

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**YARA İYİLEŞMESİNDE BİTKİ REÇİNESİ OLAN SIĞLA YAĞI(LIQUIDAMBAR
ORIENTALIS) İLE KOLLAGENAZ İÇEREN POMADLARIN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR. İLHAMİ TANER KALE

DR. ÇAĞLAYAN DENİZ

UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ/2010

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi asistanlığımda sıcacık eller elimi tuttu ve güven duygusunu aşılıyarak uzmanlık eğitimimi tamamlama sebep oldular. En müşkülâtlı işler o tecrübeli eller sayesinde kolaylaştı. Cesaret duygusu pik yaparken korkularım izale oldu. Nerede durmam gerektiğini yine o sanatperver eller sayesinde öğrenmiş oldum. Bilgileri hazmedeceğim en mûgaddi bir sût şeklinde altın bir tepside sunan, uzmanlık eğitimimi bana zevkli hale getiren ve eğitimim süresince destek ve yardımlarını her an yanımda hissettiğim ve her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında da desteklerini eksik etmeyen hocalarım Prof. Dr. İlhami Taner KALE'ye Prof. Dr. Fikret EZBERCİ'ye, Doç. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU'na ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Fatih YÜZBAŞIOĞLU'na teşekkür ederim.

Yine bu çalışma sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. M. Hakkı Alma'ya, Doç. Dr. Harun ÇIRALIK'a, Doç. Dr. Ergül Belge KURUTAS'a, Yrd. Doç. Dr. Yalçın Karagöz'e ve Dr. Yalçın ATLI'ya teşekkür ederim. Bir fabrikanın çarkları gibi cerrahi ekibinin bir parçası olan servis ve ameliyathane hemşire ve personeline de teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresi boyunca beraber çalıştığımız tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hep ileriye bakıp daima kendimi geliştirmemi tavsiyede bulunan uzman olmamın en büyük müessirlerinden biri olan Nusret KOCABAY'a, her an desteklerini yanımda hissettiğim anne ve babama, ablalarıma ve bugün görmesini arzu ettiğim sevgili kardeşim Kumsal'a, bana her konuda desteğini esirgemeyen her türlü sıkıntımı paylaşan refikayı hayatım Leyla DENİZ'e ve sevgili çocuklarıma sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Çağlayan DENİZ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
RESİMLER DİZİNİ	VIII
KISALTIMA LİSTESİ.....	IX
ÖZET, ANAHTAR KELİMELEr.....	XI
ABSTRACT, KEYWORDS	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1 Tarihçe.....	2
2.1.1 Folklorik Tıp	6
2.2 Yara İyileşmesi.....	7
2.2.1 Hücrelerin Rejenerasyon Kabiliyetleri.....	9
2.2.1.1 Labil Hücreler (Sürekli Bölünen Hücreler).....	9
2.2.1.2 Stabil Hücreler (Sessiz Hücreler).....	9
2.2.1.3 Permanant Hücreler (Bölünmeyen Hücreler).....	10
2.2.2 Yara Çeşitleri.....	10
2.2.3 Yara İyileşmesi Fizyolojisi.....	10
2.2.3.1 İnflamatuar Faz	11
2.2.3.1.1 Koagülasyon.....	11
2.2.3.1.2 İnflamasyon Ve İmmün Cevap	13
2.2.3.2 Proliferasyon Fazı	17

2.2.3.2.1 Granülasyon Dokusu Oluşumu	17
2.2.3.2.2 Reepitelizasyon	18
2.2.3.2.3 Fibroplazi	19
2.2.3.2.4 Anjiogenez(Neovaskularizasyon)	20
2.2.3.3 Rejeneratif Faz	22
2.2.3.4 Ekstrasellüler Matrix Proteinleri, Metalloproteinazlar ve İnhibitörleri	24
2.2.3.4.1 Kollajen	24
2.2.3.4.2 Adeziv Glikoproteinler.....	27
2.2.3.4.2.1 Fibronektin	27
2.2.3.4.2.2 Lamilin	27
2.2.3.4.2.3 Proteoglikan	28
2.2.3.4.2.4 Retikülin ve elastin.....	28
2.2.3.5 Metalloproteinazlar	29
2.2.4 Yara İyileşmesi Tipleri.....	31
2.2.4.1 Primer İyileşme	31
2.2.4.2 Gecikmiş Primer İyileşme	31
2.2.4.3 Sekonder Yara İyileşmesi.....	32
2.2.4.4 Kısmi Kat Yara İyileşmesi	33
2.2.4.5 Primer ve Sekonder Yara İyileşmesi Arasındaki Farklar.....	33
2.2.5 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	33
2.2.5.1 Büyüme Hormonları.....	34
2.2.5.2 Beslenme	34
2.2.5.3 Yaş, Cins ve Irk.....	34
2.2.5.4 Enfeksiyon.....	35
2.2.5.5 Diğerleri	35

2.3 Liquidambar Orientalis Miller	35
2.3.1 Sıgla Yağının Etkisi Ve Kullanılışı.....	37
2.4 Biyokimyasal Çalışmada Kullanılan Antioksidanlar	38
2.4.1 Molondialdehit (MDA)	38
2.4.2 Süperoksitdismutaz (SOD).....	38
2.4.3 Katalaz (CAT)	40
2.4.4 Glutatyon(GSH)	40
2.4.5 Myeloperoksidaz (MPO).....	41
3. MATERYAL METOD	42
3.1 Deney Hayvanları.....	42
3.2 Yara İyileşmesi Ve Deri Defekti Modeli	42
3.3 Yöntem	43
3.4 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri.....	44
3.4.1 Doku MDA Analizi.....	45
3.4.2 Doku SOD Analizi	45
3.4.3 Doku Katalaz(CAT) Analizi	46
3.4.4 Doku Glutatyon(GSH) Analizi.....	46
3.4.5 Doku MPO Analizi.....	46
3.4.6 Protein Düzeyinin Tayini	46
3.5 Histopatolojik Olarak İncelenmesi.....	47
3.6 Yara İyileşme Süresi Ve Yara Alanlarının Analizi.....	47
3.7 İstatistik	48
3.7.1 İstatiksel Araştırmanın Metodu.....	48
3.7.1.1 Student T Testi	48
3.7.1.2 Anova(Varyans Analiz, F)	48

3.7.1.3 Mann- Whitney U Testi.....	49
3.7.1.4 Kruskall-Wallis Testi	49
3.7.2 İstatiksel Araştırmanın Analizi.....	50
4. BULGULAR	50
4.1 Biyokimya Analiz Sonuçları	50
4.1.1 MDA Değerleri Üzerine Etkiler	50
4.1.2 SOD Değerleri Üzerine Etkiler	52
4.1.3 CAT Değerleri Üzerine Etkiler	54
4.1.4 GSH Değerleri Üzerine Etkisi.....	56
4.1.5 MPO Değerleri Üzerine Etkisi	58
4.2 Histopatolojik Bulgular	60
4.2.1 Yara Yeri Dokusunun Hematoksilen-Eosin İle Boyanma Özellikleri	60
4.3 Yara İyileşme Süresi Ve Yara Alanlarının Analiz Sonuçları.....	65
5.TARTIŞMA	67
6. SONUÇ.....	77
KAYNAKLAR.....	78

TABLolar DİZİNİ

Tablo I Plazma fibroblast mitojen ve gelişme faktörleri.....	19
Tablo II Yara iyileşme skoru değerlendirme kriterleri.....	47
Tablo III: Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MDA değerleri (nmol/mg protein).....	50
Tablo IV: Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MDAi değerleri (nmol/mg protein)	51
Tablo V Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen SOD değerleri (U/mg protein)	52
Tablo VI Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen SODi değerleri (U/mg protein).....	53
Tablo VII Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen CAT değerleri (U/mg protein).....	54
Tablo VIII Yara iyileşme sonrası yara yeri dokusunda tespit edilen katalaz değerleri (U/mg protein)	55
Tablo IX Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen GSH değerleri (µmol/mg protein)	56
Tablo X Yara iyileşme sonrası yara yeri dokusunda tespit edilen GSH değerleri (µmol/mg protein)	57
Tablo XI Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MPO değerleri (U/mg protein).....	58
Tablo XII Yara iyileşme sonrası yara yeri dokusunda tespit edilen myeloperoksidaz değerleri (U/mg protein).....	59
Tablo XIII Sıçanlarda histopatolojik bulguların dağılımı ve derecesi	61
Tablo XIV Yara yeri dokusunun histopatolojik analiz sonuçları	62
Tablo XV Bütün deney gruplarında yaraların tam iyileştiği günler	65
Tablo XVI Grupların 3, 6, 9, 12, 15 ve 18. günlerde ölçülen yara alanlarına göre karşılaştırılması	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Parmak yarasını saran Yunanlı	3
Şekil 2: Yaraların dağlanması	4
Şekil 3: Şerafeddin Sabuncuoğlu yılan zehiri toplarken ve ilacı sürerken.....	5
Şekil 4:Yara iyileşmesinin genel akış şeması	8
Şekil 5: Hücre siklus evreleri	9
Şekil 6: Yara iyileşmesinin kronolojik evreleri	11
Şekil 7: Makrofajların yara iyileşmesindeki rolü	15
Şekil 8: Büyüme faktörlerince başlatılan hücreyel olaylar	16
Şekil 9: Matriks formasyonu	21
Şekil 10: Kollajen sentezi.....	26
Şekil 11: Fibronektin molekülü.....	27
Şekil 12: Laminin molekülü	28
Şekil 13: Primer yara iyileşmesi.....	31
Şekil 14: Gecikmiş primer yara iyileşmesi	32
Şekil 15: Sekonder Yara İyileşmesi	32
Şekil 16: Antioksidan savunma mekanizmaları	39
Şekil 17: GSH redoks döngüsü	41
Şekil 18: Muğla ilindeki orman işletmesine ait sđđla ağaçları	36
Şekil 19: Deney hayvanlarında yara defekti oluşturma	43
Şekil 20: 6. günde yaranın görünümü	44
Şekil 21: 6. gündeki yaranın milimetrik asetat kağıdına çizimi.....	44
Şekil 22: 12.gündeki yaranın milimetrik asetat kağıdına çizimi	44
Şekil 23: Yaranın iyileştiği gün.....	44
Şekil 24: Birinci gün gruplarında MDA aktivitesi	51
Şekil 25: Yara iyileşmesi sonrası grupların MDAi aktivitesi	52
Şekil 26: Birinci gün gruplarında SOD aktivitesi	53
Şekil 27: Yara iyileşmesi sonrası grupların SODi aktivitesi.....	54
Şekil 28: Birinci gün gruplarında CAT aktivitesi	55

Şekil 29: Yara iyileşmesi sonrası gruplardaki CAT aktivitesi	56
Şekil 30: Birinci gün gruplarında GSH aktivitesi	57
Şekil 31. Yara iyileşmesi sonrası gruplardaki GSH aktivitesi	58
Şekil 32. Birinci gün gruplarında MPO aktivitesi.....	59
Şekil 33. Yara iyileşmesi sonrası gruplardaki MPO aktivitesi.....	60
Şekil 34. Grupların histopatolojik skorları	62
Şekil 35. Akut inflamasyon yok.....	63
Şekil 36. Akut inflamasyon hafif	63
Şekil 37. Akut inflamasyon şiddetli	63
Şekil 38. Kronik inflamasyon yok	63
Şekil 39. Kronik inflamasyon hafif	63
Şekil 40. Fibrozis yok.....	63
Şekil 41. Fibrozis hafif.....	64
Şekil 42. Fibrozis şiddetli.....	64
Şekil 43. Damar proliferasyonu yok	64
Şekil 44. Damar proliferasyonu hafif.....	64
Şekil 45. Damar proliferasyonu şiddetli.....	64
Şekil 46. Yara yüzeyinde kapanma yok	64
Şekil 47. Yara yüzeyinde kapanma var	65
Şekil 48. Grupların günlere göre yüzey alanı.....	67

KISALTMA LİSTESİ

MPO: Myeloperoksidaz

CAT: Katalaz

GSH: Glutatyon

MÖ: Milattan önce

G1b: Glikoprotein 1b

vWF: Von Willebrand Faktörü

PDGF: Platellet Growth Faktör

EGF_s : Epidermal Growth Faktör

H+E: Hemotoksilen+ Eosin

TGF- α/β : Transforming Growth Faktör

MDA: Malondialdehit

FGF-2: Fibroblast Growth Faktör 2

SOD: Süperoksit dismutaz

PAF: Platellet Activating Factor

ATP : Adenozin trifosfat

DNA: Dinükleik asit

ADP: Adenozin difosfat

Ca : Kalsiyum

IL-1: İnterlökin-1

PMNL: Polimorf nüveli lökosit

TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör Alfa

TNF- β : Tümör Nekrozis Faktör Beta

PGE₂ : Prostaglandin E₂

EGF: Endotelial Büyüme Faktörü

FGF : Fibroblast Growth Faktör

PF-4 : Platellet Faktör IV

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

OH[·] : Hidroksil radikali

O₂^{·-} : Oksijen radikali

ESM : Ekstrasellüler matriks

IFN : İnterferon

GAG: Glikozaminoglikan

MMP : Matriks metalloproteinaz

MMP-1: Kollagenaz-1 ya da fibroblast kollagenaz

MMP-8: Kollagenaz-2 ya da nötrofil kollagenaz

MMP-13: Kollagenaz-3

MMP-3 : Stromelisin-1

MMP-10 : Stromelisin-2

MMP-7 : Matrilisin

S : Sham grubu

K : Kontrol grubu

C: Kollagenaz grubu

SY : Sıgla yağı grubu

CTGF: Konnektif doku büyüme faktörü

Arg/Gly/Asp: Arginin-Glisin-Aspartik asit

DTNB: 5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit

TBA: Tiyobarbitürik asit

INT: p-iyodonitrotetrazolium viyolet

ÖZET

YARA İYİLEŞMESİNDE BİTKİ REÇİNESİ OLAN SIĞLA YAĞI (LİQUİDAMBAR) İLE KOLLAGENAZ İÇEREN POMADLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Yara iyileşmesi hekimler ve hastalar açısından büyük problem oluşturmakta olup günümüzde de halen ciddi morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Eski çağlardan beri bitki reçineleri ve bitki ekstrelerinin yara iyileşmesinde kullanıldığı bilinmektedir. 21.Yüzyılda yara iyileşmesi mekanizması üzerine yapılan çalışmalar yara iyileşmesi süresinin daha iyi anlaşılmasına olanak tanınmasına rağmen yara tedavisinde kullanılan çeşitli kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlardan hiçbiri yaygın olarak klinik uygulamaya girmemiştir. Bitki reçineleri ve bitki ekstrelerinin yara iyileşmesi üzerine etkileri halk arasında yüzyıllardır bilinip kullanılmasına rağmen bilimsel temeli konusunda literatürde hemen hemen hiç bilgi yoktur. Kollagenaz içeren pomatlar birçok klinik tarafından halen topikal olarak kullanılmakta olup literatürde bu konu ile ilgili yayınlar mevcuttur.

Biz bu çalışmada bitki reçinesi olan sığla yağının (liquidambar) yara iyileşmesi üzerindeki etkisini kollagenaz içeren pomatlarla karşılaştırmalı olarak incelemeyi planladık. Çalışmamızda aynı yaş ve ağırlıkta her grupta 10'ar hayvan bulunan toplam 40 adet yetişkin Wistar cinsi rat kullanıldı. Ratların sırtının orta hat bölgesine birer tane 1,5 cm çapında sirküler tam kat yara oluşturuldu. Sham grubu hariç bütün gruptaki hayvanlara deri defekti oluşturulduktan sonra yaraları serum fizyolojik ile silindi ve her pansuman esnasında bu işlem tekrarlandı. Hiçbir gruptaki hayvanlara antibiyotik uygulanmadı. Sham grubundaki hayvanlar pansuman yapılmadan kapatıldı. Kontrol grubundaki hayvanlar serum fizyolojik ile pansuman yapıldıktan sonra steril gazlı bez ile kapatıldı. Sığla yağı ve kollagenaz grubundaki hayvanlar serum fizyolojik ile pansuman yapıldıktan sonra bu maddelerin yaklaşık 0,1 gramını ihtiva eden gazlı bez ile kapatıldı. Pansuman işlemine yara iyileşmesi oluncaya kadar devam edildi. Yaraların iyileşme sürecinde yara çevresi üç günde bir asetat kağıdına kalıcı markırla çizilip Netcad 5.0 programı kullanılarak yara alanı hesaplanması yapıldı. 15. Günde yara yerinden patoloji için punch biyopsi alındı. Ayrıca çalışmanın 1. gününde ve iyileşme tamamlandıktan sonra yara yerinden doku örneği alınarak bu örneklerden malondialdehit(MDA), süperoksitdismutaz(SOD), katalaz(CAT), glutatyon(GSH) ve myeloperoksidaz(MPA) analizleri yapıldı. Sonuçlar birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Değerlendirme sonucunda; sığla yağı ve kollagenaz içeren pomatların uygulandığı

gruflarda kontrol ve sham grubuna göre yara iyileşme süresinin daha kısa olduğu ve yara yüzey alanının istatistiksel olarak daha fazla küçüldüğü gözlemlendi($p<0.05$). Yapılan histopatolojik yönden incelemede; kontrol ve sham gruplarına göre, sığla yağı ve kollagenaz pomat uygulanan gruflarda akut ve kronik inflamasyonun, damar proliferasyonunu olmadığı ya da çok az olduğu gözlemlenmiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu($p<0.05$). Fibrozis ve yara yüzeyi bakımından H+E ile incelemede gruplar arasında fark bulunamamıştır($p>0.05$). Yine gruplar arasında yara iyileşmesi sonrası MDA, SOD, CAT, MPO, GSH düzeyleri karşılaştırıldığında; tüm gruflarda MDA ve MPO düzeylerinin azaldığı, sığla yağı ile kollagenaz pomat uygulanan gruflarda azalmanın belirgin olduğu gözlemlendi($p<0.05$). SOD ve CAT düzeylerinin tüm gruflarda yükseldiği gözlemlendi. Kollagenaz ve sığla yağı uygulanan gruflarda SOD ve CAT düzeylerindeki yükseklik, sham ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulundu($p<0.05$). GSH düzeyleri ise tüm gruflarda yükselmekle birlikte istatistiksel olarak gruplar arasında fark bulunamamıştır($p>0.05$).

Sonuç olarak; bulgularımızın ışığı altında sığla yağı ve kollagenaz içeren pomatların yara iyileşmesinde kullanımının iyileşmeyi hızlandırıcı etkisinden söz edilebileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Yara iyileşmesi, bitki reçinesi, sığla yağı, kollagenaz

ABSTRACT

Comparison Of "Sığla Oil",A Plant Resin And Collagenase Containing Pomades In Wound Healing

Nowadays, wound healing is great challenge for physicians and patients with high morbidity and morbidity rates. It has known that plant resin and extracts have being used for wound healing since ancient ages. Nevertheless the studies in 21 century on wound help to explain the healing process but any of the chemical, physcial or biological agents for wound healing has not widely accepted usage in clinical settings. Although the benefical effects of plant resin and extracts on wound healing have been known for ages in public era but the scientific foundation of this issue is absent in current literature. Collagenase containing pomades are in current usage in certain clinics and related topics are present in literature.

We designed the study to compare benefical effect of Sığla oil, a kind of plant extract, with collagenase containing pomades on wound healing. In the study 40 wistar rat were grouped containg 10 rats with similar age and weight. The ridge of rats were injured to form a 1.5 cm circular and full thickness wound. Except sham group, all animals were wiped with saline solution just after injury and before every dressing. Antibiotic were not used in any groups. Dressing was not applied in sham group. Animals in control group were wiped saline solution then dressed with sterile gauzes. Animals in "Sığla oil" and "collagenase"groups were wiped then dressed with sterile gauze containing 0.1 ml of each extracts

Dressing continued till all wounds were healed To calculate wound surface area, margins were drawn on acetate paper with three days interval during healing period and was analysed with Netcad 5.0 program. In 15 th day, punch biopsies were applied for pathological evaluation. Tissue specimens were obtained in the first day of injury and after wounds were healed and were analysed for (MDA),(SOD),(CAT)(GSH) and(MPA). Results were compared statistically.

The assesment of datas revealed wound healing period was shorter and statistically wound surface area was smaller in groups of "Sığla oil" and "collagenase" againts sham and control groups($p < 0.05$). Histopathological assestment revealed absent or mininal acute or chronic inflammation and vessel proliferation in "Sığla oil" and "collagenase"applied groups, statistically corralated between groups($p < 0.05$). There were no difference in all groups

according to fibrosis, wound surface area and H+E staining($p>0.05$). After wound healing, MDA, SOD levels were decreased in all groups where this was more prominent in “ Sığla oil” and “collagenase”group ($p<0.05$). SOD and CAT levels were increased in all groups. The increasement of SOD and CAT levels in“ Sığla yağı” and “collagenase”group were less prominent and statistically corralated ($p<0.05$) compared with sham and control groups. Although GSH levels were increased in all groups but there was no correlation between them($p>0.05$).

As a result we suggest “Sığla oil” and “collagenase containing pomades have forced wound healing potency

Key words wound healing, plant resine, Sığla oil, collagenase

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Organizmanın en geniş organı olan deri vücudumuzu dış ortamlardan gelen çok çeşitli travmalara karşı koruma görevini üstlenirken kendisinde birçok yaralanmalara maruz kalmaktadır(1). Yaralanma ve yara iyileşmesi insanoğlu kadar eski ve bir o kadarda gizemli bir süreçtir. Tarih boyunca insanoğlunun ilgisini çekmiştir ve bu ilgi yüzyıllar boyunca azalmamıştır(2-4). Tarih öncesi çağlarda insanların deriden çeşitli sütür materyali geçirdiklerine dair kanıtlar vardır. Mezopotamya, eski Mısır, Yunanistan, Hindistan, Roma'da deriye yönelik cerrahi girişimler yapıldığı bilinmektedir(3-8).

Son yıllarda yara iyileşmesinde mikroskobik bulguların yanında iyileşme üzerinde etkili biyolojik moleküllerin tespit edilmesiyle yara iyileşme mekanizması daha iyi anlaşılmiş ve yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktör belirlenmiştir. Yara iyileşmesi için gerekli optimal koşullar yavaş yavaş berraklaşmaya başlamıştır(9-12,14-17). Hayvan deneylerinde yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olan çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin rapor edilmiştir. Bu maddeler pahalı olup farmakokinetikleri tam olarak bilinmemektedir. Bütün bu çabalarda hedef yara iyileşmesini daha hızlı ve daha mükemmel hale getirmektir(9-16-18). Hızlı ve etkin yara iyileşmesi hastanede kalış süresini azaltmakta maliyeti düşürmekte ve morbidite ve mortaliteye olumlu etkiler sunmaktadır.

Yara canlı dokunun travmatik, cerrahi, spontan, idiopatik veya çeşitli hastalıklar sonucunda dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır(3-8,11). Canlı dokuların yaralanmaya cevabı tüm cerrahi pratiğin temelini oluşturur(4,14-19). Yaralanma değişik dokularda ve değişik mekanizmalarla meydana gelse de iyileşme mekanizmaları bazı farklılıklar göstermekle beraber hepsinde ortak temel özellikleri ihtiva eder(20-22). Yara iyileşmesi organizmanın en temel savunma mekanizması olup hücre bölünmesi, kemotaksis, anjiyogenezis, ekstrasellüler matris protein sentezi ve skar oluşumu ile karakterize normal anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal bir dizi olayın bütünleşmesiyle fonksiyonel yapısının tekrar kazanması ile giden kompleks biyolojik bir süreçtir. Bu fonksiyonların ideal bir şekilde yerine getirilmesinde inflamatuvar hücreler, fibroblastlar, keratinositler ile hücreler arası iletişim ve kemotaksiste görev alan sitokin ve büyüme faktörü gibi bir takım mediatörlerinde salınımı gereklidir(22-31).

Yara iyileşmesinde yaranın gücü ve skarlaşma primer olarak kollajen depolanması ile ilgilidir. Kollajen yapımı fibroblastlar tarafından 3-5. günde başlar ve yaranın büyüklüğüne bağlı olarak haftalarca devam edebilir. Kollajen yapımı iyileşen yarada lökositler tarafından salgılanan büyüme faktörleri ve sitokinleri de içeren çeşitli faktörlerce uyarılır. Kollajen birikimi, yapım ve yıkım oranlarına bağlıdır. Kollajen parçalanması başlıca kollagenaz olmak

üzere çinkolu metalloproteinazlarla gerçekleşmektedir. Fibroblast, makrofaj, nötrofil, sinovial hücreler ve bazı epitel hücreleri tarafından yapılan kollagenaz zimogen olarak serbestleştirilir. Kollajen parçalanması artıkların zedelenen dokudan uzaklaştırılmasında rol oynar ve bağ doku onarımı için model oluşturur(11,20,22,26-31).

Bitki reçinelerinin yara sağaltımında kullanılmaları eski çağlara ve kültürlere dayanmaktadır. İnsanoğlu binlerce yıldan beri bitkilerden şifa umup hastalık ve yaraların tedavisi için bitkileri kullanmıştır. 19'uncu yüzyılda gelişmeye başlayan kimya sanayii, 20 yüzyılda dev bir sektör haline gelince bitkisel kökenli ilaçların önemi azaldı. Dev ilaç firmalarının geliştirdiği mucize ilaçlar insanların şifa kaynağı oldu. 21'inci yüzyılda ise bitkilerle tedavi yöntemleri yeniden önem kazandı. Çağdaş sanayi toplumunun oluşturduğu çeşitli hastalıklar ve sorunlardan bunalan insanlar yeniden bitkilerle tedavi yöntemlerine dönmeye başladılar. Sağlıklı yaşamak için doğal beslenmenin önemi anlaşıldı. Bitkilerin insanları rahatlatan ve tedavi edici özellikleri yeniden keşfedilmeye başlandı(3,4,12). Bitki reçinelerinden biri olan sığla yağı; Liquidambar orientalis türünün gövdesinden elde edilen bir balsamdır. Bu ağaç Anadolu, Amerika ve Çin'de yetişip 15-20 mt yükseklikte çınar görünümlü bir ağaç olup günlük ya da amber ağacı gibi isimlerle de bilinir. Sığla yağı çok eski devirlerden beri tanınan bir balsamdır. Sığla ağacının herhangi bir alet ile yaralanması sonucu yeni gelişen odun dokusu içinde oluşan balsam kanallarından sığla yağı akmaktadır. Anatomik çalışmalarda, sığla ağacı odununda balsam kanallarına rastlanmamıştır. Ağacın doğal veya herhangi bir alet ile yaralanması sonucu yara çevresinde diri odun kısmında, yeni gelişen odun dokusu içinde çok miktarda balsam kanalları oluşur. Bu kanalların etrafında salgı görevi yapan basit epitelyum hücreleri yer almaktadır. Salgılanan bu balsam ağacın gövdesinde oluşan yaranın iyileşmesinde rol oynamaktadır. Mart ve Mayıs aylarında ağaç gövdesinde kabuk kısmı kaşık denilen alet ile sıyrılır. Temmuz ayı ortalarından başlayıp Ekim ayı sonuna kadar 15 gün arayla bu balsam toplanır. Elde edilen balsam kaynatılıp preslenerek sığla yağı elde edilir(32-37). Hipokrat döneminden beri sağaltıcı etkileri nedeniyle ilaç olarak kullanılmıştır(3,4,12). Fakat literatürlerde sığla yağının antiseptik ve antibakteriyal özellikleri konusunda az sayıda yayın olmasına karşın yara iyileşmesi konusunda bu çalışmanın planlandığı tarihe kadar yapılan hiçbir çalışma yoktur. Biz bu çalışmada sığla yağının yara iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırarak literatürdeki bilgi eksikliğine katkıda bulunmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

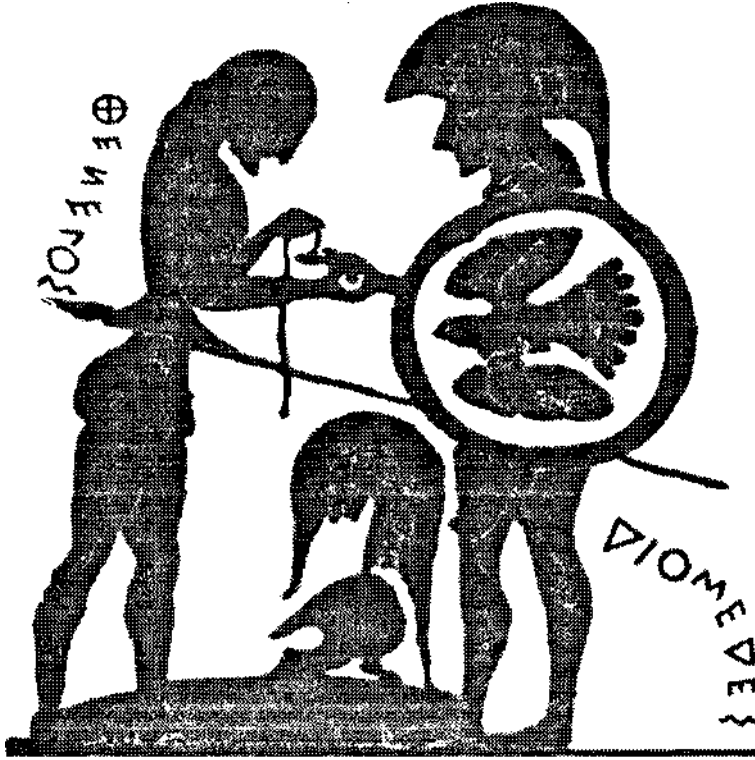
2.1 Tarihçe

Geçmişini bilmek; bu gelişmelerde emeği geçenleri saygıyla anarak bu gün bizim için

kolay görünen uygulamaların ne kadar sıkıntılı bir süreçten geçtiğinin farkında olmamız bu gün yaptıklarımızı anlamamız ve geleceğimizi planlamamız açısından önemlidir(24).

Cerrahinin temel konularından birisi, belkide en önemlisi olan yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalar çok eskilere dayanır. İnsanlık tarihi kadar eski olan yara bakımı antik çağlarda büyük çoğunlukla sihirbaz doktorların yaptığı sihir ya da büyüden ibaretti. Tarih öncesi dönemine ait yara bakımı yazılı kaynaklardan ziyade prehistorik resimlere dayanmaktadır(3,4). Rönesansdan sonra bilim adamları hastalıkların fizyopatolojisiyle ilgilenmişler ve fizyopatoloji çevresinde hastalıkları tedavi yöntemleri geliştirmişlerdir(4).

Tibbin sihirbazlıktan sıyrılıp yüksek bir standarda ulaşması eski Yunanistan'da MÖ 1250 yıllarında başlamış ve bu gelişmeler MÖ 460 yıllarında doğan Hippocrates ile devam etmiştir. Yara tedavisinde katran, şarap, bal, sirke gibi bitkisel ve hayvansal ürünlerden elde edilen kremler kullanılmış(Şekil 1). Primer ve sekonder yara iyileşmeside yine Hippocrates tarafından ilk kez tanımlanmıştır(3,4).



Şekil 1 Parmak yarasını saran Yunanlı. Adem Köşlü, Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi/online kitabından alınmıştır(3).

De Medicina adlı eserin sahibi Cornelius Celcus yara iyileşmesinden bahsetmiş ve inflamasyonun dört kardinal belirtisi rugor, tumor, kolor ve doloru (kızarıklık, şişme, ağrı, sıcaklık) tanımlamıştır(3,4,24).

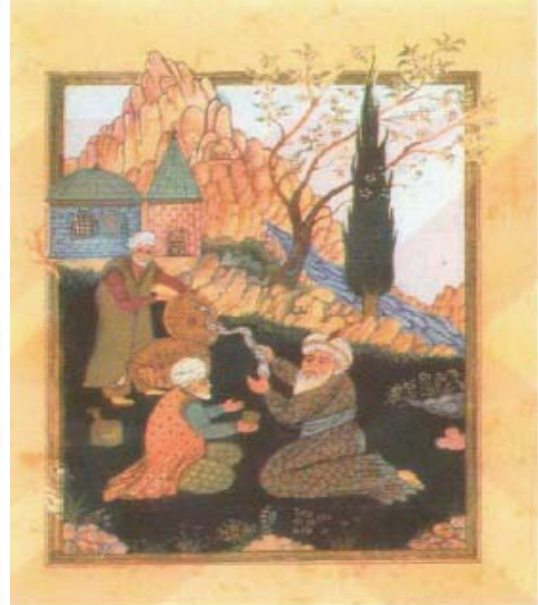
İslam tababetinin Galenin etkilerden uzak kalmasıyla İslam tıp biliminde gerileme yaşanmamıştır. Yunan, Hind ve Fars dillerindeki eserler tercüme edilmiş, geleneksel Arapların tıpları ve Peygamber hadisleri de eklenerek tıp âleminde bambaşka bir ufuk açılmıştır. Buharalı İbn-i Sina(930-1037) yaraları sınıflandırmış ve bu sınıflamalara göre farklı tür yaralara göre farklı tedavi seçenekleri önermiştir. Horasanlı Razi(584-932) tedavi edilemeyen kronik yaralarda amputasyon önererek amputasyon cerrahisinin temelini atmıştır. Yaralar dağlanmak suretiyle tedavi edilebilir geleneği 11. yüzyılda en fazla revaç gören tedavi yöntemi idi. Dağlama aletini Ebulkasım Zehravi'nin ihyası sonunda Müslümanların "milli aleti" olarak görülmüştür(Şekil 2).



Şekil 2 Yaraların dağlanması. Adem Köşlü, Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi/online kitabından alınmıştır(3).

14.Yüzyılın önemli Türk bilim adamlarından biri olan Şerafeddin Sabuncuoğlu(1385) koterizasyon konusunda uzman olarak kabul edilmiştir. Ayrıca kitabında nekrotik dokuların kimyasal debrütmanla uzaklaştırılmasını sağlayan yılan zehirini de içeren bir merhem kullandığına dair bilgiye rastlanmaktadır(3,4,12)(Şekil 3).

16. yüzyılda Nidai eserinde el ve ayak yaralarında katran, icibar kökü kullanmıştır. 17. yüzyılda Salih bin Nasrullah kantaron ve sığır dili kuyruğunu yaraları iyileştirmek için kullanmıştır(3).



Şekil 3 Şerafeddin Sabuncuoğlu yılan zehiri toplarken ve yara üzerine hazırladığı ilacı sürerken. Şerafeddin Sabuncuoğlu, "Mücerreb-name: İlk Türkçe deneysel tıp eseri-1468", güncelleştiren Uzel I Suveren, Ankara; Atatürk Kültür Merkezi Başkanlığı Yayınları 1999'dan alınmıştır(13).

Asepsi-antisepsinin cerrahi pratiğe girmesi ve anestezi ajanlarının keşfedilip cerrahide kullanılmaya başlandığı 19. yüzyıl tıbbın doğuşu olarak kabul edilmiştir. Yaranın ne olduğu ve nasıl iyileştiğini anlama çabası bu asırda sonuçlarını vermiştir(3,24). Yine bu dönemde halk sağlığı önem kazanmış, Joseph Lister antiseptik cerrahiye pratiğe sokmuş ve karbolik asit(fenol) emdirilmiş gazlı bezle pansumanı ilk kez yapmıştır. Böylece cerrahi yara enfeksiyonları azalmıştır. Yine Fransız kimyager Louis Pasteur (1822-1895) enfeksiyon ve cehaletlenmenin birtakım mini canlılar tarafından oluşturulduğunu göstermiştir. Pasteur ilimler akademisindeki bir konuşmasında "cerrah olsaydım kaynatılmış veya alevden geçirilmiş aletlerden başka bir aleti vücut içine sokmazdım." demiştir(24). Alex Carl yara iyileşmesinin küretajla uyarıldığını, John Hunter yara kontraksiyonu ve kontraktürün farklı süreçler olduğunu belirtmiştir. 1929'da Edward Hones insizyonel yara üzerinde ilk temel çalışmayı yaparak iyileşmeyi fazlara ayırmıştır. İnsize yaranın iyileşmesi devamlı bir olay olmasına rağmen daha sonraki yazarlarda iyileşmeyi benzer dönemlere ayırmıştır(9).

Yara iyileşmesinin anlaşılması ve kontrolü için kuvvetli bir motivasyon olmasına

rağmen sellüler ve biyolojik süreçler 20. Yüzyılda bilimsel yöntemin uygulanmasına dek açıklık getirilememiştir. Günümüzde yerli ve yabancı bilim adamlarının katkılarıyla cerrahi son 100 yıl içinde olağanüstü gelişme göstermiş olmasına rağmen yara iyileşmesinin kalitesi ve kontrolü kolay ulaşılamayacak bir hedef olarak görülmektedir.

2.1.1 Folklorik Tıp

Folklor kelime manası itibariyle halkın yaptığı ve söylediği her şey anlamına gelmektedir. Bunda eğitim ve öğretimin etkisi olmayıp örf ananelere dayanmaktadır. Tıbbi folklor (halk hekimliği) ise halkın kendi uğraşları sonucu kendi kendilerini maddi ve ruhsal olarak tedavi etme usullerini içeren bilim dalıdır. Kırsal kesimlerde, acil bir yanık sağaltımını hemen oracıkta yerel bir bitkiyi uygulayarak yapacak ebeana mutlaka vardır. Yanık ve yaraların bakımında bu tip örnekler, düşük maliyeti, kolay ve sürekli temin edilebilme ve yüzyılların deneyiminden geçmiş olmaları nedeniyle yabana atılmamalı, bilakis bu tip geleneksel bilgiler ve deneyimler, gerçek bilimsel araştırmalarla gözden geçirilmelidirler. Çok eskilere dayanan halk hekimliğindeki bilgiler örf, adet ve alışkanlıklar sonucu elde edilmiş ve akupunktur, banyolar, traksiyonlar gibi bazı yöntemleri bilimsel tıba geçerek çağdaşlaşmıştır. Nitekim debridman yöntemi olarak larva tedavisini şimdilerde bile kullandığımızı görüyoruz. Bilindiği üzere, Maggotlar (*Lucilia sericata* sürfeler) müthiş cerrahlardır ve yarada canlı dokuyu ayırarak nekrotik dokuyu yok ederler ve bu sayede dokuyu amputasyondan kurtarabilirler. Antibiyotiklerin keşfinden önce, dünyada birçok hastanede sülük ve daha birçok ilkel tedavi yönteminin yanı sıra yaygın olarak düzenli bu larva tedavi yöntemi kullanılıyordu(3,23,38).

Tıbbi folklor ülkemizde çok eskidir, diğer ülkelerin folkloru ile kaynaşmıştır. Bugün Anadolu'da Lokman Hekim ve Aeskülope efsaneleri, İbn-i Sina'nın tıbbi yöntem ve tedavileri ile karışmıştır. Bu nedenle yöresel alışkanlıklar dışında, tedavi usûllerinde de benzerlikler vardır. Folklorik tıpta kullanılan yöntemler genellikle ampirik, mistik ve mistik-ampirik olmak üzere ayrılırlar(3).

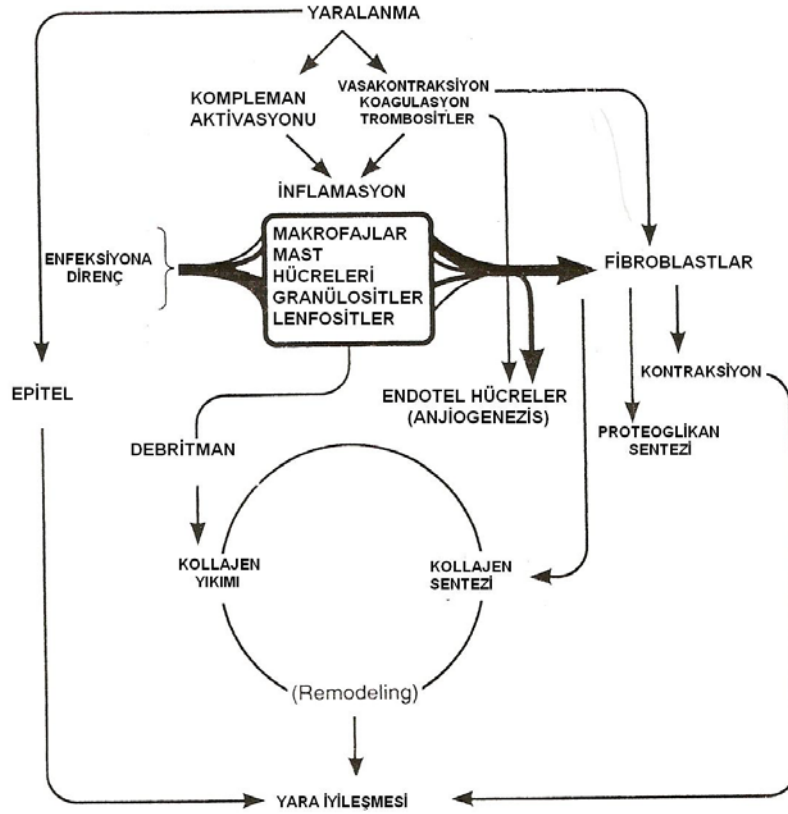
Günümüzde hekimler tarafından mekanizmalarla ilgili bilgiler göz ardı edilmeksizin yapılacak etkin, güvenilir ve maliyeti düşük tedavi yöntemlerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar yara tedavisi konusunda ki en önemli aşama olacaktır. Birçok ülkede antiseptik ve analjezik amaçlı birçok bitki yara bakımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bizim için gerekli olan rasyonel ve güvenilir tedavileri belirlemektir.

2.2 Yara İyileşmesi

Yara; travma ya da ameliyat gibi birçok ajanın fiziksel bir hasar oluşturmasıyla meydana gelen canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıyla ortaya çıkan doku kayıplarına denir. Yara iyileşmesi ise bozulmuş olan doku bütünlüğü sonrası yaralı dokunun yaranmaya cevap olarak temel hemostatik süreçlerin yaşandığı anatomik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden oluşturulması ve ölü hücrelerin canlı hücrelerle yer değiştirmesi ile sonuçlanan bir süreçtir. Değişik hücre gruplarının ortaklaşa yürüttükleri işlevlerden oluşan bu onarım süreci hücresel düzeyde inflamasyon ve hücre proliferasyonu ile başlar ve hücrelerin gelişmesi, yeni bir dengenin kurulmasıyla devam eden fizyolojik ve biyokimyasal olayların bütünleştiği oldukça dinamik bir süreçtir. Canlı organizmaların yaşamı için doku bütünlüğünü korumaya yönelik temel bir yanıt olan yara iyileşmesi; bütün çok hücreli organizmalardaki ortak, temel ve primitif bir olgudur(2,6,7,9,30,39-42). Yaralanma organize ve karmaşık bir olaylar zincirini tetikler ve sonuçta iyileşmiş bir yara hedeflenir.

Doku zedelenmesinden hemen sonra başlayan onarım süreci yumuşak dokularda ortak özellik gösterir. Yıkıma uğrayan dokunun onarımı genellikle skar oluşumu ile sonuçlanır. Bu şekilde dokunun bütünlüğü sağlanmış olmasına rağmen özelleşmiş parankim hücresinin görevini yerine getiremediğinden skar oluşumu organ ya da dokunun rezervini ve fonksiyonunu azaltır. Epitel, kemik ve sinir dokularında farklılık gösterir. Cerrahin cilde yaptığı her insizyon sonrasında organize ve karmaşık bir dizi olaylar başlar. Bu olayların birçoğu bilinmekle birlikte, birçoğuna da henüz açıklık getirilememiştir. Son yıllarda büyüme faktörleri ve sitokinlerle ilgili çalışmalar, yara iyileşmesinin anlaşılmasını sağlamıştır. Yara iyileşmesi ile ilgili deneysel modellerde yara iyileşmesinin son noktası olarak reepitelizasyon kabul edilmektedir. Ancak klinik açıdan epitelyal, bütünlüğün sağlandığı dönemde yaranın gerilme kuvvetinin henüz yetersiz olduğu göz önüne alınmalıdır. Skar dokusunun rekonstrüksiyonunu sağlayan kollajen remodelizasyon ve diğer olaylar epitelizasyonun tamamlanmasından sonra aylarca devam eder(14,16,43-49).

Yara iyileşme evreleri birbirinin içine geçmiş, başlama ve bitiş zamanları kesin olmayan kompleks olaylar zinciridir. Yara iyileşmesinde temel olarak inflamasyon, proliferasyon-fibroplazi ve maturasyon(remodeling) fazları olmak üzere birbirini izleyen üç temel evre mevcuttur. Yara iyileşmesinin gerçekleştiği bu evrelerde birçok histolojik ve biyokimyasal olaylar rol oynamaktadır. Her evre için spesifik olan birçok olay yara da aynı anda olmaktadır. Dahası yaranın farklı yerlerinde, herhangi bir zamanda çok farklı hücresel ve biyokimyasal olaylar görülebilmektedir(9,23-29)(Şekil 4).



Şekil 4 Yara iyileşmesinin genel akış şeması. İnflamasyon belirleyici rol oynamaktadır. Current Surgical Diagnosis & Treatment. Lange Medical Boks 2002'den alınmıştır(29).

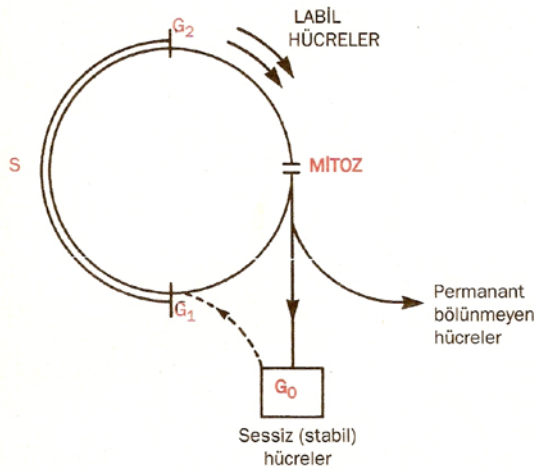
Keratinositler tarafından salgılanan interlökin, TGF, interferon kaynaklarının yara iyileşmesindeki rollerinin bilinmesi yara iyileşmesinin disiplinli olarak gelişmesine olanak sağlamıştır. Bunların hepsi komşu hücreler üzerine etki ederek epidermis ve dermisin birbirlerini kontrol ederek gelişmesini sağlar ki bu rol yara iyileşmesinde çok önemlidir. Bu da uygun yara iyileşmesinde dokuların aşırı bir gerginlik yapmaksızın uç uca yaklaşımın önemini gösterir. Epidermis ve onu destekleyen dokular arasında oluşan bir hematoma, yabancı cisim, ölü doku ya da ödem yara iyileşmesini geciktirecektir(23).

Yara iyileşmesinde dokuların kanlanması ve dokuların oksijen tüketimleri de önemlidir. İstirahatte karaciğer, böbrek gibi organların oksijen tüketimleri yüksek iken derinin oksijen tüketimi düşüktür. 1996'da Naylor ve Evans derinin oksijen tüketiminin dakikada 0,01-0,02 $\mu\text{m/ml}$ gibi düşük olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle deri iskemiye birkaç saat dayanabilmektedir. Derinin kanlanması bol olup termoregülasyondan sorumludur. Ayrıca glikojen rezervleri olup glikolitik parçalanma ürünü laktattır. İstirahat döneminde düşük oranlarda oksijen tüketimine sahip olan derinin yaralanma durumunda oksijen tüketimi artar. Mekanik ve kimyasal travmalara cevap olarak salgılanan histamin gibi ajanlar kan akımını geçici olarak artırır. Bu artış yeterli olmayıp granülasyon dokusu

gerekir ki bu yeni organ olup sadece yara iyileşmesi amacıyla yönelik olarak oluşturulur. Yara iyileşmesinde önemli diğer bir nokta ise derinin turgor ve tonusudur. Hareketsiz ve paralize durumunda turgor ve tonus azalacak lenfatik drenaj bozulacak ve sonuç olarak yara iyileşmesi gecikecektir. Sedef hastalığında olduğu gibi bir takım yaralarda artan kapiller damar artımı da sağlıklı değildir. İyileşen bir yarada ve deride, normal kapiller kan takviyesinin olması ve kapiller lupların en üst noktaları ile yara kenarlarının makul bir yakınlıkta bulunmaları zorunludur(23).

2.2.1 Hücrelerin Regenerasyon Kabiliyetleri

Hücre büyüme siklusu G_1 (yapım öncesi), S(DNA yapımı), G_2 (mitoz öncesi) ve M(mitoz) evrelerinden oluşmaktadır. Dinlenen hücreler ise G_0 olarak adlandırılır ki bu fizyolojik bir süreçtir. İnsan vücudundaki hücreler yenilenebilme güçlerine ve hücre siklusu ile ilişkilerine göre labil hücreler, stabil hücreler ve permanent hücreler olmak üzere üç gruba ayrılırlar(6,26,28,31,50,52)(Şekil 5) .



Şekil 5 Hücre siklus evreleri. Temel Patoloji(Basic Patology) fifty edition. Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul 1992'den alınmıştır(26).

2.2.1.1 Labil Hücreler (Sürekli Bölünen Hücreler)

Deri, ağız boşluğu, vajina ve serviks yüzeyindeki çok sıralı yassı epitel, dış salgı kanalını döşeyen mukoza(tükrük bezleri, pankreas, safra kanalı vb), sindirim kanalı, uterus ve fallop tüplerinin kolumnar epiteli, üriner kanalın transizyonel epiteli, dalak, lenfoid ve hemopoetik doku hücreleri bu gruptandır. Bu hücreler yaşam boyunca çoğalırlar, sürekli harap olan hücrelerin yerlerini alırlar(6,26,28,31,50-52).

2.2.1.2 Stabil Hücreler (Sessiz Hücreler)

Çoğunlukla düşük çoğalma özelliğine sahiptirler. Normal olarak aktif çoğalma özelliği göstermeyen ve gizli rejenerasyon kabiliyeti olan bu hücreler çeşitli uyaran biçimlerine karşı hızlı bölünerek cevap verirler ve köken aldıkları dokuyu yeniden oluşturma gücündedirler.

G₀' dadırlar, fakat uygun bir uyararla uyarıldıklarında G1 fazına girerler. Bu grupta pankreas, tükürük ve endokrin bezler, karaciğer, fibroblastlar, düz kas hücreleri, böbrek tübüler hücreleri, deri glandlarının hücreleri ve damar endotel hücreleri gibi mezenkimal hücreler bulunur. Stabil hücrelerin yenilenme güçlerine en iyi örnek karaciğerdir. Karaciğer hücre yıkımı sonrası yüksek rejenerasyon kabiliyetine sahiptir(6,26,28,31,50-52).

2.2.1.3 Permanant Hücreler (Bölünmeyen Hücreler)

Hücre siklusunu terk etmiştir ve doğumdan sonraki yaşamda mitoz bölünmeye uğramazlar. Bu grupta nöronlar, kalp ve iskelet kası hücreler bulunur. Bu grupta yenilenme gücünün pratik önemi yoktur. Nöronların yıkımı ister santral isterse periferik olsun sürekli kayıp ile sonuçlanır. Bu durum nöronun aksonal uzanımının tamiri için geçerli değildir. Şayet nöronun hücre gövdesi sağlam ise uzantılarını yeniden kazanabilir(6,26,28,31,50-52).

2.2.2 Yara Çeşitleri

Yaralar, açık ve kapalı olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılırlar:

Açık Yaralar

- Kesi yaraları (insizyon yaraları)
- Lasere ve ezik yaralar
- Delici aletlerle olmuş yaralar
- Isırık ve sokmalar
- Yanık yaraları

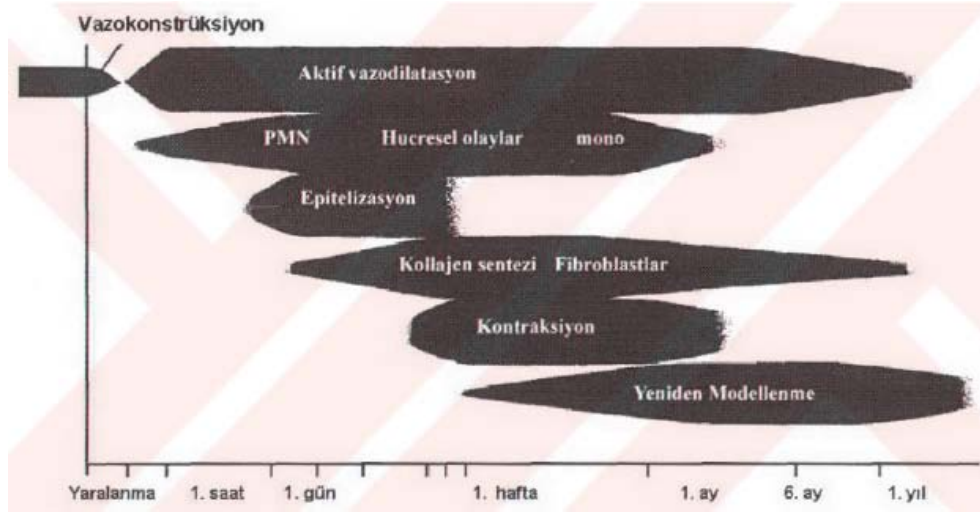
Kapalı Yaralar

- Künt yaralar (ezilme)
- Sıyrık
- Hematom
- Burkulma (42).

2.2.3 Yara İyileşmesi Fizyolojisi

Organizma yaralanma sonrası yaranın tamir amacıyla, travma tipine bağlı olmaksızın yara bölgesinin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden kazanılmasını sağlayacak pek çok süreç tamir amacıyla devreye girer. Bu, kompleks ve dinamik yollarla dokunun yıkılması (katabolik faz) ve yeniden sentezi (anabolik faz) şeklinde olur. Yara iyileşmesi, belirli hücre tipleri, biyokimyasal denge, lokalizasyon ve zamanla ilişkilidir. Tüm yara tiplerinde iyileşme süreci birbiri içine girmiş 3 fazdan oluşur(6,54). Bunlar; hemostaz ve inflamatuvar hücre faaliyetleriyle karakterize **inflamasyon fazı**, endotel ve fibroblast proliferasyonu ile karakterize **proliferatif faz**, bağ dokusu ve ara madde sentezi, epitelizasyon ve yara kontraksiyonu ile karakterize **rejeneratif faz**'dır. Pek çok durumda iyileşme sürecine

üçü birden katılır. Yara iyileşmesi dönemleri kronolojik olarak aşağıda şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6 Yara iyileşmesinin evreleri kronolojik olarak gösterilmektedir. Evreler bazen eş zamanlı olarak devam etmektedir. Rohrich R J, Robinson R J “Wound healing”, Selected Readings in Plastic Surgery. Vol 9, Number 3, 1999’den alınmıştır(53)

Hücrelerin canlılıklarını sürdürebilmek ve hücre göçünü gerçekleştirebilmek için belirli neme ihtiyaç duyarlar. Yara dokusunun çok kuru olması hücre hareketlerine engel teşkil eder. Aşırı nem durumundaysa hücreler yara içinde hareket ederek karşıdan karşıya geçişleri zorlanır ve bakterilerin çoğalması için uygun ortam sağlanmış olur.

2.2.3.1 İnflamatuvar Faz

Yaklaşık 72 saatlik bir zaman dilimini kapsayan bu faz ikiye ayrılır.

- 1- Koagülasyon (hemostaz)
- 2- İnflamasyon ve İmmün cevap

2.2.3.1.1 Koagülasyon

Basit bir insiziyon sınırlı sayıda epitelyum ile bağ doku hücrelerinin ölümüne ve epitelyum bazal membran devamlılığının bozulmasına yol açar. Beraberinde derinin adneksiyal yapılarında minimal bir hasar olabilir. Bu arada pek çok küçük damar yaralanır ve kanama meydana gelir. Böylece dar insiziyon mesafesi fibrin ve kan hücreleri içeren kan tıkaçı ile dolar. Yüzeydeki bu tıkaç dehidratasyonla yara üzerini örten çok iyi bilinen kabuğu oluşturur(6,26,28,31,50-52).

Hemostatik süreç yaralanmadan hemen sonra hasarlanmış damar ve lenfatiklerden oluşan hemorajiye cevap olarak katekolamin salınımını takiben vasokonstrüksiyon ile başlar. Damar bütünlüğünün bozulduğu bu durumlarda kan kaybını önlemeye yönelik mekanizmalar devreye girmekte ve pıhtı oluşmaktadır(4,23,50-52). Bu mekanizmaları

- Vasokontraksiyon

- Platellet tıkaçı
- Pıhtılaşma
- Fibröz organizasyon şeklinde sıralayabiliriz.

Travmaya yönelik cevabın erken döneminde yara bölgesinde kanamanın durdurulması amacıyla vasokonstrüksiyon ve pıhtılaşma fenomeni ile vasküler oklüzyon gelişir. Bu aşama temel olarak fibrin depolanması ve polimerizasyonu ile trombosit degranülasyonunu içerir. Travma ile kan damarlarının endotel bütünlüğünün bozulması, kan elemanlarının doku aralığına çıkmasına neden olurlar. Trombositler yara oluştuğunda ilk görev alan anahtar özelliğinde olan hücrelerdir. Normalde birbirlerine ve damar duvarlarına yapışmayan trombositler duvar bütünlüğü bozulduğunda subendotelyal doku ile temas ederler. Bu aşamada subendotelyal tabakadaki Tip IV ve Tip V kollajenler platellet agregasyonuna yol açar ve tıkaç oluşumu ile koagülasyonun ilk basamağı oluşur. Daha sonra trombositler ve hasarlanmış hücreler koagülasyon sistemini aktive eden çeşitli faktörler salgırlar. Yara alanındaki kanamayla bu alana gelen trombositler zarlarında bulunan Glikoprotein 1b (G1b) reseptörleriyle Von Willebrand Faktörüne (vWF) ve bunun aracılığıyla da travmayla açığa çıkan kollajene yapışarak Hegeman faktörünü aktive ederler. Aktive olmuş Hageman faktörü dört ana biyokimyasal sistemi harekete geçirir(55). Bunlar; pıhtılaşma, kompleman-kinin sistemi ve plazmin yapımı şeklinde sıralanabilir(18,46). Trombositler ekstrasellüler matriks proteinlerinde bulunan selektin ve integrin reseptörlerine bağlanarak içindeki alfa granüllerden; albumin, fibrinojen, fibronektin, immunglobulin G, faktör V, faktör VIII, trombaksanlar, prostoglandinler, serotonin, vWF, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF-Platellet Growth Factor), platellet kökenli epidermal büyüme faktörü (EGF_s-Epidermal Growth Factors), farklılaştırıcı büyüme faktörü alfa ve beta (TGF- α/β - Transforming Growth factor), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2 Fibroblast Growth factor-2) ve endotel hücresi büyüme faktörü gibi faktörlerinde bulunduğu inflamatuvar hücreler için güçlü kemotaktik ve mitojenik özellikte olan çok sayıda faktörün salınımını sağlar(4,9,19). Yine trombositlerden trombosit aktive edici faktör (PAF-Platellet Activating Factor) salgılanır. Açığa çıkan Trombaksan A2 vasokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonuna neden olur. Trombositler primer tıkaç oluşturarak hemostaz kaskatını aktifleştirir ve yara üzerini kapatan fibrin pıhtısı oluşumuna katkıda bulunurken bir yandan da trombositlerden açığa çıkan polipeptid yapısındaki mediatörlerle inflamatuvar hücre ve fibroblast göçü için uygun bir yer hazırlarlar. Pıhtı aynı zamanda erken yara matriksi olarak işlev görür. Yetersiz pıhtı oluşumu faktör 13 (fibrin stabilize edici faktör) eksikliğinde gözlenir. Bu durum yara iyileşmesinin bozulması ile birlikte olup, sekonder olarak ya inflamatuvar bölge içine hücrelerin adezyonunda ya da

kemotaksisde azalma ile görülür(2,15,22,56). Trombositlerin içindeki yoğun cisimler içerisinde ise serotonin, adenosin trifosfat (ATP), adenosin difosfat (ADP), kalsiyum (Ca) gibi pıhtılaşma zincirinde önemli rolleri olan faktörler bulunmaktadır. Sitokinler ise interlökin-1 (IL-1), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α)'dır. Yaralanmadan sonra oluşan geçici vasokonstriksiyon 5-10 dakika sürer. Pıhtı oluşumu ile kanama durdurulduktan sonra, endotel hücrelerinden salgılanan histamin, prostoglandin E₂ (PGE₂), prostosiklin ve endotelyal büyüme faktörü (EGF) ile damar geçirgenliği artar ve vasodilatasyon gelişir(19,29). Prostoglandin E₂(PGE₂) monositlerin, prostoglandin E₂ ile birlikte trombaksan B₂ ise polimorf nükleer lökositlerin kemotaksisinde önemli rol oynarlar. Prostoglandin F_{2 α} ise DNA ve hyaluronik asit sentezini stimule eder. Bunlara ilaveten yara kenarına doğru bir nötrofil göçünün de başlamasıyla inflamasyon devresi başlamış olmaktadır(9,19).

2.2.3.1.2 İnflamasyon Ve İmmun Cevap

Yaralanmaların erken döneminde gelişen vasokonstriksiyon 10-15 dakika içinde son bulur ve vasodilatasyon gelişir. Yara çevresinde oluşan kırmızı-kızıl hale vasodilatasyonu gösterir. Yaralanma yerindeki doku hasarı inflamatuvar cevabı çok hızlı bir şekilde başlatır. İnflamasyon, harap olmuş dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün tamir ve yeniden kurulması için esastır. Kapiller geçirgenlik artışıyla artan kan akımı ve trombositlerden salınan kemotaktik faktörler aracılığıyla bölgeye yoğun inflamatuvar hücre göçü olur ve lökositler aktive olurlar(4,10,21,39,43,44,57). Trombositlerin damar endoteline yapışıp fosfolipaz A₂'yi aktive etmesiyle ekstrasellüler aralığa araşidonik asit serbestlenir. İnflamasyon evresinde prostoglandin E₁ ve E₂ özellikle artar. İnflamasyonun kardinal belirtilerinin (eritem-ödem-ağrı-ısı artışı) oluşumunda önemlidir. Monositlerin kemotaktik yönlendirilmesinde prostoglandin E₂, polimorf nükleer lökositlerin kemotaksisinde tromboxan B₂, prostoglandin E₂, hidroksieikosatetraenoik asit ve 5-hidroksiperoksieikosatetraenoik asit rol oynarlar. Prostoglandin F_{2 α} ; DNA ve hyaluronik asit sentezini stimule eder(17,59-64).

Kininler inflamasyonun klinik belirtilerinin oluşmasında mediatördürler. Plakette agregasyonu ve koagülasyon esnasında plakettelerden salgılanan faktörler, pıhtılaşma zincirinde açığa çıkan ürünler ve doku hasarı sonucu gelişen nekrozdan kaynaklanan faktörler yaralanma çevresinde endotel geçirgenliğini değiştirerek damar dışı alana plazma geçişine ve ödeme neden olmaktadır. Kalikrein, bradikinin gibi endotel ve mast hücresi kaynaklı kininlerin özellikle histaminin salınımıyla vasodilatasyon gelişir. Doku imidazol dipeptidleri, stres periyodunda histamine dönüşür. Histamin ve serotonin; arteriol, kapiller ve venüllerde albümin, globulin ve fibrinojene geçirgenliği artırır. Trombin, kinin ve kompleman C_{3_a}/C_{5_a}'da geçirgenliği artırıcı kuvvetli ajanlardır(4,6,18). Vasodilatasyon ile kapiller permeabilite artar, polimorf nüveli lökositler ve plazma, damar yatağından dışarıya çıkıp yara

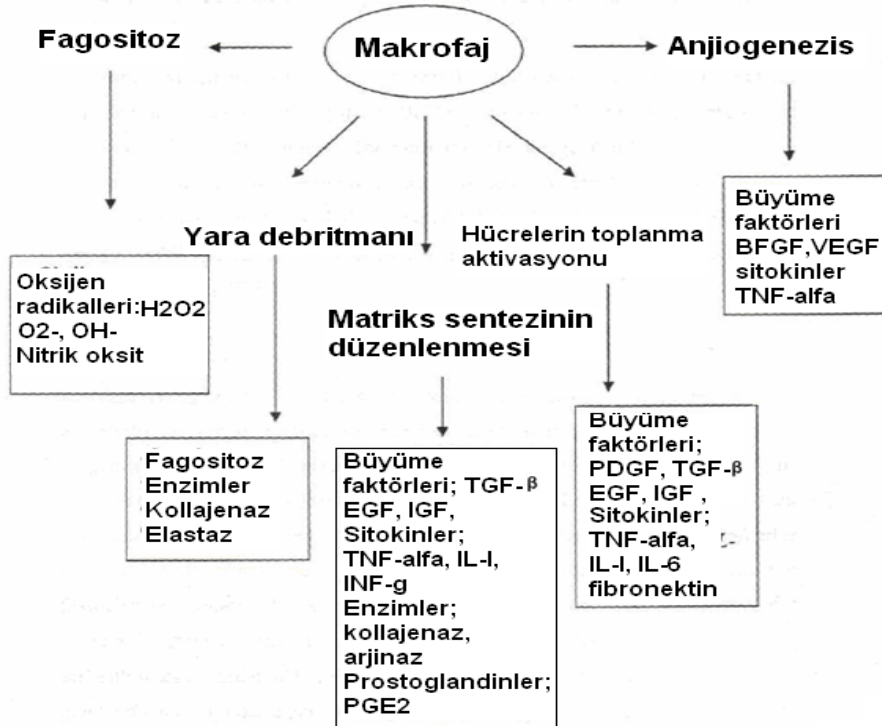
bölgesine göç ederler. Nötrofiller inflamasyonun erken fazının baskın hücreleridir. Travmayı takiben 6 saat sonra yarada görülürler ve ilk üç gün boyunca da hakimiyetlerini korurlar. İnflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği, kompleman faktörler, kollajen, elastin yıkım ürünleri, interlökin-1(IL-1), tumor necrosis factor alfa ve beta (TNF- α , TNF- β), platellet factor IV (PF-4) gibi kemotaktik maddeler, nötrofil kemotaksisini uyarır. Travma sonrası 24. Saatte nötrofil yoğunluğu en yüksek değerlere ulaşır. Nonspesifik savunma sisteminin elemanı olan nötrofillerin yara yüzeyindeki ana görevi salgıladıkları hidrolitik enzimler ve oksijen radikalleri ile nekrotik materyal, yabancı cisim ve bakterileri ortadan kaldırarak yara bölgesinin temizlenmesidir. Maksimum sayıya 1-2 günde ulaşırlar ve yara patojen bakterilerle kontamine olmazsa 2-3. günlerde sayıları azalır(6,19,39). Özellikle granülositler pH düşmesine duyarlıdır. Yara bölgesinde vasküler staz ve lenfatiklerin tıkanmasıyla oluşan anoksi ve asidoza bağlı olarak granülositlerin parçalanmasıyla proteazlar açığa çıkarak doku artıklarını sindirirler. Granülositler, myeloperoksidaz, elastaz, asidik hidrolaz, nötral proteaz ve lizozim gibi enzim yüklü granüler taşıyıcı ve bakteriyel defans ve debritlemede primer olarak görev alır.

Enfekte yaralarda polimorf nüveli lökositlerin infiltrasyonu devam eder. Bu durum tamirin birinci fazını uzatarak, yara iyileşmesini geciktirir(65-69). Opsanizasyon ve fagositoz bakteriyel eliminasyonu sırasında en önemli iki granülositik olaylardır. Nötrofillerdeki kompleman proteinlerinden C3_b ve C3_b'yi algılayan CR₁ ve CR₃ reseptörleriyle immünglobulin G opsanizasyonda görev alır. Bu ise lökositlerin bakteri yüzeyine yapışmasını (adherans) ve fagosite etmesini artırıcı etki gösterir. Diyabet, kronik hastalıklar, büyük operasyonlar ve travma gibi katabolik durumlar opsanik kapasiteyi düşürür(6,14,67,70).

Fagosite edilen mikroorganizma oksijene bağımlı olan bir yolla öldürülür. Fagolizom üç adet reaktif O₂ türü üreten membrana bağımlı enzim kompleksine sahiptir. Bunlar hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali(OH⁻) ve serbest oksijen radikalidir(O₂⁻). Hidrojenperoksit reaksiyonu; oksijen ve süperoksit dismutaz(SOD) ile katalize edilerek bakterisidal etki gösterir. Myeloperoksidaz ve hidrojenperoksit ile klor hipoklorik aside dönüşür ki bu kuvvetli bir oksidan olup bakterinin membran transportunu bozarak bakterisidal etki gösterir. Yine hidroksil radikali de potent bir bakterisidir(6).

İyileşme tamamlanıncaya kadar yara yerine gelmeye başlayan monosit/makrofaj popülasyonu, granülositlerin yerine geçecek şekilde artarlar(18,20). 48. Saatten sonra yaralanma bölgesinde ortaya çıkmaya başlar ve çoğunlukla dolaşımdaki monositlerden kaynak alırlar. Hücre infiltrasyonu ele alındığında makrofaj ve lenfositlerin nötrofillere göre daha önemli görevleri olduğu söylenebilir. Unutulmaması gereken önemli bir nokta; nötrofillerin o zamana kadar gerçekleştirdiği görevler daha kuvvetli şekilde devam ederken eş

zamanlı olarak salgıladıkları veya salınmasını düzenledikleri pek çok büyüme faktörü ile yara iyileşme sürecinde merkezi düzenleyici hücre olarak görev yapan makrofajların yara iyileşmesinin anahtar hücresi olduğudur. Bu hücreler dışında kalan diğer hücre gruplarının yokluğu ya da fonksiyon bozukluğu iyileşme sürecinin sadece gecikmesine yol açarken monositlerin yokluğunda yara iyileşmesi süreci tamamen durmaktadır(9,19,22,71). Makrofajlar yara yerine bakteri ürünleri ve C5a uyarısı ile gelirler. Ancak makrofaj için en potent uyarıcı transforming growth factor betadır(TGF- β). Yaralanmanın 2-3 gününde yara yüzeyinde makrofaj hâkimiyeti başlar. Makrofajların yara iyileşmesindeki temel görevleri ana hatlar ile fagositoz ve antimikrobiyal fonksiyon, yara debritleme, matriks sentez regülasyonu, hücre aktivasyonu ve anjiogenezdır(22). İnflamatuvar fazın geç döneminde sayıları artan makrofajların da yardımıyla, ortamda kalan fibrin, ekstrasellüler matriks(ESM) artıkları, eritrosit, hücre artıkları ve bakteriler tamamen yok edilir ve yara temizliği sağlanır(Şekil 7).

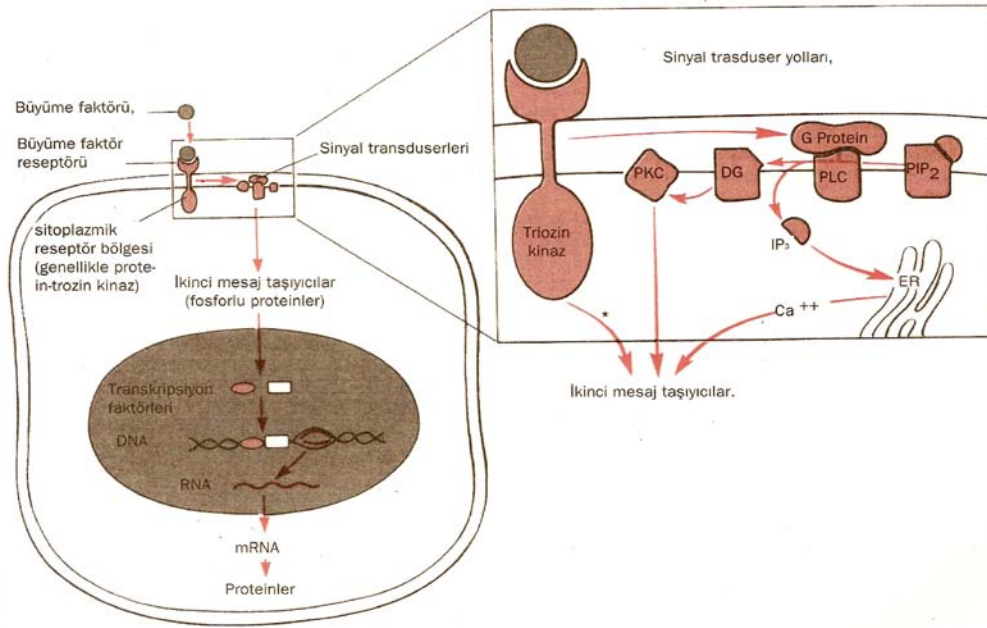


Şekil 7 Makrofajların yara iyileşmesindeki rolü. Kutular içinde etki mekanizmaları örneklerle verilmiştir. Murat Kapan, Yara iyileşmesinde lokal fenitoin(%1) ve üre(%10) uygulamasının etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi Ankara 2006(39).

Bağışıklık sisteminin önemli bir diğer hücresi olan lenfositlerin yara bölgesine gelişini makrofajlarla birlikte olur ve aktive olan makrofajlar lenfositleri aktive eder. CD4 T lenfositler daha baskın olmak üzere CD8 T lenfositleride yara bölgesinde yüksek oranda saptanır. CD4 lenfositleri bağışıklık sisteminin ne tür cevap vereceğini planlayan ve düzenleyen hücre tipidir. Lenfositler de interferon (IFN), TNF- α , interlökin -1 (IL-1) gibi

lenfokinleri salgılar. Buna ilaveten makrofajlar granülositlerle birlikte aktive olduktan sonra doku parçalanma ürünleri üretirler. Serbestleşen kimyasal inflamasyon araçlarından nötral proteazlar(elastaz, kollagenaz, katepsin B, plazmin aktivatör) hücre içi fagositozla beraber bir taraftan plazminojenin plazmine dönüşümünü katalize edip, diğer taraftan kompleman ve pre-hageman faktörü aktive eder. Ayrıca enzimatik yıkım ürünleri mezotelyal hücreler için kemotaktik ve mitojenik uyarı kaynağı olurlar(2,6,18,49). Cerrahi travma sonucu aktive olan makrofajlar, fibroblastik proliferasyon ve transformasyon yanında neovaskülarizasyonu ve kollajen sentezini de uyararak bazı mitojen maddeler serbestleştirirler. Kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonu sonucunda oluşan yeni damar yapılarının belirlenmesi, başka bir deyişle neovaskülarizasyonu (anjiogenezis), inflamasyon evresinin tamamlanmasında belirgin bir özelliktir. TNF- α uyarısı ile neovaskülarizasyon yara kenarlarından başlar ve O₂ gradientini yükselterek fagositozu artırır.

Fibroblast growth factor(FGF), endotelial hücreler üzerinde mitojenik etkiye sahiptir ve fibroblast proliferasyonunu uyarır. EGF, migrasyon ve keratinositlerin büyümesi üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir. PDGF, fibroblastlar için mitojenik ve kemotaktiktir. TGF- β , reversibl bir şekilde keratinosit, T ve B lenfosit ve fibroblastların proliferasyonunu inhibe eder, monosit ve makrofajların kemotaksisini etkiler. Büyüme faktörleri sinerjistik olarak çalışabilir. Yara iyileşmesinin düzenlenmesinde anlaşılmayan kompleks bir yolla antagonist etki gösterir. Büyüme faktörlerinin yara iyileşmesi üzerindeki tedavi edici etkileri halen araştırılmaktadır(2,6)(Şekil 8).



Şekil 8 Büyüme faktörlerince başlatılan hüresel olaylar. Temel Patoloji(Basic Patology) fifty edition. Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul 1992'den alınmıştır(26).

İnflamasyon evresi yaranın derinliğine ve genişliğine bağlı olmakla beraber ortalama 3-5 gün devam eder(14,15). İnflamatuar faz boyunca yara gerilme gücüne dayanıklı değildir(14,17,19,21,43,44,57). İnflamatuar fazın sonlarına doğru ortamdaki sitokin düzeylerinin düşmesiyle birlikte monosit ve makrofajların ağırlıkta olduğu hücre infiltrasyonu giderek azalır. İnflamatuar fazın engellenmesi yara iyileşmesini geciktirir. İnflamatuar hücrelerin azalması ile kemotaksis yavaşlayarak antimikrobiyal etki ortadan kalkar. Enfekte veya yabancı cisim içeren yaralarda inflamatuvar faz uzar ve yara iyileşmesi gecikir(39-40).

2.2.3.2 Proliferasyon Fazı

Proliferasyon endotel hücrelerinin hakim olduğu, mezenşimal hücre kemotaksisi ve proliferasyonu, epitelizasyon ile anjiogenezisi içeren ve yara gerilme gücünde belirgin bir artışın meydana geldiği ara dönemdir. Dermisde primer mezenşimal hücreler fibroblastlardır. Yara tamirinin bu fazı proliferasyonla karakterize olduğu için proliferatif faz olarak adlandırılır. Yaralanmadan bir gün sonra başlar ve 14 güne kadar devam edebilir. Proliferatif faz dört bölüme ayrılır.

1. Granülasyon dokusu oluşumu
2. Reepitelizasyon,
3. Fibroplazi
4. Anjiogenez

2.2.3.2.1 Granülasyon Dokusu Oluşumu

Granülasyon dokusu oluşumu, inflamatuvar dönemle birlikte, ortamdan çıkan kemotaktik faktörler, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimlerin indüksiyonuyla başlamaktadır. Granülasyon dokusunun ana komponentlerini fibronektin, hyaluronik asit ve kollajenden oluşan gevşek bir matriks içinde yer alan yoğun makrofaj ve fibroblastlar ile makroskopik olarak pembe, granüler görünüme neden olan yeni kan damarları oluşturur. Yeni kapiller kıvrımlar çok ince, granüler görünümde olup kolayca kanarlar. Fibronektin ve hyaluronik asit, fibroblast ve makrofajların göç edip tutunabileceği bir iskelet görevi görür. İnflamatuar fazdaki dominant hücre olan lökositlerle beraber histiyositler, fibrositler, fibroblastlar, plazma hücreleri, mast hücreleri, anjioblastlar ve myofibroblastlar lezyon alanına hareket eder. Aktive lökositlerin endotele yapışmasının ve mast hücrelerinde bradikinin salınmasının sonucu olarak vasküler permeabilite artar, büyük moleküler ağırlıklı maddeler (albümin, fibrinojen) hücre dışına çıkar ve ödeme yol açar. Yara ödemi fibrositlerin, fibroblastlara dönüşümü için başlatıcı uyarı görevi yapar. Ödem, fibroblast ve hücre proliferasyonu; hızlı doku granülasyonuna yol açan tetikleyici mekanizmadır. Travmayı takiben aktif trombosit ve makrofajların salgıladığı mediatörlerin etkisiyle fibroblastlar yara

bölgesine çevre dokulardan gelir ve proliferer olurlar. Endotel hücreler ise yara kenarındaki sağlam venüllerden veya anjiogenez sonucu oluşan yeni kapillerden ortaya çıkar. Makrofajlardan salınan büyüme faktörleri, sitokinler ve kemotaktik faktörler; fibroblastların proliferasyonu ve yeni kollajen sentezini uyarırlar. Endotel hücreleri de makrofajlardan salınan sitokinlerden etkilenir ve tomurcuklanma yoluyla yaranın orta kısımlarına doğru ilerler ve yeni damar oluşumlarını başlatırlar. Makrofaj ve fibroblastların yaşamlarını sürdürebilmeleri ve yara iyileşmesinin ilerleyebilmesi için gerekli oksijen bu yeni oluşan kan damarlarıyla sağlanır(6,9,19,39,72).

2.2.3.2.2 Reepitelizasyon

Doku kaybı olan yaralarda, sıvı kaybını engellemede ve enfeksiyon oluşumuna karşı koymada epitelyal hücre artışı önemlidir. Epitelyal rejenerasyon, marjinal epiderminin cevabıdır. Bu cevap hücre migrasyonu, hücre proliferasyonu ve yara sonrası yeniden yapılanmayı kapsar. Epitelyal aktivitenin en erken habercisi, hücre migrasyonunun başlamasıdır ve yaralanmadan yaklaşık 18-24 saat sonra olur. İnflamatuvar dönem boyunca yara kenarındaki veya sağlam bölgedeki epitel yara içine doğru proliferer olur ve keratinositlerde de farklılaşma meydana gelir ve reepitelizasyon başlar. Reepitelizasyon üç bölümden oluşur; bazal lamina hücrelerinin hareketi, yara yüzeyinin karşısına geçen hücrelerin mitozu ve yeni oluşmuş hücrelerin matürasyonu(6,8,50-52). Yaralanmadan 24-26 saat sonra, yara bölgesinin etrafındaki bazal tabaka keratinositleri aşırı bir proliferasyon gösterir. Proliferasyon gösteren keratinositlerde bir taraftan da fenotipik bazı değişiklikler meydana gelir. Hücre içi tonoflamanlar kısalır, hücreler arası desmozomlar çözülür, stoplazmik aktin flamanları oluşur ve epidermis ile dermis arasındaki bağ planı bozulur. Bazal tabakayla ve kendi aralarındaki hemidesmozomal ilişkilerini koparan keratinositler ameboid tarzda yara alanına doğru göç etmeye başlar. Proliferer olan hücreler aynı zamanda fibronektin, fibrin ve hyaluronik asitten oluşan geçici bir matriksle sarılırlar. Hareket kapasitelerinin yanında keratinositlerin fibronektin üretme kapasitesi de vardır. Hücre hareketi esnasında geçici bazal lamina, üretilen Tip IV kollajen ve lamilin ile son formuna çevrilir. Epitelyal hücreler yassılaşıp yaprak şeklinde uzanır ve yüzeyden aşağıya doğru bir derinleşme görülebilir. Ölü ve canlı kollajen lifleri arasında yol açılarak bir ayrışma görülür. Böylece kalan kabuk yüzeye doğru yer değiştirir. Hücreler ancak canlı doku üzerinde hareket eder. Bu olay ekstrasellüler matriks(ESM) içinden bir yol açan kollagenaz ve plazminojen aktivatörleri tarafından kolaylaştırılır. Ayrıca hücrelerin kollajen ve diğer substratlara adezyonunu artırır (6,54,73-79).

Hücreler bölünmekle kalmaz, aynı zamanda bazal membran komponentlerini de salgılar. Böylece epidermal bazal membran kademeli olarak tamir edilir. 48 saat içinde tüm

epitel defekti devamlı ince bir epitelial kabukla örtülür. Epitel hücreleri proliferatif cevapta rol oynayan hem bazal hem de suprabazal hücrelerdir. Bazal membran sağlamsa yaranın kapanması hızlıdır. Fakat bazal membran tahrip olmuşsa proliferasyon ve migrasyon fazının sonlarına doğru bazal membranın ana proteinleri olan tip 4 kollajen, heparin sülfat ve laminin senteziyle yeni bir bazal membran oluşur. Bu arada keratinositler normal fenotiplerine geri dönerler ve yeni oluşan hemidesmozomlar aracılığıyla birbirlerine ve bazal membrana sıkıca bağlanırlar. Epitelde migrasyon hızı saatte 7 mikrometre olup insiziyonel yaralarda genellikle reepitelizasyon 24-48 saatte tamamlanır(17,40,44,45,58,72).

2.2.3.2.3 Fibroplazi

Fibroplazi döneminin ana hücreleri fibroblastlardır. Yara bölgesinin altındaki derin dermis ve yağ dokusu septalarından köken alan fibroblastlar; TGF, IGF-1, PDGF, konnektif doku büyüme faktörü (CTGF) gibi çeşitli büyüme faktörleri ile indüklenerek geçici matriks içine ilerlerler ve proliferere olurlar. Aktif fibroblastlar beta interferon sekrete eder. Bu mediatör, otokrin bir inhibitördür. Fibroblastlar her 18-20 saatte bir bölünürler. Plazma, fibroblastlar için mitojen ve gelişme faktörü içerir(Tablo-I).

Tablo-I: Plazma Fibroblast Mitojen ve Gelişme Faktörleri*	
Mitojen Faktörler	Gelişme faktörleri
* PDGF	* Somatomedin
* FGF	* EGF
* Kalsiyum fosfat	* Diğer plazma faktörleri

*Yavuz Kurt, Bombesin ve hiperbarik oksijenin yara iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık tezi 2001'den alınmıştır(6).

Travmadan sonraki ilk 36-72. saatler içinde kan damarlarının adventisyasına yakın mezenşimal hücrelerin farklılaşmasından fibroblastlar oluşur ve yara yerinde yoğunluğu 6.günde maksimum düzeye ulaşır. Bunlar yara tamiraty yapan hücrelerdir ve yaralanmanın 3-4 günlerinde bağ dokusunun ana maddeleri olan kollajen, proteoglikan, retikülin ve elastini üretirler.

Fibroblastlar içinde kollajenden başka proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar da intrastopazmik flamanlar halinde sentezlendikten sonra intersellüler bölgeye salınırlar. Bu maddeler kollajen fibrillerinin agregasyonu esnasında çapını ve büyüklüğünü etkileyerek bağ dokusunun fiziksel özelliklerinin oluşmasında rol oynarlar(18,46). Erken dönemde fibroblastlarda fibronektin reseptör miktarı artarken, kollajen reseptör miktarı azalır. Civar normal deride de kollajen sentezi baskılanır, fibronektin sentezi ise artar. Fibronektin, fibroblastların ekstrasellüler matrikse yapışmalarını sağlar, fibroblast migrasyonunu artırır ve

yara kontraksiyonunun yönlendirir(72).

Fibroblastlar yara bölgesine göç edip, proliferasyon olurken bir yandan da fenotipik bazı değişikliklere uğrayarak kontraktıl bir kapasite kazanırlar ve miyofibroblastlar haline dönüşürler. Myofibroblastlar içerdikleri aktin mikrofilamanları sayesinde yara kontraksiyonunu sağlarlar. Yaralanmadan sonraki üçüncü günde ortaya çıkar ve 10 ile 21'inci günler arası maksimum düzeye ulaşır. Yaranın kontraksiyon derecesi ile bu hücrelerin sayısı arasında direkt bağlantı vardır. Yara yüzeyi miyofibroblastların kontraksiyonu ile küçülür. Kontraksiyon sayesinde yara kenarları her gün yara merkezine doğru centripedal olarak yaklaşık 1-2 mm ilerler. Kollajen fibril matürasyonu yara kontraksiyonuna çok az katkıda bulunur. Normal şartlarda miyofibroblastlar granülasyon dokusunun rezolüsyonunu gerçekleştirdiği apoptotik fazda ortamdan uzaklaştırılırlar. Ancak herhangi bir nedenle bölgede uzun süre kalmaları anormal skar kontraksiyonuna neden olur(72).

2.2.3.2.4 Anjiogenez(Neovaskülarizasyon)

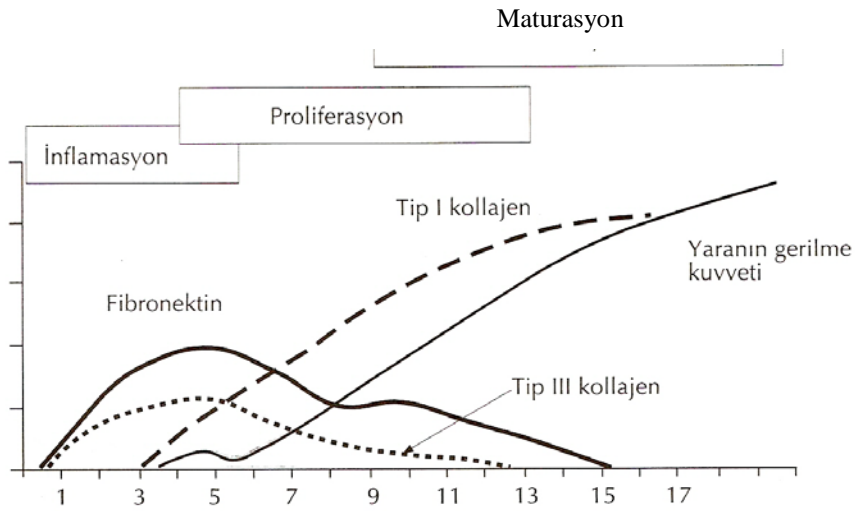
PDGF ve EGF, fibroblastların proliferasyonundan sorumlu başlıca büyüme faktörleridir. Özellikle PDGF anjiogenik bir madde olup vasküler düz kas gelişmesini uyarır. Anjiogenezis de heparinin de önemli etkileri vardır. Heparin; endotel hücre hareketini uyarır, anjiogenetik faktörlere bağlanarak etkilerini artırır, heparin antagonistleri anjiogenezisi bloke eder(6). Fibroblastlar yara içinde göç ederlerken, yeni kapiller teşekkülü ile paralel hareket ederler. Ekstrasellüler bir madde fibroblast hareketini yönlendirir. Gerek serum gerek yara sıvısı, hem fibroblastlar hem de endotel hücreler için kemotaktiktir. Aktive olan makrofajlar tarafından salınan anjiogenetik faktörleri kimyasal uyarısıyla yara bölgesinde endotel hücre tomurcuklarından yeni kapiller oluşur. Kısacası bu onarım alanında bulunan damarların tomurcuklanmasıyla yeni damarların oluşumu olayına anjiogenezis veya neovaskülarizasyon denir. Neovaskülarizasyon, granülasyon dokusu oluşumunun ana bölümüdür ve erken dönemde inflamatuvar olaylarla tetiklenir. Anjiogenezis oluşumunda dört basamak bulunur.

- 1- Yara bölgesindeki mevcut venüllerin anjiogenik uyarıya maruz kalması ile bu damarlardaki endotel hücreler, plazminojen aktivatör ve kollagenaz gibi bir takım enzimler salgılayarak ana damar bazal membranı parçalar ve perivasküler alana çıkararak kapiller oluşumuna olanak verir.
- 2- Bu olaydan 24 saat sonra anjiogenik uyarı doğrultusunda endotel hücre göçü olur
- 3- Endotel hücreleri göç eden hücrelerin önünde proliferasyon olur.
- 4- Bölünüp farklılaşan endotel hücreleri tübüler bir lümen oluşturur ve böylece vasküler ağın dalları meydana gelir. Kapiller tüp içinde endotel hücreleri organizasyonla olgunlaşır ve bu yeni damarlar tam olmayan interendotelial

bileşkeler yaparak transitozu artırırlar. Yeni oluşan bu damarların bir bölümü sonradan geriler ve kaybolur(6,20).

Yüksek basınçtan alçak basınca doğru kan akımı başlarken, yeni gelişen damarlar salgıladıkları kollajen ile kendilerini dış etkilerden korurlar. Hareket halindeki kapiller hücreler aynı zamanda kollajenazda salgılayarak yeni ve eski kollajenler arasında oyuklar oluşturarak kendilerine yol yaparlar. Yeni oluşan damarların bazal membranları belli sürede tamamlandığından başlangıçta küçük bir bazal membrana sahip olup damarlar frajil ve sızdırıcı özelliktedir(55). Damar duvarındaki bu gevşeklik iyileşen yarada akut iltihaptan sonra granülasyon dokusunun sıklıkla ödemli oluşunu açıklar. Granülasyon dokusu belki de vücuttaki en damarlı yapıdır. Bu damarlanma; bağ dokusunun rahat iyileşmesi için temel esastır(20,46,54). Birkaç gün içinde yeni oluşan kapiller, arteriol veya venüller şeklinde farklılaşırlar. Granülasyon dokusunda lenfatik kanallar da bulunur ve kan damarlanmasına benzer şekilde oluşur(11,54).

Yeni kapillerinde oluşumu ile yara bölgesi kırmızı mor renkte gözükür. Kapiller vaskülarizasyon, fibroblastların yara matriksinde kalıcı destek doku oluşturmasına yardımcı olur. Kalıcı yara matriksindeki temel yapı molekülü kollajendir. Yaralanmadan 24 saat sonra fibroblastlardan sentezlenir. Ancak üçüncü ve dördüncü günden önce belirgin bir kollajen birikimi olmaz(19,39,43,57,64,80-87)(Şekil 9).



Şekil 9 Matriks formasyonu. Erken dönemde fibronektin ve Tip III kollajen matriksi oluştururken, maturasyonla beraber Tip I kollajen matriksin ana komponenti haline gelir. Ekrem Kaya, Genel Cerrahi, Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul 2007'den alınmıştır(24).

Diğer matriks komponentleri proteoglikanlar, fibronektin ve elastindir. Proteoglikanlar protein kora bağlı bir veya daha fazla glikozaminoglikandan(GAG) oluşur ve en çok bulunan GAG'a göre isimlendirilir. Proteoglikanlar fibroblastta sentezlenir. En sık rastlanan

proteoglikanlar; kondroitin sülfat, dermetan sülfat, heparin ve heparan sülfat, keratan sülfat ve hyaluranik asittir. Bu moleküller çok hidrate, jele benzer bir zemin maddesi oluştururlar ve kollajen lifleri buna gömülürler. ESM yumuşak doku turgoru ve iskelet dokusu rijidesini sağladığı gibi hücrelerin üzerinde oturacağı, göç edeceği ve çoğalacağı bir madde oluşturarak doğrudan doğruya hücrelerin biçim ve görevini etkiler(6,10,29,60,88-95).

Yara bölgesi normal koşullarda hipoksik olup düşük oksijen basıncı anjiogenezis için bir uyarıcıdır. Yara iyileşmesi ilerledikçe yara bölgesi hipoksisi ortadan kalkar, bu da anjiogenik uyarıyı azaltır ve ortadan kaldırır. Böylece vaskülarizasyonu indükleyen büyüme faktörleri azalır ve proapopitotik faktörlerin artışıyla birlikte kan damarı sayısında azalmış olur(6,72).

2.2.3.3 Rejeneratif Faz (Olgunlaşma Ve Yeniden Yapılanma Fazı)

Maturasyon ve remodelling fazı olarak da adlandırılan bu faz yara iyileşmesinin en uzun ve son fazı olup bu fazda konnektif doku oluşur. Klinik açıdan bakıldığında yara iyileşmesinin en önemli fazıdır. Granülasyon dokusu oluşumuyla birlikte başlayan matriks sentezi zaman içinde önemli değişiklikler gösterir. İnflamatuar ve proliferatif fazlarda olduğu gibi yeniden yapılanma ve proliferasyon fazında da birçok olay iç içe gelişir. Proliferatif fazdan yeniden yapılanmaya geçiş kollajenin dengeye ulaştığı süreç olarak tanımlanır. Yaralanma sonrası ilk 42 gün içinde iyileşme hızlıdır ve lineer bir artış gösterir. Daha sonra iyileşme yavaşlayarak devam eder. Yaralanmış dokunun devamlılığını sağlayan kollajen, yara matriksinin kalıcı elemanı olup yaralanmış dokudaki kollajen birikimi sağlam dokudakine kıyasla daha fazla olmaktadır. Kollajen fibrillerindeki çapraz bağların arttığı ve fibrillerin son halini aldığı olgunlaşma evresinde yoğun hücreli ve vaskülaritesi olan granülasyon dokusu yerini daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusuna bırakır. Kollajen fibrilleri sentezleyen fibroblastların mitotik aktiviteleri sona erer. Fibroblastlar ve makrofajlar kaybolur. Yaralanmadan 2-3 hafta sonra yaranın kollajen içeriği en yüksek değere ulaşır. Yeniden yapılanma döneminde kollajen sentez ve yıkımı bir denge noktasına ulaşarak yara matriksinin matürasyonu süresince devam eder, ancak kollajen miktarı değişmez. γ -interferon, TNF- α ve kollajenin kendisi kollajen sentezini baskılar. Geçici matriksde büyük yer tutan fibronektin ileri dönemlerde hızlı elimine olup yerini Tip III kollajene bırakırken skar dokusunun olgunlaşmasıyla tip III kollajen yerini dereceli olarak Tip I kollajene bırakır. Olgun skar dokusunda Tip I kollajenin Tip III kollajene oranı 85/15 olur. Fibronektin içeren geçici matriks proteazlar tarafından kolayca parçalanabilirken, Tip I kollajen lifleri daha sağlam olup mekanik strese daha dirençlidir(4,54,88,91,95-102).

Skar dokusunun oluşumu sadece kollajen sentezine bağlı olmayıp aynı zamanda oluşan kollajenin yeniden yapılanması, düzenlenmesi ve kollajen demetleri arasında bağlantıların

yeniden kurulmasıyla mümkündür. Bu durumun düzenli bir şekilde yürüyebilmesi için kollajen sentezinin yanında kollajen katabolizmasının da gerektiğinde devreye girmesi gerekmektedir. Kollajen molekülleri sıralı bir şekilde yıkılır. Önce kollagenaz bir polipeptid zincirinin spesifik bölgesinden tek bir proteolitik ayrışma yapar. Sonra bir seri proteaz reaksiyon ürünleri ile etkileşerek onları fagosite edilecek küçük parçalara böler. Majör olarak makrofaj ve fibroblastlarca üretilen kollagenaz, nötrofil ve epitelyal hücrelerince de üretilmektedir. Yara iyileşme süreci ilerledikçe kapillerin yoğunluğu, inflamatuvar hücrelerin sayısı ve fibroblast sayısı giderek azalırken kollajen matriks giderek daha kalın ve organize bir hale gelir. Bu durum skar gelişiminin temelini oluşturur. Pembe, mor renkli yaranın rengi soluklaşır ve doku gerginliği artar(93,95,99,103-108).

Yara iyileşmesi sürecinde görülen bütün olayların en önemli sonucu, yara gerilim kuvvetinin normal doku düzeyine ulaşmasıdır. Kural olarak gerilme kuvveti ile kollajen fibrillerinin kalınlığı arasında doğru orantı vardır. Kollajen fibrillerin yerini daha fazla moleküler arası bağlar içeren organize fibrillerin almasıyla gerilme kuvveti yavaş yavaş artar. Skar dokusu gerilme kuvveti yaralanmadan 1 hafta sonra yaralanmamış cildin %3'üne, 3 hafta sonra %20'sine, 3 ay sonra da %80'ine ulaşır ve daha fazla artmaz. Yaranın gerilme kuvveti; yara ayrışmaya kadar yara kenarlarında santimetre kare alana kilogram olarak uygulanan yükleme kuvveti ile ölçülür ve skar dokusunun birim bölgesindeki ağırlık olarak ifade edilir(Kg/cm²). Yara kenarlarının ayrılma direnci; vücudun değişik bölgelerinde farklılıklar gösterir. Örneğin ödemli bir dokuya ait gerilim kuvveti, normal doku değerinin ancak yarısı kadardır(28,109-111). Gerilim kuvveti ve doku direncinin oluşmasında kollajen molekülü içinde veya kollajen molekülü arasında artmış olan kovalent bağlara bağlıdır. Kollajen molekülleri arasında lizin oksidaz enziminin gerçekleşen kovalent bağlar yaranın gerilim kuvvetinde artış sağlamaktadır. Yara iyileşmesinde meydana gelen yeni kollajen yara çevresinde yer alan diğer kollajen moleküllerine bağlanmaktadır(6,9,19,39,45,56,66,72,111).

Yara gücündeki gelişme kollajenin yeniden yapılanmasına ve kollajen fibrilleri arasındaki intra ve intermoleküler çapraz bağlanmaya bağlı olarak yavaş olur. Granülasyon dokusunun olgun skar dokusuna dönüşümü sırasında devaskularizasyon, ödem sıvısının emilimi, kollajenin yeniden yapılanması ve kollajen moleküllerinin kollajen fibrilleri şeklinde stabilizasyonu gibi değişiklikler meydana gelir. Kollajenin yeniden şekillenmesinde bir problem olursa kontraktür, adhezyon, obstrüksiyon gibi istenmeyen durumlar gerçekleşebilir.

Yaraların iyileşme süreci içerisinde yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik olan yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur. Yaralanma sonucu oluşan doku hasarının durumuna bağlı olarak iyileşme mekanizmasında değişiklikler olmaksızın bu üç olayın karakterlerinden birisi ön plana geçer.

Parmak amputasyonunda; kontraksiyonun, yüzeysel doku kaybında; epitelizasyonun, primer sütür ile kapatılan cerrahi yaralarda; bağ dokusu birikiminin daha fazla olması buna örnek olarak gösterilebilir(39,42,111-114).

Yeniden şekillenmeyle doku eski normal yapısına tam olarak ulaşamaz. Örneğin deri normal gücünün en fazla %80'ine ulaşabilirken, enerji absorpsiyon kapasitesi vb. özellikleri normale dönemez. Oluşan nedbe dokusu işe yaramasına karşın zayıf ve gevşek yapıdadır.

Yara iyileşmesinde önemli faktörlerden biri olan yara kontraksiyonu, yara kenarlarının yaranın kendisi tarafından oluşturulan kuvvetlerce merkeze doğru yönlenmesini sağlayan mekanizma olarak tanımlanır. Kasılma kontraktürden ayırt edilmelidir. Birincisi organizmayı çevreye karşı koruma amacıyla normal yara iyileşmesi süreci olarak yarayı kapatırken, ikincisi iyileşmiş yara yerinde fonksiyonel ve/veya kozmetik deformite oluşturan istenmeyen, hareketsiz sertlik oluşturacak bir süreçtir. Yara kontraksiyonu genelde epitelizasyonu tamamlanmamış defektlerde gelişirken skar kontraktürü epitelle kapanmış yaralarda oluşur. Yaranın oluşmasından 5-7 gün sonra başlayan bu kontraksiyon hareketi, yaranın genişlik ve şekline bağlı olmaksızın sabit bir hızla 39. güne kadar devam eder. Yara kontraksiyonu, bir protein olan aktinden zengin miyofibroblastlar yardımıyla sağlanmaktadır. Yara kontraksiyonunda gecikme olması miyofibroblastların eksikliği nedeniyle olmayıp hücreler arasında ve kollajen lifleri arasındaki ilişkinin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Kontraksiyon açık yaraların kapanmasında yaklaşık %80 oranında etkilidir. Açık yaralarda, yara kenarlarının elastik gerilim kuvveti yaranın kontraksiyon kuvvetini aşarsa kontraksiyon hareketi durmakta ve açık alanda kollajen birikimi devam etmektedir. Bu durum ise, iyileşme bölgesinde daha çok deformite ve fonksiyon bozukluğuna yol açar(9,18,30,46,70,117-120).

2.2.3.4 Ekstrasellüler Matriks Proteinleri, Metalloproteinazlar Ve İnhibitörleri

Ekstrasellüler matriks (ESM) proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlardan oluşan bir jel içine gömülü adeziv glikoproteinler ve fibröz proteinleri içerir. Doku hacminin büyük kısmını oluşturan ESM, turgor ve iskelet dokusu rijiditesini sağlama görevi dışında hücrelerin üzerinde oturacağı, göç edeceği ve çoğalacağı bir madde oluşturarak doğrudan doğruya hücrelerin biçim ve görevini etkiler(18,23-26,78,94). ESM'nin bazı alt birimleri aşağıda incelenmiştir.

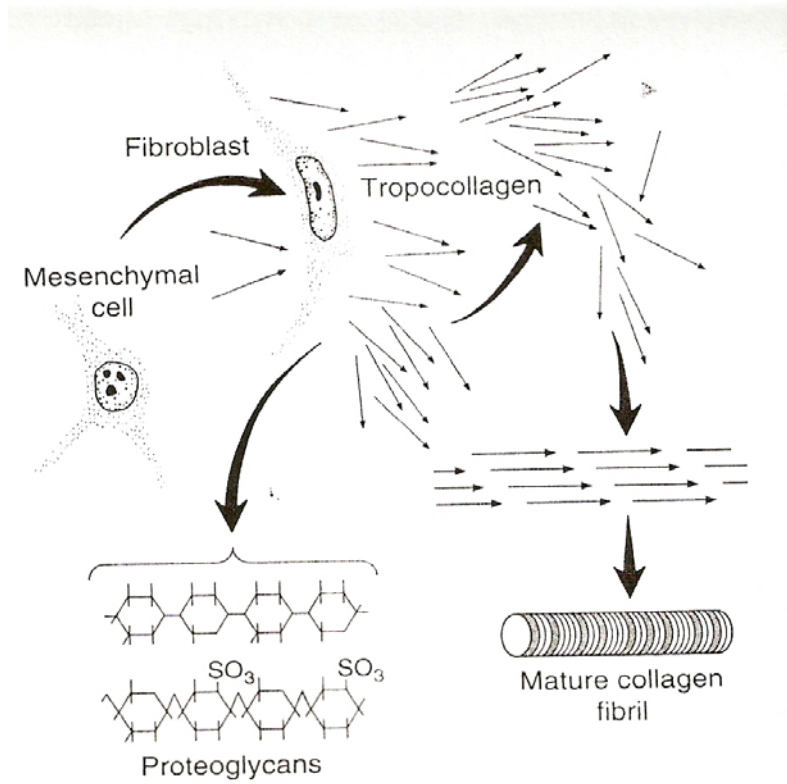
2.2.3.4.1 Kollajen

Fibröz bir protein olan kollajen, cilt, tendon, kan damarları, kemik gibi canlı dokuların başlıca yapı proteinleridir. Vücutta en fazla miktarda bulunan protein olan kollajen total vücut proteininin %30'unu oluşturur. Ayrıca karaciğer, dalak, böbrek gibi parankim içeren organların fibröz yapısında bulunur. Turnover düzeyi günde %5'in üzerinde bildirilmiştir. Temel olarak kollajen proalfa zincir adı verilen ve her biri 1400 aminoasitten oluşan

polipeptid zincirinden oluşur. Polipeptid zinciri sol el heliks yapısına kıvrılır. Her zincirin santral parçası 1000 aminasittir ve tekrarlayan tripeptidlerden oluşmuştur. Tripeptid zinciri kendi etraflarında sağ el heliks şeklinde sarılır. Tripeptid zincirindeki aminoasit dizisinde en belirgin özellik her bir üçüncü rezidü aminoasitin glisin olmasıdır. Bu nedenle aminoasit dizisi (Gly-X-Y) olup X ve Y genellikle prolin ve hidroksiprolindir. Yapısındaki aminoasitlerin yaklaşık %35'i glisin, %21'i prolin ve hidroksiprolin, %11'i alanindir ve triptofan içermez. Kollajenin yapısındaki prolin ve hidroksiprolin, polipeptid omurganın rotasyonunu sınırlar ve böylelikle üçlü sarmalın stabilitesini arttırmaları. Kollajen üçlü sarmalı, lizil ve hidroksilizil kalıntıları arasında birden çok zincirler arası çapraz bağlantılar tarafından da stabilize edilir. Ayrıca kollajen kanın pıhtılaşmasında da etkilidir. Kan pıhtısı ile etkileşerek yara deliğini kapatır, kan pıhtısı zamanla büzülmesi halinde kollajen lifleri ağı zedelenme yeri üzerinde yeni bir hücre tabakası gelişinceye kadar yarayı örter(2,23-26,42). Hidroksiprolin ve hidroksilizin kollajenle doğrudan birleşmezler. Bunların ön maddeleri olan prolin ve lizin, protokollajenin peptid zincirlerine bağlanarak hidroksil hale dönerler. Burada protokollajen prolin hidroksilaz ve protokollajen lizil hidroksilaz enzimleri katalizör olarak rol oynarlar. Bu reaksiyonda: α -ketoglutarat, oksijen, demir ve askorbik asit kofaktör olarak kullanılır. Hidroksiprolin kollajen aminoasidinin %11'ini oluşturur. Hidroksilasyonu tamamlanan bu α zincirle üçlü heliks yapısını meydana getirerek tropokollajen moleküllerini yaparlar. Bu moleküller transferaz enzimleri aracılığıyla hücre dışına, çıkartıldıktan sonra özel tarzda bir araya gelerek kollajen fibrillerini oluştururlar. Kollajendeki aldehit grupları arasında lizil oksidaz enzimi ile sağlanan bağlantılarda eklendiğinde sağlam kollajen fibrilleri oluşur(4,18,46,89,94,121). Kollajen fibrilleri arasındaki moleküller içi arası bağlar, yaranın gerilim kuvvetine ve sağlamlığına etki eder(Şekil 10).

α zincirleri prolin hidroksilaz ve lizil hidroksilaz enzimleri ile kollajen sentezinin ribozomal fazında, hidroksiprolin ve hidroksilizine dönüştürülür. Hidroksiprolin ve hidroksilizin hemen hemen kollajene özgüdür. Kollajenin biyokimyasal araştırmalarında yararlı parametrelerdendir(6,18,46,89-93).

Askorbik asit, hem prolin ve lizil hidroksilazlar için zorunlu kofaktördür hem de kollajen biosentezini uyarır ve prokollajen mRNA'ların düzeyini artırır. Aynı şekilde TGF- β , insülin-like growth faktör ve interlökin-1 kollajen sentezini artırır. TNF- α , interferon- δ ve steroidler kollajen gen transkripsiyonunu inhibe eder(6,18,63-67,75,83,115,121).



Şekil 10 Kollajen sentezi. Temel Patoloji(Basic Patology) fifty edition. Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul 1992'den alınmıştır(26).

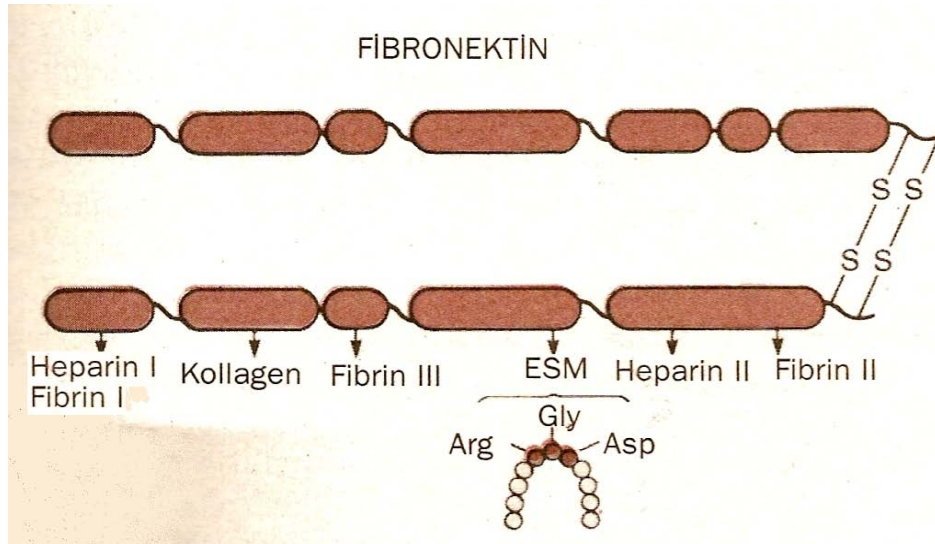
İnsan vücudunda dokudan dokuya farklı tip ve özellikte sentez edildiği bilinen 19 tip kollajen olmasına karşın bizim için önemli olanlar strese dayanabilen fibriler kollajenlerdir (Tip I, II, III). Yarada en yüksek oranda Tip III kollajen bulunur. Skar dokusunda da en çok Tip I, daha az oranda da Tip 4 kollajen bulunur. Endotelyal hücreler ile kollajen Tip V arasında güçlü bir korelasyon olup neovaskülarizasyon döneminde artar. Sağlam deride %80-90 oranında Tip I kollajen, %10-20 oranında Tip III kollajen bulunurken granülasyon dokusunda Tip III kollajen %30 oranındadır. Normal ciltte Tip I/III kollajen oranı 4:1 iken yara iyileşmesinin erken evrelerinde bu oran 2:1'e kadar çıkar. Yaralanmanın 2-4. haftalarında kollajen sentezi artarken 4 haftadan sonra azalır ve fibroblastlardan salınan kollagenazlar aracılığı ile kollajen yıkımı olur. Kollajen miktarını ve kalitesini belirleyen kollajen sentezi ile yıkımı arasındaki dengedir(19,39,43,57,111). Olgun kollajen normal vücut ısısı, pH ve iyonik konsantrasyonlarda proteolitik enzimlerin etkisine son derece dayanıklıdır. Yıkım ancak spesifik bir enzim olan kollagenaz ile mümkündür. Kollajen yıkımı sırasında açığa çıkan hidroksiprolin içeren peptidler ve serbest hidroksiprolin tekrar kullanılmadığı gibi karaciğerde de yıkılmayıp böbrekler yoluyla atılır. Parçalanma zedelenen alanda atıkların uzaklaştırılması ve defektin kapatılmasında gereken bağ dokusu onarımı için model oluşturmada yardımcıdır(6).

2.2.3.4.2 Adeziv Glikoproteinler

Diğer matriks komponentleri olan proteoglikanlar, fibronektin, elastin gibi adeziv proteinler bir taraftan hücre dışı matriks komponentlerini tutan diğer taraftan spesifik integral hücre membran proteinlerini bağlayan farklı iki yapısal protein niteliği taşır.

2.2.3.4.2.1 Fibronektin

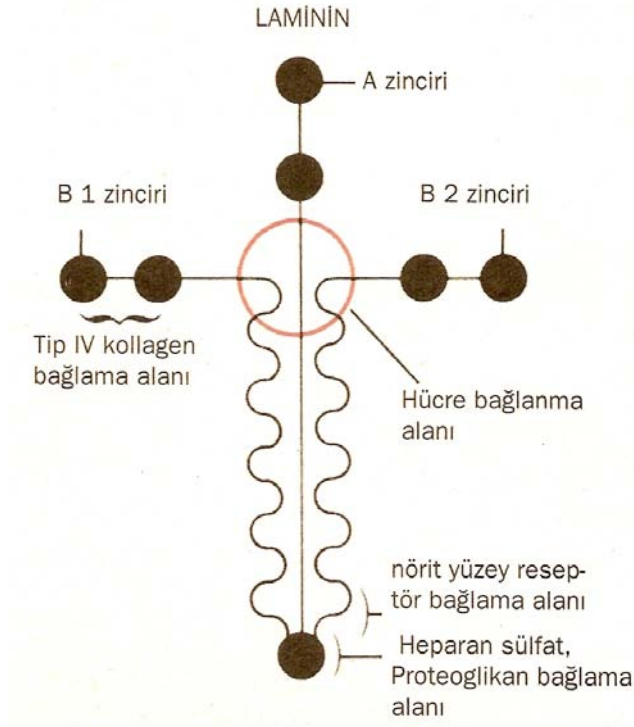
Erken yara ekstrasellüler matriksinin, majör komponenti olan fibronektin yüksek molekül ağırlıklı (400 000 dalton), birbirine disülfid bağları ile bağlı iki zincirden oluşan bir glikoproteindir. Travmatize olan endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından sentezlenir. Çoğu integrin hücre adezyonunda anahtar rol oynadığı düşünülen tripeptid arginin-glisin-aspartik asit spesifik aminoasit zincirlerini fark eden matriks proteinlerine bağlanır(Şekil 11).



Şekil 11 Fibronektin molekülü S-S bağları ile bağlanan dimer içerir. Hücre dışı matriksi ve hücreleri birbirine Arg/Gly/Asp zincirlerinden oluşan bağlar bağlamaktadır. Temel Patoloji(Basic Patology) fifty edition. Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul 1992'den alınmıştır(26).

2.2.3.4.2.2 Lamilin

Bazal membranlarda en fazla bulunan ve yara iyileşmesinde etkili diğer önemli bir glikoproteindir. Birbirlerine disülfid bağları ile bağlı üç zincirden (A,B1 ve B2) oluşan bir yapıdır. Bu büyük (800-1000 kilodalton) çapraz biçimli yapı öncelikle tomurcuklanan kapillerin büyüyen ucunda, göç eden endotelial hücreler tarafından bazal membran proteini olarak sentezlenir. Bir taraftan bazal membranı geçerek hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere ve diğer taraftan kollajen tip IV ve heparin sülfat gibi matriks komponentlerine bağlanır(Şekil 12).



Şekil 12 Çapraz biçimli lamina molekülü bazal membranı aralayarak ESM içerdiğinden hücre bağlanma alanları birleştirir. Temel Patoloji(Basic Patology) fifty edition. Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul 1992'den alınmıştır(26).

Yara iyileşmesinin erken evrelerinde revaskularizasyon ve reepitelizasyon aşamalarında bazal membranlarda yoğun olarak bulunur. Endotel hücre kültürlerinde lamilin, angiogeneziste çok kritik olan endotel hücrelerin dizilmesi ve sonuçta kapiller tüp oluşumunu ayarlar. Lamilin aynı zamanda hücrelerin bağ dokusu maddelerine bağlanmasını yönlendirdiğine inanılır(19,26,39,43,57).

2.2.3.4.2.3 Proteoglikan

Proteoglikanlar protein kora kovalent bağla bağlı bir veya daha fazla glikozaminoglikandan(GAG) oluşur ve en çok bulunan GAG'a göre isimlendirilir. Proteoglikanlar fibroblastta sentezlenir ve 200 000 kilodalton molekül ağırlığındadır. Bağ dokusu yapı ve permeabilitesini düzenlemede farklı rol oynarlar. Proteoglikanlar aynı zamanda hücre büyüme ve farklılaşmasını düzenleyen integral membran proteinleridir. Örneğin sindekan, temel fibroblast büyüme faktörü gibi bazı büyüme faktörlerinin ve kollajen, fibronektin, trombospondin bağlayan bir internal membran glikoproteinidir. Hücre iskeletindeki aktin ile ilişkilidir ve epitel tabakaları yapısını korumaktadır. En sık rastlanan proteoglikanlar; kondroitin sülfat, dermetan sülfat, heparin ve heparan sülfat, keratan sülfat ve hyaluranik asittir(19,26,39,43,57).

2.2.3.4.2.4 Retikülin ve Elastin

Retikülin; yaraların ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerinde yara iyileşmesinin erken safhalarında ESM' de çok dallı liflerden oluşan retikülinin varlığı gösterilmiştir.

Retikülin biyokimyasal olarak kollajenden farklıdır. Hidroksiprolin içermez ve dağılımı olgun kollajeninkine değil fibronektine benzer. Retikülin liflerinin orijinler ve yara iyileşmesindeki rolleri tam olarak bilinmemektedir(19,26,39,43,57).

Elastin; dokularda uzayabilme ve kısalabilme özelliklerinden sorumlu doku proteindir. Kollajen kadar yaygın olmamakla beraber özellikle sözü geçen fiziksel özelliklere sahip dokularda, örneğin akciğer, büyük kan damarları ve bazı elastik ligamanlarda mevcuttur. Elastin, 70 000 dalton molekül ağırlığında çözünür bir monomer olan tropoelastin olarak sentezlenmektedir. Kollajenden farklı olarak tropoelastin peptid uzantılarına sahip bir öncül formda sentezlenmez. Elastin, fizyolojik işlevlerini yerine getirirken proteinin uzaması ve ardından kısalmasını sağlayan dağınık helezon şekilleri gösterir(19,26,39,43,57).

2.2.3.5 Metalloproteinazlar

Ekstrasellüler matriksin proteolitik yıkımı kutanöz yara iyileşmesi süresince onarım ve yeniden yapılanma açısından son derece önemlidir. Matriks metalloproteinaz (MMP) enzimlerini oluşturan elemanlar yara iyileşmesi esnasında teorik olarak çeşitli görevler yüklenirler. Bunlar; 1) devital dokuların ortadan kaldırılması. 2) keratinosit migrasyonu süresince epidermal-mezenkimal ilişkinin sağlanması 3) anjiogenezis 4) yeni oluşmuş konnektif dokunun yeniden düzenlenmesi 5) büyüme faktörlerinin aktivasyonunun düzenlenmesi şeklindedir(10,69,74-76,122).

Metalloproteinazlar (MMP) tüm ekstrasellüler matriks komponentleri yıkabilen çinkoya bağımlı endopeptidazlardır. Ekstrasellüler matriksin MMP ile kontrollü yıkımı hücrelerin ayrılması ve migrasyonu açısından son derece önemlidir(10,69,74-76,122).

Deride çeşitli hücre tipleri MMP sentezleyebilmektedir. Bu hücreler; keratinosit, fibroblast, makrofaj, endotelial hücreler, mast hücreleri eosinofil ve nötrofillerdir. Kültüre hücrelerde bazal şartlarda MMP seviyesi düşüktür ancak, çeşitli sitokin ya da büyüme faktörleri ile uyarıldığında artmaktadır. İnterlökin-1, interlökin-6, tümör nekroz faktör- α epidermal growth faktör, platellet derived growth faktör, fibroblast growth faktör, transforming growth faktör- β seviyelerinin yüksekliği MMP seviyesini arttırmaktadır(10,69,74-76,122).

MMP ailesi birbirleriyle ilişkili toplam 15 adet üye içerir. Bunlar kollagenaz, jelatinaz, stromelisin ve membran tipi MMP şeklinde, primer yapılarına ve spesifik oldukları substratlara göre alt gruplara da bölünebilirler. Kollagenaz, epitel hücreleri, derinin dermal tabakası, sinovyal sıvı, kolonun mukoza hücreleri ve polimorf nüveli lökositler gibi çeşitli dokularda gösterilmiştir. İyileşmekte olan cilt yaralarında kollagenaz skar üzerini örtmekte olan epitel hücrelerinden izole edilmiştir(6,10,69,111,123). Kollagenazların 3 sub grubu mevcuttur; kollagenaz-1 ya da fibroblast kollagenaz (MMP-1), kollagenaz-2 ya da nötrofil

kollagenaz (MMP-8) ve son zamanlarda varlığından söz edilen kollagenaz-3 (MMP-13). Bu üç kollagenaz, tip-I, II, III ve V kollajenin üçlü heliks yapısını yıkar. MMP-8 özellikle tip-1 kollajen yıkımında önemli rol oynar. MMP-13 tip-II kollajen yıkımında tip-I ve tip-III'e göre daha fazla etkilidir ve MMP-I ve MMP-8'e göre 50 kat daha güçlü jelatinolitik etkinlik gösterir. Bunlarla birlikte MMP-13 aynı zamanda tip-IV, IX, X ve XIV kollajen, tenaksin C ve fibronektin yıkımında da rol oynar(10,69,74-76,111,122).

Stromelisin-1 (MMP-3) ve stromelisin-2 (MMP-10), fibronektin, tip-IV, V, IX, X kollajen, elastin, laminin, jelatin ve proteoglikan kor proteinlerin yıkımını içeren oldukça çok sayıda substratın yıkımında etkilidir(10,69,74-76,111,122). MMP jelatinazın, 72 kDa jelatinaz (jelatinaz-A, MMP-2) ve MMP-9 kollagenazlarla etkileşen ve sonuçta kalan fibriler kollajen üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. MMP-2 ve MMP-9 özellikle ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır(10,69,74-76).

Matrilisin (MMP-7) MMP ailesinin en küçük üyesidir. Elastin, fibronektin, vitronektin ve heparan sülfatı parçalar(10,69,74-76). Son dönemlerde MMP ailesine katılan iki yeni üye mevcuttur. Bunlar MMP-18 ve MMP-19'dur. Ancak bunların ekstrasellüler matriks üzerindeki etkileri tam olarak belirlenmemiştir (77,78).

Ekstrasellüler matriksin yıkımı yara iyileşmesinin son derece önemli bir bölümünü oluşturur. Bu süreç, yara debrütmanını, kapiller tomurcukların gelişimini, matriksin yeniden oluşumunu ve uzun dönemde dokunun yeniden yapılanmasını içerir. Bazı kronik yaraların masif doku kaybıyla birlikte olması nedeniyle, ekstrasellüler matriksin yıkımındaki dengenin bozulmasının, kronik yaraların gelişiminden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu dengesizlik, kendini birkaç şekilde gösterebilir. Bunlar; ekstrasellüler elementlerin sentezinin yetersizliği, aktif matriks yıkım enzimlerinin seviyesinin çok yüksek olması şeklinde sıralanabilir(69,83).

Kronik yaralarda matriks yıkım enzimlerinin yüksek, buna karşılık bu enzimlerin inhibitörlerinin azalmış olduğu gösterilmiştir. Fibronektin ve vitronektin yıkım enzimlerinin seviyesinin yüksek olması kronik yaralarda proteolitik aktivitenin yükseldiğini gösterir(10,69,78,83). Yapılan çalışmalar nötrofillerden salınan elastaz, fibronektin yıkımından sorumludur. Bununla birlikte kronik yara sıvısında tespit edilen elastaz aynı zamanda peptid büyüme faktörlerinin yıkımına da neden olmaktadır. Kronik yara sıvısında ve dokularda artmış seviyelerde ve aktivitede çok sayıda proteaz mevcuttur. Bunlar matriks metalloproteinazları ve plazminojen aktivatörlerini içerir. En çok çalışılan ve araştırılan jelatinaz, MMP-2 ve MMP-9 kronik yaralarda yüksek bulunmaktadır. Bası yarası ve staz ülserleri akut yaralara göre çok yüksek kollagenaz MMP-1 ve MMP-8 seviyelerine sahiptir(10,69,74-76,111,122).

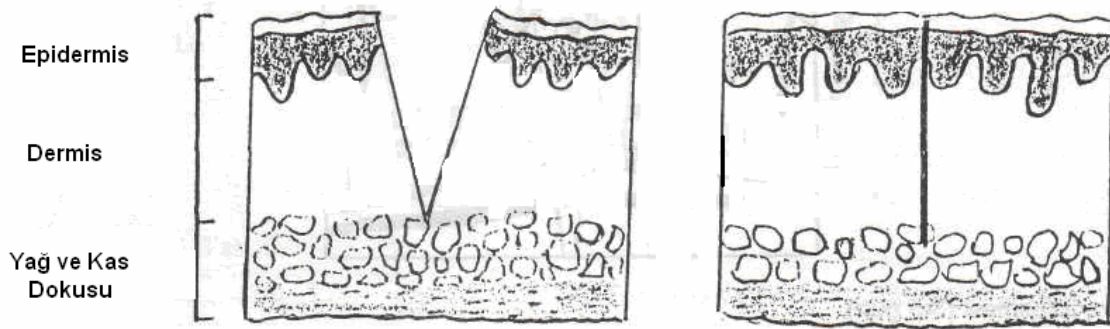
Kronik yaralarda yükselmiş proteinaz seviyelerine karşılık, metalloproteinaz inhibitörlerinin (TIMP) seviyesi azalmıştır. Kronik yaralarda, yara sıvılarından alınan örneklerde TIMP normal cerrahi yaradaki seviyelerine göre son derece düşük olarak tespit edilmiştir. Bu güne kadar yapılmış çalışmalarda, diğer nonspesifik proteinaz inhibitörleri (alfa-2 makroglabulin, serin proteinaz inhibitörü, alfa-1 antitripsin) düşük seviyelerde bulunmuştur(10,69,78,83).

2.2.4 Yara İyileşmesi Tipleri

Yara iyileşmesi sınıflandırmasında 3 grup mevcuttur. Bunlar;

2.2.4.1 Primer İyileşme;

Ameliyat yarasında olduğu gibi bütünlüğü bozulan fakat doku defekti gelişmemiş temiz yaranın dikiş, stapler veya yapışkan bantlarla kapatılması ve komplikasyonsuz iyileşmesidir. Birincil yara iyileşmesi ya da primer kapama da denir(Şekil 13).



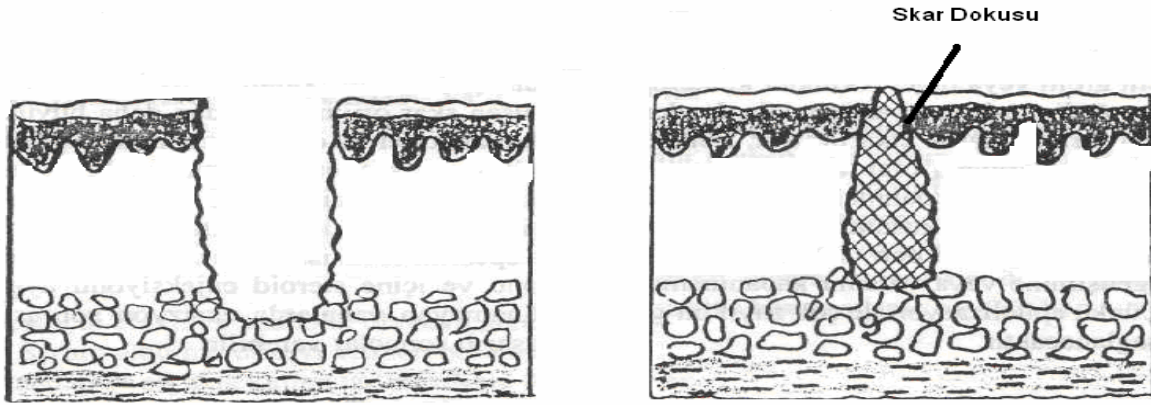
Şekil 13 Primer yara iyileşmesi. Murat Kapan, Yara iyileşmesinde lokal fenitoin(%1) ve üre(%10) uygulamasının etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi Ankara 2006(39).

Yaranın kapatılması ve yara dudaklarının tam olarak karşı karşıya gelmesi ile onarım süreci başlar. Yarada tüm tabaka yaklaştırılır ve arada kalan sınırlı boşluk fibrin ile dolar. Fibrinöz yapışma yaklaşık 24 saat alır ve 48. saatte gelindiğinde epitel hücreleri altta oluşan skar dokusunu örter. Kollajenin ve diğer matriks proteinlerinin sentezi, depolanması, kollajen lifleri arasındaki bağların oluşumu dengeli bir şekilde devam eder. Mikroskopisinde yara ve dikiş materyali hattı boyunca dermis içine doğru epitelyal ilerleme olduğu görülür(2,21,42,59,65,67,123).

2.2.4.2 Gecikmiş Primer İyileşme;

Bu tip yara iyileşmesine, tersiyer iyileşme veya gecikmiş primer iyileşme de denir (Şekil 14). Geniş doku yaralanmalarında, yabancı cisim ve ciddi bakteri kolonizasyonu olan yaralarda, yara enfeksiyonunu engellemek amacıyla vücudun normal savunma mekanizmalarının devreye girmesi için yara birkaç gün açık bırakılır. İnflamatuar hücrelerin

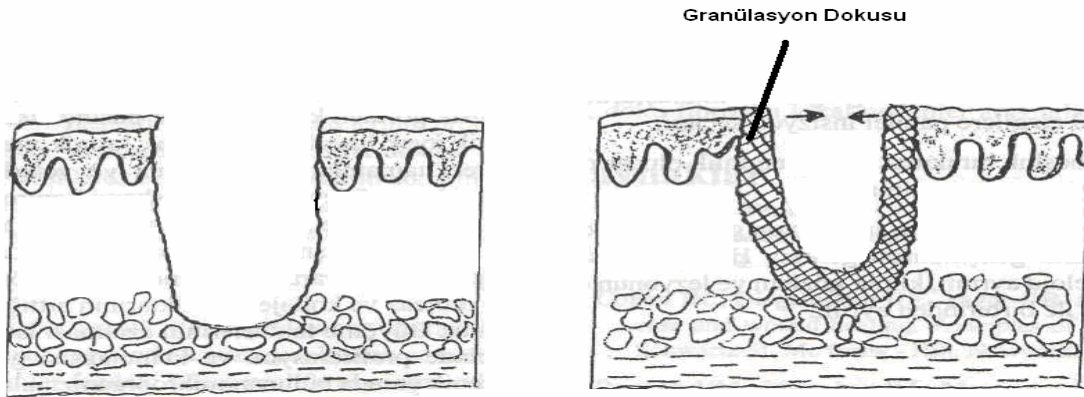
yara bölgesine toplanıp enfeksiyonu sınırlaması amaçlanır. Bu süreçte yara steril serum fizyolojik petlerle kapatılır. Yara pansumanlarında hidrojen peroksit ve iyot içeren antiseptik solüsyonlar kullanılmamalıdır. Çünkü bu solüsyonlar dokunun savunma sistemini mikroorganizmalar kadar bozar. Gecikmiş primer iyileşmede yara iyileşmesinin normal biyolojik safhaları yaşanır. İyileşmenin sonunda primer kapamada ulaşılan gerilme kuvvetine eşit değerler elde edilir(2,21,42,59,65,67,123).



Şekil 14 Gecikmiş primer yara iyileşmesi. Murat Kapan, Yara iyileşmesinde lokal fenitoin(%1) ve üre(%10) uygulamasının etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi Ankara 2006(39).

2.2.4.3 Sekonder Yara İyileşmesi

Açık bırakılan, kirlenmiş, enfekte olmuş veya doku defekti gelişmiş yaraların biyolojik bir olay olan kontraksiyon ve granülasyon dokusu ile iyileşmesi esasına dayanır. Böyle yaralar açık bırakılıp basit ve emici bir pansuman ile örtülür. Başlangıçta bu açık yara, pıhtı ve eksuda ile doldurulur, oluşan bu kabuk, yara yüzeyini örterek derindeki dokuların nemli tutulmasını sağlar(Şekil 15). Primer iyileşmede olan inflamasyon, matriks oluşumu epitelizasyon ve skar dokusu matürasyonu süreçleri görülür(2,6,21,42,59,65,67,123).



Şekil 15 Sekonder yara iyileşmesi. Murat Kapan, Yara iyileşmesinde lokal fenitoin(%1) ve üre(%10) uygulamasının etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi Ankara 2006(39).

2.2.4.4 Kısmi Kat Yara İyileşmesi

Dermisin yüzeysel parçası ve epidermisi içeren kısmi kat yara başlıca epitelizasyonla iyileşir. epitelyal hücrelerle birlikte kıl folikülleri ve sebace glandlar da dermisi kapatmak için çoğalırlar. Minimal kollajen birikimi vardır ve yara kontraksiyonu gözlenmez(6,22,42,59).

2.2.4.5 Primer Ve Sekonder Yara İyileşmesi Arasındaki Farklar

Doku kaybının fazla olduğu yaralarda yara kenarları düzensiz ve birbirinden çok ayrıktır. Bu yüzden onarım, yara kenarlarının karşı karşıya getirildiği yaralardan daha yavaştır. Ayrıca daha çok doku ve hücre artığı olduğu için daha şiddetli bir inflamatuvar cevap oluşturur. Benzer şekilde, geniş ve düzgün olmayan skardan dolayı granülasyon dokusu daha çoktur.

İnsiziyon yaralarında olduğu gibi, geniş doku defekti kanamaya ve kan pıhtısının oluşmasına neden olur. Bunu takiben nötrofil polimorfların ve yara temizliği için makrofajların göçü meydana gelir. Epitel migrasyonu bu yolla 24 saat içinde oluşur. Eğer geniş doku defekti varsa yeni oluşan epitel sadece yara kenarındaki epitelden sağlanmaz. Ayrıca ter bezi kanalından ve saç foliküllerinin kılıf köklerinden de gelir.

Sonuç olarak:

a-) Kaçınılmaz olarak büyük doku defektleri başlangıçta uzaklaştırılması gereken daha fazla fibrin, nekrotik doku ve eksuda içerir. Sonuçta iltihabi reaksiyon daha yoğundur.

b-) Daha fazla granülasyon dokusu oluşur

c-) Büyük yüzey yaralarında görülen yara büzüşmesi (kontraksiyon) belki de primer iyileşmeyi sekonder iyileşmeden açıkça farklılaştıran en önemli özelliktir. Haftalar sonra yara yeri %90 veya daha çok küçülebilir. Yara kontraksiyonu kollajen liflerinin ksalmasına bağlı değil, modifiye fibroblastların kontraksiyonuna bağlıdır.

d-)Elastik lifler ya yoktur ya da nadiren kollajen liflerine paralel uzanır. Dermal papillalar ve kılcal damarların gelişimi ya yoktur ya da zayıftır. Deri eklerinin yeniden oluşumuna eğilim vardır. Sekonder yara iyileşmesinde kollajen metabolizması rol oynamadığından, iyileşmenin takibinde kollajen ölçümleri yardımcı olmaz(2,21,42,59,65,67).

2.2.5 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesinde hücre çoğalması ve yeni doku oluşumu en malign tümörlerindekiinden daha fazladır. Postoperatif komplikasyonların yaklaşık yarısı yara komplikasyonu olup morbidite ve mortaliteyi etkiler. Yara iyileşmesini olumlu ve olumsuz yönde etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar lokal ve sistemik faktörler olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.2.5.1 Büyüme Hormonları

Çok az miktarlarda bile hücrel aktivitelere etkileyebilen proteindir. Hücre bölünme ve çoğalmasını uyarabilen ve organizmada önemli işlevleri bulunan çeşitli proteinlerin sentezine yol açabilen polipeptidlerdir. Normalde sessiz olan hücrelerde mitozisi başlatma yetenekleri vardır. Bu maddeler genel olarak, trombositler, makrofajlar, epitel hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından yapıp salgılanmaktadır. Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi hücrenin reseptöre sahip olup olmasına bağlıdır. Reseptöre bağlanma sonucu hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki, çoğunlukla tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörü bulunur. Büyüme faktörlerinin o bölgedeki konsantrasyonu ve reseptöre bağlanan miktarı, elde edilecek sonucu belirler. Matriks de, büyüme faktörlerinin çözünürlüğünü değiştirerek, hücrel aktivitelere düzenleyecek faktör konsantrasyonunun değişmesini sağlayabilir. Ayrıca matriks, büyüme faktörlerinin bağlanıp çözülmesini ayarlayarak, ortamdaki faktörler için rezervuar görevi görür. Yine matriks, herhangi bir hücrenin, herhangi bir büyüme faktörüne vereceği yanıtı belirleyebilir(124-128).

Yara iyileşmesinde rol oynayan bazı büyüme faktörleri ve sitokinler şunlardır:

- Epidermal büyüme faktörü(EGF)
- Fibroblast büyüme faktörü(FGF)
- Trombositlerce salınan büyüme faktörü(PDGF)
- Somotomedinler
- Transforming büyüme faktörü beta (TGF- β)
- Transforming büyüme faktörü (TGF- α)
- İnterlökin-1 (IL-1)
- İnterlökin-2 (IL-2)
- Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α)

2.2.5.2 Beslenme

Yara iyileşmesi için enerji ve anabolik olaylara gereksinim vardır. Beslenme eksikliği içerisinde bulunan hastalarda yara iyileşmesi tam olmaz, gecikir ve bu kimselerin enfeksiyona karşı savunma mekanizmaları yeterli olmadığından yara yeri enfeksiyonu gelişmesi riski yüksektir(42,131).

2.2.5.3 Yaş, Cins ve Irk

Çocuklarda yara iyileşmesi erişkinlere göre daha hızlıdır. İleri yaşlarda yara iyileşmesi yavaş olup daha az skar dokusu oluşur. Yaşlılarda yara iyileşmesinin inflamasyon aşamasında

bazı yavaşlamalar olur. Özellikle yaraya makrofaj ve lenfosit göçünde gecikme olur. Bu gecikmeden dolayı yaradaki enfeksiyona karşı direnç ve doku yıkım artıklarının temizlenmesinde azalma gözlenebilir. Epitel hücrelerinin ve fibroblastların proliferasyonu yavaşlar(39,42).

Cinsiyetler arasında belirgin bir fark yoktur. Siyah ırkta diğer ırklara göre keloid oluşumu daha yüksektir.

2.2.5.4 Enfeksiyon

Enfeksiyon, yara iyileşme süresini uzatan nedenlerden biridir. Yara iyileşmesinin gecikmesi, cerrahi hastada morbidite ve mortalitenin majör kaynağıdır. Bakteriyel enfeksiyon, alternatif kompleman aktivasyonu ile inflamasyon devresinde uzama ve şiddetinde artışa neden olur. Ancak inflamasyonun aşırı artması durumunda, yara iyileşmesi gecikir. Bakterilerin salgıladıkları toksinler ve bazı metabolitler, epitel migrasyonunu inhibe etmektedir(42,53).

2.2.5.5 Diğerleri

İyileşmeyi etkileyen diğer faktörler şunlardır:

- a- Zedelenmenin özelliği ve lokalizasyonu, doku tipi
- b- Yara bölgesi üzerine sürekli travma iyileşmeyi olumsuz etkiler.
- c- Isı ve nem
- d- Kan akımı, anemi, hematoma, oksijen ve sigara dokunun oksijen basıncını düşürerek olumsuz etkiler.
- e- Denervasyon, iyonize radyasyon, mekanik stresler
- f- Cerrahi teknik; cerrahi işlemler sırasında doku zedelenmesi en aza indirilmeli, hemostaz iyi yapılmalı, ölü boşluk bırakılmamasına dikiş gerginliğine dikkat edilmelidir.
- g-İlaçlar(Glikokortikosteroidler, sitotoksik ilaçlar, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar ajanlar, enzimatik debritleme, Histamin vs.)
- h- Diyabet, sarılık, obezite, ödem, genetik ve immunoloji ve diğer kronik hastalıklar(39,42,49,54,82,121,124,130,136-143).

2.3 Liquidambar Orientalis Miller

Sığla yağı; Storax, Levant storax, Styrax liquidus ve Sweet gum isimleriyle bilinen, Anadolu'da yetişen Liquidambar orientalis Mill. Ağacının gövdesinden elde edilen bir balsamdır. Bu tür 20 mt yüksekliğe kadar erişebilen kışın yapraklarını döken, kalın dallı, Anadolu, Güney Amerika, Kanada ve Çin'de yetişen çınar görünüşünde nadir bir ağaç türüdür. Türkiye'de ise güneybatıda Muğla ilinin muhafazalı ve sulak bölgelerinde (Köyceğiz, Marmaris, Fethiye, Milas, Dalyan) küçük topluluklar meydana getirir(Şekil 16).



Şekil 16 Muğla ilindeki orman işletmesine ait sığla ağaçları

Sığla ağaçları gövdelerinde normal olarak bulunmayan yaralanma sonucu oluşan travmatik (yaralanma) balsam kanalları oluşur. Bu balsamdan dolayı bu ağaca Latince Liquidus (sıvı) ve Arapça, Amber (kokulu) sözcüklerinden yararlanılarak Liquidambar adı verilmiştir. Bu ağaç; Amber ağacı, günlük ağacı, buhur ağacı, Mia pelesengi, Miai sail, Revvani suğla olarak da adlandırılmaktadır. Sığla ağacından sığla yağının çıkarılması ağaçta yara açılması ile olur. Bu amaçla, önce ağaçlarda yara açılacak kısımlar üzerindeki kabuk mart ayı sonuna doğru yontularak inceltir. Buna kızartma işlemi denir. Ağaçlar bir ay süre ile bu şekilde bırakılır. Mayıs ayı sonunda, kaşık adı verilen aletle yaraların açılmasına başlanır. Damar denilen bu yaralar, dış kabuk, diri kabuk, kambiyum ve çok az miktarda da diri oduna girecek şekilde açılır. Bir hafta sonra, yaralar tazelenir ve bu işleme "sır" denilir. Bu işlemden iki hafta sonra, damarlar içinde biriken yağ kaşık ile sıyrılarak alınır ve buna da "sır arkası" denilir. Bundan sonra, esas sığla yağının alınması işlemine geçilir. Temmuz ayı ortasından ekim ayı sonuna kadar sürer. Bu süre içerisinde her 15 günde bir yaralar üzerinde biriken yağ, kabuk, kambiyum ve odun tabakları ile birlikte kaşıkla yontularak alınır. Böylece toplanan yağ ile kabuk, kambiyum ve odun tabakaları yongacıklar halinde olup, buna kapçık denilmektedir. Ekim ayı sonunda yaralardan sızan ve sertleşen, oksidasyon nedeniyle koyu renk alan yağ kalıntıları yine kaşıkla kazınarak toplanır. Bu sonuncu işlemede "kara kap" denilmektedir. Kapçık adı verilen ve yağ ile birlikte kabuk, kambiyum ve diri odun ihtiva eden yongalar bakır kaplarda su içerisinde 0,5 ile 1,5 saat süre ile kaynatılır. Sonra kaynatılan yongalar kazandan alınarak keçi kılından yapılmış torbalara konulur. Bu torbalar preslerde sıkıştırılarak sığla yağı çıkartılır ve beton havuzlarda toplanır. Preslenme sonunda torbalar içinde kalan ve yağ ile bulaşmış haldeki artık (küspe) ise kurutulur. Bu artıklara günlük veya

buhur adı verilmektedir. Dış görünüş; grimsi esmer renkli, bal kıvamında, vanilya kokusuna benzeyen hoş kokulu ve acı tadlı bir maddedir. Isıtıldığı zaman tarçın kokusu vermektedir. Zamanla koyu ve açık renkli iki tabakaya ayrılır. Sığla, yağı genellikle koyu bal kıvamında olup, özgül ağırlığı 1,091-1,113 gr/cm'tür. Arıtılmamış(rafine edilmemiş) sığla yağı içerisinde %11-14 oranında su bulunmasına rağmen, arıtılmış ürünlerde ya hiç su bulunmamakta veya çok az miktarda su bulunmaktadır. Suda çözünmez, fakat benzen, eter, aseton ve petrol eteri gibi organik çözücülerde büyük oranda çözünür. Bu ağaçtan elde edilen sığla yağı haricen ve dâhilen kullanılır(32,33,36,37,132).

Sığla yağı çok eski devirlerden beri tanınan bir balsamdır. Milattan önceki çağlarda dini ayinlerde buhur yakılmış ve yara tedavisinde kullanılmıştır. Batık Fenike gemilerinden içi sığla yağı ile dolu amforaların çıkması, Akdeniz ticaretinde sığla yağının önemli bir yer tuttuğunu gösteriyor. Eski Mısırlılar bu balsamı mumyaların hazırlanmasında kullanmışlardır. Sünnet operasyonundan sonra, yaranın çabuk iyileşmesi için sığla yağı ve bal karışımı emdirilmiş bir bezi sünnet yarası üzerine sarmışlardır. Mısır kraliçesi Kleopatra, sığla yağını aşk iksiri ve parfüm olarak kullanmış. Hipokrat döneminden beri sağaltıcı etkileri nedeniyle eski hekimlerin reçetelerinde ilaç olarak da kullanılmış(32,33,36,37,132).

Sığla yağının bileşiminde hoş kokmasını sağlayan serbest ve ester halinde sinnamik asit (%45 civarında), uçucu yağ, styracin, styrol, fenil propil alkol, storesinol ve rezin bulunmaktadır(133).

Normal olarak Sığla ağacının odununda veya kabuğunda balsam kanallarına rastlanılmaz. Fakat ağacın gövdesi herhangi bir aletle veya doğal olarak yaranması sonucunda yara çevresindeki yeni gelişen diri odun kısımlarında çok miktarda balsam kanalları oluşur. Bu kanalların etrafında salgı görevi yapan basit epitelyum hücreleri yer almaktadır. Salgılanan bu balsam ağacın gövdesinde oluşan yaranın iyileşmesinde rol oynamaktadır(32,33,36,37,132).

2.3.1 Sığla Yağının Etkisi Ve Kullanılışı

Halk arasında sığla yağı antiseptik, yara iyi edici, antiparaziter (bilhassa uyuza karşı) ve balgam söktürücü olarak kullanılır. Sığla yağının yatıştırıcı ve analjezik özelliği olduğuna inanıldığından özellikle romatizma ağrılarını azaltmakta kullanılmıştır. Yine mantar gibi deri hastalıklarının da tedavisinde de kullanılmıştır. Antibakteriyel ve skatrizan etkisi varsayılarak yaraların iyileşmesinde pomat olarak kullanılmıştır. Halk arasında kullanılan tedavi

şekillerinden bazıları şöyledir: Dahilen göğsü yumuşatmak, balgamı söktürmek ve nefes darlığını gidermek ve adet söktürücü olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca dişetlerini güçlendirmek amacıyla çiğnenmiş, mide ülseri olmak üzere, mide hastalıklarında şekerle ya da balla karıştırılarak faydalanılmıştır. Kuru üzümle birlikte yenirse, zihni açtığına inanıldığından bu amaçla da kullanılmıştır. Ter kokularını gidermede etkilidir. Sığla ağacının kabukları (cortex thymiamitis) günlük ya da buhur olarak adlandırılır ve tütsü olarak kullanılır. Günümüzde sığla yağı parfüm sanayisinde sabitleyici olarak kullanılır. Parfümde kullanılan güzel kokulu uçucu yağlar, sığla yağı ile sabitlenerek 24 hatta 36 saat uçmamaları sağlanır. Bu nedenle sığla yağı parfüm sanayisinin önemli bir hammaddesidir. Bunun yanı sıra sığla yağı ile yapılan sabunlar güzel kokusu, cildi yumuşatan etkisi ile özellikle hanımların tercih ettikleri bir sabundur. Türkiye'nin bir ihraç ürünüdür(134,135,146).

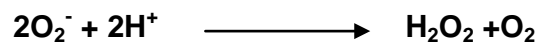
2.4 Biyokimyasal Çalışmada Kullanılan Antioksidanlar

2.4.1 Molondialdehit (MDA)

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olup aldehit yapılı bileşiktir. Membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi intrinsek membran özelliklerini değiştirme yeteneğine sahip olması yanında DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir, amino grupları arasında çapraz bağlanmalara yol açabilir. Bu özellikleri ile MOD mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve kansorejeniktir. Oksidan strese SOD ve CAT enzimleri yetersiz kaldığında serbest oksijen radikallerinin etkilerini hücre ve organel membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatarak göstermektedir. MDA, oksidan stresin spesifik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir(140,144,145,148,149).

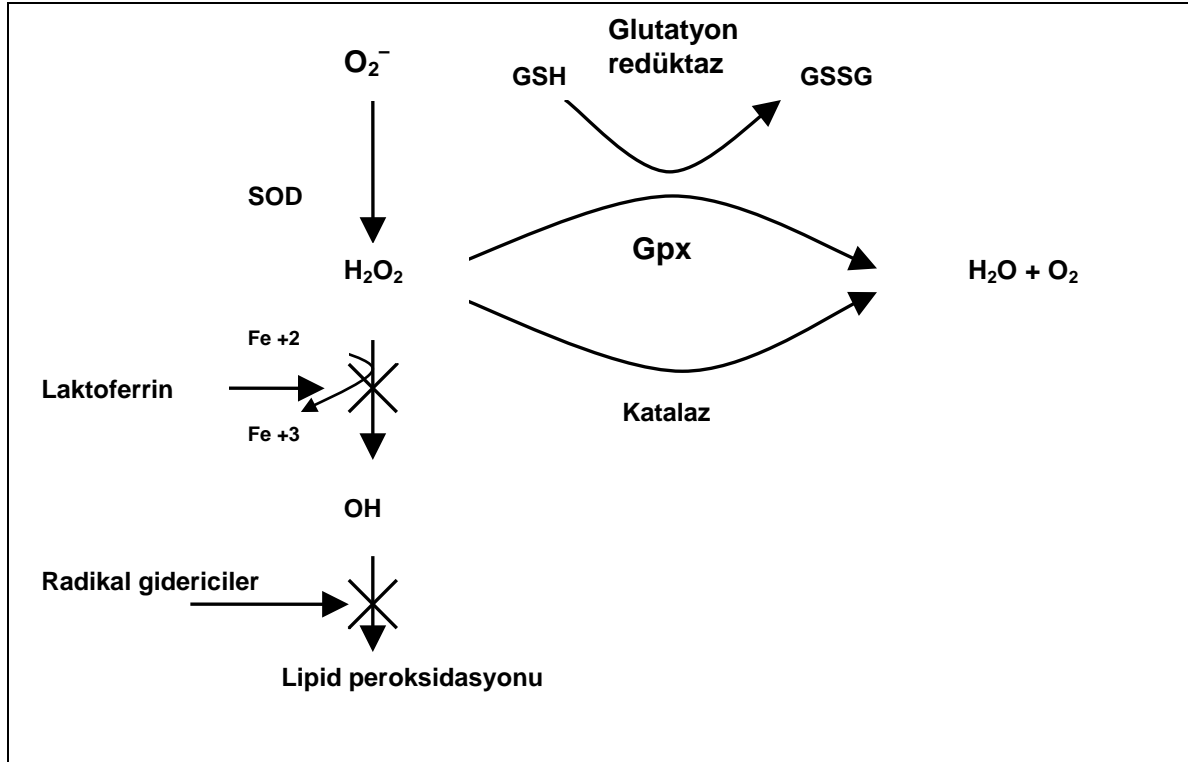
2.4.2 Süperoksitdismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, metaloprotein yapısında bir enzim olup oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. McCord ve Fridovich tarafından bulunan bu enzim süperoksidin hidrojen perokside dönüşümü reaksiyonunu katalize eder.



Süperoksit dismutaz, bu reaksiyonda hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı SOD, CAT ve GSH-Px enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır(Şekil 17). Böylece oluşan H_2O_2 , CAT veya

GSH-Px enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit doku için biyolojik avantaj sağlar(50,119,144).



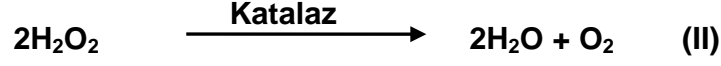
Şekil 17: Anti oksidan savunma mekanizmaları. Hüsamettin Yüzer: Ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipidin böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkileri. Uzmanlık tezi. Kahramanmaraş 2008'den alınmıştır(144).

Süperoksit dismutazın bu reaksiyonu, oksidatif strese karşı ilk savunma olarak da adlandırılır. Çünkü O_2^- , zincirleme reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinliği sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma söz konusu olduğunda SOD aktivitesinde artma gözlenir. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki O_2^- düzeyleri kontrol altında tutulur.

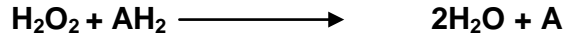
İnsanlarda SOD enzimi; sitozolik Cu/Zn-SOD; mitokondrial Mn-SOD; plazma, lenf ve sinovyal sıvılarda bulunan ekstrasellüler SOD olmak üzere 3 formda bulunur. SOD enziminin canlılardaki dağılımı katalaz ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir(50,119,144).

2.4.3 Katalaz (CAT)

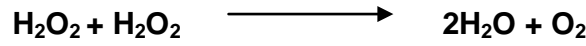
Katalaz 60 kDa ağırlığında, tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren hem enzimdir. 240 kDa molekül ağırlığında her molekülde 4 adet ferriprotoporfirin içerir. CAT, hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler(119,144,149,150).



Katalaz, peroksizomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Düşük hızlarda, hidrojen peroksidin oluştuğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarlarda elektron alıcısı bulunduğu peroksidatif reaksiyon ile;



Hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır(119,144,149,150).

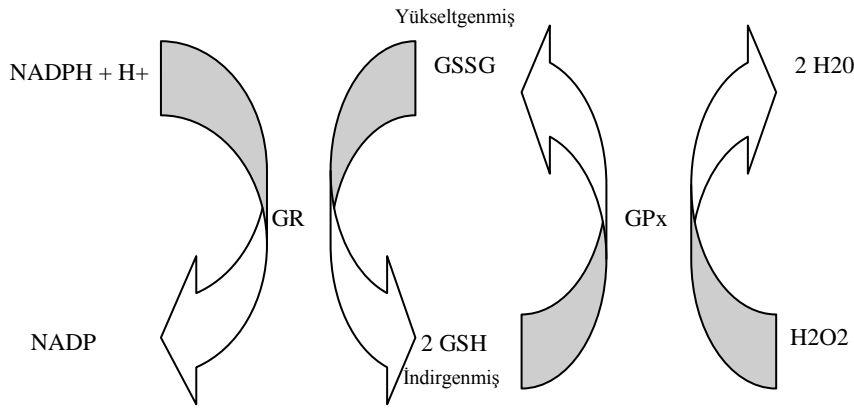


2.4.4 GLUTATYON(GSH)

Glutatyon; glisin, sistein ve glutaminden oluşan doğal bir polipeptittir. Organizmada hemen hemen tüm hücrelerde değişen konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Özellikle hücrel korunmada, transport ve metabolizmada fonksiyon gören intrasellüler bir moleküldür. Organizmada temel olarak; peroksidaz aracılı peroksitlerin katabolize edilmesi, hücrel tiyol ve redoks potansiyelinin düzenlenmesi, bir nörotransmitter veya immünofarmakolojik tiyol görevi üstlenerek endokrin ve immün sistem arasındaki interaksiyonu sağlaması, redoksa duyarlı transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak strese cevabın aktivasyonu gibi görevler üstlenir.

GSH hücre içinde redükte tiyol(GSH) ve okside glutatyon disülfid(okside tiyol-GSSG) formlarında bulunur. GSH ve GSSG hücrenin majör tiyol redoks sistemidir. Hücre içinde GSH'ın %85'i sitozolde, %15'i mitokondride olmak üzere iki ayrı havuzda bulunur.

Glutasyon redoks siklusu, antioksidanlara karşı hücrel koruyucu mekanizmanın en önemli komponentidir. Artmış total GSH seviyeleri ve GSH ile ilişkili enzim aktiviteleri serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı yaralanma için önemli biyokimyasal defans oluşturmaktadır. Glutasyon etkin bir intrasellüler antioksidandır. GSH hidrojen peroksit için bir elektron alıcısıdır ve toksik olan okside thiol (GSSG) haline gelir. GSSG, glutasyon redüktaz yoluyla parçalanır ya da glutasyon-S transferaz yoluyla bağlanarak hücreden atılır(Şekil 18). Reaksiyonda NADPH' da rol oynar. Thiol, GSH ile birleşmiş protein disülfid ya da sisteinle birleşmiş protein disülfid olarak depo edilebilir(72,119,144).



Şekil 18 GSH redoks döngüsü. Hüsamettin Yüzer: Ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipidin böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkileri. Uzmanlık tezi. Kahramanmaraş 2008'den alınmıştır(144).

2.4.5 Myeloperoksidaz (MPO)

Myeloperoksidaz (MPO), memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Enzimin I, II ve III olarak tanımlanmış 3 tipi mevcuttur. Kristal yapısı X ışınlarıyla incelenmiş olup her MPO molekülünün 2 alt birimden oluştuğu tespit edilmiştir. Toplam molekül ağırlığı 140 000 dalton olup, iki uzun ikide kısa polipeptid zinciri vardır. MPO 1940'lı yıllarda verdoperoksidaz olarak anılmakta iken sonradan myeloperoksidaz olarak isimlendirilmiştir. Enzimin total ağırlığının %3-4'ü karbonhidrattır. Birçok enzimde olduğu gibi spesifik inhibitöründe bildirilmiştir. Asidik olarak da bilinen bu inhibitör MPO aktivitelerini bloke etmektedir. MPO, H_2O_2 ile birlikte tiyosiyanat iyonların veya halojen(halid) iyonlardan(iyodit, bromit, klorit) birinin de beraber bulunduğu bir ortamda antibakteriyel etki göstermektedir. En etkili kompozisyon $MPO+H_2O_2+I$ üçlüsüdür. MPO'nun *Escherihi coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus* ve *Actinobacillus actinomyetemcomitains*

üzerine kesin bakterisid etkisi vardır. MPO I, II ve III birbirlerinden bağımsız olarak antibakteriyal mekanizmada rol oynayabilirler. En güçlü etki MPO I ile oluşmaktadır. Bu etkinin farklılığı MPO formlarının hedef hücrelere bağlanabilme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır(140,147). İrinin yeşil renginden sorumludur. Genetik eksiklik nükseden enfeksiyonlara neden olur.



(X⁻ = Cl⁻, Br⁻, SCN⁻ HOX= Hipoklorik asit)

3. MATERYAL METOD

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onayı alındıktan sonra deney hayvanları ve araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Denek olarak sağlıklı, erkek Wistar Albino cinsi, ağırlığı 200- 250 gr olan ratlar kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm sıçanlar preoperatif ve postoperatif sabit sıcaklık ve nem ortamında tutuldu ve hayvanlar standart laboratuvar yemi ve su ile beslendiler. Deneylerde toplam olarak 40 adet erkek Wistar albino sıçan kullanıldı.

3.2 Yara İyileşmesi Ve Deri Defekti Modeli

Deney yapılacak laboratuvara getirilen hayvanlara inramusküler yoldan verilen 50 mg/kg ketamin hydrochlorid (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile genel anestezisi sağlandı. Anestezi yapılan hayvanlar yüzüstü pozisyonunda yatırıldı ve sırt tüyleri cilde hasar vermemeye özen gösterilerek traş edildi. Her bir ratın sırt bölgesi povidon iyot ile temizlendikten sonra bir levhanın rehberliğinde 15 numara bisturi kullanılarak 1,5 cm çapında tam kalınlıkta alanı 176,6mm² olan dairesel defekt oluşturuldu. Çalışmamızda kullanılacak denek hayvanları her grupta 10 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Sham grubu hariç bütün gruptaki hayvanlara deri defekti oluşturulduktan sonra yaraları her gün serum fizyolojik ile silindi ve her pansuman esnasında bu işlem tekrarlandı. Pansuman işlemine yara iyileşinceye kadar devam edildi. Hiç bir gruptaki hayvanlara antibiyotik uygulanmadı(Şekil 19).



A



B

Resim 5 A Ratın sırtında oluşturulacak 1,5 cm çapındaki tam kat defekt alanın bir levha rehberliğinde belirlenmesi **B** 15 numara bisturi ile tam kat defektin oluşturulması

- 1. grup(sham):** Deri defekti oluşturulan hayvanların yaraları pansumanı yapılmadan steril gazlı bez ile kapatıldı.
- 2. grup(kontrol):** Deri defekti oluşturulan hayvanların yaraları serum fizyolojik ile pansuman yapıldıktan sonra steril gazlı bez ile kapatıldı.
- 3. grup(kollagenaz):** Deri defekti oluşturulan hayvanların yaraları serum fizyolojik ile pansuman yapıldıktan sonra kollagenaz içeren pomat emdirilmiş gazlı bez ile kapatıldı.
- 4. grup(sığıla yağı):** Deri defekti oluşturulan hayvanların yaraları serum fizyolojik ile pansuman yapıldıktan sonra sığıla yağı emdirilmiş gazlı bez ile kapatıldı.

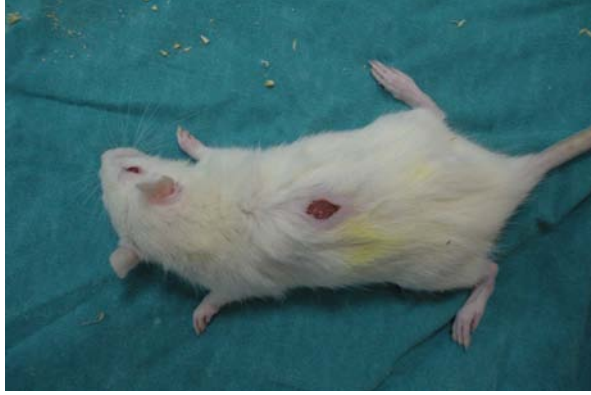
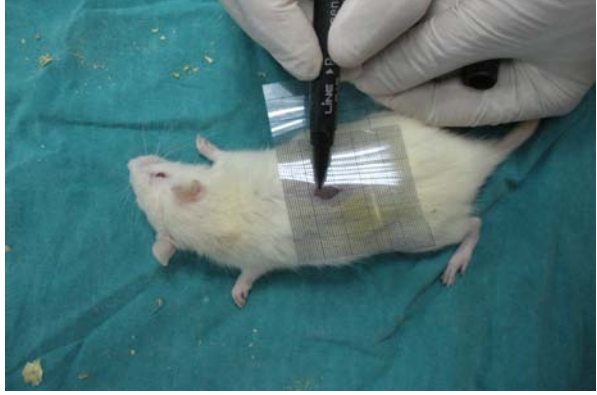
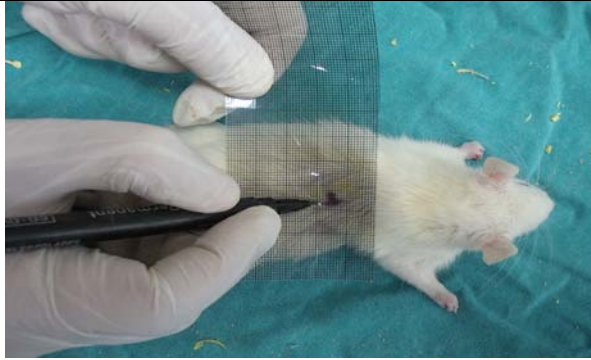

Bütün gruptaki hayvanların pansumanı açmasını önlemek için önce çoban bandajı ile pansumanlar sarıldı ve sonra üzerine bandaletli sargı uygulandı. Hayvanlar tekli kafeslerde takip edildi.

3.3 Yöntem

Pansumanlarda kullanılacak olan kollagenaz içeren pomadın ve sığıla yağının (*L.orientalis*) 10 gramı 40x10 cm ebadındaki gazlı beze emdirildikten sonra yaraların üzerine gazlı bezin 1/100 lük kısmı kullanıldı. Bu şekilde elde edilen gazlı bezin alanı 4 cm² olup (40X10=400cm², 400/10=4cm²) kullanılan madde miktarları yaklaşık 0,1 gramdır (10gr/100=0,1 gr). Defektif dokunun üzeri hazırlanan gazlı bez ile kapatıldı. Gazlı bezler her gün değiştirildi ve pansuman öncesi yara yerleri serum fizyolojik ile silinerek temizlendi. Pansuman işlemine yara iyileşmesi oluncaya kadar devam edildi. Yaraların iyileşme süreçleri 3 günde bir asetat kağıdına yara çevresi kalıcı markırla çizilip, milimetrik kağıt ile çizilen alanın hesaplanması yapıldı. Yara alanlarının hesaplanmasında Netcad 5.0 programı kullanıldı. Bu program madencilik ve harita çiziminde kullanılıp 3 boyutlu yeryüzü çizimleri ve kontur çizimleri yapmak üzere tasarlanmış bir bilgisayar programıdır. Yaralar üzerinden

asetat kağıda geçirilen çizimler tarayıcı ile bilgisayar ortamına aktarıldı ve aktarılan dosya Netcad 5.0 ile değerlendirildi. 15. günde yara yerinden patoloji için punch biyopsi yapıldı. Ayrıca çalışmanın 1. gününde ve iyileşme tamamlandıktan sonra yara yerinden doku örneği alınarak alınan doku örneğinde molondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz(SOD), katalaz (CAT), glutatyon(GSH), myeloperoksidaz (MPO) çalışıldı.

Yara iyileşmesinde Geranemus ve arkadaşlarının makroskopik olarak kabuk olmaksızın yüzeyin pembe görünümü reepitelizasyon esas alındı ve bu görünümün elde edildiği günler yaranın iyileştiği günler olarak kaydedildi(151). Çalışma modelinden elde ettiğimiz veriler bilgisayar ortamına aktarılarak SPSS programından yararlanıldı(Şekil 20-23).

	
Şekil 20 6. günde yaranın görünümü	Şekil 21 6. günde yaranın milimetrik asetat kağıdına çizimi
	
Şekil 22 12.gündeki yaranın milimetrik asetat kağıdına çizimi	Şekil 23 Yaranın iyileştiği gün

Histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ve Biyokimya Anabilim dalında yapıldı.

3.4 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri

Deneklerden MDA, SOD, CAT, GSH ve MPO analizi için alınan doku örnekleri alüminyum folyolara sarılarak azot tankı içine ivedilikle sarkıtıldı. Azot tankının içinde laboratuara ulaştırılan doku örnekleri analiz gününe kadar -20°C'de donduruldu. İşleme

başlamadan hemen önce 4°C'de erimeye bırakıldı. Eriyen doku örnekleri teker teker soğuklukları muhafaza edilerek tartıldı ve cam tüplere konuldu. Dokulara bir birim dokuya üç birim olacak şekilde %1,15 M KCl eklendi. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika süreyle homojenize edildi. Enzim aktivite kaybı olmaması için örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Daha sonra homojenizatlar 14.000 x rpm'de 4°C'de 45 dakika soğuk santrifüj edilerek süpernatantları ependorf tüplere ayrıldı. Bu ayrılan süpernatantlardan MDA, SOD, CAT, GSH ve MPO enzim aktiviteleri ve protein düzeyleri ölçümleri yapıldı.

3.4.1 Doku MDA Analizi

Okawa ve arkadaşlarının tariflediği yöntemle göre doku MDA düzeyleri tayin edildi. Bu yöntemin ilkesi; aerobik şartlarda pH 3.4'de tiyobarbitürik asit(TBA) ile sıcak ortamda örneğin 90-95°C'de inkübasyonu sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Oluşan renk değişikliği 532 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir. MDA'nın kendisi stabil olmadığından, standart olarak test sırasında MDA'ya hidroliz olan 1.1.3.3-tetramethoksiopropan kullanılmıştır. Yöntem uygulama prosedürüne göre; 0,1 ml süpernatant süspansiyonu üzerine 0,2 ml %8,1'lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml %20'lik asetik asit, 1,5 ml %0,8'lik tiyobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak 95°C'de 30 dakika inkübe edilir, soğutulur. Soğuk tüplere 1 ml saf su ve 5 ml butanol/piridin (1:15 oranında) ilave edilir. Daha sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası üsteki organik kısım alınıp 532 nm dalga boyunda absorbans okunur ve değerler standart eğriden değerlendirilir(119,148,149).

3.4.2 Doku SOD Analizi

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin H₂O₂ ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. SOD aktivitesi, hemolizatta Fridovich yöntemiyle saptanmıştır. SOD aktivite tayini için, hemolizat 1:20 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edildi, bu dilüsyonda aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 25 µl enzim içeren hemolizat, 850 µl ksantin ve p-iyodonitrotetrazolium viyoleet(INT) içeren miks substrat ve 125 µl 80 Ü/L ksantin oksidazdan oluştu. Kör de tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Tepkime, 37°C'de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları (A₁) okundu. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A₂) tekrar okundu ve değerler standart eğriden değerlendirildi (119,154).

3.4.3 Doku Katalaz(CAT) Analizi

Katalaz, H_2O_2 'nin yıkımını katalizler. H_2O_2 'nin CAT tarafından yıkım hızı, H_2O_2 'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Katalaz aktivitesi, hemolizatta Beutler yöntemiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 50 μ l 1 M Tris-HCl pH 8,0 tampon, 900 μ l 10 mM H_2O_2 ve 30 μ l saf su ve 20 μ l hemolizattan oluşur. Tepkime, ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 37°C' de 230 nm dalga boyunda 0, 2.5, 5. dakikalardaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir(119,155).

3.4.4 Doku Glutatyon(GSH) Analizi

GSH düzeyi Beutler yöntemiyle saptandı(150). Reaksiyon karışımı 10 ml'lik total volümde 2,0 ml filtrat, 8 ml fosfat tampon ve 1,0 ml DTNB (5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit)'den oluşmaktadır. Kör 1,2 ml presipite edici solüsyon, 0,8 ml saf su, 8 ml fosfat tampon ve 1 ml DTNB'den hazırlanmaktadır. Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda DTNB öncesi ve DTNB sonrası absorbanslar okunarak değerler standart eğriden değerlendirildi(153).

3.4.5 Doku MPO Analizi

MPO enzim aktivitesi tayini enzimatik yöntemle kinetik olarak Shimadzu UV 1601 (Japan) spektrofotometre ile ölçüldü ve O-dianisidin metodu kullanıldı (149). Bir ünite MPO aktivitesi, bir dakikada 1 μ mol peroksidi indirgeyen enzim aktivitesi olarak tanımlanır. Reaksiyon karışımı 0,3 ml fosfat tamponu (pH 6.0), 0,3 ml hidrojen peroksit, 0,5 ml O-dianisidin ve 10 μ l örnek'ten oluşmaktaydı. Absorbans değişimi 460nm'de 10 dakika süreyle izlendi. Enzim aktivite sonuçları U/mg protein olarak verildi. Protein düzeyi Lowry metoduyla ölçüldü(151).

3.4.6 Protein Düzeyinin Tayini

Bu metotta proteinlerin içerdiği tirozin ve triptofan rezidülerinin fosfotungustik-fosfomolibdik asit ile verdiği renk reaksiyonunun 750 nm'deki absorbans ölçümüne dayanır. Stok standart için 0,3 g/dl bovin albümin hazırlanır. Hazırlanan stok standarttan 5 ml alınıp 100 ml'ye serum fizyolojik ile tamamlandığında 150 μ g'lık konsantrasyonlar elde edilir. Bundan seri sulandırma ile 150, 120, 90, 60, 30 μ g/ml'lik konsantrasyonlar elde edilerek 750 nm'de verdikleri absorbanslar kaydedilir. Bu verilere göre konsantrasyon-absorbans eğrisi çizilir ve her numune ölçümünde standart eğri tekrarlanır. Dokulardan hazırlanan süpernatantta protein tayini için, süpernatant 1:50 oranında serum fizyolojik ile sulandırılır ve protein tayini yapılır. Çalışmada %1 $CuSO_4$ ve % 2 Na-K tartarattan oluşan çözeltiden 3

mililitre alınır üzerine 1/50 serum fizyolojikle sulandırılmış örnekten 300 mikrolitre süpernatant eklendikten sonra 300 mikrolitre saf su ekleyip karıştırılır. 15 dakika bekledikten sonra 300 mikrolitre folin ceocalteu çözeltisi ekleyip karıştırılır. 30 dakika oda ısısında bekletip 750 nm köre karşı okutulur(119,156).

3.5 Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için doku örnekleri % 10' luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 5 µm kalınlığında seri kesitler hazırlanarak hemotoksilen-eosin (HE) boyası ile boyandı. Histopatolojik çalışma aynı patolog tarafından hangi doku örneğinin hangi gruba dâhil olduğunu bilmeden ve doku örnekleri içinden rastgele seçim yapılarak gerçekleştirilmiştir. Işık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu. Dokuları; akut ve kronik inflamasyon, fibrozis, damar proliferasyonu ve yüzeyin kapanması parametreleri yönünden incelendi(39,75,117).

Histopatolojik değerlendirme tablo II' de gösterilen yara iyileşme değerlendirme skorlamasına göre yapıldı. Akut ve kronik inflamasyon, fibrozis, damar proliferasyonu yönünden bulgu yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak derecelendirildi. Yara yüzeyinin kapanması ise var(+) ve yok(-) olarak derecelendirildi. Histopatolojik bulguların gruplara göre ortalama skorları bulgu yok(-)1 puan, hafif(+) 2 puan, orta(++) 3 puan ve şiddetli(+++) 4 puan olarak derecelendirilerek hesaplandı(39,75,117).

Tablo II Yara iyileşme skoru değerlendirme kriterleri

Skor	Akut inflamasyon	Kronik İnflamasyon	Fibrosis	Damar proliferasyonu	Yüzey kapanması
1	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
2	Hafif derecede	Hafif derecede	Az	5'den az damar(Hafif)	Var
3	Orta derecede	Orta derecede	Orta	6-10 damar(Orta)	-
4	Şiddetli derecede	Şiddetli derecede	Şiddetli	10'dan fazla damar(Şiddetli)	-

3.6 Yara İyileşme Süresi Ve Yara Alanlarının Analizi

Bütün gruplarda oluşturulan yaralar iyileşmenin seyri için ratların tespitinin sağlanmasından sonra asetat kağıdına 0,3 mm çapında ucu olan kalıcı markı kullanılarak

yaraların boyutu çizilmek suretiyle 3 günde bir takip edildi. Yaralar üzerinden asetat kağıda geçirilen çizimler tarayıcı ile bilgisayar ortamına aktarıldı ve aktarılan dosya Netcad 5.0 ile değerlendirildi. Bu modeli seçmemizin sebebi Geranemus ve arkadaşlarının kabuk olmaksızın yara iyileşme modeline uygun olması ve yara iyileşmesini değerlendirmek için alan ölçümü testine en uygun model olduğunu düşünmemizdir. Ayrıca bu model ile hücrel, kimyasal ve yara kontraksiyon derecesinin ölçülmesi daha iyi değerlendirilebilmektedir(151).

3.7 İstatistik

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak (SPSS Inc. 18 00, Chicago, IL; USA) kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma şeklinde sunuldu. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki farkların incelenmesinde; değişkenler arasındaki farklılıklar incelenirken, iki gruplu karşılaştırmalar için t testi, ikiden fazla gruplu karşılaştırmalar için anova ve hangi grubun diğerlerinden farklı olduğunu belirlemek için, Scheffe (homojen varyanslılar için) ve Tamhane's T2 (heterojen varyanslılar için) testleri kullanılmıştır.

3.7.1 İstatistiksel Araştırmanın Metodu

3.7.1.1 Student T Testi

Bir veya iki kantitatif anakütle ortalamasının analiz eden testlerden biridir. İncelenen bir değişken açısından bir gruba ait ortalama değerinden önceden belirlenen(öngörülen) değerden farklı olup olmadığı “tek grup t testi (one-sample t-test)” ile, bağımsız iki grup arasında anlamlı farkın olup olmadığı “bağımsız iki-grup arası farkların t testi (independent samples t-test)” ile, herhangi bir grubun farklı şartlar(dürtüler) altındaki tepkileri arasında anlamlı farklılığın olup olmadığı “eşleştirilmiş-iki-grup arasındaki farklılıkların t testi(paired samples t-test)” ile yapılır. Bu testler için sıfır hipotezi “ana kütle ortalaması ile öngörülen değer arasında fark yoktur veya grup ortalamaları arasında fark yoktur” biçimindedir(154). İki anakütle ortalaması arasındaki farkın testinde, test istatistiği hesaplanırken standart hata hesabında ortak varyans kullanılır(157).

3.7.1.2 Anova(Varyans Analiz, F)

İkiden fazla kantitatif anakütle ortalamasının birbirine eşit olup olmadığını test etmek için F testi yapılır. İlk bakışta, bu testin t testi ile de kolayca yapılabileceği sanılabilir. Meselâ, 10 ana kütlede birer rassal örnek alınarak, bu anakütle ortalamaları için ikişer ikişer farklılık testi yapılmak istendiğinde, ikişerli olarak yapacağımız test sayısı $C(10;2) = 45$ kombinasyon sayısına eşit olacaktır. Yani, 45 adet t testi yapılması gerekmektedir. Ayrıca, ortalamalar arasındaki farklardan en az birisinin önemli olması olasılığı $P(x \geq 1) = 1 - C(45;45) \cdot (1-\alpha)^{45} \cdot \alpha^0 =$

$1-(1-\alpha)^{45}$ olacaktır. $\alpha = 0,05$ için $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_{10}$ hipotezinin doğru olması halinde reddedilmesi olasılığı $1-(1-0.05)^{45} = 0,90$ olur ki, bu durum önemli bir hataya sebep olur. Yani, sıfır hipotezinin yanlışlıkla reddedilmesi olasılığında önemli bir artış olacaktır. Bu sebeple, ikiden fazla anakütle ortalamasının birbirine eşit olup olmadığını belirlemede, t testinin kullanılması hem usandırıcı olacak hem de önemli derecede hata olasılığını artıracaktır. Bu sakıncalardan dolayı F testi ile yapılan varyans analizi geliştirilmiştir. F testinde, varyanslar arasında karşılaştırma yaparak karar verildiğinden, bu teste "varyans analizi" de denir. Varyans analizinde bağımsız değişken kategorik yapıdadır ve faktör adı verilir. Bağımlı değişken metrik yapıdadır. Varyans analizinde bağımsız değişkenin, bağımlı değişken üzerindeki etkisi araştırılır. Bağımsız değişken sayısı bir, bağımlı değişken sayısı da bir ise "tek yönlü anova" ve bağımsız değişken sayısı bir, bağımlı değişken sayısı iki ise "iki yönlü anova" kullanılır. Tek yönlü varyans analizinde; sıfır hipotezi, örnek veya grup ortalamaları arasında görülen farklılığın rassal sebeplerden ileri geldiği şeklinde kurulur. Yani, teste tabi tutulacak k örnek için sıfır hipotezi $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$ şeklindedir. Alternatif hipotez ise, bu örneklerin alındığı k anakütle ortalamasından en az birinin diğerlerinden farklı olduğu şeklindedir. Anova testi, sadece karşılaştırma yapılan ikiden fazla grup arasında farklılık olup olmadığını göstermekle beraber, bu farklılığa sebep olan grup veya grupların, hangi grup veya gruplardan kaynaklandığı konusunda herhangi bir bilgi vermez. Hangi grubun diğerlerinden farklı olduğu, one way anova testi ile belirlenir. One-way anovada, varyansların homojenliği durumunda(equal variances assumed) LSD, Bonferroni, Sidak, Scheffé, R-E-G-W F, R-E-G-W Q, S-N-K, Tukey, Tukey's b, Duncan, Hochberg's GT2, Gabriel çoklu karşılaştırma testleri kullanılır. Varyansların homojen olmaması durumunda(equal variances not assumed) ise Tamhane's T2, Dunnett's T3, Games-Howell, and Dunnett's C çoklu karşılaştırma testleri kullanılır(157-162). Bu çalışmada, çoklu karşılaştırma testleri içinde yaygın kullanılan ve yorumu en kolay olan Scheffe ve Tamhane's T2 testleri kullanılmıştır.

3.7.1.3 Mann- Whitney U Testi

İki bağımsız örneğin aynı ana kütlede alınıp alınmadığı veya örneklerin alındıkları ana kütlelerin birbirinden farklı olup olmadığı test edilir. U testinin yapılabilmesi için verilerin en azından ordinal (sıralama) ölçekte olması gerekir. Eğer veriler bir aralık ölçekte ifade ediliyorsa ve anaküteller normal dağılım gösteriyorsa, bu durumda ortalamaların farkı için t testi yapılır(163).

3.7.1.4 Kruskal-Wallis Testi

“İkiden fazla bağımsız örneğin aynı ana kütlelerden çekilmiş olduğunu” iddia eden

sıfır hipotezinin testinde en çok kullanılan ve tek yönlü varyans analizine iyi bir alternatif olan testtir. Alternatif hipotez ise “En az bir ana kütlelin medyanı diğer ana kütlelerinkinden farklıdır” biçiminde olur(164,165).

3.7.2 İstatiksel Araştırmanın Analizi

Analizler %5 anlamlılık düzeyine göre yapılmıştır. Bu sebeple değerlendirmeler, sig (significance) değeri 0,05’ten küçükse istatiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Anova testi ile gruplar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Hangi grubun diğerlerinden farklı olduğu, one-way anova testi ile belirlenmiştir. One-way anovada, varyansların homojenliği durumunda(equal variances assumed) Scheffe testi, homojen olmaması durumunda(equal variances not assumed) ise Tamhane's T2 testi kullanılmıştır. (Test of Homogeneity of Variances’de sig>0,05 ise Scheffe, sig<0,05 ise Tamhane's T2)

4. BULGULAR

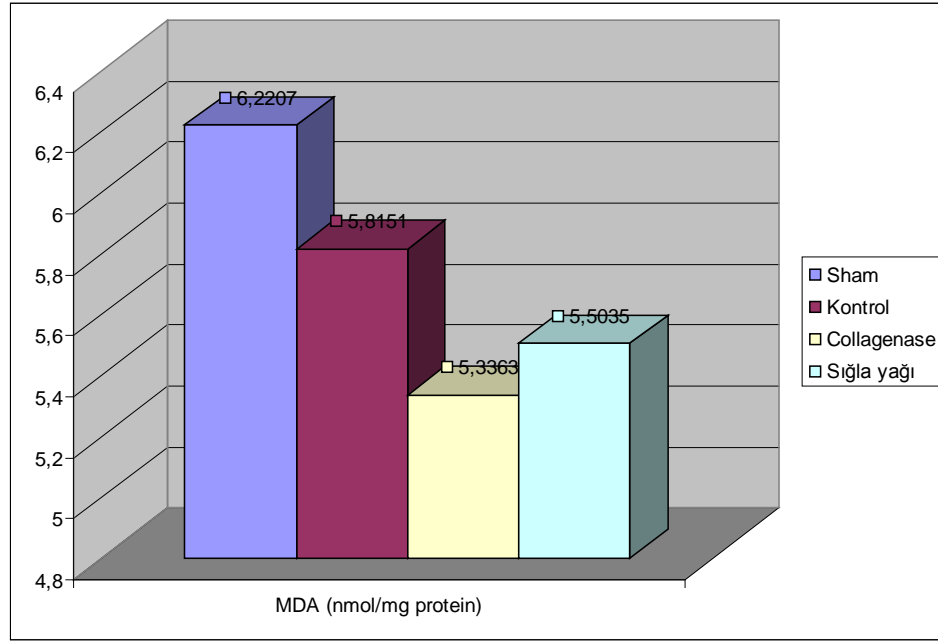
4.1 Biyokimya Analiz Sonuçları

4.1.1 MDA Değerleri Üzerine Etkiler

Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MDA değerleri incelendiğinde 0,6111 nmol/mg protein ile 9,8988 nmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Sig(significance) değeri 0,05’ten büyük çıktığı için gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir(sig=0,721>0,05). Ortalama MDA değerleri hesaplandığında en düşük MDA değerinin kollagenaz(C) grubunda (5,3363±2,0822 nmol/mg protein) olduğu en yüksek değer ise sham(S) grubunda (6,2207±2,1181 nmol/mg protein) olduğu saptanmıştır(Tablo III, Şekil 24).

Tablo II Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MDA değerleri (nmol/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	9.8988	4.7477	7.4681	5.0633	7.9300	7.0300	3.2450	5.8743	7.4900	3.4600	6,2207±2,1181
Kontrol	5,6314	7,6521	3,1345	9,0237	6,0019	5,5015	4,3446	5,2100	5,1976	6,4521	5,8151±1,6443
Kollagenaz	8,3364	5,4200	0,6111	7,5983	5,0200	4,4309	49800	6,5321	5,400	5,0346	5,3363±2,0822
Sıgla yağı	5,5079	7,0497	7,2015	6,6606	5,0064	3,7919	4,0379	3,5037	6,9410	5,5035	5,5035±1,4156



Şekil 24 Birinci gün gruplarında MDA aktivitesi

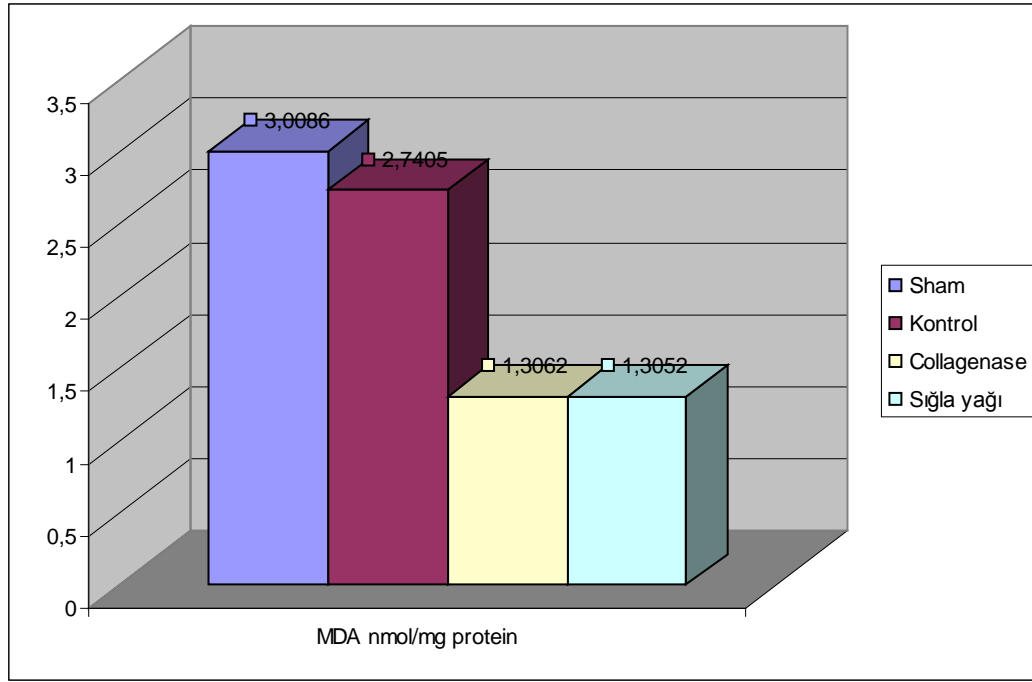
Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MDA değerleri(MDAi) incelendiğinde 0.1914 nmol/mg protein ile 5.1513 nmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Birinci gün MDA değerine göre tüm gruplarda yara iyileşme sonrası MDA değerleri düşmüştür. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde kollagenaz(C) ve sıgla yağı(SY) gruplarının MDAi değerlerinin düşük olduğu, kontrol(K) ve sham(S) gruplarının ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ortalama MDAi değerleri hesaplandığında en düşük MDAi değerinin sıgla yağı grubunda ($1,3052 \pm 5986$) olduğu, en yüksek değer ise sham grubunda ($3,0086 \pm 1,5138$ nmol/mg protein) olduğu saptanmıştır(Tablo IV, Şekil 25).

Tablo IV Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MDAi değerleri (nmol/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	2,2000	2,5200	2,4546	5,1513	0,1914	2,0516	2,7112	4,8063	3,4100	4,5900	3,0086±1,5138
Kontrol	2,9695	2,7405	3,8719	3,3843	1,5921	3,6365	2,4202	2,3577	1,3696	3,0608	2,7405±0,8232
Kollagenaz	1,3400	1,2300	1,1900	0,3131	1,5300	0,6100	2,1579	1,5800	1,8844	1,2273	1,3062±0,5459*
Sıgla yağı	1,1900	1,2900	0,3712	0,6008	2,6300	1,4900	1,4359	1,4791	1,2300	1,3354	1,3052±0,5986*

*: Sham ve kontrol grubuna göre MDAi düzeyi anlamlı derecede düşük ($p < 0.05$)

Varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten küçük çıktığı için gruplar arasında fark anlamlı bulunmuştur($sig=0,000 < 0,05$). Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak Tamhane's T2 testi ile incelendiğinde kollagenaz ve sıgla yağı uygulanan gruplarda MDAi değerleri kontrol ve sham grubuna göre belirgin oranda düşük bulunmuştur($p < 0.05$).



Şekil 25 Yara iyileşmesi sonrası grupların MDAi aktivitesi

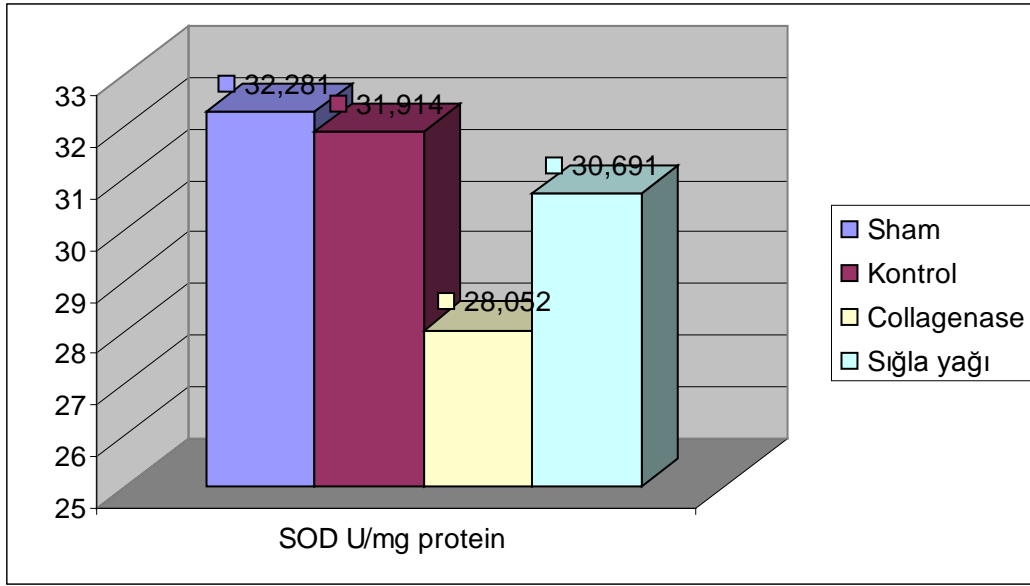
Grupların birinci gün malonildialdehit(MDA) ve yara iyileşmesi sonrası tespit edilen malonildialdehit(MDAi) değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$) olduğundan tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

4.1.2 SOD Değerleri Üzerine Etkiler

Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen SOD değerlerini incelendiğinde 22,97 U/mg protein ile 47,86 U/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Sig(significance) değeri 0,05'ten büyük çıktığı için gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($\text{sig} = 0,474 > 0,05$). Ortalama SOD değerleri hesaplandığında en düşük SOD değerinin kollagenaz(C) grubunda ($28,0525 \pm 4,9220$ U/mg protein) olduğu en yüksek değer ise sham (S) grubunda ($32,2815 \pm 8,6976$ U/mg protein) olduğu saptanmıştır (tablo V, Şekil 26).

Tablo V Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen SOD değerleri (U/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama \pm sd
Sham	35,7251	47,8601	44,9629	24,7379	28,7216	35,3636	32,1650	23,6143	24,4625	25,2011	32,2815 \pm 8,6976
Kontrol	32,7799	33,7200	44,6400	30,7601	30,8400	34,7693	22,9700	28,5700	33,1443	26,9510	31,9143 \pm 5,7148
Kollagenaz	37,2874	33,2970	23,8580	30,3015	24,1898	24,7214	32,7141	23,9010	24,6242	25,6305	28,0525 \pm 4,9220
Sığla yağı	24,3347	27,9920	25,8500	29,0200	45,4234	29,3091	27,0401	31,9794	37,0983	28,8700	30,6916 \pm 6,2557



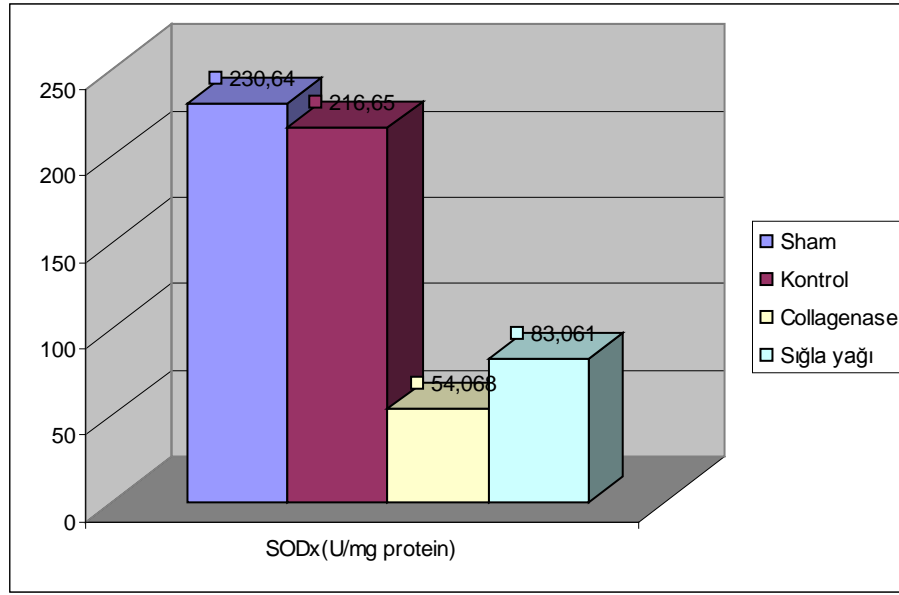
Şekil 26 Birinci gün gruplarında SOD aktivitesi

Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen SOD değerleri(SODi) incelendiğinde 34,885 U/mg protein ile 291,905 U/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Birinci gün SOD değerine göre tüm gruplarda yara iyileşme sonrası SOD değerleri yükselmiştir. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde kollagenaz ve sıgla yağı gruplarının SODi değerlerinin düşük olduğu, kontrol ve sham gruplarının ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ortalama SODi değerleri hesaplandığında en düşük SODi değerinin kollagenaz grubunda ($54,0681 \pm 13,4441$) olduğu, en yüksek değer ise sham grubunda ($230,641 \pm 49,5918$ U/mg protein) olduğu saptanmıştır (tablo VI, Şekil 27).

Tablo VI Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen SODi değerleri (U/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	147,506	248,370	177,731	241,880	252,080	234,061	290,551	252,454	169,872	291,904	230,641±49,5918
Kontrol	190,028	148,462	211,461	258,441	197,730	205,860	276,919	208,360	244,162	225,080	216,6509±36,7199
Kollagenaz	80,519	73,320	51,010	35,064	45,450	51,400	57,410	51,404	46,753	48,3500	54,0681±13,4441*
Sığla yağı	120,830	86,160	90,270	58,395	110,850	73,430	44,161	92,083	34,885	119,5475	83,0612±30,2001*

*: Sham ve kontrol grubuna göre SODi düzeyi anlamlı derecede düşük ($p < 0.05$)



Şekil 27 Yara iyileşmesi sonrası grupların SODi aktivitesi

Varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten küçük çıktığı için gruplar arasında farklılık vardır (sig=0,000<0,05). Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak Tamhane's T2 testi ile incelendiğinde kollagenaz ve sığla yağı uygulanan gruplarda SOD değerleri sham ve kontrol grubuna göre belirgin oranda düşük bulunmuştur (p<0.05).

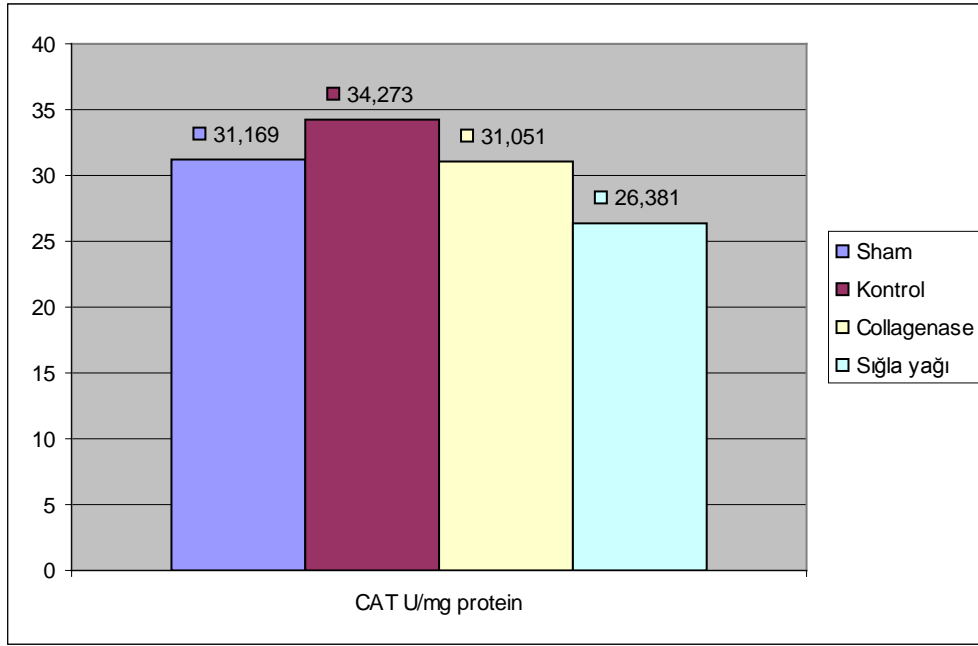
Grupların birinci gün süperoksit dismutaz (SOD) ve yara iyileşmesi sonrası tespit edilen Süperoksit dismutaz (SODi) değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında (p<0.05) olduğundan tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

4.1.3 CAT Değerleri Üzerine Etkiler

Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen CAT değerleri incelendiğinde 3,485 U/mg protein ile 75,221 U/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Sig (significance) değeri 0,05'ten büyük çıktığı için gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (sig=0,582>0,05). Ortalama CAT değerleri hesaplandığında en düşük CAT değerinin sığla yağı grubunda (26,3817±2,3170 U/mg protein) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda (31,1695±24,2618 U/mg protein) olduğu saptanmıştır (Tablo VII, Şekil 28).

Tablo VII Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen CAT değerleri (U/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	55.1822	15.3198	3.4845	25.3091	41.8151	31.0241	75.2205	8.5362	4.6461	51.1568	31,1695±24,2618
Kontrol	33.4521	38.5501	36.5683	22.3662	38.1500	38,2800	36.4900	32.8200	32.2300	33.8200	34,2726±4,8132
Kollagenaz	33.8500	30.9686	31.5201	37.9700	37.1700	26.6198	21.8800	33.5000	28.7499	28.2802	31,0509±4,8999
Sığla yağı	25.6298	27.8499	29.1438	25.2203	22.9600	27.0200	28.1189	22.2700	27.2800	28.3229	26,3817±2,3170



Şekil 28 Birinci gün gruplarında CAT aktivitesi

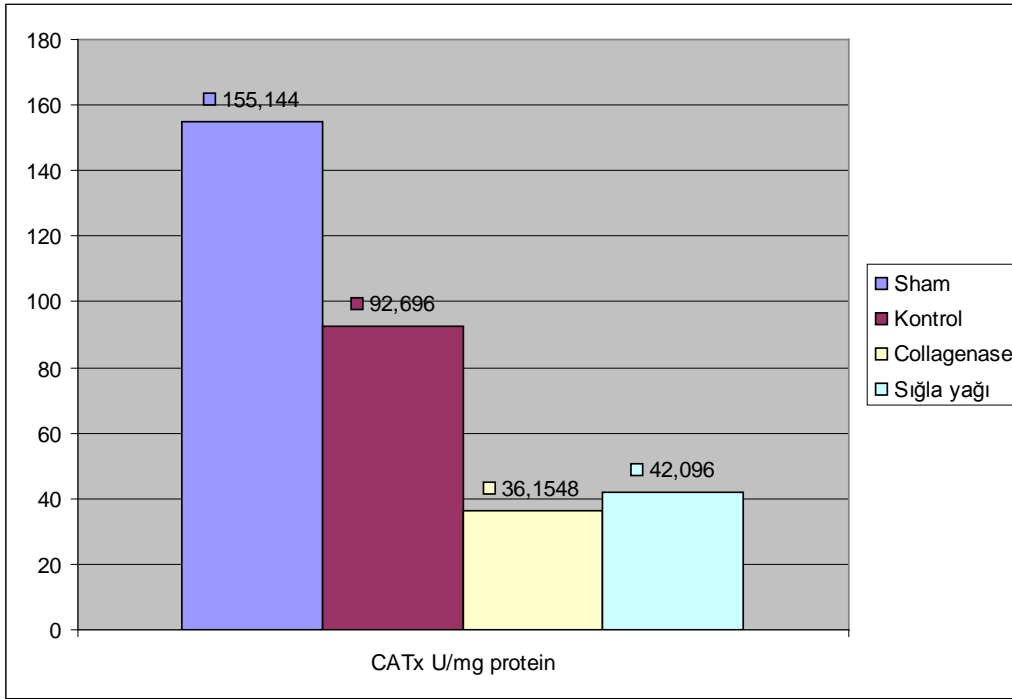
Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen katalaz(CATi) değerleri incelendiğinde 19,495 U/mg protein ile 310,72 U/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Birinci gün CAT değerine göre tüm gruplarda yara iyileşme sonrası CAT değerleri yükselmiştir. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde kontrol ve sham gruplarının CATi değerlerinin yüksek olduğu, kollagenaz ve sıgla yağı gruplarının ise düşük olduğu tespit edilmiştir. Ortalama CATi değerleri hesaplandığında en düşük CATi değerinin kollagenaz grubunda ($36,1548 \pm 11,0667$ U/mg protein) olduğu, en yüksek değer ise sham grubunda ($155,1441 \pm 58,0170$ U/mg protein) olduğu saptanmıştır(Tablo VIII, şekil 29).

Tablo VIII Yara iyileşme sonrası yara yeri dokusunda tespit edilen katalaz(CATi) değerleri (U/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	145.719	110.600	176.619	123.141	310.718	128.501	129.439	130.236	133.311	163.153	155,1441±58,0170
Kontrol	97.146	98.010	51.522	110.970	99.170	71.772	135.631	119.430	49.574	93.740	92,6967±27,8401
Kollagenaz	30.055	44.388	42.160	41.614	47.110	53.804	28.980	19.495	28.012	25.930	36,1548±11,0667*
Sığla yağı	52,348	36,660	48,707	45,858	43,720	35,637	41,726	42,453	35,920	37,937	42,0966±5,7015*

*: Sham ve kontrol grubuna göre CATi düzeyi anlamlı derecede düşük ($p < 0.05$)

Varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten küçük çıktığı için gruplar arasında farklılık vardır($\text{sig}=0,000 < 0,05$). Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak Tamhane's T2 testi ile incelendiğinde kollagenaz ve sıgla yağı uygulanan gruplarda CATi değerleri sham ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak belirgin oranda düşük bulunmuştur($p < 0.05$).



Şekil 29 Yara iyileşmesi sonrası gruplardaki CAT aktivitesi

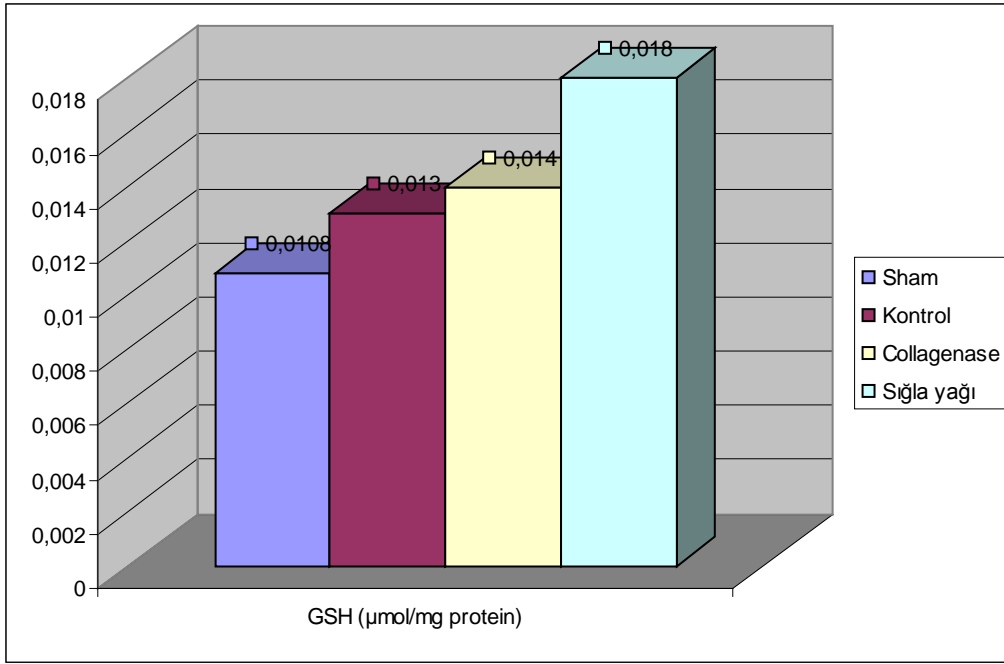
Grupların birinci gün katalaz(CAT) ve yara iyileşmesi sonrası tespit edilen katalaz(CATi) değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında ($p < 0.05$) olduğundan tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

4.1.4 GSH Değerleri Üzerine Etkisi

Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen GSH değerleri incelendiğinde $0,001 \mu\text{mol} / \text{mg}$ protein ile $0,045 \mu\text{mol} / \text{mg}$ protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Sig (significance) değeri $0,05$ 'ten büyük çıktığı için gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($\text{sig} = 0,489 > 0,05$). Ortalama GSH değerleri hesaplandığında en düşük GSH değerinin sham grubunda ($0,0130 \pm 0,0082 \mu\text{mol} / \text{mg}$ protein) olduğu en yüksek değer ise sıgla yağı grubunda ($0,0180 \pm 0,0123 \mu\text{mol} / \text{mg}$ protein) olduğu saptanmıştır (tablo IX, Şekil 30).

Tablo IX Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen GSH değerleri ($\mu\text{mol} / \text{mg}$ protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama \pm sd
Sham	0,006	0,009	0,007	0,012	0,015	0,010	0,006	0,010	0,015	0,018	$0,0108 \pm 0,00413$
Kontrol	0,021	0,001	0,013	0,010	0,009	0,0026	0,015	0,016	0,023	0,017	$0,0130 \pm 0,00823$
Kollagenaz	0,0096	0,0091	0,0067	0,0075	0,045	0,013	0,0015	0,019	0,0230	0,0015	$0,0140 \pm 0,01429$
Sığla yağı	0,004	0,006	0,0078	0,034	0,019	0,024	0,027	0,042	0,007	0,008	$0,0180 \pm 0,01229$

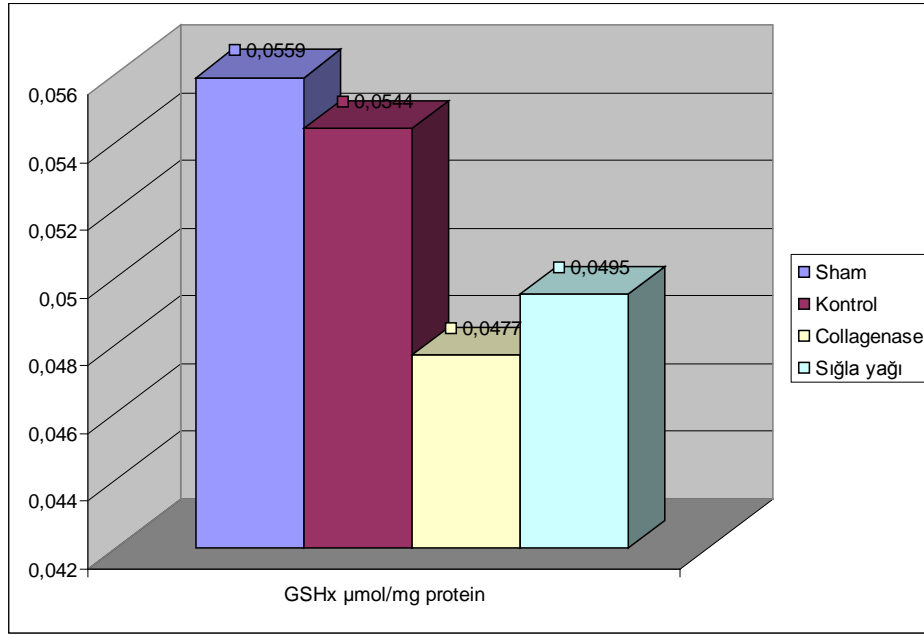


Şekil 30 Birinci gün gruplarında GSH aktivitesi

Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen glutatyon(GSHi) değerleri incelendiğinde 0,013 µmol/mg protein ile 0,098 µmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Tüm gruplarda birinci gün GSH değerlerine göre yükselme olmakla birlikte gruplar arasında istatikselsel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Ortalama GSHi değerleri hesaplandığında en düşük GSHi değerinin kollagenaz grubunda ($0,0477 \pm 0,02741$ µmol /mg protein) olduğu en yüksek değer ise sham grubunda ($0,0559 \pm 0,02024$ µmol /mg protein) olduğu saptanmıştır(tablo X, Şekil 31).

Tablo X Yara iyileşme sonrası yara yeri dokusunda tespit edilen GSHi değerleri (µmol/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	0,017	0,053	0,065	0,040	0,078	0,052	0,065	0,076	0,036	0,077	$0,0559 \pm 0,02024$
Kollagenaz	0,050	0,026	0,055	0,066	0,041	0,025	0,034	0,065	0,084	0,098	$0,05440 \pm 0,02429$
Sığla yağı	0,035	0,041	0,098	0,013	0,025	0,075	0,014	0,054	0,065	0,057	$0,0477 \pm 0,02741$
Kontrol	0,054	0,035	0,065	0,045	0,023	0,078	0,019	0,043	0,060	0,070	$0,0495 \pm 0,01984$



Şekil 31 Yara iyileşmesi sonrası gruplardaki GSHi aktivitesi

Varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten büyük çıktığı için gruplar arasında farklılık yoktur ($\text{sig}=0,830>0,05$). Yukarıdaki ortalamalarında birbirine yakın olduğu görülmektedir. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığından ikili karşılaştırmalı testler uygulanmamıştır.

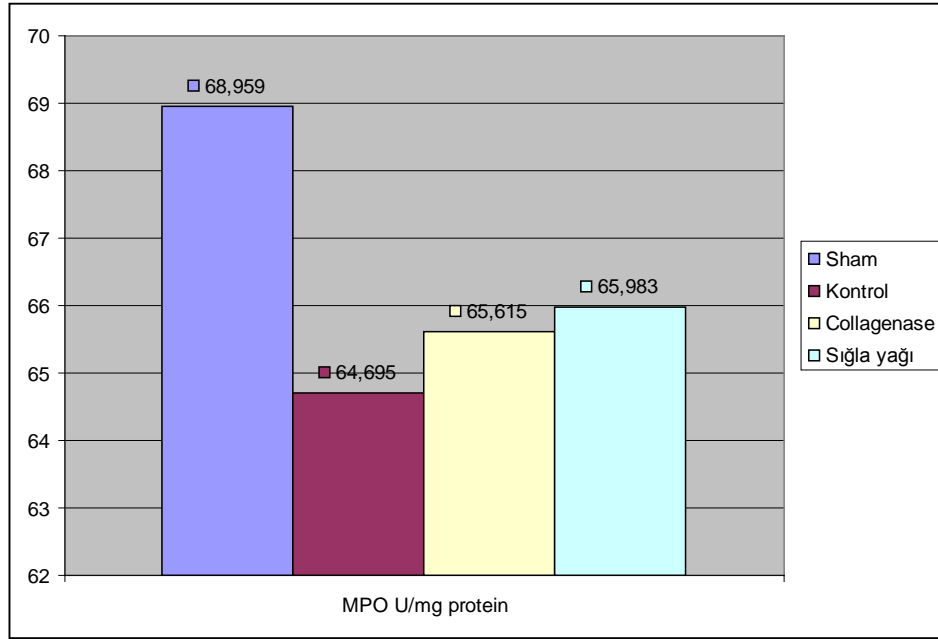
Grupların birinci gün glutatyon(GSH) ve yara iyileşmesi sonrası tespit edilen glutatyon(GSHi) değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında ($p<0.05$) olduğundan tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

4.1.5 MPO Değerleri Üzerine Etkisi

Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MPO değerleri incelendiğinde 39,26 U/mg protein ile 94,16 U/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Sig (significance) değeri 0,05'ten büyük çıktığı için gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($\text{sig}=0,908>0,05$). Ortalama MPO değerleri hesaplandığında en düşük MPO değerinin kontrol grubunda ($64,695\pm 13,6904$ U/mg protein) olduğu en yüksek değer ise sham grubunda ($68,959\pm 10,3717$ U/mg protein) olduğu saptanmıştır (tablo XI, Şekil 32).

Tablo XI Ratlardan birinci günde alınan yara yeri dokusunda tespit edilen MPO değerleri (U/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama \pm sd
Sham	74.0300	69.2800	58.2700	77.9500	65.4300	74.0900	84.2800	62.0300	75.0000	49.2300	68,959 \pm 10,3717
Kontrol	51.0000	74.0700	42.1600	64.2800	49.0800	64,0000	77.1200	85.0200	74.1700	66.0500	64,695 \pm 13,6904
Kollagenaz	83.2700	64.1700	79.0600	72.1600	39.2600	44.6500	75.0000	48.1700	56.2500	94.1600	65,6150 \pm 18,1550
Sığla yağı	66.1500	51.3200	64.5300	65.0000	45.0900	64.5600	75.0000	82.1800	77.0000	69.0000	65,983 \pm 11,2090



Şekil 32 Birinci gün gruplarında MPO aktivitesi

Yara iyileştikten sonra alınan yara yeri dokusunda tespit edilen miyeloperoksidaz(MPOi) değerleri incelendiğinde 2,170 U/mg protein ile 19,170 U/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. Birinci gün MPO değerine göre tüm gruplarda yara iyileşme sonrası MPO değerleri düşmüştür. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde kontrol ve sham gruplarının MPOi değerlerinin yüksek olduğu, kollagenaz ve sığla yağı gruplarının ise düşük olduğu tespit edilmiştir. Ortalama MPOi değerleri hesaplandığında en düşük MPOi değerinin kollagenaz grubunda ($4,5770 \pm 1,5494$ U/mg protein) olduğu, en yüksek değer ise sham grubunda ($13,7520 \pm 2,3451$ U/mg protein) olduğu saptanmıştır(Tablo XII, şekil 33).

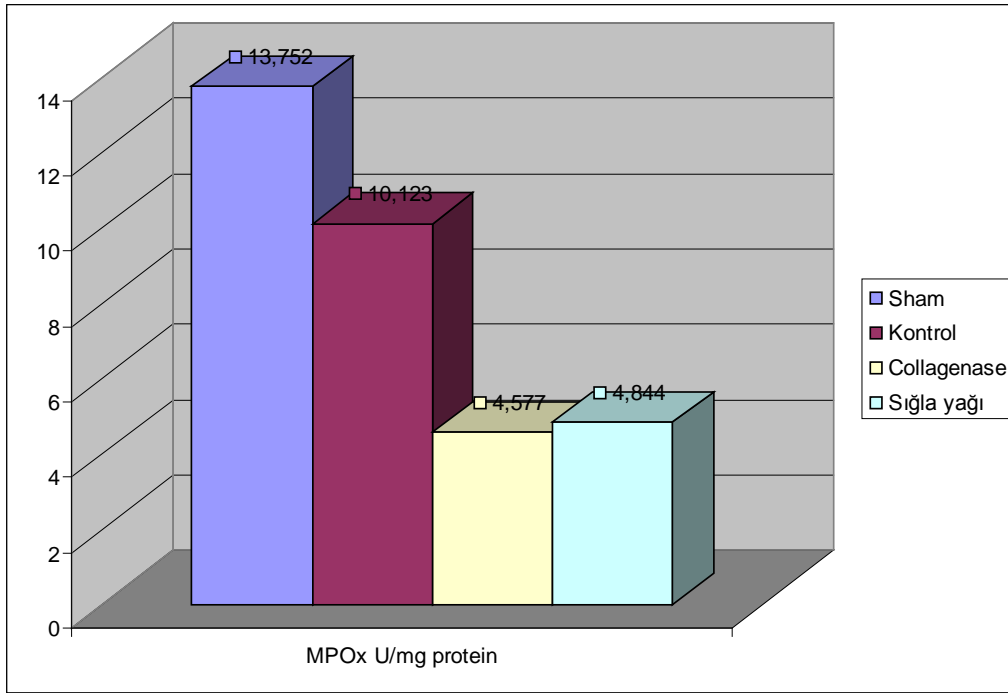
Tablo XII Yara iyileşme sonrası yara yeri dokusunda tespit edilen miyeloperoksidaz değerleri (U/mg protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama±sd
Sham	15,0200	13,1600	12,2700	14,6300	10,2100	14,1600	12,3100	19,1700	13,2400	13,3500	13,7520±2,3451
Kontrol	12,2900	16,1300	10,9200	8,2600	10,34	5,2400	6,7800	9,1300	8,3400	13,800	10,1230±3,2937
Kollagenaz	4,8800	5,2300	2,3400	6,5300	2,1700	6,4500	4,7800	5,0600	3,0800	5,2500	4,5770±1,5494*
Sığla yağı	4,8800	5,2200	4,5400	3,7500	5,8800	4,6500	6,1800	5,2500	5,0400	3,0500	4,8440±0,9279*

*: Sham ve kontrol grubuna göre MPOi düzeyi anlamlı derecede düşük ($p < 0.05$)

Varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten küçük çıktığı için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır($\text{sig}=0,000 < 0,05$). Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak Tamhane's T2 testi ile incelendiğinde kollagenaz ve sığla yağı uygulanan gruplarda MPOi değerleri sham ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak belirgin

oranda düşük bulunmuştur($p<0.05$).



Şekil 33 Yara iyileşmesi sonrası gruplardaki MPO aktivitesi

Grupların birinci gün myeloperoksidaz(MPO) ve yara iyileşmesi sonrası tespit edilen myeloperoksidaz(MPOi) değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldığında($p<0.05$) olduğundan tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

4.2 Histopatolojik Bulgular

4.2.1 Yara Yeri Dokusunun Hemotoksilen-Eosin İle Boyanma Özellikleri Ve H-E skorları

Hemotoksilen-Eosin ile boyanmış olan yara yeri dokusunun ışık mikroskopuyla incelenmesinde akut ve kronik inflamasyon Sığla yağı grubunda izlenmemiştir. Kollagenaz grubundaysa daha hafif derecede saptanmıştır. Kontrol ve sham gruplarındaysa orta ve şiddetli derecede akut inflamasyon bulguları gözlenmiştir. Yine kronik inflamasyon kontrol grubunda izlenmezken sham grubunda hafif derecede kronik inflamasyon bulguları saptanmıştır. En belirgin damar proliferasyonu sham grubunda orta derecede saptanmıştır. Kontrol ve kollagenaz grubunda hafif derecede damar proliferasyonu gözlenirken, sığla yağı uygulanan grupta damar proliferasyonu izlenmemiştir. Fibrozis en belirgin kollagenaz grubunda olmak üzere tüm gruplarda orta derecede gözlenmiş olup, gruplar arasında istatistiksel fark izlenmemiştir. Yara yüzeyi kapanması yönünden ise gruplar arasında fark bulunamamıştır(Tablo XIII).

Tablo XIII Sıçanlarda histopatolojik bulguların dağılımı ve derecesi

		SHAM		KONTROL		KOLLAGENAZ		SİĞLA YAĞI	
Akut inflamasyon	Yok	2	%20	4	%40	6	%60	10	%100
	Hafif	2	%20	1	%10	4	%40	0	%0.0
	Orta	3	%30	2	%20	0	%0.0	0	%0.0
	Şiddetli	3	%30	3	%30	0	%0.0	0	%0.0
Kronik inflamasyon	Yok	6	%60	10	%100	3	%30	10	%100
	Hafif	4	%40	0	%0.0	7	%70	0	%0.0
	Orta	0	%0.0	0	%0.0	0	%0.0	0	%0.0
	Şiddetli	0	%0.0	0	%0.0	0	%0.0	0	%0.0
Damar proliferasyonu	Yok	3	%30	6	%60	6	%60	10	%100
	5'den az damar	1	%10	2	%20	4	%40	0	%0.0
	6-10 damar	6	%60	2	%20	0	%0.0	0	%0.0
	10'dan fazla damar	0	%0.0	0	%0.0	0	%0.0	0	%0.0
Fibrozis	Yok	2	%20	5	%50	0	%0.0	3	%30
	Hafif	2	%20	0	%0.0	1	%10	1	%10
	Orta	6	%60	5	%50	6	%60	2	%20
	Şiddetli	0	%0.0	0	%0.0	3	%30	4	%40
Yüzey kapanması	Var	6	%60	4	%40	5	%50	6	%60
	Yok	4	%40	6	%60	5	%50	4	%40

Histopatolojik değerlendirmede akut ve kronik inflamasyon, damar proliferasyonu, fibrozis ve yüzey kapanması tablo II'ye göre yapıldı. Elde edilen verilerin karşılaştırılmasında tamhane's T2 testi ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Yara yeri dokusunun Hemotoksilen-Eosin ile boyanıp incelenmesi ile elde edilen skorların ortalama değerleri tablo XIII'de gösterilmiştir.

Hemotoksilen-Eosin ile boyanmış olan dokuların varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten küçük çıktığı için akut inflamasyon, kronik inflamasyon ve damar proliferasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Sadece fibrozis için sig değeri 0,05'ten büyük çıktığı için gruplar arasında farklılık yoktur.

Yara yüzeyinin kapanması Kruskal-Wallis testi ile incelendiğinde sig (significance) değeri 0,05'ten büyük çıktığı için gruplar arasında farklılık yoktur (sig=0,783>0,05) (Tablo XIV Şekil 34-47).

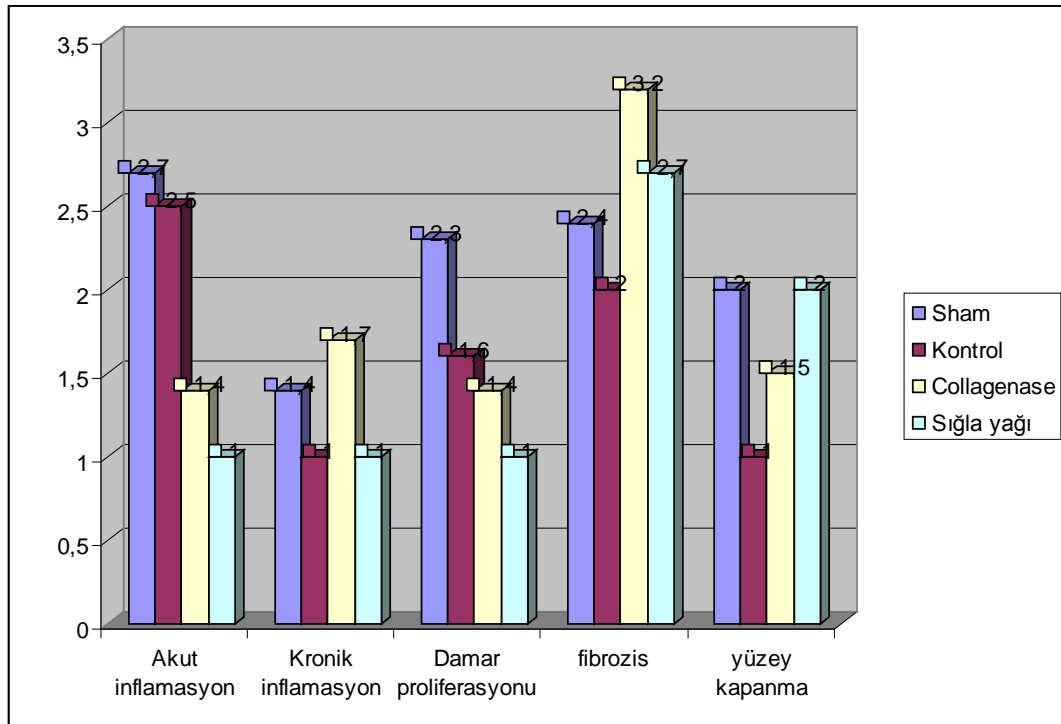
Tablo XIV Yara yeri dokusunun histopatolojik analiz sonuçları

		Akut inf	Kronik inf	Damar proliferasyonu	Fibrozis	Yüzey kapanma
Sham	Ortalama değer±Sd	2,7±1,159	1,4±0,516	2,3±0,948	2,4±0,843	2,0
	Minimum	1,00	1,00	1,00	1,00	-
	Maksimum	4,00	2,00	3,00	3,00	-
Kontrol	Ortalama değer±SD	2,5±1,269	1,0±0,00***	1,6±0,843	2,0±1,050	1,0
	Minimum	1,00	1,00	1,0	1,00	-
	Maksimum	4,00	1,00	3,0	3,00	-
Kollagenaz	Ortalama değer±Sd	1,4±0,516*	1,7±0,483	1,4±0,516	3,2±0,632	1,5
	Minimum	1,00	1,00	1,00	2,00	-
	Maksimum	2,00	2,00	2,00	4,00	-
Sığla yağı	Ortalama değer±Sd	1,0±0,00*,**	1,0±0,00***	1,0±0,00*	2,7±1,337	2,0
	Minimum	1,00	1,00	1,00	1,00	-
	Maksimum	1,00	1,00	1,00	4,00	-

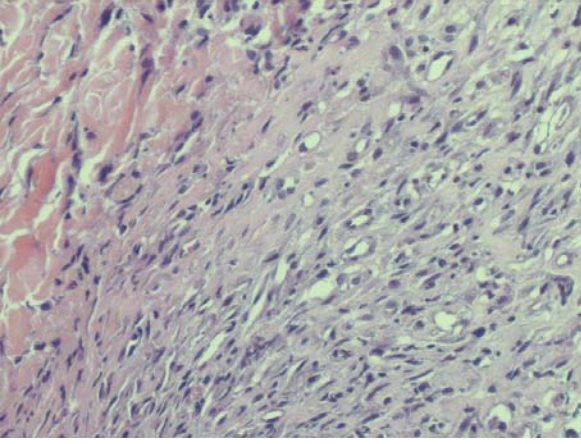
*: Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

** : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)

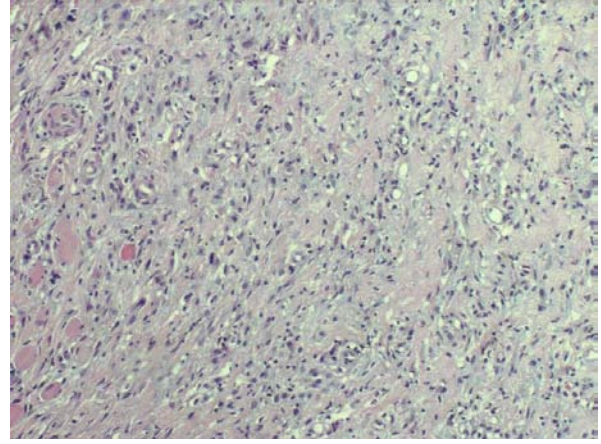
***: Kollagenaz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$)



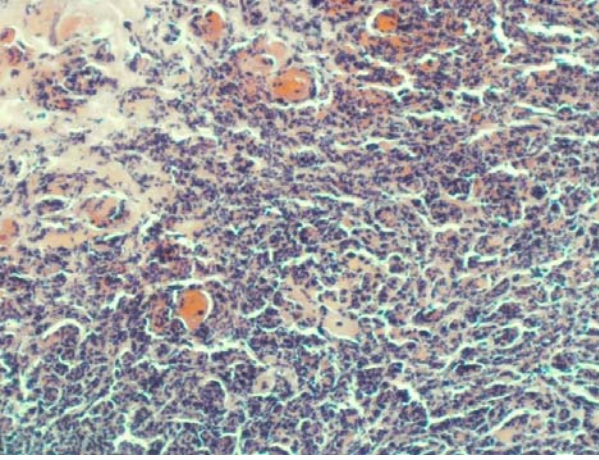
Şekil 34 Grupların histopatolojik skorları



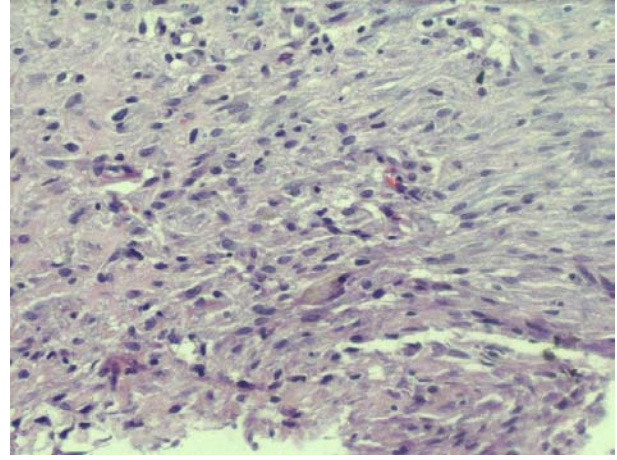
Şekil 35 Akut inflamasyon yok ; H+E, X200



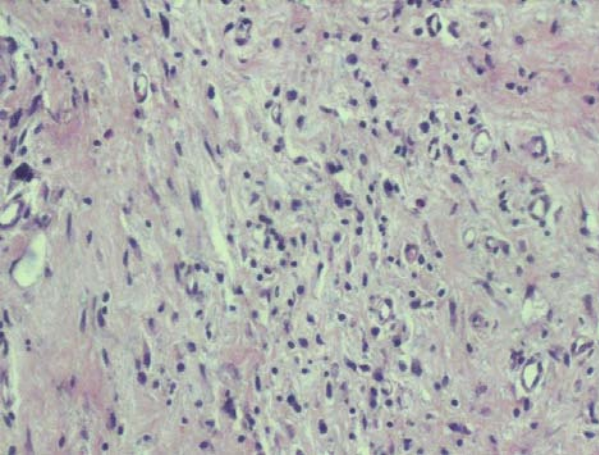
Şekil 36 Akut inflamasyon hafif; H+E, X200



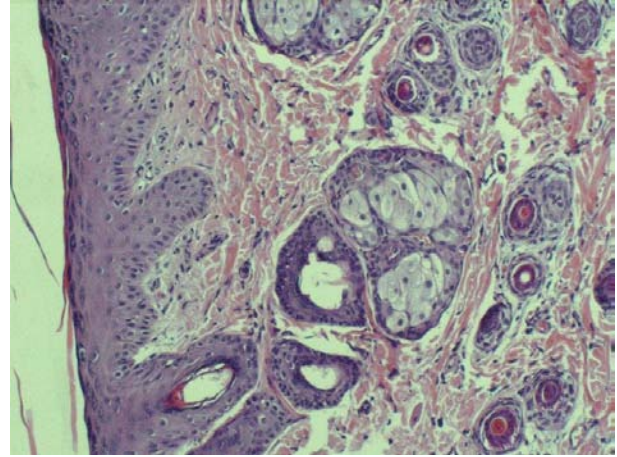
Şekil 37 Akut inflamasyon şiddetli; H+E, X200



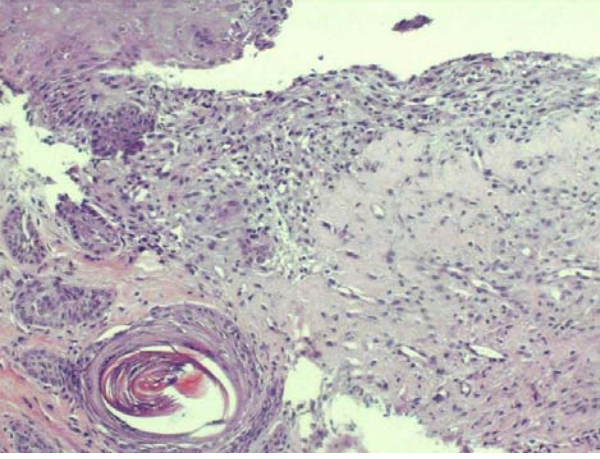
Şekil 38 Kronik inflamasyon yok H+E, X 200



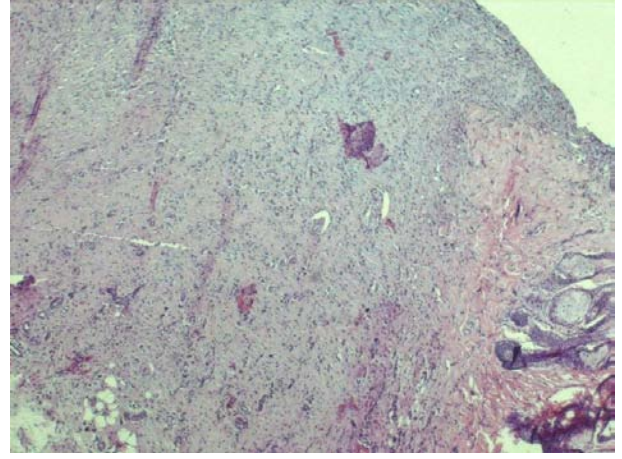
Şekil 39 Kronik inflamasyon hafif; H+E, X200



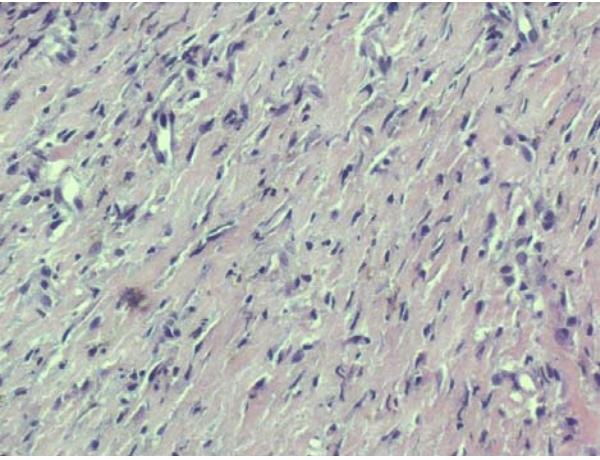
Şekil 40 Fibrozis yok; H+E, X100



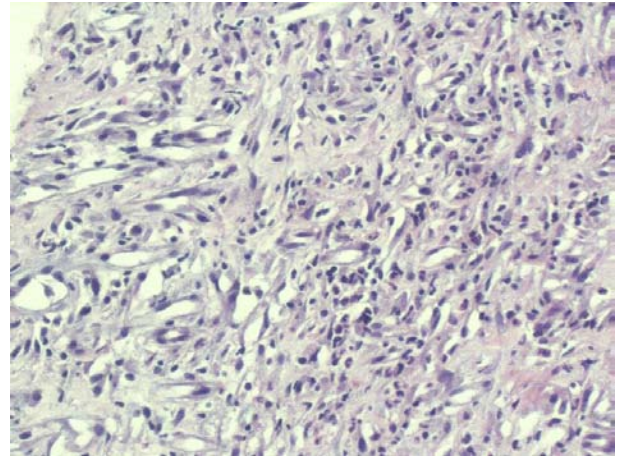
Şekil 41 Fibrozis hafif; H+E; X 100



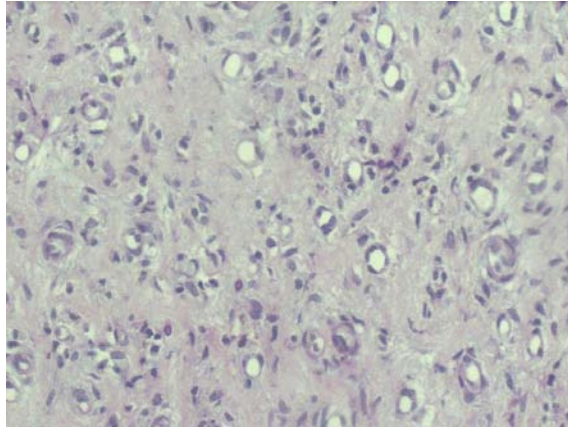
Şekil 42 Fibrozis şiddetli; H+E, X50



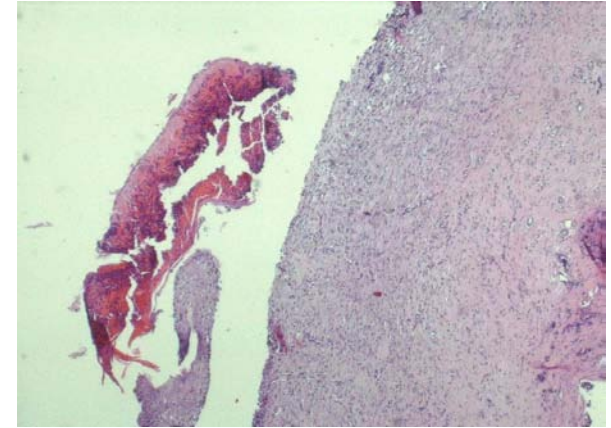
Şekil 43 Damar proliferasyonu yok; H+E, X100



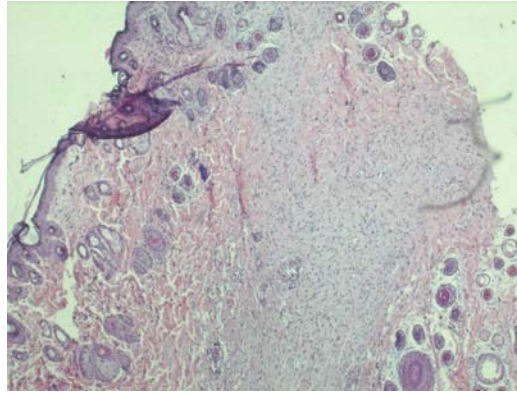
Şekil 44 Damar proliferasyonu hafif; H+E, X 100



Şekil 45 Damar proliferasyonu şiddetli; H+E, X100



Şekil 46 Yara yüzeyinde kapanma yok; H+E, X50



Şekil 47 Yara yüzeyinde kapanma var; H+E, X50

4.3 Yara İyileşme Süresi Ve Yara Alanlarının Analiz Sonuçları

Her deney grubunun iyileşme süreci izlendikten sonra kaçınıcı günde iyileştikleri saptandı ve her grubun ortalama iyileşme süreleri bulundu.

Sham grubundaki ratlarda oluşturulan yaralar en erken 18. günde, en geç 31. günde iyileştiler. Ortalama iyileşme süresi $23,6 \pm 4,427$ gündü. Kontrol grubundaki ratlarda oluşturulan yaralar en erken 18. günde, en geç 30. günde iyileştiler. Ortalama iyileşme süresi $23,8 \pm 3,705$ gündü. Kollagenaz grubundaki ratlarda oluşturulan yaralar en erken 15. günde, en geç 21. günde iyileştiler. Ortalama iyileşme süresi $17,1 \pm 2,378$ gündü. Sığıla yağı grubundaki ratlarda oluşturulan yaralar en erken 15. günde, en geç 21. günde iyileştiler. Ortalama iyileşme süresi $16,5 \pm 2,013$ gündü. Yaraların tam iyileşme süreleri tablo XV’de gösterilmiştir.

Tablo XV Bütün deney gruplarında yaraların tam iyileştiği günler

	Sham(gün)	Kontrol(gün)	Kollagenaz(gün)*,**	Sığıla yağı(gün)*,**
1	22	21	18	18
2	21	21	15	16
3	25	26	15	15
4	18	23	17	15
5	29	30	18	15
6	18	21	15	15
7	27	24	15	18
8	24	26	16	15
9	31	28	21	21
10	21	18	21	17
Ortalama±Sd	$23,6 \pm 4,427$	$23,8 \pm 3,705$	$17,1 \pm 2,378$	$16,5 \pm 2,013$

*: Sham grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ($p < 0.05$)

***: Kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ($p<0.05$)

Tablo XV’de grupların ortalama tam iyileşme günleri karşılaştırılmıştır. Buna göre sham grubunda tam iyileşme süreleri ortalama $23,6\pm 4,427$ gün, kontrol grubunda ortalama $23,8\pm 3,705$ gün, Kollagenaz grubunda $17,1\pm 2,378$ gün ve sıgla yağı grubunda $16,5\pm 2,013$ gün olarak bulunmuştur. Varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05’ten küçük çıktığı için gruplar arasında iyileşme süreleri açısından anlamlı farklılık vardır ($\text{sig}=0,045<0,05$). Tam iyileşme sürelerine göre gruplar ikişerli olarak Tamhane’s T2 testi ile incelendiğinde sıgla yağı ve kollagenaz içeren pomat ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaralar kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha erken iyileştiler.

Gruplar 3, 6, 9, 12, 15 ve 18. günlerde ölçülen yara alanlarına göre varyans analizi (Anova) ile karşılaştırıldıklarında: tüm gruplar arasında 3 günde bir ölçülen yara alanlarına göre incelemede $p<0,005$ bulunduğundan gruplar arasında anlamlı farkın olduğu saptandı ve Tablo XVI’da görülen sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 48).

Tablo XVI Grupların 3, 6, 9, 12, 15 ve 18. günlerde ölçülen yara alanlarına göre karşılaştırılması

Gün	Sham+(Ortalama±Sd)	Kontrol+(Ortalama±Sd)	Kollagenaz+(Ortalama±Sd)	Sıgla yağı+(Ortalama±Sd)	Test istatistiği
3	156,90±8,464	154,20±13,910	133,80±19,679*	92,17±43,404*,**	P<0,005
6	145,30±17,224	126,10±8,319*	122,20±16,538*	90,80±17,818*,**,***	P<0,005
9	66,90±16,305	73,30±15,405	35,60±17,095*,**	30,80±10,962*,**	P<0,005
12	41,30±13,350	35,50±12,912	15,00±7,512*,**	12,30±4,808*,**	P<0,005
15	28,80±10,591	21,40±7,026	8,20±3,910*,**	6,50±1,779*,**	P<0,005
18	16,30±8,882	13,0±4,472	3,25±0,500*,**	2,33±0,577*,**	P<0,005

*: Sham grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ($p<0.05$)

***: Kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ($p<0.05$)

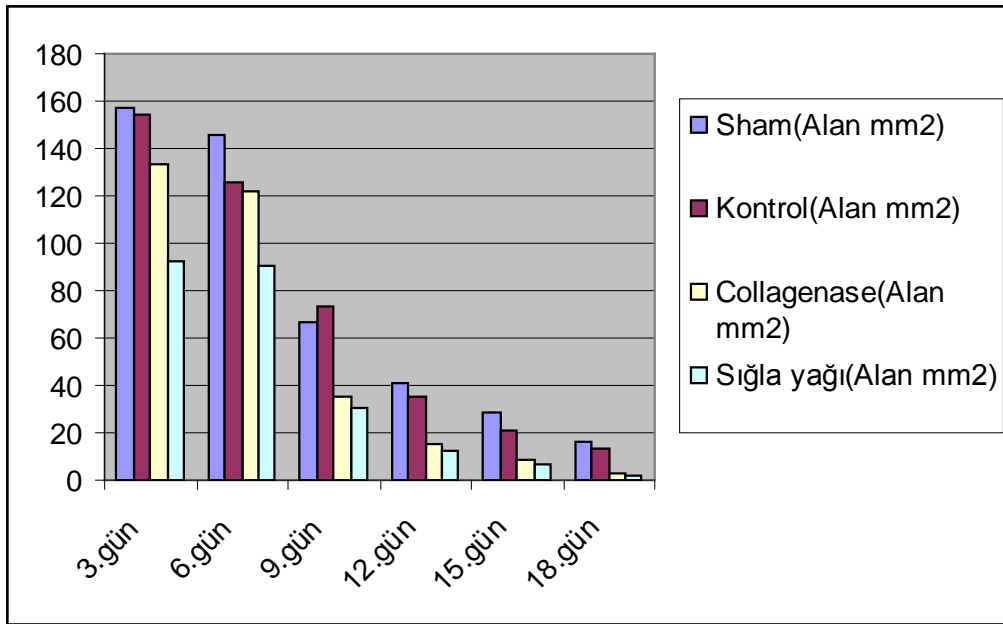
***: Kollagenaz grubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç ($p<0.05$)

3. gün deney grupları arasındaki fark karşılıklı olarak Tamhane’s T2 testi ile incelendiğinde sıgla yağı ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaralar sham ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla küçüldü ($p<0.05$). Kollagenaz

grubundaki yaralar sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla küçülmesine($p<0.05$) rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir(Tablo XVI).

6'ncı, 9'uncu, 12'inci, 15'inci ve 18'inci gün deney grupları varyans analizi (Anova) sonucunda sig (significance) değeri 0,05'ten küçük çıktığı için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır($sig=0,000<0,05$). Gruplar arasındaki fark karşılıklı olarak Tamhane's T2 testi ile incelendiğinde 6. günde sıgla yağı ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaralar diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla küçüldü(Tablo XVI). Diğer günlere baktığımızdaysa kollagenaz ve sıgla yağı arasındaki farkın kaybolduğu ve istatistiksel olarak kollagenaz ve sıgla yağı ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaralar sham ve kontrol gruplarına olarak anlamlı bir şekilde daha fazla küçüldüğü izlendi(Tablo XVI).

Veriler az olduğu için 21. gün yara iyileşme alanları istatistiksel incelemeye alınmamıştır.



Şekil 48 Grupların 3, 6, 9, 12, 15 ve 18. günlerde ölçülen yara alanlarına göre karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Çeşitli tesirler sonucu yaralanan organizmanın, canlılığını devam ettirmesi için bu yaralarla baş etmesi zorunludur. İyileşen bir yara, tıpkı bir organda olduğu gibi son derece kompleks ve dinamik yapıdır. Yara iyileşmesi; çok sayıda hücre tipinin içinde yer aldığı ve bu hücrelerden salınan sitokinlerin, mediatörlerin işe karıştığı ve ekstrasellüler matriks ile ilişkili kompleks olaylar zinciridir(23-26,39,72). Yara iyileşmesiyle ilgili birçok bilimsel araştırma yapılmasına, teknoloji ve tıp alanlarında baş döndürücü gelişmelere rağmen bu konuyla ilgili

kesin bilgilerin var olduğunu söylemek mümkün değildir. Ancak yapılan araştırmalar ile birlikte her geçen gün bilgi dağarcığı gitgide genişlemektedir(24,27,30-32).

İyileşme süreci doku bütünlüğünün bozulmasını takiben başlayan günler, aylar hatta yıllar sürebilen birbirinin içine girmiş, karmaşık bir takım etkiler ile birbirini izleyen sınırlarını tam çizmenin mümkün olmadığı aktif dinamik bir süreçtir(6,18,26,29). Normal bir yara iyileşmesi; hemostatik/inflamatuar faz, proliferatif/sellüler faz ile olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazlarını içerir(19,26,60,70). Bu fazlardan herhangi birinde oluşacak gecikme veya olumsuzluk yaranın kapanmaması ve iyileşmede gecikme ile sonuçlanır(25,26,97). Yara ayrılması ve yara iyileşmesinin gecikmesi cerrahide ciddi bir problem olarak hala önemini korumaktadır. Bu nedenle çeşitli klinisyenler tarafından topikal ve sistemik olarak birçok ajan kullanılmıştır. Yara bakımında esas amaç, yarada en iyi kozmetik ve fonksiyonel sonuçların sağlanması ve yara iyileşmesinde rol alan faktörleri (inflamatuar hücreler, trombositler, mediatörler, hücre dışı matriks vb) etkileyerek bu süreyi kısaltmak ve ideal en az bir skar oluşturmayı sağlamaktır(2,6,26,55,68,117).

Yara iyileşme süreci üzerine bir çok lokal ve sistemik faktör etki eder. Bu faktörlerin ortak özelliği, yara dudaklarındaki kollajen fibrilleri üzerine etki etmeleridir. Yara dudaklarının kollajen içeriğinin niteliği ve niceliği, yaranın iyileşme sürecinde dayanıklılık ve sağamlığını belirler(6,24,54,77). Yara iyileşme süreci ve komplikasyonların ortaya çıkışı, değişik etkenlere bağlıdır. Hastanın yaşı, kalp, akciğer böbrek gibi sistemik hastalıkları, aterosklerotik değişiklikler, hipoproteinemi, avitaminz, çinko, bakır eksikliği, anemi, kullandığı ilaçlar, yara yerindeki nekrotik dokunun varlığı, yara yeri enfeksiyonu bu etkilerden bazılarıdır(23,24,30,61,80,87). Yara iyileşme sürecini olumlu etkileyebilecek faktörler, sonuçta komplikasyonlarıda azaltacaktır. Vitamin A, K ve C, kolagenaz, Cu, Zn, artmış kapiller perfüzyon yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerden bazılarıdır. Vitamin A normal hücre diferansiyasyonu ve epitel keratinizasyonu için kofaktör olmaktadır. Vitamin C yara iyileşmesinin g kazanmasında kritik unsur olup kollajen çapraz bağlanma işleminde prolin, lizin hidrosilasyonunu katalize eder. Koagülasyon proteinlerinin sentezi için K vitamini gerekir. K vitamini eksikliği, yara yerinde aşırı kanamaya ve dolayısıyla anormal matriks gelişmesine yol açar. Çinko DNA sentezi, protein sentezi, mitoz, sellüler proliferasyon gibi birçok enzimatik reaksiyonda kofaktör olarak rol alır. Çinko eksikliği fibroblast proliferasyonu ve epitelizasyon işlemlerinin gecikmesine yol açar(2,27,53,70,73).

Açık yara fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla beraber, tedavide de yeni prensipler ve yöntemler gelişmektedir. Yaralanma sonucu, yara yüzeyinden olan sıvı, ısı, protein ve elektrolit kayıplarının iyileşmeyi olumsuz yönde etkilediği kabul edilmiştir. Dehidratasyon sonucu oluşan doku kuruluğu ve ısı kaybının canlı dokularda nekroza yol

açtığı, hücre gelişimi ve üremesini, dolayısıyla iyileşmeyi durdurduğu belirlenmiştir. Ayrıca açık yaralar lökositlerin yaşam ve fonksiyonları için kötü bir ortam oluşturur. Böylesi bir ortamda lökositler yara yüzeyinden derinlere göç eder. Bunun sonucu bakteri ve nekrotik doku eliminasyonundan uzak kalınır ve nekrotik gelişim dermal tabakaya ilerleyebilir(2,6,23-29,117). Nekrotik dokuda kan akımı yoktur; yaşamayacağı kesindir. Bu nedenle çıkarılması zorunludur. Yaranın istenen şekil ve sürede iyileşmesinin gerçekleşebilmesi için yarada bulunan nekrotik dokuların uzaklaştırılması gerekir. Debritman yara yönetiminin önemli araçlarından biridir. Yaradaki yabancı cisimlerin, ölü dokuların ve kötü iyileşmiş dokuların uzaklaştırılması; kontraksiyon, epitelizasyon, granülasyon sürecini ve iyileştirmeyi kolaylaştırır. Debritmanın en direkt formu cerrahi eksiziyondur. Nekrotik dokular, kan dolaşımı olan sağlam dokular meydana çıkana kadar kesip çıkartılmalıdır(4,5,15,19,39,66,77,91,101). Daha az agresif debritmana ihtiyaç duyulan yaralar için başka daha makul seçenekler mevcuttur. Aşağıda alternatif debritman seçeneklerinden bazıları belirtilmiştir.

1-Mekanik debritman; örneğin basınçlı irrigasyon ya da ıslak ve kuru pansumanlar

2-Otolitik debritman; Okluziv bir pansuman, yaralı dokuda nemi tutan ve böylelikle nemli yara iyileşmesini sağlayan materyal olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde 1000 farklı çeşitte okluziv pansuman bulunmaktadır. Buna rağmen, okluziv pansumanlar faydalı olabilecekleri vakaların muhtemelen en fazla %30' unda kullanılmaktadır(1,3). Yapılan çalışmalar nemli bir ortamda yara iyileşmesinin kuru ortama göre daha hızlı gerçekleştirdiğini göstermektedir. Nemli yara ortamı yara iyileşmesi açısından birçok yararlar sağlamaktadır. Bu yaralar nekrotik dokuların debritmanı, proliferasyon ve büyüme faktörlerinin salınımı, hücre gelişiminin uyarılması, proliferasyon ve büyüme faktörlerinin salınımı, hücre gelişiminin uyarılması, anjiogenezisin hızlandırılması ve klinik enfeksiyonun önlenmesidir(163-165). Nemli yara koşulları ölü dokuların atılması için gerekli olan su ve enzimlere sahip olduğu için otolitik debritmanı kolaylaştırır. Yine hücreler ancak nemli bir yara ortamı içinde canlı kalabilirler(166,167). Genel olarak bakıldığında, nemi tutan pansumanlar geleneksel gaz pansumanlarından daha hızlı iyileşme sağlamaktadır. Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda nemli yara pansumanlarının ortalama iyileşme hızında 3-4 günlük bir artış sağladığı saptanmıştır(171).

3-Biyolojik debritman; kurt ve larvalardan istifade edilir. Maggotlar ölü dokular, hücre döküntüleri ve nekrotik yaranın seröz eksudatlarıyla beslenirler. Bunlar nekrotik dokulara ve hatta en küçük yarıklara bile ulaşırlar ve mikrocerrahiye andıran bir tarz içinde sağlam dokulara zarar vermeksizin ağız çengelleri yardımıyla yarayı temizlerler. Larvaların midyesinden salgılanan kollagenaz, tripsin ve kemotripsin benzeri proteolitik enzimler nekrotik

dokuları eriterek eksudat haline getirir. Oluşan eksudat larvalar tarafından sindirilir ve geride temiz, sağlıklı bir granülasyon dokusu bırakır(38).

4-Enzimatik debritleme; noninvaziv bir teknik olan papain-üre ya da kollagenaz gibi ajanlarla yapılan enzimatik debritlemenin yara iyileşmesinde olumlu katkıları olduğu bildirilmektedir. Kollagenaz; kollajen ve elastin liflerini parçalanmasında faydalı olduğu gösterilmiş fakat fibrin üzerine etkisi gösterilmemiştir. Papain-üre ise esas olarak fibrin üzerine etkilidir(38,69,77-79,92).

Çok sayıda enzim preparatları 1940'dan beri klinik olarak kullanılmış ve incelenmiştir. Enzimler yaradaki debritleme ve degradasyonu hızlandırarak yara temizliğinde önemli rol oynarlar. Ayrıca, yara iyileşmesinde anabolik süreçlerin erken başlamasını da sağlar. Bazı çalışmalar da dirençli bakteri ile kontamine yaraların proteolitik enzim tedavisi; topikal antimikrobiyaller ile birlikte kullanılmadıkça tehlikeli olduğu rapor edilmiştir. Bu enzimatik ajanların hızlı kabuk düşmesine neden olduğu gösterilmiş ama dirençli bakteri proliferasyonu ve invazyonuna neden olabileceği belirtilmiştir. Hansbrough ve arkadaşları kollagenaz pomat kullanılan olgularda, polimiksin-B sülfate veya bacitrasin tozlarının tedaviye eklenmesi ile yara enfeksiyonunun azaltılabileceğini bildirmişlerdir(52,64,69,75,79,89,120). Bunun yanında yara iyileşmesinde kullanılan topikal antiseptik ajanların yararları bazı araştırmacılar tarafından hala tartışma konusudur. Bazı araştırmacılar; antiseptik ajanların sitotoksik etkileri olduğundan bunların yerine antiseptik şartlara uyulup dokuyu travmatize etmemeye özen göstererek yapılan müdahalelerin enfeksiyonu önlemede daha etkili olduğu görüşündedir. Bununla birlikte yara iyileşmesinde enfeksiyon varlığı ciddi problem oluşturduğundan, enfekte yaralarda kollagenaz ve diğer proteazları içeren preparatların tek başına uygulanmasının morbiditeyi önemli derecede arttıracığından; cerrahi debritlemenin göz ardı edilmemesi ve enfekte yaralarda topikal antiseptiklerin tedaviye eklenmesi önerilmektedir(171-174).

Sığıla yağı eski zamanlardan beri halk arasında açık yara iyileşmesinde kullanılmaktadır. Özellikle yanık yaralarında, dekübitis yaralarında kullanılmıştır. Yara üzerine lokal uygulandığında yara üzerinde ince bir bariyer oluşturarak yara yüzeyinin havayla temasını önler. Böylece oluşan nemli ortam yara epitelizasyonunu hızlandırmakta ve otolitik debritlemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca yaradaki sinir uçlarının hava ile teması kesildiği için analjezik etkide oluşturmaktadır. Sığıla yağı yüksek viskoziteye sahip olduğundan dokularda oluşan ödem sıvısının absorpsiyonunu sağlamakta ve böylece turgoru düzelen dokunun kanlanması artmaktadır(27). Sığıla yağı %45 oranında fenolik bir bileşik olan sinamik asit ihtiva etmektedir. Sinamik asit ihtiva eden bitki ekstraktları ve propolis ile yapılan çalışmalar bu maddenin antioksidan, antibakteriyel ve antiinflamatuar özelliğini

ortaya koymuştur. Yine bu çalışmalarda sinnamik asidin bazı hücreleri lipid peroksidasyonundan ve çeşitli oksidatif toksinlere bağlı hasardan koruduğu gösterilmiştir(175-179). Sinnamik asit türevi olan curcumin ile yapılan çalışmalarda bu maddenin antimikrobiyal, antikarsinojenik, antimetastatik, anjiogenezisi düzenleyici birçok özelliği ispatlanmış olup doz aşımında toksik özelliği gösterilmemiştir. İnsanlar üzerindeki farmakokinetiği hakkında çok detaylı bilgiler bulunmamakla birlikte sığla yağı; sinnamik asit ile antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etki gösterdiği düşünülmektedir(175). Yine ihtiva ettiği fenil propil alkolünde antibakteriyel etkide rol oynadığı düşünülmektedir. Cerrahi girişimler sonrasında yara iyileşmesi hem hastanın iyileşmesi hem de yapılan ameliyatın başarısı için en önemli öğelerden biridir. Bu nedenle pansuman amaçlı birçok solüsyon, jel, kollajen örtüler, enzim preparatları ve bal gibi doğal ürünler kullanılmıştır. Bitkisel ve doğal ürünlerin kullanımı son yıllarda popülerite kazanmış olup alternatif tıbbi tedavi metodu olarak dünyada kabul görmüştür(175-178). Bu çalışmanın planlandığı tarihe kadar literatürde bitki reçinesi olan sığla yağının yara iyileşmesi üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamış olması nedeniyle biz de çalışmamızda, yara iyileşmesini hızlandıracak, oluşan sorunları ortadan kaldıracak ve yapılan bir ameliyatın hızla ve sağlıklı olarak iyileşebilmesini sağlayacak doğal bir yöntemin uygulanmasını araştırdık(32-34,132). Çalışmamız sığla yağının tam kalınlıkta yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır.

Bu araştırmamızda deney hayvanı olarak Wistar cinsi 170-250 gr ağırlığındaki erkek ratları kullandık. Ratları seçme sebebimiz literatürlerde sıkça karşılaştırılması yanında kolay ulaşılabilirliği, uysal olmaları, maliyetinin az olması ve çalışma kolaylığı sağlamasıdır. Uygulanacak yara iyileşmesi modeli için yeterli miktarda yara oluşturacak kadar bir cilt alanına sahip olmaları da tercih nedenleri arasındadır. Ayrıca uzun zamanlardan beri ratlar üzerinde yapılan araştırmalardan elde edilen geniş bilgi tabanının bulunması da tercih nedenlerimizdendir. Literatür taramasında yara iyileşme modelinde genellikle kemirgen hayvanların kullanıldığı ve içlerinden en çok ratların tercih edildiği görülmektedir(2,4,5,49,50,62,72).

Yara iyileşmesi çalışmaları; derilerinde birbirinden bağımsız kıl folikülleri bulundurmaları ve bu yönleriyle insan derisine yakın bir çalışma ortamı verdiklerinden dolayı genellikle kobaylarda yapılmaktadır(42). Rat cilt yara iyileşmesi tamamen insan yara iyileşmesini taklit etmez, çünkü morfolojisi farklıdır. Rat derisinin elastik olması ve cilt altı dokuya sıkıca yapışmadığından dolayı ratlar gevşek derili hayvanlar olarak bilinir. Hansbrough ve arkadaşları rat derisindeki bu gevşek özelliğin yara kontraksiyonuna izin vererek yaranın kapanmasında önemli rol oynadığını açıklamıştır(53). Sonuç olarak, yara kontraksiyonu epitelizasyonu hızlandırarak rat yaralarının iyileşme zamanını düşürecektir.

Çalışmamızda kullandığımız ratları erkek seçme nedenimiz dişi ratların menstruel sikluslarına bağlı hormonal değişimlerinin yara iyileşmesini etkileyecek olmasıdır. Bu konuya genel olarak yapılan çalışmalarda dikkat edildiğini tespit ettik ancak Hart ve arkadaşlarının yaptığı gibi karışık cinsiyette rat kullanılan çalışmalara da rastladık(42,94,102).

Ayrıca rat gibi kemirgenlerin bu tür çalışmada kullanılması eleştirilmektedir. Conlan ve Posten arkadaşlarının getirdikleri eleştirileri rat cilt yapısının insan cildine benzememesine dayandırmaktadır. İnsan cildinin bağ dokusu açısından zengin ve altındaki dokulara sıkı sıkıya bağlı olmasına rağmen kemirgenlerin gevşek cilt yapısı, bağ dokusu fakirliği ve vücut içyapısına gevşek bağlanımı yönleriyle farklılık arz etmektedir(141,142). Ratlarda; insanlarda bulunmayan subkutanöz panculus cornosus bulunmaktadır. Bu kas cilt iyileşmesi için hem kasılma hem de kollajen oluşumuna katkıda bulunmaktadır. İnsan deri yara iyileşmesini ratlardan ayıran bir farkta ratların kollajen sentezi için vitamin C'ye ihtiyaç duymamasıdır. Ratlar sahip oldukları L-gluconolactone enzimi sayesinde L- gluconogammalactonu C vitaminine dönüştürür. Primatlar ve kobaylar bu enzime sahip değildir. Bu yüzden alınacak sonuçların insan çalışmalarına referans olamayacağını bunun yanında insan cilt yapısına en yakın doku olan domuz çalışmalarının yapılması gerektiğini belirtmektedirler(41,72).

Kontrol grubu olarak tasarladığımız S ve K grubunu oluşturmakta ki amacımız; S grubu ile hiçbir müdahale bulunmayan bir insiziyon yarası ve K grubu ile serum fizyolojikle pansuman yapılan insiziyon yarasının ratta, iyileşme periyodunu izlemek ve diğer gruplarla karşılaştırmaktır.

Yara iyileşmesi modeli olarak 1,5 cm çapında dairesel tam kat deri defekti seçtik. Bu modeli seçmemizin sebebi Geranemus ve arkadaşlarının kabuk olmaksızın yara iyileşme modeline uygun olması ve yara iyileşmesini değerlendirmek için alan ölçümü testine en uygun model olduğunu düşünmemizdir(148). Ayrıca bu model ile hücresel, kimyasal ve yara kontraksiyon derecesinin ölçülmesi daha iyi değerlendirilebilmektedir. Literatür incelendiğinde bizim gibi dairesel tam kat deri defekti modelini seçenlerin yanında insiziyon modelini seçen çalışma modellerine de rastlanılmaktadır(74,84). İnsiziyon yaraları gerilme direncini ölçmeye uygun olmakla birlikte yara kontraksiyon derecesinin ölçülmesinde yetersiz kalmaktadır. Razavi ve arkadaşları, Zhu ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında panç ve dairesel tam kat yaralarda histolojik incelemeyle birlikte yaraların kontraksiyon derecelerini ölçerek sonuca varmışlardır. Aynı şekilde Zhu ve arkadaşları plastik bir cetvelle kontraksiyon seviyesini ölçmüş ve alan hesaplaması yaparak sonuca gitmiştir(88,100). Yine literatürlere baktığımızda en fazla ratların sırt bölgesi tercih edildiğinden bizde sırt bölgesinde defekt oluşturduk.

Yara iyileşmesinde ilk önemli prensiplerden birinin yaradan nekrotik dokuların ve

debrinin uzaklaştırılması olduğunu ilk 1937 yılında Reid tarafından belirtilmesinden sonra birçok araştırmacı tarafından yabancı cisimlerin ve devitalize dokuları uzaklaştırıcı çeşitli ajanlar yara iyileşmesi tedavisinde kullanılmıştır(16,17,93). Litik etkisi sayesinde bu amaçla kullanılan ajanlardan biri kollagenazdır. Polimorfonükleer granüositlerin konnektif dokuya yüksek oranda infiltre olma yeteneği vardır. Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı süresince ekstrasellüler matriksin yıkımı infiltre olan lökositlerden salgılanan kollagenaza bağlıdır. kollagenazın parçalanması sonucu ortaya çıkan kollajen parçacıklarının fibroblastlar ve makrofajların kemotaksisini arttırdığı bilinmektedir. Yara tedavisinde kollagenaz içeren pomat ve sığla yağı uygulanan yaraların makroskopik olarak kontrol ve sham grubuna göre iyileşme süreci içerisinde granülasyon dokusunun daha düzgün ve canlı olduğu, histolojik parametreler ışığında granülasyon dokusunun ve yara iyileşmesinin daha sağlıklı geliştiği, konjesyone damarların tamamen ortadan kalktığı söylenebilir. Takahashi ve arkadaşları da clastridium perfringens kaynaklı enzimatik ajan kullanmışlar ve Hemotoksilen-Eosin ile boyanmış preparatlarda dermal kollajen liflerin oluşumunun ve kapiller tomurcuklanmanın arttığını, ek olarak kollajen liflerin diziliminin de düzenli olduğunu göstermişlerdir(143). kollagenaz ve diğer proteazları içeren preparatlar henüz çok yaygın olmamakla beraber, özellikle sekonder yaralarda nekrotik dokuların uzaklaştırılması ve canlı granülasyon dokusuna olanak sağlaması nedeniyle yara bakımında gittikçe daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Bununla beraber cerrahi debritlemenin göz ardı edilmemesi ve enfekte yaralarda topikal antiseptiklerin tedaviye eklenmesi önerilmektedir. Topikal enzim tedavisiyle birlikte topikal antimikrobiyal ajanların birlikte kullanımı sistemik sepsis potansiyelini azaltabilir(16,17).

Yaranın 15. gününde ratların sırtından aldığımız örnekler histopatolojik incelemeye %10'luk formol içinde gönderildi. Taçyıldız ve arkadaşları histolojik incelemelerinde örnekleri tanımlarken kollajen yoğunluğu, fibroblast aktivasyonu, miyofibroblast aktivasyonu, kollajen regülaritesi, neovaskülarizasyon ve hücre infiltrasyonu parametrelerine derecelendirmişler ve sonunda örnekleri yara iyileşmesi bitmiş veya gecikmiş şeklinde skorlamışlardır(75). Histolojik inceleme subjektif bir bilim dalıdır. Aynı örneklere bakan farklı patologlar farklı sonuçlar verebilir. Hatta aynı patolog bile baktığı bir lezyonu farklı bir zamanda tekrar değerlendirildiğinde farklı sonuç verebilir. Yani tekrarlanabilirliği ve kantite edilmesi oldukça zordur. Bu eksiklikleri bertaraf üzere örnekler tek bir patolog tarafından randomize seçilip, isimlendirilmiştir. Makroskopik inceleme aşamasında akut ve kronik inflamasyon, damar proliferasyon, fibrozis ve yara yüzeyinin kapanması bulguları göz önünde bulundurulmuştur. Dokular hemotoksilen-eosin(H+E) ile boyanıp 200 büyütmede ışık mikroskobuyla incelendiğinde sığla yağı uygulanan grupta akut inflamasyona ait bulguya

rastlanmazken, kollagenaz uygulanan grupta hafif derecede inflamasyona rastlanılmıştır. Buna göre kollagenaz ve sıgla yağı ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaralarda sham ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az akut inflamasyon bulguları gözlemlendi($p<0.05$). Kronik inflamasyon ise sıgla yağı ve kontrol grubunda gözlenmezken, kollagenaz ve sham grubunda hafif derecede saptanmıştır. H+E ile boyanan dokuların 100 büyütmede ışık mikroskopuyla incelemesinde damar proliferasyonu SY grubunda izlenmemiş, C grubundaysa hafif derecede, S ve K grubunda hafif ve orta derecede saptanmıştır. Buna göre sıgla yağı ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaralarda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az damar proliferasyonu gözlenmiştir($p<0.05$). Yara iyileştikçe oluşan damar proliferasyonu gerilemektedir(5,18,32,50). Fibrozis ve yara yüzeyi bakımından H+E ile boyanan dokuların 50 ve 100 büyütmede incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Öngören ve arkadaşları histolojik olarak yara iyileşmesinde olumlu faktörleri; fibrozisin belirgin olması, granülasyon dokusu ve konjesyone damarların tamamen ortadan kalkmış olması ve ülserin mevcut olmaması olarak tanımlamışlardır(84).

Dört gruptaki ortalama iyileşme günleri karşılaştırıldığında sham grubunda tam iyileşme süreleri ortalama $23,6\pm 4,427$ gün, kontrol grubunda ortalama $23,8\pm 3,705$ gün, kollagenaz grubunda ortalama $17,1\pm 2,378$ gün ve sıgla yağı grubunda ortalama $16,5\pm 2,013$ olarak bulundu. Deney gruplarının iyileşme süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut olup, sıgla yağı ve kollagenaz uygulanan yaralar kontrol ve sham grubuna göre daha erken iyileşmişlerdir($p<0.005$). Yara alanını ölçme testi ile bir yaranın en belirgin iyileşme belirtisi olan yara yüzeyinin kapanması ölçülmektedir. Oluşan bir yara kollajen fibrillerin sayısı ve kontraksiyon ile kapanır ve bu işlem ne denli yoğun ve hızlı olursa o kadar iyi sonuç alınır. Açık yaraların kapanma sürecini hızlandıran ve yara kenarlarının sentripedal hareketi olarak bilinen kontraksiyon, miyofibroblast ve bunun çevresindeki ekstrasellüler matriks ile yaptığı bağlantılar tarafından yönetilir. Yara kontraksiyonu açık yaraların kapanmasında %80 oranında etkilidir(24-26,60). Çalışmamızda kollagenaz ve sıgla yağı ile yara bakımı uygulanan gruptaki yaraların alanları sham ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla küçüldü.

Bu çalışmada oluşturduğumuz yarada antioksidan enzimlere bakmamızdaki amacımız, antioksidan enzimlerin artışının oksidatif strese yanıt oluştuğunu göstermesidir. Yara, travma, iskemi gibi durumlar oksidatif stresi artırmakta, inflamatuvar hadisenin gerilemesinde olduğu gibi oksidatif stresin azaldığı durumlarda ise azalmaktadır(62). Çalışmamızda biyokimyasal parametre olarak yaralanma sonucu oluşan oksidatif stres durumunda oksidatif stres

göstergesi olarak malondialdehit(MDA), oksidatif strese yanıtı değerlendirmek için antioksidanlardan süperoksit dismutaz(SOD), katalaz(CAT), glutatyon (GSH) ve inflamasyonu değerlendirmek için myeloperoksidaz(MPO) çalışıldı. Yaralanmayı takiben oluşan lokal doku hasarı sonrası oluşan serbest oksijen radikalleri, hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonunu oluşturur. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerine atağı sonucu başlar. MDA ise, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Serbest radikallerin artması veya azalmış antioksidan savunma mekanizması serum MDA seviyesinde artışa neden olur. Çalışmanın ilk gününde MDA değerleri açısından gruplar arasında fark bulunamamıştır. Yara iyileşmesi sonrasında alınan doku örneklerinde MDA değerlerinin birinci gün MDA değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi($p<0.05$). Yara iyileşmesi sonrası MDA düzeylerine baktığımızda sıgla yağı ve kollagenaz uygulanan gruplarda sham ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu gözlenmektedir($p<0,05$). Sıgla yağı ile kollagenaz grupları arasındaysa MDA değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Yara mevcudiyeti oksidatif stres oluşturan etkidir. Oksidatif stresin göstergesi MDA' dır. MDA'nın Sıgla yağı ve kollegenaz uygulanan yaralarda sham ve kontrol grubuna göre daha fazla düşmesi oksidatif stresin azaldığına ve yaranın iyileştiğine işaret etmektedir. MDA, biyolojik sistemlerde oksidan stresin spesifik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Sıgla yağı ve kollagenaz ihtiva eden pomatların uygulandığı gruplarda hücre içerisinde antioksidan enzim düzeylerini arttırarak MDA düzeyini düşürmesi bu ilaçların antioksidan etkisini göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler daha önce literatürlerde belirtilen sonuçlara benzerlik göstermektedir(100-106). Çeşitli hastalıkların etkisiyle oksidatif strese cevap olarak antioksidan enzim aktivitelerinde sürekli bir artıştan söz etmek veya enzim inhibisyonu olabileceği konusunda fikir yürütmek zordur. Canlı hastalık durumunda antioksidan mekanizmalarını uygun derecelerde çalıştırarak kendine savunma yolu seçmekte ya da hastalığın çeşidine veya tipine bağlı olarak antioksidan mekanizmalarının çalışması, enzim sentezinin engellenmesi ya da enzim yapısının değiştirilmesi şeklinde baskılanmaktadır (100).

Reaktif oksijen ürünlerinin zararlı etkilerine karşı dokuları korumak için tüm hücrelerde çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar bulunur. Endojen bir antioksidan olan glutatyon, serbest radikal ve süperoksit radikal hasarı ile reaksiyon gösterir ve oksidatif strese karşı hücrel savunmada önemli bir rol oynar. Çalışmamızda yara iyileşmesi sonrası alınan dokularda çalışılan glutatyon düzeyleri incelendiğinde, birinci gün gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik gözlenmekle birlikte; gruplar ikişerli karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Gruplar arasında fark tespit edilmemesi glutasyonun geç dönemde antioksidan özellik gösterdiği düşünülmektedir. Glutasyon, beyin intrasellüler ortamında çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan önemli bir antioksidan maddedir(65,114,119,144).

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu enzimatik mekanizmalar vardır. SOD, Katalaz, GPX gibi endojen antioksidan özelliği olan bu enzimler radikal temizleyici özellikleriyle koruyucu etki gösterirler. SOD; süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren oksidatif strese karşı koruyucu enzimdir. İnsanlarda bulunan SOD enzimi yapısında bulunan Zn, Cu, Mn nedeniyle metaloenzim grubunda olup, oksidatif strese karşı ilk savunmada rol üstlenirler(95,97). Elde ettiğimiz SOD değerleri incelendiğinde birinci gün alınan dokularda çalışılan glutasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir fark olmayıp, grupların ortalamaları birbirine yakın olduğu görülmektedir. Yara iyileşmesi sonrası dokularda çalışılan SOD enzim aktivitesine bakıldığında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olarak yükseldiği gözlenmektedir. Sıgla yağı ve kollagenaz uygulanan gruplardaki SOD değerleri kontrol ve sham gruplarına göre belirgin düşük olduğu gözlenmiştir. Buna göre sıgla yağı ve kollagenaz gruplarında akut ve kronik inflamasyonun gerilediğini ve yaranın iyileştiğini söyleyebiliriz(117,119,144,150).

Katalaz dört tane hem grubu içeren hem enzimdir. CAT; H₂O₂'yi moleküler oksijen ve suya indirgeyerek ortamdan temizler. Yara yeri iyileşmesi sonrası elde ettiğimiz katalaz düzeylerinin incelenmesinde sham ve kontrol grubunda diğer gruplara göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik tespit edildi(93,94, Hüsam, yalçın tez). Bu durum sham ve kontrol grubunda oksidatif stresin devam ettiğini düşündürmektedir. Antioksidan enzimlerin artışı oksidatif strese yanıt oluştuğunu göstermektedir. Bu enzimlerin seviyelerinin ölçümü serbest radikal aracılı hasar konusunda indirek bilgi verir. Bu durum sıgla yağı ve kollagenaz uygulanan yaralarda inflamasyonun gerilediğine ve yaranın iyileştiğine işaret etmektedir.

SOD ve katalazın kontrol ve sham grubunda aşırı yükselmesinin nedeni yara iyileşmesinden sonra hücre içerisinde süperoksit anyon radikalinin arttığına işaret ettiği düşünülmektedir. Dolayısıyla hücre içerisinde oluşan süperoksit radikalleri SOD tarafından peroksit'e dönüşmektedir(50,119,144). Myeloperoksidaz oluşan peroksidi substrat olarak kullanmaktadır. Yara iyileşmesinden sonra alınan doku örneklerinde myeloperoksidazın sham ve kontrol gruplarında; sıgla yağı ve kollagenaz içeren pomat uygulanan gruplara göre yüksek bulunması ortamda bulunan peroksitten kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu da inflamasyonun devam ettiğini göstermektedir. Gerek süperoksit radikali gerekse peroksit

radikali hücre içerisinde spin-rezonans tekniği ile de gösterilebilir(119,151).

Nötrofil infiltrasyon ve aktivasyon parametresi olarak MPO konsantrasyonu ölçüldü. . MPO inflamasyon markırıdır. Sonuçları incelediğimizde yara iyileşmesi sonrası dokularda çalışılan MPO değerlerinin ilk günkü değerlere göre tüm gruplarda istatikselsel olarak anlamlı bir düşüklük gözlemlendi. Sıgla yağı ve kollagenaz içeren pomat uygulanan gruplarda sham ve kontrol grubuna göre daha düşük MPO düzeyleri saptandı, bu da dokuda inflamasyonun belirgin olarak azaldığını düşündürmektedir.

Osman Sağdıç ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sıgla yağının etanoldeki %10'luk konsantrasyonunun birçok bakteriye etkili olduğu, %1,%0,4,%0,2' lik konsantrasyonlarının ise bazı bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Aurelli ve arkadaşları 1992 yılında, Özcan ve arkadaşları 2004 yılında sıgla balsamının %10, %1, 50,4, %0,2 ve %0.1'lik etanoldeki çözeltisinin kültür ortamında bazı bakterilere karşı etkili olduğunu göstermişlerdir(34,35,145).

Günümüzde yara iyileşme mekanizması daha iyi anlaşılmasına rağmen klinik uygulamada yara iyileşmesinde gözlenen sorunlar hala büyük problem oluşturmaktadır. Hayvan modellerinde yara iyileşmesini hızlandıran çok sayıda büyüme faktörü ve sitokinler rapor edilmiş olmasına karşın, yaygın klinik kullanımları söz konusu değildir. Bu maddeler genellikle pahalıdır ve farmakokinetikleri tam bilinmemektedir(40,95,123). Folklorik tıpta kullanılan sıgla yağının antiseptik ve antibakteriyel etkisi ve skatrizan özelliğinden dolayı yara iyileşmesinde etkili olabileceği düşüncesiyle bu araştırmayı planlayarak yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık. Görsel olarak yapılan değerlendirme sonucunda sıgla yağı grubunda iyileşme süreleri daha erken olup, mikroskopik değerlendirme sonucu da rejenerasyon oluşumu açısından belirgin farklılık gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada sıgla yağının yara iyileşmesinde olumlu etkisini görmemize rağmen insanlarda yara tedavisinde kullanımı konusunda güvenilirlik ve etkinlik yapılacak daha geniş çalışmalarla gösterilebilir. Sıgla yağının, yara iyileşmesinde kullanılan birçok pahalı ve sentetik ve biyolojik malzemelerin yerini alacağı kanısındayız.

6. SONUÇ

Çalışmamızda sağladığımız bu bulgular ışığında yara tedavisinde Sıgla yağı kullanımının yara iyileşmesini hızlandırdığı, kontrol grubuna göre belirgin olarak daha temiz ve canlı bir granülasyon dokusu sağladığı, fibroblast ve miyofibroblast aktivasyonunu artırdığı, kollajen liflerinde düzenli ve yoğun bir artışa neden olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Eşer İ, Güneş ÜY: Nemli yara iyileşmesi ve oklüsiv pansumanların nemli yara iyileşmesindeki önemi. C.Ü. **Hemşirelik Yüksekokulu Derg.** 2006;10(2):57-65
2. Pekcici SF: Kobaylarda vitamin C ve vitamin E uygulamalarının yara iyileşmesi ve doku mineral madde düzeyleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi. Konya 2007
3. Köşlü A: Yara iyileşmesinde tarihsel gelişmeler. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi/online. (Ed: Erdem C, Çelebi CR). Ankara, 1996
4. Aydın OE: vasküler endotel büyüme faktörünün diyabetik yara iyileşmesi üzerine etkileri: Farelerde deneysel çalışma. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi. İzmir 2006
5. Şenol M: Yara iyileşmesi. **T Klin J Dermatol.**1995; 5:49-53
6. Kurt Y: Bombesin ve hiperborik oksijenin yara iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. İstanbul 2001
7. Karadağ H: Marsupiyalizasyon işlemi sonrası sekonder iyileşmeye bırakılan pilonidal sinüs olgularında hidrofiber kullanımının yara iyileşmesi üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi. Sivas 2007
8. Ágren MS, Gottrup F, Karlsmark T: Models for use in wound healing research: A survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. **Wound Rep Reg** 2000; 8:83-96
9. Eryılmaz M: Ratlarda iki droglu kemoterapi uygulama protokolünün perioperatif dönemde yara iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. Ankara 1996
10. Kopal C: Rat iskemik yara modelinde topikal glutasyon tedavisinin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. Ankara 2000
11. Ekiz F, Igdem AA, Kırca V. Ve ark: Epidermal büyüme faktörünün anastomoz, fasiya ve cilt yara iyileşmesi üzerine etkisi. **Ulus. Trav. Derg.** 2005: 96-102
12. Adışen E, Aksakal AB: Dermatolojik cerrahinin tarihçesi. **Türkiye Klinikleri J Dermatol.** 2007; 17:192-200
13. Şerafeddin Sabuncuoğlu, "Mücerreb-name: İlk Türkçe deneysel tıp eseri-1468", güncelleştiren Uzel I Suveren, Ankara; Atatürk Kültür Merkezi Başkanlığı Yayınları 1999
14. Arslan MK: Yara İyileşmesi ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler. Akut ve Kronik Yara bakımı. (Ed:Kurt N). Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2003/9-33
15. Cahen IK, Diegelmann RF, Yager DR et. al: Wound care and wound healing. Schwartz Principles of Surgery, 7th Ed. 1999; 8:263-295
16. Ciğer S: Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. (Ed:

erdem C). Ankara, 1996:20-26

17. Clark RAF: Mechanisms of cutaneous wound reappear. In: Freedberg IM, Eisan AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB(eds). Dermatology In General Medicine. 5th ed. Newyork, Mc Graw Hill Inc. 1999:326-340

18. Engin A. Yara iyileşmesi. Temel Cerrahi Cilt 1. (Ed: Sayek İ). Güneş Kitapevi, Ankara 1996:266-277.

19. Erbil Y: Yara iyileşmesi. Genel Cerrahi Cilt 1. (Ed: Kalaycı G). Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara 2002:51-60

20. Özoran Y: Onarım: Hücre rejenerasyonu, fibrozis ve yara iyileşmesi. Temel Patoloji. (Ed: Çevikbaş U). Nobel Tıp Kitabevi, 6. Baskı, İstanbul, Sayfa 55-59

21. Benli K, Kaynaroğlu V, Özcan OE ark: Yara iyileşmesi sürecinin özellikleri ve değişik faktörlerin bu süreç üzerine olan etkileri. **Yeni Tıp Dergisi**. 1995: 12/142-149

22. Witt MB, Barbul A: General principles of wound healing. **Surg Clin. North America**. 1997; 77:509-528

23. Erbil Y: Yara iyileşmesi. Genel Cerrahi. (Ed: Kalaycı G).Nobel Tıp Kitapevleri. Ankara 2002:51-60

24. Kaya E: Yara iyileşmesi. Genel Cerrahi. Ed: Bilgel H. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul 2007:169-191

25. Engin A: Yara iyileşmesi. Temel Cerrahi El Kitabı. (Ed:Sayek İ). Güneş Tıp Kitapevleri. Ankara, 2009:135-140

26. Robbins KC: Temel Patoloji(Basic Patology) Fifth edition. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul 1992:47-60

27. Parsak CK, Sakman G, Çelik Ü: Yara iyileşmesi, yara bakımı ve komplikasyonları. Çukurova üniversitesi 1994

28. Talbot IC, Walter JB: General Patoloji. Seventh edition. 165-180

29. Zubel DD, Hunt TK, Mueller RV, Goodsan WH: Wound healing. Ed: Doherty GM, Way LW. Current Surgical Diagnosis & Treatment. Lange Medical Books. 2002:86-99

30. Zergenoğlu S: Doku tamiri, rejenerasyon, iyileşme ve fibrozis. Temel Patoloji. (Ed: Kuzey GM). 2007:63-73

31. Ertoy D:Yara iyileşmesinin histopatolojisi. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

32. Opinion on Liquidambar spp. Balsam Extracts and Oils (Storax). Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumer 2005 March SSCP/0872/05

33. Howard RA, Thomas JL, Wagenknecht BL, Wyman D: A continuation of the bulletin of

popular information volüme XXI 1961

34. Özcan M, Özkan G, Özçelik S, Sağdıç O: A study on inhibitory effect of sığla tree (liquidambar orientalis mill. Var. Orientalis) storax againts several bacteria. **Phytother.Res.** 2005; 19:549-551
35. Özcan M, Özkan G, Sağdıç O: İnhibitory effects of pollen and propolis extracts at different concentrations againts several bacteria. *Archiv Für Lebensmittelhygiene.* 2004; 55:25-48
36. Berkel A: Sığla Ağacı(liquidambar orientalis Mill.) Odununun Makroskopik Özellikleri Ve Anatomik Strüktürü Hakkında Araştırmalar. **İÜ Orman Fakültesi Dergisi** 1955; 1(2):1-18
37. Efe A: Liquidambar Orientalis Mill. (Sığla Ağacı) Morfolojik ve Palinolojik Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. İ.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü İstanbul 1986
38. Gönenci R, Yaman M, Altuğ ME: Maggot sağaltımının cerrahi alanda kullanımı. **Veteriner Cerrahi Dergisi.** 2002; 8(3-4):116-119
39. Kapan M: Yara iyileşmesinde lokal fenitoin (%1) ve üre (%10) uygulamasının etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara 2006
40. Kesici D: Kortikosteroidlerle baskılanmış yara iyileşmesi üzerine dietilaminoetil-sefadeks'in etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi. Isparta 2003
41. Dorset-Martin WA: Rat models of skin wound skin healing: A review. **Wound Rep. Reg.** 2004 Nov-Dec; 12(6)/591-599
42. Durmaz A: Kütahya ili devlet hastanelerinde doğum sırasında epizyotomi açılan kadınlarda yara iyileşmesini etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi. Mersin 2008
43. Ekmekçi P, Bostancı S: Yara iyileşmesi. **T Klin Dermatoloji** 2002; 12:114-120
44. Engin A: Yara iyileşmesi. (Ed: Engin A). Genel Cerrahi, 1. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık Ltd.Şti. 2000: 131-144
45. Ferguson MWJ, Leigh IM: Wound healing. In: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG Champion RH, Burton JL. *Textbook of Dermatology.* 6th.ed. Oxford
46. Hunt TK, Goodson WH: Wound healing. İn: *Current Surgical Diagnosis and Treatment,* 9th Ed: Lawrence W. Way Appleton and Lande. 1991;95.
47. Keagle JN, Welch WJ, Young DM: Expression of heat shock proteins in a linear rodent wound. **Wound Rep Reg** 2001; 9/378-385
48. Franz MG, Smith PD, Wachtel TL. et. al: Fascial incisions heal faster than skin: A new model of abdominal wall repair. **Surgery** 2001; February 203-208
49. Chavez-Muñoz C, Morse J, Kilani R, Ghahary A: Primary human keratinocytes

- externalize stratifin protein via exosomes. **J. Cell Biochem** 2008: 104/2165-2173
50. Szentivanyi A, Szentivanyi J: İmmünite, immünolojik inflamasyon ve aşırı duyarlılık hücrel ve moleküler temelleri. Sodeman's Fizyopatoloji. Türkiye Klinikleri Yayınevi. Ankara 1991
51. Kundakçı N: Doku harabiyetinin nedenleri. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996
52. Hansbrough JF: Wound healing in partial thickness burn wounds treated with collagenase versus silver sulfadiazine cream. **J Burn Care Reg.** 1995 16/241-247
53. Rohrich RJ, Robinson RJ "Wound healing", **Selected Readings in Plastic Surgery.** Vol 9, Number 3, 1999
54. Yıldırım İ: Somatostatin ve hiperbörük oksijenin yara iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. İstanbul 2000
55. Israelsson LA, Jonsson T: Closure of midline laparotomy incisions with polidioxanone and nylon : The importance of suture technique. **British Journal of Surgery.** 1994: 81/1606-1608
56. Thornton FJ, Barbul A: Healing in the gastrointestinal tract. **Surg clin North Am** 1997: 77/549-573
57. Lawrence WT: Physiology of the acute wound. **Clinics in Plastic Surgery** 1998: 25/321-340
58. Beutler E. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. 2nd edition. New York:Grune &Stratton Co; 1975:261-265.
59. Orida N, Feldman J: Directional protrusive pseudopodal activity and motility in macrophages induced by extracellular electrical fields. **Cell Motil.** 1982 2/243-249
60. Genççelep M, Aslan L, Yüksel H, Karasu A, Bakır B: otolog fibrin yapıştırıcının açık yara tedavisinde iyileşme üzerine etkisi: deneysel çalışma. **YYÜ. Vet. Fak. Derg.** 2001: 12(1-2)/101-104
61. Aras N, Ercan F, Korkmaz A ve ark. : Trombaksan sentetaz inhibitörü UK 38 485'in yara iyileşmesi sürecine etkisi. **Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergisi** C.8, S.3,1990
62. Altuğ ME, Konaş T, Serarslan G: Kafeik asid fenetil esterinin insizyonel yara modelinde plazma lipid peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrikoksit seviyesi üzerine etkisi. **Türkderm** 2007: 41/11-14
63. Ballas CB, Davidson JM: Delayed wound healing in aged rats is associated with increased collagen gel remodeling and contraction by skin fibroblasts, not with differences in apoptotic or myofibroblast cell populations. **Wound Rep Reg** 2002: 9(3)/223-237

64. Dizerega G, Espinoza T, Felix J. et. al: Development of anjiotensin (1-7) as an agent to accelerate dermal repair. **Wound Rep Reg** 2001; 9:238-247
65. Ahrendt GM, Tantry US, Barbul A: İnterabdominal sepsis impairs colonic reperative collagen synthesis. **Am J Surg.** 1996; 171:102-107
66. Brasken P: Healing of experimental colon anastomoses. **Eur J Surg Suppl.** 1991; 566:8-51
67. Brunner UV, Hafner J: Diabetic foot infection. **Curr Probl Dermatol.** 1999; 27:252-258
68. Gamelli RL, Greenhalgh DG. Wound healing coused by infections or nutritionel depletion. **Surgery** 1987; 102:300
69. Donate G, Naidu DK, Payne WG et. al: Enzimatik debriding agents are safe in wounds with high bacterial bioburdens and stimulate healing. **Journal of Plastic Surgery.** 2008: 7/151-156
70. Franz MG: Yara iyileşmesi komplikasyonları. Cerrahide Komplikasyonlar. Güneş Tıp Kitapevi. Ankara 2008/102-103
71. Rabson MC, Philips LG, Lawrence WT. et al: The safety and effect of topically applied recombinant basic fibroblast growth factor on the healing of chronic pressure sores. **Ann Surg.** 1992; 216:401-406
72. Keleş M: Düşük enerji seviyeli lazerin ratlarda yara iyileşmesi üzerine etkisinin histolojik ve deneysel incelenmesi. Doktora Programı, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. Ankara 2006
73. Kabayel DD, Kokino S, Özdemir F: Lineer polikromatik polarize ışınlar ve tıp alanlarında kullanımı. **Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi** 2007 6(1-2)/71-74
74. Astudillo A, Balbin M, Fernàndez AG et. al:Increased inflammation delays wound heakling in mice deficient in collagenase-2 (MMP-8). **FASEB J.** 2007, August; 21(10):2580-2591.
75. Aban N, Akkuş M, Kavak V ve ark: Yara iyileşmesi üzerine kollagenazın etkisi. **Turkish Journal of Trauma** 1998;4(1):7-11
76. Ashcroft GS, Atkinson SJ, Gilliver SC, Ruckshanthi JPD: Androgens influence expression of matrix proteins and proteolytic factors during cutaneous wound healing. **Labarotory Investigation** 2007;87:871-881
77. Gutierrez-Fernandez A, Jahkola T, Prillà E et. al: collagenase-2 (MMP-8) and matrilysin-2 (MMP-46), expression in human wounds of different etiologies. **Wound Rep Reg** 2007; 15:47-57
78. Bilac C, Cilaker S, Ermertcan AT et.al: Comparison of the effects of collagenase and extract of Centella asiatica in an experimental model of wound healing: An immunohistochemical and histopatholigical study. **Wound Rep Reg** 2008; 16:674-681

79. Donate G, Payne WG, Salas RE et. al: Enzymatic debridng agents are safe in wounds with high bacterial bioburdens and stimulate healing. **Access Journal of Plastic Surgery** 2008; 7(8):151-156
80. Farr AL, Lowry OH, Rosebroug NJ, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenpl reagent. **J Biochem** 1951;193: 265-75
81. Davidson JM, Buckley, A McGee GS. et. al: Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing. **J Surg Res.** 1998: 45/145-153
82. Mustae TA, Porras-Reyes BH: Modulation of wound healing response in chronic irradiate tissues. **Clinics in Plastic Surgery.** 1993; 20:465-472
83. Lefebvre-Lavoie J, Lussier JG, Miragliotta V, Theoret CL: Equine ANXA₂ and MMP1 expression analyses in an experimental model of normal and pathological wound repair. **Journal of Dermatological Science** 2008; 51:103-112
84. Aktan Ö, Manukyan M, Ögünç AV ve ark: Süt serumu proteinleriyle baslenmenin sıçanlarda yara iyileşmesine etkisi. **Kocatepe Tıp dergisi** 2004; 5:51-54(ek sayı)
85. Baskovich B, Parnell LKS, Sampson EM, Schultz GS: Wound dressing components degrade proteins detrimental to wound healing. **International Wound Journal** 2008; 5(4):543-551
86. Saydam İM, Seven E, Yılmaz S: Topikal olarak uygulanan nitrofurazon ve rifampisin tam kalınlıkta yara iyileşmesi üzerine etkileri. **C.Ü Tıp Fak. Derg.** 2005;27(3):113-120
87. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, Park SJ: Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. **Journal of Dermatological Science** 2007; 48:15-24
88. Wang Z, Zhu X, Zhang Y et. al: Expression of cyclin-dependent kinase inhibitors, p21_{cip1} and p27_{kip} during wound healing in rats. **Wound Rep Reg** 2001; 9(3):205-212
89. Abel M, FriessW, Metzmacher I, Ruth P: In vitro binding of matrix metelloproteinase-2(MMP-2), MMP-9, and bacterial collagenase on collagenous wound dressings. **Wound Rep Reg** 2007; 15:549-555
90. Pech CM, Subramaniam K, Stacey MC, Wallace HJ: Induction of MMP-1, MMP-3 and TIMP-1'in normal dermal fibroblasts by chronic venous leg ulcer wound fluid. **International Wound Journal** 2008; 5(1):79-86
91. Chan BMC, Morris VL: Interaction of epidermal growth factor, Ca₂₁ and matrix metalloproteinase-9 in primary kerotinocyte migration. **Wound Rep Reg** 2007; 15:907-915
92. Benhamou PY, Lardy B, Muller M et. al: Matrix metalloproteinases and diabetic foot ulcers: The ratio of MMP-1 to TIMP-1 is a predictor of wound healing. **Diabetic Medicine** 2008; 25:419-426

93. Almholt K, Green KA, Ploug M et. al: Profibrinolytic effects of metalloproteinases during skin wound healing in the absence of plasminogen. **Journal of Investigative Dermatology** 2008; 128/2092-2101
94. Cullen B, Gunnigle S, Hart J et. al: the role of oxidised regenerated cellulose/collagen in wound repair: effect in vitro on fibroblast biology and invivo in a model of compromised healing. **The International Journal of Biochemistry** 2002; 34/1557-1570
95. Ferko B, Fürnschliel E, Varauer K et. al: Reepithelization of experimental scalds effected by topically applied superoxide dismutase: Controlled animal studies. **Wound Rep Reg** 2002; 10:366-371
96. Kılıçoğlu B, Kılıçoğlu SS, Eren VÇ: Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi. **S.D.Ü: Tıp Fak. Derg.** 2005;12(1):67-76
97. Emami-Razavi SH, Esmaeilli N, Forouzannia SK et. al: Effect of bentonite on skin wound healing: Experimental study in the rat model. **Acta Medica Iranica** 2006; 44(4):235-240
98. Adamson B, DuBay DA, Wang X et. al: Progressive fascial wound failure impairs subsequent abdominal wall repairs: A new animal model of incisional hernia formation. **Surgery** 2005; 137/463-471
99. Heule F, Mouës CM, Toorenenbergen AW et. al: The role of topical negative presure in woun repair: Expression of biochemical markers in wound fluid during wound healing. **Wound Rep Reg** 2008; 16:488-494
100. Huang Y, Norfleet AM, Sower LE et. al: Thrombin peptide TP508 accelerates closure of dermal exisions in animal tissue with surgically induced ischemia. **Wound Rep Reg** 2000; 8:517-529
101. Badamchian M, Philip D, Scheremeta B et. al: Thymosin b₄ and a synthetic peptide containing its actin-binding domain promate dermal wound repair in db/db diabetic mice and in aged mice.
102. Bonomo SR, Marcus JR, Tyrone JW et. al: Transforming growth factor β_3 promotes fascial wound healing in a new animal model. **Arch Surg** 2000; 135:1154-1159
103. Ciğer S: Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996
104. Anderson WAD: Yara iyileşmesi. Nobel Tıp Kitapevleri. 1990:80-85
105. Zeren İ: Yara iyileşmesi ve kollajen. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996
106. Aydınğöz İE: İyonize radyasyonun deri ve yara iyileşmesi üzerine etkileri. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996
107. Oğuz O: Yara iyileşmesi ve hiperborik oksijen tedavisi. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi.

(Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

108. Parlak M, Eşrefoğlu M:Fetal doku onarımı. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

109. Engin A: Yara iyileşmesi. Temel Cerrahi. (Ed: Sayek İ): Güneş kitapçevleri Ankara 1993:87-97

110. Ara C, Hasanoğlu A, Ozen S et. al: Efficacy of micronized flavonoid fraction in healing of clean and infected wounds. **International Journal of Angiology** 2001; 10:41-44

111. Arzuhal N, Serdaroğlu S: Proteolitik enzimler ve yara iyileşmesi. **Dermatose** 2002; 2:20-24

112. Demling RH: Oxandrolone, an anabolic steroid, enhances the healing of a cutaneous wound in the rat. **Wound Rep Reg** 2000; 8:97-102

113. Çelebi CR, Kurumlu Z:Yara iyileşmesi ve beslenme. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

114. Gürbüz O: Yara iyileşmesinde yeni ufuklar. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

115. Cooney RN, Maish GO, Stamm J et. al: Growth hormone does not attenuate the inhibitory effects of sepsis on wound healing. **Wound Rep Reg** 2000; 8:103-109

116. Avcı O: Lenfödem ve yara iyileşmesi. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

117. Gürdal M, Kireççi S, Pirinççi N ve ark: Graft ve flep tedavisinde doğal balın yara iyileşmesindeki etkisi. **Türk Üroloji Derg.** 2003;29(3):245-249

118. Eken A: Topikal ajanlar ve yara iyileşmesi. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996

119. Atlı Y: İntestinal iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde alfa lipoik asit ve qersetin'in koruyucu etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Kahramanmaraş 2009

120. Beyhan ŞG: Kollajen sentezi inhibitörlerinden 5-florourasil ve halofuginon'un yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi. İstanbul 2008

121. Aydingöz İE: İyonize Radyasyonun Deri ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. (Ed: Erdem). Ankara, 1996:73-75

122. Parikka M, Prillä E, Ramamurthy NS et. al: Chemically modified tetracycline (CMT-8) and estrogen promate wound healing in ovariectomized rats: Effects on matriks metalloproteinase-2, membrane type 1 matrix metalloproteinase and laminin-5 c2-chain. **Wound Rep Reg** 2002; 10/:38-51

123. Bland KI, Copeland EM, Pessa ME: Growth factors and determinants of repair. **J Surg Res.** 1987; 42:207-217
124. Bernstein EF, Mitchel JB, Sullivan FJ: Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing. **Clinics in Plastic surgery.** 1993; 20:435-453
125. Durmuş E: Sistemik kortikosteroid verilen ratlarda glukanın kolon anastomozu yara iyileşmesi üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi. Ankara, 2004.
126. Eken A: Topikal ajanlar ve yara iyileşmesi. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi, (Ed: Erdem C). Ankara, 1996:73-75
127. Kato N, Kimura K, Yasukawa K, Yoshida K: hydroxyurea-related leg ulcers in a patient with chronic myelogenous leukemia: a case report and review of the literature . **J Dermatol.** 1999; 26:56-62
128. Pekmezci S: L-Aprotinin ve prostoglandin E₁'in kolon anastomozu iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, 1994
129. Barbul A, Purtil WA: Nutrition in wound healing. **Clinics in Dermatology.** 1994; 12:133-140
130. Bernstein EF, Sullivan F, Tokorek R: Effect of therapeutic radiation on wound healing. **Clinics in Dermatology.** 1994; 12:57-70.
131. Davis SC, Perez R: Relevance of animal models for wound healing. **Wounds** 2008; 20:169-176
132. Top M, Vujovic S, Zhang J et. al: The health benefits of traditional chinese plant medicines: Weighing the scientific evidence. Rural Industries Research and Development Corporation. February 2007; 06:128
133. Huneck S: Die Trieterpensuren des Balsams von Liquidambar orientalis Miller. Tetrahedron 1963; 19: 479-482
134. Grieve M: A Modern Herbal. (Ed. Lyle CF). Penquin Books Ltd. Middlesex England 1982
135. Guenther E: The Essential Oil. Krieger Publishing Co. Inc. Malabar Florida, New York 1952
136. Kerimov S: Yara bakımında temel ilkeler. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996
137. Çelebi CR: Tıbbi ve cerrahi yönleriyle deri ülserlerinin debridmanı. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. (Ed: Erdem C. Çelebi CR). Ankara, 1996
138. Acemoğlu H, Atik B, Ergen D, Tan Ö: Kısmi kalınlıkta cilt grefti verici sahalarının bakımında açık-kuru ve kapalı-nemli pansuman tekniklerinin karşılaştırılması. **Van Tıp Dergisi** 2007; 14(1):1-5

139. Bozdağ Z, Bülbüller N, Çetinkaya Z et. al: The effects of tamoxifen on the wound healing in rats. **Türkiye Klinikleri Dergisi** 1999; 17(3)
140. Kavas GÖ: Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. **The Journal of faculty of medicine** 1994; 47:579-592
141. Posten W:Low-level laser therapy for wound healing. Mechanizm and Efficacy. **Dermatol Surg.** 2005; 31:334-340
142. Conlan MJ, Copp CM, Rapley JV: Biostimulation of wound healing by low energy laser irradiation. A review. **J Clin Periodontol** 2004
143. Takahoshi M, Morimoto Y, Kon M, Saga KA: Histological study of cutaneous thermal wounds a clostridium perfringens-derived wound healing substance with wound healings stimulation activity. **J Dermatol** 1995; 22:98-106
144. Yüzer H: Ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipidin böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkileri. Uzmanlık tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Kahramanmaraş 2008
145. Özel Y: Ratlarda karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında grape seed proanthocyanidinini koruyucu etkilerinin incelenmesi.1995
146. Aureli P, Costantini A, Olea S: Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monogytogenes*. **J Food Protect** 1992; 55:344-348
147. Develioğlu AH, Taner İL: Miyeloperoksidazın özellikleri ve periodontal hastalıktaki önemi. **CÜ Dişhekimliği Fak. Derg.** 1998; 1(1):24-27
148. Kurutas EB: Endosulfanın fare eritrosit antioksidan sistemleri ve malondialdehit düzeyleri üzerine etkisi. **ÇÜ Tıp Fak. Derg.** 2001; 26:14-19
149. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem**1979; 95:351-358
150. Krinke JG: The laboratory rat. The Handbook of Experimental Animals.1998
151. Geronemus RG, Mertz PM, Eaglstein WH: Wound Healing. The effects of topical antimicrobial agents. **Arch Dermatol** 1979; 115:1311-1314
152. Worthing Enzyme Manual Worthington Biochemical Corporation Freehold, New Jersey, USA, 1972.
153. Beutler E: Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. 2nd edition. New York: Grune &Stratton Co; 1975; 261–265.
154. Fridovich I: Superoxide dismutase. Adv. **Enzymol.** 1974; 41:35-97
155. Beutler, E. Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods. 2nd edition, Grune and Stratton Inc., New York ; 1984.
156. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL: Randal, R.J. Protein measurement with Folin

phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 1951;193:265-275

157. Altunışık R, Bayraktarroğlu S, Coşkun R ve Yıldırım E: Sosyal Bilimlerde Araştırma Yöntemleri, Sakarya: Sakarya Kitabevi 2005

158. Kartal M: Bilimsel Araştırmalarda hipotez Testleri. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım 2006

159. Özdamar K: Paket Proğramlar İle İstatistiksel Veri Analizi (1. Baskı), Eskişehir: Kaan Kitabevi 2002

160. Akgül A, ve Çevik O: İstatistiksel Analiz Teknikler, Ankara: Emek Ofset 2003

161. Worthing Enzyme Manual Worthington Biochemical Corporation Freehold, New Jersey, USA, 1972.

162. Kalaycı Ş: SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri, (Edit. Şeref Kalaycı, Ş), Ankara: Asil Yayın Dağıtım Ltd. Şti. 2006

163. Daniel WW: Applied Nonparametric Statistics, Boston: PWS-KENT PUBLISHING Company 1990

164. Ruxton GD, Beauchamp G: “Some Suggestions About Appropriate Use Of The Kruskal-Wallis Test”, Institute Of Biomedical And Life Sciences, University Of Glasgow Faculty Of Veterinary Medicine, University Of Montreal, MS. Number: D-08-00178 Animal Behaviour. 2008

165. Karagöz Y, Çatı K ve Koçoğlu CM: “Cep Telefonu ve Operatör Tercihinde Etkili Olabilecek Faktörlerin Demografik Özelliklere Bağlı Olarak İrdelenmesi”, **Dumlupınar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi** 2009; 5(23):10

166. Hinman C, Maibach H: Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin. **Nature** 1963; 200:377-378

167. Peacock EA: The past, present, and future of wound healing. **Wound Rep Reg.** 1995;3:119

168. Vogh P, Andree C, Breuing K, Liu P, Slama J, Helo G, Eriksson E: Dry, moist and wet skin. **Ann Plast Surg.** 1995; 34(5):493-499

169. Bolton L, Pirone L, Chen J, Lydon M: Dressing effects of wound healing. **Wounds** 1990;2:126-134

170. Field C, Kerstein M: Overview of wound healing in a moist environment. **American Journal of Surgery.** 1994; 167(1):2-6

171. Hermans M, Hermans R: Duoderm an alternative dressing for smaller burns. **Burns Incl Therm Inj.** 1986; 12(3):214-219

172. Jeffrey JJ: Collagen degradation. In: Cohen IK, Diegelman RF(eds). Wound Healing: Biochemical and clinical aspects. New York: WB Saunders Co. 1992; 177-194
- 173: Forest I: Current concepts in wound healing. **British J Surg.** 1983;70:133
174. Boucek R: Factors effecting wound healing. **Surg Clin North Am.** 1984; 14:243-247
175. Üzer N: Sıçanlarda deri fleplerinin yaşayabilirliğinde curcimin kullanımının etkilerinin araştırılması. Uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi. İstanbul 2007
176. Koçan D, Polat G: Propolis ve anti mikrobiyal etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi Bolu 2006
177. İşleroğlu H, Yıldırım Z, Yıldırım M: Fonksiyonel bir gıda olarak keten tohumu **GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi** 2005; 22(2):23-30
178. Tunalıer Z, Öztürk N, Koşar M, Başer KHC, Duman H, Kırimer N: Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Eskişehir 2002