

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**CİLT FLEPLERİ OLUŞTURULAN RATLARDA OZON
EMDİRİLMİŞ ZEYTİNYAĞININ FLEP BESLENMESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ
(Deneysel Çalışma)**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Volkan YİĞİT**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Cüneyt KIRKIL**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Yavuz Selim İLHAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden

Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cüneyt KIRKIL

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Genel cerrahi asistanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri olan, bilgi ve deneyimleri ile cerrahi eğitimimdeki ufkumu geliştirmeme yardımcı olan ve yeni ufuklara yelken açmamda yol gösterici olan değerli hocalarım; başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Yavuz Selim İLHAN olmak üzere diğer hocalarım Prof. Dr. Ziya ÇETİNKAYA, Prof.Dr Erhan AYGEN, Doç. Dr. Refik AYTEN, Doç. Dr. Cüneyt KIRKIL, Doç. Dr. Mustafa GİRĞİN, Doç. Dr. Koray KARABULUT'a sonsuz saygı, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım esnasında her konuda benden anlayış ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Cüneyt KIRKIL'a, istatistiksel değerlendirmeler esnasında yardımlarından dolayı Genel Cerrahi Uzman Hekimi Mehmet Buğra BOZAN'a, patolojik incelemelerde yardımcı olan Patoloji Anabilim Dalı üyesi Prof. Dr. İbrahim ÖZERCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım dostluk ve arkadaşlıklarını hiçbir zaman unutmayacağım asistan arkadaşlarım, klinik ve ameliyathane hemşire, teknisyen, personel, sekreter arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Doğduğum andan itibaren benim yaşam anlayışıma yol gösteren, bana her türlü desteklerini esirgemeyen aileme, özellikle bu zorlu süreçte yorgunluğumu benimle paylaşan hayat arkadaşıma saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yönetim birimi başkanlığı tarafından TF. 12. 29 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Cerrahi pratikte rastlantısal paternli deri flepleri sıklıkla kullanılmaktadır. Flep distalinde oluşabilecek doku nekrozu, oluşabilecek kozmetik ve fonksiyonel sorunlar nedeniyle korkulan bir komplikasyondur. Ozon kullanımının kronik ve akut yara iyileşmesinde etkinliği gösterilmiştir.

Bu deneysel çalışmada ozonize zeytinyağı ve sadece saf zeytinyağı emdirilmiş pansuman materyalinin sıçan dorsal rastlantısal paternli deri fleplerinde damarlanma üzerine etkisi araştırıldı.

Ağırlıkları 200 – 250 gr arasında değişen 21 adet Wistar Albino tipi erkek rat üç eşit gruba ayrıldı. Her gruba standart kaudal tabanlı dorsal flep uygulandı. Kontrol grubuna ek bir uygulama yapılmadı. Diğer iki gruba sırasıyla zeytinyağı ve ozonize zeytinyağı günde iki kez topikal olarak uygulandı.

Postoperatif 7. günde tüm fleplerin tabanı ve uç noktası arasından tam kat 1 x 1 cm boyutlarında doku örnekleri alındı. Doku örnekleri CD34 ve VEGF boyaları ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi.

Kontrol grubunda CD34 ve VEGF ile pozitif boyanma gösteren yapıların ortalama $\pm$ standart sapma değerleri sırası ile 10.29 ± 1.80 ve 8.86 ± 1.35 iken zeytin yağı ve ozonize zeytin yağı gruplarında bu değerler sırasıyla 15.57 ± 1.72 ve 15.00 ± 1.41 ile 25.00 ± 2.16 ve 25.14 ± 2.41 idi. Her iki çalışma grubunda CD34 ve VEGF ile boyanan yapıların ortalama sayıları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha yüksekti (her ikisi için de $p < 0.001$). Ozonize zeytinyağı grubunun hem CD34 hem de VEGF ile ortalama boyanma sayıları da zeytinyağı grubundakinden belirgin olarak daha fazlaydı (her ikisi için $p < 0.001$).

Sonuç olarak ozonize zeytinyağının rastlantısal paternli cilt fleplerinin damarlanmasını artırdığı gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Flep, Zeytinyağı, Ozonize Zeytinyağı, CD-34, VEGF

ABSTRACT

THE EFFECTS OF OZONATED OLIVE OIL ON THE FLAP IN AN EXPERIMENTAL FULL-THICKNESS SKIN FLAP MODEL

In surgical practice random sample skin flaps are used frequently. The flap necrosis is a horrible complication because of cosmetic and functional problems. The efficiency of ozone on chronic and acute wound healing has been reported.

In this experimental study, the effects of ozonated olive oil and pure olive oil sucked medical dressing is searched on vesseling in the doral skin flaps on rats.

Twenty one Wistar Albino male masculine rats weighing 200-250 grams were seperated into three groups with seven members. All of rats underwent to a full-thickness dorsal flap with caudal basis. Any additional application was given to rats in control group. Olive oil or ozonated olive oil was applied, twice per day, to flap areas of rats in remaining two groups during postoperative seven day.

On postoperative seventh day, 1 centimeter squared full-thickness tissue samples obtained from middle point of flap areas. Tissue samples were stained by CD34 and VEGF antibodies, and were observed under light microscope.

The mean numbers of CD34- and VEGF-positive structures were 10.29 ± 1.80 and 8.86 ± 1.35 in control group, respectively. They were 15.57 ± 1.72 and 15.00 ± 1.41 in olive oil group, and were 25.00 ± 2.16 and 25.14 ± 2.41 in ozonated olive oil group, respectively. In both study groups, the mean numbers of CD34- and VEGF-positive structures were statistically significantly higher than control group ($p < 0.001$, for both). Either CD34- or VEGF-positive stained structures were much more in ozonated olive oil group than olive oil group ($p < 0.001$).

As a result, it was shown that ozonated olive oil increased vascularization in random sample full-thickness skin flaps.

Keywords: Flap, Olive oil, Ozonated Olive Oil, CD-34, VEGF

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1.Tarihçe	1
1.2.Deri Fleplerinin Taşınma İlkesine Göre Sınıflandırılması	2
1.2.1.Lokal Flepler	2
1.2.1.1. İlerletme Flepleri	2
1.2.1.2. Transpozisyon Flepleri	3
1.2.1.3. Rotasyon Flepleri	3
1.2.1.4. İnterpolasyon Flepleri:	3
1.2.2. Uzak flepler	3
1.2.2.1. Direkt Flepler	3
1.2.2.2. İndirekt Flepler	4
1.2.2.3. Serbest Flepler	4
1.3. Fleplerin Kanlanmalarına Göre Sınıflandırılması	4
1.3.1. Muskulokutan arterlerle beslenen flepler	4
1.3.2. Septokutan arterlerle beslenen flepler	5
1.4. Flep Fizyolojisi	6
1.4.1. Deri dolaşımının sistemik kontrolü	7
1.4.2. Deri dolaşımının lokal kontrolü	7
1.5. Flep Patofizyolojisi	8
1.5.1. Anatomik değişiklikler	8
1.5.2. Hemodinamik değişiklikler	8
1.5.3. Metabolik değişiklikler	8

1.6. Fleplerde Geciktirme	9
1.7. Fleplere Farmakolojik Ajanların Etkisi	10
1.7.1. Serbest Radikaller	11
1.7.2. Nitrik Oksit Uyarıcıları	12
1.7.2.1. Angiogenez üzerinden uyarım:	13
1.7.2.2. Bitkisel kaynaklı maddelerin angiogenezdeki rolü:	13
1.8. Yara İyileşmesi	13
1.8.1.Doku hasarı	14
1.8.2.Pıhtılaşma	14
1.8.3.Erken İnflamasyon	14
1.8.4. Geç İnflamasyon	14
1.8.5.Fibroblast Göçü / Kollajen Sentezi	15
1.8.6.Angiogenezis	15
1.8.7.Epitelizasyon	16
1.8.8. Olgunlaşma (remodeling) fazı	16
1.9.Yetersiz Yara İyileşmesi	17
1.9.1. Diabet	17
1.9.2. Protein eksikliği	17
1.9.3. Vitamin A	17
1.9.4. Çinko	17
1.9.5. İyonize radyasyon	18
1.9.6. Steroidler	18
1.9.7. Yaş	18
1.9.8. İskemi	18
1.10. Serbest Oksijen Radikalleri ve Yara İyileşmesi	18
1.10.1. Serbest oksijen radikaller ve doku hasarı	20
1.10.2. Koruyucu düzenekler	21
1.11.Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü	21
1.11.1. VEGF Ailesi	22
1.11.2. VEGF Reseptörleri ve Koreseptörleri	23
1.11.3. VEGF Salınımı	25
1.11.4. Hipoksi	25

1.12. CD34	26
1.13. Ozon	27
1.13.1. Tıbbi Ozon Nedir?	28
1.13.2. Ozon Tedavisinin Tarihçesi	28
1.13.3. Ozonun Etki Mekanizması	28
1.13.3.1. Organik Ortamlarda Ozon Kimyası	28
1.13.3.2. Klinik Uygulamalarda Ozonun Etki Mekanizması	29
1.13.3.3. Ozonun Hücre Seviyesindeki Etkileri	30
1.13.3.3.1. Kemik iliği	30
1.13.3.3.2. Alyuvar	30
1.13.3.3.3. Endotel hücreler	31
1.13.3.3.4. Platelet	31
1.13.3.3.5. Bağışıklık hücreleri	31
1.13.4. Ozon Vücuda Verilme Yolları	31
1.13.4.1. Majör otohemoterapi (MOH)	31
1.13.4.2. Minör otohemoterapi (MİH)	32
1.13.4.3. Lokal tedaviler	32
1.13.4.4. Ozonlu su	32
1.13.4.5. Peroksidik yağlar:	33
1.13.4.6. Ozon/oksijen gaz karışımı	34
1.13.4.7. Vücut boşluklarına ozon verme	34
1.13.4.8. Ozon gazı enjeksiyonu:	34
1.13.5. Ozonoterapinin Klinik Uygulamaları	35
1.13.5.1. Yara iyileşmesi ve kronik yaralar:	35
1.13.5.2. Antibakteriyel etki	36
1.14. Zeytinyağı	36
1.14.1. Zeytinyağının Kimyasal Bileşimi	37
1.14.2. Yağ asitleri ve trigliseritler	37
1.14.3. Gliserit olmayan bileşenler	38
2. GEREÇ ve YÖNTEM	39
2.1. Deneklerin Hazırlanması	39
2.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler	39

2.3. Deneklerin Gruplara Ayrılması	39
2.4. Cerrahi Yöntem	40
2.5. Sonuçların Değerlendirilmesi	41
2.5.1. Histopatolojik değerlendirme	41
2.5.2. İstatistiksel değerlendirme	41
3. BULGULAR	42
3.1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	42
4. TARTIŞMA	46
5. KAYNAKLAR	50
6. ÖZGEÇMİŞ	64

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Ozon Tedavisinin Kullanıldığı Alanlar	35
Tablo 2. Çalışmada kullanılan alet ve malzemeler	39
Tablo 3. CD34 ve VEGF ile pozitif boyanma gösteren yapıların sayıları	43

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Tek ve çift pediküllü ilerletme flebi / V-Y ilerletme flepleri	2
Şekil 2.	Rotasyon flepleri	3
Şekil 3.	Cildin arteriyel desteği ve pleksusları	5
Şekil 4.	Arteriovenöz şantların ciltteki dağılımı	7
Şekil 5.	Flep geciktirme işlemi	10
Şekil 6.	Damar tonusunun ayarlanması	12
Şekil 7.	VEGF molekülünün temsili gösterimi	22
Şekil 8.	VEGF-A, -B, -C ve -D'nin gen yapısı	23
Şekil 9.	VEGF ailesinin reseptörleri ile etkileşimi	24
Şekil 10.	VEGF gen ekspresyonunun düzenlenmesi	26
Şekil 11.	A-B-C. Khouri'nin Mc Farlane dorsal kaudal tabanlı flep modeli	40
Şekil 12.	CD34 için pozitif boyanma sayılarının merkezsiz konum, yayılma, çarpıklık ve basıklık grafiği	44
Şekil 13.	VEGF için pozitif boyanma sayılarının merkezsiz konum, yayılma, çarpıklık ve basıklık grafiği	44
Şekil 14. A.	Kontrol grubu CD34 boyama, x200 büyütme	45
Şekil 14. B.	Zeytinyağı grubu CD34 boyama, x200 büyütme	45
Şekil 14. C.	Ozonize zeytin yağı grubu CD34 boyama, x200 büyütme	45
Şekil 14. D.	Kontrol grubu VEGF boyama, x200 büyütme	45
Şekil 14. E.	Zeytin yağı grubu VEGF boyama, x200 büyütme	45
Şekil 14. F.	Ozonize zeytin yağı grubu VEGF boyama, x200 büyütme	45

KISALTMALAR LİSTESİ

ADP	: Adenozin Difosfat
ALDH	: Aldehid Dehidrogenaz
AMP	: Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GİST	: Gastrointestinal Stromal Tümör
HIF	: Hipoksi İle Uyarılabilen Transkripsiyon Faktörü
HRE	: Hipoksi Responsiv Element
HSP	: Isı Şok Proteini
IFN	: Interferon
IL	: Interlökin
MİH	: Minör Otohemoterapi
MOH	: Majör Otohemoterapi
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE1	: Prostaglandin E ₁
PGF2	: Prostaglandin F ₂
PLGF	: Plasental Büyüme Faktörü
RA	: Romatoid Artrit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TXA2	: Tromboksan A ₂
VCAM	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VPF	: Vasküler Permeabilite Faktör

1. GİRİŞ

Flep; doku eksikliklerinin onarımı için vücudun belirli bölgelerinden hazırlanan, tabanından veya pedikülünden giren arter ve venlerle beslenen deri, derialtı, fasya, kas, kemik ya da bu dokuların bir kısmını bir arada içerebilen doku parçasıdır. Flep hazırlanan bölgeye verici (donör) alan, taşındığı bölgeye (defekt) de alıcı alan adı verilir. Flebin verici alana bağlı kalan proksimalindeki deri kısmına tabanı ya da pedikülü denilmektedir. Flebin vasküler kaynağı deri, derialtı, derin fasya ve kas içerebilen bu pedikül içerisinden geçer.

1.1.Tarihçe

Yara bakımının tarihçesi insanoğlunun ilk yaralanması ile başlar. Flep cerrahisinin temelleri ise İ.Ö. VI. yüzyıla uzanmaktadır. Ünlü Hint Cerrahî Sushruta, Sushruta Samhita adlı yapıtında kulak ve burun doku eksikliklerinin onarımında kullandığı alın fleplerinden bahsetmiştir. Hint plastik cerrahi öğretisi Araplar aracılığıyla Avrupa'ya gelmiş ve özellikle XV. yüzyıl Rönesans Avrupa'sında Sicilya'da Branca Ailesi'nin öncülüğü ile geniş uygulama alanı bulmuştur (1). İlk Plastik Cerrahi kitabı 1597 yılında Gaspare Tagliacozzi tarafından yayınlanmıştır. Bu kitapta Tagliacozzi burun onarımında kol fleplerinin kullanımını ayrıntıları ile açıklayarak modern plastik cerrahiye adımda dönüm noktası olmuştur. XIX. yüzyıldaki çalışmalar Graefe, Hamilton, Mutter, Dieffenbach, Gersuny tarafından yapılan çalışmalar üzerinde yoğunlaşır. Flep transferinin modern cerrahi teknikleri I. Dünya Savaşı yıllarında yayınlanan Tüp flebin anlatıldığı makaleleri ile Gillies ve Filatov'a atfedilir. Otörler bu makalelerinde tüp flep cerrahi ilkeleri dışında geciktirme fenomeninden de bahsetmişlerdir (1-3).

1950 – 1975 yılları arasındaki dönemde özellikle baş boyun bölgesi ile ilgili birçok flep tanımlanmıştır. Bakamjian ve Mc Gregor'un aksiyel paternli deri fleplerini tanımlamaları flep cerrahisine önemli katkı sağlamıştır. Kas flebi ilk defa Ger tarafından 1968 yılında tarif edilmiştir.

1970'ler ve 1980'ler arasında yer alan bu dönemde birçok yeni flep tanımlanmış kas ve kas–deri flepleri kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Fasya-deri ve kas-deri fleplerindeki olağanüstü gelişmeye ek olarak, ameliyat mikroskobunun

kullanım bulması ile birlikte serbest doku aktarımları gündeme gelmiş ve cerrahide yeni bir çağ açılmıştır.

Buncke, Harii, Taylor, Daniel ve diğerleri öncülüğünde mikrovasküler serbest doku aktarımları gerçekleştirilmiştir (1-4).

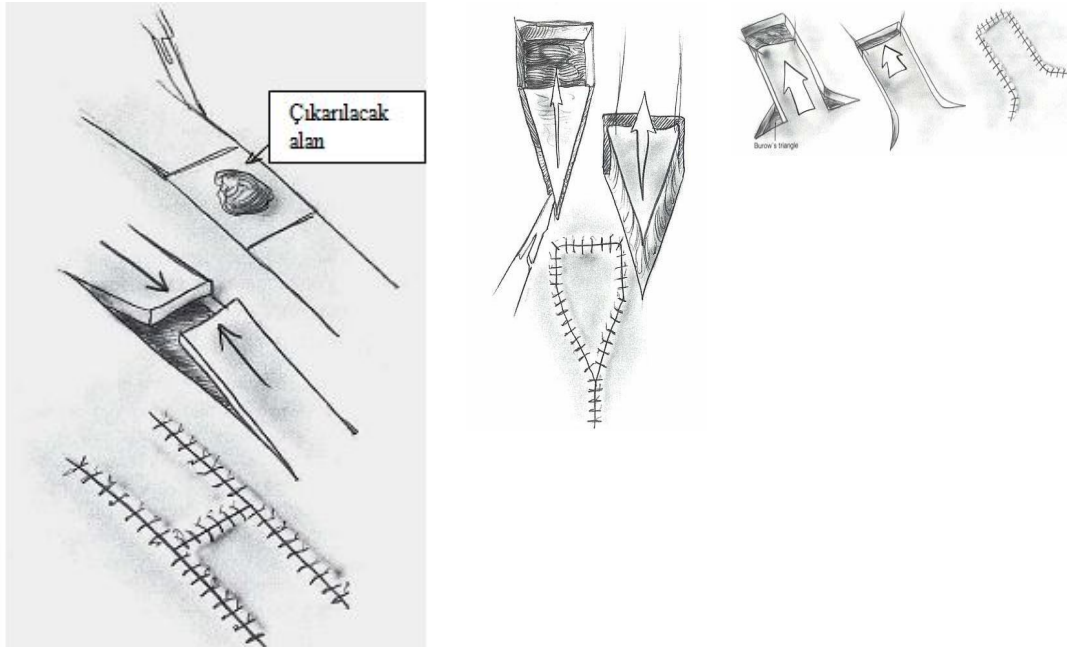
1.2.Deri Fleplerinin Taşınma İlkesine Göre Sınıflandırılması

1.2.1.Lokal Flepler

Verici alana komşu olan defektlerin kapatılmasında kullanılır. Genellikle alıcı alan ile renk, yapı, kıl içerme ve kalınlık açısından benzer özelliklere sahiptir. Uzak fleplere göre daha az evreli ameliyat ve daha kısa süre hastane kalım süresi gibi avantajlara sahiptir. Doku defektine doğru yaptıkları hareket tiplerine göre: ilerletme, rotasyon, transpozisyon ve interpolasyon flepleri olarak adlandırılırlar.

1.2.1.1. İlerletme Flepleri

Tek pediküllü, bipediküllü ve V-Y ilerletme flepleri şeklinde kullanılmaktadır.



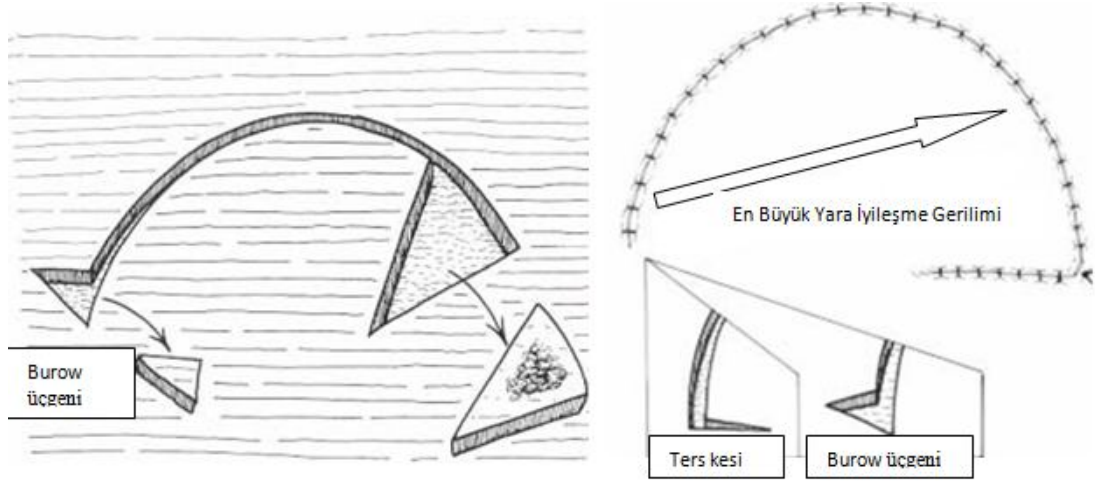
Şekil 1. Tek ve çift pediküllü ilerletme flebi / V-Y ilerletme flepleri

1.2.1.2. Transpozisyon Flepleri

Dörtgen şeklinde deri ve derialtı dokularından oluşmaktadır. Komşuluğundaki defekti kapatmak amacıyla lateral yönde hareketlendirilerek kullanılırlar.

1.2.1.3. Rotasyon Flepleri

Primer defektin üçgen şeklinde bir segmentini oluşturduğu, yarım daire şeklinde hazırlanan fleplerdir.



Şekil 2. Rotasyon flepleri. Fleplerin dairesel hareketi gerginliksiz olarak flep tabanına yapılan kesi veya üçgen cilt (Burow üçgeni) çıkartımı ile sağlanılmakta

1.2.1.4. İnterpolasyon Flepleri

Dörtgen şeklinde planlanan flebe, yakın ama bitişik olmayan bir defektin kapatımında rotasyon yaptırılarak uygulanılır.

1.2.2. Uzak flepler

Alıcı alana uzak bir bölgeden hazırlanan fleplerdir.

1.2.2.1. Direkt Flepler

Alıcı ve verici alanların flebin taşınabilmesi için birbirlerine yaklaştırıldığı transpozisyon flepleridir. El defektlerinin onarılmasında kasık flebi veya çapraz parmak flebi örnek olarak verilebilir.

1.2.2.2. İndirekt Flepler

Verici alandan alıcı alana transfer edilemeyen ve bir aracı alan kullanılarak uzak bir bölgeden hazırlanan fleplerdir. İndirekt flepler daima tüp haline getirilerek transfer edilirler. Toraks, abdomen ve uyluk bölgelerinden hazırlanırlar. İki paralel insizyonla derinin tabandan serbestlenmesi ile oluşturulan tüp fleplerde 3 temel değişiklik meydana gelmektedir. Bunlardan ilki kutanöz ve subkutanöz dolaşım paternindeki değişimler, kan damarlarına eşlik eden sempatik sinirlerin ayrılması, sonuncusu ise; flepte kısmi iskemi oluşturulmasıdır. Tüp flep taşıyıcı alana veya migrasyon alanına suture edildikten sonra en az iki buçuk hafta beklenmeli ve verici alandan evreli olarak ayrılmalıdır (5, 6).

1.2.2.3. Serbest Flepler

İstenilen miktarda hazırlanılan dokuların besleyici damarları ile birlikte verici alandan alınıp, uzaktaki alıcı alan damarlarına mikrovasküler teknik ile dikilmesi yoluyla taşınan fleplerdir (3, 4, 7, 8).

1.3. Fleplerin Kanlanmalarına Göre Sınıflandırılması

Flep beslenme paternlerinin anlaşılabilmesi için dokuların nasıl kanlandıklarının bilinmesi gerekmektedir. Dokuların kanlanması segmental, perforatör ve kutanöz arterlerden sağlanır. Segmental arterler, direkt olarak aortadan köken alırlar ve gövde ile ekstremiteleri kanlandıran büyük ana damarlardır. Perforatör damarlar ise segmental ile kutanöz damarlar arasındaki bağlantıyı sağlarlar. Kutanöz arterler kendi aralarında muskulokutan ve septokutan damarlar olarak ikiye ayrılırlar.

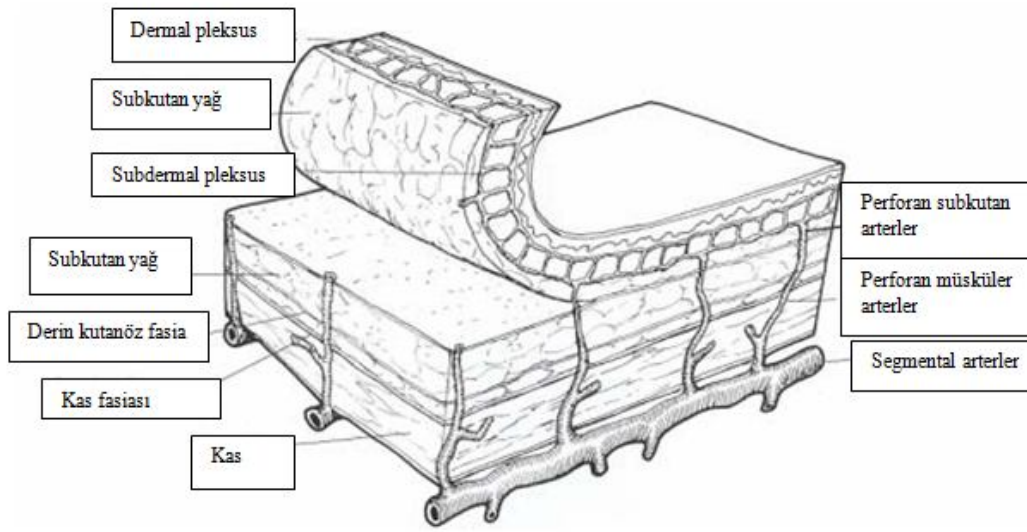
1.3.1. Muskulokutan arterlerle beslenen flepler

Muskulokutan arterler kası besledikten sonra üzerinde yeralan dermal pleksusa doğru ilerleyen ana damarlardır. Random deri flebi, deri ve derialtı dokusu içerir ve pedikülünden giren muskulokutan damarlarla beslenir. Kas-deri flebi ise kas dokusunu besleyen muskuler arterlere ek olarak çok sayıda uç muskulokutan arterden de kanlanan oldukça güvenilir fleplerdir (3).

1.3.2. Septokutan arterlerle beslenen flepler

Segmental veya muskuler damarlardan kaynaklanıp kaslar arasındaki fasyal septalardan geçerek üstteki fasya ve deriyi beslerler. Fasyokutan flep, septokutan bir damar üzerinden güvenle hazırlanılabilir. Deriye paralel olarak seyreden septokutan arterler çok sayıda yan dallar vererek geniş boyutlu arteriyel fleplerin hazırlanmasına olanak verirler (3).

Bahsedilmiş olan bu iki arter tipi üç anatomik seviyede (fasya, derialtı, deri) beş ayrı pleksus oluşturarak derinin beslenmesini sağlar (Şekil 3).



Şekil 3. Cildin arteriyel desteği ve pleksusları

Fasyal pleksusta, kan damarları fasyanın içinde, altında ve üzerinde seyreder. Baskın olan prefasyal pleksustur. Kan akımı septokutan ve muskulokutan arterlerden gelir. Subkutan pleksus; yağ dokusunu yüzeysel ve derin olarak ikiye ayırır. Bu plan anatomik olarak platisma ve skarpa fasyasına denk düşer. Bu sistem özellikle gövdede iyi gelişmiştir. Subdermal pleksus, retiküler dermisin hemen altında subkutan yağın hemen üzerindedir. Bu bölge deri flebinin kenar kanamasının olduğu bölgedir. Buradan çıkan arteriyoller dermal pleksusu besler. Dermal subepidermal pleksus, papiller dermisten başlar. Dermoepidermal bileşkeye kadar uzanır. Bu iki pleksus asıl deri kan dolaşımından sorumludur. Dermal pleksusun asıl amacı ısı düzenlemesidir (Şekil 3).

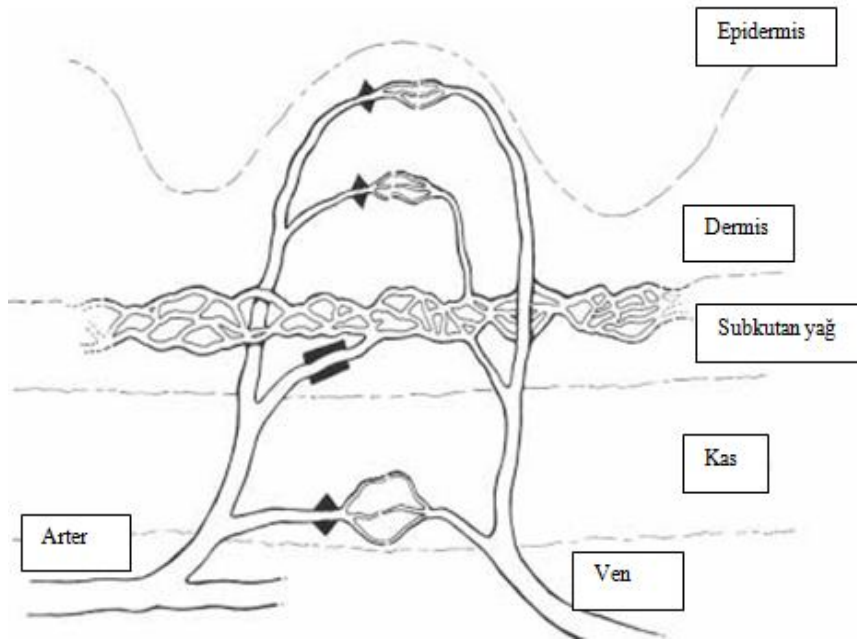
Özet olarak, random flepler direkt kutanöz, muskulokutanöz veya fasyakutanöz damarlardan kaynaklanan arterioller tarafından perfüze edilen dermal

ve subdermal pleksuslar tarafından beslenilirler. Arteryal ya da direkt kutanöz flepler ise segmental ya da muskuler damarların fasya ve üzerindeki deriyi beslemek üzere kaslar arasındaki fasyayı geçmeden önce verdikleri septokutanöz arterler tarafından beslenilirler. Bu septokutanöz arterler, kutanöz beslenmeyi sağlamadan önce sıklıkla komşu kaslara dallar verirler. Muskulokutan flepler; kas, subkutan yağ ve cilt dokusu içerirler ve üçüncü bir anatomik kavram olarak değerlendirmeye alınabilirler. Kas üzerindeki cilt arteryal perforatörlerden beslenirken, kas komponenti major damarların dalları tarafından beslenir. Fasyokutan flepler ise heterojen bir gruptur. Bu fleplerin perforatörleri intermuskular olabileceği gibi, kutanöz arterleri fasyanın yüzeyindeki arteryel pleksustan da kaynaklanabilir (1).

1.4. Flep Fizyolojisi

Mikrodolaşım, çapları 300 mikronun altındaki arteriollerden başlayıp uç arterioller, prekapiller sfinkterler, kapillerler, postkapiller venüller, toplayıcı venüller ve yine 300 mikron çaplı muskuler venüllere doğru ilerler. Arteriovenöz anastomozlar ise kapiller ağ yakınında arteriyel ve venöz dolaşımları birleştirir. Buradaki kas hücreleri çevrelerinde zengin sinir ağı bulundurulur. Kimyasal ve elektriksel uyarılar ile dilate olurlar. Bu şantlardan geçen kan, kapiller yatağı atlayıp ilerlemiş olur.

Bu sistem üç ayrı dermal tabakada yer alır (Şekil 4); Yüzeyel pleksusta arteriyel ve venöz yapılar bulunur, ısı değişimi ve beslenmede rol alırlar. Orta pleksus venöz ağırlıklı olup ısı değişimi ve savunma sistemlerini içerir. Derin pleksus arteriyel ve venöz yapıda olup ısısın korunması ve şantlardan sorumludur. Bu damar ağlarının yoğunluğu vücutta farklı dağılım gösterdiğinden değişik bölgelerden hazırlanan fleplerde dolaşımlar da farklı olmaktadır. Bu pleksuslar derinin yara iyileşmesine yanıtından sorumludur. Yaşlanma, radyasyon, sigara ve yanıklarda olumsuz etkilenir. Diğer taraftan doku genişletici uygulamaları sırasında yeni damarların oluşumunu da sağlarlar.



Şekil 4. Arteriovenöz şantların ciltteki dağılımı

1.4.1. Deri dolaşımının sistemik kontrolü

En önemli etken sinir sistemidir. Hipotalamus tarafından kontrol edilir. Damar duvarlarındaki alfa adrenerjik ve serotoninerjik reseptörler vazokonstriksiyon; beta adrenerjik reseptörler ise vazodilatasyona yol açarlar. Sempatik tonusun azalması, özellikle arteriovenöz anastomozlarda belirgin vazodilatasyona, artması da vazokonstriksiyona neden olur. Hümorale düzenleme sistemi içerisinde adrenalin ve noreadrenalin doğrudan alfa adrenerjik reseptörleri etkileyerek vazokonstriksiyona neden olurlar. Serotonin vazokonstriktör, histamin ve bradikinin ise vazodilatör etki gösterir. Araşidonik asit metabolitlerinden Tromboksan A₂ (TXA₂) ve prostaglandin F₂ (PGF₂) Alfa güçlü vazokonstriktör, prostoglandin E₁ (PGE₁) vazodilatör etkilidir. Prostaglandin güçlü bir vazodilatör ve trombosit agregasyon inhibitörüdür. Lökotrienlerin deri dolaşımını artırdıkları gösterilmiştir (7).

1.4.2. Deri dolaşımının lokal kontrolü

Metabolik düzenlemede deride fazla olmamakla birlikte; hiperkapni, hipoksi, asidoz ve interstisyel potasyum artışı vazodilatasyona neden olur. Fiziksel düzenlemede perfüzyon basıncının artışı damarlarda gerilmeye yol açarak vazokonstriksiyonu tetikler. Bu, miyogenik refleks sayesinde kapiller akım arter basıncından etkilenmeksizin sabit bir düzeyde tutulur. Lokal hipotermi kan akımını

azaltır, bu da vazodilatasyonu uyarır. Viskozite ise kan akımını sadece ciddi iskemi durumlarında etkilemektedir (7).

1.5. Flep Patofizyolojisi

Flep kaldırıldığında vasküler bir dengesizlik oluşur. Sempatik innervasyon ortadan kalkar ve iskemi gelişir. Artık bu deri dokusu ısı düzenleyici bir organ olarak değil; hümorale, metabolik ve fiziksel düzeneklerin yardımıyla kendine özgü hemodinamik bir denge kurarak yaşamaya çalışan bir doku olarak vardır. Yaşamayı için 8-12 saat içinde yeterli bir dolaşım ile beslenmesi, iskeminin yol açtığı hasarların azaltılması gerekmektedir. Oluşan değişiklikler üç grupta toplanabilir (7,8).

1.5.1. Anatomik değişiklikler

Transvers yerleşimli damarlar arasında varolan anastomozlarda dilatasyonlar olur. Cerrahi travmanın yol açtığı inflamatuvar yanıt sonucu flep pedikülündeki damar sayısı artar. Bu durum, 2-3 hafta devam eder. 4-5 gün sonra çevre dokulardan ilerlemeye başlayan yeni damarlar flep damarlarıyla bağlantı kurarlar. Katekolaminler flep kaldırıldıktan sonra ortadan kaybolmaya başlarlar ve 30 saat sonunda tümüyle yokolurlar. Tekrar ortaya çıkmaları reinnervasyon göstergesidir ve 4-8 haftayı bulur (7,8).

1.5.2. Hemodinamik değişiklikler

İlk günde flep pedikülündeki kan akımı %100 iken, bu flep distalinde %18'e düşer. İlk haftada %65, ikinci haftada %75-90'a çıkar. Bir ay içerisinde de normale döner. Distaldeki flep kaybının birinci nedeni arteriyel yetersizliktir. Akut ve geciktirme uygulanmış fleplerde, distaldeki şant akımlarında herhangi bir değişiklik görülmemiştir (7,8).

1.5.3. Metabolik değişiklikler

Flep distaline doğru ilerledikçe lokal oksijen, glukoz ve ATP düzeyleri hızla azalır. Glukoz tüketimi ilk üç günde en yüksek seviyede olup yedinci günde normale döner. Laktat yapımı artar. Sıklık AMP akut dönemde azalır, 12 saat sonra canlı kısımlarda belirgin olarak artar. Tüm bunlar metabolik aktivite artışını gösteren işaretlerdir. İskemik kısımlarda ise anaerobik metabolizma artar ve ortaya toksik süperoksid radikaller çıkar. Fibrinolitik aktivite ilk 24 saatte belirgin olarak azalır.

Trombosit agregasyonunda ve araşidonik asit metabolizmalarında bozukluklar ortaya çıkar (7,8).

1.6. Fleplerde Geciktirme

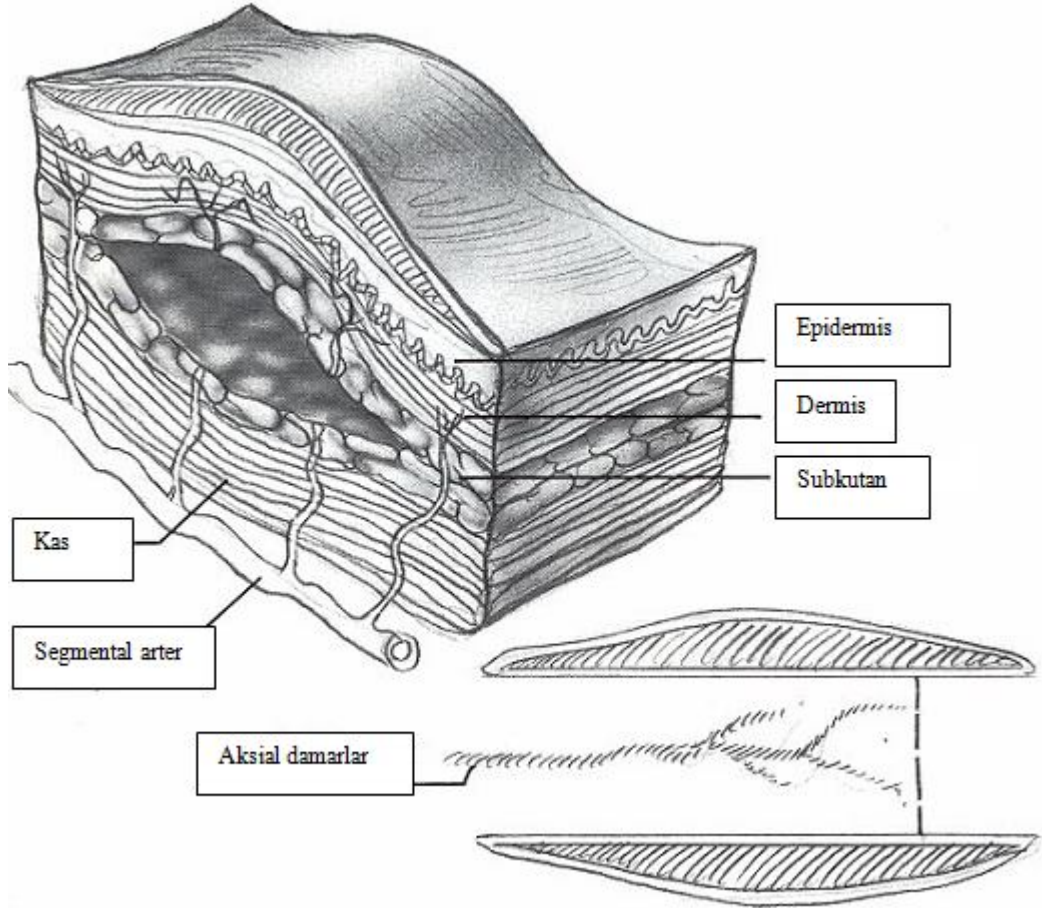
Geciktirme bir flebin yaşayan bölümünün uzunluğunu artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Aksiyel, muskulokutan, fasyokutan flepler ve serbest mikrovasküler doku transferlerindeki son gelişmeler nedeniyle son yıllarda geciktirme işlemi daha az kullanılmaktadır.

Flep cerrahisinde uzun zamandır kullanılan evreli flep aktarım işlemi ile daha geniş doku taşınabilmektedir. Transfer öncesi kanlanmasının kısmen kesilmesi ile fleplerde iskemi toleransı ve damarlanma artışı gösterilmiştir. Bu konudaki araştırmalar zaman zaman birbiriyle de çakışabilmektedir. İlk çalışmalarda damar çapında, flep aksı boyunca damarların yeniden yönlendirilmesinde, damar sayısında ve kan akımlarında artmalar gösterilmiştir. Ayrıca farklı çalışmalarda, geciktirme işlemi ile flebin hipoksik koşullarda yaşamaya alıştırıldığı da belirtilmiştir. Bu damarlanma artması görüşü ile çelişebilmektedir (9).

İskemi, geciktirme işleminin önemli bir bileşenidir. Artmış pCO_2 düzeyleri flep revaskularizasyonu ile yaşayabilirliği artırmaktadır. Yapılan deneysel çalışmalar ile flebin distal bölümünün daha hipoksik olmasına karşın revaskularizasyonun uyarılmasının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Fleple alıcı yatak arasındaki revaskularizasyon ameliyattan 3-4 gün sonra, en hipoksik uçtan başlamaktadır. Diğer bir mekanizma ise arteriovenöz şantlardır. Bu şantlar sempatik sistem kontrolü altındadır ve farmakolojik ajanlar tarafından uyarılabilmektedir. Başlangıçta flep kaldırımı sonrası oluşan hiperadrenerjik cevaba bağlı vazokonstriksiyon yaklaşık 18-36 saat sürer. Bu durum birkaç günde geri dönerek flep nekrozu ile de sonuçlanabilir. Flebin ikinci aşamada kaldırılması ile bu hiperadrenerjik faz gözlenmez, vazokonstriksiyon oluşmaz. Geciktirme işlemi ile oluşturulan sempatektomi, arteriovenöz şantların açılmasını ve flep kanlanmasının artmasını sağlar. Böylelikle, pediküllü bir flep iki aşamada kaldırıldığı takdirde tek aşamada yapılmış olan flepteki boy/en oranından daha fazla bir oranda kaldırılabilir (2, 7-9).

Fleplerdeki geciktirme işlemi sonrası oluşan mikroanjiyografik çalışmalar insanlarda, domuzlarda, tavşanlarda, köpeklerde gösterilmiştir. Geciktirme işleminin zamanlamasına ait bilgiler farklılık gösterebilmektedir. Beşinci günden, 3-4 haftaya

kadar olan zaman biriminde uygulanabileceği bildirilmiştir (10). Callegari ve Taylor ise çalışmalarında standart bir geciktirmenin beşinci günde yapılmasının uygun olacağını savunmuşlardır (11, 12). Fisher, deneysel çalışmalarında bu işlemi takiben 1 hafta sonrasında kanlanmanın artışının en üst seviyeye ulaştığını göstermiştir (2). Geciktirme işlemi; flebin tabanıyla ya da pediküllerinden biriyle bağlantılarının kesilmesi ile sağlanabilmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. Flep geciktirme işlemi; flebin dolaşım desteğinden tabanından (üstte) veya bir pedikülünden (altta) ayrılarak kısmen mahrum bırakılması

1.7. Fleplere Farmakolojik Ajanların Etkisi

Geciktirme işleminin kısmen sempatektomi sonrası oluşan hiperadrenerjik durum ile açıklanması farmakodinamide taklit edilmektedir. Cilt kan akımının düzenlenmesi daha önce de belirtildiği gibi sistemik ve lokal olarak kontrol altında tutulmaktadır. Sistemik kontrol hem nöral hem de humoral olarak düzenlenilmektedir. Bu düzenlemeler içerisinde nöral düzenleme daha baskındır. Sempatik lifler ve alfa – adrenerjik reseptörler vazokonstriksiyonu uyarırlarken; Beta

– adrenerjik reseptörler de vazodilatasyonu uyarmaktadır. Ek olarak arteriovenöz anastomozlardaki serotoninergik reseptörler de vazokonstriksiyonu uyarmaktadırlar.

Humoral düzenleme ise, sistemik vazoaktif maddeler ve bunların özgün reseptörleri ile olmaktadır. Adrenalin ve noradrenalin, alfa – reseptörleri üzerinden bu düzenlemeye katkıda bulunmaktadır. Diğer sistemik vazokonstriktörler serotonin, tromboksan A₂ ve Prostaglandin F₂ alfa iken vazodilatörler ise Prostaglandin E₁, Prostosiklin, Histamin, Bradikinin ve Lökotrien C₄ – D₄ ‘dür. (7)

Sempatolitik ajanlar olan Rezerpin ve Guanitidin noreadrenalin salınımını azaltırlar. Preoperatif verilmelerinde etkili olduklarına dair yayınlar mevcuttur. Alfa –adrenoreseptör blokörü olan Fenoksibenzamin teorikte flep yaşayabilirliğini artırması gerekirken deneysel çalışmalarda şüpheli bulunmuştur. Fentolamin ve Thymoxamine ile ilgili destekleyici yayınlar vardır. Beta – adrenoreseptör uyarıcıları iskelet kasında vasodilatasyona neden olan ajanlardır. Kas fleplerinde etkinliği gösterilmişken deri fleplerinde destekleyici bulgulara rastlanılmamıştır. Beta – adrenoreseptör blokörü olan Propranolol rat çalışmalarının bir kısmında etkili bulunmuşken, bazı rat çalışmalarında ve domuzlar üzerinde etkisiz bulunmuştur (3, 7).

1.7.1. Serbest Radikaller

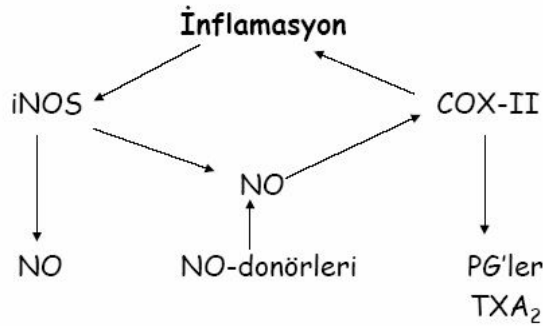
Oksijen metabolizma ürünleridir. Hücreler bu ürünlerin zararlı etkilerinden korunmak için enzimatik kontrol sistemleri, metal şelatörler (Deferoksamin) (13) ve antioksidanlar kullanırlar. Allopurinol, ksantin oksidaz inhibitörüdür. İskemide ksantin dehidrogenaz ile ksantin oksidaz üretilir; bu da oksijen radikalleri oluşumunu tetikler. Allopurinol ile doku iskemisine bağlı kısır döngü engellenmiş olur. Serbest oksijen radikallerinin yara iyileşmesine olan etkisi, temizleyicileri kullanılarak dolaylı yollardan gösterilmiştir. Shandall ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları kolon anastomozlarından sonra bölgeye iskemi uygulayıp; Aprotinin ve Süperoksid Dismutaz’ın etkilerini araştırmış ve iyileşmeyi artırdığını göstermişlerdir (14).

Vitamin E ve C de serbest radikal oluşumunu baskırlar. Plasmada bulunan Ürik Asit de vitamin C gibi davranan antioksidanlardan birisidir. Bu üç madde plazmadaki toplam radikal yakalama aktivitesinin % 50-70’inden sorumludur (15). Glutatyonun da Vitamin C ile sinerjistik aktivitesi gösterilmiştir (16). Diğer

antioksidanlar arasında; beta-karoten, dimetil sülfoksit ve seruloplazmin de sayılabilir.

1.7.2. Nitrik Oksit Uyarıcıları

Nitrik oksit (NO^-) kısa ömürlü, lipofilik L- arginine'den NADPH-bağımlı enzim olan NO sentetaz (NOS) tarafından endotelial hücrelerde oluşturulan bir moleküldür. Nitrik oksitin vazorelaksasyon fizyolojisinde, angiogenezin uyarılmasında, nörotransmisyonunda, trombosit agregasyonunun baskılanmasında, immün savunmada ve hücre içi sinyalleşmede etkin rolü mevcuttur. NO^- 'in eşlenmemiş bir adet elektronu vardır. Bazı reaktif nitrojen türlerinde DNA hasarı ve onarımını engelleyici fonksiyon mevcuttur (17, 18). NOS enzimi konstitütif (kurucu) NOS (cNOS) ve sitokin –indusibl (uyarılabilen) NOS (iNOS) olmak üzere iki büyük kategoride gruplandırılır. cNOS tarafından çok kısa sürede üretilen NO^- , az miktarda olup daha çok fizyolojik olayların devamında rol oynarken, iNOS, cNOS'a göre çok daha fazla miktarda NO^- sentezleme yeteneğine sahiptir. iNOS ekspresyonu konak savunması için oldukça önemlidir çünkü NO^- mikroorganizmalar için de toksik bir maddedir (Şekil 6).



Şekil 6. Damar tonusunun ayarlanması, trombosit agregasyonu ve inflamatuvar olayların düzenlenmesinde nitrik oksit doğrudan ya da dolaylı etkili olmaktadır

Nitrik oksitin flep modellerinde yaşayabilirliği artırıcı etkisinden mikrovasküler yataktaki düz kas hücrelerini gevşetmesi sorumlu tutulur. Hayvan modellerinde flep yaşamasını artırmaktır (19-22). Aynı zamanda Vasküler Endotelial Büyüme Faktör (VEGF)'ü artırarak da flep yaşayabilirliğini artırabilmektedir (19). Fakat hipotansif etkinliği nedeniyle klinik kullanım sınırlıdır.

NO⁻ kaynağı olan L-Arginin de benzer etkinliği olan bir ajan olarak hayvanlarda cilt flep modellerinde iskemik nekrozu azaltmaktadır (23,24).

Flep yaşayabilirliğini artırıcı etkinliği hayvan çalışmaları ile gösterilmiş bir diğer madde olan sildenafil, fosfodiesteraz inhibitörüdür ve guanilat siklaz üzerinden NO⁻ i uyarır. NO⁻'den farklı olarak daha özgün hedef hücrelere etki eder ve NO⁻'in etkisini uzatır. Hipotansiyon etkisi daha sınırlıdır (25).

1.7.2.1. Angiogenez üzerinden uyarım:

Yeni damar oluşumu sürecinde en önemli faktörün Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör olduğu bilinmektedir. İn vitro modellerde iskemik deri fleplerinin yaşayabilirliği ile yeni endotelyal hücre oluşumunun direkt ilişkili olduğu ve bu süreçte VEGF'nin primer mediatör olduğu tespit edilmiştir (26-28). Bu nedenle parenteral ve topikal olarak flep damarlanma artışı için uygulanılmıştır (19).

1.7.2.2. Bitkisel kaynaklı maddelerin angiogenezdeki rolü:

Yiyecek maddeleri angiogenezi etkileyebilmektedirler. Örneğin hiperkolesterolemi VEGF sentezini artırmaktadır. Ayrıca benzer çalışmalarda da izlendiği gibi zeytinyağının içeriğinin %55-80'ini oluşturan oleik asidin proinflatuar mediatörlerin (TNF ve IL-1) salınımını arttırarak fibroblastlarda artmış inflamatuvar reaksiyona neden olduğu gözlenmiştir. Böylece proanjiojenik etki ile damarlanmada artış izlenir (29, 30).

1.8. Yara İyileşmesi

Yara, normal anatomik yapı ve işlevde ortaya çıkan bir bozukluk olarak tanımlanabilir. Onarım, yaralanmaya karşı doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yönelik olarak vücuttaki tüm sistemlerde ortaya çıkan doğal yanıttır. XX. yüzyılın başlarında antibiotiklerin bulunması, daha sonraları moleküler biyoloji, immunhistokimya ve en son olarak da biyomühendislik alanlarında sağlanan gelişmeler sayesinde yara iyileşmesinin metabolik, hümmoral ve hüccresel düzeyde anlaşılması kolaylaşmıştır. Yara iyileşmesi ardışık, birbiri ile bağlantılı, karmaşık bir biokimyasal ve hüccresel olayların bütünüdür. Sekiz bölümde değęerlendirilebilir (31, 35).

1.8.1. Doku hasarı

Mikrovasküler düzeydedir ve yara içine kanama meydana gelir. Zedelenmiş olan damarlar kan kaybını azaltabilmek için hızla büzüşerek pıhtılaşma kaskadını başlatırlar (31). Kan, subendotelyal tabakaya temas ettiğinde, trombositler bölgedeki kollajene yapışarak tıkaç oluştururlar. Bu olay, saniyeler içerisinde oluşarak kanamayı durdurur ve primer hemostaz olarak isimlendirilir.

1.8.2. Pıhtılaşma

Sekonder hemostaz ile sağlanır. Trombositler pıhtılaşma faktörlerini aktive ederken trombin de trombositleri uyarır (31). Hageman faktörü kompleman ve kinin sistemlerini uyarır. Ayrıca membran hasarı da araşidonik asit yolunu başlatır. Böylece ortama salınan kemotaktik ve vazoaaktif düzenleyiciler birkaç dakika süren arterioller vazokonstriksiyona yol açar. Bunu aktif vazodilatasyon izler (32). İntrinsik ve ekstrinsik pıhtılaşma yollarının son ürünü olan fibrin, oluşan tıkaçı sağlamlaştırarak tam hemostazı sağlar. Oluşan pıhtı trombositleri, kan hücrelerini ve plazma proteinlerini yakalar. Pıhtı içerisinde hapsolan trombositlerin yoğun olan granüllerinden salgılanılan Adenozin Difosfat (ADP) agregasyonu kolaylaştırırken, serotonin, histamin ve bradikinin ile birlikte damar geçirgenliğini artırır (33). Alfa granüllerinden salınan çeşitli büyüme faktörleri (TGF-Beta, PDGF) ise inflamasyon hücrelerini kendilerine doğru çekerler (34).

1.8.3. Erken İnflamasyon

Komplemanın klasik yoldan aktivasyonu ile birlikte inflamasyon fazı başlar ve yara 24-48 saat içinde granulositler tarafından işgal edilir. Bu hücreleri kompleman ürünlerinden C5a, bakteri kökenli peptid ürünleri ve TGF-beta yara bölgesine çeker. Granulositler bitişik damar endotelyal hücrelerine marjınasyon ile tutunarak diapedez ile aktif olarak ilerlerler. Ana işlevleri bakterileri ve yabancı debrisini yaradan uzaklaştırarak enfeksiyonu önlemektir (34).

1.8.4. Geç İnflamasyon

Dolaşımdaki monositler yara içine girdikten sonra makrofaj şekline dönüşürler ve 48-72 saat içinde baskın hücre grubunu oluştururlar. Yara iyileşmesindeki anahtar hücrelerdir. Kompleman, pıhtılaşma bileşenleri, Ig G fragmanları, kollajen ve elastin yıkım ürünleri, sitokinler makrofajları kendilerine

çekerek. Makrofajlar, fagositozun yanı sıra büyüme faktörlerinin ve anjiogenetik faktörlerin de primer kaynağıdır. T lenfositleri bu aşamada yaraya giren en son hücre grubudur. İnterlökin -1, Ig G ve kompleman ürünleri tarafından yaraya çekilirler (34). Salgıladıkları lenfokinlerden İnterferon – gamma’nın endotel üzerinde bağışıklık düzenleyici etkisi vardır. Çeşitli lenfokinlerin fibroblast birikimi ve kollajen sentezi üzerine hem uyarıcı hem de engelleyici etkileri vardır. Bu iki etki arasında hassas bir denge mevcuttur (35).

1.8.5. Fibroblast Göçü / Kollajen Sentezi

Fibroblastlar büyüme faktörlerinin uyarıları ile ekstrasellüler matriks içinden yaraya doğru göçederler. Pıhtıdaki fibrin, fibronektin ve kollajen liflerine yapışarak çoğalırlar. Fibronektin boyunca ilerleyerek yarayı çaprazlarlar ve kollajen sentezi için bir ağ oluştururlar. Yedinci günde yaradaki baskın hücre grubunu oluştururlar ve beş ve yedinci günlerde kollajen sentezlemeye başlarlar. Bu durum 2-3 haftaya kadar doğrusal olarak artar. Yüksek laktat düzeyi, yeterli oksijen düzeyi ve büyüme faktörlerinden özellikle de TGF – beta kollajen sentezini uyarır (35).

1.8.6. Angiogenesis

Yeni kan damarlarının oluşumudur ve dördüncü günde belirginleşir. Primer uyarıcısı VEGF’dir. Erken dönemde trombositlerce salgılanan transforme edici büyüme faktör Beta (TGF – beta) ve trombosit kaynaklı büyüme faktör (PDGF) de dolaylı olarak anjiogenezi uyarır. Makrofajlar salgıladıkları TNF-alfa ve fibroblast büyüme faktör (FGF) gibi maddelerle anjiogeneze de anahtar rol oynarlar. Tüm bu biyomoleküller mezotel ve endotel hücreleri için kemoatraktan etkinliğe sahiptirler. Endotel hücreleri birkez çoğalınca yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluştururlar. Doku plasminojen aktivatörü ve kollajenaz, kapiller tomurcuklardan köken alır ve hücrel invazyonun çevredeki kötü vaskularizasyona sahip doku içine ilerlemesini sağlarlar. Tomurcuklar halkalardan bir ağ inşa ederler. Bu yapı diğer halkaları birbirine bağlar ve yeni bir kapiller yatak oluşturur. Eritrositler ve plazma, yeni mikrodamarlarda dolaşmaya başlar (32, 33). Erişkin bir organizmada fizyolojik anjiogeneze menstrual siklus sırasında uterin epitelin yenilenmesinde, ovum ve korpus luteum şekillenmesinde hatta spermatogeneze de gözlenmektedir (36, 37). VEGF ve diğer anjiogenik maddelerin üretimi onarım kaskadlarında epidermal ve internal

yaralarla, kemik kırıklarında önem göstermektedir. Geçmişteki “yeni damar oluşumunun embriyolojik dönemle sınırlı kaldığı görüşü” ’nün aksine kemik iliği ve periferik dolaşımdaki kök hücre veya endotelyal hücre öncüllerinin etkisiyle İskemik dokularda neovaskülarizasyonun oluştuğunu gösteren birçok çalışma olmuştur (38, 39).

1.8.7. Epitelizasyon

Epitel hücrelerinin mitozu 48-72. saatlerde başlar. Epitelizasyonu düzenleyen en güçlü büyüme faktörü epidermal büyüme faktör (EGF)’dür. Yara temiz ise, bazal lamina sağlam ve yara nemli tutulmuşsa epitelyal örtü hızı artar. Kısmi kalınlıklı yaralarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma olurken, tam katlı yaralarda epitel yalnızca yara kenarlarından ilerler. Epitel rejenerasyon basamakları;

1. Bazal hücrelerin mobilizasyonu
2. Hücrelerin zedelenen alana göçü
3. Göç eden hücrelerin mitozu
4. Yara alanındaki boşluk dolup hücreler birbirlerine temas edince göç ve mitozun bitmesi, hücresel farklılaşmanın tamamlanması

Yeni oluşan epitel hiçbir zaman normale dönüşemez. Epitelyal hücrelerin yara üzerindeki hareketi 24 saatte birkaç milimetredir.

1.8.8. Olgunlaşma (remodeling) fazı

Kollajen yapım ve yıkımı ekstrasellüler matriks remodelingi ile birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit bir dengeye ulaşır. Kollajen yıkımı fibroblastlar, granulositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları tarafından sağlanır. Bu enzimler TGF- beta tarafından inhibe edilir. Kollajen miktarı, çapraz bağlanma yoğunluğu ve yapım-yıkım arasındaki denge yaranın gücünü belirler. Erken dönem yara iyileşmesinde çoğunlukla embriyonik tip III kollajen bulunurken, yara olgunlaştıkça normal derideki gibi tip I kollajen miktarı tip III kollajenin dört katına çıkar. Olgunlaşma fazının süresini hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi ve inflamasyon periyodunun süresi – yoğunluğu gibi çoklu değişkenler belirler. Yara gerilme kuvveti hiçbir zaman eski haline benzemez. Deri ve fasya ancak normal gücünün %80’ine ulaşabilir.

1.9.Yetersiz Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi birçok etken tarafından belirlenir. Bu nedenle yara iyileşmesi organizmanın bütününden ayrı olarak düşünülemez.

1.9.1. Diabet

Fagositoz ve iltihabi hücre göçünde ortaya çıkan bozukluklar iyileşmeyi bozarak infeksiyonlara yol açmaktadır. Ayrıca fibroblast ve endotel hücre çoğalması ile epitelizasyonda bozukluklar, kollajen birikimi ve yara gücünde azalma görülmektedir. Bundan hipergliseminin değil insülin eksikliğinin sorumlu olduğu gösterilmiştir. Nöropati ve vasküler sorunlar da iyileşmeyi kötü etkilemektedir (34). Travma ve buna eşlik eden beslenme bozuklukları katabolik ortam yaratarak iyileşmeyi olumsuz etkiler. Bu hastalarda glukoneogenez ve erken hiperglisemi gelişerek negatif azot, potasyum ve fosfor dengesine neden olur. Ayrıca serum serbest yağ asidi konsantrasyonunda artış ve ketozis; sodyum klorür ve su tutulumu; askorbik asit, tiamin, riboflavin, nikotinamid ve vitamin A düzeylerinde düşüş; çinko, bakır ve demir düzeylerinde eksiklik oluşur (33).

1.9.2. Protein eksikliği

İnflamatuvar faz, anjiogenez, matriks oluşumu ve olgunlaşmayı olumsuz etkiler. Uzun süre intravenöz beslenen hastalarda esansiyel yağ asidi eksikliklerinin de iyileşmeyi geciktirdiği gösterilmiştir.

1.9.3. Vitamin A

Fibroplazi, kollajen çapraz bağlanması ve epitelizasyonu uyarır. Vitamin C kollajen sentezinde lizin, prolinin hidrosilasyonunda kofaktördür. Nötrofil süperoksid yapımı ve bakterilerin yok edilmesinde gereklidir. Her ikisinin eksikliğinde de yara iyileşmesi bozulur (32).

1.9.4. Çinko

Protein sentezinden sorumlu RNA ve DNA polimerazı da içeren birçok enzim sisteminde kofaktördür. Bakır ise kollajen liflerinin çapraz bağlanmasından sorumludur. Eksikliklerine seyrek olarak rastlanılabilir.

1.9.5. İyonize radyasyon

Deri ve yara iyileşmesi üzerine zararlı etkileri deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Bu etki yüksek enerjili elektronların DNA'yı hasarlaması sonucu oluşmaktadır. Hızlı bölünen hücreler en fazla etkilenirler.

1.9.6. Steroidler

Araşidonik asit ürünlerinin salınımını ve makrofaj göçünü engelleyip, nötrofil ve lenfositik T hücre işlevini bozarak inflamasyon basamağını belirgin olarak etkiler. Ayrıca prokollajen sentezini engelleyerek yara kontraksiyonunu, epitelizasyon ve angiogenezi geciktirir (40). Yapılan çalışmalarda steroidlerin antianjiogenetik etkinliği olduğu gösterilmiştir. Vitamin A'nın bu etkileri tersine çevirdiği gösterilmiştir. Kronik olarak steroid kullanımı mevcut hastalarda dermislerinde incelme ve kollajen miktarında azalma gözlenilir (33).

1.9.7. Yaş

Etkeninin de yara iyileşmesinde önemli olduğu gösterilmiştir. İltihabi yanıt da yaşla birlikte azalır. İyileşme basamakları geç başlayıp yavaş seyreder ve hiçbir zaman genç yaş grubu düzeyine ulaşamaz.

1.9.8. İskemi

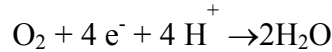
Granulasyon dokusu ve ekstrasellüler matriks sentezini ciddi şekilde bozar. Yara iyileşmesi sırasında oksijen gereksinimi normal dokuya göre çok artmıştır. Nötrofillerin oksijene bağımlı olması nedeniyle infeksiyonlara eğilim artar. İskemiye yol açan etkenler arasında ateroskleroz, diyabet, vaskülit, kronik ülserlerdeki aşırı fibrozis, ağır anemi, bağ dokusu hastalıkları ve radyasyon sayılabilir.

1.10. Serbest Oksijen Radikalleri ve Yara İyileşmesi

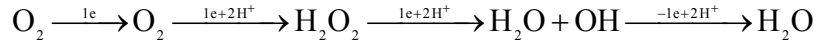
Hipoksi, doku zedelenmesinin beklenen bir sonucu olup onarım için uyarıcı bir etkidir. Ancak bu süreçte kritik bir moleküler oksijen düzeyine gereksinim vardır. Çünkü yara hücreleri kendilerine sunulan oksijeni daha fazla kullanarak anjiogenez, kollajen yapımı, matriks birikimi ve epitelizasyonu hızlandırmaktadır (31). Lökositlerin işlevleri de oksijene bağımlı olup ortaya reaktif oksijen metabolitleri çıkar. Bunlar, oksijen radikalleri olarak adlandırılmışlar ve bazı iskemik

inflamatuvar olaylarla ilişkilendirilmişlerdir. Oksijen, iyileşmede olumlu etkilere sahipken, metabolitleri de doku hasarına neden olabilirler (41, 42).

Moleküler oksijen bir ‘diradikal’ olup dış yörüngesinde iki tane tek elektron içerir. Elektron almak için ‘termodinamik istekli’, kendiliğinden oksidasyon tepkimelerine katılmaya ise ‘kinetik olarak isteksiz’ davrandığından çoğu oksidasyon tepkimesinde bir katalizöre ihtiyaç duyulmaktadır (43). Vücutta oksijen redüksiyonunun %98’i mitokondri içerisindeki sitokrom oksidaz sistemi ile katalize edilmektedir. Bu redüksiyon, dört elektron gerektirir ve ortaya su çıkar:



Bu tetravalan redüksiyonun tersine univalan oksijen redüksiyonlarında oldukça reaktif ve potansiyel olarak sitotoksik metabolitler ortaya çıkar:



Serbest radikaller, dış yörüngelerinde çift değil tek bir elektron içeren moleküller olarak tanımlanabilir. Bu tek elektron oksidasyon ve redüksiyon potansiyeline sahiptir. Oksijen molekülüne bir elektron eklenmesiyle süperoksit radikali (O_2^-); iki elektron eklenmesiyle hidrojen peroksit (H_2O_2); üç elektron eklenmesiyle ise oldukça reaktif olan hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) oluşur

Hidrojen peroksit tek elektron içermediğinden bir radikal değildir. Ancak hidroksil yapımı için güçlü bir oksidandır. Süperoksit radikali, hücrelere moleküler düzeyde saldırarak doğrudan hidroksil gibi ikincil radikaller yaratır ya da iltihabi yanıtı uyatarak dolaylı yoldan toksik olabilir. Oksijenin tetravalan redüksiyonundan kaçan yaklaşık %1-2’lik oksijen substratı univalan redüksiyon ile metabolize edilir. Ayrıca radyasyon ve kimyasal hasar da diğer potansiyel kaynaklardır (43).

Klinik olarak serbest oksijen radikallerinin oluşumunda iki enzim sisteminin önemli rolü vardır. Ksantin oksidaz nükleik asit yıkımında rol oynar. Normal dokularda ksantin dehidrogenaz olarak bulunur ve elektron alıcı olarak oksijen yerine NAD^+ kullanır. Ancak bu durum, iskemi varlığında ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüştürülmesi ile tersine döner. Ksantin ile ürik asidin yanı sıra süperoksit radikali ve hidrojen peroksit oluşur. Nötrofiller ve diğer iltihabi hücreler, NADPH ’ı NAD^+ ’a okside eden plasma membranına bağımlı NADPH dehidrogenaz enzimi

sistemini aktive edebilir. Sonuçta ortaya süperoksit radikalleri çıkar. Bunlar iltihabi yanıtın hücre içi öldürme yeteneğinin de önemli parçasıdır.

1.10.1. Serbest oksijen radikaller ve doku hasarı

Oksidanlar birçok insan dokusunda ve yaşlanma olgusunda rol oynamaktadır. Doku onarım basamaklarının tümünde oksidanlar önemli role sahiptir. Oksijen radikalleri yara iyileşmesi için hem yararlı hem de zararlı olabilen inflamatuvar olaylar zincirini başlatabilir.

Prolin ve Lizin artıklarını nonenzimatik olarak hidroksile ederek kollajen yapımını artırdıkları gösterilmiştir. Bu durum, Retrolental Fibroplazi, Duputren ve Peyronie hastalıkları ile Pulmoner Alveolit ve Venöz Staz ülserlerinde gösterilmiştir (16). Oksijen kökenli radikaller ekstrasellüler matriks içine salındıklarında Hyaluronik asit ve kollajenibozarak, fosfolipid membranındaki yağ asitlerini perokside edip hücre zarlarını parçalayarak, lizozom ve mitokondri gibi organelleri saran membranları hasarlayarak ve Na^+ - K^+ ATPaz, Ca^+ ATPaz, glutamin sentetaz ve alfa-1 proteinaz inhibitörü gibi önemli protein sistemleri ile etkileşerek hücre hasar oluştururlar (44). Hiperoksijenasyon sendromları, iskemi reperfüzyon sendromları, paraquat, karbontetraklorit, kemoterapötik ajanlar ya da karsinojenlere bağlı olarak oluşan kimyasal doku hasarı; ilaçlara bağlı hemolitik anemiler, Vitamin A-E eksiklikleri, yaşlılık serbest radikalleri artırarak özellikle hücre içi organel membranlarında peroksidasyon ile hasar oluşturur. İnflamatuvar hastalıklarda ise süperoksit dismutaz ve katalaz derişimlerinde azalma ile birlikte hücre dışı bileşenlerde hasar oluşur. Bununla birlikte Trizomi 21, bazı psikiyatrik hastalıklar ve enzim eksikliklerinde ise hücre içi süperoksit dismutaz miktarındaki artış ile birlikte oksijen radikallerinin oluşumunda azalma ve enfeksiyona eğilim gözlenilir (44).

Kronik yaralarda özellikle venöz bacak ülserlerinde, iskemi ve hipoksiye bağlı venöz ülserleşmelerde genellikle destrüktif oksidanlar ve serbest oksijen radikalleri dokular için toksik etki göstermektedirler. Bu toksik etkileri sonucu da doku nekrozu oluşmaktadır. Ek olarak cilt kapillerlerinde sıkışan beyaz hücreler vasıtalı serbest radikaller ile ve nötrofillere bağlı damar tıkanmalarında serbest radikallerin endotelial hücre hasarları ile cilt iskemileri ve sonrasında cilt ölümleri gerçekleşmektedir (45). Shukla ve arkadaşları ise farklı serbest radikal uzaklaştırıcılarının varlığını ve bununla birlikte enzimatik ve nonenzimatik olarak

cilt yaralanmasının ardından azaldığını göstermiştir (46). Yanık yarasında oksidanlar mikrovasküler permeabilite, hücre lipid peroksidasyonu lokal ve sistemik inflamasyonun başlatılması ve devamında interstisyel matriks ayrılmasında makrofajların fagositik güçlerinde azalma, hücresel DNA da değişme ve araşidonik asit metabolizmasında etkili olurlar (47).

1.10.2.Koruyucu düzenekler

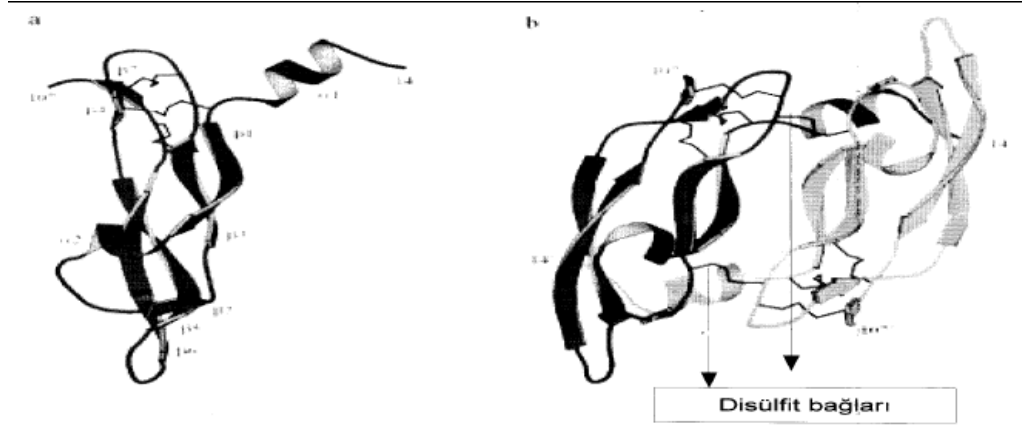
Oksidasyona karşı biomembranların bütünlüğünün korunması yaşamsal önem taşımaktadır. Süperoksit Dismutaz, süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve oksijene indirger. Hidrojen peroksitte katalaz ya da glutatyon peroksidaz ile oksijen ve suya indirgenir. Hidroksil radikali oluşumu ise O_2 ve H_2O_2 miktarları düzenlenerek ayarlanmaya çalışılır. Vitamin E en temel lipitte çözünen, zincir kırıcı antioksidandır. Biyolojik olarak en aktif formu Alfa-Tokoferoldür. Vitamin C suda çözünen ve daha çok sitozolde yeralan zayıf bir antioksidan olmasına karşın Vitamin E ile bir araya geldiğinde yıkımını azaltarak bu maddeyi koruyucu etki göstermektedir. Plazmada çok daha fazla bulunan ürik asitte vitamin C gibi davranan antioksidanlardan birisidir. Bu üç madde plazmadaki toplam radikal yakalama aktivitesinin % 50-70'inden sorumludur (15). Glutatyonun da Vitamin C ile sinerjistik hareket ettiği gösterilmiştir (16). Diğerleri; Beta- Karoten, Dimetil Sülfoksit ve Seruloplazmin'dir. Bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol da iskemik dokularda radikal yapımını azaltmaktadır.

1.11.Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), organın gelişim evresine ve fizyolojik aktivitesine bağlı olarak pek çok önemli biyolojik aktiviteleri olan multifonksiyonel bir moleküldür. VEGF ilk defa karsinoma hücrelerinden salgılanan tümörlerin asit sıvısı akımını arttıran bir permeabilite faktörü olarak bulunmuştur. vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak isimlendirilmiştir. Bundan kısa bir süre sonra VEGF bir anjiojenik faktör olarak izole edilmiş ve endotel hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir. Bilinen en potent anjiojenik sitokindir (48, 49).

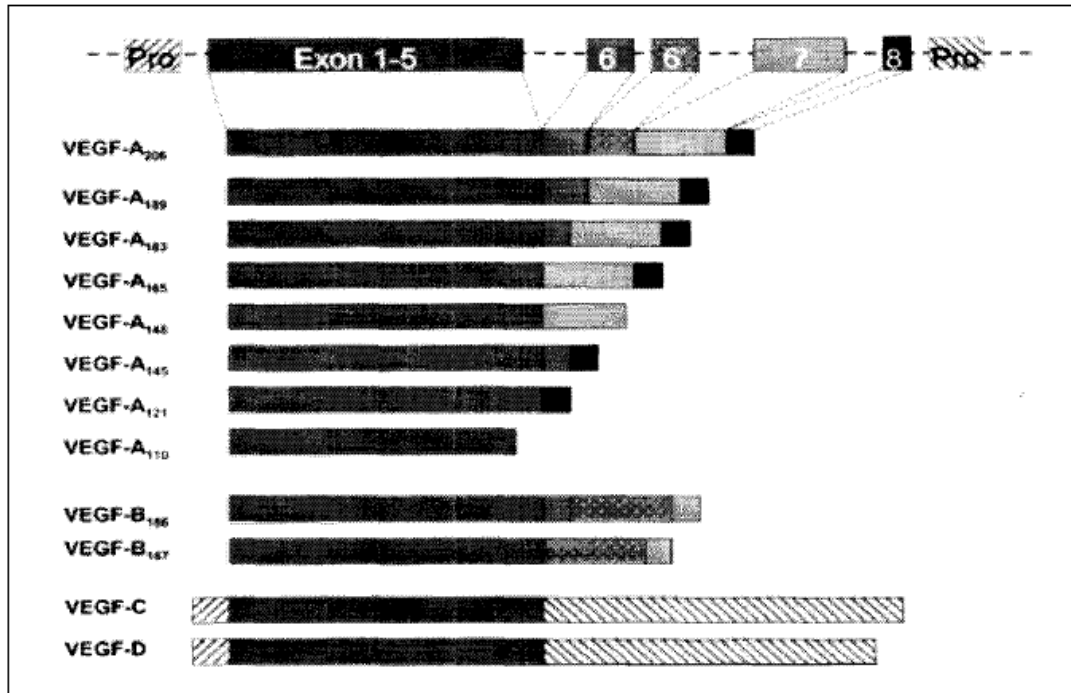
1.11.1. VEGF Ailesi

VEGF ailesinin, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve plasental büyüme faktörü (PLGF) olmak üzere 7 üyesi vardır (47, 48). VEGF-A predominant formdur (48). Tüm üyeler homolog domain'ler içermektedir. VEGF'nin kor bölgesi sistin düğüm motifi bulundurur. Anti paralel β -tabakaları olarak organize olmuş monomerler iki adet disülfid bağı ile birleşerek dimerik yapıdaki VEGF'yi oluşturur (Şekil 7) (50).



Şekil 7. VEGF molekülünün temsili gösterimi, (a) VEGF monomeri, (b) 2 disülfid bağı ile birleşmiş VEGF dimeri.

VEGF-A geni 8 eksondan oluşur ve değişik kombinasyonlarından 121, 145, 148, 165, 183, 189 ve 206 aminoasitli yedi izoformu oluşur. İlave bir VEGF-A izoformu ise proteolitik yıkım sonucunda 110 aminoasitten oluşur. VEGF 165, VEGF-A'nın en fazla bulunan izoformudur. VEGF-B'nin, 167 ve 186 aminoasitli iki izoformu bulunur. VEGF-C ve -D öncül proproteinlerinden proteolitik olarak salınır (Şekil 8) (51).



Şekil 8. VEGF-A, -B, -C ve -D'nin gen yapısı.

1.11.2. VEGF Reseptörleri ve Koreseptörleri

VEGF'ün biyoaktivitesi spesifik reseptörlerine ve koreseptörlerine bağlanması ile oluşur. Bu reseptör ve koreseptörler, vasküler ve lenf damarı endotel hücrelerinde, monosit ve makrofajlarda, hematopoetik kök hücrelerde, epitelyal hücrelerde, fibroblastlarda, düz kas hücrelerinde ve myojenik prekürsör hücrelerde bulunur (48).

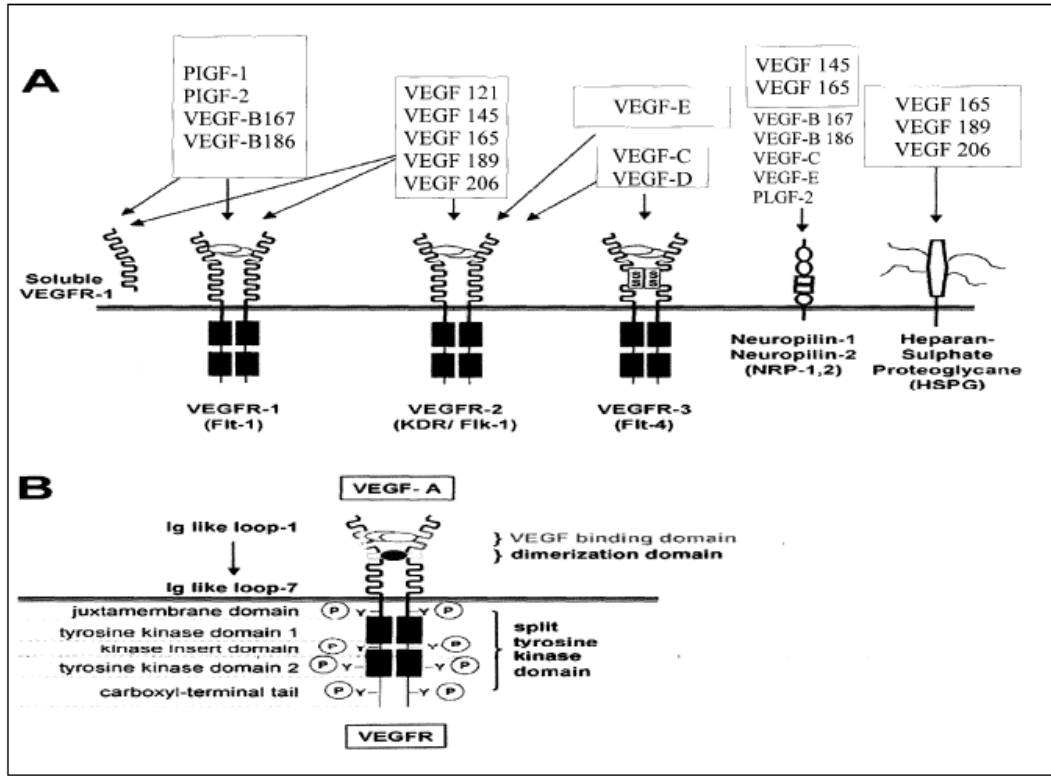
Üç farklı vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) tanımlanmıştır;

VEGFR-1 (fms like tirozin kinaz-1; flt-1),

VEGFR-2 (kinaz domain region KDR; flk-1),

VEGFR-3 (flt-4).

Bunların dışında nöropilin 1 ve 2 ve heparan sülfat da VEGF bağlayabilmektedir. VEGFR'leri yedi adet immünoglobulin benzeri domain'esa sahiptirler; tek bir transmembran bölgeleri vardır (51, 52) (Şekil 9).



Şekil 9. VEGF ailesinin reseptörleri ile etkileşimi. (A) VEGF’ler vereseptörleri, (B) VEGFR-1 ve -2. VEGF-A aktivitesini asıl olarak VEGFR-1 ve -2 üzerinden gösterir.

VEGFR’leri tirozin kinaz aktivitesi sergilerler. VEGF’nin bağlanması ile aktive olurlar. Heparan sülfat proteoglikanlar ve nörofilin koreseptörlerin tirozin kinaz aktiviteleri yoktur fakat tirozin kinaza bağlanmayı modifiye ederler veya selüler cevap sinyali oluşturmak için direk olarak VEGF’i bağlarlar (48).

VEGFR-1 ve -2 tüm yetişkin vasküler endotel hücrelerinde bulunur (52). VEGFR-1 reseptörü monositler ve nötrofiller üzerinde de bulunur. Bu da bu hücrelerin VEGF’ün kemoatraktan cevabına katkıda bulunmasını sağlar (53).

Reseptör fosforilasyonunun ligand spesifik yapısına bağlı olarak VEGF-A, VEGF-B ve PLGF, VEGFR-1’e bağlanır ve ligand bağımlı sinyalleri tetikleyerek damar gelişimi düzenlenir. VEGF-A ve PLGF, aktivitesine bağlı olarak, inflamatuvar anjiogenezi yönetir (48).

VEGFR-2’nin ligandı VEGF-A’dır. Bu etkileşim anjiogenez için önemlidir, endotel hücre proliferasyonu, tomurcuklanması, migrasyonu ve tüp formasyonunda rol oynar.

VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'e bağlanır ve esasen lenfanjiogeneze katılırlar. Nörofilin koreseptörleri (Np-1 ve Np-2)'nin nöronal hücre korunması, akson büyümesi gibi olaylarda fonksiyonu vardır (48).

1.11.3. VEGF Salınımı

VEGF makrofaj, mastosit, fibroblast, keratinosit ve düz kas hücresi gibi pek çok hücreden salgılanır. Endotel hücreleri VEGF üretmez ancak üzerlerinde VEGF için reseptör taşırlar (54, 55).

VEGF salınımına etkili faktörler hipoksi, inflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen radikalleri, nitrik oksit ve hormonlardır. VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VGFR-2 arasında doğru bir denge yokluğunda kontrol edilemeyen inflamatuvar anjiogenez oluşur. Bu da psörisis, RA, ateroskleroz, diyabetik retinopati, maküler dejenerasyon, prematür retinopatisi ve tümör gelişimi gibi patolojik durumlara yol açabilir. Bu tip hiperpermeable kapiller yapılar anormal ve zayıftır (48, 56).

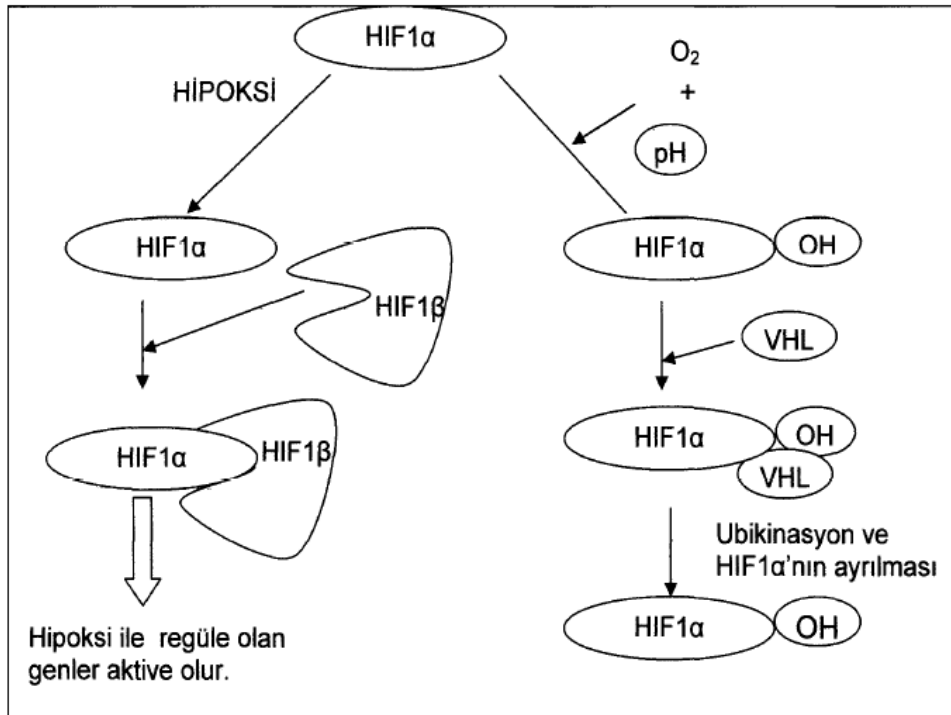
1.11.4. Hipoksi

Hipoksi anjiogenez için potent bir stimilatördür. Özellikle en önemli aktivatör olan VEGF'i stimüle eder. VEGF, başlıca sinovyal intimadan özellikle de hipoksik kültürlerde fibroblast like sinoviositlerden üretilir. İlave olarak hipoksik stimülasyon sonucu RA sinovyumundan pek çok sitokin eksprese edilir. IL-8, fibroblast büyüme faktörü, TNF- α gibi. Bunlar da kan damarı proliferasyonunu artırır. Diğer anjiogenez faktörleri soluble E selektin, soluble VCAM (Vasküler Hücre Adezyon Molekülü) RA'da üretilir. Ve anjiogenezin başlamasına katkıda bulunurlar. Aynı zamanda platelet faktör 4 ve trombospodin gibi antianjiogenetik faktörler de RAsinovyumunda salgılanır. Sinovyumda damar proliferasyonu proanjiogenik faktörler ile ilişkilidir (57).

Hipoksi'ye cevapta, hipoksi inducible transkripsiyon faktör (HIF)'leri sinyal iletiminde görev alır. HIF'lerin uyarılması, proanjiogenik faktörlerin upregülasyonuna neden olur. Böylece yeni damarlar oluşur ve oksijen ve besinler sağlanır. HIF'ler HIF-1 ve HIF-2, oksijene duyarlı, oksijen dağılımını ve oksijen mahrumiyetinde hücre adaptasyonu kolaylaştıran transkripsiyon faktörleridir. HIF, oksijene duyarlı bir α -subünitesinden (HIF- α) ve yapısal olarak eksprese olan β subünitesinden (HIF- β) oluşan heterodimerik bir moleküldür. Enerji metabolizması

anjiogenez, eritropoez, hücre proliferasyonu ve apoptosiz ile ilgili genlerin ekspresyonunu düzenler. Hücreler hipoksiye maruz kaldığında, HIF- α stabilize olur ve nükleus içinde HIF- β ile birleşerek aktif HIF'İ oluşturur (51, 52) (Şekil 10).

HIF-1 α , spesifik arttırıcı elementlerle bağlanarak gen transkripsiyonunu arttırır. Hipoksi, HIF-1 α 'ın VEGF-A gen promotor bölgesindeki Hipoksi Responsiv Element (HRE) bağlanmasını indükleyerek VEGF-A'nın transkripsiyonunu arttırır (58).



Şekil 10. VEGF gen ekspresyonunun düzenlenmesi.

1.12. CD34

İnsan CD34 molekülü, 110 kd'lık tek zincirli ağır glikozile tip I transmembran hücre yüzey glikoproteinidir (59, 60). CD34 geni 1q32 no'lu kromozom üzerinde, çeşitli matriks adezyon molekülleri, hematopoetik ve regülatör sinyal molakülleri içeren bir bölgede yerleşmiştir (59).

CD34 molekülünün fonksiyonu halen net olarak bilinmemekle birlikte hücre adezyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (59, 60). Glikozile CD34, lektinler için ligand oluşturmaktadır. Örneğin CD 34, kök hücrelerin kemik iliği ekstrasellüler matriksine ya da direkt stromal hücrelere tutunmasını sağlar. İnsan CD34'üne homolog fare CD34'ünün L-selektin için ligand fonksiyonu gördüğü gösterilmiştir.

Anti CD34 monoklonal antikorları, seçici olarak hematopoetik öncü hücreler, vasküler endotel ve bazı fibroblastlarca eksprese edilir (59-61).

CD34, hemanjiyom, epiteloid hemanjiyoendoteliyom, hemanjioperisitom, Kaposi sarkomu, lenfanjiyom, alveoler yumuşak doku sarkomu, pre-B ALL, AML, AML-M7, liposarkom, malign fibröz histiyositom, periferik sinir kılıfı tümörleri, soliter fibröz tümör, GIST gibi birçok tümörde pozitiflik göstermekle birlikte özellikle DFSP olgularında tanı ve ayırıcı tanıda oldukça büyük bir öneme sahiptir (60-62).

1.13. Ozon

Ozon (O₃) çembersel üç oksijen atomundan oluşan, kararsız, depolanamayan, çok açık mavi renkli, keskin kokulu ve havadan daha ağır bir gazdır. Oksijenden 1, 6 kat daha yoğun ve 10 kez daha fazla suda çözünür olan bu gazın yarılanma ömrü 20°C’de 40 dakikadır (63). Adı Yunanca “koku yayan” anlamına gelen “ozein” kelimesinden türemiştir. Oksidan ajanlar arasında florin ve persulfattan sonra üçüncü en kuvvetli oksidan olanıdır.

Atmosferdeki ozonun %90’ına yakını, yer yüzeyinden yaklaşık 20–50 km yuksekte bulunan stratosfer tabakası içinde yer alır. Geri kalan %10’luk ozon miktarı ise 10–15 km’ler arasındaki troposfer tabakası içinde bulunmaktadır (64). Ozonun stratosferdeki varlığı güneşten gelen ultraviyole B ve C ışınlarını engellediği için hayati iken, yaşadığımız hava katmanı olan troposferde bulunması solunum yolları için çok tehlikelidir ve hava kirliliği olarak kabul edilir (65). Ozon gazı canlılar için toksiktir. Antioksidan kapasiteleri çok düşük olduğundan akciğer ve gözler ozonun toksik etkisine en hassas organlardır. Zarar ozon gazının ortamdaki konsantrasyonu (milyondaki partikül sayısı), ortamdaki sıcaklık, nem (ozon nemli ortamda daha aktiftir) ve maruziyet süresine göre değişir (66). Direkt maruziyette ciddi sağlık sorunlarına yol açabilen ozon, atmosferdeki bir nevi radyasyon kalkanlığı yanında uzun süredir gıda ve sterilizasyonendüstrisinde ve veterinerlik alanlarında insanlığın hizmetindedir. Bu uç noktadaki davranışı nedeniyle 1935’te Justus von Liebig daha sonra Bocci tarafından Roma tanrısı Janus’a benzetilmiştir (67).

1.13.1.Tıbbi Ozon Nedir?

Tıpta kullanılan ozon özel jeneratörlerde saf oksijenin yüksek voltaj farkından geçmesi sonucu elde edilir. Jeneratörden çıkan bu gazın sadece %3 ile %5'i ozondan oluşmaktadır, geriye kalan kısım ise oksijenden ibarettir (68). Ozonu tıpta kullanabilmemiz için ozon cihazlarının ozon üreten kısımlarının çelik (V4A kalitesinde), özel olarak anodlanmış alüminyum, seramik, cam ya da teflon (PTFE) gibi reaksiyona girmeyen maddelerden yapılması gerekirken, ozon vermek için kullanılan donanımların ise cam, polietilen, polipropilen veya teflon olması önerilmektedir (63, 65). Ozon üretiminde normal hava kullanıldığı takdirde içindeki yüksek azot oranı nedeniyle toksik N_2O_2 (nitrojen dioksit) ortaya çıkar, bu nedenle önerilmez.

Ozon konsantrasyonu fotometre ile ölçülür. Bunun için mor ötesi dalga boyuna yakın 254 nm bandı kullanılır. Ozon terapide genellikle “gama” birimi kullanılır. Bu 1 mL ozon/oksijen karışımında 1 µg ozon demektir (68).

1.13.2.Ozon Tedavisinin Tarihçesi

Ozon gazını Alman kimyacı Christian Friedrich Schonbein 1839 yılında keşfetmiştir. Ozonun tıpta kullanımının I. Dünya Savaşı sırasında A. Wolff (1915) tarafından başlatıldığı bilinmektedir. Payr 1935'te ilk kez sonuçlarını bilim dünyasına sunmuştur. Tıpta kullanılan ilk ozon jeneratörü Doktor Joachim Hansler tarafından 1958'de tasarlanmıştır. Klinikte rutin kullanıma da H. Wolff tarafından 1960'ların sonlarına doğru sokulmuştur. Ozon terapi Rokitansky (1977) ve Werkmeister'in (1981) kronik yaraların tedavisinde ozonu kullanmaya başlaması ile yeni bir ivme kazanmıştır. Günümüzde ise bu alanda İtalyan fizyolog Bocci dikkati çekmektedir (64, 69).

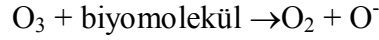
1.13.3.Ozonun Etki Mekanizması

Ozonun etki mekanizmasını kimyasal ve klinik olmak üzere iki ayrı düzlemde incelemekte yarar vardır.

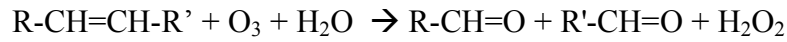
1.13.3.1.Organik Ortamlarda Ozon Kimyası

Ozon gazı kuru ortamda etki göstermez. Su, plazma, lenf, serum, ya da idrarda eriyen ozon, reaksiyona girecek bir biyomolekül bulduğunda bu molekülü

oksitlerken aynı zamanda ortama da oldukça reaktif oksijen verir. Bu olay basitçe aşağıdaki gibi özetlenebilir:



Ozon tercih sırasına göre ilk olarak çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girer, bunu askorbik asit, ürik asit gibi antioksidanlar, sistein gibi –SH grupları içeren tiyol bileşikler, redükte glutatyon (GSH) ve albumin izler. Konsantrasyona bağlı olarak ozon karbonhidratlarla, enzimlerle, RNA ve DNA ile de reaksiyona girebilir. Tüm bu biyomoleküller elektron alıcısı olarak rol oynarlar. Üçüncü reaksiyon şu şekilde formülize edilebilir:



Burada 1 nolu komponent PUFA, 2 ve 3 no'lu komponentler ise okside olmuş yağ asitleridirler (lipid oxidation product -LOP). Bu reaksiyondan ortaya çıkan hidrojen peroksit (H_2O_2) başlıca reaktif oksijen türevidir (reactive oxygen species -ROS) (70).

Ozonun yağlarla olan reaksiyonunda her zaman karbon atomları arasındaki çift bağlar etkilenirken, proteinlerde çoklu amino asit içeren işlevsel yan zincir bağları etkilenir (71, 72). Oksijen radikali olarak kabul edemeyeceğimiz H_2O_2 aslında ikincil haberci olarak pekçok biyolojik ve tedavi edici etkilere aracı olur (73, 74).

Sonuçta radikaller (ROS) ve aldehidler (LOP) kendiliğinden toksik ajanlardır. Peki bunları ortaya çıkartan ozon terapi sırasında ne olmaktadır?

1.13.3.2. Klinik Uygulamalarda Ozonun Etki Mekanizması

Ozonun vücuda verilen “kontrollü” oksidatif stres olduğunu söyleyebiliriz (68). Ozonun etki mekanizması uygulama biçimine göre değişiklik gösterir.

Bugün en sık kullanılan ozon terapi yöntemi hastanın kendi kanının belirli konsantrasyonlarda ozona maruz bırakıldıktan sonra geri verilmesidir. Ozon gazı hemen plazmada erir ve kan hücrelerinin zarlarındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girip onları oksitlerken aynı zamanda da başta hidrojen peroksit olmak üzere pek çok ROS meydana gelir. ROS plazmada aşırı derecede hızlı oluşur ve ortamdaki antioksidan kapasite %5-25 kadar azalır (75). Ancak bu etki geçicidir ve 15-20 dakika içerisinde bir toparlanma olur (76). Bu arada bir miktar H_2O_2 hücre içine girmiş ve birçok metabolik reaksiyonu tetiklemeye başlamıştır. Hücre içine

giren H_2O_2 hemen antioksidanlar tarafından nötrale edilir, öyle ki hücre içi peroksit konsantrasyonu plazma konsantrasyonunun %10'undan yüksek olamaz (77). Buraya kadar anlatılan reaksiyon sıklıkla kan vücuda geri verilmeden önce olup bitmiştir.

ROS çok stabil değildir ve vücuda verilmeden önce bozulmaya başlamıştır. LOP daha karardır, ancak o da kana verildiğinde hemen seyreilmeye maruz kalır, aynı zamanda da safra ve idrarla bir kısmı dışarıya atılır. Geri kalanlar ise GSH-transferaz (GSH-Tr) ve aldehid dehidrogenaz (ALDH) sistemleri ile metabolize edilir. Geriye kalan mikromolar konsantrasyondaki bu maddeler vücutta devam eden bir oksidatif stresin haberci molekülleri olarak vücuda yayılır (78). Bunun sonucunda vücuttaki süperoksit dismutaz (SOD), GSH-peroksidaz (GSH-Px), GSH-redüktaz (GSH-Rd) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin üretimi artar. Ayrıca LOP oksidatif stres proteinlerini de indükler. Hem-oksijenaz I (HO-I) bunlardan birisidir (79). Bocci ozon tedavisini yukarıda belirtilen fizyolojik ve biyokimyasal tepkimeler nedeniyle “tedavi edici şok” olarak isimlendirmektedir (65). Her ne kadar ozon dezenfektan etkisi yüksek bir ajan olsa da ozonun in vivo böyle bir etkisi yoktur.

1.13.3.3. Ozonun Hücre Seviyesindeki Etkileri

Daha önce de belirtildiği gibi ozonun bizzat kendisinin biyolojik bir etkisi söz konusu değildir. Ortaya çıkan ROS ve LOP ların pek çok etkisinden bahsedilse de çoğu spekülasyonniteliğindedir. Aşağıda literatürde nispeten güvenilir çalışmalar sonucunda elde edilen bilgiler özetlenmiştir.

1.13.3.2.1. Kemik iliği

Ozon → kan → LOP → kemik iliği → matriks metalloproteinaz salınımında artma (özellikle MM9) → kök hücrelerinin kemik iliğinden ayrılması (80). Bu mekanizma henüz tam olarak kanıtlanmamıştır.

1.13.3.2.2. Alyuvar

Ozon → kan → H_2O_2 → alyuvar → hücre içi glutatyon/glutatyon disülfid (GSH/GSSG) oranında azalma → redükte nikotinamid adenine dinukleotid fosfat/ nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH/NADP) oranında azalma → Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G-6PD) seviyesinde yükselme → pentoz fosfat yolu aktivitesinde artma → glikolizde artma → ATP miktarında artma (80).

Ozon → kan → H₂O₂ → alyuvar → hücre içi pH'da düşme ve 2, 3 difosfoglisericid (2, 3DPG) miktarında artma → oksijen ayrılma eğrisinin sağa kayması → dokulara oksijen verilmesinde artma (81).

1.13.3.2.3. Endotel hücreler

Ozon→ kan → LOP→ endotel hücresi→ nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) salınımında artma ve plazma S-nitrozothiyoller ve S-nitrozohemoglobin seviyesinde artma→ vazodilatasyon (82, 83).

1.13.3.2.4. Platelet

Ozon→ kan → H₂O₂ → platelet→ agregasyonda artma (84).

Bunun tam tersini iddia eden çalışmalar da var. Hemodializ hastalarına 50 gamadan haftada 3 kez major otohemoterapi (MOH) uygulanan bir çalışmada platelet agregasyonunda kontrol gruba göre hiçbir fark bulunamamıştır (85). Bu çalışmada sitratlı antikoagulan kullanımını tavsiye ediliyor. Bilindiği gibi ortamda bulunan kalsiyum agregasyonu tetikleyebiliyor.

Ozon → kan → H₂O₂ → platelet → growth faktör üretiminde artma (84).

1.13.3.2.5. Bağışıklık hücreleri

Ozon → kan→ H₂O₂→ bağışıklık hücreleri→ akut faz reaktanları, interlökinler, sitokinlerde artma. Ancak bu artış doz ile orantılı değildir, yaklaşık 40µg/ml'den sonra belirgin bir artış görülmez (81, 86, 87).

1.13.4. Ozon Vücuda Verilme Yolları

Solunum yolu hariç tüm yollardan verilebilir (65). Bunlardan başlıcaları:

1.13.4.1. Majör otohemoterapi (MOH)

Hastadan 200-270 mL ye kadar kan alınır ve uygun doz ozon gazı kanın bulunduğu kabın içine verilerek kanla 5-10 dakika kadar temas etmesine izin verilir, takiben 15 dakika içerisinde ozonlanmış kan damardan geri verilir. Bir merkez MOH da her mL kana 15µg ile 80 µg/L arasında ozon miktarı verilmesinin güvenli tedavi penceresi içerisinde olduğunu kabul etmekteyken (88), bir başka merkez ise güvenlik sınırını her mL kan için 10-40 µg önerebilmektedir (63). Kana verilen ozon plazma tarafından tamponlanır, diğer bir deyişle olası zararlı etkileri azaltılır. Plazma

olmadığı durumlarda, alyuvarlar serum fizyolojik içindeyken, ozonla temas hemoliz oranı %10'a kadar çıkarabilir (89). Oysa bu oran aynı konsantrasyon ozonda normal kanda %0, 5'ten fazla değildir (81, 90). Konsantrasyon 200 µg/mL ye çıkarıldığında ise hücrelerin %7'sinde hemoliz görülür (67).

Ozonun antioksidan etki göstermeye başladığı eşik miktar 15-20 µg/mL olarak rapor edilmiştir (67). Bu miktarın altındaki konsantrasyonlarda kanda hazır bulunan antioksidan mekanizma ile etkisini göstermeden ROS'lar nötralize olur (91). Ozon tedavisine yeni başlayanlar için en yararlı ilke düşük dozdan başlayıp çok yavaş bir şekilde dozu yükseltmektir. Somuta indirgenecek olursa 15 µg/mL den başlayıp yavaş yavaş 40 µg/mL ye kadar çıkmak olarak ifade edilebilir.

Normalde haftada 2 kez ozon tedavisi uygulanır ancak her gün, hatta günde 3 kez yapıldığı ve bir sorun olmadığı da bildirilmiştir (65).

Özellikle yaşlı ve durumu iyi olmayan hastalarda ozonlanacak hacim 300mL üzerine çıkmamalıdır.

1.13.4.2. Minör otohemoterapi (MİH)

5 mL kan alınır, eşit hacimde ozonla karıştırılır, köpük de dahil olmak üzere hemen gluteal bolgeye intramuskular olarak verilir. Kan enjeksiyon sahasında pıhtılaşır. Oluşan lokal inflamasyonla çevreye mediatör salınımı gerçekleştiği söylene de henüz bunlar birer hipotez seviyesinde kalmaktadır (65).

1.13.4.3. Lokal tedaviler

I.Dunya savaşı sırasında ozon/oksijen gaz karışımı yaraların dezenfektasyonu ve kokunun giderilmesinde kullanılmıştır. Günümüzde ise gaz karışımının yanında ozonlanmış damıtık su ve ozonlanmış yağ ve kremler (ozonidler) de çeşitli formlarda kullanılmaktadır. Bu tabakalardaki sıvı ortamlarla karşılaştığı an ozon yukarıda basitçe belirtilen reaksiyondanda anlaşılacağı gibi bir saniyeden kısa bir sürede oksijen ve oksijen radikale dönüşecektir. Yüzeyel ozon tedavisi kutanöz ülserler ve yaralar, yanıklar ve lokal yüzeyel enfeksiyonlarda kullanılmaktadır.

1.13.4.4.Ozonlu su

Burada önemli olan distile su kullanmaktır. Serum fizyolojik kullandığında oluşan reaksiyonlar sonucunda hipoklorik asit oluşabilir. 20 °C'de, en iyi koşullarda dahi sağlayabilecek maksimum ozon saturasyonu 18-20 µg ozon/ml suyu geçemez,

bu nedenle ozonlu su tedavisinde doz aşımı diye bir şey söz konusu olamaz. Ozonun oda sıcaklığında su içindeki yarılanma süresi 10 saattir. Bu süre kapalı kapta ve buzdolabı içerisinde 5 güne kadar uzar. Ozonlu su başlıca dezenfektan olarak, ağrıyı azaltıcı olarak, antienflamatuvar etkileri için, ayrıca akut ve kronik yaralarda iyileşmeyi hızlandırıcı amaçlarla kullanılmaktadır (63).

1.13.4.5. Peroksidik yağlar:

İçinden ozon geçirilen bitkisel (zeytin) yağda peroksitler ve ozonoidler oluşur. Bu uygulamanın gerek yanıklarda gerekse diğer yaralarda iyileşmeyi %40 oranına kadar hızlandırdığı rapor edilmiştir (92).Yapılan bir çalışmada domuzlarda oluşturulan akut kutanöz yara iyileşmesinde topikal uygulanan ozonlanmış yağın, kontrol gruplarına göre belirgin bir fark yarattığı tespit edilmiştir. Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) seviyelerinde anlamlı artışlar saptanmıştır (93). Ozon stratum korneumda lipid ve protein oksidasyon ürünlerinin oluşumunu artırır. Ozonun kutanöz dokular üzerindeki etkisini değerlendirmek için tüysüz farelere altı gün boyunca günlük 6 saat 0.8 μ g dozunda ozon uygulanmıştır. Proinflatuar bir gösterge olan siklooksijenaz-2 seviyesinde artma saptanmıştır. Bu artış ozonun deri inflamasyonunda rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca ısı şok proteini 32 (HSP) düzeyinde artış ozon kaynaklı stresin hassas göstergesidir. Ozona en fazla ve en erken cevap veren HSP 27'dir. HSP'leri hücre proliferasyonu, apoptoz ve inflamatuvar cevapta rol oynadığı için ozon aracılı HSP indüksiyonu normal deri fizyolojisini etkileyebilir. Üstelik ozon uygulandıktan sonra metalloproteinaz-9 seviyesinde artış saptanmıştır. Metalloproteinazlar bazal membranın degradasyonu ile ilişkilidir; yara iyileşmesi ve tümör gelişiminde önemli rol oynarlar (94).

Ozon aynı zamanda hücre farklılaşmasını da etkileyebilir. Deri dokusunda ozondan sonra keratin 10 üretiminde artış saptanmıştır. Keratin 10 iyi diferansiye suprabazal keratinositlerde üretilen bir keratindir. Ozon kaynaklı keratin 10 artışı; ozonun keratinosit proliferasyonu ve diferansiyasyonu uyardığını gösterir. Ozon etkilerini, transkripsiyon faktörü NF κ B'nin aktivasyonunu indükleyerek yapar. NF- κ B aracılı reaksiyonlar; viral replikasyon, otoimmün hastalıklar, tümörogenez, apoptozis ve inflamatuvar cevapta rol oynarlar. Bu bulgular ozonun sayısız

proinflammatuar ve inflammatuar süreçte etkin olduğunun göstergesidir (95, 96). Kararsız yapısına rağmen, ozon molekülü zeytin yağı gibi bir doymamış yağ asidinin çift bağları arasında ozonid olarak stabilize edilebilir. Sonuç olarak ozonlanmış zeytin yağı 4° C’de 2 yıl stabil kalabilir. Böyle bir ürün topikal kullanım için idealdir. Ozonlanmış yağ şimdilerde topikal olarak savaş yaraları, anaerobik infeksiyonlar, Herpes infeksiyonları (tip I ve II), trofik ülserler, radyodermatit, yanık, selülit, abse, anal fissür, dekubitüs ülseri, fistül, fungal hastalıklar, furonkülozis, gingivit ve vulvovaginit tedavisinde kullanılabilir. Yukarıdaki saydıklarımıza ilaveten anekdotal verilere dayanarak aşağıdaki dermatolojik hastalıklarda topikal ozon tedavisi uygulanabilir veya denenebilir: Ekzemalar, psoriasis vulgaris, liken planus, nörodermatit, iyileşmeyen yaralar, bakteriyel infeksiyonlar, zona, aft, akne, ulkus kruris, verrukalar, saçlı deri hastalıkları ve hematoma sayılabilir (95, 97).

1.13.4.6. Ozon/oksijen gaz karışımı

Herşeyden önce böyle bir tedavi için yara alanın ıslak olması gereklidir. Tedavi uygulanacak alan gaz kaçmayacak şekilde bir torba içine alınır ve ozon/oksijen gaz karışımı ile doldurulur. Bu yöntemde en kritik kısım tedavi süresinin bitiminde ozonun geri alınıp cihaz tarafından oksijen ve suya bozunmasını sağlamaktır.

1.13.4.7. Vücut boşluklarına ozon verme

Bu yöntem damar sorunu olan hastalarda ya da çocuklarda rektal gaz verme ve vajinal enfeksiyonlarda direk vajinanın içine ozon gazı verme şeklinde uygulanır. Yetişkinlerde 10-25 µg ozon/ml oksijen-ozon karışımı, 150-300 ml hacminde; çocuklarda ise 10-20 µg/ml ozon/ml oksijen-ozon karışımı 10-30 ml hacminde rektal tüp vasıtası ile yavaşça verilir. Burada da tedavi bitiminde ozon gazı kontrollü olarak ortamdan uzaklaştırılmalıdır.

1.13.4.8. Ozon gazı enjeksiyonu:

Kas ağrıları gibi durumlarda ya da belirli bölgelerdeki yağların eritilmesi amacıyla gaz direkt doku içine enjekte edilir.

1.13.5.Ozonoterapinin Klinik Uygulamaları

Ozonoterapi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 1). Aşağıda ozonun kullanım alanlarının bir kısmı tartışılacaktır. Dikkati çeken nokta ozon tedavisinin üçüncü dünya ülkelerinde ve eski demirperde ülkelerinde daha radikal ve cesaretle kullanılıyorken, Avrupa’da çok daha temkinli bir yaklaşım olduğu, Amerika ve Kanada da ise tamamen yasak olduğudur. Aşağıdaki bilgiler değerlendirilirkenişaret edilen yayının yapıldığı merkezin de dikkate alınması tavsiye edilir. Diğer bir konu ise klinik çalışmalarının çoğunun yonteminin henüz bilimsel olarak tatmin edici olmaktan uzak olmasıdır. Ozon, başlıca yara ve yanık bakımında kullanılabilir.

Tablo 1. Ozon Tedavisinin Kullanıldığı Alanlar

Viral hastalıklar	Maküler dejenerasyon
Kronik yaralar	Kas-iskelet sistemi ağrıları ve hastalıkları
İnflamatuvar barsak hastalıkları	Diş hekimliği ve stomatoloji
Yanıklar	Bazı solunum sistemi patolojileri
Mantar hastalıkları	Dejeneratif hastalıklar (bunama gibi)
Kronik yorgunluk sendromu	Bağıışıklık sistemi hastalıkları
Kanserde yardımcı tedavi olarak	Lokal yağ birikmesi/selülit

1.13.5.1.Yara iyileşmesi ve kronik yaralar:

MİH’nin tendon ve ligaman proliferatif rejenerasyonunu sağladığını ve klinik uygulamaların çok iyi sonuç verdiğini söyleyen yazılar mevcuttur (98, 99). Ancak bunların sonuçlarına güvenmek oldukça zor görünmektedir.

Ateşli silah yaralanmasına maruz kalan ve deri grefti konulan hastalarda ozon gazı uygulaması ile greft başarısının %40’tan %75’e çıktığı rapor edilmiştir (100). Bir başka çalışmada ise 200 kronik yaralı hastanın 187’sinin ozon tedavisi sonucunda belirgin iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (99).Öte yandan hava kirliliği sonucu atmosferdekiyüksek orandaki ozonun yara iyilşemesini ters yönde etkilediği hayvan modelinde gösterilmiştir (101, 102). Sağlıklı bireyler üzerinde yapılan çalışmada ozonun TNF α , IFN- γ ve IL-2 ve diğer interlökin seviyelerini belirgin bir şekilde yükselttiği gösterilmiştir (90, 103). Tüm bunlar olurken nötrofil fonksiyonlarının bozulmadığısaptanmıştır (104).

Ozon terapinin radyoterapi sonrası oluşan cilt reaksiyonlarında ağrıyı ve cilt reaksiyonlarını azaltmada etkili olduğunu savunan bir çalışma mevcut ancak hasta sayısı sınırlı ve kontrol grubu olmadığından güvenilirliği tartışmalı görünmektedir (105).

Ozonun etkisi özellikle diyabetli hastalarda dikkat çekicidir. Diyabetin patogeneğinde artmış oksidatif stresin ve azalmış antioksidan kapasitenin varlığı kanıtlanmış durumdadır (106, 107). Yara iyileşmesini desteklemesinin ötesinde, endotelial düzeyde NO/O₂ oranının tekrar dengelenmesini sağlayan ozonoterapinin diyabetik ayak oluşumuna giden aşamaları en başından engellediği iddia edilmektedir (66). Benzer çalışmalar da ozonun diyabet nedeniyle vücutta oluşan oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (108, 109). Yapılan klinik çalışmalarda ise diyabetik ayaklarda belirgin bir iyileşme tanımlansa da çalışmanın dizaynı ve takip süresinin sadece 20 gün olması sonuçları inandırıcılıktan uzak kılmaktadır (110).

Ozon tedavisinin kronik bacak iskemisinde etkili olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur (111, 114). Bu etkinin dolaylı olarak iskemik yaraların iyileşmesine olumlu yönde katkıda bulunması beklenebilir.

İskemik yaraların ozonlu su ile yıkanması ile yapılan lokal yara bakımının tatmin edici sonuçları rapor edilmiştir (63).

1.13.5.2. Antibakteriyel etki

Ozonun antibakteriyel etkisi bu maddenin ilk kullanım alanıdır. Sharma ve Hudson tarafından yapılan bir çalışmada ortama verilen 25 ppm'lik bir ozon gazının 20 dakika içerisinde kuru yüzeyler ve gereçler dahil ortamdaki hastane kökenli pek çok bakteri için, ki bunların arasında *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium difficile* ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* sayabiliriz, bakterisidal olduğu gösterilmiştir (115). Lokal tedavilerde 80 and 100 µg/ml gibi yüksek konsantrasyonlarda ozonun “yarayı temizlediği”, diğer bir deyişle dezenfektan görevi gördüğü, 10-40 µg/mL civarında ise “yarayı iyileştirdiği” ya da epitelizasyon ve granülasyonu artırdığı rapor edilmiştir (63).

1.14. Zeytinyağı

Zeytin ağacı meyvesinden doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısı ortamında sadece yıkama, sızdırma, santrifüj ve filtrasyon işlemleri gibi

mekanik veya fiziksel işlemlerin uygulanmasıyla elde edilen, berrak yeşilden sarıya değişebilen renkte, kendine özgü tat ve kokuda olan, doğal halinde gıda olarak tüketilebilen yağlara zeytinyağı denir.

1.14.1. Zeytinyağının Kimyasal Bileşimi

Zeytinyağı yaklaşık % 98 oranında bulunan trigliseritlerle birlikte, %2 oranında dafenolik maddeler, serbest yağ asitleri, steroller, hidrokarbonlar, alifatik ve triterpenikalkoller, uçucu bileşenler ve antioksidanlar gibi 230 ayrı minör bileşenden oluşan karmaşık bir karışımdır. Bu nedenle zeytinyağının bileşimini temel bileşenler ve diğer bileşenler olarak iki bölümde incelemek mümkündür. Bunlardan temel bileşenler içerisinde yağ asitleri ve trigliseritler yer alırken, diğer bileşenler kapsamında özellikle fenolik maddeler, steroller, fosfatitler ve pigmentler ile tat ve koku maddeleri sayılabilir. Ancak zeytinyağı söz konusu olduğunda, diğer bileşenler sınıfına dahil edilen ve miktarları temel bileşenlere kıyasla oldukça düşük olan bileşikler önem kazanmaktadır. Bu bileşiklerden birçoğunun yağdaki oransal değeri, zeytinyağlarının saflık ve kalitelerini doğrudan belirleyen özelliklerdir. Çünkü gerek uluslararası, gerekse ulusal kodeks ve diğer yasal düzenlemelerde, zeytinyağlarının saf ve belirli kalitede olması için, özellikle minör bileşenlerin belirli limitler arasında olması gerekmektedir (116).

1.14.2. Yağ asitleri ve trigliseritler

Zeytinyağlarının temel yağ asitlerini, oleik, linoleik, palmitik ve stearik asitler oluşturmaktadır. Bunların yanında daha düşük oranlarda ise, miristik, palmitoleik, heptadekanoik, heptadesenoik, linolenik, gadoleik, behenik ve lignoserik asitler bulunmaktadır. Söz konusu yağ asitlerinden doymamış yapıda olanların büyük bir çoğunluğu doğal haliyle cis formdadır.

Zeytinyağlarının temel gliseritleri OOO, POO, OOL, POL ve SOO şeklinde olup, butrigliseritlerin toplam gliseritler içindeki oranı % 85'in üzerindedir. Ancak miktarları azda olsa, esdeğer karbon sayısı 42 olan (ECN42) trigliseritlerin oransal değerleri zeytinyağlarının linoleik asitçe zengin tohum yağlarıyla tagsislerinin tespitinde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır.

Zeytinyağında özellikle yağın hidroliziyle oluşan mono ve digliseritler de bulunmaktadır. Bu bileşikler zeytinyağı kalitesinin değerlendirilmesinde

kullanılmaktadır ve serbest asitlik ile digliserit oranı arasında doğrusal bir ilişki olduğu ifade edilmistir (116).

1.14.3. Gliserit olmayan bileşenler

Zeytinyağının temel bileşeni olan gliseritler dışında, naturel zeytinyağlarında % 2 civarında serbest yağ asitleri ve gliserit olmayan bileşikler bulunmaktadır. Bunların başlıcaları; fenoller, steroller, fosfatitler, hidrokarbonlar, mumlar, alifatik alkoller, renk maddeleri ve aroma maddeleridir (116).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deneklerin Hazırlanması

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı. Proje Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından 1229 nolu proje olarak onaylandı. Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nce (FÜDAM) sağlanan ağırlıkları 200 – 250 gr arasında değişen 21 adet Wistar Albino tipi erkek rat kullanılmıştır. Deneyler FÜDAM laboratuvarlarında sıcaklık ve nem kontrollü, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü olan ortamda yapıldı. Tüm denekler aynı standart yemlerle ve şehir içme suyu ile beslenerek aynı ortamda yetiştirildi. Deneyden 12 saat önce denekler aç bırakıldı.

2.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler

Tablo 2. Çalışmada kullanılan alet ve malzemeler

Ketamin HCL	15 numara bistüri
Xylazine hidrokloride	Adson penset
Enjektör 5ml	Steven's doku makası
Elektrikli tıraş makinesi	Portegue
Çizim kalemi	4/0 prolén sütür
Cetvel	Steril gazlı bez
Flaster	Dijital fotoğraf makinesi (Samsung ST80)
Sodyum hipoklorit (% 10'luk solüsyonu)	Povidon-iodin

2.3. Deneklerin Gruplara Ayrılması

Deney hayvanları her biri 7 elemandan oluşan randomize gruplara ayrıldı.

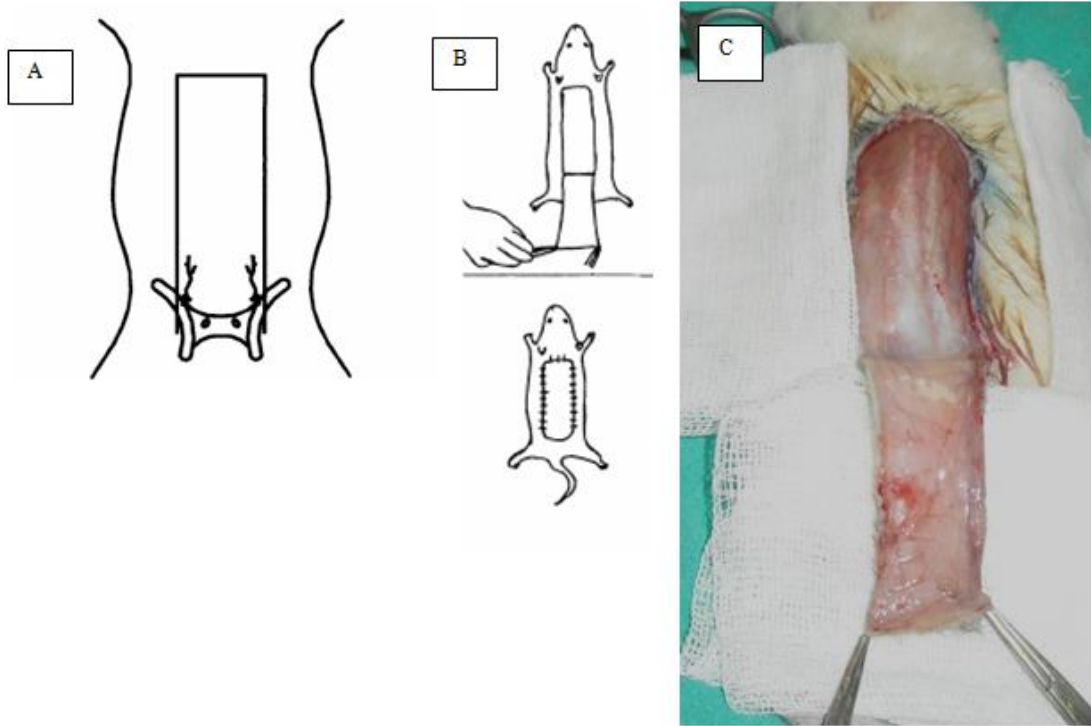
Grup 1 (n=7) : Kontrol grubu, standart kaudal tabanlı sırt flebi uygulanmış grup

Grup 2 (n=7):Zeytinyağı grubu, standart kaudal tabanlı sırt flebi+zeytinyağı uygulanmış grup

Grup 3 (n=7): Ozonyağı grubu, standart kaudal tabanlı sırt flebi+ozonyağı uygulanmış grup

2.4. Cerrahi Yöntem

Hayvanlar intramüsküler 5mg/kg Ksilazine Hidroklorid (Alfazyne %2 ®, Alfasan® – 20 mg/ml) ve 50mg/kg Ketamin Hidroklorid (Ketalar® – 50 mg/ml) uygulanarak anestezi altına alındı. Anestezi uygulanımını takiben sıçanlar, cerrahi masasına yüzüstü olarak yatırıldı. Dört ekstremitelerinden flaster ile tespit edildi. (şekil 9) Sırt kısmı elektrikli traş makinesi ile traş edildikten sonra çalışma alanı povidon iyot ile temizlendi. Bunu takiben 3x9 cm.lik derinin tüm katları ile panniculus carnosus da içeren Khouri'nin modifiye ettiği Mc Farlane flebi kaudal tabanlı olarak bisturi yardımıyla tam katlı kaldırıldı (Şekil 11) (117). Yara kenarından olabilecek revaskülarizasyonu önlemek için çevre derideki panniculus carnosus tabakası soyularak uzaklaştırıldı. Flep kaldırıldıktan sonra keskin iğneli 4/0 emilmeyen sutur ile tekrar anatomik lokalizasyonda donör alana eşit mesafelere atılan dikişler ile adapte edildi (Şekil 11). Hayvanlar uyandırılarak her biri ayrı kafeslere birbirlerinin fleplerine zarar vermemeleri için yerleştirildi. Tüm hayvanlara postoperatif dönemde 12 saat arayla içme suyuna parasetamol katılarak analjezi sağlandı.



Şekil 11. A-B-C. Khouri'nin Mc Farlane dorsal kaudal tabanlı flep modeli

Kontrol grubunda flepler hazırlanıp suture edildikten sonra herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan günde 2 defa pansumanları yapıldı. Zeytinyağı ve ozonize zeytinyağı grubunda flepler hazırlanıp suture edildikten sonra ilk dozu flep hazırlanmasından hemen sonra diğer dozlar ise 12 saat arayla günde 2 kere sabah-akşam olacak şekilde 7 gün boyunca oluşturulan dorsal flebe topikal olarak zeytinyağı veya ozonize zeytinyağı uygulandı. Postop 7. günde karbondioksit gazı verilerek hayvanlar sakrifiye edildi. Tüm deneklerin flep tabanı ve en uç noktası arasındaki orta bölgeden alınan 1x1 cm'lik doku biyopsileri %10'luk formalinde tespit edildikten sonra parafin bloklara gömüldüler.

2.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

2.5.1. Histopatolojik değerlendirme

Mikrotom bıçağı ile 4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler VEGF (Bios Labarotory, United States of America) ve CD34 (Spring Harbor Labarotory, United States of America) doku boyaları ile boyanarak Olympus BX 51 ışık mikroskobu altında deney gruplarını bilmeyen bir patolog tarafından incelendi. Her denek için en yoğun boyanmanın olduğu üç alanda x200 büyütme ile sayım yapıp her denek için sayımın ortalaması alındı. Sayım yapılırken lümen varlığı şartı olmaksızın, pozitif boyanma gösteren hücreler ve hücre kümeleri mikrovasküler yapı olarak değerlendirildi. Eritrosit varlığı damar sayımı için kriter olarak alınmadı.

2.5.2. İstatistiksel değerlendirme

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi IBM SPSS 21 yazılımı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası farklılığın anlamlılığı tek yönlü varyans analizi ile araştırıldı. Çoklu karşılaştırmalar için Post Hoc test olarak Bonferonni ve Tukey's B testi kullanıldı. Tüm istatistiksel değerlendirmeler %95 güven aralığında yapıldı.

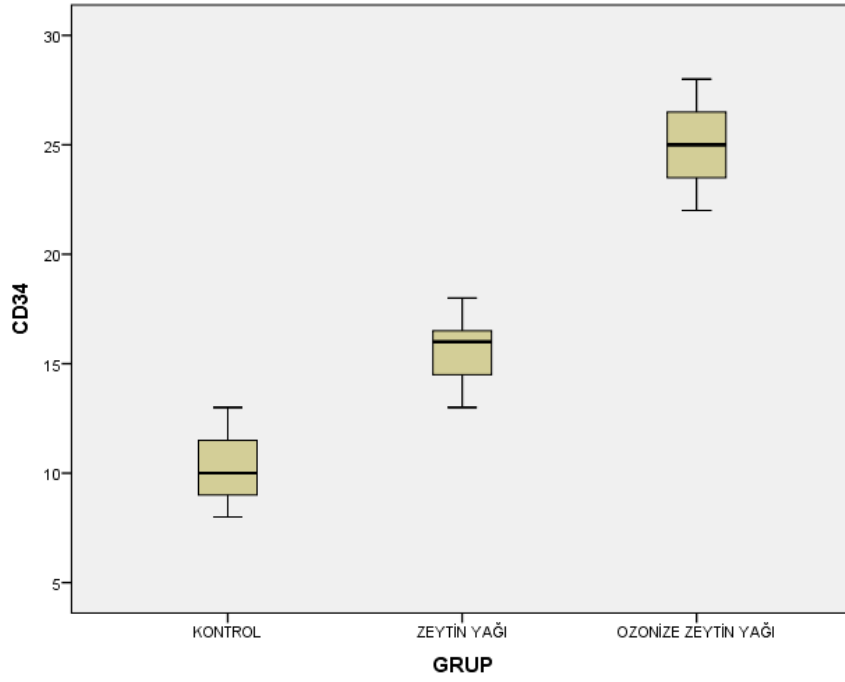
3. BULGULAR

3.1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

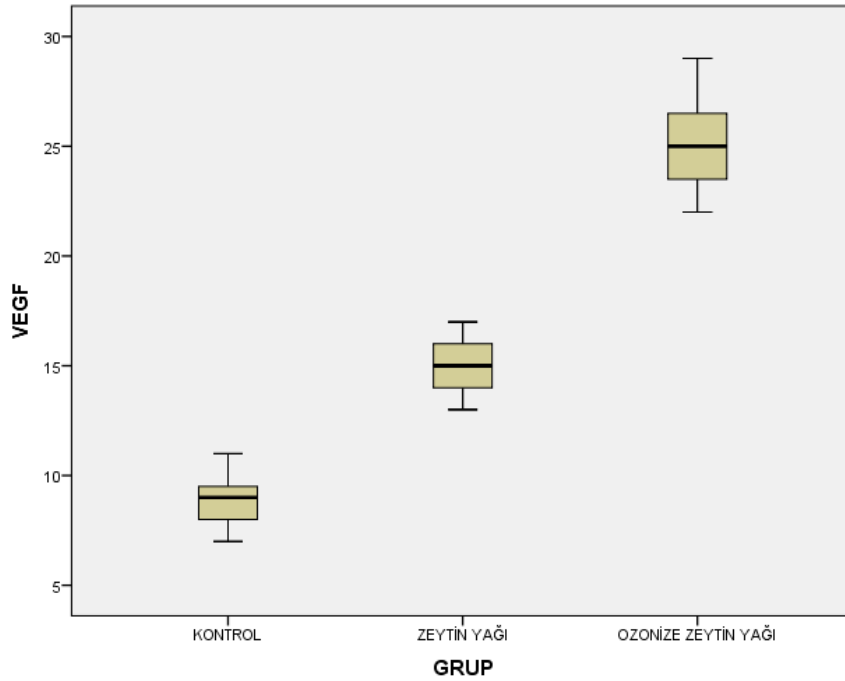
Çalışma esnasında denek kaybı yaşanmadı. Hiçbir ratta flep nekrozu gelişmedi. Deneklerden elde edilen dokularda CD34 ve VEGF ile immünohistokimyasal boyanma gösteren yapıların sayıları ve grupların ortalama $\pm$ standart sapma değerleri Tablo 3'te ve kutu grafikleri Şekil 12 ve Şekil 13'te sunulmuştur. Kontrol grubunda CD34 ve VEGF ile pozitif boyanma gösteren yapıların ortalama $\pm$ standart sapma değerleri sırası ile 10.29 ± 1.80 ve 8.86 ± 1.35 iken zeytinyağı ve ozonize zeytinyağı gruplarında bu değerler sırasıyla 15.57 ± 1.72 ve 15.00 ± 1.41 ile 25.00 ± 2.16 ve 25.14 ± 2.41 idi. Her iki çalışma grubunda CD34 ve VEGF ile boyanan yapıların ortalama sayıları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha yüksekti (her ikisi için de $p < 0.001$). Ozonize zeytinyağı grubunun hem CD34 hem de VEGF ile ortalama boyanma sayıları da zeytinyağı grubundakinden belirgin olarak daha fazlaydı (her ikisi için $p < 0.001$). Şekil 14'te her gruptan birer deneğe ait CD34 ve VEGF immünohistokimyasal boyamalarının fotoğrafları sunulmuştur.

Tablo 3. CD34 ve VEGF ile pozitif boyanma gösteren yapıların sayıları

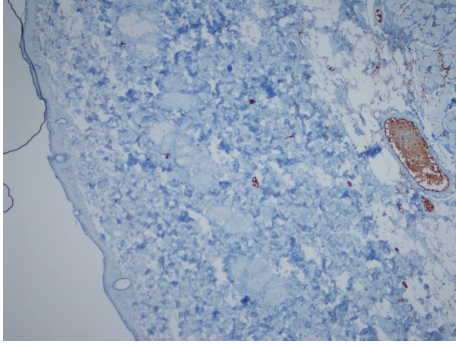
	Denek no.	CD34	VEGF
Kontrol Grubu	1	9	8
	2	13	9
	3	11	7
	4	10	10
	5	8	9
	6	9	8
	7	12	11
Ortalama $\pm$ Standart Sapma		10.29 $\pm$ 1.80	8.86 $\pm$ 1.35
Zeytin Yağı Grubu	1	14	14
	2	16	13
	3	13	16
	4	17	14
	5	15	17
	6	18	16
	7	16	15
Ortalama $\pm$ Standart Sapma		15.57 $\pm$ 1.72	15.00 $\pm$ 1.41
Ozonize Zeytin Yağı Grubu	1	24	23
	2	26	27
	3	22	22
	4	25	25
	5	28	24
	6	23	26
	7	27	29
Ortalama $\pm$ Standart Sapma		25.00 $\pm$ 2.16	25.14 $\pm$ 2.41



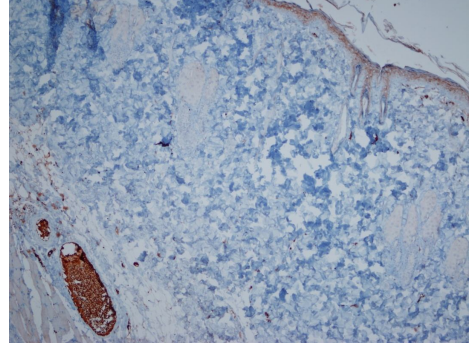
Şekil 12. CD34 için pozitif boyanma sayılarının merkezsiz konum, yayılma, çarpıklık ve basıklık grafiği



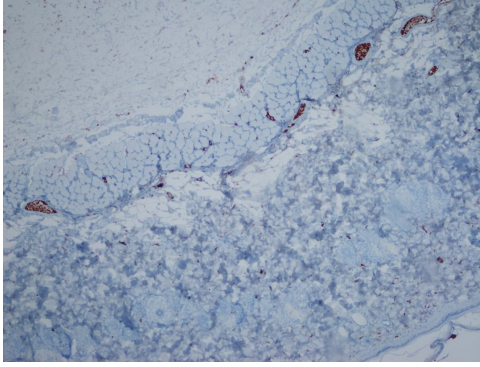
Şekil 13. VEGF için pozitif boyanma sayılarının merkezsiz konum, yayılma, çarpıklık ve basıklık grafiği



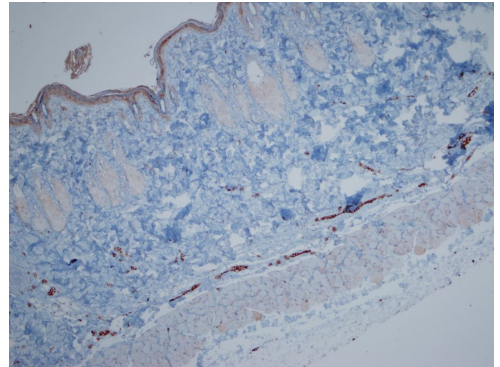
Şekil 14. A. Kontrol grubu CD34 boyama, x200 büyütme



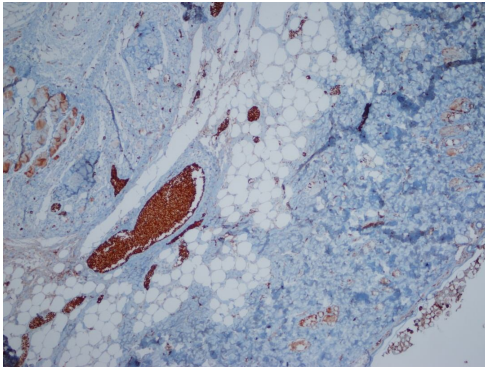
Şekil 14. D. Kontrol grubu VEGF boyama, x200 büyütme



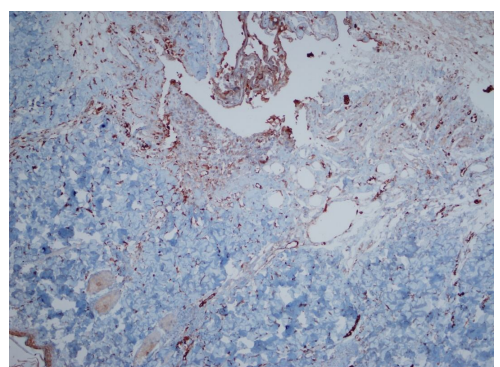
Şekil 14. B. Zeytinyağı grubu CD34 boyama, x200 büyütme



Şekil 14. E. Zeytinyağı grubu VEGF boyama, x200 büyütme



Şekil 14. C. Ozonize zeytinyağı grubu CD34 boyama, x200 büyütme



Şekil 14. F. Ozonize zeytinyağı grubu VEGF boyama, x200 büyütme

4. TARTIŞMA

Flep cerrahisi sonrası oluşan anatomik, hemodinamik ve metabolik olaylar zincirinde en son aşamada iskemi oluşmaktadır. İskeminin patofizyolojisinde bazı teoriler ileri sürülmüştür. Bunlardan biri flep dolaşımının bozulduğu durumlarda doku oksijen seviyesinin düşmesine bağlı olarak hücre içi metabolizmasının aerobikten anaerobiğe dönme eğilimi göstermesidir. Bu, membran transport mekanizmasını bozacak olan laktat birikimine, sonrasında da hücre içi pH seviyesindeki düşmelere ve iyonik pompalardaki ATP depolarının boşalmasına neden olur. Dolaşım normale dönüp dokuya tekrar oksijen girmesiyle birlikte serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu maddeler tüm hücre yapılarına toksik etki gösterir. Sonuçta meydana gelecek olan endotelyal hasar trombosit ve nötrofillerin damar duvarına yapışmasına yol açar ve pıhtılaşma kaskadı başlar (118).

İskemi toleransının en az olduğu bölge flep distali uçlarıdır. Bu bölge, kutanöz kan akımının en az olduğu bölgedir. Flep oluşturulmasını takiben ancak 24 saat sonra burada akım belirgin olarak artmaktadır. İskemiyi takiben revaskülarizasyondaki yetersizlik ‘no-reflow fenomeni’ olarak tanımlanmaktadır. Cilt fleplerinde bu durum, doku ölümünden önceki mikrovasküler tıkanma (hücrel ödem, adrenerjik kökenli vazokonstriksiyon), lümen obstruksiyonu (trombosit tıkaçları), lökositlerin kümelenmesi ve aktivasyonu veya bunların kombinasyonları ile olur. Flep canlılığında tüm bu basamaklar göz önüne alınmış, geliştirilen ve geliştirilmekte olan maddelerin bu mekanizmaların bir veya birkaçını etkileyebilecek potansiyelde olması amaçlanmıştır.

Stewart ve ark. (119) hiperbarik oksijenin rastgele paternli cilt fleplerinde canlılığı artırdığını göstermiştir. Benzer şekilde Latifoğlu ve ark. (120) nikotin etkisindeki cilt fleplerinde kalsiyum kanal blokerlerinin flep canlılığını olumlu etkilediğini göstermiştir. Zaccaria ve ark. (121), C vitaminin iskemi – reperfüzyon hasarını azalttığını, Axford – Gately ve ark. (122) ise yüksek doz E vitamininin iskemiye azaltıcı yönde olumlu rol oynadığını göstermişlerdir. Manson ve ark. (123) venöz oklüzyon ile iskemi oluşturdukları sıçan epigastrik ada fleplerinde reperfüzyon öncesinde tek doz süperoksid dismutaz uyguladıklarında; bu fleplerin %50’sinde canlılık saptarken kontrol fleplerinin hiçbirinin yaşamadığını görmüşlerdir. Angel ve ark. hematoma sonucu oluşan flep nekrozunda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış

saptamışlar ve radikal temizleyiciler kullanarak nekroz oranlarında azalma elde etmişlerdir (124). Demir bağlayıcı ve serbest radikal temizleyici olan desferoksaminin de deri fleplerinde sağkalımı artırdığı gösterilmiştir (125). Nakatsuka ve ark. (126) domuzlarda deri, kas-deri fleplerinde kapiller kan akımı ve flep canlılığı üzerine glukokortikoidlerin etkinliğini araştırmışlardır.

Bitkisel ve doğal ürünlerin kullanımı son yıllarda popülerite kazanmış olup alternatif tıbbi tedavi metodu olarak tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 1997’de Amerika’da yapılmış olan bir çalışmada erişkin nüfusun %12’den fazlasının bu ürünlerden faydalandığı saptanmıştır. Bu rakam Avrupa ülkelerinde de benzerdir. Geleneksel Çin Tıbbının ana tedavi edici maddesi olan ginseng için sadece Amerika’da 250 milyon dolar harcanmaktadır (127). Sengupta ve ark (128). Ginsengin yara iyileşmesinde damar gelişimini uyarıcı, tümör dokusunda ise baskılayıcı gibi davrandığını göstermişlerdir (128-130).

Zeytin ağacı meyvesinden doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısı ortamında sadece yıkama, sızdırma, santrifüj ve filtrasyon işlemleri gibi mekanik veya fiziksel işlemlerin uygulanmasıyla elde edilen, berrak yesilden sarıya değişebilen renkte, kendine özgü tat ve kokuda olan, doğal halinde gıda olarak tüketilebilen yağlara zeytinyağı denir (116). Cheon ve ark. (131) yaptığı bir çalışmada zeytinyağının flep canlılığı üzerine etkisinin epigallocatechin gallate etkisi ile karşılaştırması yapılmış; zeytinyağının etkinliğinin düşük olduğu izlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise zeytinyağı uygulanmasının rat kaudal tabanlı dorsal flebinde damarlanmayı artırdığını saptadık.

Ozon, çembersel üç oksijen atomundan oluşan, kararsız, depolanamayan, çok açık mavi renkli, keskin kokulu ve havadan daha ağır bir gazdır (63). Oksijenden 1, 6 kat daha yoğun ve on kez daha fazla suda çözünür olan bu gazın yarılanma ömrü 20°C’de 40 dakikadır (63). Oksidan ajanlar arasında florin ve persülfattan sonra üçüncü en kuvvetli oksidan olanıdır. Atmosferdeki ozonun %90’ına yakını, yer yüzeyinden yaklaşık 20–50 km yüksekte bulunan stratosfer tabakası içinde yer alır. Geri kalan %10’luk ozon miktarı ise 10–15 km’ler arasındaki troposfer tabakası içinde bulunmaktadır (64). Ozon gazı canlılar için toksiktir. Antioksidan kapasiteleri çok düşük olduğundan akciğer ve gözler ozonun toksik etkisine en hassas organlardır. Zarar miktarı ozon gazının ortamdaki konsantrasyonu, ortamdaki

sıcaklık, nem ve maruziyet süresine göre değişir (66). Direkt maruziyette ciddi sağlık sorunlarına yol açabilen ozon, atmosferdeki bir nevi radyasyon kalkanı görevi görmesi yanında uzun süredir gıda ve sterilizasyon endüstrisinde insanlığın hizmetindedir. Bu uç noktalardaki davranışı nedeniyle 1935'te Justus von Liebig daha sonra Bocci tarafından Roma tanrısı Janus'a benzetilmiştir (67).

Ozonoterapi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ozon, cerrahi pratikte başlıca yara ve yanık bakımında kullanılabilir (98, 99). Ancak bunların sonuçlarına güvenmek oldukça zor görünmektedir. Ateşli silah yaralanmasına maruz kalan ve deri grefti konulan hastalarda ozon gazı uygulaması ile greft başarısının %40'tan %75'e çıktığı rapor edilmiştir (100). Bir başka çalışmada ise 200 kronik yaralı hastanın 187'sinin ozon tedavisi sonucunda belirgin iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (99). Öte yandan hava kirliliği sonucu atmosferdeki yüksek orandaki ozonun yara iyileşmesini ters yönde etkilediği hayvan modelinde gösterilmiştir (101, 102). Sağlıklı bireyler üzerinde yapılan çalışmada ozonun TNF μ , IFN-y ve IL-2 ile diğer interlökin seviyelerini belirgin bir şekilde yükselttiği gösterilmiştir (90, 103). Tüm bunlar olurken nötrofil fonksiyonlarının bozulmadığı saptanmıştır (104). Ozonoterapinin radyoterapi sonrası oluşan cilt reaksiyonlarında ağrıyı ve cilt reaksiyonlarını azaltmada etkili olduğunu savunan çalışma mevcuttur ancak çalışmada hasta sayısı sınırlı olup kontrol grubu olmadığından güvenilirliği tartışmalıdır (105). Ozonun etkisi özellikle diyabetli hastalarda dikkat çekicidir. Diyabetin patogenezinde artmış oksidatif stresin ve azalmış antioksidan kapasitenin varlığı kanıtlanmış durumdadır (106, 107). Yara iyileşmesini desteklemesinin ötesinde, endotelial seviyede NO/O₂ oranının tekrar dengelenmesini sağlayan ozon terapinin diyabetik ayak oluşumuna giden aşamaları en başından engellediği iddia edilmektedir (66). Benzer çalışmalar da ozonun diyabet nedeniyle vücutta oluşan oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (108, 109). Ozon tedavisinin kronik bacak iskemisinde etkili olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur (111-114). Bu etkisinden dolayı iskemik yaraların iyileşmesine olumlu yönde katkıda bulunması beklenebilir. İskemik yaraların ozonlu su ile yıkanması ile yapılan lokal yara bakımının tatmin edici sonuçları rapor edilmiştir (63).

Bizim çalışmamızda da ozonize zeytinyağının flep canlılığı üzerine olumlu etkileri olduğunu gözlemledik. Hem doku VEGF hem de CD 34 düzeyleri açısından

kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman ozon yağı kullanılan grupta daha yüksek değerler olduğu saptandı. Hiçbir grupta nekroz görülmemesine rağmen dokulardaki istatistiksel ve histopatolojik olarak anlamlı CD34 ve VEGF düzeylerinin artmasının flepte neovaskülarizasyonun arttığının direkt bir göstergesi olduğu ve bu nedenle ozonize zeytinyağının cilt fleplerinde kullanılabileceği kanaatindeyiz. Bu nedenle ozonize zeytinyağının antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri ile iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinliğinin flep canlılığının artmasına katkı sağladığı düşüncesindeyiz.

Sonuç olarak; ozonize zeytinyağının topikal uygulamalarının flep dokusunda neovaskülarizasyonu arttırarak iyileşmeyi olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmüştür. Bu bulguları destekleyecek klinik çalışmalar yapılmasının gerekli olduğu kanaatindeyiz.

5. KAYNAKLAR

1. Cormack GC, Lamberty BGH. Introduction: the arterial anatomy of skin flaps
Cormack GC (Ed). First Edition. Churchill Livingstone, 1986: 1.
2. Fisher J, Gingrass MK. Basic Principles of skin flaps. Plastic, Maxillofacial
and Reconstructive Surgery. Georgiade GS, Riefkohl R. Levin LS. (Ed).
Third. Ed. Williams & Wilkins, 1997: 1997.
3. Lamberty BGH, Healy C. Flaps: physiology, principles of design and pitfalls.
Mastery of Plastic Reconstructive Surgery. Cohen M. Little (ed). 1th Ed.
London: Brown and Company, 1994: 56-70.
4. Mc Carthy JG. Introduction to Plastic Surgery. Plastic Surgery. Mc Carthy
WB (Ed). Saunders Company, 1990: 1.
5. Connely JR. Reconstructive Procedures of the Lower Extremity. Plastic
Surgery Ed. Grabb, WC, (ed). Second Edition, Smith JW. 1973: 919.
6. Grabb WC, Smith JW. Basic Techniques of Plastic Surgery. Plastic Surgery.
Grabb WC, Smith JW, (Ed). second ed. London: Little Brown and Company,
1973.
7. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and Physiology of skin flap Surgery.
Plastic Surgery. Mc Carthy WB. Saunders Company, 1990; 1: 275.
8. Jankauskas S, Cohen IK, Grabb, WC. Basic Techniques of Plastic Surgery
Grabb and Smith. Plastic Surgery Smith JW, Aston SJ (Ed). Fourth Ed.
Boston: Little Brown and Company, 1991: 1-91.
9. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, Minabe T. An anatomic review of the
delay phenomenon: Experimental Studies Plas Recon Surg 1992; 89: 397.
10. Morris SF, Taylor GI. The time sequence of the delay phenomenon: when is a
surgical delay effective? An experimental study. Plast Reconstr Surg 1995;
95: 526.

11. Adanali G, Seyhan T. Effects of Different Vascular Patterns and the Delay Phenomenon on Rat Ventral Island Flap Viability. *An Plas Sur* 2002; 48: 660-664.
12. Callegari PR, Taylor GI. An anatomical review of the delay phenomenon: I. Experimental studies. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 397.
13. Angel MF, Narayanan K, Swartz WM. Deferoxamine increases skin flap survival: Additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. *Br J Plas Surg* 1998; 39: 469-472.
14. Shandall AA, Williams GT, Hallet MB. Colonic healing: a role for polymorphonuclear leukocytes and oxygen radicals production. *Br Jour Surg* 1986; 73: 225-228.
15. Burton GW, Ingold KV. Vitamin E. Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its strycture and function. *Acc Chem Res* 1986; 19: 198.
16. Nordmann R. Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol and alcoholism* 1994; 29: 513-522.
17. deRojas-Walker T, Tamir S, Ji H, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Nitric oxide induces oxidative damage in addition to deamination in macrophage DNA. *Chem Res Toxicol* 1995; 8: 473–477.
18. Graziewicz M, Wink DA, Laval F. Nitric oxide inhibits DNA ligase activity: potential mechanisms for NO-mediated DNA damage. *Carcinogenesis* 1996; 17: 2501–2505.
19. Khan A, Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, Kontos C, Zhong A, et al. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and Mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287: 1219–1229.

20. Um SC, Suzuki S, Toyokuni S, Kim BM, Tanaka T, Hiai H, Nishimura Y. Involvement of nitric oxide in survival of random pattern skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:785–792.
21. Cordeiro PG, Santamaria E, Hu QY. Use of a nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia–reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 2040–2048.
22. Mittermayr R, Valentini D, Fitzal F, Hallstrom S, Gasser H, Redl H. Protective effect of a novel NO-donor on ischemia/ reperfusion injury in a rat epigastric flap model. *Wound Repair Regen* 2003; 11: 3–10.
23. Khiabani KT, Kerrigan CL. Presence and activity of nitric oxide synthase isoforms in ischemia–reperfusion-injured flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:1638–1645.
24. Knox LK, Stewart AG, Hayward PG, Morrison WA. Nitric oxide synthase inhibitors improve skin flap survival in the rat. *Microsurgery* 1994; 15: 708–711.
25. Sarifakioglu N, Gokrem S, Ateş L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: an experimental study. *Br J Plast Surg* 2004; 57: 769–772.
26. Zacchigna S, Papa G, Antonini A, Novati F, Moimas S. Improved survival of ischemic cutaneous and musculocutaneous flaps after vascular endothelial growth factor gene transfer using adeno associated virus vectors. *Am Jour Pathol* 2005; 167: 981-991.
27. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435-439.
28. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996; 380: 439-442.

29. Jiang Q, Wu BY, Chen XD. Effect of oleic acid on the proliferation and secretion of pro-inflammatory mediators of human normal fibroblasts and scar fibroblasts. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2012; 28: 444-450.
30. Naldini A, Carraro F. Role of inflammatory mediators in angiogenesis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 3-8.
31. LaVan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. *Clin Plas Surg* 1990; 17: 463-472.
32. Krizek TJ, Harries R.H.C, Robson MC. Biology of tissue injury and repair. *Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery*. 3th. Ed. Georgiade GS, Riefkohl R, Levin LS (Ed), Baltimore: Williams&Wilkins 1997: 3-9,1997.
33. Porras-Reyes BH, Mustoe TA. Wound healing. *Mastery of Plastic Surgery*. Cohen M (Ed). 1th. Ed. Boston: Little, Brown and Company, 1994; 3-13, 1994.
34. Glat PM, Longaker MT. Wound Healing. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 5th. Ed. Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM (Ed). Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997: 4-12.
35. Barbul A. Immun aspects of wound repair. *Clin Plas Surg* 1990; 17: 433-439.
36. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; 9: 653-60.
37. Huminiecki L, Chan HY, Lui S, Poulsom R, Stamp G, Harris AL, Bicknell R. Vascular endothelial growth factor transgenic mice exhibit reduced male fertility and placental rejection. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 255-264.
38. Shimada K, Kawamoto A. Normal and abnormal aging of cardiovascular system. *Mol Hum Reprod* 1991; 28: 302-307.
39. Rafii S, Leyden D. Therapeutic stem cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 2003; 9: 702-712.

40. The Mode of Action of Anti-Angiogenic Steroid and Heparin. Steiner R, Weisz PB, R. Langer (Eds), Basel: Birkhauser-Verlag: Angiogenesis 1992; 5: 443–448.
41. Bergren CT, Bodzin JH, Cortez JA. Improved survival using oxygen free radical scavengers in the presence of ischemic bowel anastomosis. *Am Surg* 1998; 54: 333-336.
42. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 1983; 94: 428-432.
43. McCord JM. The superoxide free radicals: it's biochemistry and pathophysiology. *Surgery* 1983; 94: 412-414.
44. White MJ, Hecker FR. Oxygen free radicals and wound healing. *Clin Plas Surg* 1990; 17: 473-484.
45. Greenwood JE, Edwards AT, McCollum CN. The possible role of ischemia-reperfusion in the pathogenesis of chronic venous ulceration. *Wounds* 1995; 7: 211–219.
46. Shukla A, Rasik AM, Patnaik GK. Depletion of reduced glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant defense enzymes in a healing cutaneous wound. *Free Radic Res* 1997; 26: 93–101.
47. Youn YK, Ladonde C, Demling R. The role of mediators in the response to thermal injury. *World J Surg* 1989; 16: 30–36
48. Bren EC. VEGF in Biological Control. *J Cel Biochem* 2007; 102: 1358-1367.
49. Roy H, Bhardwaj S, Yla-Hertualla S. Biology of vascular endothelial growth factors. Mini review. *Fed Eur Biochem Soc Pub by Elsevier BV*, 2006; 3: 87.
50. Sone H, Sakauchjc M, Takahashia A, Suzuki H. Elevated levels of vascular endothelial growth factor in the sera of patients with rheumatoid arthritis correlation with disease activity. *Life Sci* 2001; 69: 1861-1869.

51. Hoeben A, Landuyt B, Highley M S, Wildiers H. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. Review, *Pharmacol Rev* 2004; 56: 549-580.
52. Podar K, Anderson KC. The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies therapeutic implications. Review, *Blood* 2005; 105:1383-1395.
53. Bottomley MJ, Webb NJA, Watson CJ, Holt PJL. Placenta growth factor (PLGF) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from mononuclear cells and is co-expressed with VEGF in synovial fluid. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 182-188.
54. Das SK, Vasudevan DM. Essential factors associated with hepatic angiogenesis. Minireview, *Life Sciences* 2007; 81: 1555-1564.
55. Kasama T, Shiozawa F, Kobayashi K, Yajima N. Vascular endothelial growth factor expression by activated synovial leukocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2001; 44: 2512-2524.
56. Walsh DA. Angiogenesis and arthritis. Review, *Rheumatology* 1999; 38: 103-112.
57. Jackson CJ, Schriber L. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen AJ, Weinblatt ME (eds), 3. Baski, Spain: *Rheumatology*, Mosby, 2003: 851-884.
58. Holmes DIR, Zachary I. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. Review, *Genome Biology* 2005; 6: 1866.
59. Knowles DM. Immunophenotypic markers useful in the diagnosis and classification of hematopoietic neoplasms. Knowles DM (ed). *Neoplastic Hematopathology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins, 2001:160-162.

60. Natkunam Y, Rouse RV, Zhu S, Fisher C, van De Rijn M. Immunoblot analysis of CD34 expression in histologically diverse neoplasms. *Am J Pathol* 2000; 156: 21-27.
61. Katenkamp D, Mentzel T, Kosmehl H. CD34 detection-an immunohistochemical contribution to differential diagnosis of soft tissue tumors. *Pathologe* 1996; 17: 195-201.
62. Park HR, Park YK. Assessment of diagnostic utility of anti-CD34 in soft tissue tumors. *J Korean Med Sci* 1995; 10: 436-441.
63. Beck EG, Wasser G, Viebahn-Hänsler R. The current status of ozone therapy empirical developments and basic research. *Forsch Komplementärmed* 1989; 5: 61-75.
64. Özler M, Öter Ş, Korkmaz A. Ozon gazının tıbbi amaçlı kullanılması. *TAF Prev Med Bull* 2009; 8: 59-64.
65. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res*. 2006; 37: 425-435.
66. Uysal N, Schapira RM. Effects of ozone on lung function and lung diseases. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 144-150.
67. Bocci V. Ozone as janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm* 2004; 13: 3-11.
68. Bocci VA. Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. *Arch Med Res* 2007; 38: 265-267.
69. Viebahn-Haensler R. Milestones of medical ozon. 15 th Ozone World Congress of the International Ozone Association. September 2001, London, England.

70. Pryor WA, Squadrito GL, Friedman M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity: The role of lipid ozonation products. *Free Radic Biol Med* 1995; 19: 935-941.
71. Uppu RM, Pryor WA. The reactions of ozone with proteins and unsaturated fatty acids in reverse micelles. *Chem Res Toxicol* 1994; 7: 47-55.
72. Hernandez FA. To what extent does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance of oxidative stress. *Arch Med Res* 2007; 38: 571-578.
73. Bras G, Bochenska O, Rapala-Kozik M, Guevara-Lora I, Faussner A, Kamysz W, Kozik A. Release of biologically active kinin peptides, Met-Lys-bradykinin and Leu-Met-Lys-bradykinin from humankininogens by two major secreted aspartic proteases of *Candida parapsilosis*. *Peptides* 2000; 9: 271-276.
74. Bocci V, Aldinucci C, Bianchi L. The use of hydrogen peroxide as a medical drug. *Riv Ital Ossigeno Ozonoterapia* 2005; 4: 30-39.
75. Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 1994; 234: 279-93.
76. Mendiratta S, Qu Z-C, May JM. Erythrocyte ascorbate recycling: antioxidant effects in blood. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 789-797.
77. Antunes F, Cadenas E. Estimation of H₂O₂ gradients across biomembranes. *FEBS Lett* 2000; 475: 121-126.
78. Dianzani MU. 4-Hydroxynonenal and cell signalling. *Free Radic Res* 1998; 28: 553-560.
79. Snyder SH, Baranano DE. Heme oxygenase: a font of multiple messengers. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25: 294-298.

80. Bocci V. Ozone. A New Medical Drug. Springer 2005, Dordrecht, Netherlands.
81. Bocci V, Luzzi E, Conradeschi F, Paulescu L, Rossi R, Cardaioli E, et al. Studies on the biological effects of ozone. 4. Cytokine production and glutathion levels in erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents* 1993; 7: 133-138.
82. Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediat Inflamm* 2000; 9: 271-276.
83. Frehm EJ, Bonaventura J, Gow AJ. S-nitrosohemoglobin: An allosteric mediator of NO group function in mammalian vasculature. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 442-453.
84. Bocci V, Valacchi G, Rossi R, Giustarini D, Paccagnini E, Pucci AM, et al. Studies on the biological effects of ozone: 9. Effects of ozone on human platelets. *Platelets*. 1999; 10: 110-116.
85. Tylicki L, Lizakowski S, Biedunkiewicz B, Skibowska A, Neweglowski T, Chamienia A, et al. Platelet function unaffected by ozonated autohaemotherapy in chronically haemodialysed patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 619-622.
86. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone: 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica* 1990; 75: 510-515.
87. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F. Studies on the biological effects of ozone: 5. Evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autohaemotherapy. *Biotherapy* 1994;7: 83–90.
88. Cross CE, Reznick AZ, Packer L, Davis PA, Suzuki YJ, Halliwell B. Oxidative damage to human plasma proteins by ozone. *Free Radic Res Commun* 1992; 15: 347-352.

89. Goldstein BD, Balchum OJ. Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126: 356-358.
90. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Aldinucci C, Silvestri S, Paccagnini E, et al. Studies on the biological effects of ozone: 7. Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone. *J Biol Regulat Homeost Agents* 1998; 12: 67-75.
91. Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma? *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 216: 493-504.
92. Schulz S. Ein neues Tiermodell zur integralen Messung von Heilvorgängen bei kleinen Labortieren am Beispiel von ozoniertem Olivenöl [A new animal model for the integral measurement of healing processes in small laboratory animals with ozonized olive oil as example]. *Dtsch Tierärztl Wochenschr/Ger Vet Med Weekly* 1981; 88: 60-64.
93. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, Park YM. Therapeutic Effects of Topical Application of Ozone on Acute Cutaneous Wound Healing *J Korean Med Sci* 2009; 24: 368-374.
94. Valacchi G, Pagnin E, Corbacho AM. In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 673–681.
95. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol* 2005; 153:1096-1100.
96. Valacchi G, van der Vliet A, Schock BC, Okamoto T, Obermuller-Jevic U, et al. Ozone exposure activates oxidative stress responses in murine skin. *Toxicology* 2002; 179: 163–170.
97. Özler M, Öter Ş, Korkmaz A. Ozon Gazının Tıbbi Amaçlı Kullanılması. *TAF Prev Med Bull* 2009; 8: 59-64.

98. Gracer RI, Bocci V. Can the combination of localized “proliferative therapy” with “minor ozonated autohemotherapy” restore the natural healing process? *Med Hypotheses* 2005; 65: 752-759.
99. Dolphin S, Walker M. Healing accelerated by ionozone therapy. *Physiotherapy* 1979; 65: 81-82.
100. Turcic J, Hancevic J, Antoljack T, Zic R, Alfrevic I. Effects of ozone on how well split-thickness skin grafts according to Thiersch take in war wounds. Results of prospective study. *Langenbecks Arch Chir* 1995; 380: 144-148.
101. Lim Y, Phung AD, Corbacho AM, Aung HH, Maioli E, Reznick AZ, et al. Modulation of cutaneous wound healing by ozone: Differences between young and aged mice. *Toxicol Lett* 2006;160:127-134.
102. Polosa R, Sapsford RJ, Dokic D, Cacciola RR, Prosperini G, Devalia JL, et al. Induction of the epidermal growth factor receptor and its ligands in nasal epithelium by ozone. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 120-126.
103. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Fanetti G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. *Mediators Inflamm* 1998; 7: 313-317.
104. Margalit M, Attias E, Attias D, Zimran A, Matzner Y. Effect of ozone on neutrophil function in vitro. *Clin Lab Haematol* 2001; 23: 243-247.
105. Jordan L, Beaver K, Foy S. Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: Is there an evidence base for practice? *Eur J Oncol Nurs* 2002; 6: 220-227.
106. Akkus I, Kalak S, Vural H. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chem Acta* 1996; 344: 221–227.

107. Atalay M, Laaksonen DE, Niskanen L. Altered antioxidant enzyme defenses in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise-induced oxidative stress. *Acta Physiol Scand* 1997; 161: 195–201.
108. Al-Dalain SM, Martinez G, Candelario-Jalil E, Menendez S, Re L, Giuliani A, et al. Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats. *Pharmacol Res* 2001; 44: 391–396.
109. Martí'nez G, Al-Dalain SM, Mene'ndez S, Giuliani A, Leo'n OS. Ozone treatment reduces blood oxidative stress and pancreas damage in streptozotocin induced diabetes model in rats. *Acta Farmaceutica Bonaerense* 2005; 24: 491–497.
110. Martí'nez-Sa'nchez G, Al-Dalain SM, Mene'ndez S, Re L, Giuliani A, Candelario- Jalil E, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol* 2005; 523: 151–161.
111. Tylicki L, Niew GT, Biedunkiewicz B, Burakowski S, Rutkowski B. Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialysed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs-pilot study. *Int J Artif Organs* 2001; 24: 79–82.
112. Clavo B, Perez JL, Lopez L, Suarez G, Lloret M, Rodriguez V, et al. Effect of ozone therapy on muscle oxygenation. *J Altern Compl Med* 2003; 9: 251–256.
113. Biedunkiewicz B, Tylicki L, Niewegloski T, Burakowski S, Rutkowski B. Clinical efficacy of ozonated autohemotherapy in hemodialyzed patients with intermittent claudication: an oxygen-controlled study. *Int J Artif Organs* 2004; 27: 29–34.
114. De Monte A, van der Zee H, Bocci V. Major ozonated autohemotherapy in chronic limb ischemia with ulcerations. *J Alt Compl Med* 2005; 11: 363–367.

115. Sharma M, Hudson JB. Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. *Am J Infect Control* 2008; 36: 559-563.
116. Kayahan, M. ve Tekin, A. Zeytinyağı Üretim Teknolojisi. Ankara: 1. Baskı, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası. Kitaplar Serisi: 15, 2006.
117. Khouri RK, Angel MF, Edstrom LE. Standardizing the dorsal rat flap. *Surg Forum* 1986; 37: 590-594.
118. Russel RC, Roth AC, Kucan JO, Zook EG. Reperfusion injury and oxygen free radicals. *J Reconstr Microsurg* 1989; 5: 79-84.
119. Stewart RJ, Moore T, Bennett B, Easton M. Effect of free radical scavengers and hyperbaric oxygen on random pattern skin flaps. *Arch Surg* 1994; 129: 982-988.
120. Latifoğlu O, Atabay K, Çelebi C, Çenetoğlu S, Baran N.K, Nikotin etkisi altındaki deri fleplerinin yaşayan uzunluğuna nifedipinin etkisinin araştırılması. *Türk Plastik Cerrahi Dergisi* 1995; 3: 144-151.
121. Zaccaria A, Weinzweig N, Yoshitake M, Matsuda T, Cohen M. Vitamin C reduces ischemia – reperfusion injury in rat epigastric island skin flap model. *Ann Plas Surg* 1994; 33: 620-623.
122. Axfort – Gately RA, Wilson GJ. Myocardial infarct size reduction by single high dose repeated log dose vitamin E supplementantation in rabbits. *Can J Cardiol* 1993; 9: 94-98.
123. Manson PN, Anthenelli RM, İm MJ. The role of oxygen radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198: 87-90.
124. Angel MF, Haddad J, Abramson J. Acid free radical scavenger reduces hematoma induced necrosis in rodents. *Otolaryn. Head and Neck Surg* 1987; 96: 96.

125. Karacaoğlu N, Akbas H, Effect of parenteral pentoxiphylline and topical nitroglycerine on skin flap survival. *Otolary. Head and Neck Surg* 1999; 120: 272.
126. Nakatsuka T, Pang CY, Neligan P. Effect of glucocorticoid treatment on skin capillary blood flow and viability in cutaneous and myocutaneous flaps in the pig. *Plas Recon Surg* 1985; 76: 374.
127. Foster BC, Arnason JT, Briggs CJ. Natural Health Products and Drug Disposition. *Annu RevPharmacol Toxicol* 2004.
128. Russell RC, Roth AC, Kucan JO, Zook EG. Modulating angiogenesis: the yin and the yang in ginseng. *Circulation* 2004; 110: 1219-1225.
129. Sato K, Mochizuki M, Saiki I, Yoo YC, Samukawa K, Azuma I. Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of *Panax ginseng*, ginsenoside-Rb2. *Biol Pharm Bull* 1994; 17: 635-639.
130. Morisaki N, Watanabe S, Tezuka M, Zenibayashi M, Shiina R, Koyama N, et al. Mechanism of angiogenic effects of saponin from ginseng *Radix rubra* in human umbilical vein endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1995; 115: 1188-1193.
131. Cheon YW, Tark KC, Kim YW. Better survival of random pattern skin flaps through the use of epigallocatechin gallate. *Dermatol Surg* 2012; 38: 1835-1842.

6. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ ve Bursa'da tamamladıktan sonra 2002 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım. 2008 yılında Tıp Fakültesi'nden mezun olduktan sonra 2 yıl Çorum Devlet Hastanesi'nde mecburi hizmet yaptım. 2010 yılı İlkbahar Dönemi Nisan TUS sınavıyla halen çalışmakta olduğum Fırat Üniversitesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi doktor olarak göreve başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim.