

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, ESTETİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

PİNEALEKTOMİZE RATLARDA MELATONİNİN YANIK YARA
İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. EMİNE ÇİĞDEM ÖZEN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2014

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, ESTETİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

PİNEALEKTOMİZE RATLARDA MELATONİNİN YANIK YARA
İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. EMİNE ÇİĞDEM ÖZEN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. NEDİM SAVACI

KONYA, 2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimleriyle eğitimime olan katkılarından dolayı tüm hocalarıma, büyük destek ve engin sabırlarından dolayı sevgili eşim Kemal Emre ÖZEN'e, her daim dua ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli annem Hayrünnisa, babam Muzaffer KARADAĞ'a ve sevgili ağabeylerim Mustafa ve Hakan KARADAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Yanık tüm dünyada insanoğlunun karşılaşılabileceği en önemli fiziksel ve psikolojik travmalardan birisidir. Yanık yara tedavisi, üzerinde halen çalışmaların yapıldığı önemli bir sorundur. Yanık yara iyileşmesinde ilerleyici doku hasarı morbidite, mortalite ve tedaviyi belirlemektedir. Serbest oksijen radikallerinin yanık yara progresyonunda rol alması melatoninin alternatif bir tedavi olabileceğini akla getirmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, melatonin bazal salınımının ve eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmada 40 adet deneysel rat 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu (Grup 1), eksojen melatonin grubu (Grup 2), pinealektomi grubu (Grup 3) ve eksojen melatonin uygulanan pinealektomi grubu (Grup 4). Ratların sırtlarına kaynar suda bekletilmiş metal plak ile 2.derece derin yanık oluşturuldu. Kontrol grubuna tedavi uygulanmadı. Grup 2'ye intraperitoneal melatonin verildi. Grup 3 ve 4'e pinealektomi yapıldı. Ayrıca Grup 4'e intraperitoneal melatonin verildi. Yedi gün boyunca yanık alanlarının iyileşmesi dijital fotoğraf makinesi ile takip edildi. Yedi gün sonunda ratların yanık alanları eksize edildi. Bu dokularda hidroksiprolin, Tip 3 kollajen, ödem, iltihabi infiltrasyon, konjesyon, vasküler proliferasyon, fibrozis düzeyleri, staz zonu ve epitel kalınlıkları değerlendirildi. Makroskopik olarak yanık yarasında iyileşen alan hesaplandı.

Bulgular: Staz zonu kalınlığı Grup 4'te, Grup 1 ve 2 'ye göre daha fazlaydı. Tip 3 kollajen boyanma Grup 2'de, Grup 3'e göre daha fazlaydı. Ödem Grup 2'de diğer gruplara oranla en yüksekti. Konjesyon Grup 1'de, Grup 4'e göre daha yüksekti. Fibrozis Grup 2'de, Grup 3 ve 4'e göre daha fazlaydı. İyileşen alan ortalamaları, epitelizasyon, iltihabi infiltrasyon, vasküler proliferasyon ve hidroksiprolin düzeyi açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

Sonuç: Yanık yara iyileşmesinde endojen melatonin düzeyi oldukça önemlidir. Tek başına eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisi olmadığı düşünülmektedir ve bu durum uygulanan eksojen melatoninin dozuna ve süresine bağlı olabilir. Veya eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisinin görülebilmesi için endojen melatonin düzeyinin belli seviyede olması gerekmektedir. Bu nedenle yüksek dozda veya uzun periyotlu melatoninin uygulandığı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: eksojen melatonin, endojen melatonin, pinealektomi, yanık, yara.

ABSTRACT

Aim: Burn is one of the most important physical and psychological trauma for human in all of the world. Treatment of burn wound, on which the studies are still carrying out, is an important challenge. In burn wound healing, progression tissue injury determines the mortality, morbidity and the treatment. Taking a role of oxygen free radicals in burn wound progression suggests that melatonin may be an alternative treatment. This study aims to investigate the effects of basal secretion of melatonin and the exogenous melatonin on burn wound healing.

Methods: In this study, 40 rats were divided into four groups: Control group (Group 1), exogenous melatonin group (Group 2), pinealectomy group (Group 3), pinealectomy and exogenous melatonin group (Group 4). Deep second degree burn was created on the back of the rats with a metal plate held in boiling water. Control group was untreated. Melatonin was given to Group 2 intraperitoneally. Pinealectomy was performed for Group 3 and 4. Melatonin was also given to Group 4 intraperitoneally. Healing of burn areas of all rats were followed with a digital camera for 7 days. At the end of 7 days, burn areas were excised. Levels of hydroxyproline, Type 3 collagen, edema, inflammatory infiltration, congestion, vascular proliferation, fibrosis, thickness of stasis zone and epithelium were evaluated in this tissues. Healing areas were measured macroscopically in burn wound.

Results: In Group 4, zone of stasis thickness was more than in Group 1 and 2. In Group 2 dyeing of Type 3 collagen was higher than in Group 3. Edema was highest in Group 2 than in other groups. In Group 1, congestion was higher than in Group 4. In Group 2, fibrosis was higher than in Group 3 and 4. There is no difference in epithelialization, hydroxyproline, vascular proliferation, inflammatory infiltration values and average size of healed area.

Conclusion: Level of endogenous melatonin is very important on burn wound healing. It is considered that exogenous melatonin alone has no effect on burn wound healing. This situation may be related to dose and duration of exogenous melatonin performed, or endogenous melatonin must be at the certain level in order to see the effect of exogenous melatonin on burn wound healing. Therefore, it has been considered that further studies, in which exogenous melatonin used at higher doses and longer duration, are required.

Keywords: exogenous melatonin, endogenous melatonin, pinealectomy, burn, wound.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-------------|
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| ÖZET..... | iv |
| ABSTRACT | v |
| TABLolar..... | x |
| ŞEKİLLER..... | xi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | xiii |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Yanık Epidemiyolojisi Ve Etiyolojisi | 3 |
| 2.2. Yanık Patofizyolojisi..... | 4 |
| 2.2.1. Lokal Değişiklikler | 4 |
| 2.2.2. Sistemik Değişiklikler | 6 |
| 2.3. Yara İyileşmesi | 8 |
| 2.3.1. Reepitelizasyon..... | 8 |
| 2.3.2. Skar Formasyonu..... | 9 |
| 2.3.3. Kontraksiyon..... | 11 |
| 2.4. Yanık Derinliği Ve Sınıflaması | 11 |
| 2.4.1. Birinci Derece Yanık (Yüzeyel Yanık) | 12 |
| 2.4.2. İkinci Derece Yanık (Kısmi Kalınlıkta Yanık) | 12 |
| 2.4.3. Üçüncü Derece Yanık (Tam Kalınlıkta Yanık) | 13 |
| 2.4.4. Dördüncü Derece Yanık (Subdermal Yanık) | 13 |
| 2.5. Yanık Genişliği | 13 |
| 2.6. Yanık Tedavisi | 16 |
| 2.6.1. Sıvı Resüsitasyonu..... | 17 |
| 2.6.2. Yara Bakımı | 18 |
| 2.6.3. Yanıkların Cerrahi Tedavisi..... | 18 |
| 2.7. Yanık Komplikasyonları | 20 |

| | | |
|--------|---|-----------|
| 2.7.1. | Erken Dönem Komplikasyonlar | 20 |
| 2.7.2. | Geç Dönem Komplikasyonlar | 21 |
| 2.8. | Pineal Bez | 22 |
| 2.9. | Melatonin | 23 |
| 2.9.1. | Melatonin Sentezi | 23 |
| 2.9.2. | Melatonin Metabolizması | 26 |
| 2.9.3. | Melatoninin Etki Mekanizması | 26 |
| 2.9.4. | Serbest Radikal Toplayıcı Ve Antioksidan Olarak Melatonin | 28 |
| 3. | GEREÇ VE YÖNTEM | 30 |
| 3.1. | Gruplar | 30 |
| 3.2. | Cerrahi Teknik | 31 |
| 3.2.1. | Preoperatif Hazırlık | 31 |
| 3.2.2. | Cerrahi Araç Gereç | 31 |
| 3.2.3. | Yanık Oluşturma İşlemi | 33 |
| 3.2.4. | Ratlarda Pinealektomi İşlemi | 35 |
| 3.2.5. | Melatonin Uygulaması | 38 |
| 3.2.6. | Örneklerin Alınması Ve Sakrifikasyon İşlemi | 39 |
| 3.3. | Değerlendirme Yöntemleri | 39 |
| 3.3.1. | Yanık Ciltte İyileşen Alanın Ölçümü (Fotoanaliz) | 39 |
| 3.3.2. | Biyokimyasal Değerlendirme | 41 |
| 3.3.3. | Histopatolojik Ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme | 42 |
| 3.3.4. | İstatistiksel Değerlendirme | 45 |
| 4. | BULGULAR | 46 |
| 4.1. | Fotoanaliz Bulguları | 47 |
| 4.2. | Biyokimyasal Bulgular | 48 |
| 4.3. | Histopatolojik Bulgular | 49 |
| 4.4. | Histomorfometrik Bulgular | 54 |
| 4.5. | İmmünohistokimyasal Bulgular | 56 |
| 5. | TARTIŞMA | 58 |
| 6. | SONUÇ VE ÖNERİLER | 63 |
| 7. | KAYNAKLAR | 64 |

TABLolar

Tablo 4.1.: Grupların Frekans Dağılımı

Tablo 4.2.: Bulgular İçin Tanımlayıcı Bilgiler

Tablo 4.3.: Bulguların Dağılım Özelliklerine İlişkin Değerler

Tablo 4.4.: Fotoanaliz Ölçümleri Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.5.: Hidroksiprolin Düzeyleri Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.6.: Gruplardaki Hidroksiprolin Düzeylerinin Sağlam Doku Düzeyi ile Karşılaştırılması

Tablo 4.7.: Ödem Skorlaması Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.8.: Konjesyon Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.9.: İltihabi İnfiltrasyon Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.10. : Vasküler Proliferasyon Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.11.: Fibrozis Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.12.: Epitelizasyon Ölçümleri Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.13.: Staz Zonu Kalınlıklarının Ortalaması Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Tablo 4.14.: Tip 3 Kollajen Boyanma Skorlaması Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Jackson'ın yanık zonlarının şematik görünümü

Şekil 2.2: Yanık derinlikleri

Şekil 2.3: Dokuzlar kuralına göre yüzdelerin vücuttaki dağılımları

Şekil 2.4: Lund ve Browder şeması

Şekil 2.5: Pineal bezin makroskopik görüntüsü

Şekil 2.6: Melatonin biyosentezi

Şekil 2.7: Serum melatonin düzeyinin gün içi değişimi

Şekil 2.8: Serum melatonin düzeyinin yaşlara göre değişimi

Şekil 3.1: Cerrahi araç gereçler

Şekil 3.2: Yanık oluşturma işlemi

Şekil 3.3: Sağlam cilt dokusunun görüntüsü

Şekil 3.4: Histopatolojik olarak doğrulanan 2.derece derin yanığın görüntüsü

Şekil 3.5: Kalvariumun üzerindeki yumuşak doku ve periost retrakte edildikten sonra superior sagittal, transvers sinüs ve birleşim noktalarının görüntüsü.

Şekil 3.6: Kraniotomi işlemi: Kemiğin sirküler tarzda dental dril yardımı ile kesilmesi

Şekil 3.7: Kranial kemiğin elevasyonu sonrasında superior sagittal, transvers sinüsler ve birleşim noktalarının görüntüsü

Şekil 3.8: Superior sagittal sinüsün anteriorda bağlandıktan sonraki görüntüsü

Şekil 3.9: Superior sagittal sinüsün ligature edilen kaudal kısmının posteriora doğru çekilmesi ile pineal bezin (okla işaretli) görünür hale gelmesi

Şekil 3.10: Pineal bezin histolojik görünümü

Şekil 3.11: Grup 2'den bir ratın yanık yara alanlarının günlük iyileşme görüntüleri

Şekil 3.12: Image J Software programı ile yanık yara iyileşme alanı ölçümü

Şekil 3.13: Image Analysing System ile epitelyum kalınlığının beş ayrı yerden mikrometre cinsinden ölçümü

Şekil 3.14: Image Analysing System ile staz zonu kalınlığının beş ayrı yerden mikrometre cinsinden ölçümü

Şekil 4.1: Grup 2 (EM)'de ödem belirgin düzeyde fazladır (H&Ex20)

Şekil 4.2: Grup 3 (Px)'deki ödemin Grup 2 (EM)'ye göre daha az olduğu görülmektedir

Şekil 4.3:Grup 1 (Kontrol)'de konjesyonun fazla olduğu dikkati çekmektedir

Şekil 4.4: Grup 4 (Px+EM)'te konjesyonun Grup 1 (Kontrol)'e göre daha az olduğu görülmektedir

Şekil 4.5: Grup 2 (EM)'de belirgin bağ doku artışı (fibrozis) görüntüsü

Şekil 4.6: Grup 3 (Px)'teki fibrozisin Grup 2 (Px) 'ye göre daha az olduğu görülmektedir

Şekil 4.7: Grup 4 (EM+Px) 'e ait staz zonu kalınlığının Grup 1 (Kontrol grubu) 'e göre daha fazla olduğu görülmektedir

Şekil 4.8: Grup 1 (Kontrol grubu) 'e ait staz zonu kalınlığının Grup 4 (EM+Px) 'e göre daha ince olduğu görülmektedir

Şekil 4.9: Grup 2 (EM) ' e ait Tip 3 kollajen boyanmanın immunohistokimyasal görüntüsü

Şekil 4.10: Grup 3 (Px)'deki Tip 3 kollajen boyanmanın Grup 2 (EM) ' e göre daha zayıf olduğu görülmektedir

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------|------------------------------------|
| ECM | : Ekstraselüler matriks |
| GIS | : Gastrointestinal sistem |
| H&E | : Hematoksilen-Eozin |
| HIOMT | : Hidroksiindol-O-metil transferaz |
| IV | : İntravenöz |
| NAT | : N-asetil transferaz |
| PARS | : Poly (ADP-riboz) sentetazı |
| PBS | : Fosfat tampon solüsyonu |
| TVYA | : Toplam vücut yüzey alanı |
| VAC | : Vakum yardımcı kapatma aygıtı |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yanık, hastane dışında iyileştirilebilen küçük yaralanmalar ile uzun süre hastanede yatmayı gerektiren ve multiorgan sistem yetmezliği ile sonuçlanabilecek yaralanmalara kadar varabilen, geniş dağılım gösteren bir travmadır. Yanık, hasta için oldukça ağrı verici olması, patolojik ve metabolik hasarla sistemik etkisinin olmasının yanı sıra kronik olarak da ileride oluşabilecek skarlar, kontraktürler ve yanık zemininden gelişebilecek cilt tümörleri gibi neden olduğu komplikasyonlarla da psikolojik ve kozmetik açıdan sorun oluşturmaktadır.

Yanık çok çeşitli nedenlerle meydana gelebilmektedir. Sıcak sıvı yanığı, sivil toplumda görülen en sık sebeptir. Sıcak sıvı yanığının derinliği, sıvının ısı derecesine, etkene maruz kalma süresine ve sıvının vizkositesine bağlıdır (Klein, 2007). Yanık yarasının derinliği ve genişliği tedavi yöntemini, mortalite ve morbiditeyi belirleme açısından çok önemlidir. Yanık yarasının progresyonunda doku hasarı önemli rol oynamaktadır. Jackson (1953) yanığı destruksiyonun şiddeti ve kan akımı değişimlerini baz alarak üç farklı zona ayırmıştır. Merkezdeki, nekrozun olduğu koagulasyon zonu, bu zonu çevreleyen kurtarılabılır alan olan staz zonu ve en dışta kan akımının arttığı hiperemi zonedir. Staz zonunun kurtarılması yanık alanının potansiyel derinliği ve genişliğini azaltarak mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde düşürmektedir (Rizzo ve ark., 2013; Shupp ve ark., 2010; Singh ve ark., 2007). Yanık yarasındaki ilerleyici doku hasarı uygun tedavi ile önlenemezse kısmi kalınlıktaki yanık tam kat yanığa dönüşecektir. Bu ise hipertrofik skar ve kontraktürlere hatta cerrahi eksizyon ve greftle onarım gerektiren sonuçlara yol açmaktadır (Singh ve ark., 2007).

Yanıkta doku hasarının ilerlemesinde inflamatuvar fazda nötrofillerin stimülasyonu sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin rolü vardır (Singh ve ark., 2007). Serbest oksijen radikallerinin bu etkisini önlemek için antioksidanlara yönelik deneysel çalışmalar mevcuttur (Shupp ve ark., 2010).

Başlıca pineal bezden salınan melatonin hormonu serbest radikallere karşı direkt etkisinin yanı sıra glutatyon peroksidaz, superoksit dismutaz ve nitrik oksit sentetaz gibi enzimlerin aktivitelerini arttırarak da antioksidan savunma sisteminde yer almaktadır (Fujimoto ve ark., 2000).

Literatürde endojen melatonin düzeyinin ve eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisini inceleyen bir çalışma henüz yoktur. Bu nedenle biz çalışmamızda

pinealektomi grubu ile melatoninin bazal salınımının yani endojen melatonin düzeyinin, eksojen melatoninin verildiği gruplar ile de eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yanık Epidemiyolojisi Ve Etiyolojisi

Yanık tedavisine ait ilk delillere Neandertal insanların mağara duvar yazılarında rastlanılmıştır. Mısır papirüslerinde reçine ve bal ile yapılan yanık tedavileri yer almaktadır. Hipokrat yara örtüsüne emdirilmiş erimiş domuz yağı ile yanık tedavisini tanımlamıştır. 1510-1590 tarihleri arasında Ambroise Pare soğanla yanık tedavisi yapmıştır (Thomas, 2002). 1607 yılında Hildanus yanıkları derecelendirmiş, 1799 yılında Earle yanıklı bölgeye buzlu su uygulamasının ağrıyı önleyebileceğini savunmuştur. İkinci dünya savaşından sonra yanık merkezlerinin kurulması ve yanık tedavisinde önemli aşamalar kaydedilmesiyle modern yanık tedavisi gelişmiştir (Pruit, 2002).

Yanık hastane dışında iyileştirilebilen küçük yaralanmalar ile uzun süre hastanede yatmayı gerektiren ve multiorgan sistem yetmezliği ile sonuçlanabilecek yaralanmalara kadar varabilen, geniş dağılım gösteren bir travmadır. ABD'de her yıl tıbbi bakım gerektiren yanık sayısı 1,1 milyona ulaşmaktadır. Bu kazalardan sonra hastaların 50000'i hastanede yatarak tedavi edilmekte ve yaklaşık 4500 kişi ise yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Ülkemizde yaklaşık 1 milyon kişi yanık nedeniyle hastanelere başvururken bunların yaklaşık 12000'i hastaneye yatırılmakta ve yaklaşık 2000 kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. 0-10 yaş grubu çocuklarda yanıkların %95'i evde meydana gelmekte ve erkek çocuklar daha fazla etkilenmektedir. Hastalarda en sık yanan bölge eller ve kollar (%63) iken daha sonra yüz ve bacaklar gelmektedir (%34). Erkek/kadın oranı 3/2'dir. Bütün yanık olgularının %35'i 5 yaş altındadır. Bu yaş grubunda yanık 3. sıradaki ölüm nedenidir.

Yanıklar çok çeşitli nedenlerle meydana gelebilmektedir. Bütün yaş gruplarında sıcak su ve alev yanığı en sık sebeptir. Sıcak sıvı yanığının derinliği sıvının ısı derecesine, etkene maruz kalma süresine ve sıvının viskozitesine bağlıdır. Yağ yanıkları daha derin dermal yanık oluşturma eğiliminde olup, sıklıkla cerrahi tedavi gerektirir. Küçük çocuklarda yanık nedeni sıklıkla haşlanma, yetişkinlerde ise alev yanıklarıdır. Yangınlar bütün yanıkların %5'inden azını oluştururken, ölümlerin %45'inin sebebidir. Yetişkinlerde ikinci sıklıkta elektrik yanıkları vardır. Bunlar genellikle iş kazası şeklindedir ve ekstremiteleri daha çok etkiler. Bu etkenlere ilaveten yanıklar elektrikle ve kimyasal ajanlarla da oluşabilir. Yaşlılarda yanık gelişme riski azalmıştır fakat yaşa bağlı sebepler

dolayısı ile mortalite artmıştır. 60 yaş üzeri yaşlılar ve 3 yaş altı çocuklar mortalite açısından risk gruplarıdır. Yanık olgularında mortalite oranı yaklaşık %5 civarındadır. İlk sırada alev yanıkları ikinci sırada sıvı ile haşlanma yanıkları gelir (Curreri, 1989). Bütün yanık olgularının %80'den fazlasında düşük yanık yüzeyi vardır ve ayaktan tedavi edilir.

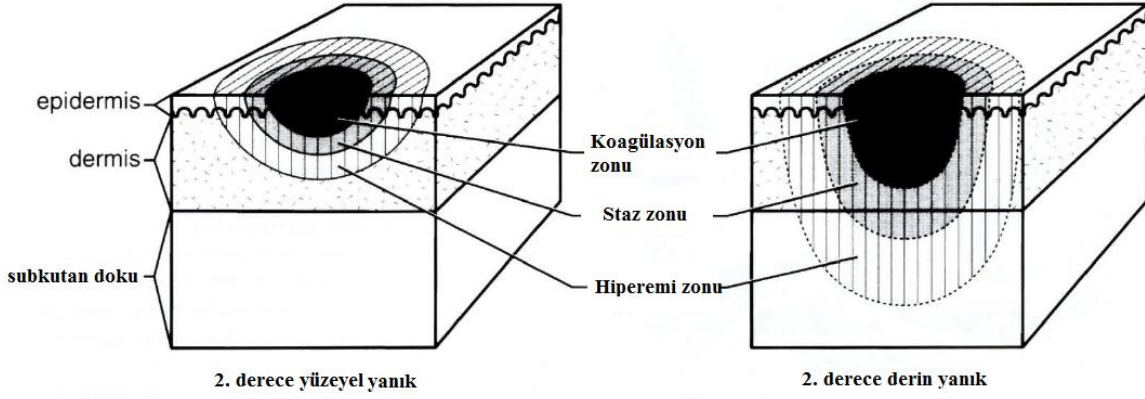
2.2. Yanık Patofizyolojisi

Deri, epidermis ve dermis olmak üzere iki tabakadan oluşur. Ektodermden gelişen epidermin rejenerasyon kapasitesi yüksektir. Bu nedenle izole epitelyal yaralanmalar skar bırakmadan iyileşir. Deri aynı zamanda dokular ile çevre arasında bariyer görevi yapar. Güneş ışınlarının zararlı etkilerinden organizmayı korur (Cuono, 1988). Termoregülasyonu sağlar. Buharlaşma ile oluşan sıvı kayıplarından organizmayı korur. Dermis, papiller ve retiküler dermis olmak üzere iki kısımdan oluşur. Cildin sağlamlık ve elastikiyetini sağlar. Temel hücresi kollajen yapım ve yıkımından sorumlu olan fibroblasttır. Ayrıca mast hücreleri, arter, ven, lenfatikler ve sinir hücreleri de içerir. Epitel hücreleri tarafından etrafı sarılan deri eklerini (kıl folikülleri, ter ve yağ bezleri) de içerir ki bunlar yüzeysel yanık yaralarının iyileşmesinde olmazsa olmaz yapılardır (Greenhalgh, 2002). Dermoepidermal bileşkede yer alan bazal membran yanık yarası iyileşmesinde belirleyici role sahiptir. Hasarı skarlı iyileşme ile sonlanır.

2.2.1. Lokal Değişiklikler

Yanık hasarı iki aşamada oluşur. Birinci aşama temas anında ısının neden olduğu koagülasyon nekrozu ile oluşan hücre hasarı, ikinci aşama 24-48 saat içinde hücre ölümü ile sonlanan ilerleyici termal iskemiye bağlı gecikmiş hasardır (Çetinkale, 2005).

Jackson (1953) yanık yarasını koagülasyon, staz ve hiperemi zonu olmak üzere üç zona ayırmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Jackson'ın yanık zonlarının şematik görünümü. (Staz zonunun nekroze doğru progresyonu, 2.derece derin yanığın tam kat doku kaybına dönüşümü ile sonuçlanır.)

Yaranın merkezinde olduğu zon koagülasyon zonudur. Buradaki nekrozun debride edilmesi gerekir. Koagülasyon bölgesinin çevresindeki vazokonstriksiyon ve iskemi ile karakterize bölge staz bölgesidir (Shupp ve ark., 2010). Yaranın perfüzyonu iyi sağlanamazsa hasar başlangıcında canlı olmasına rağmen yanık genişliği ve derinliği iki hafta içinde artarak, mortalite ve morbidite oranını yükseltir. Ayrıca gecikmiş yara iyileşmesi, dispigmentasyon, kontraktür, enfeksiyon ve şoka yol açar (Johnson ve Richard, 2003; Shakespeare, 2001; Singh ve ark., 2007). Hipoperfüzyonun başlıca sebebi mikrovasküler düzeyde oluşan platelet mikrotrombüs oluşumu, damar duvarına nötrofil infiltrasyonu, endotelde fibrin depolanması ve vazokonstriksiyondur. Ayrıca dehidratasyon, basınç, hipovolemi, over-resüsitasyon, enfeksiyon ve hatta hipernatremi nekrozun ilerlemesine yol açan diğer faktörlerdir (Williams, 2002). Bu sebeple yanık tedavisindeki yeni uğraşı alanı staz bölgesi canlılığını devam ettirebilmek üzerine yoğunlaşmıştır. Bu nedenle yanık tedavisinin temel amaçlarından biri staz bölgesinin ilerleyici dermal iskemiye bağlı nekroza dönmesine engel olmaktır. Bu amaçla çeşitli farmakolojik ajanlar deneysel olarak kullanılmıştır. Ve araştırmalar halen devam etmektedir. Vazoaktif inflamatuvar mediatörlerden özellikle tromboksan-A₂ ve prostoglandin-F_{2α} yanık alanında en fazla artan mediatörlerdir. Bunlara yönelik tromboksan inhibitörleri, prostanoidlere yönelik steroid ya da non-steroid ajanlar kullanılarak dermal perfüzyonun sağlanması sonucu nekrozun azaltıldığı gösterilmiştir (Williams, 2002). Ayrıca nötrofillerin intravasküler stimülasyonu sonucu üretilen sitotoksik serbest oksijen

radikalleri histamin aktivitesini artırarak vasküler damar geçirgenliğini artırmakta ve ksantin oksidaz'ın ürünleri olan hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri direkt damar hasarına yol açmaktadır (Word ve Till, 1990). Serbest oksijen radikallerine yönelik vitamin C, E, melatonin gibi antioksidanların etkisini araştırmaya yönelik deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Hiperemi zonu en dışta, staz zonunu çevreleyen, vazoaaktif mediatörlerin etkisine bağlı olarak damar akışının arttığı, vazodilatasyonla karakterize bölgedir. Hücre hasarı minimal düzeydedir (Williams, 2002). Başka hasara maruz kalmazsa 7-10 gün içinde tamamen iyileşir.

Yaranın üç boyutlu halini vurgulaması açısından üç zon da çok önemlidir. Çünkü iyi resüsite edilemeyen staz zonu yaranın derinlik ve genişliğinin artmasına yol açacaktır.

2.2.2. Sistemik Değişiklikler

Total vücut yüzeyinin %30'unu kaplayan yanıklarda sitokin ve diğer inflamatuvar mediatörlerin salınımı sistemik etkilere yol açmaktadır.

Yanan bölgedeki vazodilatasyona bağlı olarak plazma proteinlerinin azalmasıyla sistemik hidrostatik basınç düşer ve sistemik ödem oluşur. Hafif yanıklarda ödem 8-12 saatte, ağır yanıklarda 12-24 saatte gelişir. Ödemden sorumlu olan başlıca mediatörler şunlardır: Histamin, kininler, vazoaaktif aminler, prostaglandinler, lökotrienler. Yanık ödeminde en erken etki histamine aittir. Yanık sonrası ilk bir kaç saatte histaminin kan seviyesi pik yapar (Çetinkale, 2005).

PGE₂ ve prostasiklin de yanık ödeminin artırır (Holmes, 2006). Bradikinin venülleri etkileyerek vasküler permeabiliteyi artırır (Nwariaku ve ark., 1996). PAF da yanık hasarına bağlı olarak vasküler permeabiliteyi artırır (Ono ve ark., 1993). Yanık sonrası hiperkoagülabilite ve hiperfibrinolitik durum birbirine eşlik eder. Dissemine intravasküler koagülasyona benzer bir durum ortaya çıkar ve bu da organ yetmezliği ve prognozla ilişkilidir (Garcia-Avello ve ark., 1998).

Kardiyovasküler Ve Respiratuvar Değişiklikler

Yanıktan hemen sonra trombositlerden salınan serotonin hem doğrudan hem de norepinefrin, histamin, anjiyotensin 2 ve bazı eikozanoidlerin mikrovasküler düzeydeki vazokonstriktör etkisini arttırarak dolaylı yoldan pulmoner vasküler dirençte artmaya yol

açar. Periferik ve splenik vazokonstriksiyon meydana gelir. Serotonin blokajı yanık sonrası oksijen ihtiyacını azaltır. Kardiyak indeksi düzeltir ve pulmoner arter basıncını azaltır. Kapiller permeabilitenin artmasıyla intravasküler protein ve sıvının interstisyel kompartmana geçişi ile azalmış kan volümü ve kan viskozitesindeki artış sonucu kardiyak output azalır. TNF- α salınımına bağlı olarak miyokardiyal kontraktilitede azalma görülür. Bu değişiklikler yanık yarısından sıvı kaybının da eklenmesiyle sistemik hipotansiyon ve uç organ hipoperfüzyonu ile sonuçlanır. Başarılı bir tedavi ile kardiyak output 24-72 saatte düzelir (Hettiaratchy ve Dziewulski, 2004).

Renal Değişiklikler

Akut böbrek yetmezliği yanığın major komplikasyonlarından biridir ve mortalite oranı yüksektir. Yanık renal kan akımını azaltır ve glomerüler filtrasyonda azalma ve sonuçta oligüri meydana gelir. Ciddi yanıklarda %1,3-38 oranında böbrek yetmezliği gelişir ve %73-100 ölümle sonuçlanır. 1984'te yaygın diyaliz kullanımı ile böbrek yetmezliğinden ölümler ciddi oranda azalmıştır. Yanıktan iki hafta veya daha sonra gelişen böbrek yetmezliği genellikle geri dönüşümsüzdür ve sepsis gelişme ihtimali bu vakalarda daha yüksektir, dolayısı ile de daha ölümcüldür (Shinozawa, 2002).

Gastrointestinal Sistem Değişiklikleri

Mide dilatasyonu, mide salgı ve ülser sıklığında artma, dinamik ileus, gastrointestinal kanama, mezenterik kan akımında azalma yanıkta sık görülen gastrointestinal sistem (GIS) bulgularıdır. Mukozal atrofi ve permeabilite artışı olur (LeVoyer ve ark., 1992). İnce barsak mukoza atrofisi, yanık yüzdesi ve apoptoza bağlı artmış epitelyal hücre ölümü ile orantılı olarak ilk 12 saat içinde gelişir. Yanığın ilk saatlerinde mukozal atrofiye paralel olarak glikoz, aminoasit ve yağ asitlerinin emilimi ve mukozal lipaz aktivitesi azalır. Ancak, 48-72 saatte normale döner (Carter ve ark., 1986). Yanık yarısının enfekte olması ile intestinal permeabilite daha da artar. İntestinal permeabilite ile ilişkili olarak GIS kan akımında değişiklikler olur. Bütün bu değişiklikler sonucu mukozal bariyer bozulur ve bakteriyel translokasyonla sonuçlanır.

Metabolik Değişiklikler

Yanık hastaları, "ebb" faz denilen ve 2-3 gün süren, metabolik oranın ve kardiyak outputun azaldığı döneme girerler, bu fazdan sonra hipermetabolik faza girerler. Bu, vücut sıcaklığında artış, oksijen ve glikozun artmış tüketimi, karbondioksit tüketimi, glikojenoliz, proteoliz ve lipolizle karakterizedir. Bu cevap yanığın 50. gününde başlar ve 9 ay devam

eder. Kilo ve güç kaybı, immüno depresyon ve yara iyileşmesinde zayıflığa yol açar. Bu değişimlerden katekolaminler, glikokortikoidler ve glukagonu da içeren katabolik hormonların salınması sorumludur. Katekolaminler glikoz yararlılığını artırmada hepatik glikoneogenez ve glikojenoliz üzerinden direkt ve indirekt olarak etkiler. Yağ asidi yararlılığını da periferik lipolizis üzerinden etkiler. Katekolaminler, glikokortikoidler ve hipogliseminin etkisiyle glukagon sekresyonu artar. Bu da hepatik glikoz yapımını ve periferik lipolizi artırır. Katekolaminler kortizol ve glukagon ile kombine olduğunda glikoz salınımını aşırı derecede artırır ki, bu da başlangıçta yararlı olabilir. Çünkü glikoz nöral dokular için olduğu kadar inflamatuvar hücreler için de temel yakıttır. Ancak, yanıklı hastada hiperinsülinemik duruma rağmen hepatik insülin direnci nedeniyle hipergliseminin devam etmesi yanık tedavi sonuçlarını kötüleştirir. Hatta hiperglisemi, bazal enerji gereksinimini değiştirmeden kas katabolizmasını artırabilir (Spies, 2002). Şiddetli yanıklarda gelişen metabolik yanıtlardan bir başkası da katabolik hormonlarla ilişkili periferik lipolizistir. Yaralanmış hastalarda hormonların ve sitokinlerin etkisiyle veya normal enzimatik sürecin aşırı olmasıyla, lipoliz oranları dramatik oranlarda yüksektir. Bu durum dolaşımında aşırı artmış yağın karaciğerde yeterince işlenememesine sebep olur ve bu da karaciğer yağlanması ile sonuçlanır. Yanıkta katabolik fazı kısaltıcı antikatabolik ajanlar ile tedavi sonuçları araştırılmıştır. Bu ajanlar büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktörü, insülin, oksandrolon, testosteron ve propranololdür. Dışarıdan verilen büyüme hormonu özellikle çocuklarda ümit verici görünmektedir. Artmış katabolizmayı iyileştirmede propranolol büyüme hormonundan daha etkili bulunmuştur. Anabolik steroid olan oksandrolonun verici alanda yara iyileşmesini hızlandırdığı, kilo kaybını azalttığı ve akut yanık yara iyileşmesinde protein katabolizmasını engellediği gösterilmiştir (Murphy ve ark., 2003). Ciddi yanığa bağlı komplikasyonların şiddeti ve sıklığı iyileşmenin katabolik fazının süresi ile orantılı olarak artar.

2.3. Yara İyileşmesi

2.3.1. Reepitelizasyon

Birinci derece yanıklar epidermisin bazal tabakasını geçmeyen yüzeysel yanıklardır. Birinci derece ve ikinci derece yüzeysel yanıklarda epitel kalıntıları mevcuttur ve bu tip yaralarda major iyileşme modeli reepitelizasyondur. Birinci derece yanıklarda epidermisin bazal tabakası differansiye olarak epidermisin katmanlarını oluşturur. Bu işlem 3-4 günde tamamlanır.

İkinci derece yanıkta yanık, dermisi de etkilediği için epidermis deri ekleri tarafından rekonstrükte edilir. Bazal keratinositlerin ve adneksiyal epitel hücrelerinin yara yüzeyine migrasyonunu stimüle eden birçok faktör vardır. Bunlardan ilki keratinositlerin migrasyonu için sinyal olan bazal hücreler arasında kontaktın kaybolması, ikincisi büyüme faktörleridir. Epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor (TGF α) ve keratinosit growth factor 1 ve 2 (KGF-1, KGF-2) büyüme faktörleridir. Keratinositlerin bu özel proteinlerle karşılaşmaları sonucu göç başlar bütün bu stimulanların üretimi ikinci derece yanıklarda ve kısmi kalınlıkta deri grefti donör sahasında olmaktadır. Deri eklerinin fazla olduğu ve nemli yaralarda keratinositlerin migrasyonu daha hızlı olacağı için iyileşme de hızlı olmaktadır. Kuru ve kabuklu yaralarda keratinositlerin migrasyonu proteaz ve diğer enzimlerin salınımı ile kesilir. Bu nedenle yara iyileşmesini hızlandırmak için krutların debride edilmesi gerekir (Greenhalgh, 2002).

2.3.2. Skar Formasyonu

İyileşmenin ikinci tipinde amaç dokunun dayanıklılığını sağlamaktır. Bu, ciltte dermisi oluşturarak sağlanmaktadır.

Skar formasyonu üç fazdan oluşur. İnflamatuar fazda hemostaz sağlanır. Ve bunu inflamatuar hücrelerin bölgeye göçü izler. Proliferasyon fazında kollajen miktarında hızlı artış olmasıyla dokunun gerilim direncinde de artma gözlenir. Bu fazda ekstraselüler matriks (ECM) depolanması ve yeni damarlanmalar görülür. Matürasyon fazında ise cilt gerginliği %80'e ulaşır, kollajen sayısında artık artma olmaz, hücre ve damar sayısı azalır (Greenhalgh, 2002).

İnflamatuar Faz

İnflamasyon fazı yara iyileşme sürecinin ilk aşamasıdır. Bu faz damar geçirgenliğinde artma, yaraya hücrelerin kemotaksisi, sitokin ve büyüme faktörlerinin lokal salınımı ve göçen hücrelerin aktivasyonu ile karakterizedir (Witte ve Barbul, 1997). Vasküler ve hücreli olmak üzere iki komponentten oluşur. Vasküler yanıtta katekolaminlerin salınımı vazokonstriksiyona uyarak kanama kontrolü sağlar. Platelet ve koagülasyon faktörlerinin de damar dışında kollajen tip-1, trombin, doku faktörü ve Hageman faktörüyle karşılaşması sonucu hemostaz başlar. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra histamin, serotonin, kininler, nitrik oksit, prostoglandinler ve lökotrienler vazodilatasyonu ve damar geçirgenliğini indüklerler. Bunun sonucunda serum proteinleri ve suyun yara geçişi artar. %20'nin üzerindeki yanıklarda bu mediatörlerin sistemik

dolaşıma katılımıyla vücutta ödem meydana gelir (Greenhalgh, 2002). Hücresel yanıtta birçok sinyalin salınımı inflamatuvar hücrelerin yaraya göçünü sağlar. C_{3a} ve C_{5a} gibi komplemanlar, trombin, fibrin inflamatuvar hücreler için kemotaktiktir. Yaraya ilk gelen inflamatuvar hücreler nötrofillerdir ve proteaz, oksijen radikalleri gibi birçok mediatör salarlar. Hücresel yıkım maddelerini, yabancı cisimleri ve bakterileri yara bölgesinden uzaklaştırırlar. Aşırı nötrofil cevabı sistemik inflamatuvar yanıt sendromundan (SIRS) sorumludur. Yara iyileşmesinde major düzenleyici ise makrofajlardır. Makrofajlar birçok sitokin ve büyüme faktörü salarak doku onarımında görev alan fibroblast, keratinosit, endotel hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonunu sağlarlar. Makrofajlardan sonra yaraya fibroblastların gelmesiyle proliferatif faz başlar (Greenhalgh, 2002).

Proliferatif Faz

Proliferatif fazda iki önemli olay olur: ECM sentezi ve damarlanmanın yeniden oluşturulması. Fibroblastlar ve endotel hücreler bu fazın primer hücreleridir (Witte ve Barbul, 1997). Fibroblastlar kollajen bazlı matriksin üretiminden sorumludur. Kollajen, glisin-X-Y aminoasit üçlüsünün tekrarından oluşur. X sıklıkla prolin, Y ise hidroksprolin ya da hidrosilizin olmaktadır. Kollajenin biyosentezinde en önemli reaksiyon prolin ya da lizinin hidrosilasyonudur. Diğer proteinlerde nadir bulunan fakat kollajen yapısında yer alan hidroksprolin klinik ve deneysel çalışmalarda ölçümü yapılarak yaradaki kollajen miktarı hakkında indirekt yoldan güvenilir bilgi vermektedir (Ozler ve ark., 2010). Sağlam dermiste kollajen tip 1 %80-90, kollajen tip 3 %10-20 oranında iken granülasyon dokusunda tip 3 kollajen düzeyi artar ve ana kollajen halini alır. Matür skarda ise tip 3 kollajen düzeyi düşüktür. Erken granülasyon döneminde artan tip 3 kollajen kütanöz yara iyileşmesinde önemli göreve sahiptir. Yapılan bir deneysel çalışmada kollajen tip 3 eksikliği olan farelerde normal farelere göre daha fazla skar dokusu oluştuğu görülmüştür (Volk ve ark., 2011).

Yaraya yakın damarlardan endotel hücreler çoğalarak anjiogenezisle yeni kapillerler oluştururlar (Witte ve Barbul, 1997). Düşük oksijen seviyesi ve laktik asit oranı bu işlemi stimüle eden faktörlerdendir. Ayrıca fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF2) ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) gibi birçok anjiogenik faktörler endotel hücre migrasyon ve proliferasyonu uyarırlar (Greenhalgh, 2002).

Matürasyon Fazı

Matürasyon fazı yara iyileşmesinin en uzun süren fazıdır. Bu dönemin en önemli özelliği kollajenin depolanmasıdır. Klinik açıdan yara iyileşmesinin en önemli fazıdır. Çünkü matriks depolanma miktarı, kalitesi, oranı skarın sertliğini belirler (Witte ve Barbul, 1997). Bu fazda kollajen miktarı sabittir. Kollajenazlar sayesinde yapım ve yıkım arasında belli bir denge vardır. Kollajen sentezinde azalma ya da kollajenaz aktivitesinde artma olduğu zaman yara kronik hal alır. Yapılan çalışmalarda kronik, iyileşmeyen ülserlerde büyüme faktör sentezinde azalma ve kollajenaz aktivitesinde artma görülmüştür (Frank ve ark., 1995; Trengove ve ark., 1999; Werner ve ark., 1994). Bunun aksine denge kollajen depolanması yönüne kayarsa hipertrofik skar ve keloid ile sonuçlanır. İki üç hafta içinde iyileşen yaralarda skar oluşmamaktadır.

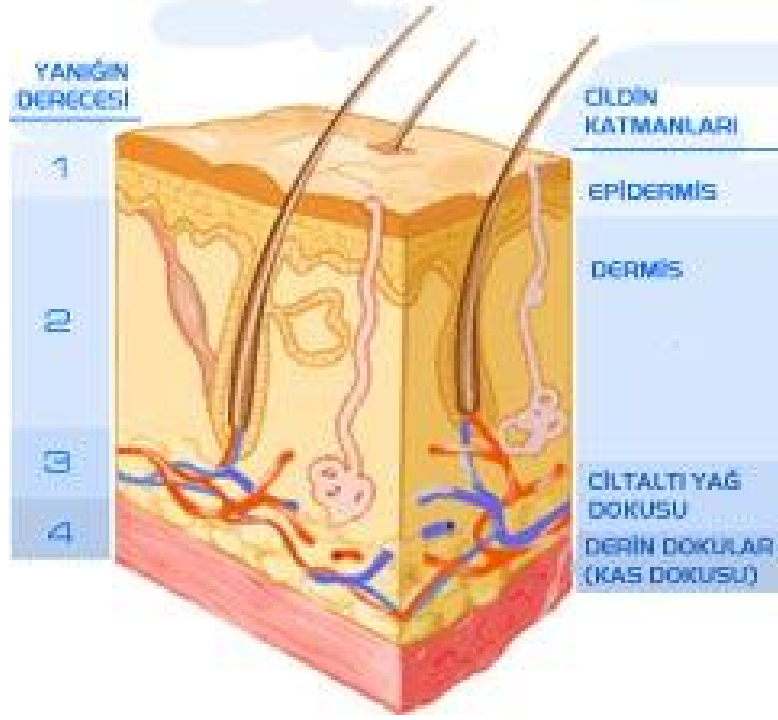
Matürasyon döneminde yara yüksek selüler ve vasküler düzeyden aselüler ve avasküler hale gelir.

2.3.3. Kontraksiyon

Yara kontraksiyonu yaralanmayı takiben 4-5. günde başlar. Miyofibroblastlar sayesinde yara boyutunda hızlı ve mekanik azalma olur. 10-21. günlerde kontraksiyon en yüksek orandadır (Greenhalgh, 2002). Matürasyon fazında yara kalınlığı azalırken yaranın gerilim kuvveti ters orantılı olarak artar (Gurtner, 2007).

2.4. Yanık Derinliği Ve Sınıflaması

Yanık yaralarının genişliğinin ve derinliğinin tayin edilmesi hastanın acil girişimi uygulandıktan sonra yapılır. Yanık derinliğini ilk görüşte doğru tayin etmek her zaman mümkün değildir. Beş yaşın altındaki çocuklarda ve elli beş yaşın üstündeki erişkinlerde cilt daha ince olduğundan yanığın derinliği genellikle öngörülenden daha fazladır (Çetinkale, 2005). Yanık derinliğinin artması yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler. Yanık yarasının derinliğinin hesaplanması, yara tedavisi yönetimi ve sonunda cerrahi müdahale kararı vermek için önemlidir. Üç hafta içinde iyileşen yanıklarda hipertrofik skar ve fonksiyonel bozukluk genellikle görülmez. Bununla birlikte uzun dönem renk değişikliği kalabilir. Üç haftadan daha uzun süre iyileşmeyen yanıklarda çoğu zaman hipertrofik skar ve fonksiyonel bozukluk görülür (Çetinkale, 2005; Holmes, 2006). Yanıklar derinlik artışına göre 4 dereceye ayrılır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Yanık derinlikleri

2.4.1. Birinci Derece Yanık (Yüzeyel Yanık)

Sadece derinin epidermis tabakasının hasarlandığı yanıklardır. Kırmızı renkli, kuru, ağrılı, bül oluşumunun olmadığı ve kendiliğinden bir hafta içinde skar bırakmadan iyileşen yanıklardır. Güneş yanığı veya çok kısa süreli ateş, alev teması bu tür yanıkları oluşturur (Klein, 2007).

2.4.2. İkinci Derece Yanık (Kısmi Kalınlıkta Yanık)

Yüzeyel ve derin olarak iki kısımda incelenirler.

İkinci Derece Yüzeyel Yanık (Kısmi Kalınlıkta Yüzeyel Yanık)

Epidermisin tamamı ve dermisin bir kısmını içeren yanıklardır. Pembe renkli, oldukça ağrılı, basmakla kapiller dolaşımın görüldüğü, sıklıkla bül oluşumunun olduğu yanıklardır. Bül oluşumu başlangıçta olmayabilir (Klein, 2007; Shupp ve ark., 2010). Bu nedenle derinliğin tayininde 12-24 saat beklemek gerekebilir. Ağrı, hava ile temasla daha çok artar. İyileşme yanmamış derin dermisteki cilt eklerinden epitel hücrelerinin yüzeye doğru göç etmesiyle belirgin olmayan skar dokusu bırakarak iki üç haftada tamamlanır (Greenhalgh, 2002).

İkinci Derece Derin Yanık (Kısmi Kalınlıkta Derin Yanık)

Epidermisle beraber dermisin retiküler tabakasını da içerir. Bu yanıklar tipik olarak kuru, pembe alacalı ve beyaz renkte olup açıkta olan sinir uçlarının irritasyonuna bağlı olarak aşırı ağrılıdır. Eğer enfeksiyondan korunulursa 3 ila 8 hafta arasında kendiliğinden iyileşme şansına sahiptir. Ancak bu spontan iyileşme tipik olarak kontraksiyon ve skar oluşumu ile birlikte gerçekleşir. Bu yüzden üç hafta içerisinde reepitelizasyonu tamamlanmayan yaralarda cerrahi eksizyon ve greftleme tavsiye edilir (Klein, 2007).

2.4.3. Üçüncü Derece Yanık (Tam Kalınlıkta Yanık)

Dermisin tamamını içeren subdermal yağ dokusuna ulaşan yanıklardır. Bunlar tam kalınlıkta yanık olarak adlandırılır. Klinik değerlendirmede ikinci derece derin yanıklara benzeyebilir. Tam kalınlıkta yanık ile ikinci derece derin yanık derinlikleri arasındaki fark 1 milimetreden daha az olabilir. Bu yaralar kahve-siyah, kiraz kırmızı renkte kösele gibi olup sinir uçlarının tamamen yanmasına bağlı olarak hissizdirler. Tam kalınlıktaki yanıkların en iyi tedavisi eğer çok küçük değilse eksizyon ve deri greftleriyle onarımdır (Klein, 2007).

2.4.4. Dördüncü Derece Yanık (Subdermal Yanık)

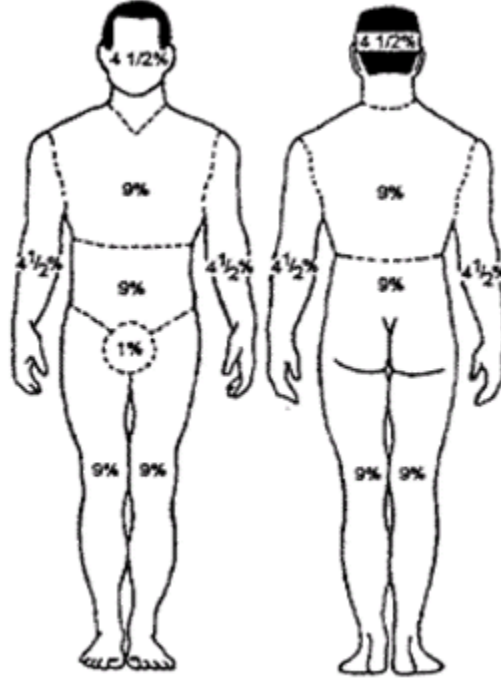
Deriye ek olarak kas, tendon, kemik gibi yapıların hasarlandığı yanıklardır (Greenhalgh, 2002). Genellikle elektrik yanıkları, kızgın metallere temas ve alev yanığında görülür.

Yanık derinliğinin belirlenmesinde en sık kullanılan ve standart olan klinik değerlendirmedir. Yanık dinamik bir olay olduğu için 72 saatte oluşan değişiklikler nedeniyle kesin değerlendirmeler yapmak genellikle doğru olmaz. Yüzeysel görünen bir yanık bir kaç gün sonra daha derin yanık haline geçebilir.

2.5. Yanık Genişliği

Sıvı replasman tedavisinin hesaplanmasında yanık ciddiyetine ve dolayısıyla ayaktan veya hastanede yanık ünitesinde tedaviye karar vermekte ve mortalite değerlendirmesinde yanık yüzeyinin doğru hesaplanması gerekir. Vücut yüzeyinin yarısını kaplayan yanıklarda mortalite yüksektir, 1/3'ü yanmış olanlarda bile hayati tehlike vardır. Üstelik bu oranlar çocuklarda ve yaşlılarda daha aşağıda olup küçük çocuklarda %10 oranında bir yanık hayati tehlike taşıyabilir. Yanığın toplam vücut yüzey alanındaki (TVYA) miktarını hesaplamak için bir kaç teknik vardır. TVYA hesaplanırken sadece

parsiyel ve tam kat dermal yanık alanları göz önüne alınır. Sadece epidermisi içeren yüzeysel yanıklar hesaplamaya dâhil edilmez. Wallace'nin dokuzlar kuralı yanık genişliğinin hesaplanmasında en iyi bilinen metottur (Şekil 2.3). Bu kurala göre baş %9, üst ekstremitelerin her biri %9, alt ekstremitelerin her biri %18, vücut ön yüzü %18, arka yüzü %18 ve perine %1 olarak hesaplanır (Klein, 2007).



Şekil 2.3: Dokuzlar kuralına göre yüzdelerin vücuttaki dağılımları

Dokuzlar kuralı erişkinlerde doğru bir yöntem olarak kabul görmüş olsa bile çocukların vücut yüzey alanları erişkinlerden farklı olduğu için pediatrik yaş grubunda daha ayrıntılı hesap yapmak gerekir. Çocuklarda baş ve boyun erişkinlerle kıyaslandığında daha büyük bir alana sahiptir. Alt ekstremiteler ise vücut yüzeyine göre daha küçüktür. Dokuzlar kuralı yerine Lund-Browder şeması tercih edilmelidir (Klein, 2007) (Şekil 2.4).

| YAŞ GRUBU BÖLGE | 1 YAŞ | 1-4 YAŞ | 5-9 YAŞ | 10-14 YAŞ | 15 ↑ YAŞ | ERİŞKİN |
|--------------------|-------|---------|---------|-----------|----------|---------|
| BAŞ | 19 | 17 | 13 | 11 | 9 | 7 |
| BOYUN | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| ÖN GÖVDE | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 |
| ARKA GÖVDE | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 |
| SAĞ KALÇA | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ |
| SOL KALÇA | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ |
| GENITAL | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| SAĞ ÜST KOL | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| SOL ÜST KOL | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| SAĞ ÖNKOL | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| SOL ÖNKOL | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| SAĞ EL | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ |
| SOL EL | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ | 2 ½ |
| SAĞ UYLUK | 5 ½ | 6 ½ | 8 | 8 ½ | 9 | 9 ½ |
| SOL UYLUK | 5 ½ | 6 ½ | 8 | 8 ½ | 9 | 9 ½ |
| SAĞ BALDIR | 5 | 5 | 5 ½ | 6 | 6 ½ | 7 |
| SOL BALDIR | 5 | 5 | 5 ½ | 6 | 6 ½ | 7 |
| SAĞ AYAK | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ |
| SOL AYAK | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ | 3 ½ |

Lund ve Browder Formülüne göre Dokuzlar Kuralının Yüzdelerinin Vücuttaki Dağılımı:
(Susan B. Sheehy, Brady's Manual of Emergency Care, 3th Ed., 1990)

Şekil 2.4: Lund ve Browder şeması

TVYA hesaplamasında üçüncü bir teknik ise yanık alanının hesaplanması için hastanın elinin kriter olarak alınmasıdır. Hastanın avuç içi yaklaşık %1 olarak kabul edilir (Klein, 2007).

Yanıkların genel değerlendirilmesi yapıp ilk görüldüğü yerde hasta stabilize edildikten sonra hastanın tedavisinin nerede devam edileceğine karar vermek gerekir. Ciddi yanıklar yanık merkezlerinde tedavi edilmelidir. Yanık merkezine referans kriterleri şunlardır:

1. 10 yaşın altında ve 50 yaşın üstündeki hastalarda %10'dan fazla 2. ve 3. derecedeki yanıklar
2. Diğer yaş gruplarında %20'den fazla 2. ve 3. derece yanıklar
3. Yüz, el, ayak, genital bölge, perine ve büyük eklemlerin üzerindeki 2. ve 3. derece yanıklar

4. Bütün yaş gruplarında %5'ten fazla 3. derece yanıklar
5. Alev yanığı da içeren elektrik yanıkları
6. Kimyasal yanıklar
7. İnhalasyon yanıkları
8. Daha önceden sağlık durumu bozuk olan hastalar
9. Yanıkla birlikte ek travması olan hastalar (kırık, kafa travması vs.)

2.6. Yanık Tedavisi

Yanık yaralanmalarında diğer tüm yaralanmalarda olduğu gibi ilk yaklaşım hemen hemen aynıdır. Erken dönemde hastanın vital fonksiyonları değerlendirilir ve desteklenir. Öncelikle hava yolu, solunum ve dolaşım sirkülasyonu sağlanmalı yaşamı tehdit eden ekstra travmalar değerlendirilmelidir. Eğer hastada inhalasyon yanığını çağrıştıran semptom ve bulgular varsa hava yolu güvenliğinin sağlanması kadar hava yolu güvenliğinin devam ettirilmesi de son derece önemlidir. İnhalasyon hasarı düşünülüyorsa maske ile nemli oksijen solutulmalıdır (Klein, 2007). Kimyasal yanıklarda bir kaç istisna dışında su ile irrigasyon önemlidir. Asit ile oluşan yanıklarda 20-30 dakika su ile yıkamaya devam edilirken, alkali madde yanıklarında 60 dakika süre ile yıkama yapılmalıdır. Zift ile oluşan yanıkta yanık bölge buz ile dondurularak zift çıkarılmalıdır. Kimyasal tozlardan kaynaklanan yanıklarda su ile irrigasyon yapmak sakıncalı olabilir. Çünkü su, toz şeklindeki kimyasal ajanı aktive edebilir. Böyle durumda toz temizlenmeli, daha sonra irrigasyon yapılmalıdır (Klein, 2007).

Yüksek voltajlı (1000 volttan daha fazla) elektrik yanıklarında ilk 24 saat boyunca kardiyak monitorizasyon yapılmalıdır. Bu hastalarda miyoglobininüri gelişebileceğinden sıvı tedavisi çok önemlidir.

İntravenöz (IV) yol sıvı resüsitasyonu ve IV analjezi sağlamak hastalar için çok önemlidir. %30'dan daha az yanığı bulunan hastalar için iki periferik IV yol yeterlidir. Ancak daha büyük yanığı ve inhalasyon yanığı bulguları olan hastalara santral venöz kateter uygulanmalıdır. Sıvı, IV ve kristaloid (laktatlı ringer) olarak verilmelidir. Vücut alanının %20'si yanmış hastada IV sıvı verilmesi genellikle gerekir. Bu oran yaşlılarda ve çocuklarda %10'dur. Erken dönemde mortalitenin önemli nedeni hipovolemi olduğundan sıvı tedavisine mümkün olduğunca erken başlanmasına ve nakil sırasında damar yolundan sıvının infüzyonunun devamının sağlanmasına özen gösterilmelidir (Klein, 2007).

2.6.1. Sıvı Resüsitasyonu

Yanıklar sadece lokal doku hasarı ile sınırlı kalmayıp geniş bir sistemik cevabın da başlamasına neden olur. İnflamatuar mediatörlerin salınımı (histamin, prostoglandin ve sitokinler) kardiyak volümün azalmasına, vasküler geçirgenliğin artmasına ve hücre membran potansiyelinin değişmesine sebep olabilir. Sıvı resüsitasyonunun amacı vücut yüzeyinden (deriden) doğrudan olan sıvı kayıpları ile vücudun inflamatuvar yanıtı sonucu oluşan ve kapiller sistemden interstisyuma sıvı kaçışına bağlı olarak gelişen sıvı kayıplarına yeterli destek sağlamaktır. Mümkün olan en kısa sürede IV sıvı tedavisine başlanmalıdır. Yetişkinlerde TVYA'nın %15-20'sini, çocuklarda %10'unu geçen yanıklarda sıvı resüsitasyonu gereklidir. Baxter tarafından tanımlanan Parkland formülü sıvı gereksiniminin hesaplanmasında hala en sık kullanılan metottur. Formül ($4\text{cc} \times \text{kg}$ olarak $\text{ağırlık} \times \% \text{TVYA}$) 24 saat içindeki sıvı gereksiniminin hesaplanmasını sağlar. Kullanılan sıvı laktatlı ringer solüsyonu olmalıdır. Laktatlı ringer göreceli olarak hipotonik olup sodyum, potasyum, kalsiyum, klorid ve laktat içerir. Hesaplanan sıvının yarısı ilk 8 saatte, ikinci yarısı ise sonraki 16 saatte verilmelidir. Sıvı, çocuklarda 1cc/kg/sa, yetişkinlerde 30cc/sa idrar çıkışı sağlanması ile takip edilir (Klein, 2007).

Resüsitasyonun ilk 24 saatinde kolloid kullanımı tartışmalıdır. Yanıktan hemen sonraki erken dönemde kolloid kullanımı doku ödemi artırarak interstisyel alana kolloid sızmasına sebep olabilir. Sonuç olarak yanığı takip eden kapiller kaçışın kapanmaya başladığı ilk 12-24 saat içinde kolloid kullanılması genellikle önerilmez (Klein, 2007).

Resüsitasyon için hipertonic salin kullanımı yaygın değildir. Hipertonic salinin destekleyicileri, hipertonic solüsyonların serum osmolaritesini arttırdığını ve interstisyel alana su geçişini azalttığını savunurlar. Bu durum, teorik olarak ödemi azaltır ve intravasküler volümün artmasını sağlar ancak bu teori literatürde doğrulanmamıştır. Esas risk hipertonic solüsyonların hipernatremiyi geliştirmesidir (Klein, 2007).

Yetersiz sıvı verilmesi kadar aşırı sıvı resüsitasyonu da yanık sonrası komplikasyonları artırır. Akciğer ödemeine sebep olabileceği gibi, yanık olan ve yanık olmayan dokularda ödemi artırarak eskaratomi ve fasyotomi ihtiyacını artırır (Klein, 2007).

Sıvı resüsitasyonu kadar ağrının kesilmesi de önemlidir. Morfin Sülfat 2mg IV uygulanabilir.

2.6.2. Yara Bakımı

Sıvı resüsitasyonu ve beslenmenin yanı sıra yanık yara bakımı da yanık yarasını kontrol altına almada, yanığın derinliğinin ve genişliğinin artmasında kritik role sahiptir. Başarılı yara bakımı skar ve kontraktür ihtimalini en aza indirger. Yüzeysel yanık yaralarında antimikrobiyal koruma sağlayan ve yarayı nemli tutan ajanlara ihtiyaç vardır. Tam kalınlıktaki yanık yaralarında eskarın debride edilmesiyle oksidatif aktivite ve proteazlar azalır ve lokal büyüme faktörlerinin salınımı artar. Eskarın kaldırıldığı andan itibaren spontan epitelizasyon başlar.

Erken dönemdeki yanık yarası bakımında yaradaki kolonizasyonu en aza indirecek geniş spektrumlu topikal antimikrobiyal ajanlar kullanılmalıdır. Yara tedavisi yönetiminde profilaktik sistemik antibiyotik tedavisinin yeri yoktur. Gümüş sülfadiyazın ve acticoat derin yanıklarda enfeksiyonu önlemek için günde iki defa kullanılabilir. Eskara penetrasyonu olan ajan ise Mafenid Asetattır. Biyolojik yara örtülerinden ksenogreft ve allogreft de kısmi kalınlıktaki yanıklarda iyileşmeyi sağlar (Singh ve ark., 2007). Naylon ve kollajen içeren silikon film yapısında biyosentetik yara örtüsü olan Biobrone yüzeysel haşlanma yanıklarında epitelizasyonu artırmakta, çocuklarda ağırlı pansuman değişimini önlemektedir (Barret ve ark., 2000).

Kollajenaz ile yapılan topikal enzimatik debridman kısmi kalınlıktaki yaralarda gümüş sülfadiyazine göre daha hızlı iyileşme sağlamaktadır (Singh ve ark., 2007). Diğer bir antimikrobiyal topikal ajan olan klorheksidin, gram pozitif ve negatif bakterilere etkilidir, cilt üzerine uygulandığında orada kısmen tutulur, yinelenerek uygulandığında antiseptik etkisi kümülatif olarak artar (Hidalgo ve Dominguez, 2001).

Derin yanıklarda topikal ajanların tedaviye çok etkisi yoktur. Bu yaraların tedavisi erken yara debridmanı ve greftlemedir. Böylece enfeksiyon ve hipertrofik skar riski azaltılmış olur.

2.6.3. Yanıkların Cerrahi Tedavisi

Yanık yara eksizyonunda tanjansiyel ve fasiyal eksizyon olmak üzere iki tip cerrahi teknik vardır. Tanjansiyel eksizyonda eskar ve nekrotik dokular kanayan ve canlı olan dokuya ulaşana kadar tabakalar halinde ard arda tanjansiyel tarzda kesilerek uzaklaştırılır. İki temel dezavantajı vardır. Birincisi, büyük bir alanın eksizyonu gerekiyorsa eksizyon sırasında aşırı kan kaybı olabilir, ikincisi ise yağ dokusunu da içeren yanık alanları eksizyonunda canlılığın doğru olarak değerlendirilmesinin zor olmasıdır (Klein, 2007).

Fasiyal eksizyon, fasyaya kadar kesici koter ile inilerek total deri rezeksiyonunu içerir. Ve yalnızca çok derin, yaşamı tehdit edici tam kat yanıklara saklanmalıdır (Klein, 2007).

Yanık yarasının tanjansiyel eksizyonunda kullanılan en yeni cihazlardan biri basınçlı su ile çalışan Versajettir. Bu cihaz özellikle el ve ayakların konkav yüzeyleri, göz kapağı, kulak, burun eksizyonu için son derece faydalıdır (Klein, 2007).

Kullanılan teknikten bağımsız olarak ekstremitte eksizyonları sırasında kan kaybını azaltmak için mutlaka ekstremitelere turnike uygulanmalıdır (Klein, 2007).

Bütün vücut yüzeyinin %60'ından daha yaygın ağır yanıklarda derinin 4/1 mesh kullanılarak genişletilmesi gerekir. Fakat el, yüz ve ön kol yanıklarında meshardan geçirilmeden direkt yaprak greft şeklinde uygulanmalıdır. Çünkü estetik açıdan çok daha iyidir. Yara bakım ürünleri deri greftleri uygulamalarından sonra pansuman amaçlı kullanılabilirler. Islak örtüler hem defekt alanın epitelizasyonunu hızlandırır hem de nemli bir ortam sağlar. Acticoat gibi gümüş içerikli yara örtüleri, içindeki gümüşün patolojik mikroorganizmaların hücre selülumunu bozma etkisiyle antimikrobiyal etki sağlar.

Vakum yardımcı kapatma aygıtı (VAC) deri grefti pansumanı için diğer bir seçenektir. VAC cihazı greftin vasküler yataktan ayrılmasını önleyen negatif basınç uygular. Deri grefti üzerine uygulandıktan sonraki beşinci günde sonlandırılır (Klein, 2007).

Yüz bölgesindeki yanıklarda her zaman yaprak otogreftler tercih edilmelidir. Skalp en mükemmel otogreft kaynağıdır ve renk uyumu da vardır. Boyun yanıklarında amaç greft kontraksiyonunu engellemek ve yarayı küçültmektir. Bu bölgede her zaman yaprak greftler tercih edilmelidir ve boyun maksimum hiperekstansiyonda iken greftler yerleştirilmelidir. Greft yerleştirildikten sonraki ilk birkaç gün boyun, splint ile hareketsiz hale getirilmelidir. Greft olgunlaştıktan sonra hasta agresif egzersizlere başlamalıdır (Klein, 2007).

El yanıkları sıklıkla deri greftine ihtiyaç duyulmadan iyileşir. Hastalar mümkün olan en kısa zamanda hareketli egzersizlere başlamalıdır. 3 hafta içinde iyileşmeyecek yaraların en iyi tedavisi eksizyon ve greftlemedir. El yanıklarında yaprak greftler tercih edilmelidir. Elin eksizyon ve greftlemesinden sonra en az 5 gün atel veya splintle ele ve kola immobilizasyon yapılmalıdır. Greft iyileşmesi tamamlandığında, eldeki ödemi ve gelişebilecek hipertrofik skarı azaltmak için ele eldiven şeklindeki bası giysilerinin

uygulanması, geç dönemde yapılabilecek en iyi tedavidir (Klein, 2007). Alt ekstremitelerde yanıklarında erken mobilizasyon yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Yürütme egzersizleri, ekstremitelerde distalde gelişebilecek venöz konjesyonu azaltarak, ekstremitelerde ödemi minimize eder. Eğer hastanın mobilizasyonu mümkün değilse ödemi azaltmak için ekstremitelere elevasyon uygulaması yapılması gerekir (Klein, 2007).

2.7. Yanık Komplikasyonları

2.7.1. Erken Dönem Komplikasyonlar

Enfeksiyon

En sık gözlenen komplikasyondur ve yaranın basit enfeksiyonundan ölümcül sepsise kadar uzanan geniş bir yelpazesi vardır. Yanık alanı genişledikçe ve derinlik arttıkça enfeksiyon riski de artar. İmmün yetmezliğe bağlı olarak enfeksiyona eğilim oluşur. En sık etken *Pseudomonas aeruginosa* ve stafilokok suşlarıdır. Yanık yarısında 1 gr dokuda 10^5 ve üzeri mikroorganizma varlığı yara enfeksiyonu olarak kabul edilmektedir. Erken tanjansiyel yanık yarısı eksizyonunun yapılması yanık yara sepsisinin gelişme oranını belirgin olarak düşürür ve yaşam süresini olumlu yönde etkiler (Klein, 2007).

Akut Böbrek Yetmezliği

En sık görülen böbrek komplikasyonudur. Yetersiz sıvı tedavisi sonrasında görülebilir. Özellikle elektrik yanıklarından sonra gelişen doku yıkımı ve iskelet kas yıkımı (rabdomyoliz) ile oluşan miyoglobinler miyoglobüriye sebep olup böbrekte birikerek yetmezliğe sebep olabilir. Bol sıvı tedavisi ve diyalizle önlenir.

Kompartman Sendromu

Sıklıkla sirküler tam kat yanıklarında alt ve üst ekstremitelerde boğucu etki nedeniyle görülebilir. Ağrı, nabız alamama, solukluk, güç ve duyu kaybı bulguları vardır. Pasif hareket ile ağrı artışı en erken bulgulardır. Wick yöntemiyle ölçülen kompartman basıncı 40 mmHg üzerindeki hastalara fasyotomi endikedir. Kompartman basıncının normal değeri 0-5 mmHg'dir (Chung, 2002).

Curling Ülseri

Genellikle yanık yüzey alanı %30'dan fazla olan hastalarda görülür. Sepsis varlığı görülme sıklığını artırır. Stres ülseri olarak da bilinir. Midede oluşan ülserler genellikle multifokal iken duodenumda olanlar genellikle tek ülser halindedir. Klinikte

gastrointestinal kanama ve perforasyon şeklinde bulgu verir. Agresif sıvı tedavisi, H₂ reseptör blokörleri ve antiasitlerle önlenebilir.

2.7.2. Geç Dönem Komplikasyonlar

Skar

Yaranın iyileşmesinden sonra skar dokusu oluşması en sık gözlenen yanık komplikasyonudur.

Hipertrofik Skar

Yara sınırlarını aşmayan kırmızı renkli ve kaşıntılıdır. Genellikle eksize edilmemiş ve greftlendiği halde iki üç haftadan daha uzun sürede iyileşmiş yaralarda oluşur. İyileşmesi üç haftadan uzun süren ve greftlenen bölgelere genellikle bası giysisi uygulanır. Triamsinolon asetoidli pomad, ektractum cepae allantoin içerikli pomad ile masaj yapılarak azaltılır (Klein, 2007).

Keloid

Orjinal yara sınırlarını aşan tümör benzeri sert, deriden oldukça kabarık, kaşıntılı bazen ağrılı lezyonlardır. Hastanın yaşı, genetik yapısı, ırk, vücut bölgesi ve yanığın derinliği, oluşmasında önemlidir. Hipertrofik skarlarda kullanılan topikal ajanların yanı sıra basınçlı giysiler, silikon uygulaması ve sıkı masaj tedavi seçenekleridir.

Kontraktür

Eklem mesafesini aşan skarlar kontraktüre yol açarlar. Cerrahi ile tedavi edildikten sonra fizik tedavi uygulanmalıdır.

Marjolin Ülser

Yanığın en korkunç uzun dönem komplikasyonlarından biridir. Stabil olmayan skar dokusunun uzun yıllar sonra kanserleşmesidir. Genellikle skuamoz hücreli cilt kanseridir. Bu kanserin seyri yanmamış deriden gelişen skuamoz hücreli kansere göre daha agresiftir. Genellikle deri grefti uygulanmamış veya kendiliğinden uzun bir zaman sürecinde iyileşmiş yara bölgelerinde meydana gelir. Daha geniş cerrahi eksizyon gerekir (Klein, 2007).

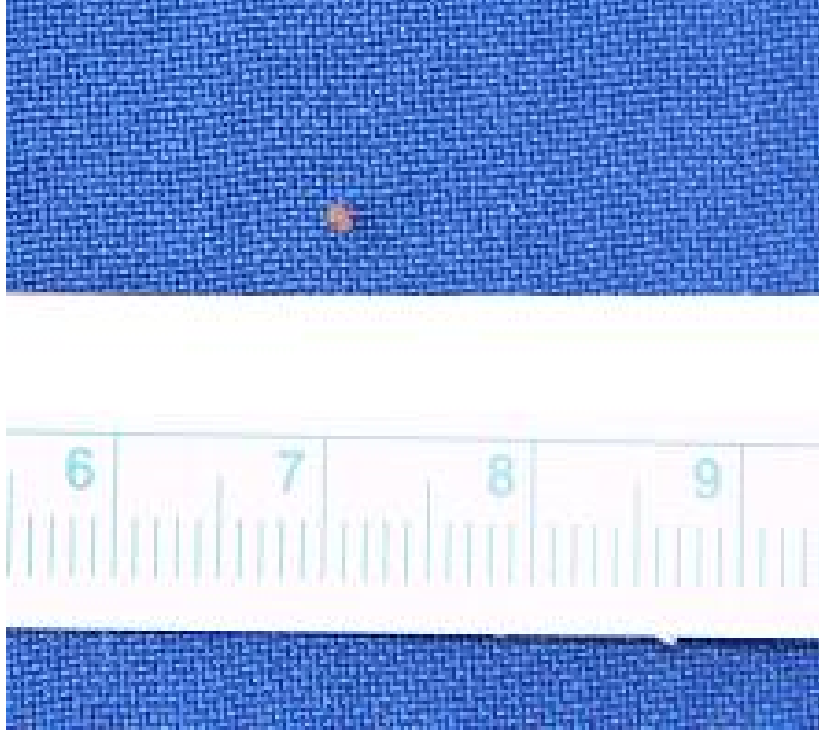
Heterotopik Ossifikasyon

Yumuşak doku ve eklem çevresinde kalsiyum depolanmasından kaynaklanır. En sık dirsek ve omuzları etkiler, kazadan sonra 1-3 ay içinde oluşur hareketle ağrı artar ve

eklemin hareketleri giderek kısıtlanır. Tedavide kemikleşmiş dokunun çıkarılması ve fizik tedavi uygulanır (Klein, 2007).

2.8. Pineal Bez

Epifiz bezi olarak da bilinen pineal bez beyinde bulunan nöroendokrin bir organdır. İnsanlarda 120-150 mg ağırlığındadır, posterior komissür ve üst dorsal habenular arasında üçüncü ventrikülün posterior tavanına bitişik bir haldedir. Sıçanlarda beyin hemisferlerine ve beyinciğe ait kısımlara göre daha derinde bulunan pineal bez bir çukura gömülmüş gibidir. 0,9-1,56 mg ağırlığında, 1 mm çapındadır ve çok ince bir sap aracılığı ile üçüncü ventrikül tavanına bağlanmıştır. Yuvarlak şekilli olan bez beyazımsı ve homojendir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Pineal bezin makroskopik görüntüsü

Arteriyel beslenme, posterior koroidal arterler yoluyla olur, venöz dolaşım ise internal serebral venler yoluyla sağlanır. Önemli derecede damarlaşma göstermekte olup, kan akımı yönünden 4ml/dak/g'lık değerle endokrin organlar içinde böbreklerden sonra ikinci sırada gelmektedir. Bezin uyarımında sempatik sistem baskındır ve superior gangliondan kaynaklanan sinir lifleri internal karotid sinir ile beze ulaşır (Altun ve ark., 2001).

Pineal bez pinealositlerden ve nöroglialardan oluşur. Pinealositler norepinefrin, histamin, serotonin, melatonin, dopamin gibi biyolojik aminleri ve lüteinleştirici hormon releasing hormon (LHRH), tiroid releasing hormon (TRH), somatostatin, arjinin, vazopressin gibi peptidleri sentez ederler (Brzezinski, 1997). Dış çevrenin aydınlık ve karanlık olmasına göre organizmanın başta endokrin sistem olmak üzere birçok sistemin fonksiyonundaki değişiklikleri düzenler. Suprakiazmatik nükleus ile birlikte aktivitelerimizi doğa ile senkronize bir şekilde yapmamızı sağlayan biyolojik saat olduğu düşünülmektedir. En önemli salgısal ürünü bir nörohormon olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) dir.

Pineal bez ile melatoninin metabolizması ve fizyolojisi ile ilgili çalışmalar ve ayrıca pek çok türde biyolojik ritim ile ilgili araştırmalar yapılabilmesi için pineal bezin uzaklaştırılmasının gerekliliği pinealektomi yaklaşımını da önemli hale getirmektedir. Hoffman ve Reiter (1965), Kuszak ve Rodin (1977) pinealektomi yaparken nörolojik hasar, intrakraniyal hasar ve ölüm gibi bir takım sorunlar yaşamışlardır. Bu sorunlarla karşılaşmamak için pinealektomi yaparken 4 ana unsura dikkat edilmelidir:

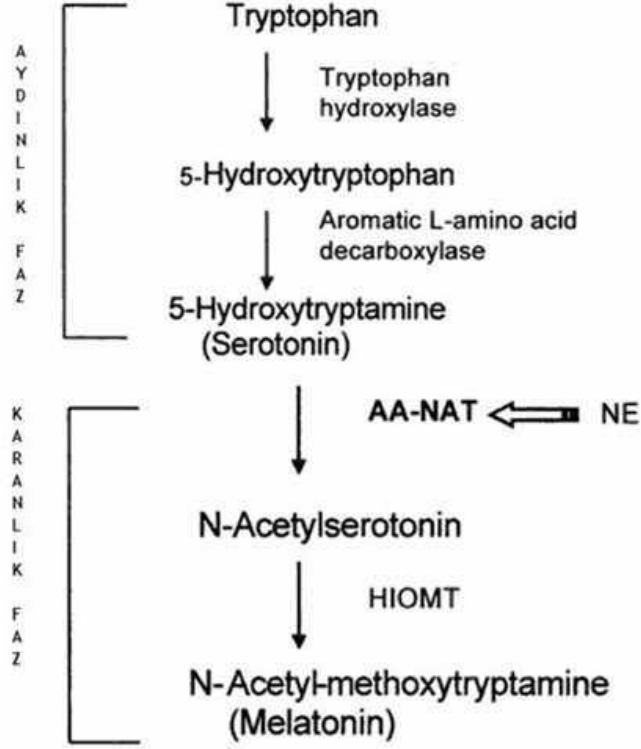
1. Kraniyotomiye dura mater ve venöz sinüslere zarar vermeden yapmak
2. Kranial kemiği kaldırırken kanamadan kaçınmak
3. Pineal bezi bulmak
4. Ensefalon'a zarar vermeden pineal bezi çıkarmak (Maganhin ve ark., 2009)

2.9. Melatonin

2.9.1. Melatonin Sentezi

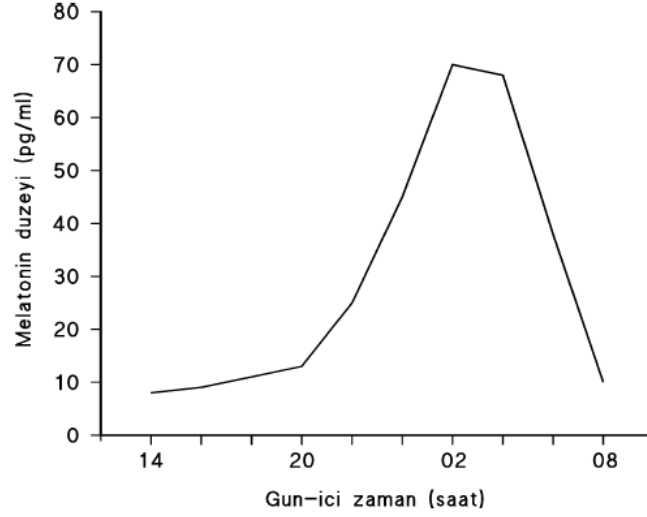
Pineal bez elektrik sinyallerini hormonal sinyallere çeviren nöroendokrin bir dönüştürücü olarak görev yapar. Pineal bezde melatoninin yapılması ve salınması karanlık ile uyarılır, ışık ile baskılanır. Karanlığın başlaması ile fotoreseptörler hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdeği uyarır (Altun ve ark., 2001). Uyarılar buradan superior servikal gangliona, daha sonra postganglionik sinirlerle pineal beze iletilir. Bez içindeki postganglionik sinir uçlarından salınan noradrenalin ile pinealositlerdeki β adrenerjik reseptörler uyarılarak hücre içi cAMP yapımı artar. Bu da melatonin yapım hızını düzenleyen N-asetil transferaz (NAT) sentezini artırır. Sonuçta serotoninden melatonin sentezi ve salgılanması artar. Melatonin sentezinde önemli rol oynayan NAT ve hidroksiindol-O-metil transferaz (HIOMT) enzim aktiviteleri gece daha yüksektir (Boutin

ve ark., 2000). Melatonin bir indolamindir ve pinealositlerde sentez edilir. Dolaşımdan hücre içine alınan triptofan, triptofan 5 hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksi-triptofana, bu ise aromatik aminoasit dekarboksilaz (Dopa Dekarboksilaz) aracılığı ile 5-hidroksitriptamine (5-HT,serotonin) dönüştürülür. Pineal bez serotonin konsantrasyonu açısından vücutta en zengin organdır. Serotonin, NAT ve HIOMT'un birbirini takip eden aktiviteleri ile son ürün olan melatonine dönüşür (Altun ve ark., 2001) (Şekil 2.6).



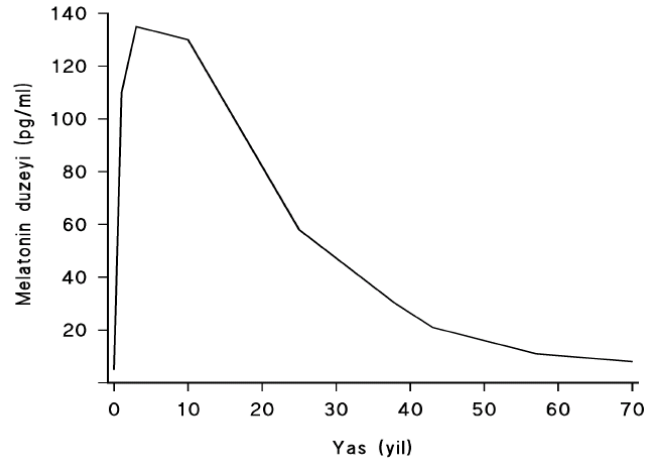
Şekil 2.6: Melatonin biyosentezi

Gün ışığının bulunduğu saatlerde retina fotoreseptör hücreleri hiperpolarizedir ve retina hipotalamik pineal sistem sessizdir. Bu dönemde çok az melatonin salgılanır. İnsanda melatonin düzeyindeki artış karanlık çökmesinden hemen sonra başlar (20:00-23:00 arası), gecenin ortasında (01:00-05:00 arasında) doruk düzeyine ulaşır. Daha sonra melatonin düzeyi giderek azalır (Altun ve ark., 2001) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Serum melatonin düzeyinin gün içi değişimi

Serum melatonin konsantrasyonu yaşa göre de anlamlı olarak değişir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Serum melatonin düzeyinin yaşlara göre değişimi

En yüksek melatonin düzeyi yaşamın 1-3. yılları arasında saptanır. Yaşlanma ile melatonin sentez ve salınımında azalma meydana gelir (Oxenkrug ve ark., 2001). Ayrıca melatonin, uzun süreli uçuşlara bağlı uyku ve biyolojik ritim bozukluklarını (jetlag) 3 mg oral dozla önlemede etkili bulunmuştur (Takahashi ve ark., 2002). Melatoninin antioksidan etkisi için hayvan deneylerinde gerekli önerilen doz 10mg/kg'dır. Bu dozdaki eksojen melatoninin immunopotent etkisi de mevcuttur (Basak ve ark., 2003).

2.9.2. Melatonin Metabolizması

Melatonin pineal bezde depolanmadan hızlı bir şekilde komşu kapiller damarlara geçer. Plazmada %70'i albumine bağlı olarak bulunur. Lipofilikliğinin çok yüksek olmasından dolayı tüm biyolojik doku ve sıvılara dağılır. Çoğu karaciğerde olmak üzere böbrekte de metabolize edilir. Melatoninin kandaki yarı ömrü 10-40 dakika civarında (insanda ortalama 28,4 dakika) olup eksojen melatoninin metabolik yarı ömrü 20-60 dakikadır. Melatoninin %90'ı karaciğerde hidrosillenir ve kandan tüm vücut sıvılarına taşınır. Karaciğerde 6-hidroksi melatonine dönüşür. Bu da böbrekte sülfat ve glukronik aside bağlanarak idrarla atılır. Başlıca metaboliti 6-sülfatoksimeletonindir (Brzezinski, 1997). N asetil serotonin melatonin prekürsörü, aynı zamanda da metabolitidir (Vanecek, 1998).

2.9.3. Melatoninin Etki Mekanizması

Melatonin yüksek lipofilik ve hidrofilik özelliğe sahiptir. Vücutta depolanmadan kan ve vücut sıvılarına hızla karışır (Altun ve ark., 2001). Melatonin lipid çözünürlüğünden dolayı hücre membranını kolaylıkla geçer ve tüm hücre organellerine nüfuz edebilir. Fizyolojik etkilerini hem spesifik reseptörler aracılığı ile hem de reseptörden bağımsız olarak gösterebildiği bildirilmiştir. Beyinde ve suprakiazmatik nükleusta melatonine ait membran reseptörleri belirlenmiştir. Hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdek adeta bir sirkadiyen saat olarak görev yapar, suprakiazmatik çekirdek memelilerde biyolojik sirkadiyen saattir. Suprakiazmatik çekirdekteki melatonin reseptörlerinin varlığı melatoninin sirkadiyen ritmin kontrolündeki önemini göstermektedir (Altun ve ark., 2001).

Periferik immün hücrelerde melatonine ait membran reseptörlerinin varlığı saptanmıştır. Bunlar ikinci haberci olarak cAMP'yi kullanırlar. İn vitro fizyolojik dozlarda melatonin, cAMP üretimini zaman ve doza bağlı bir şekilde inhibe eder (Morgan ve Williams, 1989). Melatoninin nükleusta bağlandığı bölgeler hem merkezi sinir sisteminde hem de periferik dokuda bulunmaktadır. Melatonin reseptörleri Mel-1a, Mel-1b ve Mel-1c olmak üzere üç tiptir. Mel-1a reseptör aracılığı ile sirkadiyen ve reproduktif etkilerinin gerçekleştiği düşünülür. Mel-1b reseptörü beyin ve retinada eksprese olur ve her iki bölgede de dopaminerjik fonksiyonlarla da ilişkili olduğu düşünülür. Mel-1c geni ise insanda saptanmamıştır. Melatoninin bugüne kadar saptanabilmiş bir antagonisti yoktur (Sugden ve Chong, 1991). Rameltean son yıllarda geliştirilen bir Mel-1a/Mel-1b reseptör

agonistidir. İnsomni ve yetişkinlerin uyku bozuklukları tedavisinde kullanılmaktadır (Ekmekcioglu, 2006).

Melatoninin ritmik özelliğe sahip birçok biyolojik fonksiyon (vücut ısısı, solunum ve dolaşım sistemi, üreme vs.) üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir. Genel olarak birçok canlı türü için melatoninin çeşitli fizyolojik olaylara adaptasyonda zamana uyumu düzenlediği düşünülmektedir. Melatoninin insandaki etkileri iki kategoride incelenebilir; bunlardan ilki vücutta büyük oranda pineal bezden salgılanan melatoninin sirkadiyen ritmi düzenleyici etkisidir. İkincisi ise bu hormonun vücuttaki anabolik fizyolojik etkileridir. İnsanda melatonin düzeylerinin yüksekliği vücut ısısında azalma, artmış ısı kaybı, azalmış kalp debisi, uyanıklık halinde bozulma ve artmış immün duyarlılık ile birlikte seyreder (Altun ve ark., 2001). Yaşlanma ile melatonin sekresyonu azalmaktadır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda melatonine ait olduğu gösterilen ya da düşünülen fonksiyonlar şu şekilde sıralanabilir:

Melatoninin insan dışındaki memelilerde mevsimsel üreme fizyolojisi üzerinde etkin olduğu görülmüştür (Cagnacci ve Volpe, 1996).

Salgılanmasındaki sirküler ritmden dolayı bu pineal hormon suprakiazmatik nükleus üzerine etki ederek 24 saatlik siklusların düzenlenmesinde rol oynar. Melatoninin uyutucu etki ve uzun uçak yolculuklarının yarattığı fizyolojik düzensizliğin tedavisinde kullanılması biyolojik saat olarak da tanımlanan suprakiazmatik nükleusla etkileşiminin bir sonucudur (Underwood, 1990).

Potansiyel antikanser bir madde olduğuna inanılmaktadır (Vijayalaxmi ve ark., 2002).

Melatonin antioksidan aktivitesi oldukça önemlidir.

Melatonin 1-50mg/kg dozda nöroprotektif etki göstermektedir. 50-100mg/kg ölüme kadar yol açabilen komaya sebep olabilir (Rogerio ve ark., 2002).

Rejenerasyonu stimule edici, uyku ritmi ve endokrinolojik aktivite düzenleyici, osteoblastik aktiviteyi hızlandırıcı ve immunitiyi güçlendirici etkisi, antiepileptik ve hipotermik etkisi olduğu bildirilmiştir (Acuna-Castroviejo ve ark., 1995; Cardinali ve Vacas, 1987; Sirotkin ve Schaeffer, 1997).

Periferik sinir dejenerasyonunda ve kollajen formasyonunda etkisi olduğuna dair (Atik ve ark., 2011) ve nöroprotektif etkisine dair çalışmalar mevcuttur (Turgut ve ark., 2010).

Topikal ya da sistemik kullanılan melatoninin yara iyileşmesine pozitif etkisi olduğu bildirilmiştir (Ozler ve ark., 2010).

Testis torsiyonunda kullanıldığında testiküler atrofiyi önlediğine dair çalışmalar mevcuttur (Yurtcu ve ark., 2009).

Kardiyoprotektif (Lochner ve ark., 2013) ve analjezik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Laste ve ark., 2012; Vidor ve ark., 2012).

Pineal bezin yaşlanma ile birlikte fonksiyonlarının azalmasına bağlı olarak melatonin sentezinde de azalma görülmektedir. Farelerde yapılan bir çalışmada, melatonin tedavisinin, farelerin yaşam süresinde %25'lik bir artışa neden olduğunu ve dahası bu farelerin daha genç, sağlıklı ve güçlü görünümünün yanısıra, seksüel aktivitelerini de daha uzun süre devam ettirdiği bildirilmiştir (Klatz ve Goldman, 1997).

2.9.4. Serbest Radikal Toplayıcı Ve Antioksidan Olarak Melatonin

Melatonin hem yağda hem de suda çözünür özelliğe sahip olması nedeniyle vücudun her hücresine, sitozole ve hücre içindeki diğer yapılara kolaylıkla girer ve bu sebeple de vitamin ve mineral antioksidanlara göre çok daha etkilidir (Reiter ve ark., 2000). Melatonin hücrenin mitokondrisine nüfuz edebilen bir antioksidandır. Mitokondrileri de oksidasyon zehirlenmesinden koruyabilmektedir. Melatonin OH⁻ radikali ile karşılaştığında toksik etkisi çok düşük olan indolil radikale dönüşür. Melatonin ile diğer indollerin (serotonin, N asetil serotonin, 5 metoksi melatonin tamin) antioksidan özellikleri karşılaştırıldığında melatoninin antioksidan özelliğinin bu moleküllerin antioksidan özelliklerinden belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Melatonin diğer OH⁻ radikali temizleyicilerinden mannitol ve glutatyon ile karşılaştırılmış, melatoninin antioksidan etkisinin glutatyondan 5 kat, mannitolden 15 kat daha güçlü olduğu belirlenmiştir (Reiter ve ark., 1997). Başka bir çalışmada melatoninin en etkili anti oksidanlardan olan E vitamininden 2 kat daha etkili olduğu bildirilmiştir (Pieri ve ark., 1994; Reiter ve ark., 1997). Ayrıca melatonin indirekt olarak spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzim seviyelerini artırarak da doku koruyucu etki göstermektedir (Reiter ve ark., 1998). Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-6-fosfat dehidrogenaz aktivitelerini artırırken, prooksidatif bir enzim

olan nitrik oksit sentetaz'ı (NOS) inhibe eder. Ancak melatoninin antioksidan etkisinin gözlenebilmesi için gereken konsantrasyonların geceki en yüksek serum konsantrasyonlarına göre oldukça yüksek olduğu iddia edilmektedir (Brzezinski, 1997).

Reaktif oksijen ürünlerinin (süperoksit, peroksinitrit, hidroksil radikal ve hidrojen peroksit) DNA strand breakage ile reaksiyona girip nükleer enzim poliy (ADP-riboz) sentetazı (PARS) aktive ederek enerji tüketimine ve nekrotik tip hücre ölümüne yol açtığı belirtilmiştir (Cuzzocrea ve ark., 2001). Melatoninin PARS aktivitesini inhibe ederek şok, inflamasyon ve iskemi reperfüzyonda organ hasarını önleyebileceği bildirilmektedir. Son dönemde hayvanlarda yapılan çalışmalar inflamasyon patolojisinin kontrolünde melatonin kullanımının faydaları olduğunu göstermiştir. Melatonin diğer antioksidanlarla etkileşime girerek onların etkinliğini artırır. Vitamini C, troloks ya da glutatyon ile in vitro ortamda inkübe edildiğinde her üçü ile sinerjik etki gösterdiği ve in vitro radikal oluşumunu azalttığı gözlenmiştir (Poeggeler ve ark., 1993). Melatonin hem yağda hem de suda çözünür özelliğe sahip olması nedeniyle vücudun her hücresine sitozole ve hücre içindeki diğer yapılara kolaylıkla girer ve bu sebeple de vitamin ve mineral antioksidanlara göre çok daha etkilidir (Reiter ve ark., 2000).

Yanık hastalarında melatonin prekürsörü olan serotoninin inflamatuvar sitokinlerin inhibisyonuna sekonder olarak melatonin seviyelerinde azalma görülmektedir (Shupp ve ark., 2010). Yapılan bir çalışmada yanık rat modelinde intraperitoneal melatonin uygulaması sonrasında karaciğer, akciğer ve barsaklarda glutatyon seviyesinde artış, malondialdehit seviyesinde ise azalma görülmüştür (Sener ve ark., 2002). Bir başka deneysel çalışmada rat yanık modelinde intraperitoneal melatonin enjeksiyonunun protrombin zamanı ve fibrin yıkım ürünlerinin seviyesini normalize ettiği, cilt lipid peroksidasyonunu azalttığı ve cilt glutatyon seviyelerini artırdığı bildirilmektedir (Tunali ve ark., 2005). Ayrıca antiagregan özelliği ile yanıkta oluşabilecek DIC tablosunu engellemektedir (Bekyarova ve ark., 2010). Sonuç olarak melatoninin hem periferde hem de lokal olarak ciltte antioksidan etki göstermesi ile serbest radikallerin indüklediği yanık yarasında progresyonu engellemesi açısından terapötik etkisine dair literatürde çok az bilgi bulunmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (KONÜDAM) Hayvan Etik Kurulu'nun 30.07.2012 tarih ve 2012/59 sayılı izni ile planlandı. Çalışmada "Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi İlkeleri"ne uyuldu. Bu çalışma T.C. Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2012/121518019 proje numarası ile desteklendi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilen bu çalışmada ağırlıkları 350-500 gr arasında değişen 40 adet erişkin erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Deney hayvanları KONÜDAM'dan temin edildi, hayvanların preoperatif ve postoperatif bakımları da aynı merkez tarafından yapıldı. Deney hayvanlarının tamamı standart fiziki şartların sağlandığı 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık $22\pm 1^\circ$ sıcaklıkta, $50\pm 5\%$ nem oranında ve saatte 15 defa hava değişiminin yapıldığı odalarda rahatça ulaşabildikleri su ve standart rat diyetinin bulunduğu uygun büyüklükteki kafeslerde 5 rat bir arada olacak şekilde barındırıldı.

3.1. Gruplar

Ratlar rastgele seçilerek her biri 10 rattan oluşan 4 gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol Grubu): Ratın sırtının sağ tarafı traş edildikten sonra kaynayan suda bekletilen 1,5 cm çapındaki dairesel metal plak ratın sırtında 15 saniye bekletilerek yanık alanı oluşturuldu. Her hangi bir tedavi edici ilaç verilmedi. Analjezi amacıyla fentanil sitrat 0,02 µg/kg dozunda subkutan günde bir defa enjekte edildi. 7 gün boyunca her gün ratlara eter koklatılarak dijital fotoğraf makinesi (Canon EOS 60D Body Dijital SLR 18.0 megapiksel) ile yanık alanlarının iyileşmesi takip edildi.

2. Grup (Eksojen Melatonin Grubu): Ratın sırtının sağ tarafı traş edildikten sonra kaynayan suda bekletilen 1,5 cm çapındaki dairesel metal plak ratın sırtında 15 saniye bekletilerek yanık alanı oluşturuldu. 7 gün boyunca her gün aynı saatte (16.00-17.00 arasında) 10 mg/kg dozunda melatonin intraperitoneal olarak enjekte edildi. Analjezi amacıyla fentanil sitrat 0,02 µg/kg dozunda subkutan günde bir defa enjekte edildi. 7 gün boyunca her gün ratlara eter koklatılarak dijital fotoğraf makinesi (Canon EOS 60D Body Dijital SLR 18.0 megapiksel) ile yanık alanlarının iyileşmesi takip edildi.

3. Grup (Pinealektomi Grubu): Önce kraniyotomi yapılarak pinealektomi uygulandı. Sonra ratın sırtının sağ tarafı traş edildikten sonra kaynayan suda bekletilen 1,5 cm çapındaki dairesel metal plak ratın sırtında 15 saniye bekletilerek yanık alanı oluşturuldu.

Analjezi amacıyla fentanil sitrat 0,02 µg/kg dozunda subkutan günde bir defa enjekte edildi. 7 gün boyunca her gün ratlara eter koklatılarak dijital fotoğraf makinesi (Canon EOS 60D Body Dijital SLR 18.0 megapiksel) ile yanık alanlarının iyileşmesi takip edildi.

4. Grup (Pinealektomi ve Eksojen Melatonin Grubu): Önce kraniyotomi yapılarak pinealektomi uygulandı. Sonra ratın sırtının sağ tarafı traş edildikten sonra kaynayan suda bekletilen 1,5 cm çapındaki dairesel metal plak ratın sırtında 15 saniye bekletilerek yanık alanı oluşturuldu. 7 gün boyunca her gün aynı saatte (16.00-17.00 arasında) 10 mg/kg dozunda melatonin intraperitoneal olarak enjekte edildi. Analjezi amacıyla fentanil sitrat 0,02 µg/kg dozunda subkutan günde bir defa enjekte edildi. 7 gün boyunca her gün ratlara eter koklatılarak dijital fotoğraf makinesi (Canon EOS 60D Body Dijital SLR 18.0 megapiksel) ile yanık alanlarının iyileşmesi takip edildi.

3.2. Cerrahi Teknik

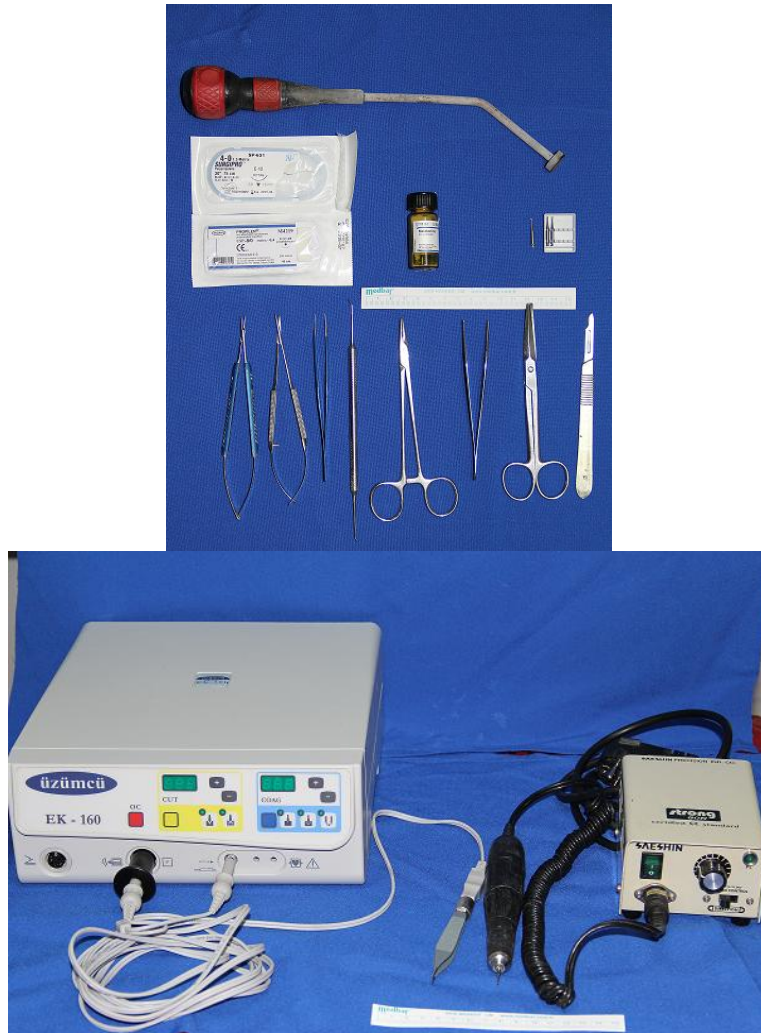
3.2.1. Preoperatif Hazırlık

Cerrahi işlemler 8mg/100gr Ketamin-HCl (Ketalar[®], Pfizer) ve 1mg/100gr Xylazin-HCl (Rompun[®], Bayer) karışımının intraperitoneal verilmesi ile oluşturulan anestezi altında, aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi. Anestezi derinliği, çene ve iskelet kas tonusuyla izlendikten sonra sırtlarının sağ taraflarındaki tüyler traşlandı. Pinealektomi yapılan gruplarda skalp derisi traşlandıktan sonra polyvinylpyrrolidone iod (Batticon sol 1000 ml Adeka) ile lokal saha temizliği yapıldı.

3.2.2. Cerrahi Araç Gereç

Çalışmada kullanılan cerrahi araç ve gereçler (Şekil 3.1):

| <u>Malzeme</u> | <u>Adet:</u> | <u>Malzeme</u> | <u>Adet:</u> |
|---------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|
| Portegü | 1 | Ters konik dental drill | 20 |
| Tek dişli Penset | 1 | Mikromotor | 1 |
| 15 no. Bistüri sapı | 1 | 160 W elektrokoter | 1 |
| 15 no. Bistüri | 20 | Bipolar forceps (0,5mm×15cm) | 1 |
| Cerrahi makas | 1 | 1,5 cm çapında dairesel metal plak | 1 |
| Mikroportegü | 1 | Periost elevatörü | 1 |
| Mikromakas | 1 | 4/0 polipropilen sütün | 5 |
| Mikropenset | 1 | 8/0 polipropilen sütün | 10 |



Şekil 3.1: Cerrahi araç gereçler

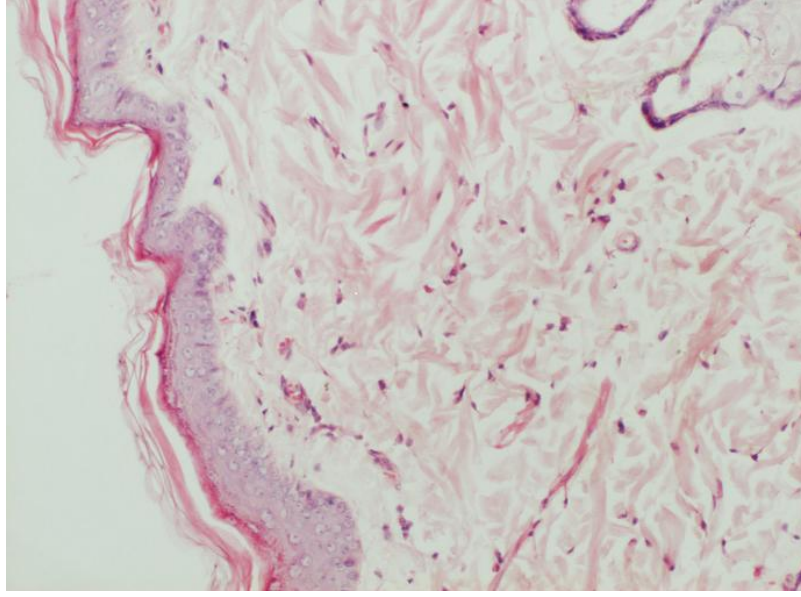
3.2.3. Yanık Oluşturma İşlemi

Pilot çalışmada, rata 8mg/100gr Ketamin-HCl ve 1mg/100gr Xylazin-HCl dozunda anestezinin intraperitoneal olarak uygulanmasını takiben, ratın sırtının sağ yanısı traş edildi ve sonra kaynayan suda bekletilen 1,5 cm çapındaki dairesel metal plak ratın sırtında basınç uygulamadan 15 sn bekletildi (Şekil 3.2).

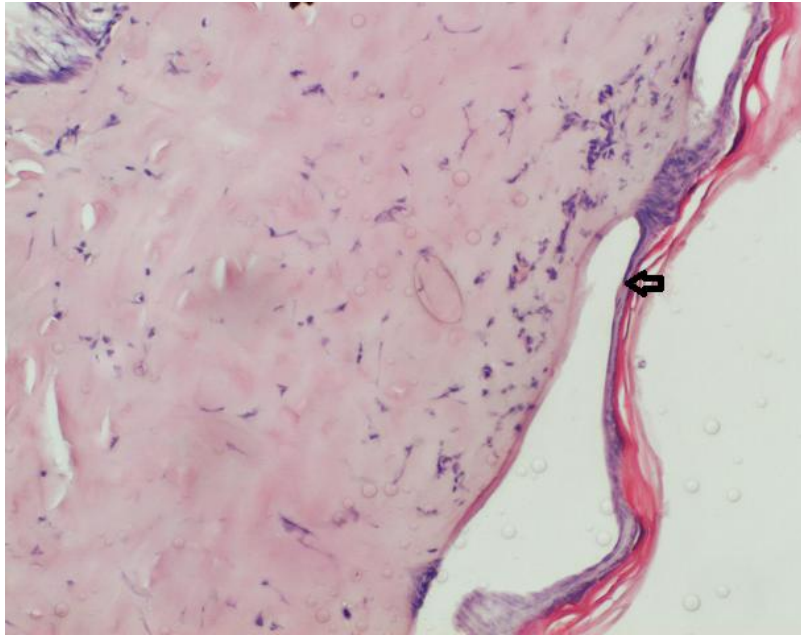


Şekil 3.2: Yanık oluşturma işlemi

Yanık oluşturulduktan bir gün sonra rat sakrifiye edilerek yanık alanısı ve sağlam cilt dokusu tam kat eksize edildi ve histopatolojik incelemeye gönderildi (Şekil 3.3). Histopatolojik olarak oluşturulan yanığın 2.derece derin yanık olduğu doğrulandı (Şekil 3.4).



Şekil 3.3: Sağlam cilt dokusunun görüntüsü (Hematoksilen-Eozin(H&E) x 10)



Şekil 3.4: Histopatolojik olarak doğrulanan 2.derece derin yanığın görüntüsü:
Subepidermal bül oluşumu (ok) ve retiküler dermiste nekrotik alanın görüldüğü
koagülasyon zonu (H&E x 10)

Daha sonra her gruptaki ratlara 8mg/100gr Ketamin-HCl ve 1mg/100gr Xylazin-HCl dozunda anestezi intraperitoneal olarak uygulandı. Anestezi derinliği çene ve iskelet kas tonusuyla izlendikten sonra sırtlarının sağ yanları tıraş edildi. Kaynayan suda

bekletilen 1,5 cm çapındaki dairesel metal plak ratın sırtında basınç uygulamadan 15 sn bekletilerek 2. derece derin yanık alanı oluşturuldu.

3.2.4. Ratlarda Pinealektomi İşlemi

Pinealektomi uygulanacak olan 3. ve 4. Gruptaki ratlar genel anestezi altına alındıktan sonra karın üstü yatırılarak dört ekstremiteden sabitlendi. Tıraş edilip ardından polyvinylpyrrolidone iod (Batticon sol.) ile lokal saha temizliği yapılan ratların skalp derisine, kalvariumun hemen gerisi ile gözler arasından orta hat boyunca yaklaşık 2 cm insizyon yapıldı. Kalvariumun üzerindeki yumuşak doku ve periost eleve edilerek retrakte edildi. Kalvarium üzerindeki yumuşak doku ve periostun uzaklaştırılması ile superior sagittal ve transvers sinüs ve birleşim noktaları ortaya çıkarıldı (Şekil 3.5).



Şekil 3.5: Kalvariumun üzerindeki yumuşak doku ve periost retrakte edildikten sonra superior sagittal, transvers sinüs ve birleşim noktalarının görüntüsü

Superior sagittal ve transvers sinüsün birleşim noktasını içine alacak şekilde yaklaşık 8mm çapındaki sirküler kemik doku ters konik dental drill yardımı ile kemiğin altındaki durayı zedelemeyen kesildi (Şekil 3.6) ve yavaşça eleve edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.6: Kraniotomi işlemi: Kemiğin sirküler tarzda dental dril yardımı ile kesilmesi



Şekil 3.7: Kranial kemiğin elevasyonu sonrasında superior sagittal, transvers sinüsler ve birleşim noktalarının görüntüsü

Çıkarılan kemik doku salinle ıslatılmış gazlı bez içinde muhafaza edildi. Superior sagittal sinüsün her iki lateralinden dura anteriordan posteriora doğru insize edildi. Superior sagittal sinüs 8/0 polipropilen ile mikrocerrahi aletlerinin yardımı ile çift ligatür atılarak bağlandı (Şekil 3.8).



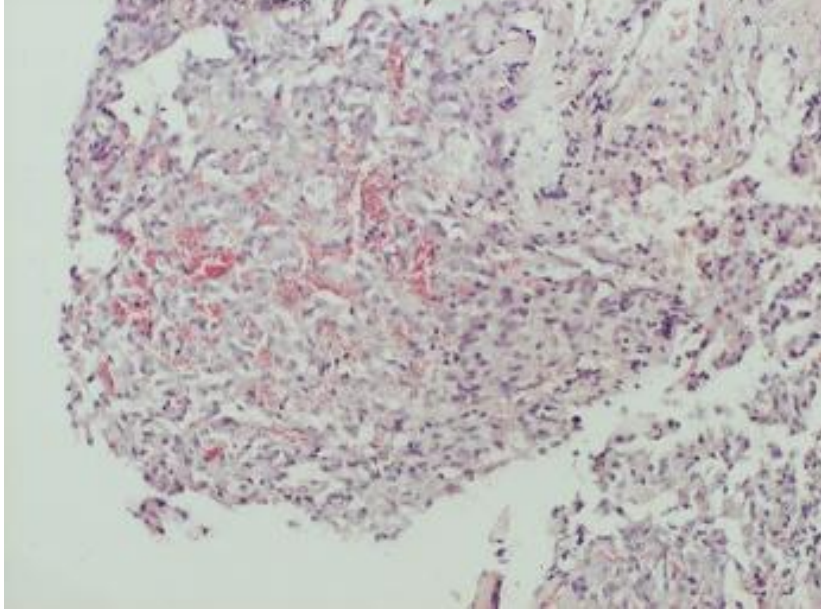
Şekil 3.8: Superior sagittal sinüsün anteriorda bağlandıktan sonraki görüntüsü

Anterior ligatür mümkün olduğunca kısa kesilirken posterior sinüsün daha kolay şekilde kenara çekilmesi için kaudaldeki ligatür uzun bırakıldı. Sinüsün ligatüre edilen kaudal kısmı posteriora doğru yer değiştirildikten sonra sagittal ve transvers sinüslerin birleşim yerinin hemen altındaki pineal beze ulaşıldı ve dikkatlice çıkarıldı (Şekil 3.9).



Şekil 3.9: Superior sagittal sinüsün ligature edilen kaudal kısmının posteriora doğru çekilmesi ile pineal bezin (okla işaretli) görünür hale gelmesi

Çıkarılan pineal bez %10'luk formol solüsyonuna konuldu. Bu aşamada oluşan ciddi kanamalar bipolar koter yardımı ile durduruldu. Çıkarılan kemik doku tekrar yerine konularak cilt 4/0 polipropilenle devamlı suture edildi (Maganhin ve ark., 2009). Eksize edilen pineal bezler histopatolojik olarak da doğrulandı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: Pineal bezin histolojik görünümü (H&Ex10)

3.2.5. Melatonin Uygulaması

Melatonin (Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Germany) kristalize tozu etanolde çözülüp serum fizyolojik ile dilüe edilmek suretiyle hazırlandıktan sonra ratların ağırlıkları dikkate alınarak enjeksiyonları yapıldı. Çalışmada stok çözelti hazırlama yöntemi tercih edilmedi, enjeksiyon çözeltileri günlük olarak işlemde hemen önce hazırlandı. Etanol çözeltisi karanlık ortamda hazırlandı.

Birim çözelti hazırlama işlemi: 16, 5 mg kristalize melatonin tozu için 0,5 cc %100'lük etanol, çözücü olarak kullanıldı. Elde edilen 0,5 cc'lik çözelti de 5 cc'ye serum fizyolojik ile dilüe edilerek etanol konsantrasyonu %10'a düşürüldü. Bu şekilde 16,5 mg kristalize melatonin ihtiva eden %10'luk 5 cc etanol çözeltisi elde edilmiş oldu. Kristalize melatoninin yüksek konsantrasyonlu etanolde çözülüp sonradan seyreltilmesinde başlangıç hacminin küçük tutularak işlem kolaylığı sağlanması hedeflendi. Bu hesaplama o gün enjeksiyonu yapılması planlanan ratların tamamı için ihtiyaç duyulan toplam melatonin

miktarına göre çözelti tek seferde hazırlandı. Melatoninin antioksidan etkisi için hayvan deneylerinde önerilen doz 10mg/kg olduğu için her bir rata 10 mg/kg dozu hesabına göre enjekte edilmesi gereken melatonin içeren hacimde çözelti enjekte edildi (Basak ve ark., 2003). Enjeksiyon intraperitoneal yoldan 7 gün boyunca her gün saat 16.00-17.00 arasında yapıldı.

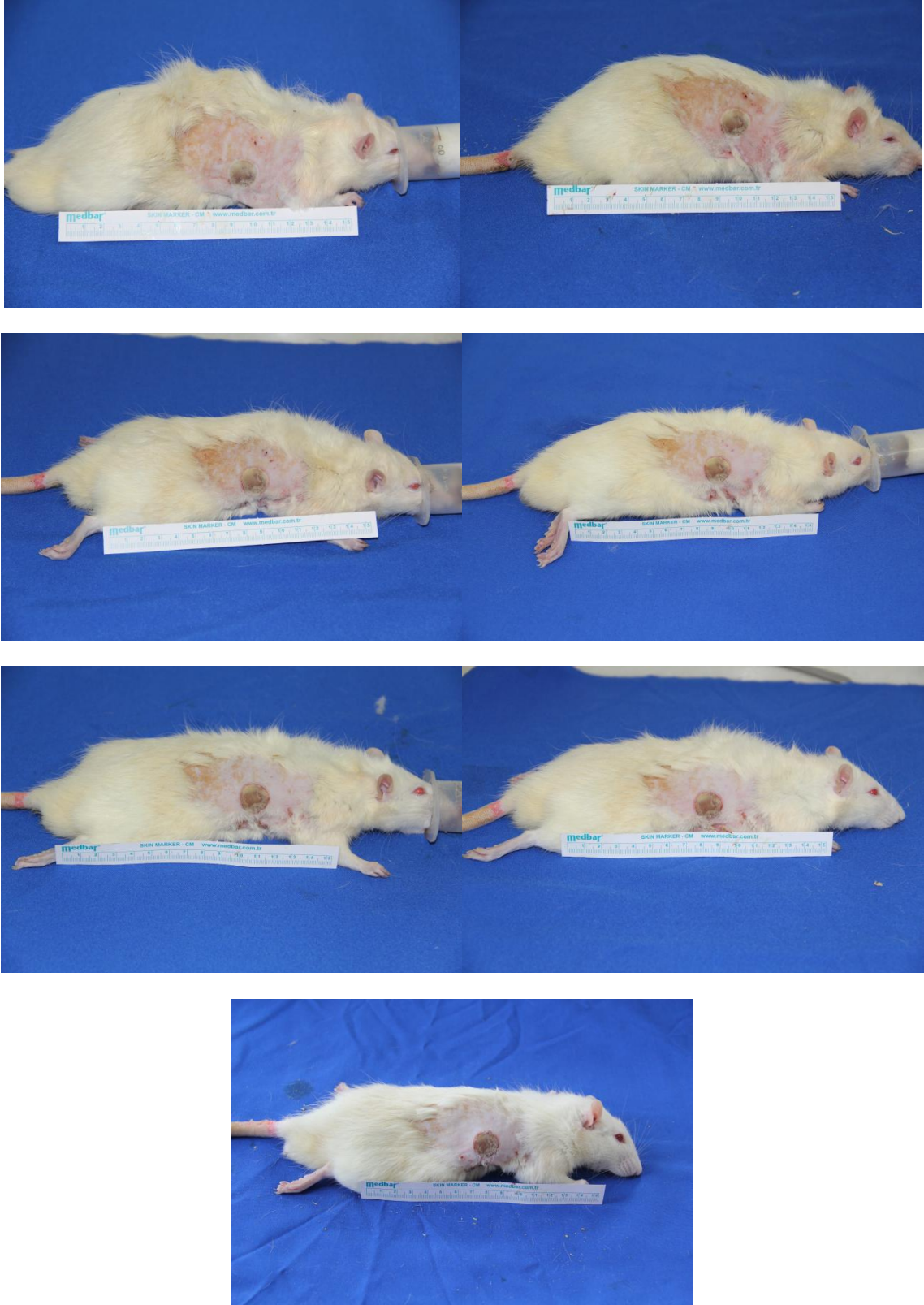
3.2.6. Örneklerin Alınması Ve Sakrifikasyon İşlemi

Postoperatif dönemde 5 rat bir arada olacak şekilde bir kafese yerleştirildi. Isı ve nem oranı sabit bir odada yem ile beslenerek çevresel etkenler açısından standardize edildi. Her grubun 7. gün sonunda anestezi işlemi ardından yanık alanları tam kat eksize edildi. Alınan örnekler iki eşit parçaya ayrılarak bir parçası histopatolojik değerlendirme amaçlı %10'luk formol ile muamele edildi. Diğer parça ise biyokimyasal analize tabi tutulmak üzere alınır alınmaz soğuk %0,9 NaCl ile yıkandıktan sonra ependorf tüplere konuldu ve analize kadar -80°de muhafaza edildi. Ayrıca sağlam cilt dokusundan da tam kat eksizyonla örnek alınarak bir kısmı histopatolojik değerlendirme için %10'luk formol ile muamele edildi. Diğer kısım ise sağlam dokuda hidroksprolin düzeyi ölçümü için biyokimyasal analize tabi tutulmak üzere alınır alınmaz soğuk %0,9 NaCl ile yıkandıktan sonra ependorf tüplere konuldu ve analize kadar -80°de muhafaza edildi. Örnekler alındıktan sonra ratlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

3.3. Değerlendirme Yöntemleri

3.3.1. Yanık Ciltte İyileşen Alanın Ölçümü (Fotoanaliz)

Yanık cilt adası oluşturulduktan sonra ve sonraki 7 gün boyunca yanık cilt alanının yanına milimetrik cetvel konularak, ratlara eter koklatılmasını takiben ratların dijital fotoğraf makinesi (Canon EOS 60D Body Dijital SLR 18 megapiksel) ile fotoğrafları çekilerek yanık yara alanlarının günlük takipleri yapıldı (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Grup 2'den bir ratın yanık yara alanlarının günlük iyileşme görüntüleri

Yanık ciltte iyileşen alanın ölçülmesi için Image J Software (NIH, Bethesda, Maryland, US) programı kullanıldı. Her fotoğrafa konan milimetrik cetvel yardımı ile alan ölçümü için kalibrasyon yapıldı ve alanlar milimetre kare olarak hesaplandı. Gruplardaki her ratın yanık oluşturulduktan sonraki 1. gün ve 7. gün yanık cilt adasının etrafı hassas bilgisayar faresi yardımı ile çizilerek alan ölçümü yapıldı (Şekil 3.12). Her ratın 1. ve 7. gün yanık cilt adası alan ölçümleri arasındaki fark iyileşen alan olarak hesaplandı. Her grup için ayrı ayrı hesaplanan iyileşme alanları ortalaması karşılaştırıldı.



Şekil 3.12: Image J Software programı ile yanık yara iyileşme alanı ölçümü

3.3.2. Biyokimyasal Değerlendirme

Hidroksiprolin Düzeyi Ölçümü

Kullanılan Kimyasallar

Kloramin-T (ABCR GmbH Co. KG, Germany), L-hidroksiprolin (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA), p-dimetilaminobenzaldehid, sodyum asetat, asetik asit, perklorik asit, n-propanol, sodyum hidroksit, asetik asit (Merck Chemical, KGaA, Germany) ticari firmalardan temin edildi. Tüm kimyasallar analitik saflıktaydı.

Reaktiflerin Hazırlanması

Hidroksiprolin Stok Solüsyonu

1mg/1mL hidroksiprolin içeren solüsyon distile su ile hazırlandı.

Asetat-sitrat Tamponu

120 g sodyum asetat trihidrat, 46 g sitrik asit, 12 mL asetik asit ve 34 g sodyum hidroksit distile suda çözüldü. pH'sı 6.5'a getirilen çözeltinin son hacmi 1 L'ye tamamlandı.

Kloramin-T reaktifi

1.27 g kloramin-T 20 mL %50 lik n-propranol içinde çözüldü. Son hacim asetat-sitrat tamponu ile 100 mL'ye tamamlandı.

Ehrlich Reaktifi (1M)

15 g p-dimetilaminobenzaldehid n-propranol/perklorik asit (2:1 v/v) içinde çözüldü ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı. Reaktif stabil olmadığından, çalışma öncesi taze olarak hazırlandı.

Örnek Hazırlama

Deney günü, dokular çıkarıldıktan sonra izotonik NaCl çözeltisi ile yıkandı ve analiz süresine kadar -80°C'de işaretlenmiş ependorf tüplerde saklandı. Doku örneklerinin hidroksiprolin düzeyleri Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında Reddy ve Enwemeka'nın tanımladığı metoda göre kör olarak saptandı (Reddy ve Enwemeka, 1996). Analiz öncesinde dokular tartıldı ve ağırlıkları kaydedildi. Polipropilen tüplere alınan deri dokularına, 1g yaş doku başına 5 mL 2N NaOH ilave edildi. Örnekler 120 °C'de 1 saat otoklavlanarak hidrolize edildi.

Yöntem Prosedürü

Öncelikle, hidroksiprolin standartları, farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 µg/mL) 2N NaOH ile hazırlandı. Deri örnekleri ile birlikte 120 °C'de 1 saat otoklava konuldu. Standartlar ve hidrolize edilen örneklerden 50 µL işaretli polipropilen tüplere konuldu. Üzerlerine, 450 µL kloramin-T reaktifi eklendi. Oda sıcaklığında 25 dakika süreyle oksidasyon işlemi yapıldı. Okside edilen örneklerin üzerine 500 µL Ehrlich reaktifi eklenerek, 65 °C'de 20 dakika inkubasyon ile renkli bileşik oluşumu sağlandı. Her bir örneğin absorbansı Shimatzu (Japonya) spektrofotometresi kullanılarak 550 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Hidroksiprolin konsantrasyonu standart L-hidroksiprolin solüsyonunun grafiği yardımıyla hesaplandı. Sonuçlar µg/g yaş doku olarak kaydedildi.

3.3.3. Histopatolojik Ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Gruplardan elde edilen örnekler %10'luk formolün içinde 24 saat tespit edildi.

Distile su ile yıkanan örnekler, derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidratasyonu takiben, ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulanarak parafine gömüldü.

Bloklardan alınan 5 µm kalınlıktaki kesitler histopatolojik değerlendirme için, 1 gece 60° etüvde ve ksilende deparafinize edildikten sonra, rehidratasyon işlemi uygulanarak Hematoksilen-Eozin (Surgipath, 01562E, 01602E, Peterborough, UK) ile boyandı.

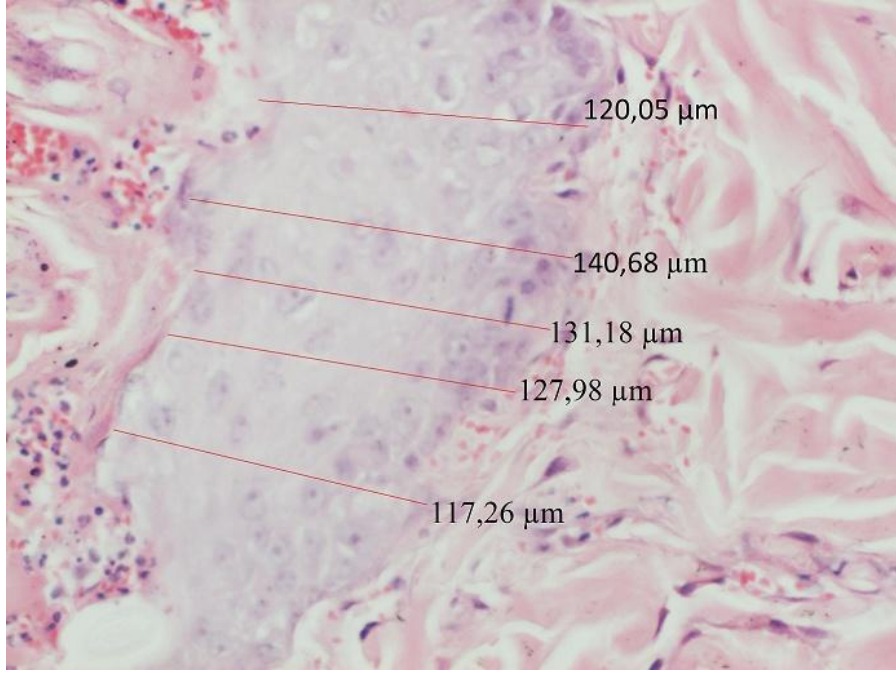
Aynı dokulardan yapılan ek kesitler avidin-biyotin peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal boyama için hazırlandı. İmmunohistokimyasal yöntemle boyanacak preparatlar 60°C' lik etüvde 1 gece bekletilip, 1 saat ksilende bırakıldıktan sonra deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Kesitler derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek distile su aşamasına getirildi. Kesitler önce dako pen ile çevrelenerek havuzcuklar oluşturuldu ve tripsinize edilerek PBS (Fosfat tampon Solüsyonu) ile yıkanan dokulara, dokuda bulunan peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için %3'lük hidrojen peroksidaz uygulandı. PBS ile yıkanan kesitler 1 saat "non-immun blocking" solüsyonunda tutulduktan sonra Tip-III Kollajen primer antikoru (Abcam, ab23746, UK) ile (1/300 dilüsyonlarında) 1 saat + 37°C'de inkübe edildi. Sekonder kit olarak avidin-biotin-peroksidaz sistemi kullanıldı (HRP, Thermo Scientific, UK). PBS ile yıkanan kesitler biotinle işaretlenmiş hidrojen peroksidaz sekonder antikoru ile 30 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkanan kesitlere 30 dakika streptavidin uygulandı. İmmunoreaktivitenin görünür hale gelebilmesi için AEC Substrate System'e (Thermo Scientific, UK) uygulanan kesitler, Mayer's hematoksilen ile art alan boyaması yapılarak kapatma mediumu ile kapatıldı.

Histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle boyanan kesitler, Olympus BX40 marka ışık mikroskobu altında incelendi.

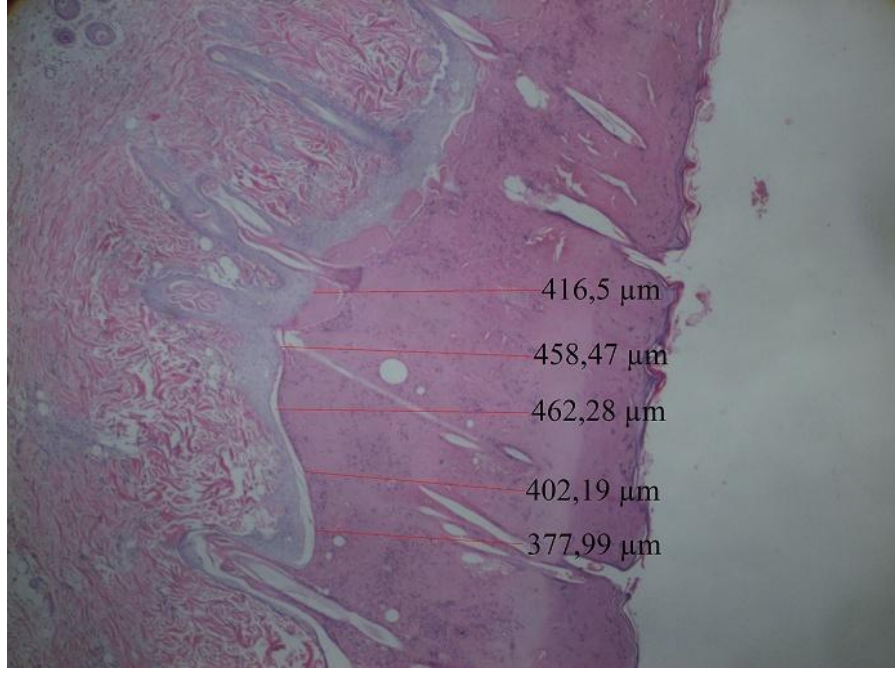
Kontrol ve çalışma grubundan elde edilen kesitlerde yanık sonucu oluşan tabakalar görüldü:

- 1- Koagulasyon zonu
- 2- Staz zonu
- 3- Hiperemi zonu

Bu tabakalardan staz zonu ve deri eklerinden oluşan epitel kalınlığı ölçüldü. Ölçüm işlemi Image Analysing System (BAB Bs200proP) ile yapıldı. Her örnek için beş ayrı yerden ölçüm yapılarak ortalamaları alındı (Şekil 3.13, 3.14).



Şekil 3.13: Image Analysing System ile epitelium kalınlığının beş ayrı yerden mikrometre cinsinden ölçümü (H&Ex20)



Şekil 3.14: Image Analysing System ile staz zonu kalınlığının beş ayrı yerden mikrometre cinsinden ölçümü (H&E \times 4)

Değerler μ cinsinden kaydedildi. Ayrıca damar sayısı (vasküler proliferasyon), ödem, konjesyon, bağ doku artışı(fibrozis) ve inflamatuvar hücre sayısı incelendi ve negatif, + (minimal), ++ (orta) veya +++ (şiddetli) olarak skorlandı.

İmmunohistokimya boyanma şiddetleri yarı-kantitatif olarak değerlendirilerek Tip III kollajen boyanma şiddeti: , + (minimal), ++ (orta) veya +++ (şiddetli) olarak belirlendi.

3.3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Sürekli yapıda bulunan verilerin normal dağılıma uygunluğu $n < 50$ olduğundan dolayı Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Kategorik yapıdaki veriler için tanımlayıcı istatistik olarak sayı (N) ve yüzde değerleri (%) hesaplanmış olup sürekli yapıdaki veriler için ise ortalama, standart sapma, minimum, maksimum ve medyan değerleri verilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında normal dağılıma sahip olan değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmış ve normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için ise Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık olarak $p < 0,05$ alınmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics 20,0 paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Deneysel çalışma sırasında Grup 3'teki iki rat pinealektomi sonrası 24 saat içinde bilinmeyen nedenden dolayı öldü ve çalışmadan çıkarıldı.

Tablo 4.1. Grupların Frekans Dağılımı

| Gruplar | Rat Sayısı | Yüzde |
|------------------|------------|--------------|
| Grup 1 (Kontrol) | 10 | 26,3 |
| Grup 2 (EM) | 10 | 26,3 |
| Grup 3 (Px) | 8 | 21,1 |
| Grup 4 (EM+Px) | 10 | 26,3 |
| Toplam | 38 | 100,0 |

Araştırmaya dahil edilen ratların %26,3'ü Grup 1 (Kontrol)'de iken %26,3'ü Grup 2 (EM)'de grubunda, %21,1'i Grup 3 (Px)'te ve %26,3'ü ise Grup 4 (EM+Px)'tedir.

Tablo 4.2. Bulgular İçin Tanımlayıcı Bilgiler

| | N | Minimum | Maksimum | Ortalama | Std. Sapma |
|--|----|-----------|----------|----------|------------|
| Hidroksiprolin ($\mu\text{g/g}$ doku) | 37 | 1016,10 | 7083,60 | 2684,95 | 1351,350 |
| Fotoanaliz (mm^2) | 38 | -16733,00 | 95978,00 | 22542,45 | 22256,323 |
| Staz Zonu (mikron) | 38 | 340,80 | 960,40 | 579,87 | 141,746 |
| Epitelizasyon (mikron) | 38 | 301,00 | 1251,80 | 609,24 | 181,503 |
| Tip 3 Kollajen Skoru | 38 | 1,00 | 2,00 | 1,34 | 0,481 |
| Ödem Skoru | 38 | 2,00 | 3,00 | 2,08 | 0,273 |
| Konjesyon Skoru | 38 | 1,00 | 3,00 | 2,37 | 0,541 |
| İltihabi İnfiltrasyon Skoru | 38 | 1,00 | 3,00 | 2,45 | 0,555 |
| Vasküler Proliferasyon Skoru | 38 | 2,00 | 3,00 | 2,37 | 0,489 |
| Fibrozis Skoru | 38 | 1,00 | 3,00 | 2,13 | 0,475 |

Tablo 4.3. Bulguların Dağılım Özelliklerine İlişkin Değerler

| | Shapiro-Wilk Değerleri | p |
|-------------------------------------|-------------------------------|---------------|
| Hidroksiprolin (µg/g doku) | 0,863 | 0,000* |
| Fotoanaliz (mm²) | 0,895 | 0,002* |
| Staz Zonu (mikron) | 0,943 | 0,056 |
| Epitelizasyon (mikron) | 0,868 | 0,000* |
| Tip 3 Kollajen Skoru | 0,591 | 0,000* |
| Ödem Skoru | 0,307 | 0,000* |
| Konjesyon Skoru | 0,701 | 0,000* |
| İltihabi İnfiltrasyon Skoru | 0,709 | 0,000* |
| Vasküler Proliferasyon Skoru | 0,605 | 0,000* |
| Fibrozis Skoru | 0,649 | 0,000* |

Staz Zonu değişkeninin dağılımı normaldir ($p>0,05$). Bunun haricindeki tüm değişkenlerin dağılımı normal dağılıma uymamaktadır ($p<0,05$).

4.1. Fotoanaliz Bulguları

Tablo 4.4. Fotoanaliz Ölçümleri Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan | Kruskal | p | Fark |
|--|-----------------------------------|----------|-----------------|-------------------------------------|----------------|----------|-------------|
| | | | a | (Min-Max) | Wallis | | |
| Fotoanaliz (mm²) | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 31124,40 | 29916,5 (-16733,00- 66976,00) | 5,625 | 0,131 | - |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 13822,80 | 11145 (1806,00- 37021,00) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 33219,00 | 29589,5 (236,00- 95978,00) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 14138,90 | 10157 (2715,00- 34079,00) | | | |

Image J Software programı ile ölçülen grupların iyileşen alan ortalamalarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Kruskal-Wallis:5,625, p:0,131).

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.5. Hidroksiprolin Düzeyleri Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|-----------------------------------|-------------------------|----|----------|------------------------------|----------------|-------|------|
| Hidroksiprolin (µg/g doku) | Grup 1 (Kontrol) | 9 | 2933,89 | 1866,1 (1102,50-7083,60) | 1,804 | 0,614 | - |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 2742,76 | 2669,25 (1343,60-4078,70) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 2204,65 | 2481,55 (1016,10-2808,40) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 2787,33 | 2370,3 (1821,10-4537,20) | | | |

Hidroksiprolin düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Kruskal-Wallis:1,804, p:0,614).

Tablo 4.6. Gruplardaki Hidroksiprolin Düzeylerinin Sağlam Doku Düzeyi ile Karşılaştırılması

| | Gruplar | N | p |
|-----------------------------------|-----------------------|----|---------------|
| Hidroksiprolin (µg/g doku) | Kontrol Grubu | 9 | 0,004* |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 0,002* |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 0,008* |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 0,002* |

Uygulanan işaret testi sonucunda sağlam dokudaki hidroksiprolin düzeyi ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p<0,05).

Uygulanan işaret testi sonucunda sağlam dokudaki hidroksiprolin düzeyi ile Grup 2 (EM) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p<0,05).

Uygulanan işaret testi sonucunda sağlam dokudaki hidroksiprolin düzeyi ile Grup 3 (Px) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p<0,05).

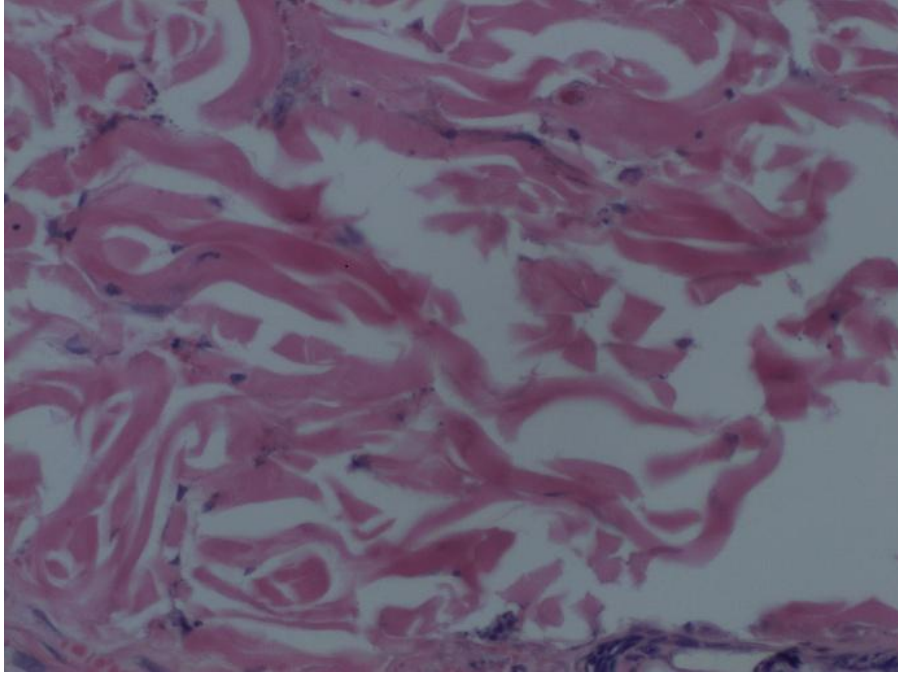
Uygulanan işaret testi sonucunda sağlam dokudaki hidroksiprolin düzeyi ile Grup 4 (EM+Px) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p<0,05).

4.3. Histopatolojik Bulgular

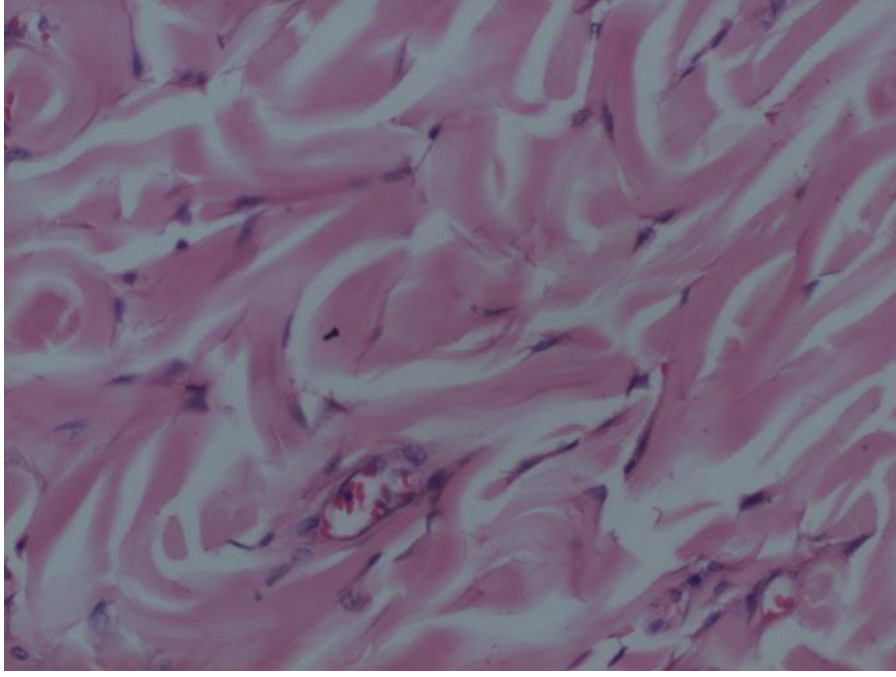
Tablo 4.7. Ödem Skorlaması Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|------------|------------------|----|----------|------------------|----------------|---------|---------|
| Ödem Skoru | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 2,00 | 2,0000 (2-2) | 8,880 | 0,031 * | 1,3,4-2 |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 2,30 | 2,0000 (2-3) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 2,00 | 2,0000 (2-2) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 2,00 | 2,0000 (2-2) | | | |

Ödem skorlamasına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (Kruskal-Wallis:8,880, p:0,031). Grup 2 (EM)'nin ortalaması diğer tüm grupların (Grup 1 (Kontrol), Grup 3 (Px) ve Grup 4 (EM+Px)) ortalamalarından anlamlı derecede daha büyüktür (Şekil 4.1, 4.2).



Şekil 4.1: Grup 2 (EM)'de ödem belirgin düzeyde fazladır (H&Ex20)

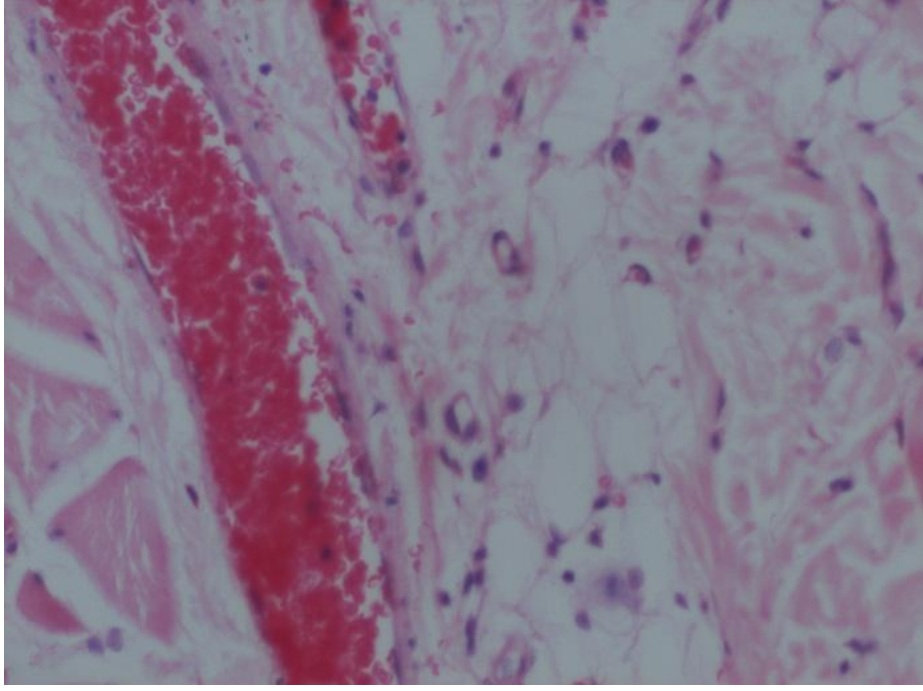


Şekil 4.2 : Grup 3 (Px)'deki ödemin Grup 2 (EM)'ye göre daha az olduğu görülmektedir (H&Ex20)

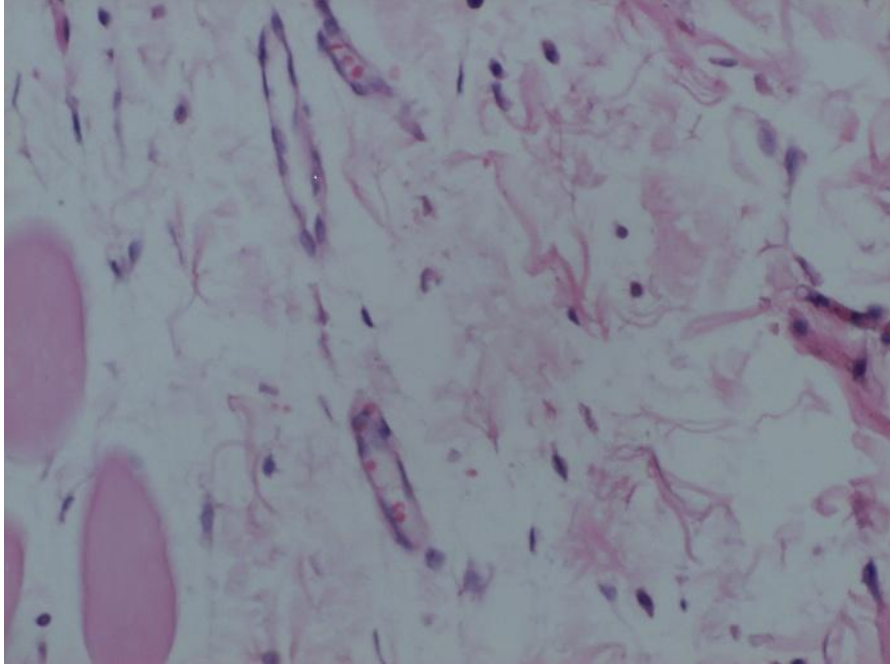
Tablo 4.8. Konjesyon Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|------------------------|-------------------------|----|----------|------------------|----------------|---------------|------------|
| Konjesyon Skoru | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 2,70 | 3,0000 (2-3) | 8,180 | 0,042* | 1-4 |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 2,40 | 2,0000 (2-3) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 2,38 | 2,0000 (2-3) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 2,00 | 2,0000 (1-3) | | | |

Konjesyon Skoru sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (Kruskal-Wallis:8,880, p:0,031). Grup 1 (Kontrol)'in ortalaması Grup 4 (EM+Px)'ün ortalamasından anlamlı derecede daha büyüktür (Şekil 4.3, 4.4).



Şekil 4.3 :Grup 1 (Kontrol)'de konjesyonun fazla olduğu dikkati çekmektedir (H&Ex20)



Şekil 4.4 : Grup 4 (Px+EM)'te konjesyonun Grup 1 (Kontrol)'e göre daha az olduğu görülmektedir (H&Ex20)

Tablo 4.9. İltihabi İnfiltrasyon Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|------------------------------------|-------------------------|----|----------|------------------|----------------|-------|------|
| İltihabi İnfiltrasyon Skoru | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 2,40 | 2,0000 (2-3) | 0,267 | 0,966 | - |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 2,50 | 2,5000 (2-3) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 2,38 | 2,5000 (1-3) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 2,50 | 2,5000 (2-3) | | | |

İltihabi İnfiltrasyon Skorlamasına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Kruskal-Wallis:0,267, p:0,966).

Tablo 4.10. Vasküler Proliferasyon Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

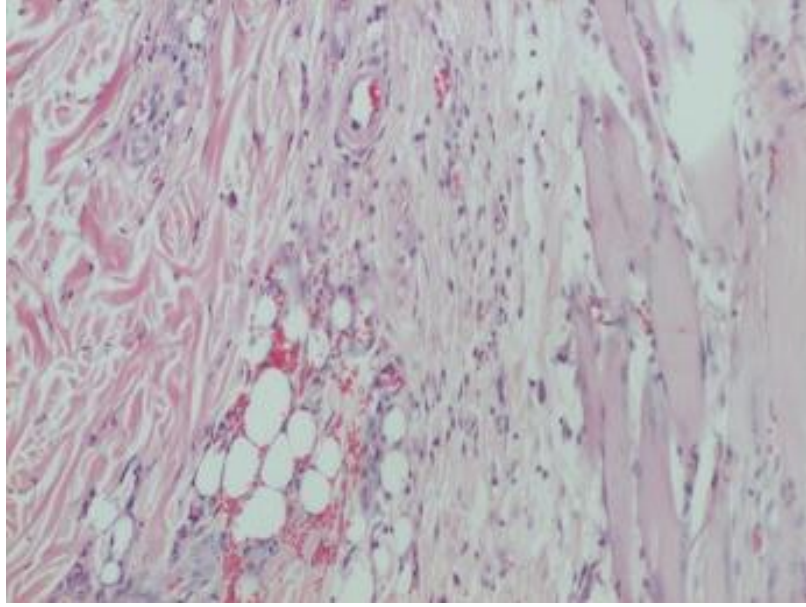
| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|-------------------------------------|-------------------------|----|----------|------------------|----------------|-------|------|
| Vasküler Proliferasyon Skoru | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 2,50 | 2,5000 (2-3) | 3,628 | 0,304 | - |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 2,50 | 2,5000 (2-3) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 2,13 | 2,0000 (2-3) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 2,30 | 2,0000 (2-3) | | | |

Vasküler Proliferasyon Skorlamasına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Kruskal-Wallis:3,628, p:0,304).

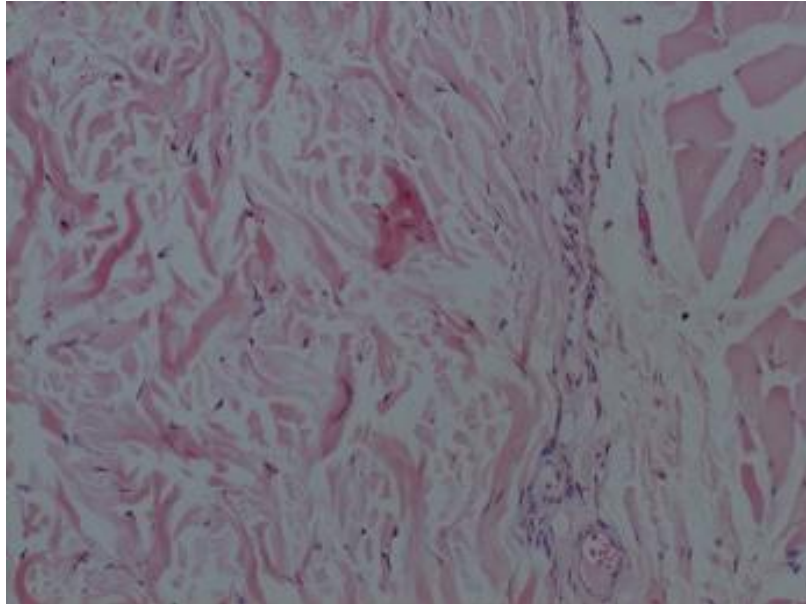
Tablo 4.11. Fibrozis Skoru Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|-----------------------|-------------------------|----|----------|------------------|----------------|--------|-------|
| Fibrozis Skoru | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 2,20 | 2,0000 (2-3) | 11,142 | 0,011* | 2-3,4 |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 2,50 | 2,5000 (2-3) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 1,88 | 2,0000 (1-2) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 1,90 | 2,0000 (1-2) | | | |

Fibrozis Skorlamasına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (Kruskal-Wallis:11,142, p:0,011). Grup 2 (EM)'nin ortalaması Grup 3 (Px) ve Grup 4 (EM+Px)'ün ortalamasından anlamlı derecede daha büyüktür. (Şekil 4.5, 4.6)



Şekil 4.5: Grup 2 (EM)'de belirgin bağ doku artışı (fibrozis) görüntüsü (H&Ex10)



Şekil 4.6 : Grup 3 (Px)'teki fibrozisin Grup 2 (Px)'ye göre daha az olduğu görülmektedir (H&Ex10)

4.4. Histomorfometrik Bulgular

Tablo 4.12. Epitelizasyon Ölçümleri Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

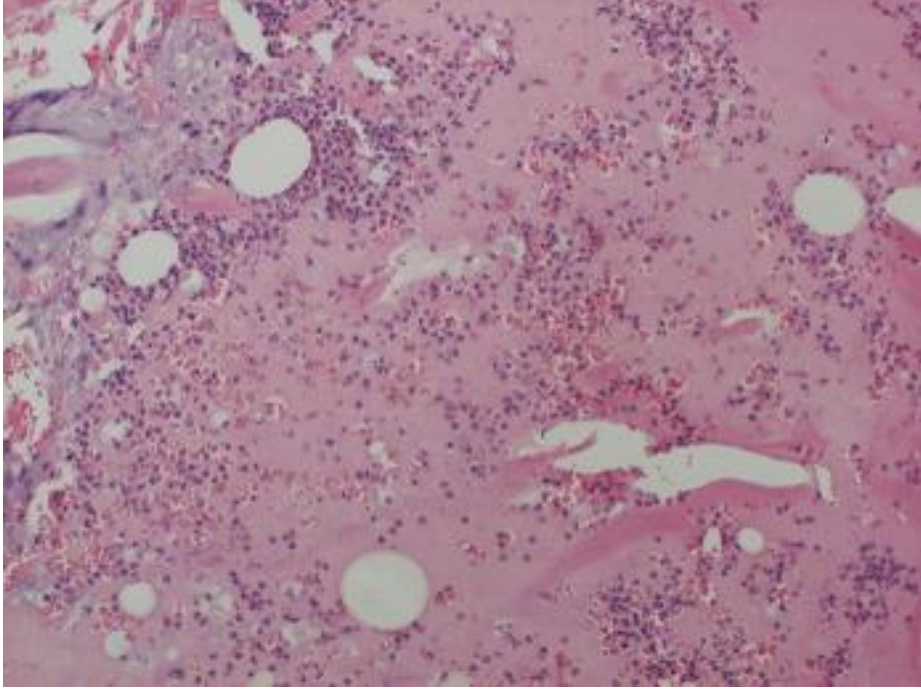
| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|------------------------|------------------|----|----------|------------------------------|----------------|-------|------|
| Epitelizasyon (mikron) | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 619,44 | 613,1000 (466,60-1080,20) | 0,500 | 0,919 | - |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 655,12 | 614,8000 (301,00-1251,80) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 569,95 | 570,0000 (308,00-784,40) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 584,58 | 585,0000 (316,40-813,00) | | | |

Image Analysing System (BAB Bs200proP) ile ölçülen epitelizasyon kalınlığına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Kruskal-Wallis:0,500, p:0,919).

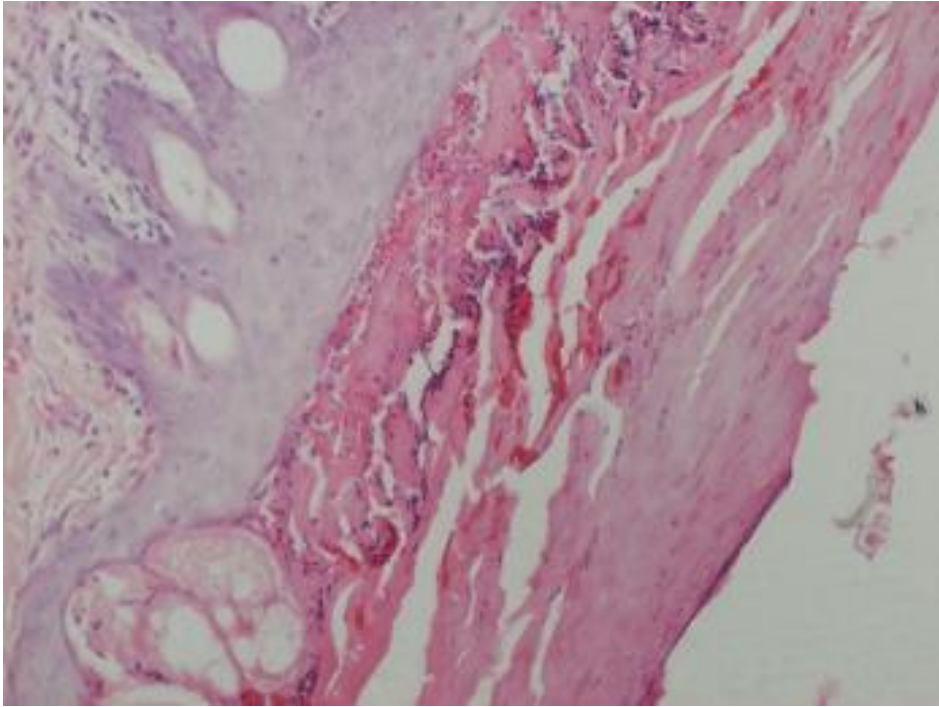
Tablo 4.13. Staz Zonu Kalınlıklarının Ortalaması Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (ANOVA)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | F | p | Fark |
|------------------------------|------------------|----|----------|--------------------------|-------|------------|-------|
| Staz Zonu Kalınlığı (mikron) | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 522,54 | 531,2 (345,40-722,40) | 4,522 | 0,009 * | 1,2-4 |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 521,30 | 510 (340,80-903,40) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 574,45 | 590,8 (463,20-673,40) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 700,12 | 684,6 (493,00-960,40) | | | |

Image Analysing System (BAB Bs200proP) ile ölçülen staz zonu kalınlıklarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (F:4,522, p:0,009). Grup 4 (EM+Px)'ün ortalaması Grup 1 (Kontrol) ve Grup 2 (EM) ortalamalarından anlamlı derecede daha büyüktür. (Şekil 4.7, 4.8).



Şekil 4.7: Grup 4 (EM+Px)'e ait staz zonu kalınlığının Grup 1(Kontrol grubu)'e göre daha fazla olduğu görülmektedir (H&Ex10)



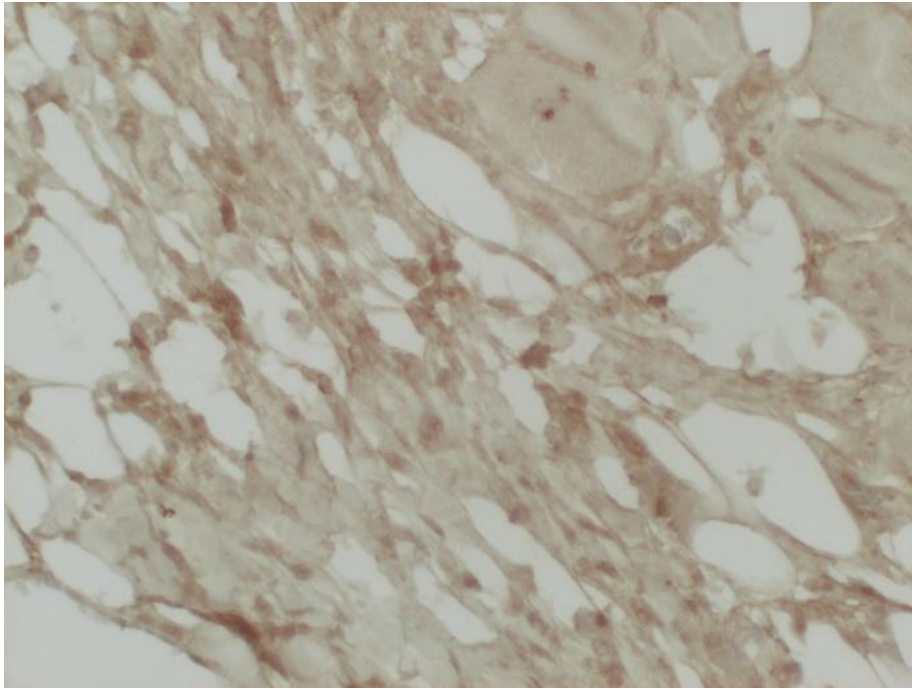
Şekil 4.8: Grup 1 (Kontrol grubu)'e ait staz zonu kalınlığının Grup 4 (EM+Px)'e göre daha ince olduğu görülmektedir (H&Ex10)

4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular

Tablo 4.14. Tip 3 Kollajen Boyanma Skorlaması Açısından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi (Kruskal-Wallis Testi)

| | Grup | N | Ortalama | Medyan (Min-Max) | Kruskal Wallis | p | Fark |
|-----------------------|-------------------------|----|----------|------------------|----------------|-------------------|------------|
| Tip 3 Kollajen | Grup 1 (Kontrol) | 10 | 1,20 | 1,0000 (1-2) | 8,880 | 0,031 * | 2-3 |
| | Grup 2 (EM) | 10 | 1,60 | 2,0000 (1-2) | | | |
| | Grup 3 (Px) | 8 | 1,00 | 1,0000 (1-1) | | | |
| | Grup 4 (EM+Px) | 10 | 1,50 | 1,5000 (1-2) | | | |

Tip 3 Kollajen boyanma skorlamasına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (Kruskal-Wallis:8,880, p:0,031). Grup 2 (EM)'nin ortalaması Grup 3 (Px)'ün ortalamasından anlamlı derecede daha büyüktür (Şekil 4.9, 4.10).



Şekil 4.9 : Grup 2 (EM)'e ait Tip 3 kollajen boyanmanın immunohistokimyasal görüntüsü (H&Ex20)



Şekil 4.10: Grup 3 (Px)'deki Tip 3 kollajen boyanmanın Grup 2 (EM)'e göre daha zayıf olduğu görülmektedir (H&Ex20)

5. TARTIŞMA

Yanık, tüm dünyada insanoğlunun karşılaşılabileceği en önemli fiziksel ve psikolojik travmalardan birisidir. Yanığa bağlı oluşan morbidite ve mortalite önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Yanık, hasta için oldukça ağrı verici olması, patolojik ve metabolik hasarla sistemik etkisinin olmasının yanı sıra kronik olarak da ileride oluşabilecek skarlar, kontraktürler ve yanık zemininden gelişebilecek cilt tümörleri gibi neden olduğu komplikasyonlarla da ciddi sorun oluşturmaktadır. Bütün bu nedenlerden dolayı tedavi multidisipliner olmalıdır.

Yanık yarasının derinliği ve genişliği tedavi yöntemini, mortalite ve morbiditeyi belirleme açısından çok önemlidir. Çünkü derin ve geniş yanıklar, gecikmiş yara iyileşmesi, hipertrofik skar, dispigmentasyon, kontraktür, enfeksiyon ve şokla sonuçlanabilir (Shupp ve ark., 2010). Sadece epidermisi içeren yüzeysel yanık olan 1. derece yanıklarda ve papiller dermise ulaşan, kısmi kalınlıkta yüzeysel yanık olarak da adlandırılan 2. derece yüzeysel yanıklarda genellikle skarsız iyileşme görülmekte iken, retiküler dermise uzanan 2. derece derin yanıklarda (kısmi kalınlıkta derin yanık) ise retiküler dermisteki deri eklerinin hasarına bağlı iyileşmede problem görülmektedir. Çünkü reepitelizasyonu sağlayan keratinosit rezervuarı retiküler dermisteki deri eklerinde lokalizedir (Shupp ve ark., 2010). Dolayısı ile 2. derece derin yanıklar uygun tedavi yöntemi ile tedavi edilmezse doku hasarında progresyona bağlı yanığın tam kat yanık halini alması sonucu hipertrofik skar ve kontraktürlere hatta cerrahi eksizyon ve greftle onarım gerektiren sonuçlara yol açmaktadır. Bu durum ise ciddi fizyolojik ve kozmetik sorunlar doğurmaktadır.

Yanıkta doku hasarının progresyonunda 24-48 saat içinde hücre ölümü ile sonuçlanan ilerleyici dermal iskemiye bağlı gecikmiş hasar rol almaktadır (Çetinkale, 2005). Termal travmaya bağlı geri dönüşümsüz hasarın olduğu koagülasyon zonunu çevreleyen, iskemik alandan oluşan staz zonu, yanık yarasının progresyonunda önemli rol almaktadır (Eski ve ark., 2012; Nisanci ve ark., 2010). Kurtarılabilir alan olarak görülen staz zonundaki destrüksiyon yanık oluştuktan sonraki iki hafta içinde perfüzyonun sağlandığı iyi bir tedavi ile durdurulabilmektedir. Staz zonunun retiküler dermisteki perfüzyonunun azalmasında ve yanık derinliğinin progresyonunda, iltihabi infiltrasyon ve bunun sonucunda oluşan serbest oksijen radikallerinin büyük etkisi vardır (Rizzo ve ark., 2013; Shupp ve ark., 2010; Singh ve ark., 2007). Yanık oluştuktan sonra uzamış

inflatuar yanıtta nötrofillerin stimulasyonu sonucu serbest oksijen radikallerinin aşırı üretilmesiyle doku hasarında progresyon görülür. Ve bu yıkıcı etki kısmi kalınlıktaki yanığın tam kat yanık halini almasına yol açar (Singh ve ark., 2007). Oksidatif hasarın derecesi oksidan-antioksidan sistem arasındaki dengeye bağlıdır. Serbest oksijen radikallerinin yanık yarasındaki progresse etkisini önlemek için antioksidanlara yönelik deneysel çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada N-asetilsisteinin (NAC) staz zonunda nekrozu önlemedeki etkisi araştırılmış ve NAC tedavisi uygulananlarda kontrol grubuna göre staz zonundaki nekrozun oldukça az olduğu görülmüştür. NAC'ın antioksidan etkisini göstermek için dokuda ölçülen malondialdehit seviyelerinde ise tedavi edilen gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı fark görülmemiştir (Deniz ve ark., 2013). Zor ve ark.(2005) glutasyonun staz zonu üzerinde kurtarıcı etkisi olduğunu, nükleer görüntüleme ve otoradyografi ile göstermişlerdir. Başka bir çalışmada, Kurkumin'in (zerdeçalın etken maddesi) rat comb yanık modelinde yanık hasarındaki progresyonda azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (Singer ve ark., 2011). Matsuda ve ark.(1992) ise yüksek doz vitamin C tedavisinin domuz yanık modelinde yanık yarasında ödemi azalttığını rapor etmişlerdir. Yine yapılan bir çalışmada antioksidan olan süperoksit dismutazın yanıklı ratta staz zonunun kurtarılmasında etkisi olduğu gösterilmiştir (Shalom ve ark., 2011).

Başlıca pineal bezden salınan, fizyolojik olarak güçlü serbest radikal temizleyicisi olan melatonin de üzerinde araştırmaların yapıldığı bir diğer antioksidandır. Serbest radikallere karşı direkt etkisinin yanı sıra glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve nitrik oksit sentetaz (NOS) gibi enzimlerin aktivitesini artırarak da antioksidan savunma sisteminde yer almaktadır (Fujimoto ve ark., 2000). İçinde melatoninin de yer aldığı antioksidanlarla ilgili bir çalışmada yanıklı hastalarda antioksidanların yara enfeksiyonunun insidansını ve mortaliteyi azalttığı, yara iyileşme süresini kısalttığı gösterilmiştir (Sahib ve ark., 2010).

Literatürde melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisini inceleyen çalışmalar oldukça azdır. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda melatoninin yara iyileşmesine etkisi incelenmiştir. Drobnik ve ark.(1999) melatoninin sağlam cilt kollajen içeriği üzerindeki etkisini araştırmışlar ve melatonin uygulanan ratlarda cilt kollajen miktarının azaldığını rapor etmişlerdir. Yine yaptıkları başka bir çalışmada ratların sırtında oluşturdukları yaralarda doza bağlı olarak melatonin uygulamalarının kollajen miktarında azalmaya neden olduğunu, pinealektomi yapılan ratlarda ise artmaya neden olduğunu göstermişlerdir

(Drobnik ve Dabrowski, 1996). Bülbüller ve ark.(2005), eksojen melatoninin kollajen sentezini ve epitel proliferasyonunu azaltarak yara iyileşmesinde negatif etkisi olduğunu göstermişlerdir. Bu bulguların aksine melatoninin yara iyileşmesine olumlu etkisine dair çalışmalar da mevcuttur. Bir deneysel çalışmada melatoninin indüklenabilir nitrik oksit sentaz enziminin miktarını azalttığı, anjiogenez ve kollajen sentezini artırdığı, skar formasyonunun kalitesini artırarak yara iyileşmesini hızlandığı gösterilmiştir (Pugazhenti ve ark., 2008). Weichselbaum ve ark.(1975), yara iyileşmesinin pinealektomize ratlarda kontrol grubuna göre daha yavaş olduğunu, melatonin grubunda ise daha hızlı olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada ise melatoninin yara iyileşmesi üzerine olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisi bulunamamıştır (Basak ve ark., 2003).

Melatoninin bazal salınımında azalmayı pinealektomi ile sağlamak çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir metottur (Ozler ve ark., 2010). Literatürde melatoninin bazal salınımının ve eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisini inceleyen bir çalışma henüz yoktur. Bu nedenle biz, çalışmamızda pinealektomi grubu ile melatoninin bazal salınımının yani endojen melatonin düzeyinin yanık yara iyileşmesine olan etkisini araştırdık. Eksojen melatoninin verildiği gruplar ile de eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesi üzerindeki etkisini inceledik. Çalışmamızda eksojen melatoninin uygulandığı pinealektomi grubunda staz zonu kalınlığı, kontrol grubu ve sadece eksojen melatonin uygulanan gruba göre anlamlı derecede daha büyüktür. Bu durum melatoninin staz zonunu azaltarak yanık yarasında progresyonu önlediğini göstermektedir. Kontrol grubu ve sadece eksojen melatonin verilen gruplar arasında staz zonu kalınlığı açısından anlamlı bir farklılığın olmaması ise bu etkinin eksojen melatondan ziyade endojen melatonin sayesinde olduğunu düşündürmektedir.

Bağ dokusunun ana molekülü kollajendir. Kollajen yapımı ECM'nin anjiogenezis ve doku şekillenmesi için uygun hale gelmesini sağlayan temel basamaktır (Ozler ve ark., 2010). Tip 3 kollajen granülasyon dokusunun erken döneminde artış gösteren ve erken yara iyileşme döneminde önemli etkisi olan kollajen tipidir. Yapılan çalışmalarda eksikliğinde yara dokusunda skar oluşumunun arttığı gösterilmiştir (Volk ve ark., 2011). Çalışmamızda Tip 3 kollajen düzeyi eksojen melatonin verilen grupta pinealektomi yapılan gruba göre anlamlı derecede yüksektir. Bu durum melatoninin yanık yarasında Tip 3 kollajen düzeyini artırarak hipertrofik skar ile iyileşme olasılığını azaltıcı yönde etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Yine buna paralel olarak eksojen melatonin verilen grupta

fibrozis düzeyi pinealektomi yapılan diğer iki gruba göre anlamlı derecede yüksektir. Pinealektomi grubu ile eksojen melatoninin uygulandığı pinealektomi grubu arasında bağ doku yani fibrozis düzeylerinin benzer olması eksojen melatoninin tek başına kollajen düzeyine etkisi olmadığını, asıl etkinin endojen melatonin sayesinde olduğunu göstermektedir. Yanık yarısında ödem gelişimi eksojen melatonin verilen grupta diğer gruplara oranla daha fazladır. Pinealektomi grubu ile eksojen melatoninin uygulandığı pinealektomi grubu arasında benzerlik olması tek başına eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisinin olmadığını göstermektedir. Kontrol grubuna göre eksojen melatonin verilen grupta ödem daha fazladır. Bu durum ödemin bir yan etki olarak eksojen melatonin verilen grupta ortaya çıktığını düşündürmektedir. Konjesyonun kontrol grubunda, eksojen melatonin verilen pinealektomi grubuna göre anlamlı derecede fazla olması, tek başına eksojen melatoninin konjesyon üzerine etkili olmadığını, melatoninin bazal salınımının yani endojen melatonin düzeyinin konjesyonda rol oynadığını destekler niteliktedir.

Yanık yara yüzey alan ölçümü, yapılan diğer ölçümlere göre daha makroskobik bir değerlendirmedir. İyileşme dönemindeki ana hedef kontraksiyon ve ekstraselüler matriks sentezi ile yanık yara alanını küçültmektir. Klinik olarak iyileşme, yara yüzey alanındaki kontraksiyona göre değerlendirilmektedir. Epitelizasyonun tamamen oluşması ile yara iyileşmesinin önemli bir bölümü tamamlanmış olur (Ozler ve ark., 2010). Çalışmamızda yanık yarısında iyileşen alan ortalamaları açısından kontrol grubu, pinealektomi yapılan gruplar ve eksojen melatonin verilen grup arasında anlamlı bir fark yoktur. Buna paralel olarak epitelizasyon kalınlıkları açısından da gruplar arasında benzerlik olması melatoninin makroskobik olarak etkisinin değerlendirilmesi için yanık yara iyileşmesinin geç bulgularını gösteren daha uzun periyotlu bir çalışmanın yapılmasının gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda vasküler proliferasyon, iltihabi infiltrasyon açısından kontrol grubu, pinealektomi yapılan gruplar ve eksojen melatonin verilen grup arasında anlamlı bir fark yoktur. Yine benzer şekilde hidroksiprolin düzeyi açısından da gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Dermisteki tüm kollajenlere ait hidroksiprolin düzeyi tespit edildiğinden bu değer Tip 3 kollajenden daha az değerli olduğu düşünülmüştür. Gruplardaki hidroksiprolin düzeylerinin sağlam cilt dokusundan anlamlı derecede düşük olmasının nedeni ise termal hasarın direkt etkisine bağlı oluşan protein denatürasyonu ve hücre ölümüdür.

Yanıkta doku destrüksiyonundaki progresyonu önlemeye yönelik çalışmalar halen devam etmektedir. Serbest oksijen radikallerinin yanık yara hasarının progresyonunda rol alması melatoninin yanık yara iyileşmesinde alternatif bir tedavi olabileceğini akla getirmektedir. Henüz melatoninin yanık yara tedavisinde kullanımı konusunda net çalışmalar yoktur. Yaptığımız bu çalışmaya göre, endojen melatonin düzeyinin, yanık yarasında progresyonu ve hipertrofik skarı önlemede önemli etkisinin olduğu ve tek başına eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisinin olmadığı söylenebilir. Bu durumun ise uygulanan eksojen melatoninin dozuna ve süresine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ya da eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisinin görülebilmesi için endojen melatonin düzeyinin belli seviyede olması gerekmektedir. Bu nedenle yüksek doz ve uzun periyotlu melatoninin uygulandığı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Endojen melatonin düzeyi staz zonu kurtarılmasında önemli rol oynamaktadır. Böylece yanık yaradaki progresyonu önleyerek kısmi kalınlıktaki yanığın tam kat yanık haline dönüşme ihtimalini azaltmaktadır.
- Melatonin yanık yara dokusundaki Tip 3 kollajen düzeyini arttırarak hipertrofik skarla iyileşme olasılığını azaltmaktadır.
- Melatonin yanık yarada fibrozisi arttırarak iyileşmede rol almaktadır. Bu rol endojen melatonine aittir.
- Melatonin yan etki olarak yanık yarada ödemi arttırmaktadır. Bu etki vücuttaki total melatonin düzeyine bağlıdır.
- Yanık yara iyileşmesinde endojen melatonin düzeyi önemlidir. Tek başına eksojen melatoninin yanık yara iyileşmesine etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Eksojen melatoninin etkisini gösterebilmesi için endojen melatonin düzeyinin belli seviyede olması gerekmektedir. Ya da eksojen melatonin dozu ve süresine bağlı olarak etkisi görülmemiş olabilmektedir.
- Bu nedenle yüksek doz ve uzun periyotlu melatonin uygulamasının yanık yara iyileşmesine etkisini inceleyen çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Melatoninin yanık yarada makroskobik olarak etkisinin değerlendirilmesi için yara iyileşmesinin geç bulgularını gösteren daha uzun periyotlu çalışmalar gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Acuna-Castroviejo D, Escames G, Macias M, Munoz Hoyos A, Molina Carballo A, Arauzo M, et al.: Cell protective role of melatonin in the brain. *J Pineal Res* 1995;19:57-63.
- Altun A, Vardar A, Altun BU: Melatonin and the cardiovascular system. *Anadolu Kardiyol Derg* 2001;1:283-288, AXVI.
- Atik B, Erkutlu I, Tercan M, Buyukhatipoglu H, Bekerecioglu M, Pence S: The effects of exogenous melatonin on peripheral nerve regeneration and collagen formation in rats. *J Surg Res* 2011;166:330-336.
- Barret JP, Dziewulski P, Ramzy PI, Wolf SE, Desai MH, Herndon DN: Biobrane versus 1% silver sulfadiazine in second-degree pediatric burns. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:62-65.
- Basak PY, Agalar F, Gultekin F, Eroglu E, Altuntas I, Agalar C: The effect of thermal injury and melatonin on incisional wound healing. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2003;9:96-101.
- Bekyarova G, Tancheva S, Hristova M: The effects of melatonin on burn-induced inflammatory responses and coagulation disorders in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2010;32:299-303.
- Boutin J, Delagrangre P, Rettori M: Melatonin: Molecular pharmacology and therapeutic applications. *Medicographia* 2000;22:72-80.
- Brzezinski A: Melatonin in humans. *N Engl J Med* 1997;336:186-195.
- Bulbuler N, Dogru O, Yekeler H, Cetinkaya Z, Ilhan N, Kirkil C: Effect of melatonin on wound healing in normal and pinealectomized rats. *J Surg Res* 2005;123:3-7.
- Cagnacci A, Volpe A: Influence of melatonin and photoperiod on animal and human reproduction. *J Endocrinol Invest* 1996;19:382-411.
- Cardinali DP, Vacas MI: Cellular and molecular mechanisms controlling melatonin release by mammalian pineal glands. *Cell Mol Neurobiol* 1987;7:323-337.
- Carter EA, Udall JN, Kirkham SE, Walker WA: Thermal injury and gastrointestinal function. I. Small intestinal nutrient absorption and DNA synthesis. *J Burn Care Rehabil* 1986;7:469-474.
- Chung D, Robie, DK, Hernandez, A, Angel, C, Herndon, DN: Surgical management of complication of burn injury; in Herndon DN (ed): *Total burn care* London; New York, W.B. Saunders, 2002, pp 442-451.
- Cuono C: Skin replacements in severe burn injury: Biologic requirements and therapeutic approaches. *Prespect Plast Surg* 1988;2:123.
- Curreri P, Lutherman, A, : Burns; in Schwartz SI, Shires GT (eds): *Principles of surgery*. New York, McGraw-Hill, 1989, pp 285-304.
- Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D: Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001;53:135-159.
- Çetinkale O: Yanıklar; in Ertekin C, Taviloğlu K, Güloğlu R, Kurtoğlu M (eds): *Travma*. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005, pp 563-593.

- Deniz M, Borman H, Seyhan T, Haberal M: An effective antioxidant drug on prevention of the necrosis of zone of stasis: N-acetylcysteine. *Burns* 2013;39:320-325.
- Drobnik J, Dabrowski R: Melatonin suppresses the pinealectomy-induced elevation of collagen content in a wound. *Cytobios* 1996;85:51-58.
- Drobnik J, Dabrowski R: Pinealectomy-induced elevation of collagen content in the intact skin is suppressed by melatonin application. *Cytobios* 1999;100:49-55.
- Ekmekcioglu C: Melatonin receptors in humans: Biological role and clinical relevance. *Biomed Pharmacother* 2006;60:97-108.
- Eski M, Ozer F, Firat C, Alhan D, Arslan N, Senturk T, et al.: Cerium nitrate treatment prevents progressive tissue necrosis in the zone of stasis following burn. *Burns* 2012;38:283-289.
- Frank S, Hubner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S: Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 1995;270:12607-12613.
- Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, Takagi K: Potent protective effects of melatonin on experimental spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976)* 2000;25:769-775.
- Garcia-Avello A, Lorente JA, Cesar-Perez J, Garcia-Frade LJ, Alvarado R, Arevalo JM, et al.: Degree of hypercoagulability and hyperfibrinolysis is related to organ failure and prognosis after burn trauma. *Thromb Res* 1998;89:59-64.
- Greenhalgh DG: Wound healing; in Herndon DN (ed): *Total burn care* London; New York, W.B. Saunders, 2002, pp 523-529.
- Gurtner G: Wound healing: Normal and abnormal; in Thorne CH, Grabb WC, Smith JW, Robert W. Beasley MD (eds): *Grabb and Smith's plastic surgery*, 6e. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp 15-22.
- Hettiaratchy S, Dziewulski P: *ABC of burns: Pathophysiology and types of burns*. *BMJ* 2004;328:1427-1429.
- Hidalgo E, Dominguez C: Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity. *Toxicol In Vitro* 2001;15:271-276.
- Hoffman RA, Reiter RJ: Rapid pinealectomy in hamsters and other small rodents. *Anat Rec* 1965;153:19-21.
- Holmes JH, DM: Burns; in Schwartz SI, Brunnicardi F (eds): *Schwartz' principles of surgery: Self-assessment and board review*, eighth edition McGraw-Hill Companies, Incorporated, 2006, pp 189-221.
- Jackson DM: The diagnosis of the depth of burning. *Br J Surg* 1953;40:588-596.
- Johnson RM, Richard R: Partial-thickness burns: Identification and management. *Adv Skin Wound Care* 2003;16:178-187; quiz 188-179.
- Klatz R, Goldman R: *Stopping the clock: Dramatic breakthroughs in anti-aging and age reversal techniques*, ed 2nd ed. New York, Random House Publishing Group, 1997.
- Klein M: Thermal, chemical and electrical injuries.; in Thorne CH, Grabb WC, Smith JW, Robert W. Beasley MD (eds): *Grabb and Smith's plastic surgery*, 6e. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp 132-149.

- Kuszek J, Rodin M: A new technique of pinealectomy for adult rats. *Experientia* 1977;33:283-284.
- Laste G, de Macedo IC, Ripoll Rozisky J, Ribeiro da Silva F, Caumo W, Torres IL: Melatonin administration reduces inflammatory pain in rats. *J Pain Res* 2012;5:359-362.
- LeVoyer T, Cioffi WG, Jr., Pratt L, Shippee R, McManus WF, Mason AD, Jr., et al.: Alterations in intestinal permeability after thermal injury. *Arch Surg* 1992;127:26-29; discussion 29-30.
- Lochner A, Huisamen B, Nduhirabandi F: Cardioprotective effect of melatonin against ischaemia/reperfusion damage. *Front Biosci (Elite Ed)* 2013;5:305-315.
- Maganhin CC, Simoes RS, Fuchs LF, Oliveira-Filho RM, Simoes Mde J, Evencio Neto J, et al.: Rat pinealectomy: A modified direct visual approach. *Acta Cir Bras* 2009;24:321-324.
- Matsuda T, Tanaka H, Shimazaki S, Matsuda H, Abcarian H, Reyes H, et al.: High-dose vitamin c therapy for extensive deep dermal burns. *Burns* 1992;18:127-131.
- Morgan PJ, Williams LM: Central melatonin receptors: Implications for a mode of action. *Experientia* 1989;45:955-965.
- Murphy KD, Lee JO, Herndon DN: Current pharmacotherapy for the treatment of severe burns. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2003;4:369-384.
- Nisanci M, Eski M, Sahin I, Ilgan S, Isik S: Saving the zone of stasis in burns with activated protein c: An experimental study in rats. *Burns* 2010;36:397-402.
- Nwariaku F, Sikes P, Lightfoot E, Mileski W, Baxter C: Effect of a bradykinin antagonist on the local inflammatory response following thermal injury. *Burns* 1996;22:324-327.
- Ono I, Gunji H, Hasegawa T, Harada H, Kaneko F, Matsuzaki M: Effects of a platelet activating factor antagonist on oedema formation following burns. *Burns* 1993;19:202-207.
- Oxenkrug G, Requentina P, Bachurin S: Antioxidant and antiaging activity of n-acetylserotonin and melatonin in the in vivo models. *Ann N Y Acad Sci* 2001;939:190-199.
- Ozler M, Simsek K, Ozkan C, Akgul EO, Topal T, Oter S, et al.: Comparison of the effect of topical and systemic melatonin administration on delayed wound healing in rats that underwent pinealectomy. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70:447-452.
- Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F: Melatonin: A peroxy radical scavenger more effective than vitamin e. *Life Sci* 1994;55:PL271-276.
- Poeggeler B, Reiter RJ, Hardeland R, Swerynek E, Melchiorri D, Barlow Walden L: Melatonin, a mediator of electron transfer and repair reactions acts synergistically with the chain breaking antioxidants ascorbate, trolox and glutathione. *Neuroendocrinol Lett* 1993;17:347-357.
- Pruit BA, Mason, AD.: Epidemiological demographic and outcome characteristics of burn injury. *Total Burn Care* 2002:16.

- Pugazhenthii K, Kapoor M, Clarkson AN, Hall I, Appleton I: Melatonin accelerates the process of wound repair in full-thickness incisional wounds. *J Pineal Res* 2008;44:387-396.
- Reddy GK, Enwemeka CS: A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clin Biochem* 1996;29:225-229.
- Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS: Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997;29:363-372.
- Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Qi W: Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc* 1998;41:229-236.
- Reiter RJ, Tan DX, Qi W, Manchester LC, Karbownik M, Calvo JR: Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept* 2000;9:160-171.
- Rizzo JA, Burgess P, Cartie RJ, Prasad BM: Moderate systemic hypothermia decreases burn depth progression. *Burns* 2013;39:436-444.
- Rogério F, de Souza Queiroz L, Teixeira SA, Oliveira AL, de Nucci G, Langone F: Neuroprotective action of melatonin on neonatal rat motoneurons after sciatic nerve transection. *Brain Res* 2002;926:33-41.
- Sahib AS, Al-Jawad FH, Alkaisy AA: Effect of antioxidants on the incidence of wound infection in burn patients. *Ann Burns Fire Disasters* 2010;23:199-205.
- Sener G, Sehirli AO, Satiroglu H, Keyer-Uysal M, B CY: Melatonin improves oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns* 2002;28:419-425.
- Shakespeare P: Burn wound healing and skin substitutes. *Burns* 2001;27:517-522.
- Shalom A, Kramer E, Westreich M: Protective effect of human recombinant copper-zinc superoxide dismutase on zone of stasis survival in burns in rats. *Ann Plast Surg* 2011;66:607-609.
- Shinozawa Y, Aikawa, N.: Renal failure in burn patients. *Total Burn Care* 2002:393-395.
- Shupp JW, Nasabzadeh TJ, Rosenthal DS, Jordan MH, Fidler P, Jeng JC: A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression. *J Burn Care Res* 2010;31:849-873.
- Singer AJ, Taira BR, Lin F, Lim T, Anderson R, McClain SA, et al.: Curcumin reduces injury progression in a rat comb burn model. *J Burn Care Res* 2011;32:135-142.
- Singh V, Devgan L, Bhat S, Milner SM: The pathogenesis of burn wound conversion. *Ann Plast Surg* 2007;59:109-115.
- Sirotkin AV, Schaeffer HJ: Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *J Endocrinol* 1997;154:1-5.
- Spies M, Muller, M.J., Herndon DN: Modulation of the hypermetabolic response after burn. *Total Burn Care* 2002:363-365.
- Sugden D, Chong NW: Pharmacological identity of 2-[125I]iodomelatonin binding sites in chicken brain and sheep pars tuberalis. *Brain Res* 1991;539:151-154.
- Takahashi T, Sasaki M, Itoh H, Yamadera W, Ozone M, Obuchi K, et al.: Melatonin alleviates jet lag symptoms caused by an 11-hour eastward flight. *Psychiatry Clin Neurosci* 2002;56:301-302.

- Thomas S, Barrow, R.E., Herndon, D.N.: History of the treatment of burns. *Total Burn Care* 2002;1.
- Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, Bennett N, Gibson J, Burslem F, et al.: Analysis of the acute and chronic wound environments: The role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999;7:442-452.
- Tunali T, Sener G, Yarat A, Emekli N: Melatonin reduces oxidative damage to skin and normalizes blood coagulation in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 2005;76:1259-1265.
- Turgut M, Kaplan S, Unal BZ, Bozkurt M, Yuruker S, Yenisey C, et al.: Stereological analysis of sciatic nerve in chickens following neonatal pinealectomy: An experimental study. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj* 2010;5:10.
- Underwood H: The pineal and melatonin: Regulators of circadian function in lower vertebrates. *Experientia* 1990;46:120-128.
- Vanecek J: Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol Rev* 1998;78:687-721.
- Vidor LP, Torres IL, de Souza IC, Fregni F, Caumo W: Analgesic and sedative effects of melatonin in temporomandibular disorders: A double-blind, randomized, parallel-group, placebo-controlled study. *J Pain Symptom Manage* 2012.
- Vijayalaxmi, Thomas CR, Jr., Reiter RJ, Herman TS: Melatonin: From basic research to cancer treatment clinics. *J Clin Oncol* 2002;20:2575-2601.
- Volk SW, Wang Y, Mauldin EA, Liechty KW, Adams SL: Diminished type iii collagen promotes myofibroblast differentiation and increases scar deposition in cutaneous wound healing. *Cells Tissues Organs* 2011;194:25-37.
- Weichselbaum R, Patel M, Das Gupta TK: Influence of the pineal on wound healing. *Nature* 1975;254:349.
- Werner S, Breeden M, Hubner G, Greenhalgh DG, Longaker MT: Induction of keratinocyte growth factor expression is reduced and delayed during wound healing in the genetically diabetic mouse. *J Invest Dermatol* 1994;103:469-473.
- Williams WG: Pathophysiology of the burn wound. *Total Burn Care* 2002:516.
- Witte MB, Barbul A: General principles of wound healing. *Surg Clin North Am* 1997;77:509-528.
- Word PA, Till GO: Pathophysiologic events related to thermal injury of skin. *J Trauma* 1990;30:S75-79.
- Yurtcu M, Abasiyanik A, Bicer S, Avunduk MC: Efficacy of antioxidant treatment in the prevention of testicular atrophy in experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2009;44:1754-1758.
- Zor F, Ozturk S, Deveci M, Karacalioglu O, Sengezer M: Saving the zone of stasis: Is glutathione effective? *Burns* 2005;31:972-976.

