

157044

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dermatoloji Anabilim Dalı

**KORTİKOSTEROİDLERLE BASKILANMIŞ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE TOPIKAL ADAPALEN VE
TOPIKAL TRETİNOİNİN ETKİSİ**

Dr. ALİ MURAT CEYHAN

DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Vahide BAYSAL AKKAYA

2004 – ISPARTA

ÖNSÖZ

Yara iyileşmesi, doku kaybı sonucu organizmada gelişen inflamasyon, hücre migrasyonu, anjiogenez, yeni kollajen oluşumu ve reepitelizasyon gibi çeşitli hücre ve moleküler basamakları içeren son derece kompleks bir olaydır. Son yıllarda ümit verici gibi görünen çalışmalara rağmen, olayın karmaşıklığı ve tedavi seçeneklerinin azlığı nedeni ile kronik yaraların tedavisinde hala yeterince başarılı sonuçlar alınamamakta ve alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amacı ile yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Çalışmamızda, güçlü retinoid agonisti etkisi olan sentetik A vitamini derivatives adapalenin topikal uygulamalarının yara iyileşmesi ve kortikosteroidlerle baskılanan yara iyileşme süreci üzerine olan etkileri araştırıldı ve yara iyileşmesini pozitif yönde etkilediği bilinen topikal tretinoin uygulamaları ile karşılaştırıldı. Sonuç olarak topikal adapalen uygulamasının yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini, kortikosteroidlerin yara iyileşmesi üzerine olan inhibitör etkilerini telafi ettiğini gözlemledik ve yara iyileşmesine katkı sağlama açısından umut verici bir seçenek olabileceği kanaatine vardık. Ancak adapalenin etki mekanizması, ideal etkinliğinin tam olarak belirlenmesi ve klinik kullanımı için daha fazla denek sayısına sahip çok sayıda deneysel, klinik ve histopatolojik çalışmalara gereksinim vardır.

Aslında her önsöz bir son sözdür. O kadar çok şey var ki unutulmayan ve bir o kadar da insan gönül dolusu teşekkürü hak eden.

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerimi borçlu olduğum, ayrıca bu tezin hazırlanmasındaki katkıları nedeni ile saygıdeğer hocam Prof. Dr. Vahide Baysal Akkaya'ya, emeğini ve bilgisini bizlerden esirgemeyen tecrübelerinden faydalandığım Doç. Dr. Pınar Yüksel Başak ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Yıldırım'a, dört yılımı zevkle paylaştığım tüm asistan arkadaşlarım ve personelinden hemşiresine tüm dermatoloji çalışanlarına, katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalından Dr. Zafer Yönden ve Dr. Onur Aktürk'e, her zaman yanımda olarak bana hep destek olan sevgili aileme;

Ne kadar teşekkür etsem az gelecek ama şükranlarımın kabul görmesi dileği ile.

İÇİNDEKİLER

Önsöz	ii
Simgeler ve Kısaltmalar	iv
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara İyileşmesi	3
2.1.1. Hemostaz- İnflamasyon Fazı	4
2.1.2. Proliferasyon Fazı	7
2.1.3. Matürasyon Fazı	8
2.2. Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri	9
2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	11
2.4. Kortikosteroidlerin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri	15
2.5. Retinoidler ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri	16
2.6. Adapalen'in Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri	19
2.7. Deneysel Çalışmalarda Yara İyileşmesinin Değerlendirilmesi ve Hidroksiprolin	20
3. MATERYAL ve METOD	22
3.1. Deneysel Çalışmanın Tanımlanması	22
3.2. Deney Grupları	22
3.3. Yara Bölgesinde Doku Hidroksiprolin Konsantrasyonu Tayini	23
3.4. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	27
ÖZET	35
SUMMARY	36
KAYNAKLAR	37

SİMGELER ve KISALTMALAR

PDGF	: Platalet kaynaklı büyüme faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
TGF-α	: Transforme edici büyüme faktörü alfa
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
TNFα	: Tümör nekrozis faktör alfa
IFN	: İnterferon
HGH	: İnsan büyüme hormonu
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
KGF	: Keratinosit büyüme faktörü
CTGF	: Bağ dokusu büyüme faktörü
LDGF	: Lökosit kaynaklı büyüme faktörü
GMCSF	: Granulosit monosit koloni sitümüle edici faktör
CRABP	: Sitozolik retinoik asit binding protein
IL	: İnterlökin
RAR	: Retinoid asit reseptör
RXR	: Retinoid X reseptör

1. GİRİŞ

Cansızlıktan canlılığa geçiş, çok sayıda karmaşık bileşiğin bir düzen ve sınır içinde bir araya gelmesi ile başlar. "Organizma" sözcüğü bu düzeni vurgular. Öte yandan, sınır olmaz ise düzen kurulamaz. Öyleyse, "sınır" canlılığın korunmasının olmazsa olmaz koşuludur. Sınır, tek hücreli canlılarda hücre zarı iken, çok hücreli canlılarda çok sayıda hücrelerden oluşmuş kompleks bir yapıdır. Gerek tek hücreli gerekse çok hücreli canlılarda sınır, bir çizgi değil bir yüzeydir. Canlı ve çevreyi birbirinden ayırır, canlı ve çevre arasındaki alışverişi düzenler. Bu arada canlıyı çevreye karşı korur. Korunma işlevi canlının varlığını sürdürmesinin olmazsa olmaz koşuludur.

İnsanda ise, bu sınır veya yüzeyi oluşturan yapı deridir. Deri, insanı çevreye karşı koruyan sistemlerin ilk basamağıdır. Yalnızca varlığı, çevre kaynaklı birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik zararlı faktörlerin organizmaya girmesini engeller.

İnsanda sınır ve yüzey oluşturma görevini üstlenen deri ve mukoza gibi vücut yapılarının bütünlüğünün bozulmasıyla ortaya çıkan doku kayıplarına yara denmektedir. Onarım ise, hücre bütünlüğünün sürdürülmesi için doku kaybına karşı oluşturulan doğal bir reaksiyon olup, hücresel, fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaların bütünleşmesi sonucu meydana gelen kompleks bir olaydır.

Son yıllarda yara iyileşmesi mekanizması daha iyi anlaşılmiş ve yara iyileşmesini etkileyen çok sayıda lokal ve sistemik faktör tanımlanmıştır.

Gerek topikal gerekse sistemik olarak, dermatoloji pratiğinde sık kullanılan A vitamini ve derivelerinin, yara iyileşmesini hızlandırdığı, kortikosteroidlerin yara iyileşmesi üzerine olan olumsuz etkilerini antagonize ettiği bilinmektedir. Dermabrazyon, peeling uygulamaları öncesinde uygulanan topikal tretinoinin, iyileşme süresini kısalttığı, epitelizasyonu hızlandırdığı rapor edilmiştir.

Topikal olarak uygulanan retinoidler; anjiogenezis, fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezini arttırarak yara iyileşmesine olumlu katkı

sağlamaktadır. Bu etkilerini nükleustaki spesifik reseptörlere bağlanmak süreti ile hücre bölünmesini, farklılaşmasını, protein sentezini etkileyerek ve lizozomal membran stabilizasyonunu sağlayarak yaptığı bilinmektedir.

Adapalen, güçlü retinoid agonisti etkisi olan, naphthoic acid derivesi, yeni, sentetik bir ilaçtır. Her ne kadar topikal tretinoinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri iyi bilinse de, farmakolojik olarak tretinoin ile benzer özelliklere sahip fakat daha az iritan olan adapalenin, yara iyileşmesi üzerine etkileri hakkında yeterli çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmanın planladığı tarihe kadar literatürde kortikosteroidlerle baskılanmış yara iyileşmesinde, topikal tretinoin ve adapalenin etkilerini araştıran ve karşılaştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, sağlıklı ve kortikosteroid verilerek yara iyileşmesi bozulan sıçanlarda topikal olarak uygulanan % 0.1'lik adapalen (Differin® gel) ve %0,1'lik tretinoinin (Acnelyse® krem) yara iyileşmesi üzerine olan etkileri araştırılmış ve karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının, fiziksel, kimyasal veya biyolojik travma sonrası bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise, travma ile başlatılan yaranmaya cevap olup, hücresel ve biyokimyasal muntazam bir dizi olayın, yeni doku oluşumu ile sonuçlanmasıdır (1).

Yara iyileşmesi ile ilgili uygulamaların tarihi, insanlık tarihi kadar eskidir. Milattan önce 1500'lü yıllarda, hint yağı lambalarda yakıt olarak kullanılırken, aynı zamanda yanık ve yara tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır. Ebers papirüslerine göre yaralar, ilk gün taze et sarılarak ve tapınaklarda bulunan zehirsiz yılanlara yalıtılarak tedavi edilmekte idi. Hipokrat, yaralarda katran (goudron) ve bal kullanarak antisepsiyi ilk uygulayan olmuştur. Ayrıca primer ve sekonder yara iyileşmesi de ilk defa Hipokrat tarafından tanımlanmıştır (2).

Yaralar, iyileşme sürecine göre ikiye ayrılır. Akut yaralar, anatomik ve fonksiyonel bütünlüğü sağlamak üzere, onarım sürecinin düzenli ve zamanında geliştiği yaralardır. Kronik yaralar ise, onarımın düzenli ve zamanında olmadığı, onarım sürecinde arzulanan anatomik ve fonksiyonel sonuçların elde edilemediği yaralardır. Akut yaralar, ortalama 2-3 haftada iyileşirken, kronik yaraların iyileşmeleri çok daha yavaş olup, aylar hatta yıllar alabilmekte ve tedavisi hekimler için büyük sorun oluşturmaktadır(1,3,4,5).

Başarılı bir yara iyileşmesi sağlayabilmek ve tedavide en uygun yaklaşımı seçebilmek için yara oluşum patogenezinin ve yara iyileşme mekanizmalarının tam olarak bilinmesi gerekmektedir. Yara iyileşmesi, ekzojen doku hasarı oluştuktan sonra başlayan trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma, granülosit ve makrofajların akümüasyonu, fibroblastların göçü ve proliferasyonu, neovaskülarizasyon ve miyofibroblastların kontraksiyonu gibi çeşitli kademeleri içermektedir. Yara onarımı, ayrı ancak birbirleriyle iç içe geçen 3 ayrı fazdan oluşur. Bu fazlar; hemostaz-inflamatuvar faz, proliferatif

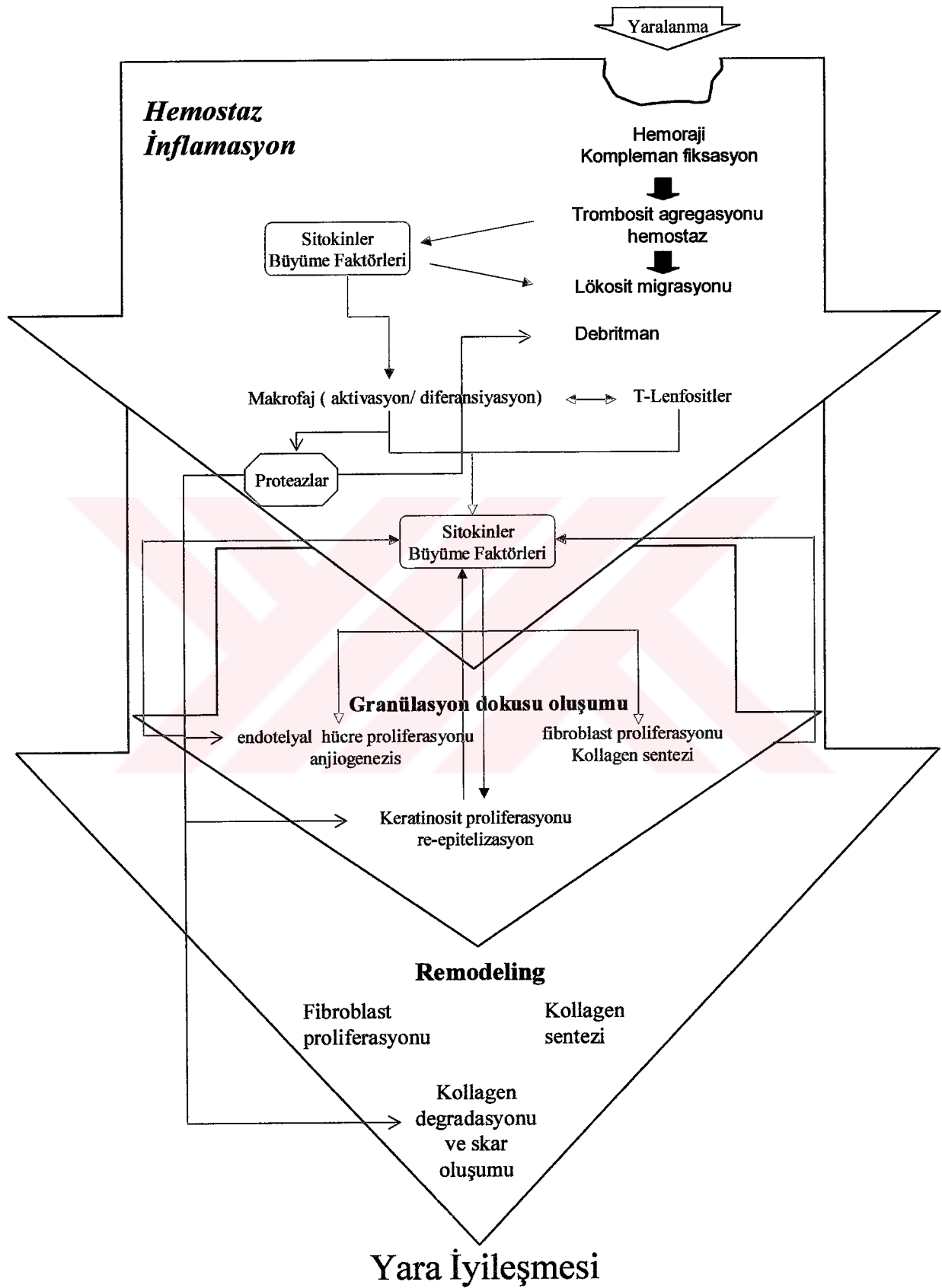
faz ve maturasyon (olgunlaşma, remodeling) fazıdır. Yara iyileşmesinin aşamaları tablo 1'de özetlenmiştir (1,5,6,7).

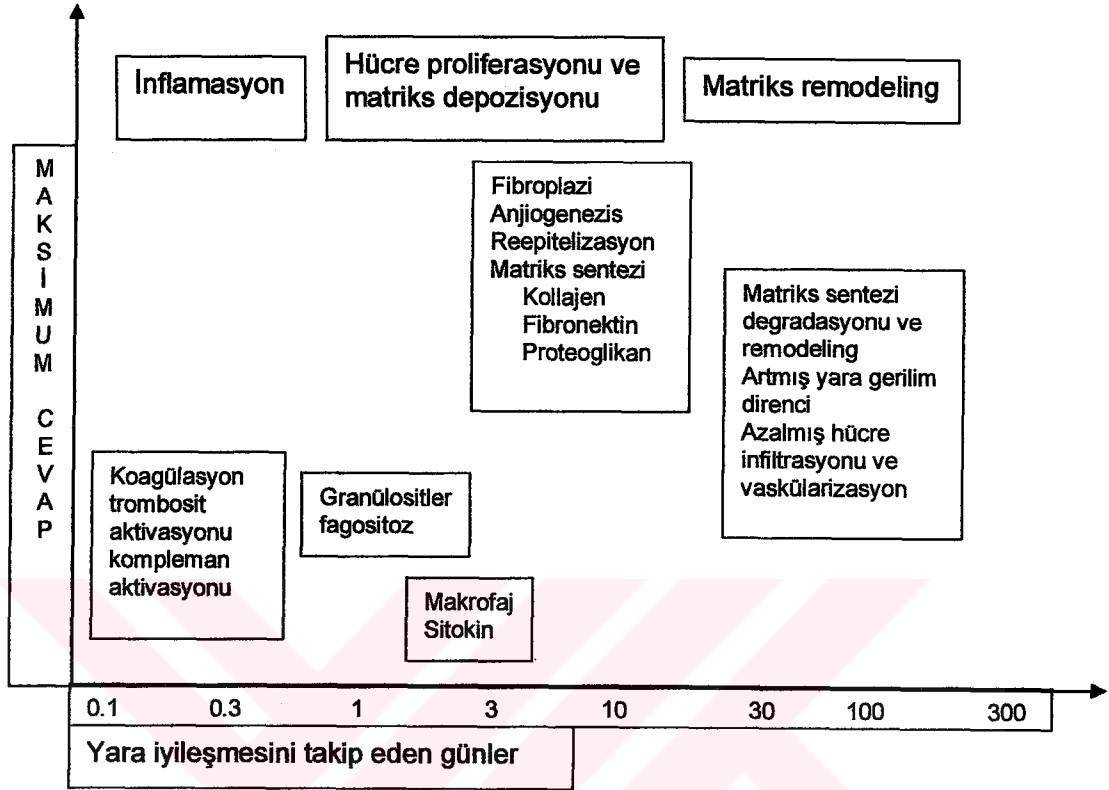
2.1.1 Hemostaz –İnflamasyon Fazı

Yaralanmayı takiben, öncelikle yara bölgesinde kanamanın durdurulması amacıyla koagülasyon sistemi aktive olur ve katekolamin salınımını ile vazokonstriksiyon başlar. Bu aşama, temel olarak fibrin depolanması ve polimerizasyonu ile trombosit degranülasyonunu içermektedir. Trombositler, yara iyileşmesi sürecinde ilk aktive olan hücrelerdir. Yaralanma ile birlikte açığa çıkan subendotelyal kollajene trombositlerin adhezyon ve agregasyonu sonucunda pıhtılaşma süreci başlar. Oluşan pıhtı, nötrofil, monosit, fibroblastlar için bir yapı iskelesi görevi görür (5,6,8). Trombositler, subendotelyal kollajene yapışması sonrasında degranüle olurlar. Trombosit α granüllerinde içlerinde tromboksan, prostoglandin, serotonin, fibrinojen, fibronektin, von Willebrand faktör, PDGF, EGF, TGF- β 1 gibi faktörlerinde bulunduğu, inflamatuvar hücreler için güçlü kemotaktik ve mitojenik etkili çok sayıda faktör salgılanır. Bu faktörler bir yandan yara üzerini kapatan fibrin pıhtısı oluşumuna katkı sağlarken, bir yandan da yara iyileşmesinin diğer basamaklarını oluşturacak hücresel yanıtı düzenler. Günlere göre yara iyileşmesinin aşamaları tablo 2'de özetlenmiştir (5,9,10,11).

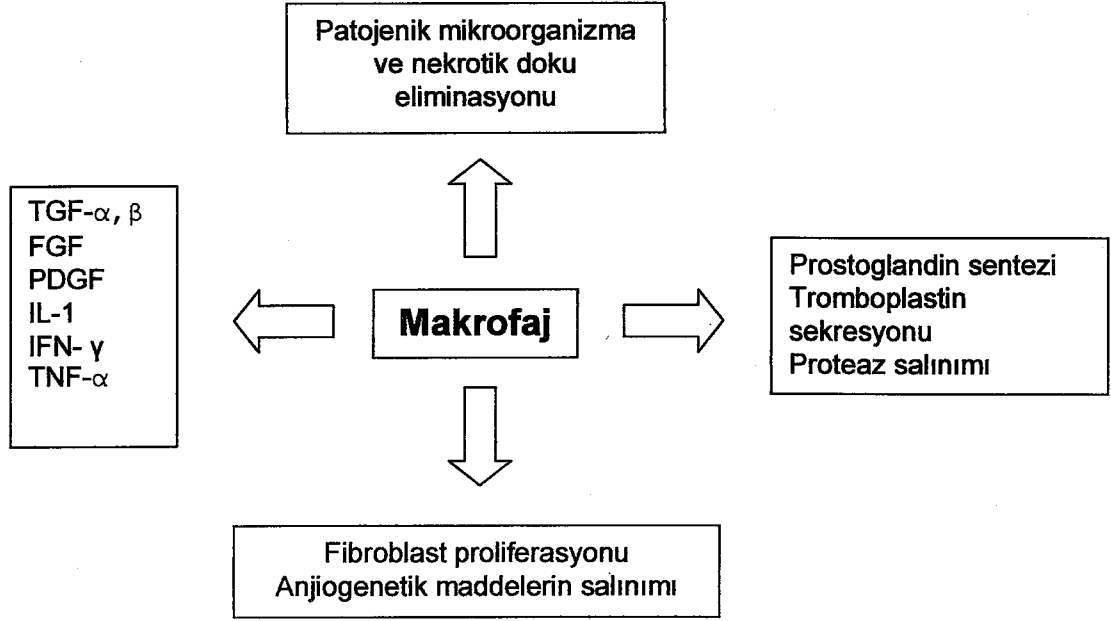
Trombositlerden salınan kemotaktik faktörler ve artan kan akımı ile birlikte, bölgeye yoğun inflamatuvar hücre göçü olur. Erken dönemde baskın olan hücreler nötrofillerdir. Nötrofiller, salgıladıkları proteolitik enzimler ile ortamdaki nekrotik yabancı maddelerin ve mikroorganizmaların fagositozunda rol oynar. Ayrıca çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımına yol açtıkları gibi serbest radikaller, endoperoksidaz, kollajenaz, elastaz, katepsin gibi proteazları serbestleştirir (3,5,9,10).

Tablo 1 : Yara iyileşmesinin aşamaları



Tablo 2 : Günlere göre yara iyileşmesinin fazları

Yara iyileşmesinin 3. gününde nötrofiller yerini makrofajlara bırakır (Tablo 2). Makrofajlar yara iyileşmesi sürecinde anahtar rol oynayan hücrelerdir. Makrofajlar, ortamdaki yabancı maddeleri ve mikroorganizmaları fagosite eder. Ayrıca yeni doku oluşumunda görev alan PDGF, TGF- α , β 1, FGF, IL 1, EGF, TNF α gibi çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin salınımında görev alır. Makrofajlar, yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını sonraki fazlara bağlayan kilit hücrelerdir. Bu faz ortalama 3 gün sürmektedir. Makrofajların yara iyileşme sürecindeki fonksiyonları tablo 3'de özetlemiştir (3,8,10,12,13).

Tablo 3 : Makrofajın yara iyileşme sürecindeki fonksiyonları

2.1.2. Proliferasyon Fazı

Proliferasyon fazı, fibroplazi ve bağ dokusu oluşumunun gözlemlendiği yara iyileşmesinin en önemli basamağı olup, ortalama 10-14 gün sürmektedir. Bu faz aktive makrofajlar ve trombositlerden salınan kemotaktik faktörler, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimlerin indüksiyonu ile başlar. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisiyle proliferasyon yapan fibroblastlar ve endotel hücreleri çevre dokulardan yara bölgesine doğru göç ederler (1,5).

Granülasyon dokusunun ana komponentlerini, fibronektin, hyalüronik asit ve kollajenden oluşan gevşek bir matriks içinde yer alan makrofaj ve fibroblastlar ile makroskopik olarak granüler görünüme yol açan yeni kan damarları oluşturur. Fibronektin ve hyalüronik asit, makrofaj ve fibroblastların göç edip tutunacağı iskelet görevini görür. Makrofajlar tarafından sentezlenen büyüme faktörleri ve kemotaktik faktörlerin etkisi ile fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezi uyarılır (1,5,14).

Fibroblastlar, yara bölgesinde 1. haftanın sonunda maksimum düzeye ulaşır, miyofibroblast haline dönüşerek yara kontraksiyonunu sağlar. Makrofajlardan salınan sitokinlerin etkisi ile anjiogenik uyarıya maruz kalan

endotel hücreleri, prolifer olarak yaranın orta kısmına doğru ilerler ve yeni kapiller yapıların oluşumuna katkı sağlarlar. Anjiogenez, matriks ve hücre bütünlüğün oluşması için gerekli prekürsör moleküllerin ve faktörlerin yara bölgesine taşınması açısından oldukça önemlidir (5, 11,15,16,17).

Yara oluşumunu takiben ilk 24 saat içinde, bazal tabaka keratinositleri aşırı bir proliferasyon göstererek yara bölgesine doğru göç eder. Prolifere olan keratinositler, fibronektin ve hyalüronik asitten oluşan geçici matriksle sarılır. Bu fazın sonlarında tip IV kollajen, heparan sülfat ve laminin sentezi ile yeni bir bazal membran oluşur (5,10,15).

2.1.3. Matürasyon (Olgunlaşma, Remodeling) Fazı

Yara iyileşmesinin en son aşaması olan matürasyon fazı, en erken yara iyileşmesinin 3. gününde başlar ve ortalama 2-3 yıl devam eder (1,10).

Granülasyon dokusu oluşumu ile başlayan matriks sentezi, zaman içinde değişime uğrar. Geçici matriksin büyük bir kısmını oluşturan fibronektin, hızla elimine olurken, yerini önce tip III daha sonra tip I kollajen alır. Özellikle tip I kollajen içeren kalıcı matriks oldukça sağlam ve dirençlidir. Sağlam dermis, baskın olarak tip I kollajen (%80-90) ve tip III kollajenden (%10-20) oluşur. Granülasyon dokusunda tip III kollajen artmıştır. Skar dokusunda ise tip III kollajen oranı düşüktür (%10) (1,8,18).

Yaralanmanın 3. gününde fibroblastlar, kollajen sentezlemeye başlar. Fibroblastik aktivasyonu takiben, 4-5 hafta içinde kollajen artışı gözlenir ve kollajen, yara gerilme gücünü arttıracak şekilde organize olur. Birinci ayın sonunda kollajen sentezi azalır ve kollajenazlar aracılığı ile yıkım başlar (5,8,16,17).

Geçici matriksin önemli komponenti olan hyalüronik asit, bu evrede yerini kollajenin sentez ve olgunlaşmasında görev alan kondroitin sülfat ve dermatan sülfat gibi proteoglikanlara bırakır. Yara iyileşmesi sürecinde skar oluşumu, sadece kollajen sentezi ile değil, aynı zamanda oluşan kollajenin yeniden yapılanması ve düzenlenmesi ile mümkün olur. Bu dengenin düzenli bir şekilde yürüyebilmesi için, gerektiğinde kollajenaz aktivitesinin de devreye girmesi gerekmektedir (5,8).

Olgunlaşma evresi ile birlikte, bölgedeki inflamatuvar hücrelerin sayısı giderek azalır. Kollajen fibrillerdeki çapraz bağların sayısı artar, matriks giderek daha kalın ve organize bir hal alır. Bu durum skar gelişiminin temelini oluşturur. Olgunlaşma fazı, ortalama 2 yıldan fazla sürmesine rağmen, iyi bir skar dokusundaki kollajen lifleri asla sağlam dermisteki kadar organize olamaz. Yara yerinde 1. haftanın sonundaki dayanıklılık gücü %3 iken, 3. hafta sonunda bu oran % 20'ye çıkmaktadır. Üç ay sonra ise dayanıklılık gücü yaklaşık olarak sağlam dokunun %80'ine ulaşır ancak bu oran daha fazla yükselmez (1,5,17).

2.2. Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, ağırlıkları 4000 ile 60000 dalton arasında değişen, çok az miktarları bile hücrel aktiviteyi etkileyebilen proteinlerdir. Büyüme faktörlerinin yara iyileşmesini düzenleyici etkisi, birkaç mekanizma üzerinden yürümektedir:

1. Kemotaktik aktiviteyi sayesinde inflamatuvar hücrelerin ve fibroblastların yara bölgesine göç etmesini sağlar.
2. Hücre proliferasyonunu sağlayan mitojenik aktivite gösterir, anjiogenezi stimüle eder.
3. Ekstraselüler matriks oluşumunda ve yapılımasında düzenleyici rol oynar.

Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve fonksiyonları tablo 4'de özetlenmiştir (5,19,20).

Büyüme faktörlerinin inaktivasyonunu sağlayan proteinazlar, dermal matriksin yapılımasında yoğun olarak oluşan kollajen yıkımına neden olarak, aşırı fibrotik doku gelişimini engellemekte ve yara iyileşmesinde dengeyi sağlamaktadır (21).

Tablo 4 : Büyüme faktörleri ve fonksiyonları

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)	Trombositler, makrofajlar endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu, nötrofil, makrofaj kemotaksisini sağlar, angiogenezi stimüle eder.
Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis, indirekt angienez ve diğer büyüme faktörlerinin etkilerine katkı sağlar.
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, granülasyon dokusu oluşumu ve uyarılmasında rol oynar.
Transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF α)	Aktive makrofajlar, trombosit, keratinosit	EGF'ye benzer.
İnterlökinler (IL-1, 2)	Makrofaj, lenfosit	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz aktivitesi ve nötrofil kemotaksisini uyarır.
Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonunu artırır.
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (LDGF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositleri	Lökositler için kemoatraktan ve mitojenik etki gösterir.
Bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojenik etki gösterir.
Fibroblast büyüme faktörleri (FGF)	Beyin, pitüiter bez, makrofaj	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depozisyonu, angienez ve yara kontraksiyonunu artırır.
Keratinosit büyüme faktörleri (KGF)	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonunu uyarır.
İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonunu artırır.
İnsan büyüme hormonu (HGH)	Pitüiter bez, plazma	IGF-1'i uyarır.
İnterferonlar (Interferons, IFN)	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonunu sağlar.

2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesinin temel basamağı, matriks depolanması ile doku yıkımı arasındaki dengedir. Kronik yaralarda yara iyileşmesi gecikmiştir. Bu tür yaralarda kronik inflamasyon süreci sonrasında, makrofaj ve nötrofil aktivasyonu ile inflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen radikalleri ortaya çıkmaktadır. Açığa çıkan serbest radikaller, matriks yıkımına, yetersiz epitelizasyona ve yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır (22). Kronik yaralarda, büyüme faktörlerinde eksiklik olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte kronik yaralarda, keratinositlerin yara yatağına migrasyon yeteneğini kaybettiği ve yara kenarlarında aşırı miktarda proliferasyon olarak hiperplastik bir epitel oluşturduğu gösterilmiştir (22). Kronik yaralarda yetersiz vaskülarizasyon ve hipoksik ortam yara iyileşmesini geciktirmektedir. Doku oksijen basıncı, 15mmHg'dan 40 mmHg'ya çıkarıldığında kollajen yapımının 7 kat arttığı gösterilmiştir (10).

Yara yeri enfeksiyonuna bağlı artan bakteri kolonizasyonu ve inflamatuvar hücre göçü ile birlikte, aktive olan proteolitik enzimler kollajen yıkımına neden olmaktadır. Enfeksiyonun, yara iyileşmesini geciktirdiği bilinse de, yapılan çalışmalarda bakteriyel kolonizasyonun her zaman negatif etkinlik göstermediği, hatta belli bir oranda inflamasyonu sınırlayarak yara iyileşmesini hızlandırdığı saptanmıştır. Bu nedenle bir çok yazar, klinik olarak belirgin enfeksiyon bulgusu olmadan, sadece yara kültürlerine dayanarak antibiyotik tedavisinin verilmesini önermemektedir (5,23).

Yaranın bulunduğu anatomik lokalizasyona göre, yara iyileşmesi farklılık göstermektedir. Vücudun bazı anatomik bölgeleri özellikle sternum ve omuz bölgesindeki yaralar, hipertrofik skar ve keloid ile iyileşme eğiliminde iken, göz kapaklarındaki yaralar ise son derece ince bir hat ile iyileşme eğilimindedir (3).

Beslenme eksikliği olan hastalarda, yara iyileşmesi gecikmekte ve tam olmamaktadır. Bu kimselerin enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmaları yeterli olmadığından yara enfeksiyonu gelişme riski de yüksektir. Deney hayvanlarında normal beslenmenin %60 oranında kısıtlandığı durumlarda, bir hafta içinde kollajen çapraz bağlarında bozulma, 4. ayın sonunda kollajen

sentezinde azalma gösterilmiştir. Normal protein sentezi ve hücre proliferasyonu, uygun aminoasitler olmayınca sağlanamaz. Nitekim, proteinsiz bırakılan deney hayvanlarında, fibroplazi, matriks depozisyonu ve anjiogenezisde defekt gösterilmiştir. Vitamin C, demir ve oksijen ile birlikte lizin, prolin hidrosilasyonunda görev almaktadır. C vitamini eksikliğinde, kollajen demetleri stabil olmayıp, kolay parçalandıklarından derinin gerginliği azalmaktadır. K vitamini eksikliğinde koagülasyonda meydana gelen bozulma, yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir (5,24).

DNA ve RNA polimerazın kofaktörü olan çinko, gen ekspresyonuna katkı sağlayarak yara iyileşmesini arttırmakta ve eksikliğinde yara iyileşmesi gecikmektedir. Vitamin ve minerallerin aşırı yüklenmesi de bazen yara iyileşmesini geciktirebilmektedir. Aşırı çinko alınması, kemotaksis ve fagositozu baskılamakta, kollajen sentezini azaltmaktadır (24). Ornitin, arjininin metabolik ürünü olup, prolin-hidroksiprolin dönüşümü için gerekli metabolik prekürsördür. Arjinin, nitrik oksit sentezinde substrat olması nedeni ile yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır (17).

Yaşlanmayla birlikte yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında değişiklikler olur. Bu değişiklikler sadece yaş ile değil, eşlik eden hastalıklar ile de ilişkilidir. İlerleyen yaş ile birlikte damarlarda aterosklerotik plaklar oluşur. Bu durumun da lokal perfüzyonu azaltacağı ve yara iyileşmesini etkileyeceği ileri sürülmüştür. Ayrıca yaşlılarda, inflamatuvar fazda, makrofaj ve lenfosit göçünde azalma ile birlikte kollajen sentezinin de azaldığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalardaki çelişkili sonuçlar, yaşlılarda yara iyileşmesi konusunda tam bir fikir birliğine varılmasını engellemektedir. Mevcut olan bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, eşlik eden bir hastalık olmadığı sürece yara iyileşmesinin fazla etkilenmediği vurgulanmaktadır (6,25).

Sigara içimi, karaciğer ve böbrek yetmezliği, venöz yetmezlik gibi kronik hastalıklar yara iyileşmesini baskılamaktadır (22).

Diyabetik hastalarda yara iyileşmesi gecikmekte ve enfeksiyonlara meyil artmaktadır. Bu hastalarda, fibroblast aktivitesi, hücre proliferasyonu ve epitelizasyonda azalma ile birlikte kollajen sentezinin de baskılandığı gösterilmiştir. Ayrıca granülositlerin fagositoz fonksiyonlarında bozulma,

kemotaksiste yetersizlik, nöropati ve mikroanjiopati gelişmesi diyabetik hastalarda yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir (26).

Bazı farmakolojik ajanların yara iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir. Antineoplastikler, inflamatuvar yanıtı baskılayarak, kolşisin ise vazokontrüksiyona neden olup kan akımını azaltarak yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca kolşisinin, kollajen sentezini inhibe edici, kollajenaz aktivitesini artırıcı etkisi de mevcuttur. Tetrasiklin, gentamisin, kloromfenikol gibi antibiyotikler ve çoğu antiseptik ajanlar, granülasyon dokusu oluşumunu ve epitelizasyonu engelleyerek yara iyileşmesini baskılamaktadır (5).

Son yıllarda popüler olan granülosit monosit koloni sitümüle edici faktör (GMCSF) uygulamalarının, keratinosit proliferasyonu ve diferansiyasyonunu artırıp, neovaskülarizasyonu indükleyerek yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı gösterilmiştir (9,27).

Hiperbarik O₂ tedavisi, fagositozu, fibroblast proliferasyonunu, kollajen sentezini ve anjiogenezisi artırarak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. Yüksek doz oksijen konsantrasyonunun, oksijen radikallerini oluşturması açısından dezavantajlı olabileceği göz ardı edilmemelidir (28). Yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen faktörler tablo 5'de özetlenmiştir (29).

Elektriksel uyarı, fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezindeki artış üzerinden yara iyileşmesini etkilemektedir. Elektriksel uyarı verilen sıçanlarda, yara yerinde lökosit ve makrofaj sayılarının düştüğü, fibroblast sayısı ile kollajen konsantrasyonunun anlamlı derecede yükseldiği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, elektriksel uyarının inflamatuvar evreyi baskılayarak, proliferasyon evresine daha erken geçişi sağladığı şeklinde değerlendirilmiştir (30).

Tablo 5 : Yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen faktörler**A. Eksiklik durumları**

- 1- Protein
- 2- Vitamin A
- 3- Vitamin C
- 4- Vitamin K
- 5- Çinko

B. Oksijenizasyon bozuklukları

- a-Pulmoner yetmezlik
- b-Hipovolemi
- c-Kalp Yetmezliği

C. Yaşlanma**D. İlaçlar**

- Glukokortikoidler
- Antikoagülanlar
- Antineoplastik ajanlar
- Kolşisin
- Salisilatlar
- Nonsteroid antienflamatuvarlar
- Penisilamin
- Çinko sülfat

E. Eşlik eden hastalıklar**1- Hereditör hastalıklar**

- Ehlers- Danlos sendromu
- Koagülasyon bozukluğu
- Hemofili
- Von-Willebrand hastalığı
- Faktör 13 eksikliği

2- Vasküler hastalıklar

- Konjestif kalp yetmezliği
- Vaskülit
- Venöz staz
- Lenfödem

3- Metabolik Hastalıklar

- Kronik böbrek yetmezliği
- Malnutrisyon
- Cushing sendromu
- Hipertiroidizm

4- İmmün yetmezlik durumları**5- Diğer hastalıklar**

- Kronik karaciğer hastalıkları
- Kronik akciğer hastalıkları
- Hematolojik hastalıklar
- Malignansiler

2.4. Kortikosteroidlerin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Kortikosteroidler, immünsüpresif ve antienflamatuvar etkilerinden dolayı dermatolojik hastalıkların büyük bir kısmında topikal ve sistemik formlarda oldukça sık ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroidlerin, potansiyel terapötik etkilerinin yanı sıra, yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemesi ciddi klinik problemler oluşturmaktadır (31).

Kortikosteroidler, yara iyileşmesinin her üç fazında da çok sayıda hücresel fonksiyona etki etmektedir. Bu etkilerini sitoplazmik steroid reseptörlerine bağlanarak, hücresel düzeyde DNA, RNA ekspresyonu ve protein sentezi aracılığı ile gerçekleştirmektedir (31,32).

Inflamatuvar fazın ana hücresel elemanları lökositler ve makrofajlardır. Bu hücreler yara iyileşmesinde rol oynayan sitokin salınımına yol açmalarının yanında, yara bölgesindeki fibrin, debris ve hücresel artıkların temizlenmesinde, mikrobik ajanların fagositozunda önemli role sahiptir. Kortikosteroidler, prostasiklin sentezini inhibe etmek süreti ile mediyatör salınımını, lökosit infiltrasyonunu, makrofaj göçünü baskılayarak yara bölgesine inflamatuvar hücre birikimini engellemektedir. Yara iyileşmesinin tüm basamaklarına etki eden ve inflamatuvar fazın regülasyonunda rol oynayan TGF- β 1 gen ekspresyonu, kortikosteroidler tarafından baskılanmaktadır (5,31-34).

Konnektif dokunun ana hücresel komponentini oluşturan fibroblastlar, kortikosteroidler için hedef hücre konumundadır. Kortikosteroidler, keratinosit, fibroblast proliferasyonu ve migrasyonunu baskıladığı gibi matriks depozisyonu ve formasyonunu da engellemektedir. Ayrıca TGF- β 1 tarafından modüle edilen anjiogenezis, neovaskülarizasyon ve granülasyon dokusu oluşumunu inhibe etmek süreti ile reepitelizasyonu ve yara iyileşmesinin proliferatif fazını baskılamaktadır. Kortikosteroidler bu etkilerini TGF- β 1 gen ekspresyonunu inhibe ederek yapmaktadır (32-35). Ayrıca kortikosteroidler kollajen biyosentezi ve çapraz bağlanmasında rol alan tip 1 kollajenin mRNA ekspresyonunu inhibe edip, kollajenaz aktivitesini arttırarak kollajen depolanmasını ve dolayısıyla yara iyileşmesinin remodeling fazını

baskılamaktadır. Böylece yara gerilim kuvvetinde azalmaya ve yara kontraksiyonunda belirgin zayıflamaya neden olmaktadır (32,36).

Nitrik oksit ve ornitin, yara iyileşmesinde önemli fonksiyonları olan arjinin metabolizma ürünleridir. Nitrik oksit, mikrobik ajanlar için toksik etkili, vasküler permeabilite artışına yol açan potent vazodilatatör bir ajandır. Ornitin ise, yara gerilim direncinin sağlanmasında rol alan prolin prekürsörüdür. Kortikosteroidler, yara iyileşmesinin erken fazında nitrik oksit sentetazı, geç fazında arjinazı inhibe ederek nitrik oksit ve ornitin oluşumunu engellemek süreti ile yara iyileşmesini ve yara gerilim direncini baskılamaktadır (37).

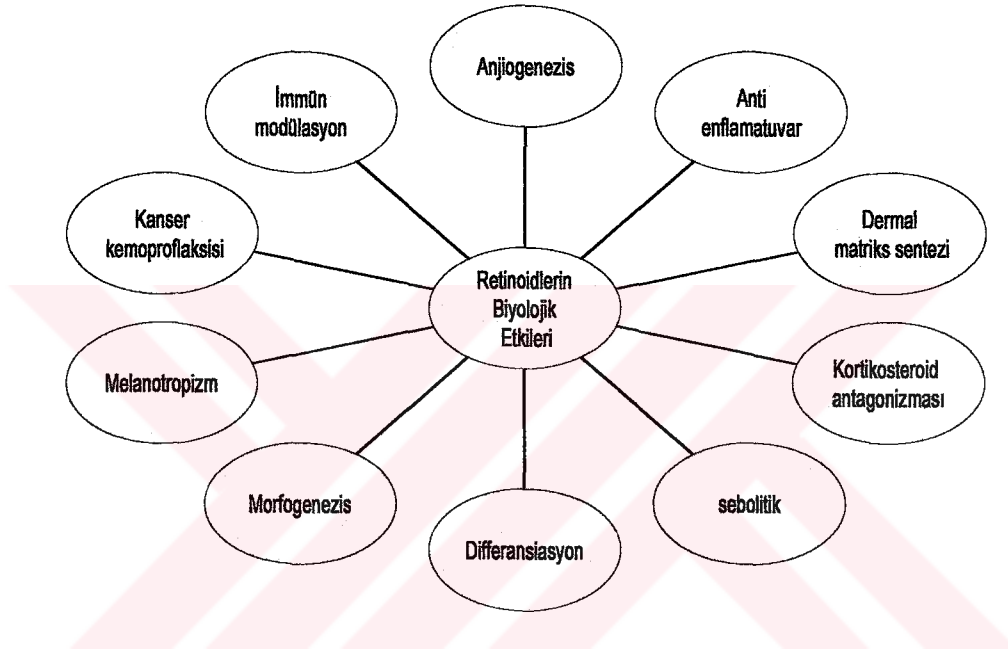
2.5. Retinoidler ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Altmış yılı aşkın süredir üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılan retinoidler, son 25 yıl içinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Topikal tretinoinin dermatolojik hastalıkların tedavisinde kullanımı ile ilgili araştırmalar, ilk olarak 1959 yılında Stüttgen tarafından yapılmıştır. Aynı araştırmacı 1962 yılında tretinoinin aktinik keratoz, seboreik keratoz, verruka, bazal hücreli karsinomada etkili olduğunu rapor etmiştir. Kligman ve ark. 1969 yılında tretinoinin akne tedavisinde etkili olduğunu saptamışlardır. Daha sonraki yıllarda retinoidler, iktiyozis, Darier hastalığı, psoriasis, liken planus, prekanseröz lezyonlar ve nonmelanotik deri kanserinin tedavi seçenekleri arasında yer almıştır. Topikal retinoidlerin fotoyaşlanma tedavisinde kullanımı ile ilgili ilk çalışma 1983 yılında Cordero tarafından başlatılmıştır (38).

Otuz yıl önce ilk topikal retinoid olan tretinoinin akne vulgaris tedavisinde kullanılmasından sonra, retinoidlerin terapötik faydaları ilgi odağı olmuş ve ilaç sanayisi tarafından son 15 yıl içinde 2500 civarında yeni farmasötik retinoid sentezi yapılmıştır (39,40).

Vitamin A'nın doğal aktif A vitamini formları (retinol, retinal, all-trans retinoik asit, 13 cis retinoik asit, 9 cis retinoik asit, 3-4 didehidroretinoik asit) ve sentetik analogları (adapalen, tazarotene) mevcuttur. Doğal retinoid olan all-trans retinoik asit (tretinoin) ve 13 cis retinoik asit (izotretinoin) akne ve keratinizasyon bozukluğu ile seyreden hastalıkların tedavisinde, retinol ise

kozmetik amaçlı olarak fotoyaşlanma ve selülit tedavisinde kullanılmaktadır. Yeni, sentetik A vitamini analogu, naphtoic asit derivesi olan adapalen, aknenin topikal tedavisinde kullanılmaktayken, tazarotene ise akne ve psoriasisin tedavisinde topikal tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır (41). Günümüzde ise topikal retinoidlerin 125 civarında dermatolojik hastalığın tedavisinde etkili olduğu yönünde kanıtlar mevcuttur. Retinoidlerin biyolojik etkileri şekil 1'de gösterilmiştir (42).



Şekil 1 : Retinoidlerin biyolojik etkileri.

Vitamin A analogları olarak bilinen retinoidlerin, yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı uzun yıllardır bilinmektedir. İlk kez 1968 yılında Ehrlich ve ark. A vitamini uygulamalarının yara iyileşmesini hızlandırdığını ve kortikosteroidlerin yara iyileşme sürecindeki olumsuz etkilerini antagonize ettiğini gözlemlemişlerdir (43).

Johansen ve ark. korneal abrazyon oluşturulan ratlarda günde iki defa %0.005'lik topikal tretinoin uygulamaları ile yara iyileşme hızının arttığını rapor etmişlerdir (44). Dermabrazyon, peeling, elektroepilasyon gibi dermatolojik cerrahi girişimler öncesinde uygulanan topikal retinoidlerin reepitelizasyonu hızlandırdığı gözlemlenmiştir. Aynı etki, parsiyel ve tam kat yara oluşturulan hayvan deneylerinde de gösterilmiştir. Ayrıca ultrapluse

lazer tedavisi sonrasında uygulanan topikal tretinoinin yara iyileşme sürecini hızlandırdığı rapor edilmiştir (32,39).

Retinoidler, bu etkilerini sitoplazmada bulunan selüler retinoik asit binding proteine (CRABP) bağlanıp, nükleustaki spesifik retinoid reseptörleri ile etkileşime girerek yapmaktadır. Son yıllarda 6 tane spesifik retinoik asit reseptörü tanımlanmıştır. Bu reseptörler retinoik asit reseptör alfa, beta, gama (RAR- α , RAR- β , RAR- γ) ve retinoid X reseptör alfa, beta, gama (RXR- α , RXR- β , RXR- γ) reseptörleridir. RAR- β , RAR- γ reseptörleri epidermiste yoğun olarak bulunmaktadır. Retinoidler, bu reseptörler ile etkileşime girerek mRNA ve protein sentezini sağlayan gen ekspresyonunun transaktivasyonunda rol oynamakta, epitelyal proliferasyon ve diferansiyasyonu regüle etmektedir. Diğer yandan retinoidler, yara iyileşme sürecinde önemli fonksiyonel görevleri olan TGF- β 1, IGF gibi büyüme faktörleri ve sitokinlerin sentez ve salınımının regülasyonunda da rol oynamaktadır (31,34, 38, 42).

Retinoidler, dermal ve epidermal etkinlik göstermekte, fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi, epitelizasyon ve anjiogenezisi uyarmak sureti ile yara iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Retinoidlerin kollajen sentezini artırıcı etkilerinin yanında kollajenaz aktivitesini baskılayıcı etkileri de mevcuttur (39,45,46). Retinoidler ayrıca, yara iyileşmesinde dominant rolü olan makrofajların inflamatuvar fonksiyonlarının regülasyonunda görev almaktadır. Ciddi travma geçiren tüm hastalarda günde 2500 ünite oral A vitamini verilerek yara iyileşmesindeki defektlerin düzeltilebileceğini savunan otörler mevcuttur (39).

Vitamin A eksikliğinde, hücre matürasyon ve fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyen ve enfekte yara bölgesine migrasyon yeteneğini kaybeden immatür nötrofil sayısında artış ile birlikte makrofajların fagositoz fonksiyonlarının baskılandığı gösterilmiştir. Ayrıca A vitamini eksikliğinde, defektif kollajen sentez ve depozisyonuna neden olan immatür fibroblast sayısında da artış olduğu rapor edilmiştir (46). Vitamin A'nın glikoprotein, proteoglikan sentezi ve lizozomal membran stabilizasyonu üzerine olan etkisi

iyi bilinmektedir. Yapılan hayvan çalışmaları, vitamin A eksikliğinde, C vitamini rezervlerinin azaldığı ve kollajen sentezinin bozulduğu gösterilmiştir. Ayrıca topikal A vitamini uygulamalarının, RNA polimerizasyonu ve epidermal hücrelerde mitoz sayısını, fibroblast aktivitesini, glukozaminoglukan sentezini, elastin formasyonu ve neovaskülarizasyonunu artırarak yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir (39,43,47).

2.6. Adapalen'in Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

Adapalen, akne tedavisinde kullanılan, yeni, naphthoic asit derivativesi, sentetik bir retinoiddir. İn vivo ve invitro çalışmalarda adapalenin hücresel düzeyde diferansiyasyon ve proliferasyona etki ettiği ve inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (48).

Adapalenin hücresel düzeyde diferansiyasyon ve proliferasyona olan etkisi nükleusta yerleşen RAR- β ve RAR- γ aracılığı ile gerçekleşmektedir. Adapalen tretinoinden farklı olarak RXR reseptör affinitesi düşüktür ve sitozolik retinoik asit binding proteinlerine bağlanmamaktadır. İnsan keratinositlerinde RAR- β gen ekspresyonu olmadığından, adapalenin epidermal etkinliği primer olarak RAR- γ aracılığı ile olmaktadır (48,49,50).

Deneyisel çalışmalarda, adapalenin F9 embriyonel karsinoma hücrelerinin endoderme farklılaşmasını uyardığı ve bu etkilerin retinoik asitten daha belirgin olarak izlendiği gösterilmiştir. Ayrıca adapalen, keratin 10, filaggrin, lorikrin, involukrin, transglutaminaz gibi çok sayıda diferansiyasyon belirtecinin ekspresyonunu da inhibe etmektedir (48).

Adapalen, lipooksijenaz enzim sistemini ve lökosit aktivasyonunu inhibe ederek antienflamatuvar etkinlik göstermektedir (48).

Adapalenin, ornitin dekarboksilaz enzim aktivasyonunu inhibe edip, sebositlerde antiproliferatif etkinlik gösterdiği invivo çalışmalarda gösterilmiştir (48).

Fotokimyasal olarak daha stabil ve daha az iritan olan adapalen mikrokomedon oluşumunu ve sebum sekresyonunu azaltıp, folliküler epitel deskuamasyonunu regüle ederek, akne oluşumunu da önlemektedir (51,52,53).

2.7. Deneysel Çalışmalarda Yara İyileşmesinin Değerlendirilmesi ve Hidroksiprolin

Kollajen, insan vücudunda en yaygın olarak bulunan proteindir. Vücuttaki total proteinin %30'unu, vücut ağırlığının %6'sını oluşturmaktadır. Kollajen liflerini oluşturan moleküller, " süper helezon " adı verilen üç adet kollajen polipeptit zincirinden oluşmuştur. Kollajen moleküllerini oluşturan polipeptit yapıları α heliks yapısındadır. Her bir polipeptit zinciri 1000 aminoasit içerir. Glisin- prolin-Y ve glisin-X-hidroksiprolin şeklindedir. X ve Y herhangi bir aminoasidi temsil etmektedir. Kollajen proteinin yapısında yüksek oranda glisin (%33), prolin (%10), ve aminoasit türevi olan hidroksiprolin (%13) bulunmaktadır. Kollajen yapısında bulunan prolin ve hidroksiprolin halkasal yapıda olduklarından, zincirlerin rotasyonunu kısıtlamakta ve süper-helezon yapıya stabilite kazandırmaktadır (54,55).

Hidroksiprolin, prolin hidroksilaz enzimi ile prolinin postransasyonel hidroksilasyonu sonucu oluşur. Hidroksiprolin kollajenin %13'ünü oluşturduğu için kollajen turnoverinin iyi bir göstergesidir. Kollajenin yıkımı sonucu ortaya çıkan hidroksiprolin, kollajen sentezinde yeniden kullanılmamaktadır (54).

Yara iyileşmesini ilgilendiren çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bunun sonucunda yara iyileşmesi parametreleri oldukça standartlaşmıştır. Bu parametrelerden başlıcaları, yaranın mekanik direnci ve kollajen birikiminin düzeyidir. Histopatolojik değerlendirme, genel bir fikir vermekle birlikte mikroskopik incelemeyi yapan kişiye bağımlı ve subjektif olduğundan, deney gruplarının istatistiksel karşılaştırılmasında yeterince güvenli değildir. Yara bölgesindeki kollajen miktarı, yara iyileşmesini gösteren önemli bir parametredir. Kollajen ilk sentezlendiğinde çapraz bağları azdır ve nötral solventlerde çözülebilir. Çapraz bağları arttıkça sadece asit solventlerde çözülebilir hale gelir. Molekül tüm çapraz bağlarını tamamlayıp son halini aldığı anda ise hiçbir solventte çözülmez ve molekül en dayanıklı halini alır. Dokudaki çözülebilen ve çözülmeyen kollajen düzeyi saptanarak yara iyileşmesi hakkında fikir edinebilir (56,57,58).

Deneysel çalışmalarda yara bölgesindeki kollajen miktarını göstermek için en çok kullanılan yöntem, doku hidroksiprolin içeriği ve konsantrasyon tayinidir (54,58).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deneysel Çalışmanın Tanımlanması

Süleyman Demirel Üniversitesi Dermatoloji Kliniği tarafından planlanan çalışma, üniversitemizin Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 40 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart laboratuvar yemi ile beslendi. İntramusküler olarak yapılan 5mg/kg ksilazin (Rompun®) ve 30 mg/kg ketamin hidroklorid (ketalar®) karışımı ile anestezi sağlandı. Sıçanların sırtının orta hattına 8 mm punch biyopsi ile birer tane sirküler, tam kat yara oluşturuldu. Daha sonra yara yeri 4/0 ipek sütur materyali kullanılarak kapatıldı. Yedinci günün sonunda yara bölgesi eksize edildi. Daha sonra eksize edilen dokular, aliminyum folyoda muhafaza edildi ve bir hafta içinde bu dokulardan Woessner metodu ile hidrokisprolin düzeyi çalışıldı. Sıçanların tümü yara oluşturulmasını takiben 7. günün sonunda sakrifiye edildi. Hayvanların sakrifiye edilmesi için yüksek doz dietileter inhale ettirildi.

3.2. Deney Grupları

Deneyde kullanılan 40 sıçan, her birinde 8'er hayvan bulunan 5 gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol): Yara oluşturulmasını takiben yara bölgesi ek bir işlem uygulanmadan kapatıldı ve 7 gün boyunca izlendi.
2. Grup (Plasebo): Yara oluşturulmasını takiben yara yüzeyine 7 gün süre ile topikal olarak plasebo (%10 metil selüloz jel) uygulandı.
3. Grup (Kortikosteroid): Yara oluşturulmasını takiben yara yüzeyi ek bir işlem uygulanmadan kapatıldı ve tek doz subkutan 4.5 mg metilprednizolon asetat (Depo-medrol® flakon) uygulandı.
4. Grup (Kortikosteroid+Tretinoin %0.1): Yara oluşturulmasını takiben tek doz 4.5 mg subkutan metilprednizolon asetat (Depo-medrol® flakon) enjeksiyonu yapıldı ve 7 gün süre ile yara bölgesine günde bir defa %0.1'lik topikal tretinoin (Aknelyse® krem) uygulandı.

5. Grup (Kortikosteroid+Adapalen %0.1): Yara oluşturulmasını takiben tek doz 4.5 mg subkutan metilprednizolon asetat (Depo-medrol® flakon) enjeksiyonu yapıldı ve 7 gün süre ile yara bölgesine günde bir defa %0.1'lik topikal adapalen (Differin® jel) sürüldü.

3.3. Yara Bölgesinde Doku Hidroksiprolin Konsantrasyonu Tayini

Yara bölgesinde doku hidroksiprolin düzeyi, "Woessner metodu" ile ölçüldü (58). Hidroksiprolin düzeyi ölçülecek dokular, önce serum fizyolojik ile yıkandı ve bir filtre kağıdı arasına aşırı nemi alınarak hassas terazide tartıldı. Daha sonra etüvde 3 gün bekletilerek kurutuldu ve dokular toz haline getirildi. HCL eklenerek 130 °C'de hidrolize edildi ve 3000 rpm'de 15 dakika santrifuj uygulandı. Süpernatanı alınarak izopropanol ilave edildi ve 2500 rpm'de 5-10 dakika santrifuj uygulanarak tekrar süpernatanı alındı.

Numune ile eşit miktarda distile su alınarak kör hazırlandı. Numune ve köre izopropanol, kloramin-T çözeltisi ve Ehrlich's reaktifi belli oranlarda eklenip vorteksledi. Daha sonra 60 °C'de su banyosunda 25 dakika inkübe edildi. Çözeltinin absorbansı 558 nm'de spektrofotometre aracılığı ile köre karşı okundu. Elde edilen optik dansite değerleri, kullanılan dokunun ağırlığı ve eklenen sıvıların miktarları göz önüne alınarak, her bir miligram doku başına düşen hidroksiprolin konsantrasyonu mikrogram cinsinden hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Sıçanların her grubu için yara bölgesindeki doku hidroksiprolin konsantrasyonu ortalamaları hesaplanarak, ortalama \pm standart hata belirlendi. Doku hidroksiprolin konsantrasyonları için ayrı ayrı grup ortalamaları karşılaştırıldı. Grup ortalamalarının karşılaştırılması için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yapıldı. Grupların ikili karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis Testi yapıldı. Bu analizlerde p değerinin 0.05' ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizlerin yapılmasında SPSS for Windows (11.0) bilgisayar programı kullanıldı.

4. BULGULAR

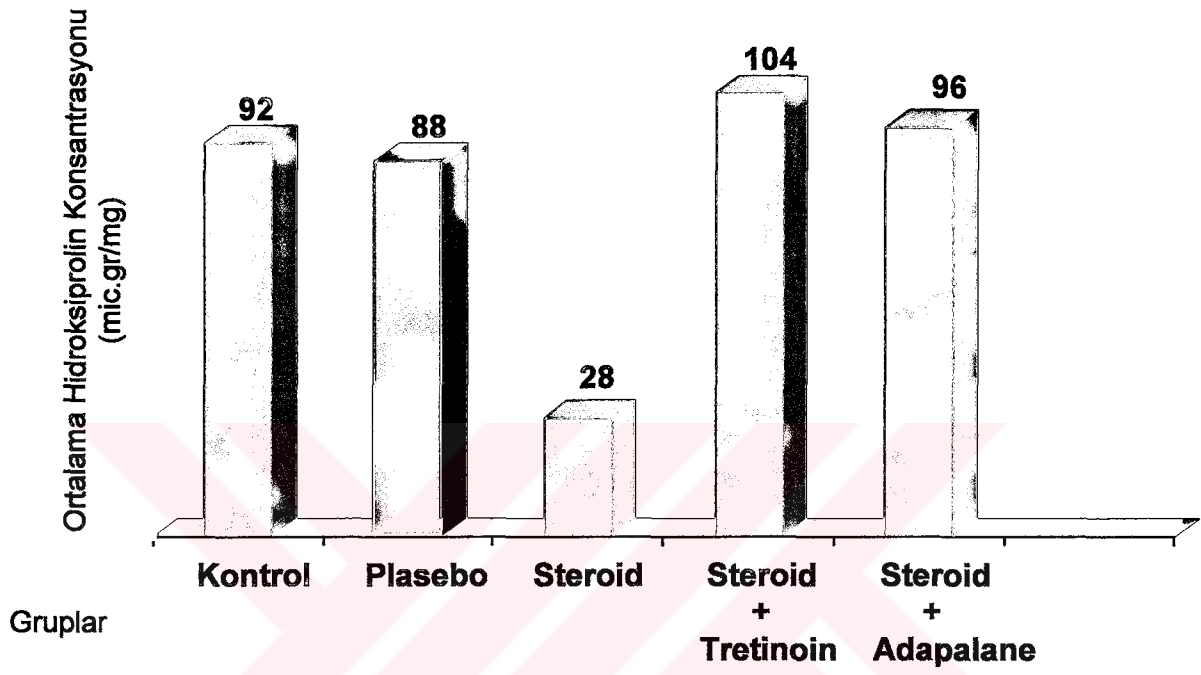
Çalışmamızda 1-5. gruptaki doku hidrokspirolin düzeyi ortalama değerleri sırası ile; 1.grup: 92.9 µg/mg, 2.grup: 88.1µg/mg, 3.grup: 28.3, µg/mg 4.grup: 104.1µg/mg, 5. grup: 96.2µg/mg olarak tespit edildi. Gruptaki doku hidrokspirolin düzeyleri ve standart sapma değerleri tablo 6'da, grupların ortalama hidrokspirolin düzeyleri ise şekil 2'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Gruptaki yara bölgesindeki doku hidrokspirolin konsantrasyonları ortalamaları tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) testi ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Gruplar ikişerli olarak kruskal-wallis testi ile karşılaştırıldığında, kortikosteroid verilen gruptaki ortalama hidrokspirolin düzeyinin, kontrol ve plasebo grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu saptandı ($p < 0.01$, $p < 0.01$). Kortikosteroid + adapalen uygulanan gruptaki ortalama hidrokspirolin düzeyi, kortikosteroid, kontrol ve plasebo grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek idi ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$). Tretinoin + kortikosteroid uygulanan gruptaki ortalama hidrokspirolin düzeyleri ile kontrol, plasebo ve sadece kortikosteroid verilen gruptaki hidrokspirolin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($P < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$). Kortikosteroid + tretinoin uygulanan grup ile kortikosteroid + adapalen uygulanan grupların hidrokspirolin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Tablo 6: Gruplara göre yara bölgesi doku hidroksiprolin konsantrasyonu değerleri, grup ortalamaları ($\mu\text{g}/\text{mg}$) ve \pm standart sapma değerleri

	Rat	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Hidroksiprolin konsantrasyonları ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	1.	91,7	64,5	39,1	111,3	102,5
	2.	79,1	96,5	37,3	99,4	101,3
	3.	69,3	66,9	35,2	98,2	93,2
	4.	104,5	90,1	17,7	102,1	95,0
	5.	112,1	83,8	33,3	105,0	99,4
	6.	96,1	106,3	19,9	102,6	103,5
	7.	100,5	109,9	15,6	114,5	90,3
	8.	90,0	87,5	28,6	100,1	84,8
Ortalama	92,9	88,1	28,3	104,1	96,2	
Standart sapma	$\pm 13,7$	$\pm 16,5$	$\pm 9,3$	$\pm 5,8$	$\pm 6,5$	



Şekil 2 : Grupların Ortalama Hidroksiprolin Konsantrasyonları Değerleri mic.gr/mg

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yara iyileşmesi, inflamasyon, hücre migrasyonu, anjiogenez, matriks sentezi, yeni kollajen oluşumu ve reepitelizasyon gibi çeşitli hücrel ve moleküler basamakları içeren kompleks bir olaydır. Olayın karmaşıklığı ve tedavi alternatiflerinin azlığı nedeni ile tedavide hala yeterince başarılı sonuçlar alınamamakta, kronik yaralar ve ilişkili komplikasyonlar ciddi mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Son yıllarda alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amacı ile yoğun araştırmalar yapılmaktadır (7). Halen dermatoloji pratiğinde akne vulgaris tedavisinde yaygın olarak kullanılan topikal retinoidler, yara iyileşmesinde önemli rol oynayabilecek keratinosit, fibroblast, makrofaj ve endotel hücreleri üzerine etkileri nedeni ile bir çok araştırmacının ilgi odağı haline gelmiştir.

A vitaminin doğal aktif formu olan tretinoinin yara iyileşmesine etkileri konusunda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, üçüncü kuşak retinoid olarak kabul edilen naphthoic asit derivativesi, sentetik agonist adapalenin yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran sadece bir çalışmaya rastlanmıştır (59).

Potent antiinflamatuvar ve immünsüpresif ajanlar olarak bilinen kortikosteroidlerin, yara iyileşmesini geciktirdiği ve baskıladığı yapılan hayvan deneylerinde gösterilmiştir (32,34,36,60-62). Bu çalışmanın planlandığı tarihe kadar, ulaşılabilen literatürlerde, kortikosteroidlerle baskılanmış deride yara iyileşmesinde adapalen ve tretinoinin etkilerini araştıran ve karşılaştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada topikal olarak uygulanan adapalen ve tretinoinin, sağlıklı ve kortikosteroid verilerek yara iyileşmesi baskılanan sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine olan etkileri araştırılmış ve tartışılmıştır.

Vitamin A'nın yara iyileşmesi üzerine olan etkileri 50 yılı aşkın süredir bilinmektedir(63). Son yıllarda da gerek topikal gerek sistemik retinoid kullanımının yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğine dair çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır.

Retinoidler, fibroblast proliferasyonunu, epitelizasyonu, kollajen sentez ve depozisyonunu, elastin formasyonunu ve neovaskülarizasyonu uyararak

yara iyileşmesine olumlu katkı sağlamaktadır. Ayrıca retinoidler, hücre büyümesi ve farklılaşmasında düzenleyici rol oynamaktadır (31,32,59).

Deneysel olarak vitamin A eksikliği oluşturulan ratlarda, epitelizasyon, yara kapanma hızı ve kollajen sentezinde azalma ile birlikte yeni oluşan kollajen bantları arasında çapraz bağlarda yetersizlik olduğu gösterilmiştir. Vitamin A, epidermal turnoveri sitümüle etmek süreti ile yara dokusunda reepitelizasyon hızını arttırmaktadır. Ayrıca retinoidler epidermal hücrelerdeki tonoflamanları ve dezmozomal bağlantıları baskılayarak, epitelial migrasyonu uyarmaktadır. Yapılan invivo ve invitro çalışmalarda dokuda artan retinoid konsantrasyonu ile birlikte fibroblast yoğunluğunda da artış olduğu gösterilmiştir (39,42,64).

Kortikosteroidler, immünsüpresif ve antienflamatuvar etkinliklerinden dolayı, yara bölgesine inflamatuvar hücre göçünü, fibroblast proliferasyonunu, kapiller rejenerasyonu, matriks sentezini, epitelyal migrasyonu ve yara kontraksiyonunu baskılamaktadır. Ayrıca kortikosteroidler, tip 1 kollajen sentezinden sorumlu mRNA gen ekspresyonunu inhibe ederek, kollajen sentezini ve çapraz bağlanmayı engellemek süreti ile yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemekte ve yara gerilim direncinin oluşmasını baskılamaktadır. Retinoidler ise, yara kontraksiyonunun baskılanması dışında, tüm bu istenmeyen yan etkileri geri çevirmektedir (31,32,34,46).

İlk olarak 1968 yılında Erhlich ve Hunt, kortikosteron asetat enjeksiyonu yapılarak yara iyileşmesi baskılanan sıçanlarda, parenteral A vitamini uygulamalarının, yara iyileşmesini hızlandırdığını, kortikosteroidlerin yara iyileşmesi sürecindeki olumsuz etkilerini antagonize ettiğini rapor etmişlerdir (43,60). Aynı yıllarda Jurin ve Tannoc günlük vitamin A enjeksiyonlarının hümoral ve hücrel immün yanıtı düzenlediğini gözlemlemişlerdir (60).

Talas ve ark. kortikosteroid enjeksiyonu sonrasında trakeal anastomoz uyguladıkları ratlara postoperatif dönemde 1hafta boyunca günlük 10.000 U/kg oral vitamin A uygulamışlar ve çalışmanın sonucunda, vitamin A verilen grupta kollajen içeriği ve hidroksiprolin düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı

şekilde yüksek olduğunu ve vitamin A'nın, kortikosteroidlerin yara iyileşmesi üzerine olan inhibitör etkilerini antagonize ettiğini gözlemlemişlerdir (31).

Philips ve ark. yaptıkları benzer bir çalışmada, uzun dönem kortikosteroid verilerek ileal ve kolonik anastomoz yapılan ratlarda, yüksek doz retinol tedavisi ile, kortikosteroidlerin yara iyileşmesine olan istenmeyen etkilerinin tersine çevrildiğini rapor etmişlerdir (65).

Haws ve ark. kortikosteroid ve topikal A vitaminin yara gerilim direncine etkisini araştırdığı bir çalışmada, topikal A vitamini kullanımının, kortikosteroidlerle baskılanan yara gerilim direncini artırdığını gözlemlemişlerdir (66).

Kronik yaralarda topikal retinoid uygulamalarının granülasyon dokusu oluşumunu uyardığı ve hızlandırdığı bilinmektedir. İki hafta boyunca kısa süreli günlük %0,05'lik topikal tretinoin uygulanan kronik bacak ülserli 5 hastada, 1. haftanın sonunda granülasyon dokusunda artış, 4. haftanın sonunda ise yeni vasküler yapıların ve kollajen formasyonunun oluştuğu gösterilmiştir (67).

Lorraine ve ark. 10 hafta boyunca kronik ultraviyole irradiasyonu sonrasında dermal hasar oluşturulan ratlarda, irradiasyonu takiben 5-10 hafta süre ile %0,05'lik topikal tretinoin uygulamışlar ve tretinoin verilen grupta fibroblast sayısında ve vaskülaritede artış ile birlikte yeni kollajen demetlerinin oluştuğunu gözlemlemişlerdir (45).

Yaygın olarak kullanılan steroidlerin klinik olarak yara iyileşmesini baskıladığı bilinse de, bu etkilerin mekanizması ve retinoidlerin bu yan etkiler üzerine olan antagonistik etkilerinin hücresel temelleri hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır (31).

Retinoidler, hücre büyümesi, proliferasyonu ve farklılaşmasında düzenleyici rol oynamaktadır. Retinoidler, bu etkilerini nükleustaki reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirmektedir. Bu reseptörler steroid reseptör ailesinden retinoik asit reseptör (RAR) ve retinoid X reseptörü (RXR) olmak üzere iki tanedir. Retinoidler, bu reseptörlere bağlanarak epitelyal hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını sağlayan gen ekspresyonunun transaktivasyonuna yola açmaktadır (34,35,42).

Retinoidler, growth faktör ve reseptörlerinin ekspresyonunun regülasyonunu sağlayarak yara iyileşmesine etki etmektedir. TGF- β_1 ve IGF-1, retinoidler tarafından regüle edilen yara iyileşmesinde önemli fonksiyonel özelliklere sahip peptit yapılı growth faktörlerdir. TGF- β_1 , yara iyileşmesinin tüm fazlarına etki etmekte ve inflamatuvar yanıtı, anjiogenezisi ve matriks depozisyonunu arttırmaktadır. Ayrıca TGF- β_1 , fibroblastlar üzerine mitojenik etkili olup, kollajen ve fibronektin sentezini de sitümüle etmektedir. Deneysel çalışmalarda TGF- β_1 'in insizyon yerinde yara gerilim direncini arttırdığı da gösterilmiştir (32,34,42).

Yara iyileşmesinde major etkili bir diğer peptit ise IGF-1dir. IGF-1 direkt olarak fibroblast, endotel ve epitelyel hücrelere etki etmektedir. Hipofizektomi yapılarak IGF-1 seviyeleri %90 oranında baskılanan ratlarda, kollajen depozisyonu ve makrofaj konsantrasyonunun belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (34).

Kortikosteroidler, TGF- β_1 ve IGF-1 seviyelerini ve dokularda birikimini azaltarak yara iyileşmesini baskılamaktadır. Retinoidler ise kortikosteroidlerle baskılanan TGF- β_1 ve IGF-1 salınımını artırarak kortikosteroidlerin yara iyileşmesi üzerine olan olumsuz etkilerini antagonize etmektedir (34).

Corinna ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada, tek doz 6 mg metilprednizolon enjeksiyonu sonrasında yara iyileşmesi baskılanan ratlarda TGF- β_1 ve IGF-1 seviyelerini düşük olarak saptarken, diyetle all trans retinoik asit ve 9 cis retinoik asit verilen grupta anlamlı şekilde yüksek olarak bulmuşlardır (34).

Kortikosteroidlerin, arjinaz enzimini inhibe ederek ornitin oluşumunu baskıladığı iyi bilinmektedir. Ornitin ise yara gerilim direncinin sağlanmasında rol alan prolin prekürsörüdür. Retinoidler, kortikosteroidlerin inhibe ettiği arjinaz enzimini sitümüle ederek, baskılanan yara gerilim direncinin yeniden sağlanmasında rol oynamaktadır (37).

Proteolitik plazminojen aktivatör sistem yara iyileşmesinin reepitelizasyon fazında önemli rol oynamaktadır. Keratinositler tarafından sentez ve sekrete edilen ürokinaz tip plazminojen aktivatörü, keratinosit yüzeyinde bulunan reseptöre bağlanarak plazminojeni aktif hale getirir.

Bunun sonucunda periselüler proteolizis meydana gelir ve keratinosit migrasyonu uyarılır. Braungart ve ark. retinoik asit uygulamalarının proteolitik plazminojen aktivatör sistemi sitümüle ederek, keratinosit migrasyonunu uyardığını, reepitelizasyon ve yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığını rapor etmişlerdir (68).

Yapılan literatür taramasında retinoidlerin yara iyileşmesini geciktirdiği, reepitelizasyon ve kollajen sentezini baskıladığı yönünde çalışmalara da rastlanmıştır. Schoreder ve Rapaport yaptıkları invitro çalışmada, fibroblast kültürlerine 10µmol/L konsantrasyonunda tretinoin uygulaması ile hem insan HeLa hücrelerinde hem de sıçan modellerinde fibroblast proliferasyonunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir (69).

Sırt derisinde tam kat yara oluşturulan ve suture edilmeksizin 27 gün boyunca topikal tretinoin uygulanan hayvan modellerinde, reepitelizasyon hızında azalma ve yara iyileşmesinde gecikme ile birlikte yoğun granülasyon dokusunun olduğu gözlemlenmiştir. Artan bu yoğun granülasyon dokusunun, reepitelizasyon hızını azaltabileceği ve özellikle açık yaralarda topikal tretinoin kullanımının, yara iyileşmesini geciktirebileceği öne sürülmektedir (63).

Civciv embriyo tendon fibroblastlarında prokollajen sentezi üzerine tretinoinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, tretinoinin doz bağımlı olarak prokollajen sentezini azalttığı gösterilmiştir (69).

Yapılan bir diğer çalışmada metilprednizolon enjeksiyonunu takiben 7 mm'lik tam kat yara oluşturulan ratlara, topikal ve oral A vitamini uygulanmış ve topikal A vitamini uygulanan grupta yara iyileşmesinde gecikme olduğu tespit edilirken, sistemik A vitamini verilen grupta ise yara iyileşmesinin etkilenmediği gösterilmiştir (70).

Otley ve ark. tam kat yara oluşturulan hayvan modellerinde, preoperatif 4 hafta, postoperatif 5 hafta süre ile topikal tretinoin uygulamışlar ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tretinoin uygulanan grupta yara iyileşmesinin anlamlı şekilde baskılandığını rapor etmişlerdir (71).

Literatür verileri genel olarak değerlendirildiğinde, retinoidlerin yara iyileşmesine etkileri konusunda çelişkili sonuçlarla karşılaşmıştır. İnvivo

çalışmalarda ve hayvan modellerinde retinoidlerin yara iyileşmesini hızlandırdığı ve olumlu yönde etkilediğine dair veriler çoğunlukta iken, invitro çalışmaların çoğunda bu etki gösterilememiş, aksine retinoidlerin yara iyileşmesini baskıladığı gözlemlenmiştir. Invivo ve invitro çalışmalardaki çelişkili sonuçlar, invivo ortamda yara iyileşme sürecinin daha komplike olmasından ve retinoidlerin yara iyileşmesini çok yönlü olarak etkileyebilmesinden kaynaklanabilmektedir (59,69,70).

Literatürde adapalenin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştıran tek alışma Başak ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Başak ve ark. bu çalışmada, 8 mm'lik punch biyopsi ile sırt bölgesinde 2 ayrı tam kat yara oluşturulan ratlara 7- 14 gün süre ile adapalen ve tretinoini topikal olarak uygulamışlardır. Uygulamanın 7 ile 14. günlerinde yapılan histopatolojik değerlendirmede, adapalen ve tretinoin uygulanan grupta kontrol grubundan farklı olarak granülasyon dokusu oluşumunda, kollajen sentezi ve anjiogenezde artış olduğunu gözlemlenmiştir. Tretinoin uygulanan grupta 7 ve 14. günlerde alınan doku örneklerinde hidroksprolin düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan adapalen uygulanan grupta ise 7. günde alınan doku örneklerinde hidroksprolin düzeylerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak fark saptanmazken, 14. gün hidroksprolin düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu rapor edilmiştir (59).

Bizim alışmamızda da benzer bir düşünceyle yara iyileşmesini baskıladığı bilinen kortikosteroidlerin bu etkilerinin, topikal adapalen ve topikal tretinoin uygulanması ile telafi edilip edilemeyeceği araştırıldı.

Çalışmamızda tüm gruplarda, kollajen miktarının ve yara iyileşmesinin göstergesi olarak doku hidroksprolin düzeyleri değerlendirildi.

Kortikosteroid verilen grupta hidroksprolin düzeyleri literatür verileri ile uyumlu olarak plasebo ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü ($p<0.01$, $p<0.01$).

Tretinoin+kortikosteroid verilen gruptaki hidroksiprolin düzeyleri, kortikosteroid grubundan istatistiksel olarak oldukça anlamlı şekilde yüksek idi ($p<0,01$).

Adapalen+kortikosteroid verilen gruptaki hidroksiprolin düzeyleri, kontrol, plasebo ve kortikosteroid grubundan anlamlı şekilde yüksek olarak saptandı ($p<0,05$, $p<0,05$, $p<0,01$). Adapalen+kortikosteroid verilen grup ile tretinoin + kortikosteroid verilen grup arasında hidroksiprolin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p<0,05$).

Adapalen uygulanan grupta iritasyon bulgusuna rastlanmazken, tretinoin uygulanan bir ratta ilacın uygulandığı bölgede iritasyon geliştiği izlendi.

Çalışmamızda, topikal olarak uygulanan adapalen ve tretinoinin yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini ve ayrıca kortikosteroidler tarafından baskılanan yara iyileşmesinin bu uygulamalarla telafi edildiğini gözlemledik .

Adapalen ve tretinoin, yara iyileşmesi konusunda üzerinde çok sayıda çalışma yapılan büyüme faktörleri ve granülosit-monosit koloni sitümüle edici faktör uygulamalarına göre oldukça ucuz olup, topikal olarak kolayca uygulanabilen ajanlardır. Topikal uygulanan tretinoinin, retinoid dermatiti ve fotoiritasyon yapıcı etkileri mevcuttur. Adapalenin kontakt sensitizasyon ve iritasyon potansiyelinin daha düşük olması ve fotostabil olması tretinoine göre avantaj sağlamaktadır (72,73,74).

Bu çalışmanın sonuçlarına göre;

1. Kortikosteroidlerin yara iyileşmesini baskıladığı,
2. Kortikosteroidlerle baskılanan yara iyileşmesinin, topikal adapalen ve tretinoin uygulamaları ile normal düzeylere ulaştığı,
3. Topikal tretinoin ve topikal adapalen uygulamaları arasında yara iyileşmesine katkı sağlama açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir.

Adapalenin, yara iyileşmesine olumlu katkı sağlaması açısından umut verici bir seçenek olabileceği kanaatine varılmıştır. Ancak tam etki

mekanizması, ideal endikasyon ve etkinliğinin net olarak olarak belirlenmesi ve klinik kullanımı için daha fazla denek sayısına sahip çok sayıda deneysel, klinik ve histopatolojik çalışmalara gereksinim vardır.



ÖZET

Kortikosteroidlerle Baskılanmış Yara İyileşmesi Üzerine Topikal Adapalen ve Topikal Tretinoinin Etkisi

A vitamini analogu olan retinoidlerin yara iyileşmesini sitümüle ettiği uzun yıllardır bilinmektedir. Yakın zamanda yapılan hayvan çalışmalarında, topikal ve veya sistemik A vitamini uygulamaları ile kortikosteroidlerin yara iyileşme sürecindeki inhibitör etkilerinin antagonize edildiği gösterilmiştir.

Adapalen, güçlü retinoid agonisti etkisi olan, naphthoic asit derivativesi, yeni, sentetik bir ilaçtır. Tretinoin ile benzer farmakolojik özelliklere sahip adapalenin, kortikosteroidlerin baskıladığı yara iyileşmesine olumlu katkı sağlayabileceği düşüncesi ile bu çalışmayı planladık. Çalışmamızda yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği bilinen tretinoin ile adapalenin kortikosteroidlerin baskıladığı yara iyileşmesine olan etkileri karşılaştırıldı.

Ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen Wistar – Albino cinsi 40 adet rat 5 eşit gruba bölündü. Tüm ratların sırt derisinde 8 mm'lik punch biyopsi ile standart, sirküler tam kat yara oluşturuldu. Birinci grup kontrol grubu olarak alındı ve hiçbir tedavi uygulanmadan izlendi. İkinci gruba % 10'luk metil selüloz jel (plasebo), üçüncü gruba ise tek doz 4.5 mg metil prednizolon asetat enjeksiyonu subkutan olarak uygulandı. Metil prednizolon enjeksiyonunu takiben dördüncü gruba 7 gün boyunca, günde bir kere %0.1'lik tretinoin, beşinci gruba ise % 0.1'lik topikal adapalen jel uygulandı. Yedinci günün sonunda biyokimyasal analiz için yara oluşturulan bölge eksize edildi. Gruplar arasındaki ortalama doku hidroksiprolin düzeyleri karşılaştırıldı. Adapalen + kortikosteroid uygulanan grupta hidroksiprolin düzeyleri kortikosteroid, kontrol ve plasebo grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek idi ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$). Benzer şekilde tretinoin + kortikosteroid uygulanan gruptaki hidroksiprolin düzeyleri de kortikosteroid, kontrol, plasebo grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek idi ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$). Adapalen + kortikosteroid uygulanan grup ile tretinoin + kortikosteroid uygulanan grup ortalama doku hidroksiprolin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Sonuç olarak tretinoine kıyasla daha az iritan ve daha fotostabil olan adapalen, yara iyileştirmesini hızlandırması açısından umut verici bir seçenek olarak görülmektedir. Ancak bu amaçla kullanımı için, daha detaylı ve ileri araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Adapalen, kortikosteroid, tretinoin, yara iyileşme

SUMMARY

The Effect of Topical Application of Adapalene and Tretinoin on the Wound Healing Impaired by Corticosteroids

Retinoids, also known as vitamin A analogs, have been known to stimulate wound healing for over years. In recent years, it was shown that inhibitory effect of corticosteroids on cutaneous wound healing antagonised by the use of topical and systemic vitamin A in laboratory animals.

Adapalene is a new, naphthoic acid derivative, synthetic drug with strong retinoid agonist pharmacology. While adapalene is known to behave similarly to tretinoin pharmacologically, we propose that adapalene contribute to wound repairing process impaired by corticosteroids and we planned this study. In this study we evaluated the efficacy of adapalene in full-thickness wound healing impaired by corticosteroids, to compare the effect of tretinoin, which also contribute to the wound repairing process.

Forty Wistar Albino rats weighing 200-250 g were divided into five equal groups. A circular full-thickness wound were made for each animal with a standard 8-mm punch biopsy on the midline of the back. No treatment was given to group I (control), The wound was treated by methyl cellulose gel 10% in group II (placebo). Single dose methyl prednisolone acetate 4.5 mg was administered subcutaneously in a corticosteroid group (group III). After methyl prednisolone injection, tretinoin cream (0.1%) was applied once daily and topically for seven days in group IV. Fifth group treated by topical adapalene 0.1 % gel once daily for seven days with single dose methyl prednisolone injection. (group V) The wounds of each animal were excised on day 7, for biochemical examination. The groups were compared in terms of the tissue concentration of hydroxyproline. Mean tissue concentration of hydroxyproline was significantly greater in the adapalene plus steroid group compared corticosteroid, control and placebo groups ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$). Similarly mean tissue concentration of hydroxyproline was significantly greater in the tretinoin plus steroid group compared corticosteroid, control and placebo groups ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$). There was no statistical significant difference between adapalene plus corticosteroid group and the group treated corticosteroid plus tretinoin ($p > 0.05$).

In conclusion, adapalene which is less irritant and more photostable than tretinoin is a hopeful alternative treatment for acceleration of wound healing impaired by corticosteroids. For this reason, we believe that further studies with large series are needed.

Keywords: Adapalene, corticosteroid, tretinoin, wound healing.

KAYNAKLAR

1. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am* 77: 509-28, 1997.
2. Köşklü A. Yara iyileşmesinde Tarihsel Gelişmeler. In : Erdem C, Çelebi C, eds. Tüm yönleri ile yara iyileşmesi. Ankara, Ayrıntı Matb., Ltd. Şti.1-7, 1996.
3. Clark RAF. Mechanisms of cutaneous wound repair. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wof K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI., Fitzpatrick TB (eds). *Dermatology in General Medicine*. 5th ed. New York, Mc Graw Hill Inc. 326-340, 1999.
4. Cohen IK, Diegelmann RF, Yager DR, Wornum IL, Graham M, Crossland MC. Wound care and wound healing. In: Schwatrz SI, Shires GT, Spencer FC, Doly JM, Fischer JE, Galloway AC (eds). *Principles of Surgery*. 7th ed. NewYork, McGraw-Hill Inc. 263-96,1999.
5. Ekmekçi P, Bostancı S. Yara iyileşmesi. *T Klin Dermatol* 12: 114-120, 2002.
6. Nursal TZ, Baykal A, Hamaloğlu E. Yaşlılarda yara iyileşmesi: Fark Var mı ?. *Turk J Geriatr* 2: 29-32, 1999.
7. Anadolu RA, Boyvat A, Ekmekçi PK. Granülosit monosit koloni stimüle edici faktörün yara iyileşmesi üzerindeki etkileri. *Turk J Dermatopathol* 7: 100-103, 1998.
8. Hatz RA, Niedner R, Varscheid W. Physiology of wound healing. In: Schildberg FW. Ed. *Wound and wound management*. Berlin, Springer Verlag GmbH Co.1-16, 1994.
9. Ciğer S. Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri. In: Erdem C, Çelebi C, eds. Tüm yönleri ile yara iyileşmesi. Ankara, Ayrıntı Matb. Ltd. Şti. 20-26, 1996.
10. Karukonda SRK, Flynn TC, Boh EE, et al. The effect of drugs on wound healing: Part 1. *Int J Dermatol* 39: 250-257, 2000.
11. Ferguson MWJ, Leigh IM Wound healing. In: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG eds. *Textbook of Dermatology*. 6th ed. Oxford, Blackwel Scientific Pub. 337-351, 1997.
12. Serdaroğlu S, Arzuhal N. Proteolitik enzimler ve yara iyileşmesi. *Dermatose* 2: 20-24, 2004.
13. Browder, Williams D, Lucore P, Pretus H. Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. *Surgery* 104: 224-30, 1998.
14. Ellis H. What's new in wound healing ?. *Aust N Z J Surg* 57(6): 341-342, 1997.
15. Clark RAF. Cutaneous tissue repair: Basic biologic cosiderations. *J Am Acad Dermatol* 13: 701-25, 1985
16. Lawrence WT. Physiology of acute wound. *Clin Plast Surg* 25:321-340, 1998.
17. Gümüştaş MK. Bağ dokusu proteinlerinin yara iyileşmesindeki rolü. In: Güner G, Kırkalı G. Ekstrasellüler matriks. I. Uluslararası katılımlı sağlıkta ve hastalıkta ekstrasellüler matriks sempozyumundan seçilmiş makaleler. İzmir, 172-178,1998.
18. Ehrlich HP, Krummel TM. Regülation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound Repair Regen* 4: 203, 1996.
19. Lawrence WT, Diegelmann RF. Grown factors in wound healing. *Clins in Dermatol* 12:157-169, 1994.
20. Heather C, Marshal B, Marshall C.Growth factors in corneal wound healing refractive surgery: A review. *Acta Ophthalmol Scand* 80: 238-247, 2002.

21. Ehrlich HP. Why wounds need to be debrided. In: Westerhof W, Vanscheidt W eds. *Proteolytic enzymes and wound healing*. Berlin, Springer-Verlag GmbH. Co. 75-87, 1994.
22. Ramasastry SS. Chronic problem wounds. *Clin Plast Surg* 25: 367-396, 1998.
23. Degreef HJ. How to heal a wound fast. *Clin Dermatol* 16: 365-75, 1998.
24. Kurumlu Z, Çelebi CR. Yara iyileşmesi ve beslenme In: Erdem C, Çelebi C, eds *Tüm yönleri ile yara iyileşmesi*. Ankara, Ayrıntı Matb. Ltd. Şti. 61-66, 1996.
25. Strigini L, Ryan T. Wound healing in elderly human skin. *Clin Dermatol* 14:197-206, 1996.
26. Biger C. Cutaneous manifestations of endocrinologic diseases. *Dermatology* 36:262-69, 2001.
27. Arnold F, Cherry G. Granulocyte monoocyte colony stimulating factor as agent for wound healing. *J Wound Care* 400-402, 1995.
28. Hollander DA, Hakimi MY, Hartmann A, Wilhelm K. The influence of hyperbaric oxygenation (HBO) on proliferation and differentiation of human keratinocyte cultures invitro. *Cell Tissue Bank*. 261-69, 2000.
29. Kundakçı N. Doku harabiyetinin nedenleri. In: Erdem C, Çelebi C, eds. *Tüm yönleri ile yara iyileşmesi*. Ankara, Ayrıntı Matb. Ltd. Şti, 8-16, 1996.
30. Taşkar İ, Özyazgan İ, Yercan M. A comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on wound healing in rats. *Plast Reconstr Surg* 966-972, 1997.
31. Talas DU, Nayci A, Atis S, et al. The effects of corticosteroids and vitamin A on the healing of tracheal anastomoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 67: 109-116, 2003.
32. SRK Karukonda, Flynn TC, Boh EE, et al. The effects of wound healing- part II. Specific classes of drugs and their effect on healing wounds. *Int J Dermatol* 39: 321-333, 2000.
33. Bodor NS, Kiss-Burris ST, Buris L. Novel soft steroids effect on cell growth invitro and on wound healing in the mouse. *Steroids* 56: 434-439, 1991.
34. Wicke C, Holliday B, Allen D, et al. Effect of steroids and retinoids on wound healing. *Arc Surg* 135:1265-70, 2000.
35. Fassler R, Sasaki T, Timpl R, et al. Differential regulation of fibulin, tenascin-C and nidogen expression during wound healing of normal and glukocorticoid-treated mice. *Exp Cell Research* 222:111-116, 1996.
36. Del Rio JV, Beck DE, Opella FG. Chronic perioperative steroids and colonic anastomotic healing in rats. *J Surg Res* 66:138-142, 1996.
37. Uland AE, Shearer JD, Coultier MAC, Caldwell MD. Altered wound arginine metabolism by corticosterone and retinoic acid. *J Surg Res* 70: 84-88, 1997.
38. Toras H. Retinoids in Aging. *Clin Dermatol* 14: 207-215, 1996.
39. Nicolaidou E, Katsambas AD. Vitamins A, B, C, D, E, F, Trace elements and heavy metals: unapproved uses or indications. *Clin Dermatol* 18: 87-94, 2000.
40. Kligman AM. The growing importance of topical retinoids in clinical dermatology: a retrospective and prospective analysis. *J Am Acad Dermatol* 39: 2-7, 1998.
41. Shapiro SS, Saliou C. Role of vitamins in skin care. *Nutrition* 17: 839-844, 2001.
42. Elson ML. The role of retinoids in wound healing. *J Am Acad Dermatol* 39: 79-81, 1998.
43. Hunt TK. Vitamin A and wound healing. *J Am Acad Dermatol* 15: 817-821, 1986
44. Johansen S, Heegaard S, Prause JU, Rask-Pedersen E. The healing effect of all-trans retinoic acid on epithelial corneal abrasions in rabbits. *Acta Ophthalmol Scand* 76: 401-404, 1998.

45. Kligmann LH. Effects of all-trans-retinoic acid on the dermis of hairless mice. *J Am Acad Dermatol* 15:779-85, 1986.
46. Gray M. Does oral supplementation with vitamins A or E promote healing of chronic wounds ? *J WOCN* 30:290-294, 2003.
47. Hung VC, Lee JY, Zitelli JA, Hebda PA. Topical tretinoin and epithelial wound healing. *Arch Dermatol* 125: 65-69, 1989.
48. Michel S, Jomard A, Demarchez M. Pharmacology of adapalene. *Br J Dermatol* 139: 3-7, 1998.
49. Shroot B. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of topical adapalene. *J Am Acad Dermatol* 39:17-24, 1998.
50. Verschoore M. Overview. *J Am Acad Dermatol* 36: 126 ,1997.
51. Alec Josiane, Chatelus A, Wagner N. Skin distribution and pharmaceutical aspects of adapalene gel. *J Am Acad Dermatol* 36:119-25, 1997.
52. Gibbs SS, Uptmore D, O'tillar L. Retinoids. *J Am Acad Dermatol* 50: 405-415, 2004.
53. Gollnick H, Cunliffe W. Management of Acne. *J Am Acad Dermatol* 49:1-38, 2003.
54. Demir S, Köseoğlu MH. Alkali hidrolizi ile hidrokisiprolin ölçümünün standardizasyonu. In: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ. Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi. *Mart Matb. Aş.* 390-397, 2002.
55. Rodwell VW. Proteins: Structure and Function. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwel VW eds. *Harper's Biochemistry*. 25th ed New York Mc Graw Hill Inc. 48-62, 2000.
56. Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res* 48: 504-515, 1990
57. Henriks T, Mastboom WJB. Healing of intestinal experimental anastomoses: Parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 33: 891-901,1990.
58. Woessner JB. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys* 93: 440-447, 1961.
59. Başak PY, Eroğlu E, Altuntaş İ, et al. Comparison of the effects of tretinoin, adapalene and collagenase in an experimental model of wound healing. *Eur J Dermatol* 12: 145-148, 2002.
60. Smith KP, Zardiackas LD, Didlake F.A.D.M, Didlake RH. Cortisone, Vitamin A and Wound healing: The importance of Measuring Wound Surface Area. *J Surg Res* 40:120-125, 1986.
61. Durmuş M, Karaslan E, Öztürk E et al. The effect of single-dose dexamethasone on wound healing rats. *Anesth Analg* 97: 1377-80, 2003.
62. Talas DU, Nayci A, Atis S, et al. The effects of corticosteroids on the healing of tracheal anastomoses in rat model. *Pharmacol Research* 45: 299-304, 2002.
63. Watcher MA, Wheeland RG. The role of topical agents in the healing of full-thickness wounds. *J Dermatol Surg* 15: 1188-1195, 1989.
64. Prutkin L. Wound healing and vitamin A acid. *Acta Dermatovener* 52: 489-492, 1972.
65. Philips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW et al. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg* 163: 71-77, 1992.
66. Haws M, Brown RE, Suchy H, Roth A. Vitamin A-soaked gelfoam sponges and wound healing in steroid-treated animals. *Ann Plast Surg* 32: 418-422, 1994.
67. Paquette D, Badiavas E, Falanga V. Short-contact topical tretinoin therapy to stimulate granulation tissue in chronic wounds. *J Am Acad Dermatol* 45: 382-386, 2001.

68. Braungart E, Magdolen V, Degitz K. Retinoic acid upregulates the plasminogen activator system in human epidermal keratinocyte. *J Invest Dermatol* 116:778-784, 2001.
69. Daly TJ, Weston WL. Retinoid effect on fibroblast proliferation and collagen synthesis in vitro and fibrotic disease in vivo. *J Am Acad Dermatol* 15: 900-9002, 1986.
70. Golan J, Mitelman S, Baruchin A, Ben-Hur N. Vitamin A and corticosteroid interaction in wound healing in rats. *Isr J Med Sci* 16:572-575, 1980.
71. Otley CC, Gayner SM, Ahmed I, Moore EJ, Roenigk RK, Sherris DA. Preoperative and postoperative topical tretinoin on high-tension excisional wounds and full-thickness skin grafts in a porcine model: A pilot study. *Dermatol Surg* 25: 716-721, 1999.
72. Leyden JJ. Topical treatment of acne vulgaris: Retinoids and cutaneous irritation. *J Am Acad Dermatol* 38:1-4, 1998.
73. Verschoore M, Poncet M, Czernielewski J, et al. Adapalene 0.1% gel has low skin irritation potentiel. *J Am Acad Dermatol* 36:104-109, 1997.
74. Clucas A, Verschoore M, Sorba V, et al. Adapalene 0.1 % gel is beter tolerated than tretinoin 0.025 % gel in acne patient. *J am Acad Dermatol* 36:116-118,1997.

