

T.C.
Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi
Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

**VARİS ETİYOPATOGENEZİNDE LÖKOSİT
AKTİVASYONU İLE APOPTOZİSİN İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. NAİM BORAN TÜMER

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. ERKAN İRİZ

Ankara
Kasım 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan
“Varis Etiyopatogeneğinde Lökosit Aktivasyonu ile Apoptozisin İlişkisi” başlıklı çalışma
aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: / /2010

Prof. Dr. Levent GÖKGÖZ

Kalp Damar Cerrahisi

Anabilim Dalı Başkanı

ÜYE

ÜYE

Kalp Damar Cerrahisi

Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Kalp Damar Cerrahisi

Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

KISALTMALAR:

- KYY: Kronik Venöz Yetmezlik
- PHÖ: Programlı Hücre Ölümü
- PARP: Poli ADP Polimeraz
- TNF-r: Tümör Nekrotizan Faktör-Reseptörü
- VCI: Vena Cava Inferior
- VSM: Vena Safena Magna
- VSP: Vena Safena Parva
- CEAP: Klinik, Etiyolojik, Anatomik, Patofizyolojik
- CE: Caenorhabditis Elegans
- CED: Caenorhabditis Elegans Death
- UVR: Ultraviole Radyasyon
- IR: İyonizan Radyasyon
- BimL: bcl-2 aktivatör protein
- PUMA: BH3 proteini
- ICE: İnterlökin 1 Beta dönüştürücü enzim
- TGF-B: Transforming Büyüme Faktörü- Beta
- IAP: Apoptozis inhibitör protein
- FADD: Ölüm domaini olan Fas adaptör protein
- FLICE: FADD – ICE benzeri inhibitör protein
- FLIP: FADD benzeri inhibitör protein
- NK: Natural Killer
- TRAIL: TNF ilişkili apoptozis indükleyici ligand
- DISC: Ölüm indükleyici sinyal kompleksi
- CTL: Sitotoksik T-Lenfosit

- APAF-I: Apoptozis Proteaz aktivator faktör-I
- AIF: Apoptozis indükleyici faktör

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	i
Kısaltmalar	ii
İçindekiler	iv
Tablolar, Grafikler ve Resimler Listesi	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Venöz Sistem	5
2.1.1 Venöz Sistemin Gelişimi	5
2.1.2. Venler	6
2.1.3. IVC ve Dalları	6
2.1.4. Alt Ekstremitte Venleri	6
2.2. Venöz Sistem Anatomisi	7
2.2.1. Venöz Mikrosirkülasyon	7
2.2.2. Yüzeyel Venöz Sistem	8
2.2.3 Derin Venöz Sistem	9
2.2.4. Perforatör Venler	10

2.2.5. Venöz Sinüsler	10
2.2.6. Histogenez	11
2.3. Venöz Dolaşım ve Hemodinami	11
2.3.1. Hidrostatik ve Dinamik Basınçların İlişkisi	13
2.4. Kronik Venöz Yetmezlik Etiyolojisi	14
2.4.1. Primer Venöz Yetmezlik	14
2.4.2. Sekonder Venöz Yetmezlik	14
2.4.3. CEAP Sınıflandırması	19
2.4.3.1. C (Klinik) Sınıflandırması	19
2.4.3.2. E (Etiyolojik) Sınıflandırması	19
2.4.3.3. A (Anatomik) Sınıflandırması	19
2.4.3.4. P (Patolojik) Sınıflandırması	21
2.4.4. Tarihi Teoriler	21
2.5. Apoptozis	24
2.5.1. Kaspazlar	27
2.5.2. Aktivasyon	31
2.5.3. Kaspaz İnhibisyonu	32
2.5.4. Apoptozis Mekanizması	33

2.5.5. Hücre Dışından (Ekstrinsik) Kaynaklanan Sinyaller	33
2.5.6. Hücre İçinden (İntrinsik) Kaynaklanan Sinyaller	36
2.5.7. Hastalıklarda Apoptozis	39
2.5.8. Apoptozisin Tedaviye Etkisi	40
3. MATERYAL VE METOD	43
3.1. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇLAR	79
7. KAYNAKLAR	81
8. ÖZET	107
9. SUMMARY	109
10. EKLER	111
10.1 Etik Kurul Kararı	111
11. ÖZGEÇMİŞ	113

Tablolar Listesi

	Sayfa No
Tablo-2.1.: Primer ve Sekonder Venöz Yetmezlik	15
Tablo-2.2.: Apoptozisi Etkileyen Genler	40
Tablo-2.3.: Apoptozisle İlgili Hastalıklar	41
Tablo-2.4.: Apoptozise Yönelik Tedavi Örnekleri	42
Tablo-4.1.: Demografik Parametreler	51
Tablo-4.2.: Venöz Basınç Değerleri	52
Tablo-4.3.: CEAP Sınıflandırması	52
Tablo-4.4.: Laboratuvar Sonuçları	53
Tablo-4.5.: Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 Değerleri	54
Tablo-4.6.: Kan Sayımı ve Lökosit Değerleri	55
Tablo-4.7.: Kan Sayımı ve Lökosit Değerleri	56
Tablo-4.8.: Lökosit Değerleri	57

Grafikler ve Resimler Listesi

	Sayfa No
Resim-2.1.: Apoptozis Mekanizması	30
Resim-2.2.: Ekstrinsik ve İntersik Apoptozis Yolları	39

1. GİRİŞ:

Venöz yetmezlik (Varis) günümüzde bütün dünyada sık karşılaşılan bir hastalıktır. Toplumdaki bireylerin bir çoğunda çeşitli derecelerde varis hastalığı ve bununla ilişkili şikayetler bulunmaktadır. Varisle ilgili elimizdeki ilk veriler M.Ö. 1550 yıllarındaki Ebers Papirüslerine dayanır¹. Hipokrat venöz ülserler ile ilgili çalışmalar yapmıştır². Yüzyıllardır varlığı bilinen ve hakkında çalışmalar yapılan bir konu olmasına rağmen, varislerle ilgili bilinmeyen veya ispatlanamamış bir çok nokta vardır.

Amerika Birleşik Devletlerindeki yetişkinlerin yaklaşık %35' inde Kronik Venöz Yetmezlik(KVY) ile ilişkili semptomlar bulunmaktadır. 65 yaş üstü bireylerin %4' ünde Kronik Venöz Yetmezliğe bağlı venöz ülserler bulunmaktadır.³⁻⁴. KVY toplumun büyük bir kesimini ilgilendirmektedir ve devletlerin sağlık harcamalarında ciddi bir pay oluşturmaktadır. Bu kadar önemli ve yaygın bir sorun olmasına rağmen hakkında bir çok bilinmeyen nokta bulunmaktadır.

Venler arterlerden farklı olarak daha ince bir duvar yapısına sahiptirler. Daha düşük kan basıncı ortamında çalışmaktadırlar. Kas kasılmalarının ve yapılarındaki kapakların yardımıyla ekstremitelerden kanın kalbe dönmesini sağlamaktadırlar. Kapak yapılarında hasar veya bozukluk olması durumunda kalbe giden kanın bir miktarı venlerin içinde göllenir. Bu göllenme sonucunda ven içi basıncında artış meydana gelir. Basınç artışına bağlı variköz venler, ödem, ağrı ve cilt değişiklikleri meydana gelir ki bu bulguların genel adı Kronik Venöz

Yetmezlik (KVY) olarak adlandırılır.⁵ Primer Kapak bozuklukları tüm venlerde görülebilir. Post Trombotik Sendrom veya ven trombozuna bağlı obstrüksiyonlar da venöz basınç artışı ve sonucunda KVY' ye yol açabilir.

Yaş, cinsiyet, hamilelik, kilo, boy, bağırsak alışkanlıkları, postür, ven trombozu ve genetik faktörler KVY' nin ortaya çıkışında predispozan faktörlerdir. Bunlardan ven trombozu ve genetik faktörler ile ilgili kesinleşmiş bilgiler yoktur.⁶ Özellikle genetik faktörlerle ilgili yapılmış çok az çalışma vardır.⁷⁻⁸ Ven trombozu ise enflamatuvar cevabı arttırarak ven duvarında fibrozis ve kapak hasarı meydana getirerek KVY' ye sebep olabilmektedir⁹⁻¹⁰.

KVY ortaya çıkışı ile ilgili tarih boyunca çeşitli teoriler ileri sürülse de bunlar zaman içinde çürütülmüştür. 1917 yılında Homans¹¹ Venöz staz teorisini ileri sürmüş ve venöz yetmezliği staza ve staz sonucu bölgede ortaya çıkan hipoksiye bağlamıştır. Daha sonra Pratt¹² Arteriovenöz Fistül teorisini ortaya çıkartmış ve venlerle arterler arasında bağlantıların olduğunu ve bu bağlantılara bağlı venöz akımın arttığını ve buna bağlı da oksijenlenmiş kanın dermal pleksuslara yeterince ulaşmadığını ve sonucunda bu alanlarda iskemi ve venöz ülserlerin ortaya çıktığını ileri sürmüştür. Browse ve Burnand¹³. venöz hipertansiyon sonucunda kapillerler de genişleme olduğunu ve buna bağlı hücreler arası açıklığın artarak buradan ekstraselüler alana fibrin kuffların çıkarak oksijen difüzyonunu engelleyen bir bariyer olarak çalıştığını öne sürmüşlerdir¹³. Bu teorilerin hiçbiri tamamen kanıtlanamamıştır. Coleridge Smith¹⁴ ve arkadaşları lökosit tuzak teorisini öne sürmüşlerdir. Bu teoride venöz hipertansiyona bağlı nötrofillerin venöz mikrosirkülasyonda biriktiği ve buna bağlı göllenen kan ve

hipoksiye sekonder olarak nötrofillerin aktive olduğu ileri sür÷lmüştür.. Bu aktivasyon sonucunda toksik metabolitler degranüle olur ve damar duvarında hücre hasarı meydana getirmektedir. Nötrofillerin damarda birikerek damarda tıkanıklık yarattığı gösterilememiş olsa da lökosit aktivasyonunun varis patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir.

Ven duvarında 3 kas tabakası bulunmaktadır. Media tabakasının iç bölümünde longitudinal ve dış bölümünde sirküler düz kas tabakası vardır. En dıştaki adventisya tabakasında ise longitudinal ama daha gevşek bir kas tabakası vardır.¹⁵⁻¹⁶ Bu tabakalar düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Normalde media tabakasındaki düz kas hücreleri düzenli ve yan yana yapıdadır. Variköz venlerde ise bu tabaka da kollajen depozitleri vardır ve düz kas hücrelerinin düzenli yerleşimi bozulmuştur.¹⁷⁻¹⁸ Kasılma özelliğı olan bu düz kas hücreleri variköz venlerde sekretuar fenotipe dediferansiye olurlar. Bu değişimin sebebi tam olarak bilinmemektedir. Ascher bu değişimi programlı hücre ölümünün (apopitozis) (PHÖ) bozulmasına bağlamıştır.¹⁹⁻²⁰ Proapopitotik mediatörlerden bax ve PARP adventisyada azaldığını gösterebilirler bu durumu media veya intima da ortaya koyamamışlardır.

Apoptozis programlı hücre ölümü anlamına gelmektedir. Bazı araştırmacılar damar duvarındaki zayıflığı apoptozisin bozulmasına bağlamışlardır.²¹⁻²² Apoptozisin bozulmasına bağlı olarak zayıf hücrelerin yerine sağlıklı hücreler gelememektedir ve sonucunda zayıf hücreler damar duvarında sayıca artmakta ve damar duvarı zayıflamaktadır.²³ Damar genişlemeye başlamakta ve kanın göllenmesi sonucu venöz basınç artmaktadır. Apoptozis

hücre içi sistein proteazların (kaspaz) çeşitli uyarılar ile aktive olması sonucunda başlar. Bu İntrensek ve Ekstrensek adı verilen 2 yolla oluşmaktadır²¹ İntrensek (mitokondrial yol veya tip I) yolda Bax ve bcl-2 promotor proteinler^{23,24,25,26,27} ve kaspazlar, ekstrensek yolda ise (transmembran yol veya tip2) fas ve TNF-r gibi proteinler rol oynamaktadır.^{24,25,26,27,28} Bcl-2, bcl-xl ve bcl-w antiapopitotik etki gösterirken, bax, bak, bid ve bad gibi proteinler proapopitotik etki gösteriler.²⁸ Bu proteinlerin etkileri hücre hasarı ile ilişkili olarak değişmektedir.²⁸ Hücre hasarı olduğunda proapopitotik proteinler devreye girmekte ve hasarlı hücrenin programlı ölümünü başlatmaktadırlar. Bu döngü bozulduğunda ise hasarlı hücrenin ölümü gerçekleşmemekte ve yer aldığı yapı da zayıflamaktadır.

Günümüzde üzerinde titizlikle durulan apoptozisin varis etiopatogenezinde önemli bir rolü olduğunu düşünmekteyiz. Bununla birlikte yapısı bozulmuş olan ven bölgelerinde enflamasyona cevap olarak gelişen lökosit aktivasyonu ile ilişkisinin kurulması gerektiğini düşünmekteyiz. Bu çalışmamızın amacı olarak bu iki değerli verinin birbirleriyle olan ilişkilerini ve etkileşimlerini araştırmayı amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1. VENÖZ SİSTEM

Kronik Venöz Yetmezlik (KVY) hastalığını anlayabilmek için venöz sistemin gelişimi ve anatomisi iyi bilmek gerekir. Son 10 yılda radyolojik görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde venöz sistemle ilgili daha detaylı bilgi sahibi olmak mümkün olmuştur^{29,30,31}.

2.1.1. Venöz Sistemin Gelişimi:

Primer vasküler yapılar gestasyonun 3. haftasında gelişmeye başlar. Fötal dönemdeki vasküler yapıların bu gelişimi ilk olarak 1922 yılında Woolard tarafından tanımlanmıştır³².

Bu dönemdeki gelişim 3 evreye ayrılır:

1.EVRE: Undiferansiye Evresi: Sadece kapiller ağ mevcuttur

2.EVRE: Retiform Evresi: Pleksiform yapılar ortaya çıkmaya başlar

3.EVRE: Matürasyon Evresi: Geniş kanallar, arter ve venler ortaya çıkar.

Venöz sistem ilk olarak gövde de ortaya çıkar. Sol sistem gerilerken sağ sistem gelişimi devam ettirir ve superior ve inferior vena cava lar oluşur³³.

2.1.2. Venler:

Fötal dönemde kan kalbe sinus venozus yoluyla döner³⁴. Kan kranialden kaudale doğru bilateral anterior kardinal venler, kaudalden kraniale doğru bilateral posterior kardinal venler aracılığıyla kalbe döner. Anterior ve posterior kardinal venler birleşerek kommon kardinal veni oluştururlar. Kommon Kardinal venler umblikal ven ve vitellin venden kanı alarak sağ ve sol olarak sinus venozusa dökülürler. Anterior kardinal venler sağ ve sol anterior kardinal venleri birleşir ve daha sonra sol brakiosefalik ven adını alırlar. Sol anterior kardinal venin kaudal kısmı regrese olur ama tam olarak kaybolmaz ve ilerde sol atriumun oblik venini (Marshall Veni) ve koroner sinusu oluşturur.

2.1.3. IVC ve Dalları:

Posterior kardinal venler pelvik düzeyde iliak anastomozu oluştururlar. Bu venlerin bir çoğu daha sonra kaybolur. Üst bölümdekiler daha sonra birleşerek Azigos akımını oluşturur. Kaudal taraftakiler cava, eksternal ve internal iliakları oluşturur. Sol taraftaki venler regrese olurken sağ taraf venleri VCI oluşturur.

2.1.4. Alt Ekstremité Venleri:

Bacakların fötal gelişimi başladıktan sonra ayaklara doğru aksiyel ve santral arterler gelişir. Bacaklardaki kan ilk başta marjinal sinusa dökülür. Bacaklardaki büyüme devam ettikçe kan venöz pleksuslara dökülür. Büyüme

devam ettikçe kan derin sisteme doğru yönelir. Venler bu arterlere paralel olarak gelişimine başlar. Ven kapakları bu dönemde ortaya çıkar. Embriyonik venlerin (Siyatik ven, lateral marjinal ven,vb.) çoğu zamanla gerilese de bu venler venöz malformasyonu olan kişilerde sıkça görülebilir^{35, 36, 37, 38}.

2.2. VENÖZ SİSTEM ANATOMİSİ:

Alt ekstremité venleri yüzeysel, derin ve perforatör venler olmak üzere 3' e ayrılır. Perforatör venler derin ve yüzeysel sistemi birbirine bağlar. Perforatör venler derin ve yüzeysel sistemi birbirinden ayıran derin fasyayı delerek alttaki derin sisteme drene olurlar. Komünikatör venler ise aynı sistem içerisindeki venleri birbirlerine bağlarlar. Yapılan Doppler görüntülemelerde safenöz kompartmanı yüzeysel kompartmandan ayıran safenöz fasyanın varlığı ortaya konulmuştur^{29,30,39}. Safenöz fasya safen veni diğer venlerden ayırır. Alt ekstremité venleri 2 parçadan oluşan kapak yapılarına sahiptir ve bu kapaklar kanın geri kaçmasını önleyerek kanın kalbe doğru yönlendirilmesinde çok önemli bir rol oynarlar.

2.2.1. Kutanöz Mikrosirkülasyon:

Arterlerin kutanöz dalları retiküler ve subpapiller dermal pleksusları oluştururlar⁴⁰. Ciltteki kan venüller aracılığıyla subpapiller venöz pleksuslara

boşalır. Kan buradan derin retiküler venöz pleksuslara drene olur. Daha sonra küçük kapaklı venler aracılığıyla yüzeysel venöz sisteme ulaşır.

2.2.2. Yüzeysel Venöz Sistem:

Vena Safena Magna (VSM) ve Vena Safena Parva (VSP) ve dallarından oluşan sisteme yüzeysel venöz sistem denir. Cilt ve ciltaltından aldığı kanı derin venöz sisteme iletir^{40,41,42,43}. Ayak bölgesindeki kan dorsal ve plantar venöz ağ ile medial ve lateral marjinal venler aracılığıyla VSM ve VSP' ye dökülür. VSM ayakbileğinin medialinde malleolün önünden başlayarak dizin medialine doğru tibiayı çaprazlar. Diz üstünde devam ederek femoral vene drene olur. Popülasyonun %25' inde baldır bölgesinde çift VSM bulunur ve posterior aksesuar VSM Leonardo veni adını alır ve medial malleolün posteriorundan başlayarak diz distalinde VSM' ye dökülür³⁴. VSM femoral bölgede inguinal venlerle birlikte safenofemoral bileşkede femoral vene açılırlar.

VSP aşıl tendonunun lateralinden başlar ve gastroknemiusun 2 başı arasından ilerleyerek popliteal vene drene olur⁴³. Nadirde olsa VSP popliteal vene drene olmayıp femoral veya VSM' ye drene olabilir. İntersafenöz ven veya diğer adıyla Giacomini veni VSP ile VSM' yi uyluk bölgesinde birbirine bağlar.

Venöz sistemde bulunan kapaklar sayesinde kanın geriye kaçışı önlenir ve kan kalbe doğru yönlendirilir. VSM' de en az 6 en çok 14- 25 arasında kapak bulunur. Tüm VSM' lerin %85' inde safenofemoral bileşkenin 2- 3 cm distalinde bir kapak bulunur⁴⁴. Kapakların sıklığı ayağa doğru gidildikçe artar. VSP' de ise

4- 13 arasında kapak bulunur. En son kapak VSP' nin bitim yerine yakın yerleşimlidir.

2.2.3. Derin Venöz Sistem:

Venöz kanı ayak parmaklarından ve metatarslardan derin venöz ark toplar. Kan medial ve lateral plantar venlere ve oradan da posterior tibial vene drene olur. Ayağın dorsal kısmını dorsalis pedis veni ve anterior tibial ven drene eder. Posterior tibial ven ise diz altında VSM ile perforatörler aracılığıyla bağlanır.

Posterior, anterior ve peroneal venler birleşerek popliteal ven adını alırlar. Yukarıya devam eden popliteal ven adduktor kanalda femoral ven adını alır. Daha sonra derin femoral venle birleşerek eksternal iliak vene drene olurlar.

Derin sistemdeki kapaklar distale doğru gidildikçe sıklaşır. Popliteal vende 1- 2 kapak vardır. Derin femoral venle birleşene kadar 2 veya 3 kapak daha vardır. %90'ında bunlardan 1 tanesi hemen birleşim yerinin distalinde yer alır⁴⁵. Kommon femoral vende genellikle 1 adet kapak bulunur. Eksternal iliak vende 1 kapak vardır veya %37'sinde hiç kapak yoktur. Kommon iliak ven ve vena cavalarda kapak yoktur.

2.2.4. Perforatör Venler:

Alt ekstremitede 150' den fazla perforatör ven bulunmaktadır^{46,47}. Medial perforatörler klinik açıdan daha önemlidirler. Medial perforatörler posterior ve paratibial perforatörler olarak ikiye ayrılırlar. Posterior tibial perforatörler (Cocket I- III) posterior aksesuar VSM ile posterior tibial veni birbirine bağlarlar. Paratibial perforatörler ise VSM' yi posterior tibial vene drene ederler. Bunların dışında anterior, lateral medial, lateral gastrekneumus, intergemellar ve aşıl perforatörleri de bulunur.

2.2.5. Venöz Sinüsler:

Venöz sinuslar baldır bölgesinde yer alan ince duvarlı ve geniş venlerdir. Bunlar kas içinde yer alırlar ve kaslarla beraber ritmik olarak kasılarak baldır kas pompasını (Periferik Kalp) oluşturarak kanı kalbe yönlendirirler. Soleus kasında yaklaşık 1- 18 adet arasında venöz sinus bulunur. Gastrokneumus kasında sayıları daha azdır. Soleus kasındaki venöz sinuslar soleus veni aracılığıyla posterior tibial vene ve peroneal vene drene olurlar. Venöz sinuslerde kapak olmamasına rağmen intramusküler venlerde ve musküler venlerde kapak vardır.¹⁷⁹

2.2.6. Histogenez:

Ven duvarı 3 katmandan oluşur. Bunlar intima, media ve adventisya tabakalarıdır⁴⁹. İntima, bağ dokusu üzerindeki tek katlı endotelial hücrelerden oluşur. Ven içindeki kapaklar intima tabakasının devamıdır. Media tabakası, düz kas hücreleri ve bağ dokusundan oluşur. Yüzeyel venöz yapılarıdaki media tabakası derin venöz sisteme göre daha kalındır. Bu yüzeyel venlerdeki variköz oluşumları önlemeye yardımcı olur ve kasılarak kanın yönlendirilmesine katkıda bulunur. VSM' nin dallarındaki media tabakası daha incedir ve bu yüzden variköz oluşumlar daha sık ortaya çıkar. Femoral ven, iliak ven, aksiller ven, subklaviyen ve innominate ven gibi geniş venlerdeki media tabakasında düz kas hücreleri azdır. Vena cavalarda düz kas hücresi hiç yoktur³⁵. Adventisya tabakası gevşek bağ dokusundan oluşur. Lenfatikleri, vasa vazorumları ve adrenerjik sinirleri içerir.

2.3. VENÖZ DOLAŞIM VE HEMODİNAMİ:

Venöz sistemin asıl amacı, kanı tekrar oksijenlenmesi için kalbe geri götürmektir. Normal ve anormal venöz fonksiyonları iyi anlayabilmek için basınç ve volüm dengelerini iyi bilmek gerekir.

Kardiyak outputun damarlardaki vazokonstriksiyona bağlı olduğu düşünülmüşse de dolaşımın prekapiller rezistansa bağlı olarak kontrol edildiği

kanıtlanmıştır^{49,50}. Aktivite ve postüre bağlı değişmekle birlikte, istirahat halindeki bir insanın kanının %60- 80' i venöz sistemde bulunur. Bu kanın %25- 50' si prekapiller venüllerde ve toplandıkları sistemlerde yer alır. Geri kalanın %25' i ise dalakta bulunur⁴⁹.

Efektif bir venöz dönüş için santral pompa, basınç farkı, periferik venöz pompa ve venöz kapakların uyumlu çalışması şarttır. Supin pozisyonundayken kapiller yatağın venöz ucunda basınç 12- 18 mmHg^{51,52,53}. Arteriyel ve venöz sistem üzerine otururken ve ayaktayken yerçekimi de etki eder. Ayrıca inspiyum sırasında intraabdominal basıncın yükselmesi sonucunda alt ekstremiteden kanın sağ atriyumuna akışını azaltır⁵⁴. Kronik intraabdominal basınç yüksekliği (obesite, asit, vb.) olanlarda venöz dönüş azalır ve IVC' da kollaps meydana gelebilir. Normal şartlarda kapiller venöz uçtaki 12- 18 mmHg olan basınç geniş venlerde 5 mmHg' ya kadar düşer⁵⁵.

Venöz dönüş bunların dışında kapakların ve baldır kaslarının pompa görevi görmesi ile de kalbe yönlendirilir. Kapaklar kanın geriye kaçışını önler. Kapak bozukluğuna bağlı semptomlar tam olarak anlaşılamamış olsa da genel kabul kapak bozukluğu veya reflüsü ne kadar fazlaysa semptomlar da o kadar ciddi olmaktadır^{56,57,58}.

2.3.1. Hidrostatik ve Dinamik Basınçların İlişkisi:

Lokal venöz basınç otururken ve ayaktaiken pozisyona göre değişse de venöz akım basınç gradientine göre hareket eder. Periferik kas pompası kanı pompalamak için yeterli olsada sadece kas kasılması sırasında çalışır. Hareket azaldığında direnç artar ve yerçekiminin de etkisiyle hidrostatik basınç artar. Hidrostatik basınç artışına maruz kalan kapiller yatakta filtrasyon bozulur ve ekstraselüler alana geçiş olur ve bu da kendini ödem kliniği olarak gösterir. Hidrostatik basıncın başlangıç noktası sağ atriyum kabul edilir ve bu da yaklaşık 4. Costosternal bileşkeye denk gelir.

End egzersiz venöz basıncın 30mmHg' nın üzerinde olmasına venöz hipertansiyon denir⁵⁸. Venöz hipertansiyonun ortaya çıkmasındaki en önemli sebep valvüler yetmezliğe bağlı reflüdür^{51,56,59}.

Total kan volümünün büyük bir kısmı venöz sistemdedir. Sadece ayağa kalkma ile alt ekstremitedeki kan volümünde %10 artış meydana gelir⁶⁰. Bütün bunlara rağmen venöz sistem normalse hidrostatik basıncın etkisi yok sayılabilecek kadar azdır.

Venöz sistemin önemli bir kısmı da refleks uyarılarla kontrol edilir. Sempatik sinirler, baroreseptörler ve kemoreseptörler aracılığıyla sirkülasyonu

kontrol edilir. Akım çoğunlukla küçük arteriyel yatak direncine bağı kontrol edilsede, kapasite venöz dilatasyon veya venokonstriksiyonla ayarlanır.

2.4. KRONİK VENÖZ YETMEZLİK ETİYOLOJİSİ

2.4.1. Primer Venöz Yetmezlik:

Primer venöz yetmezlik, ven duvar ve kapaklarının dejenerasyonu anlamına gelir. Genellikle alt ekstremité yüzeyel venlerinde hafif reflüyle başlar⁶¹. Hastalık yüzeyelden perforatörlere ve oradan da derin sisteme doğru ilerler.

2.4.2. Sekonder Venöz Yetmezlik:

Primer venöz yetmezliğinin aksine (Tablo-2.1.) post-trombotik sekonder yetmezlik edinilmiş enflamatuvar kaynaklı venöz problemleri ve özellikle obstrüktif kökenli venöz yetmezliği ifade eder⁶². Genellikle Derin ven trombozuna bağı ortaya çıkarlar. Primer venöz yetmezliğe nazaran daha çok derin venöz sistem etkilenmiştir.

Primer Venöz Yetmezlik	Sekonder Venöz Yetmezlik
- Dejeneratif - Sadece Reflü - İntima Korunur - Atrofik Kapak - Yüzeyel Ven Tutulumu - Yavaş Progres - Destek tedavisi + Cerrahi - Erken Cerrahi	- Edinsel - Obstrüksiyon + Reflü - İntima Hasarı - Dejenere Kapak - Derin Ven Tutulumu - Hızlı Progres - Destek Tedavisi + Antikoagülasyon - Komplikasyonlara yönelik cerrahi

Tablo-2.1.: Primer ve sekonder venöz yetmezlik

Kronik venöz yetmezlik (KVY), venöz hipertansiyon sonucu sıklıkla alt ekstremiteler venlerini etkiler. Hastalarda bacaklarda ağrı, ağırlık hissi, şişlik, ödem, variköz lezyonlar, deri değişiklikleri ve staza bağlı ülserlerin oluşmasına neden olmaktadır. Genel olarak estetik bir problem olarak değerlendirilse bile aslında devletlerin sağlık harcamalarında ciddi bir yer tuttuğu görülmektedir. Edinburgh çalışması variköz venlerin yetişkin toplumda, kadınlarda 3 kat daha fazla olmak üzere, %5 ile 30 arasında değiştiğini bildirmektedir⁶³. Bu çalışmada ayrıca, 1566 gönüllünün reflü için dupleks ultrason ile taranması sonucu, erkeklerde % 9.4, kadınlarda %6.6 oranında KVY tespit edilmiştir. Bu oranlar 50 yaş üzeri grupta, erkek için %21.2, kadın için %12 olmak üzere belirgin artış göstermiştir⁶⁴. Framingham çalışmasında, variköz ven insidansı yıllık erkeklerde %1.9, kadınlarda %2.9 olarak bulunmuştur⁶⁵. San Valentino vasküler taramasında, 30000 gönüllüde variköz ven prevalansı %7 , semptomatik KVY prevalansı ise %0.86 olarak bulunmuştur⁶⁶. KVY için predispozan faktörler yaş, cinsiyet , ailesinde variköz ven bulunma öyküsü , obezite , gebelik , flebit ve eski bacak

yaralanması bulunmaktadır. Bunlar haricinde hayat tarzından kaynaklanan uzun süre ayakta durma ya da uzun süre oturarak çalışmakta KVY oluşumu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Aile öyküsü ve kadın cinsiyet bunların içinde ilk sıralarda yer almaktadır^{67,68,69}. KVY' nin ve primer variköz venlerin esas nedeni olarak direkt kapakçık disfonksiyonuna bağlı olduğu düşünülmüşse de, ven duvar zayıflığına bağlı olarak gelişen ven dilatasyonu ve sonucunda gelişen kapakçık disfonksiyonuna bağlı olduğu daha çok kabul görmektedir. Birçok çalışma⁷⁰⁻⁷⁹ bu ven duvarı değişikliklerinin herhangi bir segmentte, kapak fonksiyonundan bağımsız olarak ortaya çıkabileceğini göstermiştir. KVY' li hastaların 2/3' ünde yüzeysel venöz yetmezlik mevcut iken, derin venöz yetmezlik insidansı %18.3, ikisinin birlikte görülme insidansı %16.3 'tür^{80,81}. Lapropoulos ve ark.⁸² 1000 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, yüzeysel venöz yetmezlik prevalansı %90, derin venöz yetmezlik prevalansı %30, perforan ven yetmezlik prevalansı %20 olarak bulunmuştur. Kısaca yüzeysel venlerde reflü görülme sıklığı derin venlere göre belirgin oranda fazladır. 1969 yılında Gunderson ve Haye⁸³ takip ettikleri hastalardan aldıkları özgeçmiş ile ailelerinde varis olanların daha kolay KVY olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Cornu-Thererd ve ark.⁸⁴ yaptıkları prospektif çalışmada, her iki ebeveyninde varis olan hastaların %90' ında KVY olduğunu saptamışlardır. Genetik kaynak ile ilgili yapılan tüm bu çalışmalara rağmen varislerle ilişkili bir gen veya kromozom hala saptanamamıştır. CEAP sınıflandırmasına göre, yüksek CEAP sınıfında bulunan hastaların %17 ile %54 ünde sadece yüzeysel venöz yetmezlik görülmekte iken, %80-90 ında derin ve perforan sistemlerle birliktelik mevcuttur^{85,86}. İzole derin venöz yetmezlik venöz

ülserleri bulunan hastaların yalnızca %10'ununda bulunur⁸⁷. CEAP 4 ve 6 sınıfındaki hastalarda derin ve yüzeysel venöz yetmezlik görülmesi sıklıkla karşılaşılan bir durumdur⁸⁷. KVV semptomları, basit telenjektazilerden staz ülserlerine kadar değişen geniş bir çerçevede ortaya çıkabilmektedir. KVV' de bacak ağrısı, yanma hissi, gece krampları, akşam artan bacakta ağırlık hissi, dolgunluk, ödem, hassasiyet, variköz venler ve hemosiderin birikimine bağlı hiperpigmentasyon, egzematöz dermatit, dermis – subkutanöz dokuda fibrosis şeklinde izlenen lipodermatosklerosis, çevresi dilate kapillerle yada bazen hiperpigmentasyon ile çevrili sirküler beyaz atrofi alanları (atrophy blanche), majör klinik özelliklerdir. Ödem sıklıkla ayak bileği bölgesinde görülür. Ciltaltı volüm ve basıncı arttırarak ağrıya neden olmaktadır. Dilatasyona uğramış venler hastalık ilerledikçe tortiyöz ve variköz hale gelmekte bu da tromboflebit oluşumu için zemin hazırlamaktadır.

Dilate venleri 3 grupta incelemek gerekir;

- 1. Spider venler (telenjektaziler):** Çapları 1 mm nin altında olan, kırmızı-mor renkli intradermal yerleşimli ciltten kabarık olmayan yüzeysel varisler
- 2. Retiküler venler:** Çapları 2-3mm olan mavi-yeşil renkli ve intradermal yerleşimli, ciltten hafif kabarık varisler

3. Variköz venler: Çapları 3-4mm den birkaç cm ye kadar değisebilen ciltaltı yağ dokusu yerlesimli ciltten kabarık büyük varisler

Spider ve retiküler venler kadınlarda daha sık görülür. Bunlar genellikle genetik ve hormonal kökenlidir. Ciddi ağrılara neden olmakla birlikte daha çok kozmetik bir problem olarak kabul edilirler. Bu tip varislerde genellikle ultrasonografi ile yüzeysel venlerde yetmezlik görülmemektedir. Bu tür varislerde tedavi sikleroterapidir. Transdermal lazer tedavisi ve elektrokoagülasyon gibi yöntemler skleroterapi yapılamayan lezyonlar için kullanılabilir⁹⁰. Variköz venlerde genellikle reflü saptanır. Bu reflü VSM, VSP, perforatör venler ya da derin venlerden kaynaklanabilir. Variköz venler hastaların hayat kalitelerini ciddi şekilde etkileyebilmektedir. Bacaklarda ağrı, yanma hissi, gece krampları, ödem ve hiperpigmentasyon görülebilir. Yüzeysel tromboflebit , şiddetli kanamalar ve uzun süre iyileşmeyen, nadiren de olsa amputasyona neden olabilen venöz ülserler oluşabilir^{88,89}. 1994 yılında Amerikan Venöz Forumunda ven hastalıkları ile ilgili tüm dünyada kullanılması hedeflenen bir sınıflandırma yayınlanmıştır. Bu sınıflandırmaya CEAP (C: Klinik, E: Etiyolojik, A: Anatomik, P: Patofizyolojik) ismi verilmiştir⁹¹. Bu sınıflandırma sayesinde ven bozuklukları tüm dünyada benzer şekilde kategorize edilebilmektedir.

2.4.3. CEAP Sınıflandırması

2.4.3.1. C (Klinik) Sınıflandırması:

- C0: Görünür veya palpe edilebilen venöz hastalık yok
- C1: Telenjektazi veya retiküler venler
- C2: Variköz venler
- C3: Ödem
- C4a: Pigmentasyon veya Egzema
- C4b: Lipodermatosiklerosis veya Soluk atrofi (Atrophie blanche)
- C5: İyileşmiş venöz ülser
- C6: Aktif venöz ülser
- S: Ağrı, gerginlik, cilt iritasyonu, ağırlık hissi, kas krampları, vb semptomlar
- A: Asemptomatik

2.4.3.2. Etiyolojik Sınıflandırma:

- Ec: Konjenital
- Ep: Primer
- Es: Sekonder
- En: Venöz etiyoloji yok

2.4.3.3. Anatomik Sınıflandırma:

- As: Yüzeyel Venler
 - Telenjektazi veya retiküler venler

- Diz üstü VSM
- Diz altı VSM
- VSP
- Safen dışı
- Ap: Perforatör Venler
 - Bacak Perforatörleri
 - Kalf Perforatörleri
- Ad: Derin Venler
 - İnferior vena cava
 - Common İliak Ven
 - İnternal İliak Ven
 - Eksternal İliak Ven
 - Pelvik Venler
 - Common Femoral Ven
 - Derin Femoral Ven
 - Femoral Ven
 - Popliteal Ven
 - Anterior Tibial Ven, Posterior Tibial Ven, Peroneal Ven
 - Gastroknemius ven, Soleal Ven, diğer perforatörler
- Venöz lokalizasyon belli değil

2.4.3.4. Patofizyolojik Sınıflandırma:

- Pr: Reflü
- Po: Obstrüksiyon
- Pr,o: Reflü ve obstrüksiyon
- Pn: Patofizyoloji belli değil

KVY'nin en önemli komplikasyonu olan aktif yada iyileşmiş ülserler, yetişkinlerin % 1' inde görülmesine rağmen , kişinin günlük hayatını etkileyen venöz ülserlerin, prevalansının, % 0.3 olduğu tahmin edilmektedir⁹². Kadınların %25-33' ünda ve erkek yetişkinlerin %10-20' sinde venöz yetmezlik bulunmaktadır⁹². Venöz ülserlerin oluştuktan sonra prognozu genelde kötüdür. Bu ülserlerin iyileşmesi geç olmaktadır ve iyileştikten sonrada nüks edebilmektedir⁹³. Kronik venöz ülserler tekrar edebilen karakterleriyle ve geç iyileşmeleriyle hem zaman hemde ekonomik kayıplara yol açmaktadır⁶⁷. Venöz ülserlere bağlı kişilerin günlük hayatları etkilenmekte ciddi bir işgücü kaybına neden olabilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde kronik yara bakımına harcanan para yıllık sağlık harcamalarında önemli bir yer tutmaktadır. Batı ülkelerinin sağlık harcamalarının %2' si, yine kronik yara bakımı için ayrılmaktadır^{94,95}.

2.4.4. Tarihi Teoriler:

Yıllar boyu incelenen bir konu olan KVY ile ilgili çeşitli teoriler ortaya konulmuştur;

1. **Venöz Staz Teorisi:** 1917 yılında Homans¹¹ kan akımının yavaşlamasına bağlı o bölgedeki ciltte hipoksi ve durağan kana maruz kalma sonucu venöz ülserlerin oluştuğunu ileri sürmüştür.
2. **Arteriyovenöz fistül Teorisi:** Pratt¹² yaptığı çalışmada ven ligasyonu yapılan 272 hastanın %24'ünde arteriyovenöz bağlantılar saptamıştır. Pratt'ın teorisine göre, bu bağlantılar sayesinde oksijenlenmiş kan dermal pleksuslara ulaşamamakta ve sonucunda iyi beslenemeyen ciltte yaralar ortaya çıkmaktadır. Bu hipotezi destekleyen herhangi bir çalışma yapılmamıştır.
3. **Difüzyon Blok Teorisi:** 1982 yılında Burnand ve ark.⁹⁶, venöz hipertansiyona bağlı kapillerin sayısında artış olduğunu ve KVV' nin buna bağlı ortaya çıktığını ileri sürmüştür. Daha sonra Burnand ve Browse⁹⁷ yaptıkları çalışmada geniş kapillere bağlı fibrin depozitlerinin oluştuğunu tespit etmişlerdir. Hipotezlerine göre venöz hipertansiyona bağlı genişleyen endotelden fibrinojen ekstravaze olarak damar dışına çıkmakta ve fibrin kufflarını oluşturmaktadır. Bu kufflar oksijenlenmiş kanın önünde bir bariyer görevi görerek cildin beslenmesini bozmakta ve venöz ülserlere neden olmaktadır.
4. **Lökosit Aktivasyonu ve Tuzak Teorisi:** KVV' si olan hastalarda kandaki lökosit miktarında azalma olduğunu farkeden Coleridge-Smith ve ark.¹⁴

lökosit tuzak teorisini öne sürmüşlerdir. Bu teoriye göre, venöz hipertansiyon ve akımın yavaşlamasına bağlı nötrofiller venöz mikrosirkülasyonda takılırlar. Nötrofil aktivasyonuna bağlı toksik metabolitler degranüle olurlar ve damar endotelinde hasar meydana getirirler. Lökositlerin mikrosirkülasyonu tıkadığı hiçbir zaman gösterilememiş olsada lökosit aktivasyonunun KVV patofizyolojisinde önemli bir rolü olduğu kabul edilmiştir.

1988 yılında Thomas ve ark.⁹⁸ yaptıkları çalışmada primer variköz venleri olan hastaların kanlarında lökositlerin anlamlı azalma olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda mikrosirkülasyonda kalan lökositleri aktive olarak toksik metabolitleri saldıklarını ileri sürmüşlerdir. Scott ve ark.⁹⁹ yaptıkları çalışma ile primer variköz venleri olan hastalardan aldıkları cilt biopsilerinde lökosit sayılarının anlamlı yüksek olduğunu ve buna dayanarak da KVV kliniğinin kötüleşmesinde lökosit aktivasyonun rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Wilkinson ve ark.¹⁰⁰ yaptıkları biopsilerde lipodermatosklerosis olan hastalarda T-Lenfosit ve makrofaj dominansı tespit etmişlerdir. Pappas ve ark.¹⁰¹ ise yaptıkları benzer bir çalışmada T-Lenfosit ve mast hücreleri dominant olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak endoteldeki hasar sonrası enflamatuvar reaksiyon başlamaktadır. Enflamasyon nötrofil ve platelet aktivasyonunu başlatır. Bu aktivasyon sonrası sitokinler, prokoagülant ve kemokinleri tetikler. Sitokin

kemokin gradiyenti sonucu lökosit aktivasyonu başlar. Damar duvarında fibrosis, valvüler hasar ve damar duvar yapısında değişiklik meydana gelir.

2.5. Apoptozis

Her hücre doğar, çoğalır, gerektiğinde farklılaşır ve ölür. Bütün bu olaylar doğal bir denge halinde sürekli meydana gelir¹⁰². Canlılığın temel karakterlerinden biri olan ölüm gerek hücre gerekse organizma bazında her zaman karşılaşılan bir olaydır¹⁰³. Nekrotik hücre ölümü ve programlı hücre ölümü (apoptozis) olmak üzere iki tip hücre ölümü vardır¹⁰⁴.

Apoptozis (programlı hücre ölümü: PHÖ) tanımı ilk olarak, 1920’li yıllarda biyologlar tarafından kullanılmaya başlanmıştır¹⁰⁵. Apoptozis, organizma tarafından düzenlenen enerji bağımlı hücre ölümüdür. Büyüme, gelişme ve yaşlanma sürecinde yer almaktadır. Programlı hücre ölümü olarak da adlandırılan bu süreç, doku homeostazının korunmasında kritik bir role sahip olduğu gibi, fetal gelişim ve erişkin dokulardaki pek çok fizyolojik olayda da önemli rollere sahiptir. Apoptozis sürecinin genetik temelleri ilk olarak bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* (CE) üzerinde çalışılmış ve elde edilen veriler tıp alanında önemli açılımlar sağlamıştır¹⁰⁶. Bu çalışmada keşfedilen gen “*Caenorhabditis Elegans Death*” sözcüklerinin baş harflerinden dolayı “ced genleri” olarak isimlendirilmiştir. CE’de apoptozisten sorumlu 4 gen vardır. Bunlar; *egl-1*, *ced-3*, *ced-4* ve *ced-9*’dur. Bu genlerin insanlardaki homologları da belirlenmeye devam etmektedir. CE’de *egl-1*, *ced-3* ve *ced-4*’ün apoptozisi sağladığı ancak *ced-9*’un

ced-3 ve ced-4'ün aktivasyonunu inhibe ederek apoptozisi baskıladığı belirlenmiştir¹⁰⁷. CE'de görülen apoptozis modelinin insanlarda da benzer olduğu ancak bu sürecin çok daha karmaşık bir yapıda işlediği gösterilmiştir¹⁰⁸.

Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Apoptozis terimi köken olarak "ayrı düşmek" anlamına gelmektedir ve hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır¹⁰⁹. Apoptozis, erken mitokondriyal değişiklik, hücre büzüşmesi, kromatin yoğunlaşması, nükleer kırılma, hücre zar şişmesi, kaspaz aktivasyonu, fosfatidilserin'in hücre zarı dış yüzeyine çıkması çekirdek parçalanması ve bunun sonucunda apoptotik cisimciklerin oluşması gibi arka arkaya birçok morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterizedir^{108,109}. Organizmaların canlılıklarını sürdürebilmesinde önemli rol oynayan apoptozis; normal hücre değişimi, bağışıklık sisteminin düzgün çalışması ve gelişimi, değişime uğrayan kromozomların çoğalması, hormona-bağılı atrofi, normal embriyonik gelişim, istenmeyen hücrelerin elenmesi ve hücre homeostazının korunması gibi çeşitli süreçlerin rol oynamaktadır^{110,111}.

DNA'nın hasarı ve siklobutan pirimidin dimerleri, 6-4 foto ürünleri gibi predominant lezyonların oluşumu ile UV radyasyon (UVR), iyonize radyasyon (IR), oksidatif stres, çevresel ve terapötik genotoksiklere ek olarak replikasyon veya rekombinasyon bozuklukları gibi diğer lezyonlar apoptozisin temel tetikleyicilerindendir¹¹²⁻¹¹⁶. Apoptozisin patobiyolojik mekanizması net olarak hala bilinmemektedir.

UVR (sıklıkla UV-B; 280-315nm), bakteriden insana kadar tüm organizmaların normal yaşam süreçlerini etkileyen en güçlü karsinojenlerden biridir^{117,118}. UV radyasyon, DNA hasarına neden olan, çekirdek ve ek olarak sitoplazmadaki p53'ü aktive ve stabilize eden, iki major apoptotik yolun (intrinsik ve ekstrinsik) uyarılmasını sağlayan genleri düzenleyen bir ajandır¹¹⁹. DNA hasarına neden olan apoptozise duyarlı tümör baskılayıcı p53¹²⁰, CE'den insan hücresine kadar çok hücreli hayvanlarda fonksiyonel olarak korunmasına rağmen¹²¹ tek hücrelilerden alınan örneklerde gösterilememiştir¹¹⁵. *Caenorhabditis elegans*'daki Egl-1, Ced-9, Ced-4, Ced-3 gibi apoptotik düzenleyiciler, memelilerdeki BH3, Bcl-2, Apaf-1 ve Casp-9 gibi apoptotik proteinlerle benzerlik göstermektedir¹²². DNA hasarı ile p53'ün aktivasyonu, Puma, Noxa, Bim, Bid, Bik, Bak, Bax, Apaf-1, Bmf, Hrk, Pag608, Drs, Fas ve Gadd45 gibi Bcl-2 ailesinin pro-apoptatik üyelerinin transkripsiyonal aktivasyonu ile apoptozise yol gösterebilir^{123,124,125}. Pro-apoptotik (Bax ve Bak vb), Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1 gibi programlanmış hücre ölümüne karşı proteinlerin yanı sıra birçok Puma, Noxa ve Bid gibi BH3 proteinleri birlikte mitokondriyal geçirgenliği düzenler¹²⁶. Kakuda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, p53 transaktivasyonunun p53'e bağlı apoptoziste major bir rolü olmadığını göstermişlerdir¹²⁷. Genellikle yaşlanan hücreler stres nedeniyle apoptozise dirençlidir¹²⁸. Wu ve arkadaşları UV neden olduğu apoptozise, p53 transkripsiyonuna bağlı olan ya da olmayan yolların katkıda bulunduğunu göstermişlerdir¹²⁹. Transkripsiyondan bağımsız p53 apoptozisinin intrinsik ya da mitokondriyal apoptotik yollar ile doğrudan ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır^{130,131}. Bak/ Bax proteinleri esas olarak

mitokondriyal ya da intrinsik apoptozis yolunu düzenler¹³². Bak dış mitokondriya zarında, Bax ise sağlıklı ya da UV ışınına maruz kalmış hücrelerin (apoptozis sırasında dış mitokondriyal zara yer değiştiren) sitoplazmasında yer alır¹³³. Bax aktivasyonunun mekanizması tam olarak açıklanamasa da, Chen ve arkadaşları UV ışını ile oluşturulan apoptozis sırasında Bax' ın aktivasyonunda BimL'nin rolü olduğunu göstermişlerdir¹³⁴. Mikroskopik çalışmalarla, UV ışınından önce BimL sitoplazmik bölünmesinin gerçekleştiği fakat UV ışınından sonra BimL'in mitokondriye yer değiştirdiği gösterilse de, Bim'in Bax'ı nasıl aktive ederek apoptozise yol açtığı tam olarak açıklanamamıştır^{135,136}. Transkripsiyonel faktör olan E2F'ler de p53'den bağımlı ya da bağımsız olarak apoptozise sebep olabilirler. Irwin ve arkadaşları, E2F'lerin doğrudan p53 ilişkili p73'ü aktive ettiğini çalışmaları ile göstermişlerdir¹³⁷. p73 apoptozisi, Bax' ın mitokondriyal yer değişimini, hücre ölümünün tetiklenmesini ve sitokrom-c'nin serbestleşmesini sağlayan PUMA (BH3-proteini) aracılığıyla oluşur¹³⁸. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, TFDP3'ün, E2F-1'in oluştuğu apoptozis üzerinde negatif düzenleyici olduğu bulunmuştur^{125,139}. Birkaç anahtar proteinin moleküler mekanizması ile apoptozis açıklanmaktadır.

2.5.1. Kaspaz (Sistein Proteaz)

Kaspazlar, apoptotik hücre ölümü esnasında önemli rol oynayan multigen ailesinden oluşan sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Kelime olarak "Cysteine Aspartate Specific ProteASEs- CASPASE" olarak türetilmiştir (c-aspase: c: cysteine protease mekanizması; aspase: aspartik asit sonrası ayrılmanın gerçekleştirilebilmesi). Apoptozis, hücrelerin genetik olarak eliminasyonuna

karar veren “programlı hücre ölümü”dür¹⁴⁰. Öncelikle inaktif proteinler olarak sentezlenen bu enzimler çeşitli yollarla aktive edilmelerinin ardından hücresel hedeflerdeki tetrapeptit motifleri tanır ve substratı, bir aspartat rezidüsünün karboksil tarafından ayırır. Hücre ölümü sırasında meydana gelen pek çok sellüler ve morfolojik değişimler ile nekroz ve inflamasyon bu enzimlerin rol oynadığı birtakım süreçler neticesinde gelişir^{141,142,143}. Bir çok kaspazın (Casp-1,2,3,7,8, ve 9) yapısal detayı tanımlanmış ve fonksiyonel kaspaz birimi homodimer olarak bulunmuştur¹⁴⁴.

Kaspaz-1, kaspaz ailesinin prototipidir ve önceleri prointerlökin-1-beta'nın biyolojik aktif formuna dönüşümünden sorumlu, ICE (interlökin-1-beta dönüştürücü enzim) olarak da adlandırılan, bir sistein proteaz olarak tanımlanmıştır^{145,146}. Daha sonraları ise ICE'nin diğer sistein-proteazlardan farklı olarak amid bağının N-terminalindeki p1 pozisyonu olarak bilinen ucunda aspartik asitin mutlak gerekliliğini gerektiren farklı bir sistein proteaz olduğu keşfedilmiştir.

ICE'nin inflamasyondaki rolü geniş bir şekilde aydınlatılırken bir taraftan da hücre ölümünden sorumlu genetik yoldaki rolü ortaya konmuştur¹⁴⁷. Bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'ın üzerinde yapılan bu çalışmada, hücre ölümü sırasında görev alan genetik yolda ced-3 isimli bir genin kodladığı proteinin hermafroditin gelişimi esnasındaki tüm programlı hücre ölümlerinden sorumlu olduğu görülmüştür. Daha sonraları ise ced-3'ün memelilerdeki ICE'nin bir homoloğu olduğu gözlenmiştir^{148,149}. Tüm bu bilgilerin ışığında apoptotik

hücre ölümleri esnasında meydana gelen özellikli proteolizler ve bu yıkımlar sonucu oluşan biyokimyasal olaylar aydınlatılmaya çalışılmıştır. (Resim-2.1.)

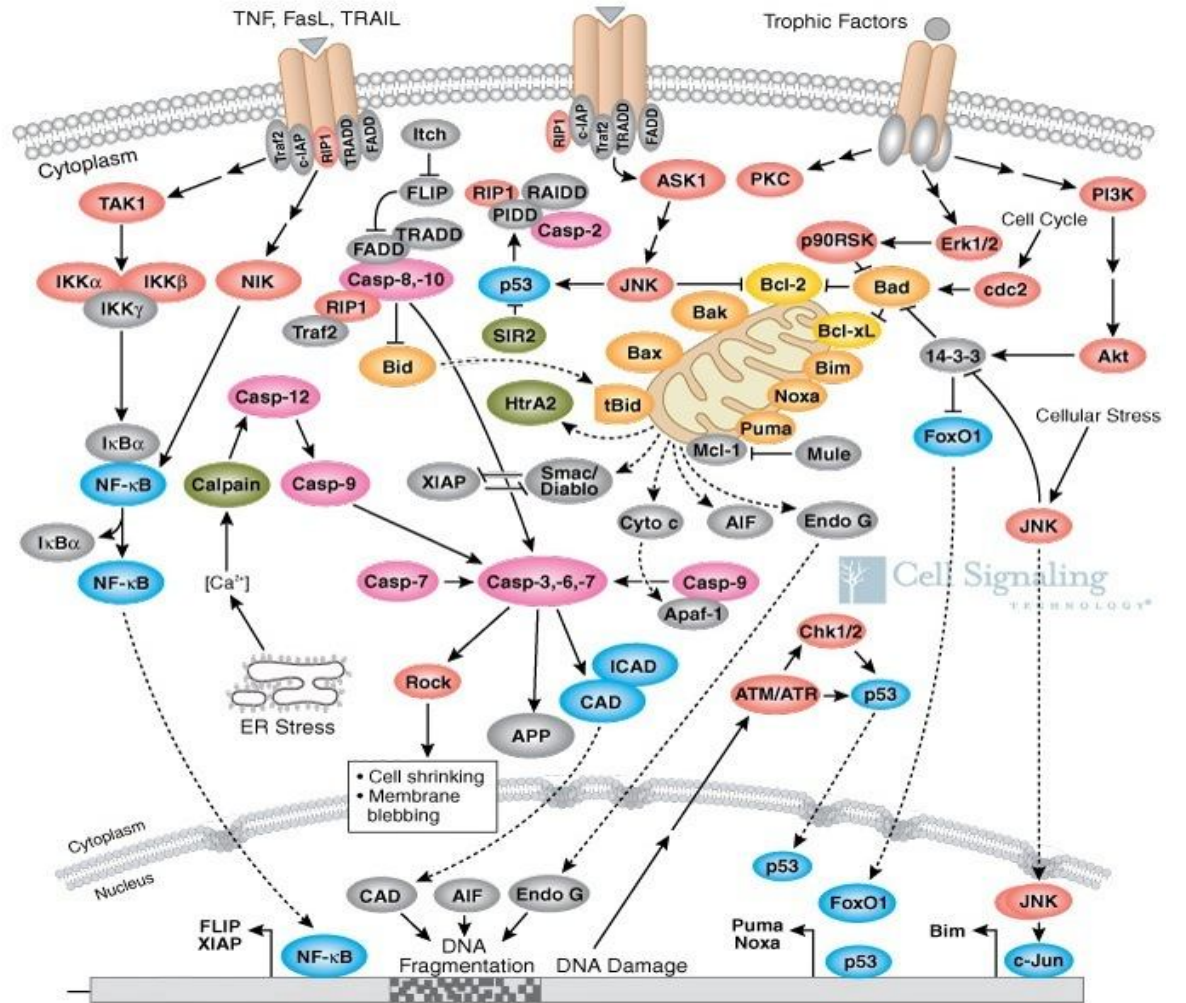
Apopitozisi uyaran faktörler 4 ana grupta sınıflanabilir¹⁵⁰:

- **Fizyolojik Aktivatörler:** Glutamat, dopamin gibi nörotransmitter maddeler, TNF ailesi, TGF- β , Kalsiyum ve glikokortikoidler
- **Hasar İle İlgili Uyarıcılar:** Isı soku, viral enfeksiyonlar, bakteriyal toksinler, onkogenler, tümör baskılayıcıları, sitotoksik T hücreleri, oksidanlar, serbest radikaller, beslenme eksikliği ve antimetabolitler.
- **Tedavi İle İlgili Ajanlar:** Sisplatin, doksorubisin, bleomisin ve vinkristin gibi kemoterapatik ajanlar, γ ışınları ve UV ışınları.
- **Toksinler:** β -amiloid peptid ve etanol.

Apopitozisi baskılayan faktörler ise 3 grupta sınıflanabilir¹⁵⁰:

- **Fizyolojik Baskılayıcılar:** Büyüme faktörleri, ekstrasellüler matriks, CD40 ligand, doğal aminoasitler, çinko, östrojen ve androjenler.
- **Viral Genler:** Adenovirüs, Bakülo virüs p53 ve IAP, Çiçek virüsü, Epstein Barr virüs, Afrika domuz ateşi virüsü, Herpes virüs

- **Farmakolojik Ajanlar:** Forbol 12 miristat asetat, fenobarbital, α heksaklorosiklo-hekzan gibi tümör baskılayıcıları, sistein proteaz inhibitörleri ve kalpain inhibitörleri.



Resim-2.1.: Apoptozis mekanizması

2.5.2. Aktivasyon

Kaspazlar, genel olarak hücrelerde inaktif formda (prokaspaz) bulunurlar ve bir kere aktive olduktan sonra kendi proteolitik aktivitesi aracılığıyla hücre ölümünü takiben apoptotik uyarı yollarını güçlendirerek diğer kaspazları da tetikler. Kaspazlar, çoğu hücrede, aktif olmayan proenzim formunda bulunur ve otoproteolitik mekanizma ile uyarılırlar. Bir kere aktive edildiklerinde diğer prokaspazları da uyararak proteaz basamağının başlamasına izin verebilirler. Bazı prokaspazlar kendi kendilerine aktive olabilirler. Bu bir kaspazın diğer kaspazları aktive ettiği proteolitik basamak, apoptotik sinyal yollarını güçlendirerek hızlı hücre ölümüne liderlik eder.

Memelilerde şu ana kadar 14 kaspaz tanımlanmıştır¹⁵¹. Filogenetik analiz sonucunda gen ailesinin ICE (kaspaz-1) ile ilişkili ve ced-3 benzeri olmak üzere iki subgrubu olduğu görülür. Alternatif olarak bu proteazlar, substrat spesifitelerine göre de gruplandırılabilir^{152,153}. Günümüzdeki modern yaklaşım ise proteazları üç gruba ayırmaktadırlar¹⁵⁴.

Kaspazlar tetrapeptit motiflerini aminoasit spesifitelerine göre tanırlar ve p4 pozisyonundaki aminoasitlere göre üç spesifik gruba ayrılır. Grup 1 kaspazlar (kaspaz-1, 4, 5, 13) P4 pozisyonunda hidrofobik aminoasitleri tanırlar ve sitokinlerin maturasyonuna aracılık ederler. Grup 2 kaspazların yeğledikleri ayırma noktası hücre ölümü sırasındaki pek çok proteinlerde gözlenir ve bununla ilintili olarak da grup 2 kaspazlar (kaspaz-2, 3, 7) apoptosisin major efektörleri olarak bilinirler. Grup 3 kaspazlar (kaspaz-6, 8, 9, 10) ise P4 pozisyonunda

alifatik aminoasitleri tanır ve grup 2 kaspazların aktivasyonunda görev alır. Kaspazlara ek olarak bir serin proteaz olan granzim-B gibi başka proteazlar da kaspaz aktivasyonunda görev alarak ve bazen de kaspazların yerine fonksiyon görerek apoptotik hücre ölümüne katkıda bulunur. Bu süreç farklı da olabilir. Örneğin kaspaz-2 kendiliğinden aktive olabilir. Kaspaz-6 efektör proteaz olarak görev alabilir¹⁵⁴. Kaspazlar inaktif üç parçalı proenzimler olarak sentez edilirler. Aktivasyonları sırasında aspartat (P1) - X (P2) bağının ayrılması ile proenzimden, küçük ve büyük alt üniteleri içeren aktif enzim oluşur. Ayrılma noktasında aspartatın bulunması kaspazın oto-aktif ya da aktive edilebilir olmasıyla uyumludur. Ayrılma işleminden sonra 2 büyük ve 2 küçük alt ünitelerden oluşan tetramer yapısına sahip kaspaz yapısı izlenir. Kaspazların tetramer yapısı 2 adet büyük (dışta) ve 2 adet küçük alt ünitelerden (içte) oluşmuştur¹⁵⁵.

2.5.3. Kaspaz İnhibisyonu

Memelilerde, kaspaz inhibisyonu IAP (apoptozis inhibitor proteinleri) ailesine ait proteinler ile gerçekleşir¹⁵⁶. IAP ailesi proteinleri, bazı başlatıcı (kaspaz-9 gibi) ve efektör (kaspaz-3 ve 7) kaspazları farklı süreçlerle uyarmasına rağmen^{157,158,159}, birçok başlatıcı ve efektör kaspaz (kaspaz-1, 2, 6, 8 ve 10), XIAP, c-IAP1 ve c-IAP2 nedeniyle inhibisyona direnir¹⁶⁰. Kaspaz-8'in aktivasyonu, FADD-e benzer ICE (FLICE) inhibitor proteinleri (FLIP) olarak bilinen protein ailesi tarafından düzenlenir¹⁶¹. Kaspaz-9'un aktivasyon düzenlenmesi mitokondriyal proteinlerin serbestleşmesi ile gerçekleşir^{162,163,164}.

2.5.4. Apoptozisin Mekanizması

Apoptozis çeşitli yollarla aktive olmaktadır. İntrinsik ve ekstrinsik (veya öldürücü reseptör) olmak üzere temelde iki tip apoptotik yol tanımlanmıştır. Apoptozisin başka bir yolu perforin/ granzim-A veya B (sitotoksik T lenfosit ve NK hücreleri: perforin/granzim kaynaklı apoptozis) yolunu içermektedir¹⁶⁵. İntrinsik ve ekstrinsik yolların her ikisi birbirleri ile ilişkilidir ve birbirlerinden etkilenmektedir¹⁶⁶. Apoptozisin her üç yolu da (intrinsik, ekstrinsik ve granzim B kaynaklı) hücreyi ölüme götürmektedir. Apoptotik hücre ölümünde görülen temel morfolojik değişiklikler; hücre büzülmesi, nükleer membranın altında kromatin yoğunlaşması, hücre zar yüzeyinde cepçiklerin oluşması, DNA kırıklarının gözlenmesi, hücre iskeletinin yıkılması ve apoptotik cisimciklerin oluşmasıdır^{167,168}. Genel olarak, kaspazlar hücrede inaktif formda bulunurlar (pro-kaspaz) ve bir kere aktive edildikleri zaman diğer kaspazları da uyararak proteaz basamağının başlamasına sağlarlar. Bazı prokaspazlar kendi kendilerine aktive olabilirler. Bu bir kaspazın diğer kaspazları aktive ettiği proteolitik basamak, apoptotik sinyal yollarını güçlendirerek hızlı hücre ölümüne liderlik eder.

2.5.5. Hücre Dışından (Ekstrinsik) Kaynaklanan Sinyaller

Bu sinyaller iki grupta incelenir.

1. Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği: Bu sinyaller apoptozisin negatif ya da pozitif belirleyicisi olabilirler. Bazı hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinler önceden var olan ölüm programını baskılayarak iletim döngüsünü oluştururlar. Bu faktörlerin eksikliği ya da yokluğunda ise ölüm programı baskılanamaz ve apoptozis tetiklenir^{169,170}.

2. Reseptör ligand etkileşimi: TNFR ailesinin hücre zarı reseptörlerine özgü ölüm ligandlarının bağlanması ile başlatılan ölüm yolu hücre dışından kaynaklanan sinyallere verilebilecek önemli bir örnektir^{169,170}.

Hücre dışı sinyal molekülleri içinde TNF, Fas, TRAIL ve Sitotoksik T lenfosit aracılı apoptozis önemli yer tutmaktadır.

- a) **TNF Aracılı Apoptozis:** Proenflamatuar bir sitokin olan TNF aktif T hücreleri, monosit ve makrofajlar tarafından üretilir¹⁷². İnflamatuvar cevabın düzenlenmesinin yanında hücre proliferasyonu, diferensiyasyonu ve apoptoziste de çok önemli rol oynar. TNFR ailesi apoptoziste rol alan en önemli membran reseptörleridir ve kaspazlar üzerinde etki gösterirler. Bu reseptör grubunun 19'dan fazla üyesi vardır. Bunların arasında TRAILR, TNFR 1,2 ve 3, ve CD40 yer almaktadır¹⁷⁰.
- b) **Fas/ FasL Aracılı Apoptozis:** Fas insanlarda TNFR ailesinin Tip I membran hücre yüzey proteini olup, doğal ligandı olan Tip II membran proteini Fas L ile apoptozisi gerçekleştirir^{102,173}. Lenfoid hücrelerin yanı sıra, bazı kanser hücreleri karaciğer, akciğer, timus ve over gibi dokularda da eksprese edilirler^{102,174}. Fas L'nin Fas'a bağlanmasından sonra oluşan moleküler karmaşık, hücre içi sitoplazmik kuyruğun ölüm domainine özgün adaptör protein olan FADD (Fas adapter protein with a death domain) ile birleşir. Fas'ın FADD ve FLICE ile trimerize olması sonucunda DISC (death inducing signaling complex) şekillenmesi gözlenir. DISC'in ICE proteazların aktivasyonunu sağlamasıyla da apoptozisin gerçekleştiği gözlenir¹⁷⁰.

c) **TRAIL reseptörleri aracılı apoptozis:** TNF reseptörlerinin diğeri bir alt grubu olan TRAIL reseptörleri (TNF related apoptosis inducing ligand receptors) APO-2L olarak da bilinir ve bu tip ligandlara özgü ölüm reseptörleri ile birbirini etkileyerek hücre ölümünü indükleyebilirler¹⁶⁸. TRAIL ve TRAIL-R normal doku ve tümörlü dokularda eksprese edilirler. Bununla birlikte TRAIL'in kanser hücreleri için toksik, normal hücreler için ise toksik olmayan tarzda hareket etmesi kanser tedavisindeki yerini giderek önemli hale getirmektedir^{168,175}.

d) **Sitotoksik T-Lenfosit (CTL) Aracılı Apoptozis:** CTL'ler enfekte olmuş konakçı hücrelerin yüzeylerinde bulunan yabancı antijenlere özgü olarak tanınırlar. Ana görevleri bakteri ve virüsle enfekte hücreleri ve malign hücreleri öldürmektir¹⁰². CTL'ler yabancı bir antijenle karşılaştıklarında yüzeylerinde FasL eksprese ederler ve hedef hücrelerin Fas reseptörüne tutunurlar. CTL'lerin hedef hücreyi öldürmesi 2 yolla olur. Bunlardan biri Fas L'nin hedef hücredeki Fas ile bağlanması ve kaspaz aktivasyonuyken diğeri sitoplazmalarında perforin ve granzim adı verilen proteinler içeren sitoplazmik granüllerin ekzositozudur. Perforin transmembran por oluşturucu bir protein olmakla birlikte perforin/granzyme yolu ile apoptozis tetiklenir, membranda oluşturulan porlardan içeriye ekzositozla verilen granzyme B başta kaspaz-3 olmak üzere kaspazları aktive ederek apoptozis gelişimine neden olur^{102,170}.

Diğeri ekstrinsik faktörlere bağlı apoptozis; radyasyon, hipoksi, γ ve UV ışınlar, ısı şoku ve sitotoksik ilaçlar gibi değişik dış etkenlerde hücrede farklı

apoptotik mekanizmaları uyarak hücrenin fizyolojik ölümüne neden olabilirler^{170;173}.

2.5.6. Hücre İçinden (İntrinsik) Kaynaklanan Sinyaller

DNA hasarı, hücre içi kalsiyum seviyesinde artış, hücre içi pH'da düşme, metabolik ve/ veya hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptozise götürebilen intrinsik ölüm sinyallerini başlatabilirler¹⁷⁰. Hücrede bulunan intrinsik sinyaller farklı ve oldukça çeşitlidir.

- a. Kaspazlar** (caspase=cysteine containing aspartate specific proteases); hücre içi ve dışı ortamdan sinyallerle aktive olan bir grup proteazdır¹⁷⁰. Kaspazlar inaktif proenzimler olarak bulunmuşlardır¹⁷⁶. Proteolitik ayrılma sonucu aktive olurlar veya prokaspaz moleküllerinin bir araya gelerek multiprotein apoptozom kompleksini oluşturması ile otokatalitik sürece girerler^{171,177}. Merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteaz olarak adlandırılırlar¹⁷⁶. İlk olarak memeli ailesinde keşfedilen enzim olan kaspaz-1 (ICE) inflamasyon sürecinde etkin olup ced-3 benzemektedir. 14 farklı kaspaz belirlenmiştir^{102,177}. Proapoptotik sinyaller ile tetiklendiğinde aktif enzimler şeklini alan kaspazlar özellikle apoptozisin morfolojik özelliklerinin oluşmasında etkindirler^{171,178}. Başlatıcı ve efektör olmak üzere iki alt grupta incelenirler. Kaspaz 2, 8, 9 ve 10 başlatıcı, kaspaz 3, 6 ve 7 ise efektör kaspazlar olarak bilinirler. Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara

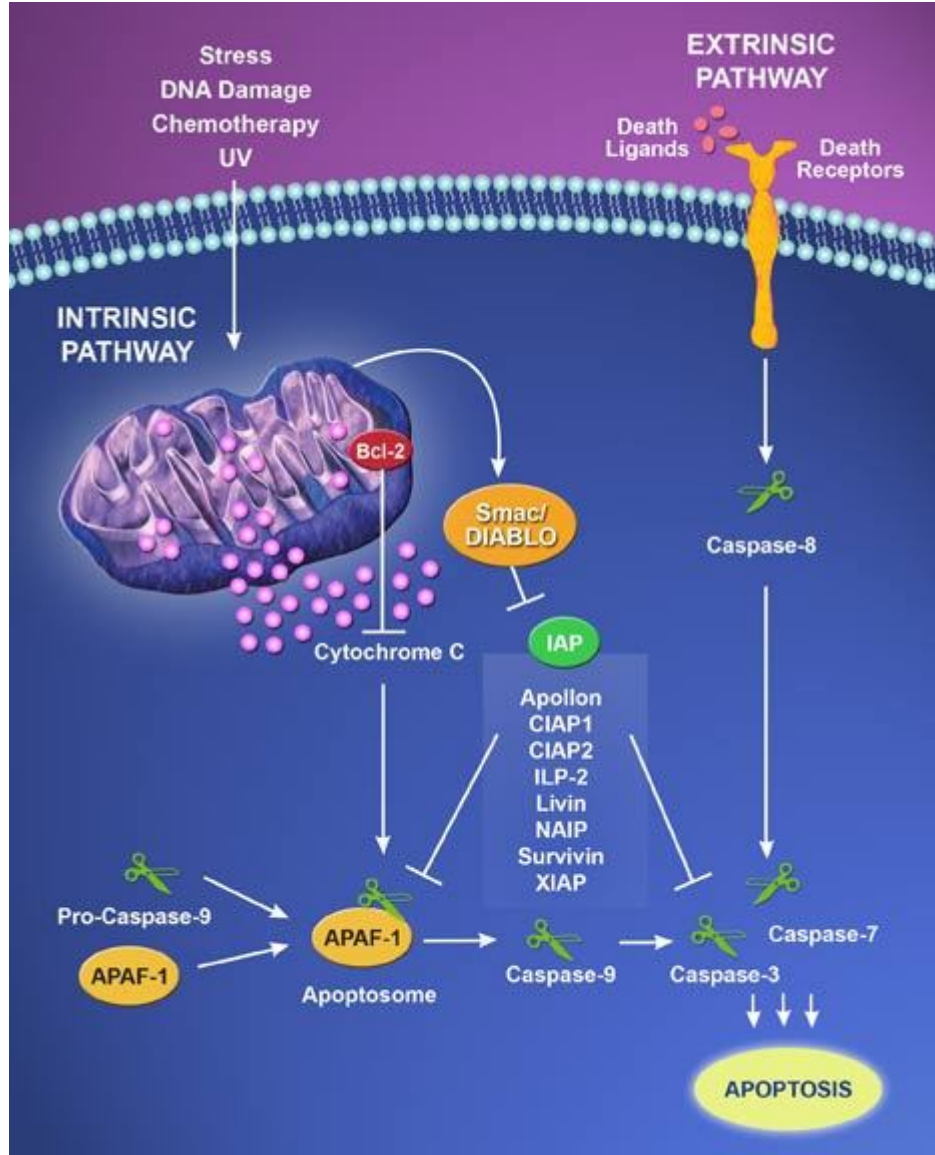
iletirlerken, efektör kaspazlar ise proteolitik etkisiyle proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisinin oluşmasına neden olurlar¹⁷⁶.

b. Mitokondriyal Yol: Mitokondriye bağımlı alternatif sinyal yollarını çeşitli etkenler uyarabilir. CD95 ligasyonuna bağlı bu tip uyarım sonucu prokaspaz 8'in küçük bir miktarı DISC'te toplanır. Ancak kaspaz 8 miktarı kaspaz döngüsünü tetiklemek için yetersizdir. Bununla birlikte, bcl-2 ailesinin proapoptotik proteinini içeren bölgesini parçalayarak apoptotik yolu aktive edebilir. Sitokrom C'nin sitozole salınmasına neden olur. Bu salınım hücrede apoptozisi uyaran çok önemli bir süreçtir¹⁷⁶. Sitokrom C'nin sitozole salınımı 2 farklı mekanizma ile ele alınmıştır.

Kalsiyum Bağımlı Yol: Hücre içi kalsiyum seviyesinin artması ile nükleer porlardaki kalsiyum geçirgenliğinde geçici olarak artış olur. Bunun sonucu mitokondriyal fonksiyon bozukluğu oluşur ve hücrenin yaşamsal enerji kaynakları hızla tüketilir ve bu süreçte nükleusta artan permeabiliteye bağlı olarak nükleus yapısı bozulur ve DNA fragmentasyonu gelişir ve bu süreç apoptozis ile sonlanır¹⁷⁹.

Kalsiyum Bağımsız Yol: Bcl-2 ailesinin bir üyesi olan proapoptotik Bax, bcl-2 ile heterodimer oluşturabilmektedir. Bu oluşum bcl-2'nin mitokondri üzerindeki porları kapamasını önler. Bax'ın etkisi ile mitokondri zarları arasından sitozole salınan sitokrom C, sitoplazmada bulunan APAF-1 (Apoptosis Protease Activating Factor-1), başlatıcı bir kaspaz olan

prokaspaz 9 ve ATP ile birlik moleküler bir kompleks olan “apopitosom” oluşur. Bu birleşme sonrasında öncelikle prokaspaz 3 ve diğer kaspazlar (özellikle kaspaz 6 ve 7) aktive olur ve mitokondriyal yolla apoptozis gerçekleşir¹⁷⁰. Apoptozis gelişimi sürecinde Sitokrom C dışında mitokondriden salınan SMAC/Diablo, AIF (Apoptosis Inducig Factor) ve çeşitli prokaspazlarda sürecin gelişimini kontrol altında tutar^{168,171}.
(Resim-2.2.)



Resim-2.2. Ekstrinsik ve İntrinsik Apoptozis Yolları

2.5.7. Hastalıklarda Apoptozis:

Apoptozis azalması, artması ve düzensizliği birçok hastalığın ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Fizyolojik düzen hücrelerin yapımı ve yıkımı ile düzenlenmektedir. Hızlı hücre döngüsü olan yapılarda apoptozis döngüyü sağlayan asıl mekanizmadır. Hastalıklardaki apoptozis etkisi tablo-2.2. de görülmektedir.

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
Bcl-2 grubundan; BHRL-1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1 c-abl geni ras onkogeni çözünabilir fas p35 A20	Bcl-2 grubundan; Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik, Hrk1 c-myc p53, p21 fas (CD95/APO1) FADD/MORT, RIP, FAST interlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE) LOH (MTS1/CDK41)

Tablo-2.2.: Apoptozisi etkileyen genler

2.5.8. Apoptozisin Tedaviye Etkisi:

Günümüzde apoptozise bağlı hastalıklar ortaya konulması ile bu sürece müdahale edilerek ortaya çıkabilecek tedavi yöntemleri üzerinde durulmaktadır. Bu tedavi yöntemleri başlıca 3 grupta toplanmaktadır.

1. Gen tedavisi
2. Apoptozis düzenleyicilerin enjeksiyonu
3. Apoptozis genlerini ekspresyonu düzenleyen ilaçlar.

Tüm bu tedavilerde ki sorun, bu tedavilerin normal hücrelerde de apoptozisi etkilemesi sonucu ortaya yan etkilerin çıkabilme ihtimalidir. Yine de apoptozise yönelik tedavi seçenekleri günümüzde üzerinde önemle durulan bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. (Tablo-2.3.)

Apoptozisin Artmasıyla İlgili Hastalıklar	Apoptozisin Azalmasıyla İlgili Hastalıklar
Nörodejeneratif Bozukluklar	Kanserler
Alzheimer hastalığı Amyotrofik lateral skleroz Creutzfeld-Jakop hastalığı Huntington hastalığı Parkinson hastalığı Retinitis pigmentosa Spinal muskular atrofi	Blastom Karsinom Lösemi Lenfoma Malign gliom Sarkom Seminom
Hematolojik Bozukluklar	Premalign Hastalıklar
Aplastik anemi Fanconi anemisi Hodgkin hastalığı Myelodisplastik sendromlar Polycythemia vera	Ataxia telangiectasia Paroksimal nokturnal hemoglobinüri Myeloblastik sendromlar Xeroderma pigmentosum
Otoimmün Bozukluklar	Otoimmün Bozukluklar
Fulminant hepatit Graft-versus-host hastalığı Hashimoto tiroititis İnsüline bağımlı diyabet Multipl skleroz Romatoid artrit Skleroderma Sjögren sendromu	Otoimmün lemfoproliferatif sendrom (tip I ve II) Sistemik lupus erythematosus
	Ateroskleroz
	Metabolik Bozukluklar
	Nimann-Pick hastalığı, Osteoporozis, Wilson hastalığı
İskemik Yaralanma	Viral Enfeksiyonlar
İskemi ve reperfüzyon Böbrek enfarktüsü Miyokardial enfarktüs İnme	Adenoviruslar Baculoviruses Epstein-Barr virüs Herpesvirüsleri Poxvirüsler
Toksinlere Bağlı Hastalıklar	Prematur ve Fizyolojik Yaşlanmada Apoptozis
Alkole bağlı hepatit Pulmonar fibrozis Sepsis	Down sendromu Erken yaşlanma (progeria) Xeroderma pigmentosum
Bakteriyel ve Viral Enfeksiyon	
AIDS Ebola virüsü Chlamydia trachomatis Helicobacter pylori Neisseria meningitis Salmonella typhimurium Shigella flexneri	
Diğerleri	
Travmatik spinal kord yaralanması Tümör karşı atağı (immun ayrıcalık)	

Tablo-2.3.: Apoptozisle ilgili hastalıklar

Apoptozis azalması veya artmasına bağlı ortaya çıkan hastalıklar tedavi stratejilerindeki yerini hızla almaya başlamıştır. (Tablo-2.4.)

Mevcut tedaviler	
Aspirin,siklooksijenaz–2 inhibitörleri	Non-steroidan anti-inflamatuarların kolorektal adenoma ve kansere karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Bu etki siklooksijenaz–2 enziminin inhibisyonu doğrultusunda apoptozun indüklenmesinden dolayı olabilir
Antikanser ilaçları, radyoterapi	Aslında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi normal hücrelerde ve tümörlerde apoptozu indükler. P53’e bağımlı ve bağımsız mekanizmalar tanımlanmıştır
Yeni tedaviler	
Bcl–2 antisense	İlk klinik çalışmalar, non-Hodjkin’s lenfoma gibi bazı hastalıkların olumlu sonuç verdiğini göstermiştir
Rekombinant TRAIL	Akciğer, göğüs, kolon ve böbrek kanserlerinin TRAIL’e karşı duyarlı olduğu ve apoptozu uyardığı prelinik çalışmalarla kanıtlanmış ve desteklenmiştir
Kaspaz inhibitörleri	Travmatik beyin yaralanması, amiyotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalığında pozitif prelinik hayvan modelleri
Antioksidanlar	Pyrrrolidinedithiocarbamate ve 6-hidroksi 2, 5, 7, 8-tetramethylchromancarboxylic acid (E vitamini analogu) floroaçıl artışıyla kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indükler
İnterlökin–1 reseptör antagonistleri	Sıçan modellerinde iskemik beyin hasarında azalma

Tablo-2.4.: Apoptozise müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri

3. MATERİYAL VE METODLAR

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi ABD Polikliniğine ayaktan veöz yetmezlik şikayetleri ile başvuran ve yapılan tetkikleri sonucu varis operasyonu önerilmiş 46 tane hasta alınmıştır. Bu çalışma için başlatılmadan önce Ankara I. Nolu Etik Kurulundan 2009/0.9-2.6 Karar No ve 30.09.2009 tarihli onay alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara, Ankara I. Nolu Etik Kurulu tarafından onaylanmış “Hasta Bilgilendirilmiş Onam Formu” imzalatılarak onay alınmıştır.

- Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 18 yaşından büyük olma
- 70 yaşından küçük olma
- CEAP Kalsifikasyonuna göre C3, C4, C5 ve C6 olan operasyon kararı alınmış hastalar
- Cerrahiye engel enfeksiyonu veya ek hastalığı olmayan hastalar
- Psikiyatrik hastalık tanısı olmayan hastalar
- Çalışmaya katılmak isteyen ve bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalayan hastalar

- Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri:

- 18 yaşından küçük olma
- 70 yaşından büyük olma
- CEAP klasifikasyonuna gore C1 ve C2 olan hastalar
- Varis nedeniyle operasyonu gerekmeyen hastalar
- Psikiyatrik hastalık tanısı olan hastalar
- Cerrahiye engel enfeksiyonu veya ek hastalığı olan hastalar
- Çalışmaya katılmak istemeyen ve bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalamayan hastalar

Araştırmaya CEAP sınıflamasına gore C3, C4A, C4B, C5 ve C6 sınıflarına dahil olan ve operasyon kararı alınmış varis hastaları alınmıştır. Bu hastalara operasyon sabahı aç karnına ameliyathaneye alınarak ve anestezi uzmanının uygun gördüğü genel veya epidural anestezisi verilerek operasyona başlandı. Hastaya anestezi tarafından rutin uygulanan periferik damar yolu ve arteriyel damar yolu açıldı.

- **Çalışmada Bakılacak Parametreler:**

- Kaspaz-8:
- Kaspaz-9:
- Tam Kan Sayımı:
- Albumin:
- Prealbumin:
- Homosistein:
- CRP:

Epidural Anestezi:

Spinal anestezi uygulamadan önce 18-20 G intraket ile tercihen dominant olmayan el üzerinden intravenöz (İV) kanülasyon yapıp 10 dk içinde hastalara 8 mL/kg Ringer laktat solüsyonu verildi. Anestezi öncesi ve toplam verilen sıvı miktarı kaydedildi. Operasyon salonuna alınan hastalara EKG (II. derivasyon), periferik oksijen satürasyonu (SpO₂), non-invaziv kan basıncı (NİKB) ölçümü monitörizasyonu yapılarak (NIHON KOHDEN, Model: BSM4113K, SN:01236, 2004 – Japonya), 4 L/dk'dan maskeyle oksijen verilmeye başlandı; işlem öncesi motor ve duysal muayenesi yapılan hastanın bazal hemodinamik parametreleri çalışma için hazırlanan takip formunun kontrol değerleri kısmına kaydedildi. Hastalara 0.03 mg/kg iv midazolam ile premedikasyon uygulandı.

Spinal anestezi bütün hastalarda oturur pozisyonda, L₂₋₃ veya L₃₋₄ interspinöz aralığından yapıldı. Ponksiyon deneme sayısı ve başarılı olduğu aralık kaydedildi. Üç denemede ponksiyonun başarısız olması halinde olgu çalışma dışı bırakılmıştır. Tüm ilaçlar steril şartlarda tek kullanımlık hazırlandı. Gerekli cilt dezenfeksiyonundan sonra girişim yapılacak aralığa 20-22 G ince iğne ile 2 mL %2'lik lidokain ciltten ligamentum flavum'a kadar infiltre edilerek lokal anestezi sağlandı. Uygun aralığa önce kılavuz iğne yerleştirildi. Kılavuz iğne içinden 25 G Quincke spinal iğne ile orta hattan dura liflerine paralel olacak şekilde girilip duranın geçildiği hissedildikten sonra spinal iğnenin mandreni çıkartılarak, berrak BOS gelişi görüldükten sonra 30 saniye içerisinde intratekal aralığa Grup 1'de 7.5

mg hiperbarik levobupivakain (1.5 mL), Grup 2’de 10.0 mg (2.0 mL) hiperbarik levobupivakain verilerek ve ilaç verme işleminin bitişı 0. dk kabul edildi.

Spinal anestezinin duyusal blok seviyesi ve motor blok derecesi ve hemodinamik göstergelerden olan kalp atım hızı (KAH), sistolik kan basıncı (SKB), diyastolik kan basıncı (DKB), ortalama arter basıncı (OAB) ve SpO₂ değerleri enjeksiyon yapıldıktan sonra 10 dk boyunca her 3 dk’da bir, daha sonra ameliyat bitimine kadar her 10 dk’da bir kaydedildi. Duyusal blok seviyesi künt uçlu bir iğne kullanılarak “pin prick” testi ile standart dermatom haritasına uygun dermatomlara dokunularak ve motor blok seviyesi de modifiye Bromage skalası ile (0= paralizi yok, uyluk, bacak ve ayağını kaldırabiliyor, 1= uyluğunu hareket ettiremiyor, dizini hareket ettirebiliyor, 2= dizini hareket ettiremiyor, ayak bileğini hareket ettirebiliyor 3= alt ekstremitelerini hiç hareket ettiremiyor) değerlendirildi. Enjeksiyondan operasyon başlangıcına kadar geçen süre kaydedildi. İğne batırma yöntemi “pin prick testi” ile T₁₀ seviyesinde analjezi olması duyusal bloğun yeterliliği olarak değerlendirildi. Duyusal bloğun iki dermatom gerilemesi duyusal blok devam süresi olarak değerlendirilip kaydedildi. Duyusal ve motor bloğun değerlendirilmesi operasyon sırasında da cerrahi çalışmaya engel olunmadan, cerrahi ekip bilgisi dahilinde yapıldı. Spinal anestezi uygulamasından 20 dk sonra yeterli anestezi sağlanamazsa olgu çalışma dışı bırakılarak ve hastanın kilosuna uygun LMA kullanılarak genel anestezi uygulandı.

Uygulanan Ameliyat Prosedürü:

Bu hastalarda operasyon öncesi ayaktayken ve operasyon sırasında yatar pozisyondayken Stripping yöntemi ile çıkarılacak olan Vena Safena Magna (VSM) içinden Bıçakçılar marka B-CAT2 20G 1 ¼ pembe damar yolu ile girilerek SASAN Pressure set ve UPS Pressure Line Uzatma hattı ile basınç transduseri bağlanarak basınç ölçülerek hasta takip formuna işlenmiştir. Bu ölçümler sonrasında hastanın VSM' den 2 adet CBC tüpüne ve 2 adet biyokimya tüpüne 5cc kan alınmıştır. Aynı zamanda hastanın venöz yetmezliği bulunmayan üst ekstremitesinden kontrol amaçlı 2 adet CBC tüpüne ve 2 adet biyokimya tüpüne 5cc kan alınmıştır. CBC tüpleri normal tam kan sayımı ve lökosit tiplendirilmesi amacıyla hematoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Biyokimya tüpleri ise Biyokimya laboratuvarında 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra ependorflarda -80C derecede saklanmıştır. Daha sonra kaspaz 8 ve kaspaz 9 düzeyleri Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile Kaspaz 8 için Bendermed marka KASPAZ-8 COLORIMETRIC ASSAY kiti ile kaspaz 9 ise Bendermed marka KASPAZ-9 COLORIMETRIC ASSAY hazır kitleri ile analiz edilmiştir. Diğer biyokimya tüpleri prealbumin, albumin, CRP ve homosistein için biyokimya laboratuvarına gönderilmiştir. Kliniğimiz rutin varis ameliyatı prosedürlerinden, çalışmadan bağımsız olarak hastaya en uygun operasyon yöntemi uygulanmıştır. Kliniğimizde en sık uygulanan yöntem Stripping ve Pake eksizyonudur. Bu yöntemler çalışmadan bağımsız olarak belirlenip hastaya uygun tedavi protkolü seçilmiştir. Ameliyatta hastanın iç malleol 1 cm üzerinden yaklaşık 1 cmlik bir kesi ile hastanın VSM' si bulunarak

dönüldü. Safen sinir VSM' den hasar verilmeyecek şekilde ayrılmıştır. VSM' nin proksimali ve distali 2 nolu serbest ipekle dönülmüştür. Proksimal ipek asılarak siyah uçlu iğne ile VSM' ye girilerek çalışmada kullanılacak kan örneği alınmıştır. Bu işlemden sonra VSM distali bağlanmıştır. Bağlanan damar bölgesinin hemen proksimalinden VSM 11 nolu bıçakla ufak bir kesi yapılmış ve buradan Stripper ucu sokulmuştur. Stripper proksimale doğru ilerletilerek safenofemoral bileşke seviyesinde sabitlenip ve buradan femoral insizyona başlanılmıştır. Femoral bölgede yaklaşık 5 cmlik bir kesi yapılarak cilt ve ciltaltı geçilmiş ve içerisinde stripper bulunan VSM bulunarak 2 nolu serbest ipeklerle dönülmüştür. VSM' nin femoral bileşkede bulunan dalları tek tek dönülerek proksimal ve distalleri dönülmüş ve VSM' den ayrılmıştır. VSM proksimali tam safenofemoral bileşke hizasından bağlanmıştır. VSM hemen bağlanan yerin distalinden 11 nolu bıçak ile kesilmiş ve stripper buradan dışarıya çıkarılmıştır. Stripper uç parçası yerine takıldıktan sonra stripper yukarıdan aşağıya doğru çekilerek alt insizyondan çıkarılmıştır. Kanama kontrolü amacıyla VSM hattına bir süre baskı uygulanarak kanama miktarı azaltılmıştır. Daha sonra hastanın ameliyat öncesi üzerleri çizilmiş olan pakelerine yaklaşık 1 cm lik insizyonlarla pake eksizyonu yapılmıştır. Hastaların tüm insizyonları rutin şekilde usulüne uygun monocryl süturlarla kapatılmıştır. Hastaların pansumanı yapılarak 15cm genişliğindeki elastic bandajla ayak parmaklarından kasık bölgesine kadar sirküler sarılarak ameliyat sonlandırılmıştır. Ameliyat sonunda hastanın rutin pansumanı yapılarak Kalp Damar Cerrahisi servisine çıkarılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hiçbir hasta da ameliyat öncesi, ameliyat sırasında ve ameliyat sonrasında

herhangi bir komplikasyon olmamıştır. Hastalar klinik rutinimiz de olduğu gibi ameliyat sonrası 1. gün önerilerle taburcu edilmişlerdir.

Kaspaz 8 ve Kaspaz 9 Testleri:

Serum kaspaz düzeylerini çalışmak için hastalardan biyokimya tüplerine kan örneği alınarak laboratuvara ulaştırıldı. Kanlar 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra serum kısımları ayrılarak analiz dönemine kadar -80 derecede saklandı.

Serum **kaspaz-8** düzeyleri “human kaspaz-8 ELISA” hazır kitleri (Bender MedSystems, BMS2024, Vienna, Austria) kullanılarak Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile çalışıldı. Bu yöntemde, anti-human kaspaz-8 antikorlarıyla kaplı mikroweller kullanıldı. Mikrowellere eklenen numune veya standartlarda var olan kaspaz-8, antikorlara bağlanır. Daha sonra 2. antikor (detection antibody) eklenir ve bu antikor da kaspaz-8’e bağlanır. Bir süre inkübe edildikten sonra bağlanmayan 2. antikor yıkama basamağı ile uzaklaştırıldı. Ardından anti-rabbit-IgG-HRP denilen enzim bağlı antikor eklenir ve bu antikor 2. antikora bağlanır. Tekrar bir inkübasyon sonrası yıkama ile bu defa bağlanmayan enzim bağlı antikorlar uzaklaştırıldı. Bu aşamadan sonra HRP enzimi ile reaksiyona girecek olan substrat solusyonu eklendi ve reaksiyon gerçekleştirildi. Sonuçta kaspaz-8 miktarı ile orantılı olarak renkli ürün ortaya çıkartıldı. Reaksiyon, asit eklenerek sonlandırıldı ve 450 nm dalga boyundaki

absorbans ölçüldü. Kaspaz-8 standartlarından hazırlanan eğri kullanılarak serum kaspaz-8 düzeyleri hesaplandı.

Serum **kaspaz-9** düzeyleri de aynı prensibe dayalı ELISA yöntemi ile hazır kit (Bender MedSystems, BMS2025, Vienna, Austria) kullanılarak çalışıldı. Ancak kitte yer alan antikorlar ve standartlar kaspaz-9 antikor ve standartları idi.

3.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 12,0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz verileri [ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca (%25-%75), (Min-Maks), n (%)] olarak sunuldu. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık sınırı olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Ölçülebilen parametrelere Kolmogorov-Smirnov testi uygulanarak dağılımın normal ya da anormal olup olmadığı belirlendi. Normal dağılım gösterenler için gruplar arasında fark olup olmadığını kıyaslamada bağımsız gruplarda Student t testi, normal dağılım göstermeyenlerde ise Mann Whitney U-testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Demografik Parametreler:

Bu çalışmada toplam 46 hasta yer aldı. Çalışmamıza dahil edilen hastaların demografik özellikler aşağıda sunuldu (Tablo 4.1).

	n=46
Yaş (yıl)	47,63±8,12 (35-67)
Boy (cm)	170,30±7,10 (158-183)
Ağırlık (kg)	78,83±7,07 (63-96)
BMI	27,25±2,67 (22,10-34,16)
Cinsiyet (E/K)	25/21

Tablo 4.1. Olguların demografik özellikleri [Ort±SS (Min-Maks), n]

Venöz Basınç Değerleri:

Çalışmamıza dahil edilen hastaların basınç değerleri aşağıda sunuldu (Tablo 4.2).

P	Alt Ekstremité	Üst Ekstremité
Ayakta	79,17±5,28 (66-91)	64,13±4,29 (59-71)
Yatarken	39,50±6,36 (25-54)	28,33±5.22 (22-47)

Tablo 4.2. Cerrahi uygulanan hastalarda basınç değerleri [Ort±SS (Min-Maks)]

CEAP Sınıflandırması:

Çalışmamıza dahil edilen hastaların CEAP verileri Tablo 4.3’de görülmektedir.

	n=46
3	14 (30,4)
4a	13 (28,3)
4b	12 (26,1)
5	4 (8,7)
6	3 (6,5)
CEAP	2,33±1,19 (1-5)3

Tablo 4.3. Olguların CEAP verileri [Ort±SS (Min-Maks), n (%)]

Laboratuvar Değerleri:

Prealbumin, albumin, homosistein ve CRP ölçümleri kıyaslandığında gruplar arası veriler benzer bulundu (Tablo 4.4).

	Grup Kol (n=46)	Grup Safen (n=46)	p
CRP	20,95 (13,03-24,13) (1,30-233,00)	20,55 (13,58-23,83) (2,25-75,50)	0,947
Prealbümin	19,34±4,48 (10,70-29,90)	19,32±4,51 (10,90-30,90)	0,989
Albümin	3,88±0,30 (3,30-4,50)	3,86±0,35 (3,10-4,60)	0,752
Homosistein	12,53±5,34 (6,90-37,00)	12,52±5,40 (6,90-37,60)	0,995

Tablo 4.4. Cerrahi uygulanan hastalarda CRP, prealbümin, albümin ve homosistein miktarı [Ort±SS, ortanca (%25-%75), (Min-Maks)]

Kaspaz- 8 ve Kaspaz- 9 Değerleri:

Cerrahi uygulanan hastalarda kaspaz 8 ve kaspaz 9 düzeyi Grup Kol ve Grup Safen bölgesinde karşılaştırıldığında ortalama kaspaz 8 ve kaspaz 9 düzeyi Grup Safen’de daha yüksek olduğu belirlenmiş ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$), (Tablo 4.5)

	Grup Kol (n=46)	Grup Safen (n=46)	P
Kaspaz 8	0,47±0,04 (0,40-0,63)	0,49±0,02* (0,43-0,52)	0,040
Kaspaz 9	1,40±0,22 (1,01-1,96)	1,58±0,23* (1,16-2,04)	<0,0001

* $p < 0,05$ Grup Kol ile karşılaştırıldığında

Tablo 4.5. Cerrahi uygulanan hastalarda kaspaz 8 ve kaspaz 9 miktarı [Ort±SS (Min-Maks)]

Kan Sayımı ve Lökosit Değerleri:

Hemoglobin, Hct, Rbc, MVC, MCH, MCHC, RDW verilerinin ortalama değerleri Tablo 4.6’da görülmektedir. Grup Kol ve grup Safen ortalamaları karşılaştırıldığında gruplar arası fark saptanmadı.

	Grup Kol (n=46)	Grup Safen (n=46)	P
Rbc	4,06±0,47 (3,22-5,21)	4,09±0,51 (3,21-5,17)	0,786
Hgb	12,26±1,48 (10,00-15,90)	12,61±1,52 (10,30-16,10)	0,266
Hct	36,30±4,12 (30,40-46,80)	37,14±4,10 (10,30-46,30)	0,334
MVC	86,50±3,49 (80,10-95,50)	86,82±3,35 (81,10-96,90)	0,660
MCH	29,30±1,63 (26,20-33,40)	29,50±1,47 (26,20-33,10)	0,547
MCHC	33,80±1,38 (30,50-36,50)	34,09±1,20 (31,60-37,40)	0,287
RDW	13,26±1,12 (11,60-15,30)	13,48±1,19 (11,60-16,70)	0,366

Tablo 4.6. Cerrahi uygulanan hastalarda Rbc, Hgb, Hct, MVC, MCH, MCHC ve RDW seviyeleri [Ort±SS (Min-Maks)]

Platelet, MPW, Pct, PDW verilerinin ortalama değerleri Tablo 4.7’de g r lmektedir. Grup Kol ve grup Safen ortalamaları karşılaştırıldığında gruplar arası benzer bulundu.

	Grup Kol (n=46)	Grup Safen (n=46)	P
Plt	197,09±43,09 (96-298)	208,11±48,14 (125-332)	0,250
MPW	8,76±1,24 (6,20-12,10)	9,05±1,39 (6,30-13,40)	0,290
Pct	0,17±0,06 (0,07-0,52)	0,18±0,07 (0,03-0,52)	0,534
PDW	16,01±0,93 (14,30-19,00)	16,34±0,90 (14,40-18,60)	0,088

Tablo 4.7. Cerrahi uygulanan hastalarda Plt, Mpw, Pct ve Pdw seviyeleri [Ort±SS
(Min-Maks)]

Beyaz küre (WBC), Lym, mono, neut, eos ve bas verilerinin ortalama değerleri Tablo 4.8’de görölmektedir. WBC, Lym (%), mono, neut, neut (%) ve eos (%) ortalama değerleri, Grup Kol ve grup Safen arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olduğu göröldü ($p<0,05$). Diğer ölçüm parametrelerinde ise Grup Kol ve grup Safen ortalamaları gruplar arası benzer bulundu ($p>0,05$).

	Grup Kol (n=46)	Grup Safen (n=46)	P
WBC	7,70±1,76 (4,10-11,70)	6,67±1,93* (4,20-13,70)	0,009
Lym (%)	28,52±7,47 (12,80-42,10)	32,90±6,42* (16,40-49,70)	0,003
Lym	1,69±0,52 (1,00-3,00)	1,80±0,58 (0,80-3,20)	0,363
Mono (%)	7,83±2,29 (2,90-13,60)	7,38±1,94 (2,50-10,80)	0,305
Mono	0,58±0,22 (0,10-1,20)	0,49±0,18 * (0,10-1,00)	0,030
Neut(%)	61,73±7,85 (50,40-78,70)	57,44±6,40 * (38,50-77,90)	0,005
Neut	4,16±1,85 (2,10-8,70)	3,40±1,53 * (2,10-10,30)	0,035
Eos(%)	1,49±0,85 (0,20-5,00)	1,89±1,02 * (0,00-4,70)	0,047
Eos	0,11±0,08 (0,00-0,30)	0,14±0,12 (0,00-0,70)	0,135

Baso(%)	0,54±0,34 (0,00-2,20)	0,52±0,31 (0,00-1,90)	0,726
Baso	0,03±0,06 (0,00-0,30)	0,03±0,10 (0,00-0,60)	0,896

***p<0,05 Grup Kol ile karşılaştırıldığında**

Tablo 4.8. Cerrahi uygulanan hastalarda WBC, Lym, Mono, Neut, Eos, ve Baso seviyeleri [Ort±SS (Min-Maks)]

5. TARTIşMA:

KVY, uzun zamandır tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olmasına rağmen hakkında fazla bilgi olmayan bir hastalıktır.  zerinde birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen genel kabul görmüş bilgiler ortaya konulamamıştır. Özellikle hastalığın patofizyolojisi ile ilgili bir çok teori ortaya sürülmüş olmasına rağmen kesin bir mekanizma üzerinde konsensus sağlanamamıştır.

Son yıllarda apopitozis tüm araştırmacılar tarafından ilgiyle izlenen bir konu haline gelmiştir. KVY ile ilgili yapılmış çalışmaları incelediğimizde, çalışmaların çoğunun apopitozis ve lökosit infiltrasyonu üzerinde yoğunlaşmış olduğunu tespit ettik. Bizde  alışmamızda bu iki parametreyi ve özellikle de birbirleriyle olan ilişkilerini ve etkileşimlerini araştırmayı hedefleyerek çalışmamızı dizayn ettik.

Apoptozis eski yunanca da yaprak dökümü anlamına gelmektedir ve günümüzde ‘Programlı Hücre  l m ’ için kullanılmaktadır. Apoptozis organizmanın gelişimi, patogeneze ve hücre transformasyonunda önemli rol oynamaktadır. Organizmanın devamlılığı ve homeostasisi için gerekli bir biyolojik s re tir¹⁹⁶. Bu süreçte, apoptozisin azalması veya artmasına bağlı çeşitli hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Ascher ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları çalışmada apoptozis regülasyonunun bozulmasına bağlı olarak venöz duvar yapısının bozulduğunu ve venöz yetmezliğe sebep olduğunu söylemişlerdir. Apoptozis sayesinde, venöz hipertansiyona ve reflüye bağlı olarak hasar görmüş ven duvar hücrelerinin ortamdaki uzaklaştırılarak yerine yeni ve sağlıklı hücrelerin

gelmesi sağlanmakta ve ven duvarının stabilitesi ve sağlamlığı korunmaktadır. Bu sürecin aksamaması ile venöz duvar yapı bozukluğu ortaya çıkmakta KVV' ye giden süreç başlamaktadır. Apoptozisin venöz yetmezlik patogeneğinde önemli bir yeri olduğunu düşündüğümüz için çalışmamızda apoptozis başlatıcı enzimleri olarak görev alan kaspaz-8 ve kaspaz-9 üzerine yoğunlaştık.

Venöz yetmezlik patofizyolojisi ile ilgili yıllardır ortaya atılmış bir çok teoriden bir tanesi de lökosit tuzak teorisidir. Coleridge ve arkadaşları yaptıkları çalışmayla ilk kez bu teoriyi dile getirmişlerdir. Daha sonraları yapılan çalışmalar bu teoriyi destekler nitelikte olmuştur ve lökosit tuzak teorisi çoğu bilim adamları tarafından genel kabul görür hale gelmiştir. Bu teoriye göre, venöz hipertansiyon ve reflüye bağlı olarak damar duvarında enflamasyon aktive olmaktadır. Enflamasyon sonucunda lökositler aktive olmakta ve damar duvarından damar dışına migrate etmektedirler. Damar dışına çıkan lökositlerin salgıladıkları serbest oksijen radikalleri ve sitokinlere bağlı olarak damar yapısı ve ileri safhalarda cilde kadar uzanan trofik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda damar duvarında ve özellikle kapakların etrafında aktive olmuş lökositler tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda kandaki lökosit miktarlarında azalma meydana geldiği görülmüş ve bu mikrosirkülasyonda aktive olarak takılmış lökositlerin varlığını işaret eder nitelikte bulunmuştur.

Son zamanlarda venöz yetmezliğin sadece lökosit aktivasyonu ile değil aynı zamanda yapısal ve patolojik sürece bağlı olduğu düşünülmüş olsa da açıklığa kavuşamamıştır¹⁸⁰. Aynı zamanda hipoksiye bağlı endotel değişiklikleri, azalmış apoptozis, enerji metabolizmasındaki azalmaya bağlı enzim değişiklikleri, artmış lizozomal aktivite, vasküler reaktivite kaybına bağlı venöz tonus değişiklikleri de suçlanmıştır. Hemen hemen tüm hipotezlerde başlangıç olarak venöz hipertansiyon ve etkileri sorumlu tutulmaktadır. Venöz HT bağlı olarak makromoleküller (fibrinojen, alfa2 makroglobulin, vb) ve RBC ekstravaze olurlar. RBC degradasyon ürünleri ve interstisiyel preoteinler ekstraselüler alanda kuvvetli kemoatraktan yapıdadırlar. Buna bağlı olarak lökosit infiltrasyonu başlar. Ardından ICAM-I miktarında mikrosirkülasyondaki damarlarda artış ortaya çıkar. ICAM-I, makrofaj ve lenfositler için diapedezi sağlayan adezyon molekülüdür. Başka bir çalışmada¹⁰¹ mikrosirkülasyonda sadece makrofaj ve mast hücreleriyle karşılaşıldığı ve lenfositlerin rolünün tartışmalı olduğu belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada da safen venden ve antekubital bölgeden aldığımız kanlardaki RBC miktarında anlamlı bir değişiklik tespit etmedik. Hatta ekstravaze olduğunu kabul ettiğimiz RBC miktarı düşüncemizin aksine safen venden alınan kanda çok az da olsa antekubital bölgeden alınan kandaki miktarına göre fazlaydı. Bizim çalışmamız bu çalışmalarda ki RBC miktarı ile ilgili farklı bir sonuç vermiştir. Ancak Thomas ve arkadaşlarının⁹⁸ 1988 de yaptıkları çalışma da, safenden alınan kandaki WBC miktarını %24 oranında azalmış bulunmuştur. Thomas ve arkadaşlarının sonuçları bizim çalışmamızdaki sonuçlarla uyumlu olmuştur. Çalışmamızda WBC miktarında anlamlı miktarda azalma tespit ettik.

Coleridge ve arkadaşlarının¹⁴ yaptıkları çalışmada, sistemik dolaşımdaki nötrofiller venöz hipertansiyona bağlı olarak venöz mikrosirkülasyonda takılmaktadırlar. Yavaşlamış kapiller kan akımına bağlı hipoksi olmakta ve nötrofiller aktive olmaktadır. Nötrofil aktivasyonuna bağlı toksik metabolitler degranüle olarak endotel hasarı yaparlar. Lökosit tuzak teorisinde problem, nötrofillerin aktive olarak kapiller dolaşımı tıkadığı hiçbir zaman gösterilememiş olmasıdır. Bizim çalışmamızda, safen venden alınan kandaki nötrofil miktarı antekubital bölgeden alınan kandaki nötrofil miktarına göre anlamlı olarak azalmış olduğunu tespit ettik. Nötrofillerdeki bu azalma Coleridge ve arkadaşlarının teorisini destekler niteliktedir. Ama nötrofillerin neden azaldığına dair herhangi bir açıklama getirmez. Coleridge' den yola çıkarak bu azalmanın nötrofillerin venöz hipertansiyona bağlı olarak ekstravaze olduklarını düşündürmektedir.

Pascarella ve arkadaşlarının¹⁸¹ 2008 yılında yaptıkları ratlar üzerindeki deneysel çalışmada, A-V fistül oluşturulduktan sonra yapılan doku incelemelerinde granülosit, makrofaj ve T-lenfosit sayılarında dokuda anlamlı artış tespit etmişlerdir. Bu bizim çalışmamızdaki monositlerin kanda neden azalmış olduğuna bir cevap oluşturmaktadır. Monositler ekstravaze olarak kandaki miktarları azalmaktadır. A-V fistül modelleri gerçek KVV presente edemese de belli bir zaman aralığında gözlem yapma imkanı sunması ve deneysel venöz hipertansiyon sağlaması açısından değerlidir. Normal şartlarda insanlarda KVV geliştiğinde akut dönemde granülositlerin yerine monosit infiltrasyonu beklenir¹⁸². Bu bizim çalışmamızı destekleyen başka bir bulgudur. Araştırmacılar

yinede belli bir zaman aralığında hangi lökositlerin veya nötrofillerin infiltrasyonunu gösteren bir teknik olmaması nedeniyle sadece yorumsal bir bulgu olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda lenfosit miktarı yüksek olarak tespit ettik. Bu sonuç yine bu çalışmayla uyumludur. Lenfositler miktar olarak artmıştır ve dokudaki miktarı da bu paralelde yüksek olacağını düşünmekteyiz.

Saharay ve arkadaşlarının¹⁸³ yaptıkları çalışma da migrasyon gösteren hücrelerin çoğu nötrofillerden ve azının da monositlerden oluştuğu görülmüştür. Lenfosit varlığı tespit edilmemiştir. Araştırmacılar sonuç olarak lökositlerin venöz hipertansiyona bağlı göç ettiklerini ve dokuda ilerlediklerini öne sürmüşlerdir. Bu lökositlerin çoğunun nötrofiller olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı bireyler de oluşturulan venöz hipertansiyona bağlı lökosit endotel hücre adezyonunun geri dönüşlü olduğunu tespit etmişlerdir. Oysa ki KVV' si olan bireylerde venöz hipertansiyon ortadan kalktıktan sonra bile CD11b miktarı düşük kalmış ve bunu da KVV de lökosit-endotel hücre adezyonun eksejere olduğuna yorumlamışlardır. Venöz hipertansiyona bağlı lökosit fonksiyonlarının bozulduğunu ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamız da da nötrofil, WBC, monosit miktarları kan örneklerinde anlamlı olarak azalmış bulunmuştur¹⁸⁴. Bizim yorumumuza göre enflamatuvar yanıt olarak bu kan elemanları ven duvarında ekstrasvaze olmuşlardır. Bu da Saharay ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyumlu bir sonuçtur.

Lökosit tuzak teorisine göre yüksek basınca bağlı dolaşım yavaşlamakta ve lökosit marjinalizasyonu, aktivasyonu, adezyonu ve ekstrasvasküler migrasyonu olmaktadır¹⁸⁵. Aktive olan lökositlerden salınan proteolitik enzimlerin ve serbest radikaller sonucunda da doku hasarı meydana gelmektedir. Bu bulgular

Wilkinson¹⁰⁰ tarafından 1993 te yapılan doku biopsileri ile ispatlanmaya çalışılmıştır.

Moyses ve arkadaşları¹⁸⁶ yaptıkları çalışmada 40 dakika oturduktan sonra ayak bileğinden alınan kanda WBC miktarının %20 azaldığını tespit etmişlerdir. Bekledikleri gibi platelet miktarında bir artış gösterememişlerdir. Bizim çalışmamız da bu sonucu desteklemektedir. WBC miktarı anlamlı olarak azalmıştır ancak platelet miktarı artmış olarak bulaşta istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Saharay ve arkadaşlarının¹⁸⁵ 1997 yılında yaptıkları çalışmada ayakta ve yatarken hastalardan kan alınarak sonuçları değerlendirilmiştir. Supin pozisyonundayken lökositlerin arttığı yatarken ise azaldığını tespit etmişlerdir. Nötrofiller anlamlı olarak azalırken monositlerdeki azalma anlamlı bulunamamıştır. Venöz hipertansiyona bağlı dolaşımdaki nötrofil ve monositlerde CD11b ve L-selektin ekspresyonu tespit etmişlerdir. Bass ve arkadaşlarının¹⁸⁷ yaptığı çalışmada söyledikleri gibi lökositler homojen dağılıma sahip değildirler. Buradan hareketle normal insanlarda lökosit- endotel adezyonun geri dönüşlü olabileceğini buna karşın KVV' si olan bireylerde adezyonun çok daha sıkı bir bağlantı oluşturarak dolaşımdaki lökosit sayısında belirgin azalma ortaya çıkacağını ileri sürmüşlerdir.

Ludbrook' a¹⁸⁸ göre venöz yetmezlik için 2 teori vardır. Birincisi kapak bozukluğuna bağlı venöz yetmezlik ortaya çıkar, ikincisi ise ven duvar defektine bağlı venöz dilatasyon olur ve kapak yetmezliği ortaya çıkar.

Takashi ve arkadaşlarının¹⁸⁹ yaptıkları çalışmada ven kapaklarında ve ven duvarında kronik makrofaj infiltrasyonuna bağlı KVV ortaya çıktığını ileri sürmüşlerdir. Media tabakasında fibrosis tespit etmişlerdir. Kollajen ve fibröz dokunun subintimada birikerek ven elastikiyetini bozduğunu ileri sürmüşlerdir. Yaptıkları bu çalışmada dokuda makrofaj ve T-lenfosit hakimiyeti bulmuşlardır.

Back ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada videomikroskopi ile kapillerlerde azalma tespit edilmiş ve bunun da lökositlerin mikrosirkülasyon da takılması ile açıklandığı savunulmuştur¹⁹⁰.

Takashi' nin yaptığı çalışmada özellikle makrofajların proteolitik enzimleri ile kapak ve duvarda hasar meydana getirdiği ve bunun da venöz yetmezlik ile sonuçlanabileceği savunulmuştur. Monosit birikimine bağlı kollegenazların da kapakların kısılmasına yolaçabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmalar ile uyumlu bir sonuç vermiştir. Çalışmamızda monosit sayıları safenden alınan kanda anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. Bu monositlerin ekstravaze olarak damarda biriktiğini göstermektedir. Makrofajlar bilindiği gibi monositlerden köken alırlar ve kandaki monosit miktarı subendoteliyal makrofaj miktarı ile koreledir.

Powell ve arkadaşlarının¹⁹¹ yaptıkları çalışmada sistemik venöz kanda platelet- monosit agregatlarını yüksek bulmuşlardır. Yaptıkları çalışmayla bu agregatların sistemik enflamatuvar bir yanıt mı yoksa KVV' ye mi bağlı olduğunu anlamaya çalışmışlardır. Aynı çalışmada KVV ile ilişkisini anlayabilmek için platelet- nötrofil agregatlarına da bakmışlardır. Hastalardan ayakta ve supin

pozisyonundayken hem safen venden hemde antekubital bölgeden kan alarak agregatları incelemişlerdir. KVV' si olan hastalarda anlamlı olarak platelet-monosit miktarında yükseklik tespit etmiş olmalarına rağmen kol ve bacak arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Epinefrin, ADP veya TRAP kullandıklarında yine KVV' si olan hastalarda çok yüksek sayılarda agregat tespit etmelerine rağmen kol ve bacak arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Ülseri olan ve ülseri olmayan hastalarda da anlamlı bir fark tespit edememişlerdir. Platelet- nötrofil agregatları anlamlı bir fark göstermese de sağlıklı kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Monosit CD11b miktarı sağlıklı gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş olsada bacak ve kol arasında fark gösterememişlerdir. Nötrofil CD11b miktarı tüm gruplarda benzer görülmüştür. Araştırmacılar bu agregatların venöz endotelde ve kapaklarda hasar meydana getirerek venöz yetmezliğe yol açabileceğini öne sürmüşlerdir. Bilindiği gibi lökositler aktive olduklarında serbest radikaller, kemoatraktan maddeler, hidrolaz, araşidonik asit metabolitleri, platelet aktive edici faktörleri sentezleyebilirler. Aktive olan platelet ise IL-1 ve TNF- α aracılığıyla lökosit adezyonu arttırabilirler. Bunun sonucunda ise endotel hasarı ortaya çıkabilir. Bizim çalışmamızda ise platelet miktarı anlamlı olmasa da safenden alınan kanda yüksek bulunmuştur. Monosit ve nötrofil sayılarının safen venden alınan örnekler de düşük olması iki şekilde yorumlanabilir. Birincisi monosit ve nötrofiller ekstrasvaze olmuş olabilirler, ikincisi plateletler ile agregat oluşturarak ölçümlerinde düşüklük tespit edilmiş olabilir. Her iki durumda da monosit ve nötrofil miktarları Powell ve arkadaşlarının¹⁹¹ çalışmasını desteklemektedir.

Takase ve arkadaşlarının¹⁹² 1999 yılında yaptıkları çalışmada monositleri hem endotelde hemde ven duvarında makrofajlarla ve intraselüler adezyon molekülleri ile yakın ilişki halinde tespit etmişlerdir. Bu bulguya dayanarak aktive olmuş lökositleri ven duvar hasarı meydana getirebileceğini ileri sürmüşlerdir. Çalışmada yatar pozisyonundaki hastaların antekubital bölgelerinden kan almış ve bu kanda NBT (Nitroblue Tetrazolium) redüksiyonu ve psödopot oluşumuna bakmışlardır. NBT redüksiyonunun artması süperoksit varlığında olmaktadır. Psödopot oluşumu ise aktive olan lökositlerde görülmektedir. KVV' si olan hastalarda hem NBT yüksekliği ve hemde psödopot artışını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada endotele penetre olan monositlerin makrofajlara dönüştüğünü de tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın bizim çalışmamızdaki düşük monosit seviyesini destekler sonuçları vardır.

Moyses' in¹⁸⁶ yaptığı çalışmada venöz hipertansiyona maruz bırakılan sağlıklı bireylerden alınan safen kanında hematokrit ve RBC yüksekliği tespit etmiştir. Lökosit miktarının %20 sinin sirkülasyonda kaybolduğunu göstermiştir. Yine Thomas ve arkadaşlarının⁹⁸ yaptığı çalışmada 60 dakika venöz hipertansiyona maruz kaldıktan sonra lökosit miktarının % 30 azaldığını göstermişlerdir. Her iki çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla benzerdir. Lökosit miktarları endotelden ekstrasvazasyon sonucu kanda miktar olarak azalmaktadır.

Takase ve arkadaşları¹⁹³ 2004 yılında ratlarda A-V fistül oluşturarak yaptıkları çalışmada kontrol venlere göre basınca maruz kalan ven kapak ve duvarında granülosit, monosit, makrofaj, t-lenfosit ve az da olsa B-lenfosit

miktarlarını anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Kapakları incelediklerinde, kapakların dilate olduğunu ve leaflet uzunluğunun azaldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada akut artan bir basınç sözkonusudur ve kronik basınca maruz kalan bir damarla aynı özellikleri göstermeyebileceğini düşünmekteyiz. Araştırmacılar kronik süreçte monosit ve makrofajların ağırlıkta olduğunu kabul etmişlerdir. Ratlardaki çalışma bizim çalışmamızla benzer olmasa da sonuçları bizim çalışmamızla anlamlı benzerlik göstermektedir.

Takase ve arkadaşlarının¹⁹⁴ yine 2004 yılında yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar tespit etmişlerdir.

Pascarella ve arkadaşlarının¹⁹⁵ 60 adet ratta femoral A-V fistül oluşturarak yaptıkları çalışmada, kapak ve ven duvar yapısında özellikle media tabakasında bozulma ve fibrosis görülmüştür. Ayrıca MMP-2 ve MMP-9 miktarında artış saptanmıştır. Sonuçları yorumlayan araştırmacılar, yaptıkları çalışmadaki morfolojik değişikliklerin venöz yetmezliği tek başına açıklayamayacağını ve enflamasyona bağlı lökositlerin rolünün buldukları sonuçlarda etkili olduğunu söylemişlerdir. Ekstravaze olan makrofajların MMP salgılayarak ekstraselüler alanda kollajen yıkımına etkileri olduğunu savunmuşlardır.

Variköz ven oluşumunda proteolitik enzim olan metalloproteinazlar ve onların inhibitörü TIMP ler rol almaktadır ve ven duvar remodellinginde, dilatasyonunda ve kapak bozukluğunda etkili olmaktadır. MMP ler embriyogeneizde, yara iyileşmesinde, remodeling de, neoplastik invazyonlarda ve metastazda, deri ve granümatöz hastalıklarda, yaşlanmada ve kronik yaralarda

önemli rolü olan enzimlerdir. MMP' ler sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından regüle, TIMP' ler tarafından inaktive edilirler¹⁹⁶. Jacob ve arkadaşları¹⁹⁷ 2002 yılında yaptıkları çalışmada, ayakta duran hastaların brakiyal ve safen venlerinden kan almışlardır. Safenden alınan kanda anlamlı olarak MMP-9, ICAM-I, VCAM-I, ACE ve lökosit aktivasyonunda artış tespit etmişlerdir. Buradan hareketle MMP lerin lökositleri ve endoteli etkileyen önemli proteolitik enzim olduklarını söylemişlerdir.

İriz ve arkadaşlarının²³ 2008 yılında yaptıkları çalışmada, venöz yetmezliği bulunan hastalardan alınan safen biopsilerinde kontrol grubuna göre anlamlı miktarda bcl-2 ekspresyon yüksekliği tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmada Bax ve p53 değerlerinde bir değişiklik saptamamışlardır. İntimal konnektif dokuda ve intimada kalınlaşma tespit etmişlerdir. Elastik lamina kaybı gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar bunu antiapoptotik protein olan bcl-2 miktarının artışına bağlı apoptozisin baskılanarak dokunun kendini yenileme yeteneğini kaybetmesine yorumlamışlardır. Bilindiği gibi bcl-2 hücre lipid peroksidasyonunu düzenlemektedir. Serbest oksijen radikallerine bağlı lipid peroksidasyonu dolayısıyla bcl-2 üzerinden apoptozisin etkilenebilmesi mümkündür. Bizim çalışmamızda apoptozisin başlatıcı enzimleri olarak görev alan kaspaz-8 ve kaspaz-9 miktarları safen venden alınan kanda koldan alınan kandaki miktarlarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Doku düzeyinde az olduğunu varsaydığımız kaspaz miktarlarının kandaki düzeylerinin yüksek bulunması iki çalışmanın birbiriyle benzer sonuçlandığını göstermektedir. Apoptozis başlatılmaya çalışılsa da İriz ve arkadaşlarının ortaya koyduğu gibi çeşitli

faktörler nedeniyle tetiklenemediğini ve sonucunda da variköz yapıların ortaya çıktığını düşünmekteyiz.

Ducasse ve arkadaşlarının²¹ yaptıkları çalışmada safen venden alınan biopsi örneklerindeki media tabakasını incelemişlerdir. Peroksidaz, Bax ve kaspaz-9 miktarlarını anlamlı olarak azalmış bulmuşlardır. Bu sonuçları, intrinsik (mitokondriyal yol) apoptozis yolundaki azalmaya bağlı olarak venöz yetmezliğin ortaya çıkabileceği yönünde yorumlamışlardır. Bizim çalışmamızda Ducasse ve arkadaşlarının²¹ aksine kanda kaspaz oranlarını yüksek bulmamız Ducasse'ın çalışmasıyla ters düştüğümüz gibi gözükse de aslında başlatıcı enzimler olan kaspaz-8 ve kaspaz-9' un kanda artacağını beklemekteydik. Safen bölgesinde apoptozun tetiklendiğinin ama dokuda buna cevap verilemediğinin göstergesi olduğunu ve bu bağlamda Ducasse la aynı sonuca vardığımızı düşünmekteyiz.

Ducasse ve arkadaşlarının¹⁹⁸ 2008 yılında yaptıkları benzer çalışmada, peroksidaz, kaspaz-9 ve bax miktarları azalmış, fas ligandı ve kaspaz 8 miktarlarının değişmediği gösterilmiştir. Araştırmacılar eski çalışmaları ile sonuçların uyumlu olduğunu ve intrinsik yolun etkilenmesine bağlı apoptozisin azalarak venöz yetmezliğe yol açtığını ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızdan bu çalışmanın farkı ise bizim çalışmamızda ekstrinsek yolu etkileyen enzim olan kaspaz-8 anlamlı miktarda yüksek bulduğumuzdur. Ducasse ve arkadaşlarının çalışmalarında doku örnekleri kullanılmıştır ve doku da kaspaz-9 miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızdaki kaspaz-9 miktarındaki artış başta Ducasse'ın çalışmasıyla çelişiyor gibi gözükse de aslında uyumludur. Kanda

kaspaz-9 miktarının artışı, apoptozisin tetiklenmeye çalışılsa da apoptozisin başlatılamadığı için enzim düzeyleri yüksek olmaktadır. Bu iki çalışmayı değerlendirdiğimizde her iki çalışmada apoptozisin azalmasına bağlı venöz yetmezlik geliştiğini ileri sürmektedir ancak bizim çalışmamızın sonuçlarına göre hem intrensek hemde ekstresek yol etkilenmektedir.

Joshi ve arkadaşları¹⁹⁹ 2003 yılında septik şokta apoptozis ve enflamasyon ilişkisini inceledikleri bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada apoptozisin arttığını tespit etselerde özellikle enflamatuvar yanıtla dual bir ilişki içinde olduğunu ve birlikte sepsisi arttırdığını iddia etmişlerdir. Lenfositlerin reseptörlerinin organizmayı korumak için apoptozisle aktive olmasını önlediğini ve mitojenik aktivasyona uğramış monosit ve nötrofillerin Bfl-1 gibi Bcl-2 ailesinden genler üzerinden apoptozis yollarını inhibe edebildiğini söylemişlerdir. Araştırmacılar apoptozisle enflamasyon arasında sinerjistik bir etkileşim içinde olduğunu iddia etmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki yüksek lenfosit miktarı bu çalışmayla uyumludur.

Werner ve arkadaşlarının²⁰⁰ yaptıkları çalışmada apoptozisin azaldığı tek bir fare örneğinde hipertansiyona rastlamış olmaları ilginç ve bizim çalışmamızla uyumlu bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır.

Wilson ve arkadaşları²⁰¹ yaptıkları çalışmada atletlerde lökosit telomeraz aktivitesi artarken proapoptotik proteinlerin azaldığını söylemişlerdir. Bizim ileri sürdüğümüz gibi yüksek basınca maruz kalan venlerde apoptozisin azaldığını düşündüren bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır.

2000 yılında Ascher ve arkadaşları¹⁹ ilk kez venöz yetmezlik patogeneğinde apoptozisin deregülasyonundan bahsettikleri çalışmalarını yayınlamışlardır. Bu çalışmada sağlıklı ve venöz yetmezlikli hastalardan alınan dokular çalışıldığında media ve intima tabakalarında apoptozisin belirgin olarak azaldığını tespit etmişlerdir.

Yine Ascher ve arkadaşlarının²⁰ başka bir çalışmasında Bax proteinini venöz yetmezliği olan damar adventisyasında anlamlı olarak azalmış bulmuşlardır. Ayrıca PARP miktarını da azalmış olarak tespit etmişlerdir. Bu iki proapoptotik maddenin azalmasını apoptozis azalarak venöz yetmezliğe yolaçabileceği yönünde yorumlamışlardır. Ascher her iki çalışmasında da doku örnekleri üzerinden apoptozis proteinleri üzerine çalışmış olsa da bizim çalışmamızın sonuçlarıyla tamamen uyumlu sonuçlar tespit etmiştir. Apoptozis başlatıcı enzimlerinden olan kaspaz-8 ve kaspaz-9 miktarlarını patoloji olan bölge kanında anlamlı olarak yüksek bulduğumuz çalışmamızın sonuc olarak apoptozisin aynı bölgede tetiklenemediği ve doku düzeyinde azalmış olabileceğini söyleyebiliriz.

Kanduc ve arkadaşlarının²⁰² yaptığı çalışmada apoptozis mekanizmasında özellikle serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun rolü üzerinde durmuşlardır. Bu sebeplerden apoptozisin tetiklenebilmesinin daha kolay olduğunu söylemişlerdir. Aynı zamanda apoptozise nazaran nekrosiste enflamasyonun ortaya çıktığını ve apoptoziste görülen enflamasyonun daha ölmemiş olan hücrenin kendini son savunması olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yani apoptozise uğramamak adına hücrenin enflamasyonu tetiklediğini savunmuşlardır.

Elmore' un¹¹¹ yazısında bazı hücrelerin Fas ve TNF reseptörleri aracılığıyla apoptozise ilerlerken bazı hücrelerinde büyüme faktörü ve hormonlar tarafından bloke edilen varsayılan apoptotik yola sahip olabileceğini söylemiştir.

Knappen ve arkadaşlarının²⁰³ yaptıkları çalışmada, venöz yetmezliği olan hastaların damarlarıyla normal damarlar karşılaştırılmış ve media tabakasında SMC proliferasyonu veya SMC apoptozisi bulgusuna rastlanmamıştır. Ancak adventisyada apoptozis markerları pozitif bulunmuş fakat lökosit ve makrofaja rastlanmamıştır. Araştırmacılar bu sonucu apoptozisin arttığı yönünde yorumlamışlardır. Bu sonuç bizim çalışmamızla ters düşmektedir. Çalışmada damar tabakaları TUNNEL assay yöntemiyle incelenmiştir. Bizim yorumumuza göre, apoptozis dereğölasyonu veya azalması venöz yetmezliği ortaya çıkarmaktadır. Sonuçta damarda apoptozis tamamen durmamaktadır sadece azalmaktadır. Knappen ve arkadaşlarının aldıkları sonuç bu az da olsa devam eden apoptozis aktivitesine ait olabilir diye düşünmekteyiz.

Urbanek ve arkadaşlarının²⁰⁴ yaptıkları çalışmada safen proksimal bölgesinde p53, p21 ve bcl-2 miktarları yüksek bulunmuştur. Genç hastaların distal damar mediasında artmış apoptozis tespit etmişlerdir. Örnek dokularda enflamasyon tespit etmişler ve enflamasyon faktörünü her zaman akılda bulundurmak gerektiğini belirtmişlerdir. Bu çalışma bizim çalışmamızla uyumlu bir sonuç vermiştir.

Gecikmiş apoptozis SIRS ve ARDS gibi enflamatuvar bozukluklarla ilişkilidir. Nötrofillerde yüksek oranda kaspaz-3 bulunur. Nötrofil apoptozisi sonucu ortama çıkarlar. İzole nötrofillerde Fas dirençli antikorlar tespit etmişler ve bunun kaspaz-3 alterasyonuna bağlı olduğunu söylemişlerdir ancak kaspaz-8 de herhangi bir değişiklik tespit edememişlerdir²⁰⁵. Aktive nötrofillerdeki apoptozisin azalmasına bağlı akut pankreatitteki hasarın arttığını söylemişlerdir. Nötrofil apoptozisini geciktirdiği bilinen IL-1B ve GM-CSF miktarlarını yüksek tespit etmişlerdir. Kaspaz-8 miktarında değişiklik tespit edilememiş olsada kaspaz-3 miktarında anlamlı azalma tespit etmişlerdir ve araştırmacılar bunu kaspazlarda farklı aktivasyona ve apoptozise direncin artmasına bağlamışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre bizim çalışmamızdaki nötrofil yüksekliği iki anlama gelebilir; birincisi nötrofil miktarı apoptozise uğramamalarına bağlı olarak yüksek bulunmuştur ve nötrofil merkezli ven hasarı artmıştır. İkincisi ise kaspaz-3 değişikliğine bağlı nötrofil apoptozu azalmıştır ve buna bağlı eksejere bir enflamatuvar yanıt vardır ve kaspaz-3 değişikliğine bağlı apoptoziste deregülasyon meydana gelerek hem nötrofilleri hemde ven duvarını etkilemiştir diye düşünmekteyiz.

Safen ven ve spermatik venlerde yapılan doku çalışmasında media tabakasında hipertrofi, bcl-2 ekspresyonu, kaspaz-9 ve kaspaz-3 düşüklüğü gösterilmiştir²⁰⁶. Fas ve kaspaz-8 miktarlarında anlamlı değişiklik gösterilememiştir. Sonuçlara göre venöz yetmezlikte görülen apoptozis azalmasının varikoselde de aynı olduğunu ve apoptozis deregülasyonunu

gösterdiğini söylemişlerdir. Bu çalışma bizim çalışmamıza benzerlik göstermese de apoptozisin azaldığının göstergesi olarak çalışmamızla uyumlu ve değerli bir veri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızın merkez noktasını venöz yetmezliğin ortaya çıkış mekanizması oluşturmaktadır. Yıllardır üzerinde çalışılmış olsa da hala venöz yetmezliğin nasıl ortaya çıktığı kesinlik kazanmamıştır. Bizde bu nokta da, venöz yetmezliğin patogenezinde önemli rolü olduğunu düşündüğümüz iki mekanizmayı ve birbirleriyle olan ilişkilerini araştırmayı amaçlayarak bu çalışmayı yaptık.

Venöz yetmezlik primer olarak venöz hipertansiyona bağlı reflü sonucu ortaya çıkmaktadır. Basınca maruz kalan endotele lökositler adezyon yapmakta daha sonra endotelden ekstravaze olarak ekstraselüler alana geçmekte ve aktive olmaktadır. Aktive olan lökositler serbest oksijen radikalleri, serbest süperoksitler ve sitokinleri salgılamaktadırlar. İnfiltrate olan lökositler matriks protein döngüsünü growth faktörler, MMP' ler ve proienflamatuvar mediatörleri aracılığıyla etkiler. Lökositlerin erken infiltrasyonu takiben serin proteazları sayesinde elastin yıkımını ve MMP aktivasyonu başlar²⁰⁷. Yapılan çalışmalarda monositlerin ve makrofajların özellikle kapak etrafında biriktikleri gösterilmiştir.

Apoptozis, dokunun devamlılığı için gerekli bir mekanizmadır. Bu süreçteki herhangi bir dengesizlik, dokunun yapısında bozulma meydana getirir. Venöz yetmezlikte apoptozisin azaldığı veya deregüle olduğuna inanılarak yapılmış bir çok çalışma vardır. Basınca maruz kalan ven hücrelerinde apoptozis dengesinde bozulma olmasaydı etkilelenen hücrelerin yerine yeni ve sağlıklı

hücreler gelirdi ve venin sağlam yapısı korunmuş olurdu. Ancak burada karşımıza iki soru çıkmaktadır. Bunlardan ilki hangi mekanizma venöz yetmezliği ortaya çıkarmaktadır ve ikincisi de eğer iki mekanizma da olayda rol oynuyorsa birbirleriyle olan ilişkileri nedir.

Çalışmamızda yaptığımız basınç ölçümlerinde, safen düzeyindeki venöz basınç aynı zamanda brakiyal ven düzeyindeki basınçtan anlamlı olarak yüksek tespit ettik. Literatürdeki çalışmalarda ölçülen basınç değerlerine benzer sonuçlar elde ettik. Ayrıca çalışmamızın sonuçlarına göre apopitozis başlatıcı enzimleri olan kaspaz-8 ve kaspaz-9 yetmezlik olan bölge de anlamlı olarak artmış bulduk. Bunu apopitozis tetiklenmesi gerçekleşmiş olsada doku düzeyinde apopitozisin başlatılamamış olmasına yorumladık. Aynı zamanda, yetmezlik olan bölgeden alınan kan örneklerinde anlamlı olarak monosit, nötrofil ve T-lenfosit yüksekliği tespit ettik. Bunun enflamatuvar yanıtın başlamış ve aktif olduğunun ve lökosit infiltrasyonu sonucunda lökositlerin mikrosirkülasyonda takıldığının göstergesi olduğunu düşünüyoruz.

Bilindiği gibi aktive olan lökositlerin salgıladıkları birçok sitokin vardır. Bunlardan bir tanesi de makrofaj ve monositlerin salgıladıkları IL-15 ve TNF alfa dır. Bu iki sitokininin apopitozisi geciktirdiği bilinmektedir. Kan örneklerinde monosit miktarını yüksek bulduğumuz göz önüne alınırsa bu monositlerden IL-15 ve TNF alfa salınarak apopitozisi azaltmalarının mümkün olabileceğini düşünüyoruz.

Enflamasyona geçikmiş yanıt sonucunda CRP, Plazminojen aktvator protein-I, CD40 ligand interaksyonları, proteaz aktivatör protein-I ve TNF, interferon gibi sitokinler salınır. Ekstraselüler matrikste enflamasyon sonucu adezyon moleküllerinde artış meydana gelir ve monosit, lenfosit, nötrofil ve makrofaj miktarı artar ve MMP ve büyüme faktörü gibi ek sitokinler olaya eklenir. IL-1B (kaspaz-1) monosit, makrofaj ve t-lenfositlerden salınan sitokinlerdendir. Büyüme faktörlerinin apoptozisi azalttığı bilinmektedir. Bu enflamatuvar olayda ortaya çıkan büyüme faktörlerinin apoptozisin azalmasında rolü olabilir.

Aynı zamanda kaspaz kaskadı tetiklendikten sonra tüm kaspazların aktive olabildiği hatta kaspaz kaskadının hiçbir uyaran olmadan kendiliğinden aktifleşebileceği bilinmektedir. Çalışmamızda anlamlı olarak yüksek bulduğumuz kaspaz-8 ve kaspaz-9 aktive olduktan sonra kaspaz-1 yani IL-1Beta aktive olmuş olabilir. IL-1Beta bilindiği gibi GM-CSF ve G-CSF üzerinden nötrofil apoptozisini azaltmaktadır. Nötrofil apoptozisi azaldığında 2 sonuç ortaya çıkabilir. Apoptozise uğramayan aktive nötrofillerin ven üzerindeki hasarı artabilir, miktarı artan nötrofillerin salgıladıkları sitokinlere bağılı apoptozis azalabilir ve yine sonucunda ven hasarı artabilir. Her iki durumda da venöz yetmezlik süreci artarak devam edecektir. Nötrofiller, invazyon ve migrasyonda rol oynayan MMP-9 primer kaynağıdır. MMP-2 ise düz kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından yapılan ve damar hasarına cevap olarak salınan enzimlerdir. MMP sentezi ile ekstraselüler alanda fibrozis ve kalınlaşmanın meydana gelmesi sonucunda ven yapısındaki bozulma artmaktadır. Nötrofillerin

ve monositlerin IL-1Beta ve TNF alfa salgıladıkları düşünülürse olay kısır döngüye girecektir. Ekstraselüler alana geçen lökositler aynı zamanda büyüme faktörlerini salgılamaktadırlar. Büyüme faktörlerinin apoptozisi inhibe ettikleri bilinmektedir. Çalışmamızdaki yüksek nötrofil ve monosit miktarları bu açıdan da ayrı bir önem kazanmaktadır.

Düşüncemize göre, venöz yetmezliğin ortaya çıkmasında hem enflamatuvar yanıtın hemde apoptozisin çok önemli yeri vardır. Bu iki mekanizmanın biyokimyasal düzeyde birbiriyle etkileşim içinde olması kuvvetle muhtemeldir. Yalnız apoptozisin azalmasının enflamasyonu arttırdığına dair bir bulgumuz olmamıştır. Ancak enflamasyonun apoptozisi geciktirdiği veya azalttığı fikri daha ön plana çıkmaktadır. Bu konuyla ilgili ileride yapılması gereken pek çok çalışma olması gerektiğini düşünüyoruz. Mekanizmanın daha iyi anlaşılması ve sorumlu patogenezin ortaya konması eminiz ki bu hastalığın tedavisinde yeni ufuklar açacaktır.

Sonuçlar:

1. Çalışmada safen venden yapılan basınç ölçümünde brakial vendeki basınçlara göre yüksek bulunmuştur.
2. Çalışmaya dahil edilen hastaların homojen bir dağılım göstermesi için 25 erkek ve 21 kadın dahil edilmiştir.
3. CRP, Albumin, Prealbumin ve Homosistein değerleri safen vende çok az da olsa düşük tespit edilmiş olmasına rağmen anlamlı değildir.
4. Safen venden alınan kandaki Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
5. Safen venden alınan kandaki RBC ve Hb değerleri yüksek bulunmuş olsada istatistiksel olarak anlamlı değildir.
6. Çalışmada safen venden alınan kanda platelet değerleri brakial venden alınan kandaki değerlere göre yüksek bulunmuş olsada istatistiksel olarak anlamlı değildir.
7. Çalışmada safen venden alınan kanda WBC, monosit, nötrofil ve eozinofil değerleri brakial venden alınan kandaki değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur.
8. Çalışmada safen venden alınan kanda lenfosit değerleri brakial venden alınan kandaki değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.
9. Çalışmada ulaştığımız sonuçlara göre, venöz yetmezlik etiyopatogenezinde enflamasyonun ve apoptozisin tartışılmaz bir etkisi

vardır. Enflamasyon apoptozisin azalmasına direkt etki ederken apoptozisin enflamasyona direkt bir etkisi olmadığını düşünüyoruz.

6. KAYNAKLAR:

1. DeWeese JA. Treatment of venous disease: the innovators. J Vasc Surg 1994; 20: 675- 83
2. Bergan JJ. Historical highlights in treating venous insufficiency. In: Bergan JJ, Yao JST, eds. Venous Disorders. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1991: 3- 15
3. Callam MJ. Epidemiology of varicose veins. Br J Surg 1994; 81: 167- 73
4. White GH. Chronic Venous Insufficiency. In: Veith F, Hobson RW, Williams RA, Wilson SE, eds. Vascular Surgery. New York: McGraw- Hill, 1993: 865- 88
5. Laufman H: The Veins, Austin, silvergirl, 1986.
6. Browse NL, Burnand KG, Lea TM: Disease of the Veins. London, EH Arnold, 1988, p 5
7. Carpentier PH, Maricq HR, Biro C, et al. Prevalence, risk factors and clinical patterns of chronic venous disorders of lower limbs: a population based study in France. J Vasc Surg 2004; 40: 650- 59
8. Jawien A, Grezela T, Ochwat A. Prevalence of chronic venous insufficiency in men and woman in Poland. Phlebology 2003; 18: 110- 21
9. Myers D, Wroblewski S, Landy F, et al. New and effective treatment of experimentally induced venous thrombosis with anti- inflammatory rPSGL- Ig. Thromb Haemost 2002; 87: 374- 82

10. Henke PK, Varga A, De S, et al. Deep vein thrombosis resolution is modulated by monocyte CXCR2 mediated activity in a mouse model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1130- 7
11. Homans J. The etiology and treatment of varicose ulcer of the leg. *Surg Gynecol Obstet* 1917; 24: 300- 11.
12. Pratt GH. Arterial varices; a syndrome. *Am J Surg.* 1949 Apr;77(4):456-60.
13. Browse NL, Burnand KG. The cause of venous ulceration. *Lancet.* 1982 July 31; 2 (8292): 243-5.
14. Smith PD, Thomas P, Scurr JH, Dormandy JA. Causes of venous ulceration: a new hypothesis. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1988 Jun 18; 296(6638):1726-7
15. Rose A: Some new thoughts on the etiology of varicose veins. *J Cardiovasc Surg* 27:534-543, 1986
16. Travers JP, Brookes CE, Evans J, Baker DM, Kent C, Makin GS, Mayhew TM. Assessment of wall structure and composition of varicose veins with reference to collagen, elastin and smooth muscle content. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996 Feb;11(2):230-7.
17. Jurukova Z, Milenkov C. Involvement of smooth muscle cells in collagen degradation in the postpartum uterus. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol.* 1981;37(2):237-44.

18. Maurel E, Azema C, Deloly J, Bouissou H. Collagen of the normal and the varicose human saphenous vein: a biochemical study. *Clin Chim Acta*. 1990 Dec 13;193(1-2):27-37.
19. Ascher E, Jacob T, Hingorani A, Gunduz Y, Mazzariol F, Kallakuri S. Programmed cell death (Apoptosis) and its role in the pathogenesis of lower extremity varicose veins. *Ann Vasc Surg*. 2000 Jan;14(1):24-30.
20. Ascher E, Jacob T, Hingorani A, Tsemekhin B, Gunduz Y. Expression of molecular mediators of apoptosis and their role in the pathogenesis of lower-extremity varicose veins. *J Vasc Surg*. 2001 May;33(5):1080-6.
21. Ducasse E, Giannakakis K, Chevalier J, Dasnoy D, Puppink P, Speziale F, Fiorani P, Faraggiana T. Dysregulated apoptosis in primary varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005 Mar;29(3):316-23.
22. Bujan J, Jimenez-Cossio JA, Jurado F, Gimeno MJ, Pascual G, Garcia-Honduvilla B et al. Evaluation of the smooth muscle cell component and apoptosis in the vein wall. *Histol Histopathol* 2000;15:745–752.
23. Iriz E, Vural C, Ereren E, Poyraz A, Erer D, Oktar L, Gokgoz L, Halit V, Soncul H. Effects of calcium dobesilate and diosmin-hesperidin on apoptosis of venous wall in primary varicose veins. *Vasa*. 2008 Aug;37(3):233-40.

24. Wallach D, Varfolomeev EE, Malinin NL, Goltsev YV, Kovalenko AV, Boldin MP. Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Annu Rev Immunol* 1999;17:331– 367.
25. Yuan J. Transducing signals of life and death. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:247–251.
26. Reed JC. Cytochrome c: can't live with it; can't live without it. *Cell* 1997;91:559–562.
27. Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281:1309–1312.
28. Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, Chapter 17; The cell cycle and Programmed cell death. Fourth Edition, New York: Garland 2002:983-1026
29. Caggiati A. Fascial Relationship of the long saphenous vein. *Circulation*. 1999; 100: 2547- 9
30. Cavezzi A, Labropoulos N, Partsh H, et al. Duplex ultrasound investigation of the veins in CVD of the lower limbs. Part II, Anatomy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 31: 288- 299
31. Uhl J-F, Gillot C. Embryology and three dimensional anatomy of the superficial venous system of the lower limbs. *Phlebology* 2007; 22: 194- 206

32. Woolard RH. The development of the principal arterial stems in the forelimb of the pig. Carnegie Institution of Washington 1992; 14 (70): 139- 154
33. Nicholson CP, Gloviczki P. Embryology and development of the vascular system. Vascular Surgery: Basic Science and Clinical Correlations, Philadelphia: JP Lippincott, 1994: 3- 20
34. Carlson BM. The development of the circulatory system. Patten's Foundations of Embryology, 5th edn, New York: McGraw- Hill, 1988: 586- 627
35. Browse NL BK, Irvine AT, Wilson NM. Embryology and radiographic anatomy. 1999; 23- 48
36. Noel AA, Gloviczki P, Cherry KJ, et al. Surgical treatment of venous malformations in Klippel- Trenaunay syndrome. J Vasc Surg 2000; 32: 840- 847
37. Cherry KJ, Gloviczki P, Stanson AW. Persistent sciatic vein: diagnosis and treatment of a rare condition. J Vasc Surg 1996; 23: 490- 497
38. Gloviczki P. Vascular malformations. In: Moore WS, ed. Vascular and Endovascular Surgery: a comprehensive review, 7th edn. Philadelphia, PA: Saunders, 2005
39. Mozes G, Gloviczki P. New discoveries in anatomy and new terminology of leg veins: clinical implications. Vasc Endovasc Surg 2004; 38: 367- 374

40. Braverman IM. The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organization. *Microcirculation* 1997; 4: 329- 340
41. Thomson H. The surgical anatomy of the superficial and perforating veins of the lower limb. *Ann R Coll Surg Engl* 1979; 61: 198-205
42. Caggiati A, Bergan JJ. The saphenous vein: derivation of its name and its relevant anatomy. *J Vasc Surg* 2002; 35: 172- 175
43. Caggiati A. Fascial relationships of the short saphenous vein. *J Vasc Surg* 2001; 34: 241- 246
44. Pang AS. Location of the valves and competence of the great saphenous vein above the knee. *Ann Acad Med Singapore* 1991; 20: 248-250
45. Basmajian JV. Distribution of valves in femoral, external iliac and common iliac veins and their relationship to varicose veins. *Surg Gyn Obstet* 1952; 95: 537- 542
46. Linton RR. The communicating veins of the lower leg and the operative technique for their ligation. *Ann Surg* 1938; 107: 582- 593
47. Mozes G, Gloviczki P, Kadar A, Carmichael SW. Surgical anatomy of the perforating veins. In: Gloviczki P, Berga JJ, eds. *Atlas of endoscopic Perforator vein surgery*. London; Springer- Verlag, 1998: 17-28
48. Patrick JG. Blood vessels. In: Strenberg SS, ed. *Histology for pathologist*. New York: Raven Press, 1992: 195- 213

49. Shepherd JT. Role of the veins in the circulation. *Circulation* 1966; 33: 484- 491
50. Vanhoutte PM. Venous wall and venous disease. In Vanhoutte PM, ed. *Return circulation and norepinephrine: An Update*. Paris: John Libbey, 1991; 1- 14
51. Meissner MH, Moneta G, Burnand K, et al. The hemodynamics and diagnosis of venous disease. *J Vasc Surg* 2007; 46: 4S- 24S
52. Kügler C, Strunk M, Rudofsky G. Venous pressure dynamics of the healthy human leg. *J Vasc Res* 2001; 38: 20- 29
53. Neglen P, Raju S. Differences in pressures of the popliteal, long saphenous, and dorsal foot veins. *J Vasc Surg* 2000; 32: 894- 901
54. Katz AL, Chen Y, Moreno AH. Flow through a collapsible tube; experimental analysis and mathematical model. *Biophys J* 1969; 9: 1261- 1279
55. Sumner DS. Hemodynamics and pathophysiology of venous disease. In: Rutherford RB, ed. *Vascular surgery* 4th edn. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995; 1673- 1695
56. Back T, Padberg F, Araki C, et al. Ankle range of motion and reduced venous function is associated with progression of chronic venous insufficiency. *J Vasc Surg* 1995; 22: 519- 523
57. Lees TA, Lambert D. Patterns of venous reflux in limbs with skin changes associated with chronic venous insufficiency. *Br J Vasc Surg* 1993; 80: 725- 728

58. Nicolaides AN, Hussein MK, Szendro G, et al. The relation of venous ulceration with ambulatory venous pressure measurements. *J Vasc Surg* 1993; 17: 414- 419
59. Padberg F. Surgical intervention in venous ulceration. *Cardiovasc Surg* 1999; 7: 83- 90
60. Araki C, Bavk TL, Padberg FT. Refinements in detection of popliteal vein reflux. *J Vasc Surg* 1993; 18: 742- 748
61. Weindorf N, Schultz-Ehrenburg U. The development of varicose veins in children and adolescents. *Phlebologie* 1990; 43: 573- 577
62. Ioannu CV, Giannoukas AD, Kostas T, et al. Patterns of venous reflux in limbs with venous ulcers. *Int Angiol* 2003; 22: 182- 187
63. Evans CJ, Fowkes FG, Ruckley CV , Lee AJ. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburgh Vein Study . *J Epidemiol Community Health* 1999;53:149-153
64. Ruckley CV , Evans CJ , Allan PL , Lee AJ , Fowkes FG. Chronic venous insufficiency :clinical and duplex correlations. The Edinburgh Vein Study of venous disorders in the general population. *J Vasc Surg.* 2002.36.520-525
65. Brand FN , Dannenberg AL, Abbott RD, Kannel WB. The Epidemiology of varicose veins: The Framingham Study. *Am J Prev Med.*1988;4:96- 101

66. Casarone MR, Belcaro G, Nicolaides AN, Geroulakos G, Griffin M, Incandela L, Sabetai M, et al. Real epidemiology of varicose veins and chronic venous diseases: The San Valentino Vascular Screening Project. *Angiology*. 2002;53:119 – 130.
67. Scott TE , LaMorte WW , Gorin DR , Menzoian JO. Risk Factors for Chronic venous insufficiency: a dual case-control study. *J Vasc Surg*. 1995;22:622-628
68. Jawien A. The influence of enviromental factors in chronic venous insufficiency. *Angiology*. 2003;54: 19-31
69. Lacroix P , Aboyans V , Preux PM , Houles MB , Laskar M . Epidemiology of venous insufficiency in an occuptational population. *Int Angiol*. 2003;27:172- 76
70. Clarke H. , Smith SRG, Vasdekis SN, Hobbs JT, Nicolaides AN. Role of venous elasticity in the development of varicose veins. *Br J Surg* 1989;76:577-80.
71. Psaila JV, Melhuish J. Viscoelastic properties and collagen content of the long saphenous vein in normal and varicose veins. *Br J Surg* 1989;76:37-40
72. Abu-Own A, Scutr JH, Coleridge Smith PD. Saphenous vein reflux without incompetence at the saphenofemora junction. *Br J Surg* 1994;81:1452-4.
73. Labropoulos N, Leon M, Nicolaides AN, Giannoukas AD, Volteas N, Chan P. Superficial venous insufficiency: correlation of anatomic

extent of reflux with clinical symptoms and signs. J Vasc Surg 1994;20:953-8.

74. Cotton LT. Varicose veins: gross anatomy and development. Br J Surg 1961;48:589-98.
75. Jurukova Z, Milenkov e. Ultrastructural evidence for collagen. Exp Mol Pathol 1982;37:37-47.
76. Rose SS, Ahmed A. Some thoughts on the aetiology of varicose veins. J Cardio vasc Surg (Torino) 1986;27:534-43.
77. Porto LC, da Silveira PRM, de Carvalho JJ, Panico MDB. Connective tissue accumulation in the muscle layer in normal and varicose saphenous veins. Angiology 1995;46:243-9
78. Maurel E, Azema C, Deloy J, Bouissou H. Collagen of the normal and varicose human saphenous vein: a biochemical study. Clin Chim Acta 1990;193:27-38.
79. Venturi M, Bonavina L, Annoni F, Colombo L, Butera C, Perachia A. Biochemical assay of collagen and elastin in the normal and varicose vein wall. J Surg Res 1996; 60:245-8.
80. T.A Lees and D.Lambert. Patterns of venous reflux in limbs with skin change associated with chronic venous insufficiency. Br J Surg 1993;80:725-728
81. Mc Mullin GM, Scott HJ, Coleridge Smith PD, Scurr JR. A comparison of photoplethysmography, Doppler, and duplex in the assesment of venous insufficiency. Phlebology 1989;4:72-82

82. Labropoulos N, Delis K, Nicolaides AN, et al: The role of the distribution and anatomic extent of reflux in the development of signs and symptoms in chronic venous insufficiency. *J Vasc Surg* 23:504-510, 1996
83. Gunderson J, Hauge M. Hereditary factors in venous insufficiency. *Angiology* 1969; 20: 346- 355
84. Cornu-Thernand A, Boivin P, Baud MM, et al. Importance of the familial factor in varicose disease: clinical study of 134 families. *J Derm Surg Onc* 1994; 20: 318- 326
85. Porter JM ,Moneta GL. Reporting standards in venous disease:an update. International Consensus Committee on Chronic Venous Disease. *J Vasc. Surg.* 1995 ;21:635-645
86. Ioannou CV, Giannoukas AD, Kostas T, et al: Patterns of venous reflux in limbs with venous ulcers. Implications for treatment. *Int Angiol* 22:182-187,2003.
87. Allan PL, Bradbury AW, Evans CJ, Lee AJ, Vaughan Ruekley C, Fowkes FG. Patterns of reflux and severity of varicose veins in the general Population- Edinburgh Vein Study. *Eur J Vase Endovase Surg.*2000;20(5):470-477.
88. Chiesa R, Marone EM, Limoni C, Volonte M, Schaefer E, Petrini O. Chronic venous insufficiency in Italy: the 21-cities cohort study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30:422-429
89. Bo Eklöf, Robert B. Rutherford, John J. Bergan, Patrick H. Carpentier, Peter Gloviczki, Robert L. Kistner, Mark H. Meissner ,et al.

The American Venous Forum International Ad Hoc Committee for Revision of the CEAP Classification, Helsingborg, Sweden. *J Vasc Surg* 2004;40:1248-52.

90. Crigui MH, Jamosmos M, Fromek A, Denenber JO, Langer RD, Bergan J et al. Chronic Venous Disease in an ethnically diverse population: The San Diego Population Study. *Am J Epidemiol* 2003;158:448-56
91. Beebe HG, Bergan JJ, Bergqvist D, et al. Classification and grading of chronic venous disease in the lower limbs: a consensus statement. *Vasc Surg* 1996; 30: 5- 11
92. Nicolaides A.N. Investigation of Chronic Venous Insufficiency : A Consensus Statement. *Circulation* 2000;102:e126-e163
93. Fowkes FG , Evans CJ, Lee AJ. Prevalance and risk factors for chronic venous insufficiency. *Angiology*. 2001;52:5-15
94. Laing W. Chronic Venous Diseases of the Leg. London, UK: Office of Health Economics: 1992:1-44 .
95. Pierce GF, Mustoe TA. Pharmacologic enhancement of wound healing *Annu Rev Med*. 1995;46:467-481
96. Burnand KG, Whimster I, Naidoo A, Browse NL. Pericapillary fibrin deposition in the ulcer bearing skin of the lower limb: the cause of lipodermatosclerosis and venous ulceration. *Br Med J* 1982; 285: 1071-1072

97. Browse NL, Burnand KG. The cause of venous ulceration. *Lancet* 1982; 2: 243- 245
98. Thomas P, Nash GB, Dormandy JA. White cell accumulation in dependent legs of patients with venous hypertension: a possible mechanism for trophic changes in the skin. *Br Med J* 1988; 296: 1693-1695
99. Scott HJ, Smith PDJ, Scurr JH. Histological study of white blood cells and their association with lipodermatosclerosis and venous ulceration. *Br J Surg* 1991; 78: 210- 211
100. Wilkinson LS, Bunker C, Edward JCW, et al. Leukocytes: their role in the etiopathogenesis of skin damage venous disease. *J Vasc Surg* 1993; 17: 669- 675
101. Pappas PJ, DeFouw DO, Venezio LM, et al. Morphometric assessment of the dermal microcirculation in patients with chronic venous insufficiency. *J Vasc Surg* 1997; 26: 784- 795
102. Erdoğan BB, Uzaslan EK, (2003) Apoptozis Mekanizmaları: Tümör Gelişiminde Fas-FasL Bağımlı Apoptozis, *Akciğer Arşivi*, 4, 165-174.
103. Çalışkan M. (2000) Apoptosis: Programlanmış Hücre Ölümleri, *Türk J Zool*, 24, 31-35.
104. Korsmeyer SJ. (1995) Regulators Of Cell Death, *Trend Genet*, 3, 101-105.

105. Jones AM. Programmed cell death in development and defense. *Plant Physiol* 2001;125:94-97.
106. Mevorach BD, Mascarenhas JO, Gershov D, Elkon KB. (1998) Complement Dependent Clearance Of Apoptotic Cells By Human Macrophages, *J. Exp. Med.* 188,12, 2313-2320.
107. Hetts SW. (1998) Today or not Today, *Jama* 279, 300-307.
108. Gougeon L. Evaluation Of Apoptosis, *Journal Of Immunological Methods.* 2002; 265, 1-2.
109. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26 (4): 239-245.
110. Reed JC, Tomaselli KJ. Drug discovery opportunities from apoptosis research. *Curr Opin Biotechnol* 2000;11:586-592.
111. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35: 495–516.
112. Sinha RP, Häder D.-P. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem Photobiol Sci* 2002; 1: 225-236.
113. Kumari S, Rastogi RP, Singh KL Singh SP, Sinha RP. DNA damage: detection strategies. *EXCLI J* 2008;7:44-62.
114. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997;88: 355-365.
115. Norbury CJ, Zhivotovsky B. DNA damage-induced apoptosis. *Oncogene* 2004;23:2797-2808.

116. Batista LFZ, Kaina B, Meneghini R, Menck CFM. How DNA lesions are turned into powerful killing structures: Insights from UV-induced apoptosis. *Mutat Res: Rev Mutat Res* 2009;681:197-208.
117. Häder D-P, Sinha RP. Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact. *Mutat Res* 2005;571:221- 233.
118. Friedberg EC, Walker GC, Siede W, Wood RD, Schultz RA, Ellenberger T. DNA repair and mutagenesis. Washington, DC: ASM Press, 2006.
119. Haupt S, Berger M, Goldberg Z, Haupt Y. Apoptosis - the p53 network. *J Cell Sci* 2003;116:4077-4085.
120. Clarke AR, Purdie CA, Harrison DJ, Morris RG, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH. Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature* 1993;362:849-852.
121. Schumacher B, Hofmann K, Boulton S, Gratner A. The *C. elegans* homolog of the p53 tumor suppressor is required for DNA damage-induced apoptosis. *Curr Biol* 2001;11:1722-1727.
122. Jiang X, Wang X. Cytochrome C-mediated apoptosis. *Annu Rev Biochem* 2004;73:87-106.
123. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2000;408:307-310.
124. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer* 2002;2:594-604.

125. Tian C, Lv D, Qiao H, Zhang J, Yin Y-H, Qian X-P, Wang Y-P, Zhang Y, Chen W-F. TFDP3 inhibits E2F1-induced, p53-mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;361:20-25.
126. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002;2:647-656.
127. Kakuda Y, Shibata H, Otsuka K, Kato S, Ishioka C. Lack of correlation between p53-dependent transcriptional activity and the ability to induce apoptosis among 179 mutant p53s. *Cancer Res* 2005;65: 2108-2114.
128. Rochette PJ, Brash DE. Progressive apoptosis resistance prior to senescence and control by the antiapoptotic protein BCL-xL. *Mech Age Develop* 2008;129:207-214.
129. Wu Y, Xing D, Liu L, Gao B. Regulation of Bax activation and apoptotic response to UV irradiation by p53 transcription-dependent and independent pathways. *Cancer Lett* 2008;271:231-239.
130. Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmeyer DD, Schuler M, Green DR. Direct activation of Bax by p53 mediated mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science* 2004;303:1010-1014.
131. Leu JI, Dumont P, Hafey M, Murphy ME, George DL. Mitochondrial p53 activates Bak and causes disruption of a Bak-Mc11 complex. *Nat Cell Biol* 2004;6:443-450.

132. Ranger AM, Malynn BA, Korsmeyer SJ. Mouse models of cell death. *Nat Genet* 2001;28:113-118.
133. Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of BAX results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO J* 1998;17:3878-3885.
134. Chen M, Xing D, Chen T, Zhang L. BimL involvement in Bax activation during UV irradiation-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;358:559-565.
135. Marani M, Tenev T, Hancock D, Downward J, Lemoine NR. Identification of novel isoforms of the BH3 domain protein Bim which directly activate Bax to trigger apoptosis. *Mol Cell Biol* 2002;22: 3577-3589.
136. Zhu Y, Swanson BJ, Wang M, Hildeman DA, Schaefer BC, Liu X, Suzuki H, Mihara K, Kappler J, Marrack P. Constitutive association of the proapoptotic protein Bim with Bcl-2-related proteins on mitochondria in T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:7681-7686.
137. Irwin M, Mari MC, Phillips AC, Seelan RS, Smith DI, Liu W, Flores ER, Tsai KY, Jacks T, Vousden KH, Kaelin Jr WG. Role for the p53 homologue p73 in E2F-1-induced apoptosis. *Nature* 2000;407:645-648.
138. Ramadan S, Terrinoni A, Catani MV, Sayan AE, Knight RA, Mueller M, Krammer PH, Melino G, Candi E. p73 induces apoptosis by

different mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;331: 713-717.

139. Qiao A, Distefano L, Tian C, Li YY, Yin YH, Qian XP, Pang XW, Li Y, McNutt MA, Helin K, Zhang Y, Chen, WF. Human TFDP3, a novel DP protein, inhibits DNA binding and transactivation by E2F. *J Biol Chem* 2007;282:454-466.
140. Guicciardi ME, Gores GJ. Life and death by death receptors. *FASEB J* 2009;23:1625-1637.
141. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: Critical control points. *Cell* 2004;116:205-219.
142. Ghavami S, Hashemi M, Ande SR, Yeganeh B, Xiao W, Eshraghi M, Bus CJ, Kadkhoda K, Wiechec E, Halayko AJ, Los M. Apoptosis and cancer: Mutations within caspase genes. *J Med Genet* 2009; doi:10.1136/jmg.2009.066944.
143. Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, Kroemer G. Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol* 2009;9:353-363.
144. Yan N, Shi Y. Mechanisms of apoptosis through structural biology. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005;21:35-56.
145. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 1992; 356: 768- 774.

146. Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Greenstreet TA, et al. Molecular cloning of the interleukin1 beta converting enzyme. *Science* 1992; 256: 97- 100
147. Ellis RE, Yuan JY and Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 1991; 7: 663 – 698.
148. Xue D, Shaham S and Horvitz HR. The *Caenorhabditis elegans* celldeath protein CED-3 is a cysteine protease with substrate specificities similar to those of the human CPP32 protease. *Genes. Dev.* 1996; 10: 1073– 1083.
149. Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM and Horvitz HR. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell* 1993; 75: 641 – 652.
150. Cotter TG. Bcr-Abl:An Anti-apoptosis Gene in Chronic Myelogenous Leukemia, Leukemia and Lymphoma. 1995; 18: 231-236.
151. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WWand et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 1996; 87 (2): 171.
152. Thornberry NA, Rano TA, Peterson EP, Rasper DM, Timkey T, Garcia-CalvoM, et al. A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 17907 - 17911.

153. Rano TA, Timkey T, Peterson EP, Rotonda J, Nicholson DW, Becker JW, et al. A combinatorial approach for determining protease specificities: application to interleukin-1beta converting enzyme (ICE). *Chem. Biol.* 1997; 4: 149 - 155.
154. Nicholson DW. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ* 1999; 6: 1028-1042.
155. Grell M, Krammer PH, Scheurich P. Segregation of APO- 1/Fas antigen- and tumor necrosis factor receptor-mediated apoptosis. *Eur J Immunol.* 1994 Oct; 24(10): 2563-6.
156. Verhagen AM, Coulson EJ, Vaux DL. Inhibitor of apoptosis proteins and their relatives: IAPs and other BIRPs. *Genome Biol* 2001;2:3009.1-9.10.
157. Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdalet T, Zhou Q, Srinivasula SM, Alnemri ES, Salvesen GS, Reed JC. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J* 1998;17: 2215-2223.
158. Sun C, Cai M, Gunasekera AH, Meadows RP, Wang H, Chen J, Zhang H, Wu W, Xu N, Ng SC, Fesik SW. NMR structure and mutagenesis of the inhibitor- of- apoptosis protein XIAP. *Nature* 1999;401: 818-822.
159. Kasof GM, Gomes BC. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member. *J Biol Chem* 2001;276:3238-3246.

160. Ho PK, Jabbour AM, Ekert PG, Hawkins CJ. Caspase- 2 is resistant to inhibition by inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) and can activate caspase-7. *FEBS J* 2005;272:1401-1414.
161. Thome M, Schneider P, Hofmann K, et al. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 1997;386:517-521.
162. Verhagen AM, Ekert PG, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell* 2000;102:43-53.
163. Verhagen AM, Silke J, et al. HtrA2 promotes cell death through its serine protease activity and its ability to antagonize inhibitor of apoptosis proteins. *J Biol Chem* 2002;277: 445-454.
164. Suzuki Y, Imai Y, Nakayama H, Takahashi K, Takio K, Takahashi R. A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Mol Cell* 2001;8:613-621.
165. Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzyme A induces caspase independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity* 2005;22:355-370.
166. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2002;2: 277-288.
167. Pryde JG, Walkers A, Rossi AG, Hannah S, Haslett C. Temperature Dependent Arrest of Neutrophil Apoptosis, *The Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275: 33574-33584.

168. Moulin M, Arrigo AP. Long Lasting Heat Shock Stimulation Of TRAIL induced Apoptosis in Transformed T lymphocytes, *Experimental Cell Research*. 2006; 312: 1765-1784.
169. Cotran RS, Kumar V, Collins T. (1999) *Robbins Pathologic Basis Of Disease*, Philadelphia: W. B.Saunders Company.
170. Öztürk F. Apoptoz, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2002; 9: 143- 148.
171. Leytin V, Freedman J. Platelet Apoptosis In Platelet Concentrates And Other Models, *Transfusion And Apheresis Science*. 2003; 28: 285-295.
172. Yonehara S, Ishii AI, Yonehara M. Acell Killing Monoclonal Antibody (anti fas) to a Cell Surface Antigen Co Downregulated With The Receptor of Tumor Necrosis Factor, *J Exp Med* 1989; 169: 1747-1756.
173. Reap EA, Roof K, Maynor K. et al. Radiation And Stress-induced Apoptosis: A Role For Fas/Fas Ligand Interactions, *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*. 1997; 94: 5750-5755.
174. Orlinick JR, Waishnaw AK, Elkon KB. Structure and Function of Fas/FasL Ligand. *Int Rev Immuno*. 1999; 18: 293-308.
175. Renshaw S. A., Parmar J. S., Singleton V. et al. Acceleration Of Human Neutrophil Apoptosis By TRAIL, *The Journal Of Immunology*. 2003; 170: 1027-1033.

176. Ulukaya E. (2003) Apoptozis Ders Notları, Biyokimya Anabilim Dalı, 1-19. www.20.uludag.edu.tr/biokimya.
177. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon With Wide-Ranging Implications In Human Disease, Journal Of Internal Medicine. 2005; 258: 479-517.
178. Nicolai B. K., Savil J., Brown S. B. Constitutive Apoptosis in Human Neutrophils Requires Synergy between Calpains and Proteasome Downstream of Caspases, The Journal of Biological Chemistry. 1998; 273: 30530- 30536.
179. Mason P. Effects of Calcium Channel Blockers on Cellular Apoptosis, Cancer. 1999; 85: 2093-2103.
180. Meissner MH, Gloviczki P, Bergan J, Kistner RL. Primary chronic venous disorders J Vasc Surg 2007; 46:54S-67S
181. Pascarella L, Lulic D, Penn AH, Alsaigh T Mechanisms in experimental venous valve failure and their modification by Daflon 500 mg. Eur J Vasc Endovasc Surg 2008; 35; 102- 110
182. Ono T, Bergan JJ, Schmid-Schönbein GW, Takase S. Monocyte infiltration into venous valves. J Vasc Surg 1998;27:158-166
183. Saharay M, Addison IE, Shields DA, Scurr JH. Leukocyte migration in the leg in response to experimental venous hypertension. J Vasc Surg 1996; 24; 725- 731

184. Shields DA, Andaz S, Abeysinghe RD, Porter JB, Scurr JH, Coleridge Smith PD. Neutrophil activation in experimental venous hypertension. *Phlebology* 1994;9:119-24.
185. Saharay M, Shields DA, Porter JB, Scurr JH, Coleridge PDS. Leukocyte activity in the microcirculation of the leg in patients with chronic venous disease. *J Vasc Surg* 1997; 25; 265- 273
186. Moyses C, Cederholm-William SA, Michel CC. Haemoconcentration and accumulation of white cells in the feet during venous stasis. *Int J Microcirc Clin Exp* 1987;5:311-20
187. Bass DA, Olbrantz P, Szejda P, Seeds MC, McCall CE. Subpopulations of neutrophils with increased oxidative product formation in blood of patients with infection. *J Immunol* 1986;136:860-6.
188. Ludbrook J. Valvular defect in primary varicose veins. Cause or effect? *Lancet* 1963;2:1289-92
189. Takashi O, MD, Bergan JJ, Schmid-Schönbein GW, Takase S. Monocyte infiltration into venous valves *J Vasc Surg* 1998; 27: 158- 166
190. Back MR, Carew TE, Schmid-Schönbein GW. Deposition pattern of monocytes and atherosclerotic lesion development in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis* 1995;116:103- 115
191. Powell CC, Rohrer MJ, Barnard MR, Peyton D. Chronic venous insufficiency is associated with increased platelet and monocyte activation and aggregation. *J Vasc Surg* 1999;30:844-853

192. Takase S, PhD, Schmid-Schönbein GW, Bergan JJ. Leukocyte activation in patients with venous insufficiency. *J Vasc Surg* 1999;30:148-156
193. Takase S, Pascarella L, Bergan JJ, Schmid-Schönbein GW. Hypertension-induced venous valve remodeling *J Vasc Surg* 2004;39:1329-34
194. Takase S, Pascarella L, Lerond L, Bergan JJ, Schmid-Schönbein GW. Venous Hypertension, Inflammation and Valve Remodeling *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004; 28: 484–493
195. Pascarella L, Schmid-Schönbein GW, Bergan JJ. An animal model of venous hypertension: The role of inflammation in venous valve failure *J Vasc Surg* 2005;41:303-311
196. Raffetto JD. Chronic Venous Insufficiency: Molecular Abnormalities and Ulcer Formation. *The Vein Book*. 2006; ch(8): 79- 87
197. Jacob MP, Cazaubon M, Scemama A, Prie D, Blanchet F, Guillin MC, Michel JB. Plasma matrix metalloproteinase-9 as a marker of blood stasis in varicose veins, *Circulation* 2002. 106, 535–538
198. Ducasse E, Giannakakis K, Speziale F, Midy D, Sbarigia E, Baste J.C, Faraggiana T. Association of primary varicose veins with dysregulated vein wall apoptosis *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008; 35: 224- 229
199. Joshi VD, Kalvakolanub DV, Cross AS. Simultaneous activation of apoptosis and inflammation in pathogenesis of septic shock: a hypothesis. *FEBS Letters* 2003; 555: 180- 184

200. Werner C, Fürster T, Widmann T, Pöss J. Physical Exercise Prevents Cellular Senescence in Circulating Leukocytes and in the Vessel Wall Circulation. 2009;120:2438-2447
201. Wilson WR, Herbert KE, Mistry Y, Stevens SE, Patel HR, Hastings RA, Thompson MM, Williams B. Blood leucocyte telomere DNA content predicts vascular telomere DNA content in humans with and without vascular disease. Eur Heart J. 2008;29:2689 –2694
202. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E Cell death: Apoptosis versus necrosis Int J Oncol. 2002 Jul;21(1):165-70
203. Knaapen MWM, Somers P, Bortier H, De Meyer G, Kockx MM. Smooth Muscle Cell Hypertrophy in Varicose Veins Is Associated with Expression of Estrogen Receptor- B J Vasc Res 2005;42:8–12
204. Urbanek T, Skop B, Wiaderkiewicz R, Wilczok T, Ziaja K. Smooth Muscle Cell Apoptosis in Primary Varicose Veins Eur J Vasc Endovasc Surg 2004; 28: 600–611
205. O'Neill S, O'Neill JA, Conroy E, Brady HR, Fitzpatrick JM. Altered caspase expression results in delayed neutrophil apoptosis in acute pancreatitis J. Leukoc. Biol. 2000; 68: 15–20
206. Lee JD, Yang WK, Lai CH Involved Intrinsic Apoptotic Pathway in the Varicocele and Varicose Veins Ann Vasc Surg. 2010 May 12
207. Henke PK, Wakefield T. Thrombus resolution and vein wall injury: dependence on chemokines and leukocytes. Thrombos Res 2009; 123: 572- 578

7. ÖZET:

Çalışmamızda, günümüzde önemli bir sağlık sorunu haline gelmiş kronik venöz yetmezliğin etiyopatogenezini araştırmayı hedefledik

Venöz yetmezlik tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunu olmasına rağmen bugüne kadar herkesin üzerinde anlaştığı tek bir etiyopatogenez ortaya konulamamıştır. Bir hastalığın etiyopatogenezinin iyi anlaşılması o hastalığa karşı tedavi stratejilerinin de o kadar başarılı olmasını sağlayacaktır. Buradan hareketle, çalışmamıza kronik venöz yetmezliği olan ve ameliyat kararı alınmış olan 46 adet hastayı dahil ettik. Hastaların hepsi CEAP sınıflandırmasına göre C3- C6 evrelerinden seçilmiştir. Hastaların ameliyat sırasında çıkarılması planlanan safen venlerinden ve brakiyal venlerinden alınan kan numunelerinde kaspaz-8, kaspaz-9, tam kan sayımı ve basınç tayinleri yapılmıştır. Tam kan sayımında hastaların özellikle lökosit tiplendirmeleri ve enflamasyona eşlik eden apoptozis azalması tespit edilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, apoptozis başlatıcı enzimlerinden kaspaz-8 ve kaspaz-9 kan örneklerinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda safen venden alınan kan örneklerinde beklediğimiz gibi beyaz küre, nötrofil, ve monosit sayıları anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Son yıllarda üzerinde çok durulan lökosit tuzak teorisine göre venöz hipertansiyona bağlı lökositler ekstravaze olarak mikrosirkülasyonda takılmakta ve aktive olarak çeşitli maddeler salgılamaktadırlar. Bizim düşüncemize göre, çalışmamızın sonuçlarıyla lökosit tuzak teorisi desteklenmektedir. Ayrıca, kaspaz-

8 ve kaspaz-9 miktarlarındaki yükseklik,apoptozisin başlatılmaya çalışılmasına rağmen azaldığını ve aktive olan lökositlerle ciddi anlamda etkileştiği sonucuna götürmüştür.

Bir hastalığı etiyopatogenezinin bilinmesi, hastalığa karşı alınabilecek koruyucu tedbirler ve ortaya çıktıktan sonra yapılabilecek tedavi stratejileri açısından çok önemli bir yer tuttuğunu düşünmekteyiz.

8. ABSTRACT:

We tried to investigate the etiopathology of venous insufficiency which is a major health problem all over the world.

There is no consensus about the etiopathogenesis of venous insufficiency even it is a serious health problem. We believe that better therapy strategies will be available if more information of etiopathogenesis of venous insufficiency is provided. From this point of view, we randomized 46 preoperative patients to our study. All patients were class C3 to C6 according to CEAP classification. We collected blood samples from the saphenous veins and brachial veins at the same time for caspase-8 and caspase-9, total blood count and pressure monitorization made during operation. Total blood count used to determine leukocyte type and inflammation status.

According to our study results, apoptosis initiator enzymes caspase-8 and caspase-9 found significantly higher in saphenous vein. At the same time, as expected, leukocyte, neutrophil, and monocyte values found significantly low in saphenous vein blood samples.

Venous hypertension leads to leukocyte migration and activated leukocytes. Several studies confirm the "white cell trapping" hypothesis and massive leukocytes activation in the microcirculation followed by their migration to subcutaneous tissue. Our study results supports these studies. According to our study, we suppose that the increase in caspase-8 and caspase-9 shows us that the apoptosis is triggered but not initiated.

In conclusion, we believe that understanding the etiopathogenesis of any disease, is the key for protective precautions and new treatment options.

9. EKLER:

9.1. ETİK KURUL KARARI:

KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU

ETİK KURULUN ADI	ANKARA 1 NOLU KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	PINARBAŞI MAHALLESİ ARDAHAN SOKAK NO:25 KEÇİÖREN /ANKARA
TELEFON	0312 356 90 31-0312 356 90 00 / 2054-1146
FAKS	0312 356 90 31
E-POSTA	keahetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Varis Etiyopatogenezinde Lokosit Aktivasyonu İle Apoptozisin İlişkisi		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU			
	EUDRACT NUMARASI			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Halim SONCUL		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kalp Damar Cerrahisi		
	KOORDİNATÖRÜN UNVANI/ADI/SOYADI			
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Gazi Üniversitesi Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi ABD		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	Gazi Üniversitesi Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi ABD Beşevler / ANKARA		
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	ANKARA 1 NOLU KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ			
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☒	AKADEMİK AMAÇLI ☐	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐	FAZ 2 ☐	FAZ 3 ☐
		FAZ 4 ☒	BE/BY ☐	DIĞER ☐
	İL AÇ DIŞI ARAŞTIRMA ☐	Belirtiniz:		
ARAŐTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	
			ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŐURÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GONÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

Belge Adı	
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐
SIGORTA	☐
HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐
ILAN	☐
YILLIK BİLDİRİM	☐

Etik Kurul Değerlendirme Formu
28 Nisan 2009 Versiyon No:1



SONUÇ RAPORU	☐	
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
DİĞER	☐	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:200909-26 Tarih: 30.09.2009
	Prof. Dr. Halim SONCUL sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına / bulunduğuna ve Kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığı'na arzına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.

ETİK KURUL BİLGİLERİ
ÇALIŞMA ESASI
Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik , İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, ve Etik Kurul SOP
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Uz.Dr. K.Okhan AKIN
ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Uz.Dr.K.Okhan AKIN-BAŞ.	Biyokimya	K.E.A.H.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Uz.Dr.H.Ekmel OLCAY BAŞ.YRD.	Farmakoloji	R.S.H.M.B.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Deniz ERBAŞ-ÜYE	Fizyoloji	G.Ü.T.F.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>[Signature]</i>
Prof.Dr. Meral TUNÇBİLEK-ÜYE	Farmasötik Kimya	A.Ü.E.F.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr. Mustafa NİLHAN-ÜYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.Serap ŞAHİNOĞLU-ÜYE	Deontolog	A.Ü.T.F.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>[Signature]</i>
Doç.Dr.Mehmet Fatih TAŞAR-ÜYE	Eğitim	G.Ü.E.F.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>[Signature]</i>
Uz.Dr.Ayşe Serap KARADAĞ-ÜYE	Cildiye	K.E.A.H.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Uz. Dr. Şamil HIZLI-ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	K.E.A.H.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Uz. Dr.Baran ACAR-ÜYE	K.B.B.	K.E.A.H.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Ecz.Neriman BULUT-ÜYE		K.E.A.H.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Av.Nazmiye DOĞAN-ÜYE	Hukuk	R.S.H.M.B.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
Dr.Fersin KESKİN-ÜYE	İstatistik	H.Ü.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>[Signature]</i>
			E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	

10. ÖZGEÇMİŞ:

Adı: Naim Boran

Soyadı: Tümer

Dogum Yeri ve Tarihi: 09/ 12/ 1973- ANKARA

Egitim:

- Gazi Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi 2004- 2010
- Dokuz Eylül Üniversitesi Tı Fakültesi 1992- 1999
- Yükseliş Koleji Lisesi 1989- 1991
- Yükseliş Koleji Ortaokulu 1985- 1988
- Akşemseddin İlkokulu 1980- 1984

Yabancı Dili:

- İngilizce: İyi
- Almanca: Orta

Üye Oldugu Bilimsel Kuruluslar:

- Türkiye Kalp Damar Cerrahisi Derneği