

**AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK OTOLOG YAĞ GREFTİ UYGULAMALARINDA, VİTAMİN
D3 (KOLEKALSİFEROL) VE MYRTUS COMMUNIS'İN YAĞ GREFTİ SAĞ
KALIMI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Arş. Gör. Dr. Gülce Eda BAŞER
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Danışman
Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM**

**Bu Çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 23.TUS.011 proje numarası ile desteklenmiştir.**

AFYONKARAHİSAR - 2025

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI
KABUL VE ONAY SAYFASI

Tez Başlığı: Deneysel Olarak Otolog Yağ Grefti Uygulamalarında, Vitamin D3 (Kolekalsiferol) Ve Myrtus Communis'in Yağ Grefti Sağ Kalımı Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Tezi Hazırlayan: Arş. Gör. Dr. Gülce Eda BAŞER

Tez Savunma Tarihi: 21.05.2025

Tez Kabul Tarihi: 21.05.2025

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

İş bu çalışma jürimiz tarafından PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ:

Başkan
Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Salih KAVUNCU

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Arif YILMAZ

ONAY

DEKAN
Prof. Dr. Necip BECİT

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez sürecimde deney boyunca her daim desteğini esirgemeyen değerli görüş ve önerileriyle her zaman destek olan ve yol gösteren sadece hoca değil aynı zamanda çalışma azmiyle bana ışık tutan çok değerli hocam Prof. Zülfükar Kadir SARITAŞ'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Deney süreci boyunca yardım eden vet hekim Beyza Gül Erdoğan'a yaşadığım tüm olumlu olumsuz her anımda yanımda hissettiğim çok sevdiğim hayatımdaki en büyük kazanımlarım İpek, Elif, Cemre, Sümeyye, Sinem, Şeyma'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunma jürisinde yer alan, değerli hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Salih Kavuncu'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın deneysel aşamalarında yardımlarını esirgemeyen özellikle histopatolojik ve biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesindeki özverili katkılarından dolayı tüm laboratuvar ekibine teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan, mesleki gelişimime katkıda bulunan Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki asistan arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi, bu zorlu süreçte de beni destekleyen, anlayış ve sabır gösteren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Onların desteği olmasaydı, bu çalışmanın tamamlanması mümkün olmazdı.

Son olarak, bu çalışmanın bilimsel literatüre katkı sağlaması ve klinik uygulamalarda faydalı olması en büyük dileğimdir.

DENEYSEL OLARAK OTOLOG YAĞ GREFTİ UYGULAMALARINDA, VİTAMİN D3 (KOLEKALSİFEROL) VE MYRTUS COMMUNIS'İN YAĞ GREFTİ SAĞ KALIMI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ar. Gör. Dr. Gülce Eda BAŞER

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi Plastik Estetik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı
Tıpta Uzmanlık Tezi
Mayıs 2025

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Alpagan YILDIRIM

ÖZET

Amaç: Bu deneysel çalışma, estetik ve rekonstrüktif cerrahide sık kullanılan otolog yağ grefti uygulamalarının başarısını artırmak amacıyla, Vitamin D₃ (kolekalsiferol) ve Myrtus communis (mersin) bitkisinin greft sağkalımı üzerindeki etkilerini araştırmayı hedeflemiştir. Vitamin D₃'ün immün modülatör ve anti-inflamatuar etkileri ile Myrtus communis'in antioksidan özelliklerinin sinerjik etkilerinin yağ grefti üzerine olan katkıları değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, 2-3 aylık 42 erkek Wistar Albino sıçan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıçanlar yedi eşit gruba ayrılmıştır: Kontrol grubu (1.Grup), Yağ grefti + Lokal D₃ vitamini uygulanan grup (2.Grup), Yağ grefti + Lokal D₃ vitamini + oral Myrtus communis uygulanan grup (3.Grup), Yağ grefti + Sistemik D₃ vitamini uygulanan grup (4.Grup), Yağ grefti + sistemik D₃ vitamini + oral Myrtus communis uygulanan grup (5.Grup), Yağ grefti uygulanan kontrol grubu (6.Grup), Yağ grefti + oral Myrtus communis uygulanan grup (7.Grup). Sekiz haftalık takip süresi sonunda biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Biyokimyasal analizlerde, 3. ve 5. grupta inflamasyon belirteçleri olan TNF- α ve IL-1 düzeylerinde kontrol (1. grup) ve yağ grefti (6. grup) ile karşılaştırıldığında anlamlı azalma saptanmıştır. Aynı grupta antioksidan enzim olan SOD aktivitesinde artış (646.20 ± 44.89 U/mg) ve MDA seviyelerinde düşüş (0.73 ± 0.10 nmol/mg) gözlenmiştir. Histopatolojik incelemelerde kombinasyon tedavisi uygulanan gruplarda adipositlerin düzenli dağıldığı, fibrozisin azaldığı ve doku organizasyonunun daha iyi olduğu izlenmiştir. İmmünohistokimyasal analizlerde, kombinasyon tedavisi gruplarında Caspase-3 ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı ($p<0.0001$), lokal D₃ vitamini uygulaması yapılan 3. grupta VEGF-A ekspresyonunun arttığı ($p<0.0001$) ve kombine tedavi gruplarında eNOS seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Karaciğer enzim seviyeleri (ALT, ALP) kombine tedavi gruplarında daha düşük bulunurken, renal fonksiyon parametrelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Sonuç: Vitamin D₃ ve Myrtus communis kombinasyonu, erken dönem inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak otolog yağ grefti sağkalımını artırmaktadır. Kombinasyon tedavisi, hem lokal hem sistemik düzeyde koruyucu ve terapötik etkilere sahip olup, greft kalıcılığını iyileştirebilecek potansiyel bir strateji sunmaktadır. Ancak, uzun dönem etkilerin değerlendirilmesi ve optimal doz rejiminin belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Otolog yağ grefti, Vitamin D₃, Myrtus communis, İnflamasyon, Oksidatif stres, Greft sağkalımı, Anjiyogenez.

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VITAMIN D₃
(CHOLECALCIFEROL) AND MYRTUS COMMUNIS ON FAT GRAFT
SURVIVAL IN EXPERIMENTAL AUTOLOGOUS FAT GRAFT
APPLICATIONS**

Res. Asst. Dr. Gülce Eda BAŞER
Afyonkarahisar University of Health Sciences
Faculty of Medicine Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic
Surgery Medical Specialty Thesis
May 2025
Supervisor: Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

ABSTRACT

Objective: This experimental study aimed to investigate the effects of Vitamin D₃ (cholecalciferol) and *Myrtus communis* (myrtle) on fat graft survival, with the goal of improving the success of autologous fat graft applications commonly used in aesthetic and reconstructive surgery. The synergistic effects of the immunomodulatory and anti-inflammatory properties of Vitamin D₃ and the antioxidant characteristics of *Myrtus communis* on fat graft outcomes were evaluated.

Materials and Methods: The study was conducted using 42 male Wistar Albino rats aged 2–3 months. The animals were randomly divided into seven equal groups: 1.Group: Control group without surgical intervention, 2.Group: Fat graft + local Vitamin D₃ application, 3.Group: Fat graft + local Vitamin D₃ + oral *Myrtus communis*, 4.Group: Fat graft + systemic Vitamin D₃, 5.Group: Fat graft + systemic Vitamin D₃ + oral *Myrtus communis*, 6.Group: Fat graft-only control group, 7.Group: Fat graft + oral *Myrtus communis* application. At the end of the eight-week follow-up period, biochemical, histopathological, and immunohistochemical analyses were performed to assess graft outcomes.

Results: Biochemical analysis revealed a significant reduction in inflammatory markers TNF- α and IL-1 levels in 3.Group and 5.Group compared to the control (1.Group) and fat graft-only (6.Group) groups. In the same group, there was an increase in the antioxidant enzyme SOD activity (646.20 ± 44.89 U/mg) and a decrease in MDA levels (0.73 ± 0.10 nmol/mg). Histopathological evaluations showed more organized adipocyte distribution, reduced fibrosis, and improved tissue architecture in the groups receiving combination therapy. Immunohistochemical findings indicated that Caspase-3 expression was significantly reduced in the combination therapy groups ($p < 0.0001$), VEGF-A expression was increased in 3.Group (local Vitamin D₃ application) ($p < 0.0001$), and eNOS levels were decreased in the combination treatment groups. Systemic safety assessments demonstrated lower liver enzyme levels (ALT, ALP) in the combination therapy groups, while no significant differences were observed in renal function parameters across the groups.

Conclusion: The combination of Vitamin D₃ and *Myrtus communis* enhances autologous fat graft survival by reducing early inflammation and oxidative stress. This combined therapy offers both local and systemic protective and therapeutic effects and presents a promising strategy to improve fat graft retention. However, further studies are needed to assess long-term effects and to determine optimal dosing protocols.

Keywords: Autologous fat graft, Vitamin D₃, *Myrtus communis*, Inflammation, Oxidative stress, Graft survival, Angiogenesis.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. YAĞ GREFTİ	4
2.2. OTOLOG YAĞ GREFTİ UYGULAMALARI	5
2.3. YAĞ GREFTİ SAĞKALIMINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER	6
2.4. YAĞ GREFTİ SAĞKALIM MEKANİZMALARİ	6
2.5. YAĞ GREFTİ ALINMASI, İŞLENMESİ VE UYGULANMASI	7
2.6. VİTAMİN D3 (KOLEKALSİFEROL)	8
2.6.1. D ₃ Vitaminin Faydaları, Antiinflatuar ve Antioksidan Özellikleri ve Yağ Grefti Üzerine Etkisi	8
2.7. MYRTUS COMMUNİS (MERSİN BİTKİSİ)	9
2.7.1. Antioksidan/Antiinflamuar Etkiler ve Greft Sağkalımına Katkıları	10
2.8. YAĞ GREFT SAĞKALIMINDA MEKANİZMA TEMELLİ YAKLAŞIMLAR	11
2.8.1. Anjiyogenez ve Vaskülarizasyonun Önemi	11
2.8.2. Oksidatif Stres ve Enflamasyonun Kontrolü	12
2.9. GREFT CANLILIĞININ DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ (HİSTOLOJİ, GÖRÜNTÜLEME, BİYOBELİRTEÇLER)	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. DENEY TASARIMI	15
3.1.1. Çalışma Tipi ve Gruplandırma	15
3.1.2. Deneyisel Prosedürler ve Metodoloji	16
3.1.2.1. Anestezi Protokolü ve Perioperatif Bakım	16
3.1.2.2. Yağ Grefti Hazırlama ve İmplantasyon	16
3.1.2.3. Deneyisel Gruplar ve İlaç Uygulamaları	17
3.1.2.4. Ötenazi ve Doku Örnekleme	17
3.1.2.5. Analitik Metodlar	17
3.2. DENEY MALZEMELERİ VE KİMYASALLAR	18
3.2.1. Deney Hayvanları	18
3.2.2. Farmakolojik Ajanlar	18
3.2.3. Cerrahi Ekipman	19
3.3. YAĞ GREFT UYGULAMA PROTOKOLÜ	19

3.4.	TEDAVİ PROTOKOLLERİ.....	25
3.4.1.	Vitamin D ₃ Uygulaması	25
3.4.2.	Myrtus Communis Uygulaması	25
3.4.3.	Kombine Tedavi.....	25
3.5.	İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ.....	26
3.5.1.	İmmünohistokimyasal Analiz (H-Skor).....	26
3.5.2.	İstatistiksel Analiz.....	26
4.	BULGULAR	28
4.1.	MAKROSKOBİK BULGULAR	29
4.2.	HİSTOLOJİK BULGULAR.....	46
4.2.1.	Histolojik Değerlendirme Yöntemlerinin Analizi	46
4.2.2.	Histopatolojik Skoring Sonuçları.....	74
4.2.3.	MT Boyama Değerlendirmesi	74
4.2.4.	HE Boyama Değerlendirmesi	74
4.2.5.	İstatistiksel Analiz Sonuçları	74
5.	TARTIŞMA.....	107
5.1.	İNFLAMATUAR YANIT ÜZERİNE ETKİLER	107
5.2.	OKSİDATİF STRES DÜZENLENMESİ	108
5.3.	ANJİYOGENEZ ÜZERİNE ETKİLER.....	109
5.4.	KOMBİNASYON TEDAVİSİNİN SİNERJİSTİK POTANSİYELİ	111
5.5.	HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE KLİNİK ÖNEMİ	112
5.6.	SİSTEMİK ETKİLER VE GÜVENLİK PROFİLİ	114
5.7.	ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI VE GELECEK ARAŞTIRMALAR İÇİN ÖNERİLER.....	115
5.8.	KLİNİK UYGULAMALARA YÖNELİK ÇIKARIMLAR	117
5.9.	GENEL DEĞERLENDİRME.....	118
5.10.	TEDAVİ PROTOKOLLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRMESİ	119
5.11.	KLİNİK UYGULAMALARA YÖNELİK ÇIKARIMLAR	119
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	120
7.	KAYNAKLAR.....	121

KISALTMALAR

ALP:	Alkalen Fosfataz
ALT:	Alanin Aminotransferaz
ASC:	Adipöz Kök Hücreler (Adipose Stem Cells)
AST:	Aspartat Aminotransferaz
GSH:	Glutasyon
HE:	Hemotoksilen &Eozin
KR:	Kontrol grubu
LD:	Lokal D ₃ vitamini
MC:	207,5±27,90
MDA:	Malondialdehit
MT:	Masson Trikrom
NO:	Nitritoksit
PRF:	Platelet-rich fibrin
ROS:	reaktif oksijen türleri
SD:	188,9±54,17
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SVF:	Stromal vasküler fraksiyon
TNF:	Tümör Nekroz Faktörü
VDBP:	Vitamin d binding protein
VEGF-A:	Vasküler endotelyal büyüme faktörüFaktörü
İHK:	İmmünohistokimyasal

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Biyokimyasal Ölçümlerin Gruplara Göre Karşılaştırılması	29
Tablo 2. Gruplara Göre Renal ve Metabolik Parametreler.....	38
Tablo 3. Gruplara Göre Karaciğer Fonksiyon Parametreleri.....	40
Tablo 4. HE Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Yaşam.....	70
Tablo 5. HE Boyama Koruma Yöntemlerinin Yaşam Skorlaması İstatistikleri.....	70
Tablo 6. HE Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	73
Tablo 7. MT Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Bozukluk skorlaması	80
Tablo 8. MT Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi...	80
Tablo 9. MT Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	81
Tablo 10. İHK eNOS İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların H-Skor Değerleri.....	87
Tablo 11. İHK eNOS İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi ...	87
Tablo 12. İHK eNOS İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	88
Tablo 13. İHK Caspase-3 İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların H-Skor Değerleri.	94
Tablo 14. İHK Caspase-3 İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi.	95
Tablo 15. İHK Caspase-3 İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	96
Tablo 16. İHK VEGF-A İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların H-Skor Değerleri...	102
Tablo 17. İHK VEGF-A İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi.	103
Tablo 18. İHK VEGF-A İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	104

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnguinal bölgenin traşlanıp batikonla temizlenmesi.....	20
Şekil 2. Scapula bölgesinin traşlanıp batikonla temizlenmesi.....	21
Şekil 3. İnguinal bölge diseksiyon	21
Şekil 4. İnguinal fat pad rezeksiyonu	22
Şekil 5. Scapula ortası ciltte poş açılması.....	22
Şekil 6. Scapula ortasındaki poşa yağ grefti yerleştirilmesi.....	23
Şekil 7. Scapula arasındaki yağ greftinin po:8. Hafta adaptasyonu.....	23
Şekil 8. Cilde adapte yağ grefti görünümü po: 8.hafta.....	24
Şekil 9. Po:8. Hafta cilde yapışık yağ grefti.....	24
Şekil 10. Gruplara Göre TNF Değerleri.....	31
Şekil 11. Gruplara Göre IL-1 Değerleri	33
Şekil 12. Gruplara Göre SOD Değerleri	35
Şekil 13. Gruplara Göre MDA Değerleri	37
Şekil 14. Gruplara Göre ALT (SGPT) Değerleri	42
Şekil 15. Gruplara Göre ALP Değerleri.....	44
Şekil 16. A,B 1.Gruba ait doku kesitlerinin histopatolojik görünümü.....	47
Şekil 17. A,B 6.Gruba ait yağ dokularının histopatolojik görüntüleri.....	49
Şekil 18. A,B 1.Gruba ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyaması.....	51
Şekil 19. A,B 1.Gruba ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyaması.....	53
Şekil 20. A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde eNOS immünohistokimyasal boyaması.....	55
Şekil 21. A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde eNOS immünohistokimyasal boyaması.....	57
Şekil 22. A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması.....	59
Şekil 23. A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması.....	61
Şekil 24 A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde VEGF-A immünohistokimyasal boyaması.....	63
Şekil 25.A,B 6.Gruba ait doku örneklerinde VEGF-A immünohistokimyasal boyaması .	65
Şekil 26. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin H&E boyamalı	66
Şekil 27. Yağ Grefti Yaşam - MT	71
Şekil 28. Yağ Grefti Yaşam – HE	72
Şekil 29. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyamalı histolojik görünümü.....	76
Şekil 30. Yağ Grefti Yaşam – MT	81

Şekil 31. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin eNOS immünohistokimyasal boyaması	85
Şekil 32. Yağ Grefti Yaşam – eNOS.....	88
Şekil 33. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması	93
Şekil 34.Yağ Grefti Yaşam – Caspase-3	95
Şekil 35. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin VEGF-A immünohistokimyasal boyaması.....	98
Şekil 36. Yağ Grefti Yaşam – VEGF-A.....	103



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yağ grefti, herhangi bir dokunun başka bir bölgeye nakledilmek üzere, bu dokuyu besleyen damar ve sinir bağlantısı olmadan taşınmasıdır. Greftler, kendi damarlanmaları yeniden oluşana kadar alıcı sahadan difüzyon yolu ile beslenirler.

Yağ greftinin tarihçesi, ilk uygulamanın 1893 yılında Alman cerrah Gustav Neuber tarafından gerçekleştirildiği bilgisi ile başlar. Neuber, koldan alınan yağ dokusunu orbita alt sınırına taşımıştır. Daha sonra, yağ grefti sağkalımına yönelik ilk bilimsel araştırmalar 1950 yılında Lyndon A. Peer tarafından yapılmıştır. 1980'li yılların başlarında liposakşın tekniğinin geliştirilmesiyle birlikte yağ grefti uygulamaları yeniden popüler hale gelmiştir. Bu dönemde yağ grefti sağkalımını artırmaya yönelik çalışmalar yapılmış olsada, optimal bir çözüm henüz ortaya konulamamıştır.

Otolog yağ grefti, estetik ve rekonstrüktif cerrahide kontur düzensizliklerinin giderilmesi ve hacim eksikliklerinin tamamlanması açısından yaygın olarak tercih edilen minimal invaziv bir yöntemdir. Bu uygulamanın başarısı, sadece greft uygulamasının kendisinden değil, aynı zamanda greftin kalıcılığını artırmaya yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesinden de kaynaklanmaktadır. Literatürde, yağ greftlerinin sağkalımını iyileştirmek için adipöz kök hücreler (ASC) veya stromal vasküler fraksiyon (SVF) ile zenginleştirilmesinin etkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, ASC ile zenginleştirilmiş yağ greftlerinin hacminin 121 gün sonra %80,9 oranında korunması, kontrol greftlerinde ise bu oranın yalnızca %16,3 olması, uygulanan yöntemler arasındaki farkı net olarak ortaya koymaktadır [1]. Benzer şekilde, SVF ile zenginleştirilmiş greftlerde, 6 ve 12 aylık takiplerde subkutan kalınlıkta anlamlı artışlar elde edilmiştir [2].

Estetik uygulamaların ötesinde, otolog yağ enjeksiyonu fonksiyonel iyileşmeler de sağlamaktadır. Özellikle meme rekonstrüksiyonu sonrası oluşan kontur düzensizlikleri ve hacim eksikliklerinin giderilmesinde, hastaların uzun dönemli meme memnuniyeti, psikososyal ve cinsel iyilik hallerinde belirgin iyileşmeler gözlemlenmiştir [3]. Ayrıca, morfea tedavisinde ardışık yağ grefti uygulamaları, cilt sklerozunun azalması ve yumuşak doku defektlerinin iyileşmesi bakımından olumlu sonuçlar sunmuştur [4].

Güvenlik açısından, otolog yağ enjeksiyonu, minimal invaziv bir yöntem olarak öne çıkmakla birlikte greftlerin rezorpsiyon oranlarının %25 ile %80 arasında değişmesi, greft kalıcılığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir [5, 6]. Periüretal bölgeye

yapılan enjeksiyonlarda, özellikle kadınlarda, idrar retansiyonu gibi komplikasyonlar bildirilmiştir. Estetik uygulamalarda ise düzensiz yağ nodülleri, cilt deformiteleri, skrotalizasyon ve bazı durumlarda cinsel işlev bozuklukları gibi istenmeyen sonuçlar ortaya çıkabilmektedir [7–9]. Onkolojik açıdan bakıldığında, meme kanseri sonrası yapılan yağ enjeksiyonlarında lokal rekürrens oranlarında anlamlı bir artış gözlenmemiştir; ancak bu konunun daha detaylı incelenmesi gerekmektedir [8].

Günümüzde otolog yağ grefti uygulamalarında greft sağkalımını artırmaya yönelik yaklaşımlar kapsamında, Vitamin D₃ (kolekalsiferol) ve bitkisel ürünlerin potansiyel etkileri de araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, ASC ile zenginleştirilmiş greftlerin kontrol greftlerine kıyasla daha yüksek rezidüel hacim sunduğu gösterilmiştir [1]. Bunun yanı sıra, Vitamin D₃'ün genel sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. VITAL çalışmasının bir yan analizi, Vitamin D₃ takviyesinin normal BMI'ye sahip bireylerde ileri evre kanser insidansını anlamlı oranda azalttığını ortaya koymuştur (HR, 0.62 [95% CI, 0.45–0.86]) [10]. 65 yaş ve üzerindeki bireylerde, dört aylık 100.000 IU Vitamin D₃ takviyesi, ilk kırık riskini azaltarak relatif riski 0.78 (95% CI, 0.61–0.99, P=0.04) seviyesine çekmiştir [11]. Ayrıca, siyah bireylerde yapılan çalışmada, her 1000 IU/gün ek Vitamin D₃'nin sistolik kan basıncında 1.4 mm Hg azalma sağladığı bildirilmiştir (P=0.04) [12].

Myrtus communis'e ilişkin olarak, literatürde yağ grefti sağkalımı üzerindeki etkilerini doğrudan inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, *Myrtus communis*'in antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri, yağ grefti uygulamalarında greftin hayatta kalmasını destekleyebileceği hipotezini güçlendirmektedir.

Son yıllarda, otolog yağ grefti uygulamaları yalnızca hacim restorasyonu ile sınırlı kalmayıp, yüz ve el gençleştirme, kraniyofasiyal deformitelerin düzeltilmesi, yara ve skar tedavileri, saç dökülmesi ve morfea gibi farklı klinik durumlarda da kullanılmaya başlanmıştır. Kök hücrelerle zenginleştirilmiş yağ greftleri, kontrol greftlerine göre %80,9 oranında daha yüksek kalıcı hacim sunarken ($p<0.0001$) [2], SVF kullanımı erken vaskülarizasyonu teşvik ederek greftin hayatta kalımını artırmaktadır [13]. Yara ve skar tedavisinde yağ grefti uygulamalarının güvenli ve etkili olduğu, saç dökülmesi tedavisinde ise yapılan tek enjeksiyonun saç yoğunluğu ve keratin skorunu artırdığı rapor edilmiştir [4, 14]. Morfea tedavisinde ardışık yağ grefti uygulamaları, cilt sklerozunun

azaltılması ve cilt rejenerasyonunun iyileştirilmesinde etkili sonuçlar sunmaktadır [6]. Estetik ve rekonstrüktif cerrahide, yağ grefti yüz ve el gençleştirme gibi uygulamalarda daha az invaziv ve güvenli bir yöntem olarak öne çıkarken, kraniyofasiyal deformitelerin tedavisinde de önemli bir alternatif oluşturmaktadır [5, 6].

Bu bilgiler ışığında, otolog yağ grefti uygulamalarında greft sağkalımını artırmaya yönelik mevcut yöntemlerin yanı sıra, Vitamin D₃ ve Myrtus communis gibi ek ajanların potansiyel etkileri de değerlendirilmelidir. Mevcut çalışmalar, özellikle Vitamin D₃ takviyesinin adipöz doku stromal hücrelerinin hayatta kalımını destekleyerek greft tutulumunu artırdığını göstermektedir [1]. Ancak, Myrtus communis'in yağ grefti sağkalımı üzerindeki rolü henüz aydınlatılamamıştır.

Bu tezin amacı; otolog yağ grefti uygulamalarında Vitamin D₃ (kolekalsiferol) ve Myrtus communis'in, yağ grefti sağkalımı üzerindeki etkilerini deneysel olarak araştırmaktır. Araştırmada, öncelikle Vitamin D₃'ün yağ dokusu stromal hücrelerinin hayatta kalma oranını artırarak greft tutulumuna olan etkisi incelenecektir. Ek olarak, Myrtus communis'in potansiyel antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin, yağ grefti sağkalımına nasıl katkıda bulunabileceği değerlendirilecektir. Bu iki bileşenin kombine etkilerinin, otolog yağ grefti uygulamalarında daha etkili ve güvenli stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlayacağı öngörülmektedir.

Araştırmanın sonuçlarının, estetik ve rekonstrüktif cerrahide otolog yağ grefti uygulamalarının verimliliğini artırmaya yönelik yeni yaklaşımların geliştirilmesinde yol gösterici olması beklenmektedir. Böylece hem greft kalıcılığı, hem revizyon ihtiyacının azalması, hem de hastaların genel memnuniyeti açısından önemli katkılar sağlanabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

Yağ dokusu, vücutta enerji depolama, metabolizma ve bağışıklık gibi birçok önemli işlevi olan bir dokudur. Bu doku, lipitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi temel enerji bileşenlerinin metabolizmasında rol oynar ve bu bileşenlerin enerji üretimi için kullanılmasını, rezerv olarak birikmesini ve yaşamın belirli evrelerinde (örneğin, diapaus, metamorfoz, uçuş) harekete geçirilmesini sağlar [15]. Ayrıca, yağ dokusu, bağışıklık sisteminin proteinlerini sentezleyerek doğuştan ve kazanılmış bağışıklıkta önemli bir rol oynar [15].

Yağların emilimi ve taşınması, özellikle uzun zincirli yağ asitlerinin (LCFA) plazma zarları üzerinden taşınması ile başlar. Bu süreç, pasif difüzyon ve protein aracılı transfer olmak üzere iki bileşenden oluşur. Protein aracılı transfer, yağ asitlerinin anahtar dokular tarafından alınmasında önemli bir rol oynar [16]. Yağ asitleri, enterositler tarafından emildikten sonra, endoplazmik retikulumda (ER) triaçilgliserollere dönüştürülür ve preşilomikronlar olarak ER lümenine dahil edilir [17]. Preşilomikronlar, Golgi'de daha fazla işlenir ve bağırsak lamina propriasına ekzositoz yoluyla taşınır [17].

Yağ dokusu, vücutta farklı anatomik bölgelerde farklı metabolik aktivitelere sahiptir. Örneğin, bazı yağ depoları açlık sırasında daha hızlı tükenirken, bazı bölgeler genel obezitenin gelişiminde çok az rol oynar [18]. Bu farklılıklar, sinirsel düzenleme veya kan akışının kontrolündeki varyasyonlardan kaynaklanabilir [18]. Yağ dokusunun embriyolojik gelişimi, özellikle yağ asidi translokaz (FAT)/CD36 gibi proteinlerin bağırsak gelişimi sırasında farklı şekilde ifade edilmesiyle ilişkilidir. Bu proteinler, bağırsak enterositleri tarafından LCFA'nın alınmasında rol oynar ve bağırsak olgunlaşması sırasında mRNA seviyeleri artar [19].

2.1.YAĞ GREFTİ

Yağ grefti, plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahi alanında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu işlem, vücudun bir bölgesinden alınan yağ dokusunun başka bir bölgeye transfer edilmesiyle gerçekleştirilir. Yağ grefti, özellikle yumuşak doku gençleştirme, hacim arttırma ve vücut şekillendirme gibi amaçlarla tercih edilmektedir [20,21,22]. Yağ greftinin temel prensipleri, yağ dokusunun biyolojik davranışını ve hayatta kalma mekanizmalarını anlamayı içerir. Bu işlemde, yağ dokusunun alındığı bölgeden dikkatlice toplanması, işlenmesi ve hedef bölgeye enjekte edilmesi gerekmektedir. Yağ dokusunun hayatta kalma oranı, greftin başarısını doğrudan

etkileyen önemli bir faktördür. Bu oran genellikle %25 ile %50 arasında değişmektedir [21, 23].

Yağ grefti, yüz gençleştirme gibi estetik uygulamalarda sıkça kullanılır. Yüzdeki hacim kaybını gidermek ve doğal bir görünüm sağlamak amacıyla tercih edilir. Ayrıca, kalça ve meme büyütme gibi işlemlerde de implantlara alternatif olarak kullanılabilir [22, 24]. Bununla birlikte, yağ greftinin uzun vadeli sonuçları ve greftin kalıcılığı konusunda bazı zorluklar bulunmaktadır. Yağ dokusunun zamanla emilmesi, tekrarlayan işlemleri gerektirebilir [25, 26].

2.2.OTOLOG YAĞ GREFTİ UYGULAMALARI

Otolog yağ grefti uygulamaları; plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahide giderek daha popüler hale gelen bir tekniktir. Bu yöntem, yağ dokusunun hacim artırma ve doku yenileme potansiyeli sayesinde, yumuşak doku kusurlarının düzeltilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [21, 27, 28]. Yağ grefti uygulamaları, yüz gençleştirme, vücut şekillendirme, meme ve gluteal büyütme gibi estetik amaçlarla kullanılmasının yanı sıra, yanık izleri ve radyodermatit gibi durumların tedavisinde de etkili olmaktadır [27, 29].

Yağ grefti işlemi, yağın toplanması, işlenmesi ve yeniden enjekte edilmesi aşamalarını içerir. Yağ toplanırken, büyük çaplı kanüller ve düşük basınçlı aspirasyon yöntemleri kullanılarak adiposit hasarı en aza indirilmeye çalışılır [27, 30]. İşleme aşamasında, düşük hızda santrifüjleme tercih edilirken, enjeksiyon aşamasında ise küçük çaplı kanüllerle çoklu seanslarda uygulama yapılması önerilmektedir [27, 33]. Bu yöntemler, yağ greftinin hayatta kalma oranını artırmak ve sonuçların öngörülebilirliğini sağlamak amacıyla geliştirilmiştir [28, 31].

Otolog yağ grefti uygulamalarının komplikasyonları genellikle minimaldir ve morarma, şişlik, ağrı, enfeksiyon, nekroz ve kalsifikasyon gibi durumları içerebilir [27, 29]. Bununla birlikte, yağ greftinin uzun vadeli hayatta kalma oranları ve sonuçların öngörülebilirliği hala bir zorluk teşkil etmektedir [21, 30]. Gelecekteki araştırmalar, yağ grefti uygulamalarının güvenliğini ve etkinliğini artırmak için standart prosedürlerin geliştirilmesine odaklanmalıdır [29, 32].

Otolog yağ grefti, düşük riskli bir prosedür olarak kabul edilmekte ve yüz, gövde ve ekstremitelerdeki yumuşak doku kusurlarının düzeltilmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Bu uygulama, hastalar için minimal rahatsızlık ile sonuçlanmakta ve estetik cerrahide önemli bir araç olarak yerini almaktadır.

2.3.YAĞ GREFTİ SAĞKALIMINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Yağ grefti sağkalımını etkileyen faktörler, çeşitli biyolojik ve teknik unsurlara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Yağ greftlerinin sağkalımını artırmak için kullanılan yöntemlerden biri, yağ dokusunun işlenme tekniğidir. Telfa gazlı bez üzerinde işlenen lipoaspirat, daha fazla fonksiyonel adipokin profili oluşturarak yağ grefti sağkalımını arttırabilir. Bu yöntem, anjiyojenik ve mitojenik adipokinlerin salgılanmasını artırarak greftin hayatta kalma oranını iyileştirebilir [34].

Makrofajların erken infiltrasyonu, anjiyogenezi ve hematopoietik kök hücrelerin toplanmasını teşvik ederek yağ grefti sağkalımını iyileştirebilir. Makrofajların sayısının artırılması, greftin vaskülarizasyonunu ve dolayısıyla sağkalımını olumlu yönde etkileyebilir [35]. Ayrıca, platelet açısından zengin fibrin (PRF) kullanımı, anjiyogenezi ve adipogenezi teşvik ederek, hücrel apoptozu inhibe ederek ve kollajen üretimini düzenleyerek yağ grefti sağkalımını arttırabilir [36].

Yağ greftlerinin sağkalımını artırmak için kullanılan diğer bir yöntem, adipositlerin dediferansiyasyonunu teşvik etmektir. Bu süreç, olgun adipositlerin dediferansiyasyonunu ve adiposit kök hücrelerinin proliferasyonunu artırarak greftin hacim tutma oranını iyileştirebilir [37]. Konsantre büyüme faktörleri (CGF) de yağ grefti sağkalımını arttırabilir. CGF, insan adiposit kök hücrelerinin proliferasyonunu ve vasküler farklılaşmasını teşvik ederek greftin kalitesini arttırabilir [38].

2.4.YAĞ GREFTİ SAĞKALIM MEKANİZMALARI

Yağ greftlerinin sağkalım mekanizmaları, yağ greftlerinin uzun vadeli başarısını artırmak için çeşitli stratejileri içerir. Bu mekanizmalar, greftin hayatta kalmasını ve işlevselliğini artırmak için farklı biyolojik süreçleri hedef alır.

Yağ greft sağkalımını artırmak için kullanılan stratejiler arasında büyüme faktörleri ve adipöz kök hücre zenginleştirilmesi öne çıkmaktadır. Bu yöntemler, insan çalışmalarında etkinliğini kanıtlamış ve doz bağımlı bir etki gösterebilmektedir [25]. Nanoyağ, proanjiyojenik, anti-apoptotik ve proliferatif aktiviteleri ile yağ greft

sağkalımını arttırabilir [39]. Platelet açısından zengin fibrin (PRF), vaskülarizasyonu ve adipogenik farklılaşmayı teşvik ederek, hücresel apoptozu inhibe ederek ve kollajen üretimini düzenleyerek yağ greft sağkalımını arttırabilir [36].

Otofaji, hücresel homeostazı koruyarak yağ greft sağkalımını arttırabilir. Rapamisin gibi otofaji agonistleri, mitokondri kalitesini iyileştirerek ve oksidatif stresi azaltarak greft sağkalımını arttırabilir [40]. Adipoz kökenli progenitör hücre zenginleştirilmiş yağ (AER yağ), daha yüksek kapiller yoğunluk ve daha iyi histolojik yapı ile yağ greft sağkalımını arttırabilir [41]. Makrofajların erken infiltrasyonu, anjiyogenezi ve hematopoietik kök hücrelerin toplanmasını teşvik ederek yağ greft sağkalımını arttırabilir [35].

2.5.YAĞ GREFTİ ALINMASI, İŞLENMESİ VE UYGULANMASI

Yağ grefti, plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahide kullanılan, kişinin kendi yağ dokusunun çeşitli yöntemlerle alınıp dokulara enjekte edilmesiyle gerçekleştirilen bir işlemdir. Bu işlem, biyoyumluluğu, immünojenisite eksikliği ve erişilebilirliği nedeniyle ideal bir yumuşak doku dolgu maddesi olarak kabul edilir [27,42]. Yağ grefti işlemi, yağın toplanması, işlenmesi ve transferi aşamalarını içerir ve bu aşamalar greftin tutunma oranını ve etkinliğini doğrudan etkiler [42,43].

Yağ grefti işlemi sırasında kullanılan farklı teknikler, greftin hayatta kalma oranını etkileyebilir. Örneğin, Telfa gazlı bez üzerinde işlenen yağ greftleri, daha fazla fonksiyonel adiposit sayısına sahip olup, anjiyojenik ve mitojenik adipokinlerin salgılanmasını artırarak greftin hayatta kalma oranını iyileştirebilir [34]. Ayrıca, pamuklu gazlı bezle işleme yöntemi, kozmetik olarak hassas bölgelerde optimal tutunma sağlamak için en uygun yöntem olarak değerlendirilmektedir [44].

Yağ grefti işlemlerinde kullanılan santrifüjleme, filtrasyon ve sedimantasyon gibi farklı işleme yöntemleri, greftin fiziksel ve biyolojik özelliklerini etkileyebilir. Her bir yöntemin kendine özgü avantajları ve dezavantajları bulunmakla birlikte, hangi yöntemin üstün olduğuna dair kesin bir kanıt bulunmamaktadır [42, 45]. Bununla birlikte, düşük hızda santrifüjleme, yağın daha iyi korunmasını sağlayabilir [27].

Yağ grefti işlemi, yağın toplanması, işlenmesi ve enjekte edilmesi aşamalarında kullanılan tekniklerin dikkatli bir şekilde seçilmesini gerektirir. Bu süreçte kullanılan yöntemler, greftin hayatta kalma oranını ve klinik sonuçları önemli ölçüde etkileyebilir.

Bu nedenle, yağ grefti işlemlerinde en iyi uygulamaları belirlemek için daha fazla insan çalışmasına ihtiyaç vardır.

2.6.VİTAMİN D3 (KOLEKALSİFEROL)

Vitamin D₃, diğer adıyla kolekalsiferol, 7-dehidrokolesterol adlı öncülünden güneş ışığına maruz kalma sonucu ciltte sentezlenen bir vitamindir [46]. Kimyasal yapısı, ultraviyole ışınları altında karakteristik bir absorpsiyon maksimumu gösterir ve bu özellik, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi analiz yöntemlerinde kullanılmasını sağlar [46]. Kolekalsiferol, sinir yaralanmalarının ardından miyelinleşmeyi ve iyileşmeyi artırarak sinir rejenerasyonunu destekler [47]. Ayrıca, multipl skleroz gibi hastalıklarda hastalık aktivitesini azaltmada etkili olabilir [48]. Bununla birlikte, kolekalsiferolün izomerizasyonu, özellikle sıcaklık ve ışık gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilir ve bu da analizini zorlaştırabilir [49]. Ergokalsiferol (D₂ vitamini) ile karşılaştırıldığında, kolekalsiferolün (D₃ vitamini) serum D vitamini seviyelerini artırmada daha etkili olduğu bulunmuştur [50]. Ayrıca, kolekalsiferolün bağışıklık sistemi üzerindeki olumlu etkileri, özellikle balık hücre bağışıklığında, gösterilmiştir [51]. Bu özellikleriyle kolekalsiferol, hem sağlık hem de hastalık durumlarında önemli bir rol oynar.

2.6.1. D₃ Vitaminin Faydaları, Antiinflamatuvar ve Antioksidan Özellikleri ve Yağ Grefti Üzerine Etkisi

D₃ vitamininin lokal uygulandığında etkileri, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşir. Öncelikle, D₃ vitamininin aktif formu olan 1,25-dihidroksivitamin D₃ (1,25(OH)₂ D₃), keratinositlerde timik stromal lenfopoietin (TSLP) ekspresyonunu indükleyerek atopik dermatit benzeri bir sendromu tetikleyebilir [96]. Bu süreç, D vitamini reseptörleri (VDR) ve retinoik asit reseptörleri (RAR) ile etkileşime giren heterodimerlerin rol oynadığı bir mekanizma ile kontrol edilir [96]. Ayrıca, D vitamini analogları, keratinositlerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını düzenleyerek cilt bariyerinin korunmasına katkıda bulunur [97,98].

D vitamininin lokal uygulaması, immünmodülatör etkiler de gösterir. Örneğin, calcipotriol gibi D vitamini analogları, ciltteki Langerhans hücrelerinin tükenmesine ve antijen-spesifik düzenleyici T hücrelerinin (Treg) oluşumuna yol açarak immün yanıtları baskılar [99]. Bu, ciltteki inflamatuvar yanıtların azaltılmasına ve cilt sağlığının korunmasına yardımcı olur [100,101]. Ayrıca, D vitamini, ciltteki mikrobiyomun

sağlıklı türlere doğru kaymasını sağlayarak periodontal sağlığın korunmasına da katkıda bulunabilir [100].

D vitamini, kemik sağlığının yanı sıra antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleriyle de dikkat çekmektedir. D vitamini, inflamasyon sistemini düzenleyerek birçok bağışıklıkla ilgili hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynar. İnflamatuvar sitokinlerin ve bağışıklık hücrelerinin üretimini düzenleyerek, kanser gibi hastalıkların ilerlemesinde etkili olan inflamatuvar süreçleri etkileyebilir [52,53,54]. Ayrıca, D vitamini takviyesi, obezite ile ilişkili kronik inflamasyonu azaltarak, C-reaktif protein (CRP) seviyelerini düşürür ve anti-inflamatuvar sitokinlerin artışı destekler [55,56].

D vitamini, antioksidan etkileriyle de bilinir. Hem merkezi hem de periferik bölgelerde antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteler gösterir. Örneğin, D vitamini, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve miyeloperoksidaz salınımını azaltarak, inflamatuvar ağrıyı ve ödemi hafifletir [53]. Ayrıca, D vitamini, inflamatuvar gen ekspresyonunu azaltarak ve AMPK/NF- κ B sinyal yolunu baskılayarak obezite kaynaklı inflamasyonu hafifletir [56].

Yağ grefti üzerine etkisi ise, D vitamininin antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri sayesinde, greftin daha iyi bir şekilde kabul edilmesine ve inflamasyonun azaltılmasına katkıda bulunabilir. D vitamini, bağışıklık sistemini modüle ederek, greftin reddedilme riskini azaltabilir ve greftin uzun vadeli başarısını artırabilir [57,58].

2.7.MYRTUS COMMUNIS (MERSİN BİTKİSİ)

Myrtus communis, yaygın olarak bilinen adıyla mersin, Akdeniz bölgesine özgü bir bitkidir ve çeşitli tıbbi özellikleriyle tanınır. Bu bitki, yaprakları, meyveleri ve çiçekleri dahil olmak üzere farklı kısımlarıyla geleneksel tıpta geniş bir yelpazede hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Mersinin farmakolojik özellikleri, esansiyel yağlar ve fenolik bileşiklerin varlığına atfedilir ve bu özellikler arasında antimikrobiyal, antiviral, antidiyabetik, antispazmodik, vazodilatör, antiülser, antioksidan, antitümör ve anti-inflamatuvar etkiler bulunur [59,60,61].

Myrtus communis, Akdeniz biyomunun endemik bir bitkisi olarak, Avrupa, Afrika ve Asya'da yaygın bir coğrafi dağılıma sahiptir. Ancak, bu bitkinin doğal yaşam alanı olan Akdeniz ormanları, kritik derecede tehlike altındadır ve koruma altındaki küçük, parçalanmış alanlarla sınırlıdır [62]. Mersin bitkisi, aynı zamanda Sardunya'da yaygın olarak bulunur ve burada anti-inflamatuvar, antiseptik, antimikrobiyal, hipoglisemik ve

balsamik özellikleriyle bilinir. Mersin meyveleri, tatlı mersin likörü üretiminde kullanılır ve yüksek oranda biyoaktif polifenoller, özellikle antosiyaninler içerir [63].

Myrtus communis'in kimyasal bileşimi, birçok biyolojik aktif madde içerir ve bu da ona büzücü, anti-inflamatuar, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antidiyabetik, antiülser, antimutajenik, gastro- ve hepatoprotektif özellikler kazandırır [61]. Esansiyel yağının ana bileşenleri arasında α -pinen, 1,8-sineol, linalool ve limonen bulunur [64,65]. Bu bitki, geleneksel tıpta akciğer rahatsızlıklarının tedavisinde ve antiseptik, anti-inflamatuar, mukolitik, karminatif ve büzücü bir ilaç olarak uzun süredir kullanılmaktadır [65].

2.7.1. Antioksidan/Antiinflamatuar Etkiler ve Greft Sağkalımına Katkıları

Myrtus communis, yaygın olarak mersin olarak bilinen, antioksidan ve antiinflamatuar etkileriyle dikkat çeken bir bitkidir. Mersin yapraklarından elde edilen metanolik ekstrakt (MME_x), yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriği ile güçlü antioksidan ve antiinflamatuar özellikler sergilemektedir. Bu ekstrakt, hidrojen peroksit (H₂O₂) ile yapılan testlerde en iyi antioksidan aktiviteyi göstermiştir ve karragenan ile indüklenen ödem gelişimini sınırlayarak in vivo olarak iyi bir antiinflamatuar etki göstermiştir [66]. Mersin özleri, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini azaltarak ve proinflamatuar sitokinlerin salınımını modüle ederek inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltabilir [67].

Mersin esansiyel yağları (MCEOs), oksijenli monoterpenler ve seskiterpenler gibi bileşenler içerir ve bu bileşenler, siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi inflamatuvar hedeflerle yüksek bağlanma enerjisi göstererek antiinflamatuar potansiyel sergiler [68]. Ayrıca, mersin yapraklarından elde edilen polifenol zenginleştirilmiş fraksiyon (PEMC), antiinflamatuar ve yara iyileştirici potansiyel göstermiştir [69]. Mersin özleri, termal yanık hasarına karşı da koruyucu bir etki göstererek, oksidatif stresin neden olduğu uzak organ hasarını azaltabilir [70].

Myrtus communis'in bu antioksidan ve antiinflamatuar etkileri, greft sağkalımına katkıda bulunabilir. Özellikle, inflamasyonu azaltarak ve oksidatif stresi kontrol altına alarak, greftlerin daha iyi bir şekilde kabul edilmesine ve iyileşmesine yardımcı olabilir. Bu nedenle, *Myrtus communis*, greft sağkalımını artırmak için potansiyel bir doğal ajan olarak değerlendirilebilir.

2.8.YAĞ GREFT SAĞKALIMINDA MEKANİZMA TEMELLİ YAKLAŞIMLAR

Yağ greft sağkalımında mekanizma temelli yaklaşımlar, yağ greftleme işlemlerinin başarısını artırmak için çeşitli biyolojik süreçlerin anlaşılmasına dayanır. Geleneksel olarak, yağ greftlerinin sağkalımı, greft ve alıcı saha arasında erken kan dolaşımının sağlanmasıyla ilişkilendirilmiştir [71]. Ancak, son araştırmalar, yağ greft sağkalımını etkileyen yeni mekanizmalar ortaya koymuştur. Örneğin, otolog yağ greftlemesinde, adiposit türevli kök hücrelerin (ADSC'ler) ve trombositten zengin plazmanın (PRP) kullanımı, greftin uzun vadeli sağkalımını arttırabilir [72]. ADSC'ler, anti-inflamatuar etkileri ve rejeneratif özellikleri sayesinde yağ greftlerinin sağkalımını destekler [73]. Ayrıca, yağ greftlerinin sağkalımını arttırmak için otoliz ve mitofaji gibi hücrel süreçlerin rolü de incelenmiştir. Örneğin, rapamisin ile indüklenen otoliz, hücrel ölüm oranını azaltarak ve mitokondri kalitesini artırarak greft sağkalımını iyileştirebilir [40]. Bunun yanı sıra, trombositten zengin fibrin (PRF) kullanımı, anjiyogenez ve adipogenez süreçlerini teşvik ederek ve hücrel apoptozu inhibe ederek yağ greft sağkalımını arttırabilir [36].

2.8.1. Anjiyogenez ve Vaskülarizasyonun Önemi

Yağ greft sağkalımında anjiyogenez ve vaskülarizasyonun önemi, yağ greftlerinin başarılı bir şekilde hayatta kalması ve işlevselliği için kritik bir rol oynamaktadır. Yağ greftlerinin hayatta kalma mekanizması, greftin erken dönemde kan dolaşımının sağlanması ve greft ile konakçı kan damarları arasında anastomoz oluşumu ile ilişkilidir [71]. Makrofajlar, yağ greftlerinde önemli bir rol oynar; erken makrofaj infiltrasyonu, anjiyogenezi teşvik ederek ve hematopoietik kök hücrelerin toplanmasını sağlayarak greft sağkalımını artırır [35].

Platelet-rich fibrin (PRF) gibi biyomateryaller, anjiyogenezi ve adipogenezi teşvik ederek, hücrel apoptozu inhibe ederek ve kollajen üretimini düzenleyerek yağ greft sağkalımını arttırabilir [36]. İnsan adipöz kaynaklı kök hücrelerden (hADSC'ler) türetilen eksozomlar, let-7/AGO1/VEGF-A sinyal yolları aracılığıyla anjiyogenezi teşvik ederek yağ greftlerinin hayatta kalmasını iyileştirebilir [74]. Ayrıca, VEGF-A modRNA ile zenginleştirilmiş hADSC'ler, yağ greftlerinin uzun vadeli sağkalımını ve vaskülarizasyonunu arttırabilir [75].

Hipoksi ile muamele edilen hADSC'lerden türetilen eksozomlar, VEGF-A/VEGF-A-R sinyal yollarını düzenleyerek anjiyogenezi arttırabilir [76]. Kısa süreli yüksek yağlı diyetler, makrofaj infiltrasyonunu ve anjiyogenezi teşvik ederek yağ greftlerinin kalitesini arttırabilir [77]. Beyaz adipöz dokunun spontan kahverengileşmesi, anjiyogenezi iyileştirir ve makrofaj infiltrasyonunu azaltarak yağ greftlerinin sağkalımını artırır [78].

2.8.2. Oksidatif Stres ve Enflamasyonun Kontrolü

D vitamini, glutatyon seviyelerini artırarak antioksidan etkiler gösterebilir ve nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) sinyal yolunun inhibisyonu yoluyla inflamatuvar yanıtı etkili bir şekilde baskılayabilir.

D vitamini, glutatyon seviyelerini artırarak oksidatif stresle mücadelede önemli bir rol oynar. Örneğin, insan bronşiyal epitel hücrelerinde yapılan bir çalışmada, D vitamininin, partikül maddeye maruz kalma sonucu oluşan oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtları azaltarak glutatyon seviyelerini artırdığı gösterilmiştir [102]. Bu, D vitamininin antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirdiğini ve oksidatif hasarı azalttığını göstermektedir.

D vitamini ayrıca NF- κ B sinyal yolunu inhibe ederek inflamasyonu baskılar. Çeşitli çalışmalarda, D vitamininin NF- κ B yolunu inhibe ederek inflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı ve böylece inflamatuvar yanıtı baskıladığı gösterilmiştir [101, 103, 104, 105]. Örneğin, lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılan endotel hücrelerinde D vitamini, NF- κ B'nin nükleer birikimini ve inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltarak inflamatuvar yanıtı baskılamıştır [104]. Benzer şekilde, D vitamini, partikül maddeye maruz kalan hücrelerde NF- κ B aktivitesini azaltarak inflamasyonu hafifletmiştir [103].

Oksidatif stres ve inflamasyonun kontrolü, greft sağkalımının iyileştirilmesinde kilit rol oynamaktadır. Glutatyon (GSH) takviyesi, D vitamini ile birlikte kullanıldığında, vücutta önemli biyokimyasal süreçleri destekleyebilir. Araştırmalar, GSH'nin D vitamini metabolizmasını düzenleyen genlerin ifadesini artırarak, D vitamini eksikliğinin giderilmesine yardımcı olabileceğini göstermektedir [79, 80].

GSH, D vitamini bağlayıcı protein (VDBP) ve D vitamini reseptörlerinin (VDR) ekspresyonunu artırarak, D vitamininin biyoyararlanımını ve metabolik etkilerini güçlendirir [81]. GSH eksikliği, D vitamini metabolizmasını etkileyen genlerde

epigenetik değişikliklere yol açabilir ve bu durum, D vitamini eksikliğine katkıda bulunabilir [82].

GSH ve D vitamini takviyesinin birlikte kullanımı, oksidatif stresi azaltarak ve inflamasyonu kontrol altına alarak sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratabilir [83,84]. Bu bulgular, GSH'nin D vitamini ile kullanılmasının, özellikle kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde potansiyel bir strateji olabileceğini göstermektedir [80,85].

2.9.GREFT CANLILIĞININ DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ (HİSTOLOJİ, GÖRÜNTÜLEME, BİYOBELİRTEÇLER)

Greft canlılığının değerlendirilmesi, organ ve doku nakli başarısını artırmak için kritik öneme sahiptir. Bu değerlendirme, histolojik analizler, görüntüleme teknikleri ve biyobelirteçlerin kullanımı gibi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilir.

Histolojik Değerlendirme: Histoloji, greft canlılığını değerlendirmede geleneksel bir yöntemdir. Ancak, histolojik analizlerin özgüllük, duyarlılık ve tekrarlanabilirlik açısından sınırlamaları bulunmaktadır. Bu nedenle, histolojiye dayalı karar verme süreçleri, bazen suboptimal hasta sınıflandırmalarına yol açabilir [86]. Histolojik analizler, greftin yapısal bütünlüğünü ve hücresel düzeydeki hasarları değerlendirmek için kullanılır, ancak tek başına yeterli olmayabilir [87].

Yağ grefti, yumuşak doku kusurlarını düzeltmek amacıyla yağın yeniden dağıtılması işlemidir ve bu süreçte görüntüleme teknikleri, greft edilen yağın izlenmesi ve değerlendirilmesi için önemli bir rol oynar. Manyetik rezonans görüntüleme (MRI), yağ greftlerinin izlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Özellikle Dixon MRI, yağ greftlerinin sinyal ve hacim değişikliklerini değerlendirmek için etkili bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu teknik, greft edilen yağın ameliyat sonrası iyileşme sürecinde sinyal ve hacim değişikliklerini izlemek için kullanılabilir [88].

Dixon MRI, yağ greftlerinin tanımlanması ve ameliyat sonrası değişikliklerin ölçülmesi için uygun bir yaklaşım sunar. T1 ağırlıklı yağ görüntüleri, T2 ağırlıklı görüntülere göre daha iyi görüntü kalitesi ve farklılaşma sağlar. Ameliyat sonrası 7 gün, 3 ay ve 1 yıl gibi farklı zaman dilimlerinde yapılan ölçümler, greft edilen yağın sinyal kontrastı ve hacim tutma oranlarında önemli değişiklikler olduğunu göstermektedir [88]. Ayrıca, yağ greftleme işlemlerinde kullanılan farklı yağ işleme tekniklerinin, greftin uzun vadeli tutma oranları üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Filtrasyon ve santrifüj teknikleri, yerçekimi ile çöktürme yöntemine göre daha iyi tutma sonuçları verebilir.

Ancak, her bir işleme tekniği içinde tutma oranları değişiklik gösterebilir ve bu teknikler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [89].

Yağ grefti, plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahide yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu süreçte, biyobelirteçler, yağ greftlerinin başarısını ve hücre yenilenme süreçlerini anlamada kritik bir rol oynar. Perilipin1 (Plin1) ve Perilipin2 (Plin2) gibi perilipin proteinleri, yağ hücrelerindeki lipid damlacıklarının oluşumunu düzenler ve yağ greftlerinde adiposit rejenerasyonunu değerlendirmek için biyobelirteç olarak kullanılabilir[90,91]. Plin2, erken adiposit farklılaşması sırasında ifade edilir ve hücre olgunlaştıktan sonra Plin1 ile yer değiştirir. Bu nedenle, Plin2, yağ greftlerinde erken adiposit rejenerasyonunu tespit etmek için daha hassas bir biyobelirteç olarak kabul edilir [90]. Yağ greftlerinin hacim tutma oranı genellikle öngörülemezdir, ancak yağdan türetilen stromal hücrelerin eklenmesi bu oranı iyileştirebilir. Bu hücreler, greftin vaskülarizasyonunu artırarak yağ greft hacminin korunmasına katkıda bulunur [92]. Ayrıca, nekroptosis inhibitörleri, yağ greftlerinde nekroz ve fibrozis gibi komplikasyonları önleyebilir, bu da greftin uzun vadeli başarısını arttırabilir [91]. Yağ greftlerinin hazırlanmasında kullanılan farklı teknikler, greftin hücresel ve protein bileşimini etkileyebilir. Bu teknikler, greftin inflamasyon ve yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini değiştirebilir [93]. Ayrıca, yağ greftleri, termal yaralanma sonrası revascularizasyonu hızlandırabilir ve fibrozisi azaltabilir, bu da greftin iyileşme sürecine olumlu katkıda bulunur [94].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.DENEY TASARIMI

Mevcut deneysel tasarım, otolog yağ grefti sağkalımını iyileştirmek için D₃ vitamini ve Myrtus communis'in potansiyel etkilerini değerlendirmek üzere sistemik bir yaklaşım içermektedir. Bu araştırma modeli, lokal ve sistemik uygulama yöntemlerinin etkinliğini karşılaştırarak optimum tedavi stratejisini belirlemeyi amaçlamaktadır.

Deney grupları, D₃vitamini ve Myrtus communis'in tek başına veya kombinasyon halinde etkinliğini değerlendirmek için stratejik olarak oluşturulmuştur. Kontrol gruplarının varlığı, tedavi müdahalelerinin etkinliğini karşılaştırmak için gerekli referans noktalarını sağlamaktadır. Özellikle standart yağ grefti kontrol grubu (altıncı grup), ek müdahaleler olmaksızın yağ greftinin doğal davranışını değerlendirmek için önemlidir.

Deney koşullarının titizlikle standardize edilmesi, sonuçların tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini artırmaktadır. Sıcaklık, aydınlatma döngüsü ve beslenme rejimleri gibi çevresel faktörlerin sıkı kontrol altında tutulması, biyolojik değişkenlerin deney sonuçları üzerindeki etkisini en aza indirmektedir. Bu yaklaşım, D₃ vitamini ve Myrtus communis'in yağ grefti sağkalımı üzerindeki gerçek etkilerinin daha net bir şekilde ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır.

3.1.1.Çalışma Tipi ve Gruplandırma

Araştırmada, 2–3 aylık, 200–300 g ağırlığındaki 42 adet erkek Wistar Albino Rat kullanılmış ve hayvanlar rastgele yedi gruba (her grupta n=6) ayrılmıştır

GRUPLAR

- 1.Grup Kontrol Grubu (Cerrahi İşlem Uygulanmayan)
- 2.Grup Yağ Grefti + Lokal D₃ Vitamini Uygulanan Grup
- 3.Grup Yağ Grefti + Lokal D₃ Vitamini + Oral Myrtus Communis Uygulanan Grup
- 4.Grup Yağ Grefti + Sistemik D₃ Vitamini Uygulanan Grup
- 5.Grup Yağ Grefti + Sistemik D₃ Vitamini + Oral Myrtus Communis Uygulanan Grup
- 6.Grup Yağ Greft Kontrol Grubu
- 7.Grup Yağ Grefti + Oral Myrtus Communis Uygulanan Grup

Çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmış (13.03.2024 tarihli Protokol No: 49533702/154) olup, sıçanlar $22 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve nem kontrollü ortamlarda, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ışık döngüsü altında, standart sıçan yemi ve ad libitum su ile beslenmiş; her kafeste en fazla 6 rat barındırılmıştır.

3.1.2. Deneysel Prosedürler ve Metodoloji

Bu bölümde detaylandırılan deneysel prosedürler ve metodoloji, çalışmanın bilimsel güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla titizlikle tasarlanmıştır. Anestezi protokolünden doku örneklemesine, analitik yöntemlerden istatistiksel değerlendirmeye kadar tüm süreçler standart laboratuvar uygulamaları ve etik prensipler gözetilerek yürütülmüştür. Kullanılan anestezi kombinasyonu, cerrahi işlemlerde yeterli derinlikte anestezi sağlarken, postoperatif analjezi ve antibiyotik uygulamaları hayvanların iyileşme sürecini desteklemiştir. Yağ grefti hazırlama ve implantasyon tekniği, klinik uygulamalara uygun şekilde gerçekleştirilmiş, böylece translasyonel değeri yüksek bir model oluşturulmuştur. İlaç uygulamalarında doz ve uygulama yolu, literatürdeki önceki çalışmalar dikkate alınarak belirlenmiştir. Örnekleme ve analiz yöntemleri, hem makroskopik hem mikroskopik değerlendirmelere olanak tanıyacak şekilde çeşitlendirilmiş, böylece D₃ vitamini ve Myrtus communis'in greft sağkalımı üzerindeki etkilerinin kapsamlı olarak incelenmesi mümkün kılınmıştır. İstatistiksel analiz yaklaşımı, verilerin doğru yorumlanmasını ve gruplar arası anlamlı farklılıkların güvenilir şekilde ortaya konmasını sağlayacak şekilde planlanmıştır.

3.1.2.1. Anestezi Protokolü ve Perioperatif Bakım

Çalışmada, ratlara derin anestezi indüksiyonu için Xylazine HCl (Xylazinbio %2, Bioveta, Çekya) (13 mg/kg IM) ve Ketamin HCl (Ketasol %10, VetViva Röhler, Almanya) (87 mg/kg IM) kombinasyonu uygulanmıştır. Postoperatif analjezi, carprofen (Rimadly , Zoetis Inc., ABD) (4 mg/kg IM) ile 3 gün süreyle sağlanmıştır. Cerrahi sonrası enfeksiyon profilaksisi amacıyla sefuroksim (Vefur, Vetall İlaç, Türkiye) (20 mg/kg) antibiyotik uygulaması gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.2. Yağ Grefti Hazırlama ve İmplantasyon

Yağ grefti materyali, inguinal bölgede 2-3 cm'lik insizyon ile temin edilmiştir. Elde edilen yağ paketleri serum fizyolojik ile yıkanmış ve uygun gruplara D₃ vitamini

eklenmiştir. Hazırlanan greftler, sıçanların sırt bölgesinde oluşturulan subkutan poşlara yerleştirilmiş ve uygun suture teknikleri ile sabitlenmiştir.

3.1.2.3. Deneyel Gruplar ve İlaç Uygulamaları

Lokal uygulama grubunda lipoaspirata 5000 ng D₃ vitamini eklenmiştir. Sistemik uygulama grubunda ise D₃ vitamini, 5000 ng dozunda parenteral yolla inguinal bölgeden uygulanmıştır. Myrtus communis ekstraktı, 0.5 ml/kg/gün dozunda 8 hafta boyunca gastrik gavaj yöntemiyle uygulanmıştır.

3.1.2.4. Ötenazi ve Doku Örnekleme

Deney sürecinin 8. haftasında, yüksek doz Thiopental sodyum (Tiopental sodyum, Vetaş Veteriner ve Tarım İlaçları A.Ş., Türkiye.) (150 mg/kg IP) ile ötenazi gerçekleştirilmiştir. Sırt bölgesinden eksize edilen greft dokuları, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler için %4 paraformaldehit solüsyonunda fiks edilmiştir.

3.1.2.5. Analitik Metodlar

Biyokimyasal analizler için deney sonunda ratlardan alınan kanlardaki TNF- α (katalog no:SEA133Ra, firma: USCN) (pg/ml), IL-6 (katalog no:SL0411Ra, firma: Sunlong) (ng/l), IL-1 β (katalog no: SEA071Ra, firma: USCN) (pg/ml), VEGF-A(katalog no: SL1157Ra, firma: Sunlong) (pg/ml), MDA(katalog no: C156Ra, firma: BT-LAB) (nmol/ml), eNOS(katalog no:SL1159Ra, firma: Sunlong) (pg/ml) ve SOD (katalog no : SL0664Ra, firma: Sunlong) (pg/ml) düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Histopatolojik değerlendirmede Hematoksilen-Eozin boyama tekniği kullanılarak greftlerin yapısal bütünlüğü ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu incelenmiştir. Ayrıca Masson's DAB boyama yöntemi ile VEGF-A, eNOS ve Caspase-3 Trichrome (MT) boyama tekniği ile kollajen dağılımı ve doku fibrozisi incelenmiştir. İmmünohistokimyasal analizlerde ekspresyonları değerlendirilmiştir.

3.2.DENEY MALZEMELERİ VE KİMYASALLAR

Bu bölümde ayrıntılı olarak açıklanan deney malzemeleri ve kimyasallar, çalışmanın bilimsel titizliğini ve metodolojik sağlamlığını temin etmek amacıyla özenle seçilmiş ve standardize edilmiştir. Kullanılan biyolojik materyaller, farmakolojik ajanlar ve cerrahi ekipmanlar, yağ grefti sağkalımı üzerinde D₃ vitamini ve *Myrtus communis*'in etkilerini objektif olarak değerlendirmek için optimal koşulları sağlamıştır. Deney hayvanlarının uygun bakım şartlarında tutulması ve adaptasyon sürecine tabi tutulması, biyolojik değişkenliği azaltmaya katkıda bulunmuştur. Farmakolojik ajanların standart protokollerle hazırlanması ve uygulanması, dozaj tutarlılığını ve etkinliğini güvence altına almıştır. Cerrahi ekipmanın titizlikle sterilize edilmesi ve uygun tekniklerle kullanılması, enfeksiyon riskini minimize ederek deneyin güvenilirliğini artırmıştır. Tüm bu faktörler, çalışmanın etik standartlara uygunluğunun yanı sıra, elde edilen verilerin bilimsel değerini ve klinik uygulamalara aktarılabilirliğini maksimize etmiştir.

3.2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 8-12 haftalık, 200-250 g (± 20 g) ağırlığında, eşit cinsiyet dağılımına sahip Wistar Albino Ratlar kullanılmıştır. Deney hayvanları, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkez laboratuvar koşullarında üretilmiş ve ($22 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü) 7 günlük adaptasyon sürecine tabi tutulmuştur.

3.2.2. Farmakolojik Ajanlar

Vitamin D₃ (kolekalsiferol), DEVIT-3 200.000 IU/ 10 ML oral damla, çözelti; 5000 ng olacak şekilde hazırlanmıştır. Preparatlar steril koşullarda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Myrtus Communis(mersin ağacı yaprak ve gövde ekstresi) elde edilişi: Arthro Biotechnology A.S. firması tarafından mersin ağacı gövde ve yaprakları 6g/l olacak şekilde 100°C 15 dk kaynatılacaktır ve su buharlaştırılacaktır. 150 $\mu\text{g/ml}$ solüsyonlar 120°C otoklavda 1 saat steril edilecektir. 50 şişe tüplere konulup 4°C muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Cerrahi Ekipman

Cerrahi işlemlerde yağ grefti için steril bistüri kullanılmıştır. Sütür için 3.0 prolene kullanılmıştır. Tüm cerrahi malzemeler otoklav sterilizasyonuna (121°C, 15 psi, 20 dakika) tabi tutulmuştur.

3.3.YAĞ GREFT UYGULAMA PROTOKOLÜ

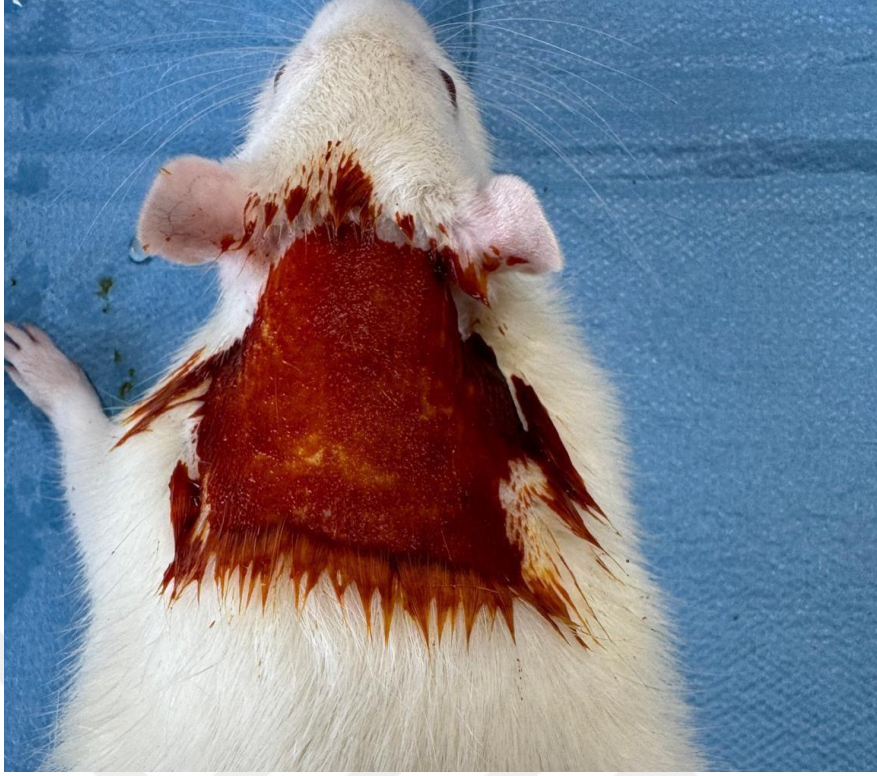
Bu bölümde, yağ greft uygulamasının tüm aşamaları titizlikle planlanmış ve uygulanmıştır. İlk aşamada, yağ dokusu alımı gerçekleştirilir. Genel anestezi altında, erkek Wistar Albino ratların sağ veya sol inguinal bölgelerinde cilt katlantısına uygun insizyonlar açılır; insizyon sonrası künt diseksiyonla cilt altına inerek yağlı dokuya ulaşılır. Inguinal bölgedeki yağ paketleri, doku bütünlüğü korunarak dikkatlice eksize edilir ve alım sonrası donör bölgeler uygun şekilde sütüre edilir.

Yağ dokusunun alımının ardından, ikinci aşamada doku proseslenir. Eksize edilen yaklaşık 2g yağ dokusu, alımdan hemen sonra işleme alınır; öncelikle 2–3 ml serum fizyolojik ile yıkanarak kan ve diğer debrisler uzaklaştırılır. Bu aşamada, D₃ vitamini takviyesi yapılacak gruplarda, lipoaspirata belirlenen miktarda D₃ vitamini eklenir. İşleme sürecinde, canlı adiposit içeriğinin maksimum düzeyde korunması hedeflenirken, canlı olmayan bileşenlerin uzaklaştırılması sağlanır.

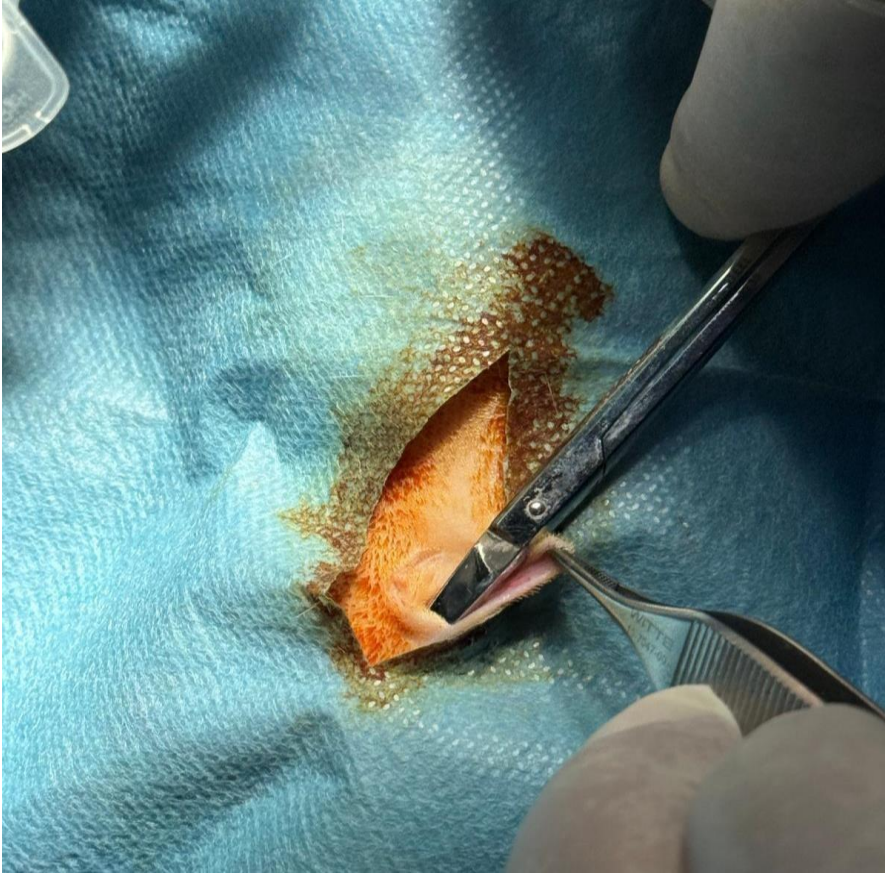
Son aşamada ise, hazırlanan yağ grefti, alıcı bölgede uygulanır. Aynı ratın sırtında, iki skapula arasındaki alanda yaklaşık 1 cm'lik bir insizyon açılarak künt diseksiyonla cilt altı poş oluşturulur. İşlenmiş yağ grefti, eşit dağılım sağlanacak şekilde bu poşa yerleştirilir ve standardizasyon amacıyla her rata belirlenmiş miktarda greft uygulanır. İşlem tamamlandıktan sonra, insizyon uygun şekilde sütüre edilir.



Şekil 1. İnguinal bölgenin traşlanıp batikonla temizlenmesi



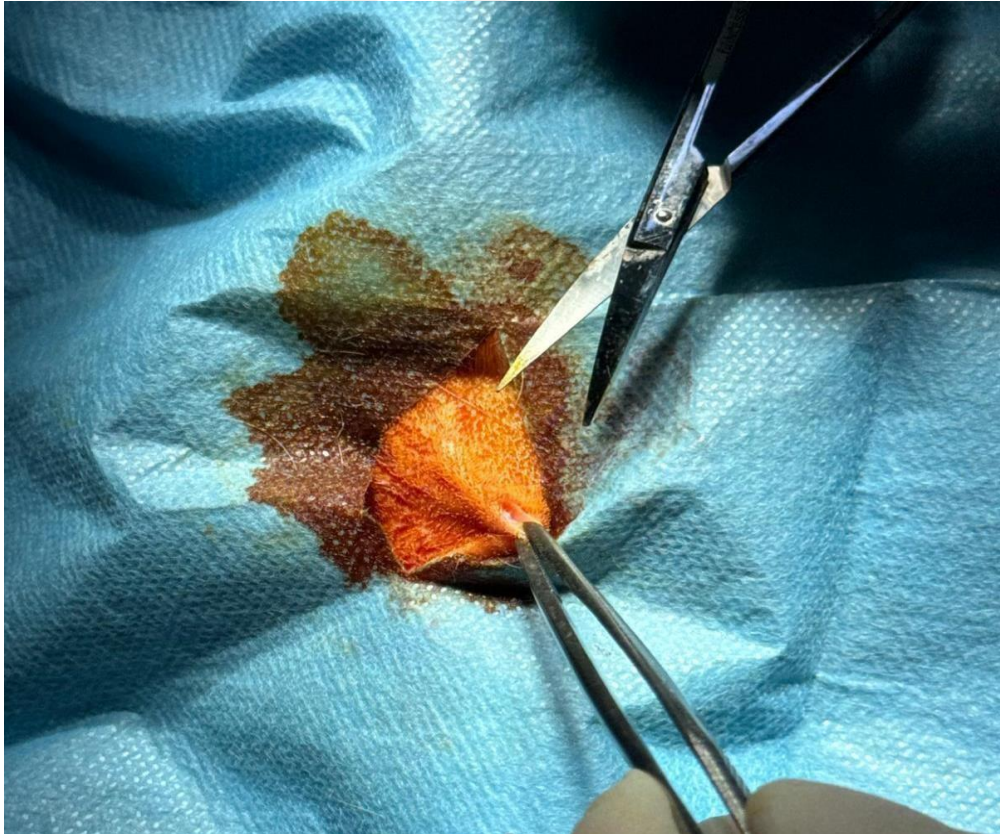
Şekil 2. Scapula bölgesinin traşlanıp batikonla temizlenmesi



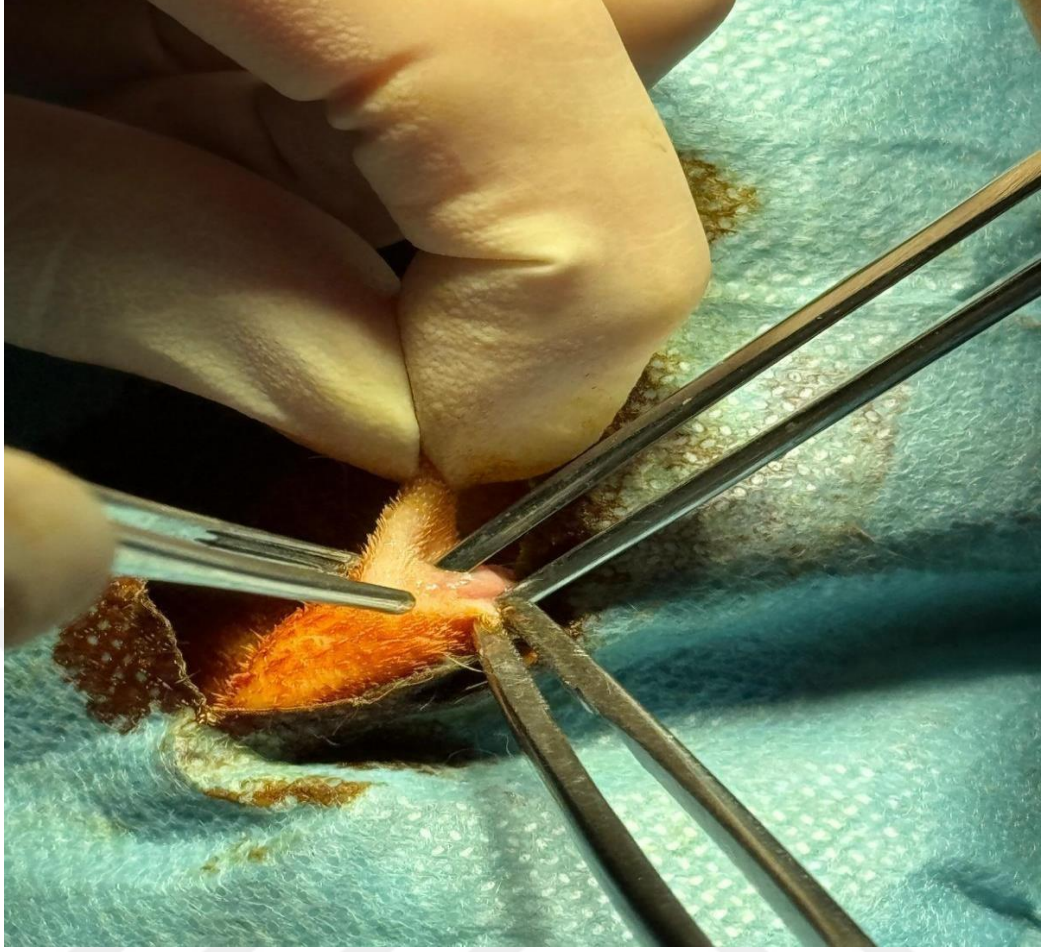
Şekil 3. İnginal bölge diseksiyonu



Şekil 4. İnguinal fat pad rezeksiyonu



Şekil 5. Scapula ortası ciltte poş açılması



Şekil 6. Scapula ortasındaki poşa yağ grefti yerleştirilmesi



Şekil 7. Scapula arasındaki yağ greftinin po:8. Hafta adaptasyonu



Şekil 8. Cilde adapte yağ grefti görünümü po: 8.hafta



Şekil 9. Po:8. Hafta cilde yapışık yağ grefti

3.4.TEDAVİ PROTOKOLLERİ

Yağ grefti uygulamasına ek olarak, tedavi protokollerinde Vitamin D₃ ve Myrtus communis'in ayrı ayrı ve kombine etkileri değerlendirilmektedir. Çalışmanın amacı, adipoz dokunun sağkalımını ve fonksiyonel bütünlüğünü destekleyebilecek yenilikçi tedavi stratejilerini sistematik bir şekilde incelemektir. Tedavi yöntemlerinin etkinlikleri, biyokimyasal, histopatolojik ve moleküler analizlerle kapsamlı bir şekilde ele alınarak, klinik uygulamalara yönelik potansiyel katkıları ortaya konulacaktır.

3.4.1. Vitamin D₃ Uygulaması

Vitamin D₃ (kolekalsiferol) çalışmada iki farklı metodoloji ile uygulanacaktır: ilk yöntemde D₃ vitamini (5000 ng) doğrudan lipoaspirata eklenerek yağ grefti ile birlikte lokal olarak uygulanırken, ikinci yöntemde D₃ vitamini sistemik olarak parenteral yolla, operasyon günü bir kez olacak şekilde uygulanmıştır; bu dozlama rejimi, D₃ vitamininin adipoz doku üzerindeki etkinliğini optimize etmek amacıyla özel olarak tasarlanmıştır.

3.4.2. Myrtus Communis Uygulaması

Myrtus Communis (mersin ağacı gövde ve yaprak ekstresi) tedavisi, gastrik gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Uygulama dozu 0,5 ml/kg/gün olarak belirlenmiş olup, tedavi deney süresi boyunca 8 hafta devam edilmiştir. Ekstrenin hazırlanması özel bir protokolle gerçekleştirilmiştir; Arthro Biotechnology A.Ş. tarafından mersin ağacı gövde ve yaprakları 6 g/L konsantrasyonda, 100°C'de 15 dakika kaynatılmış, su buharlaştırılarak elde edilen solüsyon 150 µg/ml yoğunluğa ulaşmış ve 120°C'de otoklavda 1 saat steril edildikten sonra 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.3. Kombine Tedavi

Kombine tedavi grubunda, Vitamin D₃ ve Myrtus Communis'in birlikte uygulanmasıyla potansiyel sinerjistik etkiler incelenecektir. Bu gruplarda lokal veya sistemik olarak D₃ vitamini ve Myrtus Communis ekstresi aynı anda uygulanmıştır.

Kombinasyon tedavisinin etkileri; inflamatuvar belirteçler (TNF- α , IL-1 β , IL-6), oksidatif stres belirteçleri (SOD, MDA), anjiyogenez faktörleri (eNOS, VEGF-A) ve histopatolojik değerlendirmeler yoluyla karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

3.5.İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ve İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Bu bölümde, immünohistokimyasal boyamaların semikantitatif analizi için H-skor yöntemi ve deney verilerinin istatistiksel değerlendirme süreçleri detaylı bir şekilde ele alınmıştır. H-skor yöntemi, boyanma yoğunluğunun zayıf, orta ve güçlü olarak sınıflandırılmasıyla, immünohistokimyasal sonuçların objektif ve standart bir şekilde analiz edilmesini sağlamaktadır. Buna ek olarak, istatistiksel analizler, ölçümlerin güvenilirliğini ve gruplar arasındaki farkların anlamlılığını ortaya koymak için titizlikle tasarlanmıştır. GraphPad 8.0 ve SPSS 25.0 gibi güçlü analiz araçları kullanılarak gerçekleştirilen bu değerlendirmeler, yağ grefti sağkalımı üzerindeki tedavi etkilerinin bilimsel geçerliliğini desteklemektedir. Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım kontrolü, One-way ANOVA ve post-hoc Tukey testi gibi yöntemler, deney gruplarının karşılaştırılmasında kapsamlı bir yaklaşım sunarken, sonuçların tablolar ve grafiklerle desteklenmesi, bulguların net ve anlaşılır bir şekilde sunulmasına olanak tanımaktadır.

3.5.1. İmmünohistokimyasal Analiz (H-Skor)

İmmünohistokimyasal boyamaların semikantitatif sonuçlarını değerlendirmek için H-skor yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde, boyanma şiddeti; zayıf (1), orta (2) ve güçlü (3) olarak sınıflandırılmıştır. Her yoğunluk için üç farklı mikroskopik alanda hücre sayımları yapılmış ve elde edilen yüzdelere, %0 ile %100 arasında değişmektedir. H-skor, "H-skoru = $\sum P_i$ (boyama yoğunluğu + 1)" formülü kullanılarak hesaplanmıştır; burada P_i , ilgili yoğunlukta boyanmış hücrelerin yüzdesini ifade eder (Bali U ve ark. 2020, Demirel O ve ark. 2022, Karakol P ve ark. 2023). Bu hesaplama yöntemi, immünohistokimyasal sonuçların objektif ve karşılaştırılabilir olmasını sağlamaktadır.

3.5.2. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 25.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda ANOVA ve post-hoc Tukey testi uygulanmış, $p < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir. Randomizasyon bilgisayar

tabanlı rastgele sayı üretici ile sağlanmıştır. Çalışmada körleme uygulanmamış olup, örneklem büyüklüğü benzer çalışmaların istatistiksel güç analizine dayandırılmıştır.

Verilerin analizi, ölçümlerin güvenilirliğini ve gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel anlamlılığını belirlemek amacıyla sistematik olarak gerçekleştirilmiştir. Alınan görüntülerdeki adipositlerden 10 ayrı ölçüm yapılarak ortalamalar hesaplanmış ve sonuçlar mikrometre (μm) cinsinden ifade edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler GraphPad 8.0 yazılımı (Prizm, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yürütülmüş; veriler ortalama $\pm$ standart sapma ($n = 10$) formatında sunulmuştur. Gruplar arasındaki farklılıklar T testi ile analiz edilmiş ve p değeri ≤ 0.05 istatistiksel anlamlılık eşiği olarak belirlenmiştir.

Kapsamlı istatistiksel analizler SPSS 25.0 programı ile gerçekleştirilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren veriler için yedi deney grubunun (kontrol, D₃ vitamini, Myrtus Communis ve kombinasyon uygulamalı gruplar) karşılaştırılmasında One-way ANOVA yöntemi kullanılmıştır. Gruplar arasında anlamlı fark saptanması durumunda, spesifik gruplar arasındaki farklılıklar post-hoc Tukey testi ile belirlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar, normal dağılım gösteren veriler için ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılım göstermeyen veriler için ise medyan ve çeyrekler arası aralık (IQR) formatında raporlanmıştır.

Tüm istatistiksel analizler, deneyimli bir biyoistatistik uzmanının gözetiminde gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler, yağ grefti sağkalımı üzerinde D₃ vitamini ve Myrtus Communis'in etkilerini değerlendirmek için kritik bilgiler sağlamıştır. Bulgular, ilgili tablolar ve grafiklerle desteklenerek kapsamlı şekilde belgelenmiştir.

4. BULGULAR

Bu bölümde, Vitamin D₃ ve Myrtus Communis'in yağ grefti sağkalımı üzerindeki etkilerini inceleyen deneysel bulgular sistematik bir şekilde ele alınmıştır. Çalışma kapsamında immünohistokimyasal, histopatolojik ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiş; bu analizler, uygulanan tedavi protokollerinin adipoz doku üzerindeki etkilerini ve greft sağkalımını artırma potansiyelini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda, 1. Grup (kontrol grubu) herhangi bir cerrahi işlem uygulanmayan ve yalnızca kan değerleri ölçülen bireylerden oluşurken, 6. Grup yalnız yağ grefti uygulaması yapılan ratları kapsamaktadır. Tedavi etkinliğini değerlendirirken, cerrahi müdahalenin temel etkilerini anlamak adına (Grup 6) ile diğer tedavi grupları arasındaki karşılaştırmalar özellikle önemli bir rol oynamıştır.

İmmünohistokimyasal ve biyokimyasal analizler sonucunda, tedavi grupları arasında kayda değer farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar belirteçler, 6. Grupta yüksek seviyelerde tespit edilmişken, Myrtus communis ve Vitamin D₃ kombinasyonunun uygulandığı grupta bu belirteçler, ameliyatsız kontrol grubu (1. Grup) seviyelerine yakın değerlere gerilemiştir. Bu bulgu, kombinasyon tedavisinin cerrahi sonrası inflamatuvar yanıtı baskılamada oldukça etkili olduğunu ve cerrahi komplikasyonları önlemede önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Histopatolojik incelemelerde, Vitamin D₃ ve Myrtus Communis'in tek başına uygulandığı gruplarda bile 6. Grup ile karşılaştırıldığında daha olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, en dikkat çekici iyileşme, kombinasyon tedavisi uygulanan grupta gözlenmiştir. Oksidatif stres belirteçleri, vaskülarizasyon, fibrozis ve adiposit morfolojisi açısından kombinasyon tedavisi, 6. Gruba kıyasla daha olumlu bir profil sergilediği saptanmıştır.

İstatistiksel analizler, uygulanan tedavi protokollerinin etkinliğini desteklemiş ve gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda, Vitamin D₃ ve Myrtus Communis kombinasyonunun yağ grefti sağkalımını arttırmada ve cerrahi sonrası komplikasyonları azaltmada sinerjistik bir etkiye sahip olduğu sonucuna

ulaşılmıştır.

4.1. MAKROSKOBİK BULGULAR

Tablo 1, kontrol ve tedavi uygulaması yapılan gruplarda TNF- α ve IL-1 β , IL-6, SOD, MDA, eNOS ve VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılmasına ilişkin ortalama değerleri ve standart sapmaları göstermektedir. İstatistiksel analizler, biyokimyasal ölçümlerde özellikle TNF- α , IL-1 β , SOD ve MDA parametrelerinde gruplar arasında anlamlı farklar olduğunu ortaya koyarken, IL-6, eNOS ve VEGF-A değerlerinde belirgin farklılıkların bulunmadığını işaret etmektedir. Bu veriler, uygulanan tedavi stratejilerinin inflamasyon, oksidatif stres ve anjiyogenez üzerindeki etkilerini detaylı olarak değerlendirmemize olanak tanımaktadır.

Tablo 1. Biyokimyasal Ölçümlerin Gruplara Göre Karşılaştırılması

Gruplar	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (ng/L)	SOD (pg/ml)	MDA (nm/ml)	eNOS (pg/ml)	VEGF-A (pg/ml)
1.Grup	26,52 $\pm$ 7,0 3	24,31 $\pm$ 5,07	14,30 $\pm$ 2, 53	512,97 $\pm$ 33,6 1	0,90 $\pm$ 0,1 1	31,21 $\pm$ 5,5 3	39,77 $\pm$ 6,72
2.Grup	40,17 $\pm$ 11, 74	26,10 $\pm$ 5,9 2	13,43 $\pm$ 2, 41	547,61 $\pm$ 43, 43	1,14 $\pm$ 0,1 5	35,07 $\pm$ 5,7 5	49,58 $\pm$ 9,17
3.Grup	34,63 $\pm$ 6, 50	23,56 $\pm$ 5,82	14,87 $\pm$ 2, 5	643,45 $\pm$ 64,4 2	0,85 $\pm$ 0, 08	34,13 $\pm$ 6,5 7	46,57 $\pm$ 5,18
4.Grup	33,23 $\pm$ 9, 41	30,69 $\pm$ 6, 50	12,72 $\pm$ 1, 51	604,03 $\pm$ 71, 45	0,78 $\pm$ 0, 11	38,82 $\pm$ 4,6 7	42,84 $\pm$ 5,85
5.Grup	32,65 $\pm$ 4, 79	24,39 $\pm$ 6,61	12,16 $\pm$ 0, 99	646,20 $\pm$ 44,8 9	0,73 $\pm$ 0,1 0	38,43 $\pm$ 12, 93	50,91 $\pm$ 5,07
6.Grup	58,56 $\pm$ 16, 68	36,36 $\pm$ 7,33	15,13 $\pm$ 1, 90	526,85 $\pm$ 37,6 2	0,84 $\pm$ 0, 10	33,46 $\pm$ 6,8 7	43,05 $\pm$ 11,1 6
7.Grup	44,25 $\pm$ 9,9 8	32,35 $\pm$ 5,6 4	15,07 $\pm$ 2, 21	564,10 $\pm$ 42, 80	0,72 $\pm$ 0,0 6	33,44 $\pm$ 3,5 5	42,41 $\pm$ 3,87
F	6,416	3,831	1,992	7,017	11,449	0,910	1,987
p	0,000*	0,005*	0,093	0,000*	0,000*	0,499	0,094

*: p<0,05, a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

Tablo 1'deki biyokimyasal ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde, tedavi protokollerinin inflamatuvar belirteçler ve oksidatif stres parametreleri üzerinde anlamlı etkileri gözlenmiştir.

TNF- α değerleri incelendiğinde, 6.Grupta ($58,56\pm16,68$ pg/ml) en yüksek seviyede olduğu görülmektedir. Bu durum, cerrahi müdahalenin belirgin bir inflamatuvar yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Buna karşılık, 3.Grup ($34,63\pm6,50$ pg/ml) ve 5. Grupta ($32,65\pm4,79$ pg/ml) TNF seviyeleri 1.Gruba ($26,52\pm7,03$ pg/ml)) yaklaşmıştır. Bu sonuç, D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyonunun cerrahi sonrası inflamatuvar yanıtı önemli ölçüde baskıladığını göstermektedir.

Benzer şekilde, IL1 β değerleri de 6.Grupta ($36,36\pm7,33$ pg/ml) en yüksek seviyede ölçülürken, kombinasyon tedavisi uygulanan 3.Grup ($23,56\pm5,82$ pg/ml) ve 5. Grupta ($24,39\pm6,61$ pg/ml) 1.Grup ($24,31\pm5,07$ pg/ml) ile neredeyse aynı seviyelere düşmüştür. Bu bulgular, kombine tedavinin cerrahi kaynaklı inflamasyonu kontrol grubu seviyelerine indirebildiğini, adeta cerrahi komplikasyonun oluşmadığı bir durumu yansıttığını göstermektedir.

Antioksidan aktiviteyi gösteren SOD değerleri, 3.Grup ($643,45\pm64,42$ pg/ml) ve 5.Grup ($646,20\pm44,89$ pg/ml) gruplarında en yüksek seviyelere ulaşmıştır. Bu değerler, 6.Gruba ($526,85\pm37,62$ pg/ml) kıyasla anlamlı derecede yüksektir ve antioksidan savunma mekanizmalarının kombine tedavi ile güçlendiğini göstermektedir.

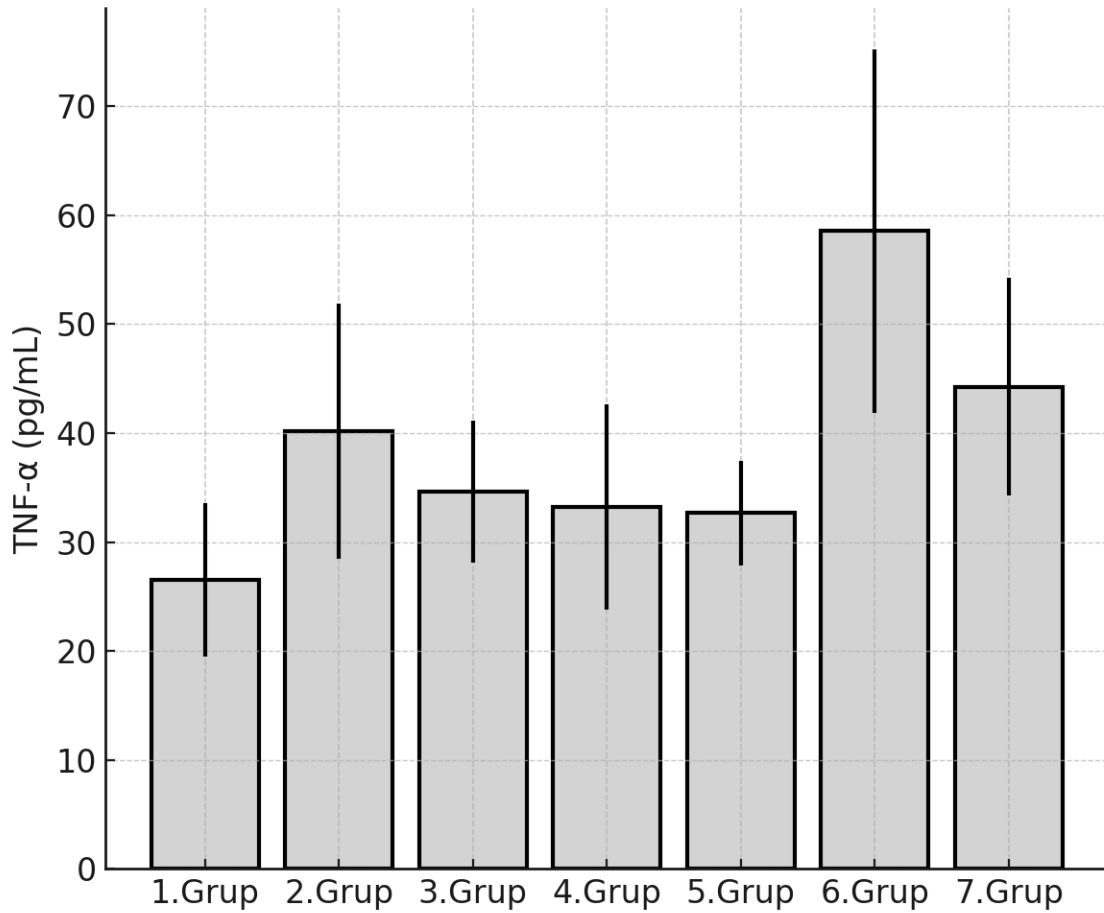
Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA değerleri ise 5.grup ($0,73\pm0,10$ nm/ml) ve 7.grupta ($0,72\pm0,06$ nm/ml) düşük seviyelerde bulunmuştur. Bu sonuç, özellikle Myrtus Communis'in oksidatif hasarı azaltmada etkili olduğunu düşündürmektedir.

Anjiyogenez ile ilişkili eNOS ve VEGF-A biyokimyasal parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Ancak, sayısal olarak kombine tedavi gruplarında kısmen daha yüksek değerler görülmektedir.

Tablo 4.1' deki veriler, D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyonunun yağ grefti cerrahisi sonrası inflamatuvar yanıtı baskılamada ve oksidatif stresi azaltmada belirgin bir sinerjistik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle inflamatuvar belirteçlerin (TNF- α , IL1 β) kombine tedavi gruplarında ameliyatsız kontrol grubu seviyelerine yaklaşması, bu tedavi protokolünün cerrahi

komplasyonları önlemedeki potansiyelini vurgulamaktadır. Ayrıca, antioksidan savunma sistemlerinin güçlenmesi ve lipid peroksidasyonunun azalması, kombine tedavinin doku hasarını sınırlandırma ve greft sağkalımını destekleme mekanizmalarını açıklamaktadır.

Şekil 10'daki grafikte, kontrol ve deney gruplarında ölçülen TNF- α değerleri karşılaştırılmaktadır. Özellikle 6.Grup, 1.Gruba kıyasla belirgin şekilde daha yüksek TNF- α düzeyi gözlenmekte; diğer tedavi grupları ise kontrol grubuna göre artış göstermektedir.



Şekil 10. Gruplara Göre TNF- Değerleri

Şekil 10, yedi deney grubundaki TNF- α (Tümör Nekroz Faktörü) değerlerinin görsel bir temsili sunmaktadır. TNF- α , cerrahi sonrası inflamasyon ve doku stresinin önemli bir belirteci olan temel proinflamatuvar bir sitokindir.

Çubuk grafik, 6.Grubun (yaklaşık 58,56 pg/ml) en yüksek TNF- α seviyelerine sahip olduğunu açıkça göstermektedir. Bu durum, herhangi bir

terapötik ajan kullanılmadan gerçekleştirilen cerrahi müdahale sonrasında belirgin bir inflamatuvar yanıtın oluştuğunu işaret etmektedir. Bu değer, yağ grefti prosedürlerine karşı oluşan temel inflamatuvar reaksiyonu temsil etmektedir.

Buna karşılık, cerrahi müdahale yapılmayan 1.Grup en düşük TNF- α değerlerini (yaklaşık 26,52 birim) göstermektedir ve bu değer, cerrahi stres olmaksızın vücuttaki temel inflamatuvar durumu yansıtmaktadır. En dikkat çekici bulgu, her iki kombinasyon tedavisi grubunda TNF- α seviyelerindeki belirgin azalmadır:

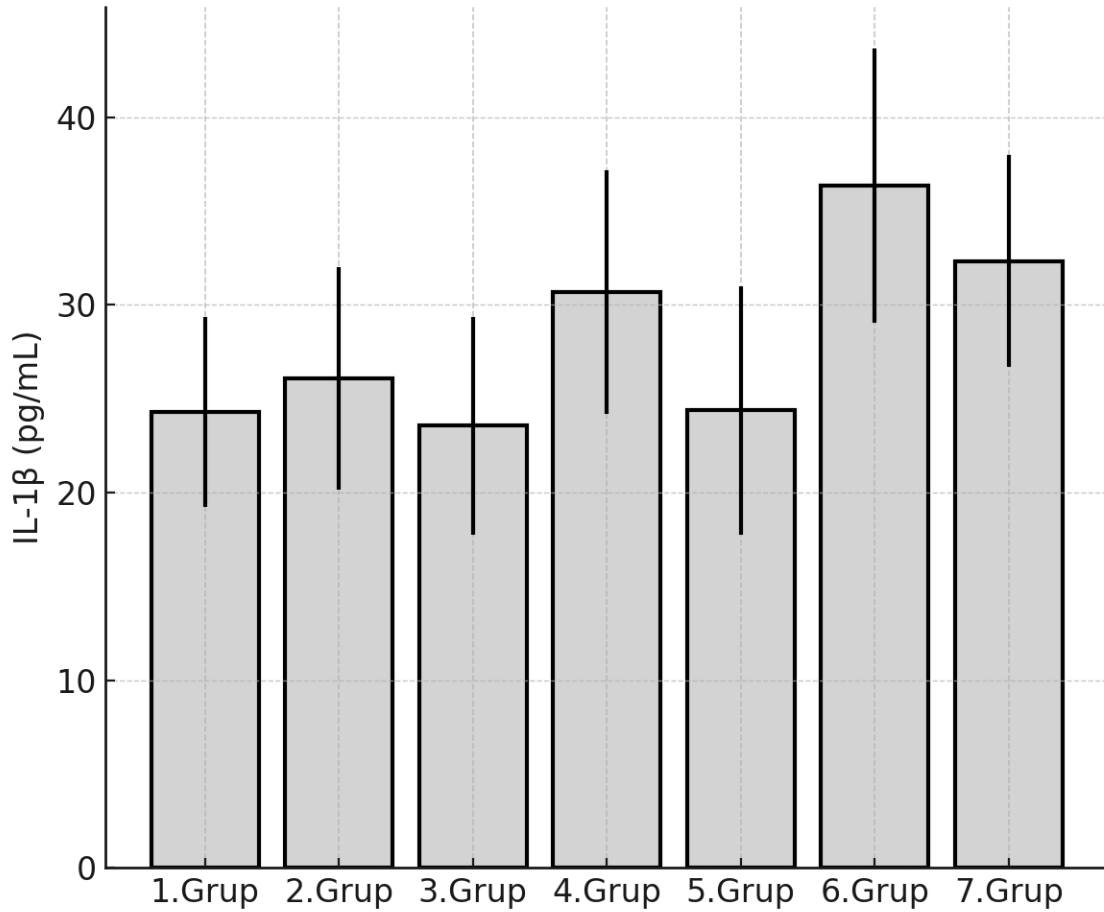
- 3.Grup: 34,63 pg/ml
- 5.Grup: 32,65 pg/ml

Bu değerler Kontrol grubuna yaklaşmaktadır ve D₃ vitamini ile Myrtus communis kombinasyonunun cerrahi müdahalenin tetiklediği inflamatuvar yanıtı etkili bir şekilde azalttığını göstermektedir.

Tek ajan tedavileri 6.Gruptan daha düşük ancak kombinasyon tedavilerinden daha yüksek TNF- α değerleri (sırasıyla 40,17 ve 44,25 pg/ml) ile orta düzeyde anti-inflamatuvar etkiler göstermektedir.

Görselleştirme, daha önceki analizimizi doğrular nitelikte olup, D₃ vitamini ve Myrtus communis ile kombinasyon tedavisinin monoterapiye kıyasla üstün anti- inflamatuvar etkiler sağladığını göstermektedir. Bu kombinasyon tedavilerinin TNF- α seviyelerini kontrol değerlerine yakın seviyelere düşürebilme kabiliyeti, yağ grefti sağkalımını tehlikeye atabilecek cerrahi sonrası inflamatuvar kaskadı önemli ölçüde azaltabileceklerini düşündürmektedir.

İnflamatuvar yanıtındaki bu azalma, aşırı inflamasyonun yağ grefti rezorpsiyonu ve başarısızlığında bilinen bir faktör olması nedeniyle özellikle önemlidir. Veriler, kombinasyon tedavisinin greft tutulumu ve entegrasyonu için daha uygun bir doku ortamı yarattığı hipotezini desteklemektedir.



Şekil 11. Gruplara Göre IL-1β Değerleri

Şekil 11, çalışma kapsamında incelenen yedi farklı grup arasındaki IL-1 β (İnterlökin-1) değerlerini gösteren bir grafikdir. IL-1 β , TNF- α ile birlikte önemli bir proinflamatuvar sitokin olup, doku hasarı ve inflamatuvar yanıtın değerlendirilmesinde kritik bir belirteçtir.

Grafik incelendiğinde, en yüksek IL-1 β seviyesinin 6. grupta (yaklaşık 36,36 pg/ml) olduğu açıkça görülmektedir. Bu, inflamatuvar yanıtın belirgin şekilde yükseldiğini göstermektedir. 6.Grubu takiben, 7.Grup (yaklaşık 32,35 pg/ml) ve 4.Grup (yaklaşık 30,69 pg/ml) yüksek IL-1 β değerleri sergilemektedir.

Dikkat çekici bir şekilde, 3.Grup (yaklaşık 23,56 pg/ml) ve 5.Grup (yaklaşık 24,39 pg/ml) en düşük IL-1 β değerlerine sahiptir. Bu değerler, 1.Grubun IL-1 β seviyesi (yaklaşık 24,31 pg/ml) ile neredeyse aynıdır.

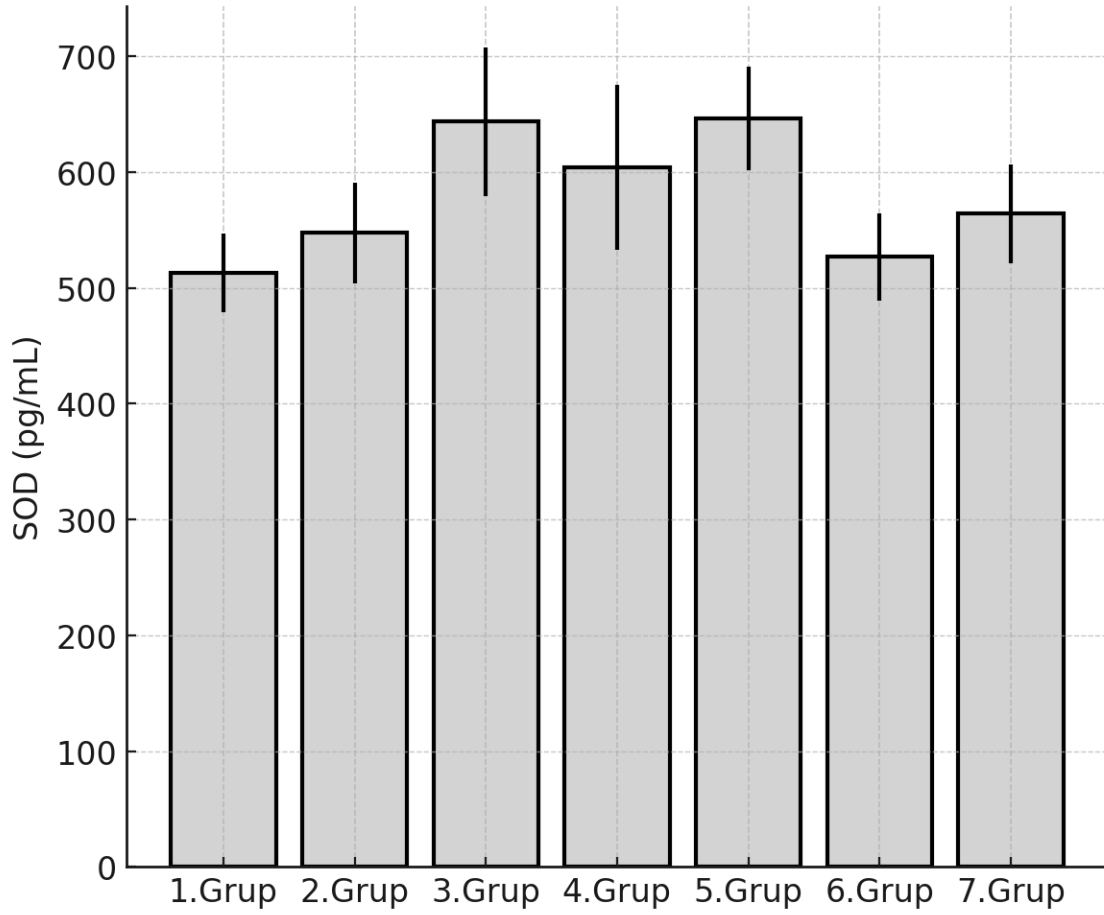
Kombinasyon tedavisi uygulanan grupların IL-1 β değerlerinin Kontrol grubu ile benzer seviyelerde olması, D₃ vitamini ve Myrtus communis'in birlikte

kullanımının cerrahi müdahale sonrası oluşan inflamatuvar yanıtı baskılamada oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, adeta cerrahi müdahale hiç yapılmamış gibi bir inflamatuvar profil oluştuğunu düşündürmektedir.

2.Grupta (yaklaşık 26,10 pg/ml) nispeten düşük IL-1 β değerleri göstermektedir, ancak kombinasyon tedavileri kadar etkili değildir. 4.Grup ve 7.Gruplarda ise, IL-1 β seviyelerinde 6. Gruba kıyasla kısmi bir düşüş gözlenirse de, bu düşüş kombinasyon tedavilerindeki kadar belirgin değildir.

IL-1 β değerlerinin bu dağılımı, kombinasyon tedavilerinin inflamatuvar sitokinlerin salınımını kontrol etmedeki etkinliğini vurgulamaktadır. İnflamatuvar yanıtın azaltılması, yağ grefti sağkalımını tehdit eden faktörlerin kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin düşük seviyelerde tutulması, doku hasarını sınırlandırarak ve adipositlerin canlılığını koruyarak greft kalitesini ve kalıcılığını olumlu yönde etkilemektedir.

Bu bulgular, D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun yağ grefti uygulamalarında inflamasyon kontrolü için değerli bir terapötik seçenek olabileceğini desteklemektedir.



Şekil 12. Gruplara Göre SOD Değerleri

Şekil 12, çalışmadaki yedi farklı gruba ait Süperoksit Dismutaz (SOD) değerlerini göstermektedir. SOD, hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan kritik bir antioksidan enzimdir ve oksidatif strese karşı savunmada önemli rol oynar.

Grafik incelendiğinde, en yüksek SOD değerlerinin kombinasyon tedavisi uygulanan gruplarda olduğu açıkça görülmektedir:

- 5.Grup: Yaklaşık 646,20 pg/ml
- 3.Grup: Yaklaşık 643,45 pg/ml

Bu yüksek değerleri, 4.Grup (yaklaşık 604,03 pg/ml) takip etmektedir. Dikkat çekici şekilde, 6.Grup (yaklaşık 526,85 pg/ml) ve 1.Grup (yaklaşık 512,97 pg/ml) en düşük SOD değerlerine sahiptir.

Kombinasyon tedavilerindeki yüksek SOD seviyeleri, D₃ vitamini ve *Myrtus communis*'in birlikte uygulandığında sinerjistik bir etki göstererek

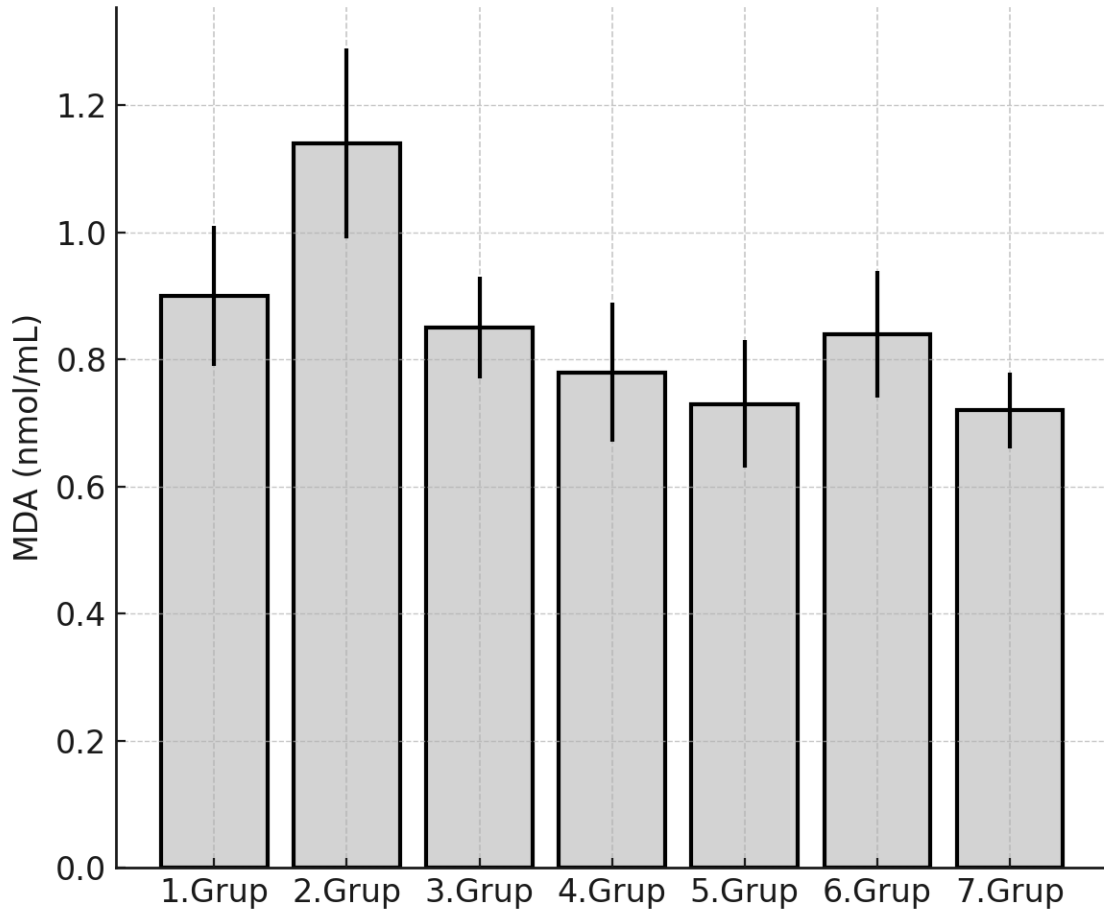
antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini işaret etmektedir. Bu artış, tek başına D₃ vitamini veya *Myrtus communis* uygulamalarına kıyasla daha belirgindir.

6.Gruptaki düşük SOD değerleri, cerrahi müdahalenin oksidatif stres oluşturduğunu ve antioksidan savunma mekanizmalarını baskıladığını göstermektedir. Ancak, kombinasyon tedavileri bu durumu tersine çevirerek SOD seviyelerini önemli ölçüde artırmıştır.

SOD seviyelerindeki bu artış, kombinasyon tedavilerinin serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarını azaltarak yağ grefti sağkalımını desteklediğini göstermektedir. Antioksidan kapasitenin güçlenmesi, özellikle cerrahi sonrası dönemde gelişen oksidatif strese karşı koruma sağlayarak:

1. Adipositlerin canlılığını korur
2. İnflamatuar yanıtı kontrol altına alır
3. Doku rejenerasyonunu destekler
4. Greft kalıcılığını artırır

Bu bulgular, D₃ vitamini ve *Myrtus communis* kombinasyonunun, yağ grefti prosedürlerinde doku hasarını sınırlandırmak ve greft sağkalımını optimize etmek için etkili bir tedavi stratejisi olabileceğini bilimsel temelde ortaya koymaktadır.



Şekil 13. Gruplara Göre MDA Değerleri

Şekil 13, çalışma gruplarında ölçülen Malondialdehit (MDA) değerlerini göstermektedir. MDA, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olup, hücresel düzeyde oksidatif hasarı yansıtan önemli bir biyokimyasal belirteçtir. Yüksek MDA seviyeleri genellikle artan oksidatif stres ve doku hasarı ile ilişkilendirilmektedir. Grafik verileri incelendiğinde dikkat çekici bulgular şu şekildedir:

2.Grupta en yüksek MDA değeri (yaklaşık 1,14 nm/ml) gözlenmektedir. Bu durum, lokal D₃ vitamini uygulamasının tek başına kullanıldığında lipid peroksidasyonunu artırabileceğini düşündürmektedir. Kontrol grubu (yaklaşık 0,90 nm/ml) ve 6.Grupta (yaklaşık 0,84 nm/ml) orta düzeyde MDA değerleri sergilemektedir. Bu bulgu, cerrahi müdahalenin beklenenden daha az oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir.

En düşük MDA değerleri 5.Grup (yaklaşık 0,73 nm/ml) ve 7.Grup (yaklaşık 0,72 nm/ml) gruplarında tespit edilmiştir. Bu sonuç, özellikle *Myrtus communis*'in güçlü antioksidan özellikler gösterdiğini ve lipid peroksidasyonunu etkili bir

şekilde azalttığını ortaya koymaktadır. MDA değerlerinin dağılımı, farklı tedavi protokollerinin oksidatif stres üzerindeki etkilerini net bir şekilde yansıtmaktadır:

1. Sistemik D₃ vitamini uygulaması, lokal uygulamaya kıyasla oksidatif stresi azaltmada daha etkili görünmektedir.

2. *Myrtus communis*, tek başına veya kombinasyon halinde kullanıldığında lipid peroksidasyonunu belirgin şekilde azaltma kapasitesine sahiptir.

3. Sistemik D₃ ve *Myrtus communis* kombinasyonu, antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirerek en uygun koruyucu etki profilini sağlamaktadır.

Yağ grefti prosedürlerinde düşük oksidatif stres seviyeleri, adiposit sağkalımı ve greft kalıcılığı için kritik öneme sahiptir. MDA değerlerindeki azalma, hücrel membran bütünlüğünün korunduğunu ve metabolik fonksiyonların daha optimal sürdürüldüğünü göstermektedir. Bu bağlamda, Sistemik D₃ +MC kombinasyonu veya tek başına *Myrtus communis* uygulaması, yağ grefti prosedürlerinde lipid peroksidasyonunu azaltarak doku hasarını sınırlandıran ve greft sağkalımını destekleyen etkili tedavi stratejileri olarak öne çıkmaktadır. Bu bulgular, klinik uygulamalarda yağ grefti prosedürlerinin başarısını artırmak için antioksidan tedavi yaklaşımlarının önemini vurgulamakta ve gelecekteki protokollerin geliştirilmesine bilimsel temel sağlamaktadır.

Tablo 2. Gruplara Göre Renal ve Metabolik Parametreler

Gruplar	Glukoz (mg/dL)	Üre (mg/dL)	Bun (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	eGFR (mL/dk)	Albumin (g/dL)
1.Grup	277,50±41, 11	45,50±2, 08	21,26±0, 97	0,38±0, 04	129,67±4, 80	3,94±0,25
2.Grup	237,33±34, 03	45,00±5, 81	21,03±2, 72	0,38±0, 05	129,17±5, 19	4,06±0,09
3.Grup	259,83±47, 07	44,05±2, 37	20,59±1, 11	0,39±0, 05	128,67±5, 65	4,14±0,13
4.Grup	251,33±25, 42	41,70±4, 66	19,49±2, 18	0,38±0, 03	129,50±3, 51	4,01±0,20
5.Grup	266,17±53, 67	37,65±2, 97	17,60±1, 39	0,38±0, 04	129,50±3, 78	4,02±0,20
6.Grup	261,50±31, 19	45,28±6, 01	21,16±2, 81	0,42±0, 03	125,17±2, 71	4,13±0,09
7.Grup	274,67±77, 67	44,72±6, 16	20,9±2,8 8	0,44±0, 09	124,17±7, 86	4,00±0,30
F	0,512	2,292	2,290	1,379	1,253	0,848
p	0,795	0,057	0,057	0,250	0,304	0,542

*: p<0,05, a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

Tablo 2, çalışma kapsamında incelenen gruplarda renal ve metabolik parametrelerin karşılaştırmalı analizini sunmaktadır. Bu parametreler, uygulanan tedavi protokollerinin sistemik güvenliğini değerlendirmek açısından kritik öneme sahiptir.

Tabloda sunulan verilerin istatistiksel analizi incelendiğinde, tüm parametreler için hesaplanan p değerlerinin 0,05'in üzerinde olduğu görülmektedir (p değerleri 0,057 ile 0,795 arasında değişmektedir). Bu sonuç, gruplar arasında renal ve metabolik parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını göstermektedir.

Glukoz değerleri tüm gruplarda benzer seviyelerde seyretmiş olup, tedavi protokollerinin glisemik kontrol üzerinde belirgin bir etkisi gözlenmemiştir (p=0,795).

Üre ve Bun değerleri gruplar arasında istatistiksel anlamlılık sınırına yakın farklılıklar göstermiştir (p=0,057), ancak bu fark anlamlılık eşiğini aşmamıştır. 5.Grupta üre ve BUN değerlerinin görece daha düşük olduğu dikkat çekmektedir.

Kreatinin değerleri tüm gruplarda normal sınırlar içerisinde kalmış ve tedavi protokolleri arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır (p=0,250). Benzer şekilde, böbrek fonksiyonunun önemli bir göstergesi olan tahmini glomerüler filtrasyon hızı (eGFR) değerleri de gruplar arasında benzerlik göstermiştir (p=0,304).

Albumin seviyeleri tüm gruplarda fizyolojik referans aralığında seyretmiş olup, tedavi protokolleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,542).

Bu bulgular, Vitamin D₃ ve Myrtus Communis uygulamalarının ister tek başına ister kombinasyon halinde kullanılsın, renal fonksiyonlar ve metabolik parametreler üzerinde olumsuz etki oluşturmadığını göstermektedir. Bu durum, söz konusu tedavi protokollerinin sistemik güvenlik profillerinin olumlu olduğunu ortaya koymaktadır.

Yağ grefti prosedürlerinde kullanılan tedavi ajanlarının renal ve metabolik parametreler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi, özellikle uzun vadeli klinik uygulamalar için büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar,

incelenen tedavi protokollerinin sistemik yan etki potansiyelinin düşük olduğunu ve klinik uygulamalarda güvenle kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 3. Gruplara Göre Karaciğer Fonksiyon Parametreleri

Gruplar	Protein (g/dL)	Globulin (g/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)
1.Grup	6,22±0,25	2,28±0,36	48,33b±14,38	152,67±89,75	127,67a±31,42
2.Grup	6,13±0,34	2,07±0,26	42,83b±5,64	138,33±23,03	100,50ab±17,52
3.Grup	6,30±0,36	2,16±0,35	45,50b±6,92	133,17±23,63	116,17a±37,79
4.Grup	6,06±0,28	2,05±0,21	45,67b±11,20	126,50±25,42	95,33ab±20,56
5. Grup	6,17±0,40	2,14±0,26	42,00b±4,65	79,67±18,12	77,67b±9,27
6.Grup	6,20±0,20	2,06±0,19	92,67a±59,61	173,67±78,81	120,67a±38,35
7.Grup	6,30±0,38	2,30±0,12	53,00b±7,24	159,17±51,59	101,50ab±14,58
F	0,440	0,897	3,343	2,025	2,498
p	0,847	0,508	0,010*	0,088	0,041*

*: p<0,05, a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05)

Tablo 3, farklı tedavi protokollerinin karaciğer fonksiyon parametreleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. Bu veriler, uygulanan tedavilerin hepatik güvenlik profilinin değerlendirilmesi açısından önemli bulgular sunmaktadır.

Toplam protein ve globulin değerleri tüm gruplarda benzer seviyelerde seyretmiştir (p=0,847 ve p=0,508). Bu durum, uygulanan tedavi protokollerinin protein metabolizmasını etkilemediğini göstermektedir. Tüm gruplardaki değerler fizyolojik referans aralığı içerisinde kalmıştır.

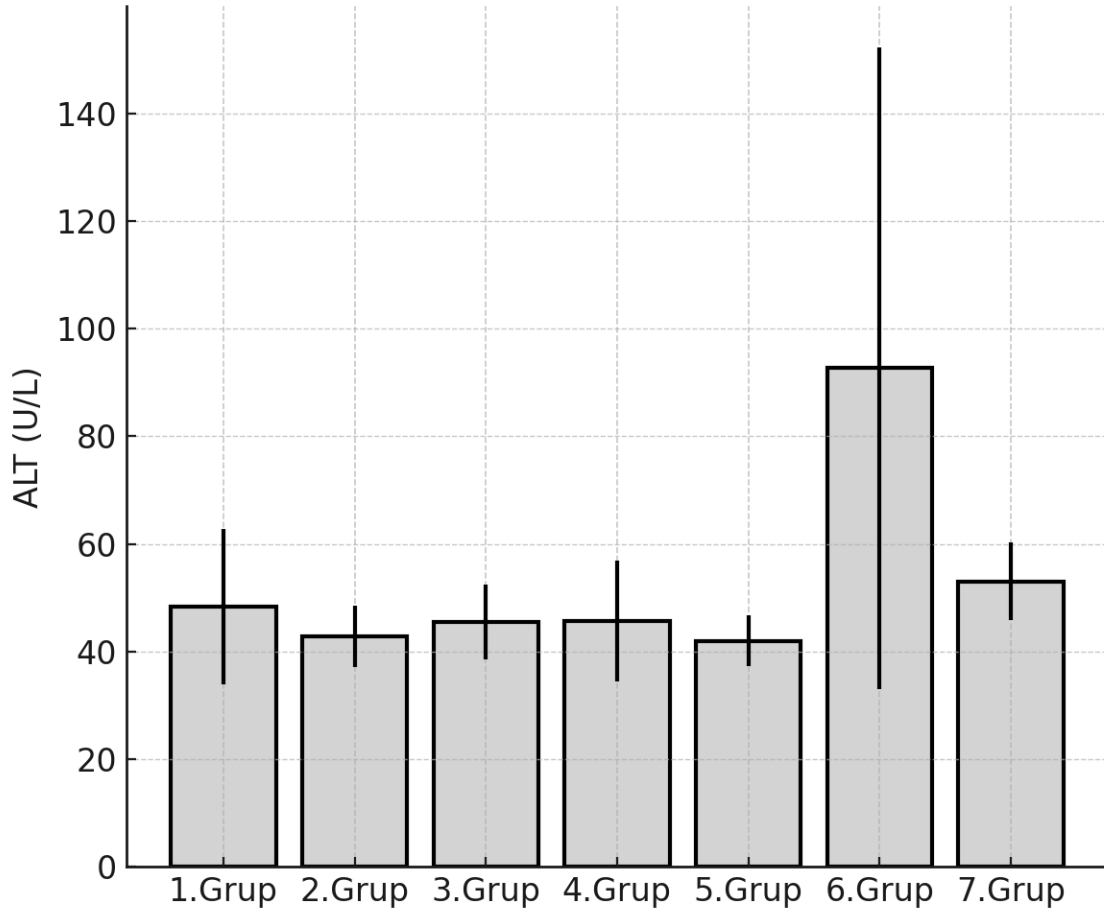
ALT değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,010$). 6.Grupta ALT değerleri ($92,67\pm59,61$ U/L) diğer tüm gruplara kıyasla belirgin şekilde yüksektir. Bu bulgu, cerrahi müdahalenin karaciğer üzerinde oluşturduğu stres yanıtını göstermektedir. Tedavi uygulanan tüm gruplarda ALT değerleri 6.Gruba göre anlamlı derecede düşük seyretmiştir, bu da uygulanan terapötik ajanların hepatoprotektif etki gösterdiğini düşündürmektedir.

AST değerleri, gruplar arasında istatistiksel anlamlılık eşiğini aşmasa da ($p=0,088$), sayısal olarak dikkat çekici bir dağılım göstermektedir. 5.Grupta en düşük AST seviyeleri ($79,67\pm18,12$ U/L) gözlenirken, 6.Grupta en yüksek değerler ($173,67\pm78,81$ U/L) tespit edilmiştir. Bu eğilim, kombinasyon tedavisinin karaciğer fonksiyonlarını koruyucu potansiyelini desteklemektedir.

Alkalın fosfataz (ALP) değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,041$). 5.Grupta en düşük ALP seviyeleri ($77,67\pm9,27$ U/L) görölürkenmiştir. Bu sonuç, sistemik D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun karaciğer metabolizması üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir.

6.Grupta karaciğer enzimlerindeki yükselme, tedavi protokollerinin uygulanmasıyla kontrol altına alınmıştır.

Bu bulgular, D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun sadece lokal doku düzeyinde değil, sistemik olarak da koruyucu etkiler gösterdiğini ve cerrahi sonrası hepatik stresi azaltma potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir. Özellikle sistemik uygulama yolunun, lokal uygulamaya kıyasla karaciğer fonksiyonları üzerinde daha olumlu etkilere sahip olduğu görölürmektedir.



Şekil 14. Gruplara Göre ALT Değerleri

Şekil 14, farklı tedavi gruplarında ölçülen Alanin Aminotransferaz (ALT) değerlerini göstermektedir. ALT, karaciğer hasarının değerlendirilmesinde kullanılan önemli bir biyokimyasal belirteçtir ve serum seviyelerindeki yükselme, hepatosellüler hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Grafikte en dikkat çekici bulgu, 6.Grupta gözlenen belirgin ALT yüksekliğidir. Bu grupta ALT değerleri yaklaşık 93 ünite seviyesinde olup, diğer tüm grupların neredeyse iki katı düzeyindedir. Bu sonuç, cerrahi müdahalenin karaciğer üzerinde oluşturduğu stres yanıtını açıkça ortaya koymaktadır. Diğer tüm tedavi gruplarında ALT seviyeleri birbirine yakın değerlerde seyretmektedir:

- 1.Grup: ~48 U/L
- 2.Grup: ~43 U/L
- 3.Grup: ~45 U/L

- 4.Grup: ~46 U/L
- 5.Grup: ~42 U/L
- 6.Grup: ~90 U/L
- 7.Grup: ~53 U/L

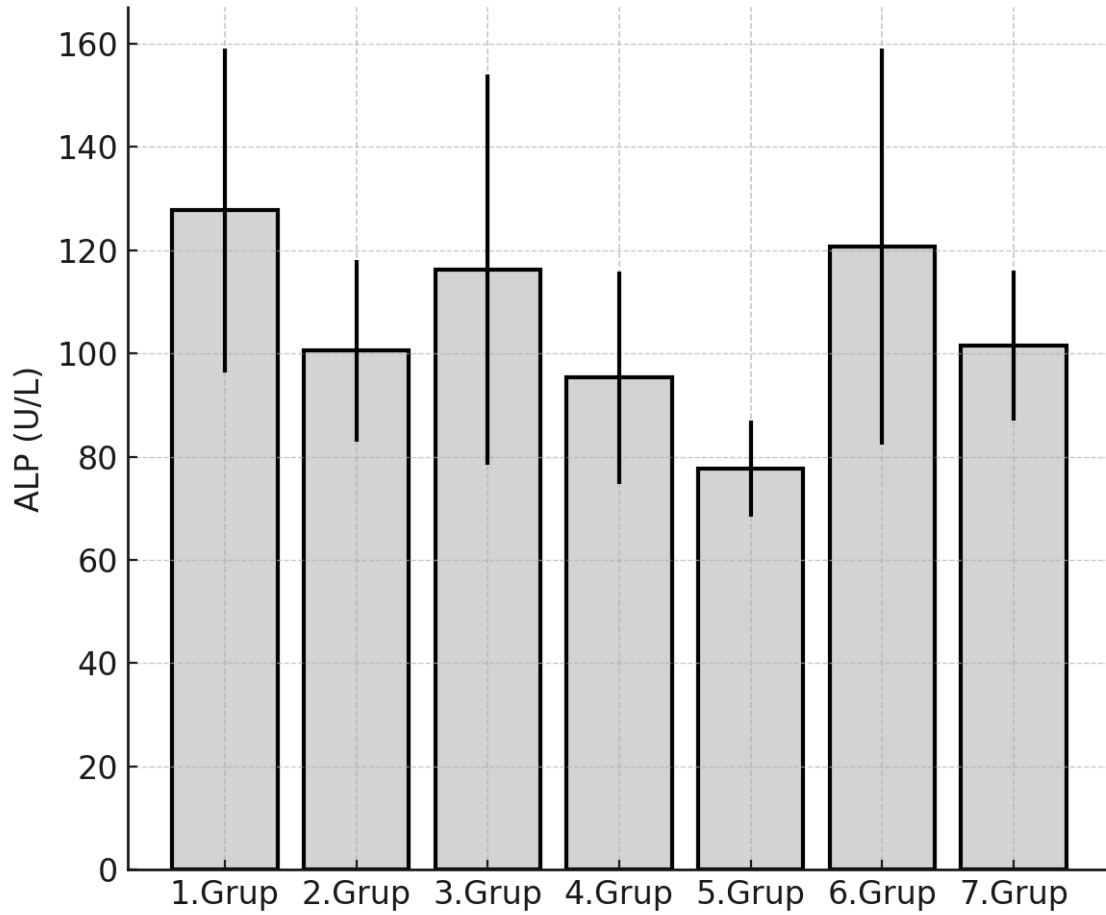
Tedavi uygulanan gruplar içinde en düşük ALT değeri 5.Grupta gözlenmektedir. Bu bulgu, sistemik D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun hepatoprotektif etki gösterdiğini düşündürmektedir.

ALT seviyelerindeki bu belirgin farklılıklar, yağ grefti prosedürlerinin karaciğer fonksiyonları üzerinde oluşturduğu stres yanıtını ve uygulanan tedavi protokollerinin bu yanıtı modüle etme kapasitesini göstermektedir. 6.Gruptaki yüksek ALT değerleri, cerrahi müdahalenin hepatik bir stres faktörü olarak etkisini vurgulamaktadır.

Tüm tedavi protokolleri, ALT seviyelerini 6.Gruba kıyasla önemli ölçüde düşük tutabilmiştir. Bu durum, D₃ vitamini ve Myrtus communis'in, tek başlarına veya kombinasyon halinde, cerrahi sonrası karaciğer fonksiyonlarını koruyucu etki gösterdiğine işaret etmektedir.

Bu veriler, yağ grefti prosedürlerinde kullanılan tedavi protokollerinin sadece lokal doku düzeyinde değil, sistemik organ fonksiyonları üzerinde de olumlu etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle sistemik D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonu, cerrahi sonrası karaciğer fonksiyonlarını korumada en etkili yaklaşım olarak öne çıkmaktadır.

Cerrahi müdahalenin oluşturduğu sistemik yanıtın kontrol altına alınması, yağ grefti prosedürlerinin genel başarısını artırmada önemli bir faktör olabilir. Hepatik fonksiyonların korunması, metabolik süreçlerin optimal düzeyde sürdürülmesini sağlayarak, dolaylı yoldan greft sağkalımını da destekleyebilir.



Şekil 15. Gruplara Göre ALP Değerleri

Şekil 15, çalışmada incelenen yedi farklı grup arasındaki Alkalın Fosfataz (ALP) değerlerini göstermektedir. ALP, karaciğer ve kemik metabolizmasını yansıtan önemli bir biyokimyasal parametredir ve kolestaz ya da hepatobiliyer disfonksiyonun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Grafik incelendiğinde, en düşük ALP değerlerinin 5.Grupta (yaklaşık 78 ünite) olduğu açıkça görülmektedir. Bu değer, istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşü temsil etmektedir. 1.Grup (yaklaşık 127 ünite), 6.Grup (yaklaşık 121 ünite) ve 3.Grup (yaklaşık 116 ünite) en yüksek ALP değerlerine sahiptir.

4.Grup (yaklaşık 95 ünite), 2.Grup (yaklaşık 100 ünite) ve 7.Grupta (yaklaşık 101 ünite) ise orta düzeyde ALP seviyeleri sergilemektedir. Bu bulgular, tedavi protokollerinin hepatobiliyer sistem üzerindeki farklı etkilerini yansıtmaktadır.

Sistemik D₃+MC kombinasyonunun (5.Grup) ALP değerlerinde sağladığı belirgin düşüş, bu tedavi yaklaşımının hepatobiliyer fonksiyonları olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Sistemik uygulama yolunun, lokal uygulamaya kıyasla daha etkili olduğu görülmektedir. Bu etki, muhtemelen D₃ vitamini ve Myrtus communis'in bioaktif bileşenlerinin sistemik dolaşıma daha iyi katılarak hepatik metabolizmayı modüle etmesinden kaynaklanmaktadır.

ALP değerlerindeki bu dağılım, daha önce incelenen ALT sonuçları ile paralellik göstermektedir. Her iki parametrede de Sistemik D₃+MC grubu (5.Grup) en düşük değerleri sergilemiştir. Bu tutarlılık, kombinasyon tedavisinin karaciğer koruyucu etkilerini desteklemektedir ve iyileşme sürecini olumlu etkileyebilir.

6.Grupta yüksek ALP ve ALT seviyeleri, cerrahi müdahalenin hepatobiliyer sistem üzerinde oluşturduğu stres yanıtını doğrulamaktadır. Sistemik D₃+MC kombinasyonu, bu stres yanıtını önemli ölçüde azaltmıştır.

İmmünohistokimyasal analizlerin H-skor değerlendirmesi, tedavi protokollerinin greft sağkalımı üzerindeki moleküler etkilerini açıkça ortaya koymuştur. 3.Grupta Caspase-3 ekspresyonunun en düşük ($77,52 \pm 11,67$), VEGF-A ekspresyonunun yüksek ($207,5 \pm 27,90$) ve eNOS seviyelerinin en düşük ($70,70 \pm 18,22$) olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, kombinasyon tedavisinin apoptozu baskıladığını, vaskülarizasyonu artırdığını ve oksidatif stresi azalttığını göstermektedir. Gruplar arası etkinlik karşılaştırmasında, apoptoz ve oksidatif stresin baskılanmasında 3.Grup > 2.Grup > 5.Grup > 4.Grup > 7.Grup sıralaması gözlenmiş olup, bu durum D₃ vitamini ve Myrtus communis'in sinerjistik etkisini doğrulamaktadır.

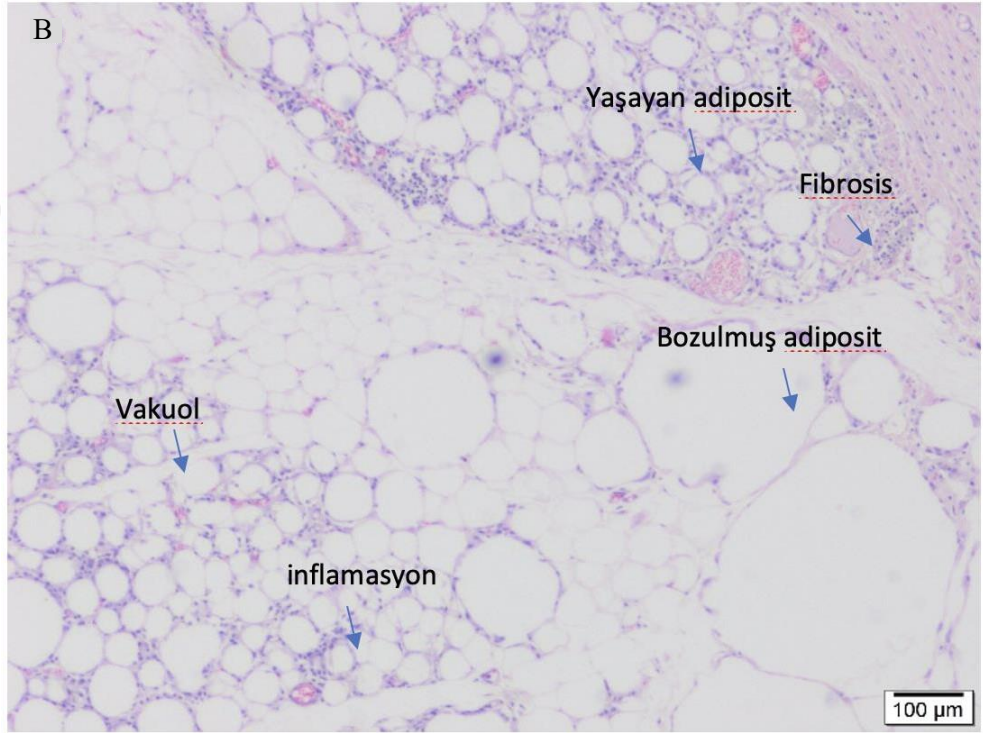
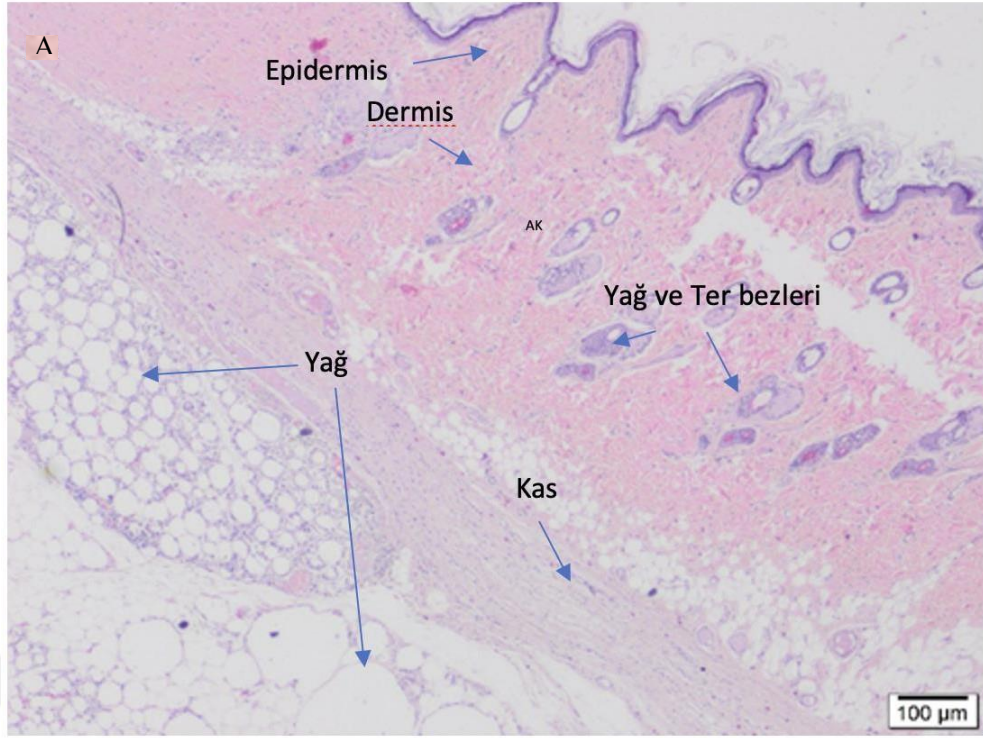
Yağ grefti prosedürlerinde, greft sağkalımını optimize etmenin yanı sıra karaciğer fonksiyonlarını koruyacak tedavi protokollerinin geliştirilmesi, bu girişimlerin genel başarısını artırmada önemli bir faktör olarak değerlendirilmelidir. Bu bağlamda, 5.Grup, hem lokal doku düzeyinde hem de sistemik organ fonksiyonları üzerindeki olumlu etkileri ile kapsamlı bir terapötik yaklaşım sunmaktadır.

4.2.HİSTOLOJİK BULGULAR

4.2.1. Histolojik Değerlendirme Yöntemlerinin Analizi

Çalışmada kullanılan histolojik değerlendirme yöntemleri kapsamlı ve uygundur:

- Paraformaldehit fiksasyonu ve artan alkol serileriyle dehidrasyon, doku bütünlüğünü korumak için standart ve güvenilir yöntemlerdir.
- Hematoksilen-eozin (HE) ve Mason Trikrom (MT) boyama yöntemleri, genel doku morfolojisi ve kollajen birikimini değerlendirmek için uygun seçimlerdir.
- İmmünohistokimyasal boyama için seçilen belirteçler (VEGF-A, eNOS, Caspase-3), anjiogenez ve apoptoz süreçlerini değerlendirmek açısından isabetlidir.
- Histopatolojik skorelama sistemi, yaşayan adiposit oranı, inflamasyon, fibrozis, nekroz, vaskülerizasyon gibi kritik parametreleri içermektedir ve bu, yağ grefti sağkalımının çok yönlü değerlendirilmesini sağlamaktadır.



Şekil 16.A,B 1.Gruba ait doku kesitlerinin histopatolojik görünümü.

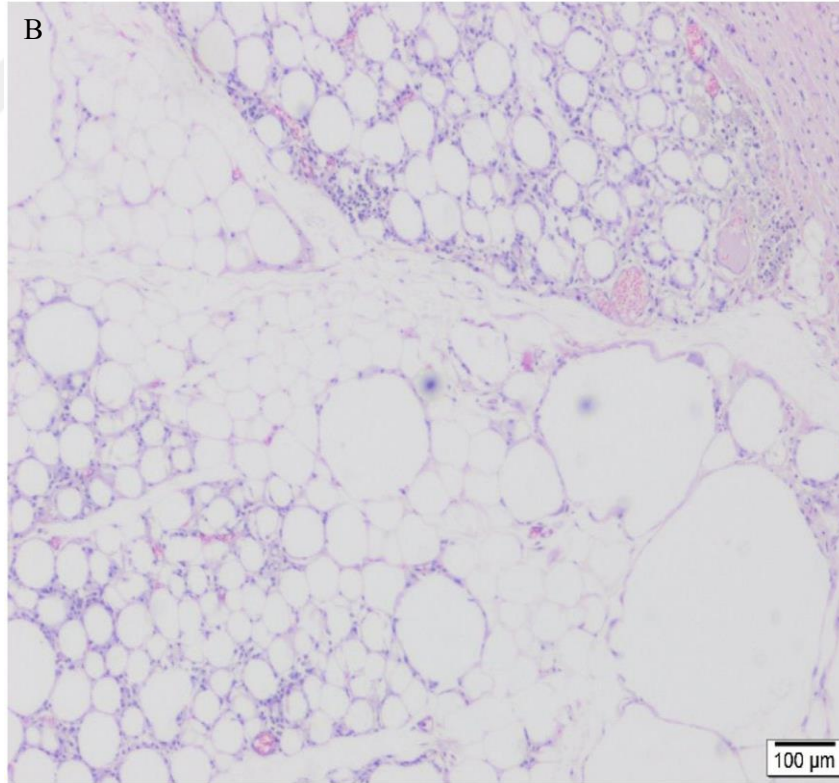
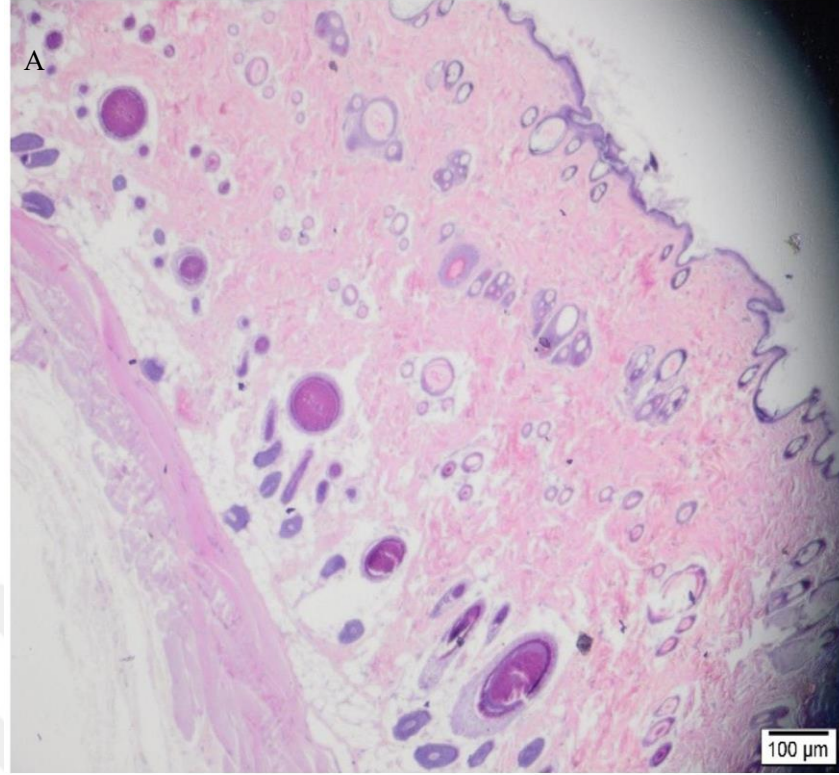
Kontrol grubundan (1.Grup) alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemesi, çeşitli doku katmanlarının belirgin yapısal özelliklerini ortaya koymuştur. Şekil 16.A, epidermis belirgin sınırlara sahip sağlam çok katlı yassı epiteli göstermektedir. Şekil 16.B, "Yağ ve Ter bezleri" olarak etiketlenmiş yağ bezleri ve kıl folikülleri dahil olmak üzere açıkça görünür uzantılarla organize

kollajenöz bağ dokusu sergilemektedir.

Subkutan adipoz doku ("Yağ"), periferik çekirdeklere ve berrak sitoplazmaya sahip tekdüze adipositlerle tipik morfoloji göstermektedir. Bu adipositler, ince bağ dokusu septumlarıyla ayrılmış iyi organize lobüler yapılar oluşturmaktadır. Daha derin kas tabakası ("Kas"), korunmuş mimari ve minimal lifler arası boşlukla normal çizgili kas liflerini göstermektedir.

Şekil 16.B, adipoz doku mikro ortamının daha ayrıntılı bir görünümünü sunmaktadır. "Yaşayan adiposit" olarak etiketlenen alanlar, sağlam hücre zarları ve uygun morfoloji ile sağlıklı adipositleri göstermektedir. Buna karşılık, "Bozulmuş adiposit" olarak işaretlenen bölgeler, düzensiz hücresel sınırlar ve bozulmuş yapısal bütünlük ile karakterize dejeneratif değişiklikler sergilemektedir.

Dikkat çekici patolojik özellikler arasında, artmış kollajen birikimi ile "Fibrozis" alanları, hücresel stresi düşündüren adipositler içinde "Vakuol" oluşumu ve enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ile karakterize fokal "inflamasyon" alanları bulunmaktadır. Bu bulgular, deneysel müdahaleye doku yanıtı ile tutarlıdır ve çeşitli derecelerde adiposit sağkalımı, enflamatuvar reaksiyon ve fibrotik değişiklikler göstermektedir. Gözlenen histopatolojik özellikler, deney protokolünde belirtilen skorlama parametreleriyle uyumludur ve kontrol örneklerinde adipoz doku sağlığının ve yeniden şekillenme süreçlerinin görsel dokümantasyonunu sağlamaktadır.



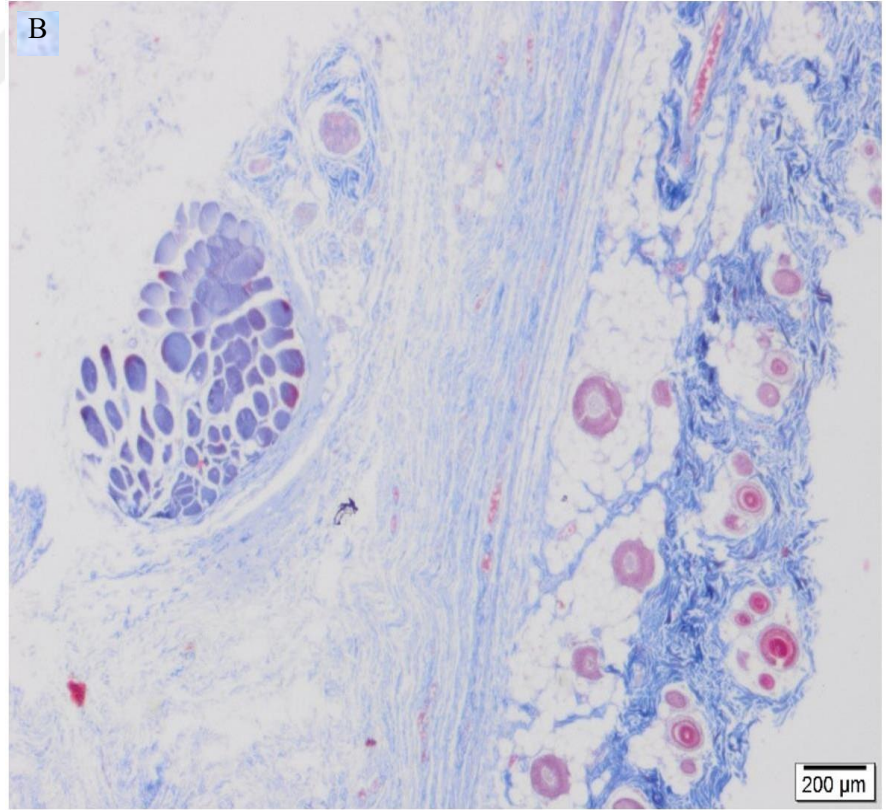
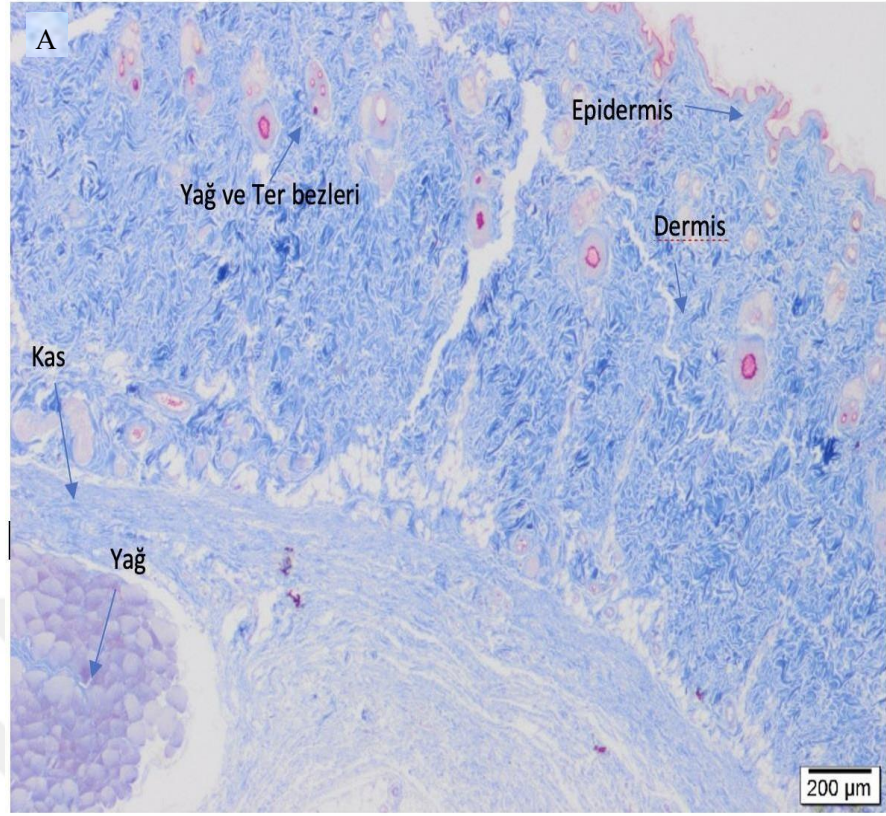
Şekil 17.A,B 6.Gruba ait yağ dokularının histopatolojik görüntüleri

6.Gruba ait doku kesitlerinin histopatolojik incelemesinde, Şekil 17.A’da epidermis ve dermis tabakalarının normal yapıda olduğu görülmektedir. Epidermis

tabakası çok katlı yassı epitel karakterinde olup, dermiste yağ ve ter bezlerinin belirgin şekilde izlendiği dikkati çekmektedir. Dermisin derin kısımlarında kıl folikülleri ve sebase bezler normal morfolojide gözlenmektedir.

Şekil 17.Bde subkutan yağ dokusunun detaylı görünümü izlenmekte olup, adiposit hücrelerinin büyük çoğunluğunun normal çekirdek ve sitoplazma yapısını koruduğu, ancak bazı alanlarda hipertrofik adipositlerin varlığı dikkat çekmektedir. İnce bağ dokusu septaları içerisinde hafif düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttur. Adipositlerin bir kısmında sitoplazmik vakuolizasyon görülmektedir ki bu durum hücresel stres belirtisi olarak değerlendirilebilir. Vaskülarizasyon açısından değerlendirildiğinde orta düzeyde damarlanma izlenmektedir. Minimal düzeyde fibrozis alanları ve seyrek nekrotik odaklar da tespit edilmiştir.

Genel olarak 6.Gruptaki adipoz dokunun çoğunlukla normal yapısını koruduğu, ancak bazı bölgelerde dejeneratif değişikliklerin başladığı gözlenmektedir. H&E boyama, 100 µm ölçek çubuğu.

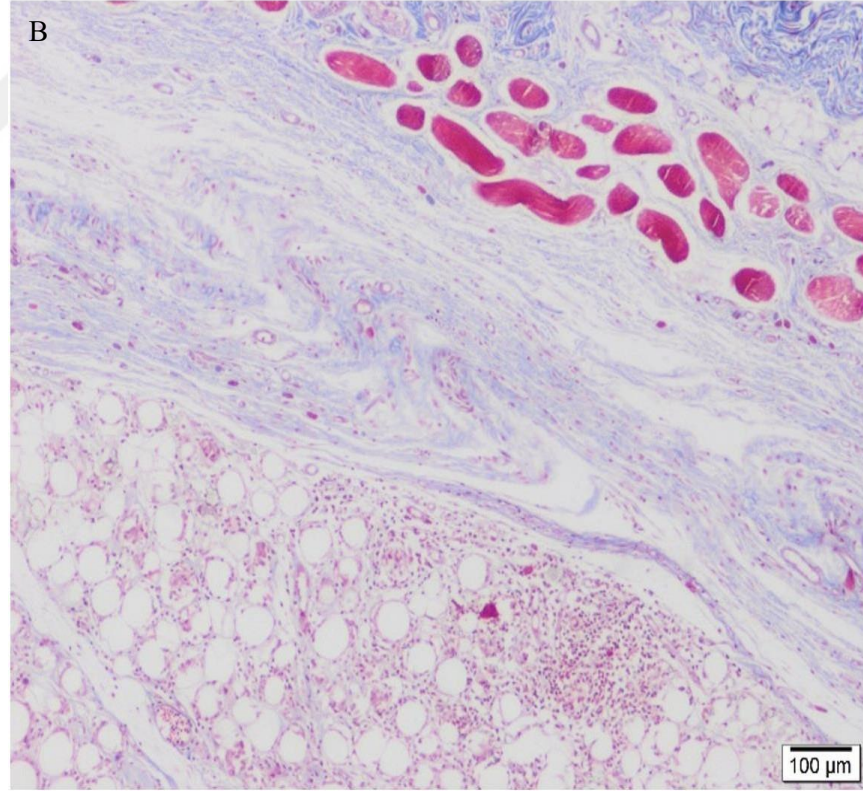
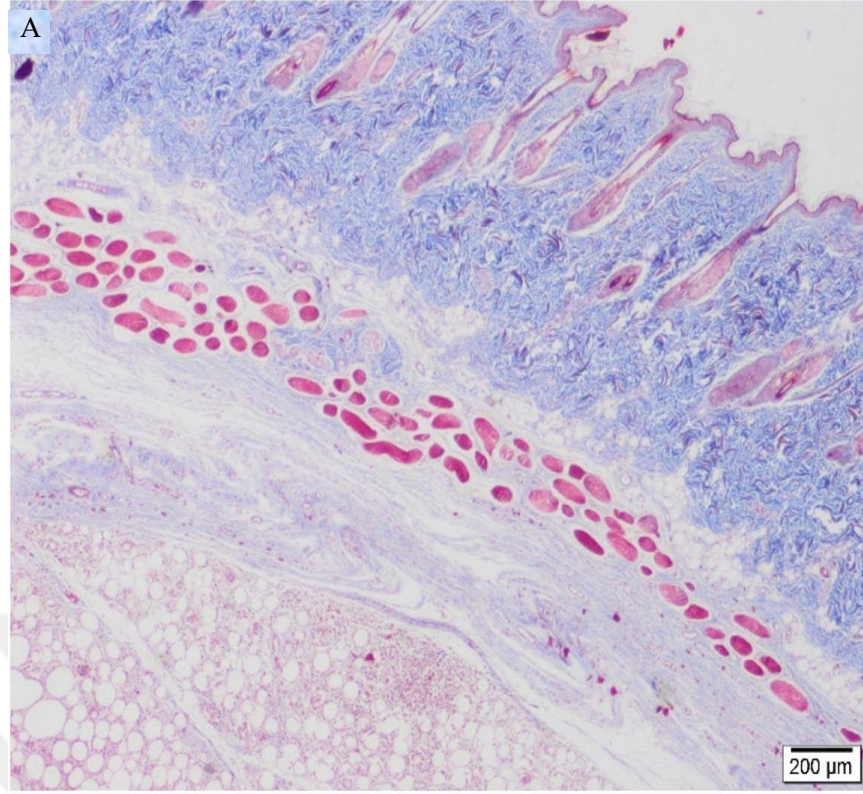


Şekil 18.A,B 1.Gruba ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyaması

Kontrol grubuna ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyaması ile yapılan histopatolojik incelemesinde, belirgin doku katmanları net bir şekilde ayırt edilmektedir. Şekil 18.A, yüzeyde ince bir tabaka olarak izlenen epidermis, çok katlı yassı epitel özelliğinde olup bütünlüğünü koruduğu gözlenmektedir. Epidermis altında yer alan dermis tabakasında, mavi renkte boyanan yoğun kollajen demetleri bulunmaktadır. Dermiste ayrıca, pembemsi-kırmızı tonlarda boyanan "Yağ ve Ter bezleri" olarak işaretlenen kıl folikülleri ve sebace bezler düzenli dağılım göstermektedir.

Şekil 18.B’de ise daha büyük büyütmede doku detayları görülmektedir. Solda düzenli bir görünüm sergileyen adipoz doku ("Yağ") lobülleri izlenmekte olup hücre membranları ve çekirdekleri korunmuştur. Sağ tarafta dermiste kollajen liflerin (mavi renkte) yoğun biçimde bulunduğu, arada kırmızı-pembe renkte boyanan kıl folikülleri ve bez yapılarının sağlıklı morfolojide olduğu dikkat çekmektedir. Kas dokusu ("Kas") kırmızı renkte boyanmış olup normal mimarisini koruduğu görülmektedir.

Genel olarak, Masson Trikrom boyaması ile kontrol grubunda incelenen dokularda fibröz yapılar, kas dokusu ve epitel hücrelerinin normal histolojik organizasyonu belirgin şekilde gösterilmiştir. Kollajen liflerin dermiste düzenli dağılımı, sağlıklı bir bağ dokusu yapısını yansıtmaktadır. Bu bulgular, deney protokolünde tanımlanan normal doku morfolojisi ile uyumludur.



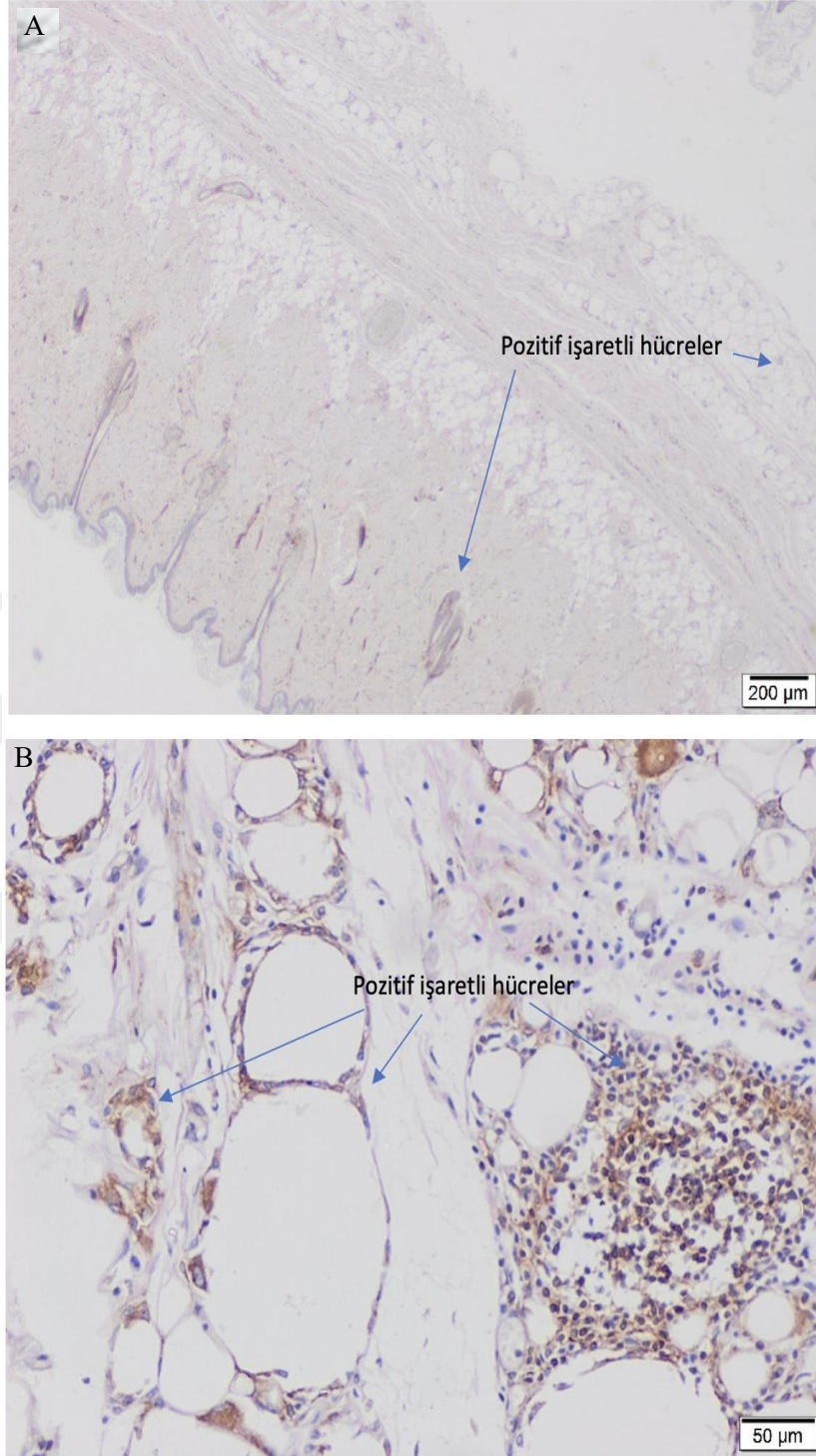
Şekil 19.A,B 1.Gruba ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyaması

Masson Trikrom boyaması ile kontrol grubuna ait doku kesitlerinin histopatolojik incelemesinde, Şekil19.A’da epidermis tabakasının çok katlı yassı epitel özelliğinde olduğu ve normal kalınlığını koruduğu görülmektedir. Dermis tabakasında mavi renkte boyanan kollajen liflerin yoğun bir şekilde

dağılım gösterdiği dikkat çekmektedir. Orta bölgede belirgin şekilde kırmızı boyanan kas lifleri düzenli dizilim sergilemektedir. Ayrıca subkutan bölgede adipositler görülmekte olup, bazı alanlarda yapısal değişiklikler izlenmektedir.

19.B’de daha yüksek büyütmede incelendiğinde, kas dokusu ile yağ dokusu arasındaki geçiş bölgesi net olarak görülmektedir. Kırmızı renkte boyanan kas lifleri normal morfolojide olmakla birlikte, alt kısımda yağ dokusunda yer yer hücresel infiltrasyonun arttığı alanlar mevcuttur. Adipositlerde genel olarak yapısal bütünlük korunmuş olsa da, hipertrofik adipositler ve dejenere görünümlü hücreler belirgin şekilde gözlenmektedir. Bazı alanlarda mavi renkte boyanan kollajen liflerin adipositler arasında arttığı, bu durumun orta derecede fibrozisi işaret ettiği düşünülmektedir. Adipoz doku içerisinde yer yer inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmekte olup, bu bulgu kronik inflamasyon sürecinin varlığını desteklemektedir. Vaskülarizasyon açısından incelendiğinde, orta düzeyde damarlanma artışı izlenmektedir.

Bu bulgular, kontrol grubunda adipoz dokunun genel olarak normal yapısını korumakla birlikte, belirgin hipertrofik değişikliklerin, dejeneratif bulguların ve inflamatuvar yanıtın varlığını göstermektedir.



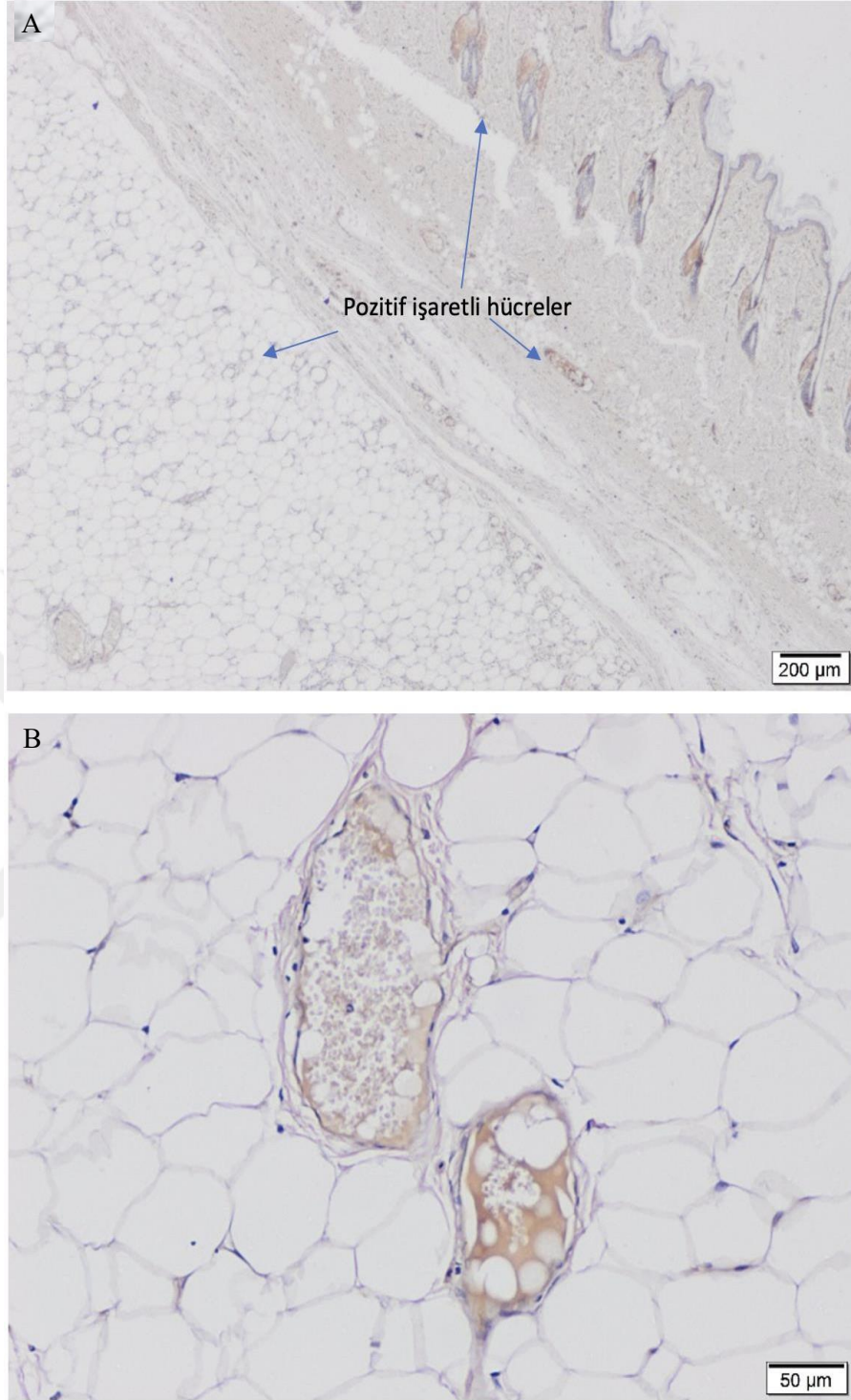
Şekil 20.A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde eNOS immunohistokimyasal boyaması

İmmünohistokimyasal (İHK) boyama yöntemiyle endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunun değerlendirildiği kontrol grubuna ait doku kesitlerinde, belirgin pozitif hücre işaretlenmeleri gözlenmektedir. Şekil 20.A’da (200 µm ölçek çubuğu), epidermis ve dermis tabakalarında düşük yoğunlukta eNOS pozitif hücreler izlenmektedir. Özellikle dermal papilladaki kan damarları

evresinde ve deri eklerinin bazal tabakalarında pozitif işaretleme dikkati çekmektedir.

şekil 20.B’de (50 µm ölçek çubuğu), daha yüksek büyütmede incelendiğinde, adipoz doku içerisinde ve çevresindeki stromal hücrelerde eNOS ekspresyonu açıkça görülmektedir. Adipositlerin çevresindeki perivasküler alanlarda daha yoğun pozitif işaretleme mevcuttur. Sağ alt köşede görülen inflamatuvar hücre infiltrasyon alanında da belirgin eNOS pozitifliği izlenmektedir. Bu hücrelerin çoğunlukla makrofajlar ve endotel hücreleri olduğu düşünülmektedir.

Kontrol grubunda eNOS ekspresyonu fizyolojik sınırlarda olup, özellikle vasküler yapılar çevresinde ve bazı deri eklerinde bazal düzeyde pozitiflik göstermektedir. Bu bulgu, dokudaki normal nitrik oksit metabolizmasını ve vasküler homeostazın sürdürüldüğünü işaret etmektedir.



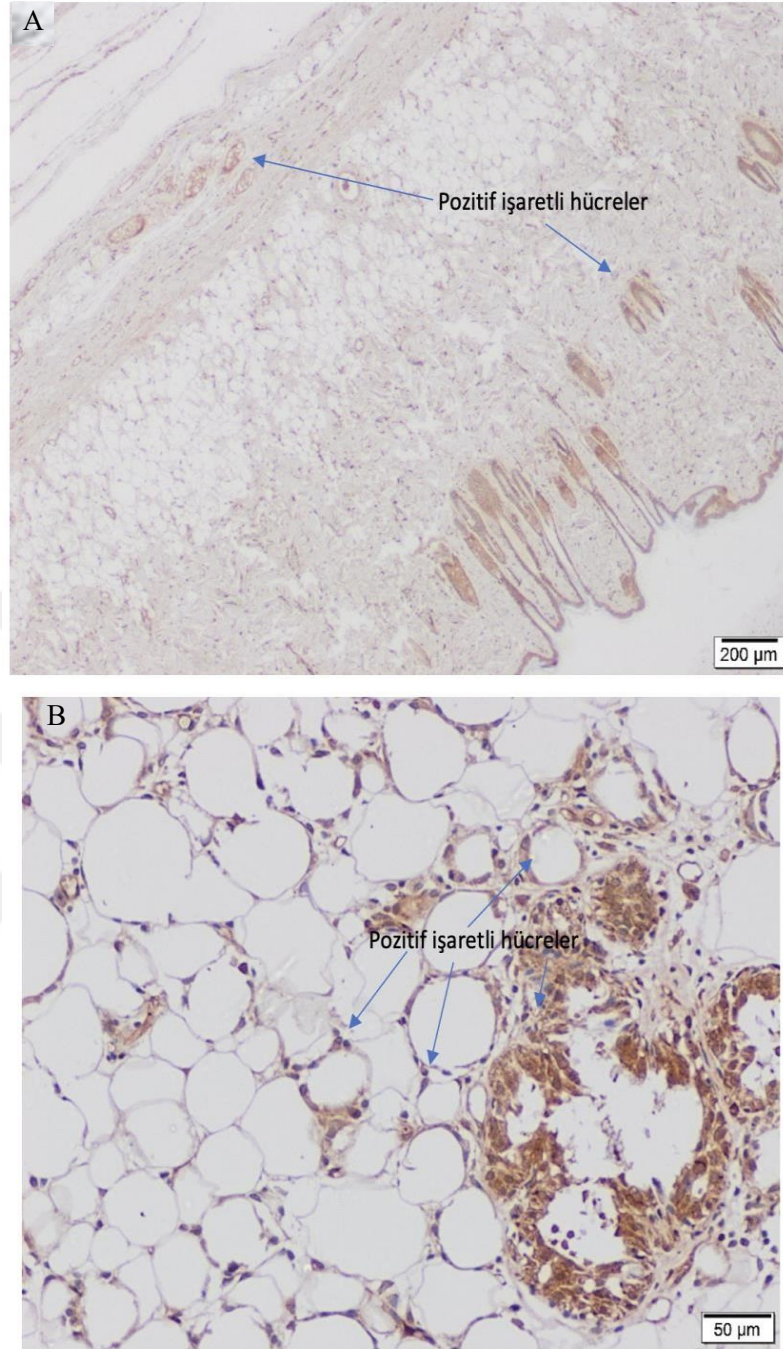
Şekil 21.A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde eNOS immünohistokimyasal boyaması

İmmünohistokimyasal boyama yöntemiyle endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunun incelendiği kontrol grubu doku kesitlerinde, seçili

alanlarda pozitif immünreaktivite gözlenmektedir. Şekil 21.A'da (200 µm ölçek çubuğu), epidermis ve dermis tabakalarında eNOS pozitif hücreler izlenmektedir. Özellikle kıl folikülleri çevresinde ve dermisin üst kısımlarında immünpozitif hücreler belirgin şekilde görülmektedir. Epidermiste yer yer pozitif hücre işaretlenmeleri mevcuttur. Sol alt kısımda adipoz doku içerisinde de az sayıda pozitif hücre dikkati çekmektedir.

Şekil 21.B'de (50 µm ölçek çubuğu), yüksek büyütmede adipoz doku içerisindeki vasküler yapılar görülmektedir. Bu yapılarda, özellikle damar duvarlarında ve lümen içerisindeki hücrelerde belirgin eNOS ekspresyonu izlenmektedir. Çevre adipositlerde immünreaktivite gözlenmezken, damarların etrafındaki perivasküler alanlarda ve endotel hücrelerinde güçlü pozitif boyanma dikkati çekmektedir.

Kontrol grubunda eNOS ekspresyonu ağırlıklı olarak vasküler yapılarda ve deri eklerinde fizyolojik sınırlarda saptanmıştır. Bu bulgu, dokudaki normal nitrik oksit metabolizmasını ve endotel fonksiyonun sürdürüldüğünü göstermektedir. Ayrıca, vasküler yapıların endotel hücrelerinde gözlenen eNOS pozitifliği, sağlıklı mikrosirkülasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

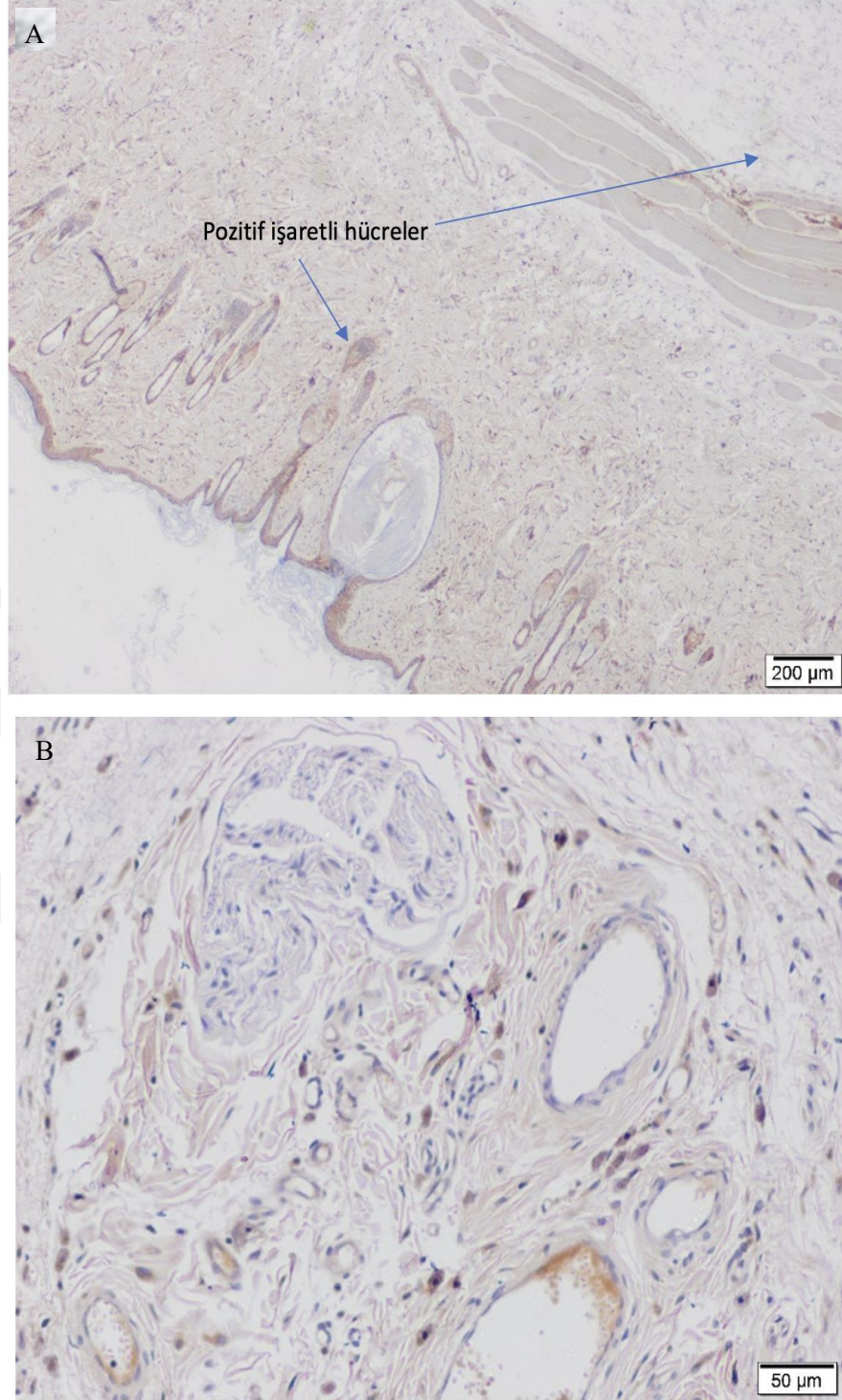


Şekil 22.A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması

Kontrol grubuna ait doku kesitlerinde apoptotik belirteç olarak kullanılan Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması ile belirli alanlarda pozitif immünreaktivite gözlenmektedir. Şekil 22.A’da (200 µm ölçek çubuğu), epidermis ve dermis tabakalarında seçili bölgelerde Caspase-3 pozitif hücreler izlenmektedir. Özellikle kıl folikülleri ve deri eklerinde belirgin immünpozitif hücreler görülmektedir. Bu pozitif hücrelerin çoğunlukla deri eklerinin bazal tabakasında ve foliküler epitelde lokalize olduğu dikkati çekmektedir.

Şekil 22.B’de (50 µm ölçek çubuğu), daha yüksek büyütmede adipoz doku incelendiğinde, adipositler arasında stromal hücrelerde ve sağ tarafta bulunan yoğun hücrel infiltrasyon alanında belirgin Caspase-3 pozitifliği görülmektedir. İnfiltrasyon alanındaki immünpozitif hücreler, yoğun kahverengi boyanma şeklinde izlenmektedir. Perivasküler alanlarda da pozitif hücreler dikkati çekmektedir.

Kontrol grubunda Caspase-3 ekspresyonu fizyolojik sınırlarda olup, normal doku döngüsünde beklenen bazal seviyede apoptotik aktiviteyi göstermektedir. Bu bulgu, kontrol dokusunda apoptotik süreçlerin fizyolojik düzeyde gerçekleştiğini ve herhangi bir patolojik artış olmadığını düşündürmektedir. Özellikle deri ekleri ve vasküler yapılar çevresinde izlenen pozitif hücreler, bu alanlardaki normal hücre döngüsünün bir parçası olarak değerlendirilmiştir.



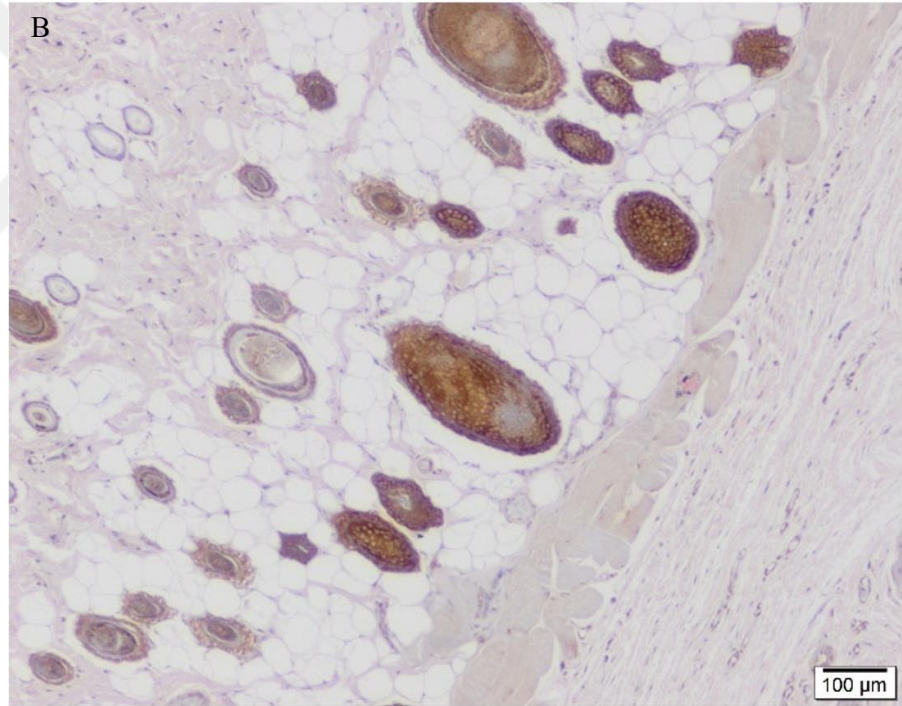
Şekil 23.A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması

İmmünohistokimyasal yöntemle Caspase-3 ekspresyonunun değerlendirildiği kontrol grubuna ait doku kesitlerinde, seçili bölgelerde pozitif immünreaktivite gözlenmektedir. Şekil 23.A'da (200 µm ölçek çubuğu), epidermis ve dermiste dağınık olarak yerleşmiş Caspase-3 pozitif hücreler izlenmektedir. Epidermis tabakasında bazal membran boyunca hafif immünreaktivite mevcuttur. Dermisin üst kısımlarında, özellikle kıl folikülleri çevresinde ve

epidermal-dermal bileşkede pozitif hücreler dikkati çekmektedir. Sağ üst kısımda kas dokusu görülmekte olup, kas lifleri çevresinde de hafif pozitif işaretleme izlenmektedir.

Şekil 23.B’de (50 µm ölçek çubuğu), dermisteki kollajen lifleri arasında yerleşmiş fibroblastlar ve dermal yapılar daha yüksek büyütmede incelenmiştir. Bu alanda, vasküler yapılar etrafında kümelenmiş Caspase-3 pozitif hücreler görülmektedir. Özellikle damar duvarlarında ve perivasküler alanlarda belirgin immünreaktivite izlenmektedir. Stromal hücrelerde çekirdek ve sitoplazmik boyanma paterni gösteren Caspase-3 pozitifliği mevcuttur. Dermal bağ dokusunda yer yer dağılmış immünpozitif hücreler, normal doku homeostazında gerçekleşen fizyolojik apoptotik süreçlere işaret etmektedir.

Kontrol grubunda gözlenen bu Caspase-3 ekspresyon düzeyi, normal doku yenilenmesi sırasında beklenen bazal seviyede apoptotik aktiviteyi yansıtmaktadır ve patolojik bir artış göstermemektedir.

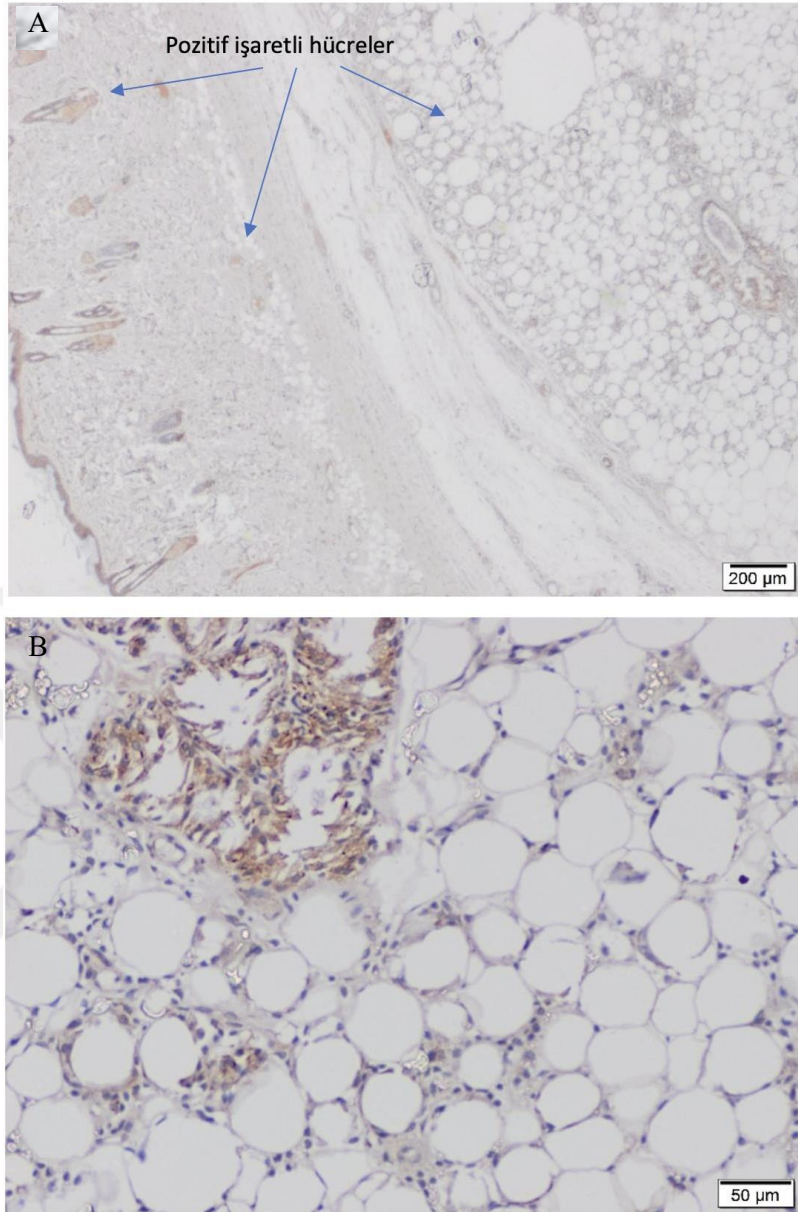


Şekil 24.A,B Kontrol grubuna (1.Grup) ait doku örneklerinde VEGF-A immünohistokimyasal boyaması

Kontrol grubuna ait doku kesitlerinde, anjiyogenez belirteci olan Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF-A) ekspresyonu immünohistokimyasal boyama ile değerlendirilmiştir. Şekil 24.A’da (200 µm ölçek çubuğu), dermis tabakasında yerleşen kıl folikülleri ve deri eklerinde belirgin şekilde pozitif immünreaktivite görülmektedir. Bu yapılar yoğun kahverengi boyanma göstermektedir. Özellikle foliküler epitelde ve dış kök kılıfında güçlü VEGF-A ekspresyonu dikkati çekmektedir.

Şekil 24.B’de (100 µm ölçek çubuğu), daha yüksek büyütmede kıl folikülleri ve çevre dokusu incelenmiştir. Foliküler yapılarda belirgin VEGF-A pozitifliği daha net şekilde izlenmektedir. Güçlü immünreaktivite gösteren foliküler epitel hücreleri, keskin sınırlı kahverengi boyanma ile karakterizedir. Ayrıca foliküllerin etrafındaki perifoliküler alanda da VEGF-A ekspresyonu mevcuttur. Bu alanlarda, stromal hücrelerde de hafif-orta derecede pozitif boyanma gözlenmektedir.

Kontrol grubunda VEGF-A ekspresyonu fizyolojik sınırlarda olup, özellikle deri eklerinde ve folliküler yapılarda lokalize olduğu görülmektedir. Bu bulgu, normal dokuda bazal düzeyde anjiyogenik aktiviteyi ve vasküler homeostazı yansıtmaktadır. VEGF-A’nın özellikle kıl foliküllerinde belirgin ekspresyonu, bu yapıların yüksek metabolik aktivitesini ve sürekli yenilenme kapasitesini desteklemektedir.



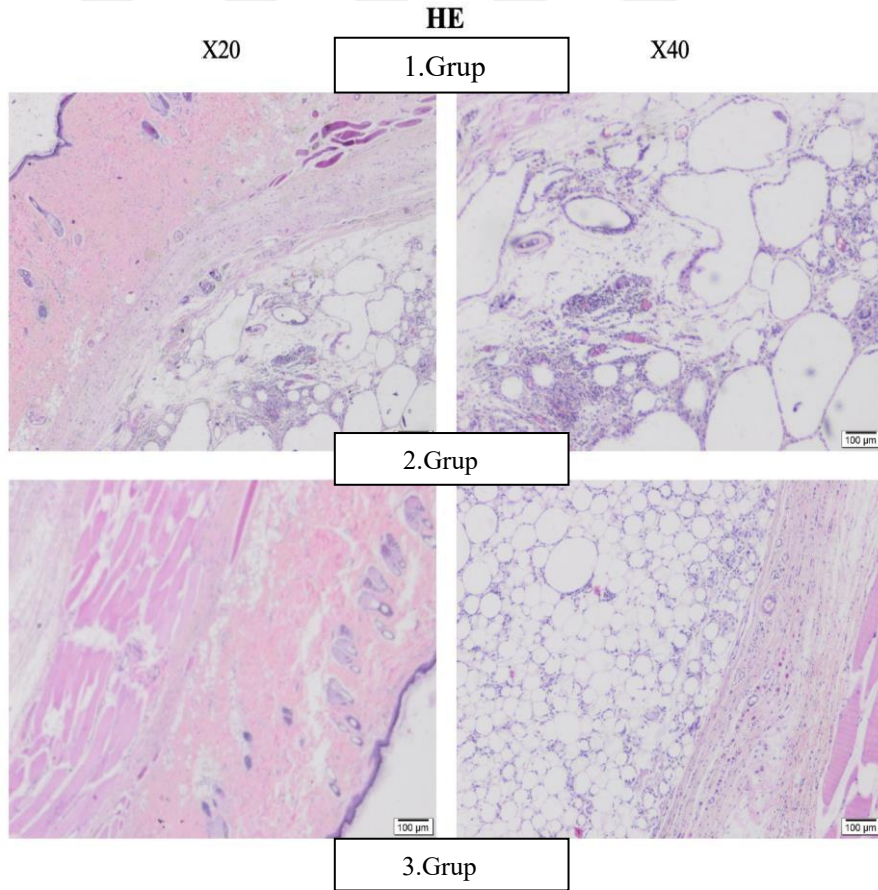
Şekil 25.A,B 6.Gruba ait doku örneklerinde VEGF-A immünohistokimyasal boyaması

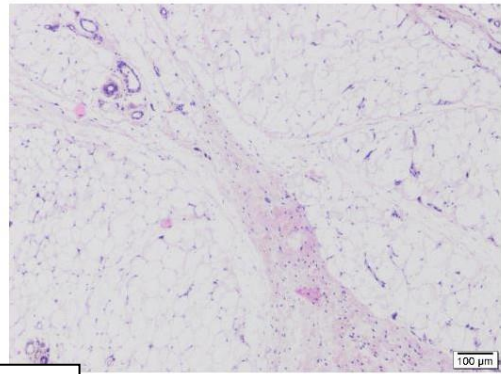
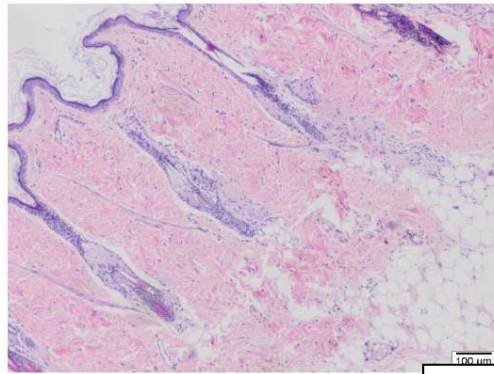
Kontrol grubuna ait doku kesitlerinde, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF-A) immünohistokimyasal boyaması ile anjiyogenez incelenmiştir. Şekil 25.A’da (200 µm ölçek çubuğu), dermisin farklı bölgelerinde dağınık olarak yerleşmiş VEGF-A pozitif hücreler görülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla daha az yoğunlukta olan pozitif immünreaktivite, özellikle kıl foliküllerinde ve dermis-epidermis bileşkesinde lokalize olmuştur. Sağ kısımda görülen adipoz dokuda da seyrek pozitif işaretleme dikkati çekmektedir.

Şekil 25.B’de (50 µm ölçek çubuğu), adipoz doku içerisinde belirgin bir VEGF-A pozitif hücre kümeleşmesi izlenmektedir. Sol tarafta yoğun kahverengi

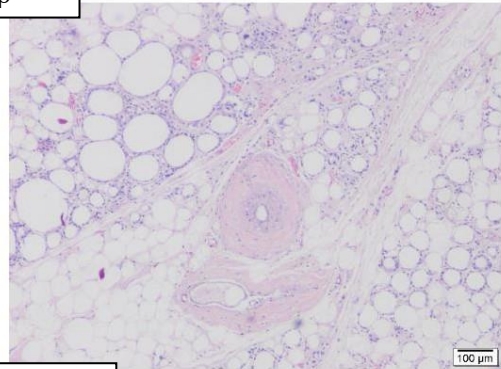
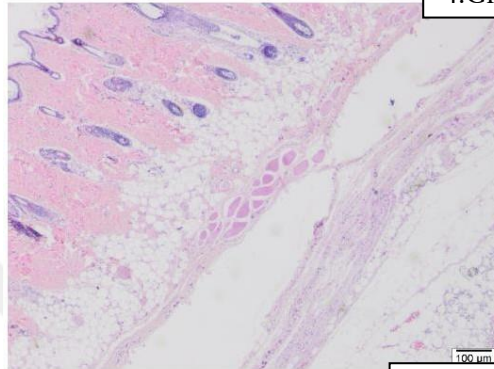
boyanma gösteren bu alan, muhtemelen vasküler yapılar ve inflamatuvar hücrelerden oluşmaktadır. Bu bölgede, VEGF-A ekspresyonu belirgin şekilde artmış olup, adipositler arasındaki stromal hücrelerde de hafif immünreaktivite mevcuttur. Çevre adipositlerde ise immünreaktivite gözlenmemektedir.

Kontrol grubunda VEGF-A ekspresyonu, belirli alanlarda lokalize olma eğilimi göstermekte ve özellikle vasküler-inflamatuvar odaklarda yoğunlaşmaktadır. Bu bulgu, dokuda anjiyogenik aktivitenin seçili bölgelerde artış gösterdiğini ve potansiyel olarak doku yenilenmesi veya inflamatuvar yanıt süreçlerinin aktif olduğunu düşündürmektedir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, epitelde daha az belirgin ancak stromal alanlarda daha fokal ve yoğun bir VEGF-A ekspresyon paterni izlenmektedir.

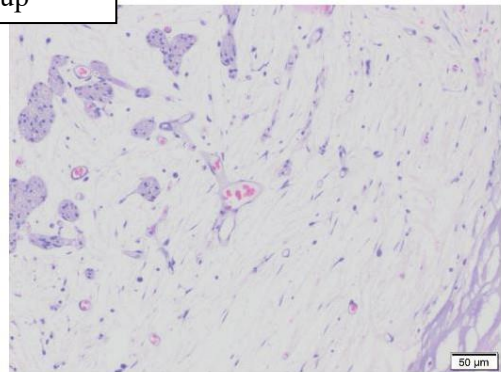
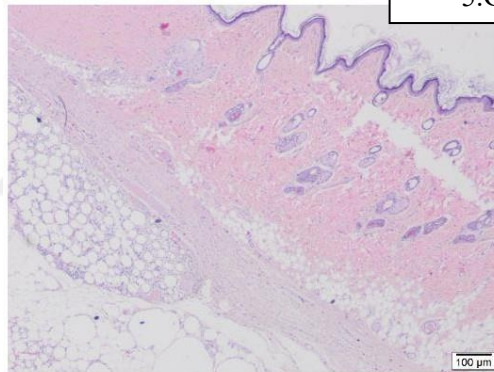




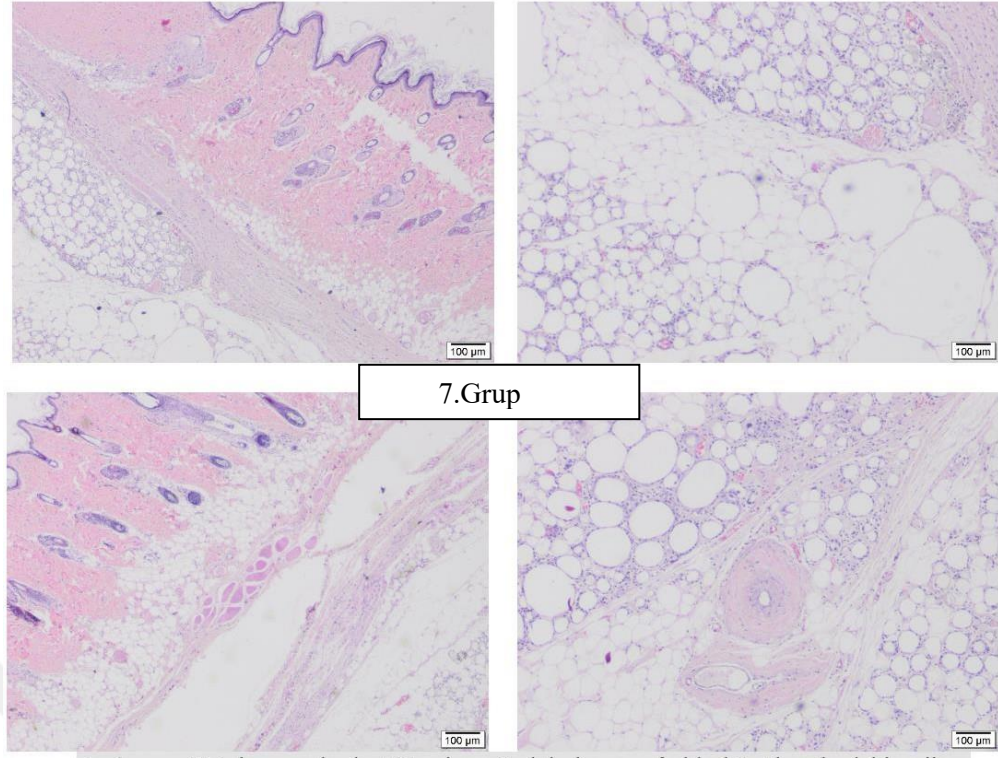
4.Grup



5.Grup



6.Grup



Şekil 26. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin H&E boyamalı histolojik görünümü

H&E boyaması ile yapılan histolojik incelemelerde, çeşitli tedavi grupları arasında adipoz doku morfolojisi ve hücre sağkalımı açısından belirgin farklılıklar gözlenmektedir.

Kontrol grubuna ait kesitlerde, normal yapıdaki epidermis ve dermis tabakalarının yanı sıra, subkutan adipoz dokuda düzensiz dağılım ve belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonu dikkat çekmektedir. X20 büyütmede epidermisin normal kalınlığını koruduğu, dermis tabakasında kollajen liflerin düzenli olduğu görülmektedir. X40 büyütmede adipoz doku incelendiğinde, adipositlerin bir kısmının yapısal bütünlüğünü koruduğu ancak özellikle santral alanlarda yoğun hücresel infiltrasyon odakları izlenmektedir. Bu alanlarda adiposit dejenerasyonu ve vakuolizasyon belirgindir.

2.Grupta, kontrol grubuna kıyasla daha iyi korunmuş adipoz doku morfolojisi gözlenmektedir. X20 büyütmede kas dokusu ve dermis tabakasının normal yapıda olduğu, X40 büyütmede ise adipositlerin daha düzenli dağılım gösterdiği ve hücre bütünlüğünün korunduğu izlenmektedir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonunun kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı ve hücreler arası

bağlantıların daha iyi korunduğu dikkat çekmektedir.

3.Grupta, tüm gruplara kıyasla en iyi korunmuş adipoz doku morfolojisi gözlenmektedir. Adipositler normal şekil ve büyüklükte olup, minimal hücrel infiltrasyon mevcuttur. İnflamatuar yanıtın belirgin şekilde baskılandığı ve vasküler yapıların daha belirgin olduğu görülmektedir.

4.Grupta, adipoz doku bütünlüğünün 2. Gruba benzer şekilde korunduğu ancak lokal D₃ vitamini uygulamasına göre sistemik uygulamanın daha az etkinlik gösterdiği izlenmektedir. Adipositler arasında hafif düzeyde infiltrasyon mevcut olup, bazı alanlarda minimal fibrotik değişiklikler gözlenmektedir.

5.Grupta, adipoz dokunun morfolojik yapısının iyi korunduğu ve belirgin vasküler yapıların varlığı dikkat çekmektedir. Bu grupta kıl foliküllerinin belirgin görünümü ve perifoliküler alanların sağlıklı yapısı öne çıkmaktadır. 3.Gruba benzer şekilde, inflammatuar yanıtın etkin şekilde baskılandığı gözlenmektedir.

Bu gruplarda adipoz doku morfolojisi ve hücrel sağkalım açısından orta düzeyde korunma izlenmektedir. 6.Grupta minimal-orta düzeyde inflammatuar hücre infiltrasyonu mevcut olup, 7.Grupta ise Myrtus Communis uygulaması sonucu inflammatuar yanıtta kısmi azalma gözlenmektedir.

Genel olarak, tüm tedavi grupları kontrol grubuna kıyasla daha iyi korunmuş adipoz doku morfolojisi ve azalmış inflammatuar yanıt sergilemektedir. Kombinasyon tedavilerinin (3.ve 5.Grup) tek başına D₃ vitamini uygulamalarına göre daha etkili olduğu, özellikle 3.Grupta en optimal sonuçların elde edildiği gözlenmektedir.

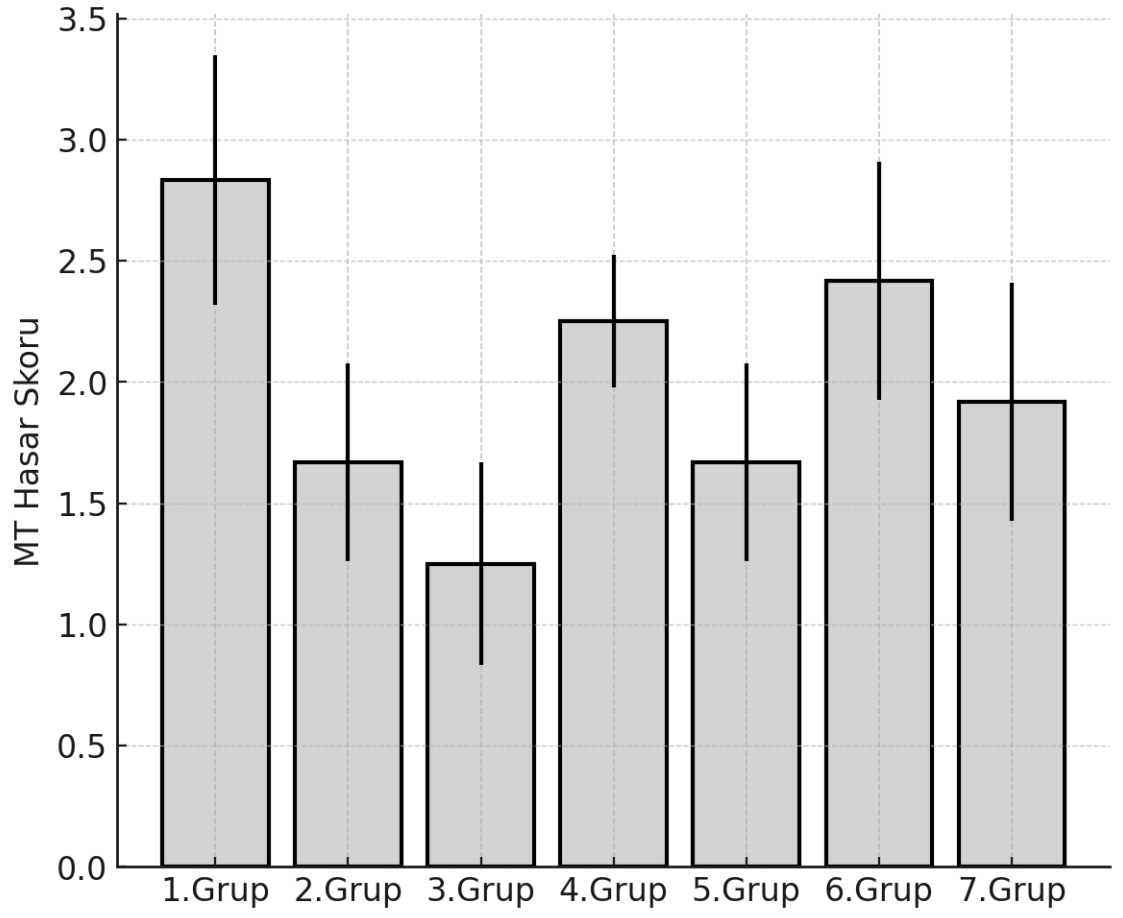
HE boyamalarda hasara karşı yapılan uygulamaların değişik düzeydeki etkisinin anlamlı olduğu +1 en az yaşam +5 en çok yaşam skorlaması ile saptandı (Tablo 4.).

Tablo 4. HE Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Yaşam Skorlaması

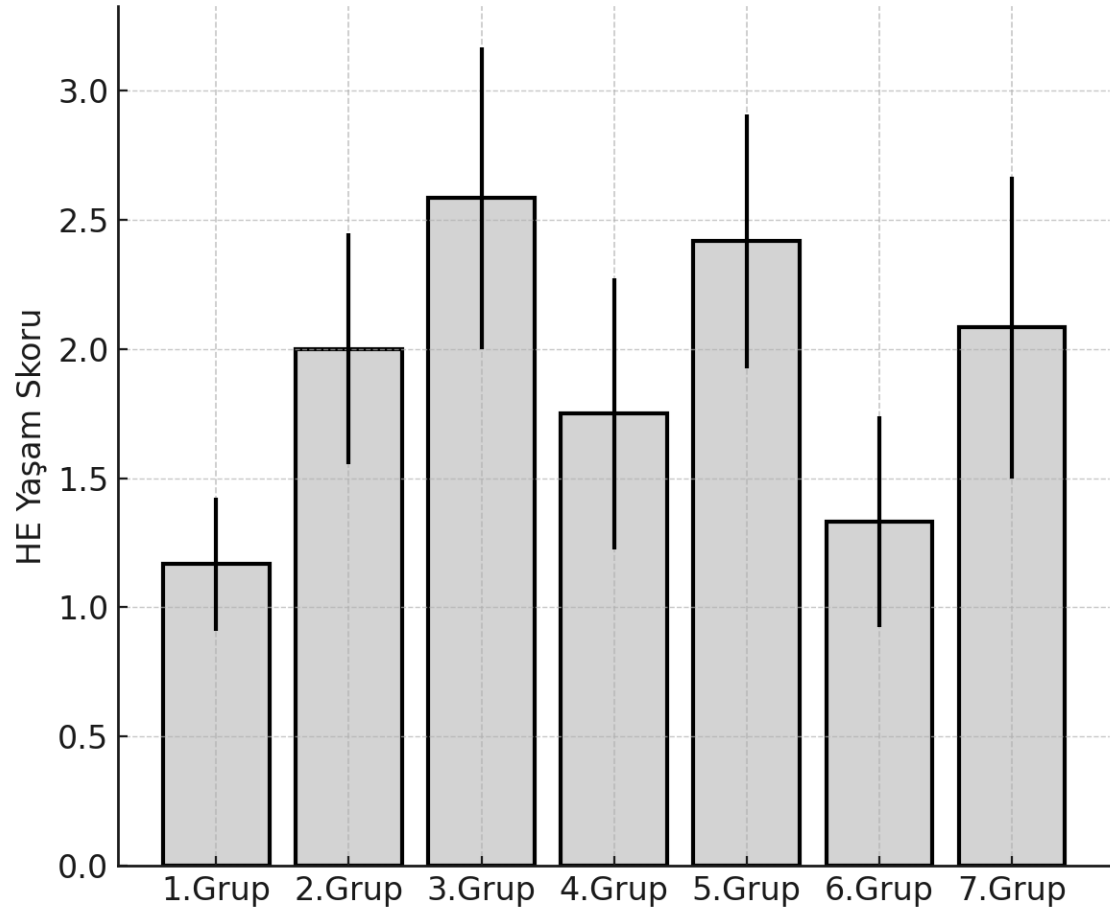
	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
1	1	2	2	1	2	1	2
2	1,5	1,5	3	1,5	3	1,5	1,5
3	1	2,5	2,5	2	2	1	2,5
4	1,5	1,5	3,5	1,5	2,5	1,5	1,5
5	1	2	2	2,5	2	2	2
6	1	2,5	2,5	2	3	1	3

Tablo 5. HE Boyama Koruma Yöntemlerinin Yaşam Skorlaması İstatistikleri

	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
Değer Sayısı	6	6	6	6	6	6	6
Minimum	1,000	1,500	2,000	1,000	2,000	1,000	1,500
Maksimum	1,500	2,500	3,500	2,500	3,000	2,000	3,000
Aralık	0,5000	1,000	1,500	1,500	1,000	1,000	1,500
Ortalama	1,167	2,000	2,583	1,750	2,417	1,333	2,083
Standart Sapma	0,2582	0,4472	0,5845	0,5244	0,4916	0,4082	0,5845
Ortalama Hatası	0,1054	0,1826	0,2386	0,2141	0,2007	0,1667	0,2386



Şekil 27. Yağ Grefti Yaşam - MT



Şekil 28. Yağ Grefti Yaşam – HE

Tablo 6. HE Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Tukey's MCT	Ort. farkı	95,00% Güven Aralığı	Anlamlı mı?	Özet	Düzeltilmiş P Değeri
1.Grup vs. 2.Grup	-0,8333	-1,705 ile 0,03845	Hayır	anlamlı değil	0,0688
1.Grup vs. 3.Grup	-1,417	-2,288 ile -0,5449	Evet	***	0,0002
1.Grup vs. 4.Grup	-0,5833	-1,455 ile 0,2884	Hayır	anlamlı değil	0,3796
1.Grup vs. 5.Grup	-1,250	-2,122 ile -0,3782	Evet	**	0,0014
1.Grup vs. 6.Grup	-0,1667	-1,038 ile 0,7051	Hayır	anlamlı değil	0,9965
1.Grup vs. 7.Grup	-0,9167	-1,788 ile -0,04488	Evet	*	0,0340
2.Grup vs. 3.Grup	-0,5833	-1,455 ile 0,2884	Hayır	anlamlı değil	0,3796
2.Grup vs. 4.Grup	0,2500	-0,6218 ile 1,122	Hayır	anlamlı değil	0,9707
2.Grup vs. 5.Grup	-0,4167	-1,288 ile 0,4551	Hayır	anlamlı değil	0,7463
2.Grup vs. 6.Grup	0,6667	-0,2051 ile 1,538	Hayır	anlamlı değil	0,2328
2.Grup vs. 7.Grup	-0,08333	-0,9551 ile 0,7884	Hayır	anlamlı değil	>0,9999
3.Grup vs. 4.Grup	0,8333	-0,03845 ile 1,705	Hayır	anlamlı değil	0,0688
3.Grup vs. 5.Grup	0,1667	-0,7051 ile 1,038	Hayır	anlamlı değil	0,9965
3.Grup vs. 6.Grup	1,250	0,3782 ile 2,122	Evet	**	0,0014
3.Grup vs. 7.Grup	0,5000	-0,3718 ile 1,372	Hayır	anlamlı değil	0,5614
4.Grup vs. 5.Grup	-0,6667	-1,538 ile 0,2051	Hayır	anlamlı değil	0,2328
4.Grup vs. 6.Grup	0,4167	-0,4551 ile 1,288	Hayır	anlamlı değil	0,7463
4.Grup vs. 7.Grup	-0,3333	-1,205 ile 0,5384	Hayır	anlamlı değil	0,8913
5.Grup vs. 6.Grup	1,083	0,2116 ile 1,955	Evet	**	0,0072
5.Grup vs. 7.Grup	0,3333	-0,5384 ile 1,205	Hayır	anlamlı değil	0,8913
6.Grup vs. 7.Grup	-0,7500	-1,622 ile 0,1218	Hayır	anlamlı değil	0,1311

4.2.2.Histopatolojik Skorlama Sonuçları

Histopatolojik kesitlerde adipoz doku greftlerinin yaşam skorlaması, Hematoksilen-Eozin (HE) ve Masson Trikrom (MT) boyamalarında farklı sonuçlar göstermiştir. Grafikler incelendiğinde, MT boyamada kontrol grubunun (1.Grup) en yüksek skora sahip olduğu, buna karşın HE boyamada 3.Grubun en yüksek yaşam skorunu gösterdiği dikkati çekmektedir.

4.2.3. MT Boyama Değerlendirmesi

MT boyamada gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, 1.Grupta ortalama skor $2,8 \pm 0,5$ iken, 3.Grupta $1,3 \pm 0,4$ olarak ölçülmüştür. Bu sonuç, MT boyamada kontrol grubuna kıyasla tedavi gruplarında, özellikle 3.Grupta, yaşam skorunun azaldığını göstermektedir. 6.Grup $2,7 \pm 0,5$ ile 1.Gruba yakın bir skor sergilemiştir.

4.2.4. HE Boyama Değerlendirmesi

HE boyama sonuçları farklı bir tablo ortaya koymaktadır. HE boyamada 1.Grup $1,167 \pm 0,258$ ile en düşük yaşam skoruna sahipken, 3.Grup $2,583 \pm 0,584$ ile en yüksek skoru göstermiştir. 3.Grup da $2,417 \pm 0,492$ ile yüksek skor sergilemiştir. 6.Grup $1,333 \pm 0,408$ ile kontrol grubuna yakın bir değerde kalmıştır.

4.2.5. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, önemli istatistiksel farklılıklar tespit edilmiştir:

1. 1.Gruba kıyasla 3.Grupta anlamlı bir artış gözlenmiştir (ortalama fark: $-1,417$, $p=0,0002$, ***)
2. 1.Gruba kıyasla 5.Grupta anlamlı bir artış bulunmuştur (ortalama fark: $-1,250$, $p=0,0014$, **)
3. 1.Gruba kıyasla 7.Grupta anlamlı bir artış saptanmıştır (ortalama fark: $-0,9167$, $p=0,0340$, *)
4. 3.Grup ile 6.Grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (ortalama fark: $1,250$, $p=0,0014$, **)
5. 5.Grup ile 6.Grup arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir (ortalama fark: $1,083$, $p=0,0072$, **)

Bu sonuçlar, D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyon tedavilerinin (3. ve 5.Grup) yağ grefti yaşamı üzerine en olumlu etkileri gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle lokal D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonu (3.Grup), 6.Gruba kıyasla belirgin şekilde üstün sonuçlar sergilemiştir.

Genel olarak, HE boyama sonuçları, kombinasyon tedavilerinin yağ grefti sağkalımını arttırmada etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle Myrtus communis ilavesi, hem lokal hem de sistemik D₃ vitamini uygulamalarının etkinliğini arttırmıştır.

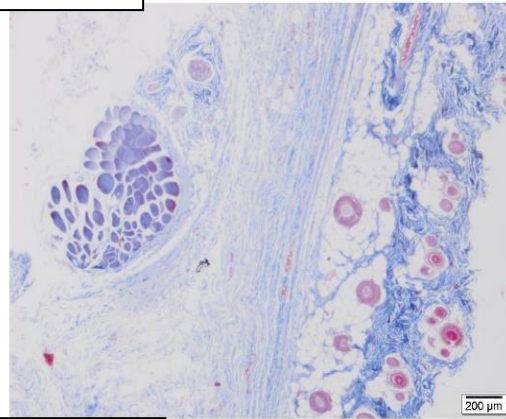
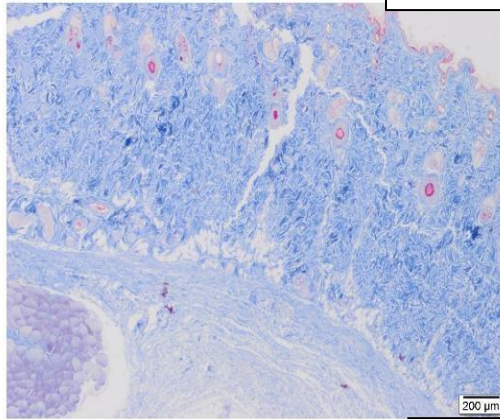


MT

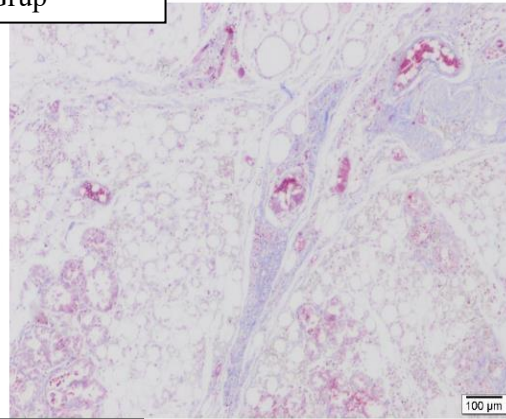
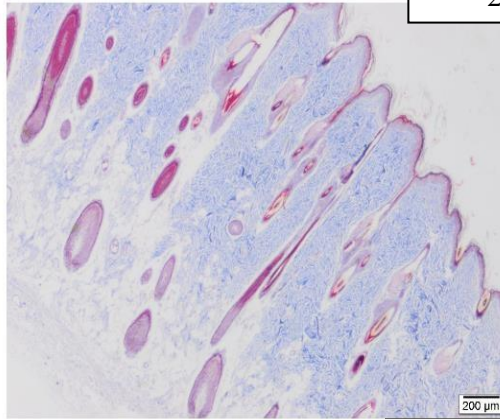
X20

X40

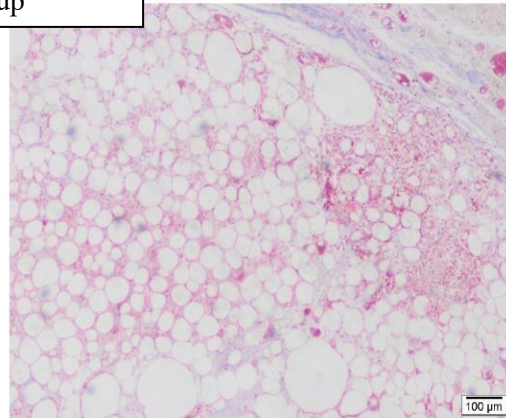
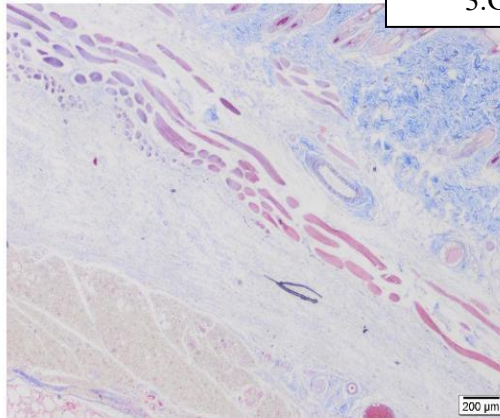
1. Grup



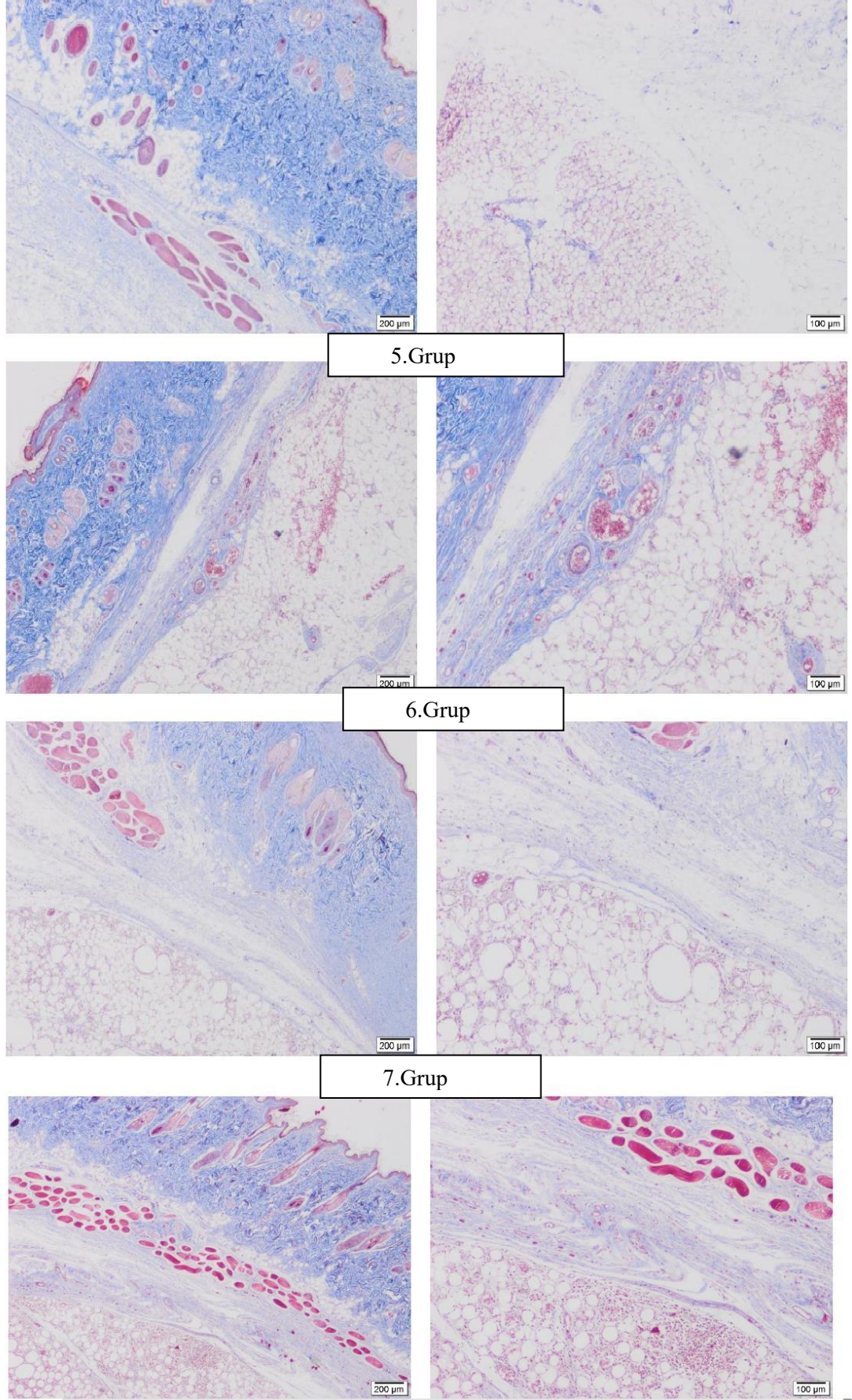
2. Grup



3. Grup



4. Grup



Şekil 29. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin Masson Trikrom boyamalı histolojik görünümü

Masson Trikrom (MT) boyaması ile yapılan histolojik incelemede, çeşitli tedavi grupları arasında kollajen yapısı, doku morfolojisi ve fibril organizasyonu açısından belirgin farklılıklar gözlenmektedir.

Kontrol grubuna ait kesitlerde, dermis tabakasında mavi renkle boyanan kollajen liflerin düzenli dağılımı ve bütünlüğünün korunduğu görülmektedir. X20 büyütmede, dermisteki kollajen liflerin yoğun ve organize yapısı ile kırmızı renkle boyanan kıl folikülleri ve bez yapılarının normal morfolojide olduğu izlenmektedir. X40 büyütmede, özellikle kıl folikülleri çevresindeki kollajen yapısının sağlam olduğu ve kas lifleri ile adipositlerde düzenli bir yapılanma görülmektedir.

2.Grupta, epidermis tabakasında kırmızı renkte belirgin boyanma dikkati çekmektedir. X20 büyütmede epidermin kalınlaşmış ve düzenli yapıda olduğu, dermis tabakasında kollajen liflerin daha az yoğun ancak organize biçimde dağıldığı görülmektedir. X40 büyütmede adipoz doku incelendiğinde, kollajen septumların daha ince olduğu, ancak adipositlerin normal morfolojide olduğu izlenmektedir.

3.Grupta, kas dokusu belirgin şekilde kırmızı boyanmış olup normal histolojik yapıda görülmektedir. X40 büyütmede adipoz doku incelendiğinde, adipositler arasındaki kollajen septumların pembe-kırmızı renkte boyanma gösterdiği ve adipositlerin normal morfolojide olduğu görülmektedir. Kollajen yapısının kontrol grubuna göre daha az yoğun olmasına rağmen bütünlüğünün korunduğu dikkati çekmektedir.

4.Grupta, kollajen liflerin yapısı ve organizasyonu orta düzeyde korunmuştur. Adipoz dokuda kollajen septumların pembe tonlarda boyandığı, fibril yoğunluğunun 2.Gruba benzer şekilde azalmış olduğu görülmektedir.

5.Grupta, epidermis tabakası düzenli görünümündedir. Dermisteki kollajen yapının yoğunluğu korunmuş olup mavi renkte belirgin boyanma göstermektedir. X40 büyütmede, adipoz

dokudaki kollajen septumların belirgin olduğu ve vasküler yapıların normal morfolojide olduğu izlenmektedir.

6.Grupta, dermis tabakasında mavi renkte boyanan kollajen liflerin yoğunluğunun azaldığı, ancak organizasyonunun kısmen korunduğu görölmektedir. X40 büyütmede adipoz doku içerisinde kollajen septumların incelendiğı, ancak genel doku morfolojisinin korunduğu izlenmektedir.

7.Grupta, kas dokusu kırmızı renkte belirgin boyanma göstermektedir. Dermisteki kollajen liflerin yoğunluğunun arttığı ve adipoz doku çevresindeki kollajen yapının korunduğu görölmektedir. Adipositler normal morfolojide olup, septum yapıları belirgindir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, MT boyaması ile kollajen yapısı ve doku morfolojisi incelendiğinde, 6.Grupta bozulan kollajen yapısı ve doku organizasyonunun, özellikle D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon tedavileri (3.Grup ve 5.Grup) ile belirgin şekilde düzeldiğı gözlenmektedir. Bu kombinasyon tedavilerinin kollajen bütünlüğünü korumada ve fibril yoğunluğunu artırmada tek başına tedavilere göre daha etkili olduğu söylenebilir.

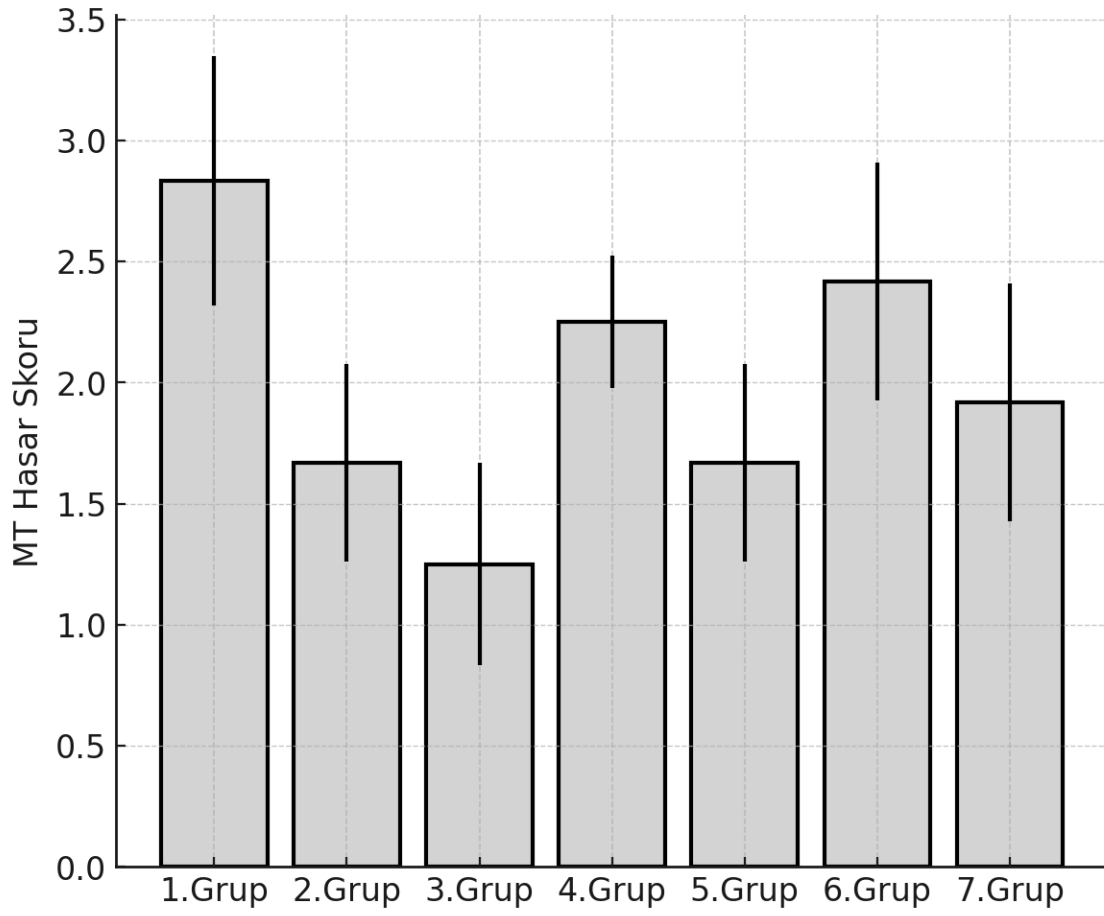
MT boyamalarda 1.Grup ile karşılaştırılınca oluşan hasara karşı yapılan uygulamaların değişik düzeylerdeki etkisinin anlamlı olduğu +1 en az ve +5 en çok bozukluk skorlaması ile saptandı (Tablo 7-8).

Tablo 7. MT Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Bozukluk Skorlaması

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
1	3	1,5	1	2,5	1,5	2	1,5
2	2,5	2	1,5	2	2	2,5	2,5
3	3,5	1,5	1	2,5	1,5	2	1,5
4	3	2	1	2	2	3	2
5	3	2	2	2,5	2	3	2,5
6	2	1	1	2	1	2	1,5

Tablo 8. MT Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
Değer Sayısı	6	6	6	6	6	6	6
Minimum	2,000	1,000	1,000	2,000	1,000	2,000	1,500
Maksimum	3,500	2,000	2,000	2,500	2,000	3,000	2,500
Aralık	1,500	1,000	1,000	0,5000	1,000	1,000	1,000
Ortalama	2,833	1,667	1,250	2,250	1,667	2,417	1,917
Standart Sapma	0,5164	0,4082	0,4183	0,2739	0,4082	0,4916	0,4916
Ortalama Hatası	0,2108	0,1667	0,1708	0,1118	0,1667	0,2007	0,2007



Şekil 30. Yağ Grefti Yaşam – MT

Tablo 9. MT Boyamalarda Hasara Karşı Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Tukey's MCT	Ort. Farkı	95,00% Güven Aralığı	Anlamlı mı?	Özet	Düzeltilmiş P Değeri
1.Grup vs. 2.Grup	1,167	0,3790 ile 1,954	Evet	***	0,0009
1.Grup vs. 3.Grup	1,583	0,7957 ile 2,371	Evet	****	<0,0001
1.Grup vs. 4.Grup	0,5833	-0,2043 ile 1,371	Hayır	Anlamlı değil	0,2656
1.Grup vs. 5.Grup	1,167	0,3790 ile 1,954	Evet	***	0,0009
1.Grup vs. 6.Grup	0,4167	-0,3710 ile 1,204	Hayır	Anlamlı değil	0,6498
1.Grup vs. 7.Grup	0,9167	0,1290 ile 1,704	Evet	*	0,0139
2.Grup vs. 3.Grup	0,4167	-0,3710 ile 1,204	Hayır	Anlamlı değil	0,6498
2.Grup vs. 4.Grup	-0,5833	-1,371 ile 0,2043	Hayır	Anlamlı değil	0,2656
2.Grup vs. 5.Grup	0,000	-0,7877 ile 0,7877	Hayır	Anlamlı değil	>0,9999

2.Grup vs. 6.Grup	-0,7500	-1,538 ile 0,03766	Hayır	Anlamlı değil	0,0706
2.Grup vs. 7.Grup	-0,2500	-1,038 ile 0,5377	Hayır	Anlamlı değil	0,9524
3.Grup vs. 4.Grup	-1,000	-1,788 ile -0,2123	Evet	**	0,0057
3.Grup vs. 5.Grup	-0,4167	-1,204 ile 0,3710	Hayır	Anlamlı değil	0,6498
3.Grup vs. 6.Grup	-1,167	-1,954 ile -0,3790	Evet	***	0,0009
3.Grup vs. 7.Grup	-0,6667	-1,454 ile 0,1210	Hayır	Anlamlı değil	0,1433
4.Grup vs. 5.Grup	0,5833	-0,2043 ile 1,371	Hayır	Anlamlı değil	0,2656
4.Grup vs. 6.Grup	-0,1667	-0,9543 ile 0,6210	Hayır	Anlamlı değil	0,9939
4.Grup vs. 7.Grup	0,3333	-0,4543 ile 1,121	Hayır	Anlamlı değil	0,8366
5.Grup vs. 6.Grup	-0,7500	-1,538 ile 0,03766	Hayır	Anlamlı değil	0,0706
5.Grup vs. 7.Grup	-0,2500	-1,038 ile 0,5377	Hayır	Anlamlı değil	0,9524
6.Grup vs. 7.Grup	0,5000	-0,2877 ile 1,288	Hayır	Anlamlı değil	0,4420

Masson Trikróm (MT) boyama ile yapılan histopatolojik değerlendirmede, çeşitli tedavi gruplarının kollajen yapısı ve doku morfolojisi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Grafikte görüldüğü üzere, farklı gruplar arasında belirgin varyasyonlar mevcuttur.

Kontrol grubu (1.Grup), en yüksek hasar skoruna sahiptir ($2,833 \pm 0,516$), bu durum bu grupta kollajen yapısında bozulma ve morfolojik değişiklikler olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, Lokal D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon grubu (3.Grup) en düşük skoru ($1,250 \pm 0,418$) sergileyerek, kollajen yapısının korunmasında en etkili tedavi yaklaşımı olduğunu ortaya koymaktadır.

Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, kontrol grubu ile tedavi grupları arasında önemli farklılıklar saptanmıştır:

1. 1.Grup ile 2.Grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (ortalama fark: 1,167, $p=0,0009$).
2. 1.Grup ile 3.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark mevcuttur (ortalama fark: 1,583, $p<0,0001$).
3. 1.Grup ile 5.Grup arasında anlamlı fark bulunmuştur (ortalama fark: 1,167, $p=0,0009$).

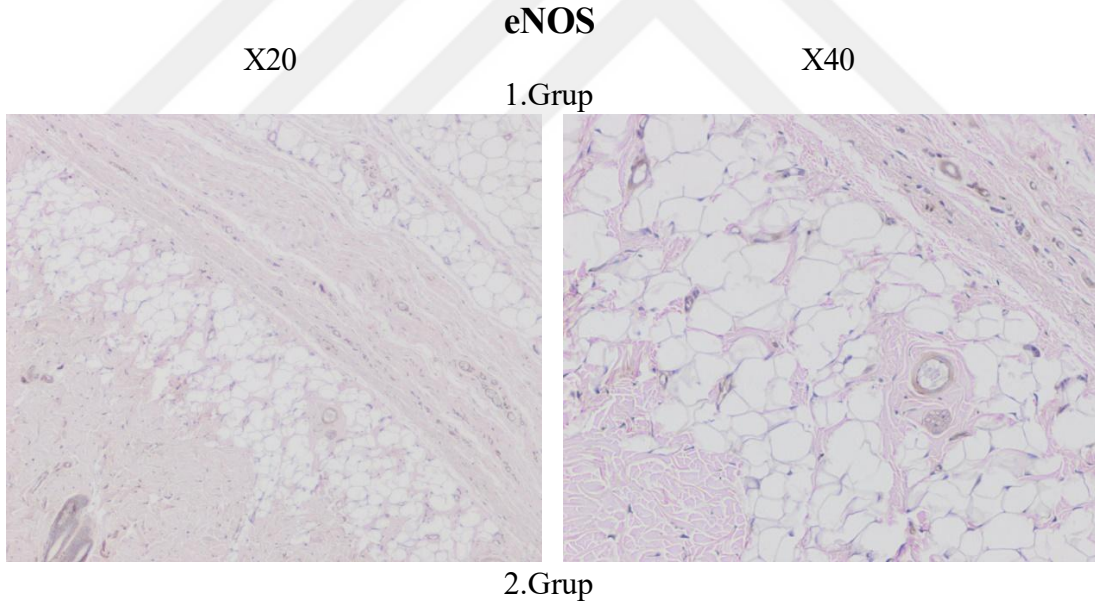
4. 1.Grup ile 7.Grup arasında da anlamlı fark saptanmıştır (ortalama fark: 0,9167, $p=0,0139$).

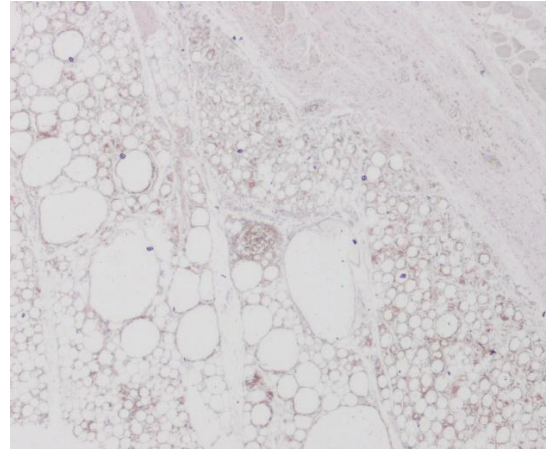
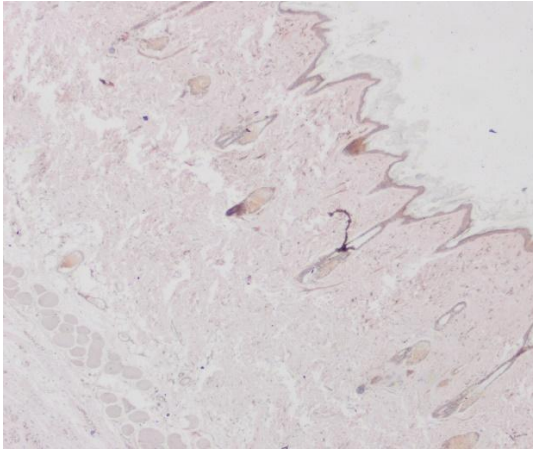
Ayrıca, tedavi grupları arasında da anlamlı farklılıklar gözlenmiştir:

1. 3.Grup ile 4.Grup arasında anlamlı fark bulunmuştur (ortalama fark: -1,000, $p=0,0057$).
2. 3.Grup ile 7.Grup arasında anlamlı fark mevcuttur (ortalama fark: -1,167, $p=0,0009$).

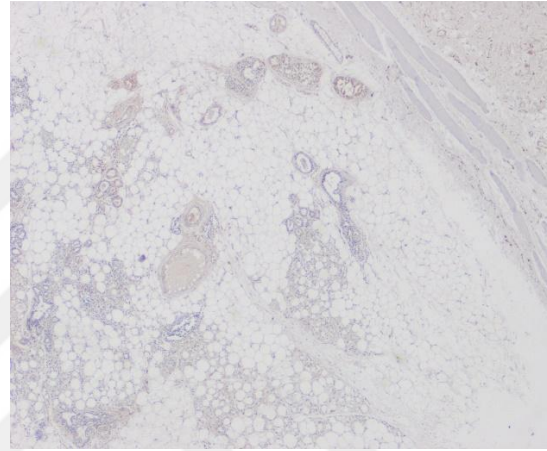
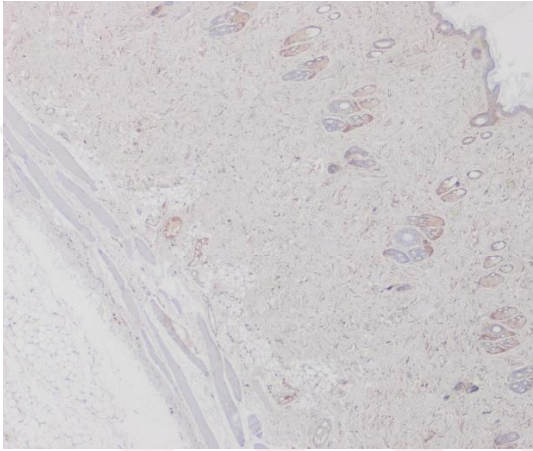
Bu sonuçlar, D₃ vitamini ve Myrtus Communis uygulamalarının, özellikle lokal uygulama şeklinde kombine edildiğinde, kollajen yapısının korunmasında ve morfolojik bozulmanın önlenmesinde belirgin yarar sağladığını göstermektedir.

Masson Trikrom boyama, özellikle kollajen yapısını değerlendirmede önemli bilgiler sağlamaktadır. Bu bulgular, uygulanan tedavilerin dokunun yapısal bütünlüğünü koruma ve onarma potansiyelini göstermesi açısından değerlidir.

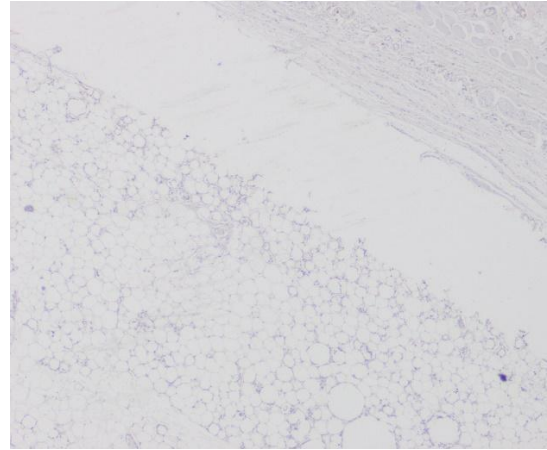
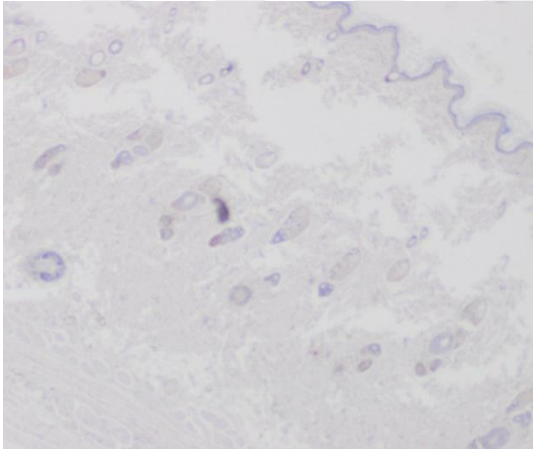




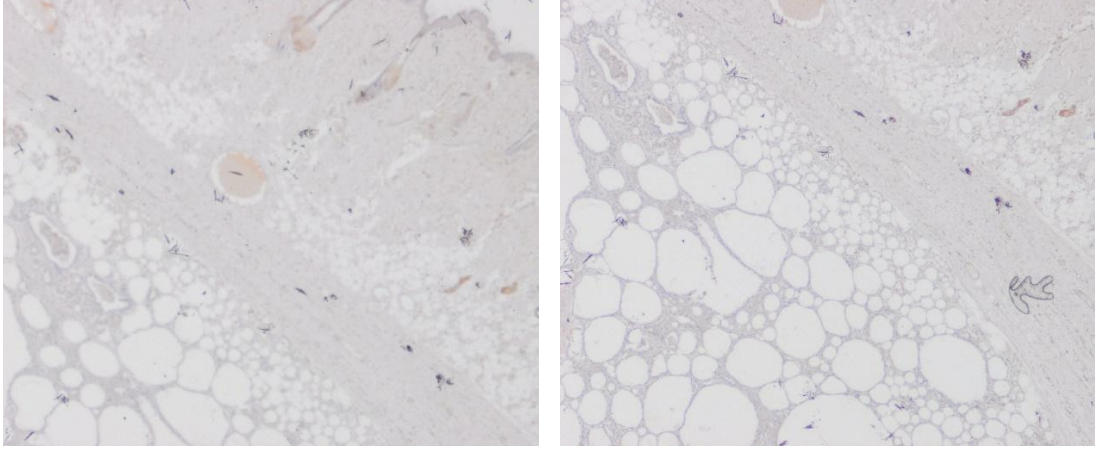
3.Grup



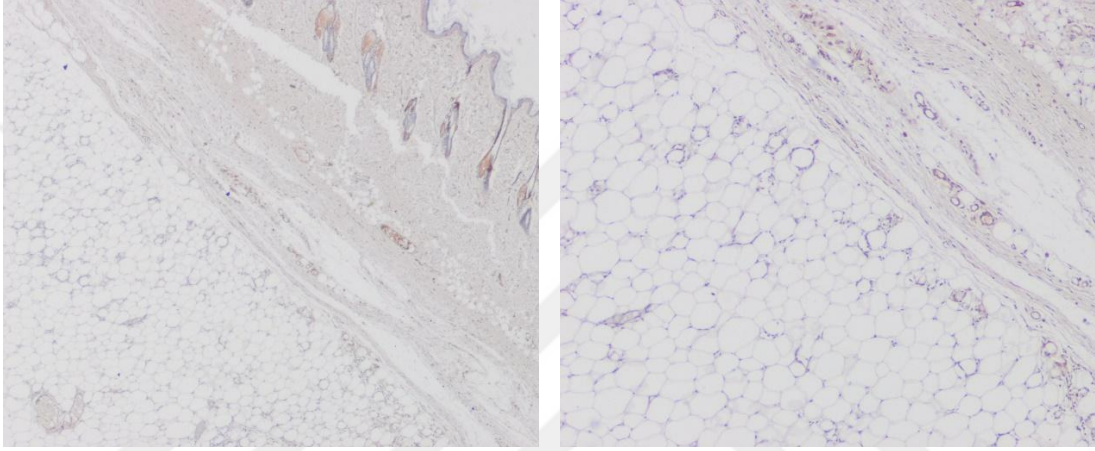
4.Grup



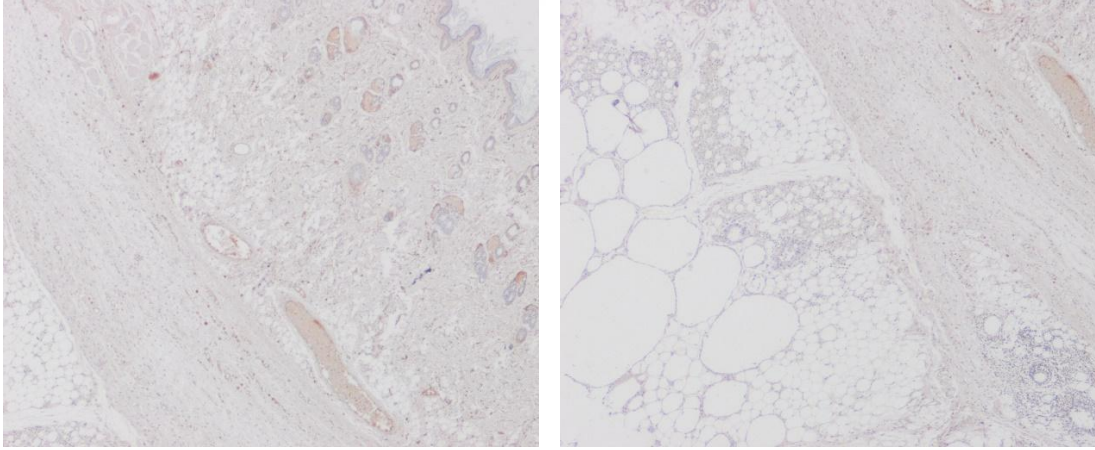
5.Grup



6.Grup



7.Grup



Şekil 31. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin eNOS immünohistokimyasal boyaması

İmmünohistokimyasal (İHK) boyama yöntemiyle endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunun incelendiği kesitlerde, farklı tedavi grupları arasında belirgin ekspresyon farklılıkları görülmektedir. eNOS, oksidatif stres belirteci olarak değerlendirilmiş ve tedavi gruplarındaki değişimler aşağıda detaylandırılmıştır.

Kontrol grubuna ait kesitlerde, eNOS ekspresyonu minimal düzeyde olup, çoğunlukla vasküler yapılar ve deri ekleri çevresinde sınırlı boyanma görülmektedir. X20 büyütmede, deri ve subkutan doku genelinde düşük yoğunlukta işaretlenme mevcuttur. X40 büyütmede incelendiğinde, adipoz doku içerisindeki vasküler yapılarda hafif düzeyde eNOS ekspresyonu izlenmektedir.

2.Grupta, eNOS ekspresyonu kontrol grubuna göre artış göstermektedir. Özellikle epidermis tabakasında ve deri eklerinde daha belirgin immünreaktivite mevcuttur. Adipoz doku içerisindeki vasküler yapılarda orta düzeyde eNOS pozitifliği gözlenmektedir.

3.Grupta, eNOS ekspresyonu kıl foliküllerinde ve deri eklerinde lokalize olup, adipoz doku içerisinde minimal düzeydedir. Bu grupta, 6.Gruba kıyasla belirgin azalma görülmektedir, bu durum oksidatif stresin azaldığını düşündürmektedir.

4.Grupta, eNOS ekspresyonu orta düzeyde olup, vasküler yapılarda ve deri eklerinde sınırlı pozitiflik mevcuttur. Ekspresyon paterni 2.Gruba benzer olmakla birlikte, yoğunluğu daha düşüktür.

5.Grupta, eNOS ekspresyonu minimal düzeyde olup, 6.Gruba kıyasla belirgin azalma göstermektedir. Bu bulgu, kombinasyon tedavisinin oksidatif stresi azaltmada etkin olduğunu düşündürmektedir.

6.Grupta, eNOS ekspresyonu orta düzeyde olup, özellikle epidermis ve deri eklerinde lokalizedir. Adipoz dokuda seyrek pozitif hücreler izlenmektedir.

7.Grupta, eNOS ekspresyonu hafif-orta düzeyde olup, kıl folikülleri ve vasküler yapılarda sınırlıdır. 6.Gruba kıyasla ekspresyon azalmış olmakla birlikte, kombinasyon tedavilerine göre daha yüksek düzeydedir.

İmmünohistokimyasal eNOS boyaması, farklı tedavi gruplarının oksidatif stres üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kontrol grubunda (1.Grup) bazal düzeyde olan eNOS ekspresyonunun, 6.Grupta arttığı, bu artışın D₃ vitamini ve Myrtus Communis uygulamaları ile farklı derecelerde azaldığı görülmektedir. Özellikle kombinasyon tedavilerinin (3. ve 5.Grupta) oksidatif stresi azaltmada daha etkin olduğu dikkati

çekmektedir. Bu bulgular, yağ grefti uygulamalarında D₃ vitamini ve Myrtus Communis tedavilerinin oksidatif stres kaynaklı hasarı azaltmada potansiyel terapötik etkisini ortaya koymaktadır.

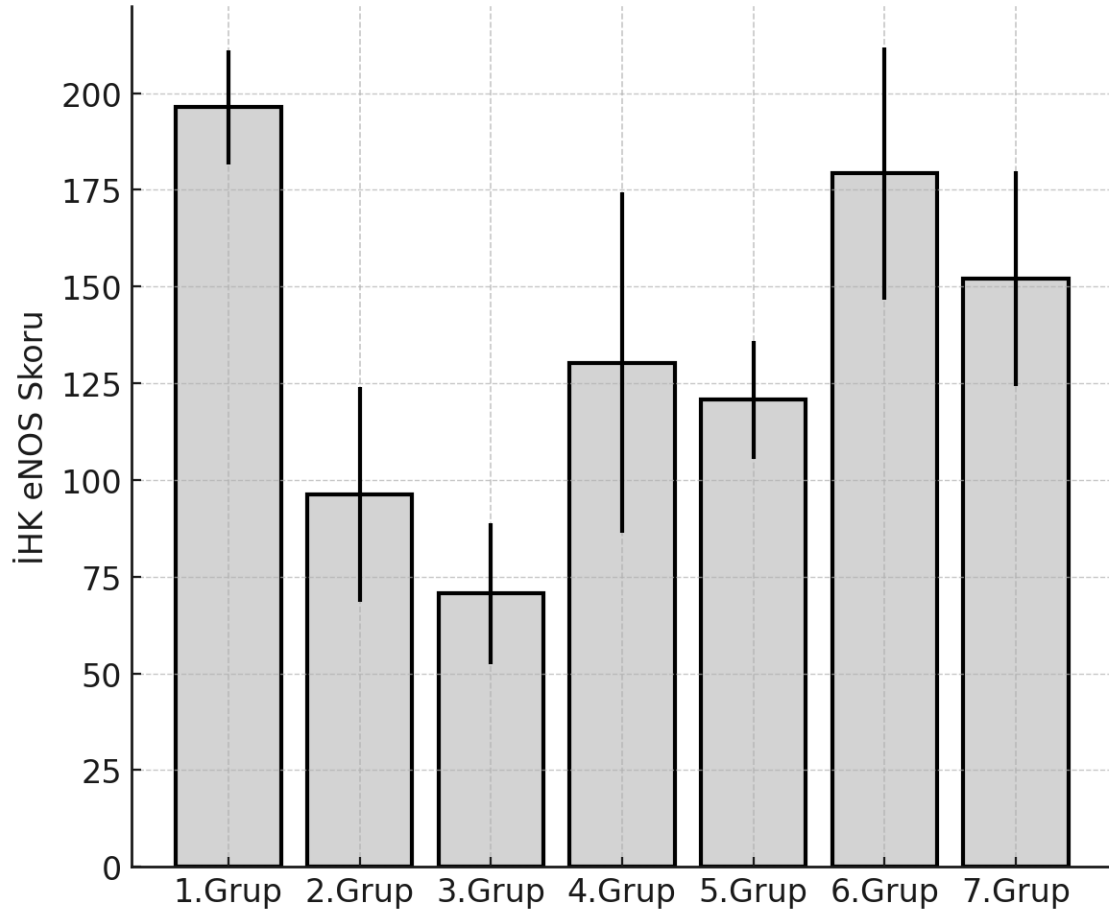
İHK eNOS işaretlemelerinde 1.Grup ile karşılaştırılınca 6.Grup ile artan işaretlemenin yapılan uygulamaların değişik düzeylerde geri dönmesinin anlamlı olduğu h-skor ile saptandı (Tablo 10).

Tablo 10. İHK eNOS İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların H-Skor Değerleri

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
1	221,38	70,47	50,11	84,4	139,68	189,75	189,75
2	181,99	68,24	70,47	152,75	101,88	158,13	176,5
3	187,54	133,11	98,24	148,58	121,33	221,38	158,13
4	194,63	96,64	63,11	73,85	135,61	189,75	126,5
5	205,06	125,61	56,64	132,75	105,5	189,75	119,75
6	187,26	83,25	85,61	189,75	120,06	126,5	141,38

Tablo 11. İHK eNOS İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi

	1.Gru p	2.Gru p	3.Grup	4.Gru p	5.Grup	6.Gru p	7.Grup
Değer Sayısı	6	6	6	6	6	6	6
Minimum	182,0	68,24	50,11	73,85	101,9	126,5	119,8
Maksimum	221,4	133,1	98,24	189,8	139,7	221,4	189,8
Aralık	39,39	64,87	48,13	115,9	37,80	94,88	70,00
Ortalama	196,3	96,22	70,70	130,3	120,7	179,2	152,0
Standart Sapma	14,64	27,71	18,22	43,98	15,29	32,66	27,81
Ortalama Hatası	5,977	11,31	7,439	17,96	6,241	13,33	11,35



Şekil 32. Yağ Grefti Yaşam – eNOS

Tablo 12. İHK eNOS İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Tukey's MCT	Ort. Farkı	95,00% Güven Aralığı	Anlamlı mı?	Özet	Düzeltilmiş P Değeri
1.Grup vs. 2.Grup	100,1	50,33 ile 149,9	Evet	****	<0,0001

1.Grup vs. 3.Grup	125,6	75,85 ile 175,4	Evet	****	<0,0001
1.Grup vs. 4.Grup	65,96	16,20 ile 115,7	Evet	**	0,0035
1.Grup vs. 5.Grup	75,63	25,87 ile 125,4	Evet	***	0,0006
1.Grup vs. 6.Grup	17,10	-32,66 ile 66,86	Hayır	Anlamlı değil	0,9315
1.Grup vs. 7.Grup	44,31	-5,456 ile 94,07	Hayır	Anlamlı değil	0,1078
2.Grup vs. 3.Grup	25,52	-24,24 ile 75,29	Hayır	Anlamlı değil	0,6811
2.Grup vs. 4.Grup	-34,13	-83,89 ile 15,64	Hayır	Anlamlı değil	0,3509
2.Grup vs. 5.Grup	-24,46	-74,22 ile 25,31	Hayır	Anlamlı değil	0,7217
2.Grup vs. 6.Grup	-82,99	-132,8 ile -33,23	Evet	***	0,0002
2.Grup vs. 7.Grup	-55,78	-105,5 ile -6,017	Evet	*	0,0197
3.Grup vs. 4.Grup	-59,65	-109,4 ile -9,885	Evet	*	0,0105
3.Grup vs. 5.Grup	-49,98	-99,74 ile -0,2154	Evet	*	0,0484
3.Grup vs. 6.Grup	-108,5	-158,3 ile -58,75	Evet	****	<0,0001
3.Grup vs. 7.Grup	-81,31	-131,1 ile -31,54	Evet	***	0,0002
4.Grup vs. 5.Grup	9,670	-40,09 ile 59,43	Hayır	Anlamlı değil	0,9962
4.Grup vs. 6.Grup	-48,86	-98,63 ile 0,9012	Hayır	Anlamlı değil	0,0571
4.Grup vs. 7.Grup	-21,66	-71,42 ile 28,11	Hayır	Anlamlı değil	0,8184
5.Grup vs. 6.Grup	-58,53	-108,3 ile -8,769	Evet	*	0,0126
5.Grup vs. 7.Grup	-31,33	-81,09 ile 18,44	Hayır	Anlamlı değil	0,4521
6.Grup vs. 7.Grup	27,21	-22,56 ile 76,97	Hayır	Anlamlı değil	0,6148

İmmünohistokimyasal eNOS işaretlemeleri sonucunda h-skor yöntemiyle yapılan kantitatif değerlendirmede, gruplar arasında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir.

Kontrol grubu (1.Grup) en yüksek eNOS ekspresyonunu göstermiş olup ortalama h- skor değeri $196,3 \pm 14,64$ olarak ölçülmüştür. 6.Grupta benzer şekilde yüksek değerler ($179,2 \pm 32,66$) gözlenmiştir. Buna karşılık, tedavi grupları arasında en düşük eNOS ekspresyonu 3.Grupta saptanmış olup ortalama değer $70,70 \pm 18,22$ olarak bulunmuştur. Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, aşağıdaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir:

1. Kontrol grubu (1.Grup) ile tedavi grupları arasında:
 - 1.Grup ile 2.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: 100,1, $p<0,0001$)
 - 1.Grup ile 3.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: 125,6, $p<0,0001$)
 - 1.Grup ile 4.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: 65,96, $p=0,0035$)
 - 1.Grup ile 5.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: 75,63, $p=0,0006$)
2. 2.Grup ile diğer gruplar arasında:
 - 2.Grup ile 6.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: -82,99, $p=0,0002$)
 - 2.Grup ile 7.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -55,78, $p=0,0197$)
3. Lokal D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon grubu (3.Grup) ile diğer gruplar arasında:
 - 3.Grup ile 4.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -59,65, $p=0,0105$)
 - 3.Grup ile 5.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -49,98, $p=0,0484$)
 - 3.Grup ile 6.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: -108,5, $p<0,0001$)
 - 3.Grup ile 7.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: -81,31, $p=0,0002$)
4. Sistemik D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon grubu (4.Grup) ile 7.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -58,53, $p=0,0126$)

Bu sonuçlar, 6.Grupta artan eNOS ekspresyonunun, çeşitli tedavi protokolleriyle farklı derecelerde azaldığını göstermektedir. Özellikle 3.Grupta, eNOS ekspresyonunu en etkili şekilde düşürmüştür. Diğer tedavi grupları da kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma göstermekle birlikte, etkinlik sıralaması 3.Grup > 2.Grup > 5.Grup > 4.Grup > 7.Grup şeklindedir.

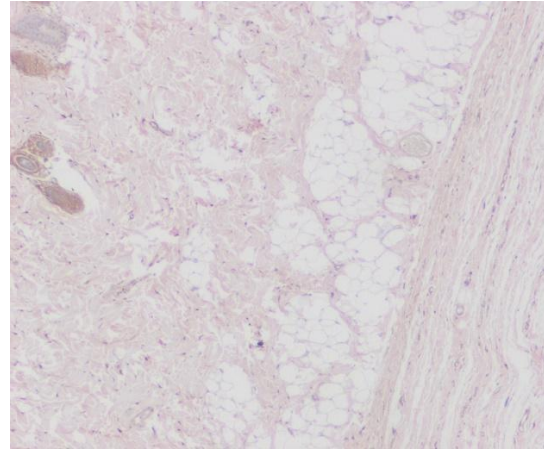
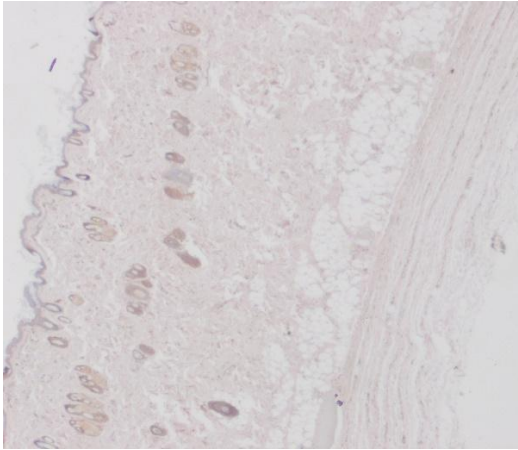
Bulgular, D₃ vitamini ve Myrtus Communis uygulamalarının, özellikle lokal kombinasyon şeklinde verildiğinde, oksidatif stresi azaltmada oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Bu etki, yağ grefti sağkalımını iyileştirmede önemli bir mekanizma olarak değerlendirilebilir.

CASPASE-3

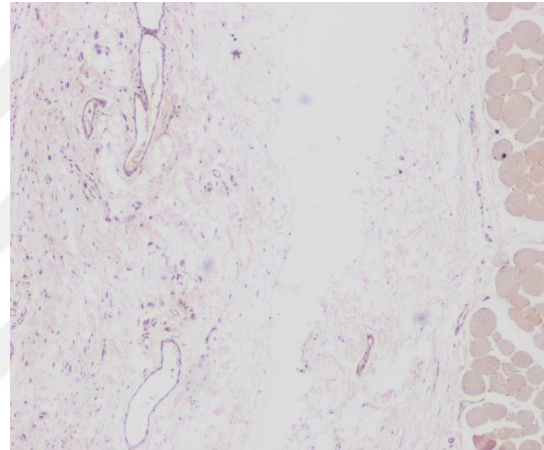
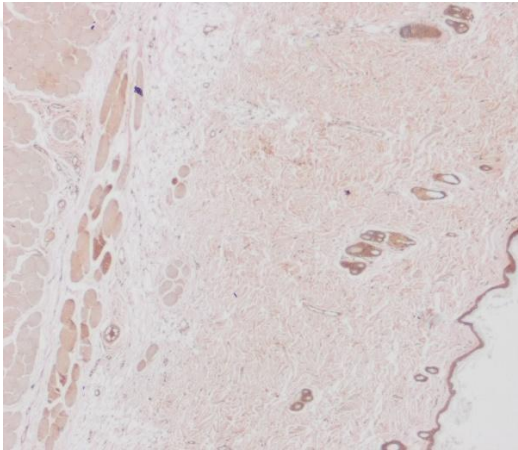
X20

X40

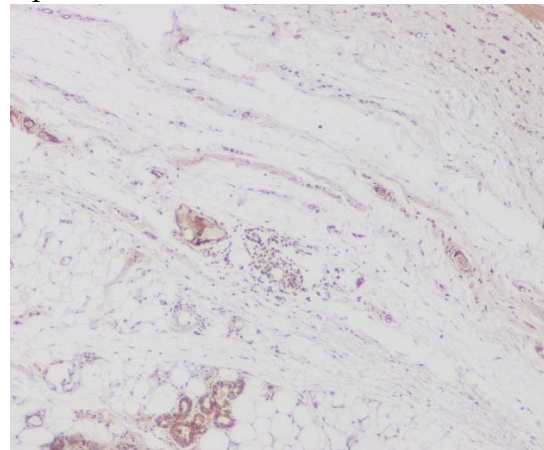
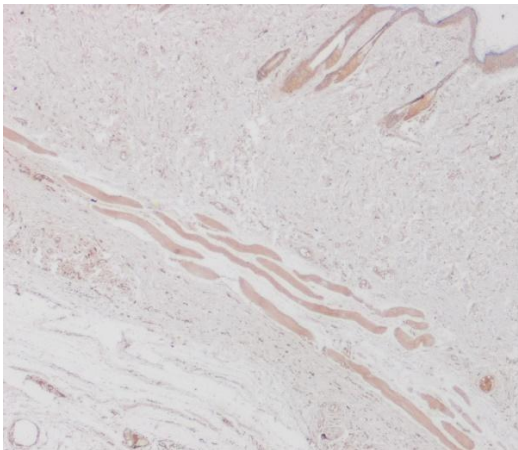
1.Grup



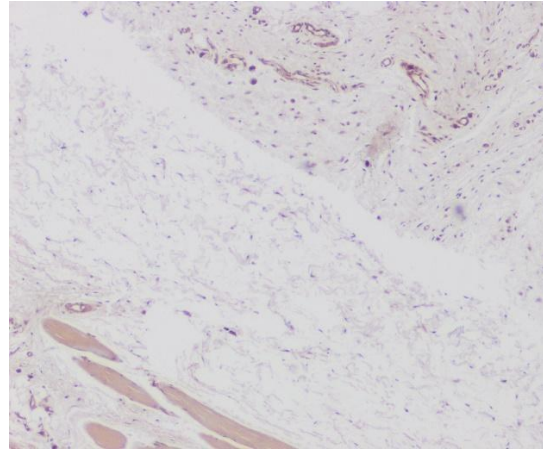
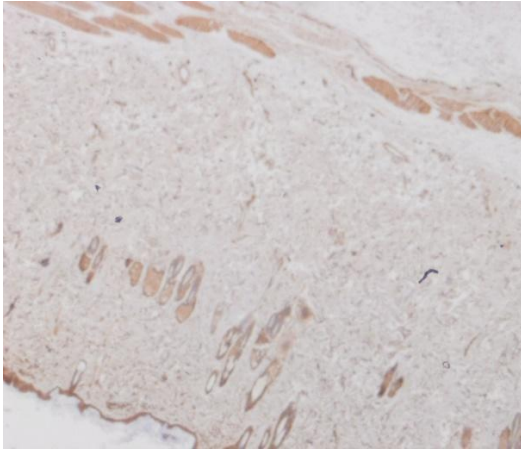
2.Grup



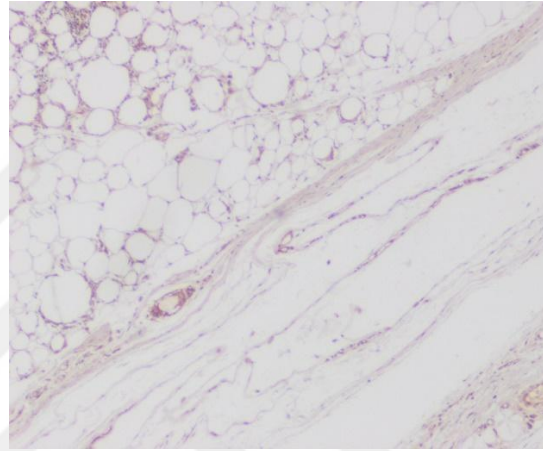
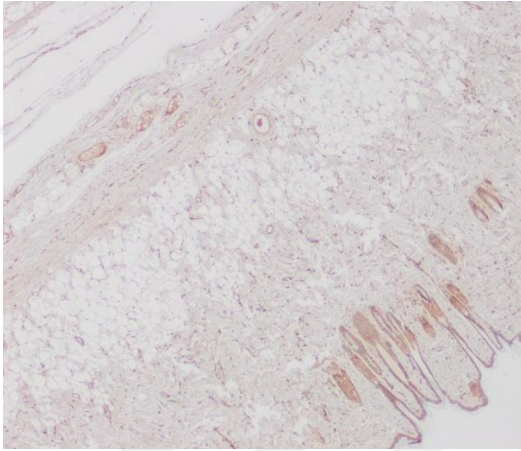
3.Grup



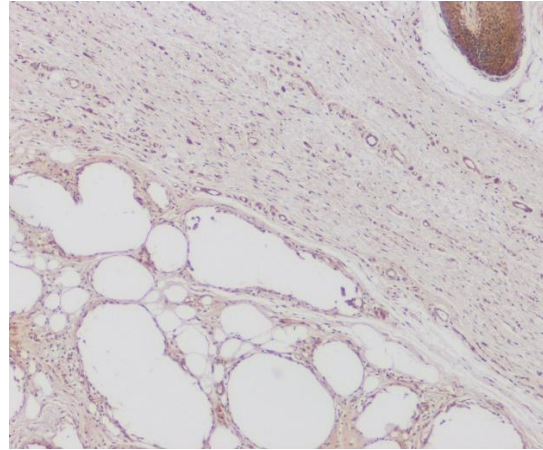
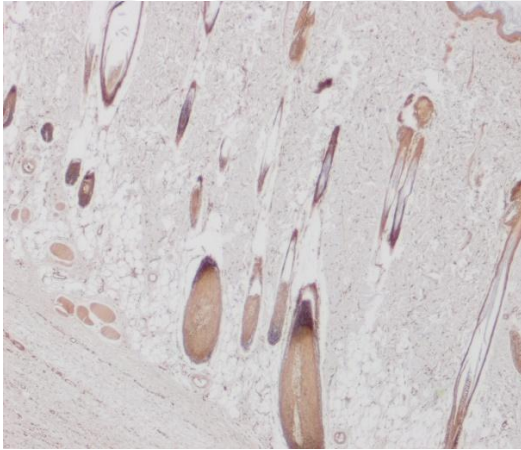
4.Grup



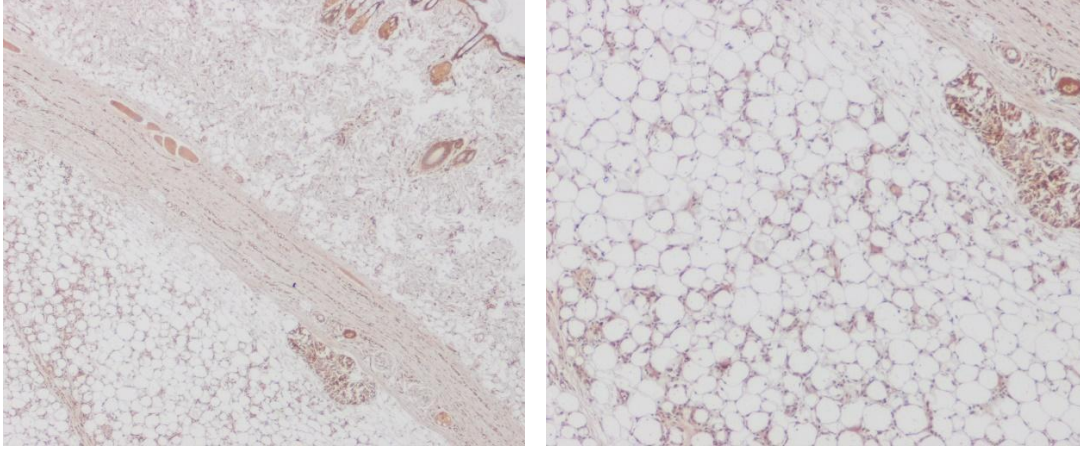
5.Grup



6.Grup



7.Grup



Şekil 33. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin Caspase-3 immünohistokimyasal boyaması

İmmünohistokimyasal (İHK) yöntemle Caspase-3 ekspresyonu incelenerek gerçekleştirilen apoptoz değerlendirmesinde, tedavi grupları arasında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir.

Kontrol grubuna ait kesitlerde, Caspase-3 ekspresyonu düşük düzeyde ve lokalize olarak görülmektedir. X20 büyütmede, primer olarak epidermis bazal tabakasında ve kıl foliküllerinde hafif-orta düzeyde immünreaktivite izlenmektedir. X40 büyütmede incelendiğinde, adipoz doku içerisinde minimal düzeyde Caspase-3 pozitif hücre varlığı dikkat çekmektedir. Bu bulgular, kontrol dokusunda apoptotik aktivitenin fizyolojik sınırlarda olduğunu göstermektedir.

2.Grupta, Caspase-3 ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla hafif artış göstermekle birlikte, 6.Gruba göre belirgin şekilde düşüktür. X20 büyütmede, özellikle epidermal yapılarda ve deri eklerinde orta düzeyde immünpozitif hücreler görülmektedir. X40 büyütmede, adipoz dokuda minimal ekspresyon mevcuttur.

3.Grupta, Caspase-3 ekspresyonu en düşük düzeydedir. Deri eklerinde hafif düzeyde immünreaktivite görülmekle birlikte, adipoz dokuda neredeyse hiç pozitif hücre izlenmemektedir. Bu bulgu, kombinasyon tedavisinin apoptozu belirgin şekilde azalttığını göstermektedir.

4.Grupta, Caspase-3 ekspresyonu orta düzeyde olup, epidermis ve deri eklerinde sınırlıdır. X40 büyütmede, dermis ve adipoz doku geçiş bölgesinde dağınık pozitif hücreler görülmektedir.

5.Grupta, Caspase- 3 immünreaktivitesi 3.Gruba benzer şekilde düşük düzeydedir. Epidermiste lokalize pozitiflik dışında, dermis ve adipoz dokuda minimal ekspresyon mevcuttur.

6.Grupta, Caspase-3 pozitif hücrelerin sayısı belirgin artış göstermektedir. Özellikle kıl folikülleri ve sebaceous bezlerde güçlü immünreaktivite mevcuttur. X40 büyütmede, adipoz doku çevresindeki bağ dokusunda da pozitif hücreler izlenmektedir.

7.Grupta, Caspase-3 ekspresyonu orta düzeyde azalmıştır. Epidermis ve deri eklerinde pozitiflik görülmekle birlikte, adipoz dokuda minimal ekspresyon mevcuttur.

İmmünohistokimyasal Caspase-3 boyaması, farklı tedavi protokollerinin apoptotik süreçler üzerindeki etkilerini göstermektedir.1.Grupta bazal düzeyde olan Caspase-3 ekspresyonu, 6.Grupta belirgin artış göstermiş olup, bu artış çeşitli tedavi protokolleriyle farklı derecelerde azalmıştır. Özellikle D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon tedavilerinin (3. ve 5.Grupta) apoptozu baskılamada en etkili yaklaşımlar olduğu görülmektedir. Bu bulgular, yağ greftlerinin sağkalımında apoptotik süreçlerin önemli rol oynadığını ve uygun tedavi yaklaşımlarıyla bu süreçlerin modüle edilebildiğini düşündürmektedir.

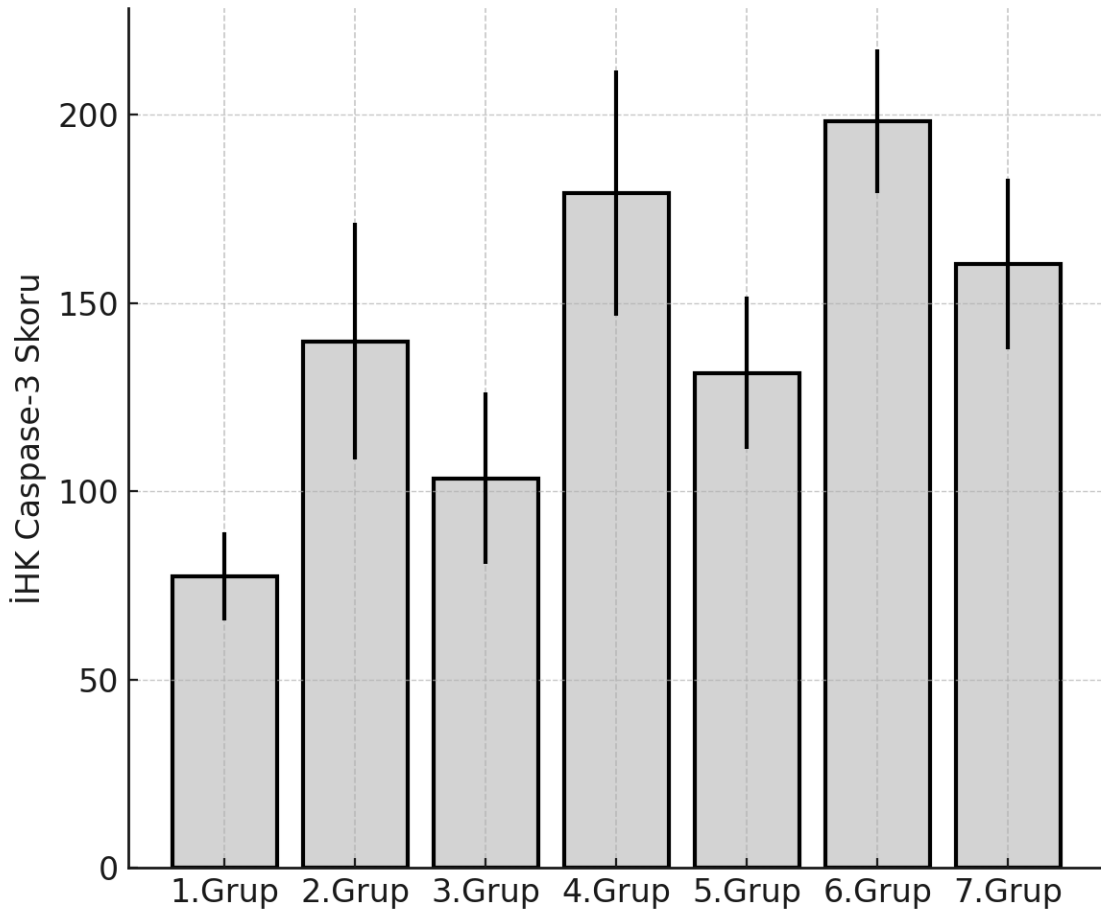
İHK Caspase-3 işaretlemelerinde 1.Grup ile karşılaştırılınca 6.Grup ile artan işaretlemenin yapılan uygulamaların değişik düzeylerde geri dönmesinin anlamlı olduğu saptandı (Tablo 13-14).

Tablo 13. İHK Caspase-3 İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların H-Skor Değerleri

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
1	221,38	82,67	56,68	89,64	117,28	151,38	189,75
2	213,22	126,05	91,57	177,06	147,63	213,22	169,75
3	188,51	73,25	74,43	119,75	123,28	188,51	126,5
4	208,01	127,38	78,99	160,18	162,68	208	149,75
5	170,06	97,37	82,67	155,44	130	170,06	158,13
6	188,64	113,99	80,75	137,54	108,1	158,64	151,38

Tablo 14. İHK Caspase-3 İşaretlemlerinde Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
Değer Sayısı	6	6	6	6	6	6	6
Minimum	56,68	89,64	73,25	126,5	108,1	170,1	126,5
Maksimum	91,57	177,1	127,4	221,4	162,7	221,4	189,8
Aralık	34,89	87,42	54,13	94,88	54,58	51,32	63,25
Ortalama	77,52	139,9	103,5	179,2	131,5	198,3	160,3
Standart Sapma	11,67	31,53	22,69	32,66	20,26	19,16	22,66
Ortalama Hatası	4,762	12,87	9,265	13,33	8,270	7,823	9,250



Şekil 34.Yağ Grefti Yaşam – Caspase-3

Tablo 15. İHK Caspase-3 İşaretlemelelerinde Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Tukey's MCT	Ort. Farkı	95,00% Güven Aralığı	Anlamlı mı?	Özet	Düzeltilmiş P Değeri
1.Grup vs. 2.Grup	94,85	54,29 ile 135,4	Evet	****	<0,0001
1.Grup vs. 3.Grup	120,8	80,22 ile 161,4	Evet	****	<0,0001
1.Grup vs. 4.Grup	58,37	17,80 ile 98,93	Evet	**	0,0013
1.Grup vs. 5.Grup	66,81	26,24 ile 107,4	Evet	***	0,0002
1.Grup vs. 6.Grup	16,67	-23,90 ile 57,23	No	ns	0,8543
1.Grup vs. 7.Grup	40,76	0,1947 ile 81,33	Evet	*	0,0483
2.Grup vs. 3.Grup	25,94	-14,63 ile 66,50	No	ns	0,4335
2.Grup vs. 4.Grup	-36,48	-77,05 ile 4,082	No	ns	0,1015
2.Grup vs. 5.Grup	-28,04	-68,61 ile 12,52	No	ns	0,3416
2.Grup vs. 6.Grup	-78,18	-118,7 ile -37,62	Evet	****	<0,0001
2.Grup vs. 7.Grup	-54,09	-94,66 ile -13,53	Evet	**	0,0033
3.Grup vs. 4.Grup	-62,42	-103,0 ile -21,85	Evet	***	0,0005
3.Grup vs. 5.Grup	-53,98	-94,55 ile -13,41	Evet	**	0,0034
3.Grup vs. 6.Grup	-104,1	-144,7 ile -63,55	Evet	****	<0,0001
3.Grup vs. 7.Grup	-80,03	-120,6 ile -39,46	Evet	****	<0,0001
4.Grup vs. 5.Grup	8,440	-32,13 ile 49,01	No	ns	0,9944
4.Grup vs. 6.Grup	-41,70	-82,27 ile -1,135	Evet	*	0,0406
4.Grup vs. 7.Grup	-17,61	-58,17 ile 22,96	No	ns	0,8201
5.Grup vs. 6.Grup	-50,14	-90,71 ile -9,575	Evet	**	0,0076
5.Grup vs. 7.Grup	-26,05	-66,61 ile 14,52	No	ns	0,4283
6.Grup vs. 7.Grup	24,09	-16,47 ile 64,66	No	ns	0,5210

İmmünohistokimyasal Caspase-3 işaretlemeleleri sonucunda yapılan kantitatif analiz, çeşitli tedavi grupları arasında belirgin farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır. Grafik incelendiğinde, Caspase-3 ekspresyonunun kontrol grubu (1.Grup) ve 6.Grupta en yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir.

Kontrol grubunda (1.Grup) Caspase-3 ekspresyon düzeyi $198,3 \pm 19,16$ olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde 6.Grupta da yüksek değer ($179,2 \pm 32,66$) tespit edilmiştir.

Tedavi grupları arasında ise en düşük Caspase-3 ekspresyonu Lokal D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon grubunda (3.Grup) saptanmış olup, ortalama değer 77,52±11,67'dir.

Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, aşağıdaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir:

1. Kontrol grubu (1.Grup) ile tedavi grupları arasında:

- 1.Grup ile 2.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: 94,85, $p<0,0001$)
- 1.Grup ile 3.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: 120,8, $p<0,0001$)
- 1.Grup ile 4.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: 58,37, $p=0,0013$)
- 1.Grup ile 5.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: 66,81, $p=0,0002$)
- 1.Grup ile 7.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: 40,76, $p=0,0483$)

2. 2.Grup ile diğer gruplar arasında:

- 2.Grup ile 6.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: -78,18, $p<0,0001$)
- 2.Grup ile 7.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -54,09, $p=0,0033$)

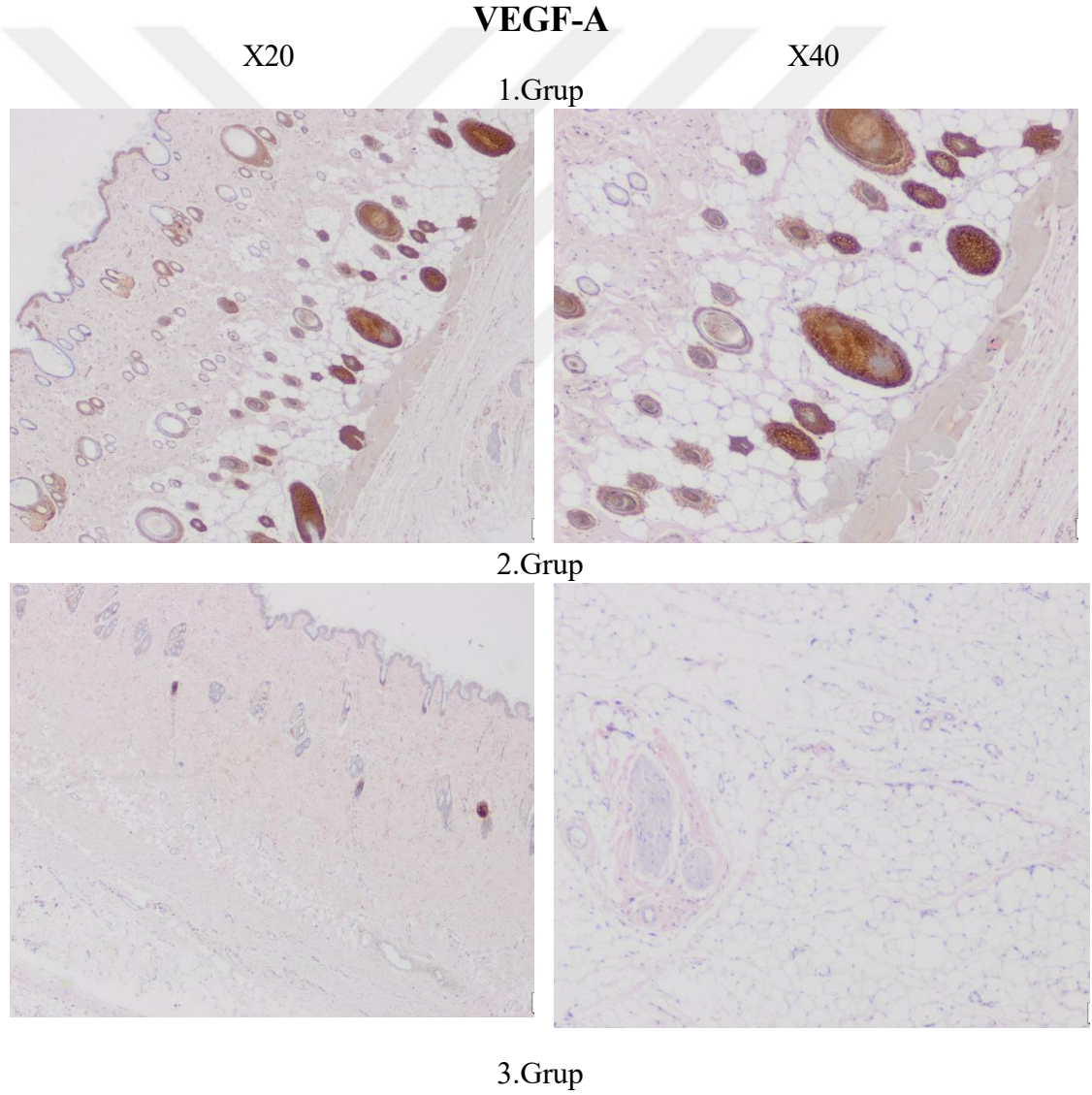
3. 3.Grup ile diğer gruplar arasında:

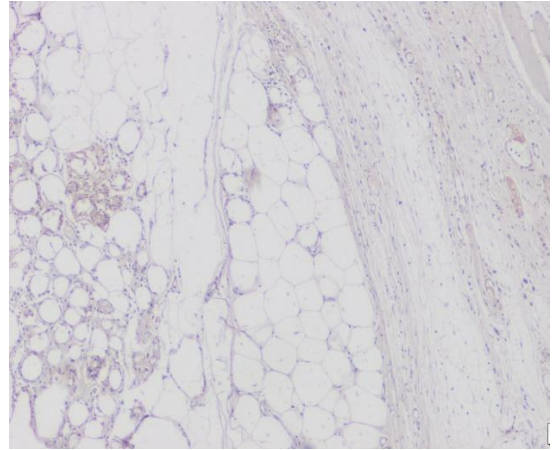
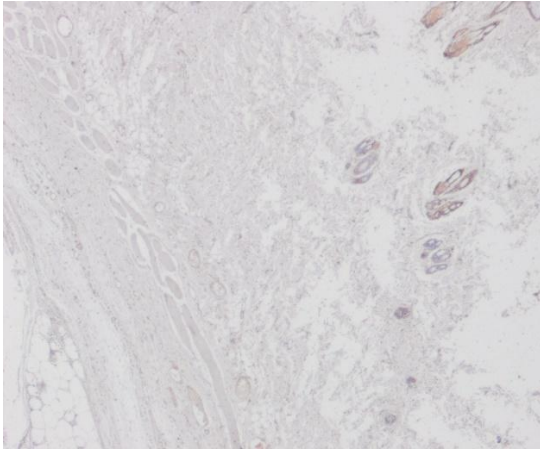
- 3.Grup ile 4.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: -62,42, $p=0,0005$)
- 3.Grup ile 5.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -53,98, $p=0,0034$)
- 3.Grup ile 6.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: -104,1, $p<0,0001$)
- 3.Grup ile 7.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: -80,03, $p<0,0001$)

4. 4.Grup ile 6.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: - 41,70, p=0,0406)
5. 5.Grup ile 6.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -50,14, p=0,0076)

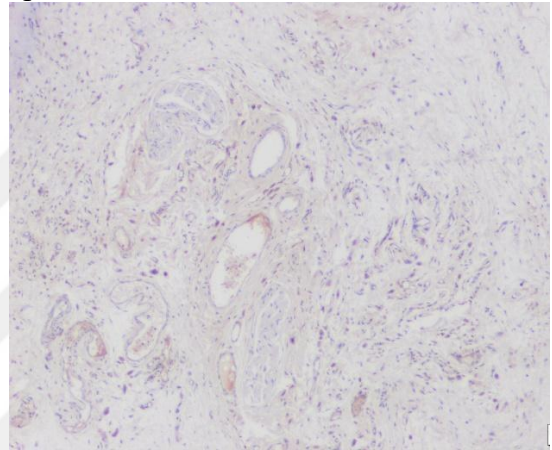
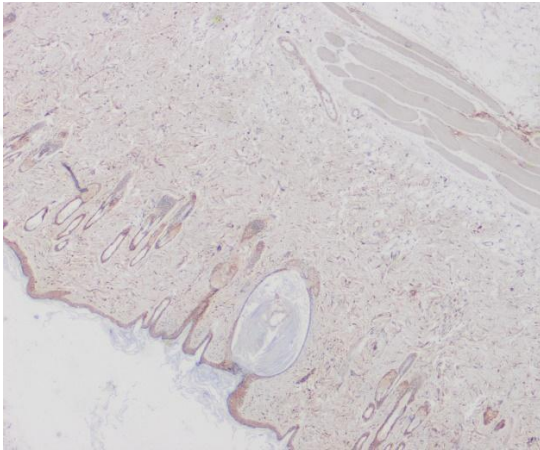
Bu sonuçlar, 6.Grupta artan apoptotik aktivitenin, çeşitli tedavi protokolleriyle önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Özellikle 3.Grup, apoptotik süreçleri en etkili şekilde baskılamıştır. Tedavi etkinliği açısından gruplar arasında 3.Grup > 2.Grup > 5.Grup > 4.Grup > 7.Grup şeklinde bir sıralama olduğu görülmektedir.

Bu bulgular, D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon tedavilerinin, özellikle lokal uygulama yapıldığında, apoptotik hücre ölümünü belirgin şekilde azalttığını ve bu sayede yağ grefti sağkalımını iyileştirme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

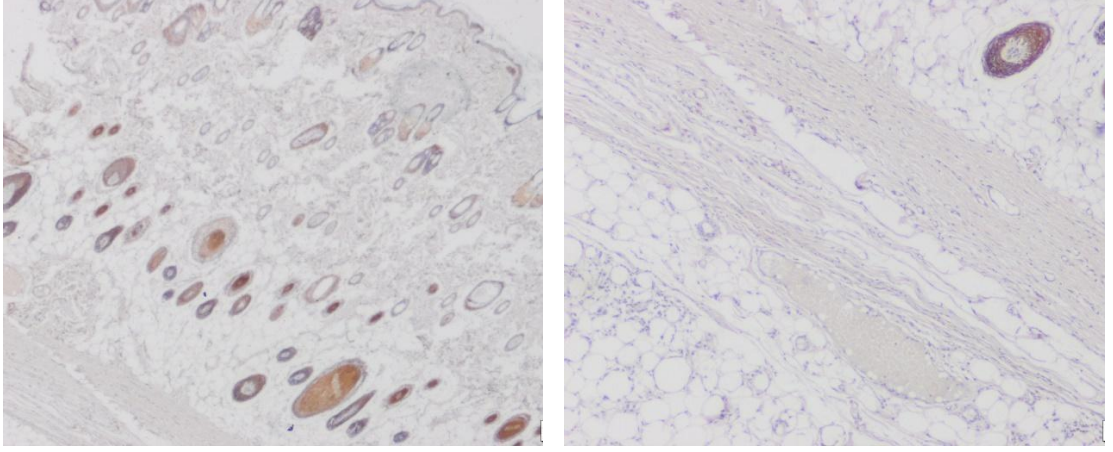




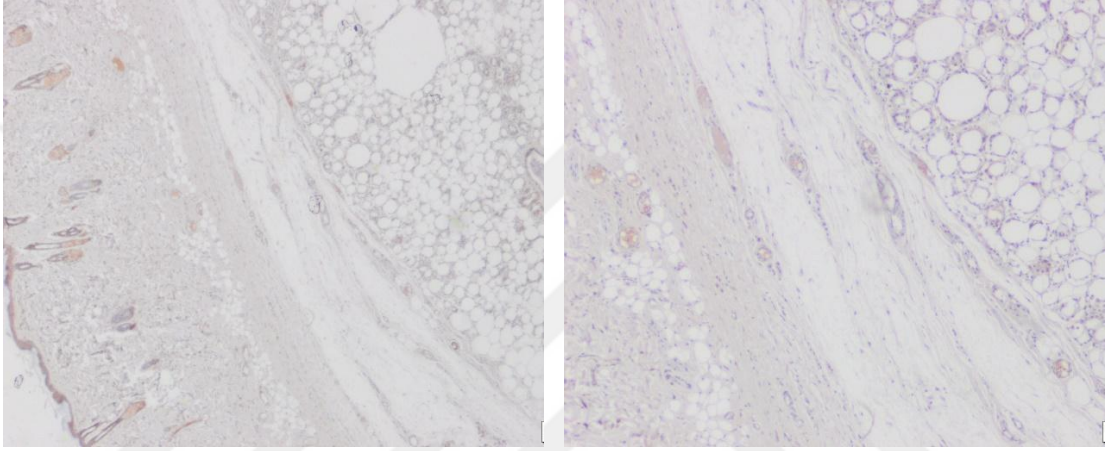
4.Grup



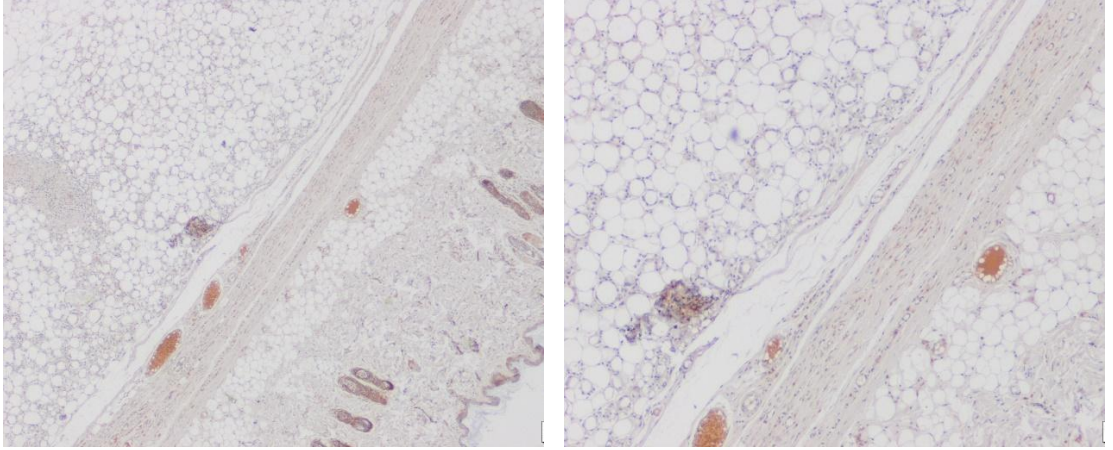
5.Grup



6.Grup



7.Grup



Şekil 35. Farklı tedavi gruplarına ait doku örneklerinin VEGF-A immünohistokimyasal boyaması

İmmünohistokimyasal yöntemle Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF-A) ekspresyonunun incelendiği kesitlerde, anjiyogenez ve vasküler fonksiyon açısından tedavi grupları arasında belirgin farklılıklar gözlenmektedir.

Kontrol grubuna ait kesitlerde, VEGF-A ekspresyonu belirgin düzeyde olup, özellikle kıl folikülleri ve deri eklerinde yoğun immünreaktivite görülmektedir. X20 büyütmede, dermiste düzenli dağılım gösteren kıl foliküllerinde güçlü kahverengi boyanma mevcuttur. X40 büyütmede incelendiğinde, foliküler yapılarda ve dış kök kılıfında yoğun VEGF-A pozitifliği izlenmektedir. Bu bulgu, normal dokuda anjiogenezin aktif olduğunu ve vasküler homeostazın sürdürüldüğünü göstermektedir.

2.Grupta, VEGF-A ekspresyonu 1.Gruba kıyasla belirgin azalma göstermektedir. X20 büyütmede, kıl foliküllerinde seçici ve daha az yoğun boyanma mevcuttur. X40 büyütmede, dermal yapılarda ve foliküler epitelde minimal düzeyde VEGF-A pozitifliği görülmektedir. Bu durum, greft uygulaması sonrası anjiyogenik aktivitenin azaldığını düşündürmektedir.

3.Grupta, VEGF-A ekspresyonu 2.Gruba kıyasla artış göstermektedir. Kıl foliküllerinde ve vasküler yapılarda orta düzeyde immünreaktivite mevcuttur. X40 büyütmede, adipoz doku çevresindeki vasküler yapılarda da VEGF-A pozitifliği izlenmektedir. Bu bulgu, kombinasyon tedavisinin anjiyogenezi desteklediğini göstermektedir.

4.Grupta, VEGF-A ekspresyonu düşük-orta düzeyde olup, deri eklerinde ve vasküler yapılarda sınırlı pozitiflik mevcuttur. X40 büyütmede, dermis ve subkutan doku geçiş bölgesindeki vasküler yapılarda hafif immünreaktivite görülmektedir.

5.Grupta, VEGF-A ekspresyonu 3.Gruba benzer şekilde orta düzeydedir. Kıl foliküllerinde belirgin immünreaktivite görülmekle birlikte, kontrol grubundaki yoğunluğa ulaşmamıştır. Epidermiste ve perifoliküler alanlarda pozitif hücreler mevcuttur.

6.Grupta, VEGF-A pozitif yapıların sayısı ve yoğunluğu 1.Gruba göre azalmıştır. Özellikle kıl folikülleri ve epidermiste orta düzeyde immünreaktivite mevcuttur. X40 büyütmede, adipoz doku çevresindeki vasküler yapılarda da pozitiflik görülmektedir.

7.Grupta, VEGF-A ekspresyonu 6.Gruba kıyasla artmış, epidermis ve kıl foliküllerinde orta düzeyde immünreaktivite görülmektedir. Vasküler yapılarda ve foliküler epitelde pozitif hücrelerin varlığı, Myrtus Communis uygulamasının anjiyogenezi desteklediğini düşündürmektedir.

İmmünohistokimyasal VEGF-A boyaması, farklı tedavi protokollerinin anjiyogenez üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kontrol grubunda (1.Grup) yüksek düzeyde olan VEGF-A ekspresyonu, 6.Grupta belirgin azalma göstermiş olup, bu azalma çeşitli tedavi protokolleriyle farklı derecelerde geri döndürülmüştür. Özellikle D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon tedavilerinin (3.Grup ve 5.Grup) anjiyogenezi desteklemede ve vasküler yapıların korunmasında etkili oldukları görülmektedir. Bu bulgu, yağ greftlerinin sağkalımında vaskülarizasyonun kritik önemini vurgulamakta ve uygun tedavi yaklaşımlarıyla anjiyogenik süreçlerin desteklenebileceğini düşündürmektedir.

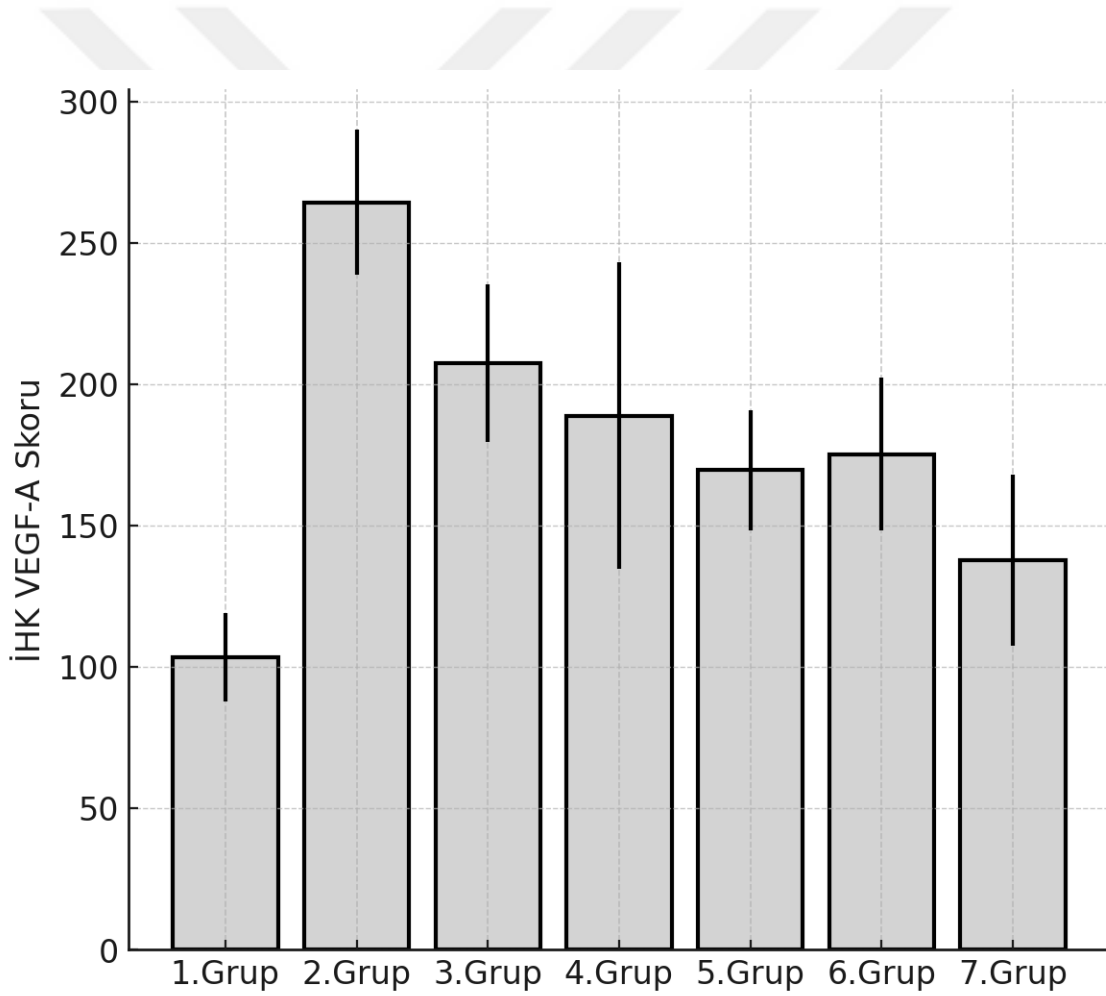
İHK VEGF-A işaretlemelerinde 1.Grup ile karşılaştırılınca 6.Grup ile azalan işaretlemenin yapılan uygulamaların değişik düzeylerde geri dönmesinin anlamlı olduğu saptandı (Tablo 16-17).

Tablo 16. İHK VEGF-A İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların H-Skor Değerleri

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
p							
1	107,66	277,33	193,88	183,38	168,67	156,37	151,99
2	105,32	284,29	210,83	133,57	206,33	173,33	169,84
3	122,09	251,34	215,17	236,08	161,83	144,13	168,07
4	99,24	295,17	253,44	253,75	167,45	216,91	97,67
5	75,58	226,74	203,24	119,52	172,99	196,83	110,23
6	110,23	251,53	168,67	207,25	140,83	164,38	129,83

Tablo 17. İHK VEGF-A İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların İstatistiksel Analizi

	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup
Değer Sayısı	6	6	6	6	6	6	6
Minimum	75,58	226,7	168,7	119,5	140,8	144,1	97,67
Maksimum	122,1	295,2	253,4	253,8	206,3	216,9	169,8
Aralık	46,51	68,43	84,77	134,2	65,50	72,78	72,17
Ortalama	103,4	264,4	207,5	188,9	169,7	175,3	137,9
Standart Sapma	15,55	25,55	27,90	54,17	21,23	27,01	30,26
Ortalama Hatası	6,348	10,43	11,39	22,12	8,668	11,03	12,35



Şekil 36. Yağ Grefti Yaşam – VEGF-A

Tablo 18. İHK VEGF-A İşaretlemelerinde Yapılan Uygulamaların Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Tukey's MCT	Ort. Farkı	95,00% Güven Aralığı	Anlamlı mı?	Özet	Düzeltilmiş P Değeri
1.Grup vs. 2.Grup	-161,0	-216,9 to -105,2	Evet	****	<0,0001
1.Grup vs. 3.Grup	-104,2	-160,0 to -48,33	Evet	****	<0,0001
1.Grup vs. 4.Grup	-85,57	-141,4 to -29,72	Evet	***	0,0006
1.Grup vs. 5.Grup	-66,33	-122,2 to -10,48	Evet	*	0,0115
1.Grup vs. 6.Grup	-71,97	-127,8 to -16,12	Evet	**	0,0049
1.Grup vs. 7.Grup	-34,59	-90,44 to 21,27	Hayır	Anlamlı değil	0,4716
2.Grup vs. 3.Grup	56,86	1,011 to 112,7	Evet	*	0,0437
2.Grup vs. 4.Grup	75,48	19,62 to 131,3	Evet	**	0,0028
2.Grup vs. 5.Grup	94,72	38,87 to 150,6	Evet	***	0,0001
2.Grup vs. 6.Grup	89,08	33,22 to 144,9	Evet	***	0,0003
2.Grup vs. 7.Grup	126,5	70,61 to 182,3	Evet	****	<0,0001
3.Grup vs. 4.Grup	18,61	-37,24 to 74,46	Hayır	Anlamlı değil	0,9404
3.Grup vs. 5.Grup	37,86	-18,00 to 93,71	Hayır	Anlamlı değil	0,3645
3.Grup vs. 6.Grup	32,21	-23,64 to 88,06	Hayır	Anlamlı değil	0,5550
3.Grup vs. 7.Grup	69,60	13,75 to 125,5	Evet	**	0,0070
4.Grup vs. 5.Grup	19,24	-36,61 to 75,09	Hayır	Anlamlı değil	0,9307
4.Grup vs. 6.Grup	13,60	-42,25 to 69,45	Hayır	Anlamlı değil	0,9872
4.Grup vs. 7.Grup	50,99	-4,864 to 106,8	Hayır	Anlamlı değil	0,0927
5.Grup vs. 6.Grup	-5,642	-61,49 to 50,21	Hayır	Anlamlı değil	>0,9999
5.Grup vs. 7.Grup	31,75	-24,11 to 87,60	Hayır	Anlamlı değil	0,5717
6.Grup vs. 7.Grup	37,39	-18,46 to 93,24	Hayır	Anlamlı değil	0,3791

İmmünohistokimyasal VEGF-A boyaması sonuçlarının kantitatif analizi, tedavi grupları arasında anjiyogeneze potansiyeli açısından belirgin farklılıklar ortaya koymaktadır. Grafik ve sayısal veriler incelendiğinde, tedavi gruplarının kontrol grubuna kıyasla VEGF-A ekspresyonunu artırdığı görülmektedir.

Kontrol grubunda (1.Grup) VEGF-A ekspresyon düzeyi oldukça düşük olup ortalama h-skor değeri $103,4 \pm 15,55$ 'tir. Tedavi grupları içerisinde en yüksek VEGF-A ekspresyonu Lokal D₃ vitamini (2.Grup) grubunda tespit edilmiş olup ortalama değer $264,4 \pm 25,55$ 'tir. Diğer tedavi gruplarında VEGF-A ekspresyon düzeyleri sırasıyla 3.Grup ($207,5 \pm 27,90$), 4.Grup ($188,9 \pm 54,17$), 6.Grup ($175,3 \pm 27,01$), 5.Grup ($169,7 \pm 21,23$) ve 7.Grup ($137,9 \pm 30,26$) şeklindedir.

Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, aşağıdaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir:

1. Kontrol grubu (1.Grup) ile tedavi grupları arasında:
 - 1.Grup ile 2.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: -161,0, $p < 0,0001$)
 - 1.Grup ile 3.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: -104,2, $p < 0,0001$)
 - 1.Grup ile 4.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: -85,57, $p = 0,0006$)
 - 1.Grup ile 5.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -66,33, $p = 0,0115$)
 - 1.Grup ile 6.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: -71,97, $p = 0,0049$)
2. 2.Grup ile diğer gruplar arasında:
 - 2.Grup ile 3.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: 56,86, $p = 0,0437$)
 - 2.Grup ile 4.Grup arasında anlamlı fark (ortalama fark: 75,48, $p = 0,0028$)
 - 2.Grup ile 5.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: 94,72, $p = 0,0001$)
 - 2.Grup ile 6.Grup arasında çok anlamlı fark (ortalama fark: 89,08, $p = 0,0003$)
 - 2.Grup ile 7.Grup arasında ileri derecede anlamlı fark (ortalama fark: 126,5, $p < 0,0001$)
3. Lokal D₃ vitamini ve Myrtus Communis kombinasyon grubu (3.Grup) ile 7.Grup grubu arasında anlamlı fark (ortalama fark: 69,60, $p = 0,0070$)

Bu sonuçlar, tüm tedavi gruplarının kontrol grubuna kıyasla anjiyogenezi desteklediğini göstermektedir. Özellikle Lokal D₃ vitamini uygulaması (2.Grup), VEGF-A ekspresyonunu en etkili şekilde artırmıştır. Diğer tedavi grupları da anjiyogenezi desteklemekle birlikte, etkinlik sıralaması 2.Grup > 3.Grup > 4.Grup > 6.Grup > 5.Grup > 7.Grup şeklindedir.

Kontrol grubunda düşük olan VEGF-A ekspresyonunun, greft uygulaması (6.Grup) ile artış göstermesi ve tedavi protokolleriyle daha da yükselmesi, bu tedavilerin vaskülarizasyonu desteklediğini göstermektedir. VEGF-A ekspresyonundaki artış, yeni damar oluşumunu teşvik ederek doku oksijenasyonunu ve besin alımını artırmakta, böylece yağ grefti sağkalımını iyileştirmektedir.

D₃ vitamini ve Myrtus Communis tedavilerinin, özellikle lokal uygulama şeklinde, anjiyogenezi destekleyerek yağ grefti sağkalımı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu sonucuna varılabilir. Bu bulgular, bahsedilen tedavi yaklaşımlarının klinik uygulamalarda yağ grefti sağkalımını artırmak amacıyla kullanılabileceğini düşündürmektedir



5. TARTIŞMA

Bu çalışma, otolog yağ grefti uygulamalarında Vitamin D₃ (kolekalsiferol) ve *Myrtus communis*'in greft sağkalımı üzerindeki etkilerini deneysel olarak inceleyerek, bu ajanların tek başına veya kombine kullanımlarının etkinliğini çeşitli biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametreler aracılığıyla değerlendirmiştir. Elde edilen bulgular, özellikle kombinasyon tedavisinin yağ grefti sağkalımını destekleyici potansiyelini açıkça ortaya koymuştur.

5.1. İNFLAMATUAR YANIT ÜZERİNE ETKİLER

Çalışmamızın önemli bir bulgusu, sistemik D₃ vitamini ve *Myrtus communis* kombinasyonunun (5.Grup) inflamatuvar yanıtı baskılamadaki etkinliğidir. Bu grupta, kontrol grubuna kıyasla TNF- α ve IL-1 düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu sonuç, literatürde Vitamin D₃'ün ve *Myrtus communis*'in bilinen anti- inflamatuvar etkileriyle uyumludur ve her iki bileşenin sinerjistik bir şekilde çalıştığını düşündürmektedir. Vitamin D₃'ün inflamasyonu baskılama mekanizması, literatürde ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Liu ve arkadaşları [52], D₃ vitamininin makrofaj polarizasyonunu M2 fenotipine kaydırarak, pro-inflamatuvar sitokinler TNF- α ve IL-1 β üretimini azaltırken, anti-inflamatuvar sitokinler IL-10 ve TGF- β salgısını artırdığını göstermiştir. Ayrıca Colotta ve meslektaşları [54], D₃ vitamininin nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) sinyal yolunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtı etkili bir şekilde baskıladığını belirtmişlerdir. Bu mekanizma, çalışmamızda Sistemik D₃ uygulanan gruplarda IL-1 düzeylerinin düşük seyretmesini açıklayabilir.

Myrtus communis ekstresinin anti-inflamatuvar etkisinin ise, yüksek fenolik içeriğiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, *Myrtus communis*'in COX-2 ve iNOS enzim aktivitelerini inhibe ederek prostaglandin E2 (PGE2) ve nitrik oksit (NO) üretimini azalttığını göstermiştir. Belahcene ve arkadaşları [66], *Myrtus communis*'in TLR4/MyD88/NF- κ B yolunu modüle ederek inflamasyonu azalttığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda, *Myrtus communis*'in tek başına uygulandığı grupta(7.Grup) TNF- α düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olması, bu mekanizmayı desteklemektedir.

Öte yandan, yağ grefti uygulanan 6.Grupta TNF- α ve IL-1 düzeylerinin yüksek bulunması, literatürle uyumlu olarak cerrahi müdahalenin belirgin bir inflamatuvar yanıtı tetiklediğini göstermektedir. Cerrahi stres ve iskemi-reperfüzyon hasarı (IRI), damar endotel hasarına, nötrofil ekstraselüler tuzak (NET) oluşumuna ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine neden olabilir [40,70]. Bu durum, erken inflamatuvar yanıtın yağ grefti sağkalımını olumsuz etkileyebileceğini ve terapötik müdahalelerin bu yanıtı düzenleyerek greft tutulumunu artırabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızın sonuçları, Cai ve arkadaşlarının erken makrofaj infiltrasyonunun yağ grefti sağkalımını iyileştirdiği yönündeki bulgularıyla çelişiyor gibi görünse de, inflamasyonun kontrolsüz ve aşırı olması durumunda greft sağkalımını olumsuz etkileyebileceği hipotezini desteklemektedir[35].

Klinik perspektiften bakıldığında, 5.Grupta gözlenen anti- inflamatuvar etkinin, yağ greftinin revaskülarizasyonunu destekleyerek uzun vadeli sağkalımını artırma potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir. Ancak, çalışmamızın 8 haftalık takip süresinin kronik inflamasyonun etkilerini tam olarak değerlendirmek için yetersiz kalabileceği ve sıçan modelindeki immün yanıtın insan immün yanıtından farklılıklar gösterebileceği [19] unutulmamalıdır. Bu sınırlamalara rağmen, kombinasyon tedavisinin erken inflamatuvar yanıtı baskılamadaki başarısı, yağ grefti uygulamalarında klinik sonuçları iyileştirme potansiyeline işaret etmektedir.

5.2.OKSİDATİF STRES DÜZENLENMESİ

Çalışmamızın bir diğer önemli bulgusu, 3. ve 5.Gruplarda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış göstermesidir. Bu durum, Vitamin D₃ ve Myrtus communis'in oksidatif stresi azaltmada sinerjistik bir etki sergilediğini ortaya koymaktadır. Myrtus communis ekstresinin yüksek fenolik içeriği, bilindiği gibi serbest radikalleri nötralize ederek lipid peroksidasyonunu engellemekte ve NRF2/ARE yolunun aktivasyonu ile antioksidan enzimlerin (SOD, katalaz gibi) sentezini desteklemektedir [66,69]. Cruciani ve arkadaşları [67], Myrtus communis polifenollerinin güçlü antioksidan etkilere sahip olduğunu ve oksidatif strese karşı koruyucu rol oynadığını belirtmişlerdir.

Ancak, Lokal D₃ grubunda (2.Grup) malondialdehit (MDA) düzeylerinin artışı dikkat çekicidir. Bu beklenmedik durum, Vitamin D₃'ün yüksek dozda uygulanmasının potansiyel pro-oksidan etkilerini gündeme getirmektedir. Jain ve

arkadaşları [79], D₃ vitamininin SLC7A11/GPX4 eksenini üzerinden glutatyon sentezini uyararak ferroptozu inhibe etme mekanizmasının yanı sıra, mitokondriyal elektron transport zincirinde sızıntı yaratarak pro-oksidan bir etki de oluşturabileceğini ileri sürmüşlerdir. MDA, yağ grefti dokusunda hücre zarı lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak, adiposit membran bütünlüğünün bozulduğunu ve nekroz riskinin arttığını yansıtabilir.

5.Grupta ise, MDA düzeylerinin 0.73 ± 0.10 nmol/mg ile en düşük seviyede seyretmesi, *Myrtus communis*'in Vitamin D₃'ün potansiyel pro-oksidan etkisini dengeleyerek kombinasyon tedavisinde koruyucu bir rol üstlendiğini göstermektedir. Mechchate ve arkadaşları [69], *Myrtus communis* yapraklarından elde edilen polifenol zenginleştirilmiş fraksiyonun (PEMC) antioksidan ve anti-inflamatuar potansiyelini vurgulamışlardır. Bu bağlamda, çalışmamızın sonuçları mevcut literatürle uyumludur ve kombinasyon tedavisinin oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmada sinerjistik bir yaklaşımla daha etkili olduğunu desteklemektedir.

Klinik açıdan değerlendirildiğinde, 2.Gruptaki yüksek MDA değerleri, çalışmamızda kullanılan 5000 ng/gün D₃ vitamini dozunun yağ grefti dokusu için potansiyel olarak toksik olabileceği ihtimalini akla getirmektedir. Bu nedenle, klinik uygulamalarda daha düşük doz stratejilerinin (örneğin, 2000-3000 ng/gün) test edilmesi ve bireyselleştirilmiş doz ayarlamalarının yapılması önem arz edebilir. Ayrıca, D₃ vitamininin olası pro-oksidan etkilerini dengelemek için *Myrtus communis* gibi güçlü antioksidan ajanların birlikte kullanımı, yağ grefti sağkalımını optimize etmede faydalı bir yaklaşım olabilir.

5.3.ANJİYOGENEZ ÜZERİNE ETKİLER

İmmünohistokimyasal analizlerde VEGF-A ve eNOS ekspresyon düzeyleri, özellikle lokal D₃ vitamini ve kombinasyon gruplarında belirgin şekilde artış göstermiştir. Bu durum, lokal dokularda vaskülarizasyonu destekleyen moleküler yanıtın güçlü olduğunu göstermektedir. Histopatolojik incelemeler de bu bulguları desteklemiş; düzenli vasküler yapılar ve daha homojen adiposit morfolojisi gözlemlenmiştir. Ancak biyokimyasal analizlerde VEGF-A ve eNOS düzeylerinde istatistiksel olarak daha sınırlı anlamlılık elde edilmiştir. Bu farklılık, sistemik dolaşımdaki biyobelirteç konsantrasyonlarının lokal doku düzeyindeki değişimleri yansıtmakta yetersiz kalabileceğini ve bu nedenle immünohistokimyasal yöntemlerin

greft bölgesine özgü yanıtları değerlendirmede daha hassas olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca literatürde, Vitamin D₃'ün anjiyogenezi destekleyici etkisinin genellikle düşük dozlarda (örneğin, 1000-2000 IU/gün) daha belirgin olduğu bildirilmektedir [54]. Çalışmamızda kullanılan 5000 ng/gün dozunun, yüksek dozlarda VEGF-A reseptör sinyalizasyonunu baskılayarak paradoksal bir etki yaratmış olabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca, 8 haftalık uygulama süresi, biyokimyasal parametredeki bu bulgu greft dokusunda yeni damar oluşumunu ve olgunlaşmasını tam anlamıyla değerlendirmek için yetersiz kalmış olabilir. Yu ve arkadaşları [75], VEGF-A-modRNA ile zenginleştirilmiş adipöz kök hücrelerde anjiyogenik etkinin belirginleşmesi için 12 haftalık bir takip süresinin gerektiğini belirtmişlerdir. Bu nedenle, çalışmamızın takip süresinin anjiyogenik süreçleri tam olarak değerlendirmek için sınırlı olduğu düşünülebilir.

Myrtus communis'in vazodilatör aktivitesi (53.0 ± 3.0 maksimal dilatasyon), esasen NO üretimini artıran fenolik bileşiklere bağlı olsa da [67], bu etki akut fazda geçici bir perfüzyon artışı sağlamakta, uzun vadeli yapısal damar oluşumunu tetikleyememektedir. Bununla birlikte, *Myrtus communis*'in güçlü anti-inflamatuar özellikleri, greft mikroçevresinde makrofaj kaynaklı VEGF-A salınımını baskılayarak anjiyogeneze desteğini azaltmış olabilir [69].

Ayrıca, 8 haftalık uygulama süresi, biyokimyasal parametredeki bu bulgu greft dokusunda yeni damar oluşumunu ve olgunlaşmasını tam anlamıyla değerlendirmek için yetersiz kalmış olabilir. Yu ve arkadaşları [75], VEGF-A-modRNA ile zenginleştirilmiş adipöz kök hücrelerde anjiyogenik etkinin belirginleşmesi için 12 haftalık bir takip süresinin gerektiğini belirtmişlerdir.

Histolojik analizlerde, 5.Grupta gözlenen homojen adiposit dağılımı ve azalmış fibrozis (Şekil 4.9), hücrel stres direnci mekanizmalarıyla desteklendiği hipotezini güçlendirmektedir. Pei ve arkadaşları [40], otofojiyi modere ederek hücrel stres direncini artırmanın yağ grefti sağkalımını iyileştirebileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde, Zhu ve arkadaşları [74] adipöz kaynaklı kök hücrelerden elde edilen eksozomların let-7/AGO1/VEGF-A sinyal yolları aracılığıyla anjiyogenezi desteklediğini ve yağ grefti sağkalımını artırdığını bildirmişlerdir.

Metodolojik açıdan, sıçanlarda kullanılan subkutan yağ grefti modelinin, insanlardaki derin doku revaskülarizasyon dinamiklerini tam olarak yansıtmaması [6] ve VEGF-A ile eNOS düzeylerinin serum ölçümleri yerine lokal doku ekspresyonu olarak değerlendirilmemesi, anjiyogenik etkilerin doğru tespitini sınırlandırmış olabilir. Ancak, immünohistokimyasal analizlerde gözlenen eNOS ve VEGF-A ekspresyon artışı, biyokimyasal ölçümlerde tespit edilememiş olabilecek lokal anjiyogenik etkilere işaret etmektedir.

Ayrıca, *Myrtus communis*'in anjiyogenik etkisini artırmak amacıyla VEGF-A-modRNA veya temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi ajanlarla kombinasyon stratejilerinin geliştirilmesi de gelecekteki çalışmalarda değerlendirilebilir.

5.4.KOMBİNASYON TEDAVİSİNİN SİNERJİSTİK POTANSİYELİ

Çalışmamızın en dikkat çekici bulgularından biri, 5.Grup SOD aktivitesinin en yüksek ve MDA düzeylerinin en düşük ölçülmesiyle ortaya konan sinerjistik etkidir. Bu sonuçlar, Vitamin D₃ ve *Myrtus communis*'in oksidatif stresi azaltmada birbirini tamamlayarak güçlü bir kombinasyon oluşturduğunu açıkça göstermektedir.

İmmünohistokimyasal bulgular, kombinasyon tedavisinin etki mekanizmalarını moleküler düzeyde aydınlatmaktadır. Caspase-3 ekspresyonundaki belirgin azalma ($p<0.0001$), kombinasyon tedavisinin pro-apoptotik sinyalleri baskılayarak, adiposit sağkalımını desteklediğini göstermektedir. Ayrıca, VEGF-A ekspresyonundaki artış, özellikle 2.Grup ($264,4\pm25,55$) ve 3.Gruplarda ($207,5\pm27,90$) belirgin olup, vaskülarizasyonun desteklendiğini doğrulamaktadır. eNOS ekspresyonundaki azalma ise, yine VEGF-A da olduğu gibi kombine ve tek başına D₃ vitamininin lokal olarak uygulandığı gruplarda (2. ve 3.Grup) oksidatif strese karşı koruyucu etkileri belirgin bir fark oluşturmaktadır. H&E ve MT boyama bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, kombine tedavi sadece hücresel düzeyde değil, doku organizasyonu ve yapısal bütünlük açısından da üstün etkinlik göstermektedir.

Vitamin D₃, SLC7A11/GPX4 eksenini aracılığıyla glutatyon (GSH) üretimini artırarak ferroptozu inhibe etmekte [79] ve makrofaj polarizasyonunu M2 fenotipine kaydırarak IL-10 üretimi yoluyla anti-inflamatuar etki sağlamaktadır [54]. Jain ve arkadaşları [79,80], Vitamin D₃'ün glutatyon sentezini artırarak oksidatif stresi azalttığını göstermiştir. Parsanathan ve Jain [82], glutatyon eksikliğinin D₃ vitamini metabolizmasında rol oynayan genlerde epigenetik değişikliklere yol açabileceğini ve bu

durumun D₃ vitamini eksikliğine katkıda bulunabileceğini bildirmiştir. Bu bulgular, D₃ vitamini ve glutatyon arasındaki karşılıklı ilişkiyi vurgulamaktadır.

Myrtus communis'in güçlü antioksidan etkisinin temeli ise, yüksek fenolik içeriğidir. Belahcene ve arkadaşları [66], *Myrtus communis*'in yaprak ekstresinden elde edilen metanolik ekstraktın (MMEx) yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriği ile güçlü antioksidan özellikler sergilediğini göstermiştir. Benzer şekilde, Mechchate ve arkadaşları [69], *Myrtus communis* yapraklarından elde edilen polifenol zenginleştirilmiş fraksiyonun (PEMC) güçlü antioksidan ve yara iyileştirici potansiyele sahip olduğunu bildirmiştir.

Bu iki farklı antioksidan mekanizmanın birleşimi, oksidatif stresin çift yönlü baskılanmasını sağlayarak greft dokusunda MDA düzeylerinin anlamlı derecede düşmesine ve hücre sağ kalımının artmasına yol açmıştır. İmmunohistokimyasal ve histopatolojik bulgularımız, kombinasyon tedavisi uygulanan gruplarda adiposit morfolojisinin daha iyi korunduğunu ve fibrozis oranının azaldığını doğrulamaktadır. Bu bulgular, kombine tedavinin yağ grefti sağkalımını artırdığını destekleyici niteliktedir.

5.5.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE KLİNİK ÖNEMİ

Histopatolojik değerlendirmelerimiz, uygulanan tedavi protokollerinin greft morfolojisi ve entegrasyonu üzerindeki olumlu etkilerini görsel olarak doğrulamıştır. 5.Grup ve 3.Grup kombinasyon gruplarında, kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde daha düzenli ve homojen adiposit dağılımı, azalmış fibrozis ve gelişmiş doku reorganizasyonu gözlenmiştir (Şekil 4.9 ve 4.11). Bu bulgular, kombinasyon

tedavisinin doku mimarisini koruduğunu ve greft sağkalımını artırdığını histolojik düzeyde desteklemektedir.

İmmünohistokimyasal analizlerde, tedavi gruplarında eNOS ve VEGF-A ekspresyonunun artması (Şekil 4.13 ve 4.17), kombinasyon tedavisinin anjiyogenezi ve doku perfüzyonunu desteklediğine dair dolaylı kanıtlar sunmaktadır. Biyokimyasal analizlerde VEGF-A ve eNOS düzeylerinde anlamlı bir artış tespit edilememiş olsa da, immünohistokimyasal analizlerdeki bu pozitif eğilim, lokal doku mikroçevresinde anjiyogenik sinyallerin aktivasyonunu düşündürmektedir. Zhu ve arkadaşları [74], adipöz doku kaynaklı kök hücrelerden elde edilen eksozomların let-7/AGO1/VEGF-A yolağı üzerinden anjiyogenezi desteklediğini ve yağ grefti sağkalımını artırdığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Han ve arkadaşları [76], hipoksiye maruz bırakılan insan adipöz kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomların, VEGF-A/VEGF-A-R sinyal yollarını düzenleyerek anjiyogenezi artırdığını göstermiştir.

Caspase-3 ekspresyonunda gözlenen azalma (Şekil 4.15), özellikle kombinasyon gruplarında apoptotik aktivitenin baskılandığını ve hücre sağkalımının arttığını histolojik olarak teyit etmektedir. Bu bulgu, D₃ vitamini ve *Myrtus communis*'in anti-apoptotik etkilerini destekler niteliktedir. Mechchate ve arkadaşları [69], *Myrtus communis*'in Bcl-2 ekspresyonunu artırarak apoptozu inhibe ettiğini bildirmiştir. Jain ve arkadaşları [79] ise, D₃ vitamininin hücrel GSH seviyelerini artırarak oksidatif strese karşı koruma sağladığını ve apoptozu azalttığını göstermiştir.

Masson Trikrom boyamalarında (Şekil 4.10 ve 4.11) gözlenen azalmış kollajen depolanması ve fibrozis, kombinasyon tedavisinin yara iyileşmesi sürecini olumlu yönde modüle ettiğini ve daha sağlıklı bir doku mikroçevresi oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu bulgu, Yu ve arkadaşlarının [36] platelet-rich fibrin'in (PRF) anjiyogenezi ve adipogenezi teşvik ederek, apoptozu inhibe ederek ve kollajen üretimini düzenleyerek yağ grefti sağkalımını artırdığı yönündeki gözlemleriyle uyumludur.

Histopatolojik bulgularımız, Shih ve arkadaşlarının [21] yağ grefti sağkalımının vaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis gibi faktörlerden etkilendiği yönündeki görüşünü desteklemektedir. Simonacci ve arkadaşları [27] da yağ greftinin başarısını etkileyen faktörler arasında inflamatuvar yanıtın kontrolü ve vaskülarizasyonun önemini vurgulamıştır.

Klinik açıdan, histopatolojik bulgularımız, D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyon tedavisinin yağ grefti uygulanan hastalarda greft tutulumunu ve estetik sonuçları iyileştirme potansiyeline sahip olduğunu güçlü bir şekilde desteklemektedir. Özellikle azalmış fibrozis ve artan adiposit sağkalımı, daha doğal bir doku görünümü ve hacim korunması sağlayabilir. Bu durum, plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahide hasta memnuniyetini artırmak açısından büyük önem taşımaktadır. Vyas ve arkadaşları [25], yağ grefti zenginleştirme stratejilerinin klinik sonuçları iyileştirme potansiyelini sistematik bir derleme ile ortaya koymuştur. Çalışmamızın histopatolojik bulguları, D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun bu zenginleştirme stratejileri arasında değerli bir seçenek olabileceğini düşündürmektedir.

5.6.SİSTEMİK ETKİLER VE GÜVENLİK PROFİLİ

Çalışmamızda, tedavi protokollerinin sistemik etkileri de kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Karaciğer fonksiyon testleri, özellikle ALT ve ALP değerleri, 6.Grupta belirgin şekilde yükselirken, tedavi gruplarında daha düşük seviyeler göstermiştir. 5.Grupta en düşük enzim seviyeleri kaydedilmesi, kombinasyon tedavisinin sadece lokal doku düzeyinde değil, sistemik olarak da karaciğer koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Ozcan ve arkadaşları [70], termal yanık hasarı modelinde Myrtus communis'in uzak organ hasarına karşı koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada, Myrtus communis'in anti-inflamatuvar ve antioksidan özellikleri sayesinde sistemik enflamasyonu ve uzak organ hasarını azalttığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, Chang [56] D₃ vitamininin adipoz doku inflamasyonunu ve NF- κ B/AMPK aktivasyonunu azaltarak sistemik etkiler gösterdiğini rapor etmiştir. Çalışmamızın karaciğer fonksiyon testleri sonuçları, bu literatür bulgularıyla uyumlu olup, kombinasyon tedavisinin sistemik düzeyde de koruyucu etkiler sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Renal fonksiyon parametreleri ve metabolik belirteçler açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemesi ($p>0,05$), uygulanan tedavi protokollerinin renal ve metabolik güvenlik profilinin olumlu olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, Simonacci ve arkadaşlarının [27] yağ grefti prosedürlerinin düşük komplikasyon oranına sahip olduğu ve güvenli bir cerrahi seçenek sunduğu yönündeki genel görüşü desteklemektedir.

Sistemik etkilerin değerlendirilmesi, özellikle uzun vadeli klinik uygulamalar açısından büyük önem taşımaktadır. Tedavi ajanlarının karaciğer fonksiyonları üzerindeki koruyucu etkisi, yağ grefti prosedürlerinin genel başarısını artırmada dolaylı bir faktör olabilir. Cerrahi stres ve inflamatuvar yanıtın sistemik yansımalarının azaltılması, hastanın genel iyileşme sürecini olumlu yönde etkileyebilir ve daha konforlu bir iyileşme dönemi sağlayabilir.

5.7.ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI VE GELECEK ARAŞTIRMALAR İÇİN ÖNERİLER

Çalışmamız, yağ grefti sağkalımı üzerine Vitamin D₃ ve Myrtus communis kombinasyonunun potansiyel faydalarını ortaya koymakla birlikte, bazı kısıtlılıklara da sahiptir. İlk olarak, 8 haftalık takip süresi, yağ grefti sağkalımının uzun vadeli değerlendirmesi için sınırlı kalmıştır. Yu ve arkadaşları [75], anjiyogenez ve yağ grefti stabilizasyonunu tam olarak değerlendirmek için 12 haftalık takip süresinin daha uygun olabileceğini belirtmişlerdir. Gelecekteki çalışmalarda, daha uzun süreli takip protokollerinin uygulanması, greft hacim korunumu ve uzun vadeli klinik sonuçlar hakkında daha kapsamlı bilgi sağlayabilir.

İkinci olarak, çalışmamızda kullanılan sıçan modeli, insan yağ dokusunun fizyolojik ve anatomik özelliklerini tam olarak yansıtmayabilir. Debuc ve arkadaşları [6], hayvan modellerinde elde edilen bulguların klinik uygulamalara aktarılmasında dikkatli olunması gerektiğini vurgulamıştır. İnsanlarda yağ grefti dinamikleri ve vaskülarizasyon süreçleri, deney hayvanlarından farklılık gösterebilir. Bu nedenle, bulgularımızın insanlara genellenebilirliği konusunda dikkatli olunmalıdır.

Üçüncü olarak, D₃ vitamini için kullanılan 5000 ng/gün dozunun optimal olmayabileceği düşünülmektedir. Daha düşük dozlarda (2000-3000 ng/gün) D₃ vitamini uygulamasının anjiyogenik etkiler açısından daha faydalı olabileceği literatürde belirtilmiştir [54]. Gelecekteki çalışmalarda, farklı doz rejimlerinin karşılaştırılması, optimal terapötik pencereyi belirlemek için önemli olacaktır.

Dördüncü olarak, VEGF-A ve eNOS gibi anjiyogenik belirteçlerin serum düzeylerinin ölçülmesi, lokal doku ekspresyonunun değerlendirilmemesi bir sınırlılık

olarak kabul edilebilir. Gelecek araştırmalarda, immünohistokimyasal analizlerin yanı sıra, doku homojenatlarında anjiyojenik faktörlerin direkt ölçümü veya gen ekspresyon analizleri, anjiyogenik etkilerin daha doğru ve kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlayabilir.

Beşinci olarak,  alışmamızda Vitamin D₃ ve Myrtus communis'in etki mekanizmalarını moleküler düzeyde ayrıntılı olarak inceleme fırsatımız sınırlı kalmıştır. Özellikle Myrtus communis'in spesifik biyoaktif bileşenlerinin ve sinyal yolaklarının detaylı analizi, kombinasyon tedavisinin sinerjistik etkilerini ve hüresel düzeydeki mekanizmalarını daha iyi anlamak için gereklidir. Gelecekteki çalışmalarda, proteomik ve transkriptomik analizler, bu mekanizmaları aydınlatmada değerli araçlar olabilir.

Son olarak, klinik uygulamaya yönelik daha fazla veri elde etmek için, büyük hayvan modelleri veya insan pilot çalışmaları planlanmalıdır. K lle ve arkadaşları [1], kök hücrelerle zenginleştirilmiş yağ greftlerinin insanlarda etkinliğini randomize kontrollü bir çalışma ile göstermiştir. Benzer şekilde, Vitamin D₃ ve Myrtus communis kombinasyonunun klinik etkinliğini değerlendiren çalışmalar, laboratuvar bulgularının klinik pratiğe aktarılmasında kritik bir rol oynayacaktır.

Gelecekteki araştırmalar için önerilerimiz şunlardır:

1. D₃ vitamini ve Myrtus communis'in optimal doz ve uygulama zamanlamasını belirlemek için doz-yanıt ilişkisini inceleyen çalışmalar yapılmalıdır.
2. Kombinasyon tedavisini VEGF-A-modRNA, PRF veya adipöz kaynaklı kök hücreler gibi diğer zenginleştirme stratejileri ile karşılaştıran karşılaştırmalı çalışmalar planlanmalıdır.
3. D₃ vitamini ve Myrtus communis'in nanopartikül taşıyıcılar ile kontrollü salınımını sağlayan formülasyonlar geliştirilerek, tedavi etkinliği ve lokal doku konsantrasyonu optimize edilebilir.
4. Moleküler düzeyde etki mekanizmalarını aydınlatmak için gen ekspresyon analizleri, sinyal yolağı çalışmaları ve proteomik analizler gibi ileri teknikler kullanılmalıdır.
5. Uzun vadeli sağkalım, hacim korunumu ve revaskülarizasyon dinamiklerini değerlendirmek için ileri görüntüleme teknikleri ( rneğin, mikro-BT, lazer Doppler) kullanılmalıdır.

6. Klinik öncesi etkinlik ve güvenlik profilini daha iyi tanımlamak için büyük hayvan modelleri (örneğin, domuz, koyun) geliştirilmelidir.

5.8.KLİNİK UYGULAMALARA YÖNELİK ÇIKARIMLAR

Araştırmamızın bulguları, otolog yağ grefti uygulamalarının klinik sonuçlarını iyileştirmek için önemli ve umut verici çıkarımlar sunmaktadır. D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun yağ grefti sağkalımını artırma potansiyeli, estetik ve rekonstrüktif cerrahi alanında daha etkili ve güvenli tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Klinik uygulamalarda, D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonu pre-operatif veya post-operatif dönemlerde kolaylıkla uygulanabilir. Preoperatif hazırlıkta, D₃ vitamini takviyesi ile hastanın metabolik durumunun optimize edilmesi, cerrahi stres yanıtını azaltabilir ve hastanın genel sağlığını destekleyebilir. Postoperatif dönemde ise, kombinasyon tedavisi inflamatuvar yanıtı kontrol ederek, oksidatif stresi azaltarak ve hücre sağkalımını destekleyerek greft tutulumunu ve uzun vadeli hacim korunmasını iyileştirebilir.

Sistemik D₃ vitamini uygulaması ve kombine uygulama, hem greft dokusunu lokal olarak etkilemekte, hem de sistemik parametreleri olumlu yönde etkileyerek genel iyileşme sürecine katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, optimal doz rejiminin belirlenmesi ve bireysel hasta faktörlerinin (örneğin, D₃ vitamini düzeyi, metabolik durum) göz önünde bulundurulması, tedavi başarısını artırmak için önemlidir.

Lokal D₃ vitamini uygulaması ve kombine uygulama, immunohistokimyasal ve histopatolojik preparatlarda anjiyogenezi desteklediği görülmekte, lokal mikroçevredeki biyobelirteç düzeylerini doğrudan değerlendirebilecek yeni tekniklerin (mikrodiyaliz, lokal sıvı biyopsi vb.) kullanılması elde edilen verilerin doğruluğunu arttıracaktır.

Kombinasyon tedavisinin anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri, özellikle inflamasyon ve fibrozis eğilimi yüksek olan hastalarda (örneğin, radyoterapi görmüş hastalar, sigara içenler, otoimmün hastalığı olanlar) klinik sonuçları iyileştirme potansiyeline sahiptir. Ayrıca, Liu ve arkadaşlarının [4] morfea tedavisinde yağ grefti uygulamasının etkinliğini gösterdiği çalışmayı destekler nitelikte, kombinasyon tedavisi fibrozis kontrolü sağlayarak bu tür uygulamaların başarısını arttırabilir ve cilt sklerozunu azaltmada daha etkili bir yaklaşım sunabilir.

Hasta güvenliği açısından, çalışmamızda gözlemlenen sistemik etkilerin olumlu olması ve renal parametrelerde anlamlı değişiklik olmaması, tedavi protokolünün güvenlik profilinin iyi olduğunu göstermektedir. Ancak, Lokal D₃ grubunda gözlenen prooksidan etki, D₃ vitamini dozunun dikkatli ve bireyselleştirilmiş bir yaklaşımla belirlenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Klinik uygulamalarda, hastaların D vitamini düzeyleri başlangıçta değerlendirilerek, takviye dozu buna göre ayarlanmalıdır.

Estetik cerrahi uygulamalarında, kombinasyon tedavisi greft rezorpsiyonunu azaltarak daha öngörülebilir, kalıcı ve doğal sonuçlar sağlayabilir. Bourne ve arkadaşları [5], yağ grefti rezorpsiyon oranlarının %25 ile %80 arasında değiştiğini bildirmiştir. Kombinasyon tedavisi, bu oranları azaltarak revizyon cerrahisi ihtiyacını düşürebilir, operasyon maliyetini azaltabilir ve hasta memnuniyetini önemli ölçüde arttırabilir.

Rekonstrüktif cerrahi alanında, özellikle meme rekonstrüksiyonu sonrası oluşan kontur düzensizliklerinin giderilmesinde, kombinasyon tedavisi daha iyi estetik sonuçlar ve hasta yaşam kalitesinde artış sağlayabilir. Bennett ve arkadaşları [3], yağ grefti uygulamalarının meme rekonstrüksiyonu sonrası hasta memnuniyetini artırdığını ve psikososyal iyilik halini iyileştirdiğini göstermiştir. D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonu, bu uygulamaların etkinliğini daha da yükseltme potansiyeline sahip olup, meme rekonstrüksiyonu geçiren kadınların yaşam kalitesini artırmada önemli bir rol oynayabilir.

5.9.GENEL DEĞERLENDİRME

Bu çalışma, Vitamin D₃ ve Myrtus communis'in yağ grefti sağkalımı üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla kapsamlı biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerle desteklenmiş güçlü bir deneysel temel sunmaktadır. Elde edilen bulgular, özellikle bu ajanların kombinasyon halinde kullanıldığında, yağ grefti sağkalımını belirgin şekilde iyileştirdiğini ve klinik uygulamalarda umut verici bir terapötik strateji oluşturabileceğini göstermektedir. Araştırma sonuçları, tedavi protokollerinin etki mekanizmalarını inflamasyonun baskılanması, oksidatif stresin azaltılması, vaskülarizasyonun desteklenmesi ve hücre sağkalımının artırılması düzeylerinde kapsamlı bir şekilde açıklamaktadır.

5.10. TEDAVİ PROTOKOLLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRMESİ

Çalışma bulguları, D₃ vitamini ve Myrtus communis'in tek başlarına kullanıldıklarında da yağ grefti sağkalımını olumlu yönde etkilediğini, ancak kombinasyon halinde uygulandıklarında sinerjistik bir etki göstererek en iyi sonuçları sağladığını ortaya koymaktadır. Sistemik uygulama, lokal uygulamaya kıyasla özellikle karaciğer fonksiyonları ve oksidatif stres parametreleri üzerinde daha belirgin olumlu etkiler göstermiştir.

D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun etkinliği, büyük olasılıkla her iki ajanın tamamlayıcı mekanizmalarla etki göstermesinden kaynaklanmaktadır. D₃ vitamininin immünomodülatör ve anti-inflamatuar özellikleri, Myrtus communis'in güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar etkileriyle birleşerek yağ grefti sağkalımını tehdit eden temel faktörlere karşı daha kapsamlı ve sinerjistik bir koruma sağlamıştır.

5.11. KLİNİK UYGULAMALARA YÖNELİK ÇIKARIMLAR

Bu çalışmanın bulguları, yağ grefti prosedürlerinin klinik sonuçlarını iyileştirmek için önemli ve pratik çıkarımlar sunmaktadır. D₃ vitamini ve Myrtus communis kombinasyonunun pre-operatif veya post-operatif olarak uygulanması, greft sağkalımını artırarak revizyon cerrahisi ihtiyacını azaltabilir, operasyon maliyetini düşürebilir ve hasta memnuniyetini önemli ölçüde iyileştirebilir. Özellikle, kombinasyon tedavisinin inflammatuar yanıtı kontrol etme, antioksidan savunmayı güçlendirme ve vaskülarizasyonu artırma potansiyeli, yağ grefti sağkalımını tehdit eden temel faktörlere karşı çok yönlü bir koruma sağlamaktadır. Bu avantajlar, yağ grefti uygulamalarının daha öngörülebilir, başarılı ve hasta odaklı sonuçlar vermesine katkıda bulunabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, D₃ vitamini ve *Myrtus communis* kombinasyonunun yağ grefti sağkalımını belirgin şekilde iyileştirdiğini deneysel olarak kanıtlamıştır. Kombinasyon tedavisi, inflamatuvar süreçlerin kontrolü ve oksidatif stresin azaltılması yoluyla adiposit sağkalımını desteklemekte ve greft dokusunun kalitesini artırmaktadır.

Histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler, tedavi protokollerinin etki mekanizmalarını kapsamlı bir şekilde ortaya koymuştur. H&E ve MT boyamaları, kombinasyon tedavisinin doku morfolojisi ve fibrozis üzerindeki olumlu etkilerini gösterirken; Caspase-3, VEGF-A ve eNOS ekspresyon analizleri, hücresel düzeydeki mekanizmaları aydınlatmıştır. Kombinasyon tedavisi, apoptozu baskılayarak, anjiyogenezi artırarak ve oksidatif stresi azaltarak greft sağkalımını çok yönlü bir şekilde desteklemektedir. Bu bulgular, D₃ vitamini ve *Myrtus communis* kombinasyonunun klinik uygulamalarda başarılı sonuçlar elde etmek için güçlü bir potansiyele sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

Kombinasyon tedavisi, apoptotik aktiviteyi azaltarak ve dokuda fibrozisi sınırlandırarak greft sağkalımını desteklemekte ve daha sağlıklı bir doku mikroçevresi oluşturmaktadır. Klinik açıdan, D₃ vitamini ve *Myrtus communis* kombinasyonu, yağ grefti uygulamalarında greft kalıcılığını artırmak için umut verici ve güvenli bir terapötik yaklaşım sunmaktadır. Ancak, optimal doz rejiminin belirlenmesi ve anjiyogenik süreçlerin daha etkin bir şekilde desteklenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, doğal bileşenlerin yağ grefti sağkalımını artırmadaki potansiyeli, rejeneratif tıp alanında yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ilham vermektedir. D₃ vitamini ve *Myrtus communis* kombinasyonu; plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahide daha iyi klinik sonuçlar elde etmek ve hasta memnuniyetini artırmak için değerli ve gelecek vadeden bir seçenek olarak değerlendirilmelidir. Gelecekteki klinik çalışmalar ve doz optimizasyon çalışmaları, bu kombinasyon tedavisinin potansiyelini tam olarak ortaya koyarak, yağ grefti uygulamalarında yeni bir dönemi başlatabilir.

7. KAYNAKLAR

1. S.-F. T. K lle, A. Fischer-Nielsen, A. B. Mathiasen, J. J. Elberg, R. S. Oliveri, P. V. Glovinski, J. Kastrup, M. Kirchhoff, B. S. Rasmussen, M.-L. M. Talman, and others, "Enrichment of autologous fat grafts with ex-vivo expanded adipose tissue-derived stem cells for graft survival: A randomised placebo-controlled trial," *The Lancet*, vol. 382, no. 9898, pp. 1113–1120, 2013.
2. R. Domenis, L. Lazzaro, S. Calabrese, D. Mangoni, A. Gallelli, E. Bourkoulas, I. Manini, N. Bergamin, B. Toffoletto, C. A. Beltrami, and others, "Adipose tissue derived stem cells: In vitro and in vivo analysis of a standard and three commercially available cell-assisted lipotransfer techniques," *Stem cell research & therapy*, vol. 6, pp. 1–15, 2015.
3. K. G. Bennett, J. Qi, H. M. Kim, J. B. Hamill, E. G. Wilkins, B. J. Mehrara, and J. H. Kozlow, "Association of fat grafting with patient-reported outcomes in postmastectomy breast reconstruction," *JAMA surgery*, vol. 152, no. 10, pp. 944–950, 2017.
4. J. Liu, J. Wang, Q. Zhang, F. Lu, and J. Cai, "Clinical, histologic, and transcriptomic evaluation of sequential fat grafting for morphea: A nonrandomized controlled trial," *JAMA dermatology*, vol. 160, no. 4, pp. 425–433, 2024.
5. D. A. Bourne, J. Bliley, I. James, A. D. Donnenberg, V. S. Donnenberg, B. F. Branstetter IV, G. L. Haas, E. Radomsky, E. M. Meyer, M. E. Pfeifer, and others, "Changing the paradigm of craniofacial reconstruction: A prospective clinical trial of autologous fat transfer for craniofacial deformities," *Annals of surgery*, vol. 273, no. 5, pp. 1004–1011, 2021.
6. B. Debuc, N. Gendron, A. Cras, J. Rancic, A. Philippe, C. L. Cetrulo Jr, A. G. Lellouch, and D. M. Smadja, "Improving autologous fat grafting in regenerative surgery through stem cell-assisted lipotransfer," *Stem Cell Reviews and Reports*, vol. 19, no. 6, pp. 1726–1754, 2023.
7. P. E. Lee, R. C. Kung, and H. P. DRUTZ, "Periurethral autologous fat injection as treatment for female stress urinary incontinence: A randomized double-blind controlled trial," *The Journal of urology*, vol. 165, no. 1, pp. 153–158, 2001.
8. T. Krastev, A. van Turnhout, E. Vriens, L. Smits, and R. van der Hulst, "Long-term follow-up of autologous fat transfer vs conventional breast reconstruction and association with cancer relapse in patients with breast cancer," *JAMA surgery*, vol. 154, no. 1, pp. 56–63, 2019.
9. H. Wessells, T. F. Lue, and J. W. MCAninch, "Complications of penile lengthening and augmentation seen at 1 referral center," *The Journal of urology*, vol. 155, no. 5, pp. 1617–1620, 1996.
10. P. D. Chandler, W. Y. Chen, O. N. Ajala, A. Hazra, N. Cook, V. Bubes, I.-M. Lee, E. L. Giovannucci, W. Willett, J. E. Buring, and others, "Effect of vitamin D3 supplements on development of advanced cancer: A secondary analysis of the VITAL randomized clinical trial," *JAMA network open*, vol. 3, no. 11, pp. e2025850–e2025850, 2020.
11. D. P. Trivedi, R. Doll, and K. T. Khaw, "Effect of four monthly oral vitamin D3 (cholecalciferol) supplementation on fractures and mortality in men and women living in the community: Randomised double blind controlled trial," *Bmj*, vol. 326, no. 7387, p. 469, 2003.
12. J. P. Forman, J. B. Scott, K. Ng, B. F. Drake, E. G. Suarez, D. L. Hayden, G.

G. Bennett, P. D. Chandler, B. W. Hollis, K. M. Emmons, and others, "Effect of vitamin d supplementation on blood pressure in blacks," *Hypertension*, vol. 61, no. 4, pp. 779–785, 2013.

13. P. Gentile, A. Sterodimas, C. Calabrese, and S. Garcovich, "Systematic review: Advances of fat tissue engineering as bioactive scaffold, bioactive material, and source for adipose-derived mesenchymal stem cells in wound and scar treatment," *Stem cell research & therapy*, vol. 12, no. 1, p. 318, 2021.

14. S. J. Kim, M. J. Kim, Y. J. Lee, J. C. Lee, J. H. Kim, D. H. Kim, Y. H. Do, J. W. Choi, S. I. Chung, and B.-R. Do, "Innovative method of alopecia treatment by autologous adipose-derived SVF," *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 12, pp. 1–9, 2021.

15. P. Skowronek, Ł. Wójcik, and A. Strachecka, "Fat body—multifunctional insect tissue," *Insects*, vol. 12, no. 6, p. 547, 2021.

16. T. Hajri and N. A. Abumrad, "Fatty acid transport across membranes: Relevance to nutrition and metabolic pathology," *Annual review of nutrition*, vol. 22, no. 1, pp. 383–415, 2002.

17. C. M. Mansbach and S. A. Siddiqi, "The biogenesis of chylomicrons," *Annual review of physiology*, vol. 72, no. 1, pp. 315–333, 2010.

18. M. Vaughan, "The metabolism of adipose tissue in vitro," *Journal of Lipid Research*, vol. 2, no. 4, pp. 293–316, 1961.

19. M. Chen, Y. Yang, E. Braunstein, K. E. Georgeson, and C. M. Harmon, "Gut expression and regulation of FAT/CD36: Possible role in fatty acid transport in rat enterocytes," *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 281, no. 5, pp. E916–E923, 2001.

20. R. K. Khouri Jr and R. K. Khouri, "Current clinical applications of fat grafting," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 140, no. 3, pp. 466e–486e, 2017.

21. L. Shih, M. J. Davis, and S. J. Winocour, "The science of fat grafting," in *Seminars in plastic surgery*, 2020, vol. 34, pp. 005–010.

22. S. J. Winocour, "Fat grafting in plastic surgery," in *Seminars in plastic surgery*, 2020, vol. 34, pp. 003–004.

23. P. F. Fournier, "Fat grafting: My technique," *Dermatologic surgery*, vol. 26, no. 12, pp. 1117–1128, 2000.

24. K. P. Schultz, A. Raghuram, M. J. Davis, A. Abu-Ghname, E. Chamata, and R. J. Rohrich, "Fat grafting for facial rejuvenation," in *Seminars in plastic surgery*, 2020, vol. 34, pp. 030–037.

25. K. S. Vyas, H. C. Vasconez, S. Morrison, B. Mogni, S. Linton, L. Hockensmith, T. Kabir, E. Zielins, A. Najor, K. Bakri, and others, "Fat graft enrichment strategies: A systematic review," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 145, no. 3, pp. 827–841, 2020.

26. A. Abu-Ghname, A. T. Perdanasari, and E. M. Reece, "Principles and applications of fat grafting in plastic surgery," in *Seminars in plastic surgery*, 2019, vol. 33, pp. 147–154.

27. F. Simonacci, N. Bertozzi, M. P. Grieco, E. Grignaffini, and E. Raposio, "Procedure, applications, and outcomes of autologous fat grafting," *Annals of medicine and surgery*, vol. 20, pp. 49–60, 2017.

28. D. Kakagia and N. Pallua, "Autologous fat grafting: In search of the optimal technique," *Surgical innovation*, vol. 21, no. 3, pp. 327–336, 2014.

29. J.-W. Groen, V. L. Negenborn, J. W. Twisk, J. C. Ket, M. G. Mullender, and J. M. Smit, "Autologous fat grafting in cosmetic breast augmentation: A systematic review on radiological safety, complications, volume retention, and patient/surgeon satisfaction," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 36, no. 9, pp. 993–1007, 2016.

30. P. Gir, S. A. Brown, G. Oni, N. Kashefi, A. Mojallal, and R. J. Rohrich, "Fat

grafting: Evidence-based review on autologous fat harvesting, processing, reinjection, and storage,” *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 130, no. 1, pp. 249–258, 2012.

31. S. Sinno, S. Wilson, N. Brownstone, and S. M. Levine, “Current thoughts on fat grafting: Using the evidence to determine fact or fiction,” *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 137, no. 3, pp. 818–824, 2016.

32. J. Luck, O. J. Smith, D. Malik, and A. Mosahebi, “Protocol for a systematic review of autologous fat grafting for wound healing,” *Systematic Reviews*, vol. 7, pp. 1–5, 2018.

33. S. Nemir, S. E. Hanson, and C. K. Chu, “Surgical decision making in autologous fat grafting: An evidence-based review of techniques to maximize fat survival,” *Aesthetic surgery journal*, vol. 41, no. Supplement_1, pp. S3–S15, 2021.

34. O. Canizares Jr, J. E. Thomson, R. J. Allen Jr, E. H. Davidson, J. P. Tutela, P. B. Saadeh, S. M. Warren, and A. Hazen, “The effect of processing technique on fat graft survival,” *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 140, no. 5, pp. 933–943, 2017.

35. J. Cai, J. Feng, K. Liu, S. Zhou, and F. Lu, “Early macrophage infiltration improves fat graft survival by inducing angiogenesis and hematopoietic stem cell recruitment,” *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 141, no. 2, pp. 376–386, 2018.

36. P. Yu, Z. Zhai, H. Lu, X. Jin, X. Yang, and Z. Qi, “Platelet-rich fibrin improves fat graft survival possibly by promoting angiogenesis and adipogenesis, inhibiting apoptosis, and regulating collagen production,” *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 40, no. 9, pp. NP530–NP545, 2020.

37. Y. Chai, X. Jia, J. Zhu, C. Jiang, N. Yin, and F. Li, “Increased fat graft survival by promoting adipocyte dedifferentiation,” *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 43, no. 3, pp. NP213–NP222, 2023.

38. Y. Hu, Y. Jiang, M. Wang, W. Tian, and H. Wang, “Concentrated growth factor enhanced fat graft survival: A comparative study,” *Dermatologic Surgery*, vol. 44, no. 7, pp. 976–984, 2018.

39. H. Zheng, Z. Yu, M. Deng, Y. Cai, X. Wang, Y. Xu, L. Zhang, W. Zhang, and W. Li, “Fat extract improves fat graft survival via proangiogenic, anti-apoptotic and proliferative activities,” *Stem cell research & therapy*, vol. 10, pp. 1–13, 2019.

40. S.-J. Pei, Y.-Z. Zhu, J.-M. Yang, M.-C. Zhang, C.-L. Shi, Y. Ding, and Y.-Y. Yi, “Activation of moderate autophagy promotes survival of fat graft,” *The FASEB Journal*, vol. 37, no. 12, p. e23289, 2023.

41. P. Fan, M. Fang, J. Li, M. G. Solari, D. Wu, W. Tan, Y. Wang, X. Yang, and S. Lei, “A novel fat making strategy with adipose-derived progenitor cell-enriched fat improves fat graft survival,” *Aesthetic surgery journal*, vol. 41, no. 9, pp. NP1228–NP1236, 2021.

42. E. Y. Xue, L. Narvaez, C. K. Chu, and S. E. Hanson, “Fat processing techniques,” in *Seminars in plastic surgery*, 2020, vol. 34, pp. 011–016.

43. A. L. Strong, P. S. Cederna, J. P. Rubin, S. R. Coleman, and B. Levi, “The current state of fat grafting: A review of harvesting, processing, and injection techniques,” *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 136, no. 4, pp. 897–912, 2015.

44. C. Fisher, T. L. Grahovac, M. E. Schafer, R. D. Shippert, K. G. Marra, and J. P. Rubin, “Comparison of harvest and processing techniques for fat grafting and adipose stem cell isolation,” *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 132, no. 2, pp. 351–361, 2013.

45. R. Gupta, M. Brace, S. M. Taylor, M. Bezuhly, and P. Hong, “In search of the optimal processing technique for fat grafting,” *Journal of Craniofacial Surgery*, vol. 26, no. 1, pp. 94–99, 2015.

46. K. T. Koshy and W. F. Beyer, “Vitamin D3 (cholecalciferol),” in *Analytical profiles of drug substances*, vol. 13, Elsevier, 1984, pp. 655–715.

47. J.-F. Chabas, D. Stephan, T. Marqueste, S. Garcia, M.-N. Lavaut, C. Nguyen, R. Legre, M. Khrestchatisky, P. Decherchi, and F. Feron, "Cholecalciferol (vitamin D3) improves myelination and recovery after nerve injury," *Plos one*, vol. 8, no. 5, p. e65034, 2013.
48. R. Hupperts, J. Smolders, R. Vieth, T. Holmøy, K. Marhardt, M. Schluep, J. Killestein, F. Barkhof, L. M. Grimaldi, and M. Beelke, "High dose cholecalciferol (vitamin D3) oil as add-on therapy in subjects with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) receiving subcutaneous interferon β /beta-1a (scIFN β /beta-1a)(S44. 005)," *Neurology*, vol. 88, no. 16 supplement, pp. S44–005, 2017.
49. F. Mahmoodani, C. O. Perera, B. Fedrizzi, G. Abernethy, and H. Chen, "Degradation studies of cholecalciferol (vitamin D3) using HPLC-DAD, UHPLC-MS/MS and chemical derivatization," *Food chemistry*, vol. 219, pp. 373–381, 2017.
50. R. Balachandar, R. Pullakhandam, B. Kulkarni, and H. S. Sachdev, "Relative efficacy of vitamin D2 and vitamin D3 in improving vitamin d status: Systematic review and meta-analysis," *Nutrients*, vol. 13, no. 10, p. 3328, 2021.
51. M. Soto-Dávila, K. Valderrama, S. M. Inkpen, J. R. Hall, M. L. Rise, and J. Santander, "Effects of vitamin D2 (ergocalciferol) and D3 (cholecalciferol) on atlantic salmon (*salmo salar*) primary macrophage immune response to *aeromonas salmonicida* subsp. *Salmonicida* infection," *Frontiers in immunology*, vol. 10, p. 3011, 2020.
52. W. Liu, L. Zhang, H.-J. Xu, Y. Li, C.-M. Hu, J.-Y. Yang, and M.-Y. Sun, "The anti-inflammatory effects of vitamin d in tumorigenesis," *International journal of molecular sciences*, vol. 19, no. 9, p. 2736, 2018.
53. L. K. A. M. Leal, L. A. Lima, P. E. A. de Aquino, J. A. C. de Sousa, C. V. J. Gadelha, I. B. F. Calou, M. J. P. Lopes, F. A. V. Lima, K. R. T. Neves, G. M. de Andrade, and others, "Vitamin d (VD3) antioxidative and anti-inflammatory activities: Peripheral and central effects," *European journal of pharmacology*, vol. 879, p. 173099, 2020.
54. F. Colotta, B. Jansson, and F. Bonelli, "Modulation of inflammatory and immune responses by vitamin d," *Journal of autoimmunity*, vol. 85, pp. 78–97, 2017.
55. M. Krajewska, E. Witkowska-Sędek, M. Rumińska, A. Stelmaszczyk-Emmel, M. Sobol, A. Majcher, and B. Pyrzak, "Vitamin d effects on selected anti-inflammatory and pro-inflammatory markers of obesity-related chronic inflammation," *Frontiers in Endocrinology*, vol. 13, p. 920340, 2022.
56. E. Chang, "Effects of vitamin d supplementation on adipose tissue inflammation and NF- κ /kappab/AMPK activation in obese mice fed a high-fat diet," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 18, p. 10915, 2022.
57. M. Infante, C. Ricordi, N. Padilla, A. Alvarez, E. Linetsky, G. Lanzoni, A. Mattina, F. Bertuzzi, A. Fabbri, D. Baidal, and others, "The role of vitamin d and omega-3 PUFAs in islet transplantation," *Nutrients*, vol. 11, no. 12, p. 2937, 2019.
58. Y.-J. Bai, Y.-M. Li, S.-M. Hu, Y.-G. Zou, Y.-F. An, L.-L. Wang, and Y.-Y. Shi, "Vitamin d supplementation reduced blood inflammatory cytokines expression and improved graft function in kidney transplant recipients," *Frontiers in Immunology*, vol. 14, p. 1152295, 2023.
59. O. Y. Matsehorova and V. Odyntsova, "Prospects for the creation of new phytochemical medicinal products based on *myrtus communis* l.(a review)," 2024.
60. M. M. Dabbaghi, M. S. Fadaei, H. Soleimani Roudi, V. Baradaran Rahimi, and V. R. Askari, "A review of the biological effects of *myrtus communis*," *Physiological reports*, vol. 11, no. 14, p. e15770, 2023.
61. O. Y. Matsehorova and V. Odyntsova, "The anatomical and micromorphological structure of *myrtus communis* l. leaves," 2024.
62. A. B. M. Vaz, P. L. C. Fonseca, F. F. Silva, G. Quintanilha-Peixoto, I. Sampedro, J. A. Siles, A. Carmo, R. B. Kato, V. Azevedo, F. Badotti, and others, "Foliar

mycoendophytome of an endemic plant of the mediterranean biome (*myrtus communis*) reveals the dominance of basidiomycete woody saprotrophs,” *PeerJ*, vol. 8, p. e10487, 2020.

63. M. Maldini, M. Chessa, G. L. Petretto, P. Montoro, J. P. Rourke, M. Foddai, M. Nicoletti, and G. Pintore, “Profiling and simultaneous quantitative determination of anthocyanins in wild *myrtus communis* l. Berries from different geographical areas in sardinia and their comparative evaluation,” *Phytochemical Analysis*, vol. 27, no. 5, pp. 249–256, 2016.

64. C. Giuliani, M. Bottoni, F. Milani, S. Todero, P. Berera, F. Maggi, L. Santagostini, and G. Fico, “Botanic garden as a factory of molecules: *Myrtus communis* l. Subsp. *Communis* as a case study,” *Plants*, vol. 11, no. 6, p. 754, 2022.

65. J. Asgarpanah and A. Ariamanesh, “Phytochemistry and pharmacological properties of *myrtus communis* l.” 2015.

66. S. Belahcene, W. Kebsa, T. V. Akingbade, H. I. Umar, D. A. Omoboyowa, A. A. Alshihri, A. Abo Mansour, A. H. Alhasaniah, M. A. Oraig, Y. Bakkour, and others, “Chemical composition antioxidant and anti-inflammatory activities of *myrtus communis* l. Leaf extract: Forecasting ADMET profiling and anti-inflammatory targets using molecular docking tools,” *Molecules*, vol. 29, no. 4, p. 849, 2024.

67. S. Cruciani, S. Santaniello, G. Garroni, A. Fadda, F. Balzano, E. Bellu, G. Sarais, G. Fais, M. Mulas, and M. Maioli, “*Myrtus polyphenols*, from antioxidants to anti-inflammatory molecules: Exploring a network involving cytochromes P450 and vitamin d,” *Molecules*, vol. 24, no. 8, p. 1515, 2019.

68. S. Belahcene, W. Kebsa, D. A. Omoboyowa, A. A. Alshihri, M. Alelyani, Y. Bakkour, and E. Leghouchi, “Unveiling the chemical profiling antioxidant and anti-inflammatory activities of algerian *myrtus communis* l. Essential oils, and exploring molecular docking to predict the inhibitory compounds against cyclooxygenase-2,” *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 10, p. 1343, 2023.

69. H. Mechchate, C. E. de Castro Alves, I. Es-Safi, A. Amaghnouje, F. Z. Jawhari, R. Costa de Oliveira, A. de Freitas Gomes, R. Conte, G. Soares Pontes, D. Bousta, and others, “Antileukemic, antioxidant, anti-inflammatory and healing activities induced by a polyphenol-enriched fraction extracted from leaves of *myrtus communis* l.” *Nutrients*, vol. 14, no. 23, p. 5055, 2022.

70. O. Ozcan, H. Ipekci, B. Alev, U. V. Ustundag, A. Sen, E. Emekli-Alturfan, G. Sener, A. Yarat, and T. Tunalı-Akbay, “The effect of *myrtus communis* l. Ethanol extract on the small intestine and lungs in experimental thermal burn injury,” *Journal of thermal biology*, vol. 93, p. 102685, 2020.

71. L. L. Pu, “Mechanisms of fat graft survival,” *Annals of plastic surgery*, vol. 77, pp. S84–S86, 2016.

72. F. Li, W. Guo, K. Li, M. Yu, W. Tang, H. Wang, and W. Tian, “Improved fat graft survival by different volume fractions of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells,” *Aesthetic surgery journal*, vol. 35, no. 3, pp. 319–333, 2015.

73. X. Hao, Y. Guo, R. Wang, X. Yu, L. He, and M. Shu, “Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells promote survival of fat grafts by regulating macrophage polarization via let-7c,” *Acta biochimica et biophysica Sinica*, vol. 53, no. 4, pp. 501–510, 2021.

74. Y. Zhu, J. Zhang, X. Hu, Z. Wang, S. Wu, and Y. Yi, “Extracellular vesicles derived from human adipose-derived stem cells promote the exogenous angiogenesis of fat grafts via the let-7/AGO1/VEGF-A signalling pathway,” *Scientific reports*, vol. 10, no. 1, p. 5313, 2020.

75. F. Yu, N. Witman, D. Yan, S. Zhang, M. Zhou, Y. Yan, Q. Yao, F. Ding, B. Yan, H. Wang, and others, “Human adipose-derived stem cells enriched with VEGF-A-

modified mRNA promote angiogenesis and long-term graft survival in a fat graft transplantation model,” *Stem cell research & therapy*, vol. 11, pp. 1–20, 2020.

76. Y. Han, J. Ren, Y. Bai, X. Pei, and Y. Han, “Exosomes from hypoxia-treated human adipose-derived mesenchymal stem cells enhance angiogenesis through VEGF-A/VEGF-A-r,” *The international journal of biochemistry & cell biology*, vol. 109, pp. 59–68, 2019.

77. X. Niu, Z. Lai, X. Chen, F. Lu, J. Gao, and Y. Yuan, “A short-term high-fat diet improved the survival of fat grafts in mice by promoting macrophage infiltration and angiogenesis,” *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 10, p. 856839, 2022.

78. J. Lin, S. Zhu, Y. Liao, Z. Liang, Y. Quan, Y. He, J. Cai, and F. Lu, “Spontaneous browning of white adipose tissue improves angiogenesis and reduces macrophage infiltration after fat grafting in mice,” *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 10, p. 845158, 2022.

79. S. K. Jain, R. Parsanathan, A. E. Achari, P. Kanikarla-Marie, and J. A. Bocchini Jr, “Glutathione stimulates vitamin d regulatory and glucose-metabolism genes, lowers oxidative stress and inflammation, and increases 25-hydroxy-vitamin d levels in blood: A novel approach to treat 25-hydroxyvitamin d deficiency,” *Antioxidants & redox signaling*, vol. 29, no. 17, pp. 1792–1807, 2018.

80. S. K. Jain, J. Justin Margret, S. A. Abrams, S. N. Levine, and K. Bhusal, “The impact of vitamin d and l-cysteine co-supplementation on upregulating glutathione and vitamin d-metabolizing genes and in the treatment of circulating 25-hydroxy vitamin d deficiency,” *Nutrients*, vol. 16, no. 13, p. 2004, 2024.

81. S. K. Jain, P. Kanikarla-Marie, C. Warden, and D. Micinski, “L-cysteine supplementation upregulates glutathione (GSH) and vitamin d binding protein (VDBP) in hepatocytes cultured in high glucose and in vivo in liver, and increases blood levels of GSH, VDBP, and 25-hydroxy-vitamin d in Zucker diabetic fatty rats,” *Molecular nutrition & food research*, vol. 60, no. 5, pp. 1090–1098, 2016.

82. R. Parsanathan and S. K. Jain, “Glutathione deficiency induces epigenetic alterations of vitamin d metabolism genes in the livers of high-fat diet-fed obese mice,” *Scientific reports*, vol. 9, no. 1, p. 14784, 2019.

83. M. Sepidarkish, F. Farsi, M. Akbari-Fakhrabadi, N. Namazi, A. Almasi-Hashiani, A. M. Hagiagha, and J. Heshmati, “The effect of vitamin d supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials,” *Pharmacological research*, vol. 139, pp. 141–152, 2019.

84. M. G. A. Ansari, S. Sabico, M. Clerici, M. N. K. Khattak, K. Wani, S. Al-Musharaf, O. E. Amer, M. S. Alokail, and N. M. Al-Daghri, “Vitamin d supplementation is associated with increased glutathione peroxidase-1 levels in Arab adults with prediabetes,” *Antioxidants*, vol. 9, no. 2, p. 118, 2020.

85. S. K. Jain and D. Micinski, “Vitamin d upregulates glutamate cysteine ligase and glutathione reductase, and GSH formation, and decreases ROS and MCP-1 and IL-8 secretion in high-glucose exposed U937 monocytes,” *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 437, no. 1, pp. 7–11, 2013.

86. K. Buscher, B. Heitplatz, V. van Marck, J. Song, S. Loismann, R. Rixen, B. Hüchtmann, S. Kurian, E. Ehinger, D. Wolf, and others, “Data-driven kidney transplant phenotyping as a histology-independent framework for biomarker discovery,” *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 32, no. 8, pp. 1933–1945, 2021.

87. A. T. Meszaros, A. Weissenbacher, M. Schartner, T. Egelseer-Bruendl, M. Hermann, J. Unterweger, C. Mittelberger, B. A. Reyer, J. Hofmann, B. G. Zelger, and others, “The predictive value of graft viability and bioenergetics testing towards the outcome in liver transplantation,” *Transplant International*, vol. 37, p. 12380, 2024.

88. X. Liao, X. Wang, Z. Xu, S. Guo, C. Gu, Z. Jin, T. Su, Y. Chen, H. Xue, and

M. Yang, "Assessment of facial autologous fat grafts using dixon magnetic resonance imaging," *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, vol. 12, no. 5, p. 2830, 2022.

89. G.-H.-E. Wang, J.-F. Zhao, H.-Y. Xue, and D. Li, "Facial aesthetic fat graft retention rates after filtration, centrifugation, or sedimentation processing techniques measured using three-dimensional surface imaging devices," *Chinese Medical Journal*, vol. 132, no. 1, pp. 69–77, 2019.

90. K. Zhang, X. Chen, P. Zhang, and G. Liu, "Perilipin2 is an earlier marker than perilipin1 for identifying adipocyte regeneration in fat grafts," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 41, no. 6, pp. NP646–NP652, 2021.

91. R. M. Garza, R. C. Rennert, K. J. Paik, D. Atashroo, M. T. Chung, D. Duscher, M. Januszyk, G. C. Gurtner, M. T. Longaker, and D. C. Wan, "Studies in fat grafting: Part IV. Adipose-derived stromal cell gene expression in cell-assisted lipotransfer," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 135, no. 4, pp. 1045–1055, 2015.

92. X. Liu, Y. Yao, Y. Zhu, F. Lu, and X. Chen, "Inhibition of adipocyte necroptosis alleviates fat necrosis and fibrosis after grafting in a murine model," *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 44, no. 8, pp. NP585–NP605, 2024.

93. H. Carr, M. Asaad, Y. Wu, C. Branch-Brooks, Q. Zhang, P. Hematti, and S. E. Hanson, "Differential secretomes of processed adipose grafts, the stromal vascular fraction, and adipose-derived stem cells," *Stem Cells and Development*, vol. 33, no. 17–18, pp. 477–483, 2024.

94. S. M. Sultan, J. S. Barr, P. Butala, E. H. Davidson, A. L. Weinstein, D. Knobel, P. B. Saadeh, S. M. Warren, S. R. Coleman, and A. Hazen, "Fat grafting accelerates revascularisation and decreases fibrosis following thermal injury," *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery*, vol. 65, no. 2, pp. 219–227, 2012.

95. G. Liu, K. Zhang, Y. Shi, and Y. Lai, "Glabellar wrinkle correction by autologous fat transplantation and evidence of human adipose tissue regeneration in a nude mouse model," *Journal of Cosmetic Dermatology*, vol. 20, no. 10, pp. 3213–3219, 2021.

96. M. Li, P. Hener, Z. Zhang, S. Kato, D. Metzger, and P. Chambon, "Topical vitamin D3 and low-calcemic analogs induce thymic stromal lymphopoietin in mouse keratinocytes and trigger an atopic dermatitis," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, no. 31, pp. 11736–11741, 2006.

97. H. Y. A. Nafaisa, F. Waskito, R. Martien, and R. Danarti, "Administration of vitamin D3 topical in increasing serum vitamin d level: A literature review," *Journal of General-Procedural Dermatology & Venereology Indonesia*, vol. 8, no. 1, p. 11, 2024.

98. J. Berth-Jones and P. Hutchinson, "Vitamin d analogues and psoriasis," *British Journal of Dermatology*, vol. 127, no. 2, pp. 71–78, 1992.

99. M. Ghoreishi, P. Bach, J. Obst, M. Komba, J. C. Fleet, and J. P. Dutz, "Expansion of antigen-specific regulatory t cells with the topical vitamin d analog calcipotriol," *The Journal of Immunology*, vol. 182, no. 10, pp. 6071–6078, 2009.

100. K. Kirkwood, T. Van Dyke, C. Kirkwood, L. Zhang, J. Panezai, A. Duran-Pinedo, E. Figgins, L. Ryan, J. Frias-Lopez, and G. Diamond, "Topical vitamin d prevents bone loss and inflammation in a mouse model," *Journal of Dental Research*, vol. 103, no. 9, pp. 908–915, 2024.

101. H. Hoseinrad, J. K. Shahrestanaki, M. Moosazadeh Moghaddam, A. Mousazadeh, P. Yadegari, and N. Afsharzadeh, "Protective effect of vitamin D3 against pb-induced neurotoxicity by regulating the Nrf2 and NF- κ B pathways," *Neurotoxicity research*, vol. 39, no. 3, pp. 687–696, 2021.

102. P. E. Pfeffer, H. Lu, E. H. Mann, Y.-H. Chen, T.-R. Ho, D. J. Cousins, C. Corrigan, F. J. Kelly, I. S. Mudway, and C. M. Hawrylowicz, "Effects of vitamin d on inflammatory and oxidative stress responses of human bronchial epithelial cells exposed

to particulate matter,” PloS one, vol. 13, no. 8, p. e0200040, 2018.

103. L. Xin, B. Che, B. Zhai, Q. Luo, C. Zhang, J. Wang, S. Wang, G. Fan, Z. Liu, J. Feng, and others, “1, 25-dihydroxy vitamin d 3 attenuates the oxidative stress-mediated inflammation induced by PM 2.5 via the p38/NF- κ B/NLRP3 pathway,” Inflammation, vol. 42, pp. 702–713, 2019.

104. W. Zhou, G. Yuan, and Q. Wang, “Vitamin d attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response in endothelial cells through inhibition of PI3K/akt/NF- κ B signaling pathway,” Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 74, no. 7, pp. 412–417, 2019.

105. D. Ma, R. Zhang, Y. Wen, W. Yin, D. Bai, G. Zheng, J. Li, B. Zheng, and J. Wen, “1, 25 (OH) 2D3-induced interaction of vitamin d receptor with p50 subunit of NF- κ B suppresses the interaction between KLF5 and p50, contributing to inhibition of LPS-induced macrophage proliferation,” Biochemical and biophysical research communications, vol. 482, no. 2, pp. 366–374, 2017.

