



**TIBBİ BİR BİTKİ EKSTRESİ OLAN  
MECSINA HEMOSTOPPER UYGULAMASININ  
SEKONDER YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN  
HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Zeki Levent HALLAÇ**

**DOKTORA TEZİ  
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİSAN 2018**

Dt. Zeki Levent HALLAÇ tarafından hazırlanan “Tıbbi bir bitki ekstresi olan MECSINA HEMOSTOPPER uygulamasının sekonder yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Ayşen BODUR

Periodontoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

**Başkan :** Prof. Dr. İbrahim Levent TANER

Periodontoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Murat AKKAYA

Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Berrin ÜNSAL

Periodontoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Nilgün ALPTEKİN

Periodontoloji Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi: 04/04/2018

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Zeki Levent HALLAÇ

04.04.2018



TIBBİ BİR BİTKİ EKSTRESİ OLAN MECSINA HEMOSTOPPER UYGULAMASININ  
SEKONDER YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE  
BİYOKİMYASAL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Zeki Levent HALLAÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2018

ÖZET

Periodontal tedavi uygulamalarından olan serbest dişeti grefti, laterale kaydırılan flep, gingivektomi ve gingivoplasti operasyonları veya deskuamatif gingival hastalıkların tedavileri sonrası spontan iyileşmeye bırakılan yara yüzeyleri oluşturulur. Spontan iyileşmeye bırakılan ameliyat yaraları sekonder iyileşirler ve iyileşmeleri primer yara iyileşmesinden daha yavaş seyrederek. Sekonder yaralarda; kanama, enfeksiyon ve fonksiyonel yapının anatomik bütünlüğünün bozulması gibi dezavantajlar bulunmaktadır. Sekonder iyileşmeye bırakılan yara sebebiyle hasta konforu azalmaktadır. Çalışmamızda, Mecsina Hemostopper uygulamasının sekonder yara iyileşmesi üzerine etkileri ratlar üzerinde histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Planlanan çalışma protokolünün ilk basamağı cerrahi işlemin tüm gruplara uygulanmasıdır. Ardından 7. ve 14. günlerde sakrifiye edilen ratlardan elde edilen doku örnekleri histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Klinisyenleri zorlayan bu konuda, sekonder yara iyileşmesine olumlu katkı sağlayarak iyi mature olmuş bir yara yüzeyi elde edilmesi, iyileşme sürecinde hasta konforunun artırılması, bir Türk firmasının patentine sahip olduğu MHS'nin literatürde yer almasıyla bilimsel anlamda tartışmaya açılması hedeflenmiştir.

Bilim Kodu : 10101.06

Anahtar Kelimeler : Mecsina hemostopper, rat modeli, sekonder yara iyileşmesi,

Sayfa Adedi : 78

Danışman : Prof. Dr. Ayşen BODUR

HISTOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EVOLUATION OF THE EFFECT OF  
MEDICAL PLANT EXTRACT MECSINA HEMOSTOPPER APPLICATION ON  
SECONDARY WOUND HEALING

(Ph. D. Thesis)

Zeki Levent HALLAÇ

GAZI UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

April 2018

ABSTRACT

After periodontal treatment applications such as free gingival autograft, laterally sliding flap, gingivectomy and gingivoplasty operations or desquamative gingival disease treatment, wounded surfaces are left for secondary wound healing. The patient comfort is decreased due to this wound surface that left for secondary healing. Secondary wound healing has some disadvantages such as bleeding, infection and deformation of the anatomic collectivity of functional structure. Operational wounds, left for spontaneous healing, heal secondarily and the healing is processed slower than primer wound healing. In this study, the effect of Mecsina Hemostopper application on secondary wound healing was evaluated histologically and biochemically in rats. First step of the planned study protocol was to apply the surgical procedure on all groups. After that; the tissue samples obtained from the sacrificed rats on 7th and 14th days were evaluated histologically and biochemically. Our aim about this clinically challenged subject is to obtain well-matured wound surface, increase the patient comfort on healing process and make this subject scientifically discussable on literatures.

Science Code : 10101.06

Key Words : Mecsina hemostopper, rat model, secondary wound healing

Page Number : 78

Advisor : Prof. Dr. Ayşen BODUR

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca danışman hocam olmasının yanı sıra bana bir abla olan, ilgi ve alakasını hiçbir zaman eksik etmeyen çok sevgili hocam Prof. Dr. Ayşen BODUR'a ;

Eğitimim süresince kişiliği ile örnek olan hoşgörülü ve sabırlı olmayı öğreten Prof. Dr. Gönen ÖZCAN'a ve desteklerini hissettiğim Prof. Dr. İ. Levent TANER'e;

Cerrahi kariyerime başlamamda ve kendimi geliştirmemde önemli rolü olan Prof. Dr. Nurdan ÖZMERİÇ KURTULUŞ'a;

Teorik ve pratik bilgilerini paylaşarak her zaman kapısını bana açık tutan Prof. Dr. Mehmet YALIM'a;

Hoş sohbetlerinden keyif aldığım ve çekinmeden yardım isteyebildiğim Prof. Dr. Bülent KURTİŞ'e ve Doç. Dr. Burcu ÇAKILCI ÖZDEMİR'e;

Berber çalışmaktan keyif aldığım Prof. Dr. Berrin ÜNSAL ve Yrd. Doç. Dr. Zeynep TURGUT ÇANKAYA başta olmak üzere tüm saygıdeğer hocalarıma;

Doktora hayatım boyunca aynı odayı ve kliniği paylaştığım Dr. Fatma SOYSAL, Dr. Nihal ERAYDIN ve Dr. Canset ŞENGÜL başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma;

Can dostlarım Dr. Alican BARAN ve Dr. Samet TUNÇ'a;

Çok sevgili Dr. Beste İLASLAN'a;

Sonsuz emek ve fedakarlıklarla beni bu günlere sabırla ve sevgiyle getiren hayattaki en değerli varlıklarım annem Nesrin HALLAÇ, babam Mustafa Aydın HALLAÇ ve kardeşim Yiğit HALLAÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Dişetin Yapısı.....	3
2.1.1. Dişeti epiteli .....	3
2.1.2. Epitel-bağ doku yüzleşmesi .....	4
2.1.3. Dişeti bağ dokusu (lamina propria).....	4
2.2. Yara İyileşmesi.....	5
2.2.1. Yara iyileşmesinin fizyolojisi .....	5
2.2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler .....	10
2.2.3. Yara iyileşmesinde rol oynayan bazı mediatörler .....	13
2.2.4. Yara onarım tipleri .....	16
2.2.5. Periodontal cerrahi işlemlerde sekonder yara iyileşmesi .....	17
2.3. Mecsina Hemostopper.....	19
2.3.1. Ön bilgiler .....	19
2.3.2. İçeriği .....	20
2.3.3. Etki Mekanizması.....	27

	<b>Sayfa</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	29
3.1. Deneysel Model .....	29
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	30
3.2.1. Mecsina Hemostopper sprej 10mL .....	31
3.2.2. Biyopsi Aleti .....	31
3.3. Deney Grupları .....	32
3.4. Cerrahi Protokol .....	33
3.5. Deney ve Kontrol Gruplarından Biyopsi Alınması .....	34
3.6. Histolojik Yöntem.....	35
3.6.1. Hematoksilen – Eozin boyama yöntemi .....	35
3.7. Biyokimyasal Analiz .....	36
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	37
<b>4. BULGULAR</b> .....	39
4.1. Histolojik Bulgular.....	39
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	42
4.2.1. Total protein miktarları .....	42
4.2.2. iNOS protein konsantrasyonları.....	44
4.2.3. VEGF protein konsantrasyonları.....	45
4.3. Ratların Ağırlıklarındaki Değişimler .....	47
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	51
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	59
<b>KAYNAKLAR</b> .....	61
<b>EKLER</b> .....	73
EK-1. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı.....	74
EK-2. Gazi Üniversitesi deney hayvanları uygulama ve etik kursu katılım sertifikası.....	76

ÖZGEÇMİŞ ..... 77



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Deneyde kullanılan ratların ağırlıkları (gram) .....	29
Çizelge 3.2. Deney hayvanlarının gruplandırılması .....	32
Çizelge 4.1. Total protein miktarları açısından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Mann Whitney U testi sonucu .....	43
Çizelge 4.2. 7. ve 14. gün test ve kontrol gruplarının biyopsi alınan doku ağırlıkları, İNOS protein konsantrasyonları ve total protein konsantrasyonları .....	44
Çizelge 4.3. İNOS konsantrasyonları bakımından gruplar Arasındaki Farklılığa İlişkin Mann Whitney U testi sonucu .....	45
Çizelge 4.4. 7. ve 14. gün test ve kontrol gruplarının biyopsi alınan doku ağırlıkları, VEGF protein konsantrasyonları ve total protein konsantrasyonları .....	46
Çizelge 4.5. VEGF protein konsantrasyonu oranları bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Mann Whitney U testi sonucu .....	47
Çizelge 4.6. Ratların sırasıyla cerrahi işlem öncesi ve sakrifiye işlemi öncesi ağırlıkları (gram) .....	48
Çizelge 4.7. Ağırlık değişimleri açısından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Mann Whitney U testi sonucu .....	49
Çizelge 4.8. Gruplarda ağırlık değişimleri arasındaki ilişkiye dair korelasyon testi sonucu .....	49

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İNOS indüksiyonu ile NO oluşumu .....	15
Şekil 4.1. Protein miktarlarının gruplara göre istatistiksel dağılımı .....	43
Şekil 4.2. Ağırlık değişimlerinin gruplara göre dağılımı .....	48



## RESİMLERİN LİSTESİ

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 2.1. Tampon ve sprej formlarında Mecsina Hemostopper.....	19
Resim 2.2. Vitis vinifera .....	20
Resim 2.3. Hypericum perforatum .....	21
Resim 2.4. Glychrriza glabra .....	22
Resim 2.5. Urtica angustifolia .....	23
Resim 2.6. Mentha arvensis .....	24
Resim 2.7. Alpinia officinarum .....	25
Resim 2.8. Syzygium aromaticum .....	26
Resim 2.9. Thymus vulgaris .....	27
Resim 3.1. Deneylelerde kullanılan Wistar cinsi albino erkek rat.....	30
Resim 3.2. Mecsina Hemostopper ile doldurulmuş steril insülin enjektörleri .....	31
Resim 3.3. Biyopsilerde kullanılan 3 mm çapında steril punch.....	32
Resim 3.4. Tam kalınlık eksizyonel yara bölgesinin oluşturulması .....	33
Resim 3.5. Histolojik analizler için eksize edilmiş rat üst çenesi .....	34
Resim 3.6. Biyokimyasal analizler için elde edilen doku örneği.....	34
Resim 4.1. 7. gün kontrol grubunda yara dudakları (⇔), epitel (▶), lamina propria (→), kemik (➡), granülasyon dokusu (➤), bağ doku hücreleri (↔), kollajen lifler (↘) ve primer kemik (➡) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100) .....	39
Resim 4.2. 7 gün test grubunda yara dudakları (⇔), epitel (▶), lamina propria (→), kemik (➡), granülasyon dokusu (➤) ve primer kemik (➡) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100) .....	40
Resim 4.3. 14 gün kontrol grubunda yara dudakları (⇔), epitel (▶), lamina propria (→), kemik (➡) ve granülasyon dokusu (➤) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100).....	41
Resim 4.4. 14 gün test grubunda epitel (▶), lamina propria (→), kemik (➡), kollajen lifler (↘) ve primer kemik (➡) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100) .....	42

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

### Simgeler

### Açıklamalar

**Ca<sup>+</sup>**

Kalsiyum

**mg**

Miligram

**mL**

Mililitre

**µL**

Mikrolitre

**ng**

Nanogram

**%**

Yüzde

**°C**

Derece

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

**ABS**

Ankaferd Blood Stopper

**COX-2**

Siklooksijenaz-2

**İNOS**

İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz

**Max**

Maksimum

**MHS**

Mecsina Hemostopper

**Min**

Minimum

**VEGF**

Vasküler endotelyal büyüme faktörü





## 1. GİRİŞ

Yara, dokuların anatomik yapı ve fonksiyonlarındaki devamlılığının fiziksel, kimyasal ya da travma sonucunda bozulmasıdır. Yara iyileşmesi travma ile başlatılan sistematik, hücrel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumu ile sonuçlanmasıdır. Yara iyileşmesinin temel prensibi doku hasarını en aza indirmek, yeterli doku perfüzyonunu ve oksijen alımını, bunun yanı sıra dokunun düzgün beslenmesini ve nemlenmesini sağlamaktır. Yara iyileşmesi, birbirinden ayrı olsa da bu süreç içerisinde iç içe geçen 3 farklı evreden oluşmaktadır. Bu aşamalar; inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme evresidir [1].

Yara iyileşmesi onarım türüne göre primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üçe ayrılır. Yara onarımının en komplikasyonsuz türü, yara kenarlarının birbirine yaklaştırıldığı, dikiş materyallerinin kullanıldığı, temiz, enfekte olmayan cerrahi kesinin iyileşmesidir. Bu tarz iyileşme primer yara iyileşmesi olarak adlandırılır. Yara kenarları bir araya getirilememiş veya getirilemeyecek durumda olan ve doku kaybıyla seyreden yaralanmalar veya kendiliğinden iyileşmeye bırakılmış yaralar sekonder yara iyileşmesi ile iyileşirler. Tersiyer yara iyileşmesi ise gecikmiş primer kapama olarak adlandırılır. Birkaç gün açık bırakılan yara kenarlarının yaklaştırılmasıdır [2].

Periodontal cerrahi işlemler sonucunda veya oral bölgede görülen travma ve ülserler sebebiyle oral dokularda sekonder yara iyileşmesi süreci başlayabilmektedir. Doku kaybının görüldüğü yaralar, birçok mikroorganizma popülasyonuna sahip olan oral kavite ile geniş temas halindedir. Bu tip durumlarda görülen komplikasyonlar sonucunda hastaların yaşam kaliteleri olumsuz yönde etkilenmektedir [3].

Periodontal cerrahilerde operasyon başarısı; bakteriyel kontaminasyonu önleyebilmek ve plak kontrolünü sağlamak ile birebir ilişkilidir. Plak akümülyasyonunu, postoperatif ağrıyı, doku ödemi azaltmak amacıyla periodontal cerrahi sonrasında terapötik ajanların kullanımı söz konusudur [4]. Son yıllarda terapötik ajanlara alternatif olarak kullanılacak bitkisel içerikli preparatların antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur [5],[6],[7].

Mecina Hemstopper (MHS) Glycyrrhiza Glabra, Alpinia Officinarum, Thymus Serpyllum, Syzygium Aromaticum, Hypericum Perforatum, Vitis Vinifera, Urtica Angustifolia, Mentha Arvensis bitkilerinin karışımından elde edilen hemostatik bir ajandır. Antimikrobiyal içermeyen MHS, açık yaralara uygulanabilmekte ve vücut tarafından emilebilir özelliktedir. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Ulusal Bilgi Bankası'nda tek kullanımlık cihaz olarak kayıtlıdır. Ticari takdim şekli olarak; tampon, sprey ve likit ampul şeklinde formları vardır.

MHS içeriğindeki bitkilerin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin bildirildiği çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, MHS'nin mukozal yara iyileşmesini hızlandırabileceği düşünülmüştür. Literatürler dahilinde MHS'nin yumuşak doku yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buradan yola çıkarak ratların palatinal mukozalarında deneysel olarak eksizyonel yara bölgeleri oluşturulmuş ve topikal MHS uygulaması yapılmıştır. Bu çalışma ile MHS'nin sekonder olarak iyileşmeye bırakılmış yaraların iyileşme süreçlerine etkisinin histolojik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Dişetin Yapısı

Ağız boşluğunu döşeyen mukoz membranın alveolar kemiği ve dişlerin servikal kısımlarını çevreleyen doku bölümüne dişeti adı verilir. Dişeti histolojik olarak 2 kısımdan oluşmaktadır:

a. Dişeti epiteli

b. Dişeti bağ dokusu[8]

#### 2.1.1. Dişeti epiteli

Oral mukoz membran epiteli bulunduğu konuma göre keratinize, parakeratinize veya nonkeratinize olabilmektedir. Dişeti ve çiğneyici mukoza epiteli keratinizedir. Keratinize oral epitel stratum bazale, stratum spinosum, stratum granulosum ve stratum corneum olmak üzere 4 tabakadan oluşmaktadır [9].

Stratum bazale'nin hücreleri oldukça küçüktür ve altındaki epitel ile bağ dokusunu ayıran bazal membran ile yakın kontakt halindedir. Tek sıra halinde dizilmiş kübik hücrelerden meydana gelmiştir. Mitotik aktivitenin en çok olduğu katmandır. Mitotik aktivite ile çoğalan hücreler yüzeye doğru hareket ederken yassılaşırlar ve keratinizasyon özellikleri göstermeye başlarlar. Desmozomlar bu tabakanın hücrelerini yan ve üst yüzeylerinden bağlarlar. Bazal hücre zarında bulunan hemidesmozomlar ise hücrelerin bazal laminaya bağlanmasına yardım ederler.

Stratum spinosum oldukça geniş ve polihedral yapıdaki farklılaşmakta olan hücrelerden oluşmaktadır. Dişeti epitelinin en kalın tabakası bu kısımdır. Hücre organellerinde azalma olmasına karşın ribozom sayısında artış görülmektedir. Bu da protein işlevlerinin arttığının göstergesidir. Bu tabakada keratin adı verilen protein üretilmektedir. Bu tabakadaki hücreler filaman adı verilen dikensi çıkıntılar ve desmozomlar ile sıkıca birbirine bağlanmıştır. Bu keratin filaman demetlerine tonofilamanlar denmektedir [10].

Stratum granulosum'un hücreleri dişeti yüzeyine paralel şekilde yassılaşmış olup keratohiyalin granülleri içermektedir. Bu granüller keratin yapımında rol oynar.

En üst tabaka olan stratum corneum'da, birbirine yakın olarak dizilmiş ve iyice yassılaşmış; çekirdeklerini ve diğer organellerini kaybetmiş hücreler bulunmaktadır [11].

### **2.1.2. Epitel-bağ doku yüzleşmesi**

Elektron mikroskobu incelemelerinde bazal laminanın lamina lusida ve lamina densa adı verilen iki kısımdan oluştuğu görülmüştür. Epitelin bazal tabakası ile komşu olan kısım lamina lusida, bağ dokusu ile komşu olan kısım ise lamina densa'dır. Lamina lusida glikoprotein yapıdaki lamininden, lamina densa ise tip IV kollajenden oluşur [12].

### **2.1.3. Dişeti bağ dokusu (lamina propria)**

Dişeti epiteli altında bulunan gevşek veya tıkız bağ dokusudur. Mezodermal kökenli olan bu doku şekilsiz bir ana madde içerisinde yer alan hücreler, lifler, kan damarları ve sinir liflerinden meydana gelir. Dişeti bağ dokusunu; hücreler (fibroblastlar, mast hücreleri, nötrofiller ve monosit/makrofajlar) ve hücre dışı bileşenler (matriks ve lifler) meydana getirir [13],[14].

#### Dişeti Bağ Dokusunun Hüresel Bileşenleri

Fibroblastlar: Dişeti bağ dokusunun temel hücre grubu olup bağ dokusunun fibröz bileşenlerini (kollajen, retikülin ve elastin) ve mukopolisakkaritleri (glikoproteinler ve glikozaminoglikanlar) salgırlar.

Mast Hücreleri: Sitoplazmaları doku iritasyonlarında serbest kalan vazoaktif maddeler ile dolu olan iri granüller içerir.

Nötrofiller: Esas fonksiyonu fagositoz ve mikroorganizmaların öldürülmesi olan lökosit ailesine mensup hücrelerdir.

Monosit/Makrofajlar: Monositler kemik iliği kökenli hücrelerdir ve damar dışına çıktıkları zaman makrofaj adını alırlar. Dolaşımda yuvarlak olan şekilleri hücre içerisine

girdiklerinde çok sayıda sitoplazmik çıkıntı kazanır. Doku içerisine giren mikroorganizmaları fagosite ederler, bu yeteneklerinden dolayı savunma sisteminin önemli hücreleridir [14].

### Dişeti bağ dokusunun hücre dışı bileşenleri

İntersellüler Matriks: Hücrelerin ve liflerin içinde gömülü oldukları, proteoglikanlar (hyalüronik asit ve kondroitin sülfat) ve glikoproteinlerden (fibronektin) oluşmuş bir yapıdır.

Lifler: Temel bağ dokusu lifleri kollajen ve elastik liflerdir. Bağ dokusundaki kollajen lifler esas olarak tip I kollajenden oluşur ve dişeti dokusuna gerilme kuvveti kazandırır [13].

## **2.2. Yara İyileşmesi**

Yara iyileşmesi erken ve geç dönemde komplikasyonlarla karşılaşabildiğimiz zorlu klinik bir durum olarak karşımıza çıkabilmektedir [15]. Yara iyileşmesinde esas amaç, yara yerinin kapatılması ve takip eden süreçte hastanın fonksiyonel ve estetik beklentileri karşılanarak hasta konforunu sağlayabilmektir. Bu durum; kanama kontrolü, enfeksiyondan korunma ve yara iyileşmesi için uygun koşulların sağlanmasına bağlıdır [2]. Hüresel ve moleküler düzeydeki gelişmeler sayesinde yara iyileşmesi süreci ve yara tedavisi yaklaşımları konusundaki bilgilerimiz gün geçtikçe artmaktadır [16].

### **2.2.1. Yara iyileşmesinin fizyolojisi**

Yara iyileşmesi; yapısal ve fonksiyonel doku bütünlüğünü geri kazanmaya yönelik karmaşık hüresel ve biyokimyasal olaylar zinciridir [17]. Doku bütünlüğünün bozulduğu durumlarda; keratinosit, fibroblast, endotel, makrofaj ve trombositleri içeren birçok hücrenin rol aldığı bir süreç başlar. Bu hücrelerin migrasyon, infiltrasyon, proliferasyon ve diferansiyasyonu ile yeni doku yapımı gerçekleşir ve sonuçta yara iyileşmesi meydana gelir. Bu süreçte çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler rol almaktadır. Bunların en önemlileri; epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), interlökin ailesi (IL), insülin

büyüme faktörü (IGF) ve tümör nekroz faktör (TNF) dür [18]. Bu biyokimyasal mediatörler; konak savunması, zararlı maddelerin uzaklaştırılması ve iyileşmenin gerçekleşebilmesi için gerekli olan hücrel faaliyetleri stimüle veya inhibe ederler [19].

Yaralanma sonrası gerçekleşen olaylar; birbiri ardına süreklilik taşıyan, başlangıçları ve sonları kesin sınırlarla ayrılamayan üç evreden oluşmaktadır [20]. Bu evreler; inflamatuvar, proliferatif ve yeniden şekillenme evresi olarak sıralanabilir [21]. İnflamatuvar evre, yara oluşumu ile başlayan uyarıya karşı vasküler cevabın başladığı ve hücrel yanıtın olduğu evredir [22]. Proliferasyon evresi, ekstrasellüler matriks depozisyonu ve yara bölgesine fibroblast göçü ile karakterizedir [2]. Yeniden şekillenme evresi ise oluşan tamir dokusunun yapısal dayanıklılık ve fonksiyonel yeterliliğini şekillendiren bir evredir [16].

### İnflamatuvar evre

İnflamasyon, ölü veya ölmekte olan doku ürünlerini yok etmeyi ve vücudu yabancı maddelere karşı savunmayı sağlayan vasküler ve hücrel yanıtıdır [23]. İnflamatuvar evre, hasarlı dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün tamiri için önemlidir; yaralanmadan sonra hemen başlar, ilk 72 saatlik periyodu kapsar ve inflamasyonun belirtileri kaybolduğunda sona erer [24].

Vasküler Yanıt: Yaralanma sonrasında damar ve doku bütünlüğünün bozulması sonucu kanama meydana gelir [25]. Doku travmasının sonucunda gerçekleşen kanama sonrasında ilk vasküler yanıt 5-10 dakika süren geçici vazokonstriksiyondur. Yaralanma ile birlikte koagülasyon basamakları devreye girmektedir. Hageman faktörü; kompleman, plazminojen ve kinin sistemlerini uyarır [16].

Kan damarlarında meydana gelen hasar, kan bileşenlerinin dokular arasındaki boşluğa sızmasına neden olur. Endotelial bütünlüğün bozulması sonucu subendotelial yapı ve bağ doku bileşenleri açığa çıkar. Vasküler subendotelial kollajenin açığa çıkması dolaşımdaki trombositlerin hızla yara bölgesine kümelenmesini (aggregasyon) ve yapısal proteinlere bağlanmalarını (adezyon) sağlayarak pıhtılaşma sürecini başlatır. Trombositler, açığa çıkan subepitelial kollajene bağlanırlar. Ardından trombositler granül içeriklerini salgılayarak yeni trombositlerin aktif hale gelmesini sağlarlar. Aktive olmuş trombositler kümeleşerek geçici bir pıhtı formasyonu oluştururlar. Trombositlerden salgılanan trombin fibrinojenin

fibrine proteolizisini başlatır [17]. Fibrin ağı stabil hemostatik tıkaçı oluşturmak üzere trombosit kümelenmesini güçlendirir [26]. Oluşan bu hemostatik tıkaç hemostazı sağlar ve gelecek olan hücreler için bir iskelet yapı görevi görür [27]. Trombositler son olarak trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörleri salgırlar [2],[28]. Bu moleküller; nötrofilleri, makrofajları, endotelial hücreleri ve fibroblastları aktive ederek yara iyileşmesi evrelerini desteklerler [23],[24],[29].

**Hüresel Yanıt:** Hemostaz sağlanmasının ardından erken dönemde görülen vazokonstrüksiyonun yerini histamin, serotonin, prostoglandin E1 ve prostoglandin E2 aracılığı ile şekillenen vazodilatasyon dönemi alır [15],[25]. Bu dönemde hasarlı doku ve patojenlerin uzaklaştırılması amacıyla birçok farklı hücre tipinin infiltrasyonu gerçekleşir. Damar geçirgenliği artar, plazma ve nötrofillerin damar dışına çıkışı gerçekleşir. TGF- $\beta$  ve kompleman bileşenleri gibi trombosit kaynaklı veya bakteriler tarafından salgılanan kemoatraktan ajanlar nötrofillerin yara bölgesinde toplanmasını sağlarlar. Nötrofiller yara bölgesine gelen ilk hücrelerdir ve yaralanmayı takiben 6 saat içerisinde görülürler. 1-2 gün içerisinde azami sayıya ulaşan nötrofiller, fagositoz, enfeksiyonun önlenmesi ve proteaz salınımı ile ölü dokuların eritilmesi rolü üstlenirler [30]. Nötrofiller yara bölgesindeki bakterileri, ölü dokuları ve yabancı cisimleri fagosite ederler [2],[25]. Yaralanmadan sonraki birkaç gün içerisinde bakteri ve ürünlerinin uzaklaştırılması sonucunda nötrofil aktivitesi sona erer. Yaralanmadan sonraki 48-72 saat içerisinde nötrofillerin yerini monosit/makrofajlar alır [31].

Makrofajlar inflamatuvar evrenin kritik hücreleridir. Makrofajlar kandaki monositlerin dokuya geçmesi sonucu oluşurlar. Yaralanmanın 3. gününde yarada baskın hücreler haline gelmektedirler. Makrofajlar hem ölü doku ve bakterileri fagosite ederler hem de proinflamatuvar sitokin (IL-1,IL-6) ve büyüme faktörü (FGF, EGF, TGF- $\beta$ , PDGF) salgılayarak inflamatuvar yanıtı güçlendirir, granülasyon dokusunun yapımını başlatır, proteolitik enzimlerle (matriks metalloproteinaz ve kollajenaz) lokal dokuların yeniden oluşumunu düzenlerler [28],[32]. Keratinositleri, fibroblastları ve anjiyogenezisi uyararak doku rejenerasyonuna ve yara iyileşmesinin proliferatif evresine geçişe destek sağlarlar [30]. Makrofajlar, sayıları yaralanmadan sonraki beşinci güne kadar azalırken onarım tamamlanana kadar yara iyileşmesini düzenlemeye devam ederler [17].

### Proliferatif evre

İnflamatuar evrede salınan sitokinler ve büyüme faktörleri yara iyileşmesinin ikinci evresi olan proliferatif evreyi stimüle ederler [17]. Yaralanmadan sonraki dördüncü günde başlayan proliferatif evre yaranın büyüklüğüne göre üçüncü haftaya kadar devam edebilir. Bu evrede; anjiyogenezis, granülasyon dokusunun oluşumu, yara kontraksiyonu ve reepitelizasyon gerçekleşir [33].

Proliferatif evrede ilk basamak, rejenere olan dokuların artan metabolik ihtiyaçlarını karşılamak üzere oksijen ve besin sağlamak amacıyla lokal bir mikrodolaşımın sağlanmasıdır. Bu amaçla, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) gibi büyüme faktörlerinin etkisi altında endotelial hücreler yara kenarlarından yara merkezine doğru göç ederler. Böylece birçok yeni kapiller içeren mikrovasküler ağ oluşur [2],[34]. Mevcut damarların kapiller tomurcuklanması ile yeni kapiller damarların oluştuğu bu olaya anjiyogenezis denmektedir. Anjiyogenezis sonrası yara bölgesinde kan akımı artar. Böylelikle inflammatuar hücrelerin birbiri ile etkileşimi ve kan damarı endotelial bazal membranından geçişleri mümkün olur. Anjiyogenezis, yeni ekstraselüler matriksin (ESM) sentezi ve depozisyonu için gereklidir [32],[35].

Ekstraselüler matriks; fibröz proteinler, proteoglikanlar ve çeşitli proteinlerden oluşan karmaşık yapıda bir ağdır. ESM'nin organik bileşenleri; kollajenler, kollajenöz olmayan proteinler ve proteoglikanlardır. Temel yapı elemanları kollajenlerdir. ESM içeriğindeki kollajen ve elastinler gibi fibröz yapısal proteinler sayesinde çekme ve gerilme kuvvetlerine karşı dirençlidir. Matriks elemanları ise içerikteki adeziv glikoproteinler ile birbirine bağlanır. Direnç oluşması ise proteoglikanlar ve hyalüronlar sayesinde olur [36].

Granülasyon dokusunun yapılması, proliferatif evrenin diğer bir önemli olayıdır. Granülasyon dokusunun yapımına, yaralanmadan yaklaşık dört gün sonra başlanır. Bu doku; fibronektin, hyalüronik asit ve kollajenden oluşan geçici bir matriks içindeki kan damarları, makrofajlar ve fibroblastlardan zengin dokudur [37]. Bu doku birçok sitokin için rezervuar görevi görür ve bu sitokinlerin kemoatraktif, mitojenik ve diğer düzenleyici işlevlerini yerine getirmelerine yardımcı olmaktadır.



Fibroblastlar yara bölgesine yara dokusundan ve inflamatuvar hücrelerden köken alan sitokin ve büyüme faktörlerine yanıt olarak göç ederler [32]. Fibroblastlar, yara iyileşmesinde görev alan en önemli mezenkimal hücrelerdir. Üretim ve mekanik görevleri vardır. Geçici matriksin yerini alacak olan kollajen bazlı matriksin üretiminden sorumludur. Mekanik görevleri ise; kontraktıl özellikleri sayesinde yara kontraksiyonunu sağlamalarıdır [38].

Yaralanmadan sonra 3-4. günlerde görülmeye başlanan fibroblastlar 7. günde pik seviyeye ulaşırlar ve 15-21. güne kadar yarada aktif olarak bulunurlar. Yara bölgesine gelen fibroblastlar yeni ESM ve matür olmayan kollajen (Tip III) sentezine başlarlar [17],[33]. Kollajenaz tarafından kontrol edilen kollajen turn-over'i kollajen içeriğini belirler [33]. Kollajen depolarizasyonu sayesinde yaranın gerilme direnci artar [17].

Yara kontraksiyonu yaralanmadan sonraki 1. ve 2. haftalarda gerçekleşir [39]. Yara kontraksiyonu, yara kapanmasının gerçekleşmesi amacıyla yara kenarlarının yara merkezine doğru hareketi olarak tanımlanmıştır [23]. Fibroblastlar, PDGF ve TGF- $\beta$ 1 etkisiyle şekilsel olarak miyofibroblastlara dönüşürler [15], [38], [26]. Miyofibroblastlar, fibroblastlardan köken alan sitoplazmalarında düz kas benzeri mikroflamanlar içeren hücrelerdir [40]. Yara kontraksiyonunda düz kas hücreleri gibi davrandıkları düşünülmektedir [41]. Miyofibroblastlar yara kapanmasının kolaylaşması ve kontraksiyon meydana getirmek amacıyla ESM kenarları boyunca sıralanırlar [32]. Yara kenarlarını bir araya çekerek defektin boyutunu azaltırlar. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde granülasyon dokusu içeriğinde yüksek sayıda miyofibroblast olduğu ortaya konulmuştur. Yara kontraksiyonunun boyutları, yaranın derinliğine ve yerine bağlıdır. Kısmi katmanlı yaralarda kontraksiyon daha az iken tam katmanlı yaralarda daha çok gözlenir [17].

Reepitelizasyon, epitelyal hücre migrasyonu ve proliferasyonunun EGF, TGF- $\alpha$  ve FGF salınımı sonucu stimüle olması ile başlar [32]. Yara kenarlarından köken alan epitelyal hücreler bazal membran üzerinde yaranın yüzeyini yeniden döşemeye başlarlar. Oral mukozada gerçekleşen reepitelizasyon, deride gerçekleşene göre çok daha hızlıdır [38].

### Yeniden şekillenme evresi

Maturasyon ve yeniden şekillenme evresi yara iyileşmesinin en uzun süren evresidir. Yaralanmadan bir hafta sonra başlayan bu evre aylar hatta yıllar sürebilir [42]. Bu evrede, hücresel yoğunluğu ve damarlanması fazla olan granülasyon dokusunun yerini daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusu almaya başlar. İyileşmekte olan yaranın metabolik ihtiyacı azaldığından dolayı yoğun kapiller ağı gerilemeye başlar. Kollajen matriks; sitokin ve büyüme faktörlerinin etkisiyle sürekli parçalanır, yeniden sentezlenir, düzenlenir ve moleküler çapraz bağlar ile skar dokusunun içerisine sabitleşir [17]. Tip I kollajen yavaş yavaş birikmiş olan tip III kollajenin yerini alır. Bu sayede yara dokusunun gerginlik gücü giderek artar ve orijinal gücünün %80'ine ulaşır [16].

Yapım kadar yıkım olaylarının önemli olduğu yeniden şekillenme evresinde, kollajen yıkımı büyük ölçüde matriks metalloproteinazlar (MMPs) tarafından düzenlenir [43]. MMP aktivitesi ise doku inhibitörü metalloproteinazlar (TIMP) tarafından düzenlenir. TIMP'lar, MMP'lere karşı doğal bir karşı denge oluşturarak skar içerisindeki proteolitik aktivitenin sıkı kontrolünü sağlarlar [44]. Bu denge herhangi bir şekilde bozulduğunda aşırı ya da yetersiz matriks oluşumu veya yaranın açık kalması ile sonuçlanır [17].

### **2.2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler**

Yara iyileşmesi lokal ve sistemik kaynaklı birçok faktörden etkilenmektedir.

#### Lokal faktörler

**Enfeksiyon:** Yara iyileşmesini geciktiren en önemli lokal faktör enfeksiyondur. Yara yerinde enfeksiyon bulunması, inflamatuvar evrenin uzamasına ve inflamasyon şiddetinin artmasına sebep olduğu için yara iyileşmesinde gecikmeye sebep olur [27],[29].

**Ödem:** Yara çevresinde bulunan ödem, dolaşımı etkileyebileceğinden ve granülasyon dokusunun proliferasyonunu bozacağından dolayı yara iyileşmesini geciktirir [45].

**Doku perfüzyonu:** Yara iyileşmesini etkileyen en önemli faktörlerden biri de doku iskemisidir. Kan akımının yetersiz olduğu bir yarada nötrofillerin yara bölgesine göçünün ve diğer inflamasyon mediatörlerinin gelişiminin gecikmesi fagositik savunmayı azaltır ve

bakteri proliferasyonuna sebep olur. Bu durum enfeksiyon riskini arttırır. Yara iyileşmesi için gerekli oksijen ve besleyici maddeler yara alanına yeterince ulaşamayacağı için doku nekroze olabilir [46],[47].

Yara lokalizasyonu: Kanlanmanın zengin olduğu bölgelerde bulunan yaralar kanlanmanın daha az olduğu bölgelerde bulunan yaralara göre daha hızlı iyileşirler [48].

Yabancı cisimler: Yabancı cisimler; inflamatuvar evreyi uzatarak enfeksiyona ve yara iyileşmesinde uzamaya sebep olurlar [49].

Radyasyon: Radyasyon; inflamasyonu, ESM üretimini, fibroblast proliferasyonunu, anjiyogenezis ve büyüme faktörü sentezini inhibe ettiğinden dolayı yara iyileşmesinin tüm basamaklarını etkilemektedir [50].

### Sistemik Faktörler

Yaş: Yaşlı bireylerdeki yara iyileşmesi hücrelerin rejenerasyon kapasitesindeki düşüşe bağlı olarak genç bireylerdekine göre daha yavaş gerçekleşir.

Cinsiyet: Cinsiyetler arasında yara iyileşmesi açısından belirgin bir fark yoktur.

İrk: İrklar arasında yara iyileşmesi açısından keloid oluşumu bakımından farklılıklar vardır. Keloid oluşumu siyah ırkta diğer ırklara göre yüksektir [51].

Malnütrisyon: Hafif ve orta derecedeki beslenme eksiklikleri yara iyileşmesini etkilemezken, ileri derecedeki beslenme eksikliklerine bağlı olarak iyileşme hızının yavaşladığı kabul edilmektedir.

Protein eksikliği: Fibroblast proliferasyonunu, proteoglikan ve kollajen sentezini ve kapiller formasyonunu etkiler [30]. Protein eksikliğinde kollajen ve diğer aminoasitlerin kullanımı kısıtlanacağı için immün sistem zayıflar. Methionin, arjinin ve sistein gibi aminoasitler yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır [52].

Karbonhidrat ve yağ eksikliği: Hücrenin enerji kaynağı olarak yara iyileşmesinde rol alırlar. Hücre membranı sentezinde yağların önemli rolü vardır. Eksiklikleri yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir [53].

Eser elementlerin eksikliği: Yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Çinko eksikliğinde epitelizasyon hızı ve yara gerilme kuvveti azalır. İleri derecede demir eksikliğinde ise hidrokspirolin sentezi azaldığından dolayı kollajen sentezi azalır. Kollajenin hem sentezlenmesi hem de sentezlenen kollajenin fiziksel özellikleri olumsuz yönde etkilenir [54],[55].

Vitaminler: Tüm vücut fonksiyonlarında kofaktör olarak önemli rol oynamaktadır.

A vitamini; hücrel diferansiyasyon, epitelizasyon ve immün sistem fonksiyonları için gereklidir. A vitamini yara bölgesinde bulunan monosit/makrofaj sayısını artırır, kollajen aktivitesini düzenler, epitelyal hücre farklılaşmasını uyarır [20],[56].

C vitamini eksikliğinde; kollajen sentezi ve inflamatuvar süreçte aksaklıklar olmaktadır. Kollajen sentezi, C vitamini eksikliği durumunda hidroksilasyon basamağı olumsuz etkilendiğinden dolayı zayıf bir karakter kazanır ve bu sebeple yaranın gerilme kuvveti azalır [53].

E vitamininin antioksidan ve lizozomal membran stabilizasyonuna etkileri mevcuttur [57].

Diabet: Diabet rahatsızlığı bulunan hastalarda nötrofil ve makrofaj fonksiyonlarında defekt olması ve bakteri miktarında artış olması sebebiyle enfeksiyona yatkınlık artmaktadır. Fibroblast aktivitesinde ve kollajen sentezinde azalma görülür [58].

### *İlaçlar*

Glukokortikosteroidler: Kortikosteroidler; inflamasyonu, anjiyogenezisi, fibroblast proliferasyonunu, reepitelizasyonu, kollajen sentezini, yara kontraksiyonunu olumsuz yönde etkileyerek yara iyileşmesinde gecikmeye sebep olur [59].

Bazı antineoplastik ve antikoagülan ilaçların yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir [30].

### 2.2.3. Yara iyileşmesinde rol oynayan bazı mediatörler

Yara iyileşmesi için çeşitli hücrel aktiviter gereklidir ve bu aktiviter vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve nitrik oksit (NO) gibi doku bütünlüğünün sağlanmasında rol alan mediatörler tarafından stimüle veya inhibe edilirler.

#### Vasküler endotelial büyüme faktörü

Vasküler endotelial büyüme faktörü anjiyogeneziste anahtar rol oynayan ve biyolojik aktivitesini çoğunlukla endotelial hücreler üzerinde gösteren bir mediatördür [60]. VEGF mikrovasküler geçirgenliği arttırmasının yanı sıra güçlü bir vazodilatördür [61],[62].

VEGF vücutta; arteriollerini çevreleyen fibroblastlar, aktive makrofajlar, ovaryum folikülleri, korpus luteum, Leydig hücreleri, akciğer alveol hücreleri, bronşiyal ve koroid pleksus epitelyum hücreleri, renal glomerül visseral epitelyum hücreleri, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korkeksin tüm hücreleri ve hepatositler tarafından salgılanır [63]. Özellikle de malign tümör hücrelerinde (karaciğer, mesane, böbrek, over, mide, kolon, beyin ve meme kanserleri) sentezlenmektedir. Megakaryositler önemli VEGF kaynağıdır, bunu yanında trombositlerin  $\alpha$  granüllerinde de depo edilirler [63].

Heparin bağlayıcı glikoprotein yapısında olan VEGF'in alt grupları tanımlanmıştır [35]. VEGF ailesinin, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve Plasental Büyüme Faktörü (PLGF) olmak üzere 7 üyesi bulunur. [64] VEGF'nin endotel üzerinde VEGF-R1 ve VEGF-R2 ile lenf damarları üzerinde VEGF-R3 olmak üzere üç reseptörü vardır [65].

VEGF reseptörlerinin aktive olması sonucu bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinleri fosforile olur ve bu sayede endotelial hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonu sağlanır, apoptozis inhibe edilir [66],[67]. VEGF yara bölgesinin vaskularizasyonunu ve permeabilitesini düzenleyen esas faktördür ve proliferasyon evresi boyunca granülasyon yapımına katılmaktadır [68],[69]. Günümüzde VEGF'nin yara iyileşmesinde terapötik etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmaktadır [70],[71],[72],[73]. Bu çalışmalara göre; VEGF'nin aşırı üretimi sonucunda granülasyon depozisyonu artmaktadır. Bu etkilerinin yanı sıra VEGF proteinleri ve reseptörleri,

embriyonik vasküler gelişimde ve erişkinlerde tümöral büyüme gibi patolojik neovasküler olaylarla da ilişkilidir [74] .

VEGF; yara iyileşmesinde hayati bir rol oynamaktadır. Doku onarımının önemli aşamalarından biri olan anjiyogenez, epidermal keratinositlerden salgılanan VEGF ile indüklenmektedir. Bu sayede kan akımı sağlanır, yaralanan bölgede yeni kan damarları oluşumu gerçekleşir ve iyileşme hızlanır. İnflamasyonun sonlarına doğru yara bölgesine gelen monositlerin kemotaksisini uyan VEGF, endotelial doku faktörünü artırarak, koagülasyonda etkili olmaktadır. Bunun dışında granülosit-makrofaj öncül hücrelerinin koloni oluşturmasını sağlamaktadır [75].

Granülasyon dokusunun oluşması, normal yara iyileşmesinin süreçlerinden biridir. Granülasyon dokusunun gözlenmesi, temel iyileşme yanıtının bir bulgusu olarak kabul edilmektedir. Vasküler bileşenler, anjiyogenezise bağlı olarak oluşmaktadır. Yeni damarlar en erken yaralanmadan üç gün sonra görülmektedir. Kapiller tomurcuklanma hem besin ve diğer yara iyileşmesi araçlarını ulaştırmak hem de metabolitlerin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlamak için yara içerisine kanal şeklinde ilerlemektedir. Anjiyogenezin inhibisyonu yara iyileşmesini bozar.

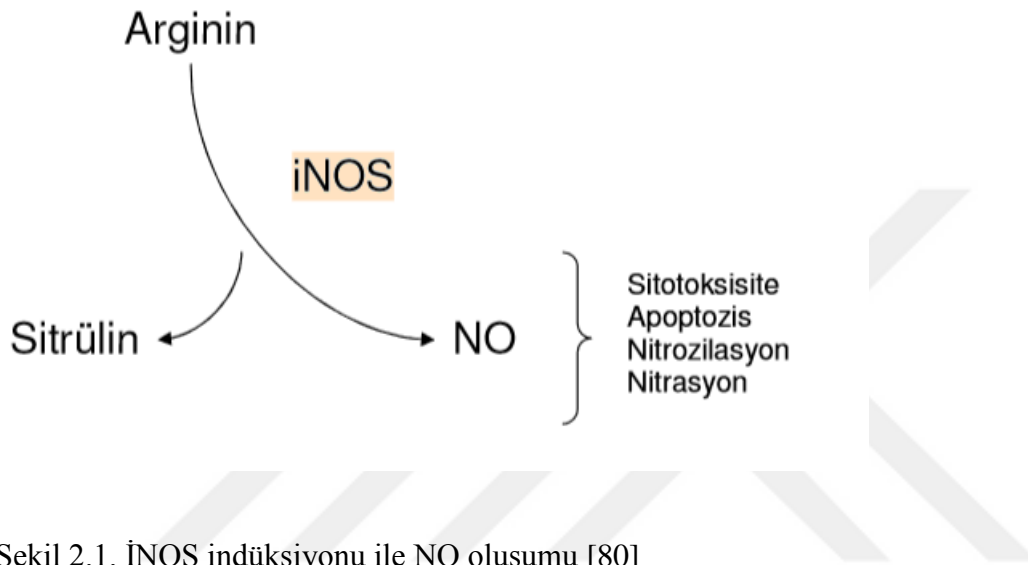
Yara bölgesinde ilk ortaya çıkan vasküler komponentler, trombositlerdir. Trombositleri nötrofil ve makrofajlar takip etmektedir. Aktive trombositler, özellikle trombin stimülasyonundan sonra, VEGF salınımını gerçekleştirmekte; monositler yara iyileşmesi sırasında, direkt ve dolaylı anjiyojenik etki göstermektedirler. Monositler, VEGFR-1 ekspresyon ederler ve VEGF'ye kemotaktik yanıt verirler. Dokuya yerleştiğinde, makrofajlar anjiyogenezini artırır, TNF- $\alpha$  salgılar; bu da keratinosit ve fibroblastların VEGF oluşturmasını sağlar. Hücreler ayrıca iyileşme için sitokin ve büyüme faktörleri de salgılayarak daha fazla VEGF ekspresyonu için parakrin etki oluştururlar. Faktörler VEGF transkripsiyonunu ve sekresyonunu artırır [76].

### Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO), yarılanma ömrü kısa, oldukça biyoaktif ve hücrelerde çeşitli biyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde rol oynayan serbest bir radikaldir. Molekül yapısı

küçük olan NO bu özelliği ile ideal bir intersellüler ve transsellüler aracı moleküldür [77],[78].

Nitrik oksit; L-argininden sitrülün oluşumu sırasında, L-argininin guanidin azot (nitrojen) grubunun bir dizi nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından katalize edilen hidroksilasyonu (Şekil 2.1) sonucu oluşan ara üründür [79].



Şekil 2.1. iNOS indüksiyonu ile NO oluşumu [80]

İnsanlarda NOS'un üç izoformu tanımlanmıştır; bunlar, nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve makrofajlardaki indüklenebilir NOS (iNOS)'tur. nNOS ve eNOS izoformları yapısal NOS (constutive NOS, cNOS) olarak adlandırılmaktadır [81].

nNOS, başlıca santral sinir sistemindeki nöronlarda geniş dağılım gösterir. Bunun dışında; spinal kordda, adrenal bezlerde ve vasküler düz kas hücrelerinde de bulunur. nNOS aktivitesi  $Ca^{+2}$  ve kalmodulin ile düzenlenir. nNOS kaynaklı NO, santral kan basıncının kontrolü, nörotransmitter salınımı ve nörogenezis gibi önemli fizyolojik nöral fonksiyonlarda görev almaktadır [82].

Başlıca endotel hücrelerden sentezlenen eNOS antiaterosklerotik etkiye sahiptir ve bu özelliğini damar endoteline lökosit adhezyonunu engelleyerek gösterir [83]. Ayrıca; anjiogenik faktörlerin düzenlenmesinde, anjiogeneziste, kan basıncının kontrolü ve vasküler remodelingde rol oynar [84].

Yara iyileşmesinde ve inflamasyonda ortama salınan iNOS; kardiyomiyositler, hepatositler, nöronlar, mikrogial hücreler, nötrofiller, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler endotel hücreler ve düz kas hücrelerinde bulunur. Bakteriyel lipopolisakkarit ve sitokinler (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN-gama) iNOS salınımını uyarmaktadır [85]. iNOS salınımının inhibe edildiği bir hayvan çalışmasında kollajen sentezinin ve yara dayanıklılığının azaldığı bildirilmiştir [86]. iNOS'tan yoksun fareler üzerinde eksizyonel yaralar oluşturulan diğer bir çalışmada ise yara iyileşmesinin geciktiği görülmüştür [87]. iNOS kaynaklı NO'nun bildirilen etkileri arasında antimikrobiyal özelliği de yer almaktadır [88].

Farklı dokularda farklı etkilere sahip bir molekül olan NO vazodilatasyon, sitokin stimülasyonu ve trombosit agregasyonu gibi bir çok olayda etkin rol oynamaktadır. NO patolojik koşullarda zararlı etkilere sahip olmakla beraber inflamatuvar reaksiyonlarda miktarında artış gözlenir [89].

Yeni mikrodamarların oluşması işlemi olan anjiyogenez normal bir yara iyileşmesinin en önemli aşamalarından biridir. VEGF, NO üretiminin düzenlenmesinden sorumlu potansiyel anjiyojenik bir faktördür. VEGF, e-NOS'u düzenler ve böylelikle NO üretimini artırır. Farelerde yapılan bir çalışmada cilt yaralanması sonrasında NO üretiminin VEGF salınımını tetiklediği gösterilmiştir. VEGF'nin anjiyojenik etkisi NO'ya bağlıdır. VEGF ile stimüle olan endotel hücre migrasyonu ve azalmış adhezyon da NO kaynaklıdır [90].

NO, yara iyileşmesi sürecinde rol alan birçok hücre tipinde gerçekleşen proliferasyon, farklılaşma ve apoptozis üzerinde etkin rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar NO'nun; fibroblastların, endotel ve epitel hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonunu teşvik ettiğini ve böylece yara iyileşmesinin proliferatif evresinde önemli bir rol oynadığını, yeniden şekillenme evresinde ise kollajen depozisyonunda görev aldığını göstermiştir [91].

#### **2.2.4. Yara onarım tipleri**

Yara iyileşmesi primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi olarak üçe ayrılır.

Primer yara iyileşmesi, oluşması üzerinden 12-24 saat geçmiş; kenarları cerrahi dikiş, doku yapıştırıcıları, bantlar veya mekanik bazı uygulamalar ile yaklaştırılmış temiz enfekte



olmayan cerrahi insizyonun iyileşmesidir. İnsizyon epitelyal bazal membran bütünlüğünü noktasal olarak bozmuştur ve az sayıda epitel ve bağ dokusu hücresi kaybı görülür. Epitelyal rejenerasyon fibrozisten fazladır. İnsizyon mesafesi dar olduğu için bu bölge fibrinle pıhtılaşmış kan ile dolar, hızla granülasyon dokusuyla invaze olur ve yeni epitel örtüsü ile örtülür [29].

Sekonder yara iyileşmesi; herhangi bir materyal veya işlem kullanmaksızın spontan iyileşmeye bırakılmış yaraları tanımlamaktadır. Bu tür yaralarda doku kaybı fazladır ve primer yara iyileşmesinde olduğu gibi yara kenarları karşı karşıya getirilmez, bu sebeple yara iyileşmesi daha yavaş olarak gerçekleşir. Doku ve hücre artığı fazladır, bu sebeple şiddetli bir inflamatuvar cevap oluşur. Yaranın iyileşme süresini yaranın derinliği ve yara kenarlarının birbirinden uzaklığı belirler [29],[92].

Tersiyer yara iyileşmesi gecikmiş primer kapama olarak tanımlanabilir. Kontamine dokuda enfeksiyon riski varlığında bu iyileşme şekline başvurulur. Kontamine doku temizlendikten sonra granülasyon dokusunun oluşması beklenir ve yaklaşık yedi gün boyunca sekonder iyileşmeye bırakılır. Ardından yara kenarları yaklaştırılır. Sonuç olarak eksudanın drene edilmesi ve ödem şiddetinde azalma gibi fizyolojik süreçlere olanak tanınmış olunur [17],[92].

### **2.2.5. Periodontal cerrahi işlemlerde sekonder yara iyileşmesi**

Periodontal plastik cerrahi işlemler; dişleri çevreleyen dişeti ve alveolar mukoza miktarı, konumu veya morfolojisindeki defektleri düzeltmek amacıyla uygulanan cerrahi işlemleri kapsamaktadır [93]. Periodontal plastik cerrahi işlemlerle yetersiz keratinize dişeti miktarını arttırmak ve oral mukozadan daha dirençli bir yapı oluşturmak, hastanın oral hijyen uygulamalarını kolaylaştırmak, yüksek frenilum ve kas ataşmanlarını ortadan kaldırıp çekme hareketlerini kısıtlamak, çeşitli formdaki dişeti çekilmelerini tedavi ederek estetik ve fonksiyonel sorunları düzeltmek hedeflenir [94].

#### Serbest dişeti grefti

Björn tarafından tanımlanmış olan serbest dişeti grefti, yapışık dişeti genişliğinin artırılması amacıyla uygulanan bir periodontal plastik cerrahi tekniğidir. Keratinize dişeti

miktarını arttırmak, kök yüzeyini kapatmak, yüksek frenilum etkisini ortadan kaldırmak ve hastanın oral hijyenini sağlayabileceği doku konturlarını oluşturmak amacıyla kullanılır [95].

Yüksek başarı yüzdesi sebebiyle klinikte sıklıkla tercih edilen serbest dişeti grefti uygulamalarının bazı dezavantajları bulunmaktadır. Alıcı bölgede görülen renk farkı ve özellikle verici bölgede oluşturulan yara yüzeylerinin sekonder iyileşmeye bırakılması sebebiyle postoperatif ağrı ve kanama meydana gelmesi başlıca dezavantajlardandır [96],[97].

#### Laterale kaydırılan flep

Kozmetik problemlere, hipersensitiviteye ve servikal kök çürüklerine sebep olan dişeti çekilmelerinin tedavi seçeneklerinden bir tanesi laterale kaydırılan flep tekniğidir [98]. Laterale kaydırılan flep tek bölge operasyonu olması, estetik açıdan başarılı sonuçlar elde edilmesi, yeterli kan desteğine sahip olması ve dişeti çekilmelerini kapatabilmesi gibi avantajlara sahiptir [99]. Laterale kaydırılan flep sonrası verici bölgede oluşan yara yüzeyi sekonder olarak iyileşmeye bırakılmaktadır.

#### Gingivektomi / gingivoplasti

Gingivektomi ve gingivoplasti işlemleri dişeti büyümelerinin ve kemik üstü ceplerin eliminasyonu, kron boyu uzatma, depigmentasyon ve nekrotizan ülseratif gingivitis sonrası bozulan gingival yapının düzeltilmesi amacıyla uygulanan işlemlerdir. Gingivektomi ve gingivoplasti işlemlerinden sonra meydana gelen geniş yara yüzeyleri sekonder şekilde iyileşirler. Postoperatif süreçte iyileşme süreci primer iyileşmenin beklendiği yara yüzeylerinden daha uzun sürede tamamlanır [100].

#### Frenektomi

Bir müköz membran katlantısı olan ve kas lifleriyle sarılmış olan frenilum, dudak ve yanak mukozasına ve/veya dişeti ve periosteuma bağlanan anatomik bir yapıdır [101].

Frenilum bağlantısı serbest dişetine dek uzandığında, dudak-yanağın fizyolojik hareketleri dişeti kenarının dişten ayrılmasına sebep olur. Sulkus veya cep ağzında meydana gelen bu

çekme hareketi plak akümülyasyonuna, oral hijyen uygulamalarının güçleşmesine ve serbest dişetin apikale doğru migrasyonuna sebep olmaktadır [102]. Kalın bir frenilum ortodontik tedavilere direnerek tedavi sürecinde güçlük çıkarır, tedaviyi takiben de maksiller kesici dişler arasında diastemaya sebep olabilir [103].

Bir çok farklı teknikle uygulanabilen frenektomi temel olarak frenilum ataçmanın altındaki kemiğe kadar olan bağlantısıyla birlikte çıkarılması işlemidir. Bu tekniklerin bir çoğunda iyileşme sekonder iyileşme şeklindedir [101],[104].

### 2.3. Mecsina Hemostopper

#### 2.3.1. Ön bilgiler

Mecsina Hemostopper kanama durdurucu bir ilaçtır. Literatürde likit formda ajan olarak tanımlanan bu bitkisel içerikli ajan sekiz bitki özünden elde edilmektedir. Açık yaralara uygulanabilen ve vücut tarafından emilebilen bu ajan antimikrobiyal içermemektedir. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Ulusal Bilgi Bankası'nda tek kullanımlık cihaz olarak kayıtlıdır. Ticari olarak; tampon, sprey ve likit ampul şeklinde takdim edilmektedir (Resim 2.1).



Resim 2.1. Tampon ve sprey formlarında Mecsina Hemostopper

### 2.3.2. İçeriği

1 mL'lik Mecsina Hemostopper ekstresi içerisinde; %46 vitis vinifera özü, %16 hypericum perforatum özü, %12 glycyrrhiza glabra ekstresi, %8 urtica angustifolia özü, %6 mentha arvensis suyu, %5 alpinia officinarum özü, %4 syzygium aromaticum özü, %3 thymus serpyllum özü bulunmaktadır.

#### Vitis vinifera

Koruk veya zm olarak bilinen vitis vinifera; yaprak, gövde, iek ve meyveden oluşmaktadır. Kemopreventif, antioksidan, sitoprotektif, vasküler ve sitotoksik etkileri olduğu hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir. İçeriğindeki prosiyanidinler sayesinde kollajen stabilizasyonunu desteklemektedir. Prosiyanidinlerin kapilleri duvarlarını stabilize etme ve permeabilite artışını nleme özellikleri vardır [105].



Resim 2.2. Vitis vinifera

#### Hypericum perforatum

Hypericum perforatum; bindebirlik otu, kan otu, yara otu, sarı kantaron otu, kılıotu, koyun kıran, pre olarak adlandırılmaktadır. Temmuz ve eylül aylarında kırsal alanda çiçeklenir. Sıcak ve ılıman iklimlerde görülmektedir. Dünyada 400'n üzerinde türü tanımlanmış olup bunlardan 10'u Avrupa'da 89'u ise Türkiye'de bulunur. Bu türlerden 43 tanesi endemiktir.

*Hypericum perforatum*; soğuk algınlığı, safra rahatsızlıkları ve mesane iritasyonları, bronşiyal ve ürogenital sistem yangıları, nevralji, migren ağrıları, siyatik ve çeşitli ülserler, dispepsi, diyabet, tüberküloz rahatsızlıklarının tedavisinde ve antispazmodik, diüretik, emanagog, antimalaryal olarak kullanılmaktadır. Haricen antiseptik olarak kullanılabilen *hypericum perforatum*, egzema ve mantar hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır. Özellikle kantaron yağı yanık yaraları üzerinde etkilidir [106],[107].

İçeriğindeki %0.2 hiperisin ve pseudohiperisin antidepresan tedavisinde, hiperforin ise depresyon, melankoli ve uykusuzluk gibi problemlerde etkili olduğundan dolayı piyasada *hypericum perforatum* tozu içerikli haplarının satışı ve kullanımı yaygındır [107].



Resim 2.3. *Hypericum perforatum*

*Hypericum* ekstrelerinin yan etkilerinin az olduğu ve iyi tolere edilebildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. *Hypericum* ekstresinin; gastrointestinal sistemde hassasiyet, alerjik reaksiyonlar, yorgunluk, halsizlik, ağız kuruluğu, ışığa duyarlılık gibi yan etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Bu etkiler hafif ve orta seviyede değişkenlik göstermektedir. *Hypericum* ekstresi zayıf ve orta derecedeki depresyon hastalığı tedavisinde de endikedir. Çok ciddi psikotik belirtileri olan vakalarda direk kullanımı uygun olmamakla beraber yardımcı tedavi olarak kullanılabilir [107].

### Glycyrrhiza glabra

Çiçek, yaprak, meyve, gövde ve kökten oluşan glycyrrhiza glabra meyan olarak bilinir ve tıpta daha çok kökleri kullanılmaktadır. Antiinflatuar, antitrombotik, antifungal ve antibakteriyel etkileri olduğunu belirtilmektedir. İçeriğindeki fenolik bileşiklerinin antibakteriyel; izoflavin bileşiklerinin antifungal, likorisidin, glisirizin ve glisiretinik; asid bileşiklerinin antiinflatuar, glisirizin ile antitrombotik ve tüm bu bileşikleri ile de antioksidan özellik gösterdiği ileri sürülmüştür. Trombin ile indüklenen trombosit aggregasyonunu, glisirizin ve likokalkon floavonoid etkisiyle inhibe eder ve antitrombin etki gösterir [108].



Resim 2.4. Glychrriza glabra

### Urtica angustifolia

*Urtica angustifolia* veya daha yaygın adıyla ısırgan otu; çiçekli bitki kısmı, yaprak ve kökten oluşmaktadır. Tıbbi olarak çiçek, yaprak ve kök kısımları kullanılmaktadır. Çiçekli kısmında yer alan baticı tüylerinde histamin, serotonin, asetilkolin, lökotrienler yer alır ve bu sayede antiinflamatuvar, analjezik ve anesteziik etki sağlar. Kök kısmında steroid, polisakkarit ve lektin yapılar antiinflamatuvar, antifungal, antiviral ve immünostimulan etki sağlamaktadır [109],[110]. Aktif polisakkarit ve lektin karşımı, farklı hemaglütinasyon ve insan lenfosit lektinlerini stimüle etmektedir.



Resim 2.5. *Urtica angustifolia*

### Mentha arvensis

Nane olarak bilinen mentha arvensis, çoğunluğu Asya ve Avrupa'da bulunan 90 türe sahiptir. Ülkemizde 7 türe ait 12 takson yayılım gösterir. Genellikle nemli ve sulak yerlerde yayılım gösteren rizomlu otsulardır. Yapraklar basit, kaliks antinomorf simetrik, çan veya tüp şeklindedir.

Eski zamanlardan beri karminatif olarak bilinen nane, mide bulantılarını kesici ve güzel koku verici olarak kullanılmaktadır. Sakız, diş macunu, şeker ve daha birçok endüstriyel dallarda yaygın olarak kullanılır. Antiseptik, serinletici, anestezi, ferahlatıcı ve bulantı kesici özellikleri mevcuttur [111],[112].



Resim 2.6. Mentha arvensis



### Alpinia officinarum

Havlican otu olarak bilinen *alpinia officinarum*; çiçek, yaprak, gövde ve kökten oluşan bir bitkidir. Tıpta gövdesinde yer alan silindirik rizomu kullanılmaktadır. Antifungal, antispazmatik ve antibakteriyel etkisi bulunmaktadır ve bu etkileri flavonoid bileşikleri ile gerçekleştirir [113].



Resim 2.7. *Alpinia officinarum*

Syzygium aromaticum

Karanfil olarak bilinen *syzygium aromaticum* baharat olarak kullanılmaktadır. Kimyasal içeriğinde; sesquiterpenes, uçucu yağ, caryophyllene, zank ve tanen bulunur. Karanfil solunum ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılır [114],[115]. Antiseptik ve antimikrobiyal özelliği bulunmaktadır. Antiviral etkilerinden bahseden çalışmalar bulunmuştur. *Helicobacter pylori* üzerine etkileri olduğu saptanmıştır. Karanfilin içeriğindeki eugenol kokusunu ve lezzetini vermektedir. Eugenol karanfilin temel bileşenidir. Eugenol lipid peroksidasyonunu önlenemektir [111].



Resim 2.8. *Syzygium aromaticum*

### Thymus vulgaris

Kekik olarak bilinen thymus vulgaris çiçek, yaprak, gövde ve kökten oluşmaktadır. Tıbbi olarak bitkinin her kısmı kullanılabilir. İçeriğinde bulunan flavon bileşiğinin antibakteriyel, antiviral, antispazmodik, antiprotozoan ve antioksidan özelliklere sahip olduğu hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir [116].



Resim 2.9. Thymus vulgaris

#### **2.3.3. Etki Mekanizması**

Mecina hemostopper uygulandığı açık yara bölgesindeki endotel hasarının üzerinde mekanik bir bariyer oluşturmaktadır. Yara bölgesine temas ettikten sonra fibrinojen ve kan hücreleriyle etkileşime geçmektedir. Vital eritrosit hücreleri arasında protein ağı oluşturur ve bu sayede hızlı bir hemostaz sağlar. Sağladığı hemostaz pıhtılaşma faktörlerinden bağımsızdır ve kanama diazetezi olan hastalarda yararlı bir yöntem olarak uygulanabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak eritrosit hücrelerinin oksijen içeriği

sayesinde yara bölgesinde anjiyogenezisinin arttığı ve bu şekilde yara iyileşmesinin hızlandığı bildirilmektedir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

03/2014-10 proje koduna sahip olan çalışmamız Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir. Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 22.10.2013 tarih ve 66332047-604.01.02/184-23314 sayılı izni alınarak başlanmıştır. Çalışmalar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM), Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Deneysel Model

Bu çalışmada GÜDAM'dan sağlanan, ortalama ağırlıkları 282 gr olan 48 adet Wistar cinsi erkek albino rat (Resim 3.1.) kullanılmıştır. Ratların ağırlıkları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Sekonder yara oluşturulduktan sonra hayvanlar 7 gün boyunca gavaj yapılarak beslenmiştir ve böylece yara yüzeyleri erken dönemde korunmuştur. 14. gün gruplarında bulunan hayvanlar 7. güne kadar gavaj yapılarak beslenmiştir ve bu günden sonra sert pelet yem yerine yumuşak katı gıda verilerek yara bölgelerinin zarar görmesi engellenmiştir. 7. günden sonraki süreçte deney hayvanlarına su ve yiyeceğe serbest erişim imkanı (Ad Libitum) sağlanmış ve oda ısısı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Deneklerin 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu altında yaşamaları sağlanmıştır.

Çizelge 3.1. Deneyde kullanılan ratların ağırlıkları (gram)

7. gün test	7. gün kontrol	14. gün test	14. gün kontrol
272	277	290	295
282	301	288	286
275	303	275	276
270	294	280	309
280	257	270	265
267	290	251	277
294	272	310	288
253	326	311	269
291	283	250	220
307	280	301	320
325	300	267	283
264	302	240	268



Resim 3.1. Deneyleerde kullanılan Wistar cinsi albino erkek rat

### 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmada;

- Ratlarda anesteziyi sağlamak için, Ksilazin HCl (Alfazyne %2) ve Ketamin HCl (Alfamine %10)
- Anestezik madde enjeksiyonları, izotonik sodyum klorür ile cerrahi alanın irrigasyonu ve Mecsina uygulamaları için, tek kullanımlık insülin enjektörleri
- Ratlarda cerrahi işlem yapılabilmesi için; hemostat, ekartör, 15 numara bisturi ucu ve bisturi sapı, periost elevatörü, 2 mm çapında lastik stoperli çelik ront frez, izotonik sodyum klorür, taşınabilir mikro motor (1000rpm), portegü, steril örtüler, steril eldivenler, steril tamponlar
- Yumuşak doku defektlerini oluşturmak için, çapı 3 mm olan ‘punch’ biyopsi aleti (Miltex dental instruments, USA)
- %10'luk povidon iyot çözeltisi

- Mecsina Hemostopper Sprey 10mL
- Örneklerin elde edilmesi ve saklanması için elmas separe disk frez, plastik biopsi kapları ve yeterli miktarda %10'luk formaldehit solüsyonu kullanılmıştır.

### 3.2.1. Mecsina Hemostopper sprej 10mL

Çalışmada kullanılan Mecsina Hemostopper Sprey Türk menşeli bitkisel kanama durdurucu bir ajandır. Mecsina Hemostopper Sprey uygulanan her gruba sprej formundaki ajandan insülin enjektörleri yardımıyla 0.10 mL 'lik dozlarda ilaç uygulaması yapılmıştır. (Resim 3.2).



Resim 3.2. Mecsina Hemostopper ile doldurulmuş steril insülin enjektörleri

### 3.2.2. Biyopsi Aleti

Yumuşak doku defektlerini oluşturmak üzere çapı 3 mm olan 'punch' biyopsi aleti (Miltex dental instruments, USA) ve biyopsi örneklerini elde etmek üzere çapı 5mm olan "punch" biyopsi aleti (Miltex dental instruments, USA) kullanılmıştır (Resim.3.3).



Resim 3.3. Biyopsilerde kullanılan 3 mm çapında steril punch aleti

### 3.3. Deney Grupları

Mecina Hemostopper (MHS) uygulamasının ağız içi mukozal dokularda yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı deney 14 günlük bir dönem için planlanmıştır. 48 hayvan rastgele (I) topikal Mecina Hemostopper uygulaması yapılan deney grubu ve (II) serum fizyolojik uygulaması yapılan kontrol grubu olarak 2 gruba ayrılmıştır. Bu iki grup da histolojik ve biyokimyasal analiz grubu olarak 2 alt gruba ayrılmıştır. Bu gruplar Çizelge 3.2’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Deney hayvanlarının gruplandırılması

Gruplar	Günler	Gruplardaki Hayvan Sayısı	
		I	II
Histolojik Analiz Grubu	7. gün	6	6
	14. gün	6	6
Biyokimyasal Analiz Grubu	7. gün	6	6
	14. gün	6	6



### 3.4. Cerrahi Protokol

Deneyleyler öncesinde yapılan ön çalışmada histolojik ve biyokimyasal analizler için en uygun defekt boyutu belirlendi. Hayvanlar, cerrahi işlemler uygulanmadan önce intramusküler Ketamin HCl (45 mg/kg; Alfamine %10, Alfasan, Woerden, Hollanda) ve Ksilazin HCl (2.5 mg/kg; Alfazyne %2, Alfasan, Woerden, Hollanda) ile sağlanan genel anesteziye alındı. Asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak cerrahi işleme hazır hale getirilen ratların steril cerrahi aletler ile dil ve yanağı ekarte edildikten sonra molar dişleri arasında kalan damak mukoperiosteumunda 3 mm'lik punch biyopsi aleti kullanılarak tam kalınlık eksizyonel yara yerleri oluşturuldu. (Resim 3.4) Deney grubunu oluşturan ratlara insülin enjektörü yardımıyla 0.10 ml MHS solüsyonu, kontrol grubunu oluşturan ratlara ise aynı şekilde serum fizyolojik damlatıldı. Gerekli durumda, kanama kontrolü sağlanana kadar steril tampon ile baskı yapıldı. Baskı sonrası herhangi ek bir işlem uygulanmadı.



Resim 3.4. Tam kalınlık eksizyonel yara bölgesinin oluşturulması

### 3.5. Deney ve Kontrol Gruplarından Biyopsi Alınması

Cerrahi işlemden sonraki 7. ve 14. günlerde sakrifikasyondan önce tüm ratların ağırlıkları ölçülerek kayıt altına alındı. Her gruptan eşit sayıda hayvan intrakardiyak yüksek doz ketamin HCl enjeksiyonu ile histolojik ve biyokimyasal analizler yapılmak üzere sakrifiye edildi. Ratların üst çeneleri bir bütün halinde çıkarılarak histolojik değerlendirmeler için %10'luk formaldehit içeren kaplara konuldu. (Resim 3.5) Biyokimyasal analiz yapılacak gruptan ise defekt bölgesinin etrafından bir miktar sağlıklı doku da almak amacıyla 5 mm'lik punch biyopsi aleti kullanılarak elde edilen biyopsi materyalleri (Resim 3.6) eppendorf tüplerine alınarak analizin yapılacağı güne kadar -80° C' de muhafaza edildi.



Resim 3.5. Histolojik analizler için eksize edilmiş rat üst çenesi



Resim 3.6. Biyokimyasal analizler için elde edilen doku örneği

### 3.6. Histolojik Yöntem

Tüm doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Ardından örnekler dekalsifikasyon için %10' luk EDTA solüsyonuna alındı. Tespit ve dekalsifikasyon işlemlerinden sonra doku örnekleri kasetlere konularak akar su altında 24 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirildiler. Sonrasında dokular parlatılmaları amacıyla ksilolden geçirildi ve ardından erimiş parafine gömüldüler. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron kalınlığındaki kesitlere tüm gruplar için Hematoksilen- Eozin boyaması uygulandı. Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve resimleri çekildi.

#### 3.1.1. Hematoksilen – Eozin boyama yöntemi

Boya solüsyonlarının hazırlanışı :

1- Harris Hematoksilen Solüsyonu

Hematoksilen 1gr

Alkol 10ml

Potasyum alum (alüminyum potasyum sülfat) 20gr

Distile su 200ml

Civa oksit 0.5gr

Glasiyal asetik asit 8ml

2- Eozin Solüsyonu

Eozin 1gr

Distile su 100ml

1 küçük timol kristali

### Boyama yöntemi

Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutuldu. 10 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen' de 10 dakika boyandı ve 10 dakika akar suda yıkandılar. % 70 alkol + 2 – 3 damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. Lamlar 15 dakika Eozin de bekletilip 10 dakika daha akar suda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı.

### **3.7. Biyokimyasal Analiz**

Çalışmada seçilen proteinlerin analizi: Kontrol ve deney gruplarındaki ratların palatal mukozasında VEGF ve iNOS protein konsantrasyonları western blot yöntemi [117] ile belirlenmiştir.

Protein izolasyonu ve miktar belirlenmesi: Rat palatinal mukozalarından elde edilen doku biyopsi örnekleri önce tartıldı ve ağılıkları kaydedildi. Daha sonra buz üzerinde 5 mg doku için 300 µl doku lizis solüsyonu [50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 % (w/v) NP-40, 0.25 Na deoksikolat; pH: 7.4] ile 1:10 oranında dilüsyonu yapılarak 1,5 ml lik steril kapaklı tüplere konuldu. Buz üzerinde çalışılacak proteinlerin izolasyonu amacıyla dokular doku homojenizatörü (MICCRA-D1(ArtLabor) yardımıyla homojenize edildi. Homojenizasyonu takiben dokunun proteinli kısmını ayırtırmak amacıyla süspansiyon 14000 rpm'de, +4° C'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Çalışılan proteinin hemen hemen tamamının sıvı faza geçmesi sağlandıktan sonra çökeltinin üstünde kalan sıvı (süpernatant kısmı) mikropipetler yardımıyla başka bir tüpe alındı. Elde edilen her bir numuneye ait süpernatantların Bradford yöntemi ile total protein tayini yapıldı. Her bir numunede 30 µg protein olacak şekilde kuyucuklara eklenecek örneklerin hacimleri (µL) cinsinden hesaplandı. Protein tanımlama amacıyla yüklü moleküllerin elektriksel alanda ayrılmaları temeline dayanan elektroforez tekniği uygulandı.

Western Blot prosedürü: %5'lik paketleyici jel [Distile su, %30 akrilamid/bisakrilamid karışımı (29/1), 1 M Tris HCl; pH: 6.8, % 10 sodyum dodesil sülfat (SDS), %10 amonyum persülfat (APS), tetrametiletilediamin (TEMED)], % 12 ayırıcı jel [Distile su, % 30

akrilamid/bisakrilamid karışımı (29/1), 1.5 M Tris HCl; pH: 8.8, % 10 sodyum dodesil sülfat (SDS), %10 amonyum persülfat (APS), tetrametiletilediamid (TEMED)] içeren poliakrilamid jele yüklenerek 200 voltta yaklaşık 60-75 dakika dikey elektroforez cihazında (Surelock, Invitrogen) elektroforez uygulandı. Elektroforez ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılan proteinler 90 dakika boyunca 200 mAmp sabit akıma tabi tutulup %20 metanol içeren transfer tamponu içerisinde PVDF (0.22 µm polivinil florid) membrana i-blot, Invitrogen, cihazında blotlama için transfer stack (Invitrogen) kullanılarak transfer edildi.

Membran, bloklama solüsyonu ile 1 saat çalkalayıcıda inkübe edildi. Yağsız süt tozu ile bloklama işlemi tamamlanan membran, 3 kez 10 dakika boyunca Tris Buffered Salin+Tween tamponu (TBST) ile yıkandıktan sonra 10 ml primer antikör ile gece boyu +4° C'de inkübasyona bırakıldı. VEGF ve iNOS'a karşı primer antikörler (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) ile immün işaretlenen membranlar 3 kez TBST ile yıkandıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında 10 ml HRP (horse radish peroksidaz) işaretli sekonder antikörler (anti-rabbit IgG HRP-linked antibody, (Cell Signaling Technology, Boston, USA) ile inkübasyona bırakıldı. Sekonder işaretlemeden sonra membran 2 kez TBST ve 1 kez TBS (Tris Buffered Salin) ile yıkandıktan sonra 10 ml LumiGlo® boyası ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda karanlık odada boyanarak hedef protein bantları görünür hale getirildi. Ardından, membrandan gelen sinyaller Syngene G box görüntüleme cihazında kemiluminesens olarak görüntüsü alındı. Elde edilen bantların cihazın yazılımı kullanılarak analizleri üzerinden piksel analizi ile kantitatif tayin yapıldı. Kontrol proteini olarak beta-actin kullanıldı.

### **3.8. İstatistiksel Değerlendirme**

Bu çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS Statistics Version 20 paket programı ile analiz edilmiştir.

Değişkenlerin normal dağılımdan gelme durumları araştırılırken birim sayıları nedeniyle Shapiro Wilk's' den yararlanılmıştır. Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup;  $p < 0,05$  olması durumunda değişkenlerin normal dağılımdan gelmediği,  $p > 0,05$  olması durumunda ise değişkenlerin normal dağılımdan geldikleri belirtilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıklar incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi nedeniyle Mann Whitney U Testinden yararlanılmıştır.

Normal dağılımdan gelmeyen değişkenler arasındaki ilişkiler incelenirken Spearman's Korelasyon Katsayısından yararlanılmıştır.

Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup;  $p < 0,05$  olması durumunda anlamlı bir ilişkinin olduğu,  $p > 0,05$  olması durumunda ise anlamlı bir ilişkinin olmadığı belirtilmiştir.

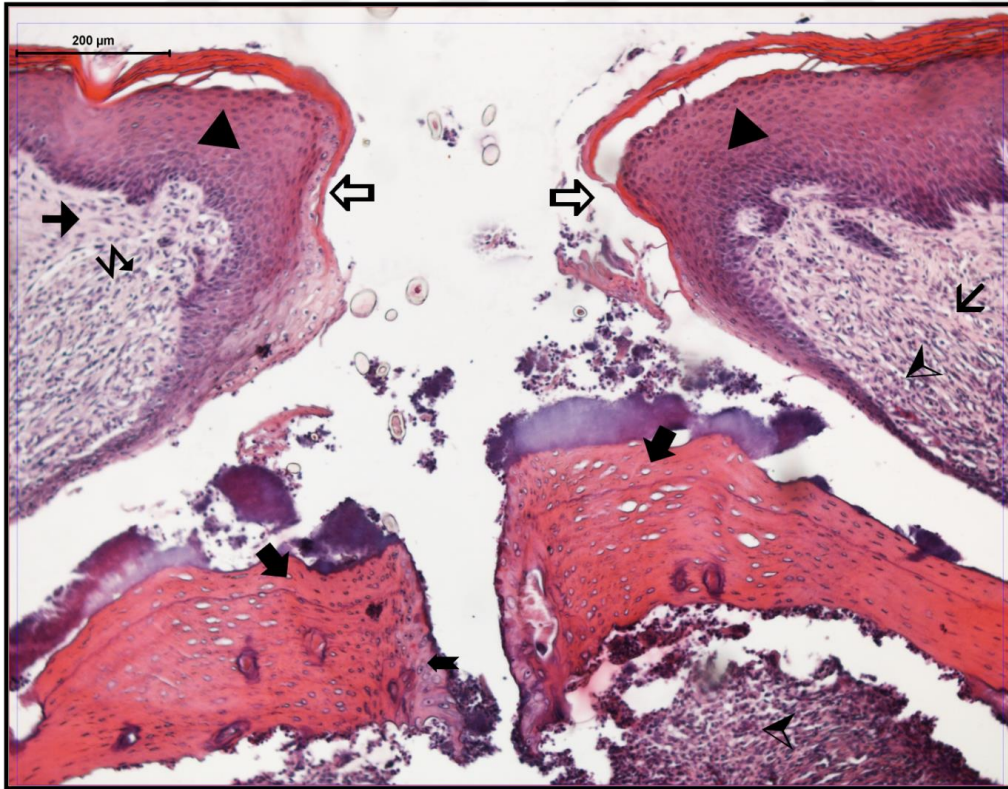


## 4. BULGULAR

Tıbbi bir bitki ekstresi olan MECSINA HEMOSTOPPER'in ratların palatal mukozasında oluşturulan yara bölgesine topikal olarak uygulanması sonucunda elde edilen biyokimyasal ve histolojik sonuçlar ve rat ağırlıklarındaki değişimler şu şekildedir:

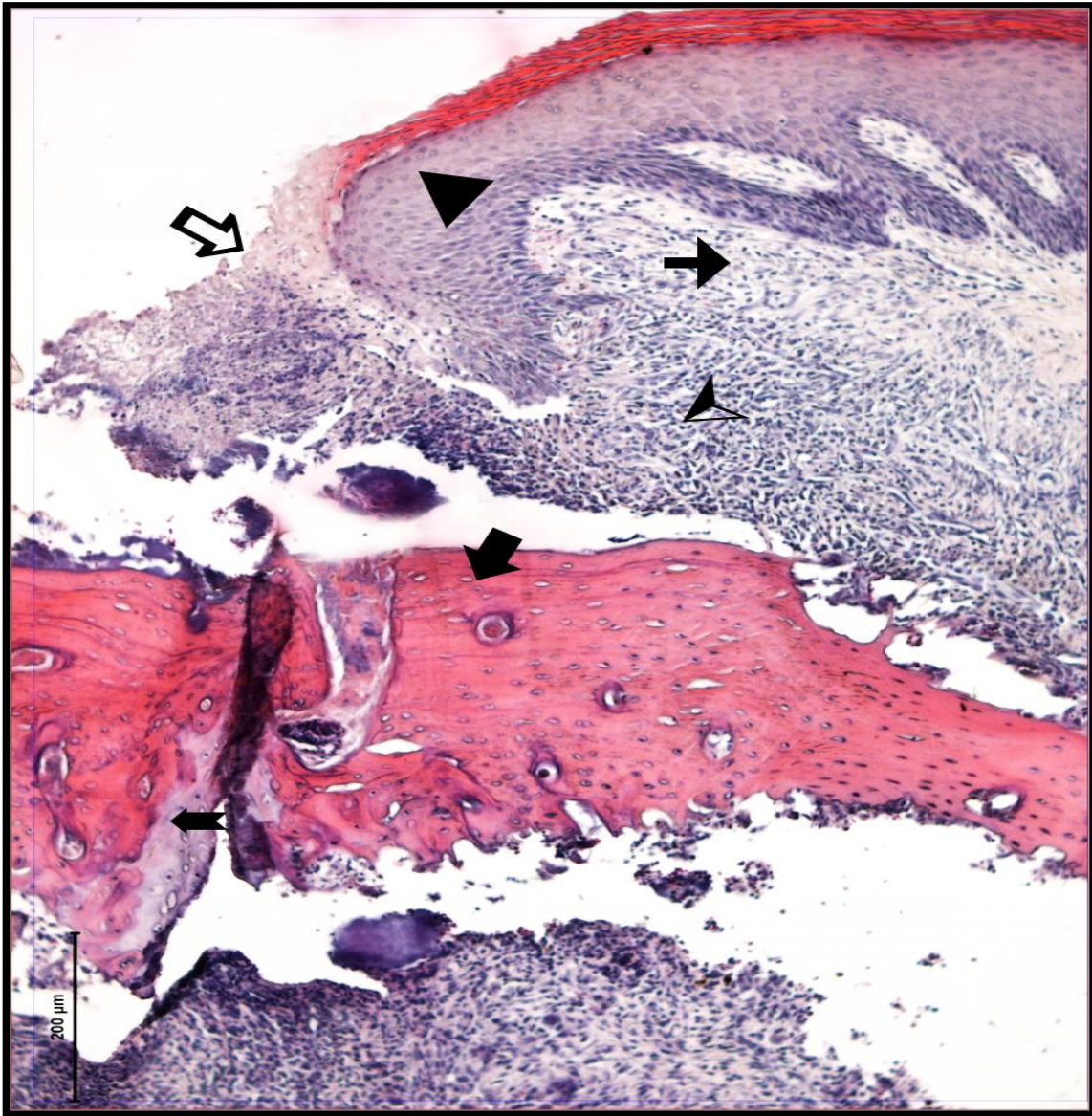
### 4.1. Histolojik Bulgular

7. gün kontrol grubunda yara dudaklarının epitel, lamina propria ve kemik boyunca açık olduğu ve bu bölgelerde granülasyon dokusunun belirginleştiği dikkati çekti. Epitelin komşu yara dudakları boyunca bazal membran eşliğinde proliferasyon olmaya başladığı izlenirken, bu bölgelere komşu bağ dokuda da yara iyileşmesini simgeler şeklinde artmış sayıda bağ doku hücreleri ve düzensiz seyir gösteren ince kollajen lifler saptandı. Kemiğe ait kesi bölgesinde ise, kesi dudaklarında minimal düzeyde primer kemikleşmenin başladığı bazofilik boyanan matris ve şişkince olan kemik hücreleri ile kendini gösteriyordu (Resim 4.1).



Resim 4.1. 7. gün kontrol grubunda yara dudakları (⇔), epitel (▴), lamina propria (→), kemik (⇨), granülasyon dokusu (➤), bağ doku hücreleri (↔), kollajen lifler (↘) ve primer kemik (➔) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100).

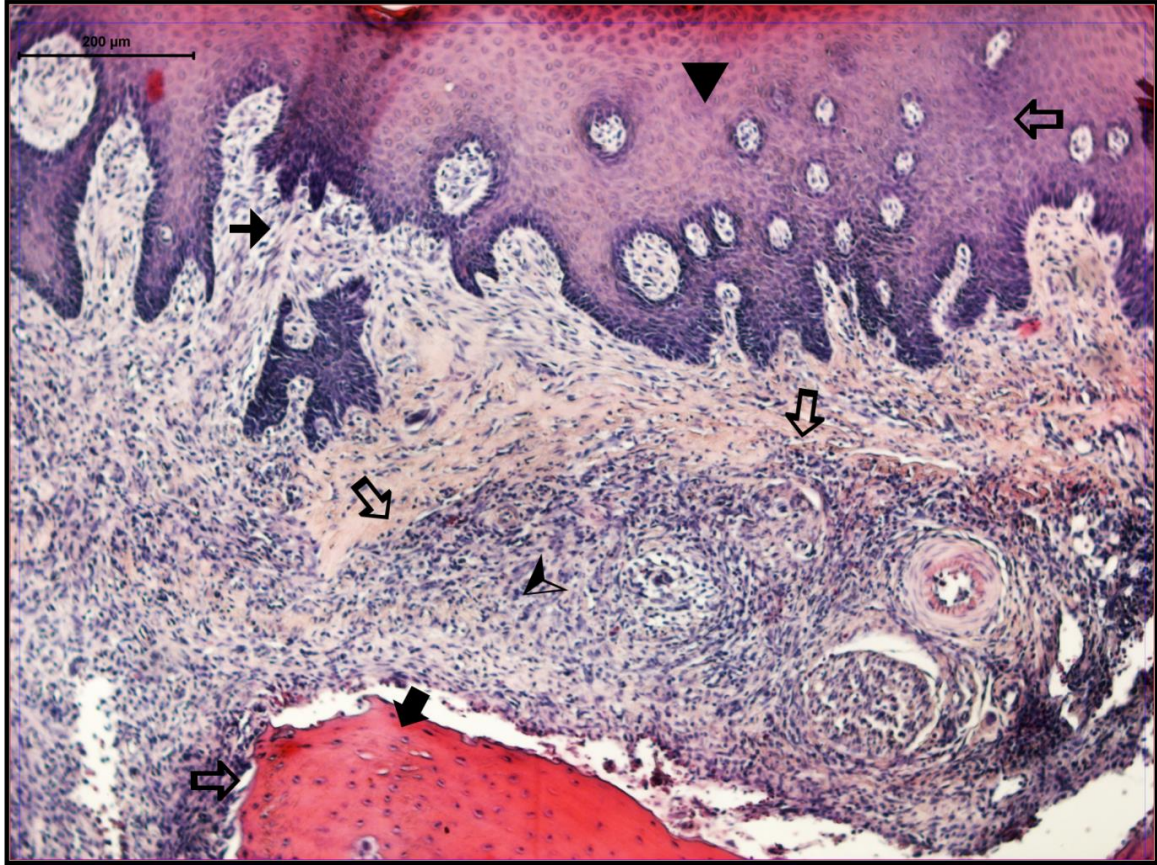
7. gün test grubunda granülasyon dokusunun epitelden bazale doğru tüm kesi boyunca çok daha yaygın olduğu dikkati çekti. Yara dudaklarında epitel proliferasyonu kontrol grubuna göre daha fazla olduğu için epitel katman sayısının daha da arttığı izlenirken, lamina propria'ya ait bağ doku hücre sayısı ve lif sentezinin belirgin olduğu ayırt edildi. Kemikte kesinin ilk yarısında yara dudaklarının birleştiği ve bu bölgede primer kemik dokunun hakim olduğu, alt yarıda ise henüz kapanmanın tamamlanmadığı ancak aktif kemik dokusunun her iki bölgede de varlığı dikkati çekti (Resim 4.2).



Resim 4.2. 7 gün test grubunda yara dudakları (⇨), epitel (▶), lamina propria (→), kemik (➤), granülasyon dokusu (➤) ve primer kemik (➤) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100).

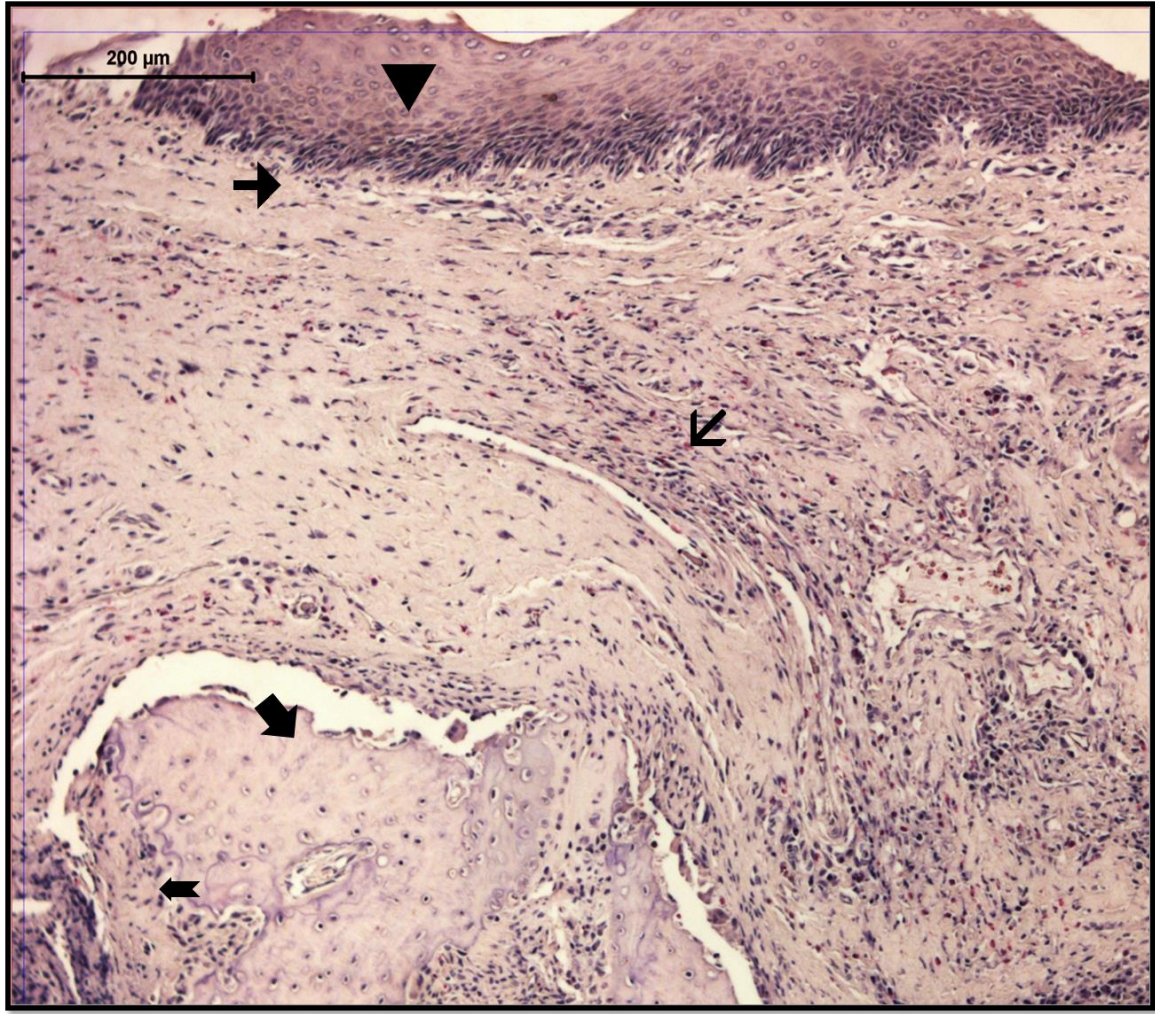


14. gün kontrol grubunda epitel ve lamina propria'da yara dudaklarının tamamen birleştiği, ancak kemik dokuda halen yara dudaklarının ayrı olduğu tespit edilirken, bu bölgenin kemik öncülü granülasyon dokusu ve bağ dokusu ile doldurulduğu izlendi. Kemik dokuda yara dudaklarının olduğu bölgede primer kemik doku hakim olarak bulunmaktaydı (Resim 4.3).



Resim 4.3. 14 gün kontrol grubunda yara dudakları (⇔), epitel (▶), lamina propria (→), kemik (▶) ve granülasyon dokusu (➤) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100).

14. gün test grubunda epitel ve lamina propria'nın tamamen sağlıklı görünümüne kavuştuğu ancak yara dudaklarının olduğu bölgede kollajen organizasyonunun henüz tamamen sağlanmadığı izlenirken, kemik yapının büyük oranda normal konfigürasyonunu kazandığı ancak yer yer primer kemik dokusunun varlığını koruduğu izlendi (Resim 4.4).



Resim 4.4. 14 gün test grubunda epitel (▲), lamina propria (→), kemik (▴), kollajen lifler (▾) ve primer kemik (→) izleniyor (Hematoksilen Eozin x100).

Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde, Mecsina Hemostopper'ın epitel ve lamina propria açısından yara iyileşmesinde oldukça etkin olduğu, bununla birlikte kemik iyileşmesini de hızlandırdığı ancak kemikteki bu iyileşmenin mukozadaki kadar etkin olamadığı kanısına histolojik düzeyde varıldı.

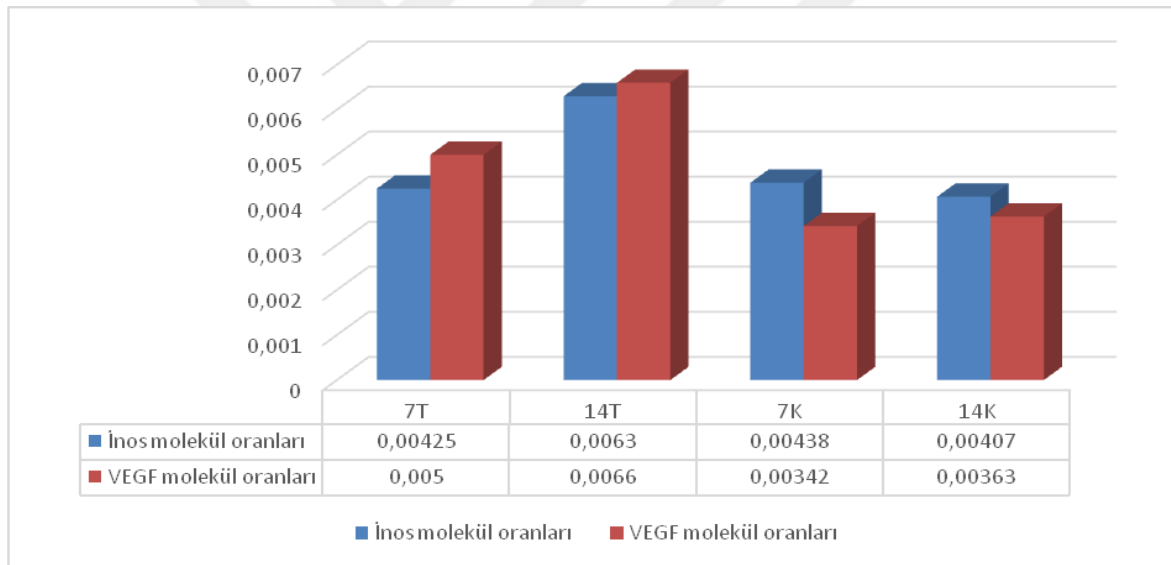
## 4.2. Biyokimyasal Bulgular

### 4.2.1. Total protein miktarları

Tüm gruplar için iNOS ve VEGF proteinlerinin miktarları tespit edilip oranlanarak gruplar arasında bir farklılık olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1). Protein miktarlarının gruplara göre istatistiksel dağılımı şekil.4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Total protein miktarları açısından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Mann Whitney U testi sonucu

		Grup						Mann Whitney U Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	z	p
7. gün test grubu	iNos	6	0,00425	0,0042	0,0018	0,0067	0,00162	5	-1,607	0,108
	VEGF	6	0,005	0,005	0,005	0,005	0	8		
	Toplam	12	0,00463	0,005	0,0018	0,0067	0,00116			
7. gün kontrol grubu	iNos	6	0,00438	0,0042	0,0029	0,0067	0,00136	7,83	-1,281	0,2
	VEGF	6	0,00342	0,00325	0,0023	0,0047	0,00093	5,17		
	Toplam	12	0,0039	0,0037	0,0023	0,0067	0,00122			
14. gün test grubu	iNos	6	0,0063	0,0067	0,004	0,008	0,00134	5,83	-0,645	0,519
	VEGF	6	0,0066	0,00725	0,0042	0,0078	0,0014	7,17		
	Toplam	12	0,00645	0,0067	0,004	0,008	0,00132			
14. gün kontrol grubu	iNos	6	0,00407	0,004	0,0028	0,0057	0,00114	7,5	-0,962	0,336
	VEGF	6	0,00363	0,00375	0,0023	0,0048	0,00106	5,5		
	Toplam	12	0,00385	0,00395	0,0023	0,0057	0,00107			



Şekil 4.1. Protein miktarlarının gruplara göre istatistiksel dağılımı

7. gün test, 7. gün kontrol, 14. gün test ve 14. gün kontrol gruplarında iNOS ve VEGF miktarları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte 7. gün test grubunun VEGF protein miktarı 7. gün kontrol grubuna göre, 7. gün kontrol grubunun İNOS protein miktarı 7.gün test grubuna göre, 14. gün test grubunun VEGF protein miktarı 14.gün kontrol grubuna göre ve 14. Gün kontrol grubunun İNOS protein miktarı 14. gün test grubuna göre daha yüksektir.

#### 4.2.2. iNOS protein konsantrasyonları

Tüm gruplar için alınan biyopsi örneklerinin doku ağırlıkları ölçülerek İNOS protein konsantrasyonları tespit edilmiştir. Biyopsi alınan dokuların ağırlıkları, İNOS protein konsantrasyonları ve total protein konsantrasyonları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 7. ve 14. gün test ve kontrol gruplarının biyopsi alınan doku ağırlıkları, İNOS protein konsantrasyonları ve total protein konsantrasyonları

7. gün test grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	İNOS konsantrasyonu (ng/40 µl için)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	8	66,33	13.260
2	9	75,72	17.037
3	10	90,02	22.525
4	22	100,58	55.319
5	11	108,34	29.794
6	6	85,42	12.813
7. gün kontrol grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	iNos konsantrasyonu (ng/ 40 µl için)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	12	35,34	10.602
2	9	29,26	6.584
3	6	38,82	5.823
4	8	28,26	5.652
5	10	33,78	8.445
6	14	41,24	14.434
14. gün test grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	iNos konsantrasyonu (ng/ 40 µl için)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	10	224,12	56.030
2	7	220,78	38.637
3	6	251,77	37.766
4	6	261,15	39.173
5	5	178,69	22.336
6	6	219,38	32.907
14. gün kontrol grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	iNos konsantrasyonu (ng/ 40 µl için)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	10	148,19	37.048
2	8	89,25	17.850
3	15	161,47	57.210
4	7	75,38	13.192
5	14	152,56	53.396
6	10	150,19	37.548

İNOS protein konsantrasyonlarının total protein konsantrasyonlarına oranı bakımından gruplar arasındaki farklılıklar Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. İNOS konsantrasyonları bakımından gruplar Arasındaki Farklılığa İlişkin Mann Whitney U testi sonucu

		iNos						Mann Whitney U Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	z	p
<b>7. Gün grupları</b>	<b>Test</b>	6	0,00425	0,0042	0,0018	0,0067	0,00162	6,5	0	1
	<b>Kontrol</b>	6	0,00438	0,0042	0,0029	0,0067	0,00136	6,5		
	<b>Toplam</b>	12	0,00432	0,0042	0,0018	0,0067	0,00143			
<b>14. gün grupları</b>	<b>Test</b>	6	0,00407	0,004	0,0028	0,0057	0,00114	4,08	-2,359	<b>0,018</b>
	<b>Kontrol</b>	6	0,0063	0,0067	0,004	0,008	0,00134	8,92		
	<b>Toplam</b>	12	0,00518	0,00535	0,0028	0,008	0,00167			

7. gün gruplarında İNOS protein konsantrasyonu oranları bakımından test ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte 7. gün kontrol grubunun İNOS protein konsantrasyonu oranı daha yüksektir.

14. gün gruplarında İNOS protein konsantrasyonu oranları bakımından test ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0,05$ ). 14. gün kontrol grubunun İNOS protein konsantrasyonu oranları 14. gün test grubuna göre anlamlı derecede yüksektir.

#### 4.2.3. VEGF protein konsantrasyonları

Tüm gruplar için alınan biyopsi örneklerinin doku ağırlıkları ölçülerek VEGF protein konsantrasyonları tespit edilmiştir. Biyopsi dokularının ağırlıkları, içerdikleri VEGF protein konsantrasyonları ve total protein konsantrasyonları Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. 7. ve 14. gün test ve kontrol gruplarının biyopsi alınan doku ağırlıkları, VEGF protein konsantrasyonları ve total protein konsantrasyonları

7. gün test grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	VEGF konsantrasyonu (ng/40 µl)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	8	46,18	9.236
2	9	55,12	11.024
3	10	60,12	12.024
4	22	76,58	15.316
5	11	65,46	13.092
6	6	35,32	7.064
7. gün kontrol grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	VEGF konsantrasyonu (ng/40 µl)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	12	18,26	7.864
2	9	13,66	3.986
3	6	12,24	2.594
4	8	13,54	3.113
5	10	17,76	5.778
6	14	29,28	10.974
14. gün test grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	VEGF konsantrasyonu (ng/40 µl)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	10	202,04	48.451
2	7	176,81	31.564
3	6	212,47	29.265
4	6	222,74	28.478
5	5	134,46	17.987
6	6	194,42	27.052
14. gün kontrol grubu örnekleri	Doku ağırlıkları (mg/ml)	VEGF konsantrasyonu (ng/40 µl)	Total protein konsantrasyonu (ng/ml)
1	10	126,58	32.178
2	8	64,96	13.547
3	15	121,32	48.789
4	7	45,04	9.489
5	14	112,42	47.978
6	10	114,28	31.856

VEGF protein konsantrasyonlarının total protein konsantrasyonlarına oranına ilişkin gruplar arasındaki farklılıklar Mann Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. VEGF protein konsantrasyonu oranları bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Mann Whitney U testi sonucu

		VEGF						Mann Whitney U Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	z	p
7. gün grupları	Test	6	0,005	0,005	0,005	0,005	0	9,5	-3,077	0,002
	Kontrol	6	0,00342	0,00325	0,0023	0,0047	0,00093	3,5		
	Toplam	12	0,00421	0,00485	0,0023	0,005	0,00104			
14. gün grupları	Test	6	0,0066	0,00725	0,0042	0,0078	0,0014	9,17	-2,562	0,01
	Kontrol	6	0,00363	0,00375	0,0023	0,0048	0,00106	3,83		
	Toplam	12	0,00512	0,00475	0,0023	0,0078	0,00195			

7. gün grupları VEGF protein konsantrasyonu oranları karşılaştırıldığında test ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0,05$ ). 7. gün kontrol grubunun VEGF konsantrasyonu oranları 7. gün test grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.

14. Gün gruplarında VEGF protein konsantrasyonu oranları bakımından test ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0,05$ ). 14. gün kontrol grubunun VEGF protein konsantrasyonu oranları 14. gün test grubuna göre anlamlı derecede düşüktür.

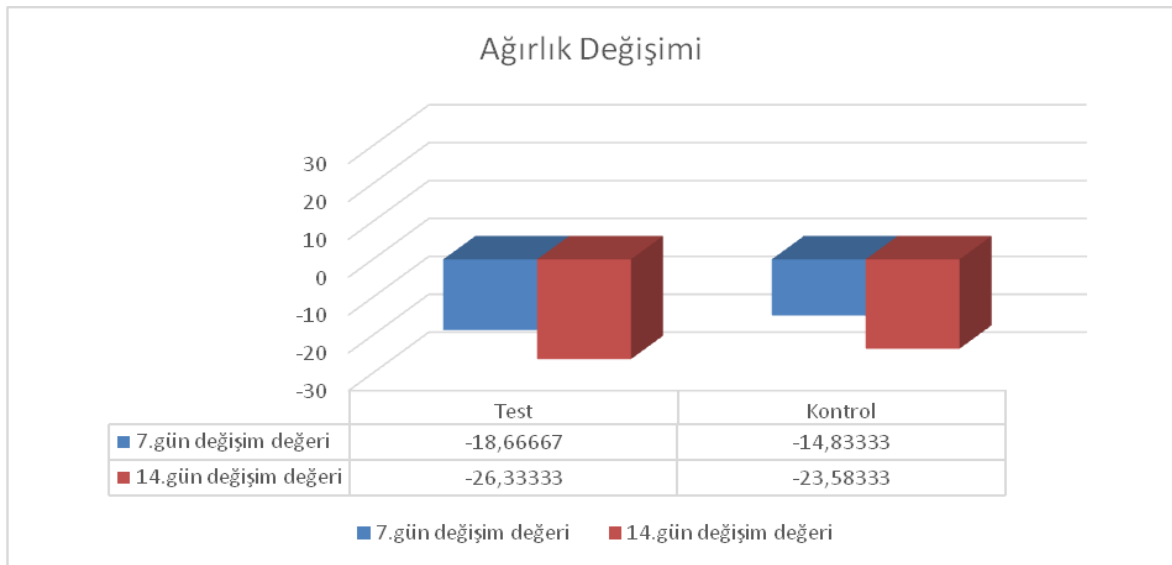
### 4.3. Ratların Ağırlıklarındaki Değişimler

Ratların ağırlıkları düzenli olarak ölçülmüş olup sırasıyla cerrahi protokol öncesinde ve sakrifiye işlemi öncesinde elde edilen değerler Çizelge 4.6’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Ratların sırasıyla cerrahi işlem öncesi ve sakrifiye işlemi öncesi ağırlıkları (gram)

7. gün test	7. gün kontrol	14. gün test	14. gün kontrol
1. 272→265	1. 297→272	1. 290→235	1. 295→282
2. 282→272	2. 321→308	2. 288→258	2. 286→260
3. 275→261	3. 303→283	3. 275→237	3. 276→258
4. 270→252	4. 294→274	4. 280→236	4. 300→279
5. 280→269	5. 257→249	5. 270→243	5. 265→220
6. 267→236	6. 290→271	6. 250→224	6. 277→238
7. 284→264	7. 272→248	7. 310→296	7. 269→261
8. 253→217	8. 326→310	8. 311→306	8. 220→197
9. 291→285	9. 283→280	9. 250→245	9. 320→271
10. 307→280	10. 280→266	10. 301→286	10. 283→261
11. 325→306	11. 300→295	11. 267→230	11. 268→245
12. 264→241	12. 302→297	12. 240→224	12. 288→252

Ağırlık değişimlerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Ağırlık değişimleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar Mann Whitney U Testi (Çizelge 4.7) ve korelasyon testi (Çizelge 4.8) kullanılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.2. Ağırlık değişimlerinin gruplara göre dağılımı



Çizelge 4.7. Ağırlık değişimleri açısından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Mann Whitney U testi sonucu

		Grup						Mann Whitney U Testi		
		n	Mean	Median	Min	Max	ss	Sıra Ort.	z	p
7.gün değişim değeri	Test	12	-18,66667	-18,5	-36	-6	9,76388	11,29	-0,839	0,401
	Kontrol	12	-14,83333	-17,5	-25	-3	7,73226	13,71		
	Toplam	24	-16,75	-18,5	-36	-3	8,83299			
14.gün değişim değeri	Test	12	-26,33333	-27	-55	-5	15,48215	11,92	-0,405	0,686
	Kontrol	12	-23,58333	-22,5	-45	-8	10,37881	13,08		
	Toplam	24	-24,95833	-23	-55	-5	12,96644			

Çizelge 4.8. Gruplarda ağırlık değişimleri arasındaki ilişkiye dair korelasyon testi sonucu

		7.gün değişim değeri	
Test	14. gün değişim değeri	r	-0,372
		p	0,234
		n	12
Kontrol	14. gün değişim değeri	r	-0,488
		p	0,108
		n	12

Ağırlık değişimleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte test grubunda 7. gün ve 14. gün ağırlıklardaki azalmanın daha fazla olduğu görülmüştür.



## 5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi birçok değişken faktörü içerisinde barındıran kompleks bir süreçtir. Dokunun hasarlanması ile başlayan bu süreç; pıhtı oluşumu, inflamatuvar hücrelerin bölgeye göçü, granülasyon dokusunun oluşumu, anjiyogenezis, yara kontraksiyonu ve dokuların yeniden şekillenmesi basamaklarını içerir [118],[119]. Cerrahi sonrasında yara iyileşmesini etkileyecek birçok çevresel faktörü barındıran ağız boşluğunda normal iyileşme süreci; heterojen ağız florası, yiyeceklerin meydana getirdiği travmalar, operasyon sonrasında mekanik temizliğin zorlaşmasına bağlı olarak artan dental plak gibi faktörler sebebiyle bozulabilmektedir.

Bakteriler yara iyileşmesi üzerine enzim ve toksin üretimi yoluyla olumsuz olarak etki etmektedir [120]. Bakteriler tarafından salınan proteazlar hücre proliferasyonunda rol alan büyüme faktörlerinin yıkımına yol açmakla beraber sitotoksik enzim ve serbest radikallerin üretimini arttırarak epitel hasarına sebep olur [121]. Epitelyal hücre migrasyonunu engelleyen bakteri ürünleri epitelizasyonu etkilemekte ve böylece yara iyileşmesinin inflamatuvar evresinin uzamasına sebep olmaktadır [122].

Dişetin ve alveolar mukozanın anatomik, travmatik ya da gelişimsel deformitelerini düzeltmek amacıyla uygulanan cerrahi işlemler periodontal plastik cerrahi olarak tanımlanmaktadır [123]. Periodontal plastik cerrahi işlemleri takiben oluşturulan yaraların suture materyali ile kapatılamayacak kadar geniş olduğu durumlarda sekonder yara iyileşmesi gerçekleşmektedir. Yara kenarlarının karşı karşıya getirildiği, yani primer olarak iyileşen yaralar ile karşılaştırıldığında sekonder yara iyileşmesi daha yavaş seyretilmektedir ve kontaminasyon riski daha fazladır [29]. Bu sebeple periodontal plastik cerrahi sonrasında yara iyileşmesinin klinik sonuçlarını geliştirmek, hasta konforunu arttırmak ve iyileşme sürecini kısaltıp sağlıklı bir doku oluşmasını sağlamak amacıyla bazı terapötik ajanlardan yararlanılabilir.

Periodontal plastik cerrahi sonrasında meydana gelen yaraların antimikrobiyal kontrolünde en yaygın olarak kullanılan antiplak ajan olan klorheksidin günümüzde altın standart olarak nitelendirilmeye devam etmektedir [124]. Pozitif özelliklerinin yanında oldukça aktif bir antiseptik ajan olan klorheksidinin bazı yan etkileri olduğu bilinmektedir. Klinik olarak ağız, dil ve dişler üzerinde renkleşme, yüzeyi pürüzlü diş dolguları ve pürüzlü diş

yüzeyleri üzerinde boyanma, tat alma duyusunda değişiklikler, içeriğindeki alkol sebebiyle kötü tat, yanma ve ağrıya sebep olabilmesi gibi etkilerinden söz edilmektedir [125]. Basetti ve Kallenberger'in yaptığı çalışmada ratlarda ağız içi mukozanın klorheksidin ile çalkalanması sonucunda yara iyileşmesinde gecikme olduğu bildirilmiştir [126]. Klorheksidinin bazı hücre fonksiyonlarını engellediği [127],[128],[129] ve kollajen sentezinde azalmaya neden olduğunu rapor eden çalışmalar mevcuttur [130],[131]. Bu faktörler cerrahi uygulamalardan sonra oluşturulan yaraların antimikrobiyal kontrolü amacıyla kullanılan ajanlara alternatif olabilecek veya bunlarla birlikte kullanılacak bazı bitkisel ürünlerin kullanımını gündeme getirmiştir [3],[132],[133].

Tarih boyunca bitkisel ekstraların hemostatik amaçla ve yara bakımında geleneksel olarak kullanıldığı bilinmektedir. Türk hekimlik tarihinde hemostatik ajan olarak kullanılan ilk tescilli tıbbi bitki ekstratı Ankaferd Bloodstopper (ABS)'dir [134]. Mecsina Hemostopper (MHS) tıpkı ABS gibi bitkisel kaynaklı kanama durdurucu bir ajandır. Her iki ajan da *thymus vulgaris* (Kekik), *glycyrrhiza glabra* (Meyan), *vitis vinifera* (Asma), *alpinia officinarum* (Havlıcan) ve *urtica dioica* (Isırgan) bitkilerinin kök ve yapraklarından elde edilmiş bir karışım içermekteyken MHS'de bu bitkilere ilave olarak *syzygium aromaticum* (karanfil) özü ve *mentha arvensis* (tarla nanesi) suyu bulunmaktadır. Bu bitkisel karışımlar dental operasyonlar, travmatik kesiler, spontan ya da cerrahi girişim sonrası oluşan kanamaların kontrolünde rutin olarak kullanılmaktadır. Bu karışımlar ile indüklenen protein ağı oluşumu, bilinen fizyolojik hemostatik yollardan bağımsız olarak gerçekleşmektedir. Hem hemostatik parametreleri normal olan bireylerde hem de hemostaz bozukluğu olan bireylerde etkili olarak kullanılabilen bu ajanlar tek bir pıhtılaşma faktörünü değil tüm fizyolojik hemostatik süreci etkilemektedir [134]. Yapılan çalışmalar ABS ve MHS'nin hemostatik etkinliğini eritrositlerden pıhtı oluşurup vaskülarizasyon miktarını arttırarak ve inflamasyon süresini kısaltarak sağladığını ve bu sayede yumuşak doku yara iyileşmesini hızlandırdığını ortaya koymaktadır.

Akalın ve diğerleri (2014) ratlarda yapmış oldukları dermal yara iyileşmesi çalışmasında ABS uygulanan grubun kontrol grubuna oranla daha hızlı iyileşme gösterdiğini ifade etmişlerdir [135].

Göker ve diğerleri (2008) yaptığı çalışmada [134] ABS'nin hemostatik parametreler üzerinde in vitro etkilerini incelemiştir. ABS'nin plazma veya seruma eklendiğinde çok

hızlı bir protein ağı ve eritrosit agregasyonu oluşumunu başlattığı ve pıhtılaşma faktörleri II, V, VII, VIII, IX, X, XI ve XIII düzeylerini etkilemediği görülmüştür. Bulgular, ABS'nin total kan protein miktarını azalttığını ve eritrosit agregasyonu için odak oluşturan enkapsüle protein ağı oluşumunu uyardığını göstermiştir.

Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ABS'nin toksisitesi test edilmiştir ve 7 günlük gözlem sonucunda herhangi bir sistemik toksisiteye rastlanılmamıştır [136].

Arslan ve diğerleri (2010) rapor ettikleri bir vakada travma kaynaklı primer olarak kapatılma şansı olmayan yumuşak doku laserasyonuna sahip bir vakada ABS uygulayarak 24 saat sonra yara iyileşmesini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak yara ağzının kapanmaya başladığını ve ABS'nin yüzeysel yara iyileşmesinde etkin olduğu kanısına varılmıştır [137].

Aktop ve Altunurfan (2012) ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada iki gruba ayırdıkları varfarin verilen 24 ratın sırt derisine 2 cm aralıklarla 2 cm uzunluğunda 3 adet bistüri insizyonu yapmışlar ve farklı lokal hemostatik ajanların yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak ABS'nin hızlı bir iyileşmeye sebep olduğunu rapor etmişlerdir [138].

Yapılan bir çalışmada antibiyotiğe dirençli hastane enfeksiyonlarının etkenleri olan *Staphylococcus Aereus* ve *E. Coli*'nin de bulunduğu 102 mikroorganizma üzerinde ABS'nin antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. Birden çok ilaca karşı direnci bulunan birçok bakteri grubu üzerinde ABS'nin antimikrobiyal etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir [139].

ABS'nin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise ABS'nin gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı yüksek inhibisyon aktivitesi gösterdiği ve yara iyileşme sürecinde hemostatik etkisine ek olarak antimikrobiyal özelliğinin de yararlı olacağını bildirmişlerdir.

İşler ve diğerleri (2010) ratların tibialarında kemik defekti oluşturarak ABS'nin erken yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir [140]. 7. Günde dokular üzerinde yapılan histopatolojik değerlendirmelerde erken kemik iyileşmesi sürecinde daha fazla yeni kemik

oluştugu ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha az inflamatuvar yanıt oluştuğu görülmüştür.

Özyurt ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada MHS'yi tek başına ve Galyum-Alüminyum-Arsenid (GaAlAs) lazer uygulaması ile kombine kullanarak sert doku iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırmışlardır [141]. MHS'nin histolojik incelemelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iyileşme sürecindeki doku değişimlerini önemli ölçüde hızlandığı görülmüştür. İmmünohistokimyasal incelemelerde ise MHS grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında osteoblast sayısının arttığı ve kemik oluşumu aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Morfolojik inceleme sonucunda da MHS uygulanan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kalsifiye alanların daha yaygın olduğu sonucuna varılmıştır.

Bitkisel içerikli ajanların tarih boyunca kanama durdurucu ve yara iyileştirici olarak kullanıldığı bilinmekle beraber bu ajanlardan ABS'nin dokulardaki etkisinden bahseden birçok çalışma ve olgu raporu mevcuttur. Fakat literatür araştırmamız dahilinde MHS'nin sert doku yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı tek bir çalışmaya [141] rastlanırken, MHS'nin yumuşak dokularda yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Araştırmamız, MHS'nin deneysel hayvan modelinde sekonder olarak iyileşmeye bırakılan eksizyonel yaraların iyileşmesi üzerine etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmek üzere planlandığı ilk çalışma olma niteliğindedir.

Araştırmamızın deneysel modelinin seçiminde; yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda en sık tercih edilen ve iyi bilinen bir model olması kriterlerine dikkat edilmiştir [33],[142]. Ağız içi dokularda yara iyileşmesini değerlendiren çalışmaları yöntem açısından incelediğimizde eksizyonel yara modelinin çoğunlukla palatinal mukozada oluşturulduğu görülmüştür. Jansen ve diğerleri (2008) kollajen yapı iskelesinin yara iyileşmesi sırasında oluşturduğu doku reaksiyonunu incelemek üzere palatinal rat mukozasını tercih etmişlerdir [143]. Kozlovsky ve diğerleri (2007) deneysel çalışmalarında çeşitli antimikrobiyal ajanların yara iyileşmesi üzerine etkilerini ratların palatinal mukozalarında oluşturdukları defektlerde incelemişlerdir [144]. Yamashita ve diğerleri (2007) zolendronate'ın çene kemiği ve mukozanın yara iyileşmesi üzerine etkilerini incelemek için yine rat modeli kullanmışlardır [145].

Mevcut araştırmamızda sekonder olarak iyileşmeye bırakılmış eksizyonel yara modeli oluşturmak amacıyla rat palatinal mukozası kullanılmıştır. Araştırmamız esnasında mukozal dokulardaki etkilerin ideal olarak değerlendirilebilmesi amacıyla ratların iyileşme hızları ve literatürlerdeki benzer çalışma metotları değerlendirilerek 7. ve 14. günler doku rneklelerinin alımı için uygun grlmştır. Araştırmamızdan önce yaptığımız n çalışmada histolojik ve biyokimyasal olarak incelemelerin yapılabilceği defekt boyutu tespit edilmiştir ve 3 mm çapında sirküler defektlerin oluşturulmasına karar verilmiştir.

Birçok farklı hücre tipi, büyüme faktörleri ve ekstraselüler matriksin etkileşim içerisinde olduğu yara iyileşmesi süreci karmaşık olaylar zincirlerinden oluşmaktadır [146]. Bu karmaşık süreçte meydana gelen doku değişimlerinin değerlendirilebilmesi amacıyla çalışmamızda defekt bölgeleri histolojik olarak incelenmiştir. Defektlerin iyileşme sürecini etkileyen diğer biyolojik faktörlerin de incelemesi amacıyla biyokimyasal olarak doku rneklelerinde VEGF ve İNOS protein konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Protein tayininde kolay uygulanabilen, hızlı sonuç alınan ve reaktif gereksinimi az olan western blot yöntemi tercih edilmiştir. Çok sayıda protein içeriğine sahip dokularda özgün ve hedeflenen proteinlerin belirlenmesine olanak sağlaması sayesinde western blot yöntemi birçok yönteme göre üstündür [147].

Çalışmamızda 7. günde alınan doku rnekleleri histolojik olarak karşılaştırıldığında granülasyon dokusunun epitelden bazale doğru tüm kesi boyunca çok daha yaygın olduğu dikkati çekmiştir. Yara dudaklarında test grubunda epitel proliferasyonu kontrol grubuna göre daha fazla olduğu için epitel katman sayısının daha da arttığı izlenirken, lamina propria'ya ait bağ doku hücre sayısı ve lif sentezinin belirgin olduğu ayırt edilmiştir. Cornelissen ve diğerleri (1999) rat palatinal mukozasında defekt oluşturdukları çalışmalarında granülasyon dokusu içerisinde bulunan fibroblastların yara bölgesi dışında kalan fibroblastlara göre daha fazla kollajen sentezlediğini tespit etmişlerdir [148]. Bu bilgiden yola çıkarak MHS grubunda granülasyon dokularının daha belirgin olması, bağ doku hücre sayısı ve lif sentezinin daha belirgin olması MHS'nin erken dönem fibroblast sentez kabiliyeti üzerine etkisi olduğu şeklinde değerlendirilebilir.

Yara iyileşmesinin proliferatif evresinin önemli olaylarından birisi de anjiyogenezistir. VEGF, anjiyogeneziste rol oynayan en kritik mediatördür [69]. VEGF yeleri değişik

biyolojik ve fiziksel özellikleri olan VEGFR-1, -2, -3 olarak üç reseptöre sahiptir. Endotel hücrelerine özgül yedi üyeden oluşmaktadır [66].

Nakanishi ve diğerlerinin (2007) VEGF ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında VEGF'nin greftleme işleminden sonra başlayan vasküler olayların erken evrelerine katkı sağladığını bildirmişlerdir [149].

Favia ve diğerlerinin (2008) sodyum hyalüronat'ın (Aminogam®) anjiyogenezis üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Aminogam®'in fibroblastlardan VEGF salınımını artırarak yara iyileşmesinde hızlanma sağladığını tespit etmişlerdir [150].

Bu çalışmalara paralel olarak çalışmamızda yara iyileşmesinin birçok evresinde rol oynayan önemli bir anjiyogenez faktörü olan VEGF'nin dokulardaki miktarı incelenmiştir.

Brown ve diğerleri (1991) yara iyileşmesinde VEGF salınım düzeylerini inceledikleri çalışmalarında ekspresyonun 3. günde maksimum düzeye ulaştığını ve 3. haftadan itibaren VEGF düzeylerinin normale döndüğünü bildirmişlerdir [151]. Ünlü'nün (2010) in vitro tez çalışmasında ise ABS'nin VEGF ekspresyonu üzerine etkileri değerlendirilmiş ve 7. günde ABS grubu VEGF protein düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, 14. günde ise deney grubunda artış olurken kontrol grubunda azalma olduğu rapor edilmiştir [152]. Bizim çalışmamızda; 7. ve 14. gün test gruplarının kontrol grupları ile karşılaştırılması sonucu MHS uygulanan test gruplarının anlamlı derecede yüksek VEGF protein konsantrasyonlarına sahip olduğu gözlenmiştir.

Li ve diğerleri (2003) daha iyi bir yara iyileşmesi görülebilmesi için dokularda VEGF miktarının yüksek olması gerektiğini bildirmişlerdir [35]. Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre tüm MHS uygulanan gruplarda VEGF miktarının daha fazla olmasını MHS'nin VEGF protein düzeyini artırarak yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı şeklinde yorumlayabiliriz.

Önceleri toksik bir molekül olarak tanımlanmasına rağmen zaman içerisinde moleküler, hücresel ve fizyolojik olaylarda rol oynadığı tespit edilen , serbest radikal özelliğine sahip, kısa ömürlü NO'nun [153],[154],[83],[155] yara iyileşmesi süreçlerinde önemli bir role



sahip olabileceği bildirilmiştir. İnsan ve hayvan çalışmalarında elde edilen bilgiler ışığında NO'nun yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir [78].

Genel olarak inflamatuvar cevabın başlangıcının İNOS'un regülasyonunda kısa süreli ve geçici bir artış olmasıyla yüksek NO seviyelerinin üretilmesi olduğu öne sürülmüştür. İNOS'un aktive olup yüksek miktarlarda ürettiği NO'nun konak savunma mekanizmasında ve immünite kontrolünde önemli olduğu bildirilmiştir [156].

Yüksek seviyelerdeki reaktif nitrojen oksit türlerinin lipid peroksidasyonuna, DNA yıkımına, tiyollerin oksidasyonuna ve tirozin kalıntılarının nitrasyonuna öncülük edebileceği [157] ve bu nedenlerle, yüksek miktarlardaki NO'nun memelilerin dokularında patojenlere karşı sitostatik ve sitotoksik antimikrobiyal aktivitesi ile koruyucu rol oynayabileceği bildirilmiştir [151],[158]. NO'nun birçok protein ve enzimin nitrozilasyonunu ve nitrasyonunu yapmasının yanı sıra sitotoksik ve bakterisidal etkilerini de arttırdığı rapor edilmiştir [80].

iNOS'un açığa çıkması ve artan mikroorganizmalara karşı sitotoksik bir molekül gibi davranabilen NO'nun yüksek miktarlarda üretilmesi inflamasyona karşı gelişen bir cevap olarak nitelendirilmiş ve bu durumun dokulara karşı oluşan zararlı ve faydalı etkilerle ilişkili olabileceği bildirilmiştir [159]. NO'nun, platelet agregasyonunu engellemek, damarsal geçirgenliği sağlamak gibi belirlenebilen fizyolojik rollerinden, esas olarak cNOS tarafından üretilen NO'nun sorumlu olduğu, bunun yanında iNOS tarafından üretilen NO'nun ise inflamasyondan sorumlu olduğu gösterilmiştir [160].

Dokuda NO tayini, NO'nun in vivo olarak düşük miktarlarda oluşması, oluştuktan sonra hızla moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi ve yarılanma ömrünün kısa olması sebebiyle güçleşmektedir. Bu nedenle, NO tayini için L-arjininden L-sitrüline dönüşümünde etkili olan NOS izoenzimlerinin değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir. Çalışmamızda MHS'nin mukozal yara iyileşme sürecindeki etkilerine açıklık getirmek üzere değerlendirilen NOS izoenzimi iNOS'tur.

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada [161] inflamatuvar hücrelerden İNOS ekspresyonunun yaradaki bakteriyel kolonizasyona cevap olarak gerçekleştiği

belirtilmiştir. Park ve Lim (2011) ise azalan İNOS ve COX-2 ekspresyon seviyelerinin inflamatuvar yanıtın uzamasına engel olabileceğini bildirmişlerdir [162].

Çalışmamızda 7. gün test ve kontrol grupları arasında İNOS protein konsantrasyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. 14. gün grupları karşılaştırıldığında ise test grubunda İNOS protein konsantrasyon oranlarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Test grubunda 14. günde İNOS protein seviyelerinin azalması MHS'nin inflamatuvar yanıtın süresini kısalttığı ve yara iyileşmesi sürecini hızlandırdığı şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda MHS'nin sekonder yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini değerlendirmek amacıyla, MHS uygulanan yara yüzeyleri ve dokulardaki histolojik değişiklikler ile İNOS ve VEGF protein konsantrasyonu oranları incelenmiştir. Çalışmamızın sonuçları, sekonder olarak iyileşecek yara yüzeylerine uygulanan topikal MHS'nin yara bölgesindeki iyileşmeyi olumlu yönde etkilediği yönündedir. Yapılan incelemelerde 7. günde MHS uygulanan dokularda daha yaygın granülasyon dokusu varlığı, epitel proliferasyonunun daha fazla olması, bağ doku hücre sayısı ve lif sentezinin daha fazla olması; 14. günde ise her iki grupta lamina propria'da yara dudaklarının tamamen birleşmesine rağmen MHS uygulanan dokularda kontrol grubuna göre kemik yapının normal konfigürasyonunu büyük ölçüde tamamladığı görülmüştür. İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda ise tüm MHS uygulanan gruplarda VEGF protein konsantrasyonları kontrol gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek; İNOS protein konsantrasyonları ise 14. gün test grubunda 14. gün kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olarak tespit edilmiştir. ( $p < 0.05$ ). Bu bilgiler ışığında MHS'nin sekonder olarak iyileşmeye bırakılacak yara yüzeyleri üzerinde kullanımının yararlı olabileceği düşünülmüştür. Hemostatik açıdan etkin olarak kullanılan MHS'nin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu belirlediğimiz çalışmamıza ek olarak MHS uygulamasının mukozal dokularda yara iyileşmesi üzerindeki klinik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla yara iyileşmesinde rol oynayan diğer moleküllerin de araştırıldığı, uzun dönem takipli daha ileri çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Mecsina Hemostopper uygulamasının deneysel olarak rat palatinal mukozasında oluşturulan eksizyonel yaraların sekonder iyileşme sürecindeki etkileri histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

Gruplar arasında yapılan histolojik değerlendirmeler ve analizler sonucunda;

- 7. gün kontrol grubunda yara dudaklarının epitel, lamina propria ve kemik boyunca açık olduğu ve bu bölgelerde granülasyon dokusunun belirginleştiği dikkati çekerken 7. gün test grubunda granülasyon dokusunun tüm kesi boyunca çok daha yaygın olduğu görülmüştür.
- 7. gün test grubunda granülasyon dokusunun 7. gün kontrol grubuna göre epitelden bazale doğru tüm kesi boyunca çok daha yaygın olduğu dikkati çekmiştir. Yara dudaklarında epitel proliferasyonu kontrol grubuna göre daha fazla olduğu için epitel katman sayısının daha da arttığı izlenirken, lamina propria'ya ait bağ doku hücre sayısı ve lif sentezinin belirgin olduğu ayırt edilmiştir.
- 14. gün kontrol grubunda epitel ve lamina propria'da yara dudaklarının tamamen birleştiği, ancak kemik dokuda halen daha yara dudaklarının ayrı olduğu tespit edilirken, bu bölgenin kemik öncülü granülasyon dokusu ve bağ dokusu ile doldurulduğu izlenmiştir.
- 14. gün test grubunda epitel ve lamina propria'nın tamamen sağlıklı görünüme kavuştuğu ancak yara dudaklarının olduğu bölgede kollajen organizasyonunun henüz daha tamamen sağlanmadığı izlenirken, kemik yapının büyük oranda normal konfigürasyonunu kazandığı ancak yer yer primer kemik dokusunun varlığını koruduğu izlenmiştir.

Gruplar arasında yapılan biyokimyasal analiz ve değerlendirmeler sonucunda ;

- 7. gün test ve kontrol grupları arasında İNOS protein konsantrasyonları açısından anlamlı bir fark olmadığı ( $p>0.05$ ),
- 14. gün kontrol grubu İNOS protein konsantrasyonlarının 14. gün test grubu İNOS protein konsantrasyonlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ),
- 7. gün test grubu VEGF protein konsantrasyonlarının 7. Gün kontrol grubu VEGF protein konsantrasyonlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ),

- 14. gün test grubu VEGF protein konsantrasyonlarının 14. Gün kontrol grubu VEGF protein konsantrasyonlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile Mecsina Hemstopper uygulamasının sekonder yara iyileşmesi üzerine olan etkileri histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Literatürde MHS'nin yumuşak dokularda sekonder yara iyileşmesi üzerine olan etkilerini inceleyen başka bir çalışmaya rastlanılmadığından bu değerlendirmeyi yapan ilk çalışma olma özelliğindedir. Periodontal cerrahi operasyonlardan sonra hemostatik ajan olarak kullanılan MHS'nin yara bölgesinde vaskülarizasyonu sağlayan ve dolayısıyla re-epitelizasyon sürecine olumlu katkıda bulunan VEGF protein düzeyinde artış sağlanması, inflamasyon varlığında ortamda bulunan İNOS protein düzeylerinde de azalma görülmesi göz önüne alınarak biyokimyasal düzeyde cerrahi uygulamalardan sonra yara iyileşmesine fayda sağlayacağı düşünülmüştür. Histolojik düzeyde bulgular değerlendirildiğinde, Mecsina Hemstopper'ın epitel ve lamina propria açısından yara iyileşmesinde oldukça etkin olduğu, bununla birlikte kemik iyileşmesini de hızlandırdığı ancak kemikteki bu iyileşmenin mukozadaki kadar etkin olmadığı kanısına varılmıştır. MHS uygulamasının mukozal dokularda yara iyileşmesi üzerindeki klinik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla yara iyileşmesinde rol oynayan diğer moleküllerin de araştırıldığı, uzun dönem takipli çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- 1 Kumar, B., Vijayakumar, M., Govindarajan, M., and Pushpangadan, P. (2007). Ethnopharmacological approaches to wound healing-Exploring medicinal plants of India. *Journal of Ethnopharmacology*, 114(2), 103–113.
- 2 Velnar, T., Bailey, T. and Smrkolj, V. (2007). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542.
- 3 Duarte, C.-M.-E., Quirino, M.-R.-S., Patrocínio, M.-C. and Anbinder, a-L. (2011). Effects of Chamomilla recutita (L.) on oral wound healing in rats. *Medicina Oral, Patologia Oral, Cirugia Bucal*, 16(6), 716–721.
- 4 Zambon, J. J., Ciancio, S. G., Mather, M. L. and Charles, C. H. (1989). The effect of an antimicrobial mouthrinse on early healing of gingival flap surgery wounds, *Journal of Periodontology*, 60(1), 31–34.
- 5 Singhal, A., Gupta, H. and Bhati, V. (2011). Wound healing activity of Argyreia nervosa leaves extract. *International Journal of Applied Basic Medical Research*, 1(1), 36–39.
- 6 Farahpour M. R. and Habibi, M. (2012). Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of Ceylon cinnamon in mice. *Veterinarni Medicina (Praha)*, 57(1), 53–57.
- 7 Davis, R. H., Leitner, M. G., Russo, J. M. and Byrne, M. E. (1989). Wound healing. Oral and topical activity of Aloe vera. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 79(11), 559–562.
- 8 Squier C. A. and Johnson, N. W. (1975). Permeability of oral mucosa. *British Medical Bulletin.*, 31(2), 169–175.
- 9 Bennett, J. (2004). Oral Anatomy, Histology and Embryology. *Oral Oncology*, 40(10), 1059.
- 10 Bartold, P.M., Walsch L. J., Narayanan A.S. (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontology 2000*, 24(1), 28–55.
- 11 Ito, H., Takekoshi, T., Miyauchi, M., Ogawa, I., Takata, T., Nikai, H., Takemoto, K. (1998). Three-dimensional appearance of Langerhans cells in human gingival epithelium as revealed by confocal laser scanning microscopy. *Archives of Oral Biology*, 43(9), 741–744.
- 12 Junquerira, L.C. and Carneiro J. (2006). *Temel Histoloji*. Istanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 89.
- 13 Newman, M. G., Takei, H. H., and Carranza, F. A. (2002). *Carranza's Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- 14 Lang, N.P. and Lindhe, J. (Editors). (2013). *Clinical Periodontology and Implant*

- Dentistry*, Wiley-Blackwell, 104.
- 15 Irvin, T. T. (1985). Wound healing. *Archives of Emergency Medicine*, 2(1), 3-10.
  - 16 Sood, S., Mohd, S., Yussof, E. O. and Pai, D. (2012). Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 45(2), 220–228.
  - 17 Shetty V. and Bertolami, C. (2004). Wound Healing. In M. Miloro, G. Ghali, P. Larsen, and P. Waite (Eds), *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. Second Edition. London: BC Decker Inc, pp. 3–15.
  - 18 Hantash, B. M., Zhao, L. J., Knowles, A. and Lorenz, H. P. (2008). Adult and fetal wound healing. *Frontiers in Bioscience*, 13, 51–61.
  - 19 Childress, B. B. and Stechmiller, J. K. (2002). Role of nitric oxide in wound healing. *Biological Research for Nursing*, 4(1), 5–15.
  - 20 MacKay, D., and Miller, A. L. (2003). Nutritional support for wound healing. *Alternative Medicine Review*, 8(4), 359–377.
  - 21 Clark, R. A. F. (1993). Basics of cutaneous wound repair. *Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 19, 693–706.
  - 22 Eming, S.A., Krieg, T. and Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514–525.
  - 23 Peacock, E. (1984). *Wound Repair*. Michigan: W.B. Saunders, 438.
  - 24 Wahl, L. and Wahl, S. (1992). Inflammation. In I. Cohen, R. Diegelman, and W. Lindblad (Eds), *Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects*, 1st ed., WB Saunders co, pp. 40–62.
  - 25 Karasu, A. and Bakır, B. (2008). Yara ve Yara İyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Cerrahi Özel Dergisi*, 14, 36–43.
  - 26 Lorenz H. and Longaker, M. (2006). Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment. In S. Mathes (Ed), *Mathes Plastic Surgery*, Second Edition. Philadelphia, Saunders, pp. 209–34.
  - 27 Karukonda, S., Flynn, T., Boh, E., McBurney, E., Russo, G. and Milikan, L. (2000). The effects of drugs on wound healing: part 1. *International Journal of Dermatology*, 39(250), 7.
  - 28 Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S. , Brem, H. and Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585–601.
  - 29 Kumar, V. (2000). *Temel Patoloji* (Çev. S. Tuzlalı, M. Güllüoğlu ve U Çevikbaş). İstanbul: Nobel-Yüce, 201.
  - 30 Guo S. and Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of*

- Dental Research*, 89(3), 219–229.
- 31 Brancato S. K. and Albina, J. E. Wound macrophages as key regulators of repair: Origin, phenotype, and function. *American Journal of Pathology*, 178(1), 19–25.
  - 32 Kondo T. and Ishida, Y. (2010). Molecular pathology of wound healing. *Forensic Science International*, 203(1-3), 93–98.
  - 33 Van Beurden, H. E. and Von Den Hoff, J.W., Torensma, R. (2005). Myfibroblasts in palatal wound healing: Prospect for the reduction of wound contraction after cleft palate repair. *Journal of Dental Research*, 84(10), 871-880.
  - 34 Erdem F. ve Gündoğdu, M. (2005). Anjiyogenezis ve Anti-anjiyojenik Tedavi. *Atatürk Üniversitesi Tıp Dergisi*, 37, 1–6.
  - 35 Li, J., Zhang, Y. P. and Kirsner, R. S. (2003). Angiogenesis in wound repair: Angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microscopy Research and Technique*, 60(1), 107–114.
  - 36 Buduneli, N. (2001). Dişetin ekstraselüler matriksi. *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 22, 1–12.
  - 37 Bayındır, Y. (2007). Yara Bakımı: Yaraya Genel Yaklaşım. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 11, 13–18.
  - 38 HÄKkinen, L., Uitto, V.-J. and Larjava, H. (2000). Cell biology of gingival wound healing. *Periodontology 2000*, 24(1), 127–152.
  - 39 Grinnell, F. (1994). Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction. *Journal of Cell Biology*, 124(4), 401–404.
  - 40 Powell, D. W., Mifflin, R. C., Valentich, J. D., Crowe, S. E., Saada, J. I. and West, a. B.(1999). Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. *American Journal of Physiology- Cell Physiology*, 277(1), 1-19.
  - 41 Gabbiani, G. (2003). The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *Journal of Pathology*, 200(4), 500–503.
  - 42 Horch, R., Bleiziffer, O. and Kneser, U. (2010). Physiology and wound healing. In M.Z. Siemionow, M. Eisenmann-Klein (Eds), *Plastic Reconstructional Surgery*, Springer-Verlag London Limited, 3–10.
  - 43 Monaco, J. and Lawrance, W. (2003). Acute wound healing. *Clinics in Plastic Surgery*, 30, 1–12.
  - 44 Schultz, G. and Mast, B. (1999). Molecular analysis of the environments of healing and chronic wounds: Cytokines, proteases and growth factors. *Primary Intention*, 7–14.
  - 45 Şenol, M. (1995). Yara İyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Dergisi*, 5, 49–53.
  - 46 Bishop, A. (2008). Role of oxygen in wound healing. *Journal of Wound Care*, 17(9),

399–402.

- 47 Rodriguez P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T. and Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic Surgery*, 34(9), 1159–1169.
- 48 A. K. Deodhar and R. E. Rana, “Surgical physiology of wound healing: a review.,” *J. Postgrad. Med.*, vol. 43, pp. 52–56, 1997.
- 49 Canda M. and Canda, T. (1982). *Temel Patoloji*, Ege Üniversitesi Basımevi, 32.
- 50 Ozbek, N., Guneren, E., Yildiz, L., Meydan, D., Cakir S. and Coskun, M. (2005). The effect of pre-operative conventional and hyperfractionated radiotherapy schedules on wound healing and tensile strength in rats: An experimental study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34(2), 185–192.
- 51 Tahsinoğlu, M., Çöloğlu, A. ve Erseven, G. (1984). *Genel Patoloji*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları, 21.
- 52 Thompson C. and Fuhrman, M. P. (2005). Nutrients and wound healing: still searching for the magic bullet. *Nutrition in Clinical Practice*, 20(3), 331–347.
- 53 Stechmiller, J. K. (2010). Understanding the role of nutrition and wound healing. *Nutrition in Clinical Practice*, 25(1), 61–68.
- 54 Langemo, D., Anderson, J., Hanson, D., Hunter, S., Thompson, P. and Posthauer, M. (2006). Nutritional considerations in wound care. *Advances in Skin & Wound Care*, 19, 297–303.
- 55 Lansdown, A. B. G., Mirastschijski, U., Stubbs, N., Scanlon, E., and Ågren, M. S. (2007). Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair and Regeneration*, 15(1), 2–16.
- 56 Campos, A. C. L., Groth, A. K. and Branco, A. B. (2008). Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11(3), 281–288.
- 57 Kim J. E. and Shklar, G. (1983). The effect of vitamin E on the healing of gingival wounds in rats. *Journal of Periodontology*, 54(5), 305–308.
- 58 Sharp A. and Clark, J. (2011). Diabetes and its effects on wound healing. *Nursing Standart*, 25(45), 41–47.
- 59 Anstead, G. M. (1998). Steroids, retinoids, and wound healing. *Advances in Wound Care*, 11(6), 277–285.
- 60 Ferrara, N. (2004). Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. *Endocrine Reviews*, 25(4), 581–611.
- 61 Ferrara, N., Gerber, H. P. and LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*, 9(6), 669–676.



- 62 Gyurkovics M. (2009). Venodilatory effect of vascular endothelial growth factor on rat gingiva. *Journal of Periodontology*, 80(9), 1518–1523.
- 63 Thomas, A. K. (1996). VEGF, a Potent and Selective Angiogenic Agent. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 603–606.
- 64 Tonbalaklar, P. B. (2008). *Romatoid Artritli Hastalarda Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Düzeylerinin Değerlendirilmesi*, Uzmanlık Tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- 65 Breen, E. C. (2007). VEGF in biological control. *Journal of Cellular Biochemistry*, 102(6), 1358–1367.
- 66 Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S. and Poltorak, Z. (1999). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors.,” *FASEB Journal*, 13(1), 9–22.
- 67 Ferrara, N. (2001). Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 280(6), 1358-1366.
- 68 Yan, X. (2010). Acceleration of diabetic wound healing by collagen-binding vascular endothelial growth factor in diabetic rat model. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 90(1), 66–72.
- 69 Nissen, N. N., Polverini, P. J., Koch, A. E., Volin, M. V, Gamelli, R. L. and DiPietro, L. A. (1998). Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *American Journal of Pathology*, 152(6), 1445–1452.
- 70 Loyd C. M. (2012). Transgenic overexpression of keratinocyte-specific VEGF and Ang1 in combination promotes wound healing under nondiabetic but not diabetic conditions. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 5(1), 1–11.
- 71 Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic O. and Tomic-Canic, M. (2014). Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 22(5), 569–78.
- 72 Dickens, S., Vermeulen, P., Hendrickx, B., Van den, B.S., and Vranckx, J. J. (2008). Regulable vascular endothelial growth factor<sup>165</sup> overexpression by ex vivo expanded keratinocyte cultures promotes matrix formation, angiogenesis, and healing in porcine full-thickness wounds. *Tissue Engineering Part A*, 14(1), 19–27.
- 73 Mould A. W. (2005). Transgenic overexpression of vascular endothelial growth factor-B isoforms by endothelial cells potentiates postnatal vessel growth in vivo and in vitro. *Circulation Research*, 97(6), 60-70.
- 74 Ribatti, D. (2005). The crucial role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in angiogenesis: A historical review. *British Journal of Haematology*, 128(3), 303–309.
- 75 Yazır, Y., Gonca, S., Filiz, S. ve Dalçık, H. (2004). Endotel Hücreleri İçin Önemli

- Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(4), 181–184.
- 76 Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko M.S., Ehrlich H.P., Brem, M. (2009). The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Journal of Surgical Research*, 153(2), 347–358.
- 77 Witte M. B. and Barbul, A. (2002). Role of nitric oxide in wound repair. *American Journal of Surgery*, 183, 406–412.
- 78 Luo J. D. and Chen, A. F. (2005). Nitric oxide: A newly discovered function on wound healing. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(3), 259–264.
- 79 Uğar-Çankal D. and Ozmeric, N. (2006). A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clinica Chimica Acta*, 366(1-2), 90–100.
- 80 Satriano, J. (2004). Arginine pathways and the inflammatory response: Interregulation of nitric oxide and polyamines: Review article. *Amino Acids*, 26(4), 2004.
- 81 Schwentker A. and Billiar, T. R. (2003). Nitric oxide and wound repair *Surgical Clinics of North America*, 83(3), 521–530.
- 82 Förstermann U. and Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829-837.
- 83 Förstermann U., Closs, E.L., Pollock, J.S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I. and Kleinert, H. (1994). Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, 23(6), 1121–1131.
- 84 Ziche, M., Morbidelli, L., Masini, E., Amerini, S., Granger, H.J., Maggi, C.A., Gepetti, P. and Ledda, F. (1994). Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P.,” *Journal of Clinical Investigation*, 94, 2036–2044.
- 85 Du Q. and Geller, D. A. (2010). Molecular Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase. *Nitric Oxide*, 269–300.
- 86 Schäffer, M. R., Tantry, U., Gross, S. S., Wasserkrug, H. L. and Barbul, A. (1996). Nitric Oxide Regulates Wound Healing. *Journal of Surgical Research*, 63(1), 237–240.
- 87 Yamakasi, K., Edington, H.D., McClosky, C., Tzeng, E., Lizonova, A., Kovesdi, I., Steed, D.L. and Billiar, T.R. (1998). Reversal of impaired wound repair in iNOS-deficient mice by topical adenoviral-mediated iNOS gene transfer. *Journal of Clinical Investigation*, 101(5), 967–971.
- 88 Bogdan, C. (2001). Nitric oxide and the immune response. *Nature Immunology*, 2(10), 907–916.
- 89 Kendall, H. K., Marshall, R. I. and Bartold, P. M. (2001). Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Diseases*, 7(1), 2–10.

- 90 Papapetropoulos, A., García-Cardeña, G., Madri, J. A. and Sessa, W. C. (1997). Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *Journal of Clinical Investigation*, 100(12), 31–39.
- 91 Chen, A., O'Brien, T. and Katusic, Z. (2000). *Functional Influence of Gene Transfer of Recombinant Nitric Oxide Synthase to Cardiovascular System*. California: Academic Press, 103.
- 92 Köklü, D. (2003). Yara iyileşmesi ve iyileşmeyi engelleyen faktörler., Kurt, N. (Editör). *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, 1. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, s. 9–33.
- 93 Dym H. Tagliareni, and J. M. (2012). Surgical Management of Cosmetic Mucogingival Defects. *Dental Clinics of North America*, 56(1), 267–279.
- 94 Wennstrom, J. (1996). Mucogingival Therapy. *Annals of Periodontology*, 1, 671–701.
- 95 Sullivan, H. C. and Atkins, J. H. (1968). Free Autogenous Gingival Grafts. I Principles of Successful Grafting. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- 96 Harris, R. J. (2001). Clinical evaluation of 3 techniques to augment keratinized tissue without root coverage. *Journal of Periodontology*, 72(7), 932–938.
- 97 Orsini, M., Orsini, G., Benlloch, D., Aranda, J. J., Lázaro, P. and Sanz, M. (2004). Esthetic and dimensional evaluation of free connective tissue grafts in prosthetically treated patients: a 1-year clinical study. *Journal of Periodontology*, 75(3), 470–477.
- 98 Harris, R. J. (1998). Treatment of a previously placed autogenous masticatory mucosa graft (free gingival graft). A case report *Journal of Periodontol*, 69(6), 717–723.
- 99 Smukler H. and Goldman, H. M. (1979). Laterally repositioned 'stimulated' osteoperiosteal pedicle grafts in the treatment of denuded roots. A preliminary report. *Journal of Periodontology*, 50(8), 379–383.
- 100 F. Carranza, "The gingivectomy technique," in *Carranza's Clinical Periodontology*, 9th Editio., M. Newman, H. Takei, and F. Carranza, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002, pp. 749–53.
- 101 H. Takei and R. Azzi, "Periodontal plastic and esthetic surgery," in *Carranza's Clinical Periodontology*, 9th editio., M. Newman and H. Takei, Eds. London: W.B. Saunders Company, 2002, pp. 870–1.
- 102 Toker H. and Ozdemir, H. (2009). Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a university dental hospital in Turkey. *International Journal of Dental Hygiene*, 7, 115–20.
- 103 Miller, P. D. (1985). The frenectomy combined with a laterally positioned pedicle graft. Functional and esthetic considerations. *Journal of Periodontology*, 56(2), 102–

- 106.
- 104 Morselli, P., Vecchiet, F. and Marini, I. (1999). Frenuloplasty by means of a triangular flap. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 87, 142–144.
- 105 Barka, E., Belarbi, A., Hachet, C. and Nowak, J. (2000). Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 186, 91-95.
- 106 Atalay, Y. (2001). *Aşil tendonu zedelenmiş sıçanlarda Hypericum perforatum ve Calendula officinalis bitki tentürlerinin etkilerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 37.
- 107 Peşin, İ. (2007). *Hypericum perforatum L. ve Hypericum scabrum L. bitkilerinin yara iyileştirici ve antiinflamatuar aktiviteleri üzerinde çalışmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 49.
- 108 Sheela, M. L., Ramakrishna, M. K. and Salimath, B. P. (2006). Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *International Journal of Immunopharmacology*, 6(39), 494–498.
- 109 Testai, L., Chericoni, S., Calderone, V., Nencioni, G., Nieri, P., Morelli, I. and Martinotti, E. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: In vitro and in vivo pharmacological studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(1), 105–109.
- 110 Legssyer, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Tahri, A., Serhrouchni, M., Hoerter, J. and Fischmeister, R. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. *Phytotherapy Research*, 16(6), 503–507.
- 111 Bachiega, T. F., De Sousa, J. P. B., Bastos, J. K. and Sforcin, J. M. (2012). Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/ anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(4), 610–616.
- 112 Londonkar, R. and Poddar, P. (2009). Studies on activity of various extracts of *Mentha arvensis* Linn against drug induced gastric ulcer in mammals. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 1(1), 82.
- 113 Matsuda, H., Ando, S., Kato, T. and Morikawa, T. (2006). Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia Officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14, 138–42.
- 114 Lee, K. G. and Shibamoto, T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry. *Food Chemistry*, 74(4), 443–448.
- 115 Cai, L. and Wu, C. D. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of National Products*,

- 59(10), 987–990.
- 116 Ernst, E., Marz, R. and Sieder, C. (1997). Acute bronchitis: effectiveness of Sinupret. Comparative study with common expectorants in 3,187 patients. *Fortschritte Der Medizin*, 115, 52–53.
  - 117 Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
  - 118 Myers, B.A. (2004). *Wound Management* (1st edition). New Jersey: Pearson Education Inc., 121-128.
  - 119 L. W. Cohn IK and Diegelmann R.F. (1992). *Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects*, (1st edition). Philedelphia: WB Saunders co, 93.
  - 120 Sanz, M., Newman, M. G., Anderson, L., Matoska, W., Otomo-Corgel, J. and Saltini, C. (1989). Clinical Enhancement of Post-Periodontal Surgical Therapy by a 0.12% Chlorhexidine Gluconate Mouthrinse, *Journal of Periodontology*, 60(10), 570–576.
  - 121 Menke, N. B., Ward, K. R., Witten, T. M., Bonchev, D. G. and Diegelmann, R. F. (2007). Impaired wound healing, *Clinical Dermatology*, 25(1), 19–25.
  - 122 Jones, S. G., Edwards, R. and Thomas, D. W. (2004). Inflammation and Wound Healing: The Role of Bacteria in the Immuno-Regulation of Wound Healing, *International Journal of Lower Extremity Wounds*, 3(4), 201–208.
  - 123 Wennstrom JL. (2003). Mucogingival Therapy-Periodontal Plastic Surgery. In Lindhe, J. and Karring, T. (Eds.), *Mucogingival Therapy -Periodontal Plastic Surgery*. Blackwell Publishing Company, 576.
  - 124 Paraskevas, S., Rosema, N. a M., Versteeg, P., Van der Velden, U. and Van der Weijden, G. a. (2008). Chlorine dioxide and chlorhexidine mouthrinses compared in a 3-day plaque accumulation model. *Journal of Periodontology*, 79(8), 1395–1400.
  - 125 Okano, M., Nomura, M., Hata, S., Sato, K., Kitano, Y., Tashiro, M., Yoshimoto, Y., Hama, R. and Aoki, T. (1989). Anaphylactic Symptoms due to Chlorhexidine Gluconate, *Archives of Dermatology*, 125(1), 50–52.
  - 126 Bassetti C. and Kallenberger, A. (1980). Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesions: A histomorphometric study on experimental animals. *Journal of Clinical Periodontology*, 7(6), 443–456.
  - 127 van Saene, J. J. M., Veringa, S. I., van Saene, H. K. F., Verhoef, J. and Lerk, C. F. (1985). Effect of chlorhexidine and acetic acid on phagocytosis by polymorphonuclear leucocytes. *European Journal of Clinical Microbiology*, 4(5), 493–497.
  - 128 Knuutila M. and Söderling, E. (1981). Effect of chlorhexidine on the release of lysosomal enzymes from cultured macrophages. *Acta Odontologica Scandinavica*, 39(5), 285–289.

- 129 Pucher J. J. and Daniel, C. (1992). The Effects of Chlorhexidine Digluconate on Human Fibroblasts In Vitro. *Journal of Periodontology*, 63(6), 526–532.
- 130 Shahan, M. H., Chuang, A. H., Brennan, W. A. T., Dirksen, R., Van Dyke, T. E. and McPherson, J. C. (1993). The effect of chlorhexidine irrigation on tensile wound strength. *Journal of Periodontology*, 64(8), 719–722.
- 131 Mariotti A. J. and Rumpf, D. A. H. (1999). Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *Journal of Periodontology*, 70(12), 1443–1448.
- 132 Kosger, H. H., Ozturk, M., Sokmen, A., Bulut, E. and Ay, S. (2009). Wound healing effects of arnebia densiflora root extracts on rat palatal mucosa. *European Journal of Dentistry*, 3(2), 96–99.
- 133 Shim, K. M., Choi, S. H., Jeong, M. J. and Kang, S. S. (2007). Effects of aucubin on the healing of oral wounds. *In Vivo*, 21(6), 1037–1042.
- 134 Goker, H. (2008). Haemostatic Actions of the Folkloric Medicinal Plant Extract Ankaferd Blood Stopper®. *Journal of International Medical Research*, 36(1), 163–170.
- 135 Akalin, C., Kuru, S., Barlas, AM., Kismet, K., Kaptanoglu, B., Demir, A., Astarci, H.M., Ustun, H and Ertas, E. (2014). Beneficial effects of Ankaferd Blood Stopper on dermal wound healing: An experimental study. *International Wound Journal*, 11(1), 64–68.
- 136 Bilgili, H., Captug, O., Kosar. A., Kurt, M., Kekilli, M., Shorbagi, A., Ozdemir, O., Goker, H. and Haznedaroglu, I.C. (2010). Oral systemic administration of ankaferd blood stopper has no short-term toxicity in an in vivo rabbit experimental model. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 16(5), 533–536.
- 137 Arslan , H. İ., Yeşil, Y., Ülger, Z., Cankurtaran, M. ve Göker H. (2010). Yaşlı Bir Hastada Yumuşak Doku Travmasına Bağlı Gelişen Yara İyileşmesinde Ankaferd. *Akademik Geriatri Derneği*, 2, 58–60.
- 138 Aktop Ö. C. ve Alturfan, E.E. (2012). Ankaferd Blood Stopper ve Celox'un Varfarin Verilmiş Sıçan Derisinde Glutasyon ve Lipid Peroksidasyon Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Müşbed*, 2, 32–42.
- 139 Tasdelen Fisgin, N., Tanriverdi Cayci, Y., Coban, A.Y., Ozatli, D., Tanyel, E., Durupinar, B. and Tulek, N. (2009). Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper. *Fitoterapia*, 80(1), 48–50.
- 140 Isler, S.C., Demircan, S., Cakarer, S., Cebi, Z. and Keskin, M. (2010). Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper on early bone healing. *Journal of Applied Oral Science* 18(4), 409–414.
- 141 Özyurt, A., Elmas, Ç., Seymen, C.M., Peker, V.T. and Altunkaynak, B. (2018). Effects of Low-Level Laser Therapy With a Herbal Extract on Alveolar Bone Healing. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 76(2), 287.

- 142 Cornelissen, a M., Maltha, J. C., Von den Hoff, H. W. and Kuijpers-Jagtman, a M.(1999). Palatal mucoperiosteal wound healing in the rat. *European Journal of Oral Science*, 107(5), 344–351.
- 143 Jansen, R. G., van Kuppevelt, T. H., Daamen, W. F., Kuijpers-Jagtman, A. M. and Von den Hoff, J. W. (2008). Tissue reactions to collagen scaffolds in the oral mucosa and skin of rats: Environmental and mechanical factors. *Archives of Oral Biology*, 53(4), 376–387.
- 144 Kozlovsky, A., Artzi, Z., Hirshberg, A., Israeli-Tobias, C. and Reich, L. (2007). Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: A clinical and histomorphometric study in rats. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(2), 164–171.
- 145 Yamashita, J., Koi, K., Yang, D. Y. and McCauley, L. K. (2011). Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. *Clinical Cancer Research*, 17(6), 1405–1414.
- 146 Clark, R. A. (1993). Biology of dermal wound repair. *Dermatologic Clinics*, 11(4), 647–666.
- 147 Arda, N. (2008). Proteinlerin İzolasyonu, Analizi ve Saflaştırılması,” in *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, 3. baskı., İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 199.
- 148 Cornelissen, A. M. H., Von den Hoff, J. W., Maltha, J. C. and Kuijpers-Jagtman, A. M. (1999). Effects of interferons on proliferation and collagen synthesis of rat palatal wound fibroblasts. *Archives of Oral Biology*, 44(7), 541–547.
- 149 Nakanishi, Y., Izumi, K., Yoshizawa M., Saito C., Kawano, Y. and Maeda, T. (2007). The expression and production of vascular endothelial growth factor in oral mucosa equivalents. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 36(10), 928–933.
- 150 Favia, G., Marigliò, M. A., Maiorano, E., Cassano, A., Capodiferro, S. and Ribatti, D. (2008). Accelerated wound healing of oral soft tissues and angiogenic effect induced by a pool of aminoacids combined to sodium hyaluronate (AMINOGAM®). *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 22(2), 109–116.
- 151 Brown, L. F., Yeo, K.T., Berse, B., Senger, D.R., Dvorak, H.F. and van de Water, L. (1992). Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) by epidermal keratinocytes during wound healing. *Journal of Experimental Medicine*, 176(5), 1375–1379.
- 152 Ünlü, L. (2010). Gingival Fibroblastların Ankaferd ile in vitro Koşullarda Etkileşimi. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, 43.
- 153 Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A. and Freeman, B. A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4), 1620–1624.
- 154 Şener, A., Altındış, N.G. ve Doğan, Ö. (2015). Akut Hipergliseminin Trombositlerde

- Oksidatif Strese ve Nitrik Oksit Biyoyararlanımına Etkisi. *MÜSBED*, 5(4), 239-246.
- 155 Lee, R. H., Efron, D., Tantry, U. and Barbul, A. (2001). Nitric oxide in the healing wound: A time-course study. *Journal of Surgical Research* 101(1), 104–108.
- 156 Daghigh, F., Borghaei, R. C., Thornton, R. D. and Bee, J. H. (2002). Human Gingival Fibroblasts Produce Nitric Oxide in Response to Proinflammatory Cytokines. *Journal of Periodontology*, 73(4), 392–400.
- 157 Clancy, R. M., Amin, A. R. and Abramson, S. B. (1998). The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Arthritis & Rheumatology*, 41(7), 1141–1151.
- 158 Vincendeau, P. and Daulouède, S. (1991). Macrophage cytostatic effect on *Trypanosoma musculi* involves an L-arginine-dependent mechanism. *The Journal of Immunology*, v146(12), 4338–4343.
- 159 Batista, A. C., Silva, T. A., Chun, J. H. and Lara, V. S. (2002). Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Diseases*, 8(5), 254–260.
- 160 Özdemir, E., Demirkazık, A., Taşkiran, A.Ş., Kılınç, O. ve Arslan, G. (2017). Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin sıçanlarda çok düşük frekanslı manyetik alanın indüklediği analjezi üzerine etkileri, *Genel Tıp Dergisi*, 27(4), 121-128.
- 161 Mahoney, E., Reichner, J., Bostom, L. R., Mastrofrancesco, B., Henry, W. and Albina, J. (2002). Bacterial colonization and the expression of inducible nitric oxide synthase in murine wounds. *American Journal of Pathology*, 161(6), 2143–2152.
- 162 Park N.-Y. and Lim, Y. (2011). Short term supplementation of dietary antioxidants selectively regulates the inflammatory responses during early cutaneous wound healing in diabetic mice. *Nutrition and Metabolism*, 8(1), 80.





**EKLER**

EK-1. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ	
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KARARLARI KATILIM LİSTESİ	
T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı	
TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI YERİ
SAYI : 66332047-604.01.02/ 184-23314	22/10/2013
KONU :	
Sayın	KATILDI
Prof.Dr. Prof.Dr.Ayşen BODUR Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi	KATILDI
Araştırmacı grubu Ayşen BODUR, Z.Levent HALLAÇ, Zeynep TURGUT ÇANKAYA, Ekin CİNAL, Gülnur TAKE KAPLANOĞLU, Gülce Naz SARAÇ ve Gülçin AKCA'dan oluşan, G.Ü.ET-13.068 kod numaralı ve " <b>Tıbbi Bir Bitki Ekstresi olan MECSINA HEMOSTOPPER Uygulamasının Sekonder Yara İyileşmesi Üzerine Olan Etkilerinin Histolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi</b> " başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.	KATILDI
Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.	KATILDI
It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-13.068 and entitled " <b>Histological and Biochemical Evaluation of the Effect of Medical Plant Extract Mecsina Hemostopper Application on Secondary Wound Healing</b> " is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.	KATILAMADI
With my best regards.	KATILDI
EK : 1 Liste	KATILDI
	Prof.Dr. Leyla AÇIK Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı
T.C.Gazi Üniversitesi Rektörlüğü, 06500 Teknikokullar, Ankara tel : 0 312 202 20 57 Faks: 0 312 202 20 63	

EK-1.(devam) Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI**  
**KARARLARI KATILIM LİSTESİ**

TOPLANTI TARİHİ : 11.10.2013		TOPLANTI SAYISI : 11	
ADI-SOYADI			
Prof.Dr.Leyla AÇIK (Başkan )		KATILDI	
Uzm.Dr.Şeyda DİKER (Başkan Yrd.)		KATILDI	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU		KATILDI	
Prof.Dr.Tuncay PEKER		KATILDI	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER		KATILAMADI	
Prof.Dr.Esra AKKOL		KATILDI	
Yrd.Doç.Dr.İhsan YIKILGAN		KATILAMADI	
Yrd.Doç.Dr.Süleyman YEŞİL		KATILAMADI	
Dr.Kadir BAŞAR		KATILDI	
Sevim ÖNCÜ ERSANLI		KATILAMADI	

Prof.Dr.Leyla AÇIK  
Gazi Üniversitesi  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

*L. AÇIK*

EK-2. Gazi Üniversitesi deney hayvanları uygulama ve etik kursu katılım sertifikası



10-20 Aralık 2012

## XII. DENEY HAYVANLARI UYGULAMA VE ETİK KURSU

### KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, *Zeki Levent HALLAÇ*

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından, 10-20 Aralık 2012 tarihleri arasında düzenlenen "Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu XII"ye katılarak, Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

*Süleyman B*  
Prof. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER  
Rektör

*M. N. Türközk*  
Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN  
Merkez Müdürü

*L. Açık*  
Prof. Dr. Leyla AÇIK  
Etik Kurul Başkanı

Sertifika No. *2012/12-59*

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : HALLAÇ, Zeki Levent  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 20/11/1987, MERSİN  
Medeni hali : Bekar  
Telefon : 0 506 449 79 07  
e-mail : dtleventhallac@gmail.com



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Periodontoloji AD	devam ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2010
Lise	İçel Anadolu Lisesi	2005

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010-	Gazi Üniversitesi Periodontoloji AD	Doktora öğrencisi

### Yabancı Dil

İngilizce

### Hobiler

Futbol, basketbol, yüzme, masa tenisi



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...*