

**YARA İYİLEŞMESİNDE SİSTEMİK EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ
UYGULAMASININ BEYİN DOKUSU GLİKOZAMİNOGLİKAN VE PROTEİN
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

ZEYNEP TIKTIK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2010

Zeynep TIKTIK tarafından hazırlanan YARA İYİLEŞMESİNDE SİSTEMİK EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ UYGULAMASININ BEYİN DOKUSU GLİKOZAMİNOGLİKAN VE PROTEİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç.Dr. K. Barbaros BALABANLI

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı, G.Ü.

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Fatma ÜNAL

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Tarih :27 / 05 / 2010

Prof. Dr. Bilal TOKLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Zeynep TIKTIK

**YARA İYİLEŞMESİNDE SİSTEMİK EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ
UYGULAMASININ BEYİN DOKUSU GLİKOZAMİNOGLİKAN VE PROTEİN
DÜZEYLERİNE ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Zeynep TIKTIK

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MAYIS 2010**

ÖZET

Yara iyileşmesi travma ile başlatılan düzenli, sıralı, hücrel ve biyokimyasal olaylar sayesinde dokunun yenilenmesiyle sonuçlanmaktadır. Etkili bir yara iyileşmesi; inflamasyon, re-epitelizasyon, proliferasyon, matrix oluşumu, angiogenez ve yara kontraksiyonu gibi yüksek organizasyonlu olaylar serisini içerir. Epidermal Büyüme Faktörü gibi çeşitli büyüme faktörleri yara iyileşmesinde de etkileri olan proteinlerdir. EGF'nin sistemik yoldan uygulanması ile ilgili yapılan çalışmalarda EGF'nin epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumunu ve de yeni damar oluşumunu uyararak yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür. Glikozaminoglikan (GAG)' lar yara iyileşmesinde etkili oldukları gibi büyüme faktörleri tarafından yara iyileşmesine aracılık edebilir.

Bu çalışmada, fizyolojik yara iyileşme sürecinde ve sistemik uygulanan EGF' ye bağlı olarak, rat beyin dokusundan sentezlenen GAG ve protein düzeyinde meydana gelen değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

Deneylerde 200– 250 g ağırlıkta 48 adet Wistar-Albino tipi erkek rat kullanılmıştır. Dorsolateral eksizyonel yaralar yapıldıktan sonra ratlar iki eşit gruba ayrıldılar: 1- yara kendi haline bırakıldı. 2-.Yaralanmadan sonraki 1., 5., 7. ve 14. günlerde EGF intraperitoneal olarak uygulandı. Her iki grup da 1., 5., 7. ve 14. günler feda edilerek beyin dokusundan sentezlenen yara iyileşmesine önemli katkıları olan GAG ve protein miktarları spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Sonuç olarak periferik yaralanmalarda, normal yara iyileşme sürecinde beyin GAG düzeylerinin etkilenmediği, sistemik uygulanan EGF' nin özellikle 7.günde beyin GAG salınımını arttırdığı, buna karşı doku onarımının en yüksek olduğu 7.günde protein sentezini arttırarak beyin yara iyileşmesine katkı sağlamaya çalıştığı belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.020
Anahtar Kelimeler : Yara iyileşmesi, EGF, GAG
Sayfa Adedi : 74
Tez Yöneticisi : Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI

**THE EFFECT OF SYSTEMIC EPIDERMAL GROWTH FACTOR ON BRAIN
TISSUE GLYCOSAMINOGLYCAN AND PROTEIN LEVELS
IN WOUND HEALING
(M.Sc. Thesis)**

Zeynep TIKTIK

**GAZI UNIVERSTY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

MAY 2010

ABSTRACT

Wound healing; is the end result of a process initiated by a regular, cellular and biochemical sequence of events leading to the renewal of tissues following a trauma.

An effective wound healing involves a series of highly organized events such as inflammation, re-epithelization, proliferation, matrix formation, angiogenesis and wound contraction. Various Growth factors such as Epidermal Growth Factors (EGFs), are proteins effective in wound healing. Systemic supplementation of EGF accelerates wound healing by stimulating epithelization and granulation tissue formation as well as the formation of new blood vessels. Just as Glycosaminoglycans (GAG) are effective in wound healing, Growth Factors may also mediate wound healing.

The aim of this study is to investigate the changes of the protein level and GAG synthesized in the rat brain tissue due to the systemic supplementation of Epidermal Growth Factor (EGF) during the physiological process of wound healing.

48 male Wistar – Albino type rats weighing 200 – 250 g each were used in the experiments. The rats were divided into two equal groups after dorso-lateral excision wounds were made on them. 1-In the first wounded group, the wounds were left untouched. 2- In the second wounded group EGF was administrated intraperitoneally on the 1st, 5th, 7th and 14th day following wounding of the rats. Rats from both groups were sacrificed on the 1st, 5th, 7th and 14th day and the GAG synthesized in the rat's brain tissues as well as the protein levels, both being important in wound healing, were measured using spectrophotometric methods. The results were compared with Mann Whitney U Test.

As a result, the study tried to contribute the fact that during the normal wound healing process of peripheral injuries; the brain GAG levels are not effected, systemic administration of EGF especially on the 7th day increased the secretion of brain GAG, as a result, protein synthesis increases on the 7th day when the tissue repairing is highest, hence contributing to the wound healing in the brain.

Science Code : 203.1.020
Key Words : Wound healing, EGF, GAG
Page Number : 74
Adviser : Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardım ve katkılarıyla bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen, azmi ve sabrı öğreten değerli hocam Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI'ya sevgi, saygı ve sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Tecrübelerinden faydalandığım sayın hocam Doç. Dr. Şule ÇOŐKUN CEVHER'e, Araştırma Görevlisi Özge Tuğçe Paşaoğlu'na, laboratuarda görevli tüm çalışma arkadaşlarıma teőekkürü bir borç bilirim. Ayrıca beni her zaman destekleyen değerli eşime ve aileme sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	6
2.1. Yara	6
2.1.1. Yara çeşitleri	6
2.2. Yara İyileşmesi	7
2.2.1. Yara iyileşmesinin histopatolojisi	9
2.2.2. Yara iyileşmesinin tipleri	10
2.2.3. Yara iyileşmesinin fizyolojisi	12
2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	19
2.3.1. Lokal faktörler	19
2.3.2. Genel (sistemik) faktörler	20
2.4. Büyüme Faktörleri	20
2.4.1. Epidermal büyüme faktörü	25
2.4.2. EGF ve yara iyileşmesi	27

	Sayfa
2.5. Glikozaminoglikanlar	30
2.5.1. Genel özellikleri	30
2.5.2. GAG yapısı	31
2.5.3. GAG sentezi	31
2.5.4. GAG yıkımı	35
2.5.5. GAG çeşitleri	36
2.5.6. Temel hastalıklar ve yaşlanma ile ilişkileri	43
3. MATERYAL ve METOT	45
3.1. Deney Hayvanları	45
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	45
3.3. Yara Modelinin Hazırlanması	46
3.4. Yöntemler	47
3.4.1. Dokuda GAG tayini	47
3.4.2. Dokuda protein tayini	48
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	50
4. BULGULAR	51
4.1. Beyin Dokusu GAG düzeyi	51
4.2. Beyin Dokusu Protein düzeyi	53
5. SONUÇLAR	58
6. KAYNAKLAR	62
7. ÖZGEÇMİŞ	74

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Büyüme faktörleri	23
Çizelge 2.1. Mukopolisakkoridozis hastalıkları	44
Çizelge 3.1. i.p. EGF uygulamasında beyin dokusu GAG ve protein düzeyleri	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Yara iyileşmesinin şematik gösterimi	15
Şekil 1.2. Yara iyileşmesinin fazları	19
Şekil 2.1. EGF'nin yapısı	25
Şekil 2.2. EGF sinyalizasyon yolu	26
Şekil 3.1. GAG ve çekirdek proteinleri	32
Şekil 3.2. HS zinciri	39
Şekil 3.3. GAG ve çeşitleri	42
Şekil 4.1. GAG ölçümüne ait standart grafik	51
Şekil 4.2. EGF ve kontrol grubuna ait GAG düzeylerinin günlere göre değişimi	57
Şekil 4.3. EGF ve kontrol grubuna ait protein düzeylerinin günlere göre değişimi	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
Rpm	Dakika başına rotasyon (rotation per minute)
Ng	Nanogram
Kg	Kilogram
Nm	Nanometre
M	Molar
μ l	Mikrolitre
kDa	Kilodalton
Da	Dalton
Kısaltmalar	Açıklama
CSF	Serebrospinal sıvı
UDP	Üridin difosfat
HS	Heparan Sülfat
GM2,GM3	2. ve 3. ganglionlar
GPI	Fosfotidil inozitol glikan membran protein çapası
ECM	Ekstrasellüler matriks
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
GAP43	Aktin ve kalmodulini bağlayabilen akson büyümesi ile ilişkili bir protein
TNF	Tümör Nekroz faktör
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
İL-1	İnterlökin 1,2
TGF-α,β	Transforme edici Büyüme Faktörü α , β
İFN-α	İnterferon α

FGF	Fibroblast Büyüme Faktör
NGF	Nöronal Büyüme Faktörü
SDS	Sodium Dodecyl sulphate
MgCl₂	Magnezyum klorür

1. GİRİŞ

Yara iyileşmesi travma ile başlatılan düzenli, sıralı, hücrel ve biyokimyasal olaylar sayesinde dokunun yenilenmesiyle sonuçlanmasdır [1].

Yara iyileşmesi kompleks bir biyolojik olaydır. Pıhtı oluştuktan sonra inflamatuvar hücreler hızla yara bölgesine çekilir ve bunu bölünüp çoğalan fibroblastlar ve epitel hücrelerin göçü izler. Vasküler endotel hücreler ise yeni kapiller ağ oluşturarak bölgenin kanlanmasını sağlar, daha sonra fibroblastlar ekstrasellüler matriks sentezleyerek hasarlı dokunun skar dokusuyla değiştirmesini sağlar. Ardından yaradaki hücresellik azalır ve ekstrasellüler matriks yeniden şekillenir [2].

Normal yara iyileşmesi, birçok hücrel aktivitenin düzenli ve ard arda çalışması ile gerçekleşir. Bu aktiviteler; fagositoz, kemotaksis, mitogenez, kollajen sentezi, diğer matriks komponentlerinin sentezidir.

Büyüme faktörleri yara iyileşmesinde de etkileri olan proteinlerdir [3]. Normal yara iyileşmesi ve gecikmiş yara iyileşmesi üzerine büyüme faktörlerinin etkilerini gösteren pek çok çalışma vardır.

Sistemik ya da topikal olarak Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)' nün uygulanmasının yara iyileşmesine olumlu katkılarının bulunduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur [4- 6].

EGF ilk kez Dr.Stanley Cohen tarafından erkek fare submandibular tükürük bezinden izole edilmiştir [7, 8]. Cohen erkek fare submandibular tükürük bezinde Sinir Büyüme Faktörünü (NGF) izole etmeye çalışırken bu bezlerden elde ettiği ekstrenin yeni doğan farelere enjekte edildiğinde erken diş patlaması ve erken gözkapığı açılışına neden olduğunu gözleyerek etken maddeyi izole etmiş ve bu maddeyi epidermin gelişimini hızlandırıcı etkisinden dolayı Epidermal Grown Factor (EGF) adını vermiştir [7, 9 -14].

EGF benzeri bir faktör insandan da izole edilerek “urogastron” denmiştir [15].

EGF böbrek, tükürük bezleri ve lakrimal bez tarafından da üretilir, bu yüzden idrar, tükürük ve gözyaşında bol miktarda bulunur [7]. Ayrıca Doedonum brunner bezleri, troid, pankreas, adrenal bez, ovaryum, parotis bezi, karaciğer, özefagus, mide, ince bağırsak, kolon, kalp, böbrek, prostat, iskelet kası, düz kas, akciğerler, timus bezinde de bulunur. EGF birçok ektodermal ve mezodermal kökenli hücre için mitojenik özelliktedir [14, 16, 17]. Etkili olduğu hücrelerde iyon alınımı, glikolizisi, DNA ve RNA ile protein yapımını arttırıcı özellik gösterir [16, 17]. EGF'nin Mide asit sekresyonunu azalttığı [18,19] ve stres ülseri oluşturulmuş ratlarda mide dokusunda lipit peroksidasyonunu yine azalttığı [20] gözlenmiştir.

EGF'nin korneal endotelial hücreler, fibroblastlar, sinir sistemi destek dokusu hücreleri üzerinde mitojenik aktiviteye sahip olması [7, 21], gastrik asit sekresyonunu inhibe etmesi [7, 22] yanında embriyonun gelişmesi ve yeni kan damarlarının oluşması üzerinde etkili bulunması sonucu yara iyileşmesi üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Yara iyileşmesini hızlandırdığı da bildirilmiştir [23].

Topikal olarak EGF uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği araştırmalarda EGF'nin epitelizasyonu uyardığı, yara iyileşmesinin erken safhalarında dermis oluşumunun üzerine kesin etkisinin olduğu ve kronik yaraların iyileşmesini uyardığı bildirilmiştir [7, 24].

EGF'nin sistemik yoldan uygulanması ile ilgili yapılan çalışmalarda EGF'nin epitelizasyon ve granulasyon dokusu oluşumunu ve de yeni damar oluşumunu uyararak yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir [25- 28].

Glikozaminoglikan'lar (GAG) yara iyileşmesinin her aşamasında anahtar bir rol oynadığı gibi [29], büyüme faktörleri tarafından yara iyileşmesine aracılık edebilir [30].

GAG' lar genellikle küçük miktarda protein ve negatif yüklü heteropolisakkarit zincirlerinden oluşan büyük komplekslerdir [31]. Bu kompleksler büyük miktarda su bağlama özelliğine sahip "ground substance"ı [31- 33] oluştururlar. Aynı zamanda hücrelere virüs girişi ve anjiogenez gibi faktörlerin oluşumunu engelleyen biyomedikal öneme sahip kuvvetli asidik özellikte biyopolimerlerdir [34]. Mukus sekresyonların visköz, kaygan özelliği [31- 32, 35] glikozaminoglikanların varlığına bağlıdır. Bunlara mukopolisakkaritler de denir [31- 33, 35, 36].

GAG'lar polianyonlardır ve bundan dolayı Na⁺ ve K⁺ gibi katyon ve polikasyonları bağlarlar. Bu özellik osmatik basınç aracılığı ile ekstrasellüler matrikse suyun çekilmesine neden olur ve ortam turgoruna katkıda bulunur [37].

GAG' lar bir yandan doku hücre ve fibröz komponentlerinin kararlılığını sağlarken bir yandan da vücudun su ve tuz dengesini sağlar [31, 32, 34, 36]. Örneğin deri, tendon, kıkırdak, bağlar, kemik matriksinin bağ dokusu ground substansda dağılmış, çözünmez proteinlerden oluşmuştur [31]. Bağ dokusunun karakterleri büyük ölçüde ground substansla fibröz proteinlerin görece oranına bağlıdır [31, 32, 36]. Özelleşmiş ground substansdan biri eklemlerde tendon kılıflarında kayganlığı sağlayan sinovial sıvıdır.

Glikozaminoglikanlar ortak bir yapı prensibine dayanmakta olup bir uronik asidin asetillenmiş bir amino aside 3-pozisyonundan bağlandığı disakkarid birimlerinden oluşurlar [35]. Bunun bir komponenti daima ya D-galaktozamin veya D-glukozamin aminoşekeridir (bundan dolayı da GAG denir). Tekrarlayan disakkaritin komponenti (keratan sülfatın durumu haricinde) ya L- glukoronik asid veya onun 5-epimeri olan L- iduronik asid tarzında bir

uronik asittir [37]. Bu şeker fizyolojik pHda GAG' a kuvvetli negatif (-) özellik kazandırır [31, 34].

Bütün GAG'lar hiyaluronik asid hariç kovalan olarak bir proteine bağlanır, proteoglikan birimlerini oluştururlar [31]. GAG'lara kovalan bağlı proteinlere çekirdek proteinleri denir [31, 34]. Çekirdek proteinlerin sentezi endoplazmik retikulumda olur. GAG'ların sentezi glikojen sentezinin benzeridir farklı tarafı ise GAG' lar hücreden dışarıya verilmek üzere sentezlenirler. GAG zincirlerinin biyosentezide son basamakların çoğu ve ardından zincirlerin modifikasyonları Golgi' de meydana gelmektedir [31, 37].

GAG'ların polisakkarit zincirlerinin yıkımı endoglikozidazlar, ekzoglikozidazlar ve sülfatazlarla sağlanır [37].

Başlıca GAG çeşitleri, Hiyaluronik asid, Heparin, Heparan sülfat, Keratan sülfat, Kondraitin sülfat, Dermatan sülfat'dır [31, 37]. Birbirlerinden farklı olmalarının sebebi, sülfat gruplarının varlığı veya yokluğu ile yapıdaki şekerler ile olan bağlantı konumları [34, 37], aminoşekerlerin kompozisyonu, uronik asidin kompozisyonu, bu bileşikler arasındaki bağlantılar, disakkaritlerin zincir uzunluğu, bağlandıkları çekirdek proteinlerin doğası, çekirdek proteinleriyle olan bağlantının doğası, dokusal ve subsellüler dağılımları ve biyolojik işlevleri özelliklerinden dolayıdır [37].

Önemli bir Glikozaminoglikan olan Heparan sülfat (HS) bütün hayvan dokularında bulunan bir polisakkarit türevidir [34], bütün hücre yüzeylerinde [31, 38], hücre membranında [31, 33, 34, 38], kan damarlarında ve özellikle beyinde bulunur [33, 34]. HS oligosakkarit üretimi beyinde GM2 ve GM3 ganglionlarının sekonder birikimi, çeşitli beyin hücre tiplerinde büyük sitoplazmik içeriğinin formasyonu, mitokondrial ATP sentezinin C alt biriminin birikiminde, beyin dokularında GAP43 mRNA ekspresyonunun düzensizliği ile ilişkilendirilir [39]. Tip IV kollajen ve lamininle beraber glomerul bazal membranın bileşimidir [38].

EGF reseptörleri proteoglikan sentezinde önemlidir. GAG büyüme faktörlerini module etmektedir. Anjiogenez, hücre proliferasyonu ve inflamasyon gibi

endotelial ve döz kas hücre fonksiyonları için önemli olabilir. Aynı zamanda bazı büyüme faktörleri GAG sentezini düzenlemektedir [40].

Kondroitin sülfat- GAG'lar, EGF bağımlı olgunlaşma, hücre göçü ve sinir kök-progenitör hücrelerin gliogenesisi üzerine bir fren gibi etki etmektedir [41].

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada, fizyolojik yara iyileşme sürecinde ve sistemik uygulanan EGF'ye bağılı olarak, rat beyin dokusundan sentezlenen GAG ve protein düzeyinde meydana gelen değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Yara Nedir

Yumuşak dokuları oluşturan yapıların kesici yaralayıcı veya benzer araç ve gereçlerle birbirinden ayrılmasına ve dokuların bütünlüğünün bozularak varolan fizyolojik özelliklerinin geçici veya tamamen kaybolmasına yara denir [42].

Yara teriminin karşılığı olarak erezyon, ülser, fissür terimleri de kullanılır. Erezyon dermise geçmeyen fokal epidermis kayıplarını belirleyen bir kavramdır, iz bırakmaz, kronik değildir. Fissür çatlak şeklinde dikey yaraları belirleyen doku kayıplarıdır. Epidermisi veya dermisi yada her ikisini birden tutabilir. Ülser ise dermis ve epidermiste doku kayıpları ile seyreden fokal yaralardır [43, 44- 46, 47].

Yaraların iyileşmesi için kesin süreler verilemez ancak makul sürede iyileşmeyen, yavaş ve az ilerleme gösteren yaralar için kronik deyimini kullanılır [48- 50]. Kronik yaraların %70' i venöz ülserler ve diabitek yaralardır [51].

2.1.2. Yara çeşitleri

- 1.Kesik yaraları
- 2.Sivri cisim yaraları
- 3.Yırtık yaraları
- 4.Ezik yaraları
- 5.Açık yaralar
- 6.Soğuk yaraları
- 7.Ateşli silah yaraları
- 8.Zehirli yaralar
- 9.İsırma yaraları
- 10.Yanıklar

2.2. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi travma ile başlatılan düzenli, sıralı, hücrel ve biyokimyasal olaylar sayesinde dokunun yenilenmesiyle sonuçlanmasdır [1].

Yara iyileşmesi kompleks bir biyolojik olaydır. Pıhtı oluştuktan sonra inflamatuvar hücreler hızla yara bölgesine çekilir ve bunu bölünüp çoğalan fibroblastlar ve epitel hücrelerin göçü izler. Vasküler endotel hücreler ise yeni kapiller ağ oluşturarak bölgenin kanlanmasını sağlar. Daha sonra fibroblastlar ekstraselüller matriks sentezleyerek hasarlı dokunun skar dokusuyla değiştirmesini sağlar. Ardından da yaradaki hücrelilik azalır ve ekstrasellüler matriks yeniden şekillenir [2].

Normal yara iyileşmesi, birçok hücrel aktivitenin düzenli ve ardarda çalışması ile gerçekleşir. Bu aktiviteler arasında,

1. Fagositoz; polimorf nüveli makrofaj ve lökositler, primer fagositik hücrelerdir.
2. Kemotaksis; hücrelerin bir engelle karşı göçü olup inflamatuvar hücreler, fibroblast ve anjiogenezde rol oynayan hücreleri etkileyen kemotaktik ajanlar, iyileşme olayına katkıda bulunur.
3. Mitogenez; mitogenezi uyaran ajanlar yara iyileşmesi için gerekli hücre bölünmesini sağlar.
4. Kollajen sentezi; esas olarak fibroblastlarca sentezlenen protein ve glikoproteinler, kollajen ve ara maddeyi oluşturarak yara iyileşmesinde kritik bir noktanın tamamlanmasını sağlar.

5. Diğer matriks komponentlerinin sentezi; yara kontraksiyonu ve skar remodeling yara iyileşmesinin son basamaklarını oluşturur [52, 53].

Yaralanmayı hemen takiben trombositler hasarlanan dokuya yapışıp pıhtılaşma faktörleri ve granülleri içindeki büyüme faktörlerini salgırlar. Ortaya çıkan vazodilatasyonu, vazokontraksiyon takip eder. Fibrin olgunlaştıkça yaralanan bölge kurumuş pıhtı ile hem daha fazla sıvı ve elektrolit kaybını, hem de çevreden gelebilecek kontaminasyonu önler. Trombositlerce salgılanan büyüme faktörleri iyileşme olayını başlatır.

Kısa bir süre içinde polimorf nüveli lökositler çevredeki kan damarlarının endoteline yapışmaya ve damar duvarı içinden geçmeye (diapedez) başlarlar. Polimorf nüveli lokositleri yara bölgesine çeken; hasarlanan doku, bakteri ve inflamatuvar ürünlerin oluşturdukları kemotaktik sinyallerdir.

Polimorf nüveli lökositlerin ana görevi; yaralanan bölgeden bakteri ve yabancı cisimleri uzaklaştırıp enfeksiyon gelişimini engellemektir. Bu sürede epitelial hücreler pıhtının altına doğru hareket eder ve çoğalarak epitel yüzeyini yeniden oluşturmaya başlarlar.

Doku iyileşmesinin bir sonraki aşaması, makrofajlar ile karakterizedir. Makrofajlar sadece derbis, bakteri ve konağın dejenere hücrelerinin ortamdan uzaklaştırılmasından sorumlu değil ayrıca zengin bir büyüme faktörü kaynağıdır. Makrofajlar yara iyileşmesi olayında hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve matriks komponentlerinin düzenli bir şekilde davranmalarını sağlar.

İyileşmenin bir sonraki basamağında, epitelyal köprüler tamamlanınca, epitel hücrelerden enzimler salınıp, olgunlaşmış kabuğun hareketlenmesini sağlar. Epitel hücreler çoğalmaya devam edip epitel katlarını oluşturur. Doku tamirinin son fazı örneklemedir (remodeling); yaralanma öncesi doku bütünlüğü sağlanıncaya dek yıllar boyunca sürebilir [42].

2.2.1. Yara iyileşmesinin histopatolojisi

Yara herhangi bir ajanın fiziksel bir hasar yaratmasıyla vücuttaki normal bütünlüğün bozulmasıdır.

Yaralanma sonrası ortaya çıkan doku defekti fibrin, eritrosit ve lökosit içeren kan pıhtısı ile dolar. İyileşme erken dönemde inflamasyon ile başlar. Makrofajlar mikroorganizmaları, ölü parankim hücreleri ortadan kaldırır. Genellikle 3.- 5. güne kadar, bazense 24 saat gibi çok kısa bir süre sonra fibroblastlar ve vasküler endotel hücrelere proliferasyon olarak yara iyileşmesinin temel özelliği olan özel bir tip dokuyu “granülasyon dokusunu” meydana getirirler. Granülasyon deyimi, yara yüzeyindeki dokunun pembe granüller görünümünden gelmektedir. Her bir granül yeni bir kapiller vasküler yumağı temsil eder. Eski damarlardan tomurcuklanma ile yeni damarlar oluşur [49]. İnterendotelyal bağlantılarını gevşek olması nedeniyle bu damarlar geçirgendirler, protein ve kırmızı kürelerin ekstrasellüler aralığa çıkmasına izin verirler [50]. İyileşen dokularda akut inflamasyon boş bulunduğu halde görünen ödemin sebebi bu geçirgenliktir.

Granülasyon dokusundaki proliferasyon fibroblastları artmış miktarda Granüller Endoplazmik Retikulum içerir ve histolojik kesitlerde iri ve tumbul yapıda izlenir. Granülasyon dokusundaki proliferasyon fibroblastlarının görevi proteoglikan ve kollajen sentezlemektir. Bazıları ise çentikli nükleus yapısı, periferde yoğunlaşan stoplazmik fibril demetleri ve kontraktil proteinler gibi düz kas hücre özellikleri kazanırlar ve miyofibroblast olarak isimlendirilirler [54].

Granülasyon dokusundaki hemen her zaman makrofajlara ek olarak uygun kemotaktik stimulus varlığında nötrofillere, eozinofiller, mast hücreleri ve lenfositler de görülür. İyileşme ilerledikçe kollajende artma, fibroblast ve damar sayısında azalma gerçekleşir. Damarların büyük bir kısmında dejenerasyon ve tromboz gelişir. Sonuçta granülasyon dokusu inaktif görünümünde iğsi şekilli fibroblastlar, yoğun kollajen demetleri, elastik doku

parçalarını, ekstrasellüler matriks ve az sayıda damardan oluşan skar dokusuna dönüşür.

2.2.2. Yara iyileşmesinin tipleri

Primer İyileşme (primer union)

Temiz bir insizyon olduğunda ve yara ağzları dikişle yanyana getirildiğinde görülen iyileşme yara iyileşmesinin en az komplike örneğidir ve primer iyileşme olarak adlandırılır. İnsizyon sınırlı sayıda epitel ve bağ dokusu hücresi yıkımına sebep olur, insizyon alanı dardır, hemen fibrin ve kan hücreleri içeren pıhtı ile dolar. Yüzeydeki pıhtının dehidrate olmasıyla krut meydana gelir. Krut yarayı örter ve dış çevreden izole eder.

Akut inflamasyon hızla başlar, 24 saat içinde insizyon kenarları nötrofiller ve monositlerce infiltre edilir ve eksude sıvısı ile ödemlenir. Ölü hücrelerden açığa çıkan otolitik enzimler, nötrofillerin proteolitik enzimleri, monosit ve doku makrofajlarının fagositik aktiviteleri nekrotik doku, debris ve kırmızı kan hücrelerini ortadan kaldırmaya başlar. Hemoglobun, hemosiderin ve hematidine dönüşür. Primer iyileşmede epidermis önemli rol oynar [55]. Her iki yara kenarındaki epidermis saatler içinde kalınlaşır, kesi yerleri boyunca insizyon aralığının derinliğine doğru ilerler ve 24- 48 saat içinde yüzey krutunun altında orta hatta birleşerek devamlı ancak ince bir tabaka oluşturur. Epidermis invazyonunda göç eden hücreler bölünmezler, mitotik aktivite yara kenarındaki bazal tabaka hücreleriyle sınırlıdır.

Üçüncü güne kadar nötrofillerin yerini büyük oranda makrofajlar almıştır. Granülasyon dokusu insizyon bölgesini giderek doldurur. Fibroblastlar ve kapiller tomurcuklanma görülmeye başlar. Kollajen lifleri üretilir. Ancak ilk lifler vertikaldir, bu nedenle yara kenarlarını birbirine bağlamaz. Epitelyal hücre proliferasyonu devam eder, yüzeydeki epidermal tabaka kalınlaşır.

Beşinci günde insizyon alanı granülasyon dokusuyla tamamen dolmuştur. Neovaskülarizasyon maksimumdur. Kollajen lifleri artar ve yatay düzlemde yer alarak kesi yerlerini birbirine bağlar. Epidermis normal kalınlığa ve matürasyona ve yüzey keratinizasyonu görülür. İlk 2 hafta içinde sürekli bir kollajen akümülyasyon ve fibroblast proliferasyonu vardır. Bu süre sonunda lökositik inflamatuvar hücrelerden yoksun sellüler konnektif dokudan oluşan ve intakt epidermisle çevrili skar dokusu yarayı tümüyle doldurmuştur. İnsizyon hattı üzerindeki harap olan deri eklerinde rejenerasyon gerçekleşmez. Yara gerilme gücündeki artım ilk altı ay boyunca devam eder ve orijinal gücün %80' ine ulaşır.

Sütür Reaksiyonu

Sütür materyali uzamış ve kompleks bir reaksiyona sebep olmaktadır [55]. İlk üç gün içinde epidermis ve deri eklentilerinin epiteli yabancı cisim (sütür) varlığına reaksiyon göstererek sütür boyunca ilerleyen 2- 3 cm. kalınlığında inkomplet bir epitel tüpü oluşturur. Epitelyal tüp ile sütür arasında fibrin, nötrofil ve eritrositler vardır. Bir veya iki gün içinde mononükleer hücreler dermisteki tüpü çevreler. Tüpün oluşmadığı lat kısımlarda sütür lökositler, nükleer debris, yabancı cisim dev hücreleri ve makrofaj içeren granülasyon dokusu ve genç kollajen ile çevrelenir.

Sütürlerin yaklaşık onuncu günde alınmasıyla, epitelyal tüp sütür traktı boyunca dermis içinde izole olarak kalır ve güçlü bir yabancı cisim reaksiyonu uyandırır. Bir sonraki hafta içindeyse tamamen absorbe edilir. Sütürün yüzeyde epidermiste bıraktığı defekt rejenerasyonla iyileşir.

Sekonder İyileşme

İnfarkt, inflamatuvar ülserasyon abse oluşumu ve geniş doku defektleri olan yüzey yaralanmalarında olduğu gibi aşırı miktarda hücre ve doku kaybı varlığında, iyileşme süreci daha komplikedir. Yine de temel olaylar "primary

union” ile benzerdir. Aradaki farklar, inflamatuvar reaksiyonun daha şiddetli, granülasyon dokusunun daha fazla miktarda oluşu ve yara kontraksiyonudur [51]. Akut inflamasyon ve derbisin temizlenmesine epiderminin yara kenarı boyunca aşağı doğru ilerlemesi eşlik eder. Epitel canlı dermisi nekrotik dokudan ayırır.

Fibroblastlar ve kapiler damardan oluşan granülasyon dokusunun bazaldan itibaren koagülumun yerini alır. Granülasyon dokusunun gelişimi ile eş zamanlı olarak miyofibroblastların fonksiyonuyla iyileşmeye büyük katkısı olan yara kontraksiyonu gerçekleşir [56]. Progresif kontraksiyon yara boyutunu küçültür, ilerleyen epidermis sonuçta granülasyon dokusunu tümüyle örter. Gelişen skar dokusu başlangıçta pembedir, damarsal yapının azalmasıyla ileri aylarda giderek solar.

2.2.3. Yara iyileşmesinin fizyolojisi

Yara iyileşmesi inflamasyon, hücre migrasyonu, anjiogenez, matriks sentezi, yeni kollajen oluşumu ve reepitelizasyon gibi çeşitli hücreler ve moleküler basamakları içeren kompleks bir süreçtir [57- 59].

Zarar görmüş dokunun onarımı yani yara iyileşmesi hayatta kalmada kritik olan biyolojik bir cevaptır [60]. Yaralanma olayı bir şekilde lokal ve sistemik immün yanıtları aktive etmektedir.

Doku bütünlüğünün bir travma sonucu bozulması, travma tipine bağlı olmaksızın yara bölgesinin fonksiyonel ve morfolojik özelliklerinin yeniden kazanılmasını sağlayacak bir seri fizyolojik olayı başlatır. Yara iyileşmesinde en önemli özellik bir faz tamamlanmadığı takdirde takip eden fazın başlamaması ve iyileşmesinin durmasıdır [61].

Yara iyileşmesi ayrı, ancak birbiriyle iç içe üç ayrı aşamadan oluşur [62].

1. Hemostaz ve inflamasyon (substrat hazırlık fazı)
2. Proliferasyon (kollajen yapım fazı)
3. Maturasyon (remodilizasyon fazı) [63]

Inflamasyon Fazı

Travma veya yabancı cisimlerle doku harabiyetine karşı vücudun bağışıklık yanıtı ile oluşturduğu bir cevaptır [61]. Yaralanmadan sonraki ilk üç günde görülür. Organizmanın travmaya ilk cevabı inflamasyondur [64]. İnflamatuar hücrenin erken migrasyon dönemi (birçok kimyasal maddeden etkilenir) ve inflamatuvar hücre proliferasyon dönemi (hipofiz growth factor den etkilenir) olmak üzere iki dönemi vardır [61].

Trombositlerin kollajen ile teması trombin ve fibronektin etkisi ile trombositlerden PDFG, TGF- β , PAF, fibronektin, serotonin, IL-1, TNF- α gibi büyüme faktörleri ve sitokinler salınır [64- 70].

Yaralanmadan sonra oluşan geçici vazokontrüksiyon pıhtılaşmayı kolaylaştırır. Kanama durduktan sonra endotel hücrelerinden ve mast hücrelerinden salınan histamin, PGE2, PGI2, endotelyal büyüme faktörü ile geçirgenliği artar ve vazodilatasyon gelişir [42].

Nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler inflamasyon dönemindeki baskın hücrelerdir, fakat herbirinin yara iyileşmesine katkıları farklıdır. Makrofajlar ve lenfositlerin kritik rolleri vardır fakat nötrofiller eğer bakteri kontaminasyonu yoksa gerekli değildir. Çünkü fagositoz ve savunma mekanizması ile ilgili görevleri makrofajlar tarafından yerine getirilebilir [70]. Yara alanına kemotaktik mediatörlerin etkisi ile ilk olarak kemotaktik mediatörler gelir. Nötrofiller endoteli ilk geçen hücrelerdir. Nötrofiller üzerindeki integrin reseptörleri de ekstrasellüler matrikse bağlanmayı kolaylaştırır. Enfeksiyona karşı korur, mikroorganizmaları fagosite eder ve ölü dokuları lizise uğratar. Bu fonksiyonları için oksijen radikalleri oluşturacaklarından ortamda yeterli

oksijen bulunmalıdır. Daha sonra lenfositler gelir, fibroplazi üzerinde değişik etkileri olan lenfokinleri üretirler. Lenfokinlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri olsa da bu etkileri daha sonra gelen hücrelerin gölgesinde kalır [58- 60, 65]. Nötrofiller görevini yaptıktan sonra makrofajlarca fagosite edilir ve maksimum sayıya 1.- 2. günlerde ulaşırlar. Yara temizlendikten sonra 2.-3. günlerde sayıları azalır [48, 49].

Makrofajlar yaralanmanın 2.- 3. gününde yara yüzeyinde hakimiyete başlarlar. Makrofajlar 100'den fazla molekül sentezleyebilmektedir. Bunlar inflamatuvar yanıt üzerinde etkilidirler.

Makrofaj Ürünleri:

Reaktif O₂ ürünleri, Arakidonik Asit Metabolitleri, Kollajenaz, IL-1, TNF, IL-6-PDGF, CSF, TGF- α - β , IFN- α vs...

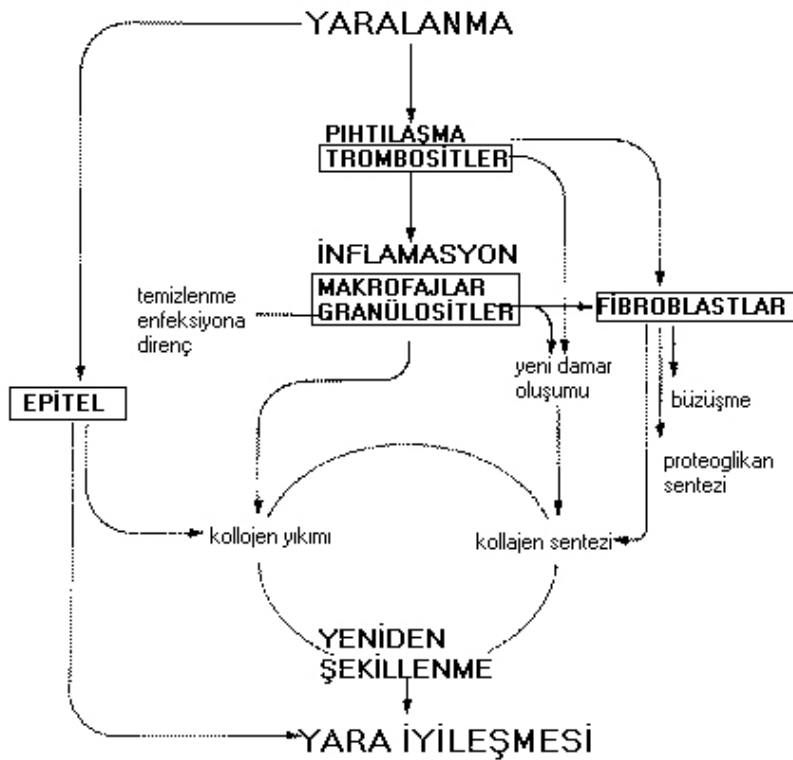
Makrofaj aktivasyonunun yara iyileşmesine debridman, matriks sentezi ve angiogenez gibi çeşitli yönlerden etkileri vardır.

Makrofajlar yaralanmanın erken döneminde Nitrik oksit sentezlerler. Nitrik oksit kısa ömürlü bir radikal ve biyolojik mediatördür. Nitrik oksit mekanik kuvveti ve kollajen oluşumunu arttırarak yara iyileşmesini hızlandırır. Bu sentez hipoksik koşullarda artar. Nitrik oksitin sentezinin engellenmesi yara iyileşmesini geciktirir.

Makrofajlar lenfositleri aktive eder. Lenfositlerde lenfokinleri salgılar. Erken inflamasyon döneminde glukan gibi makrofaj sayısını arttıran bir madde kullanılması yara iyileşmesini hızlandırır. Antimakrofaj serum verilmesi ise iyileşmeyi geciktirir [64, 66- 71].

Steroid Etkisi:

İnflamasyon fazında etkili olan steroidler, inflamatuvar hücre sayısını azaltmaktadırlar; lizozomu stabilize ederler, kollajenazı aktive ederler, prolil hidroksilaz ve lizil oksidazı inhibe ederler, epitelizasyon ve yeni kapiller oluşumu azalır, kollajen birikimlerinde kovalan agregasyon olmaz, yara gerilim kuvveti azalır, yara kontraksiyonu inhibe ederler. Yara iyileşmesinin üçüncü gününden sonra steroidin iyileşme fenomeninin de hiçbir inhibitör etkisi saptanmamıştır.



Şekil 1.1. Yara iyileşmesinin şematik gösterimi [72].

Proliferasyon Fazı

Üçüncü günle birlikte inflamatuvar fazdan proliferatif faza geçiş olur, dördüncü haftaya kadar sürer.

Bu dönemde etkili hücreler fibroblast ve endotel hücreleridir. Proliferatif fazda meydana gelen önemli olaylar;

1. Fibroblast aktivitesi
2. Anjiogenez
3. Epitelizasyon
4. Kontraksiyon

Fibroblastlar çevre dokudan yara yerine gelirler. Endotel hücreleri yara yerine komşu intakt venüllerden proliferere olurlar ve yeni kapillerin oluşmasını sağlarlar.

TGF- β , bFGF ve PDGF fibroblastlar için kemotaktiktir. PDGF ve TGF- β fibroblast proliferasyonu sağlar. Yaralanmadan birkaç gün sonra yara kenarındaki epitel proliferere olur. Oluşan vaskülarizasyon fibroblastların kalıcı matriks oluşturmaya yardımcı olur. Vaskülarizasyon ekstra matriks birikimi ve modülasyonu ile kontrol edilir. Hipoksik olan yara bölgesinde doku oksijen parsiyel basıncı düşük olması vaskülarizasyon için önemli bir uyarıdır, neovaskülarizasyon ilerledikçe hipoksi azalır ve anjiogenez uyarı giderek ortadan kalkar.

Travmadan sonraki ilk 36- 72 saat içinde kan damarlarının adventisyasına yakın mezenkimal hücrelerin farklılaşmasından fibroblastlar oluşur. Fibroblast ve endotel hücrelerinin proliferasyonundan trombosit ve makrofajlardan salınan sitokinler ve büyüme faktörleri sorumludur. Fibroblastlar erken dönemde fibronektin salgılar. Fibronektin tüm hücreler arasında hemde hücre ile matriks arasında çözünür olmayan fibronektin-fibrin kompleksi oluşturur. Kalıcı yara matriksindeki temel yapı molekülleri kollajendir. Kollajen

hipoksiptrolin ile hidroksilizin amino asitlerinin hidroksilasyonu ile meydana gelir. Kollajen üretimi oranı çeşitli faktörlere bağlıdır; bunlardan en önemlisi perfüzyonun ve dokudaki oksijen düzeyinin yeterli olmasıdır. Yarada en yüksek oranda Tip I kollajen bulunur. Skar dokusunda da en çok tip I, daha az oranda Tip IV kollajen bulunur [66- 70].

Epitelizasyon

Epitel derinin sıvılara geçirgen olmayan, travmaya ve radyasyona dirençli bölümünü oluşturur. Hücrelerin göç ve proliferasyonu ile tamir görür [60, 61]. Epidermin tabanındaki bazal membran oluşturduğu hemidesmozomlarla epidermisi dermise bağlar. Yaralanmadan migrasyon başlar. 24- 72 saatte yara tabanı, ince bir tabaka epitel ile örtülür, dördüncü günde kreatin asitlerle kaplanır. Bazal membran üzerindeki bazal epidermal hücrelerin fibronektinle uyarılan aktif fagositoz zonları vardır. Bu zon intakt ise yara kapanması hızlıdır.

Hareketli hücreler göçleri sırasında bazal membranlarını, fibronektin, Tip 4 kollajen ve laminin gibi maddeleri salgılayarak meydana getirirler. Bu geçici bazal membrandır. Hareketli hücreler fibronektin ve vitronektini hareketlerinde destek olarak kullanırlar. Epitelizasyon için spesifik uyarının ne olduğu halen bilinmemektedir. Bilenen odur ki; kontak inhibisyonun olmadığı epitelin serbest kenarından hareket başlamaktadır. Aktin ve miyozin sitoplazmik çıkıntının bulunduğu taraf akar ve bazal membrana yapışan bu protrüzyon yönünde hücre sitoplazmik kontraksiyonla yer değiştirir.

Mikroorganizmalar yara sıvısı ve nekrotik doku varlığında epitelizasyon gecikir. Epitelizasyonun gecikmesi inflamatuvar sürecinin uzamasına neden olur ve hipertrofikskar meydana gelir. Yara sekonder iyileşmeye bırakıldığında, epitelizasyon kıl folükülleri ve ter bezlerindeki epiteliden gelişir ve 7- 10 günde tamamlanır. Derin veya geniş yaralanmalarda epitelizasyon

gecikebilir ve hipertrofik skar gelişimi olur, bu gibi durumlarda deri greftleri ile yara kapatılmalıdır [64- 66].

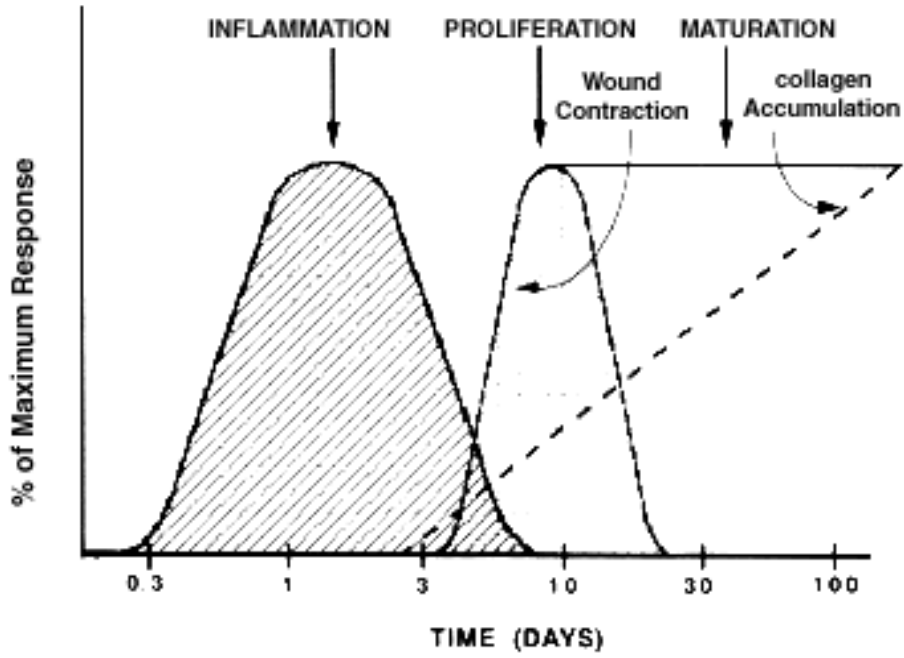
Yara Kontraksiyonu

Yara kontraksiyonu yeterli mobilitesi olan bölgelerde yara kapanmasındaki en etkin mekanizmadır. Doku kaybı olan yaralarda, yara bölgesinin büyüklüğü çevre dokunun bütün kalınlığında sentripedal doğrultuda hareket etmesiyle küçülmeye çalışır. Yaranın meydana gelmesinden 5.- 7. günde başlayan kontraksiyon sabit bir hızla 39. güne kadar devam eder. Kontraksiyon açık yaraların kapatılmasında % 80 oranında etkilidir. Nadiren yaranın spontan kapatılmasını sağlar daha çok deforme ve fonksiyon bozukluğuna yol açar. Yara kontraksiyonunu aktin filamentlerinden zengin miyofibroblastlar sağlar, kontraksiyon oranı miyofibroblast oranı ile ilişkili değildir [64, 73].

Maturasyon Fazı

Yaralanmadan 4 hafta sonra başlar, aylar veya yıllarca sürebilir. Bu dönemin özelliği, yarada kollajen birikiminin olmasıdır. Kollajen yapımı ve yıkımı dengeye ulaşmıştır. Yaralanmadan 2- 3 hafta sonra kollajen en yüksek miktara ulaşır. Bu fazda vaskülarizasyon ve fibroblastların sayısı azalır. Ekstrasellüler komponentlerin yıkımı, inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve epitel hücreleri tarafından sentezlenen matriks metallo protein nazları ile başlatılır. Pembe-mor görünümlü yaranın rengi soluklaşır. Gerilme kuvveti moleküller arasındaki bağların artmasıyla giderek artar. Skar dokusundaki gerilme kuvveti 3 ay sonra normal cildin % 80'ine ulaşır ve daha fazla artmaz. İyileşmenin en önemli fazıdır çünkü matriks depolanmasının hızı, kalitesi ve miktarı skarın gücünü belirler [64- 67, 69, 70].

Yara iyileşmesinde bütün bu safhaların sonucunda, yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik olan yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur [74].



Şekil 1.2.Yara iyileşmesinin fazları [72].

2.3.Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

2.3.1. Lokal faktörler

1. İskemi
2. Gerilim
3. Ölü boşluklar
4. Yabancı cisimler ve kontaminasyon
5. Çevre ısısı [42]
6. Hematom
7. Lokal travma
8. Sütürler
9. Doku tipi [61]

10. Kronik doku faktörleri [42, 61]

11. Radyasyon [72]

2.3.2. Genel (Sistemik) faktörler

Sistemik faktörlerin immün fonksiyonlar ve kollajen sentezi üzerinde endojen etkileri bulunur. Ayrıca lokal faktörler üzerinde de etkileri bulunur ve yara iyileşmesini geciktirir.

1. Büyüme faktörleri [61]

2. Tıbbi durumlar

3. Anemi/ Kan kaybı [75]

4. Beslenme

5. Yaş

6. Anestezi şekli [42]

2.4. Büyüme Faktörleri

Ağırlıkları 4000- 60000 Da arasında değişen, çok az miktarları bile hücrel aktiviteyi etkileyebilen polipeptitlerdir [76].

Büyüme faktörleri hücrelerin replikasyonu ve farklılaşmasını regüle eder. Sistemik dolaşımda bulunurlar, çeşitli hücre sistemleri ve dokularca salınırlar, bu nedenle de hücre metabolizmasının sistemik ve lokal düzenleyicisidir. Büyüme faktörleri dolaşımda ya serbest olarak yada spesifik bağlayıcı proteinlere bağlı olarak bulunur veya platelet agregasyonundan salınmak üzere platelet granüllerinde depolanırlar [77].

Sitokinler; hücre bölünmesi, aktivasyonu, doku yenilenmesi, bağ dokusu oluşumu, morfogenez inflamasyon ve immünolojik cevap oluşumu gibi önemli biyolojik olayları düzenleyen, genellikle glikoprotein yapısında olan ve molekül ağırlıkları 8 ile 25 kDa arasında değişen tek zincirli proteinlerdir. Bu

proteinler lenfosit tarafından üretiliyorsa “lenfokin”, monosit veya makrofajlar tarafından üretiliyorsa “monokin”, immün sistem hücreleri tarafından üretiliyorsa “interferon, interlökin, TNF, EGF veya TGF” adını alırlar.

Büyüme faktörleri hücrel fonksiyonlarını endokrin, parakrin veya otokrin mekanizmalarıyla sağlarlar:

-Endokrin yolla etkileyen faktörler hedef hücreye kan yoluyla gider ve uzaktaki hücreleri de etkiler.

-Parakrin yolla etkileyen faktörler salgıladıkları bölgede etkilidirler.

-Otokrin faktörler tarafından salgılandıkları hücrenin fonksiyonlarını etkiler.

-Bazı transforne fibroblastlar, hiç salgılanmamış faktörlere hücrenin kendi içinde intakrin mekanizma ile yanıt verirler [76, 78].

Geniş araştırmalarda dokuya özgü büyüme faktörü üretimi gösterilememiştir, çoğunlukla aynı faktör çeşitli hücre ve dokularca sentezlenir. Lokal olarak üretilen dokuların sentez ve etkileri, sistemik hormonlarca reseptör içeren dokularda modifiye edilir. Sistemik hormonlar spesifik dokularda lokal faktörleri düzenleyerek hedef dokuya özgüllük kazandırırılar. Bu dört seviyede düzenlenir [77]

1. Sentez
2. Aktivasyon
3. Reseptörlere bağlanma
4. Bağlayıcı proteinler

Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin, o faktörler için o reseptörlere sahip olup olmasına bağlıdır.

Reseptörlere bağlanma sonucu hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki çoğunlukla tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörleri bulunur [76, 78].

Sitokin ve koloni uyarıcı faktörlerin reseptörleri diğer faktörlerden farklıdır. Çünkü diğerleri sitoplazmik uzantılarında tirozin kinaz aktivitesi gösteren sitoplazmik bir parça içermezler ya da sitoplazmik uzantıları yoktur veya çok kısadır. Bununla birlikte sitoplazmada tirozin kinaz aktivitesi başlatırlar [4].

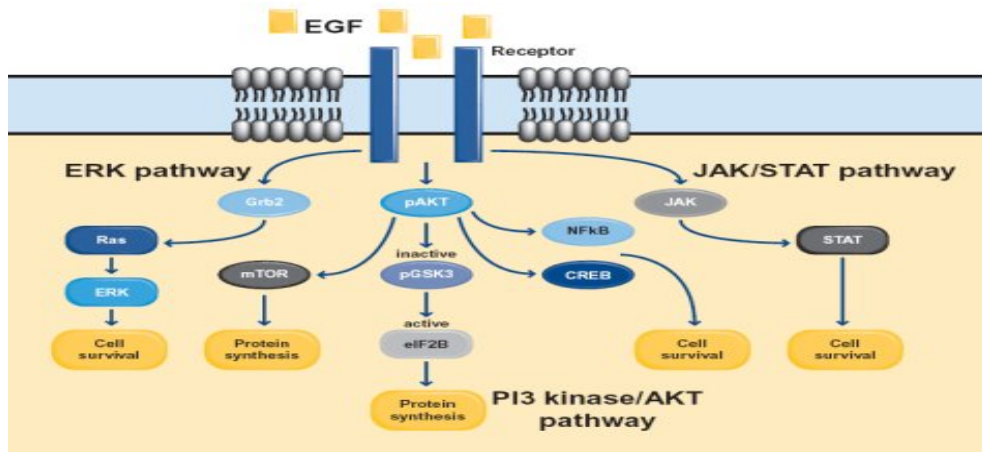
Çizelge 1.1. Büyüme faktörleri

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
PDGF(platelet-derived growth factor)	Trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu, nötrofil makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, angiogenez
TGF- β (Transforming growth factor β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, Makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis, İndirekt angiogenez, diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardım
EGF (Epidermal growth factor)	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonunun ve granüler doku oluşumunun uyarılması
TGF- α (Transforming growth factor α)	Aktive makrofajlar, trombosit, keratinosit, bazı dokular	EGF'ye benzer
IL-1,2 (interleukin 1,2)	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajena, nötrofil kemotaksisi
TNF (Tümör nekroz factor)	Makrofaj, mast hücresi, T-lenfosit	Fibroblast proliferasyonu
LDGF (Leucocyte-derived growth factor)	Makrofaj, mast hücresi, T-lenfosit	Fibroblast proliferasyonu

Çizelge 1.1. (Devam) Büyüme faktörleri

CTGF (Connective tissue growth factor)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktanve mitojen
FGF (Fibroblast growth factor)	Beyin, makrofaj, diğer doku ve hücreler	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depolanmasının uyarımı, anjiogenez, yara kontraksiyonu
KGF (Keratinocyte growth factor)	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
IGF-1 (İnsulin-like growth factor)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Sülfat proteoglikan ve kollajen sentezi, Fibroblast proliferasyonunu uyarır.
HGF (Human growth factor)	Plazma	Anabolizma, IGF-1'i uyarır.
IFN (İnterferons)	Fibroblastlar, lenfositler	Fibroblast proliferasyonunu ve kollogen sentezinin inhibisyonu

EGF reseptörü, diğer büyüme faktör reseptörleri gibi sinyalin başlatılmasında rol oynayan tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. EGF reseptörü ile birleşip agregasyon ve fosforilasyon olayı meydana geldikten sonra EGF+reseptör birlikte sitoplazmaya geçerler [81]. Orada lizozomlar ile birleşerek reseptozomları oluştururlar ve parçalanırlar. Alternatif bir yol olarak EGF+reseptör direkt olarak nukleusa giderek orada kopyalanmayı başlatırlar [82]. EGF reseptör aktivasyonu hücre replikasyon ve transkripsiyonunu ve DNA sentezini başlatır [83]. Fibroblastlarda reseptörü bulunan ve bu hücreler için potent bir gelişme faktörü olan Epidermal Growth Factor (EGF) granülasyon dokusu, kollajen ve glikozaminoglikan düzeyini artırır; sonuçta epitelizasyon hızlanır ve yara gerilim kuvveti artar [14, 84].



Şekil 2.2. EGF sinyalizasyon yolu [81]

EGF endojen olarak submandibular tükürük bezinden sentezlenerek tübüler kanal hücrelerinde depo edilir. Bu bezin çıkarılması ile plazma EGF düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmaz. Bu durum organizmada ikinci bir sentez yerinin bulunduğunu düşündürmektedir [7, 85-88]. EGF trombositlerde de bulunmaktadır [7, 89].

Trombositler tarafından bu madde yara iyileşmesinin erken evrelerinde yüksek miktarlarda salınmaktadır [7]. İnsanda EGF'nin asıl kaynağı submandibular bez olmayıp parotis bezdir [90].

EGF benzeri bir faktör insandan da izole edilerek “urogastron” denmiştir [15].

EGF pek çok dokuda varlığı gösterilmiştir. Böbrek, tükürük bezleri ve lakrimal bez tarafından da üretildiğinden idrar, tükürük ve gözyaşında bol miktarda bulunur [7]. Doedonum brunner bezleri, troid, pankreas, adrenal bez, ovaryum, protis bezi, karaciğer, özefagus, mide, ince bağırsak, kolon, kalp, böbrek, prostat, iskelet kası, düz kas, akciğerler, timus bezi bunlar arasında sayılabilir. EGF birçok ektodermal ve mezodermal kökenli hücre için mitojenik özelliكتedir [7, 14, 16, 17]. Korneal endotelial hücreler, fibroblastlar ve sinir sistemi destek dokusu hücreleri üzerinde mitojenik aktiviteye sahip olan EGF en fazla mezodermal hücreler tarafından salgılanır [7, 33].

Etkili olduğu hücrelerde iyon alınımı, glikolizisi, DNA ve RNA ile protein yapımını arttırıcı özellik gösterir [16, 17]. Mide asit sekresyonunu da azaltmaktadır [18- 20]. Yara iyileşmesini hızlandırdığı da bildirilmiştir [23].

EGF hücre kültürlerinde normal ve transforme hücrelerde hücre çoğalmasını arttırıcı etki göstermektedir [91]. EGF farklılaşma ve büyümeyi etkileyerek organizmanın gelişiminde rol oynar [80]. Çeşitli epitel hücre kültürlerinde EGF büyümeyi, çoğalmayı ve farklılaşmayı arttırmaktadır [87]. EGF gibi peptit büyüme faktörleri keratinositlerin ve fibroblastların mitogenezini, keratinositlerin göçünü ve doku ve granülasyon gelişimini uyarırlar [92].

2.4.2. EGF ve yara iyileşmesi

EGF, normal büyüme etkisi, neoplastik büyümedeki rolü ve yara iyileşmeindeki etkisi olmak üzere üç başlıkta değerlendirilebilir [37]. EGF'nin yara iyileşmesindeki etkisi, inflamatuvar safha (0- 3 gün), fibroblastik safha (3- 12 gün) ve remodelling safhası olmak üzere birinin içinde öbürünün geliştiğı üç süreçten geçmektedir [93, 94].

Mitojenik bir polipeptid olan EGF, yara iyileşmesine inflamasyon fazının bitiminde etki etmeye başlamakta ve fibroblastik oluşumunu indüklediği ve bunun yanı sıra granülasyon dokusunun oluşumu ve epitelizasyonu uyardığı bilinmektedir [95- 97].

Son zamanlarda gerek genel tıp alanında gerekse ağız cerrahisinde yapılan çalışmalarda EGF'nin yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir [93, 98-100].

EGF'nin korneal endotelial hücreler, fibroblastlar, sinir sistemi destek dokusu hücreleri üzerinde mitojenik aktiviteye sahip olması [7, 21], gastrik asit sekresyonunu inhibe etmesi [7, 22] yanında embriyonun gelişmesi ve yeni kan damarlarının oluşması üzerinde etkili bulunması sonucu yara iyileşmesi üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Hayvan modellerinde yara gerilim kuvvetini de arttırdığı bildirilmiştir [3].

Erbaş ve arkadaşları EGF' nin yara iyileşmesindeki hızlandırıcı etkilerini gösterdikleri çalışmalarında EGF'nin serum çinko düzeyini artırdığını bildirmişlerdir [101].

Sistemik ya da topikal olarak EGF uygulanmasının yara iyileşmesine olumlu katkılarının bulunduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur [13, 64].

Topik olarak EGF uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği araştırmalarda EGF'nin epitelizasyonu uyardığı, yara iyileşmesinin erken safhalarında dermis oluşumunun üzerine kesin etkisinin olduğu ve kronik yaraların iyileşmesini uyardığı bildirilmiştir [7, 24].

EGF'nin sistemik yoldan uygulanması ile ilgili yapılan çalışmalarda EGF' nin epitelizasyonu, granülasyon dokusu oluşumunu ve yeni damar oluşumunu uyarak yara iyileşmesini hızlandırdığını bildirmiştir [102, 103, 99].

Çelebi ve arkadaşlarının fareler üzerinde yara gerilimi üzerine yaptıkları çalışmalarında EGF'nin yara gerilimi üzerine olumlu etkisinin olduğunu belirtmişlerdir [104].

Türkyılmaz ve arkadaşları [105] ve Memişoğlu ve arkadaşları [106] yapmış oldukları çalışmalarda EGF'nin topik uygulamasının yara iyileşmesini hızlandırdığı sonucuna varmışlardır.

Babül ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalar sonucunda EGF'nin yara iyileşmesini hızlandırdığını bildirmişlerdir [107].

Cellini ve arkadaşları EGF içeren ticari bir preparatı herpetik korneal ülseri olan hastalara uygulamışlardır ve EGF'nin bu hastalığın iyileşme süresini azalttığı gözlenmiştir [108].

Yüz gelişimine ilişkin çalışmaların çoğu sıçanlar ve fareler üzerine yapılmıştır. Bu çalışmalardan sağlanan sonuçlar EGF'nin mide organ epitelinde yer alan fenotiplere sahip hücrelerin sayısını arttıran DNA sentezini uyardığını [109, 110, 87] ve bu yolla molar diş gelişimini düzenlediğini göstermiştir [8,108]. Yapılan çalışmalar sonucu EGF'nin dermal oküler ve gastrointestinal bölgedeki yaraların iyileşmesinde etkili olduğu ve yara iyileşme zamanını azalttığı gözlemlenmiştir [7].

Amberger EGF'nin anjiogenesisite etkili olduğunu bildirmiştir [111].

GAG yara iyileşmesi modülatörü olduğu gibi, büyüme faktörleri tarafından kollajen oluşumuna ve dermal fibroblast oluşumuna aracılık edebilir. Yara ve normal derideki fibroblastlar tarafından büyüme faktörünü uyarabilir [30].

GAG' in ECM' in organizasyonu ve metabolizmasının düzenlenmesinin yanısıra hücre göçü uyarıcısı, farklılaşması ve proliferasyonu ile yara iyileşmesinin her aşamasında anahtar bir rol oynadığı gözlemlenmiştir [29].

2.5. Glikozaminoglikanlar

2.5.1. Genel özellikleri

GAG' lar genellikle küçük miktarda protein ve negatif yüklü heteropolisakkarit zincirlerinden oluşan büyük komplekslerdir [31]. Bu kompleksler büyük miktarda su bağlama özelliğine sahip "ground substance" denilen [31- 33] jel gibi bir matrix oluştururlar [31]. Aynı zamanda hücrelere virüs girişi ve anjiogenez gibi faktörlerin oluşumunu engelleyen biyomedikal öneme sahip kuvvetli asidik özellikte biyopolimerlerdir [34]. Mukus sekresyonlarının visköz, kaygan özelliği [31- 33, 35] glikozaminoglikanların varlığına bağlıdır. Bunlara mukopolisakkaritler de denir [31- 33, 35, 36].

GAG'lar polianyonlardır ve bundan dolayı Na⁺ ve K⁺ gibi katyon ve polikasyonları bağlarlar. Bu özellik ozmatik basınç aracılığı ile ekstrasellüler matrikse suyun çekilmesine neden olur ve ortam turgoruna katkıda bulunur [37].

GAG' lar bir yandan doku hücre ve fibröz komponentlerinin kararlılığını sağlarken bir yandan da vücudun su ve tuz dengesini sağlar [31, 32, 34, 36]. Örneğin deri, tendon, kıkırdak, bağlar, kemik matriksinin bağ dokusu ground substansla dağılmış, çözünmez proteinlerden oluşmuştur [31]. Bağ dokusunun karakterleri büyük ölçüde ground substansla fibröz proteinlerin görece oranına bağlıdır [31, 32, 36]. Örneğin kıkırdak ground substansla zengin, tendonlar hemen tümüyle liflerden oluşur. Özelleşmiş ground substansla biri eklemlerde tendon kılıflarında kayganlığı sağlayan sinovial sıvıdır.

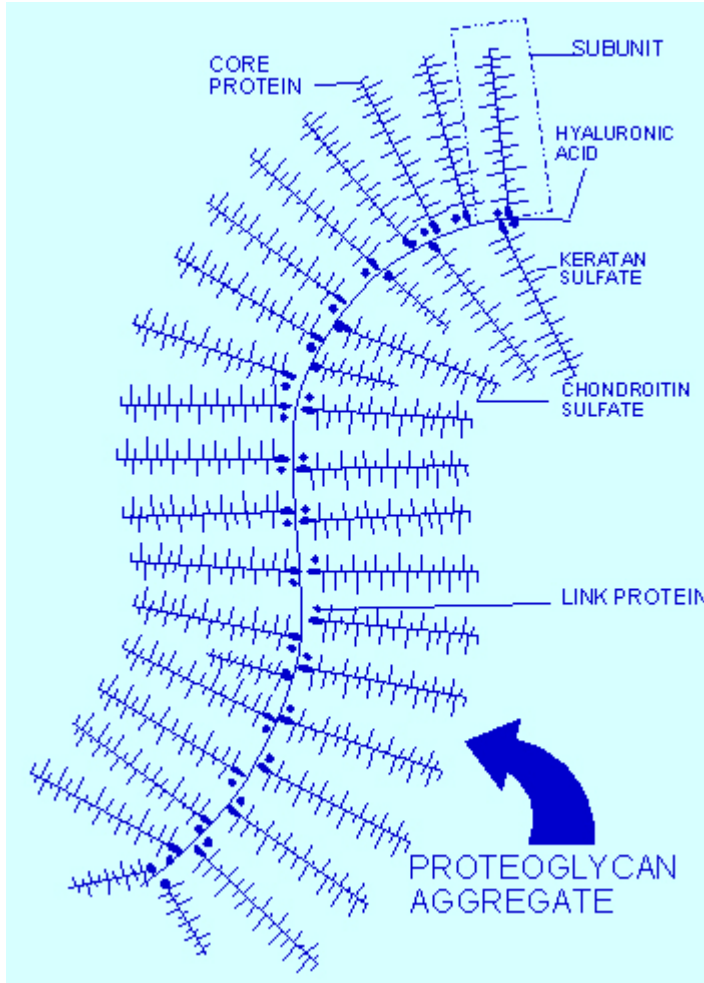
GAG'ların dermiste polimerizasyonu değiştirerek kollajen yapımını arttırdıkları, dermal hiyaluronik asid sentezini hızlandırarak dermiste hidroskobik özelliğini arttırdıkları düşünülmektedir [112].

2.5.2. GAG yapısı

Glikozaminoglikanlar ortak bir yapı prensibine dayanmakta olup bir uronik asidin asetillenmiş bir amino aside 3-pozisyonundan bağlandığı disakkarid birimlerinden oluşurlar [35]. Bunun bir komponenti daima ya D-galaktozamin veya D-glukozamin aminoşekeridir [bundan dolayı da GAG denir]. Tekrarlayan disakkaritin komponenti [keratan sülfatın durumu haricinde) ya L glukoronik asid veya onun 5-epimeri olan L iduronik asid tarzında bir uronik asidtir [37]. GAG yapısında bulunan yüksek sülfat ve karboksil grupları içeren şeker [113] fizyolojik pH' da GAG'a kuvvetli negatif [-] özellik kazandırır [31,34] Bu negatif özellik onlara büyüme faktörleri, enzimler, sitokinler, kemokinler, lipoprotein ve adezyon molekülleri dahil proteinin geniş alanlarıyla etkileşim içinde olmalarına izin verir [105].

2.5.3. GAG sentezi

Bütün GAG'lar Hiyaluronik asid hariç kovalan olarak bir proteine bağlanır, proteoglikan birimlerini oluştururlar [31]. GAG'lara kovalan bağlı proteinlere çekirdek proteinleri denir [31, 32] (*Şekil 3.1*). Çekirdek proteinlerin sentezi endoplazmik retikulumda olur. GAG'ların sentezi glikojen sentezinin benzeridir, farklı tarafı ise GAG'lar hücreden dışarıya verilmek üzere sentezlenirler. GAG zincirlerinin biyosentezide son basamakların çoğu ve ardından zincirlerin modifikasyonları Golgi' de meydana gelmektedir [37,31].



Şekil 3.1 GAG ve çekirdek proteinleri [114].

Aminoşekerlerin Sentezi

Aminoşekerler, GAG, glikoprotein, glikolipit, bazı oligosakkarit ve bazı antibiyotiklerin önemli bir içeriğidir. Bağ dokusunda aminoşeker sentez yolu ile çok aktiftir. Fruktoz 6 fosfat monosakkariti N-asetil glukozamin ve N-asetilnöraminik asit [NANA] deki sialik asidin ön maddesidir. Bu şekerlerin her birinde ön maddenin bir hidroksil grubu bir amino grubuyla yer değiştirmiştir.

N-asetil glukozamin ve N-asetil galaktozamin

Bu şekerlerde amino grupları için nitrojen glutamin aminoasidinden sağlanır. Glutaminin amid nitrojeni fruktoz 6-fosfata geçirilerek glukozamin 6-fosfat ve glutamat oluşumu sağlanır. Bu reaksiyon geri dönüşümsüzdür ve aminoşeker sentezinde etkin basamaktır. Glukozamin asetillenerek N-asetilglukozamin 6-fosfatı oluşturur o da N-asetil glukozamin 1 fosfata izomerize olur, bundan da UDP-N asetil glukozamin sentezlenir. UDP-N asetil glukozamin UDP-N asetil galaktozamine epimerize edilebilir (bu aminoheksosların UDP türevleri aktif formları olup sakkarit zincirlerine N-asetil glukozamin ve N-asetil galaktozamin verebilme yeteneğindedirler) [4].

N-asetil nöronimik asit [NANA]

NANA her biri değişik bölgelerden asetillenmiş sialik asit ailesinin bir üyesidir. Bu bileşikler genellikle glikolipit, glikoprotein veya daha nadiren GAG' ların oligosakkarid yan zincirlerinin terminal karbonhidrat kalıntıları olarak bulunurlar. NANA'nın karbon ve nitrojenleri N-asetil mannozamin ve fosfoenol pirüvattan gelir [31].

Asidik Şekerlerin Sentezi

Glukozun 6. karbonundan oksitlenmiş hali D-glukronik asit [31,35] ve C-5 epimeri L-idüronik asit GAG' ların önemli öğeleridir [31,35,37]. Glukronik asit aynı zamanda bilirubin, bazı steroidler ve ilaçlar gibi çözünlüğü olmayan bileşiklerin detoksifikasyonu için de gereklidir. Bitki ve memelilerde glukronik asit C vitamininin öncüsüdür (kobaylar ve primatlar hariç).

Glukronik asit: Besinlerden az miktarda elde edilebilir. GAG'ın hücre içi lizozomal yıkılması veya üronik asit yoluyla da elde edilebilir. İnsanlarda glukronik asit metabolizmasının son ürünü hekzos monofosfat yoluna girebilen ve gliseraldahit 3-fosfat ve fruktoz 6 fosfat gibi glikolitik ara ürünleri oluşturabilen D ksilöz 5 fosfattır.

UDP-glukronik asit oluşumu: Glukronik asitin aktif şekli yani GAG sentezi için ve diğer glukronatlaştırma reaksiyonları için gerekli olan şekli UDP-glukozun oksidasyonu ile elde edilen UDP-glukronik asittir.

L-idüronik asit sentezi: L-idüronik asit kalıntılarının sentezi D-glukronik asidin karbonhidrat zincirine ilave olmasıyla gerçekleşir [34].

Çekirdek Proteinlerin Sentezi

Çekirdek proteini sentezlenir ve endoplazmik retikuluma girer [31, 37]. Endoplazmik retikuluma girerken zara bağımlı transferazlar tarafından glikozillenir [34].

Karbonhidrat Zincirlerinin Sentezi

Karbonhidrat zincirinin oluşumu, ksilozun UDP ksilozdan serin'in hidroksil grubuna aktarılmasıyla başlar, bu reaksiyon ksilotransferaz tarafından katalizlenir. Sonra iki galaktoz molekülü eklenir, sonra triheksozid bağlanma bölgesini tamamlarlar, bunu da sırasıyla asidik ve aminoşekerlerin ardışık eklenmesi ve baz D-glukronil kalıntılarının L-glukronile dönüşümü izler [31].

Sülfat Gruplarının Eklenmesi

Karbonhidrat zincirinin sülfatlanması, sülfatlanacak monosakkaritin uzayan karbonhidrat zincirine eklenmesiyle gerçekleşir. Sülfatın kaynağı 3'-

fosfoadenozil 5'-fosfosülfattır (PAPS). Sülfotransferazlar karbonhidrat zincirini özel bölgelerden sülfatlar (sülfatlanmış GAG'a örnek kondroitin sülfat verilebilir) [31, 33].

2.5.4. GAG yıkımı

GAG'ların polisakkarit zincirlerinin yıkımı endoglikozidazlar, ekzoglikozidazlar ve sülfatazlarla sağlanır.

Diğer biyomoleküllerin çoğu gibi GAG'larda hem sentez hem yıkılıma uğradıklarından dönüşüm geçirirler. Erişkin dokularda genellikle GAG'lar nisbeten yavaş bir dönüşüm gösterirler, yarı ömürleri günlerden haftalara kadar bir düzen içerisinde [37]. Yarı ömrü 120 gün olan keratan sülfat hariç GAG'ların yarı ömürleri oldukça kısadır [31].

Biri dışında tümü ortak bir mekanizmayı paylaşır [37], parçalayıcı enzimin (genellikle lizozomda lokalize) aktivitesindeki yetersizlik muhtelif dokulara belirgin bir substrat birikimi ile neticelenir [31, 37]. Substratın doku dağılımı ve yetersizliğin ciddiyetine bağlı olarak bu durum organ büyümesi, kemik ve cilt yapılarının bozuklukları, mental gerileme ve diğer belirtilerle sonuçlanır. Tek istisna lizozomal enzimlerin 'mislokasyonu' ile sonuçlanan tip I hücre hastalığıdır.

Hiyaluronidaz bir endoglikozidazdır, Hiyaluronik asit ve Kondroitin sülfatın her ikisi üzerinde de etkilidir.

Beta-glukuronidaz bir ekzoglikozidazdır. Substratları Dermatan sülfat, Kondroitin sülfat ve Hiyaluronik asidi kapsar.

Beta-D Asetilhekzosaminidaz pek çok memeli dokusunda mevcut bir ekzoglikozidazdır. Bu enzimin substratları gangliozitler, Kondroitin sülfatları,

Hiyaluronik asit ve Dermatan sülfatı, Keratan sülfat I ve Keratan sülfat II'yi kapsar [37].

2.5.5. GAG çeşitleri

Hiyaluronik asid, Heparin, Heparan Sülfat, Keratan Sülfat, Kondroitin Sülfat, Dermatan sülfat'dır [31- 37]. Özelliklerinin bazıları açısından birbirlerinden farklıdır.

Bu özellikler:

Sülfat gruplarının varlığı veya yokluğu ile yapıdaki şekerler ile olan bağlantı konumları [34, 37], aminoşekerlerin kompozisyonu, uronik asidin kompozisyonu, bu bileşikler arasındaki bağlantılar, disakkaritlerin zincir uzunluğu, bağlandıkları çekirdek proteinlerin doğası, çekirdek proteinleriyle olan bağlantının doğası, dokusal ve subsellüler dağılımları ve biyolojik işlevleridir [37].

Hiyaluronik asit:

B[1→4] D-glukronik asit birimleri ile β [1→3] D-N-asetilglukozamin birimlerinin oluşturduğu disakkarit yapılarının tekrarlanarak birbirine bağlanması sonucu Hiyaluronik asit [115] meydana gelir.

Sülfatlanmamış olan tek GAG'dır, proteine kovalent olarak bağlı değildir [34,38].

Bakterilerde bulunmasının yanı sıra hayvan dokularında ekstrasellüler matriks ve eklem sıvılarında bulunan Hiyaluronik asit [34], kıkırdağın ve tendonların elastikiyetini sağlaması bakımından önemlidir [31, 34]. Çoğu kez proteinlerle bir arada bulunur [35]. Genellikle göbek bağından elde edilir [31, 33, 35, 36]. Bununla birlikte sinovial sıvıda, gözün vitrusunda [31, 35- 37], hücre adezyonunda, hücre hareket yeteneğinde, embriyo gelişiminde ve

büyüme hormonu destekleyicisi olarak canlı organizmada oldukça önemli rol üstlenmiştir. Ayrıca yaraların iyileşmesi, kanser metastazlarında, sinir bozuklukları ve artrit gibi hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Hiyaluronik asit polimerleri suda çok fazla çözünme yeteneği olan organik madde oldukları için buldukları sıvılarda vizkoziteyi arttırıcı bir ajan görev almalarından ötürü ayrıca önemlidirler [34, 116- 118]. Deride bulunan Hiyaluronik asit çeşitli maddelerin deriden geçiş hızını etkilemektedir. Hiyaluronik asidi parçalayan hiyalüronidaz çeşitli maddelerin dokuya girmesini kolaylaştırmaktadır. Patojen hastalıklara yol açan bazı mikroorganizmalarda bulunan bu enzim bazı patojenlerin organizmada yayılmasına yol açmaktadır. Enzimin dölllenme esnasında da etkili olduğu bilinmektedir [117].

2) Heparin:

İdoüronik asit ve N-asetil / N-sülfo glukozamin birimlerinin $\alpha[1\rightarrow4]$ O-glikozidik bağ ile bağlanmış biçimindedir [34, 35]. Akciğer, karaciğer, deri [34, 37], dalak ve kas da bulunur. Arterlerin hücre içi bileşi olması [31, 38] ve mast hücrelerinin yapısında [34, 37] bulunması nedeniyle diğer GAG'lerden farklıdır [34,38].

Ayrıca antikoagülan özellik taşıyan tek GAG'dır [33- 36, 38, 119]. Yani protrombin-trombin dönüşümü ve protrombinin fibrinojene etkisini inhibe ederek kanın pıhtılaşmasını engeller [34- 36].

Alerjik rinit, astım, kanser gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir [34, 116, 120]. Tromboz, flebit ve emboli tedavisi için parenteral olarak uygulanmaktadır [119].

3) Heparan sülfat:

Tekrarlanan disakkarit yapıları glukronik asit ile $\alpha[1\rightarrow4]$ O-glikozidik bağ yapmış olan ve N-asetil /N-sülfo glukozamin birimlerinden oluşmaktadır [34, 120, 121].

Önceleri ekstrasellüler matrikste sadece yapı iskeleti olarak bilinmesine rağmen, şimdilerde hücre düzeninde kritik rolleriyle çok fonksiyonlu bir oyuncu olarak görülmektedir. Zincirindeki yüksek sülfat ve polimorfik dizlerinden dolayı fazlaca değişken yapısıyla GAG ailesinin bir üyesidir [122].

Bütün hayvan dokularında bulunan bir polisakkarit türevi olup [34], bütün hücre yüzeylerinde [31, 38], hücre membranında [31, 33, 34, 38], kan damarlarında ve beyinde bulunur [33, 34]. HS oligosakkarit üretimi beyinde GM2 ve GM3 ganglionlarının sekonder birikimi, çeşitli beyin hücre tiplerinde büyük stoplazmik içeriğinin formasyonu, mitokondrial ATP sentezinin C alt biriminin birikiminde, beyin dokularında GAP43 mRNA ekspresyonunun düzensizliği ile ilişkilendirilir. Çocuklarda nörolojik hastalıkların erken başlangıcında çok ciddi ilerlemiş mental geriliğe ve premature ölümlere öncülük eder [39]. Tip IV kollajen ve lamininle beraber glomerul bazal membranın bileşicidir [t].

Heparinden farklı olarak antikoagülan özellik göstermemekle birlikte Heparan sülfat iskelet formunda daha az sülfatlanmış grup ve daha fazla asetillenmiş glukozamin taşımaktadır [31,33].

HS yan zincirleri HS proteoglikanların içindeki çekirdek proteinlerine şu üç sınıflandırmadan biri ile bağlanır:

1. hücre membranıyla ilişkili ve GPI çengeli olabilen
2. transmembran biçimleri
3. hücreler boyunca gizlenmiş ve ECM içine yerleşmiştir [123].

4) Keratan sülfat:

Molekül ağırlığı 4-19 kDa arasında değişen ve glukozamin ile galaktozdan meydana gelir [121]. Keratosülfat olarak da bilinir [125]. En heterojen glikozaminoglikandır [31,38]. Keratan sülfat I, Keratan sülfat II, Keratan sülfat III formunda proteoglikan zincirleri şeklindedir [34]. Özellikle keratan sülfat I kornea [31,34] ve kemikte, keratan sülfat II kıkırdak dokunun yapısında, keratan sülfat III ise beyinde bulunur.

Hücre yüzeyi ve ekstrasellüler matriks proteinlerine bağlanabilme özelliği vardır [34].

5) Kondroitin sülfat:

Organizmada A, B, C olmak üzere üç türü bulunmaktadır [119]. Glukronik asit ve N-asetil-D-galaktozamininden oluşan disakkarit birimlerinin tekrarlarından oluşmaktadır [38]. Temel disakkarit birimleri aynı olan kondroitin sülfat A ve C yapısında glukronik asit ve N-asetilgalaktozamin ile zaman zaman tekrarlanan sülfat grupları yer almaktadır. Kondroitin sülfat B yapısında glukronik asit yerine iduronik asit yer almaktadır [119]. En kısa polisakkarit zincirine sahiptir [38].

Yetişkinlerde, öğrenmenin ve hafızanın bir bölümünde ve hipotalamustaki nörohipofiz sistemde rol oynar. Aynı zamanda MSS'deki zarar ve hastalıklarda önemli bir role sahiptir.

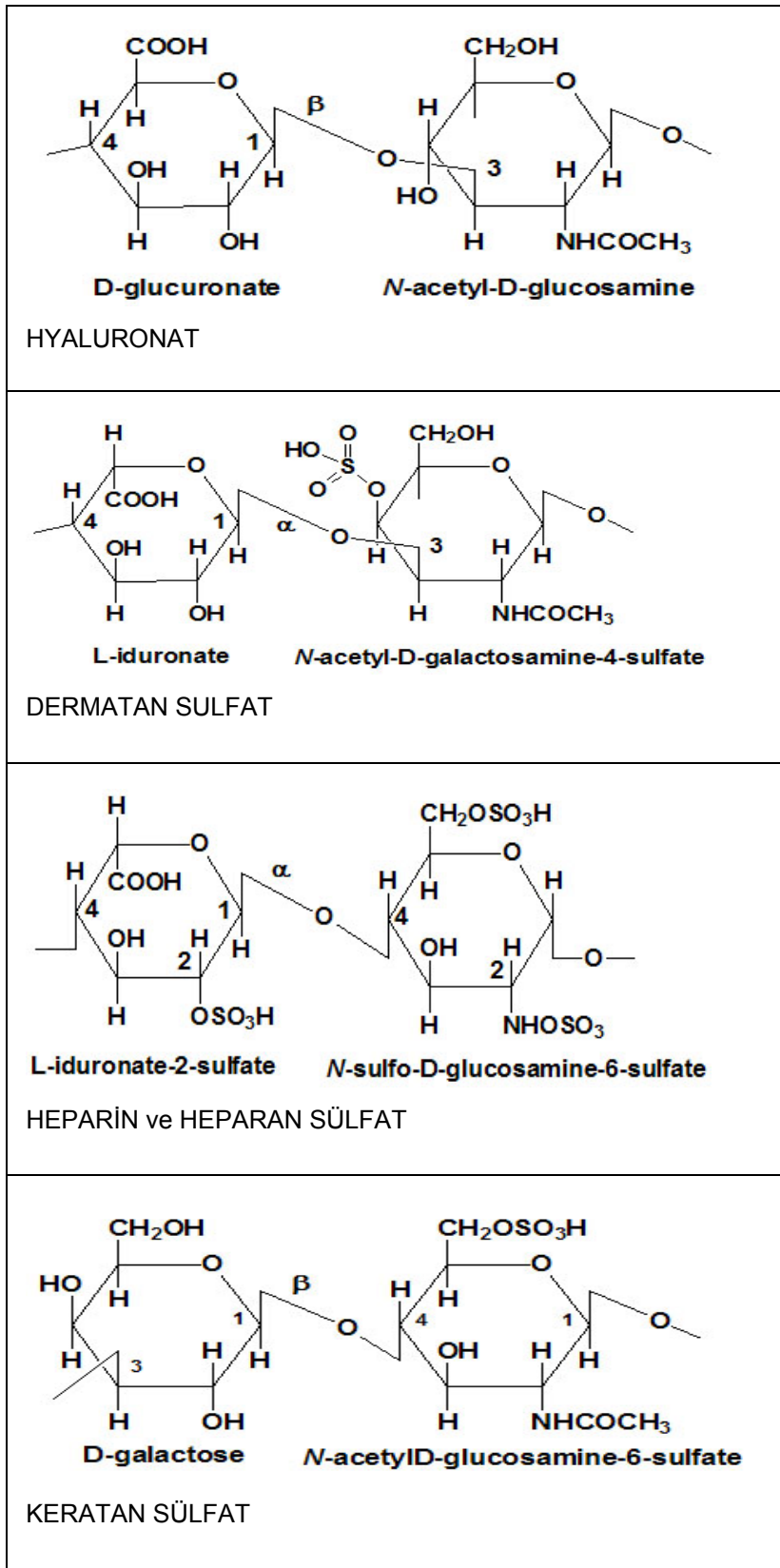
MSS'deki zararlardan sonra kondroitin sülfat glial yaraların bileşeninde ana durdurucudur. Ameliyatla alınan kondroitin sülfat, axonal rejenerasyonu ve fonksiyonel kazanımları düzenler. Aynı zamanda epilepsi, Alzheimers gibi hastalıklardaki patolojik aşamalara etki edebilir [113].

Kondroitin sülfat kornea, kıkırdak ve tendon yapısında bulunan ve alternatif şeker zinciri içeren sülfatlanmış GAG birimidir.

Kondroitin 4 sülfat [126] ve kondroitin 6 sülfat [127] olmak üzere iki farklı türde bulunur [34]. Genellikle kollajen ile bir arada ve mümkün olduğu kadar diğer proteinlerle bağlanmış olarak bulunur [35].

5) Dermatan sülfat:

Hayvanlarda yaygın olarak bulunur [37]. Çoğunlukla deride bulunduğu bilinen ve kondroitin B sülfat olarak da bilinir [34, 120]. Yapısal olarak kondroitin sülfat ve keratan sülfatı andırır [37]. Arter düz kas hücrelerinin sentezlediği ana GAG'dır. Plazmada LDL'ye bağlanır ve aterosklerozda önemli olabilir [38]. Deri, kan damarları, kalp kapakçıkları [31, 34], tendonlar ve akciğerlerde de bulunur [34]. Heparin benzeri antitrombik etkisi vardır. Fakat minimal tam kan antikoagülan ve kan lipid temizleyici aktiviteleri bulunur [38]. Dermatan sülfatın koagülasyon, kardiovasküler hastalıklar enfeksiyon, tekrarlayan yaralarda ve fibrozda tedavi edici özellik gösterdiği kanıtlanmıştır [34].



Şekil 3.3 GAG çeşitleri [128]

2.5.6. Temel hastalıklar ve yaşlanma ile ilişkisi

Mukopolisakkaridozlar (MPS) klinik olarak progresif ilerleme gösteren değişik dokularda GAG birikimiyle karakterize olan, iskelet ve hücre dışı matriks deformiteleriyle sonuçlanan kalıtsal bir bozukluktur [31]. Mukopolisakkaridozis tip III bir hücre patolojisidir ve beyin inflamasyon ürünüdür. GAG'ın spesifik bir tipi olan Heparan sülfatın anormal bir şekilde

Sülfatlanmış veya asetillenmiş oligosakkarit fragmentleridir [39]. Heparan sülfat ve Dermatan sülfat yıkımında gerekli enzimlerin eksikliğinde görülen Hunter ve Hurler Sendromları mukopolisakkaridozlara örnektir [31].

Hiyaluronik asit tümör hücrelerinin ekstrasellüler matriksten göçlerine müsaade etmede önemli olabilir. Tümör hücreleri GAG'nın büyük ölçüde artmış miktarlarını sentez etmek için fibroblastları uyarabilmektedirler; bundan dolayı belki de kendi yayılımlarını kolaylaştırmaktadır. Bazı tümör hücreleri yüzeylerinde daha az heparan sülfat içerirler; bu durum belki de bu hücrelerin sergilediği adezyon (yapışma) noksanlığında bir rol oynamaktadır.

Arterial duvarın intiması Hiyaluronik Asit, Kondroidin Sülfat, Dermatan Ve Heparan sülfat proteoglikanları içerir. Bu proteoglikanlardan Dermatan sülfat plazmanın düşük dansiteli lipoproteinlerini bağlar. Ayrıca Dermatan sülfat arterial düz kas hücreleri tarafından sentezlenen temel GAG'dır. Arterlerdeki aterosklerotik lezyonlarda çoğalan bu tip hücreler olduğundan, Dermatan sülfat aterosklerotik plağın oluşumunda da önemli bir rol oynayabilir.

Kıkırdakdaki Kondroitin sülfat miktarı yaş ile azalır halbuki Keratan sülfat ve hiyaluronik asit miktarları artış gösterirler. İlerleyen yaş ile ciltte bazı GAG'ların miktarlarının değiştiği gözlenir ve bu durum yaşlılarda bu organda gelişen karakteristik değişikliklerin açıklanmasına yardımcı olur [37].

Çizelge 2.1 Mukopolisakkoridozis hastalıkları [129]

Türü:Sendromu	Enzim Eksikliği	Etkilenen GAG	Belirtileri
Hurler MPSIH (MPS1H)	α -L-iduronidase	dermatan sülfat, heparan sülfat	kornea Clouding, dystosis Multiplex, organomegaly, kalp hastalığı, boylu, zeka geriliği, erken ölüm
Scheie MPSIS (MPS1S)	α -L-iduronidase	dermatan sülfat, heparan sülfat	kornea Clouding; aort kapak hastalığı; sertleşme ortak, normal zeka ve yaşam süresi
Hurler-Scheie MPSIHS (MPS1HS)	α -L-iduronidase	dermatan sülfat, heparan sülfat	I H ve I S arasında orta seviyede
Hunter MPSII (MPS2)	L-iduronate-2-sulfatase	dermatan sülfat, heparan sülfat	hafif ve ağır formları, organomegaly, kornea Clouding, zeka geriliği
Sanfilippo A MPSIIIA (MPS3A)	heparan N-sulfatase	heparan sülfat	derin ruhsal bozulma, hiperaktivite, deri, beyin, akciğerler, kalp ve kas MPS her 4 tip etkilenir-III
Sanfilippo B MPSIIIB (MPS3B)	α -N-acetyl-D-glucosaminidase	heparan sülfat	fenotip III A benzer
Sanfilippo C MPSIIIC (MPS3C)	acetylCoA: α -glucosaminide-asetiltransferaz	heparan sülfat	fenotip III A benzer
Sanfilippo D MPSIIID (MPS3D)	N-acetylglucosamine-6-sulfatase	heparan sülfat	fenotip III A benzer
Morquio A MPSIVA (MPS4A)	galaktoz-6-sulfatase	keratan sülfat, kondroitin 6-sülfat	kornea Clouding, diş hipoplazisi, aort kapak hastalığı, belirgin iskelet anomalileri
Morquio B MPSIVB (MPS4B)	β -galaktozidaz	keratan sülfat	hastalık IV benzer şiddeti
MPS V, atama artık kullanılabilir			
Maroteaux-Lamy MPSVI (MPS6)	arylsulfatase B de denir N-acetylgalactosamine-4-sulfatase	dermatan sülfat	Normal zeka, kornea Clouding, kaba yüz hatları hafif şiddetli, aort kapak hastalığı, dystosis multiplex kadar 3 farklı formları
Sly MPSVII (MPS7)	β -glucuronidase	heparan sülfat, dermatan sülfat, kondroitin 4 -, 6-sülfat	hepatosplenomegali, dystosis Multiplex, şiddeti geniş spektrumu, fetalis hidrops

3. MATERYAL METOT

Çalışmalar Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde 200–250 g ağırlıkta 48 adet Wistar-Albino tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GÜDAM) 'nde bakıldı. Deney öncesi ve deney süresince serbest yem ve su ile beslenen hayvanlar, deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldılar.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her grupta 6 adet olmak üzere 4 ayrı rat grubu oluşturuldu ve gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı;

Kontrol Grupları

1. Dorsolateral eksizyonel yara yapılan grup (deneyin 1. günü feda edildi)(n=6)
2. Dorsolateral eksizyonel yara yapılan grup (deneyin 5. günü feda edildi)(n=6)
3. Dorsolateral eksizyonel yara yapılan grup (deneyin 7. günü feda edildi)(n=6)
4. Dorsolateral eksizyonel yara yapılan grup (deneyin 14. günü feda edildi)(n=6)

Deney Grupları

5. Dorsolateral eksizyonel yara yapılıp ip EGF uygulanan grup (deneyin 1. günü feda edildi)(n=6)
6. Dorsolateral eksizyonel yara yapılıp ip EGF uygulanan grup (deneyin 5. günü feda edildi)(n=6)
7. Dorsolateral eksizyonel yara yapılıp ip EGF uygulanan grup (deneyin 7. günü feda edildi)(n=6)
8. Dorsolateral eksizyonel yara yapılıp ip EGF uygulanan grup (deneyin 14. günü feda edildi)(n=6)

Operasyon sonrası analjezinin sağlanması için rodentlerde en çok tercih edilen farmakolojik ajan olan parasetamol içme suyuna 2 mg/ml olacak şekilde kullanıldı. Ratlar deney süresince serbest yem ve su ile beslendi. Operasyonun 1, 5, 7 ve 14. gününde hayvanlara ip olarak tez doz 10 ng EGF verilerek sabah saat 10.00 da ağırlıkları tartılarak kalplerinden kan çekilmek suretiyle feda edildiler. Ardından beyinleri hemen çıkartılarak bulaşmayı önleyecek şekilde -20°C de saklandı.

3.3. Yara Modelinin Oluşturulması

Sabah saat 10:00 da hayvanların önce standart terazide ağırlıkları saptandı. Daha sonra ketamin ve ksilazin intraperitoneal olarak enjekte edilerek genel anestezi sağlandı. Hayvanın dorsalinde, medulla spinalisin her iki yanında 2 cm uzunluğunda olacak şekilde, dorsolateral eksizyonel yaralar yapıldı. Eksizyonel yaradan sonra yara dudakları 2 süturla adapte edildi. EGF uygulanan grupta da yaralanmayı takiben uygulanacak olan EGF (Sigma, E-4127 0.1 mg) serum fizyolojik içerisinde hazırlanarak günde 1 doz olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulandı (10 ng EGF 1x1) .

3.4. Yöntemler

3.4.1. Dokuda GAG Tayini

Dokulardaki GAG düzeyi modifiye Whiteman Metodu ile çalışıldı [130].

Doku hazırlanması:

Her bir numune için 200 mg total beyin dokusu 1800 µl sodyum asetat tamponu ile homojenize edili. Supernatantlar kullanıldı. 4000 rpm' de 20 dk santrifüjlendi.

Deney yapılışı:

Kimyasallar:

%0.005'lik Alcian Blue 86x

50 mM MgCl₂

50 mM Sodyum Asetat tamponu (pH=5.8)

% 0.01'lik Heparan sülfat

% 0.005'lik SDS

Etanol

GAG solüsyonu hazırlanması: (100 ml)

50 mM MgCl₂' nin pH=5.8' e ayarlanır.99 ml olarak bırakılır.5 mg Alcian Blue 1 ml dH₂O ile çözülür. Çözülen boya solusyona eklenir (hacim 100 ml olacak şekilde hazırlanır).

Sodyum Asetat Tamponunun Hazırlanması:

A: 0.2 M Asetik Asit→11.5 ml dH₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.

B: 0.2 M Sodyum Asetat → 16.4 g dH₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.

A'dan 3 ml, B' den 47 ml alınıp üstü dH₂O ile tamamlanır.

200 µl supernatanta 4 ml GAG solusyonu eklenir ve vortekslenir. Oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilir. 3500-5000 rpm' de 20 dk santrifüjlenir. Numunelerin supernatantı dökülüp pelletleri kullanılır. Her bir numunenin pelletine 4 ml etanol ilave edilir. Vorteksledikten sonra 3500-5000 rpm' de 20 da santrifüjlenir. Bu şekilde 2 kere yıkanır ve süpernatantları dökünür. Sonra her bir numuneye 4 ml SDS eklenir ve tekrar vortekslenir 620 nm'de okunur (Kör= dH₂O).

3.4.2. Dokuda protein tayini

Dokulardaki protein konsantrasyonunun tesbiti Lowry metodu ile çalışıldı [131]. Çalışma esnasında hazırlanan solüsyonlar;

A solüsyonu:

I.Basamak:0.4 gr NaOH' i 100 ml distile suda çözülür.

II.Basamak:2 gr Na₂Co₃ I.basamakta hazırlanan çözeltide eritilir. Son hacim yine bu çözeltiyle 100 ml' ye tamamlanır.

B solüsyonu:

%1lik CuSo₄x5H₂O çözeltisi hazırlanır.

C Solüsyonu:

%2lik potasyum sodyum tartarat (x4H₂O) çözeltisi hazırlanır.

ABC Solüsyonu, Folin, BSA çözeltileri günlük hazırlanır. Bunlar;

ABC solüsyonu: A solusyonu stoğundan 1 ml. numune sayısı kadar alınır. Sırasıyla B ve C solusyonlarından da 160 µl. alınarak hazırlanır.

FOLİN: 1 ml folin: 1ml distile su olacak şekilde hazırlanır.

BSA: 0.001 gr BSA'ya 1ml distile su olacak şekilde hazırlanır.

Folin hazırlandıktan sonra karanlık ortamda saklanmalıdır.

Numune için:

10 µl supernatan

90 µl su

1000 µl ABC

10 dk karanlıkta inkübasyon

100 µl folin

30 dk karanlıkta inkübasyon

800 µl su ile hazırlanır

Standart için :

10 µl BSA

90 µl su

1000 µl ABC

10 dk karanlıkta inkübasyon

100 µl folin

30 dk karanlıkta inkübasyon

800 µl su ile hazırlanır

Kör için:

100 µl su

1000 µl ABC

10 dk karanlıkta inkübasyon

100 µl folin

30 dk karanlıkta inkübasyon

800 µl su ile hazırlanır

Numune ve standart 550 nm' de okunur.

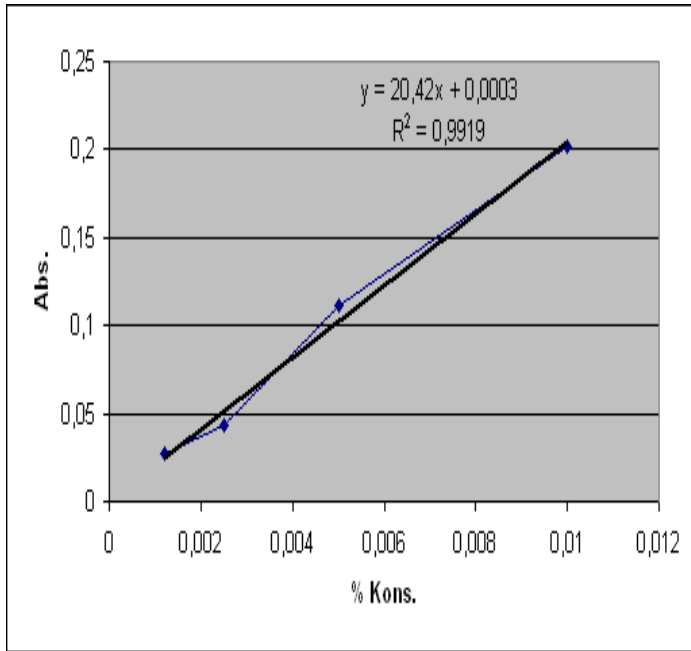
3.5. İstatistiksel değerlendirme

Bütün değerler aritmetik ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Bulgular Mann Whitney U test ile değerlendirildi. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Beyin Dokusu GAG Düzeyleri

GAG seviyelerinin tayini için kullanılan GAG spektrofotometrik ölçümüne ait standart grafik Şekil 4.1.de verilmiştir.



Şekil 4.1. GAG ölçümüne ait standart grafik

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 1. gününde beyin dokularına ait GAG düzeyi 1 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $0,203\pm 0,03$, kendi kontrol grubunun GAG düzeyi $0,098\pm 0,014$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 1. gününe ait beyin dokusunda GAG salınım düzeyi anlamlı olarak artmışken, kendi kontrol grubunun GAG düzeyinde bir değişiklik gözlenmemiştir.

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 1 günlük kesi yarası + i.p EGF grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $0,086\pm 0,015$ ' dir. Kendi kontrol grubunun GAG düzeyi ise $0,086\pm 0,015$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 5. gününe ait beyin dokusunda GAG salınım düzeyi anlamlı olarak azalmışken, kendi kontrol grubunun GAG düzeyinde bir değişiklik gözlenmemiştir.

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 7. gününde beyin dokularına ait GAG düzeyi 1 günlük kesi yarası + ip EGF grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $0,100\pm 0,220$. Kendi kontrol grubunun GAG düzeyi 1 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $0,058\pm 0,009$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 7. gününe ait beyin dokusunda GAG salınım düzeyi ve kendi kontrol grubunun GAG düzeyi anlamlı olarak azalmıştır.

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 14. gününde beyin dokularına ait GAG düzeyi 5 günlük kesi yarası + ip EGF grubunun ve 14 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $0,120\pm 0,09$ ' dur. Kendi kontrol grubunun GAG düzeyi $0,073\pm 0,018$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 14. gününe ait beyin dokusunda GAG salınım düzeyi anlamlı olarak artmışken, kendi kontrol grubunun GAG düzeyinde değişiklik gözlenmiştir.

4.2. Beyin Dokusu Protein Düzeyi

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 1. gününde beyin dokularına ait 1 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında protein düzeyi $1,086\pm0,325$ 'dir. Kendi kontrol grubunun protein düzeyi $0,510\pm0,160$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 1. gününe ait beyin dokusunda protein düzeyi ve kendi kontrol grubunun protein düzeyinde de bir değişiklik gözlenmemiştir.

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun protein düzeyi 5 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $2,513\pm0,937$ ' dir. Kendi kontrol grubunun proteinin düzeyi ise $0,490\pm0,190$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 5. gününe ait beyin dokusunda beyin protein düzeyi artmışken, kendi kontrol grubunun protein düzeyinde de bir değişiklik gözlenmemiştir.

Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 7. gününde beyin dokularına ait protein düzeyi $1,050\pm0,449$ 'dur. Kendi kontrol grubunun proteinin düzeyi 1 günlük ve 5 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $1,050\pm0,449$ ' dur.

EGF uygulanan grubun 7. gününe ait beyin dokusunda beyin protein düzeyinde değişiklik gözlenmemişken, kendi kontrol grubunun protein düzeyinde de artma gözlenmiştir.

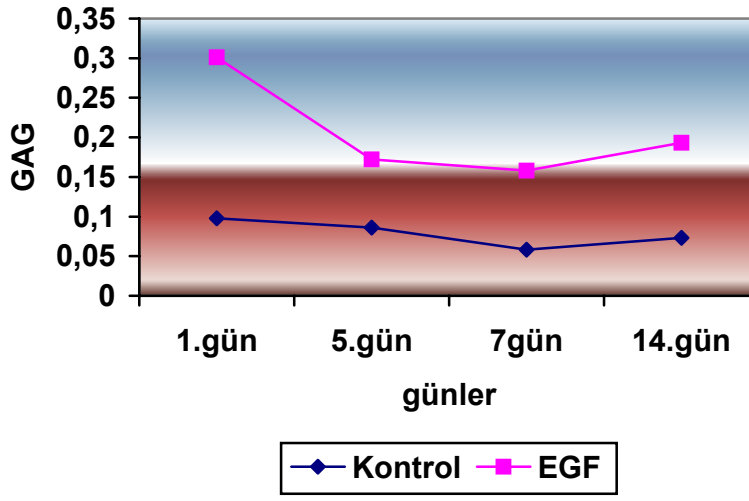
Eksizyonel sırt yarasını takiben i.p. olarak uygulanan EGF'li grubun 14. gününde beyin dokularına ait protein düzeyi 1 günlük kesi yarası + ip EGF grubunun, 7 günlük kesi yarası + ip EGF grubunun ve 14 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $1,880 \pm 0,204$ 'dür. Kendi kontrol grubunun proteinin düzeyi 1 günlük ve 5 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında $1,321 \pm 0,150$ ' dir.

EGF uygulanan grubun 14. gününe ait beyin dokusunda protein düzeyi ve kendi kontrol grubunun protein düzeyinde artış gözlenmiştir.

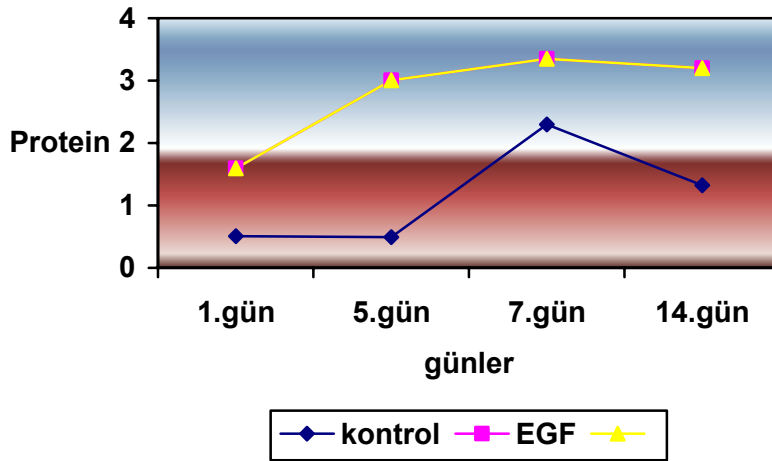
Çizelge 3.1. i.p. EGF uygulamasında beyin dokusu GAG ve protein düzeyleri

		GAG (mg/g doku)	PROTEİN (mg/g doku)
1 GÜNLÜK YARA	KONTROL	0,098±0,014	0,510±0,160
	İP	0,203±0,53 a	1,086±0,325
5 GÜNLÜK YARA	KONTROL	0,086±0,015	0,490±0,190
	İP	0,086±0,01 b	2,513±0,937
7 GÜNLÜK YARA	KONTROL	0,058±0,009 a	2,300±0,883 a,c
	İP	0,100±0,022 b	1,050±0,449
14 GÜNLÜK YARA	KONTROL	0,073±0,018	1,321±0,150 a,c
	İP	0,120±0,009 d,g,a	1,880±0,204 b,f,g

- a.= $p < 0,05$ 1 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında
- b.= $p < 0,05$ 1 günlük kesi yarası+ ip EGF grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında
- c.= $p < 0,05$ 5 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında
- d.= $p < 0,05$ 5 günlük kesi yarası+ ip EGF grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında
- e.= $p < 0,05$ 7 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında
- f.= $p < 0,05$ 7 günlük kesi yarası+ ip EGF grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında
- g.= $p < 0,05$ 14 günlük kesi yarası grubunun aynı değeriyle karşılaştırıldığında



Şekil 4.2. EGF ve kontrol grubuna ait GAG düzeylerinin günlere göre değişimi



Şekil 4.3. EGF ve kontrol grubuna ait Protein düzeylerinin günlere göre değişimi

5. SONUÇLAR

Yara yumuşak dokuların kendi anatomik yapı ve fonksiyonlarının bozulmasıdır [132, 133]. Yara iyileşmesi travma ile başlayan ve yeni doku oluşumu ile sonuçlanan hücresel ve biyokimyasal olaylar sürecidir [134]. Operatif veya travmatik dokunun hasar görmesini takiben, her organizmanın öncelikli görevi; kanamayı durdurma, enfeksiyonu önleme, bozulan anatomik bütünlük ile fonksiyonel yapıyı onarmaktır [135- 137].

Normal yara iyileşmesi, dokular arası birçok hücresel aktivitenin düzenli ve ard arda çalışması ile gerçekleşir. Bu aktiviteler; fagositoz, kemotaksis, mitogenez, kollajen sentezi, diğer matriks komponentlerinin sentezidir.

Çalışmamızda normal yara iyileşme sürecinde beyin dokusunun bu süreçteki rolü ortaya konulmuş ve sadece 7.günde beyin GAG düzeyinde bir azalma varmış gibi görünse de genel olarak bakıldığında beyin GAG salınımının periferik yaralanmadan fazla etkilenmediği sonucuna varılmıştır.

Benzer bir çalışmada Yeo ve arkadaşları yara dokusunda yaptıkları çalışmalarda granülasyon dokusunda normal deriden daha fazla GAG sentezinin arttığını tesbit etmişlerdir. Fakat yaptıkları çalışmalar GAG'ın yara iyileşmesindeki rollerinin tam olarak anlaşılmasının yetersiz olduğunu düşündürmüştür [138].

Yine Savage ve arkadaşları hipertrofik skar, normal skar ve normal deri dokularından izole ettikleri fibroblastları, onların büyüme eğrileri, protein içerikleri ve GAG sentezi karşılaştırarak, in vivo bulunan skar ve derideki GAG içeriklerinde değişimler olduğunu tesbit etmişlerdir [139].

Olczyk ve arkadaşları yaptıkları çalışmada GAG'ın Ekstrasellüler matriks'in organizasyonu ve metabolizmasının düzenlenmesinin yanısıra hücre göçü

uyarıcısı, farklılaşması ve proliferasyonu ile yara iyileşmesinin her aşamasında anahtar bir rol oynadığını gözlemlemişlerdir [29].

Bu anlamda GAG ve yara iyileşmesinde görev alan büyüme faktörleri arasında sıkı bir ilişkiden söz edilmektedir.

Kosir ve arkadaşları erken yara iyileşmesinin önemli bir fazında iyileşme boyunca remodeling için uygun hidrofilik matriks formunda fibroblastlar tarafından GAG' ların salınımını içerdiğini belirlemişlerdir [140].

Fibroblastlar onarım süreci esas elementleridir ve dokuların yeniden yapılanması sürecinde kullanılan yapısal proteinlerin büyük bölümünün üretiminden sorumludur. Yaralanmadan sonraki 3.-4. günlerde görülür [132, 141, 142]. Fakat 7. gün pik seviyeye ulaşır [132, 137, 143]. Yara ilk 5 gün önemli bir direnç kazanmaz.

Çalışmamızda i.p. olarak EGF uygulanan ratlarda, fibroplazi fazının yoğun olduğu 5.gün, artan fibroblastlardan dolayı beyin GAG salınımı azalmaya başlamıştır. Yani damar proliferasyonu ve fibroblast artışı şeklinde başladığı 7. güne kadar GAG salınım düzeyi azalmıştır. Fakat fibroblastların pik seviyeye ulaştığı bu fibroplazi fazında, 7. günde GAG düzeyi tekrar artmaya başlamıştır.14. günden sonra ise yara kendini toparlamaya başladığından dolayı biyolojik sistem başa dönmüş ve beyin GAG salınımı artmaya başlamıştır.

Savage ve arkadaşları büyüme faktörlerinin, yara dokusundaki yükselen fibroblastlar tarafından skar oluşumunda GAG'ın etkisinin olabileceğini, PDGF büyüme faktörünün hücre demetlerini skar fibroblastlarından normal deri fibroblastları daha verimli uyardığını ve GAG sentezinin deri ve skar fibroblastlarında arttığını tesbit etmişlerdir [144].

Fan ve arkadaşları, GAG yara iyileşmesi modülatörü olduğu gibi, büyüme faktörleri tarafından kollajen oluşumu ve dermal fibroblast oluşumun aracılık edebileceği, yara ve normal derideki fibroblastlar tarafından büyüme faktörlerinin üretimini uyarabileceğini ve in vivo yara iyileşmesine etkilerinin olabileceğini gözlemlemişlerdir [30].

Webber ve arkadaşları yaptıkları çalışmada TGF β -1' in farklılaşmaya dayalı miyofibroblastın önemli bir kaynağı olduğunu ve buldukları son verilerin HS'ın bu sürecin önemli bir modülatörü olduğunu göstermiştir [145].

Kondroitin sülfat- GAG'lar, EGF bağımlı olgunlaşma, hücre göçü ve sinir kök-progenitör hücrelerin gliogenesisi üzerine bir fren gibi etki etmektedir [146].

Yine kobaylarda yapılan ve EGF ile desteklenen yaralarda, desteklenmeyenlere oranla, daha fazla kollajen ve glikozaminoglikan toplandığı, ayrıca selülaritenin arttığı gösterilmiştir [147].

Diğer taraftan çalışmamızda periferik yaralanmalarda beynin bu yaralanmaya karşı verdiği biyolojik yanıtın ortaya konulması amacıyla beyin dokusundan salgılanan protein düzeyleri incelenmiş ve kontrol grubunda yara direncinin en yüksek olduğu 7.günde yara iyileşmesinin temel unsuru olan protein sentezini arttırmak için protein seviyesi hızlı bir artış göstermiştir. Buna ilaveten ip olarak EGF uygulanan ratlarda beynin yara iyileşmesine katkı olarak 14. günde yüksek EGF ye bağlı olarak beyinde protein düzeyi artmıştır.

Beyin dokusu protein seviyelerindeki bu artışın beyinden salınan protein yapısındaki hormonlar, büyüme faktörleri ve/veya mediatörler ile ilişkili olabileceği ve beynin bu yolla yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Bu düşüncemizi destekleyen bir araştırmada ağlıküleki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, beyinden salınan protein tabiatlı olan Growth factor'un, yara iyileşmesinde epitelizasyonu arttırıcı etkisi olduğunu düşündürecek veriler bulmuşlardır [148].

Tüm bu bilgiler ışığı altında periferik yaralanmalarda, normal yara iyileşme sürecinde beyin GAG düzeylerinin etkilenmediği ancak sistemik uygulanan EGF' nin özellikle 7.günde beyin GAG salınımını arttırdığı, buna karşı doku onarımının en yüksek olduğu 7.günde protein sentezini arttırarak beyin yara iyileşmesine katkı sağlamaya çalıştığı sonucuna varılmıştır. Beyinin bu süreçteki rolünün ortaya çıkarılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Kalaycı, G., "Genel cerrahi I-II", **Nobel tıp kitabevi**, 2004.
2. Bennett, N.T., Schultz, G.S., "Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors", **Am. J. Surg.**, 165 (6) : 728-738 (1993).
3. Steed, D. L., "Modifying the wound healing response with exogenous growth factors", **Clinics in Plastic Surgery**, 25: 397-405 (1998).
4. Çelebi, N., Türkyılmaz, A., Gönül, B., Özoğul, C., "Effects of EGF microemulsion formulation on the healing of stress-induced gastric ulcers in rats", **J. Controlled Release**, 83 :197–210 (2002).
5. Gönül, B., Akbulut, K.G., Özer, Ç., Yetkin, G., Çelebi, N., "The Role of Transforming Growth Factor Alpha Formulation on Aspirin-Induced Ulcer Healing and Oxidant Stress in the Gastric Mucosa", **Surg. Today**, 34: 1035-1040 (2004).
6. Sayan, H, Gönül, B., Akbulut, K.G., Türkyılmaz, A., Çelebi, N., "Effects of epidermal growth factor formulations on liver malondialdehyde and reduced glutathione levels in stress ulcer model", **FABAD J. Pharm. Sci.**, 26: 61–6 (2001).
7. Yeler H., Yüçetaş Ş., Yılmaz D., Öztürk M., Arıcı S., "Epidermal büyüme faktörü (EGF)' nün diş çekim tarası üzerine etkisinin incelenmesi" **Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi** 2(1): 1 (1999).
8. Ural, M., Koçak, A., Aksoy, A., "Yüz ve çene gelişimine etki eden faktörler", **S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.** 14(1): 41-44 (2007).
9. Cohen, S. "Isolation of a Mouse Submaxillary Gland Protein Accelerating Incisor Eruption and Eyelid Opening in the New-Born Animal", **The Journal Of Biological Chemistry**, 237(5): 1555-1563 (1962).
10. Cohen, S., Taylor, J. M., "Part I. "Epidermal Growth Factor", **Chemical and Biological Characterization Recent Prog**, Horm. Res., 30: 533-550 (1974).
11. Rothe. M., Falanga, V., "Growth Factors", **Arch. Dermatol.**, 125: 1390-1398 (1989).

12. Türker , M., Erbaş, D., Yılmaz, D., “SMG Ekstresinin Submandibular Bez ve Kan Prostaglandin Seviyelerine Etkileri” , **G. Ü. Tıp Fak. Dergisi**, 5(1): 109-115 (1989).
13. Yu, J., Nail, J. OJ, Lanzafame, RJ. “Expression of Growth Factors in Early Wound Healing in Rat Skin”, **Lasers Surg. Med.**, 15(3): 2X1-289 (1994).
14. Groff, G., “Oncogenes And Growth Factors”, **Canada**, 65-72 (1987).
15. Gregory, H., “Isolation and structure of urogastrone and its relationship to epidermal grown factor”, **Nature**, 257: 325-327 (1975).
16. Nave, K. A., Probstmeier, R.. Schachner. M.” Epidermal Growth Factor does not Cross the Blood -Brain Barrier” , **The Journal of Investigative Dermatology**. 94(5): 624-62 (1985).
17. Pratt, R. M., “Role of Epidermal Growth Factor İn Embryonic Development”, **Current Topics in Developmental Biology.**, 22(8): 175-193 (1987).
18. Bower, J. M., Camble, R., Gregory, H., Gerring, E. L., Vvillshire, I. R., “The Inhibition of Gastric Acid Secration by Epidermal Growth Factor” , **Experientia**, 31(7): 825-826 (1975).
19. Carpenter, G., “Epidermal Growth Factor Handbook”, **Ex. Pharmac.**,57: 89-123 (1981).
20. Akbulut, K.G., Gönül, B., Türkyılmaz, A., Çelebi, N., “The role of epidermal growth factor formulation on stres ulcer healing of the gastric mucosa” , **Surg.Today**, 32: 880-883 (2002).
21. Klegerman, M. E.: Plotnikoff. N. P. , M. E., Groves . M. J., (Eds), “Proteins as Biological Response Modifiers in Klegerman”, **Pharmaceutical Biotecnology Interpharm**, Press, USA, (1992).
22. Konturek. S. J.. Dembinski. A., Vvarzecha. Z., Brzozovvski , T., Gregor, H., “ Role of Epidermal Growth Factor in Healing of Chronic Gastrodedonal Ulcers in Rats” , **Gastroenterology**, 94: 1300-1307 (1988).
23. Laato, M., Niinikoshi, J., Gerdin, B.,Lebel, L., “Stimulation of Wuond healing by epidermal grown factor”, **Ann. Surg. J.**, 203(14): 379-381 (1986).

24. NANNEY, L. B.: Epidermal and Dermal Effects of Epidermal Growth Factor During Wound Repair, **The Journal of Investigative Dermatology**, 94(5): 624-629 (1990).
25. Patt, L. M., Houck, J. C” Role of Polypeptide Growth Factors in Normal and Abnormal Growth”, **Kidney Jnt** , 23: 615 -610 (1990).
26. Yerushalmı, N., Arad, A., Margalit, R., “Molecular and Cellular Studies of Hyaluronic Acid-Modified Liposomes as Bioadhesive Carriers for Topical Drug Delivery in Wound Healing”, **Arch. Biochem. Biophys.**, 313(2): 267-273 (1994).
27. Wingren, U., Franzen. L., Larson, G. M.. Malcherek, P, Schultz, G.S., “Epidermal Growth Factor Accelerates Connective Tissue Wound Healing in the Perforated Rat Mesentary”, **J. Surg. Res.** 53(I): 48-54(1992).
28. Palanga, V., Eagstein, W.H.H., Bucalo, B., Harris, B., Carson, P., “Topical Use of Human Recombinant Epidermal Growth Factor (h-EGF) in Venous Ulcers.”, **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, 18(7) : 604-606 (1992).
29. Olczyk, P., Komosińska-Vassev, K., Winsz-Szczotka, K., Kuźnik-Trocha, K., Olczyk, K., “Hyaluronan: structure, metabolism, functions, and role in wound healing”, **Postepy. Hig. Med. Dosw.** (Online), 2(62): 651-9 (2008)
30. Fan, SQ., Qin, LY., Cai, JL., Zhu, GY., Bin, X., Yan, HS., “Effect of heparin on production of basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-beta1 by human normal skin and hyperplastic scar fibroblasts”, **J.Burn. Care Res.**, 28(5): 734-41 (2007)
31. Champe, P.C., Harvey, R.A., “Lippincott’s illustrated review, **biochemistry**, 2.nd ed ”, New Jersey, 147-157.
32. Holum, J.R., “Fundamental of general,organic,and biological chemistry, 6.th ed ”, **John Wiley-Sons**, Canada, 594-595 (1997).
33. Devlin, T.M., “Text book of biochemistry with clinical correlations, 3rd ” , **Wiley-Liss**, New York, 378-383 (1992).
34. Yenil, N., Kuzu, S., Ay, K., Ay, E., “Moonsakkarit birimlerinin O-glikozidik bağlanması; O-disakkarit oluşumları”, **C.B.Ü.Fen Bilimleri Dergisi**, 5(1): 59-74 (2009).
35. Karlson, H. C. P., “Tıp ve fen bilimleri için bikoKimya,11.th ed. ” , Telefoncu, A., **Sermet**, Kırklareli, 241-242 (1992).

36. Mathew, C.K., Holde, K.E , "Biochemistry", **The Benjamin-Cummings**, Canada, 287-288 (1990).
37. Murray, R. K., Mayes, P. A., Granner, D. K., Rodwell, V. W., "Harper's biochemistry", **Appleton-Lange**, 758-763 (1990).
38. İnternet: www.scribd.com/doc/.../TUSDATA-histofizyoloji-ozetnot
39. Tuna, M., "Kollajen, interlökin-1,ve glikozaminoglikan'ın santral sinir sistemindeki neovaskülarizasyona etkileri", Uzmanlık Tezi, **Çukurova Ünv. Tıp Fak. Nöroşirurji A.B.D.**, Adana, (1996).
40. Suarez, ER., Nohara, AS., Mataveli, FD., Matos, LL., Nader, HB., Pinhal, MA., "Glycosaminoglycan synthesis and shedding induced by growth factors are cell and compound spesific", **FMABC Growth factors**, 25 (1): 50-9 (2007).
41. Stashak, T. S., "Principles of wound healing. In: *Equine Wound Management* ", **Lea & Febiger**, Malvern, Pennsylvania, 1-15 (1991).
42. Sirko, S., von Holst, A., Weber, A., Wizenmann, A., Theocharidis, U., Götz, M., Falssner, A., "Chondroitin sulfates are required for fibroblast growth facto-2-depent proliferation and maintenance in neural stem cells and for Epidermal Growth Factor- depend migration of their progeny", *Stem Cells*, 28(4): 775-87 (2010).
43. Erdem, C.; Çelebi C., R. (ed.) "Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi", **TCDD Yayınları**, Ankara,1: 1-44 (1996).
44. Mark, R., Dykes P., Motley, R., "Clinical signs and procedures in dermatology, 1st ed.", **London** , 35 (1993).
45. Arnold, H. L., Odom, R. B., James, W. D., "Andews disease of the skin, 8th ed.", **Clinical Dermatology**; WB Saunders Company, Philadelphia, 15 (1990).
46. Habif, T. P., "Clinical Dermatology A.color Guide to Diagnosis and Therapy, 2nd ed.", **CV Mosby Company**, St.Louis, (1990).
47. Ericson, G., "Leg Ulcers, Diognosis and Treatment", **Trosa Tryckeri AB**, Sweden, 7 (1994).
48. Ausprunk, D.H., "Tümör Angiogenesis, in Houck, J.C. (ed): Chemical Messangers of the Inflammatory Process", **Amsterdam Elsevier**, North Holland, 317 (1979).

49. Schoefl, G. I., "Studies of inflammation. III: Growing capillaries: Their structure and permeability", *Vir-chows Arch. Pathol. Anat.*, 337: 97 (1963).
50. Skalli, O., Gabbiani, G., "The biology of the myofibroblast relationship to wound contraction and fibrocontractive diseases". in Clark R.A.F. and Henson P.M. (eds), *Plenum Publishing*, The molecular and Cellular Biology of Wound Repair, New York, 373 (1988).
51. İnternet: www.ctf.edu.tr/anabilimdallari/pdf/194/Yara_lyilesmesi.pdf
52. Kalaycı G, Genel cerrahi, cilt I-II, *Nobel Tıp Kitabevi*, 92- 105 (2002).
53. Dinçer, S., Gönül, B., Dinçer, N., Öz, E., Babül, A., Pınar, L., "Tavşan tam kesi yaralarına lokal olarak uygulanan EGF'nin yara dokusu çinko ve hidrokisprolin düzeylerine etkisi" *SBAD* (Sağ. Bil. Arş. Derg.) , 9 (19): 5-12 (1998).
54. Ryan, G. B., " Myofibroblasts in human granulation tissue", *Hum. Pathol.*, 5: 55 (1974).
55. Ordman, L. J., Gillman, T., "Studies in the healing of cutaneous wounds (in three parts)", *Arch.Surg.* , 98: 857, 883, 911 (1966).
56. Billingham, R. E, Russell, P. S.: "Studies on wound healing, with species reference to the phenomenon of contracture in experimental wounds in rabbit skin", *Ann. Surg.*, 144: 961 (1956).
57. Glenn F. Bierce, Thomas A. Mustue; "Pharmacologic enhancement of wound healing", *Annu Rev. Med.*, 46: 467-81 (1995).
58. Costa, R. M., Jesus, F. M., Aniceto, C., Mendes, M., "Double 'blind randomized placebo'controlled trial of the use of granulocyte macrophage colony stimulating factor in chronic leg ulcers", *Am.J.Surg.*, 173: 165-168 (1997).
59. Yavuzer, S., Anadolu, R., Juran, B., Erdem, C., "The effects of free radical scavengers and infrared laser irradiation on wound healing", *Journal of Ankara Medical School*, 13: 295-305 (1991).
60. Dinçer S., Babül A., Erdoğan D., Özgül L., Dinçer S.L., "Effect of Taurine on Wound Healing, Aminoacids", *Hatiboğlu Yayınları*, 59-71 (1996).
61. Engin, A., "Genel cerrahi; tanı ve tedavi ilkeleri", *Atlas Kitapçılık*, Ankara, 131-144 (2000).

62. Witte M. B., Burbul A., "General principles of wound heading", **Surg. Clin. N. Amer.**, 77: 509-258 (1997).
63. İnternet:www.gata.edu.tr/dahilibilimler/iç astalıkları/eğitim/hıt.asp?id=72
64. Sayek, İ., Temel Cerrahî, **Güneş Kitabevi**, 266-277 (2004).
65. Corson, J. D., Williamson, R. CN., "Surgery", **Mosby**, 29-57 (2001).
66. Seymour I.Schwartz, Editor in Chief, "Principles of Surgery", 89-96 **Mosby**, (2001).
67. Cotran, R. S., Robbins, S. L., "Basic Pathology, 5nd ed.", Çevikbaş, U., Kumar, V, **Nobel Kitabevi**, 39-86 (1994).
68. Mustoe, T. A., Porras-Reyes B.H., "Modulation of wound healing response in chronic irradiated tissues", **Clin Plast Surg.**, 20(3): 465-72 (1993).
69. Tibbs, M. K., "Wound healing following radiatipnt therapy:a review", **Radiotherapy and Oncology**, 42: 99-106 (1997).
70. Barbul, A., "Wound Healing", **The Surgical Clinics of North America**, 77: 3 (1997).
71. Schaffer, M., Weimer, W., Wider, S., Stülten, C., Bongartz, M., Budach, W., Becker, H-D., "Differential Experssion of İnflammatory Mediators in Radiation-Impaired Wound Healing", **Journal of Surgical Research**, 107: 93-100 (2002).
72. İnternet: [http:// www.orthoteers.org/galleryframe.aspx](http://www.orthoteers.org/galleryframe.aspx) (2003).
73. Özbek, N., Güneren, E., Yıldız, L., Meydan, D., Cakır, S., Coşkun, M., "The effect of pre-operative conventional and hyperarfctionated radiotherapy schedules on wound healing and tensile strength in rats: an experimental study", **Int J Oral Maxillofac Surg.**;34(2): 185-192 (2005).
74. David, J. H., Henri, F., "Cellular, biochemical and clinical aspects of wound healing", **Surg. Infections**, 3: 23-35 (2000).
75. Reiser, K. M., "Nonenzymatic glycation and enzymatic crosslinking in a model of wound healing; The effects of aging, diet end modulating agents", **J. Ger.Dermatol**, 1: 90-99 (1993).
76. Steenfos, H. H., "Growth factors and wound healing", **Scand Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.**, 28: 95-105 (1994)

77. Canalis E: "Clinical Review 35. Growth factors and their potential clinical value", **J. Clin Endocrinol Metab** 75(1): 1-4 (1992).
78. Lawrence, W.T., Diegelmann, R.F., "Growth factors and wound healing", **Clinics in dermatology**, 12: 157-169 (1994)
79. Das, M., "Epidermal growth factor: mechanism of action", **Int. Rev. Cytol.**, 78: 233-236 (1982).
80. Marti, U., Burwen, S. J., Janes, A. L., "Biological effects of epidermal growth factor with emphasis on the gastrointestinal tract on liver", **Ann. Update, Hepatol.**, 9(1): 126-138 (1989).
81. Internet: www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource...
82. Pratt, R. M., "Role of epidermal growth factor in embryonic development", **Current Topics in Developmental Biology**, 22(193): 75 (1987).
83. Schlessinger, J., Ulrich, A., Honnegger, A. M., Moolenaar, W. H., "Signal transduction by EGF receptor", Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, **Cold Spring Laboratory**, NY LIII: 515-519 (1998).
84. Nanney, L. B., Magid, M., Stoscheck, C. M., King, L. E., "Comparison of epidermal growth factor binding and receptor distribution in normal human epidermis and epidermal appendages", **J. Invest. Dermatol.**, 83: 385-393 (1984).
85. Sayan, H., Gönül, B., Akbulut, K.G., Türkyılmaz, A., Çelebi, N., "Effects of epidermal growth factor formulations on liver malondialdehyde and reduced glutathione levels in stress ulcer model", **FABAD J. Pharm. Sci.**, 26: 61-6 (2001).
86. Bynn, R. L., Orth, D. N., Cohen, S., Doyne, E. S , "Epidermal growth factor: Effect of androgens of adrenergic agents", **Endo.**, 95(3): 776-782, (1974).
87. Carpenter, G., Cohen, S., "Epidermal growth factor", **Ann. Rev. Biochem.**, 68: 194-216 (1979).
88. Perheentupa, J., Lakshman, J., Hoath. S. B., Fisher, D. A.: "Hormonal Modulation of Mouse Plasma Concentration of Epidermal Growth Factor", **Acta Endocrinologica**, 107: 571-576 (1984).

89. Oka, Y., Orth, D. N. "Human Plasma Epidermal Growth Factor/b Urogastrone is Associated with Blood Platelets", **J. Clin. Invest.**, 72: 249-259 (1983).
90. Thesleff, I., Viinikka, L., Saxen, L., Lehtonen, E., Perheentupa, J., "The parotid gland is in the main source of human salivary Epidermal growth factor", **Life Science**, 43: 13-18 (1988).
91. Wilson, E. A., Jawad, M. J., Vernon, M. W.: "Effects of Epidermal Growth Factor on Hormone Secretion by Term Placenta in Organ Culture", **Am. J. Obstet. Gynecol.**, 149(5): (1984).
92. Gope, R., "The effect of epidermal growth factor & platelet derived growth factors on wound healing process", **Indian J. Med. Res.**, 116: 201-206 (2002).
93. Dijke, P., Iwata, K. K., "Growth Factors For Wound Healing. Biotechnology", 7: 793-798 (1989).
94. Malcherek, P, Schultz, G., Wingren, U., Franzen, L., "Formation of Healing Tissue and Angiogenesis in Repair of Connective Tissue Stimulated by Epidermal Growth Factor", **Scand. J. Plast. Recons. Surg. Hand Surg.**, 28(1): 1-7 (1994).
95. Şimşek, M. B., "Farklı formlardaki Epidermal Büyüme Faktörünün Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması", Doktora Tezi, **G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, (1998).
96. Cohen, S., "The Epidermal Growth Factor (EGF)", **Cancer**, 51: 1787-1791 (1983).
97. Erbaş, D., Oygür, T, Anıl. A.: Submandibuler Bez Ekstresinin Yara İyileşmesine Olan Etkisi, **Gazi Ün. Diş. Hek. Fak. Der.** 5(2): 139-147 (1988).
98. Fisher, D.A., Lakshmanan, J., "Metabolism And Effects of Epidermal Growth Factor and Related Growth Factors in Mammals", **Endocr. Rev.**, 11(3): 418-442 (1990).
99. Bhora, F. Y, Dunkin, B. J., Batzri, S., Aly, H. M., Bass, B. L., Sidawy, A. N., Harmon, J. W., "Effect of Growth Factors on Cell Proliferation and Epithelialization in Human Skin", **J. Res. Surg.** 59(2): 236-244 (1995).
100. Ekmekçi, A., Erbaş. D., "Kanserin Moleküler Mekanizması. Onkojenler ve Büyüme Faktörleri", **72 TDFD**, Ankara, (1991).

101. Erbaş, D., Güvendik, G., Gönül, B., "Submandibular bez ekstralarının serum çinko düzeylerine etkileri", **Ank. Ecz. Fak. Der.**, 17(1): 11-17 (1987).
102. Aral, İ. L., "Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)'nin Deri Allogreftleri üzerine olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak araştırılması", Doktora Tezi, **Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, (1993).
103. Aral, İ. L., Güngör, N., Oygür, T., Cinel, L., "Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)'nin Deri Allogreftleri Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak Araştırılması", **G.Ü. Diş. Hek. Fak. Der.**, 12(1): 47-53 (1995).
104. Çelebi, N., Erden, N., Gönül, B., Koz, M., "Effects of Epidermal Growth Factor Dosage Forms on Dermal Wound Strength in Mice", **J Pharm. Pharmacol.**, 46: 386-387 (1994).
105. Türyılmaz, A., Çelebi, N., Gönül, B., "Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)' nün Yara İyileşmesindeki Rolü". **FABAD J. Pharm. Sci.**, 21: 61-69 (1996).
106. Menegatti, E., Scalia, S., Bortolotti, F., Ascenzi, P. De Marco, A., "Controlled Proteolysis of Mouse Epidermal Growth Factor" **Int. J. Peptide Protein Res.**, 34: 161-165 (1989).
107. Babül, A., Gönül, B., Özoğul, C., Dinçer, S., Erdoğan, D., Pınar, L., Çelebi, N., "EGF Accelerates Mice Skin Wound Healing, Proceed, 8th ed." **Pharm. Technol. Symp. (IPTS-96)**, Ankara, 9 -1 1 (1996).
108. Cellini, M., Baldi, A., Camarazza, N., De Fellici, G, P., Gazzaniga, A., "Epidermal Growth Factor in the Topical Treatment of Herpetic Corneal Ulcers", **Ophthalmological**, 208: 37-40 (1994).
109. Ural, M., Koçak, A., Aksoy, A., "Yüz ve çene gelişimine etki eden faktörler", **S.D.Ü.DİŞ Hekimliği Fakültesi Dergisi**, 14(1): 41-44 (2007)
110. Hu CC, Sakakura Y, Sasano Y, Shum L, Bringas P Jr, Werb 2, Slaukin HC. "Endogenous epidermal growth factor regulates the timing and pattern of embryonic mouse molar tooth morphogenesis", **Int. J. Dev. Biol.**, 36(4): 505-516 (1992).
111. Amberger, H., Tontsch, U., Lamkin, P., Gabbiani, G., Baver, H.C., "Two cloned cerebral endothelial cell phenotypes an invitro model for angiogenesis", 61: 244-249 (1992)

112. Yılmaz, F., "Cerrahi menapoz hastalarında oral ve transdermal östrojen tedavilerin cinsel fonksiyon üzerine etkilerinin karşılaştırılması", **Uzmanlık Tezi**, İstanbul, (2008).
113. Kilia, V., Skandalis, S. S., Theocahris, A. D., Theocharis D.A., Karamanos, N., Papageorgakopoulou, N., "Glycosaminoglycan in cerebrum, cerebellum and brainstem of young sheep brain with particular reference to compositional and structural variations to chondroitin-dermatan sulfate and hyaluronan", **Biomed. Chromatogr.**, 22: 931-938 (2008).
114. İnternet: www.people.vcu.edu/.../CTLECT2.htm
115. Fessenden, R. J., Fessenden, S. J., Logue, M. W., "Organik kimya, 6th ed", Edit. Uyar, T., **Ankara**, (2002).
116. Gözükar, E. M., "Biyokimya, 4.baskı", cilt 1, **istanbul**, (2001).
117. Güler, D. A., "Tıbbi biyoloji ve genetik, 1.baskı", **Eskişehir**, (2006).
118. Dalgıç, B., Çocukluk çağı kronik ishallerinde beslenme, **The Journal of Current Pediatrics**, 6: (2007).
119. Atkinson, A., Gotenby, A. D., Lowe, A. G., "The determination of inorganic orthophosphate in biological system", **Biochim.Biophys.Acta.**, 320: 195 (1973).
120. Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., "İnsan biyokimyası, 2.baskı", **Palme yayıncılık**, Ankara, 296-299 (2006).
121. Garg, H. G., Linhardt, R. L., Hales, C. A., "Chemistry and Biology of Heparin and Heparan Sulfate", **Elsevier**, (2005).
122. Stanford, I., Lamberg, M. D., Stoomiller, A.C., "Glycosaminoglycans. A biochemical and clinical review", **The Journal of Investigative Dermatology**, 63(6): 433-449 (1974).
123. Turnbull, J., Drummond, K., Huang, Z., Persist, M. F., Murphy, M., Guimond, S., "Heparan sulphate sulphotransferase expression in mice and caenorhabditis elegans", **University of Melbourne**, 343-374
124. Cavalcante, L. A., Abreu J. G., Neto, V. M., Silva, L. C., Weissmüller, G., "Modulators of axonal growth and guidance at the brain midline with special reference to glial heparan sulfate proteoglycans", 47(4): (2002).
125. İnternet: www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=g...

126. Sahiner, N., Jia, X., One step synthesis of hyaluronic acid-based [sub] micron hydrogel particles: process optimization and preliminar characterization, **Turk J Chem**, 32: 397-409 (2008).
127. Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P., Kolar, J., "Hyaluronic acid (hyaluronan): a review" **Veterinarni Medicina**, 53(8): 397-411 (2008).
128. Birinci, B., Öztürk, A. M., Tabak, A. Y., Aktekin, C. N., Korkusuz, P., Korkusuz, F., "Prostaglandin E2 and hyaluronic acid facilitates treatment of osteochondral deffects", **Joint Diseases and Related Surgery**, 19(2): 78-83 (2008).
129. Internet: themedicalbiochemistrypage.org/glycans.html
130. Whiteman, P., "The quantiative determitanion of GAG in urine with alcine blue 86x", **Biochem. J.** , 131: 351-7 (1973).
131. Lowry, O.H., " Protein measurement with the folin phenol reagent", **J. Biol. Chem.** 183: 265-75 (1951).
132. Karasu, A., Bakır,B., "Wound and wound healing", **YYÜ Veteriner Cerrahi Dergisi**, 14(1): 36-43 (2008).
133. Diegelmann, R. F., Evans, M. C. "Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing", **Front Biosci**, 9: 283-28 (2004).
134. Engin, A., "Yara iyileşmesi in: Temel Cerrahi, 3.baskı", Edited by Sayek, İ., **Güneş**, Ankara, 266-277 (2004).
135. Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Rao, C. V., Shirwaikar, A., Mehrotra, S., Pushpangadan, P., " Healing potential of anogeissus latifolia for dermal wounds in rats", **Acta Pharm**, 54: 331-338 (2004).
136. Rigler D. J., "Inflamation and repair",In *Veterinary Pathology*, 6th Ed., Edited by Jones, T. C., Hunt, R. D., King, N. W., **Williams & Wilkins**, Pennsylvania, 150-157 (1997).
137. Regan, M.C., Barbul, A. "The cellular biology of wound healing. In: Wound Healing",. Edited by Schlag, G., Redl, H. ,**Germany**,1: 3-17 (1994).
138. Yeo, TK., Brown, L., Dvorak, HF., "Alterations in proteoglycan synthesis common to healing wounds and tumors.", **Am. J. Pathol.**; 138(6): 1437-50 (1991)

139. Savage, K., Swann, DA., “ A comparison of glycosaminoglycan synthesis by human fibroblasts from normal skin, normal scar, and hypertrophic scar”, **J. Invest Dermatol**, 84(6): 521-6 (1985).
140. Kosir, MA., Quinn, CC., Wang, W., Tromp, G., “Matrix glycosaminoglycans in the growth phase of fibroblasts: more of the story in wound healing.”, *J. Surg. Res.*, 92(1): 45-52 (2000).
141. Hedlund, C.S., “Surgey of the integumentary system. In: Small Animal Surgery, 2th Edition”, Edited by Fossum, T.W., , **Mosby**, China, 134-137 (2002).
142. Heinze, C.D., Clem, M.F. Wound healing and tissue repair. In: Textbook of Large Animal Surgery. 2nd Ed., Edited by Oehme, **F.W.**, Williams & Wilkins USA, 141-153 (1988).
143. Broughton II, G., Janis, J.E., Attinger, C.E., “Wound healing: An overview”, **Plast Reconstr Surg**, 117 (Suppl.): 1eS-32eS.5, (2006)
144. Savage, K., Siebert, E., Swann, D., “The effect of platelet-derived growth factor on cell division and glycosaminoglycan synthesis by human skin and scar fibroblasts”, **J. Invest Dermatol**, 89(1): 93-9 (1987).
145. Webber, J., Jenkins, R. H., Meran, S., Phillips, A., Steadman, R., “Modulation of TGFbeta1-dependent myofibroblast differentiation by hyaluronan.”, *Am J Pathol.* ,175(1): 148-60 (2009).
146. İnternet: www.dermaneturk.com/yara_online/buyume_faktor.doc -S.
147. Çağlıkülekcı, M., Özçay, B., Oruç, T., Aydoğ, G., Renda, N., Atalay, N., “The effect of recombinant growth hormon on intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructive jaundice”, **The Turkish Journal of Gastroenterology**, 13(1)1: 7-23 (2002).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : TIKTIK, Zeynep
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 16.08.1983 Elazığ
Medeni hali : Evli
Telefon : 05558448196
e-mail : zeynebtktk@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Tezsiz yüksek Lisans	Gazi üniversitesi/Eğitim bilimleri	2008
Lisans	Gazi üniversitesi/Biyoloji bölümü	2006
Lise	Özel Nenehatun Fen Lisesi	2001

Yabancı Dil

İngilizce

