

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**L-ARJİNİN, L-GLUTAMİN VE HİDROKSİ METİL BÜTİRAT
İÇERİKLİ BESLENME ÜRÜNÜ UYGULAMASININ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Özge KÖY**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya TAŞDEMİR**

Uzmanlık Tezi

**Eylül 2018
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**L-ARJİNİN, L-GLUTAMİN VE HİDROKSİ METİL BÜTİRAT
İÇERİKLİ BESLENME ÜRÜNÜ UYGULAMASININ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

(Uzmanlık Tezi)

**Hazırlayan
Özge KÖY**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya TAŞDEMİR**

**(Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TDH-2016-6926 kodlu proje ile desteklenmiştir.)**

**Eylül 2018
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Özge KÖY

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“L-arjinin, L-glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli beslenme ürünü uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin incelenmesi” adlı Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

ÖZGE KÖY

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya TAŞDEMİR

Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Servet KESİM

Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya TAŞDEMİR danışmanlığında **Özge Köy** tarafından hazırlanan “**L-arjinin, L-glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli beslenme ürünü uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin incelenmesi**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi **Periodontoloji** Anabilim Dalı’nda **Uzmanlık** tezi olarak kabul edilmiştir.

.... / / 2018

JÜRİ

İmza

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya TAŞDEMİR

Üye : Doç. Dr. Servet KESİM

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hanifi EROL

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Adnan ÖZTÜRK
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık sürecimin başından sonuna kadar her zaman yanımda olan ve benimle bilgisini, deneyimini sabırla paylaşan, hayatımda önemli yere sahip danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya Taşdemir'e sonsuz teşekkür ederim. Bu şehirde ilk günden beri tüm enerjisi ve tatlılığıyla bana güç olan Dr. Öğr. Üyesi İnci Devrim'e, kısa sürede birçok anı biriktirdiğim Dr. Öğr. Üyesi Duygu Kılıç'a ve her defasında beni dinleyen, anlayan, deneyimlerini paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Servet Kesim'e çok teşekkür ederim. Tüm çalışma arkadaşlarıma, klinik ekibine ve tezime buldukları katkıdan dolayı Doç. Dr. Arzu Yay'a ve Dr. Öğr. Üyesi Hanifi Erol'a teşekkür ederim.

TDH-2016-6926 kodlu projemi yapmama destek olan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonuna teşekkür ederim.

Son olarak bu zamana kadar hiçbir anımı kaçırmayan, bildiğim en güçlü kadın, biricik öğretmenim, hayatımın mimarı anneme ve canım aileme tekrar tekrar teşekkür ederim.

Özge KÖY

Kayseri, Eylül 2018

L-ARJİNİN, L-GLUTAMİN VE HİDROKSİ METİL BÜTİRAT İÇERİKLİ BESLENME ÜRÜNÜ UYGULAMASININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Özge KÖY

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Periodontoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi, Eylül 2018

Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya TAŞDEMİR

ÖZET

Bu çalışmanın amacı l-arjinin, l-glutamin ve hidroksi metil bütirat (HMB) içerikli beslenme ürünü uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesidir. Ayrıca ürünün apoptotik etkileri de incelenmiştir. Toplam 40 adet wistar albino cinsi erkek rat test (l-arjinin, l-glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli beslenme ürünü verilen grup) ve kontrol grubu olmak üzere 2 gruba eşit sayıda ayrıldı. Kontrol ve test grupları da kendi içerisinde 3. gün ve 7. gün sakrifiye edilenler olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Hayvanların maksiller 1. molar dişlerinin 1mm apikalinden disposable punch materyali ile dişeti dokusu çıkarıldı ve deney boyunca gavaj yoluyla test grubundaki hayvanlara l-arjinin, l-glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli beslenme ürünü verildi. Hayvanlar 3. ve 7.günlerde sakrifiye edildi. Genel histolojik yapının belirlenmesi amacıyla kesitler Hematoksilen-Eosin (HE) veya Masson-Trichrom (MT) ile boyandı. HE ile boyanan kesitlerde yara morfolojisi değerlendirilirken, MT ile boyanan kesitler kollajen birikimini göstermek için kullanıldı. Deneyin 3. ve 7. günlerinde yara bölgesinde büyüyen epitelyal dildeki çoğalan keratinositler için bir belirteç olarak sitokeratin 6 (CK6); epidermal kök hücrelerinin belirlenmesi için sitokeratin 15 (CK15) ekspresyonu immünohistokimyasal olarak gösterildi. Deney sonunda elde edilen dokulara ait tüm kesitlerde apoptotik hücreleri belirlemek için terminal deoxynucleotide-transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) metodu uygulandı. HE ve MT boyama sonuçları, Abound-R uygulamasının yara kapanma süresini kısalttığı, kollajen sentezini arttırdığı ve yara morfolojisini düzelttiğini gösterdi ($p<0.05$). İmmünohistokimyasal analizler CK6 ve CK15 ekspresyonunun, l-arjinin, l-glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli beslenme ürünü uygulanan test gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel anlamlı şekilde daha yüksek olduğu göstermiştir ($p<0.05$) Bu çalışmanın limitleri dahilinde sonuçlarımız l-arjinin, l-glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli

beslenme ürünü kullanımının hem histomorfolojik hem de histokimyasal olarak yara iyileşmesine pozitif yönde etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: yara iyileşmesi, arjinin, glutamin, sitokeratin 6, sitokeratin 15



INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF L-ARGININ, L-GLUTAMIN AND HYDROXY METHYL BUTYRATE-BASED ON WOUND HEALING

ÖZGE KÖY

Erciyes Univesity, Institute of Health Science

Department of Periodontology

Doctoral Thesis, September 2018

Supervisor: Dr. Zekeriya TAŞDEMİR

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of L-arginine, L-glutamine and Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on wound healing by histological and immunohistochemical. Apoptotic effects of product was also investigated. A total of 40 wistar albino male rats were divided into two groups; Test(1-arginine, l-glutamine and hydroxy methyl butyrate containing nutrient products) and control group. Control and test groups were also divided into 2 groups according to sacrifice days; 3 and 7 days. Gingival tissues were removed from 1mm apical of maxillary first molar teeth of the animals. 1-arginine, l-glutamine and hydroxy methyl butyrate containing nutrient products were given to test animals by gavage throughout the experiment period. Rats were sacrificed at 3 and 7 days. Sections were stained with Hematoxylin-eosin (HE) and Masson- Trichrome (MT) to determine the general histological structure. Wound morphology was evaluated in HE stained sections, while sections stained with masson trichrome were used to demonstrate collagen accumulation. Cytokeratin 6 (CK6) used as a marker proliferating keratinocytes on growing epithelial extension in the wound area on 3 and 7 of the experiment and cytokeratin 15 (CK15) expression was shown immunohistochemically for the identification of epidermal stem cells. Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) -mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) method was used to determine apoptotic cells in all sections of the tissues obtained at the end of the experiment. Results of HE and MT staining showed that Abound-R shortened the wound closure period, increased collagen synthesis and improved wound morphology ($p<0.05$) Immunohistochemical analysis showed that the expression of CK6 and CK15 was significantly higher in the Abound-R treated test groups than in the control group ($p<0.05$). Within the limits of this study, our results revealed that usage of the 1-arginine, 1-glutamine and hydroxy methyl butyrate containing nutritional products showed positive effect on wound healing both histomorphologically and histochemically.

Keywords: Wound healing, arginine, glutamine, cytokeratin 6, cytokeratin 15

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Diş Eti	4
2.1.1. Bağ Doku (Lamina Propria).....	5
2.1.1.1. Bağ dokusunun hücresel bileşenleri.....	5
2.1.1.2. Epitel - bağ doku birleşimi.....	6
2.1.2. Epitel Doku	6
2.1.2.1. Keratinositler.....	7
2.1.2.2. Epidermal Kök Hücreler.....	9
2.1.2.2.1. CK6, CK15	10
2.2. Yara.....	11
2.2.1. Primer yara iyileşmesi	11
2.2.2. Sekonder yara iyileşmesi	12
2.2.3. Tersiyer yara iyileşmesi	12
2.3. Yara İyileşme Fazları.....	13
2.3.1. Hemostaz.....	14
2.3.2. İnflamasyon.....	16
2.3.3. Proliferasyon	18
2.3.4. Maturasyon (Remodelling)	19
2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	20
2.5. Arjinin	21
2.6. Glutamin.....	22

2.7. HMB	23
2.8. L-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü (abound)	
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	26
3.1. Çalışma Dizaynı	26
3.2. Hayvanların uyutulması ve damakta yara yeri oluşturulması	27
3.3. Beslenme solüsyonu hazırlanması ve gavaj yoluyla verilmesi	28
3.4. 3. Gün ve 7. Gün Sakrifikasyon	29
3.5. Histolojik Metodlar.....	32
3.5.1. Histolojik Doku Takip Yöntemi.....	32
3.5.2.İmmünohistokimya Boyama Yöntemi.....	34
3.5.3.TUNEL boyama metodu.....	35
3.6. Histomorfometrik İncelemeler	35
3.6.1. HE ve MT boyamada histomorfometrik incelemeler	35
3.6.2.İHK boyamalarda histomorfometrik incelemeler	36
3.6.3.TUNEL boyamalarda histomorfometrik incelemeler.....	36
3.7.İstatiksel Analiz	36
4.BULGULAR	37
4.1.Işık Mikroskobu Bulguları	37
4.2. İmmunohistokimyasal bulgular	48
4.2.1. CK6.....	48
4.2.2. CK15.....	48
4.3. Tunel Sonuçları.....	53
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	56
6.KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

ATP:	Adenozin Trifosfat
CK:	Sitokeratin
DCIS:	Duktal Carsinoma In Situ
DEKBF:	Damar Endotel Kaynaklı Büyüme Faktörü
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
EBF:	Epidermal Büyüme Faktörü
EBFR:	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
EKH:	Epidermal Kök Hücre
FBF:	Fibroblast Büyüme Faktörü
HE:	Hemotoksilen- Eozin
HETE:	Hidroksieikazotetraenoikasit
HMB:	Hidroksi Metil Bütirat
HY- EBF:	Heparin Yüklü Epidermal Büyüme Faktörü
IBF:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IF:	Intermediyer Filaman
IFE:	Interfolliküler Epidermis
IHK:	Immunohistokimyasal
IL:	Interlökin
IM:	Intramuskuler
IP:	Intraperitoneal
KBF:	Keratinosit Büyüme Faktörü
KF:	Kıl Follikülü
KIC:	Ketoizocaproate
MAP:	Mitojen Aktif Protein
MMP:	Matriks Metalloproteinaz
MPDI:	Metalloproteinaz Doku İnhibütörü
MT:	Masson Trichrom
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
PIEF:	Proteoliz İnhibe Edici Faktör
PKC:	Protein Kinaz C
SCC:	Skvamöz Hücreli Karsinom
TBF:	Tümör Büyüme Faktörü
TKBF:	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
TNF:	Tümör Nekroz Faktörü
TRBF:	Transforme Edici Büyüme Faktörü
TSP:	Trombospondin
TUNEL:	Terminaldeoksinükleotid-transferaz-mediated DUTP nick end labeling
VEBF:	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.....	20
Tablo 2: Doku hazırlama metodu.....	32
Tablo 3: HE Boyama Yöntemi	33
Tablo 4: MT Boyama Yöntemi.....	33
Tablo 5: Işık mikroskobu bulgularının karşılaştırılması	39
Tablo 6: CK6 ve CK15 ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırılması	49



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Yara iyileşmesi evrelerinin süreç şeması	14
Şekil 2: Pıhtılaşmada ekstrensek ve intrinsek yollar	15
Şekil 3: Hemostaz mekanizmasının şematik gösterimi	16
Resim 6: Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı	17
Resim 7: Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı	19
Şekil 4: Arjininin molekül yapısı.....	22
Şekil 5: Glutamin moleküler yapısı	22
Şekil 6: Glutamin sentezi	23
Şekil 7: Lösin, α -KIC ve HMB'nin metabolizması.....	25
Şekil 8: Çalışmanın şematizasyonu	27
Resim 8: Cerrahi işleme hazırlık aşaması	28
Resim 9: Abound içeren solüsyonun gavaj yoluyla verilmesi	29
Resim 10: Üst çene bölgesinin diske edilmesi	30
Resim 11: Çalışma bölgesinin ayrılması.....	30
Resim 12: Örneklerin %10'luk formaldehit solüsyonuna alınması.....	31
Resim 13: 3. Günde deney ve kontrol gruplarının ayrılması	31
Resim 14: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızı ok yara dilleri arası uzaklığı gösterirken kare içine alınmış alanlar 20'lik büyütmede incelenen alanları göstermektedir)	39
Resim 15: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızı çizgiler ile gösterilen alan resim 14'de sol tarafta görülen kare kısmı içerisindeki yara dilinin uzunluğunun nasıl çizildiğini göstermektedir).....	40
Resim 16: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızı çizgiler ile gösterilen alan resim 14'de sağ tarafta görülen kare kısmı içerisindeki yara dilinin uzunluğunun nasıl çizildiğini göstermektedir).....	40
Resim 17: Kontrol grubu 3. gün örneği (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1 ve 2 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır).....	41
Resim 18: Kontrol grubu 3. gün örneğinin 1. kare içerisine alınmış alan örnekte (resim 17) total kollajen miktarı ölçülmüştür.....	41
Resim 19: Kontrol grubu 3. gün örneğinin 2. kare içerisine alınmış alan örnekte (resim 17) total kollajen miktarı ölçülmüştür.....	42

Resim 20: Kontrol grubu 7. gün örneği (kırmızı ok yara dilleri arası uzaklığı gösterirken kare içine alınmış alanlar 20'lik büyütmede incelenen alanları göstermektedir)	42
Resim 21: Kontrol grubu 7. gün örneklerinde yara dillerinin görüntüsü (resim 20'de kare içerisine alınan alanlar)	43
Resim 22: Kontrol grubu 7. gün örneği (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1 ve 2 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır).....	43
Resim 23: Kontrol grubu 7.gün örneklerinde yara dillerinin altında kalan total bağ dokusu alanları (resim 22'de kare içerisine alınan alanlar)	44
Resim 24: Deney grubu 3. gün (kırmızı ok yara dilleri arası uzaklığı gösterirken kare içine alınmış alanlar 20'lik büyütmede incelenen alanları göstermektedir).....	44
Resim 25: Deney grubu 3. gün örneklerinde yara dillerinin görüntüsü (resim 24 'de kare içerisine alınan alanlar)	45
Resim 26: Deney grubu 3. gün (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1 ve 2 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır).....	45
Resim 27: Deney grubu 3.gün örneklerinde yara dillerinin altında kalan total bağ dokusu alanları (resim 26'da kare içerisine alınan alanlar)	46
Resim 28: Deney grubu 7. gün (yara bölgesinin tamamen epitelize olduğu görülmektedir)	46
Resim 29: Deney grubu 7. gün örneklerinde yara dillerinin görüntüsü (resim 28 'de kare içerisine alınan alanlar)	47
Resim 30: Deney grubu 7. gün (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1,2 ve 3 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır).....	47
Resim 31: Deney grubu 3. gün örneklerinde yara dillerinin altında kalan total bağ dokusu alanları (resim 30'da kare içerisine alınan alanlar). Yara dokusu altında artmış bağ dokusu alanları mavi renkte görülmektedir.	48
Resim 32: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızıyla gösterilen alan epitel alanını göstermektedir). Kahverengi alanlar CK6 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir.	49
Resim 33: Deney grubu 3. gün örneği (kahverengi alanlar CK6 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir).....	50

Resim 34: Kontrol grubu 7. gün (kırmızı ile sınırlanmış alan epitel alanı göstermektedir) (kahverengi alanlar CK6 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir).....	50
Resim 35: Deney grubu 7. gün (kahverengi alanlar CK6 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir).	51
Resim 36: Kontrol grubu 3. gün (kırmızıyla çizilen olan bölgelerde (bazal tabakada) CK15 ekspresyon yoğunlukları hesaplanmıştır)	51
Resim 37: Kontrol grubu 7. gün (ilk 3 sıra bazal tabaka hücrelerinde görülen CK15 ekspresyonu daha koyu olarak görülmektedir).....	52
Resim 38: Deney grubu 3. gün (bazal tabakadaki koyu kısımlar CK15 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir)	52
Resim 39: Deney grubu 7. gün (bazal tabakadaki koyu kısımlar CK15 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir)	53
Resim 40: Kontrol 3. gün tünel sonuçları (immunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. Filtrede (TUNEL) sadece tünel pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir) Yeşille gösterilen oklar tünel pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir.).....	54
Resim 41: Kontrol 7. gün tünel sonuçları (İmmunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. Filtrede (TUNEL) sadece TUNEL pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir. Yeşille gösterilen oklar tünel pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir.).....	54
Resim 42: Deney 3. gün TUNEL sonuçları (İmmunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. Filtrede (TUNEL) sadece tünel pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir)	54
Resim 43: Deney 7.gün sonuçları (immunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. Filtrede (TUNEL) sadece tünel pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri	

mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir) Yeşille gösterilen oklar TUNEL pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir.)..... 55

Grafik 1: Grupların tünel sonuçlarının karşılaştırılması 55



1.GİRİŞ ve AMAÇ

Yara, canlı dokunun kimyasal, fiziksel, cerrahi veya farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması veya doku kaybı sonucuyla organizmanın fizyolojisinin geçici olarak ya da tümüyle yitirilmesidir. Yara iyileşmesi yapısal veya fonksiyonel olarak doku bütünlüğünün tekrar kazanılması amacını içeren bir dizi biyokimyasal ve hücrel olayları kapsamaktadır (1-3). Yara iyileşmesi primer, sekonder ve tersiyer iyileşmeyle sonuçlanabilir (1).

Yara iyileşmesi aslında birbirinden ayrı düşünülmemesi gereken kompleks 4 evreden meydana gelir. Bu evreler; hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve maturasyondur. Ayrıca bireyin sistemik faktörleri ve ortam şartlarından etkilenerek şekillenen bir süreçtir. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler sistemik ve lokal faktörler olmak üzere 2' ye ayrılmaktadır. İyileşmenin, beklenen derecede sonuçlanması için bu koşulların çok yönlü olarak ele alınması ve değerlendirilmesi gerekmektedir (1). Yara iyileşmesini etkileyen faktörlerin en önemli bileşenlerinden biri bireyin günlük beslenme şekli ve içeriğidir (4). Oral bölgede meydana gelen yaralar, beslenmeyi de etkilediği için ayrıca değerlendirilmesi gereken yaralardır. Oral bölgede meydana gelen yaraların iyileşme sürecini değerlendirmek için bu bölgenin özelliklerini bilmek oldukça önemlidir. Oral mukoza; diş eti ve sert damağı kaplayan çiğneme mukozası; dilin sırtını örten özelleşmiş mukoza; ve örtücü mukoza olarak adlandırılan geri kalan kısmı içermektedir. Ayrıca keratinize, parakeratinize veya nonkeratinize olabilir. Çiğneme mukozası keratinize veya parakeratinize, dil sırtı epiteli keratinize, örtücü mukoza ise nonkeratinize epitelidir (5). Keratinize oral epitel 4 tabakadan oluşmaktadır: Bu tabakalar; bazal, spinöz, granüler ve keratinize tabakadır (6). Hücrel içeriğe bakıldığında epidermisin başlıca hücrel bileşeni olan keratinositler göze çarpmaktadır.

Keratinositler sadece bariyer yapısında değil, aynı zamanda hasar gören bölgenin restorasyonu olan epitelizasyon süreci içinde çok önemli role sahiptir. Keratinositler, bazal tabakadan epitel yüzeyine doğru göçerken sürekli farklılaşma geçirmekte ve özelleşmeye uğramaktadırlar (7). CK6 ve CK15 kolay elde edilebilen epidermal kök hücre belirteçleridir ve yara iyileşmesi esnasında salındıkları için yara iyileşmesi göstergesi olarak değerlendirilebilirler. CK6, çoğalan epitelium tabakası için bir belirteçtir ve ayrıca epidermis tabakasının özelleşmiş epitelindeki keratinositlerde yoğun olarak eksprese olur. CK15 ise epidermal kök hücrelerinin belirlenmesinde en faydalı markerdir (8).

Literatürler incelendiğinde son dönemde yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmaların oldukça popüler olduğu görülmüştür (9-12). Yine literatüre bakıldığında diş hekimliği alanında beslenme ürünlerinin incelendiği birçok çalışma görülmektedir (13-15). Ağız cerrahileri sonrası hastaların beslenme zorlukları yaşadıkları ve beslenmenin de yara iyileşmesi üzerine etkileri göz önüne alındığında hastaların post-operatif dönemde iyi beslenebilmeleri oldukça önemlidir. Fakat kullanılacak ürünlerin içeriğinin yara iyileşmesine nasıl ve ne kadar etki edeceği veya hücre ölümüne sebep olup olmadığı da ayrıntılı şekilde değerlendirilmelidir. Tıp literatüründe genel olarak tek başlarına ya da kombinasyonlar halinde belli amino asitlerin veya antioksidanları içeren beslenme ürünlerinin kullanıldığı görülmektedir (16).

Bu amino asitlerden arjinin, vücutta birçok önemli metabolik yolda rol alan, özellikle yara iyileşmesi sürecindeki hastalar ve çocuklarda ihtiyacı artan yarı-esansiyel bir aminoasittir. Glutamin, kanda en çok bulunan, vücuttaki serbest aminoasit havuzunun %50' sini oluşturan, çoğunluğu iskelet kasında olmak üzere kalanı da karaciğerde bulunan durumsal esansiyel, nötral aminoasittir. Hidroksi metil bütirat (HMB), esansiyel aminoasitlerden olan lösinin aktif bir metabolitidir ve transaminasyon ürünü olan beta-ketoizokaproat (beta-KIC) tarafından metabolize edilmektedir (16). HMB insanlar ve hayvanlarda endojen olarak düşük miktarda sentez edilmektedir (17). Bu amino asitleri içeren beslenme ürününün kullanıldığı çalışmalar ağız dışı bölgelerde yara iyileşmesini değerlendirmiş ve sonuç olarak bu kombinasyonun pozitif sonuçlar verdiği gösterilmiştir.

Literatür incelendiğinde oral bölgeye yapılan cerrahi işlemler sonrası l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünlerinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini

inceleyen herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu bilgiler doğrultusunda planladığımız araştırmamızın hipotezi; l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünlerinin literatürde gösterildiği kutanöz, diyabetik yaralar ve damar anastomoz blgelerindekine benzer olarak oral bölgede yapılan cerrahi işlemler sonrası yara iyileşmesi hızlandıracağı ve apoptozise neden olmayacağıdır.



2.GENEL BİLGİLER

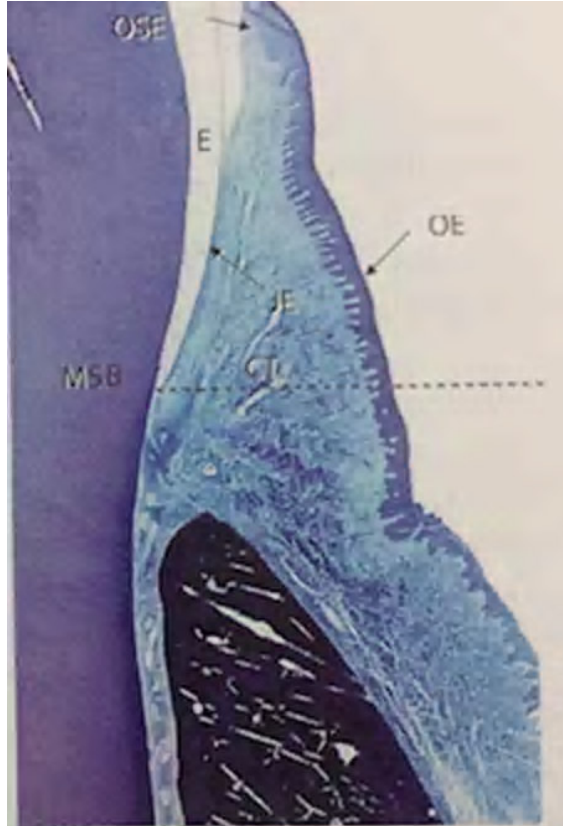
2.1.Diş Eti

Oral mukoza (müköz membran) dudak derisi, yumuşak damak ve farinks mukozası ile süreklilik arz eder.

Oral mukoza; diş eti ve sert damağı kaplayan çiğneme mukozası; dilin sırtını örten özelleşmiş mukoza ve geri kalan kısmı örtücü mukoza olarak adlandırılan bölümü içermektedir.

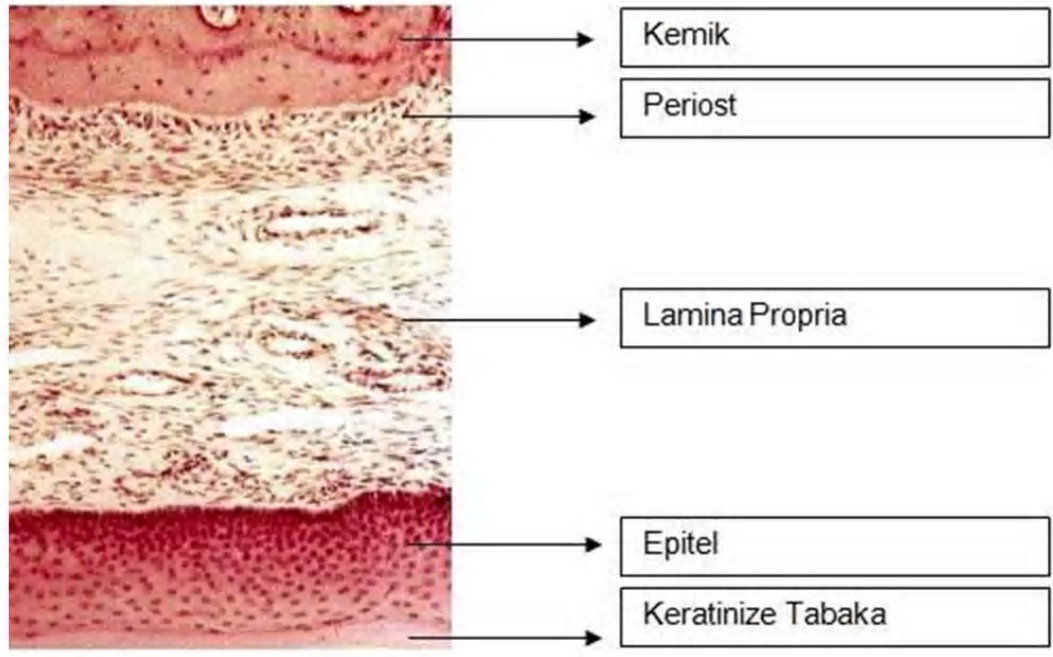
Diş eti histolojik olarak 2 kısımdan oluşmaktadır; -diş eti epiteli

-diş eti bağ dokusu



Resim 1: Diş etinin histolojik görüntüsü (18)

Oral mukoza yerine göre keratinize, parakeratinize veya nonkeratinize olabilir. Çiğneme mukozası keratinize veya parakeratinize, dil sırtı epiteli keratinize, örtücü mukoza ise nonkeratinize epiteldir (5).



Resim 2: Sert damak histolojisi

2.1.1. Bağ Doku (Lamina Propria)

Lamina propria, diş eti epitelinin altında bulunan gevşek yapılı bağ dokusudur. Bağ dokusunun ana bileşenleri amorf bir esas maddeye (matriks) gömülü olan kollajen lifler, çoğu fibroblastlar olmak üzere mast hücreleri, nötrofiller, monosit/makrofajlar, damarlar ve sinirlerdir (19, 20).

2.1.1.1. Bağ dokusunun hücresel bileşenleri

Fibroblast, bağ dokusunun baskın hücresidir. Fibroblastlar, bağ dokusu matriksinin sentezinde ve liflerin üretiminde rol alırlar. Fibroblastlar, bir veya daha fazla çekirdek içeren, oval şekilli çekirdekleri olan iğsi veya yıldızlı hücrelerdir. Fibroblastlar, hem kollajen yapımını hem de yıkımını düzenlerler (20, 21).

Mast hücresi, matriksin belirli bileşenlerinin üretiminden sorumludur. Bu hücrelerin sitoplazmaları iri granüllerle doludur. Bu hücreler aynı zamanda mikrovasküler sistemin işlevini etkileyebilen ve dokudaki kan akışını kontrol edebilen vazoaktif maddeler üretir (20, 22).

Nötrofiller, lökosit ailesinin hücreleridir. Çekirdekleri lobludur ve lizozomal enzimleri içeren sayısız lizozom sitoplazmalarında bulunmaktadır (20, 23).

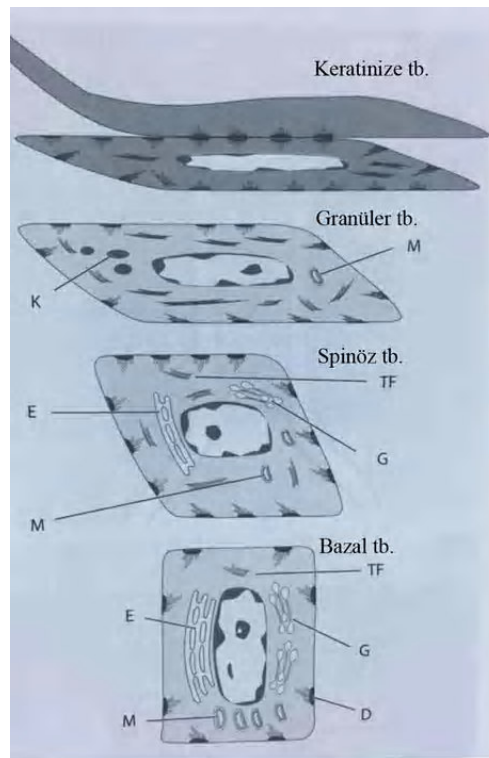
2.1.1.2. Epitel - bağ doku birleşimi

Yapılan elektron mikroskopi çalışmalarında bazal laminanın lamina lusida ve lamina densa adı verilen iki kısımdan oluştuğu görülmüştür. Lamina lusida, epitelin en alt tabakası olan bazal tabakaya komşu olan kısmıyken, bağ dokusu ile komşu olan kısım ise lamina densa'dır. Lamina lusida ağırlıklı olarak laminin adı verilen glikoproteinden, lamina densa ise tip IV kollajenden oluşur (24).

2.1.2. Epitel Doku

Keratinize oral epitel 4 tabakadan oluşmaktadır;

- bazal tabaka,
- spinöz tabaka,
- granüler tabaka,
- keratinize tabaka (25)



Resim 3: Epitel dokunun tabakaları histolojik kesit (7)

Epitelin en alt tabakası olan bazal tabakadaki hücreler; silindirik ya da kübiktir ve epitelle bağ dokusunu ayıran bazal membranla temas halindedir. Bazal tabakadaki hücreler mitoz bölünme geçirerek yeni hücreler oluştururlar. Hücre bölünmesi ile iki yavru hücre oluştuğunda, yaşlı olan komşu bazal hücre, spinöz tabakaya itilir ve keratinosit olarak epitelde geçmeye başlar. Bir keratinositin dış epitel yüzeyine ulaşması yaklaşık bir ay sürer. Belli bir süre içinde bölünen hücrelerle, yüzeyden dökülen hücrelerin sayısı birbirine eşittir. Böylece normal koşullar altında hücre kaybı ile hücre yenilenmesi arasında bir denge sağlanır (25).

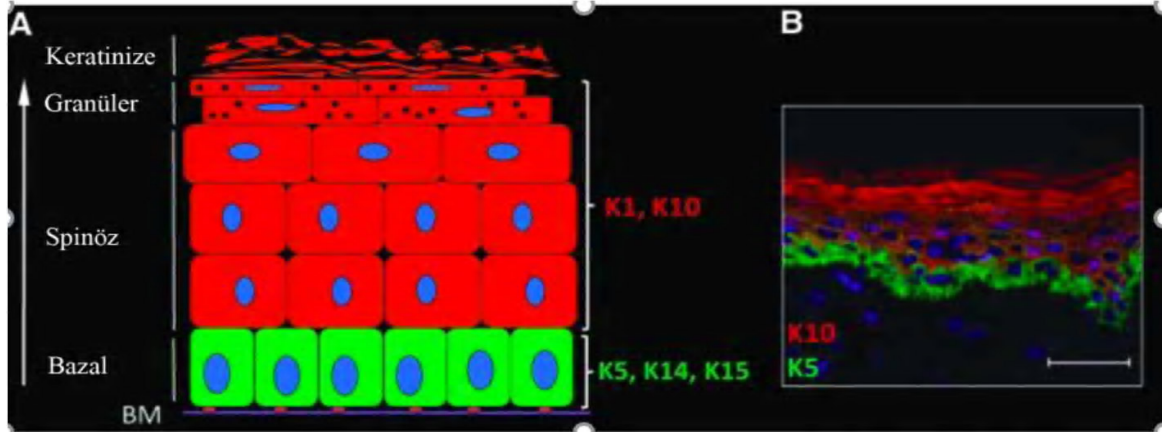
Epitelin spinöz tabakasında hücrelerin serbest ribozom sayısı artmış fakat diğer organellerin sayıları azalmıştır. Bu hücrelerde üretilen protein keratindir. Hücreler tabakaya adını verdiği gibi spinöz çıkıntılarıyla birbirine sıkıca bağlıdır. Desmozom denilen bu bağlantı tipi yapıya sağlamlık kazandırır (26).

Granüler tabakadaki hücrelerin sitoplazmalarında keratohyalin granülleri görülmektedir. Son zamanlarda, birçok çalışma farklı bölgelerde ağız epitelinin sentezlediği sitokeratinler arasında büyük çeşitlilik olduğunu göstermiştir (27).

Hücrelerin granüler tabakadan keratinize tabakaya ani geçişi sırasında enerji ve protein üretimi organellerden mahrum bırakılır. Böylece epitel yüzeyinden dökülen keratin dolu bir hücreye dönüştürülür (27).

2.1.2.1. Keratinositler

Epiderminin başlıca hücresel bileşeni olan keratinositler, hasar gören bölgenin restorasyonu olan epitelizasyon süreci için oldukça önemlidir. Keratinositler, bazal tabakadan epitel yüzeyine doğru göçerken sürekli farklılaşma geçirmekte ve özelleşmeye uğramaktadırlar (7).



Resim 4: Epiderminin yapısı (28)

Farklılaşma süreci sırasında, farklılaşmamış keratinositler, nihayetinde keratinize zarfın ortaya çıkmasını sağlamak için yukarı doğru göç ettiklerinde bölünmeyen hücelere dönüşürler. Üç ana mitojen aktif protein kinaz (MAP kinaz) yolağı, kalsiyum akışı, epidermal büyüme faktörü (EBF) ve tümör nekroz faktörü (TNF) dahil olmak üzere çoklu uyaranlar tarafından aktive edilen farklılaşma sürecine dahil edilir. Bu farklılaşma kaskadı ayrıca çeşitli protein kinaz C (PKC) izoformunu kullanır. Çalışmalar, kalsiyum bağımlı geleneksel PKC'lerin inhibe edici olduğunu, oysa kalsiyumdan bağımsız geleneksel olmayan PKC izoformlarının keratinosit farklılaşma işaretleyicilerini uyardığını göstermiştir (29). Farklılaşmadaki son adım, hücresel organellerin ve deoksiribonükleik asitin (DNA) tahrip olmasına yol açan, proteolitik ve nükleolitik aktivitenin aktivasyonudur (30). Bazal tabakada olan keratinositler proliferere olabilirler (31).

Diş eti ya da yapışık mukoza epitelinde keratinositler, ara (suprabazal) ve yüzeyel hücre tabakalarında CK1/2/10/11 ve 17 ve ağırlıklı olarak bazal tabakada CK5/6 ve 14 salgırlar. İnflame diş etinde ise yani gingivitis veya periodontitis örneklerinde, CK4,13 ve 19 daha sıktır (32). Ara tabakalarda CK5/6, 14 ve 17'nin yaygın dağılımıyla birlikte (spinöz ve granüler tabaka) ve daha sonrasında epitelyal hiperproliferasyon için de karakteristik olmaya başlamışlardır (33).

Keratinositler sürekli olarak yenilenecek bazaldan yukarıya doğru farklılaşmış tabakalara doğru hareket ederler. Homeostazis boyunca ve epidermal bariyerin

bozulması sırasında sürekli, dinamik bir yenilenme epidermal kök hücreler (EKH) tarafından sürdürülmektedir (34).

Bugüne kadar tanımlanan üç farklı EKH noktası vardır: Kıl follikül (KF) tomurcuğu, sebace bezlerin tabanı ve interfolliküler epidermisin (IFE) bazal tabakası (35).

2.1.2.2. Epidermal Kök Hücreler

Epidermiste, KF ve yağ bezinden oluşan ünite etrafında yer alan EKH' ler; sabit lokalizasyonlu, yüksek derecede proliferasyon gösterebilen holoklon hücrelerdir. Epidermiste yer alan tüm keratinositlerin %4-8'ini kaplayan, yüksek çekirdek/sitoplazma oranına sahip, uzun dönem proliferatif kapasiteli olabilen bu hücreler bugün saptanabildiği kadarı ile yara iyileşmesindeki uyarı ile harekete geçme dışında oluşturdukları ilk andan itibaren hücre bütünlüğü ve yapısını hiç değiştirmeden yıllarca sabit bir şekilde durabilmektedirler (36). EKH'lerle ilgili ilk araştırmaların başladığı yıllarda bu hücrelerin interfolliküler alanda, yağ bezi etrafında ve kıl kökü papillasında olduğu saptanmıştı (37).

Kloepper ve arkadaşları epitelyal kıl follikülü kök hücrelerinin keşfinden sonra insan KF'u bölgesinde faydalı belirteçlerin belirlenmesi için gerekli çalışmaların başladığını vurguladıkları çalışmalarında, insan epitelyal kök hücreleri ve noktaları için önemli olan belirteçlerin immünofenotipini belirlemişlerdir. Çalışmalarında; en az 5 farklı bireyden aldıkları kafa derisi ve 11 farklı belirtecin standart immünohistokimyasal metodlar ile kullanılmasıyla, bu belirteçlerin spesifik immünreaktivite yoğunluklarını hesaplamışlardır. Bu deneye göre, insan epidermal kök hücrelerinin belirlenmesinde en faydalı belirtecin CK15 olduğu belirlenmiştir (8).

Epidermal hücrelerin keratin molekülleri farklı yapılarda ve değişik molekül ağırlıkları olan proteinlerdir. Keratin sitoplazma içinde oluşur ve yapısında sistein, serin ve arjinin gibi birçok aminoasit vardır. CK6, çoğalan epitel tabakası için bir belirteçtir ve epidermis tabakasının özelleşmiş epitelindeki keratinositlerde yoğun olarak ekspres olur (8).

2.1.2.2.1. CK6, CK15

Intermediyer filaman (IF) proteinleri olan sitokeratinler, bir protein süper ailesi olup, CK15 bu ailenin en asidik keratin IF'lerindedir (39, 40).

Epiderminin bazal tabakası, CK5 ve CK14 yanı sıra CK15 de eksprese eder. Normal çok katlı epitelde, CK5/CK14 ve CK15 ekspresyonu proliferen olan bazal keratinositlere sınırlı olup, bu hücreler terminal diferansiyasyon gösterip yüzeye doğru yönlendiklerinde ekspresyon kaybı izlenir (41). Bazal tabakadaki CK15 ekspresyonu, çoğunlukla yamalı biçimde olup derin rete uçlarındaki hücreler güçlü CK15 pozitifliği gösterirken, dermal papillayı örtenlerde boyanma düşüktür ya da izlenmez. Yenidoğan insan derisinde ve genç epidermiste (~1,5 yaş), ekspresyon bazal tabaka boyuncadır ki bu CK15'in epidermis gelişiminde rolü bulunduğuna işaret eder. Mukozal çok katlı yassı epitelde (oral mukoza gibi) CK15 ekspresyonu bazalde süreklilik gösterir (42, 43). CK15'in ekspresyon paterni, bu proteinin keratinosit diferansiyasyonunun erken basamaklarını düzenleyici bir rolü olduğuna, hücrenin diferansiyasyonunun epidermis ya da KF'u yönünde gelişimi etkilediğine işaret etmektedir (8, 44-46).

Akut deri hasarı sonucu bariyer bozulduğunda, nötrofiller, monositler ve makrofajlar yara yerine gelir (47). Daha sonra keratinositlerin aktivasyonuna birkaç sitokin ve büyüme faktörünün salınımının eklenmesiyle aktivite elde edilir. Aktif fenotip, sitoskeleton ağı ve hücre yüzeyi reseptörlerindeki değişiklikler ile yeniden epitelizasyon için gerekli olan sitokeratinlerin ekspresyonu ile işaretlenerek keratinositlerin defekti doldurmak için yaraya göç etmesine izin verir (48).

İnsan tip 2 CK6, yara iyileşmesinde, iyileşmiş hücre proliferasyonuna katkı sağlayan güçlü bir indükleyicidir. CK6, ağız mukozası, özofagus, epiderminin bazal tabakası, KF'nin dış kök kılıfı ve glandüler epitel dahil olmak üzere epitel tabakalarından salınır. CK6, psoriasiste bulunan hiperproliferatif ve aktif keratinositlerin bir belirteçidir. CK5 ile eşleştirilmiş CK6, plevrada mezotelyomanın (pozitif), akciğer karsinomundan (negatif) veya metastatik karsinomdan (negatif) ayırt edilmesinde yararlıdır. CK5/6 ayrıca, memede papiller duktal cinsinoma in situ (DCIS) (negatif), memenin olağan duktal hiperplazisini (kuvvetli pozitif boyanma) ayırmak için kullanılmıştır (49).

2.2. Yara

Yara, canlı dokunun kimyasal, fiziksel, cerrahi veya farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması veya doku kaybı sonucuyla organizmanın fizyolojisinin geçici olarak ya da tümüyle yitirilmesidir. Yara iyileşmesi yapısal veya fonksiyonel olarak doku bütünlüğünün tekrar kazanılması amacını içeren bir dizi biyokimyasal ve hücresele olayları kapsamaktadır. Bu süreç yaralanmadan hemen sonra başlayıp günler, haftalar hatta aylarca sürebilir (1-3).

Doku bütünlüğü bozulduğunda, yara bölgesinde birçok hücrenin görev aldığı karmaşık ve hassas bir süreç başlar. Bu süreç, içsel ve dışsal faktörlerden etkilenebilir ve bu sebeple komplikasyonlu veya tamamen sorunsuz tamamlanabilir. Fibroblast, endotel, trombosit ve yara iyileşmesindeki asıl hücreler olan makrofajların yönettiği süreci 4 evreyle özetleyebiliriz (1). Bu evreler; hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve maturasyondur. Yara iyileşmesi sürecinde hücrelerle birlikte büyüme faktörleri de rol alır. İnflamasyonun en önemli mediyatörü olan tümör nekroz faktör (TNF), fibroblast büyüme faktörü (FBF), epidermal büyüme faktörü (EBF), transforme edici büyüme faktörü (TRBF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), insülin benzeri büyüme faktörü (IBF) ve interlökin (IL) ailesi bu süreçte önemli olan faktörlerdir (50).

Yara iyileşmesi primer, sekonder ve tersiyer iyileşmeyle sonuçlanabilir (1).

2.2.1. Primer yara iyileşmesi

Derideki temiz, enfekte olmamış, kenarları cerrahi sütürlerle birbirine yaklaştırılmış bir ameliyat insizyonunun iyileşmesi, primer yara onarımına verebileceğimiz en basit örneklerdendir. Yapılan insizyon, epitel bazal membranın sürekliliğinde yalnızca lokal bir bozulma yapar ve nispeten az sayıda epitel ve bağ dokusu hücresinin ölmesine sebep olur. Sonuç olarak epitel rejenerasyonu, böyle bir yaradaki başlıca onarım mekanizmasıdır. Küçük bir nedbe oluşursa da yaradaki kontraksiyon en düşük düzeydedir. Dar insizyon aralığı önce fibrin kan pıhtısıyla dolar ve bu pıhtı daha sonra hızla granülasyon dokusu tarafından invaze edilir, ardından da yaranın üzeri epitelle örtülür (1, 51-54).

2.2.2. Sekonder yara iyileşmesi

Sekonder yara iyileşmesinde, inflamatuvar süreç yoğunudur ve ekstrasellüler makriks birikimi ve geniş bir nedbeyle birlikte bol miktarda granülasyon dokusu oluşur. Bunu miyofibroblastların aracılık ettiği yara kontraksiyonu izler. Sekonder yara iyileşmesi primer iyileşmeden, çeşitli bakımlardan farklıdır;

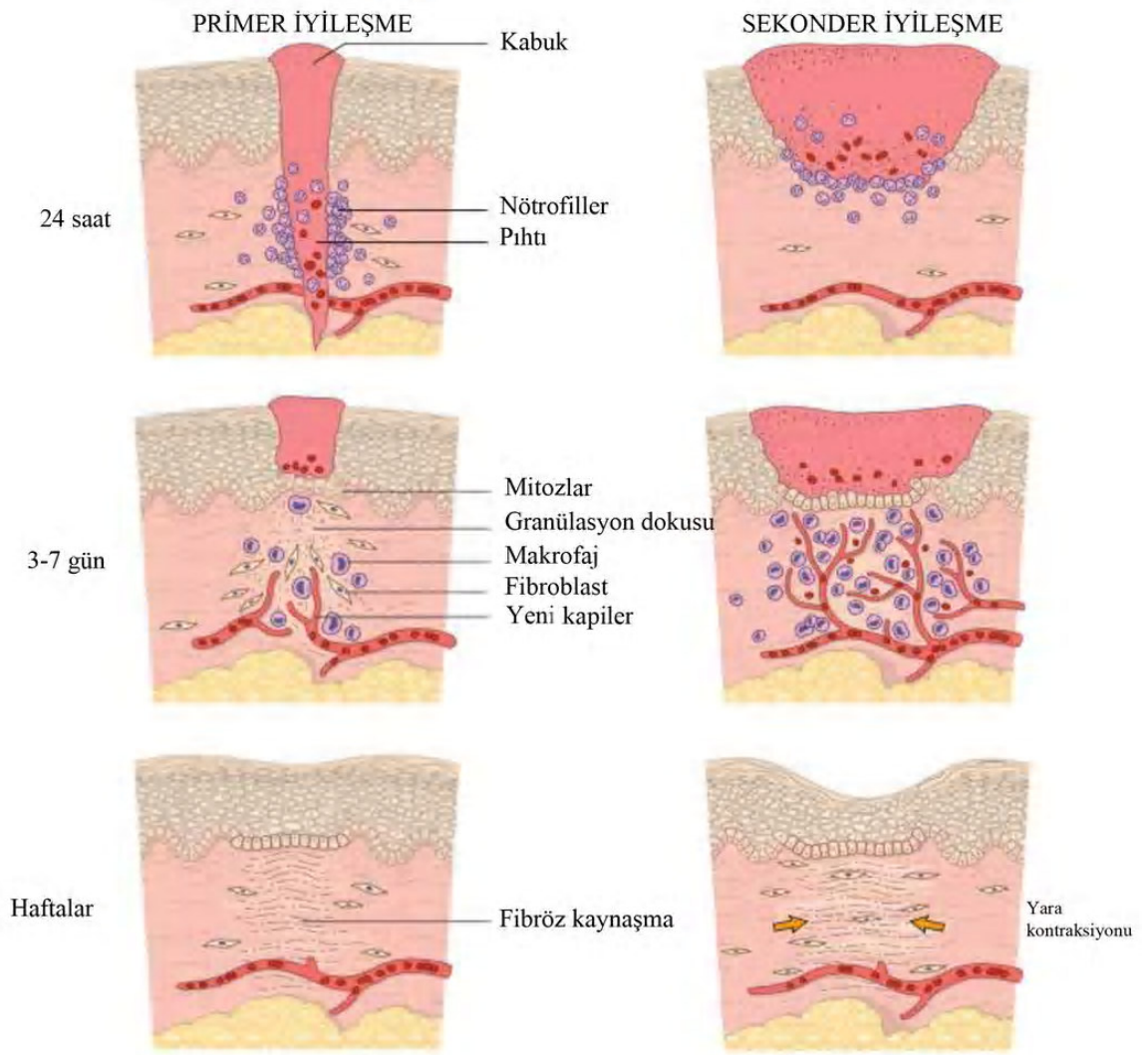
-Yara yüzeyinde daha büyük olan pıhtı veya kabuk, fibrin ve fibronektinden zengindir.

-Uzaklaştırılması gereken nekrotik debris, eksuda ve fibrin hacmi büyük doku defektlerinde daha fazla olduğundan, inflamasyon daha yoğundur. Bunun sonucu olarak inflamasyon aracılığıyla gerçekleşen, sekonder zedelenme potansiyeli, büyük defektlerde daha fazladır.

-Büyük defektlerde, boşlukları doldurarak doku epitelinin yeniden çoğalacağı bir iskelet oluşturacak daha hacimli granülasyon dokusuna ihtiyaç vardır. Granülasyon dokusunun daha hacimli olması genellikle nedbe dokusu kütesinin de daha büyük olmasıyla sonuçlanır. Sekonder iyileşmedeki yara kontraksiyonu daha fazladır (2, 54, 55).

2.2.3. Tersiyer yara iyileşmesi

Doku kaybı çok fazla olduğunda yara kenarlarının büzülmesi ve granülasyon dokusuyla iyışmesidir. Gecikmiş primer iyileşme olarak da nitelendirilebilir (1). Bazı vakalarda yabancı cisim veya enfeksiyondan şüphelenilebilir ve bu tip yaralar potansiyel komplikasyonların önüne geçmek amacıyla birkaç gün açık bırakılır. Komplikasyon sorunu çözüldükten sonra, ölü doku debride edilerek yara kenarları kapatılır veya mümkün olduğunca yaklaştırılır (56).



Resim 5: Primer ve sekonder yara iyileşmesi (52)

2.3. Yara İyileşme Fazları

Doku hasarına yanıt olarak gelişen olaylar neticesinde hasar gören veya ölen hücrelerin yenilenmesi, replasmanı sağlar ve iyileşme cerrahi işlemin başarısını doğrudan etkiler. Ağızdaki yaraların iyileşmesi; ortamın sıcaklığı, bakteriyel çeşitlilik ve tükürük sebebiyle biraz daha farklıdır (57). Ayrıca konuşma, çiğneme, yutkunma gibi fizyolojik fonksiyonlar yumuşak dokularda kuvvet ve baskı oluşturarak yara yerinde gerilmeye sebep olarak iyileşmeyi bozabilir (58).

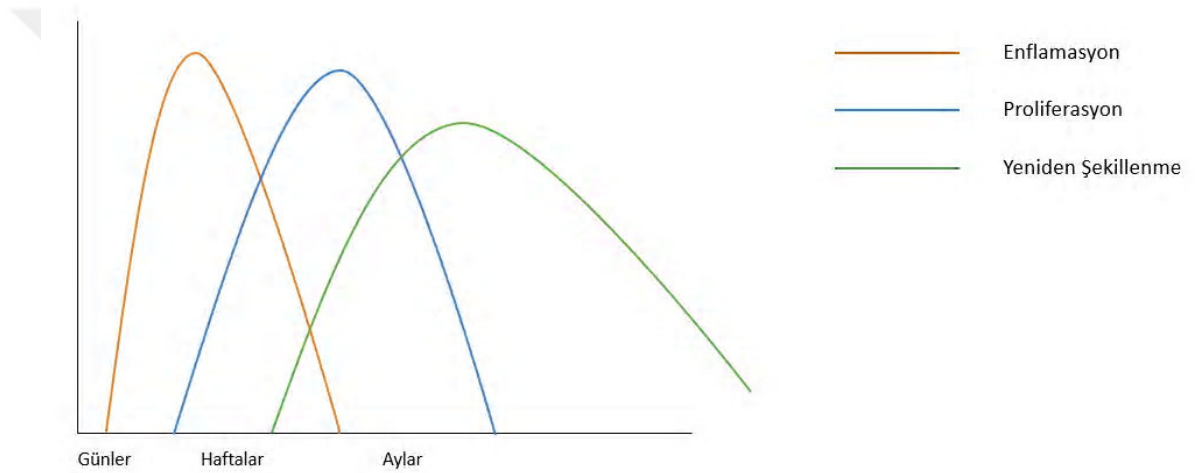
Yara iyileşmesi aslında birbirinden ayrı düşünülmemesi gereken kompleks 4 evreden meydana gelir;

-Hemostaz

-Enflamasyon

-Proliferasyon

-Maturasyon (59)



Şekil 1: Yara iyileşmesi evrelerinin süreç şeması

2.3.1. Hemostaz

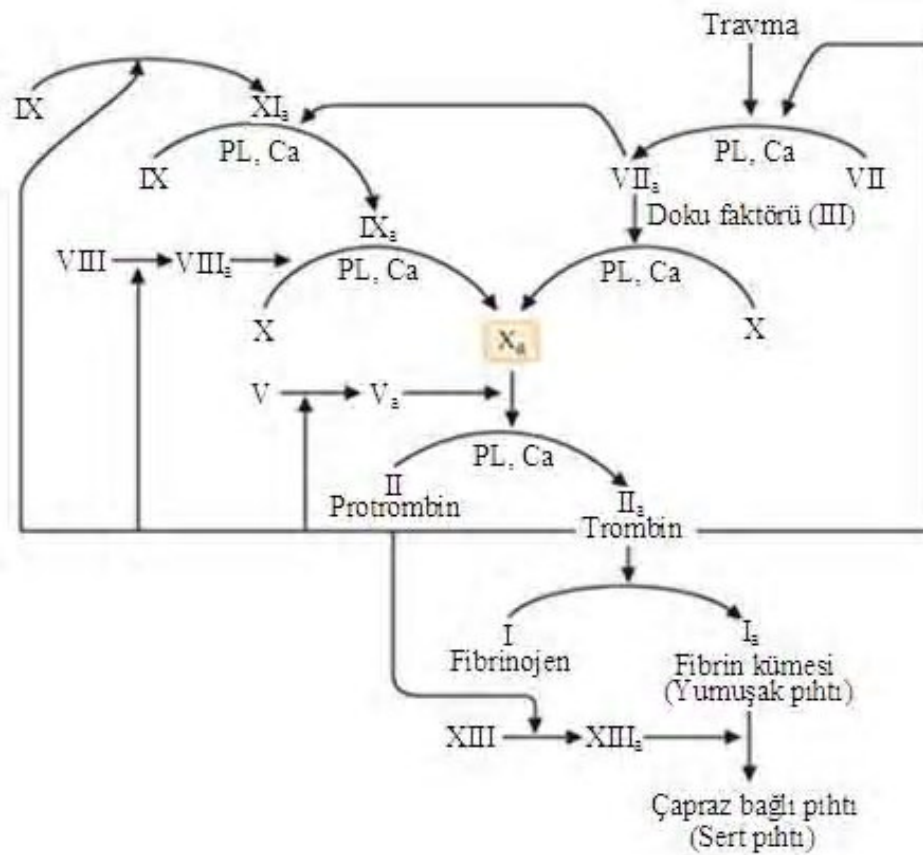
Doku yaralanmasının ardından kan damarlarının yapısında bozulmayla kanama meydana gelir. Yaralanmaya ilk cevap hemostazdır (60). Travma sonrası meydana gelen kanamayla dakikalar içerisinde katekolamin salgılanması, geçici vazokonstriksiyona neden olur. Sempatik sisteme bağlı olarak açığa çıkan lokal noradrenalin en önemli vazoaaktif amindir ayrıca bölgeye komşu hücreler prostoglandin salgırlar (61). Haegemann (faktör XII) faktörün aktivasyonu ile beraber kompleman, plazminojen, kinin ve pıhtılaşma kaskadları başlatılır (2).

Damar yapısında meydana gelen hasarla, bu evrede temel rol oynayan trombositler, damar duvarındaki ekstrasellüler matriks tarafından aktive edilir. Trombosit adhezyonu ve agregasyonu ile beraber pıhtı formasyonu başlar (62- 64).

Koagülasyon aşamaları intrinsek ve ekstrinsek yollardan oluşmuştur (65).

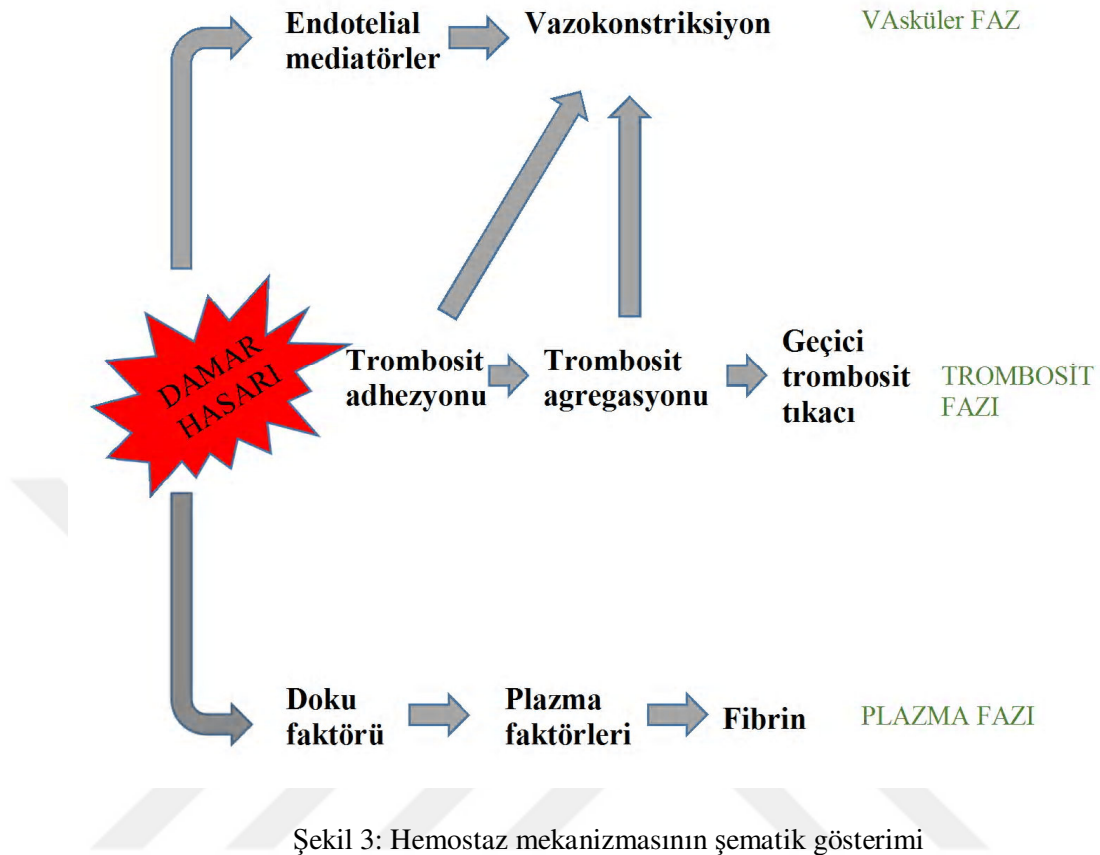
İNTRENSEK YOL

EKSTRENSEK YOL



Şekil 2: Pıhtılaşmada ekstrinsek ve intrinsek yollar (66)

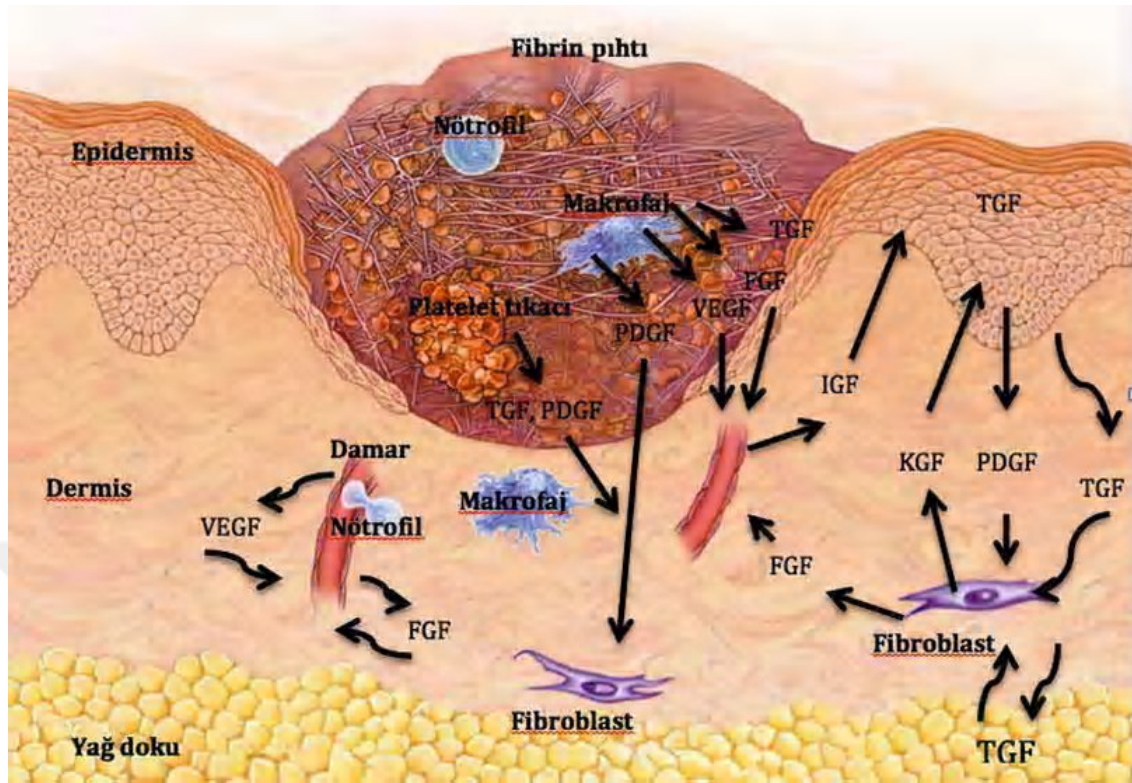
Trombositler, pıhtı oluşumunda kemotaktik faktörlerin salgılanmasındaki rolünün yanında makrofaj, nötrofil ve fibroblastları hasar bölgesine çeken çeşitli büyüme faktörleri ve sitokin salgılanmasını da uyarak, yara iyileşmesinin sonraki evrelerinin gerçekleşmesine ortam hazırlar (67, 68). Trombositlerin, FBF, TKBF, EBF salgısı sayesinde fibroblast ve diğer mezenkimal hücrelerin etkinliği başlatılmış olur (69, 70).



2.3.2. Enflamasyon

Doku hasarından hemen sonra başlayan geçici vazokonstriksiyon hemostaz sağlanınca son bulur. Sonrasında histamin öncülüğünde kininler, prostoglandinler ve lökotrienlerin mediatörlüğünü yaptığı uzun süreli bir vazodilatasyon dönemi başlar. Böylece enflamasyonun beş klinik belirtisi ortaya çıkar. Yaralanmanın erken döneminde lokal vazodilatasyon, kan ve diğer sıvıların ekstravasküler boşluğa geçişi, lenfatik drenaj blokajı gibi çeşitli nedenlerde kızarıklık, şişlik ve sıcaklık artışı gibi iltihabın başlıca belirtileri meydana gelir (71).

Enflamasyona yanıt olarak bölgeye hücre göçü başlar. Kemotaktik uyarılarla bölgeye ilk gelen hücreler nötrofillerdir. Zaman geçtikçe nötrofillerin sayısı düşerken, makrofajların sayısı artar (72, 73).



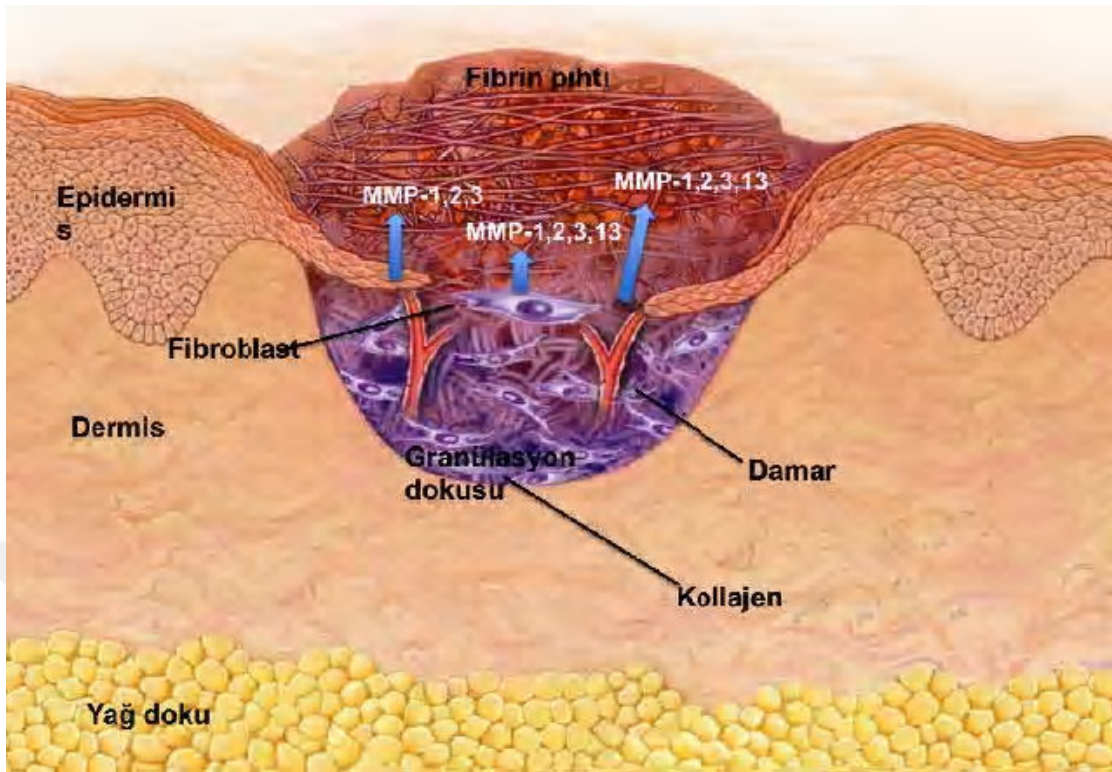
Resim 6: Yara iyileşmesinin enflamatuvar fazı (67, 74)

Nötrofillerin bölgeye göçü, makrofajlardan salınan TKBF, TNF- α , IL-1 ve IL-6 sayesinde olur. Nötrofillerin başlıca görevi yara bölgesindeki yabancı maddeleri ve ölü doku hücrelerini fagosite etmektir (75, 76). Yara iyileşmesinin ikinci ve üçüncü günlerinden sonra nötrofillerin sayısı düşerken monositler doku boşluklarına göç ederek birtakım değişikliklerle makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar üçüncü ve beşinci günlerde hakim hücre grubu olup enflamatuvar reaksiyonun en önemli düzenleyecisidirler. Ayrıca TBF- α , TBF- β 1, TKBF, IBF-I ve II, TNF- α ve IL-1 gibi bir dizi büyüme faktörü ve sitokini ortaya çıkararak, fibroblast göçü, proliferasyonu ve kollajen sentezini uyarırlar (1, 77, 78). Makrofajlar, yeni ekstrasellüler matriks oluşumunu uyararak ve trombospodin-1 (TSP-1) ve IL-1 β gibi sitokinlerin lokal üretimi yoluyla anjiogenez ve fibroplaziyi düzenleyerek erken yara iyileşmesinin tüm fazlarını etkilerler. Bu fazda görülen bir diğer hücre grubu ise lenfositlerdir (79).

2.3.3. Proliferasyon

Yaralanmanın 3-5. günlerinde başlayan başlayan bu faz yaklaşık 3 hafta sürer. İnflamatuar hücreler azalırken endotel ve epitel fibroblast hücrelerin sayısı artar. Proliferasyon fazında, hücresel aktivite baskındır ve fibroblastlar en önemli hücre grubudur (80). Ortamda bulunan makrofajlar TKBF, TBF- β gibi sitokinleri salgılayarak fibroblastları aktive eder ve çevre dokulardan yara yerine gelerek burada çoğalırlar (77). Fibroblastların iyileşme sürecindeki temel görevleri yara onarımını sağlamak, bağ dokusunun temel bileşenleri olan kollajen, elastin, retikülin liflerini sentezlemek ve proteoglikan üretmektir (2, 3, 75).

İyileşme esnasında meydana gelen granülasyon dokusunun yapısını; kollajen, hyalüronik asit ve fibronektinden oluşan gevşek yapılı bir matrikste bulunan makrofaj ve fibroblastlar ile yeni kan damarları oluşturur (2, 62). Yara bölgesinin etrafında keratinositlerin diferansiyasyonu ile reepitelizasyon başlar. Keratinositlerin hasarlı bölgeye gelip çoğalmasını EBF, keratinosit büyüme faktörü (KBF), FBF 1-2-7 ve IBF sağlar. Bunun yanı sıra keratinositler de TBF- α , TBF- β , EBF, TKBF ve TNF gibi sitokinleri salgılayarak hem kendilerinin hem de diğer hücre gruplarının gelişimini sağlarlar. Keratinositlerin migrasyonu mukozada bariyer oluşana dek sürer (55, 81).



Resim 7: Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı (67, 74)

Fibroblastların yaralı dokuya gelmesiyle kollajen sentezi başlar. Fibroblastlar için başlıca sinyaller olan TKBF, FBF, tümör büyüme faktörü (TBF- β), trombositler ve makrofajlar tarafından üretilir (55, 76). Myofibroblastlar yara kenarlarını bir araya çekerek defektin boyutlarını azaltır (82).

Kollajen bağ dokusunun temel bileşeni olup yara iyileşmesinde 5. ve 7. günlerde maksimum seviyeye ulaşır. Kollajen sentezi birçok faktöre bağlıdır fakat bunlardan en önemlisi doku ve dolaşım oksijen basıncıdır (83).

Yeni kan damarları oluşumu anlamına gelen anjiogenez aşamasının en önemli hücreleri endotellerdir. Azalmış oksijen basıncı, laktat artışı ve pH değerinin düşük olması anjiogenezi uyarır (84-86). Damar endotel kaynaklı büyüme faktörü (DEKBF), anjiogenezisi başlatan en önemli anjiopoetindir (87).

2.3.4. Maturasyon (Remodelling)

Yara iyileşmesinin son evresi olan maturasyon, birkaç hafta içinde başlar ve aylarca devam edebilir. Kollajenin açığa çıkmasıyla yara yeri şekillenir. Yaranın metabolik ihtiyacı azaldıkça, hücreden ve vaskülarizasyondan yoğun olan doku, skar dokusuyla

yer değiştirir (60). İyileşmenin erken evresinde oluşan organize olmamiş jelöz yapılı tip III kollajen yerini tip I kollajene bırakır. Kollajen yıkımı, makrofajların salgıladığı matris metalloproteinazlar (MMP), fibroblast ve granüositler tarafından gerçekteşir (1, 2, 3, 64). Kollajen bu yapım/yıkım döngüsüyle reorganize olur ve yapısındaki çapraz bağlarla sabitlik ve sağlamlık kazanır. Oluşan skar dokusunun zamanla gerilim gücü artar. Yaranın gerilim gücü kollajen sayısı ve niteliğiyle paralellik gösterir, fakat skar dokusunun gerilim gücü hiçbir zaman sağlıklı dokunun %80'ini geçmez (3, 84, 88).

2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara bölgesinin %100 rejenerasyonu sağlanamasa bile genellikle fonksiyonel, estetik kayıp olmadan iyileşmesi mümkündür fakat bu iyileşmede bireyin sistemik durumundan yara bölgesindeki lokal şartlara birçok faktör rol oynamaktadır (89).

Tablo 1: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler (2, 3, 4, 75).

SİSTEMİK FAKTÖRLER	LOKAL FAKTÖRLER
Beslenme	Oksijen düzeyi
Dolaşım bozuklukları	Vasküler bozukluklar ve doku iskemisi
Kalıtısal hastalıklar	Uygun olmayan cerrahi teknikler
Hormonlar	Lokal enfeksiyon
Büyüme faktörleri	Yabancı cisim ile kontaminasyon
Yaş	Yara hidrasyonu
Cinsiyet	Sıcaklık
Menapoz	Kronik radyasyon
İrk	Uygun olmayan suture ve suture işlemleri
Kronik hastalıklar	Kronik travma
İlaçlar	Yara bölgesinde hematoma
Sigara kullanımı	Yaranın erken mobilizasyonu
	Nekrotik dokuların yetersiz debridmanı

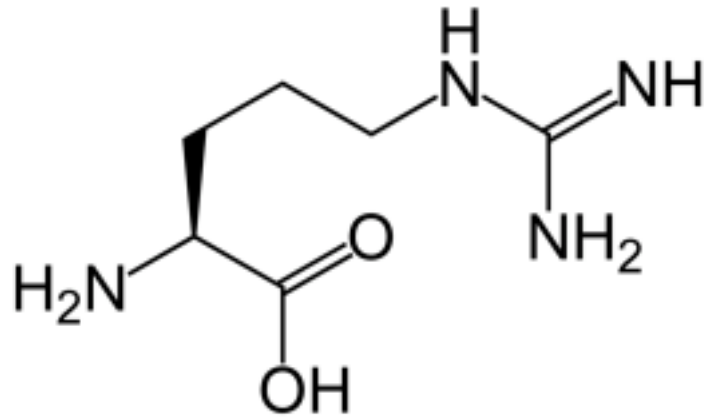
Yara iyileşmesinde beslenmenin rolü

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler birçok araştırmaya konu olmuştur. Örneğin; Altan A'nın 2015 yılında yaptığı araştırmada kantaronun diabetik ratlardaki ağız mukozası yara iyileşmesine etkisi incelenmiştir. Sonuçlara göre topikal kantaron uygulamasının yara iyileşmesinin 7. ve 10. günlerde yara iyileşmesine katkısı olumlu yöndedir (90). Ayrıca 2013 yılında Bulut U, deneysel künt karaciğer travması oluşturulan ratlarda, arjinin, glutamin ve HMB beslenme ürününün doku iyileşmesine etkisini araştırmış, karaciğer enzimlerinin değerlerinde, Bcl-2'de düşüş, Ki-67 ve bax değerlerinde ise artış görülmüştür. Bu bulgular ışığında bu besin ürünü kombinasyonunun karaciğer iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmüştür (91). Akbaş S tarafından, 2013 yılında yapılan bir araştırmada da glutaminin travmatik oral mukoza lezyonuna iyileşme üzerine etkisine bakılmıştır. Enteral, parenteral ve topikal uygulamanın kıyaslandığı çalışmada parenteral yoldan verilen glutaminin diğerlerinden daha iyi sonuç verdiği gösterilmiştir (92). Kussabi ve arkadaşları 2014 yılında; arjinin, glutamin ve HMB kombinasyonu ile hazırlanan beslenme ürününü, kolon anastomozu olan deneysel ratlarda iyileşme potansiyelini değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre post operatif beslenme desteği verilen ratlarda doku hidroksprolin düzeyi daha yüksek bulunmuş ve patlama basıncı üzerine de pozitif etkili olduğu gösterilmiştir (93).

2.5. Arjinin

Arjinin, vücutta birçok önemli metabolik yolakta rol alan, özellikle yara iyileşmesi sürecindeki hastalar ve çocuklarda ihtiyacı artan yarı-esansiyel bir aminoasittir (94). Bağ doku tamirinde rol alan poliaminlerin ve hidroksprolinin ve daha birçok yerde kullanılan nitrik oksit molekülünün yapıtaşıdır (95).

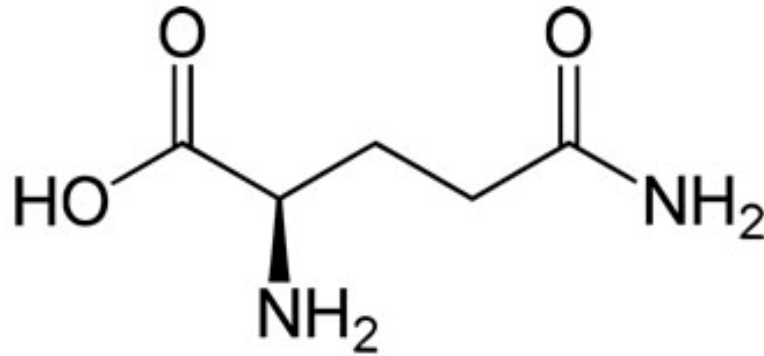
Yapılan çalışmalarda, nitrojen dengesi veya sağlık için gereksinimin üzerinde diyetsel arjinin desteğinin, kemirgenlerde ve insanlarda yara iyileşmesi için gereken kollajen birikimini arttırdığı; yara iyileşmesi sürecindeki hastalarda, ağırlık kaybını önemli derecede azalttığı ve immünomodülatör etkisi olduğu saptanmıştır (96).



Şekil 4: Arjininin molekül yapısı

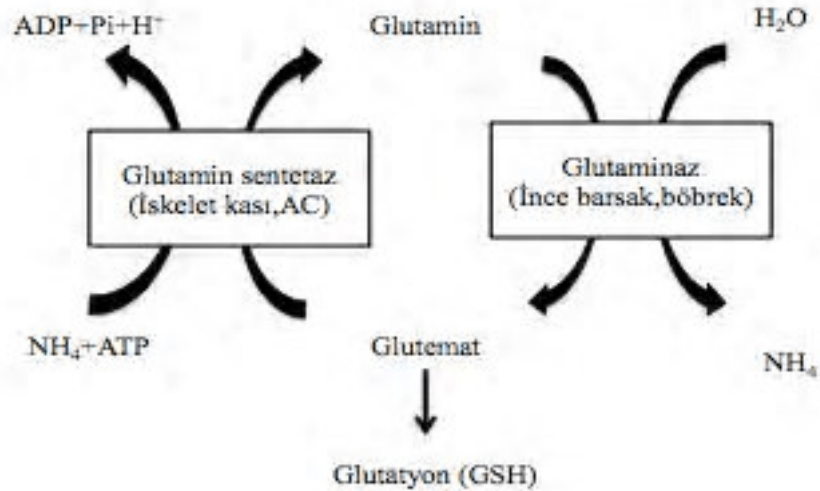
2.6. Glutamin

Glutamin, kanda en çok bulunan, vücuttaki serbest aminoasit havuzunun %50' sini oluşturan, çoğunluğu iskelet kasında olmak üzere kalanı da karaciğerde bulunan durumsal esansiyel, nötral aminoasittir (97).



Şekil 5: Glutamin moleküler yapısı

Glutamin, kandaki serbest amonyum ve glutamat prekürsörü olmak üzere iki amin grubu içerir. Glutamin, protein sentezinin en önemli komponenti olmasının yanında, pürin ve pirimidin sentezinde dolayısıyla nükleik asit yapımında görev alır (98, 99). Glutamin sentezi esnasında açığa çıkan glutatyon molekülü, vücuttaki en önemli antioksidanlardan biridir ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur (100).



Şekil 6: Glutamin sentezi (100)

Glutamin önemli bir enerji kaynağı olup bu amaçla da sıkça kullanılmaktadır. Sürekli bölünen hücreler için iyi bir metabolik yakıttır (94). Yeterli glutamin varlığında, hücre proliferasyonu, büyüme ve gelişimi proliferere olurken, ortamdaki glutamin azsa fibroblastların büyümesi yavaşlamaktadır (98). Hücrelerin büyümesi, çoğalması ve bütünlüğünün korunmasının yanında immünojenik destek sağlar. Aktive makrofajlarda, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz üretimi patojenlerin öldürülmesi için çok gerekli bir olaydır ve glutamin bağımlıdır (101).

Glutamin kaslarda hızlı bir şekilde üretilirken, metabolize olduğu yer bağırsaklardır. Bağırsak epitelinin oksidatif yakıtıdır ve kas depoları gerekli glutamin için direk kaynaktır. Normal durumda veya stres durumunda bağırsak yapısının bütünlüğünün korunmasını sağlar (99). Ayrıca yaralanma sonrası veya stres durumlarında ısı şok proteinin rolü önemlidir ve bu protein glutamin yokluğunda hücresel apoptozda artışa yol açar. Glutamin, ısı şok protein salgısına neden olur ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu azalır (102).

2.7. HMB

HMB, esansiyel aminoasitlerden olan lösinin aktif bir metabolitidir ve transaminasyon ürünü olan beta-ketoizokaproat (beta-KIC) tarafından metabolize edilmektedir (16). HMB insanlar ve hayvanlarda endojen olarak düşük miktarda sentez edilmektedir (17).

HMB'nin immün sistem, meme bezleri ve kas üzerine etkisi vardır (103).

Kas kütlesini artırmak ve yoğun egzersizde kasların hasar görmesini azaltmak için uzun zamandır spor hekimliğinde ve vücut geliştirmede kullanılan HMB'nin, kaşektik farelerle yapılan bir çalışmada, protein sentezini arttırdığı ve protein yıkımını azalttığı bulunmuştur. HMB, bu proteoliz engelleyici etkisini proteozom-proteolitik yolağını inhibe ederek/zayıflatarak ve bu yolda bir tümör ürünü olan ve bu yolağı aktive eden proteolizisi indükleyen faktör (PIEF) salınımını inhibe ederek göstermektedir. Bir PIEF inhibitörü olan eikozapentenoik asit (EPA), etkisi tam olarak bilinmemekle beraber hücre membranında bulunan fosfolipidlerden, araşidonik asit ve metaboliti olan 15-hidroksieikazotetraenoik asit (15-HETE) salınımını azaltmaktadır. Bunlar inflamasyonda çok önemli moleküller olup proteozom ekspresyonunu artırarak protein yıkımını azaltırlar (97).

HMB'nin en önemli etkisinin, iskelet kası içerisinde, de novo kolesterol sentezi için substrat kullanımını arttırması olarak bilinmektedir. Kas hücrelerinde kolesterol, membran stabilitesi açısından önemli rol oynamaktadır. Kas hücresinde yeterli miktarda kolesterol üretimi, membranın dayanıklılığını arttırmaktadır. HMB'nin büyük bir oranı, kolesterol sentezinde substrat olarak kullanılan 3-hidroksi-3-metil- glutamil-CoA (HMG-CoA)'nın yapısında yer almakta ve kolesterol sentezini arttırmaktadır (103).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Dizaynı

Ağırlıkları 250 – 350 g arasında değişen toplam 40 adet Wistar Albino cinsi erkek ratla çalışmaya başlanmış fakat hayvanlardan 4'ü anestezi sonrası ex olduğu için çalışma 36 ratla tamamlanmıştır. Otuz altı rat, su ve yiyeceğe serbest bir şekilde ulaşabilecekleri standart metal kafeslerde, normal oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsüyle otomatize edilmiş odada deneysel çalışma boyunca muhafaza edilmiştir.

Çalışmamız Erciyes Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup (27.07.2016.TS.06.KN.13/87) Helsinki Hayvan ve İnsan Araştırmaları Uygulama Prensipleri' ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Hayvanlar deney ve kontrol grubu olarak rastgele iki ana gruba ayrılmış ve bu gruplar alt gruplara bölünmüştür:

1)Deney grubu (abound verilen)

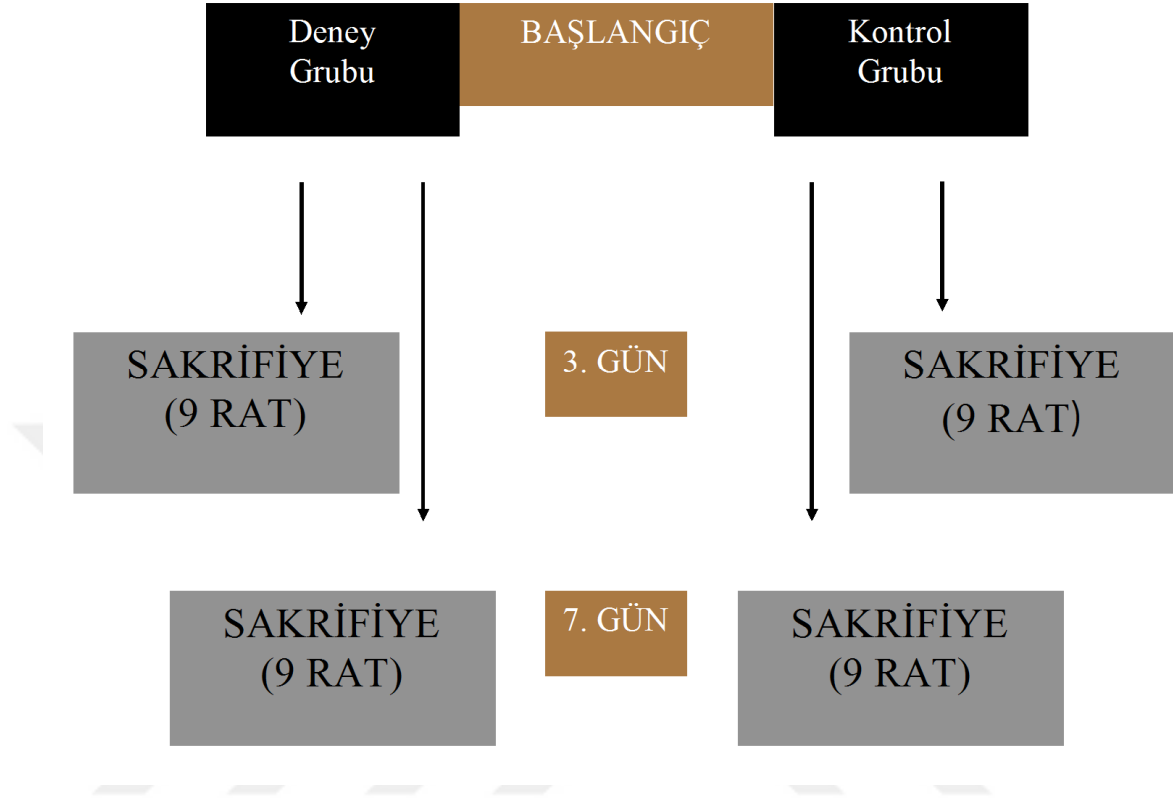
a)3. Gün sakrifiye edilenler

b)7. Gün sakrifiye edilenler

2)Kontrol grubu

a)3. Gün sakrifiye edilenler

b)7. Gün sakrifiye edilenler



Şekil 8: Çalışmanın şematizasyonu

3.2. Hayvanların anestezisi ve damakta yara yeri oluşturulması

Genel klinik muayenesi tamamlanan ve sağlıklı olan ratlar çalışma gruplarına dahil edilerek operasyon hazırlıkları tamamlandı. Operasyon hazırlığı tamamlanan ratlar 0.02 mg/kg intramuskuler (IM) dozunda atropin ile premedikasyona alındı. Premedikasyon uygulamasından yaklaşık beş dakika sonra ksilazin (6 mg/kg) ve ketamin (80 mg/kg) anestezisi kombinasyonu aynı enjektöre çekilip intraperitoneal (İP) yolla bütün hayvanlar genel anestezide alındı.

Genel anestezide altında hayvanlar uygun ve standart pozisyona alınıp ağızları padan yardımı ile açıldı. Ağız açılması ile açığa çıkan damak bölgesinin sağından birinci molar dişlerinin apikal yüzünden 1 mm uzaklığında diş etinden 3 mm çapında disposable punch biyopsi materyali yardımı ile doku örneği alınarak açık yara oluşturuldu. Yara oluşturulan bölgede kanama kontrolü yapılarak hayvanların anesteziden uyanmaları beklendi.



Resim 8: Cerrahi işleme hazırlık aşaması

3.3. Beslenme solüsyonu hazırlanması ve gavaj yoluyla verilmesi

Cerrahi işlem yapılan ve anesteziden uyanan hayvanlar operasyon sonrası bakım için, metal kafeslerine konularak otomatize edilmiş odalara alındı. Deney grubundaki yaklaşık 250-300g ağırlığındaki 18 rata, sabah 09:00 ve akşam 17:00 saatlerinde olmak üzere günde 2 kez 75mg abound tozu 10ml salinle dilüe edilerek solüsyon şeklinde gavaj yoluyla verildi. Kontrol grubundaki hayvanlara ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Her iki grubunda rutin olarak günlük beslenmelerine devam edildi.



Resim 9: Abound içeren solüsyonun gavaj yoluyla verilmesi

3.4.3. 3. Gün ve 7. Gün Sakrifikasyon

Günlük beslenme ve bakımları yapılan otuz altı rattan, 3. gün deney ve kontrol gruplarından 9'ar tanesine genel anestezi altında servikal dislokasyonla fiziksel ötenazi uygulandı. Hayvanların üst damağı diseke edilerek ayrıldı ve punchla oluşturulan yara bölgesi çevresinden sağlıklı dokuyu da kapsayacak şekilde yumuşak doku alanı çıkarılıp %10'luk formaldehit içeren solüsyona konuldu. Aynı işlemler 7. günde de tekrarlandı.



Resim 10: Üst çene bölgesinin diseke edilmesi



Resim 11: Çalışma bölgesinin ayrılması



Resim 12: Örneklerin %10'luk formaldehit solüsyonuna alınması



Resim 13: 3. günde deney ve kontrol gruplarının ayrılması

3.5. Histolojik Metodlar

3.5.1. Histolojik Doku Takip Yöntemi

Çalışmada kullanılan deneklerin hayatlarına son verildikten sonra yara bölgesinin bulunduğu damak dokuları tespit işlemi için %10'luk formaldehit içine alındı. Tespit solüsyonunda 72 saat bekleyen dokular dekalsifikasyon işlemine tabi tutulduktan sonra akan musluk suyunda yıkandı ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek ksilol ile şeffaflandırıldıktan sonra parafine gömüldü ve bloklama yapıldı. Rutin histolojik doku hazırlama metodu tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Doku hazırlama metodu

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	%4 Formaldehid	72 saat	8	Absolü Alkol	1 saat
2	Musluk suyu	1 gece	9	Absolü Alkol	1 saat
3	%50 Alkol	1 saat	10	Ksilen	20 dakika
4	%70 Alkol	1 saat	11	Ksilen	20 dakika
5	%80 Alkol	1 saat	12	Ksilen	20 dakika
6	%96 Alkol	1 saat	13	Eriyik parafin (60°C)	1 gece
7	Absolü Alkol	1 saat	14	Bloklama	

Çalışmada, yara bölgelerinin bulunduğu damak dokularından alınan 5 µm'luk kesitler polilizin kaplı lamlara alındı. Hazırlanan lamlar standart histolojik takip yöntemi kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve dereceli alkol (%100, %96, %80, %70, %50) serilerinden geçirilip suda yıkandı. Genel histolojik yapının belirlenmesi amacıyla kesitler Hematoksilen-Eosin (HE) veya Masson-Trichrom (MT) ile boyanarak önce artan alkol serilerinden daha sonra ksilolden geçirildi ve entellan kullanılarak lamel yardımıyla kapatıldı. HE ve MT boyama teknikleri tablo 3 ve tablo 4'de ayrıntılı şekilde verilmiştir.

Tablo 3: HE Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Ksilen-I	15 dk	12	Akarsu	10 dk
2	Ksilen-II	15 dk	13	%50 Alkol	10 dk
3	Absolü Alkol	10 dk	14	%70 Alkol	10 dk
4	%96 Alkol	10 dk	15	%80 Alkol	10 dk
5	%80 Alkol	10 dk	16	%96 Alkol	10 dk
6	%70 Alkol	10 dk	17	Absolü Alkol	10 dk
7	%50 Alkol	10 dk	18	Absolü Alkol	10 dk
8	Akarsu	10 dk	19	Ksilen-I	15 dk
9	Hematoksilen	7 dk	20	Ksilen-II	15 dk
10	Akarsu	5 dk	21	Kapatma	
11	Eozin	5 dk			

Tablo 4: MT Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat	16	Distile Su	5 dakika
2	Ksilen I	10 dakika	17	Fosfomolibdik asit	5 dakika
3	Ksilen II	10 dakika	18	Anilin blue solüsyonu	2-5 dakika
4	Ksilen III	10 dakika	19	Distile Su	5 dakika
5	Absolu Alkol I	5 dakika	20	%1'lik asetik asit	2 dakika
6	Absolu Alkol II	5 dakika	21	Distile Su	5 dakika
7	%96 Alkol	5 dakika	22	%50 Alkol	2 dakika
8	%70 Alkol	5 dakika	23	%70 Alkol	2 dakika
9	%50 Alkol	5 dakika	24	%96 Alkol	2 dakika
10	Akarsu	2 dakika	25	Absolu Alkol I	10 dakika
11	Hematoksilen	5-8 dakika	26	Absolu Alkol II	10 dakika
12	Akarsu	5 dakika	27	Ksilen I	20 dakika
13	Asit alkol	30 saniye	28	Ksilen II	20 dakika
14	Akarsu	5 dakika	29	Ksilen III	20 dakika
15	Asit fuksin	1-2 dakika	30	Kapatma	

3.5.2. İmmünohistokimya Boyama Yöntemi

İmmünohistokimyasal (IHK) yöntem, özgül antijenik saptama özelliğine sahip bir belirleyicinin, hücrelerin yüzeyine bağlanması temeline dayanmaktadır. Çalışmanın bu bölümünde, deneyin 3. ve 7. günlerinde yara bölgesinde büyüyen epitelyal dildeki çoğalan keratinositler için bir belirteç olarak CK 6; epidermal kök hücrelerinin belirlenmesi için CK15 ekspresyonu immünohistokimyasal olarak gösterildi. İHK boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin peroksidaz yöntemi uygulandı. İHK boyama için poli-lizini lamlara alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler kullanıldı. Parafin bloklardan alınan kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra 15 dakika ksilolde deparafinize edilip ardından derecesi giderek azalan %99, %96 ve %70'lik alkol serilerinin her birinde 5'er dakika tutularak dehidrate edildi ve 10 dakika distile suda bekletildi. Daha sonra antijen geri kazanımı için %5'lik sitrat tamponu ile mikrodalga fırında 600W'de 5 dakika kaynatılan kesitler PBS ile tekrar yıkanarak endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 10 dakika %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile muamele edildi. Bundan sonraki aşamalar için boyama kiti (*Thermo Scientific*) kullanıldı. Kalan işlemler dokuların kurumasını nemli ortam oluşturarak önleyen chamber içerisinde gerçekleştirildi. Kullanılan her bir solüsyon dokunun üzerini tamamen kapatacak şekilde uygulandı. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere antijenik alanların dışında kalan bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 10 dakika Blok serum uygulandı. Preparatlardaki dokuların üzerine CK6 (abcam ab115974) ve CK15 (invitrogen MA5-11344) primer antikorları damlatılarak buzdolabında bir gece inkübe edildi. Negatif kontrol olarak, primer antikor yerine PBS kullanıldı. Yıkama işleminden sonra kesitler biotinli-sekonder antikor ile 15 dakika inkübe edildi ve ardından yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra streptavidin peroksidaz ile 15 dakika muamele edilen kesitler yıkanarak immunreaktiviteyi görünür hale getirmek için diaminobenzidin (DAB) (*Thermo Scientific*) özelliği gösteren substrat ile 5 dakika muamele edildi. Daha sonra kesitler distile su ile yıkandı ve artan alkol serilerinde 5'er dakika bekletilerek ksilolde 15 dakika tutulup dokular entellan ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatıldı.

3.5.3.TUNEL boyama metodu

Deney sonunda elde edilen dokulara ait tüm kesitlerde apoptotik hücreleri belirlemek için terminal deoxynucleotide-transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) metodu uygulandı. Boyama işlemi için ApopTag® Fluorescein In Situ Apoptosis Detection Kit (EMD Millipore, Darmstadt, Germany) kullanıldı ve boyama basamakları kitin prosedürüne göre yapıldı. Özetle, 5 µm kalınlığında alınan dokular deparafinize ve ardından rehidrate (absolü alkol, 96%, 80%, 70%, 60% ve 50%) edildikten sonra 3 kez PBS ile yıkandı. Dokular 15 dk proteinaz K ile inkübe edildikten sonra distile su ile yıkandı. Örnekler endojen peroksidaz aktivitesini en aza indirmek için %3'lük hidrojen peroksit ile 10 dk muamele edildi. PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkanan dokular daha sonra kitin içinden çıkan TUNEL reaksiyon karışımı ile 37 °C'de nemli ve karanlık ortamda 1 saat inkübe edildi. Nükleusların görünmesi için dokulara 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) ile zıt boyama yapıldı. Bütün işlemler nem kamerası içinde gerçekleştirildi. Hazırlanan örnekler bir floresan mikroskop (Olympus BX51, Tokyo, Japan) kullanılarak değerlendirildi. TUNEL pozitif apoptotik hücre sayısını değerlendirebilmek için her dokuda yara bölgesinde yer alan ve büyüyen epitelyal dilden 40X objektifte fotoğraf alındı. İmmunofluoresan boyama prosedürü sonrası, elde edilen dokularda Image J software programı kullanılarak sadece büyüyen epitelyal dildeki TUNEL pozitif boyanan apoptotik hücreler sayıldı. Alınan veriler doğrultusunda istatistiksel analiz yapıldı.

3.6. Histomorfometrik İncelemeler

3.6.1. HE ve MT boyamada histomorfometrik incelemeler

HE ile boyanan kesitlerde, histomorfometrik olarak yara bölgesinde büyüyen epitelyal dilin uzunluğu ve yara bölgesinde her iki taraftan uzanan epitelyal diller arasındaki mesafe ölçüldü. Bunun için her bir denekten alınan doku örneklerinde yara bölgesinde büyüyen epitelyal dilden 20X'de fotoğraflar çekildi. Image J software (ImageJ, National Institute of Health, USA) programında çekilen fotoğraflar üzerinde her bir denek için ayrı ayrı epitelyal dilin uzunluğu hesaplandı. Yara bölgesinde epitelyal diller arasındaki mesafelerin hesaplanması için ise 4X'de çekilen fotoğraflar kullanıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

MT ile boyanan kesitlerde, Image J software programı kullanılarak x20'de yara bölgesinde yeni şekillenen epitelyal dilin hemen distalinde uzanan kollajen liflerden zengin bağ dokusu alanlarının μm^2 de kapladığı alan hesaplandı.

3.6.2.İHK boyamalarda histomorfometrik incelemeler

Bunun için deneklerden alınan CK6 ve CK15 primer antikoru kullanılarak yapılan immun boyama metodunu uyguladığımız kesitlerin yara bölgesi incelendi. Işık mikroskopunda, deneklere ait her bir kesitin yara bölgesinde bulunan epitelyal dillerden 20X büyütmede fotoğraflar çekildi. Çekilen fotoğraflarda Image J software programı kullanılarak reepitelizasyon bölgesinde tüm epitelyal katmanda CK6 immünreaktivite yoğunlukları hesaplanırken, bazaldeki 2-3 sıra hücre tabakasında ise CK15 immünreaktivite yoğunlukları hesaplandı ve sonuçlar kaydedildi.

3.6.3.TUNEL boyamalarda histomorfometrik incelemeler

Apoptozisin belirlenmesi için TUNEL metodunun uygulandığı preparatlar kullanıldı. TUNEL+ reaksiyon gösteren apoptotik hücreler yeni şekillenen epitelyal dilde incelendi ve + hücreler sayıldı. Yara bölgesinde ve şekillenen epitelyal dilin bulunduğu bölgeden 40x'lik büyütmede alınan flouresan görüntülerde Image J software programı kullanılarak pozitif hücreler sayıldı.

3.7.İstatiksel Analiz

Hayvanlar beslenme ürünü uygulamasına göre iki gruba ayrılmıştır. Birinci grubu (test grubu) beslenme ürünü uygulanan hayvanlar, ikinci grubu (kontrol grubu) ise beslenme ürünü uygulanmayan hayvanlar oluşturmaktadır. Hayvanlar kendi içlerinde de sakrifikasyon günlerine göre 3. günde ve 7. günde sakrifiye edilenler şeklinde 2'ye ayrılmıştır. Verilerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov normal dağılım testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılan veriler tek yönlü Varyans Analiz'i (One Way Anova), normal dağılmayanlar ise Kruskal Wallis h testi uygulanmıştır. Post-hoc test olarak LSD (Least Significant Difference) uygulanmıştır. Tüm istatistiksel analizlerde güven aralığı %95 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel analizler, SPSS Statistic 22 (IBM, Amerika Birleşik Devletleri) paket program kullanılarak gerçekleştirilmiştir. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1.Işık Mikroskobu Bulguları

Çalışmada, oral yara onarımında l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürününün rolünü araştırdık. L-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürününün yara iyileşmesi süreci üzerine olası etkilerini belirlemek için HE ve MT boyama metodları kullanıldı. HE ile boyanan kesitlerde yara morfolojisi değerlendirilirken, MT ile boyanan kesitler kollajen birikimini göstermek için kullanıldı. HE boyamada, yara bölgesi epidermis, subkütan ve kas katmanlarının bozulması ile kolaylıkla ayırt edilmekteydi. Resim 14’de, erken (3) ve geç (7) evrelere ait l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü uygulanmayan kontrol grupları ile uygulanan deney gruplarına ait yara bölgeleri gösterilmiştir. Kontrol grubu 3. güne ait, yara bölgesinde epitelyal dokunun tam olarak yara yatağını kapatmadığı gözlenirken, deney grubu 3. güne ait, yara bölgesinde kontrol grubunda olduğu gibi yara bölgesinin tam olarak kapanmadığı ancak yara yatağı üzerinde iki yönden uzanan epitelyal dokunun daha uzun olduğu gözlemlendi. Bu grupta uygulanan beslenme ürününün reepitelizasyonu hızlandırdığını gösterdi. Kontrol grubu 7. güne ait, yara bölgesinde yara yatağı üzerinde epitelyal doku tam olarak yara yatağını örtmemişti. Ancak yara yatağı üzerinde uzanan epitelyal dilin kontrol 3. güne göre daha uzun olduğu görüldü. Deney grubu 7. güne ait, yara bölgesinde tüm diğer gruplara göre yaranın yüzeyinde tekrar epitelize olan dokunun daha belirgin ve daha uzun olduğu gözlemlendi. Dahası, bazı deneklerde yara bölgesi belirgin epitel hiperplazisine sahipti ve tamamen kapanmıştı.

Histolojik analizlerle kontrol grubu 3. ve 7. günlere ait tüm ratlarda yara bölgesinin tam kapanmadığı ve yara yerinin beslenme ürünü uygulanan ratlara göre daha belirgin derecede ve daha büyük olduğunu gözledik. Sonuçlar, l-arjinin, l-glutamin ve HMB

içerikli beslenme ürününün yara onarımı sırasında bu topikal mukozada reepitelizasyonu arttırarak başarılı bir şekilde toparlanma sağladığını gösterdi (Tablo 5).

İstatistiksel olarak bakıldığında yara dilleri uzunlukları arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmiştir. Kontrol grubunda 3. gün yara dili uzunluğu istatistiksel olarak anlamlı şekilde 7. gün değerlerinden daha düşüktür. Deney grubunda ise 3. gün ile 7. gün arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir. Deney grubunun 3. gün yara dili uzunluğu kontrol grubunun hem 3. gün hem de 7. gün yara dili uzunluklarından daha yüksektir.

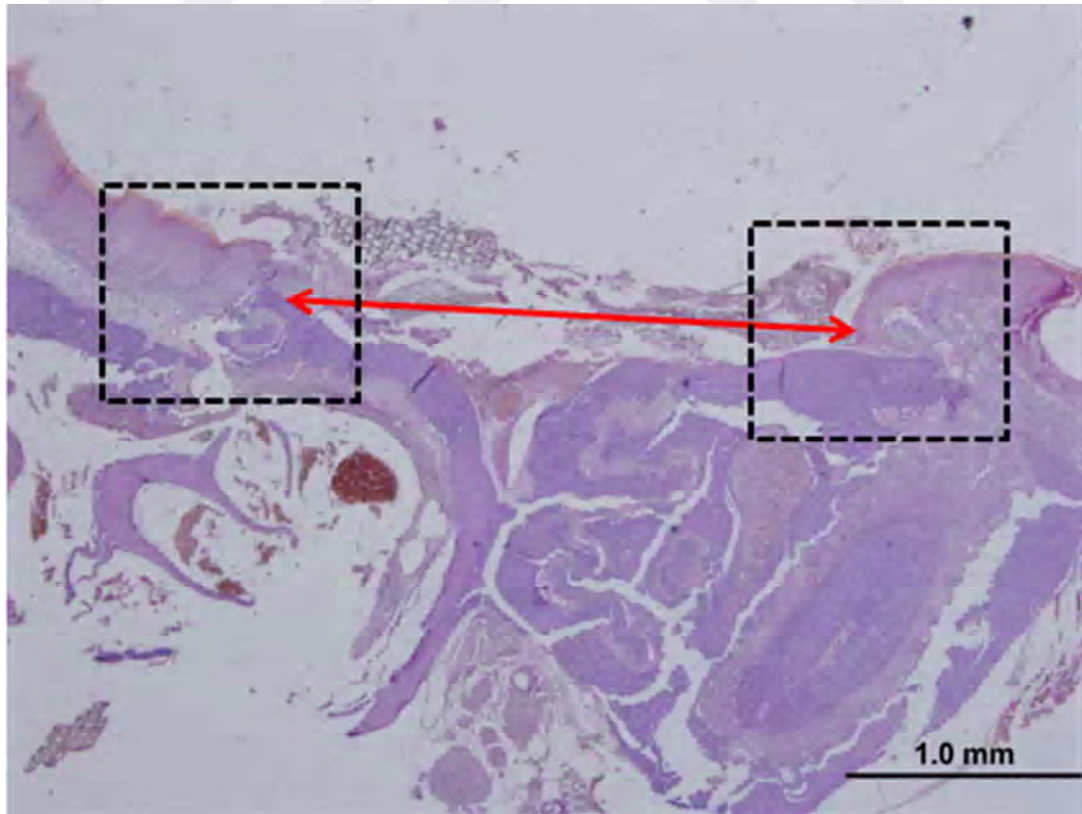
Yara dilleri arasındaki mesafe değerlendirildiğinde yine gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmektedir ($p<0.001$). Kontrol grubu 3. gün yara dilleri arasında mesafe istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubu 7. gün değerlerinden daha yüksektir. Deney grubunda ise 3. ve 7. günler arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemektedir. Ayrıca deney grubu 3. gün yara dilleri arasındaki mesafe ile kontrol grubu 7. gün yara dilleri arasındaki mesafe de istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir.

MT ile boyanan kesitlerde, kontrol ve deney grupları arasında kollajen birikimi açısından karşılaştırma yapıldı ve değerlendirildi. Hem kontrol hem de deney gruplarında, yeni oluşan epitelyal dilin hemen distalinde oldukça hücresel hale getirilmiş granülasyon dokusu organize olmuş ve bağ dokusu hücrelerinden oluşuyordu. Çalışmada MT ile ayırt edilen ve kollajen liflerden oluşan bağ dokusu alanlarının μm^2 de kapladığı alan hesaplandı (tablo 5). İstatistiksel olarak incelendiğinde mikron metre kare başına düşen kollajen miktarları istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıdır. Kontrol grubu 3. gün kollajen miktarı anlamlı şekilde hem deney 3. gün hem kontrol ve deney 7. gün değerlerinden daha düşüktür. Deney grubu 3. ve 7. günler arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir.

Tablo 5: Işık mikroskobu bulgularının karşılaştırılması

	Kontrol 3.gün	Kontrol 7.gün	Deney 3. gün	Deney 7.gün	P değeri
Dil uzunluğu	1080.1±421 ^a	2152.0±272 ^b	2890.8±371 ^c	3120.9±390 ^c	<0.001
µm ² kollajen miktarları	296.65±44 ^a	346.24±49 ^b	337.70±58 ^b	364.94±75 ^b	0.039
Yara dilleri Arası mesafe	483.71±38 ^a	308.02±24 ^b	266.27±44 ^{bc}	199.95±27 ^{cd}	<0.001

HE ve MT boyama sonuçları, l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü uygulamasının yara kapanma süresini kısalttığı, kollajen sentezini arttırdığı ve yara morfolojisini düzelttiğini gösterdi. Böylece çalışmada elde edilen histolojik bulgular, l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü uygulamasının deneysel olarak geliştirilen yara modelinde bazı histopatolojik yanıtları azaltabileceği ve yara iyileşme sürecini hızlandırdığı gösterildi.



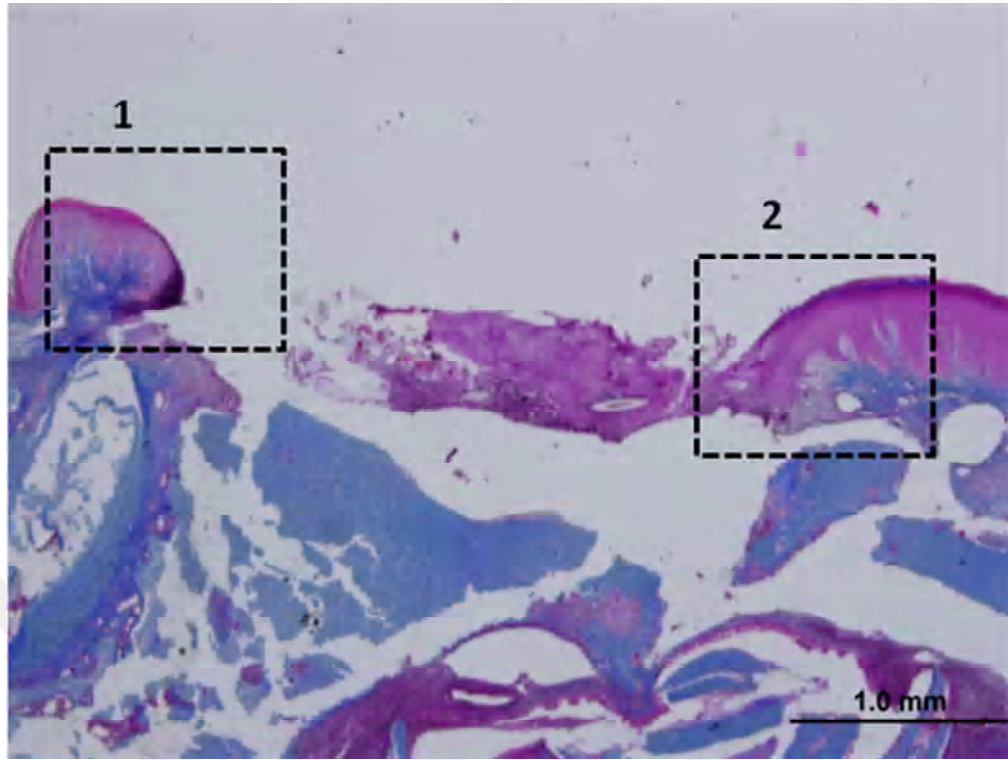
Resim 14: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızı ok yara dilleri arası uzaklığı gösterirken kare içine alınmış alanlar 20'lik büyütmede incelenen alanları göstermektedir)



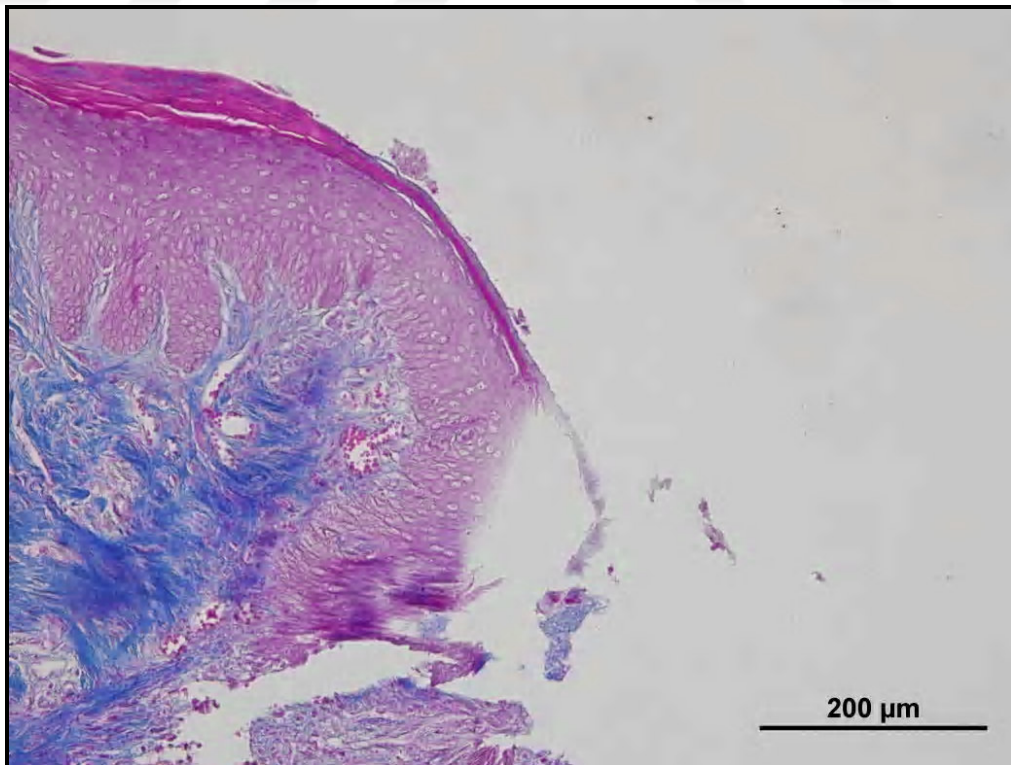
Resim 15: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızı çizgiler ile gösterilen alan resim 14'de sol tarafta görülen kare kısmı içerisindeki yara dilinin uzunluğunun nasıl çizildiğini göstermektedir)



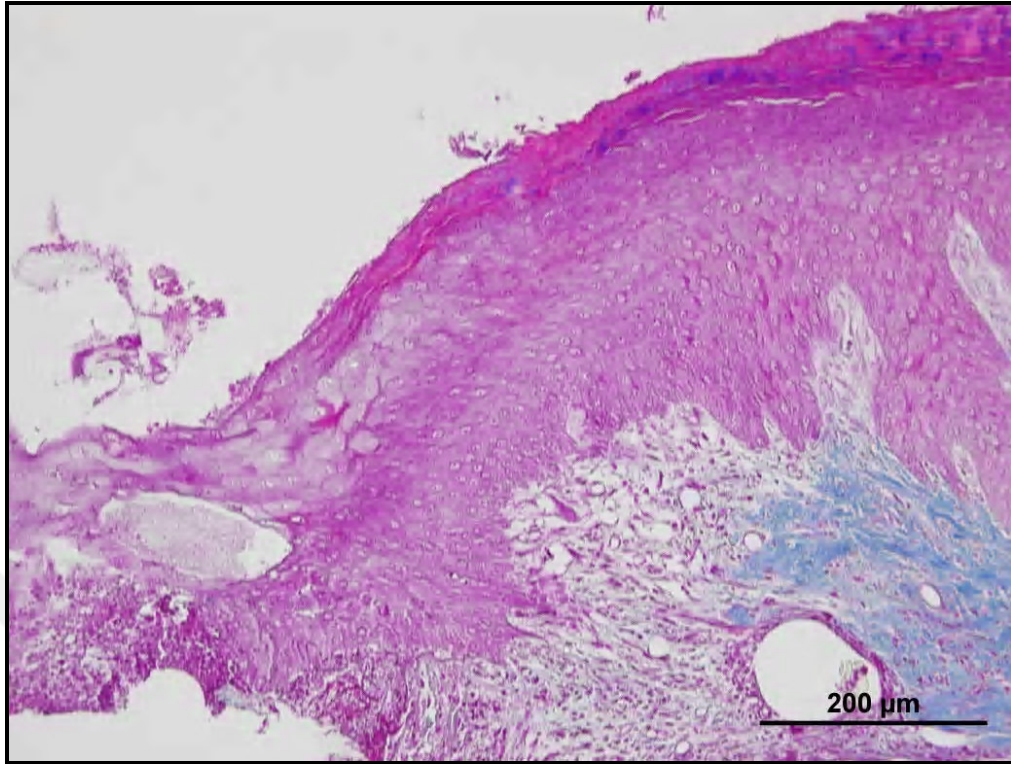
Resim 16: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızı çizgiler ile gösterilen alan resim 14'de sağ tarafta görülen kare kısmı içerisindeki yara dilinin uzunluğunun nasıl çizildiğini göstermektedir)



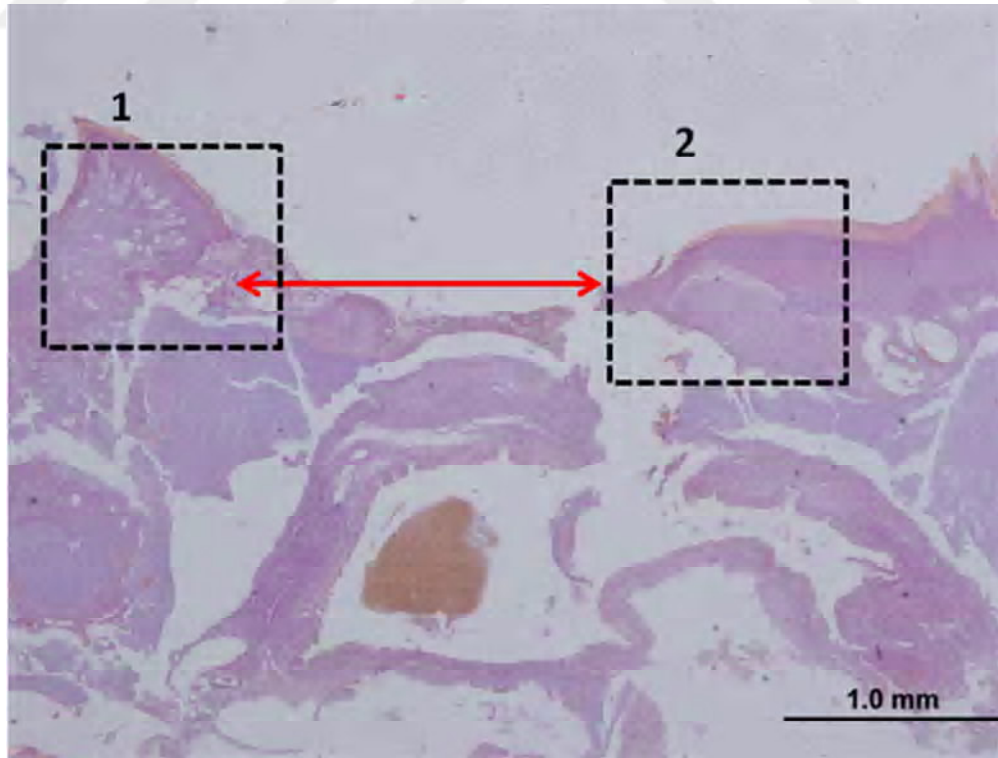
Resim 17: Kontrol grubu 3. gün örneği (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1 ve 2 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır)



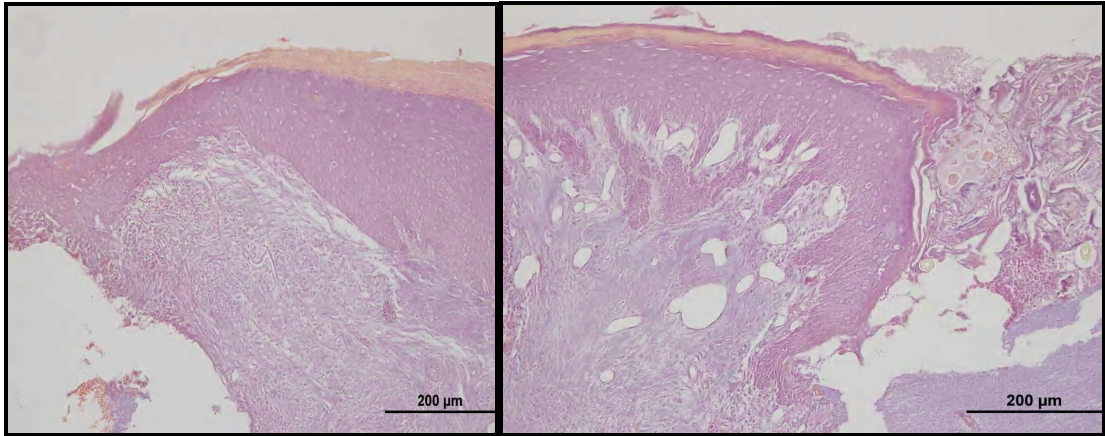
Resim 18: Kontrol grubu 3. gün örneğinin 1. kare içerisine alınmış alan örnekte (resim 17) total kollajen miktarı ölçülmüştür.



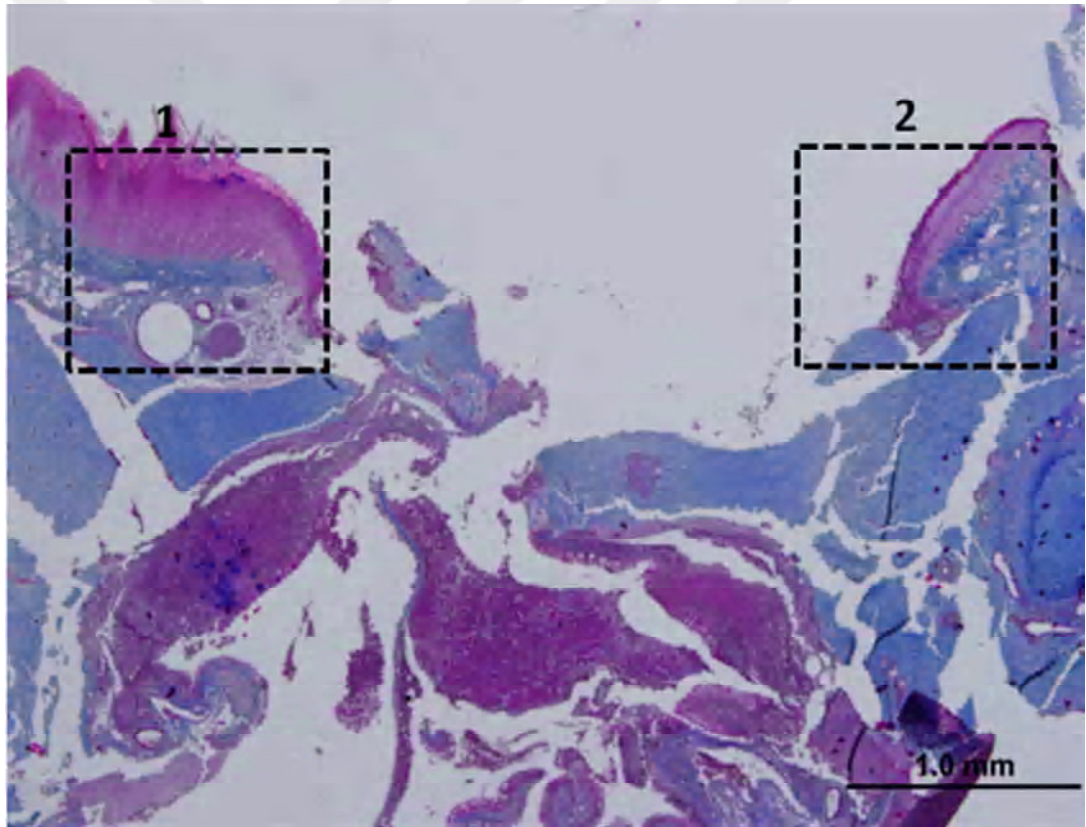
Resim 19: Kontrol grubu 3. gün örneğinin 2. kare içerisine alınmış alan örnekte (resim 17) total kollajen miktarı ölçülmüştür.



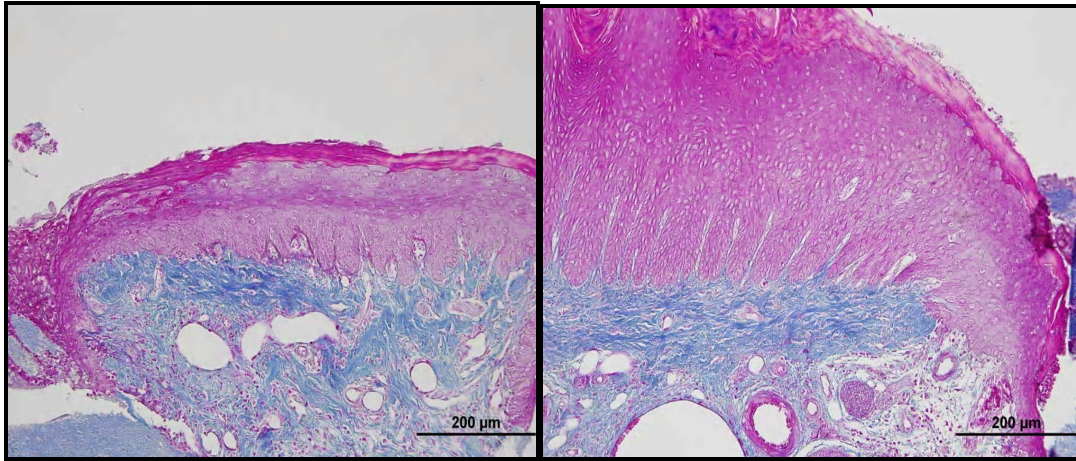
Resim 20: Kontrol grubu 7. gün örneği (kırmızı ok yara dilleri arası uzaklığı gösterirken kare içine alınmış alanlar 20'lik büyütmede incelenen alanları göstermektedir)



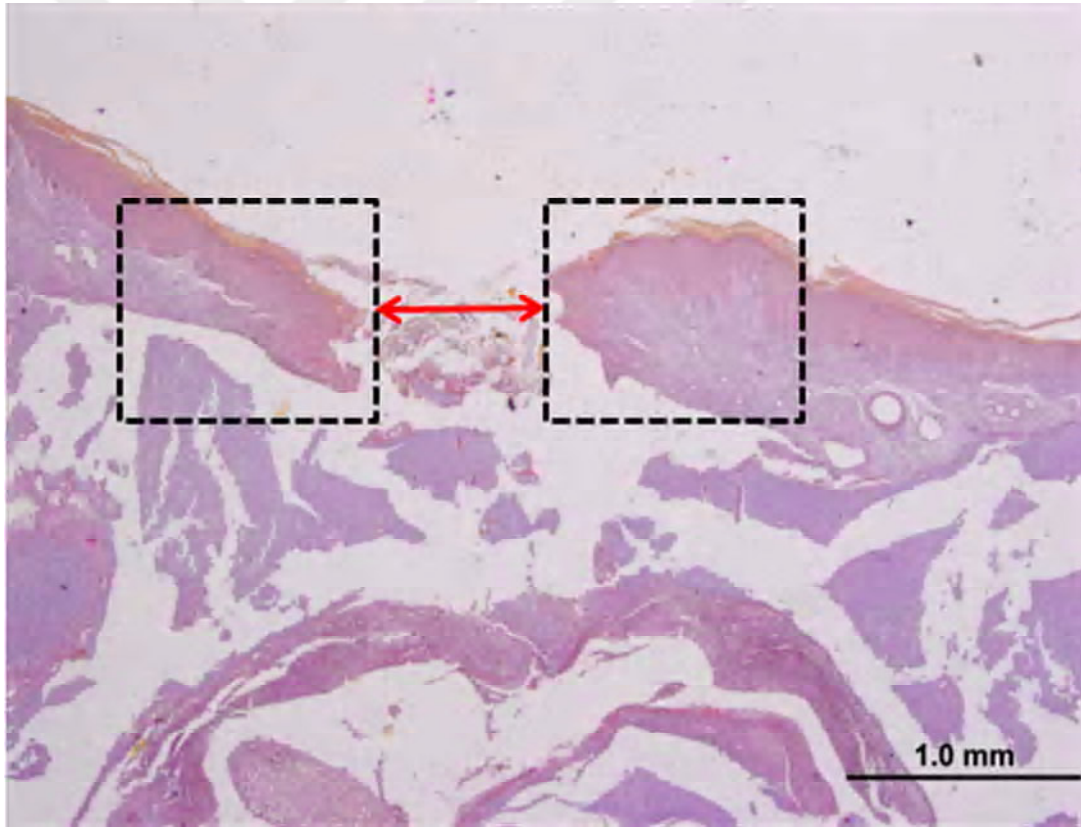
Resim 21: Kontrol grubu 7. gün örneklerinde yara dillerinin görüntüsü (resim 20'de kare içerisine alınan alanlar)



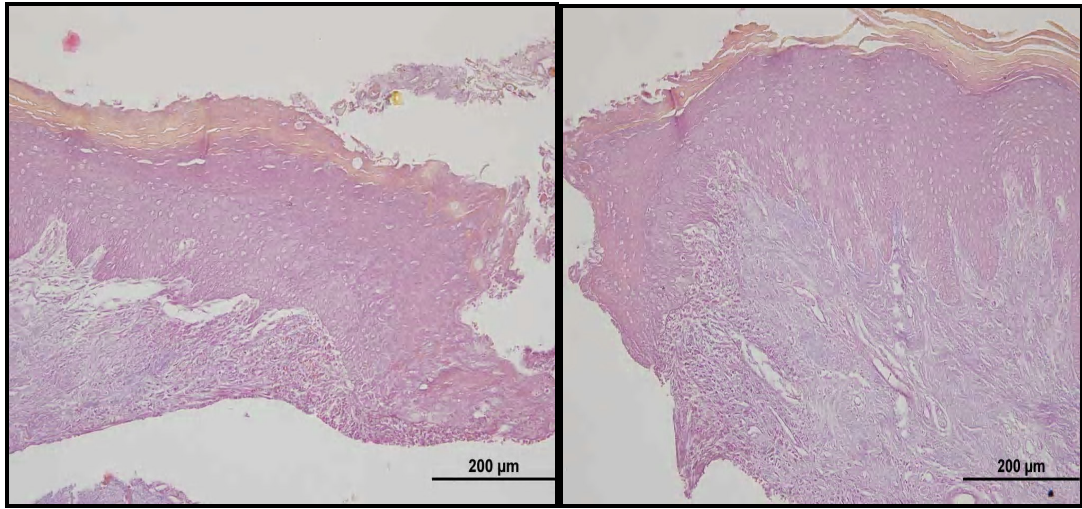
Resim 22: Kontrol grubu 7. gün örneği (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1 ve 2 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır)



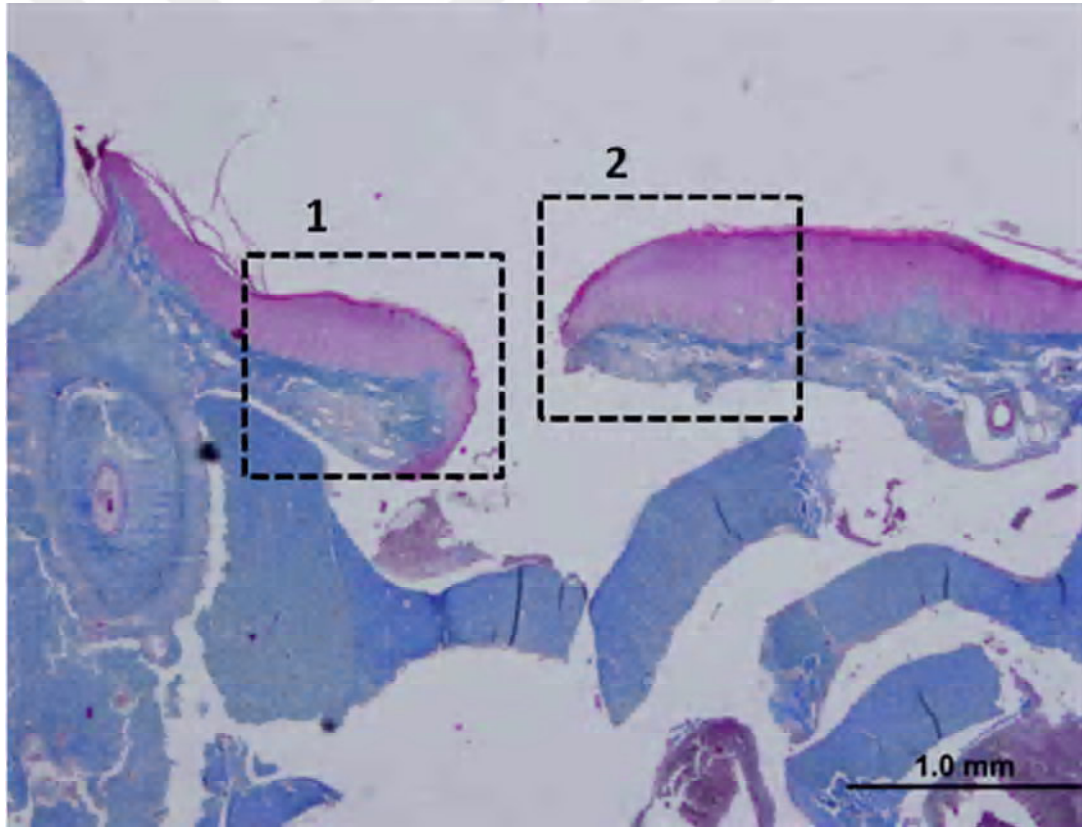
Resim 23: Kontrol grubu 7.gün örneklerinde yara dillerinin altında kalan total bağ dokusu alanları (resim 22'de kare içerisinde alınan alanlar)



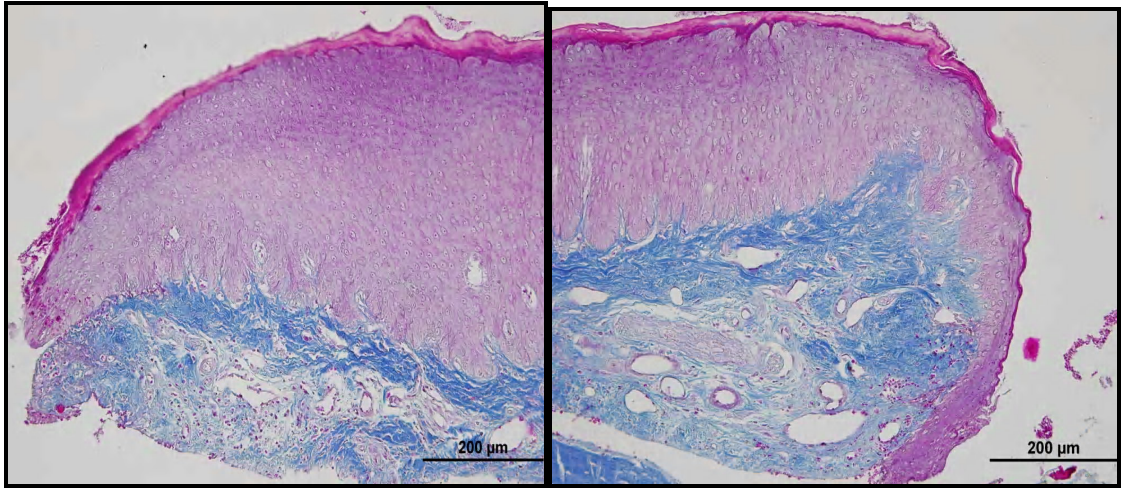
Resim 24: Deney grubu 3. gün (kırmızı ok yara dilleri arası uzaklığı gösterirken kare içine alınmış alanlar 20'lik büyütmede incelenen alanları göstermektedir)



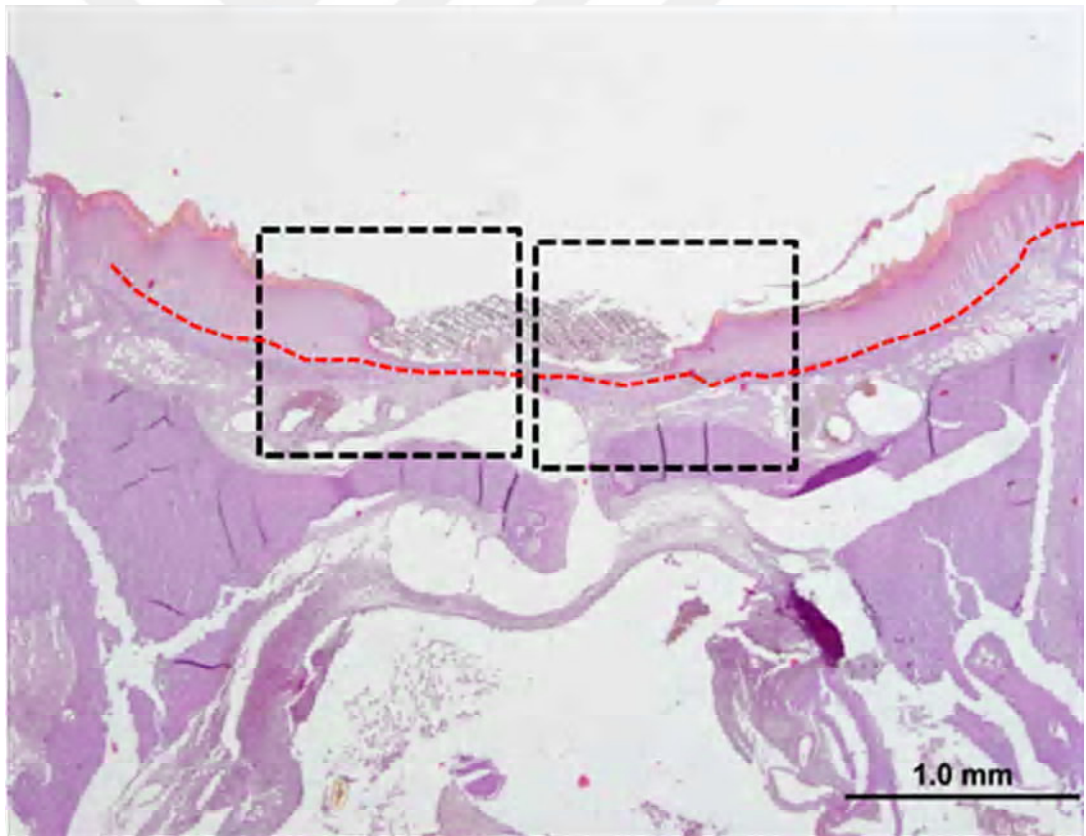
Resim 25: Deney grubu 3. gün örneklerinde yara dillerinin görüntüsü (resim 24 'de kare içerisine alınan alanlar)



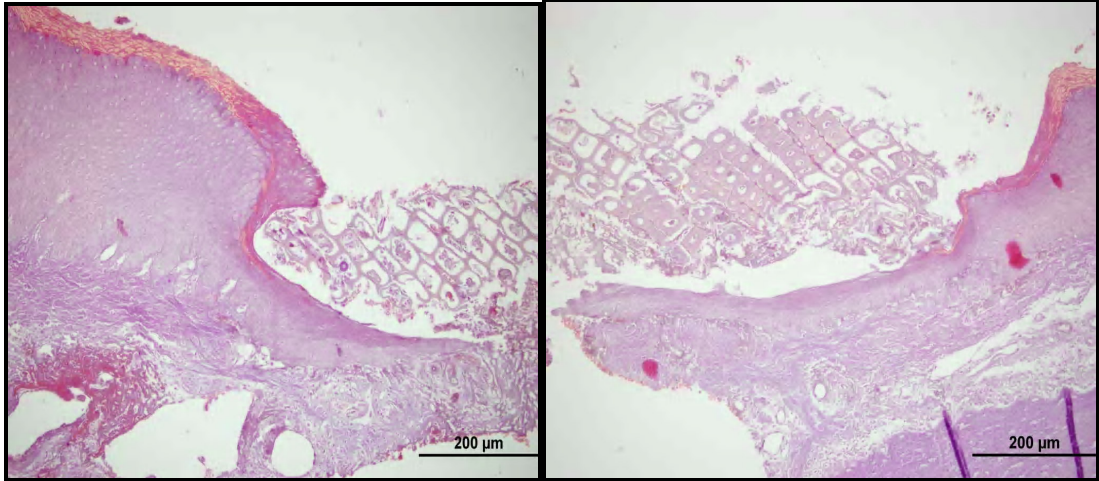
Resim 26: Deney grubu 3. gün (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1 ve 2 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır)



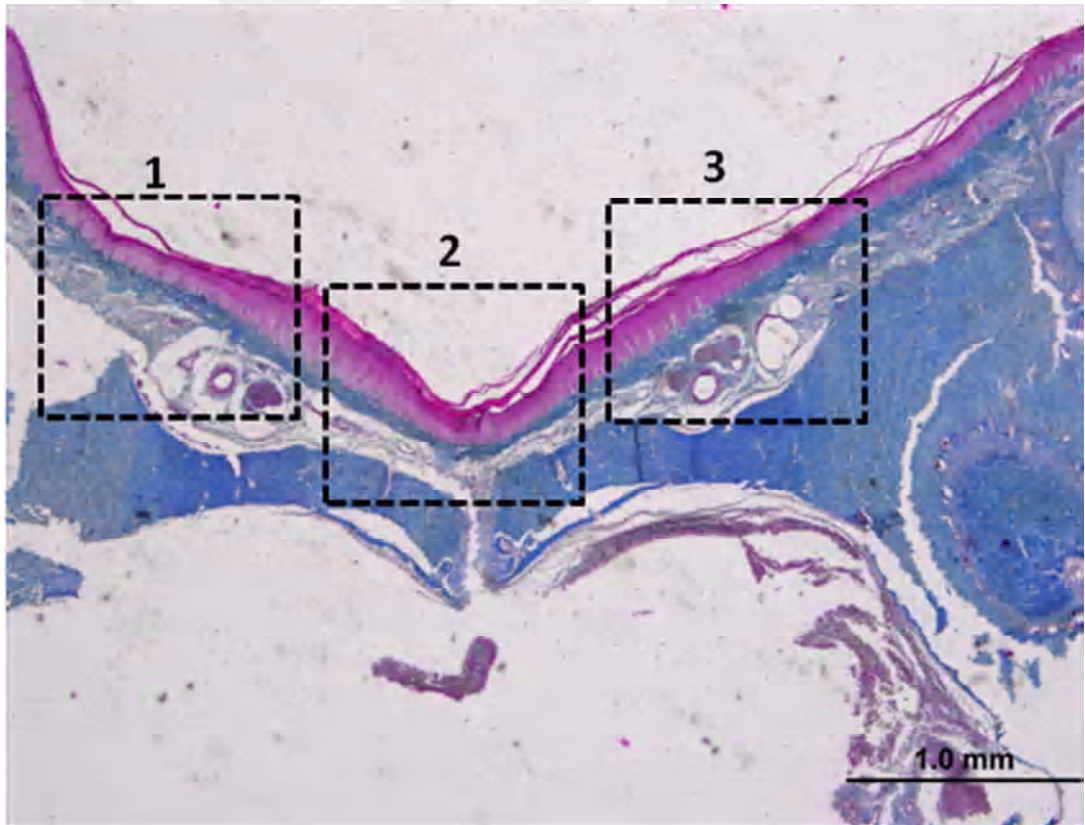
Resim 27: Deney grubu 3. gün örneklerinde yara dillerinin altında kalan total bağ dokusu alanları (resim 26'da kare içerisine alınan alanlar)



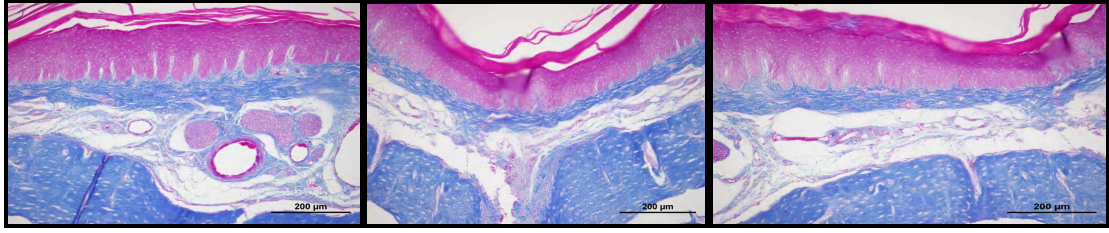
Resim 28: Deney grubu 7. gün (yara bölgesinin tamamen epitelize olduğu görülmektedir)



Resim 29: Deney grubu 7. gün örneklerinde yara dillerinin görüntüsü (resim 28'de kare içerisine alınan alanlar)



Resim 30: Deney grubu 7. gün (MT ile boyanmış kesitlerden alınan görüntülerde yara dili altında kalan bölgedeki total bağ dokusu alanları 1, 2 ve 3 olarak numaralandırılan kare alanlarda hesaplanmıştır)



Resim 31: Deney grubu 3. gün örneklerinde yara dillerinin altında kalan total bağ dokusu alanları (resim 30'da kare içerisine alınan alanlar). Yara dokusu altında artmış bağ dokusu alanları mavi renkte görülmektedir.

4.2. İmmunohistokimyasal bulgular

4.2.1. CK6

Epidermis tabakasını oluşturan keratinositler, spesifik bir belirteç olan CK6 immün boyama metodu ile görselleştirildi (resim 15). Deney gruplarına ait yara bölgesinde yeniden şekillenen epitel bölgesindeki tüm keratinositler CK6 eksprese etmekteydi. Kantitatif analizler, l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü uygulanan deney gruplarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görülmektedir. Kontrol grubu CK ekspresyonu 3 günde istatistiksel olarak anlamlı şekilde 7. günden daha düşüktür. Deney grubunda ise 3. ve 7. gün arasında anlamlı fark olmadığı görülmektedir. Deney grubu 3.gün CK ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubu 3. ve 7. gün değerlerinden daha yüksektir. Benzer şekilde deney grubu 7. gün değerleri de kontrol grubu 7. gün değerlerinden daha yüksektir (tablo 6)

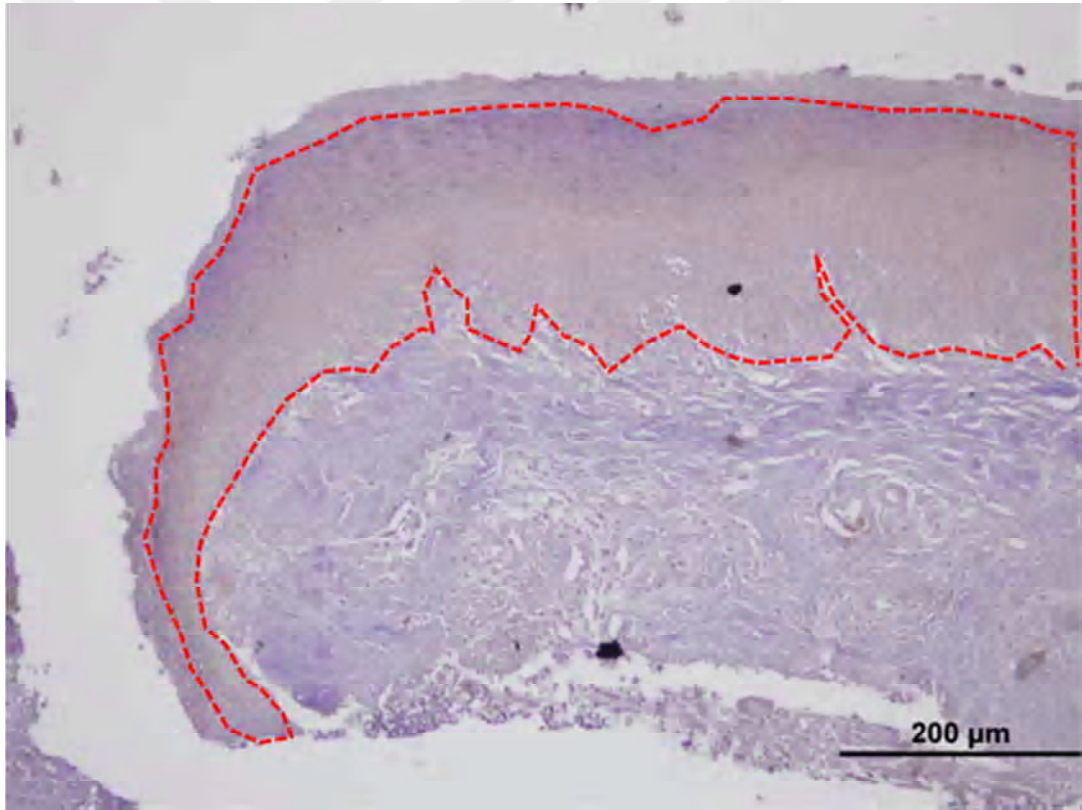
4.2.2. CK15

CK15, hem deney hem de kontrol gruplarında çoğalan ve yeniden organize olan epitelyal dilin şekillenmesinden sorumlu epidermal kök hücrelerinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılmıştır (resim 16). Çalışmada, özellikle de epidermisin bazal membranı üzerine oturan ilk birkaç hücrede CK15 belirtecinin spesifik immunoreaktivite yoğunlukları hesaplanmıştır. Buna göre, l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü uygulanan deney grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir. CK15 ekspresyonu kontrol ve deney grubu 3. gün örneklerinde 7. gün örneklerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktür. Deney grubu 3. gün CK15 ekspresyonu kontrol grubu 3. gün değerlerinden anlamlı şekilde daha yüksekken,

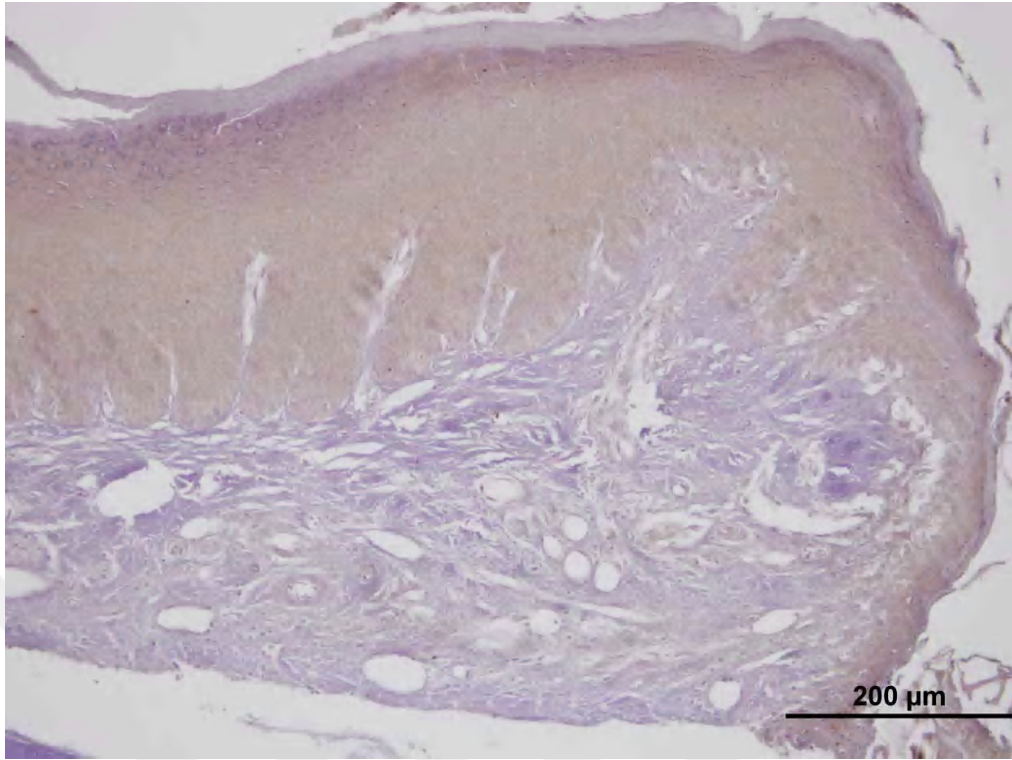
kontrol grubu 7. gün değerleri ile benzerdir. Deney grubu 7. gün CK15 ekspresyonu kontrol grubu 7. gün değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir.

Tablo 6: CK6 ve CK15 ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırılması

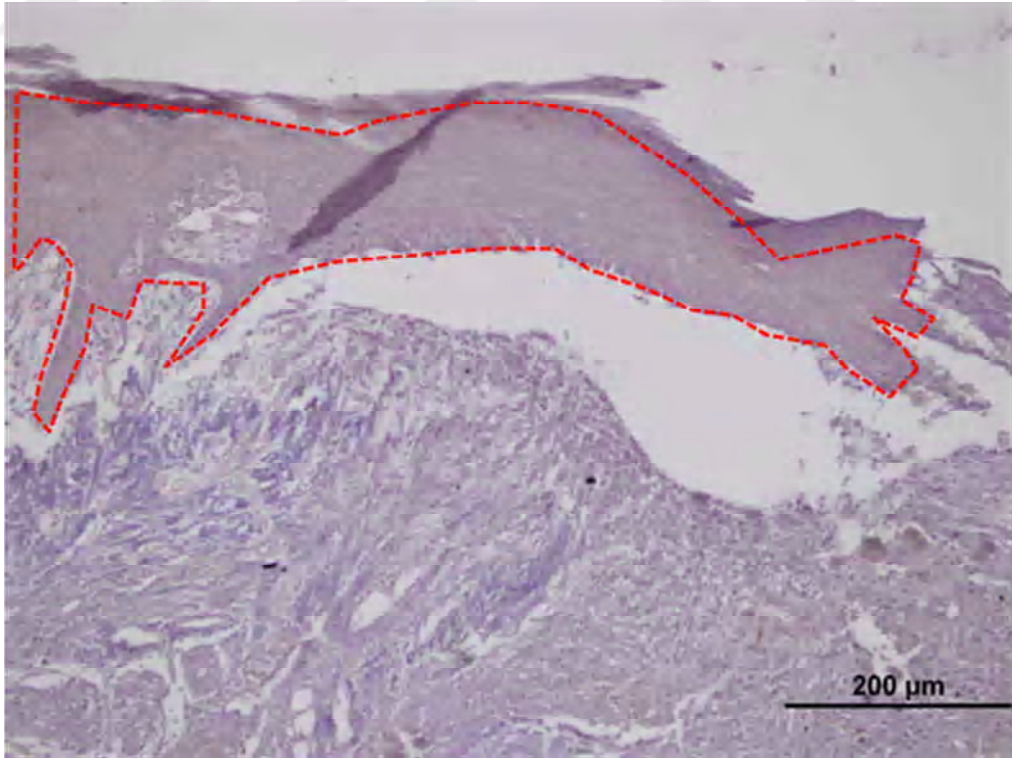
	Kontrol 3.gün	Kontrol 7.gün	Deney 3. gün	Deney 7.gün	P değeri
CK15	83.2±6 ^a	88.4±5 ^b	88.2±4 ^b	92.0±4 ^c	<0.001
CK6	82.1±12 ^a	87.2±9 ^b	99.9±7 ^c	100.3±12 ^c	0.030



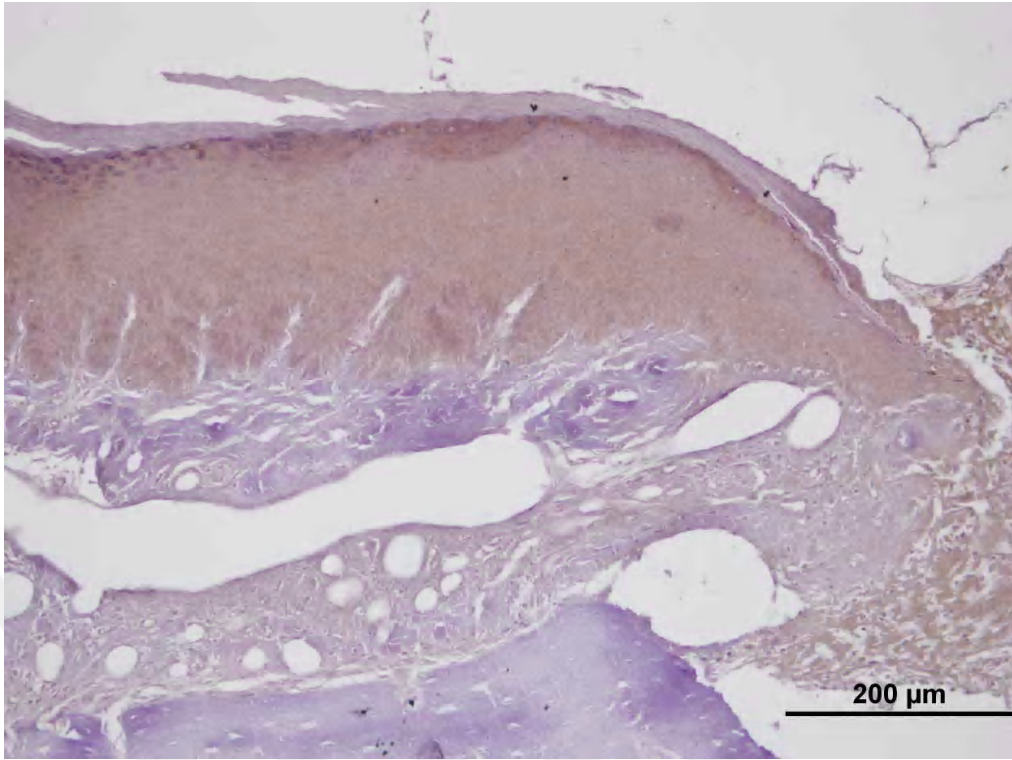
Resim 32: Kontrol grubu 3. gün örneği (kırmızıyla gösterilen alan epitel alanını göstermektedir). Kahverengi alanlar CK6 ekspresyonun yoğun olduğu alanları göstermektedir.



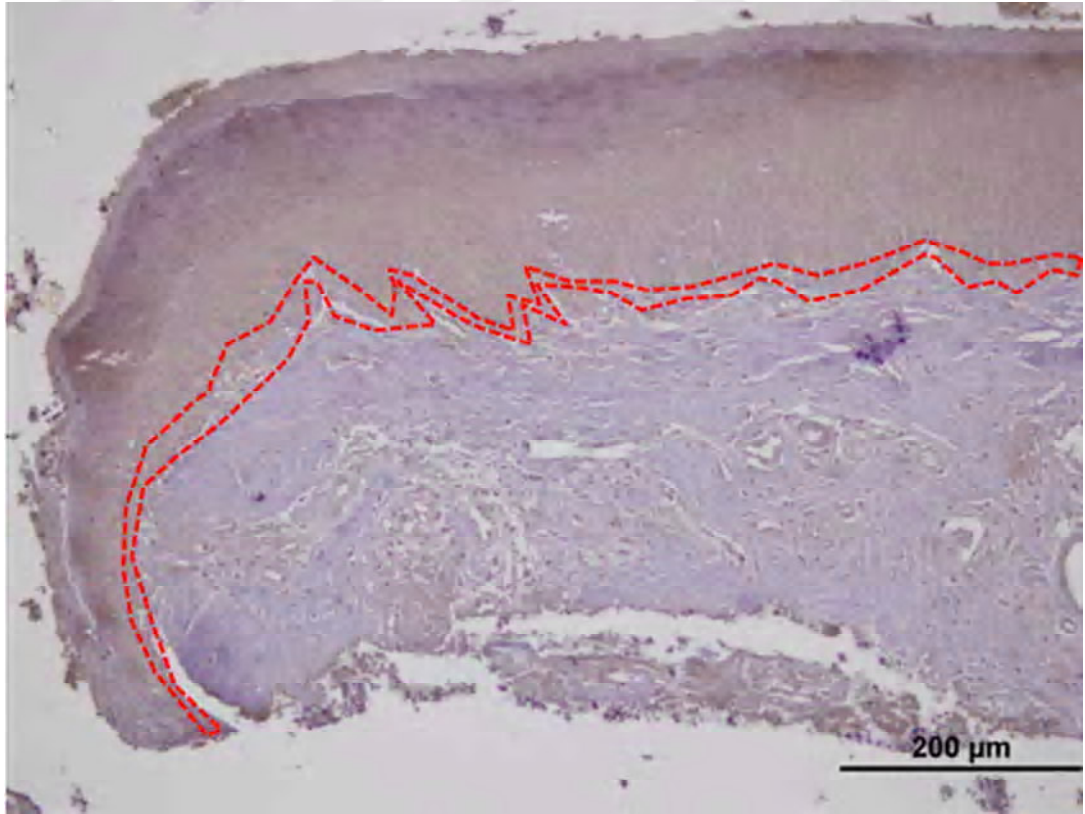
Resim 33: Deney grubu 3. gün örneği (kahverengi alanlar CK6 ekspresyonunun yoğun olduğu alanları göstermektedir).



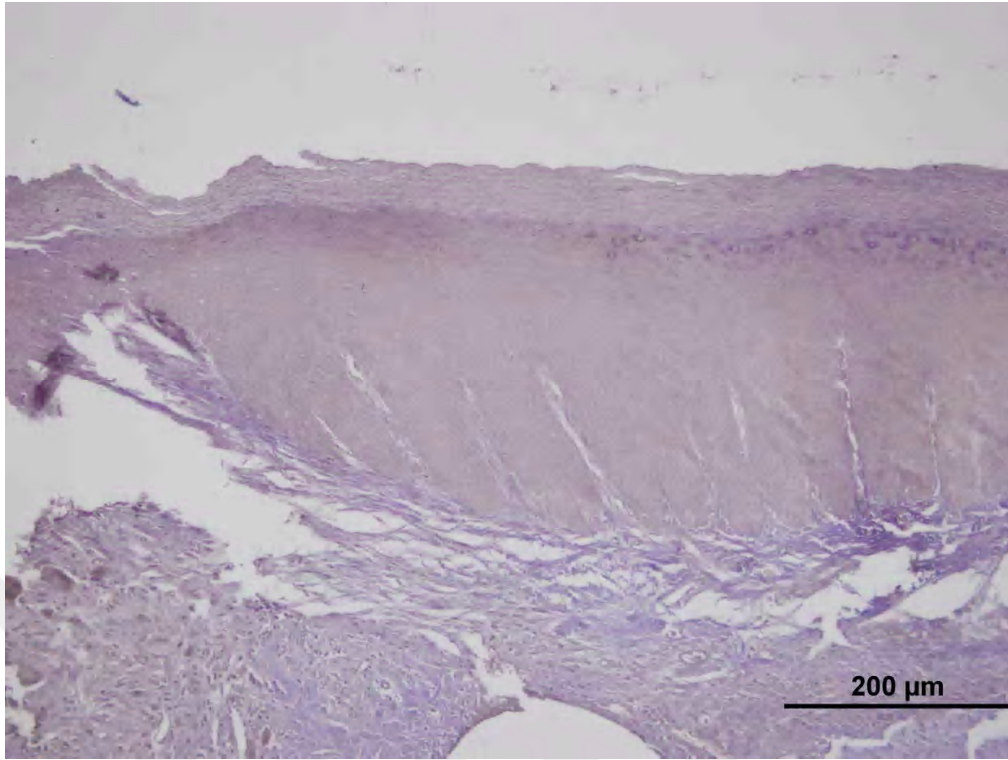
Resim 34: Kontrol grubu 7. gün (kırmızı ile sınırlanmış alan epitel alanı göstermektedir) (kahverengi alanlar CK6 ekspresyonunun yoğun olduğu alanları göstermektedir)



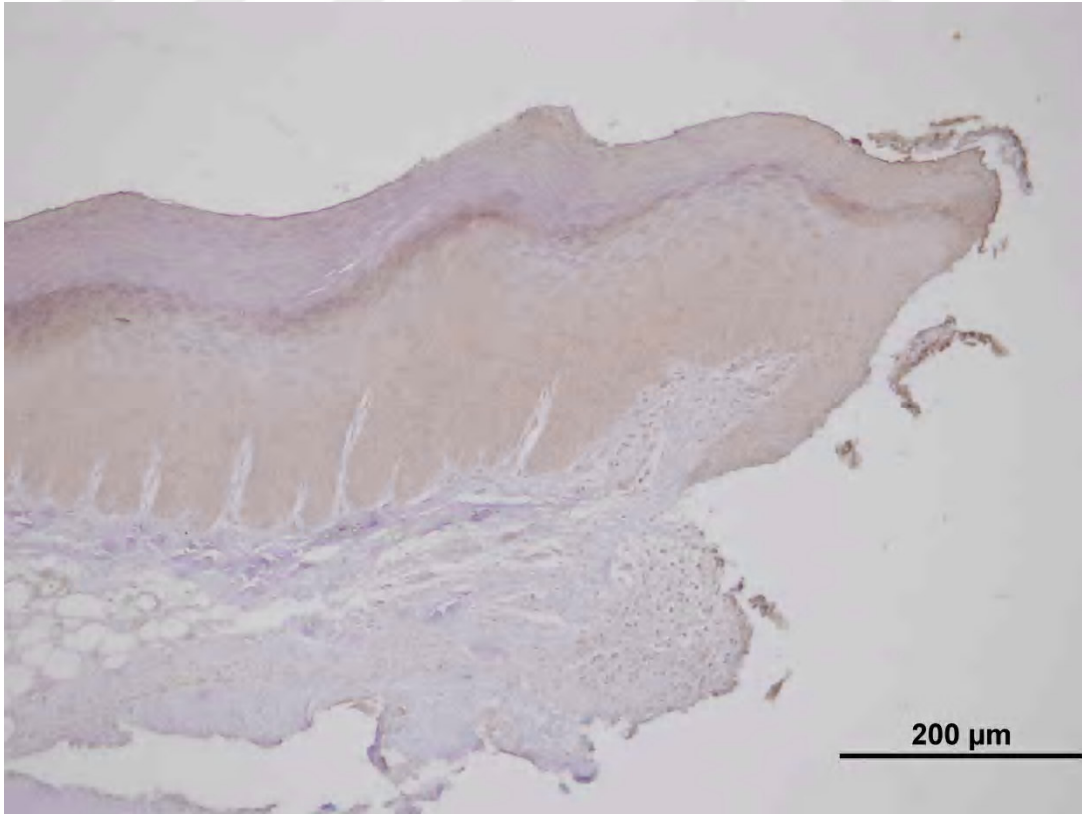
Resim 35: Deney grubu 7. gün (kahverengi alanlar CK6 ekspresyonunun yoğun olduğu alanları göstermektedir)



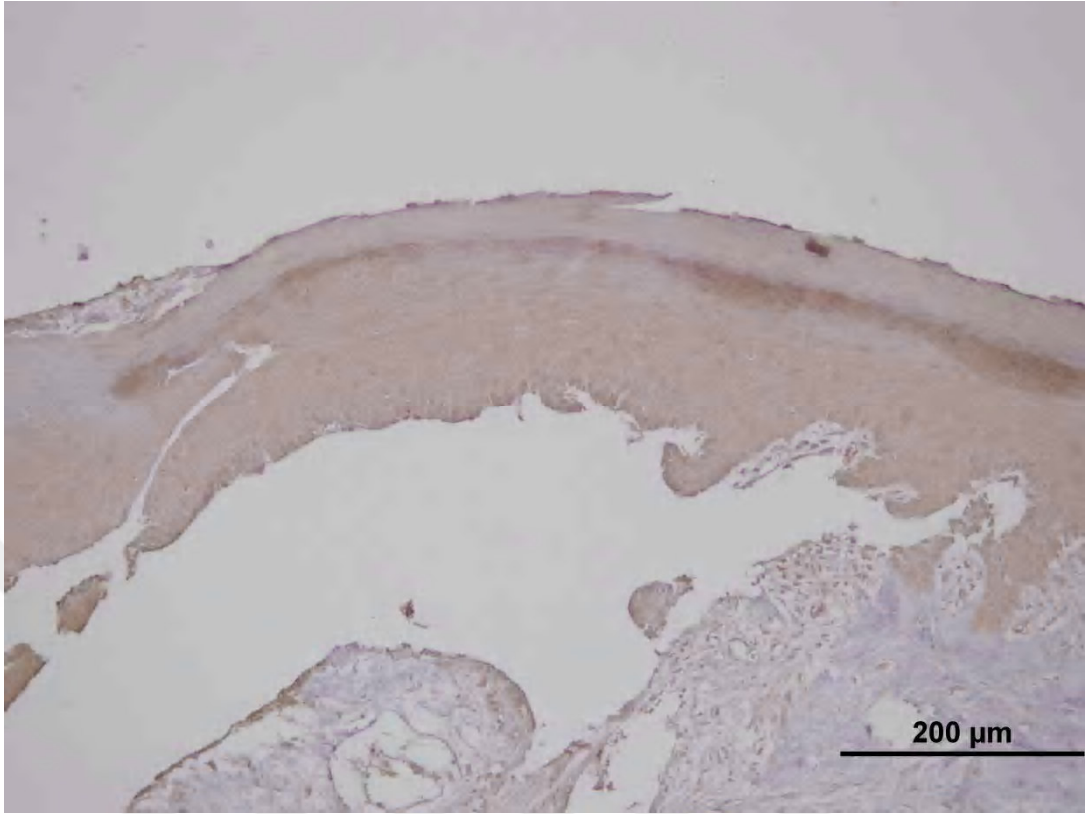
Resim 36: Kontrol grubu 3. gün (kırmızıyla çizilen olan bölgelerde (bazal tabakada) CK15 ekspresyon yoğunlukları hesaplanmıştır)



Resim 37: Kontrol grubu 7. gün (ilk 3 sıra bazal tabaka hücrelerinde görülen CK15 ekspresyonu daha koyu olarak görülmektedir)



Resim 38: Deney grubu 3. gün (bazal tabakadaki koyu kısımlar CK15 ekspresyonunun yoğun olduğu alanları göstermektedir)



Resim 39: Deney grubu 7. gün (bazal tabakadaki koyu kısımlar CK15 ekspresyonunun yoğun olduğu alanları göstermektedir)

4.3. TUNEL Sonuçları

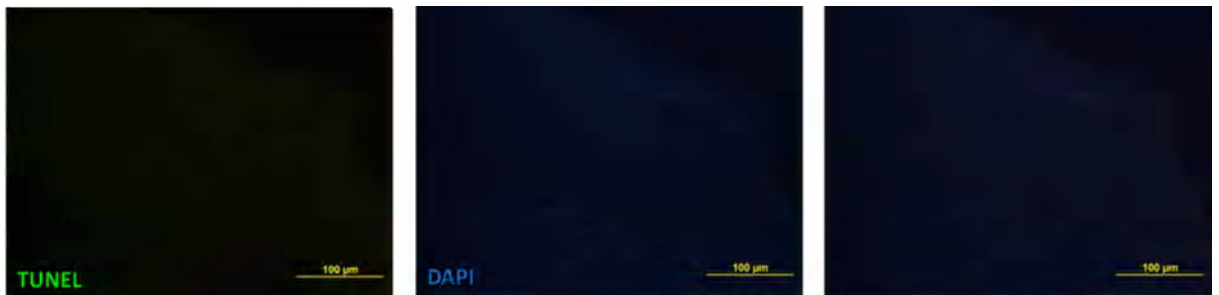
Deney sonunda elde edilen dokulara ait tüm kesitlerde apoptotik hücreleri belirlemek için TUNEL metodu uygulandı. Deney sonunda immunofluoresan mikroskopta incelenen preparatlarda TUNEL+ apoptotik hücreler yeşil fluoressan yansıma ile ayırt edildi. Hem l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü uygulanan hem de kontrol gruplarına ait yara bölgesinde yeni şekillenen epitelyal dilde ve altındaki bağ dokusu alanlarında belirgin apoptotik hücrelere rastlanmadı. İstatistiksel açıdan değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı görülmüştür.



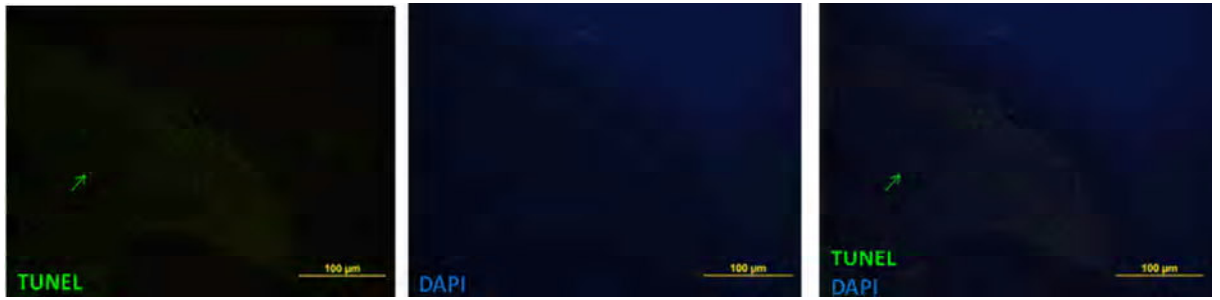
Resim 40: Kontrol 3. gün tünel sonuçları (immunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. filtrede (TUNEL) sadece tünel pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir). Yeşille gösterilen oklar tünel pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir.)



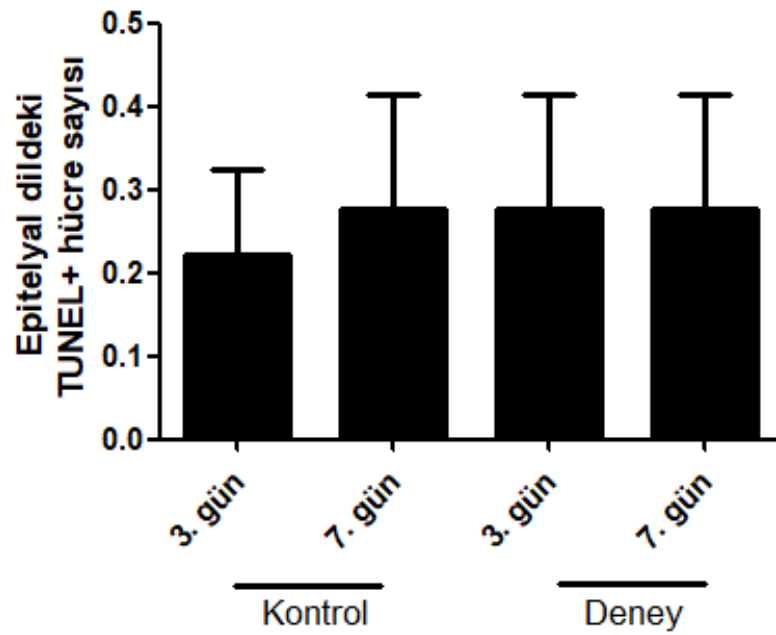
Resim 41: Kontrol 7. gün tünel sonuçları (İmmunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. filtrede (TUNEL) sadece TUNEL pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir. Yeşille gösterilen oklar tünel pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir)



Resim 42: Deney 3. gün TUNEL sonuçları (İmmunfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. filtrede (TUNEL) sadece tünel pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir)



Resim 43: Deney 7. gün sonuçları (immünfloresan boyama, 2 farklı filtreden görüntü alınmıştır. 1. filtrede (TUNEL) sadece tünel pozitif apoptotik hücreler yeşil floresan yansıma ile kendini gösterirken 2. filtrede (dapi) o alandaki tüm hücrelerin çekirdekleri mavi floresan yansıma ile gösterilmiştir. Merge fotoğrafı 1 ve 2. filtredeki fotoğraflar çakıştırılarak tek bir görüntü elde edilir) Yeşille gösterilen oklar TUNEL pozitif apoptotik hücreleri göstermektedir.)



Grafik 1: Grupların TUNEL sonuçlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yara iyileşmesi, bireyin sistemik faktörleri ve ortam şartlarından etkilenerek şekillenen bir süreçtir. İyileşmenin, beklenen başarıda sonuçlanması için bu koşulların çok yönlü olarak ele alınması ve değerlendirilmesi gerekmektedir (1). Yara iyileşmesini etkileyen faktörlerin en önemli bileşenlerinden biri bireyin günlük beslenme şekli ve içeriğidir (4). İyileşme süreci, aynı anda çeşitli metabolik yollardan saniyeler içinde başlatılıp yürütülerek aylar hatta yıllar sonra tamamlanır (60). Metabolik yollarda substratlar, koenzim ve kofaktörler işlev görür ki bunların birçoğunun yapı taşı aminoasitlerden köken almaktadır (105). Literatür incelendiğinde son dönemde yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmaların oldukça popüler olduğu görülmüştür (9-12). Yine literatüre bakıldığında diş hekimliğinde beslenme ürünlerinin incelendiği birçok çalışma görülmektedir (13-15). Ağız cerrahileri sonrası hastaların beslenme zorlukları yaşadıkları ve beslenmenin de yara iyileşmesi üzerine etkileri göz önüne alındığında hastaların post-operatif dönemde iyi beslenebilmeleri oldukça önemlidir. Literatür incelendiğinde oral bölgeye yapılan cerrahi işlemler sonrası beslenme ürünlerinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu bilgiler doğrultusunda planladığımız araştırmamızın amacı arginin, glutamin ve hidroksi metil bütirat içerikli beslenme ürünlerinin oral bölgede yapılan cerrahi işlemler sonrası yara iyileşmesi üzerine etkilerinin tüm yönleriyle incelenmesidir.

Yara iyileşmesini etkileyen sistemik faktörlerden biri de cinsiyettir. Cinsiyet hormonlarının iyileşme üzerine etkisi daha önce araştırılmıştır. Östrojenler genelde anti-inflamatuar etkilere sahiptir ki progesteron inflamasyona katkı sağlayabilir. Normal düzende menstrual siklus geçiren bireylerde, evrelere göre hormonların seviyesindeki farklılıklar sebebiyle doku iyileşme süreci değişkenlik gösterir. Testosteron genellikle immün-supresif ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olmasına rağmen cilt yüzeyindeki iyileşme sürecinde inflamasyonu desteklemektedir. Günümüze kadar dermal yaralarda

yapılan çalışmalar kadınların iyileşme oranlarında avantajlı olduklarını göstermiştir. Tam tersi olarak oral mukozada yapılan çalışmalar ise erkeklerin daha avantajlı oldukları gösterilmiştir. Engeland ve arkadaşlarının yaptığı çalışma da testosteron seviyeleriyle mukozal iyileşme arasındaki ilişkiye bakılmış, düşük testosteron düzeyine sahip genç erkekler ve doğal siklus düzeni olan genç kadınlarda, iyileşme sürecinin daha sonralarında hızlı yara kapanmasıyla ilişkilendirmişlerdir (106). Yapılan hayvan çalışmalarında topikal östrojen uygulamasının yara onarımını hızlandırdığı kanıtlanmıştır. 6 haftalık dişi ratlar overektomi yapılan ve intakt kontrol grup şeklinde ayrılmıştır. Belirlenen işaretli alanlara intradermal estradiol enjekte edilmiştir. Yaraları, 7 günlük iyileşme sonrası reepitelizasyon, yeni kollajen birikimi ve yara genişliği açısından değerlendirilmiştir. Overektomi yapılan ratlar, intakt kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında yara iyileşmesinde belirgin bir gecikme sergilemişlerdir. Overektomi yapılan ratlarda, reepitelizasyonda gecikme, yara genişliğinde artış ve kollajen birikiminde azalma olmuştur. Bu gruptaki ratların yara bölgelerine estradiolün topikal uygulanmasından sonra yara iyileşme oranları artmıştır. İntakt hayvanlardaki östrojen yönetimiyle yara iyileşmesi hızlanmıştır (107). Bu bilgiler ışığında planladığımız çalışmamızda farklı cinslerde sex hormonlarının yara iyileşmeye etkisini minimuma indirmek amacıyla, sadece erkek ratlar kullanılmış hem cinsiyet farklılıkları hem de östrojen hormonun yara iyileşmesi üzerine etkisi minimuma indirgenmiştir.

İnsan sert damağı oral mukoza ile kaplıdır. Bu, oral epitel olarak adlandırılan keratinize kaplı skuamöz epiteldir ve altında lamina propria denen bağ dokusu tabakası bulunur (108). Lamina propria yoğun fibro-elastik madde içerisine yayılmış damarlar ve sinir ağları barındırmaktadır (109). Lamina propria'nın derin kısmı submukozadır ki bu bölge oral mukozada yetersiz olarak tanımlanmıştır. Sert damaktaki birçok alanda, submukoza gevşek, glandüler bağ dokusudur. Bu lamina propria'yı kemikten ayırır (110). Yapılan çalışmalar, damak bölgesinden elde edilen yumuşak doku greftlerinin alınan bölgelere göre içeriklerinde farklılıklar olduğunu göstermektedir. Sert damağın posterior bölgesiyle anterior bölgesi karşılaştırıldığında tipik olarak daha az glandüler doku bulundurur (111). Hücresel içeriklerin farklı olması bölgelerde yapılacak cerrahi işlemler sonrası yara iyileşmesinin de farklı olmasına sebep olabilir. Bu farklılıkların önüne geçebilmek amacıyla biz araştırmamızda tüm gruplarımızda ratların palatinal bölgesinden birinci molar dişlerinin apikalinden standart olacak şekilde diş eti örnekleri alınmıştır.

Damak bölgesinden alınan greftler sonrası yara iyileşmesinin araştırıldığı Keskiner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, damakta aynı bölgeden elde edilen greftlerde, çıkarılan greftin ardından damakta kalan dişeti miktarının yara iyileşmesi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple çalışmamızda standart punch materyali kullanılıp dişeti dokusu kemik dokusuna kadar tüm gruplarda standart ölçüde (kalınlıkta) elde edilmiştir (112).

Oral bölgede oluşturulan yara yerleri için sekonder iyileşmeye bırakılan yaraların, hastaların hayat kalitesini primer iyileşmeye bırakılan yaralara kıyasla daha fazla etkileyeceği açıktır. Bu sebeple literatür incelendiğinde araştırmacıların yara iyileşmesini daha sıklıkla sekonder iyileşme bölgelerini değerlendirdikleri görülmektedir. Bahsi geçen çalışmalarda hasta hayat kalitesi veya hastaların yaşamış oldukları ağrı miktarları üzerinde durulmuştur. Tasdemir ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış oldukları bir çalışmada keratinize dişeti eksikliği olan bölgelere serbest bağ dokusu greftleri uygulanmış ve hastaların hem alıcı hem verici (damak) bölgesinde meydana gelen ağrı ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Araştırmacılar damak bölgesinde meydana gelen ağrının daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde hayat kalitesinin de bu yaşanan ağrılar sonucu düştüğünü bildirmişlerdir (113). Bu bilgilerden yola çıkılarak çalışmamızda sekonder yara iyileşmesinin gerçekleşeceği damak bölgesi seçilmiştir.

Işık mikroskopi bulgularımıza göre epitel dil uzunluğu normal iyileşme süreci doğrultusunda kontrol grubu 7. günde, kontrol grubu 3. günden fazladır. Deney grubunda ise epitel dil uzunluğu 3. günde, kontrol grubunun hem 3. gününden hem de 7. gününden anlamlı düzeyde fazladır. Deney grubu için dil uzunluklarında 3. ve 7. gün arasında anlamlı fark görülmemektedir. Benzer şekilde yara dilleri arasındaki mesafeye bakıldığında kontrol grubu 7. günde, 3. güne göre mesafe daha azdır. Deney grubu 3. günde, kontrol grubu 3. ve 7. güne göre mesafe daha azdır. Bulgularımıza benzer olarak, Blass C ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada travma hastalarında antioksidan besinler ve glutamin desteği verilen grup ile Plasebo verilen grubu kıyasladıkları bir kontrollü randomize çift kör çalışmada, yara bölgeleri beyaz ışık spektroskopiyile incelenmiş ve beslenme desteğiyle yara kapanma sürecinin kısaltılabileceği bildirilmiştir (114). Coeffer ve Dechelotte'nin 2010 yılında yaptığı bir derlemede glutaminin immun cevabı artırdığı, oksidatif stresi azalttığı fakat yara iyileşmesine etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar arjininin glutamine

benzer olarak immün cevabı artırdığını, oksidatif stresi düşürdüğünü, fakat yara iyileşmesine glutaminden farklı olarak pozitif katkı sağladığını rapor etmişlerdir. Şaşırtıcı olarak araştırmacılar glutamin ve arjininin birlikte kullanımında yara iyileşmesini arjininin tek başına kullanıldığı durumlardan daha fazla pozitif katkı sağladığını bildirmişlerdir (105). Goswami ve arkadaşları yaptıkları bir hayvan çalışmasında glutaminin yara kontraksiyonunu ve epitelizasyonunu artırdığını göstermişlerdir (115). Yara dil uzunluğu ve yara dilleri arasındaki mesafe ölçümleri yara iyileşmesinin en belirgin sonuçları olup tüm yaraların tek kullanımlık yumuşak doku punchları ile oluşturulmuş olması sebebiyle birbiriyle birebir uyumlu ve deney gruplarında yara iyileşmesinin kontrol grubuna kıyasla daha iyi olduğunu göstermektedir. Deney grubu 3. ve 7. günler arasında istatistiksel anlamlı fark çıkmamış olması deney grubunda iyileşmenin büyük bir kısmının 3. günde tamamlanmış olmasından kaynaklanmış olabilir.

Kollajen insan vücudunda en fazla bulunan ve gerekli olan proteindir, ayrıca yara matriksinin ana komponentidir. Arjinin, glutamin ve hidroksi metil bütirat amino asitlerinden her birinin yara iyileşmesi üzerine pozitif etkileri araştırmacılarca gösterilmiştir (93, 116). Ayrıca bu amino asitlerin kombine kullanımı yara iyileşme periyodunda kollajen sentezini ciddi şekilde pozitif etkilemektedir (116). Yara iyileşme bölgesinde mikro metre başına düşen kollajen miktarına bakıldığında kontrol 3. grup örneklerinde kollajen miktarının kontrol 7, deney 3 ve 7. günlerdekenden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğunu ve kontrol 7, deney 3 ve deney 7. günler arasında anlamlı fark olmadığı görülmektedir. Sonuçlarımıza benzer olarak Naderpour M ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları ve bir hayvan çalışmasında arjinin kullanımının kollajen depolanmasını artırdığı bildirilmiştir (117). Goswami S ve arkadaşları; 2016 yılında ratlar üzerinde eksizyonel yara modellerinde glutaminin etkisini araştırmış ve glutaminin iyileşmenin çeşitli basamaklarında rol oynadığı ve kollajen sentezini artırdığı ve iyileşmeyi desteklediğini rapor etmiştir (115). Sonuçlarımıza benzer olarak Da Costa MA ve arkadaşlarının yaptıkları bir rat çalışmasında kolon anastomozlu ratlarda glutamin desteğinin etkisi incelenmiş ve glutamin ile beslenen grupta anastomoz bölgelerinde matür kollajen yüzdesinin arttığı gösterilmiştir (118). Yara bölgelerinde kollajen miktarının artması yara iyileşmesinin önemli göstergelerinden biridir. Işık mikroskobu ile elde ettiğimiz diğer yara iyileşmesi parametreleriyle uyumlu olarak mikrometre başına düşen kollajen yoğunluğu miktarları

deney grubunda daha yüksek görülmüştür. Bu sonuç deney grubunda yara iyileşmesinin daha hızlı tamamlandığını ortaya koymaktadır.

Epidermis tabakasını oluşturan hücreler keratin moleküllerinin sıkı bağlarla birbirine yapışarak oluşturduğu, çok katmanlı, oldukça karmaşık bir biyolojik yapı gösterir. Epidermal hücrelerde bulunan keratin molekülleri çeşitli yapılarda ve farklı molekül ağırlıklarında olan proteinlerdir. CK6 çoğalan epitel tabakası için bir belirteç ve ayrıca epidermis tabakasının özelleşmiş epitelindeki keratinositlerde yoğun olarak eksprese olur (8). Ayrıca CK6 sağlıklı dokudan ve lezyon olmayan dokulardan salınmazken, yara bölgelerinden salınmakta ve salınımı yara bölgesinden 2 ve 3.5 ‘uncu günlerde artmaktadır (119). Araştırmamızda kontrol grubu 3. gün CK6 ekspresyon yoğunluğu kontrol 7. gün ve deney 3. ve 7. gün değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür. Deney grubu 3. ve 7. gün CK6 ekspresyonu kontrol 7. gün değerlerinden de istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir. Epidermis oldukça basınca duyarlı bir dokudur. Epidermis içerisinde mekanik olarak stimüle edilen hücrelerin daha yüksek CK6 eksprese ettikleri Yano ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (120). Bigliardi-Qi ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları bir araştırmada, yara bölgelerinde CK6, CK10 ve kollajen IV seviyeleri incelenmiş ve CK6 seviyesinin fare epidermislerinde arttığını göstermişlerdir. Araştırmadaki yazarlar, CK6’nın yenilenme döneminde sadece keratinositlerden salındığını ve farelerde yüksek miktarda CK6 salgısını göstermişler ve bu durumun iyileşmeye işaret ettiğini rapor etmişlerdir (121). McGowan K ve arkadaşları CK6 ‘nın yara iyileşmesi üzerine antimikrobiyal peptid üretimi yoluyla etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Tüm ışık mikroskobu bulgularımızla uyumlu olarak yara bölgelerinde deney grubunda CK6 miktarının istatistiksel olarak yüksek çıkmış olması yara iyileşmesinin deney gruplarında daha fazla olduğunu göstermektedir (122).

Araştırmamızda kontrol grubu 3. gün CK15 değerleri istatistiksel olarak kontrol 7. gün ve deney 3. gün değerlerinden düşüktür. Deney 7. gün değerleri diğer tüm günlerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir. Ara filaman proteinleri olan sitokeratinler, bir protein süper ailesi olup, CK15 bu ailenin en asidik keratin ara filamanlarından (39). Transform edici büyüme faktörü (TGF) yara iyileşmesinde önemli role sahiptir. TGF’nin memelilerde 3 isoformu bulunmaktadır. Bunlar TGF-1, 2 ve 3 olarak isimlendirilmiştir. Yara oluştuktan sonra TGF-1 trombositlerden yüksek seviyede salınmaya başlar. Ayrıca makrofajlar, fibroblastlar ve keratinositler de

iyileşme döneminde TGF salgılamaya başlarlar. Werner ve arkadaşlarının yaptıkları in vivo bir araştırmada oluşturdukları kutanöz yaralarda TGF-1 tarafından düzenlenen CK15 geni tanımlamışlardır. Ayrıca yaraya bitişik epidermisin tüm bazal hücrelerinde CK15 varlığını göstermişlerdir. Sözü geçen araştırmadaki bulgulardan yola çıkılarak, CK15 'in artışı dolaylı yoldan yara iyileşmesini gösteriyor olabilir (123). Günümüze kadar CK15 en iyi tomurcuk hücresi belirteci olarak tanımlanmaktadır. Tomurcuk hücreleri, normal şartlar altında morfolojik olarak farklılaşmamış ve yavaş seyirlidir, ayrıca kök hücre özelliği olan yüksek proliferatif ve regeneratif özelliklere sahip hücrelerdir. Bu hücreler sadece saç kökenli değil yağ bezlerinde ve epidermis bazal tabakasının en dış tabakasında da bulunmaktadırlar. CK15 'in kök hücre belirteci olarak adlandırılması, tomurcuk bölgesinde ve epidermis bazal tabakasındaki CK15 pozitif hücrelerin yenilenme ve çoğalma özelliği olmasından kaynaklanmaktadır. Bazal tabakadaki mitotik özellikleri olan hücrelerin CK15 salgılaması, CK15 'in keratinositlerin erken farklılaşması evresinde düzenleyici role sahip olduğunu düşündürmektedir (124). Çalışmamızda deney grubunda, CK15 seviyesinin yüksek olmuş olması bu bilgiler ışığında, diğer bulgularımızla uyumlu olarak yara iyileşmesine işaret etmektedir. Sonuçlarımıza benzer olarak, Choi YH ve arkadaşlarının kutanöz yanık vakalarında kök hücreleri inceledikleri araştırmalarının sonunda CK15'in epitel hücrelerinin regenerasyonunda rol oynayabileceği yorumunu yapmışlardır (125).

DNA hasarının tespitinde in situ kullanılan en yaygın yöntemlerden biri TUNEL boyamadır. TUNEL boyama, başlangıçta programlanmış hücre ölümü veya apoptozisi ve apoptozisin ayırıcı özelliği olan internükleozomal DNA parçalanması sergileyen hücreleri boyayan metod olarak tarif edilmiştir. TUNEL boyama, terminal deoksinükleotidil transferaz enziminin, genomik DNA'nın parçalanması ile oluşan düşük molekül ağırlıklı çift zincirli DNA ve yüksek moleküler ağırlığa sahip tek zincirli DNA'yı serbest 3' hidroksil ucuna etiketlenmiş dUTP'yi birleştirme yeteneğine dayanır. TUNEL boyama, neredeyse evrensel olarak in situ apoptozis saptamak için seçenek olarak kabul edilmiş yöntem olsa da, TUNEL boyama yönteminin sadece apoptotik hücrelerin tespitiyle sınırlı olmadığı kabul edilmelidir. TUNEL boyama, diğer hasarlar ve toksik bileşenler açığa çıkararak indüklenen nekrotik hücreler gibi non-apoptotik durumlarla birlikte gelişen DNA hasarını saptamak için de kullanılabilir ve TUNEL boyama ayrıca aktif DNA onarımı geçiren hücreleri boyamak için de raporlanmıştır. Bu nedenle tunel boyama, genellikle DNA hasarının (DNA fragmentasyonu) saptanması

için ve uygun koşullar altında daha spesifik olarak apoptotik hücrelerin açığa çıkarılması için bir yöntem olarak düşünülebilir. Daha önce yapılan çalışmalarda vücudun farklı bölgelerinde travma, yanık ve büyük cerrahiler sonrası araştırmamızda kullanmış olduğumuz beslenme ürünü kullanılmış ve iyileşme üzerine etkileri araştırılmıştır. Fakat bilgilerimiz dahilinde bu kombinasyonun apoptotik etkisinin olup olmadığını araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bilgiler ışığında yaptığımız çalışmada kullandığımız beslenme ürününün düzenli kullanımında hücrelerde apoptotik etki gözlenmediği tunel boyama yöntemiyle gösterilmiştir. Bu konuda herhangi bir literatür olmadığından bulgularımızı başka bir çalışma ile tartışma imkanı bulunmamaktadır. Fakat araştırmamızda kullandığımız beslenme ürünü içeriğindeki amino asitlerin özellikleri düşünüldüğünde bulgularımız şaşırtıcı değildir. Sistemik yolla alınan bir ürün vücudun herhangi bir bölgesinde iyileşme etkisi gösterirken başka bölgesinde negatif etki gösterebilmektedir. Araştırmamızda kullanmış olduğumuz beslenme ürününün ağız içindeki etkilerini araştıran ilk çalışma olması sebebiyle, olası negatif etkilerin araştırılması oldukça önemlidir. Bu açıdan düşünüldüğünde, bu beslenme ürününün epitel iyileşmesine pozitif etki gösterirken, herhangi bir hücre ölümüne neden olmuyor olması ileride yapılacak olan klinik insan çalışmaları için olumlu bir sonuçtur.

Literatür incelendiğinde arjinin, glutamin, HMB içeriğinin birlikte kullanıldığı ve yara iyileşmesinin değerlendirildiği az sayıda çalışma bulunmaktadır (93, 116, 126, 127). Şeker ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir hayvan çalışmasında kolon anastomozları sonrası yara iyileşmesi incelenmiş. 50 rat randomize olarak 2 gruba ayrılmış ve bir grupta beslenme içeriği uygulanırken diğer gruba sham uygulaması yapılmıştır. 1 hafta sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilmiş ve kolon anastomozu bölgeleri histolojik olarak incelenmiştir. Araştırmacılar deney grubundaki hayvanlar da beslenme ürününün yara iyileşmesine pozitif etki gösterdiği rapor edilmiştir (116). Kusabbi ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları ve araştırmamızda kullanılan beslenme ürününü test ettikleri bir hayvan çalışmasında kolon anastomoz alanları yara iyileşmesi açısından değerlendirilmiş ve kolon anastomozunda bu beslenme ürününün kullanımının güvenli ve yara iyileşmesini artıracak özellikte olduğunu bildirilmiştir (93). Sipahi ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları bir retrospektif çalışma bu ürünlerin kullanıldığı ilk insan çalışmasıdır. Bu araştırmada yazarlar 11 diabetik yaraya uygulanmış olan bu amino asit kombinasyonunun etkilerini restrospektif olarak yara derinliği/yara

görüntüsünü değerlendirmişler ve bu kombinasyonun diyabetik yaralar üzerinde pozitif etkilerinin olduğunu rapor etmişlerdir (127).

Gündoğdu ve arkadaşlarının yaptığı ve iskemik yara modelinin ratlarda araştırıldığı bir çalışmada bu aminoasit kombinasyonunun sekonder iyileşmeye pozitif etkisi bulunduğu histolojik olarak gösterilmiştir (126).

Çalışmamız, glutamin, arjinin, HMB içerikli beslenme ürünün oral bölgede yapılan cerrahiler sonrası yara iyileşmesi üzerine etkisini araştıran ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Ayrıca çalışmamız CK6 ve 15 seviyelerinin oral dokularda incelendiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızın sonuçları şu şekilde özetlenebilir:

- Glutamin, arjinin, HMB içerikli beslenme ürünü ışık mikroskobu ile yapılan yara dili uzunluğu, yara dilleri arası mesafe ve yara bölgesinde kollajen yoğunluğu gibi parametrelere bakıldığında yara iyileşmesine pozitif etki göstermektedir.
- Benzer şekilde CK6 ve CK15 seviyeleri glutamin, arjinin, HMB içerikli beslenme ürünü kullanan gruplarda daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, ürünün histokimyasal olarak da yara iyileşmesine pozitif yönde etki ettiğini göstermektedir.
- TUNEL metodu ile yapılan incelemede TUNEL pozitif hücrelerin sınırlı sayıda olması, ürünün hücre ölümüne neden olmadığını ve güvenli olduğunu ortaya koymaktadır.
- İnsan oral dokularında yara iyileşmesi üzerine l-arjinin, l-glutamin ve HMB içerikli beslenme ürünü etkisini inceleyen, iyi dizayn edilmiş randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.KAYNAKLAR

1. Shetty V, Bertolami CN. Wound healing. In: Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Wiate PD, editors. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nd ed. London: BC Decker Inc; 2004: 3-15
2. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin North AM 1997; 77: 509-528
3. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Plast Reconstr Surg 2006; 117(7 Suppl): 12-34
4. Köklü AHK, Çankal DAU. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler İçerisinde Beslenmenin Yeri. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg 2013; (7 Suppl): 135-41
5. Squier CA. The permeability of oral mucosa. Crit Rev Oral Biol Med. 1991; 2: 13-32
6. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2017: 11
7. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara 2017: 14
8. Kloepper JE, Tiede S, Brinckmann J, et al. Immunophenotyping of the human bulge region: the quest to define useful in situ markers for human epitelial hair follicle stem cells and their niche. Exp Dermatol 2008; 17: 592-609
9. Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. J Clin Periodontol 2014; (41 Suppl)15: 6-22
10. Umeki H, Tokuyama R, Ide S, et al. Leptin promotes wound healing in the oral mucosa. PLoS One 2014; 17: 9
11. Susin C, Fiorini T, Lee J, et al. Wound healing following surgical and regenerative periodontol therapy. Periodontol 2000 2015; 68(1): 83-98
12. Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, et al. Periodontol and peri-implant wound healing following laser therapy. Periodontol 2000 2015; 68(1): 217-69

13. Kulkarni V, Bhatavadekar NB, Uttamani JR. The effect of nutrition on periodontal disease: a systematic review. *J Calif Dent Assoc* 2014; 42(5): 302-11
14. Lee J, Park JC, Jung UW, et al. Improvement in periodontal healing after periodontal surgery supported by nutritional supplement drinks. *J Periodontol Implant Sci* 2014;44(3):109-17.
15. Diaz Sanchez RM, Castillo-Dali G, Fernandez-Olivarria A, et al. A Prospective, double blind, randomized, controlled clinical trial in the gingivitis prevention with an oligomeric proanthocyanidin nutritional supplement. *Mediators Inflamm* 2017;2017:74600780.
16. Hsieh LC, Chien SL, Huang S. Anti-inflammatory and anticatabolic effects of short-term β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation on chronic obstructive pulmonary disease patients in intensive care unit. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006; 15 (14): 544-50
17. Nissen S. β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J Nutr* 2000; 130(8): 1937-45
18. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2017: 8
19. Itoiz ME, Carranza FA. The Gingiva. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. *Carranza's Clinical Periodontology* (9th ed) W. B. Saunders Company, Philadelphia, 2002: 16-35
20. Lindhe J, Karring T, Araitjo M. Anatomy of the Periodontium. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP, editors. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (4th ed) Blackwell Publishing Company, 2003: 6-8
21. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara 2017: 18
22. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2017: 18-9
23. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2017: 19
24. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. In: Aytekin Y, Solakoğlu S, editors. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2006: 69-70
25. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2017: 11-2

26. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol* 2000; 24: 28-55
27. Avery J. K., *Oral Development and Histology* (3. nd), New York, 1994: 245
28. Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, et al. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv Wound Care*(New Rochelle) 2014; 1;3(7): 445-64
29. Deucher A, Efimova T, and Eckert RL. Calcium-dependent involucrin expression is inversely regulated by protein kinase C (PKC) alpha and PKCdelta. *J Biol Chem* 2002; 277: 17032-40
30. Eckert RL. Structure, function and differentiation of the keratinocyte. *Physiol Rev* 1989; 69(4): 1316-46
31. Tomic-Canic M, Komine M, Freedberg IM, et al. Epidermal signal transduction and transcription factor activation in activated keratinocytes. *J Dermatol Sci* 1998; 17(3): 167-81
32. Knapp AC, Bosch FX, Hergt M, et al. Cytokeratins and cytokeratin filaments in subpopulations of cultured human and rodent cells of nonepithelial origin: modes and patterns of formation. *Differentiation* 1989; 42: 81-102
33. Mai R, Getrange T, Leonhardt H, et al. Immunohistochemical Comparison of Markers for Wound Healing on Plastic-Embedded and Frozen Mucosal Tissue. *Cells Tissues Organs* 2009; 190(1): 34-41
34. Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, et al. Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis. *Cell* 2000; 102(4): 451-61
35. Watt FM, Lo Celso, Silva-Vargas V. Epidermal stem cells: an update. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16(5): 518-24
36. Fuchs E. Skin stem cells: rising to the surface. *J Cell Biol* 2008; 28;180(2): 273-84
37. Köse O. Epidermal Kök Hücreler. *Turk J Dermatol* 2015; 1: 23-7
38. Köse O, Özdoğan S. Epidermal kök hücreler ve klinik kullanımları. *Türkiye klinikleri J Dermatol* 2010; 20(2):74-80
39. Whitbread LA, Powell BC. Expression of the intermediate filament keratin gene, K15, in the basal cell layers of epithelia and the hair follicle. *Exp Cell Res* 1998; 1,244(2): 448-59
40. Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, et al. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair follicle stem cells. *J Cell Sci* 1998; 111: 3179-88
41. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: Biology and pathology. *Histochem Cell Biol* 2008; 129: 705-33
42. Bose A, Teh M, Mackenzie IC, et al. Keratin15 as a biomarker of epidermal stem cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 19385-98

43. Leube RE, Bader BL, Boscg FX, et al. Molecular characterization and expression of the stratification-related cytokeratins 4 and 15. *J Cell Biol* 1988; 106: 1249-61
44. Abbas O, Bhawan J. Expression of stem cell markers nestin and cytokeratin 15 and 19 in cutaneous malignancies. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25(3): 311-6
45. Haslam I, Pitre A, Schuetz J, et al. Protection against chemotherapy-induced alopecia: targeting Atp-binding cassette transporters in the hair follicle? *Trends Pharmacol Sci* 2013; 34(11): 599-604
46. Tang L, Bergevoet SM, Glissen C, et al. Hematopoietic stem cells exhibit a specific ABC transporter gene expression profile clearly distinct from other stem cells. *BMC Pharmacol* 2010; 10: 12
47. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, et al. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 585
48. Coulombe PA. Towards a molecular definition of keratinocyte activation after acute injury to stratified epithelia. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 231
49. Web_1.(2016).Cytokeratin 6 antibody_clone EP67- Biogenex laboratories biogenex. http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&surce=web&cd=6&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi_3crjppfdAhWFJIAKHam2BKoQFjAFegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fstore.biogenex.com%2Fdownload.php%3Ffilename%3DCytokeratin_6_Antibody_Clone_EP67.pdf&usg=AOvVaw0IJE8t329VoAYvose-7fZ. Erişim tarihi: 31 Ağustos 2018
50. Hantash BM, Zhao L, Knowles JA, et al. Adult and fetal wound healing. *Front Biosci* 2008; 13: 51-61
51. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Tissue renewal and repair: regeneration, healing and fibrosis. In: Robbins and Cotran. *Pathologic Basis of Disease (7th ed)*. Pennsylvania: Elsevier Saunders Company, Philadelphia, 2005: 87-119
52. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Inflammation and Repair*. Robbins Basic Pathology. 9nd ed. Elsevier Inc, Philadelphia, 2003: 70
53. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2017: 523-4
54. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Inflammation and Repair*. Robbins Basic Pathology. 9nd ed. Elsevier Inc, Philadelphia, 2003: 71
55. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol* 2007; 25: 9-18
56. Lindhe J, Lang NP. Klinik Periodontoloji ve Diş Hekimliğinde İmplant Uygulamaları (2. Baskı), 978-605-9215-37-4, Çetiner DÖ, Kurtuluş NÖ. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2017: 522

57. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992; 172(8): 305-12
58. Sierva S. *Suturing Techniques In Oral Surgery*, 1st Ed. Quintessence Publishing. Milano, 2001: 11-66
59. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanism. *J Int Med Res* 2009; 37(5): 1528-42
60. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004; 9: 283-9
61. Wokalek H. Cellular events in wound healing. *CRC Critical Reviews in Biocompatibility* 1988; 4: 209-46
62. Ekmekci P, Bostancı S. Yara iyileşmesi. *T Klin Dermatoloji* 2002; 12: 114-20
63. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol* 2007; 127:514-25
64. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature* 2003; 453: 314-21
65. Levi M, Ten Cate H, Van der Poll T. Endothelium: interface between coagulation and inflammation. *Crit Care Med* 2002; 30 (5 Suppl): 220-4
66. Pıhtılaşmada ekstrasik ve intrinsik yol, <http://kcumb2013.wikispaces.com/CP+II+Mid-Term>, Erişim tarihi: 23 Şubat 2014
67. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999; 341(10): 738-46
68. MacKay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev* 2003; 8: 359-77
69. Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol* 2005; 15: 599-607
70. Cockbill S. Wounds healing process. *Hospital Pharmacist* 2002; 9: 255-60
71. Noli C, Miolo A. The mast cell in wound healing. *Vet Dermatol* 2001; 12(6): 303-13
72. Lavie G, Mazur Y, Lavie D, et al. The chemical and biological properties of hypericin-a compound with a broad spectrum of biological activities. *Med Res Rev* 1995; 15(2): 111-9
73. Sutar IP, Akkol EK, Yılmaz D, et al. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol* 2010; 127(2): 468-77
74. Bozkırlı FBA. Rat İskemik Yara Modelinde Topikal Clinoptilolite Zeolit Kullanımının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2012: 111
75. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117(7 Suppl): 1-32

76. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv Skin Wound Care* 2004; 17: 24-35
77. Monaco J, Lawrence W. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg* 2003; 30: 1-12
78. Diegelmann RF, Cohen IK, Kaplan AM. The role of macrophages in wound repair: a review. *Plast Reconstr Surg* 1981; 68: 107-13
79. Leibovich SJ, Ross R. The role of macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1975; 78: 71-100
80. Kurt N. Akut ve Kronik Yara Bakımı. Kurt N. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2003
81. Serdaroğlu S, Arzuhal N. Proteolitik enzimlerce yara iyileşmesi. *Dermatose* 2002; 2: 20-4
82. Myers BA. Wound Management principles and practice. New Jersey (NJ): Pearson Education Inc, 2004
83. Hunt TK, Niinikoski J, Zederfeldt B. Role of oxygen in repair processes. *Acta Chir Scand* 1972; 138: 109-10
84. Theoret CL. Update on wound repair. *Clin Tech Equine Pract* 2004; 3: 110-122
85. LaVan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg*. 1990; 17: 463- 472
86. Knighton DR, Hunt TK, Scheuenstuhl H, Halliday BJ, Werb Z, Banda MJ. Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science* 1983; 221: 1283-85
87. Katusic ZS. Superoxide anion and endothelial regulation of arterial tone. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 443-8
88. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg* 1998; 176: 26-38
89. Reed BR, Clark RA. Cutaneous tissue repair: practical implications of current knowledge. II. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 919-94
90. Altan A, Diabetik Ratlarda Kantaronun(*Hypericum Perforatum*) Ağız Mukozasındaki Yara İyileşmesine Etkisi, Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, 2015: 113
91. Bulut U, Deneysel Künt Karaciğer Travması Oluşturulan Ratlarda Abound Beslenme Solüsyonunun Karaciğer Doku İyileşmesi Üzerine Etkileri., Uzmanlık Tez, Fırat Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 2013: 84
92. Akbaş S, Glutaminin Travmatik Oral Mukoza Lezyonu İyileşmesi Üzerine Etkileri, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2013: 67
93. Kusabbi R, Kismet K, Kuru S, et al. Effects of the Oral Nutritional Supplement Containing Arginine, Glutamine, and Hydroxymethylbutyrate (Abound^R) on Healing of Colonic Anastomoses in Rats. *Indian J Surg* 2015; 5

94. Pamela C. Champe, Richard A Harvey, Denise R. Ferrier, Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biokimya. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2007
95. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993; 329(27): 2002-12
96. Clark RH, Feleke G, Din M. Nutritional treatment for acquired immunodeficiency virus-associated wasting using β -hydroxy- β -methylbutyrate, glutamine, and arginine: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. JPEN J Parenter and Enteral Nutr 2000; 24 (3): 133-9
97. Öztürk F. Pelvik radyoterapi uygulanan hastalarda HMB/arjinin/glutamin karışımının toksisite ve yaşam kalitesi üzerine etkisi. Uzmanlık tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Ankara, 2013
98. Miller AL. Therapeutic considerations of L-glutamine: a review of the literature. Altern Med Rev 1999; 4(4): 239-48
99. Tutuç ÖD. Akciğer kanserli hastalarda radyoterapinin sebep olduğu akut özefajitin önlenmesinde oral glutaminin etkinliği. Uzmanlık tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır, 2010
100. Ünal İ. Radyoterapi uygulanan pelvik malign tümörlü hastalarda profilaktik oral glutamin kullanımının yaşam kalitesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Hacettepe Üniversitesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Ankara, 2010
101. Wu G, Bazer FW, Johnson GA, et al. Triennial Growth Symposium: Important Roles For L-Glutamine In Swine Nutrition And Production. J Anim Sci 2011 Jul; 89(7): 2017-30
102. Kim H. Glutamine as an immunonutrient. Yonsei Med J 2011; 52(6): 892-7
103. Nissen SL, Abumrad NN. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB). Nutritional Biochemistry 1997; 8(6): 300-11
104. https://www.ilachakkinda.com/i/11439/abound_portakal_aromali_toz_24_gr_30_poset.html. Erişim tarihi: 06 Eylül 2018
105. Coeffier M., Dechelotte P. Combined infusion of glutamine and arginine: does it make sense. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2010; 13(1): 70-4
106. Christopher G. Engeland, Bahareh Sabzehei, Phillip T. Marucha. Sex Hormones and Mucosal Healing. Brain Behav Immun 2009; 23(5): 629-35
107. Oh DM, Phillips TJ. Sex Hormones and Wound Healing. Wounds 2006; 18(1): 8-18
108. Gartner LP. Oral Anatomy and Tissue Types. Semin Dermatol 1994; 13(2): 68-73
109. Stephens P, Genever P. Non-epithelial Oral Mucosal Progenitor Cell Populations. Oral Dis 2007; 13(1): 1-10
110. Bartold PM, McCulloch CA. Information Generation and Processing Systems That Regulate Periodontal Structure and Function. Periodontol 2000 2013; 63(1): 7-13

111. Nanci A, Wazen R, Nishio C, et al. Immunocytochemistry of Matrix Proteins in Calcified Tissues: functional biochemistry on section. *Eur J Histochem* 2008; 52(4): 201-14
112. Keskiner I, Aydoğdu A, Balli U et al. Quantitative in palatal donor site thickness after free gingival grafts harvesting: a pilot study. *J Clin Periodontol* 2016; 43(11): 976-84
113. Taşdemir Z, Alkan BA, Albayrak H. Effects of Ozone Therapy on the Early Healing Period of Deepithelialized Gingival Grafts: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Periodontol* 2016; 87(3): 663-71
114. Blass C, Goost H, Tolba RH, et al. Time to wound closure in trauma patients with disorder in wound healing is shortened by supplements containing antioxidant micronutrients and glutamine: a- PRCT. *Clin Nutr* 2012; 31(4): 469-75
115. Goswami S, Kandhare A, Zanwar AA, et al. Oral L-glutamine administration attenuated cutaneous wound healing in Wistar rats. *Int Wound J* 2016; 13(1): 116-24
116. Seker D, Ergil J, Ozkan D, et al. The Effects of Supplementation with a Mixture of Arginine, Glutamine, and β -hydroxy β -methylbutyrate on the Healing of Colon Anastomoses. *Acta Clin Belg* 2013;113: 444-8
117. Naderpour M, RadJS, Ayat E, et al. Dietary L-arginine and cutaneous wound healing. *Ital J Anat Embryol* 2008; 113(3): 135-42
118. Da Costa MA, Campos AC, Coelho JC, et al. Oral glutamine and the healing of colonic anastomosis in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27(3): 182-5
119. Castilho RM, Squarize CH, Leelahavanichkul K, et al. Rac1 is required for epithelial stem cell function during dermal and oral mucosal wound healing but not for tissue homeostasis in mice. *PLoS One* 2010; 6; 5
120. Yano S, Komine M, Fujimoto M, et al. Mechanical stretching in vitro regulates signal transduction pathways and cellular proliferation in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2004; 122(3): 783-90
121. Bigliardi-Qi M, Gaveriaux- Ruff C, Zhou H, et al. Deletion of delta-opioid receptor in mice alters skin differentiation and delays wound healing. *Differentiation* 2006; 74(4): 174-85
122. McGowan K, Coulombe PA. The wound repair-associated keratins 6, 16, and 17. Insights into role of intermediate filaments in specifying keratinocyte cytoarchitecture. *Subcell Biochem* 1998; 31: 173-204
123. Werner S, Munz B. Suppression of keratin 15 expression by transforming growth factor beta in vitro and by cutaneous injury in vivo. *Experimental Cell Research* 2000; 254: 80-90

124. Abbas O, Richards JE, Yaar R, et al. Stem cell markers (cytokeratin 15, cytokeratin 19 and p63) in in situ and invasive cutaneous epithelial lesions. *Mod Pathol* 2011; 24(1): 90-7
125. Choi YH, Kim MG, Ahn DH et al. Immunohistochemical Expression of Stem Cell Markers during the wound Healing Process of Cutaneous Burn. *J Korean Surg Soc* 2010; 79(1): 1-7
126. Gündoğdu RH, Temel H, Bozkırlı BO et al. Mixture of Arginine, Glutamine, and β -hydroxy- β -methyl Butyrate Enhances the Healing of Ischemic Wounds in Rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2017; 41(6): 1045-50
127. Sipahi S, Gungor O, Gunduz M, et al. The effect of oral supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta methylbutyrate, arginine and glutamine on wound healing: a retrospective analysis of diabetic haemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2013; 12; 14: 8



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 27.07.2016

Toplantı Sayısı: 07

Karar No:16/105

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 27.07.2016 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Çağrı ŞAKALAR	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	KATILMADI
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	KATILMADI
Nükhet KÜTÜK	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Yard.Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Hamiyet ÜNAL	Yard.Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	KATILMADI
Osman İBİŞ	Yard.Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Avukat	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	KATILMADI
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Derneği Başkanı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.'dan Yard. Doç. Dr. Zekeriya TAŞDEMİR tarafından sunulan "L-arginin, L-glutamin ve Hidroksi Metil Bütirat İçerikli Beslenme Ürünü Uygulamasının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi." başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 27.07.2016
Etik kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA
İmza :

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: ÖZGE KÖY

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 07.10.1989/ GEBZE

Medeni Durumu: Bekar

Tel: 5377330594

Email: ozgekoy@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 38039

Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

2003- İzmit Lisesi

2008- İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

2016- Halen Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Bölümü,
Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce