Pathology*. W. B. Saunders Company, Fifth Edition. 1992; Chap:4, pp: 69-70.
7. Vickers S, Anthony DT, Arison B, Balani SK CUI D, Duncan CA, Ellis JD, Gorham LM, Polsky SL, Prueksaritanont T, Ramjit HG, Slaughter DE, Vyas K. In Vitro and In Vivo Studies on the Metabolism of Tirofiban. *Drug Metabolism and Disposition*. 1999; 27(11): 1360-1366.
8. Leung L, Nachman R. Molecular Mechanism of Platelet Aggregation. *Annu Rev Med*. 1986; 37: 179-186.
9. Collier BS. Platelets in Thrombolytic Therapy. *N Engl J Med*. 1990; 322: 33-42.
10. Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA. The Platelet Membrane Glycoprotein IIb/IIIa complex. *Blood*. 1988; 71: 831-843.
11. Balduni CL, Betolino G, Noris P, Piovella F, Sinigaglia F, Bellotti V, Samaden A, Torti M, Mazini G. Defect of Platelet Aggregation and Adhesion Induced by Autoantibodies Against Platelet Glycoprotein IIIa. *Thrombosis and Haemostasis*. 1992; 68: 208-213.
12. Hansen RJ, Balthasar JP. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Platelet Binding of an Anti-Glycoprotein IIb/IIIa Monoclonal Antibody (7E3) in the Rat: A Quantitative Rat Model of Immune Thrombocytopenic Purpura. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2001; 298: 165-171.
13. Hickerson WL, Colgin SL, Proctor KG. Regional Variation of Laser Doppler Blood Flow in Ischemic flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1990; 86: 319.

14. Chang CC, Maruyama Y, Inomata K. Increased Flap Survival After Sensory Denervation with Capsaicin Accompanied by Delay. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1990; 6: 29.
15. Hjortdal VE, Sinclair T, Kerrigan CL, Solymoss S. Venous Ischemia in Skin Flaps: Microcirculatory Intarvascular Thrombosis. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1994; 93: 366.
16. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free Radicals: Basic Concepts Concerning Their Chemistry, Pathophysiology, and Relevance to Plastic Surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1987; 79: 990.
17. Wizeman P, Kerrigan CL. Acute Venous Injury Comparison of Secondary Venous and Arterial Occlusion. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1991; 7: 281.
18. Mahoney JL, Lista FR. Variations in Flap blood flow and Tissue PO<sub>2</sub>: A New Technique for Monitoring Flap viability. *Annals of Plastic Surgery*. 1988; 20: 43.
19. Hjortdal VE, Awwad AM, Gottrup F, Kirkegard L, Gellet S. Tissue Oxygen Tension Measurement for Monitoring Musculocutaneous and Cutaneous Flaps. *Scandinavian Journal Of Hand and Plastic Sugery*. 1990; 24:27.
20. Harishina T, Sawada Y, Watanabe S. The Relationship between Venous Occlusion Time in Island Skin Flaps anf Flap Survival. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1977; 60: 92.
21. Angel MF, Mellow CG, Knight KR, O'brein BM. Secondary Ischemia time in Rodens: Contrasting Complete Pedicle Interruption with Venous Obstruction. *Plastic and Reconstructive Sugery*. 1990; 85: 789.
22. Buckley MM, Sorkin EM. Enoxaparin: A Reiew of Its Pharmacology and Clinical Applications in the Prevention and Treatment of Thomboembolic Disorders. *Drugs*. 1992; 44: 465.
23. Simmoneau G, Charbonnier B, Decousus H. Subcutaneous Low-Molecular-Weight-Heparin Compared with continuous Intravenous Unfractionated Heparin in the Treatment of Proximal Deep Vein thrombosis. *Archive of International Medicine*. 1993; 153: 1541.
24. Ritter EF, Cronan JC, Rudner AM, Serafin D, Klitzman B. Improved Microsurgical Anastomotic Patency with Low Molecular Weight Heparin. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1998; 14: 331
25. Tüzün Y, Katoğyan A, Saylan T. *Dermatoloji*. 1985; 1:1-13
26. MC Farlane RM, Heagy FC, Radins S, Aust JC, Wermuth RE. A Study of the Delay Phenomenon in Experimental Pedicle Flaps. *Plast.Reconst.Surg*. 1965; 35:245- 262.
27. Cutting C. Skin Flap Physiology. In Cummings, B.J. *Otolaryn.Head and Neck Surq*. The C.V.Mosby Company, Missouri. 1986; Vol 1: Chap.6. Pp. 89-99.
28. Mavili E. Reserpine ve Norepinefrin ile Arteriovenöz Anastomozların Selektif Olarak Kapatılması ve Bunun Flep Yaşamı Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması. *Uzmanlık Tezi*. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi ABD. Ankara. 1986.
29. Campbell SP, Moss ML, Hugo NE. When Does a Random Flap Die?. *Plast. Reconstr. Surg*. 1992; 89: 719.

30. Fisher J. Basic Principles of skin flaps. In: Georgide GS, geogiade Ng, Riefohl R, Barwick WJ. Textbook of Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. Williams and Wilkins. 1992; 2nd ed.
31. Palmer B. Sympathetic Denervation and Reinnervation of Cutaneous Blood Vessels Following surgery. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1970; 4:93-98.
32. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and Pysiology of Skin Flap Surgery. In Mc Carty JG. (Ed.): Plastic Surgery. Philadelphi W. B. Saunders Company, 1991; pp275-328
33. Kerrigan CL, Hjortdal VE. Skin Flap Physiology and Pathophysiology. In Bardach, J. (Ed.) : Local Flaps and Free Skin Grafts. St. Luis, Mosby year book inc, 1992; pp:24-41.
34. Pang CY, Forrest CR, Neligan PC. Augmentation of Blood Flow in Delayed Random Skin Flaps in the Pig: Effect of Lenght of Delay Period and Angiogenesis. *Plastic and Reconstructive Suergery.* 1986; 78: 68.
35. Taylor LM, Porter JM. Drug Treatment of Claudication: Vasodilatator Demorrhologic Agents and Antiserotonin Drugs. *Journal of Vascular Surgery.* 1986; 3: 374.
36. Kerrigan CL. Monitoring Acute Skin Flap Failure. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1983; 71: 519.
37. Kerrigan CL, Daniel RK. Critical Ischemia Time and the Failing Skin Flap. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1982; 69: 986.
38. Kerrigan CL, Daniel RK. Skin Flap Research: A Candid View. *Annals of Plastic Surgery.* 1984; 15: 383.
39. Myers MB, Cherry G. Causes of Necrosis in Pedicle Flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1968; 42: 43-50.
40. Su CT, Hoopes JE. Tissue Glucose and Lactate Following Vascular Occlusion in Island Skin Flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1982; 70: 202.
41. Kerrigan CL. Skin flap failure: Pathophysiology. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1974; 77: 766.
42. Reinisch RF. The Pathophysiology of Skin Flap Circulation. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1974; 54: 585-598.
43. Koenig WJ, Lohner RA, Perdrizet GA, Lohner ME, Schweitzer RT, Lewis VL. Improving Acute Skin Flap Survival Through Stres Conditioning Using Heat Shock and Recovery. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1992; 90: 659.
44. Sawada Y, Hatayama I, Sone K. The Effect of Continuous Topical Application of Heparin on Flap Survival. *British Journal of Plastic Surgery.* 1992; 45: 515.
45. Wells MD, Manktelow RT, Boyf JB, Bowen V. The Medical Leech: An Old Treatment Revisited. *Microsurgery.* 1993; 94: 352.
46. Barker JH, Van Aalst VC Kelen PC. Vascular Delay in Skeletal Muscle: A Model for Microcirculatory Studies. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1997; 101: 776.

47. Akan IM, Yıldırım S, Gideroğlu K. Salvage of Flaps Venous Congestion. *Annals of Plastic Surgery*. 2001; 46: 456.
48. Hjortdal VE, Hague E, Hansen ES. Differential Effects of Venous stasis and Arterial Insufficiency on Tissue Oxygenation in Myocutaneous Island Flaps: An Experimental Study in Pigs. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1992; 89: 521.
49. Emiroğlu M, Gültan SM, Yormuk E. Mikrovasküler Anastomozlarda Tromboz Gelişimini Engellemek Amacı ile Steptokinaz Kullanımı. *Türk Plastik Cerrahi Dergisi*. 1994; 2: 8-15.
50. Tan CM, Meyers RAM, Hoopes IE. Effect of hyperbaric Oxygen and Hyperbaric Air on Survival Island Skin Flaps. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1984; 73: 27.
51. Nemiroff PM, Mervin GE, Brant T, Cassisi NJ. Effect of Hyperbaric Oxygen and Irradiation on Experimental Skin Flaps in Rats. *Otolaryngol. Head Neck Surg*. 1985; 93: 485.
52. Nemiroff PM. Synergistic Effects of Pentoxifylline and Hyperbaric oxygen on skin flaps. *Archieve of Otolaryngology, Head and Neck Surgery*. 1988; 114:977-981.
53. Perrins DJ. Influence of Hyperbaric Oxygen on the Survival of Split Skin grafts. *Lancet*. 1967; 1: 868-871.
54. Greenwood TW, Giichrist AG. Hyperbaric Oxygen and -Wound Healing in Post Irradiation Head and Neck Surgery. *British Journal of Surgery*. 1973; 60: 394-397.
55. Mcfarlane RM, Wermuth RE. The Use of hyperbaric Oxygen to Prevent Necrosis in Experimental Pedicle Flaps and Composite Skin Grafts. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1966; 37:422-430.
56. Esclamado RM, Larrabee WF, Zel GE. Efficacy of Steroids and Hyperbaric Oxygen on Survival of Dorsal Skin Flaps in Rats. *Otolaryngology, Head Neck Surgery*. 1990; 102: 41-44.
57. Zamboni WA, Roth AC, Russel RC, Nemiroff PM, Casa L, Smoot EC. The Effect of Acute Hyperbaric Oxygen Therapy on Axial Pattern Skin Flap Survival When Administered During and after Total Ischemia. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1989; 5: 543.
58. Valauri FA. The Use of Medicinal Leeches in Microsurgery. *Blood, Coagulation and Fibrinolysis*. 1991; 2: 185.
59. West BR, Nichter LS, Halpern DE. Emergent Reuse Leech Therapy: A Better Method. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1994; 93: 1095.
60. Inuma T, Sawada Y. Topical Application of Capcaicin and Flap Survival. *British Journal of Plastic Surgery*. 1996; 49: 319.
61. Sawada Y, Yotsuyanagi T, Yokoi K, Ishita K. Plaster Containing Capcaicin Increases the Survival of Experimental Flaps: Effects of Post-and Preoperative Administration. *European Journal of Plastic Surgery*. 1997; 20: 256.
62. Johnson PC. Platelet Mediated thrombosis in Microvascular Surgery: New Knowledge and Strategies. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1990; 86: 359.

63. Collier BS, Anderson KM, Weiman HF. The anti-GPIIb-IIIa agents: Fundamental and Clinical Aspects. *Haemostasis*. 1996; 26: 285.
64. Bennet JS. Platelet-fibronogen Interactions. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 2001; 936: 340.
65. The EPIC Investigators. Use of a Monoclonal Antibody Directed Against the Platelet Glycoprotein IIb/IIIa receptor in High Risk Coronary Angioplasty. *N. Engl. J. Med.* 1994; 330: 956.
66. Konstantopoulos K, Kamat SG, Schafer AI. Shear Induced Platelet Aggregation is Inhibited by in vivo Infusion of an Anti-glycoprotein IIb/IIIa Antibody fragment, c7E3 Fab, in Patients Undergoing Coronary Angioplasty. *Circulation*. 1995; 91: 1427.
67. Hoffman P, Bernat A, Savi P, Herbert JM. Antiplatelet and Antithrombotic Efficacy of SR121787, a Nonpeptide Orally Active GP IIb/IIIa antagonist, in Rabbits: Comparison with Clopidogrel and Aspirin. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1997; 30: 367.
68. Heral JP, Peyrou V, Savi P, Bernat A, Herbert JM. Effect of SR121566A, a Potent GP IIb/IIIa Antagonist on Platelet-Mediated Thrombin Generation in Vitro and in Vivo. *Thrombosis and Haemostasis*. 1998; 79: 383.
69. Arnljots B, Bergqvist D. Inhibition of Heparin Resistant Microarterial Thrombosis by Recombinant Hirudin: A Specific Thrombin Inhibitor. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1995; 95: 894.
70. Arnljots B, Dougan P, Wieslander JB, Salemark L, Bergqvist D. Platelet Accumulation and Thrombus Formation After Microarterial Injury: An Experimental Study in Rabbits. *Scandinavian Journal Of Hand and Plastic Surgery*. 1994; 28: 167.
71. Bhatt DT, Topol EJ. Glycoprotein Inhibitors and Fibrinolysis in Myocardial Infarction. *J. A. M. A.* 2000; 284: 3124.
72. Peter FW, Franken RJ, Wang WZ, Anderson GL, Ssuschke DA, O'haughnessy MM, Banis JC, Steinau HU, Barker JH. Effect of Low Dose Aspirin on Thrombus Formation at Arterial and Venous Microanastomose and on the Tissue Microcirculation. *Plastic and reconstructive Surgery*. 1997; 99: 1112.
73. Rothkopf DM, Chu B, Bern S, May JW. The Effect of Dextran on Microvascular Thrombosis in an Experimental Rabbit Model. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1993; 92:511.
74. Hergueter CA, Handren J, Kersh R, May JW. Human Recombinant Tissue Type Plasminogen Activator and Its effect on Microvascular Thrombosis in the Rabbit. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1988; 81: 418.
75. Senderoff DM, Zhang WX, Israeli D, Mussat F, Urken ML, Weinberg H. The Additive Beneficial Effect of UW Solution and Urokinase on Experimental Microvascular Free Flap survival. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1993; 9: 197.
76. Johnson PC, Barker JH, Thrombosis and Antithrombotic Therapy in Microvascular surgery. *Clin Plast Surg*. 1992; 19: 799.
77. Topol EJ. Toward a New Frontier in Myocardial Reperfusion Therapy: Emerging Platelet Preeminence. *Circulation*. 1998; 97: 211.

78. Wencel Drake JD, Plow EF, Kunicki TJ, Woods VL, Keller DM, Ginsberg MH. Localization of Internal Pools of Membrane Glycoproteins Involved in Platelet Adhesive response. *Am. J. Pathol.* 1986; 124: 324.
79. Reverter J, Beguin S, Kessels R, Hemke H, Coller B. Inhibition of Platelet mediated Tissue Factor Induced Thrombin Generation by the Mouse/human Chimeric 7E3 antibody. *J. Clin. Invest.* 1996; 98: 863.
80. Wagner CL, Macelli MA, Neblock DS, Weisman HF, Coller BS, Jordan RE. Analysis of GPIIb/IIIa Receptor Number by Quantification of 7E3 Binding to Human Platelets. *Blood.* 1996; 88: 907.
81. Ching S, Thoma A, Monkman S, Kelton JG. Inhibition of Microsurgical Thrombosis by the Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Antagonist SR121566A. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2003; 112(1): 177.
82. Logan LJ. Hemostasis and bleeding disorders. In Mazza, J. J. *Manuel of Clinical Hematology, Little Brown and Compan.* Boston-Toronto. 1988; Chap: 15, pp: 288-314.
83. Ten Cate JW, Wilmink JM. Low molecular Weight Heparins and Heparinoid, A Recent Development in Anticoagulation Treatment: Application in Hemodialysis. *Int. J. Artif. Organs.* 1986; 9: 397.
84. Angel MF. Free Radicals: Basic Concepts Concerning Their Chemistry, Pathophysiology and Relevance to Plastic Surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1987; 79: 990.
85. Young CM. The Revascularization of Pedicle Skin Flaps in Pigs: A Functional and Morphologic Study. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1975; 63: 540.
86. Sasaki GH, Pang CY. Hemodynamics and Viability of Acute Neurovasculer Island Skin Flaps in Rats. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1980; 65: 152.
87. Hom SR. Utilizing Angiogenic Agents to Expedite the Neovascularization Process in Skin Flaps. *Laryngoscope.* 1988; 98: 521.
88. The Biochemistry of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids The Journal of Biological Chemistry Vol. 277, No. 11, Issue of March 15, pp. 8755–8758, 2002 © 2002 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Printed in U.S.A.
89. Shelby G. Top.Bs. Role of Nitric Oxide in Surgical Flap Survival. *Journal of American College of Surgeons.* Vol 201, Issue 4, October 2005, Pages 628-639.
90. Engler MB, Engler MM, Browne A, Sun YP, Sievers R. Mechanisms of vasorelaxation induced by eicosapentaenoic acid (20:5n-3) in WKY rat aorta. *Br J Pharmacol.* 2000 Dec;131(8):1793-9.
91. Richard J. Woodman, Trevor A. Mori. Effects of purified eicosopentaenoic acid and doxohexaenoic acid on platelet, fibrinolytic and vascular function in hypertensive type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis* 166 (2003) 85-93.
92. Örjan Gribe, Lars E. Gustafsson. Transdermally administered nitric oxide by application of acidified nitrite increases blood flow in rat epigastric island flaps. *European Journal of Pharmacology* 578 (2008) 51-56.

93. C. Torrejon et al. N-3 Fatty acids and cardiovascular disease: Action and molecular mechanisms. *Prostaglandins, leukotrienes and Essential Fatty acids* 77 (2007) 319-326.
94. Tagawa H, Shimokawa H, Long-term treatment with eicosapentaenoic acid augments both nitric oxide-mediated and non-nitric oxide-mediated endothelium-dependent forearm vasodilatation in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999 Apr;33(4):633-40.
95. Omura M, Kobayashi S, Eicosapentaenoic acid (EPA) induces Ca(2+)-independent activation and translocation of endothelial nitric oxide synthase and endothelium-dependent vasorelaxation. *FEBS Lett.* 2001 Jan 5;487(3):361-6.
96. C. Von Schacky .n-3 PUFA in CVD: Influence of cytokine polymorphism. *Proceedings of the Nutrition Society* (2007), 66, 166-170.