

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**KRİYOCERRAHİ, ELEKTROCERRAHİ VE NORMAL BİSTÜRİ
UYGULAMALARININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
SAĞLIKLI VE DİYABETİK RATLARDA HİSTOPATOLOJİK VE
HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Turgay Peyami HOCAOĞLU

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Dilek UĞAR ÇANKAL

ANKARA
Ekim 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANA BİLİM DALI

**KRİYOCERRAHİ, ELEKTROCERRAHİ VE NORMAL BİSTÜRİ
UYGULAMALARININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
SAĞLIKLI VE DİYABETİK RATLARDA HİSTOPATOLOJİK VE
HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Turgay Peyami HOCAOĞLU

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Dilek UĞAR ÇANKAL

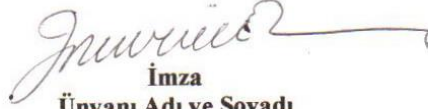
Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/2007-13 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ekim 2009

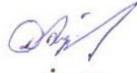
T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi
Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 05/10/2009



İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı
Prof. Dr. Ergun YÜCEL



İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Dilek UĞAR ÇANKAL



İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Ankara Üniversitesi
Prof. Dr. Ümit AKAL AKTAŞ



İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Doç. Dr. Barış ŞİMŞEK

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Benay YILDIRIM



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller	VI
Resimler	VII
Grafikler	VIII
Tablolar	X
Semboller, Kısaltmalar	XI
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Yara İyileşmesi	4
2.1.1. Yara İyileşmesi Fizyolojisi	6
2.1.1.1. Enflamasyon Fazı	7
2.1.1.2. Proliferasyon Fazı	10
2.1.1.3. Yeniden Şekillenme (Reparatif) Fazı	13
2.1.2. Yara İyileşmesini Geciktiren veya Engelleyen Faktörler	14
2.1.2.1. Lokal Faktörler	14
2.1.2.2. Sistemik Faktörler	16
2.2. <i>Diabetes Mellitus</i>	18
2.2.1. <i>Diabetes Mellitusun</i> Sınıflandırılması	18
2.2.2. <i>Diabetes Mellitusun</i> Komplikasyonları	20
2.2.3. <i>Diabetes Mellitusta</i> İyileşmeyi Bozan Faktörler	21
2.3.Nitrik Oksit	25
2.3.1. Nitrik Oksitin Sentezi ve İnhibisyonu	25
2.3.2. Yara İyileşmesinde Nitrik Oksit	27
2.3.3. Nitrik Oksit ve Diyabet	30
2.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	31
2.4.1. VEGF ve Diyabetik Yara İyileşmesi	32
2.4.2. VEGF ve Nitrik Oksit	33

2.5. Kriyocerrahi	34
2.5.1. Kriyocerrahi Teknikleri	35
2.5.2. Düşük Isının Dokularda Oluşturduğu Etkiler	37
2.5.3. Donma Erime Siklusu	40
2.5.3.1. Soğuma Hızı	40
2.5.3.2. Doku Isısı	40
2.5.3.3. Dondurma Süresi	41
2.5.3.4. Erime Hızı	41
2.5.3.5. Donma-Erime Siklusunun Tekrarlanması	42
2.5.3.6. Donma-Erime Siklusları Arasındaki Süre	42
2.5.4. Klinik Uygulamada Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar	42
2.5.5. Kriyocerrahinin Endikasyonları	43
2.5.6. Kriyocerrahinin Kontrendikasyonları	43
2.5.7. Kriyocerrahinin Avantajları	44
2.5.8. Kriyocerrahinin Dezavantajları	45
2.6. Elektrocerrahi	45
2.6.1. Elektrocerrahi Teknikleri	46
2.6.1.1. Elektrodesikasyon ve Elektrofulgarasyon	46
2.6.1.2. Elektrokoagülasyon	47
2.6.1.3. Elektroseksiyon	47
2.6.2. Elektrocerrahi Uygulaması	48
2.6.3. Elektrocerrahi Kullanımında Dikkat Edilecek Hususlar	49
2.6.4. Elektrocerrahinin Endikasyonları	49
2.6.5. Elektrocerrahinin Avantajları	50
2.6.6. Elektrocerrahinin Dezavantajları	50
3.GEREÇ VE YÖNTEM	52
3.1. Etik Kurul	52
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	52
3.2.1. Deney Hayvanları	52
3.2.2. Kullanılan Laboratuvar Gereçleri	52
3.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	53

3.2.4. Kullanılan Kitler	54
3.3. Solüsyonların Hazırlanışı	54
3.3.1. Sodyum Sitrat Solüsyonunun Hazırlanışı	54
3.3.2. Streptozotolin Solüsyonunun Hazırlanışı	54
3.4. Yöntemler	55
3.4.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	55
3.4.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	56
3.4.3. Cerrahi Teknik	56
3.4.4. Gruplara Göre Çalışma Teknikleri	57
3.4.5. Hemostazın Değerlendirilmesi	60
3.4.6. Deneylerin Sonlandırılması	60
3.5. Histopatolojik İnceleme	61
3.5.1. İmmünohistokimyasal Yöntem	61
3.5.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	63
3.5.3. İmmünohistokimya Boyamalarının Değerlendirilmesi	65
3.6. İstatistiksel Yöntem	66
4.BULGULAR	68
4.1. Klinik Takip Bulguları	68
4.1.1. Vücut Ağırlıkları	68
4.1.2. Kan Glikoz Düzeyleri	69
4.1.3. Kanama	70
4.2. Histopatolojik Bulgular	70
4.2.1. Yara İyileşmesi	70
4.2.2. Hücre Tipleri	78
4.2.3. Enflamasyonun Değerlendirilmesi	81
4.3. Histomorfometrik Bulgular	85
4.3.1. Yeni Oluşan Damar Sayılarının Değerlendirilmesi	85
4.3.2. Defekt Uzunluğunun Değerlendirilmesi	90
4.3.3. Defekt Derinliğinin Değerlendirilmesi	94
4.3.4. Yüzeysel Çöküklüğün Değerlendirilmesi	98
4.3.5. Reepitelizasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	103

4.4. iNOS Değerlendirilmesi	107
4.5. VEGF Değerlendirilmesi	114
5. TARTIŞMA	119
6. SONUÇLAR	137
7. ÖZET	141
8. SUMMARY	143
9. KAYNAKLAR	145
10. EKLER	155
11. ÖZGEÇMİŞ	157

Şekiller

Şekil 1	Yaralanmadan hemen sonra gelişen reaksiyon.	8
Şekil 2	Epitel tabakanın yeniden oluşumu.	11
Şekil 3	Yara iyileşmesi fazları ve yarada nitrik oksit üretimi.	29
Şekil 4	Histomorfometrik ölçümlerin değerlendirilmesi.	64

Resimler

Resim 1	Bistüri alt grubunda insizyonun 5' mm lik punch yardımı ile işaretlenmesi	57
Resim 2	İnsizyonun tamamlanması	58
Resim 3	Kriyocerrahi uygulaması	58
Resim 4	Elektrocerrahi uygulaması	59
Resim 5	Sağlıklı Grup E'de 7. günde vaskülerize granülasyon dokusu izlenmektedir.	71
Resim 6	Diyabetik Grup K'da 14. günde granülasyon dokusu ve fibrozis izlenmektedir.	72
Resim 7	Sağlıklı Grup K'da 28. günde oluşan fibroblastik granülasyon dokusu izlenmektedir.	73
Resim 8	Sağlıklı grup B'de 7. günde lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlenmektedir.	78
Resim 9	Sağlıklı Grup K'da 7. günde yaygın enflamasyon izlenmektedir.	82
Resim 10	Diyabetik Grup K'da 28. günde oluşan yeni damarlar kahverengi renkte izlenmektedir.	87
Resim 11	Sağlıklı Grup E'de 28. günde yeni oluşan damarlar kahverengi renkte görülmektedir.	88
Resim 12	Grup B' de 7. güne ait örnekte iNOS pozitifliği gösteren, kahverengi boyanan hücreler izlenmektedir.	108
Resim 13	Grup E' de 7. güne ait örnekte yaygın ve yoğun iNOS pozitifliği gösteren, kahverengi boyanan hücreler izlenmektedir.	110
Resim 14	28. günde sağlıklı Grup K'da iNOS pozitifliği gösteren kahverengi boyanan hücreler izlenmektedir.	111
Resim 15	Diyabetik Grup E'de 14. günde VEGF ekspresyonu gösteren kahverengi ile boyanan hücreler izlenmektedir.	116

Grafikler

Grafik 1	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre fibroblastik fibroblastik granülasyon dokusu frekans dağılımı	77
Grafik 2	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre vaskülarize granülasyon dokusu frekans dağılımı	77
Grafik 3	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre enflamasyon dereceleri	84
Grafik 4	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yeni oluşan damar sayısı	85
Grafik 5	Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre oluşan yeni damar sayısı	85
Grafik 6	Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre oluşan yeni damar sayısı	89
Grafik 7	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt uzunluğu	92
Grafik 8	Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt uzunluğu	93
Grafik 9	Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt uzunluğu	93
Grafik 10	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt derinliği	94
Grafik 11	Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt derinliği	96
Grafik 12	Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt derinliği	97
Grafik 13	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yüzeyden çöküklük	98
Grafik 14	Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre yüzeyden çöküklük	99

Grafik 15	Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre yüzeyden çöküklük	102
Grafik 16	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre reepitelizasyon düzeyleri	104
Grafik 17	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre iNOS pozitiflik oran skorlarının dağılımı	107
Grafik 18	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre VEGF pozitiflik oran skorlarının dağılımı	114

Tablolar

Tablo 1	<i>Diabetes mellitusun</i> sınıflandırılması	20
Tablo 2	Deney hayvanlarının gruplandırılması	56
Tablo 3	Ratların çalışma öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları	68
Tablo 4	Diyabetik grupta tekniklere ve günlere göre kan şekeri seviyeleri	69
Tablo 5	Kullanılan enstrümanların hemostaz dereceleri	70
Tablo 6	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre eksuda ve fibrin, vaskülerize granülasyon dokusu, fibroblastik granülasyon dokusu, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme dağılımı	76
Tablo 7	Gruplar içerisinde günlere ve yapılan cerrahi türüne göre hücre tiplerinin dağılımı	80
Tablo 8	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre enflamasyon dereceleri	84
Tablo 9	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yeni oluşan damar sayısı	86
Tablo 10	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt uzunluğu	91
Tablo 11	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt derinliği	95
Tablo 12	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yüzeyden çöküklük	100
Tablo 13	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre reepitelizasyon düzeyleri	106
Tablo 14	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre iNOS pozitiflik oranı ve iNOS pozitifliği	109
Tablo 15	Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre VEGF pozitiflik oranı ve VEGF pozitifliği	118

Semboller, Kısaltmalar

$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
AGE	Glikozilasyon Son Ürünleri
α	Alfa
BAP	Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
bFGF	Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
β	Beta
Ca^{2+}	Kalsiyum
cm	Santimetre
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü <i>Epidermal Growth Factor</i>
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
H_2O_2	Hidrojen peroksit
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü <i>Insulin Like Growth Factor</i>
IL	İnterlökin
i.m.	Kas içi <i>Intra muscular</i>
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
KGF	Keratinosit Büyüme Faktörü <i>Keratinocyte Growth Factor</i>

LPS	Lipopolisakkarit
M	Molar
μ L	Mikrolitre
mm	Milimetre
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
PBS	Fosfatla Tamponlanmış Serum
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü <i>Platalet-derived Growth Factor</i>
PLGF	Plasental Büyüme Faktörü <i>Placental Growth Factor</i>
SMA	<i>Smooth Muscle Actin</i>
STZ	Streptozotozin
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü <i>Transforming Growth Factor</i>
TNF	Tümör Nekroz Faktörü <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TSP	Trombospondin <i>Thrombospondin</i>
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

1. GİRİŞ

Damarlardan zengin olan oral bölgede, cerrahi işlem sırasında, sürekli kanamalarla görüş alanının engellenmesi, hekimin zorlanmasına sebep olur.¹ Klasik bistürilerin kullanımından kaynaklanan hemostatik problemlerin aşılması için çeşitli alternatifler öne sürülmüştür.¹⁻³ Bistüriden kaynaklı bu problemleri ortadan kaldırmak için 20. yüzyılın başlarında elektrocerrahi tekniği geliştirilmiştir.³ Elektrocerrahi, diş hekimliğinde 50 yıldan uzun süredir kullanılmaktadır.⁴ Bu teknik hızlı hemostaz ve hızlı diseksiyon sağladığı ve ameliyata bağlı kan kaybını azalttığı için son derece popüler olmuştur.^{3,4} Bununla beraber, elektrocerrahi bazı önemli komplikasyonlara sebep olabilir; elektrik yanıkları en sık karşılaşılan tehlikeli durumdur. Elektrocerrahi operasyon alanında diğer cerrahi aletler ile etkilenerek elektromanyetik akıma neden olabilir. *Pacemaker*larda, implante edilmiş kardiyak cihazlarda ve koklear implantlarda elektrocerrahi kullanımı fonksiyon bozukluğu oluşturabilir. Klinik ve deneysel çalışmalar, elektrocerrahi enstrümanlarının oral mukozaya uygulandığı zaman daha yoğun postoperatif ağrıya ve doku iyileşmesinde gecikmeye neden olduğunu göstermiştir.³ Bistüriden kaynaklanan problemleri ortadan kaldırmak için kullanılan alternatiflerden bir tanesi de kriyocerrahidir. Kriyocerrahide kullanılan kriyojenlerden bir tanesi olan sıvı nitrojen -196°C 'de buharlaşır ve teorik olarak dokularda bu sıcaklık sağlanabilir. Dokularda buz kristali ve elektrolit dengesizliği oluşumu ile sıcaklığın -25°C 'ye düşmesi, dokularda genellikle hücre ölümü ile sonuçlanır. Bu nedenle doku ölümü oluşturmak için oral kaviteyi de içeren çeşitli bölgelerde kriyoproblar ve kriyospreyler kullanılmaktadır.²

Diabetes mellitus (DM), karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında insülin eksikliği veya hedef dokuda insülinin hücresel

metabolik etkilerine rezistans sebebi ile gelişen bozukluklarla birlikte görülen kompleks bir metabolizma hastalığıdır.⁵⁻⁸ *Diabetes mellitus* oluşturduğu komplikasyonlar nedeniyle organ ve işlev kayıplarına yol açarak yaşam süresi ve kalitesini etkileyen, iş gücü kayıplarına neden olan, sosyal ve ekonomik yükü ağır olan bir hastalıktır.⁹ Diyabete bağlı komplikasyonların çoğu mikroanjiyopatiye bağlı olarak gelişir. Anjiyopati periferde küçük damarların yeterli sirkülasyon yapamamasına, iskemi gelişmesine ve dokunun enfeksiyona açık hale gelmesine sebep olur.⁵ Nötrofil fonksiyonlarının engellenmesi de enfeksiyon riski açısından önemli bir faktördür.^{5,10} Diyabet, oral hastalıkların ilerleyişinde etkili olup diyabetle ilgili oral komplikasyonlar, diş kayıpları, gingivitis, periodontitis ve yumuşak doku patolojileridir.⁵⁻¹¹ Diyabet hastalarında cerrahi işlemlerden sonra yara iyileşmesinde gecikme ve enfeksiyon görülme riski artar.⁵

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz tarafından L-arginin'den üretilen kısa ömürlü serbest radikal bir gazdır.¹²⁻¹⁴ NO farklı dokularda birçok etkileri bulunan bir moleküldür. NO'nun, vazodilatasyonda, bakteriyel ataklarda ve sitokin stimülasyonunda, nörotransmisyonunda ve platelet agregasyonunda önemli rolleri olduğu gibi, patolojik durumlarda da zararlı etkileri vardır. NO sentaz tarafından sentezlenen NO ve NO'nun indüklenebilir izoformu olan iNOS, periodontal hastalıklar gibi enflamatuvar hastalıkların patofizyolojik karakterleri ile yakından ilişkilidir. Tükürük bezi hastalıklarında, temporomandibuler eklem bozukluklarında ve oral kanser gibi hastalıklarda iNOS ekspresyonu incelenmiştir.¹⁵

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), bilinen en güçlü anjiyogenik sitokinlerden biridir ve anjiyogenez sürecindeki tüm basamakları stimüle eder. Özellikle, mevcut damarların ekstrasellüler matriksinin proteazlar tarafından dejenerasyonunu indükler, kapiller

endotel hücrelerinin göç ve proliferasyonuna neden olur. VEGF, embriyo gelişimi, tümör gelişimi ve özellikle yara onarımı gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik neovasküler olaylarda etkilidir.¹⁶

Bu çalışmada, sağlıklı ve diyabetik ratların dillerinde bistüri, elektrocerrahi ve kriyocerrahi ile yara oluşturulacak; postoperatif olarak histopatolojik ve histomorfometrik çalışmalarla yara iyileşmesi değerlendirilecek ve gruplar arası farklılıklar karşılaştırılacaktır. Ayrıca iNOS ve VEGF' nin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri değerlendirilecek ve diyabetik ve diyabetik olmayan gruplar arasındaki farklılıklar karşılaştırılacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Yara İyileşmesi

Günümüzde yara iyileşmesi hâlâ cerrahinin en önemli konularından birisidir. “Yara”, bir dokunun normal fonksiyonlarını kesintiye uğratabileceği şekilde bütünlüğünün bozulmasıdır.¹⁷ Yaralanma, vücudun dış veya iç yüzeyinde, herhangi bir organ veya dokuda travma nedeniyle oluşabileceği gibi hastalıklı bir dokunun vücuttan çıkarılması ve organın normal fonksiyonuna kavuşturulması için yapılan işleme bağlı olarak da meydana gelebilir.¹⁷⁻¹⁹ Yaralanmayı takiben doku bütünlüğü ve fonksiyonel kapasiteyi geri kazanmaya yönelik hücresel ve biyokimyasal, ince ve çok hassas bir şekilde düzenlenmiş yanıtlar zincirine “yara iyileşmesi” denir. İyileşme çoğu durumda komplikasyonsuz sonuçlanır; ancak çeşitli içsel ya da dışsal faktörler iyileşme sürecini engelleyebilir.²⁰

Doku bütünlüğünün düzeltilmesi, filogenetik olarak ilkel; ancak temel bir savunma yanıtıdır. Yaralanmış organizmaların sağ kalabilmesi, kendilerini hızlı ve etkin bir biçimde onarabilmesine bağlıdır. İyileşme temel olarak, söz konusu dokunun tipine ve yaralanmanın şekline göre değişir. Eğer iyileşme, esas dokudan yapısal ve işlevsel olarak ayırt edilemeyen bir doku tarafından gerçekleştirilirse “rejenerasyon” meydana gelir; eğer doku bütünlüğü temel olarak fibrotik skar dokusu aracılığıyla yeniden sağlanırsa, “onarım” meydana gelir. Onarılmış doku daha kabadır ve esas dokudan daha az hücre içeriğine sahiptir.²⁰ Memelilerde rejenerasyon, epitel, endotel, kemik dokusu ve karaciğer gibi bazı organlarda olup kas ve periferik sinir dokularında sınırlı rejenerasyon

vardır. Bunun dışındaki dokularda iyileşme, rejenerasyondan ziyade onarımla sonuçlanır.¹⁷⁻²⁰

Hücresel düzeyde, doku iyileşme hızı ve niteliği, iyileşmede görev alan hücrelerin çabuk değişebilen, değişme göstermeyen ya da kalıcı özellikte olmasına bağlıdır. Epidermis keratinositleri ve oral mukozanın epitel hücrelerini içeren çabuk değişebilme özelliğindeki hücreler, hayatları boyunca bölünebilirler. Fibroblastlar gibi değişme göstermeyen hücreler düşük kopyalama hızına sahiptirler; ancak yaralanmaya tepki olarak hızla çoğalabilirler. Örneğin, kemik yaralanması, pluripotansiyel mezenkim hücrelerinin hızla osteoblastlar ve osteoklastlara dönüşmesine neden olur. Diğer yandan kalp kası hücreleri gibi kalıcı hücreler postnatal yaşamda bölünemezler.²⁰ Kas ve sinir hücrelerinin rejenerasyon kabiliyeti olmadığı bilinmesine rağmen son çalışmalar sınırlı da olsa rejenerasyonun var olduğunu göstermektedir.¹⁸ Epidermis ve kan hücreleri belirli aralıklarla kendilerini yenilerler. Bu olaya “fizyolojik rejenerasyon” adı verilir.^{17,18} Normal iyileşme, yaralanmış dokunun iyileşme kapasitesine bağlıdır. Deri yaralanmalarında fibröz skarla iyileşme normalken, kemik yaralanmalarında normal değildir.²⁰

İyileşme yanıtının kalitesi, yaralanmanın şekli ve yara kapanmasının hangi koşullar altında gerçekleştiği ile belirlenir. Temiz bir yırtılma ya da cerrahi kesi, primer olarak dikişler ya da diğer yöntemler ile kapatılır ve iyileşme hiç aralık kalmadan ve minimal skar oluşumu şeklinde hızla gerçekleşirse **primer iyileşme** söz konusudur. Eğer koşullar daha olumsuzsa, yara iyileşmesi daha komplikasyonludur. **Sekonder iyileşme** olarak adlandırılan bu durum, doku defektinin uzun bir süreçte granülasyon ve bağ dokusuyla dolması ile meydana gelir. Sekonder iyileşme genellikle avulsiv yaralanma, lokal enfeksiyon ya da yaranın

yetersiz kapanmasıyla birlikte görülür.²⁰ Sütür konulmadan spontan iyileşmeye bırakılmış veya sonradan sütürleri alınarak kenarları birbirinden ayrılmış ameliyat yaralarının iyileşmesi bu gruba girer. Yara iyileşme fazları aynı olmakla birlikte proliferasyon fazları daha uzun sürer ve daha fazla granülasyon dokusu oluşur.¹⁷ Daha komplike yaralarda cerrah sekonder iyileşme ile gecikmiş primer kapamayı kombine ederek **tersiyer iyileşmeye** başvurabilir.²⁰ Gecikmiş primer kapama^{17,21} olarak da adlandırılabilen bu iyileşme şekline kontamine dokudaki enfeksiyon riskini azaltmak için başvurulur.²¹ Avülsiv ya da kontamine yara debride edilir; granülasyon dokusunun oluşması beklenir ve 5-7 gün boyunca sekonder iyileşmeye bırakılır. Yeterince granülasyon dokusu oluştuğunda ve enfeksiyon riskinin minimal olduğu düşünüldüğünde, yara primer iyileşmesi için suture edilir.²⁰

2.1.1.Yara İyileşmesinin Fizyolojisi

Dokularda, yaralanma sonucu yara iyileşmesi ile sonlanan organize ve karmaşık bir takım hücresel ve biyokimyasal olaylar gelişir.²²⁻²⁴ Bu süreç “yara iyileşmesi” olarak adlandırılır. Yaralanma olayı travmanın tipine bağlı olmaksızın yaralı dokunun morfolojik ve fonksiyonel özelliklerini yeniden kazanmasını sağlayacak dinamik ve oldukça karmaşık olaylar dizisini başlatır. Bunlara “yara iyileşmesi fazları” denilir.¹⁷ Yara iyileşmesi ayrı, ancak birbirleriyle içi içe geçen üç fazdan oluşur.²² Bu fazların herhangi birinde gerçekleşebilecek olan başarısızlık veya fazın gerçekleşmesi gereken süre içinde tamamlanamaması, iyileşmede gecikmeyle veya yaranın kapanmamasıyla sonuçlanabilir.²⁵

Bu fazlar;

1- Enflamasyon (eksüdatif) fazı: Trombosit, granülosit ve makrofaj safhalarına ayrılabilir.

2- Proliferasyon fazı: Fibroblast çoğalması, anjiyogenez, yara kontraksiyonu oluşur.

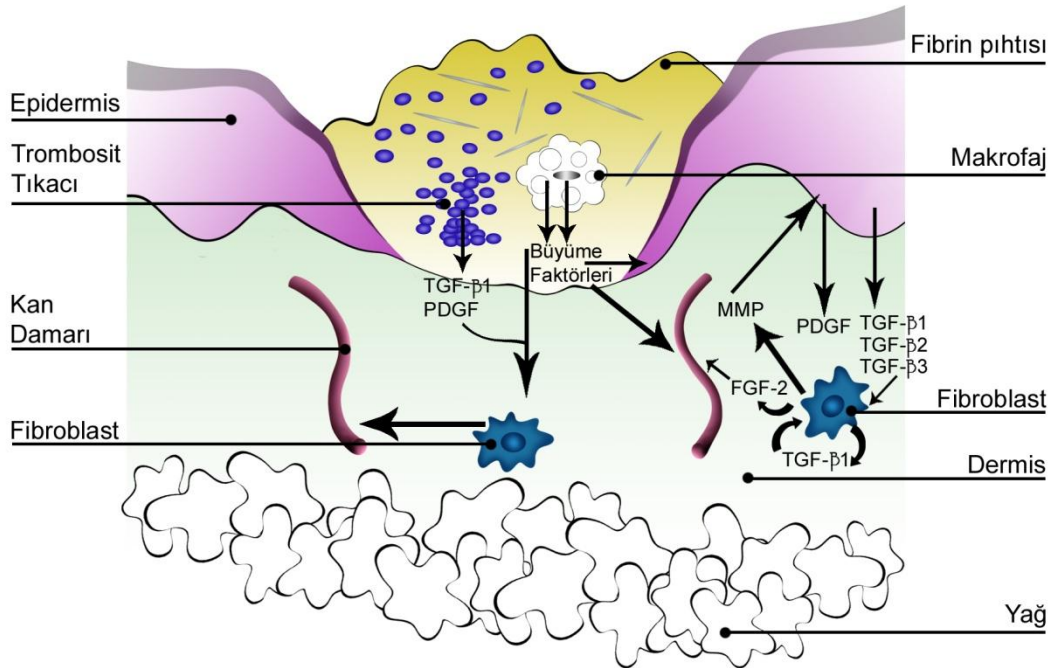
3- Yeniden şekillenme (reparatif) fazı: Epitelleşme ve skar matürasyonu oluşur.^{17,20,21,23}

2.1.1.1.Enflamasyon Fazı

Enflamasyon fazı, damar geçirgenliğinin artması, dolaşımdaki hücrelerin yaralanan doku etrafına kemotaksisi, büyüme faktörleri ve sitokinlerin lokal olarak salınması ve migrasyon hücrelerinin aktivasyonu ile tanımlanan yara iyileşmesinin en temel fazıdır.²⁵

“Enflamasyon”, normal bir dokunun travmaya karşı verdiği akut cevaptır.^{17,21} Enflamasyon fazı, vücudun tamir yanıtının habercisidir;²⁰ yaralanmadan hemen sonra gerçekleşir,^{26,27} genellikle 3-5 gün sürer.²⁰ İlk olay yaralı damarların kontraksiyonudur.¹⁷ Yaralanan damarların vazokonstriksiyonu, kanamaya karşı gelişen spontan doku reaksiyonudur. Doku travması ve lokal kanama, faktör XII (Hagemann faktörü)'yi aktive eder ve bu faktör de iyileşme sürecinin çeşitli efektörleri olan kompleman, plazminojen, kinin ve pıhtılaşma sistemlerinin aktivasyonunu başlatır. Dolaşımdaki trombositler, hızla yaralanma alanında toplanırlar; birbirlerine ve açığa çıkmış vasküler subendotelial kollajene yapışarak, fibrin matriks içinde primer bir trombosit tıkaçı oluştururlar.^{20,26,28} Açığa çıkan çeşitli vazoaktif maddeler kesik damar ucunun bu primer tıkaç etrafında daha fazla kontraksiyonunu sağlar. Primer hemostatik tıkaç içinde trombositlerin

kümelenmesiyle koagülasyon sistemi aktive edilmiş olur. Pıhtılaşma faktörleri protrombini trombine, fibrinojeni fibrine çevirerek stabil pıhtıyı meydana getirir.¹⁷ Meydana gelen bu pıhtı, hemostazı sağlar ve hücrelerin tamir süreci sırasında geçebileceği geçici bir matriks oluşturur. Pıhtı, ayrıca, aktive trombositler degranüle oldukça salınan sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin rezervuarı olarak da işlev görür (Şekil 1).^{20,24,29} Faktör XIII (fibrin stabilize edici faktör) eksikliği gibi durumlarda görülen yetersiz pıhtı oluşumu, yara iyileşmesinde gecikme, sekonder olarak ya enflamasyon alanındaki hücrelerde azalmış adezyona ya da azalmış kemotaksise bağlı olarak gözlenir.²⁵ İnterlökinler (IL), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'nü içeren proteinler salgılanarak yara ortamını korurlar ve iyileşmeyi düzenlerler.^{20,23,29}



Şekil 1: Yaralanmadan hemen sonra gelişen reaksiyon.^{20,29}

Hemostaz sağlandıktan sonra, reaktif vazokonstriksiyonun yerini histamin, prostoglandinler, kininler ve lökotrienlerin mediyatörlüğünü yaptığı daha kalıcı bir vazodilatasyon dönemi alır. Artan damarsal geçirgenlik kan plazmasının ve diğer hücresele iyileşme mediyatörlerinin damar duvarlarından diyapedez* yoluyla geçmesine ve ekstravasküler alana yerleşmesine izin verir.^{20,28} Bu durumu gösteren klinik belirtiler, şişme, kızarıklık, sıcaklık ve ağrıyı içerir.²¹ Yara içine salınan sitokinler, nötrofillerin ve monositlerin birbiri ardından yara alanında toplanmasını sağlayan kemotaktik davranışlar gösterirler.²⁰ Nötrofiller normalde yara alanına birkaç dakika içinde varırlar ve hızla o bölgedeki hakim hücreler olurlar.^{20,24,25,28} Fibrinle zenginleşmiş pıhtı ağı içinden göç eden kısa ömürlü lökositler, alanı proteaz ve sitokinlerle doldurup yarayı kontamine edici bakteri, cansız doku ve parçalanmış matriks unsurlarından temizlemeye yardım ederler.^{20,24} Değişikliğe uğramış damar yapısından yaraya opsonik antikorların sızmasıyla nötrofil aktivitesi artar. Bir yara ağır şekilde enfekte olmadıkça, nötrofil infiltrasyonu birkaç günden sonra sona erer. Ancak, ölen nötrofillerin saldığı tümör nekroz faktör alfa (TNF- α)'yı ve interlökinleri (IL-1a, IL-1b) içeren proenflamatuvar sitokinler, enflamatuvar yanıtı daha uzun süreli stimüle etmeye devam ederler.²⁰

Kanla taşınan monositlerin, yara alanına yayılması nötrofil seviyeleri düşükçe artar. Makrofaj olarak adlandırılan aktive monositler, nötrofillerin başlattığı yara debridmanına devam ederler. Kollajenazlar ve elastazları salıp yaralı dokuları parçalar, bakteri ve hücre artıklarını fagosite ederler.^{20,26} Bakterilerin fagosite edilmesinde makrofajlar nötrofiller kadar etkili değillerdir. Nötrofillerden daha büyük olan ve daha yavaş hareket eden makrofajlar,²¹ yarayı temizlemenin ötesinde, iyileşme mediyatörlerinin temel kaynağı olarak da fonksiyon görürler.²⁰ Makrofajlar bir kere aktive olduktan sonra, yara alanında bir dizi büyüme faktörü ve

* Diyapedez: Kan hücreleri (eritrosit, lökosit)'nin damar duvarlarından dışarıya sızması.³⁰

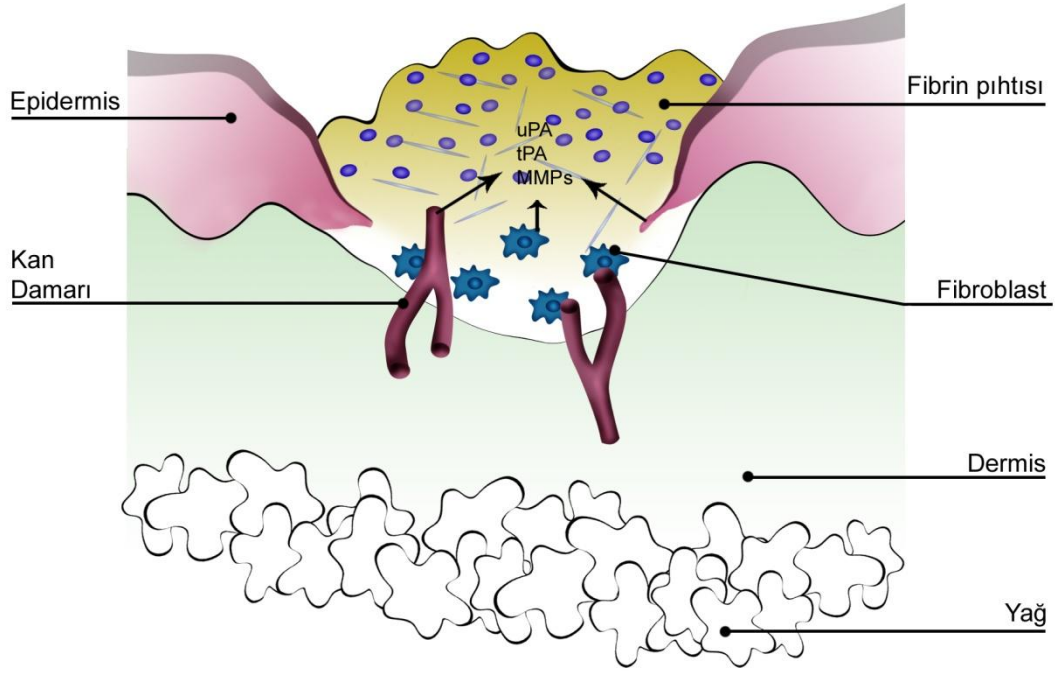
sitokin (TGF- α , TGF- β 1, PDGF, insülin benzeri büyüme faktörü [IGF]-I ve -II, TNF- α , ve IL-1) açığa çıkarılır ve degranüle olan trombosit ve nötrofiller tarafından daha önce salınan kimyasal ve hücrel mediyatörlerin etkisini daha güçlü ve sürekli hale getirirler. Makrofajlar, proteolitik enzimlerle lokal dokunun yeniden oluşumunu düzenleyip, yeni ekstrasellüler matriks oluşumunu uyararak ve trombospodin-1(TSP-1) ve IL-1b gibi sitokinlerin lokal üretimi yoluyla anjiyogenez ve fibroplaziyi düzenleyerek erken yara iyileşmesinin tüm fazlarını etkilerler. Makrofajların sayısı ve aktivitesi, yaralanmadan sonraki beşinci güne kadar azalsa da makrofajlar, onarım tamamlanana kadar, yara iyileşmesini düzenlemeye devam eder.^{20,31}

2.1.1.2.Proliferasyon Fazı

Enflamatuvar faz sırasında salınan sitokinler ve büyüme faktörleri, yara iyileşmesinin ikinci evresi olan proliferasyon fazını stimüle eder.^{20,23} Bu fazda enflamatuvar hücrelerin sayısı azalırken fibroblastların sayısı artar.^{23,27,31} Bu faz sırasında etkin olan primer hücreler fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleridir.^{17,23,25,31} Proliferasyon fazı, sağlıklı bireylerde yaralanmadan sonraki 48 saat içinde başlayıp²¹ üç haftaya kadar devam edebilir.²⁰ Bu faz, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu, yara kontraksiyonu ve epitelizasyonu içeren 4 önemli aşamadan oluşur.²¹

Bu fazda ilk basamak, rejenerasyon olan dokuların artan metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için, gereken oksijen ve besin maddelerini sağlamak üzere lokal bir mikrodolaşımın sağlanmasıdır. Bunun için özellikle VEGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve TNF- β gibi doğal büyüme faktörlerinin etkisi altında,^{20,31,32} endotel hücrelerinin göçü,

çoğalması ve organizasyonu ile yeni kapiller kan damarlarının oluşturulması işlemi başlar (Şekil-2).^{20,27,29,32} Yeni kan damarlarının olduğu bu olaya **anjyogenez** denir.^{20,21,26,27,32} Anjyogenez, yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder.²⁷



Şekil 2: Epitel tabakanın yeniden oluşumu^{20,29}

Enflamatuvar faz esnasında yara yatağından çıkarılan sellüler debris ve bakteriler, iyileşmenin devam etmesi için doldurulması gereken bir defekt bırakırlar. **Granülasyon dokusu**, bu boşluğu dolduran geçici bir vaskülarize bağ dokusu ağıdır.²¹ Fibroblastlar, enflamatuvar hücrelerin ve yaralanan dokunun saldığı sitokine ve büyüme faktörlerine yanıt olarak yaraya göç ederler. Fibroblastlar yeni ekstrasellüler matriksi ve immatür kollajeni (tip III) sentezlemeye başlarlar.^{20,26} Kollajen sentezi yaralanmanın ikinci günü başlar ve en fazla aktivite 5-7. günlerde görülür.^{17,25} Kollajen liflerinin çeperleri, yarayı besleyen yeni oluşmuş damarları destekler. Stimüle edilmiş fibroblastlar, bir dizi büyüme faktörü

salgılar, böylece bir geri beslenme halkası oluşturur ve onarım sürecini devam ettirirler. Kollajen birikimi, yaranın gerilim gücünü hızla artırır ve yara kenarlarını bir arada tutmak için kapanma materyaline duyulan ihtiyacı azaltır.²⁰

Ekstrasellüler matriks (ECM) **yara kontraksiyonuna** aracılık eder. Yara yatağı içindeki bazı fibroblastlar miyofibroblastlara dönüştürülür. Hem düz kas hücreleri hem de fibroblastlara benzer özelliklere sahip olan miyofibroblastlar yara kontraksiyonunun itici gücüdür. Aktinden zengin miyofibroblastlar yara kenarlarını bir araya çeker ve defektin boyutlarını azaltır.²¹ Yara kontraksiyonunun boyutları, yaranın derinliğine ve yerine bağlıdır.^{20,21} Lineer yaralar, kare ya da dikdörtgen yaralardan daha hızlı kontraksiyon gösterir. En yavaş kontraksiyon daire şeklindeki yaralarda görülür. Yara kontraksiyonu tam kalınlıktaki yaralarda yarım kalınlıktaki yaralardakinden daha fazladır. Çünkü derin yaralarda daha fazla miktarda granülasyon dokusu oluşumu gereklidir.²¹

Mukozal yaranın yüzeyinde yeni epitel oluşur ve soyulmuş yara yüzeyini kapatır. Yara kenarlarından köken alan epidermal hücreler proliferatif bir canlanma yaşar ve bazal membran üzerinde yaranın yüzeyini yeniden döşemeye başlarlar. **Reepitelizasyon** süreci, derinin aksine oral mukozada daha hızlı gerçekleşir. Mukoza yarasında, epitel hücreler dermisteki kuru eksuda yerine fibrin pıhtı üzerindeki açık ıslak yüzeye doğrudan göç eder. Epitel kenarları birleşince, temas inhibisyonu daha fazla laterale proliferasyonu önler. Yaranın altındaki kontraktıl bağ dokusu yara kenarlarını birbirine doğru çekip boyutlarını küçülterek reepitelizasyonu kolaylaştırır. Yara kontraksiyonunun boyutları, yaranın derinliğine ve yerine bağlıdır.^{20,31}

2.1.1.3.Yeniden Şekillenme (Reparatif) Fazı

Başlangıçtaki skar oluşumu sırasında proliferasyon ve neovaskülarizasyonun sona ermesiyle yeniden şekillenme fazı başlar. Bu faz sırasında yoğun hücre ve yüksek vaskülaritesi olan granülasyon dokusu daha az hücre ve damarlardan oluşan skar dokusu ile replase olur.¹⁷ Matriks yıkılması ve oluşumu arasında ince ayarlı bir dengeyi içeren yeniden şekillenme fazı birkaç yıl sürebilir. İyileşen yaranın metabolik ihtiyacı azaldıkça yoğun kapiller ağrı, gerilemeye başlar. Kollajen matriks, sitokin ve büyüme faktörlerinin etkisi altında sürekli parçalanır, yeniden sentezlenir, reorganize olur ve moleküler çapraz bağlarla skar dokusunun içine sabitleşir.²⁰ Fibroblastlar ve makrofajlar kaybolur;^{17,20} biriken kollajen Tip III'ün yerini yavaş yavaş daha güçlü Tip I kollajen alır.^{17,20,26} Böylece, yara dokusunun gerginlik gücü yavaş yavaş artar ve en sonunda orijinal gücünün %80'ine ulaşır.^{17,20} Skar kollajeni ve ECM' nin homeostazı, düzenleyici sitokinlerin kontrolü altında, büyük ölçüde serin proteazları ve matriks metalloproteinazları tarafından düzenlenir. Metalloproteinaz (MMP)'ların doku inhibitörleri, MMP'lere karşı doğal bir karşı denge oluşturur ve skar içindeki proteolitik aktivitenin sıkı kontrolünü sağlar. Bu dengenin herhangi bir şekilde bozulması, aşırı ya da yetersiz matriks yıkımına yol açabilir ve aşırı skar oluşumu ya da yaranın açık kalmasıyla sonuçlanır.²⁰

2.1.2.Yara İyileşmesini Geciktiren veya Engelleyen Faktörler

2.1.2.1.Lokal Faktörler

1. Uygun olmayan cerrahi teknikler: Ameliyat yaralarının iyileşmesinde önemli faktörlerden birisi şüphesiz cerrahın kendisidir. Ekartörlerin aşırı traksiyonla kullanılması, açık yara yerinin kurutulması, gereğinden fazla elektrokoter kullanılması vb. faktörler yara iyileşmesini geciktirecektir.¹⁷ Yara gergin kapatıldığında, yara mikrosirkülasyonunda bozukluk oluşur. Bu bakımdan gergin kapatmak yerine deri greftleri ya da flepler kullanılmalıdır. Yetersiz debridman da yara iyileşmesini geciktirir ve bozar.¹⁸

2. Enfeksiyon: Büyük bakteriyel kontaminasyon, bozulmuş yara iyileşmesinin en önemli sebebidir.³³ Bakteriler yaraya dışarıdan veya kan yolu ile gelirler. Enfeksiyon önlenemez ise yara iyileşmesi gecikir. Her kontamine yara enfekte olmaz.¹⁸ Bir gram dokuda (100.000)'den fazla bakteri bulunursa yarada enfeksiyon oluşma ihtimali %50'dir. Gramında (100.000)'e kadar bakteri içeren dokuların, bu yoğunluktaki organizmaya rağmen iyileşme göstermesi, vücut rezistansının önemini göstermektedir. Enfeksiyona direnci bozan lokal yara faktörleri; yabancı cisimler, ölü ya da iskemik dokular, şiddetli travmatize dokular, aşırı gergin kapanma, radyasyon, hematoma, ölü boşluk ve uygun olmayan suture materyalleridir.^{18,33}

3. Vasküler bozukluklar ve doku iskemisi: Genel dolaşım bozukluğu dışında, periferik damar hastalıklarında veya venöz staz

sonucu gelişen lokal dolaşım bozukluklarında,^{17,18} ezilme, sıkışma gibi yaralanmalarda,¹⁶ nötrofillerin, opsoninlerin ve diğer enflamasyon mediyatörlerinin yara yerine gelişinin gecikmesi, fagositik savunma sistemini zayıflatır ve bakteri proliferasyonuna izin verir. Hipoksik yara daha kolay enfekte olur ve lökositlerin ve fibroblastik proliferasyonun baskılanması neticesinde yara iyileşmesi gecikir.¹⁸

4. Topikal steroid ve antibiyotikler: Steroid tedavisinin lokal deri direncini baskılayıcı bir etkisi vardır. Antibiyotikler de bazı organizmalar için üreme ortamı oluşturabilirler.¹⁸

5. Artefakt yaraları ve kronik travma: İyileşmeyi geciktiren faktörlerdendir.¹⁸

6. Yabancı cisim reaksiyonu: Kontamine yaralardaki yabancı cisimlerin temizlenmesi, enfektif bakteriyel popülasyonun seviyesini büyük oranda düşürür.¹⁸ Yabancı cisimler de potansiyel enfeksiyon kaynağıdır.^{18,33} İmplantlarla kombine kullanılan greftler yabancı cisim reaksiyonuna sebep olabilir. Yaradaki kir ve katran iyileşmeyi tehlikeye atmakla kalmaz; aynı zamanda renklenmeye de sebep olabilir.³³ Diğer yabancı cisimler; küçük taş, cam parçaları, tahta parçaları, mikroskopik toprak parçaları,^{18,33} yara yerinde unutulmuş materyaller olabilir.^{17,33}

7. Uygunsuz örtü ve sargılar (kuru sargılar): Uygunsuz örtü ve sargılar, çok sık ve sıkı dikiş konulması, dolaşımı bozarak veya oluşan epiteli kaldırarak yara iyileşmesini geciktirirler.^{17,18}

8. Kanser: Hem tümör kitlesi hem de kemoterapi vücut savunma mekanizmalarını bozar ve bu hastalarda özellikle kontamine yaraların iyileşmesi oldukça zor olmaktadır.¹⁸

9. Kronik radyasyon: Ağır radyasyon almış dokularda lokal iskemi oluşur ve bu durum yara komplikasyonlarına yol açar.^{18,33}

2.1.2.2. Sistemik Faktörler

1. Malnütrisyon: Proteinler yara iyileşmesinde rol alırlar. Protein eksikliği enflamatuvar fazı uzatır ve fibroplaziyi bozar. Serum protein konsantrasyonu 2 g/dl'nin altına düştüğü zaman yara iyileşmesinde önemli ölçüde bozulma olur. Yaranın yeniden şekillenme fazı etkilenir. Yara iyileşmesi için bütün aminoasitler gerekli ise de metionin, sistin, sistein ve arjinin gibi aminoasitler hayati önem taşırlar.¹⁸

Karbonhidratlar ve yağlar hücrenin enerji kaynağı olarak yara iyileşmesinde rol alırlar. Ayrıca hücre sentezinde; özellikle hücre membranı sentezinde yağların rolü büyüktür. Eksiklikleri yara iyileşmesini olumsuz etkiler.¹⁸

Yara iyileşmesinde sodyum, potasyum, kalsiyum, klor, fosfor, çinko ve magnezyumun önemli rolü vardır. Eksiklikleri iyileşmeyi olumsuz etkiler ve kollajen sentezinde bozukluklara sebep olur.¹⁸ Çinko eksikliği, bozulmuş epitelyal ve fibroplastik proliferasyona sebep olur, fazlalığı da iyileşmeyi bozar, makrofajların migrasyonu ve kollajenlerin çapraz

bağlanmasını engeller. Bakır da kollajenin çapraz bağlanması için gereklidir.³³

A, B, C, D, E gibi vitaminler yara iyileşmesi için gereklidirler. Bu vitaminlerin eksikliğinde yara iyileşmesinde ciddi problemler oluşur.^{18,33}

2. Dolaşım bozuklukları: Kan dolaşımının iyi olmaması yara sahasına yeterli kan gitmesine engel olarak yara iyileşmesini geciktirir. Anemilerde, dolaşım bozukluğu olmadığı halde dokulara yeterli oksijen ulaşamadığından yara iyileşmesi gecikir.¹⁸

3. Yaş, cinsiyet, menapoz, ırk: Yara iyileşmesi, büyüme çağındaki çocuklarda daha hızlı olur.^{18,33} Cinsiyet ve pre-post menapozal dönemlerin yara iyileşmesinde etkisi olabilir. Skar oluşumu gençlerde, bayanlarda daha sık görülmekte, diğer yaş gruplarında ise eşit olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalarda postmenapozal kadınlarda yara iyileşmesinin daha yavaş ancak skar gelişiminin daha az olduğu görülmüştür. Yara bölgesine ekzojen olarak eklenen östrojenin yara iyileşmesini hızlandırdığı ancak skar gelişimini de arttırdığı tespit edilmiştir.³⁴ Zencilerde iyileşme esnasında keloid oluşumu sık görülür.¹⁸

4. Hormonlar: Yara iyileşmesinde tiroid, surrenal, hipofiz ve pankreas hormonlarının etkili olduğu ileri sürülmektedir. Diyabette, anjiyopatiye bağlı olarak lokal dolaşım bozukluğu, enfeksiyon ve periferik nöropati nedeniyle yara iyileşmesi bozulur.¹⁸

5. Kronik hastalıklar: Karaciğer ve böbrek yetmezliği, hematopoetik hastalıklar, maligniteler, otoimmün hastalıklar, konnektif doku hastalıkları gibi kronik hastalıklar yara iyileşmesini bozar.¹⁸

6. İlaçlar: Steroidler, aspirin, antikoagülanlar, antineoplastikler, penisilamin, fenilbutazon gibi ilaçlar yara iyileşmesini etkiler.¹⁸

2.2. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), vücudun hiç insülin üretmemesi, yeterli düzeyde insülin üretememesi veya insülini tam anlamıyla kullanamamasından kaynaklanan, hiperglisemiye yol açan,^{6-8,10,35} glukoz, yağ ve protein metabolizma bozukluğu ile karakterize olan kronik metabolik bir hastalıktır.^{6,7,10,35}

2.2.1. Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması

DM'nin bütün tipleri ya dolaşımdaki insülin konsantrasyonunun azalmasından ya da hedef dokuların insüline yanıt verebilirliğinin azalmasından kaynaklanmaktadır.³⁵ 1997 yılında Amerikan Diyabet Derneği tarafından tedavi gereksinimleri ve patogenez sınıflaması yerine etyolojik nedenlere dayanan yeni bir sınıflandırma ileri sürülmüştür (Tablo-1).³⁶

Tip I DM, insüline bağımlı DM olarak da adlandırılır.¹⁰ Tüm diyabetlilerin yaklaşık % 7-10'luk bölümünü kapsayan Tip I DM,³⁷ genetik yatkınlık zemininde gelişen ve çevresel faktörlerin tetiklemesi ile başlayan otoimmün pankreas β hücre hasarı sonucu gelişmektedir.^{9,10,37} β hücrelerinin hasarı nedeniyle insülin salgılama kapasitesinin büyük kısmı ya da tamamı ortadan kalkar.^{10,35}

Tip II DM, insüline bağımlı olmayan DM olarak da adlandırılır^{6,10} ve diyabetin en yaygın tipidir.³⁵ Tüm diyabetlilerin yaklaşık olarak %90-95'ini oluşturur.^{6,7,36} Tip II diyabetin patogenezi hakkında çok az şey bilinmektedir. Otoimmün mekanizmaların etkisi olduğuna dair bir bulguya rastlanmamıştır. Genetik faktörler ise Tip I diyabette olduğundan daha büyük önem taşımaktadır.¹⁰ Hastaların büyük çoğunluğu obezdir^{6,9} ve genetik kontrol altında olan obezite insülin direncine neden olabilmektedir.⁹ Tip II diyabet, insülinin sentez, salgı ve depolanmasında bir bozukluk olmadığı halde periferik dokularda insüline karşı direnç meydana gelmesiyle oluşur.³⁵

Tablo 1: *Diabetes mellitus*un sınıflandırılması⁶

<p>I. Tip I <i>Diabetes Mellitus</i></p> <p>A. İmmün nedenli</p> <p>B. İdiyopatik</p> <p>II. Tip II <i>Diabetes Mellitus</i> (nispeten insülin yetersizliği ile birlikte olan ağırlıklı insülin rezistansından, insülin rezistansı ile birlikte olan ağırlıklı insülin sekresyon kusuruna kadar değişebilir.)</p> <p>III. Diğer spesifik tipler</p> <p>A. β hücre fonksiyonu genetik defektleri</p> <p>B. İnsülin etkisinde genetik defektler</p> <p>C. Ekzokrin pankreas hastalıkları</p> <p>D. Endokrinopatiler</p> <p>E. İlaç ve kimyasal maddelere bağlı formlar</p> <p>F. Enfeksiyonlar</p> <p>G. Diyabetin immün aracılıklı nadir formları</p> <p>H. Diğer genetik sendromlar</p> <p>IV. Gestasyonel <i>diabetes mellitus</i> (GDM)</p>
--

2.2.2. *Diabetes Mellitus*un Komplikasyonları

Diyabetle ilgili olarak genellikle ortaya çıkan tıbbi komplikasyonlar, renal hastalıklar, retinopati, nöropati, periferik vasküler hastalıklar ve koroner kalp hastalıklarını içerir. Diyabetle ilgili oral komplikasyonlar ise gingivitis, periodontitis ve yumuşak doku patolojileridir.¹¹

Diyabetin pek çok organın işlevi üzerine olumsuz etkisi vardır. Diyabet hücre ve bağ dokusu metabolizmasında bozulmaya sebep olur ve yara iyileşmesi için bir risk faktörü olarak kabul edilir. Diyabet

tarafından yara iyileşmesinin nasıl engellendiği tam olarak aydınlatılamamıştır. Cerrahi operasyon geçiren diyabetli hastalarda görülen yara iyileşmesi bozuklukları diyabet ile ilgili metabolik anomalileri yansıtmaktadır.²⁷

Diyabetli hastalarda tırnak kestikten ya da çakıl üzerinde yürüdükten sonra bile minör yaralar oluşabilir. Bu yaralar sıklıkla kronik, enfeksiyona eğilimli, iyileşmeyen ülserlere yol açar. Enfeksiyon gangrene yol açabilir ve amputasyon bile gerekebilir. Yapılan bir tahmine göre diyabetli hastaların yaklaşık %20'sinin hastaneye yatırılma nedeni yara enfeksiyonlarıdır.³⁸

2.2.3. Diabetes Mellitusta İyileşmeyi Bozan Faktörler

DM'de doku iyileşmesini bozan birçok faktör vardır. Bu faktörler, diyabet hastasında ateroskleroz ya da renal yetmezlik gibi hastalıklara yatkınlığın olması, nöropati gelişme riskinin yüksek olması ve enfeksiyonla mücadele etme yeteneğinin azalmasıdır.^{10,38} Hücrenel, metabolik ve biyokimyasal faktörler de iyileşme bozukluğuna sebep olur. DM'de makrovasküler ve mikrovasküler hastalıklara yatkınlık artar. Diyabette, aterosklerozun görülme insidansı arttığından, majör vasküler stenoz ya da yaranın kapanmasıyla ilgili problemler sık görülür.³⁸ DM'de yara iyileşmesinde bozukluğa neden olan mikrovasküler hastalıklarda, en sık görülen morfolojik özellik bazal membranların diffüz kalınlaşmasıdır.^{10,38} Bazal membranın kalınlaşması, mikro besinlerin taşınmasını güçleştirebilir, lökosit migrasyonunu zorlaştırabilir. Ekstrasellüler matriks birikimi, enflamatuvar hücreleri tutabilir ve enfeksiyona eğilimi arttırabilir (D1). Oral bölgede de vasküler fonksiyonların etkilenmesiyle normal

tükürük bezi fonksiyonları bozulur, dolayısıyla tükürük akımı ve volümü azalır, kserostomi meydana gelir, yara iyileşmesi bozulur.^{39,40}

Üremi, iyileşmeyi etkileyen diğer bir faktördür. DM'li hastalar subklinik ya da klinik renal hastalığa eğilimlidirler. Bu hastalıklarda idrarla protein kaybının artması, hastayı ödeme yatkın hale getirir, bu da daha önceden belirtildiği gibi doku onarımının bozulmasına katkıda bulunur.³⁸

DM'de yara oluşumunu etkileyen diğer faktör nöropati eğilimidir.³⁸ Diyabetlilerde en sık alt ekstremitelerde periferik simetrik nöropati gelişir. Bu hem motor, hem duyu fonksiyonlarını, fakat özellikle de ikincisini etkiler.¹⁰

DM'de iyileşmeyi bozan diğer bir faktör de enfeksiyon gelişimine yatkınlıktır.^{10,38,41} Enfeksiyona direncin bozulmasının bir çok nedeni vardır. Deride çatlamaya eğilimin olması, bakterilerin kolonizasyon alanlarının artmasına neden olur. Terlemedeki değişme bakteriyel florayı da değiştirebilir. Glikoz kontrolünün olmaması enfeksiyon riskini arttıran bir faktördür. Hiperglisemi, bakterilerin yararlanacağı besin maddelerini arttırabilir ve konağın lokal savunmasını bozabilir.³⁸ Bu gibi hiperglisemik ortamlarda lökosit fonksiyonları bozulur.^{10,38}

Hiperglisemi ile diyabetin komplikasyonları arasında iki mekanizmanın önemli olduğu düşünülmektedir. Bunlar;

1. Enzimatik olmayan glikozilasyon, glikozun kimyasal olarak, enzimlerin yardımı olmadan proteinlerin serbest aminoasit gruplarına bağlanmasıdır. İnterstisiyel dokulardaki ve kan damar duvarlarındaki kollajenin ve diğer uzun ömürlü proteinlerin erken glikozilasyon ürünleri, bir takım yavaş kimyasal reaksiyonlardan geçerek geri dönüşümsüz glikozilasyon son ürünlerini (AGE'ler) oluştururlar. Bu ürünler damar duvarının ömrü süresince birikirler. AGE'ler potansiyel patojen olan bir takım kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir.^{10,38}

▪ Kollajen gibi proteinlerde AGE oluşumu, polipeptidler arasında çapraz bağlantılara neden olur¹⁰ ve normal kollajen yıkımını inhibe edebilir.³⁸

▪ AGE'ler birçok hücre tipindeki reseptörlere bağlanırlar (endotel, monositler, makrofajlar, lenfositler ve mezengial hücreler). Bu bağlanma, monosit göçü, makrofajlardan sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımı, artmış endotelyal geçirgenlik, fibroblastların ve düz kas hücrelerinin proliferasyonlarında ve ekstrasellüler matriks üretiminde artış gibi çeşitli biyolojik aktivitelerde etkindir.¹⁰

2. İntrasellüler hiperglisemi beraberinde poliol yollarındaki düzensizlikler, hipergliseminin neden olduğu komplikasyonlardan sorumlu olan ikinci ana mekanizmadır. Glukoz transportu için insüline ihtiyaç duyulmayan bazı dokularda (sinirler, lens, böbrek, kan damarları) hiperglisemi intrasellüler glukozun artmasına neden olur, bu da daha sonra aldoz redüktaz tarafından sorbitole dönüştürülür. Bir poliol olan sorbitol son olarak fruktoza dönüşür. Biriken sorbitol ve fruktoz intrasellüler ozmolaritenin artmasına ve suyun hücre

içine girmesine neden olur. Sonuç olarak ozmotik hücre hasarı meydana gelir.^{10,38}

Hayvan modelleri DM'de doku iyileşmesindeki bozulmaya katkıda bulunan spesifik sellüler değişiklikler olduğunu göstermiştir. 1990'larda yapılan çok sayıda araştırma diyabetik popülasyonda iyileştirmeyi hızlandırmak için rekombinant büyüme faktörlerinin potansiyel kullanımı üzerine odaklanmıştır. Araştırmacılar, diyabetik hayvanlarda yaralara büyüme faktörü uygulandığı zaman iyileşmede olumlu etkiler olduğunu keşfetmişlerdir. Bu durumu açıklamak için bir takım hipotezler ortaya atılmıştır. Bir hipoteze göre diyabetli hayvanlarda gelişen yaralarda yeterli büyüme faktörü üretilmemektedir. Diğer bir deyişle, yara yeterli büyüme faktörü sentezlemiyorsa, normal iyileşme için yeterli uyarı olmaz. Büyüme faktörü tedavisinin etkili olması da bu hipotezi destekler. Araştırmacılar, moleküler saptama teknikleri kullanarak, diyabetli hayvanlarda kontrollere kıyasla mRNA ve bazı büyüme faktörlerinin proteinlerinin [IGF-I, IGF-II, keratinosit büyüme faktörü (KGF) ve diğerleri] ekspresyonunda azalma olduğunu bulmuşlardır.³⁸

Diğer bir hipotez de diyabetli insan ve hayvanların yara ortamlarında büyüme faktörlerinin yıkımında artış olduğudur. Bu hipotezi kronik basınç ülserleri ile ilgili çalışmalar desteklemektedir. Bu çalışmalarda MMP'lerin seviyelerinde kronik yara sıvısında akut yara sıvısına kıyasla artış bulunmuştur.³⁸ Neely ve arkadaşları⁴² genetik diyabetik fare modelini kullanarak bir kaç MMP'nin diyabetli yaralarda kontrollere kıyasla arttığını bulmuşlardır. Bunlar yara iyileşmesinin çeşitli yönleriyle ilişkisi olduğu düşünülen MMP-2 ve MMP-9'dur.⁴² Büyüme faktörlerinin hem üretiminin azalması hem de yıkımının artması, DM'de

doku iyileşmesindeki bozulmanın patogeneziyle ilişkili gibi görünmektedir.³⁸

2.3. Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO), renksiz bir gaz olup,^{14,43,44} kısa ömürlü,^{12-14,43,45} yüksek derecede reaktif (biyoaktif),^{12,14,43} hücrelerde çeşitli biyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde rol oynayan bir serbest radikaldir.^{43,44,46} NO doğadaki en küçük on molekülden biridir. Bir oksijen (O) atomuyla bir nitrojen (N) atomunun birleşmesinden meydana gelen NO radikalinde paylaşılmamış elektron aslında azot atomuna ait ise de; bu elektron hem azot hem de oksijen atomları üzerinde lokalize şekilde bulunur.^{14,43,44} NO radikalının bu özelliği kendi reaktivitesini baskılayıp, stabilitesini artırır ve biyolojik koşullarda sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere difüzyonunu kolaylaştırır.^{14,43} Bu özelliklerinden dolayı NO, ideal bir haberci moleküldür.⁴³

2.3.1. Nitrik Oksitin Sentezi ve İnhibisyonu

NO dokularda, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan enzim ailesi tarafından, bir aminoasit olan L-argininden sentezlenir (L-arginin → NO+ L-sitrulin). Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ve kofaktöre ihtiyaç duyulur.^{15,43,47,48}

İnsanlarda NOS'un üç izoformu tanımlanmıştır; bunlar, endotelyal (eNOS), nöronal (nNOS) ve makrofajlardaki indüklenebilir NOS (iNOS)'dur.^{15,44,49-51}

NOS izoformları fonksiyonel olarak düzenlenme tarzları ile ayırt edilirler. NOS'un kalsiyum (Ca^{2+}) bağımlı izoformları olan nNOS ve eNOS, Ca^{2+} 'nın hücre içinde artması ile uyarılarak aktiveleşir. Buna karşın Ca^{2+} 'dan bağımsız NOS (iNOS), hücre içinde Ca^{2+} 'nın düşük seviyelerinde bile yapısal olarak aktiftir.^{12,43,48}

eNOS, vazodilatasyon, sinir iletimi, trombosit ve lökosit adezyonu, endotel yüzeyinin tromborezistan özellik kazanması gibi fizyolojik fonksiyonlar için, aralıklarla çok küçük miktarlarda NO üretir. eNOS'un sinir sistemine karakteristik tipi nNOS olarak adlandırılır.⁴⁴

iNOS daha uzun süreli uyarılıp büyük miktarlarda NO üretir. Kofaktör olarak tetrahidrobiyoproteine ihtiyaç duyar. Bu enzim sitokinlerin uyarısı sonucu, birkaç saat sonra başlayan ve günlerce süren nanomol düzeylerde NO sentezler. eNOS ve nNOS dokularda bol bulunurken, iNOS sadece iltihaplı dokularda bulunur.¹²

NO'nun üretilmesi için gerekli olan L-arginin/NO yolu, L-arginin analogları ve L-arginin'in guanidium kısmına benzeyen, bir çok amino asit bileşkesi tarafından inhibe edilir. NOS'u inhibe eden bir diğer madde grubu da glukokortikoidlerdir. Tüm izoformlara etki eden bu inhibitörlerin izoformlar arasında kısmen de olsa seçicilikleri vardır.^{14,48}

Bazı deneysel ve klinik kanıtlar, NO sentez inhibisyonunun bazı hastalıkların tedavisinde klinik olarak yararlı olabileceğini göstermektedir.¹⁵

iNOS'un selektif inhibisyonu, şok ve enflamasyonun çeşitli formlarında yararlı olurken, nNOS inhibisyonu sinir hasarına karşı koruyabilir. Çalışmalardan elde edilen veriler, lokal doku patolojisinin ortaya çıkmasında NOS izoformlarının farklı rolleri olduğunu göstermektedir. Nonspesifik NOS inhibitörleri ile NO üretiminin inhibisyonu, eroziv artrit bulgu ve semptomlarını azaltarak çarpıcı terapötik yarar sağlayabilir. Bunun aksine iNOS'un N-iminoetil-L-lysine ile selektif hedeflenmesi sinoviyal enflamasyonun alevlenmesi ve eklem yapılarının yıkılmasıyla sonuçlanır.¹⁵

2.3.2 Yara İyileşmesinde Nitrik Oksit

NO'nun yara iyileşmesi sırasında sentezlenmesinin ve NO sentez inhibisyonunun yara iyileşmesini bozduğunun keşfedilmesinden sonra, NO ile iyileşme sonucu arasında bir korelasyon olup olmadığını araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Fakat yara iyileşmesinde NO'nun etki mekanizması belirsizliğini sürdürmektedir. Ancak yara iyileşmesinde NO'nun etkilerinin bazılarını sistemik yol aracılığı ile yaptığı bilinmektedir. Bunlar;^{13,45}

1- Arginin'den yoksun beslenme LPS ile indüklenen NO sentezini yalnızca yara bölgesinde değil bir kaç organda inhibe eder.

2- NO enflamasyonun indüklediği ödem formasyonuna aracılık eder ve granülomaların içine doğru hücre infiltrasyonunu inhibe eder.

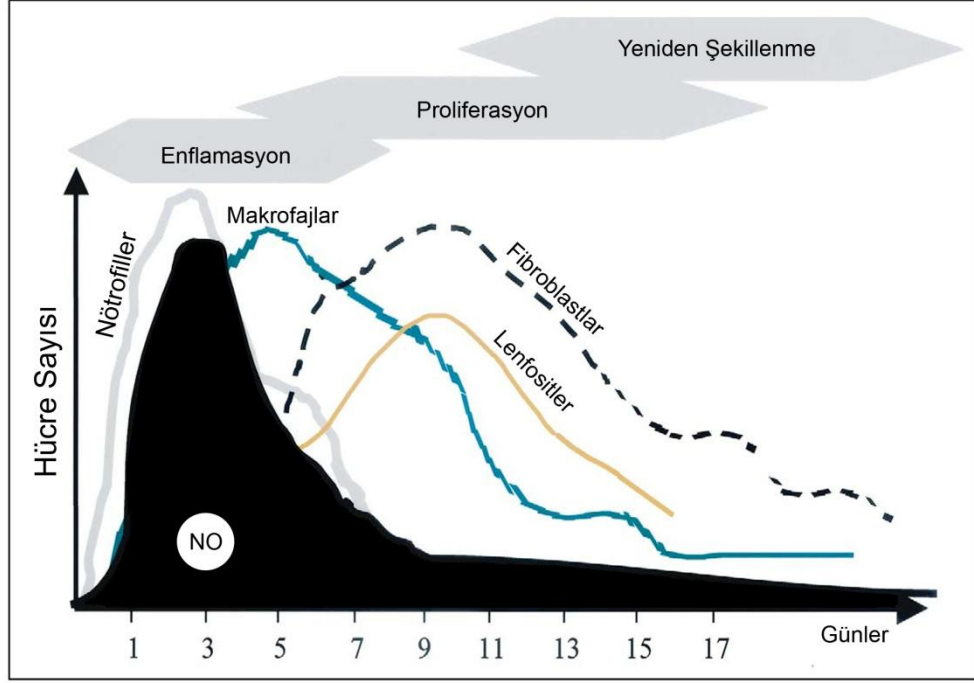
3- NO'nun yara iyileşmesi üzerindeki etkisi yalnızca iNOS aracılığıyla olmayıp, eNOS'u alınmış farelerde de iyileşmede bozukluk görülür.

4- iNOS inhibitörlerinin yüksek konsantrasyonları öldürücüdür.^{13,45}

NO sentezinin büyük bir kısmının iyileşmenin erken fazında mevcut enflamatuvar hücrelerden, özellikle makrofajlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.⁴⁵ Makrofajlarda NO sentezlenmesi, bakteriyel enfeksiyonlara ilk yanıtıdır.^{43,52} Makrofajların NO ile birlikte salınan süperoksitin NO ile etkileşerek peroksinitrit oluşturduğu ve bunun da sitotoksik etkilerden sorumlu olabileceği bildirilmektedir.^{44,48} Makrofajların yanısıra fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleri, devam eden NO sentezine daha düşük ölçüde katkıda bulunur (Şekil 3).⁴⁵

Kollajen sentezi, yara iyileşmesi sırasında NO sentezi ile korelasyon gösterir. iNOS inhibisyonu matriks sentezini bozarken, NO verilmesi ve iNOS transferi matriks sentezini arttırır.⁴⁵

Yara kontraksiyonu açık yaraların kapanmasına önemli katkıda bulunur. iNOS inhibisyonu eksizyon yaralarında kapanmayı geciktirir.⁴⁵



Şekil 3: Yara iyileşmesi fazları ve yarada nitrik oksit üretimi⁴⁵

Büyüme faktörlerinin organize salınmasıyla ilerleyen yara iyileşmesinde, NO'nun büyüme faktörü veya sitokin salınımını direkt olarak aktive edip etmediği konusu açıklığa kavuşmamıştır. Argininin travma sonrası TNF- α 'yı *down-regüle* ederek sonucu etkilediği bilinmektedir. TGF- β ve epidermal büyüme faktörü (EGF) direkt ve dolaylı olarak NO'yu ya da NO'nun aracılık ettiği etkileri *down-regüle* eder.⁴⁵

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, iNOS gen ekspresyonunun yokluğunun yara sitokin ekspresyonunu değiştirip değiştirmediği incelenmiştir. Non izotopik in situ hibridizasyon kantitatif analizi kullanılarak insizyonel yaralarda eNOS, bFGF, TGF- β 1, TNF- α , VEGF ve IL-4 ekspresyonu incelenmiştir. Doğal durumdaki farelerle iNOS'u olmayan fareler bu yönden karşılaştırılmışlardır. iNOS' u olmayan farelerdeki insizyonlarda eNOS ve bFGF ekspresyonu neredeyse 2 kat

artmıştır ve bu artış daha sonra da 2 ile 3 kat düzeyine çıkarak bu şekilde devam etmiştir. TGF- β 1 ekspresyonu iNOS'u olmayan farelerdeki insizyonlarda yaklaşık %50-100 artmıştır. Oysa VEGF ve IL-4 ekspresyonu doğal farelerde iNOS'u olmayanlara kıyasla %25-100 artmıştır. Most ve Barbul'a göre TGF- β 1 ve eNOS'daki artış iNOS'u olmayan farelerde fonksiyonel iNOS kaybını telafi etmeye yönelik bir mekanizma olabilir. VEGF ve IL-4 ekspresyonundaki yetersizlik ise bu hayvanlardaki gecikmiş yara iyileşmesini kısmen açıklayabilir.⁵³

2.3.3. Nitrik Oksit ve Diyabet

Yara iyileşmesi sırasında NO sentezlendiğinin ve NO üretiminin inhibisyonunun yara iyileşmesini bozduğunun keşfedilmesinden sonra, NO ile iyileşme sonucu arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak hedeflenmiştir. Bu ilişkiyi araştırmak için metabolizma bozukluğu olan organizmalarda çeşitli yara modelleri oluşturulmuştur.⁴⁵

Diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda yara ortamında NO metabolitlerinin oluşumunda azalma olduğu gözlenmiştir. Bunun, diyabete özgü olan enflamatuvar cevaptaki azalmadan mı, yoksa tüm yara hücrelerinde NO oluşumundaki azalmadan mı kaynaklandığı açık değildir. L-arginin'in yanı sıra NO donörleri, diyabetteki iyileşme bozukluğunu kısmen düzeltebilir ve buna paralel olarak yara NO seviyelerini daha normal değerlere getirebilir.⁴⁵

Diyabetin kronik komplikasyonlarından olan vasküler lezyonların gelişmesinden kısmen de olsa NO yetersizliğinin sorumlu

olduğu söylenebilir. Mikroanjyopatide azalmış NO konsantrasyonuna bağlı olarak arter genişlemesinin azaldığı birçok araştırmayla gösterilmiştir. Önceleri fonksiyonu bozulan endotelin tek başına azalan NO'dan sorumlu olduğu düşünölmekteydi. Son araştırmalarda azalan NO'ya ilave olarak, diyabetik hastalarda artan süperoksit radikallerinin NO'nun büyük bir kısmını bloke ettiği tespit edilmiştir.⁴³

2.4. Vasköler Endotelial Büyüme Faktörü

Vasköler endotelial hücreler için oldukça spesifik, mitojenik bir faktör olan VEGF,⁵⁴⁻⁵⁷ anjiyogenez ve vaskölogenezin doku gelişimi ve organ tamir işlemlerinde de rol oynayan hayati bir moleküldür.^{57,58} Başka bir deyişle VEGF endotel hücreleri için bir sağ kalım faktörüdür. Mikrovasköler geçirgenliğin artmasına sebep olan bu faktör, aynı zamanda güçlü bir vazodilatördür.⁵⁶⁻⁵⁸

VEGF, homodimerik, heparin-bağlayan glukoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır.^{55,59} Üzerinde çok fazla sayıda çalışma yapılmış temel büyüme faktörü olan VEGF-A; VEGF-A, B, C, D, E ve plasental büyüme faktörünü (PLGF) içeren ailenin bir parçasıdır. VEGF-A, B, D, E ve PLGF anjiyogenezi etkilerken, VEGF-C lenfatik damarları etkiler. VEGF olarak adlandırdığımız VEGF-A'nın çeşitli insan izoformları vardır.⁵⁸ Aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 ve VEGF206 gibi izoformları bulunan^{16,59} VEGF, biyolojik aktivitesini endotel hücreleri üzerindeki VEGF-R1 ve VEGF-R2 ile lenf damarları üzerindeki VEGF-R3 adlı üç reseptörü ile gerçekteştir.⁵⁷⁻⁵⁹ VEGF reseptörlerinin aktivasyonu bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve

diferansiyasyonunu sağlar.⁵⁹ Endotel hücreleri üzerindeki bu etkilerinin yanı sıra VEGF; embriyo gelişimi, tümör büyümesi ve özellikle yara iyileşmesi gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik neovasküler olaylarla da ilişkilidir.¹⁶

2.4.1. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü ve Diyabetik Yara İyileşmesi

Diyabet hastalarında kötü yara iyileşmesi, VEGF üretimindeki azalmayla ilişkilidir.⁵⁸

Lerman ve arkadaşları⁶⁰ yapmış oldukları bir çalışmada diyabetli farelerden alınan fibroblastların fonksiyonlarında bozukluk olduğunu göstermişlerdir. Bu bozukluklar, hücre migrasyonunda bozulma, aşırı MMP-9 ekspresyonu ve diyabetik fibroblastların başlangıçta ya da hipoksiye yanıt olarak normal seviyelerde VEGF üretememelerini içerir. Bu da hücrelerin uzun süreli hiperglisemi karşısında en azından VEGF üretimi yönünden kalıcı bir değişime uğradığını düşündürmektedir.⁶⁰

Maruyama ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada, normal fonksiyonu olan aktive makrofajların yara iyileşmesinde önemli olduğu ve enflamasyon düzeldiğinde gerileyen geçici lenfatik damarların oluşumuna katıldığı gösterilmiştir.⁶¹ Normal iyileşmedeki akut enflamatuvar fazdan farklı olarak diyabetlilerde aktive makrofajların sayısını azaltan, fonksiyonunu bozan ve VEGF seviyelerinde azalmaya yol açan kronik orta derecede enflamasyon vardır, bu durum lenfatik damarların oluşumunda başarısızlık ile sonuçlanır.⁶⁰ Makrofaj sayısının normalin altına inmesiyle

birlikte görülen VEGFR3, VEGF-C ve VEGF-A ekspresyonundaki azalma, lenfatik damar oluşumunda da azalmaya yol açarak yara iyileşmesindeki bozulmaya katkıda bulunabilir.⁶¹

VEGF üretiminde azalma, anjiyogenezde bozulmaya, endotelial progenitör hücrelerin disfonksiyonuna ve daha az trombosit oluşumuna yol açar, granülasyon dokusu oluşumunu daha da azaltır, bu durum da yara iyileşme alanlarında VEGF sekresyonunu azaltır.⁵⁸

Hipertansiyon, proteinüri, kardiyovasküler problemlerde artış ve yara iyileşmesinde bozulma VEGF'nin sistemik inhibisyonunun potansiyel sonuçlarıdır ve bu, özellikle diyabetli popülasyonda endişe vericidir.⁵⁸

2.4.2. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Nitrik Oksit

Anjiyogenezin VEGF-bağımlı bir mediyatörü olan NO, VEGF'nin NO sentaz enzimi üzerindeki uyarıcı etkisi sonucu oluşarak endotel hücre migrasyonunda rol alır.⁵⁹

Yapılan bazı çalışmalarda, NO' nun anjiyogenezin yanı sıra VEGF' nin indüklediği damarsal geçirgenlikteki hayati rolü vurgulanmıştır. NO, diyabette artmış damarsal geçirgenliğin de önemli bir mediyatörüdür. VEGF'nin NO artışı üzerindeki etkisi, damar tonusu ve damar dilatasyonundaki değişimle sonuçlanır ve sistemik anti-VEGF tedavisi

alan kanser hastalarında NO inhibisyonunu ve vazokonstriksiyon sonucunda görülen hipertansiyon artışını açıklayabilir.⁵⁸

Nakagawa ve arkadaşları⁶² yapmış oldukları bir çalışmada, hayvan modellerinde yüksek glukoz seviyelerinin VEGF ve NO'nun ayrılmasıyla sonuçlandığını göstermişlerdir. Bu sonuca göre diyabetik vaskülopatide neovaskülarizasyon için yeni bir mekanizma önermişlerdir. Buna göre VEGF'nin endotel NO üretimi ile ilişkisi bir otheregülasyon mekanizması sağlar. Bu mekanizmada NO üretimi geri besleme yoluyla VEGF'nin stimüle ettiği endotel hücre proliferasyonunu kontrol eder. Diyabette olduğu gibi bu süreç bozulduğunda, VEGF ekspresyonu artar ve VEGF'ye endotel proliferatif yanıt da artar; böylece aşırı endotel proliferasyonu oluşur. Bu şekilde VEGF sağlıklı anjiyogenezde rol oynamak yerine diyabetik, vasküler ve renal hastalığı olan hastalarda görülen düzensiz anjiyogenez sürecinin bir parçası olur.⁶²

2.5. Kriyocerrahi

“Kriyocerrahi”, “kriyojenik cerrahi”, “kriyoablasyon” ya da “kriyokoagülasyon” olarak adlandırılan bu yöntem, spesifik etki oluşturmak amacıyla, dondurucu ısı dereceleri kullanılarak, lokal doku hasarı oluşturulmasını sağlayan bir tedavi metodudur.⁶³⁻⁶⁵

Soğğun tıpta terapötik amaçla kullanılması, özellikle anestezi etkileri yönünden, uzun süredir bilinmektedir. Kriyocerrahi cihazlarında son yüzyıl içinde büyük gelişme kaydedilmiş olmakla birlikte, MÖ 2500 yıllarında Mısırlıların soğuk kompresleri kompaund kafa

kırıklarında, göğüs yaralanmalarında ve enflamasyonun tedavisinde kullandığı bilinmektedir.^{63,65,66}

Kriyocerrahinin gelişimi, düşük ısı fiziği ve mühendisliğindeki gelişmelere paralel gerçekleşmiştir. Schreuder'in araştırmaları -100°C ' den daha düşük ısıların hücre ölümünü indükleyebileceği gerçeğini desteklemiştir. Bugün kriyocerrahinin temel amacı, son derece düşük ısıların uygulanmasıyla benign ve malign neoplazmlar gibi hastalıklı dokuların tahrip edilmesidir.⁶⁶

Kriyocerrahide etkili soğğun elde edilmesinde kullanılan ajanlara "kriyojen" denir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan kriyojenler, Etil Klorit, Freon^R 114, Freon^R 12, Freon^R 22, Karbondioksit, Nitroz oksit ve Likit nitrojen (sıvı azot)' dir. Dermatoloji, genel cerrahi, kulak burun boğaz, plastik cerrahi, nörocerrahi, üroloji, jinekoloji ve ağız cerrahisinde en çok tercih edilen kriyojen, en iyi soğuyan ve en geniş hacimde destrüksiyon oluşturan sıvı nitrojendir.^{64,65,67,68}

2.5.1. Kriyocerrahi Teknikleri

Kriyojenlerin dokuya uygulanmasında açık ve kapalı olmak üzere iki sistem kullanılmaktadır.^{65,69}

1- Açık sistem: Yüzeysel lezyonlarda sık tercih edilen bir sistemdir. Bu sistemde kullanılan kriyojenler, sıvı nitrojen (-191°C), nitroz oksit (-81°C) ve karbondioksit (-79°C)' dir (K6). Likit nitrojen, en soğuk ve

etkili kriyojen olduğu için sık kullanılır. Bu uygulama iki şekilde yapılmaktadır. Birincisi, çok ince çubukların üzerine sarılan pamukların direkt olarak likit nitrojene batırılması ve lezyon üzerine uygulanması ile gerçekleştirilir. Likit nitrojen oda sıcaklığında pamuktan hızla buharlaşır, bundan dolayı çok sayıda uygulama yapmayı gerektirir. Açık sistemde ikinci yöntem, bu amaçla geliştirilmiş olan likit nitrojen sprelerinin direkt olarak lezyon üzerine sıkılması ile soğuk uygulamasıdır. Açık sistem ekstra alet gerektirmeyen ve kolay uygulanabilen bir tekniktir. Hastalar tarafından daha kolay kabul görür. Zamandan tasarruf sağlar, sütür gerektirmez ve çoğu vakada lokal anesteziye ihtiyaç duyulmaz.^{65,69}

2- Kapalı Sistem: Daha derin lezyonlarda kullanılan kapalı teknikte kriyojenin lezyonla direkt ilişkisi yoktur. Kapalı sistem karmaşık ve hassas bir aparatın kullanımını içerir. Dondurma işlemi probun dokuyla temas etmesi yoluyla gerçekleştirilir. Bu sistem içinde bulunan kriyojen düşük ısını sistemdeki proba verir. Probu ucu iyi iletken bir metalden yapılmış olup, kriyojenin tüm ısını lezyon üzerine iletir. Kapalı sistemde uygulanan bölgede daha keskin sınırlı bir bölgenin donması ve nekrozu sağlanır. Donma merkezi bir odaktan düzgün bir şekilde yayılır. Çoğu çalışmacı daha fazla kontrol sağlamasından ötürü kapalı sistemi tercih eder.^{65,69}

Bu sistemde kullanılan ekipman, kriyojen bir madde ve bunu uygulayacak aksesuarlardan oluşur.⁶⁴ Kapalı kriyocerrahi sisteminin beş ana bölümü vardır. Bunlar;

- Kriyojen silindiri
- Basınç subabı

- Kriyojen
- Kriyotabanca
- Kriyoprob ve uçları⁶⁵

2.5.2. Düşük Isının Dokularda Oluşturduğu Etkiler

Kriyocerrahi sırasında dokularda oluşan biyolojik değişiklikler, doku ısısının dondurma işlemi ile azaltılmasına bağlıdır.^{64,68} Isının düşürülmesiyle hücre membranlarındaki ve mitokondrilerdeki lipid-protein kompleksleri bozulmaya başlar.^{65,68} Eğer bu süreç yeterince uzun sürerse hücre hipotermiden o kadar olumsuz etkilenir ki hücre donma ısılarına maruz kalmamış olsa bile hücre ölümü gerçekleşebilir.⁶⁸

Dokuda oluşan biyolojik süreçler dört aşamadan oluşmaktadır:

1. İntrasellüler ve ekstrasellüler buz oluşumu
2. Vasküler faz
3. İmmünolojik faz
4. Tamir fazı⁶⁴

Isı donma ısısına doğru düştükçe su kristalize olur ve süreç devam ettikçe buz kristalleri büyür, hücreler büzülür ve membranlarla birlikte hücre organelleri tahrip olur. Soğuk yeterli süre uygulandığında, artan elektrolit konsantrasyonu hücreleri yok etmeye yeterlidir. Hücre dehidrasyonunun ve çözünen madde konsantrasyonunun zararlı etkileri

her zaman hücreler için öldürücü değildir; fakat intrasellüler buz oluşumu hücre canlılığı için ciddi bir tehdittir hemen hemen her zaman öldürücüdür.^{65,68}

Soğuma arttıkça hücre içinde buz kristalleri oluşabilir. Bir çok hücre -15°C 'de buz kristalleri içerebilir; fakat intrasellüler buz oluşumu -40°C ' den daha soğuk derecelere ulaşılmasını gerektirir. İntrasellüler buz kristal oluşumunun, suyun hücrelerden ayrılmasına zaman bırakmayan çok hızlı soğuma durumunda görülmesi daha muhtemeldir ve bu durumun hücreler için öldürücü olduğu kabul edilir. İntrasellüler buz oluşuktan sonra organeller ve hücre membranları bozulur ve hücre ölümü hemen hemen kesinleşir.^{65,68}

Erime sırasında buz kristalleri bir araya gelip büyük kristaller oluştururlar. Bu süreç rekristalizasyon olarak adlandırılır ve -40°C 'den daha yüksek ısılarda, özellikle $-20-25^{\circ}\text{C}$ 'de meydana gelir. Tam erimeden sonra önceden donmuş doku dakikalarca hipotermik kalır ve hasar görmüş dokuda bu zaman boyunca metabolik bozulma devam eder.⁶⁸

Dolaşım kaybı ve hücre sel anoksi sıklıkla kriyocerrahideki temel hasar mekanizması olarak kabul edilir. İn vivo deneysel çalışmalar, donmuş doku çözüldükten sonra küçük damarlarda hızla staz geliştiğini göstermiştir. Vasküler staz, kriyocerrahi tedavisi sırasında dolaşım da oluşan dizi değişikliğin sonucudur.⁶⁸

Dokunun soğumasına ilk yanıt, vazokonstriksiyon ve kan akımında bir azalmadır. Donmayla dolaşım durur. Doku çözüldükçe ve ısı

sıfır derecenin üzerine çıktıkça, dolaşım yeniden başlar ve vazodilatasyon gerçekleşir. Hiperemik yanıt kısadır ve birkaç dakika içinde damarsal geçirgenlikte artış oluşur. Ödem gelişir ve bir kaç saat boyunca artar. Endotel hasarı kapiller duvarın permeabilitesinde artış, ödem, trombosit agregasyonu ve mikro trombüs oluşumu ile sonuçlanır, bu da yaklaşık 30-45 dakika içinde dolaşımın durgunlaşmasıyla sonuçlanır. Bir çok küçük kan damarları erimedenden 4 saat sonra trombüslerle tamamen tıkanır. Büyük arteriyoller 24 saat kadar açık kalabilir. Kanla beslenmesinin durması hücrelerin sağ kalım olasılığını ortadan kaldırır ve dokuların homojen nekrozu ile sonuçlanır.^{64,68}

Kriyocerrahi diğer cerrahi yöntemlerden farklı olarak dokularda immünolojik değişikliklere yol açmaktadır.⁶⁴ Ortaya çıkan immün reaksiyon;

1. Normal hücre yapısında mevcut olan antijenik maddelerin, hücrenin soğuk tesiri ile parçalandıktan sonra serbest hale geçmesi,
2. Donmanın moleküler yapıda bir değişim meydana getirmesinden doğar.⁶⁵

Fareler üzerinde yapılan çalışmalar, kriyocerrahinin Langerhans hücrelerinin morfoloji ve yoğunluğunu değiştirdiğini göstermiştir.⁶⁴

2.5.3. Donma-Erime Siklusu

Donma-erime siklusunda; soğuma hızı, doku ısısı, dondurma süresi, erime hızı, donma-erime siklusunun tekrarlanması ve donma-erime siklusları arasındaki süre önemli faktörlerdir.⁶⁸

2.5.3.1. Soğuma Hızı

Kriyobiolojik çalışmalarda hızlı soğutmanın daha yıkıcı olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle kriyocerrahide öldürücü intrasellüler buz oluşturmak için soğutma hızı mümkün olduğu kadar yüksek tutulur. İntrasellüler buz oluşturmak için gereken soğutma hızı dokudan dokuya değişiklik göstermektedir. Bu nedenle hücre sağ kalımının belirlenmesinde soğuma hızının primer faktör olmadığı savunulmaktadır.⁶⁸

2.5.3.2.Doku Isısı

Hücrelerin ölmesi için gereken doku ısısı, hücre tipine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, kas hücreleri ve melanositler dondurmaya karşı çok duyarlıdır ama keratinositler dondurucu ısılarla dirençlidirler. Yapılan deneylerde elde edilen veriler değerlendirildiğinde, tek donma-erime siklusunda hücre ölümü için -40°C ilâ -50°C'nin kritik olduğu düşünülebilir.^{64,68}

2.5.3.3. Dondurma Süresi

Optimal dondurma süresi kesin olarak bilinmeyip bu konuda fikir ayrılıkları vardır. Köpek derisinde ve damak mukozasında yapılan çalışmalarda, dokunun hızla -30°C ' de dondurulup erimesi ile elde edilen sonuçlarla, dokunun -30°C ' de 3 dakika tutulması sonucu elde edilen veriler karşılaştırılmış ve sonuçta dondurmanın uzatılmasıyla yıkıcı etkilerin arttığı gözlenmiştir. Dondurma süresinin uzatılmasının yıkıcı etkide oluşturduğu artış hamster yanağında yapılan deneylerde de gösterilmiştir. Ancak tüm bu bulgular göz önüne alındığında, eğer doku -50°C ' den daha soğuk ısılarda tutulursa, sürenin öneminin ortadan kalktığı görülmektedir.⁶⁸

2.5.3.4. Erime Hızı

Yavaş erimenin en önemli yıkıcı faktör olduğu bilinmektedir. Hızla erime hücre sağ kalımını arttırdığı için erime süresi hızlandırılmamalıdır. Hücrelerdeki yıkıcı ultrasitrüktürel değişiklikler dondurmanın tekrarlanmasıyla artar. İkinci dondurma siklusunda oluşan intrasellüler buz kristalleri daha büyüktür. Deneyler, yavaş erimenin hızlı soğutmadan daha önemli bir hücre ölümü mekanizması olduğunu göstermiştir.^{64,68}

2.5.3.5. Donma-Erime Siklusunun Tekrarlanması

Siklusların tekrarlanması daha geniş ve daha kesin doku yıkımı oluşturur. Birbirini izleyen her siklуста dokunun soğuması daha hızlı olur, donmuş doku volümü artar ve kesin yıkımın sınırları donmuş volümün periferine daha çok yaklaşır. Donma-erime siklusunun tekrarlanması, oluşan nekrozu önemli derecede artırır. Böylece nekrozun daha önce donan volümün yaklaşık %80' ini içermesi beklenebilir.⁶⁸

2.5.3.6. Donma-Erime Siklusları Arasındaki Süre

Donme-erime siklusları arasındaki süre üzerinde çok durulmamakla birlikte bu, önemli bir faktördür. Daha uzun erime dönemi, ozmotik hasar oluşması için daha çok zaman verir. İkinci siklustan önceki aralığı uzatmak, dokuyu bir süre hipotermik durumda tutar. Aralık ne kadar uzun olursa, mikrosirkülasyon olmayacağından, alana gelen ısı azalır ve ikinci dondurma siklusu daha etkili olur.⁶⁸

2.5.4.Klinik Uygulamada Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Kriyocerrahi tekniğinin temel özellikleri, hızla öldürücü ısıya kadar soğutma, yavaş erime ve donma-erime siklusunun tekrarlanmasıdır. Prob mümkün olduğu kadar soğuk kullanılmalıdır. Probun dondurma kapasitesi, probun ısısına, dondurulacak yüzey alanına ve probun termal iletkenliğine bağlıdır. Kriyojenin ve prob boyutunun seçimi önemlidir. Prob ne kadar soğuksa ve ne kadar büyükse, donacak doku volümü o kadar

büyük olur. Örneğin, sıvı nitrojen kullanan 3-4 mm' lik bir prob, dakikada 50 °C'lik bir hızla, prob yüzey ısı -175 °C' ye gelene kadar soğursa, 20 dakikada, çapı 4 cm olan bir donmuş volüm oluşturur. Bunun yanısıra, 8 mm'lik bir prob, dakikada 100 °C'lik bir hızla, -190 °C'ye kadar soğursa, 20 dakikada, çapı 7 cm olan donmuş volüm oluşturur.⁶⁸

2.5.5. Kriyocerrahinin Endikasyonları

- Hemanjiyom gibi kanama kontrolünün güç olduğu vasküler anomalilerde,^{64,65}
 - Benign lezyonlarda,^{64-67,69,70}
 - Malign lezyonlarda,^{64-67,70}
 - Liken planus ve lökoplaki gibi atipik epitelyal oluşumlar ve prekanseröz lezyonlarda,^{65,67}
 - Herpes lezyonları ve kaposi sarkomu gibi viral lezyonlarda,^{64,65,67}
 - Keloid tedavisinde,^{64,71}
 - Piyojenik granülom, diskoid lupus eritematozis gibi enflamatuvar lezyonlarda,⁶⁵
 - Trigeminal nevraljide,^{72,65} kriyocerrahi kullanımı endikedir.

2.5.6. Kriyocerrahinin Kontrendikasyonları

- Soğuk ürtikerinde,
- Soğuk intoleransında,
- Kriyoglobulinemide,

- Sınırları belirsiz tümörlerde,
- Alt ekstremitelerinde belirgin ateroskleroza olan hastalarda kriyocerrahinin kullanımı kontrendikedir.⁶⁴

2.5.7. Kriyocerrahinin Avantajları

- Operasyon süresi kısadır.^{65,71}
 - Ucuz bir tedavi yöntemidir.^{64,71}
 - Çalışma hayatını ve spor aktivitelerini engellemez.⁶⁴
 - Ağrısız bir tekniktir ve genellikle anesteziye gerek duyulmaz.^{65,71}
 - Kanama yoktur.^{65,71}
 - Cerrahi kapatmaya gerek yoktur. İnsizyon yarası oluşmadığından sütür işlemine gerek duyulmaz.^{65,69}
 - Kozmetik sonuçları iyidir. İnsizyon yarasında skar kalırken, kriyocerrahide genellikle skar oluşmaz.^{65,71}
 - Konvansiyonel sistemlere göre kriyocerrahide hastanede geçirilen zaman kısadır.⁷¹
 - Tümör cerrahisinde kullanılması hızlı ve kolaydır.⁷¹
- Tümörlerin tedavisinde diğer tedavi yöntemleri (kemoterapi, radyoterapi) ile birlikte kullanılabilir.⁶⁵
- Cerrahi müdahalenin riskli olduğu (*pace-maker*lı hastalar, oral antikoagülan kullanan hastalar, kan yolu ile bulaşabilen enfeksiyonu olan) hastalar ve aşırı cerrahi anksiyetesi olan hastalarda kullanılabilir.⁶⁴

2.5.8. Kriyocerrahinin Dezavantajları

- Genellikle yüzeysel lezyonlarda kullanılabilir.
- Dokuların yoğunluğuna göre etkinliği farklıdır.
- Yaranın iyileşmesi normal yara iyileşmesinden daha uzun sürer.
- Prob ucu 3.5 cm' den geniş lezyonlara uygulanamaz.⁶⁵

2.6. Elektrocerrahi

Diş hekimliğinde çalışılan bölgenin darlığı, yapılacak cerrahi işlemlerin sınırlarını ve zorluk derecesini belirleyen en önemli faktörlerden birisidir. Damarlardan zengin olan bu bölgede, çalışılan alanın sürekli kanamalarla görünmez hale gelmesi, basit müdahalelerde bile hekimin zorlanmasına sebep olur. Klasik bistüri yerine geliştirilen elektrokoter, bu problemlerin aşılması için iyi bir seçenek olmuştur.¹

Elektrocerrahi, elektrik enerjisini dokuda ısı enerjisine dönüştürerek doku yıkımı sağlayan bir cerrahi yöntemdir. Bu uygulamada hasta akımla doğrudan karşılaşmakta, hatta devrenin bir parçası olmaktadır. Bir metalin elektrik enerjisi ile ısıtılarak bununla dokunun dağlanması gerçek anlamda “elektrokoterizasyon” sözcüğünün tam karşılığıdır. Dokuda ısınan metalden doğrudan ısı enerjisi aktarılarak dokuda hücre içi sıvı buharlaşması ve hücre kömürleşmesiyle yıkım ortaya çıkmaktadır. Kullanım alanı elektrocerrahi ile aynıdır.^{73,74}

Elektrocerrahi aletlerinin iki elektrotu vardır. Biri ince uçlu olup, aktif elektrottur, diğeri ise geniş plak şeklindedir. Uygulama tek elektrotla yapılırsa buna monopolar (Oudin tip), çift elektrotla yapılırsa bipolar veya dipolar adı verilir. Bu tip uygulamalarda doku yıkımının mekanizması kesin belli değildir. Birkaç şekilde açıklanır. Bunlardan biri hücre içi sıvının buharlaşarak hücreleri parçalamasıdır. Bu, daha çok yüksek frekanslı akım ile ortaya çıkar. Daha düşük frekanslı akımlarda ise enerji daha geniş alana yayılarak hücre proteinlerinin denatüre olmasına yol açar. Hücre sıvıları yok olup amorf bir kitle ortaya çıkar. Kan damarları tromboze olup koagülasyon gelişir. Çok yüksek frekanslı akımlarda ise kömürleşme görülür.⁷⁴

2.6.1. Elektrocerrahi Teknikleri

Doku yıkımı derecesi hangi tip uygulama olursa olsun, verilen akımın gücü, uygulamanın süresi, elektrotun büyüklüğü ve dokunun nem derecesi ile ilgilidir. Elektrocerrahi uygulamaları monopolar olarak elektrodosikasyon ve elektrofulgarasyon, bipolar olarak ise elektrokoagülasyon ve elektroseksiyon şeklinde uygulanır.⁷⁴

2.6.1.1. Elektrodosikasyon ve Elektrofulgarasyon

Hücreleri kurutarak yüzeysel bir yıkıma neden olur. Yüksek voltajlı, düşük amperli olan bu işlem sırasında tek aktif elektrot kullanımından dolayı hasta elektrik devresi dışında kalır.^{73,74} Uygulanan akım aynı olup yalnızca uygulama şekli farklıdır. Elektrofulgarasyonda elektrot dokuya değdirilmeden, belirli bir uzaklıktan tutularak akım verilir.

Lezyon elektrik akımının oluşturduğu kıvılcım ile yakılır.^{73,74} Bu uygulama sırasında çevrede yanıcı ve parlayıcı (eter gibi) maddelerin kesinlikle bulunmaması gerekir.⁷⁴ Elektrodesikasyonda ise elektrot dokuya değdirilir veya içine batırılır, kıvılcımlanma olmaz. Doku yıkımı her ikisinde de yüzeyledir. Üst tabakalarda hızla kömürleşme olduğundan akım alt dokulara geçmez. Yıkıma uğrayan dokular küretle kazınarak zemin görülür ve tedavinin sürdürülüp sürdürülemeyeceğine karar verilir.^{74,75} Yüzeysel etkili ve kanamayı iyi durdurması sebebiyle, hemanjiyom, lenfanjiyom ve yüzeysel lezyonların tedavisinde kullanılır.⁷³

2.6.1.2. Elektrokoagülasyon

İki kutuplu olarak uygulanır. Hasta akım devresinin bir parçasıdır. Kullanılan akım tek kutuplulara oranla daha düşüktür. Dokuda hızlı ve derin bir etki yaparak geniş bir yıkım alanı oluşturur. Büyük kitleler için uygundur. Bir diğer iyi yanı da nemli ortamda çalışabilmesidir. Buna karşılık koagülasyon yapabilmek için tek kutuplu uygulamalardan daha yüksek ısıya ihtiyaç vardır, bu doku yıkımının da artması demektir. Elektrotun biri pasif elektrot olup, geniş madeni bir levha şeklindedir. Küçük olan aktif uç ise iğne, bıçak, topuz, daire, halka biçimlerinde olabilir. Büyük elektrot genellikle hastaların gluteal bölgesine konur ve küçük elektrot lezyona değdirilerek veya batırılarak akım verilir.⁷⁴

2.6.1.3. Elektroseksiyon

Sürekli akım şeklinde ve iki kutuplu olarak uygulanır. Aktif elektrot bıçak veya iğne şeklinde olmalıdır. Çok keskin sınırlı fakat yüksek

bir ısı sağlanır ve bu da dar alanda sınırlı bir doku yıkımı demektir. Uygulamanın amacı tam bir cerrahi eksizyon sağlamaktır. Tam reaktifite edilmiş bir akımla çabuk ve ustalıkla yapılması gerekir. Elektroseksiyon deriden büyük kitlelerin çıkarılmasında kullanılabilir.⁷⁴

2.6.2. Elektrocerrahi Uygulaması

Fazla ön hazırlık istemeyen bu işlemin kendisi antiseptik olduğu için özel bir antisepsi gerektirmez.^{73,74,76} Son zamanlarda elektrotlarla virüs taşınabildiği fark edildiği için, elektrotlar steril edilmelidir.^{74,75} Özellikle hepatit B ve AIDS taşınabilme riski açısından sterilizasyon önemlidir. Diğer etkenler için lezyonun çevresinin alkol ile temizlenmesi yeterlidir.^{73,74} Anestezi ise çok kısa süreli akımla tedavi edilebilecek küçük lezyonlarda gerekmez. Daha büyük lezyonlarda ise gereklidir.^{73,74,76} Uygulama sırasında şiddetli bir yanma duygusu ve ağrı olur. Anestezi için %0,5-1 oranında lidokain gibi bir anestetik yeterlidir.^{73,74} Anesteziden sonra lezyon ya salt elektrocerrahi yöntemlerle veya kesme ve küretaj yardımıyla yıkıma uğratılır.^{74,76} Uygulama sırasında elektrotun ucu sık sık temizlenerek doku artıkları bırakılmamalıdır. Yakma işleminden sonra lezyon zemini kazınarak koagüle madde bırakılmamaya çalışılır. Bunlar iyileşmeyi geciktirir. Yakılan yerin açık bırakılması daha uygundur. Herhangi bir özel tedavi gerektirmez, sekonder enfeksiyonu önlemek için antiseptik uygulamalar yapılabilir.^{73,74} Antibiyotik gerekli değildir.⁷³ İyileşme ortalama bir hafta ile bir ay arasında tamamlanır.^{73,74,76} Lezyonun derinliğine göre skar kalabilir.^{74,76}

2.6.3. Elektrocerrahi Kullanımında Dikkat Edilecek Hususlar

Uygulamadan önce hastaya *pace-maker* kullanıp kullanmadığı mutlaka sorulmalıdır. *Pace-maker* kullananlarda ventriküler taşikardiye neden olduğundan uygulama yapılmaz. Modern *pace-maker*larda bu sakıncanın kalktığı ve elektrocerrahi işleminden etkilenmediği bildirilmekteyse de yine de dikkatli olmak gerekir. Üzerinde durulması gereken diğer bir nokta ise işlem sırasında çıkan dumanların sigara gibi kanserojen etki yapabildiğidir. Ayrıca buharlaşan kanla bulaşıcı hastalık taşınma riski olduğundan hekimlerin maske kullanmaları yararlı olur.⁷⁴

2.6.4. Elektrocerrahinin Endikasyonları

- Gingivektomi ve gingivoplastide,
- Diş eti apselerinin açılmasında,
- Anatomik dudak ve dil bağlarının (frenilum) ve vestibüldeki derin kas ve bağ yapışmalarının düzeltilmesinde,
 - Diş çıkarma güçlüğünde, dişin etrafındaki kapşonun uzaklaştırılmasında,
 - Diş çekiminden veya diğer cerrahi müdahalelerden sonraki anormal mukoza şişliklerinin uzaklaştırılmasında,
 - Epulis operasyonlarında, hipertrofik diş eti oluşumlarının uzaklaştırılmasında,
 - Kemik düzeltmelerinde mukozayı açmak için,
 - Biyopsi alma işleminde ve tümör operasyonlarında,
 - Kist artıklarının koterize edilmesinde ve fistül ağızlarının koterizasyonunda,

- Estetik nedenle kron boyunun uzatılmasında veya statik nedenlerle köprü dayanağı olan kron boylarının uzatılmasında,
 - Köprü protezlerinde dayanak dişlerin çevresindeki büyümüş diş etini uzaklaştırmada,
 - Kron preparasyonlarında derin diş eti ceplerinin kaldırılmasında,
 - Dolgudan önce diş eti poliplerinin uzaklaştırılmasında,
 - Kapiller kanamaların kontrolünde.¹

2.6.5. Elektrocerrahinin Avantajları

- Elektrot, ucunun yanı sıra yanlarından da keser.
- Elektrot, klinik ihtiyaca göre eğilip bükülebilir.
- Araç düzgün ayarlanırsa kesiler kolay yapılır.
- Hemostaz derhal olur.
- İşlem sonrası yara neredeyse ağrısızdır.
- Yumuşak dokuda minimal travma olur.
- Ucu kendi kendini dezenfekte eder.⁷⁷

2.6.6. Elektrocerrahinin Dezavantajları

- Kesmek için anestezi gerekir.
- Elektrocerrahinin hem adı hem de kullanılması bazı hastaları korkutur.
 - Hoş olmayan bir yanmış et kokusu vardır.

- Cerrahin çalıştığı doku üzerindeki dokunma hissi zayıftır.
- Monopolar cerrahi ünitlerinden çıkan ısı onların implant civarında kullanılmasına izin vermez. Bipolar elektrocerrahi daha az ısı oluşturduğundan implant etrafında kullanılması kabul edilir.
- Kemik hasar görebilir.
- Elektocerrahi patlayıcı bir ortamda tehlikelidir.⁷⁷
- Tartışmalı olmakla birlikte elektrocerrahi kalp pillerinin etkisini bozabilir.^{77,78}
- Radyoterapi görmüş, diyabeti olan ya da kan diskrazileri olan hastalarda zayıf postoperatif iyileşme görülebilir.⁷⁷

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenen 03/2007-27 kodlu bu çalışma, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Etik Kurul

Çalışmaya başlamadan önce, 17.05.2007 tarih ve B.30.2.GÜN.O.EU.00.00/39-7900 sayılı Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alınmış ve çalışma sırasında Gazi Üniversitesi Etik Kurulu yönergelerinin 13. maddesinde belirtilen "Etik kurallara uygunluk esası" kararına uyulmuştur.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) sağlanan yaklaşık 180-230 gr ağırlığındaki Wistar cinsi, dişi albino ratlar (sıçan) kullanılmıştır.

3.2.2. Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

- Hassas terazi (AND-ER-182A, Japonya)
- Spin Vorteks (Biosan, Rusya)
- pH metre (WTW 422, Almanya)
- Mikropipetler (1000 µL) (Bt1000 Biohit, CLP, ABD)
- Glukometre (Optium, Abbott, ABD)
- İnsülin enjektörü (Hayat, Türkiye)
- 1.5 µl'lik ependorf tüpler (CLP, ABD)
- Azot tankı (GT212 EINOX Air liquide, Fransa)
- Dermatolojik amaçlı taşınabilir kriyo cihazı (Brymill, ABD)
- Filtre kağıdı (Whatman, İngiltere)
- Polylyzin lam

3.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Streptozotolin (STZ) (Sigma, ABD)
- Sodyum sitrat (Sigma, ABD)
- Alfamin (Ketamin Hidroklorür) (Pfizer, Norveç)
- Serum fizyolojik (Eczacıbaşı, Türkiye)
- Steril dH₂O (Eczacıbaşı, Türkiye)
- Sitrat tamponu (Lab Vision, ABD)

3.2.4. Kullanılan Kitler

- VEGF 500 µl of Protein A purified (Novus, ABD)
- Anti-human iNOS rabbit polyclonal (Novus, ABD)
- Universal HRP Kit (Diagnostic Biosystems Inc, ABD)
- Su bazlı entellen (Lav Vision Corp, ABD)
- SMA (Smooth Muscle Actin) (Neomarkers, ABD)

3.3. Solüsyonların Hazırlanışı

3.3.1. Sodyum Sitrat Solüsyonu Hazırlanışı

Calbiochem marka ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = 294,1 g/mol) sodyum sitrat dihidrattan elektronik hassas terazi ile 2.94 g alınarak, dH_2O ile 100 ml'ye tamamlandı ve 1 Normal (N) HCl ile pH'sı 4.5'a ayarlandı.

3.3.2. STZ Solüsyonu Hazırlanışı

Hazırlanan 0.05 M'lık sodyum sitrat tamponunun içerisinde 13 mg/1 ml olacak şekilde STZ çözündürülerek taze bir şekilde hayvanlara uygulandı. Diyabet oluşturulacak hayvanlara, 1 cc'lik insülin enjektörü ile hayvanların ağırlıklarına göre 0,25 cc +/- 1 cc STZ i.p. olarak enjekte edildi.

3.4. Yöntemler

3.4.1. Deneysel Hayvanlarının Hazırlanması

Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilmiştir.

Bu çalışmada ağırlıkları yaklaşık 180-230 gr olan 108 adet Wistar albino dişi rat kullanıldı. Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, serbest diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlandı ve oda ısısı 22 ± 2 °C' de sabit tutuldu. Ratların, standart şartlar altında, su ve yiyeceğe serbest erişim imkanı (Ad libitum) sağlandı. Buldukları odanın nispi nem oranı % 30-45 arasında tutuldu ve odanın havalandırması filtre edilerek, kontaminasyon riski önendi. Ratlar polikarbonattan yapılmış kafeslerde, altlarında talaş olacak şekilde barındırıldılar. Kafesler her gün temizlenerek kuru altlıklar konuldu.

54 adet rata STZ ile diyabet oluşturuldu. Bir gece (12 saat) aç bırakıldıktan sonra, kan şekeri ölçüldü ve tek doz olarak, pH=4.5 olan 0.1 M sitrat tamponu içinde çözülmüş 55 mg/kg STZ, i.p. enjeksiyon ile verildi. Enjeksiyondan 72 saat sonra deneklerin kuyruklarından intravenöz (i.v.) yolla alınan kan örneklerine göre kan glukoz konsantrasyonları ölçüldü. Glukoz ölçümünde Accutrend® GCT meter marka cihaz ve cihaza uygun test stripleri kullanıldı. Normal kan şekeri değeri 90-110 mg/dL olarak alındı. Kan şekeri 250 mg/dl üzerinde olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi.

3.4.2. Deneý Hayvanlarının Gruplandırılması

Diyabetik ve sağlıklı ratlarda, bistüri, kriyocerrahi ve elektrocerrahi tekniklerinin doku iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı deneý 3,5 aylık bir dönem için planlandı. 54 adedi sağlıklı, 54 adedi diyabetik olacak şekilde ratlar 2 gruba ayrıldı. Bu gruplar da kendi içlerinde bistüri, kriyocerrahi ve elektrocerrahi grubu olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Bu gruplar Tablo 2 'de gösterilmektedir.

Tablo 2: Deneý Hayvanlarının Gruplandırılması

Ana Gruplar	Sağlıklı (n=54)			Diyabetik (n=54)		
Alt Gruplar	Bistüri (n=18)	Kriyocerrahi (n=18)	Elektrocerrahi (n=18)	Bistüri (n=18)	Kriyocerrahi (n=18)	Elektrocerrahi (n=18)
7. Gün	B7 (n=6)	K7 (n=6)	E7 (n=6)	DB7 (n=6)	DK7 (n=6)	DE7 (n=6)
14. Gün	B14 (n=6)	K14 (n=6)	E14 (n=6)	DB14 (n=6)	DK14 (n=6)	DE14 (n=6)
28. Gün	B28 (n=6)	K28 (n=6)	E28 (n=6)	DB28 (n=6)	DK28 (n=6)	DE28 (n=6)

3.4.3. Cerrahi Teknik

Tüm gruplardaki ratlara işlem öncesi kas içi [*intra muscular* (i.m)] enjeksiyon ile 45 mg/kg Ketamin hidroklorür (Alfamine) ve 2,5 mg/kg Xylasin hidroklorid (Alfazyne) verilerek genel anestezi uygulandı. İnsizyonlar, elektrocerrahi ve kriyocerrahi uygulamaları, dilin orta üçlüsünde ve orta hat üzerinde aynı boyutta hasar oluşturacak şekilde yapıldı. Operasyonlardan sonraki 7., 14. ve 28. günlerde her gruptan 6' şar

rat aynı prensip ile genel anestezi altına alındıktan sonra, sakrifiye edildi ve dilleri steril kaplar içindeki formol solüsyonuna alındı.

3.4.4. Gruplara Göre Çalışma Teknikleri

Sağlıklı Grup: Bu gruptaki ratlara, herhangi bir ilaç uygulanmadı ve 3 alt gruba ayrıldı.

Bistüri Alt Grubu: Bistüri grubundaki ratların dillerinin orta uçlularına 5 mm çapında sirküler insizyon yapıldı (Resim 1, 2), insizyonlar yapıldıktan sonraki 7.,14. ve 28. günlerde 6'şar rat sakrifiye edildi.



Resim 1: Bistüri alt grubunda insizyonun 5 mm'lik *punch* yardımı ile işaretlenmesi



Resim 2: İnsizyonun tamamlanması

Kriyocerrahi Alt Grubu: Kriyocerrahi grubundaki ratların dillerinin orta üçlülerine 5 mm çapında problar kullanılarak 3 aşamada kriyocerrahi uygulaması yapıldı. 15 saniye sürekli uygulandı, 75 saniye ara verildi ve 15 saniye tekrar uygulandı (Resim 3). Kriyocerrahi işlemleri uygulandıktan sonraki 7.,14. ve 28. günlerde 6'şar rat sakrifiye edildi.



Resim 3 : Kriyocerrahi uygulaması

Elektrocerrahi Alt Grubu: Elektrocerrahi grubundaki ratların dillerinin orta üçlülerine elektrokoter kullanılarak 5 mm çapında sirküler

insizyonlar oluşturuldu (Resim 4). İnsizyonlar tamamlandıktan sonraki 7.,14. ve 28. günlerde 6'şar rat sakrifiye edildi.



Resim 4: Elektrocerrahi uygulaması

Diyabetik Grup: Sodyum sitrat tamponu içerisinde 55 mg/kg olacak şekilde STZ hazırlanıp tek doz olacak şekilde i.p. olarak verildi. Bir hafta sonra açlık kan şekerleri glukometre ile ölçülerek 250 mg/dl'nin üzerindeki değerler diyabet olarak kabul edildi ve çalışmaya dahil edildi. Bu gruptaki ratlar da 3 alt gruba ayrıldı.

Bistüri Alt Grubu: Diyabet oluşturulduktan sonra bistüri grubundaki ratların dillerinin orta üçlülerine 5 mm çapında sirküler insizyon yapıldı, insizyonlar yapıldıktan sonraki 7,14 ve 28. günlerde 6'şar rat sakrifiye edildi.

Kriyocerrahi Alt Grubu: Diyabet oluşturulduktan sonra kriyocerrahi grubundaki ratların dillerinin orta üçlülerine 5 mm çapında probler kullanılarak 3 aşamada kriyocerrahi uygulaması yapıldı.15 saniye

sürekli uygulandı, 75 saniye ara verildi ve 15 saniye tekrar uygulandı. Kriyocerrahi işlemleri uygulandıktan sonraki 7.,14. ve 28. günlerde 6'şar rat sakrifiye edildi.

Elektrocerrahi Alt Grubu: Diyabet oluşturulduktan sonra elektrocerrahi grubundaki ratların dillerinin orta üçlülerine elektrokoter kullanılarak 5 mm çapında sirküler insizyonlar oluşturuldu. İnsizyonlar tamamlandıktan sonraki 7.,14. ve 28. günlerde 6'şar rat sakrifiye edildi.

3.4.5. Hemostazın Değerlendirilmesi

Her enstrüman için hemostazın belirlenmesinde 5 dereceli bir skala kullanıldı (Sinha ve Gallagher³). Bu skaladaki skorlar;

- 1: Kanama yok
- 2: Sınırlı kanama
- 3: Hafif baskı gerektiren kanama
- 4: Koagülasyon gerektiren kanama
- 5: Sütür gerektiren kanama

3.4.6. Deneyin Sonlandırılması

Protokolde verilen günler tamamlandıktan sonra ratlara ötenazi uygulandı. Ratlar ötenazi edilmeden önce, vücut ağırlıkları tartıldı. Tüm gruptaki ratlar kas içi (i.m.) enjeksiyon ile 45 mg/kg Ketamin

hidroklorür (Alfamine) ve 2,5 mg/kg Xylasin hidroklorid (Alfazyne) ile genel anestezi altına alındı. Kan kaybı sonucunda ötenazi oluşturulduktan sonra, dil dokuları çıkartılarak %10' luk tamponlanmış formol içeren biyopsi kapları içine kondu ve Gazi Üniversitesi Oral Patoloji Bilim Dalı'na gönderildi.

3.5. Histopatolojik İnceleme

Elde edilen örnekler, %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda 24–72 saat fikse edildikten sonra rutin doku takip prosedürü izlendikten sonra parafin bloklara gömüldü. Dokulardan, adeziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, Illinois, USA) bir adedi hemotoksilen-eozin boyaması için olmak üzere toplam 4 adet, yaklaşık 4 µm kalınlığında kesitler alındı.

Histopatolojik inceleme için rutin hemaotoksilen-eozin boyanacak kesitler, 65°C'de etüv içinde deparafinize edilip, sırasıyla 30'ar dakika ksilol ve alkolde bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkanıp boyama işlemine tabi tutuldu.

3.5.1. İmmünohistokimyasal Yöntem:

Tüm antikorlar için Avidin-Biyotin Kompleks (ABC) metodu ile immünohistokimyasal olarak boyama yapıldı.

Kesitler etüv içerisinde 56°C'de 12 saat bekletildikten sonra 1 saat süreyle ksilol ile muamele edilerek deparafinizasyon, yirmişer dakika süreyle sırasıyla %100, %96 ve %90'lık etil alkolde bekletilerek dehidratasyon işlemleri gerçekleştirildi. Kesitler 1 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra distile sudan geçirildi. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için distile su içinde hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) 10 dakika süreyle uygulandı. Kesitler fosfatla tamponlanmış serum (PBS, Fosfat Buffer Solüsyonu, pH:7,60) ile püskürtme yöntemi kullanılarak iyice yıkandı. Formalin fiksasyonu ve parafin bloklama nedeniyle dokuda maskelenmiş olan antijenik yapıları açığa çıkarmak amacıyla iki antikorun uygulanacağı kesitler antijen retrieval solüsyonu (0,01M sodyum sitrat buffer, pH:6,00) içerisinde ilk onbeş dakika orta, son beş dakika yüksek derecede olmak üzere 15 dakika mikrodalga fırında işleminden geçirildi. Takiben kesitler oda ısısında 30 dakika bekletildi ve distile su ve arkasından PBS ile üç kez yıkandı.

iNOS, VEGF ve SMA boyaması için Universal HRP Kit (Cat: KP 50A, Diagnostic Biosystems Inc., Pleasanton, CA, USA) kullanıldı.

Kesitler 5-10 dakika süreyle non-immün bloklama serumunda bekletildi. Daha sonra 1:50 olarak seyreltilmiş anti-iNOS (pAb anti-iNOS 0.05mg purified rabbit sera [0.2 mg/ml] Lot: GJ233 Novus Biologicals LLC, Littleton, CO, U.S.A.), 1:200 oranında seyreltilmiş VEGF (pAb anti-VEGF 0.5 ml purified sera [0.2 mg/ml] Lot: G632 Novus Biologicals LLC, Littleton, CO, U.S.A.) ile +4°C'de 18-20 saat ve SMA (Smooth Muscle Actin) (Actin Smooth Muscle, LOT 9010R809A NEOMARKERS, Fremont, CA, U.S.A.) primer antikorlarıyla oda ısısında iki saat süreyle muamele edildi. Oda ısısına erişen kesitler PBS ile 5 dakika püskürtme yöntemi ile yıkanıp kurulandıktan sonra biyotine bağlanmış bağlayıcı (sekonder) antikor 20-30

dakika uygulandı. Kesitler yeniden PBS ile yıkanıp kurulandıktan sonra streptavidin ile konjuge alkalen fosfataz uygulanarak 20-30 dakika bekletildi. Takiben kesitler PBS ile yıkandı ve kurulandı.

Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla yaklaşık 5-8 dakika süre ile 3-Amino-9-Ethylcarbazole solüsyonu (Universal HRP Kit [Cat: KP 50A, Diagnostic Biosystems Inc., Pleasanton, CA, USA]) ile inkübe edildi. Kesitler üç kez distile sudan geçirildi. Zemin boyaması için Mayers hematoksilende 5 saniye bekletildi. Kesitler önce çeşme suyunda ardından distile suda yıkandıktan sonra su bazlı entellan (Large Volume Vision Mount, Lot:UG14124, Lab Vision Corp, Fremont CA, U.S.A.) kullanılarak üzerleri kapatıldı.

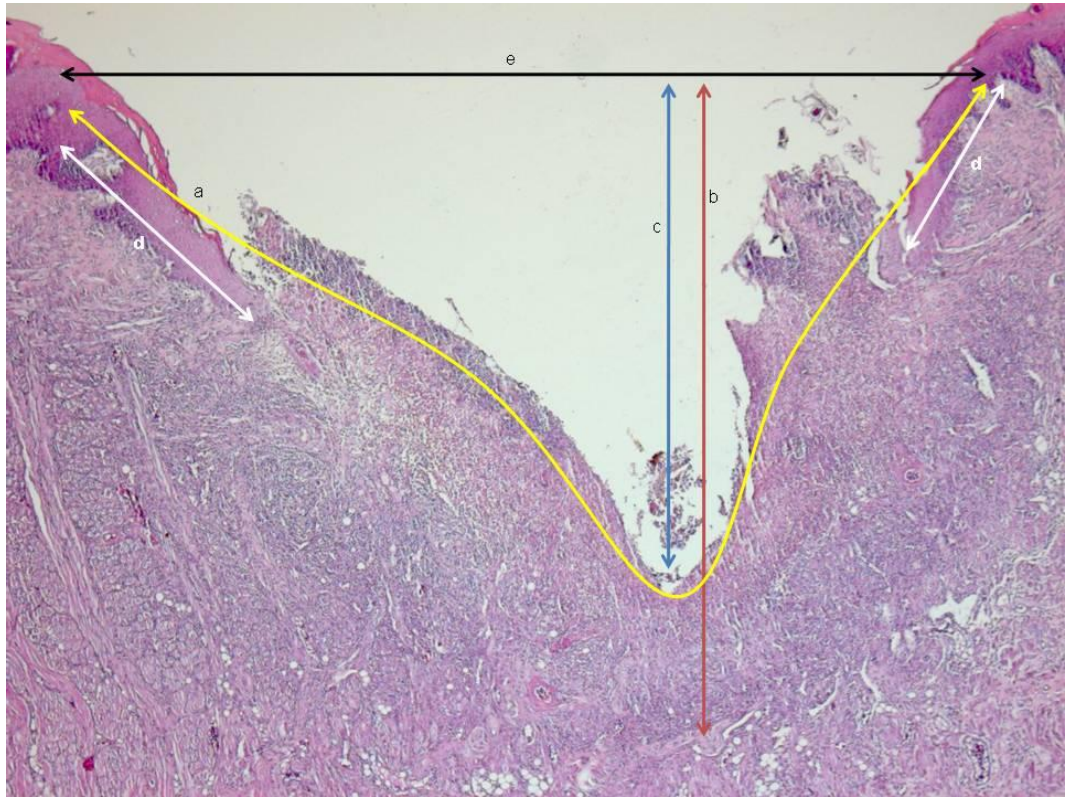
Pozitif kontrol olarak yoğun enflamasyon içeriği bilinen enflamatuvar odontojenik kist dokusu kullanıldı. Primer antikor uygulanması aşamasında PBS içerisinde bekletilen enflamatuvar odontojenik kist dokusu negatif kontrol olarak kabul edildi.

3.5.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Vakalara ait tüm histopatolojik değerlendirmeler Leica DM4000B (Leica Microsystems CMS GmbH, Germany) ışık mikroskopunda yapıldı.

Örneklerin hematoksilen eozin boyalı kesitlerinde, Leica Qwin 3 görüntü analiz programı (Qwin 3 Version 3.1.1, Leica

Microsystems CMS GmbH, Germany) kullanılarak defektlerin uzunluğu, derinliği, yüzeyden çöküklüğü ve reepitelizasyon parametreleri ölçüldü. Defekt uzunluk değeri enflamasyonun gözlemlendiği ve iyileşme dokusu veya fibrozisin oluşmadığı sahanın uzunluğu ölçülerek tespit edildi. Defektin yüzeyi ile her iki taraftaki normal epitel seviyeleri arasında çizilen bir doğru parçası arasında dik açıyla konulan bir vektörün uzunluğu ile yüzeyden çöküklük değerleri saptandı. Her iki taraftaki sağlam epitel arasındaki doğru parçası ile defektin enflamasyonun gözlenebildiği en derin noktası arasındaki dik inmenin uzunluğu ölçülerek defekt derinliği parametresine ulaşıldı. Defektin her iki yakasındaki rete proliferasyonu göstermeyen, matürasyonunu tamamlamamış ve tam kalınlığa ulaşmamış epitel rejenerasyonunun uzunluğu ölçülerek reepitelizasyon değeri parametresine ulaşıldı (Şekil 4).



Şekil 4: Histomorfometrik ölçümlerin değerlendirilmesi

- a. defektin uzunluğu b. defektin derinliği c. yüzeyden çöküklük d. reepitelizasyon
e. defektin yüzeyi ile her iki taraftaki normal epitel seviyeleri arasına çizilen doğru parçası

Enflamasyon yoğunluğunun değerlendirilmesi x400 (bir büyük büyütme alanı) büyütmede bağ dokusunda yer alan enflamatuvar hücrelerin sayılması ile gerçekleştirildi. Hematoksilen-eozin kesitlerde rastgele seçilen beş büyük büyütme alanındaki enflamatuvar hücreler sayıldı ve enflamasyon yoğunluğu dört dereceli bir sistem ile skorlandı (Hirshberg ve arkadaşları⁷⁹):

0: Enflamasyon yok

1: Alan başına 25 enflamatuvar hücreden az

2: Alan başına 25–50 enflamatuvar hücre

3: Alan başına 50 veya daha fazla enflamatuvar hücre.

Enflamatuvar hücrelerin tipleri belirlenerek yoğunluklarına göre çoktan aza sıralandı. Defekt alanında gelişen enflamatuvar yanıt fibrin ve eksuda varlığı, vaskülarize granülasyon dokusu, fibroblastik granülasyon dokusu, granülasyon ve fibrozis, tam iyileşme olarak değerlendirildi ve “var” veya “yok” şeklinde işaretlendi.

3.5.3. İmmünohistokimya Boyanmalarının Değerlendirilmesi:

Tüm antikorlar ile boyanan kesitlerde kırmızı renkteki sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi.

iNOS ve VEGF antikoru için enflamatuvar hücreler, defekt iyileşmesinde görülen aktif fibroblastlar ve vasküler yapılardaki boyanma yoğunluğu üç aşamalı skalaya göre değerlendirildi:

0: Boyanma yok

1: Zayıf boyanma (tek pozitif)

2: Kuvvetli boyanma (çift pozitif)

Belirtilen hücrelerdeki ekspresyon yoğunluğu ise, rastgele seçilen beş büyük büyütme alanındaki pozitif enflamatuvar hücrelerin ve fibroblastların toplam hücrelere olan oranı şeklinde değerlendirildi.

SMA antikoru boyamasında ise defekt alanında endoteli daha ince olarak pozitif boyanma gösteren yeni oluşan damar yapılarının tamamı sayılarak tüm örnekler için sayısal değerler elde edildi.

3.6. İstatistiksel Yöntem

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, iNOS ve VEGF'nin ekspresyonu, yeni oluşan damar sayısı, defekt uzunluğu, defekt derinliği, yüzeyden çöküklük, reepitelizasyon ve enflamasyon dereceleri için ortanca (25. ve 75.) yüzdeler şeklinde; eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon dokusu, fibroblastik granülasyon dokusu, granülasyon dokusu ve fibrozis, tam iyileşme ve hücre tipleri için denek sayısı ve (%) olarak gösterildi. Sağlıklı

ve diyabetik gruplar arasında ortanca değerler yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testi ile; cerrahi işlemler arasında ve günler arasında ortanca değerler yönünden farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testi ile incelendi. Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farkın kaynağı araştırıldı. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Olası tüm alt grup karşılaştırmalarında Tip I hatayı kontrol altına alabilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Takip Bulguları

4.1.1. Vücut Ağırlıkları

Ratların çalışmanın başlangıç, 7.,14. ve 28. günlerindeki vücut ağırlıkları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3 : Ratların çalışma öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları

Gruplar	Sağlıklı				Diyabetik			
	Başlangıç	7.Gün	14.Gün	28.Gün	Başlangıç	7.Gün	14.Gün	28.Gün
<i>Grup B</i> (gr)	197,1 ± 5,1	204,7 ± 3,6	211,4 ± 4,4	219,3 ± 4,2	199 ± 4,8	201,1 ± 3,9	192,7 ± 3,9	187,3 ± 4,2
<i>Grup K</i> (gr)	201,2 ± 5,4	206,1 ± 4,7	212,4 ± 5,1	215,3 ± 4,8	203,3 ± 5,2	203,3 ± 4,6	196,2 ± 4,6	188,7 ± 5,5
<i>Grup E</i> (gr)	195,3 ± 4,1	199,7 ± 4,5	209,2 ± 4,8	215,8 ± 5,0	196,2 ± 4,3	197,5 ± 4,8	194,1 ± 4,5	186,2 ± 5,8

Yapılan varyans analizinde, sağlıklı her 3 grup için, başlangıç ($p>0.05$), 7. gün ($p>0.05$), 14. gün ($p>0.05$) ve 28. gün ($p>0.05$)’de vücut ağırlığı açısından anlamlı fark olmasa da ratların kilo aldıkları belirlendi. Buna karşılık diyabetik her 3 grup için yapılan analizde başlangıç ($p>0.05$), 7. gün ($p>0.05$), 14. gün ($p>0.05$) ve 28. gün ($p>0.05$)’de vücut ağırlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla beraber ratların zayıfladıkları tespit edildi.

Çalışmanın sonunda sağlıklı ve diyabetik grup arasındaki farkın karşılaştırılması yapıldığında başlangıç ($p>0.05$) ve 7. gün ($p>0.05$)’ de vücut ağırlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yokken, 14. günde ve ($p<0.05$) ve 28. günde ($p<0.05$) sağlıklı grubun diyabetik gruptan daha ağır olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diyabetik her 3 gruptaki ratların anlamlı şekilde kilo kaybettiği belirlendi.

4.1.2. Kan Glikoz Düzeyleri

Ratların çalışmanın başlangıç, 7.,14. ve 28. günlerindeki kan glikoz seviyeleri Tablo 4’de verilmiştir. STZ enjeksiyonuyla oluşturulan diyabetik grupta enjeksiyondan deneyin sonuna kadar hiperglisemi izlendi.

Tablo 4: Diyabetik grupta tekniklere ve günlere göre kan şekeri seviyeleri

Gruplar	Diyabetik			
	Başlangıç	7.Gün	14.Gün	28.Gün
Grup B (mg/dl)	337,7 ± 16,5	415,3 ± 18,2	427,2 ± 14,9	499,2 ± 21,7
Grup K (mg/dl)	340,3 ± 17,2	400,5 ± 17,4	429,2 ± 19,5	496,1 ± 20,1
Grup E (mg/dl)	334,2 ± 13,7	408,6 ± 17,5	430,5 ± 18,8	482,4 ± 18,5

Yapılan varyans analizinde her 3 grup arasında başlangıç ($p>0.05$), 7. gün ($p>0.05$), 14. gün ($p>0.05$) ve 28. gün ($p>0.05$) kan şekeri seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

4.1.3. Kanama

Bistüri kullanılarak yara oluşturulan gruplarda diğer gruplara kıyasla fazla miktarda kanama gözlemlendi ($p=.000$). Bu nedenle bu grupta suture kullanımı gerekti.

Elektrocerrahi ve kriyocerrahi ile oluşturulan yaralarda suture kullanımı gerekmemiş kanama derecesi 1 olarak saptanmıştır.

Tablo 5: Kullanılan enstrümanların hemostaz dereceleri

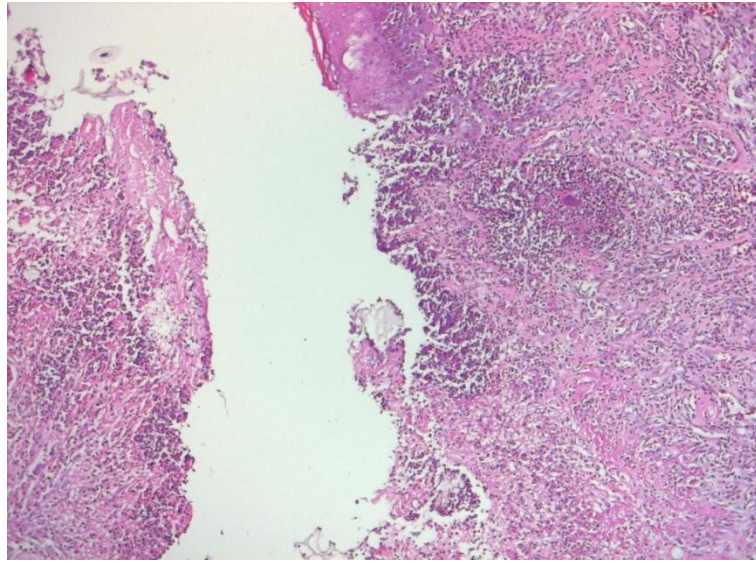
Enstrüman	Hemostaz Derecesi				
	1	2	3	4	5
<i>Bistüri</i>					X
<i>Kriyocerrahi</i>	X				
<i>Elektrocerrahi</i>	X				

4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Yara İyileşmesi

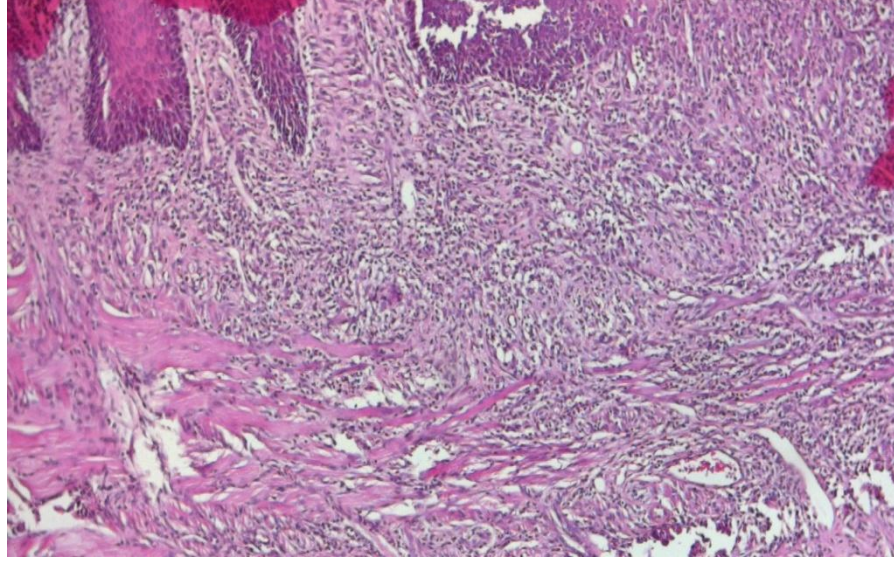
Gruplara, günlere ve uygulanan cerrahi tekniklere göre eksuda ve fibrin, vaskülerize granülasyon, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme düzeyleri Tablo 6'da gösterilmiştir.

7. gün içerisinde Grup B, Grup K ve Grup E'de sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon (Resim 5) dokusu, fibroblastik granülasyon dokusu, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,006$).



Resim 5: Sağlıklı Grup E'de 7. günde vaskülerize granülasyon dokusu izlenmektedir (ABCx100)

14. gün içerisinde Grup B, Grup K ve Grup E'de sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon dokusu, granülasyon dokusu ve fibrozis (Resim 6) ile tam iyileşme yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,006$). Grup B ve Grup K'da sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında fibroblastik granülasyon dokusu oluşumu yönünden de istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,006$). Buna karşın 14. günde Grup E'de diyabetik gruba göre kontrol grubunda fibroblastik granülasyon dokusu istatistiksel anlamlı olarak daha fazla idi ($p=0,002$) (Grafik 1-2).

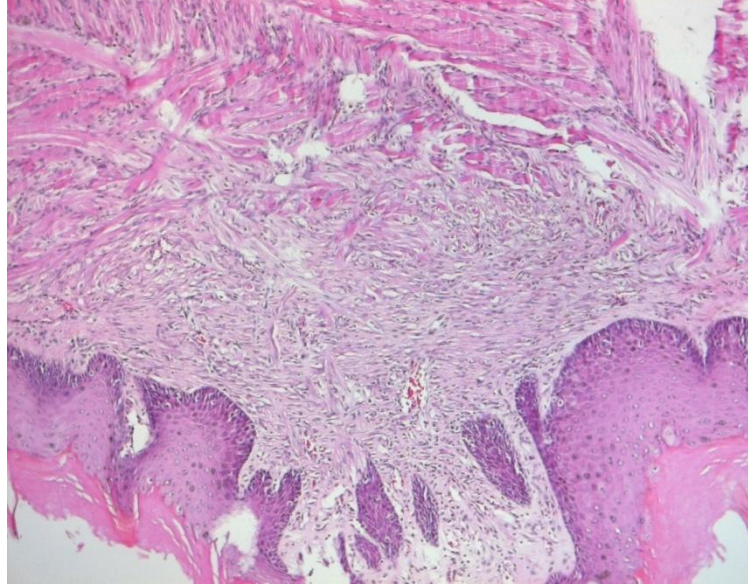


Resim 6: Diyabetik Grup K'da 14. günde granülasyon dokusu ve fibrozis izlenmektedir

28. gün içerisinde Grup B, Grup K ve Grup E'de sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon dokusu, fibroblastik granülasyon dokusu, granülasyon dokusu ve fibrozis sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,006$). Grup B ve Grup E'de sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında tam iyileşme yönünden de istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,006$). Grup K'da 28. gündeki tam iyileşme sıklığı diyabetik gruba göre sağlıklı grupta istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$).

Sağlıklı grup içerisinde sırasıyla; 7.,14. ve 28. günlerde Grup B ile Grup K, Grup B ile Grup E ve Grup K ile Grup E arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon, fibroblastik granülasyon dokusu (Resim 7), granülasyon dokusu ve fibrozis yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7. ve 14. güne göre 28. gündeki tam iyileşme sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$). 28. gündeki iyileşme

düzeıı Grup K'ya göre Grup E'de istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p=0,002$).



Resim 7: Sağlıklı Grup K'da 28. günde oluşan fibroblastik granülasyon dokusu izlenmektedir

Sağlıklı grup içerisinde sırasıyla; 7.,14. ve 28. günlerde Grup B ile Grup K, Grup B ile Grup E ve Grup K ile Grup E arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$).

Diyabetik grup içerisinde 7.,14. ve 28. günde Grup B ile Grup K, Grup B ile Grup E ve Grup K ile Grup E arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). Ayrıca 7. ve 14. günde fibroblastik granülasyon ve tam iyileşme sıklığı yönünden de Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). 28. günde Grup B ile Grup K

arasında fibroblastik granülasyon ve tam iyileşme sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken, 28. günde Grup B ve Grup K'ya göre Grup E'deki fibroblastik granülasyon sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha fazla olup Grup E'ye göre Grup B ve Grup K'daki tam iyileşme sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha fazla idi ($p=0,002$).

Sağlıklı grup içerisinde cerrahi grupların her birinde sırasıyla; 7. gün ile 14. gün, 7. gün ile 28. gün ve 14. gün ile 28. günler arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$).

Diyabetik grup içerisinde ise Grup B'de sırasıyla; 7. gün ile 14. gün, 7. gün ile 28. gün ve 14. gün ile 28. günler arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). Buna karşın 7. ve 14. güne göre 28. gündeki tam iyileşme sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$). Grup K ve Grup E'de 7. gün ile 14. gün arasında eksuda ve fibrin, vaskülarize granülasyon, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). Grup K ve Grup E'de 7. gün ile 28. gün arasında eksuda ve fibrin, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). Grup K ve Grup E'de 14. gün ile 28. gün arasında eksudada fibrin, vaskülarize granülasyon, granülasyon dokusu

ve fibrozis sıklığı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,003$). Grup K ve Grup E'de 7. güne göre 28. günde vaskülarize granülasyon sıklığında istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana geldi ($p=0,002$) (Şekil 4). Grup E'de 7. ve 14. güne göre 28. gündeki tam iyileşme sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken Grup K'da 7. ve 14. güne göre 28. gündeki tam iyileşme sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$). Grup K'da 14. gün ile 28. gün fibroblastik granülasyon sıklığında anlamlı farklılık bulunmazken, Grup E'de 14. güne göre 28. gündeki fibroblastik granülasyon sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$).

Tablo 6: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre eksuda fibrin, vaskülarize granülasyon, fibroblastik granülasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis ile tam iyileşme dağılımı

Değişkenler	Gruplar	Sağlıklı			Diyabetik		
		7.Gün	14.Gün	28.Gün	7.Gün	14.Gün	28.Gün
Eksuda ve fibrin	Grup B	3 (%50,0)	-	-	2 (%33,3)	-	-
	Grup K	5 (%83,3)	2 (%33,3)	-	4 (%66,7)	-	-
	Grup E	5 (%83,3)	1 (%16,7)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	3 (%50,0)	-
Vaskülarize granülasyon	Grup B	4 (%66,7)	2 (%33,3)	-	5 (%83,3)	3 (%50,0)	-
	Grup K	5 (%83,3)	2 (%33,3)	1 (%16,7)	6 (%100,0) ^a	1 (%16,7)	a
	Grup E	4 (%66,7)	1 (%16,7)	-	6 (%100,0) ^a	4 (%66,7)	a
Fibroblastik granülasyon	Grup B	-	4 (%66,7)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	3 (%50,0)	b
	Grup K	1 (%16,7)	1 (%16,7)	4 (%66,7)	-	1 (%16,7)	c
	Grup E	1 (%16,7)	6 (%100,0) ^d	6 (%100,0)	2 (%33,3)	d,e	6 (%100,0) ^{b,c,e}
Granülasyon ve fibrozis	Grup B	2 (%33,3)	-	-	1 (%16,7)	-	-
	Grup K	-	1 (%16,7)	2 (%33,3)	-	2 (%33,3)	-
	Grup E	-	-	-	-	-	-
Tam iyileşme	Grup B	-	1 (%16,7)	5 (%83,3)	a	e	6 (%100,0) ^{a,b,e}
	Grup K	-	-	6 (%100,0) ^{a,c,d,e}	a	e	d
	Grup E	-	-	-	-	-	b,c

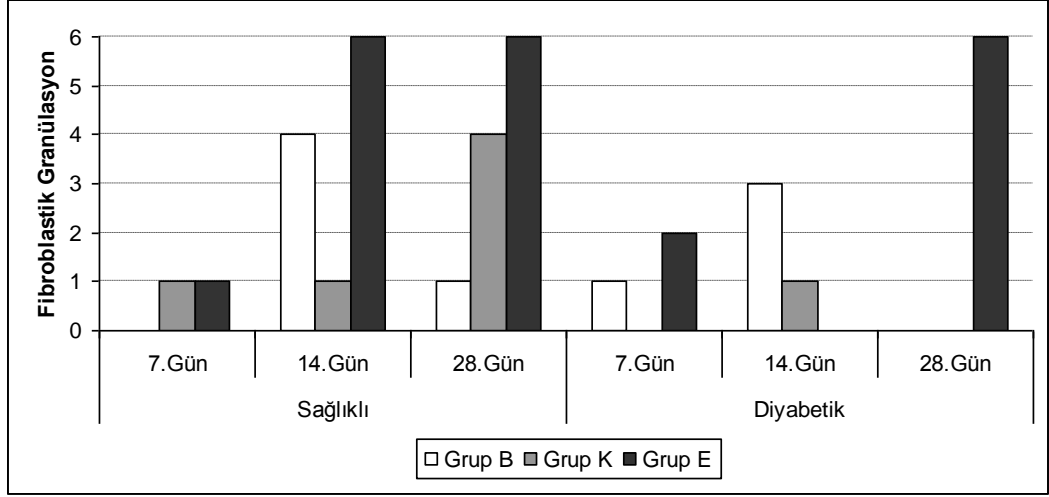
a: 7.Gün ile 28.Gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,003$).

b: Grup B ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,003$).

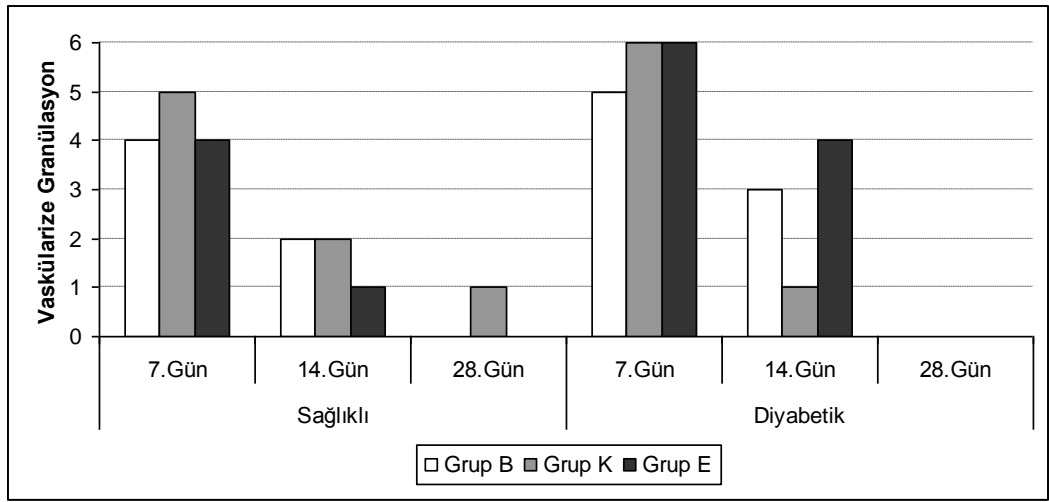
c: Grup K ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,003$).

d: Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,002$).

e: 14.Gün ile 28.Gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,003$).



Grafik 1: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre fibroblastik granülasyon frekans dağılımı

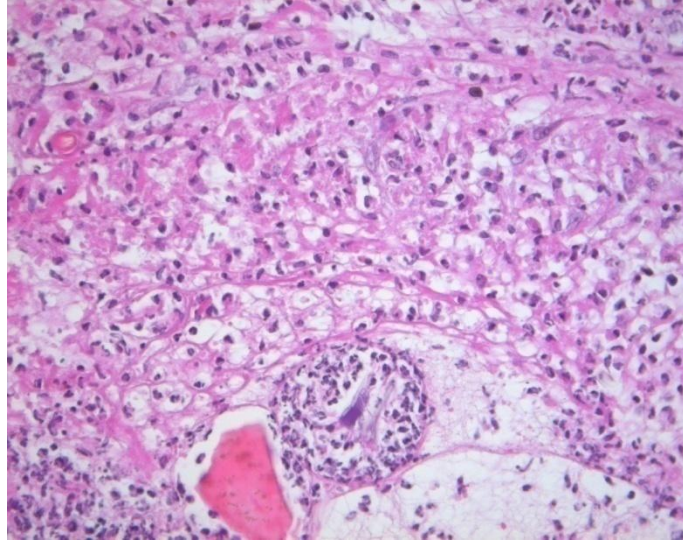


Grafik 2: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre vaskülerize granülasyon frekans dağılımı

4.2.2. Hücre Tipleri

Hematoksilen eozin ile yapılan boyamaları takiben ışık mikroskobu incelemelerinde lenfosit, makrofaj ve nötrofil hücrelerin gruplara ve günlere göre dağılımları Tablo 7'de verilmiştir.

Sağlıklı Grup B'de 7. günde bir örnek hariç lenfosit, makrofaj ve nötrofil yoğun olarak birlikte görüldü (Resim 8). Grup K ve E' de 6 örnekte de lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlendi.



Resim 8 : Sağlıklı grup B'de 7. günde lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlenmektedir.

Diyabetik grupta ise benzer şekilde Grup B' de bir örnek hariç tüm gruplarda lenfosit, makrofaj ve nötrofiller izlendi.

Sağlıklı Grup B'de 14. günde 4 örnekte lenfosit, makrofaj ve nötrofil gözlenirken, 1 örnekte sadece lenfosit, 1 örnekte ise enflamatuvar hücre görülmedi. Grup K' da tüm örneklerde nötrofil, lenfosit ve makrofaj izlenmeye devam ederken, Grup E'de 2 örnekte nötrofil, lenfosit, makrofaj, 3 örnekte sadece lenfosit izlendi, 1 örnekte ise enflamatuvar hücre bulunmadı.

Diyabetik Grup B'de 4 örnekte lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlenirken; 2 örnekte lenfosit ve makrofaj gözlemlendi. Grup K'da 2 örnekte lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlenirken; 1 örnekte lenfosit ve makrofaj izlendi, 3 örnekte ise enflamatuvar hücre saptanmadı. Grup E'de 4 örnekte lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlenirken; kalan 2 örnekte ise lenfosit ve makrofaj görüldü.

Sağlıklı Grup B ve Grup K'da 28. günde 1 örnekte lenfosit izlenirken, kalan 5 örnekte enflamatuvar hücre saptanmadı. Grup E'de ise bunun tersine 5 örnekte sadece lenfosit saptanırken, 1 örnekte ise enflamatuvar hücre saptanmadı.

Diyabetik Grup B' de 6 örnekte de enflamatuvar hücre görülmezken, Grup K'da 3 örnekte enflamatuvar hücre görülmedi, 1 örnekte sadece lenfosit, kalan 2 örnekte ise lenfosit, makrofaj ve nötrofil izlendi. Grup E' de 4 örnekte lenfosit ve makrofaj; 2 örnekte ise lenfosit, makrofaj ve nötrofiller görüldü.

Tablo 7: Gruplar içerisinde günlere ve yapılan cerrahi türüne göre hücre tiplerinin dağılımı

Hücre Tipi	Sağlıklı			Diyabetik		
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	7.Gün	14.Gün	28.Gün
Grup B						
<i>Yok</i>	1 (%16,7)	1 (%16,7)	5 (%83,3)	-	-	6 (%100,0)
<i>Lenfosit</i>	-	1 (%16,7)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	-	-
<i>Lenfosit + Makrofaj</i>	-	-	-	-	2 (%33,3)	-
<i>Lenfosit + Makrofaj + Nötrofil</i>	5 (%83,3)	4 (%66,7)	-	5 (%83,3)	4 (%66,7)	-
Grup K						
<i>Yok</i>	-	-	5 (%83,3)	-	3 (%50,0)	3 (%50,0)
<i>Lenfosit</i>	-	-	1 (%16,7)	-	-	1 (%16,7)
<i>Lenfosit + Makrofaj</i>	-	-	-	-	1 (%16,7)	-
<i>Lenfosit + Makrofaj + Nötrofil</i>	6 (%100,0)	6 (%100,0)	-	6 (%100,0)	2 (%33,3)	2 (%33,3)
Grup E						
<i>Yok</i>	-	1 (%16,7)	1 (%16,7)	-	-	-
<i>Lenfosit</i>	-	3 (%50,0)	5 (%83,3)	-	-	-
<i>Lenfosit + Makrofaj</i>	-	-	-	-	2 (%33,3)	4 (%66,7)
<i>Lenfosit + Makrofaj + Nötrofil</i>	6 (%100,0)	2 (%33,3)	-	6 (%100,0)	4 (%66,7)	2 (%33,3)

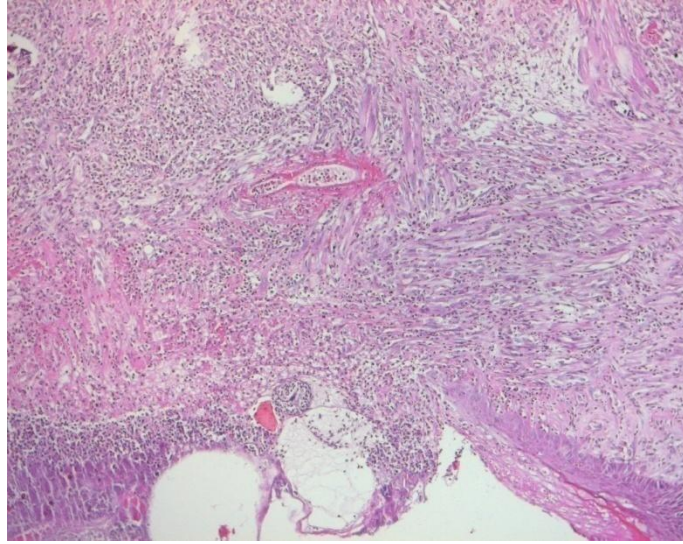
4.2.3. Enflamasyonun Değerlendirilmesi

Gruplara, günlere ve cerrahi tekniklere göre enflamasyon dereceleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Sağlıklı grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında enflamasyon derecesi yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,020$). Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). 7. gün ile 14. gün arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yokken ($p=0,394$), 7. güne ve 14. güne göre 28. gündeki enflamasyon derecesindeki azalma istatistiksel olarak önemli idi ($p=0,004$ ve $p=0,002$). Sağlıklı grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,007$). 7. güne göre 14. gündeki enflamasyon derecesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlıyken ($p=0,002$), 7. gün ile 28. gün arasında ve 14. gnle 28. gün arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p=0,065$ ve $p=0,589$) (Grafik 3).

Diyabetik grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,002$). 7. gün ile 14. gün arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yokken ($p=0,699$), 7. güne ve 14. güne göre 28. gündeki enflamasyon derecesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$ ve $p=0,002$). Diyabetik grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,006$). 7. gün

(Resim 9) ile 14. gün arasında ve 14. gün ile 28. gün arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yokken ($p=0,093$ ve $p=0,310$), 7. güne göre 28. gündeki enflamasyon derecesindeki azalma istatistiksel olarak önemli idi ($p=0,002$). Diyabetik grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). 7. gün ile 14. gün arasında enflamasyon derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmazken ($p=0,394$), 7. gün ve 14. güne göre 28. gündeki enflamasyon skorundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$ ve $p=0,002$).



Resim 9: Sağlıklı Grup K'da 7. günde yaygın enflamasyon izlenmektedir.

Grup B'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında enflamasyon derecesi yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup K'da 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında enflamasyon derecesi yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı

($p>0,006$). Grup E'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında enflamasyon derecesi yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).

Sağlıklı grup içerisinde 7. günde ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre enflamasyon düzeyleri yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,053$ ve $p=0,015$). Sağlıklı grup içerisinde 14. günde cerrahi uygulamaya göre enflamasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,006$). Grup B ile Grup K arasında ve Grup B ile Grup E arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,065$ ve $p=0,310$), Grup K'ya göre Grup E'deki enflamasyon derecesinin daha düşük olması istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$).

Diyabetik grup içerisinde 14. günde cerrahi uygulamaya göre enflamasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,141$). Diyabetik grup içerisinde 7. günde cerrahi uygulamaya göre enflamasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,007$). Grup B ile Grup K arasında ve Grup K ile Grup E arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,041$ ve $p=0,699$), Grup B'ye göre Grup E'deki enflamasyon derecesinin daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,006$). Diyabetik grup içerisinde 28. günde cerrahi uygulamaya göre enflamasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,007$). Grup B ile Grup K arasında ve Grup K ile Grup E arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,699$ ve $p=0,065$), Grup B'ye göre Grup E'deki enflamasyon derecesinin daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,005$).

Tablo 8: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre enflamasyon dereceleri

Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik				p ^b	p ^c	p ^d
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a			
Grup B	2 (2-3)	2 (1-3)	0 (0-0,25)	0,020	2 (1,75-2,25) ^{f,j}	2 (1,75-3) ^g	0 (0-0) ^{f,g,i}	0,002	0,818	0,699	0,699
Grup K	3 (2-3) ^f	3 (3-3) ^{g,h}	1 (0-1,25) ^{f,g}	<0,001	3 (2,75-3) ^f	0,5 (0-3)	0 (0-0,25) ^f	0,006	0,699	0,065	0,132
Grup E	3 (3-3) ⁱ	1 (1-2) ^{h,i}	1 (1-3)	0,007	3 (3-3) ^j	3 (2-3)	1 (0,75-1) ^j	<0,001	1,000	0,009	0,240
p ^e	0,053	0,006	0,015		0,007	0,141	0,007				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

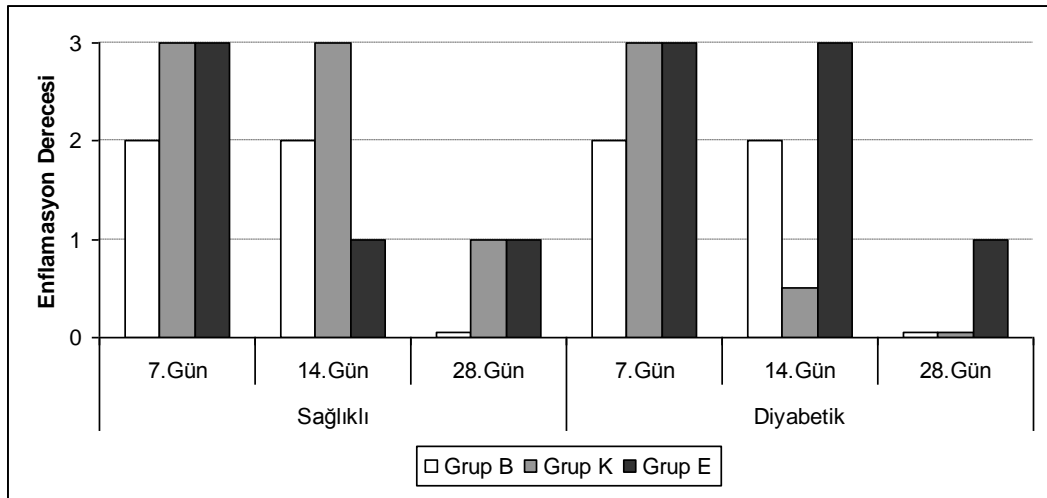
f 7. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

g 14. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

h Grup K ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

i 7. gün ile 14. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

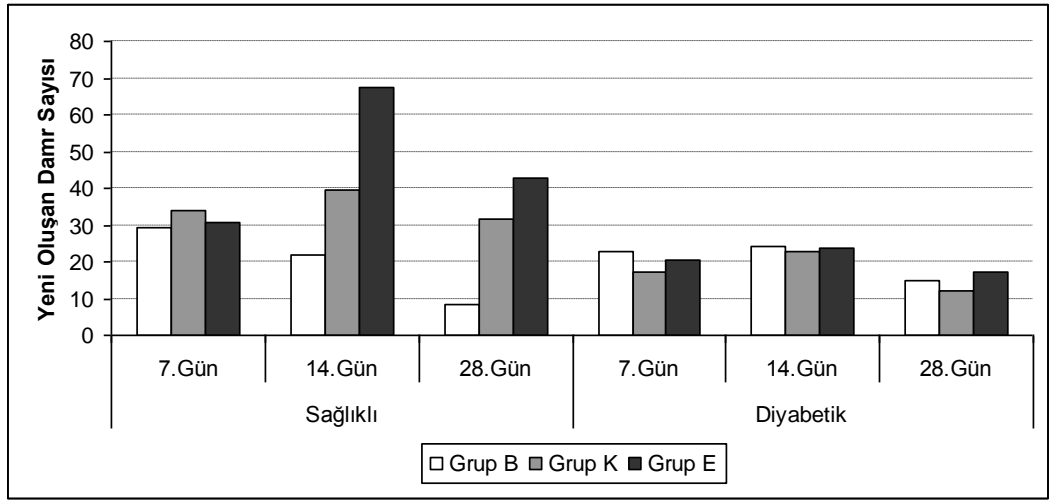
j Grup B ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

**Grafik 3: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre enflamasyon dereceleri**

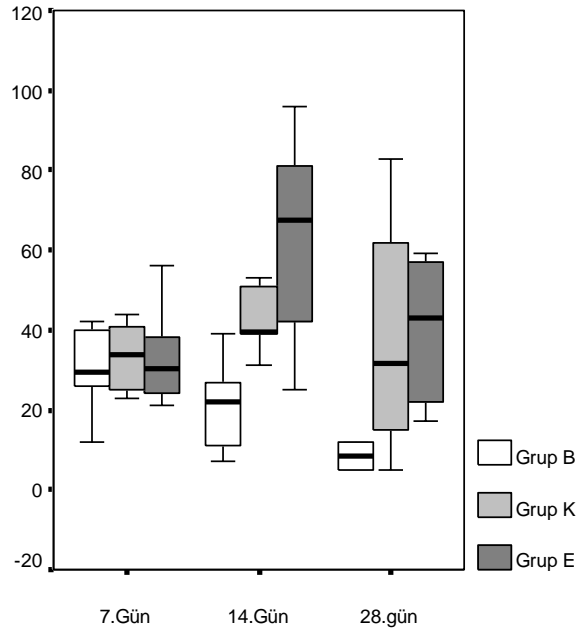
4.3. Histomorfometrik Bulgular

4.3.1. Yeni Oluşan Damar Sayılarının Değerlendirilmesi

SMA boyamalarını takiben tüm gruplarda yeni oluşan damar sayıları Tablo 9'da verilmiştir (Grafik 4).



Grafik 4: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yeni oluşan damar sayısı



Grafik 5: Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre yeni oluşan damar sayısı

Tablo 9: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yeni oluşan damar sayısı

Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik				p ^b	p ^c	p ^d
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a			
Grup B	29,5 (22,5-40,5)	22,0 (10,0-30,0)	8,5 (5-12)	0,010	23,0 (16,5-29,5)	24,0 (15,7-33,0)	15,0 (11,0-19,5)	0,171	0,240	0,699	0,026
Grup K	34,0 (24,5-41,7)	39,5 (37,0-51,5)	31,5 (12,5-67,2)	0,636	17,0 (12,7-18,5)	23,0 (9,2-48,0)	12,0 (6,0-18,5)	0,271	0,002	0,240	0,093
Grup E	30,5 (23,2-42,5)	67,5 (37,7-84,7)	43,0 (20,7-57,5)	0,073	20,5 (16,2-28,0)	23,5 (19,5-30,5)	17,0 (12,0-37,2)	0,510	0,065	0,015	0,093
p^e	0,915	0,009	0,013		0,165	0,977	0,201				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

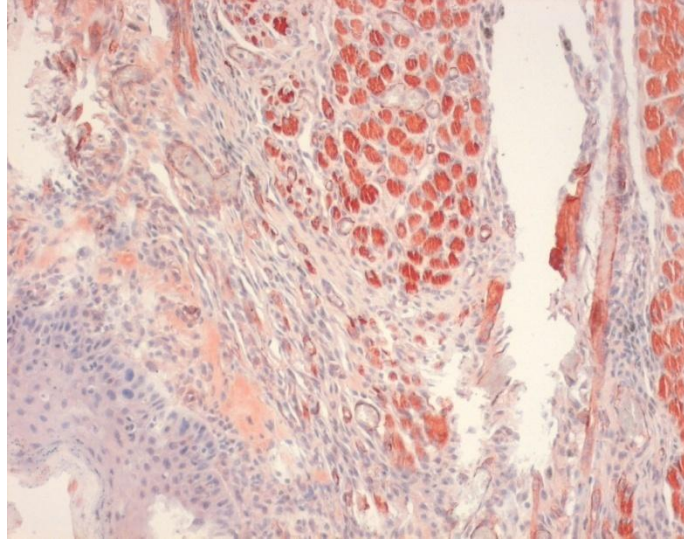
b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

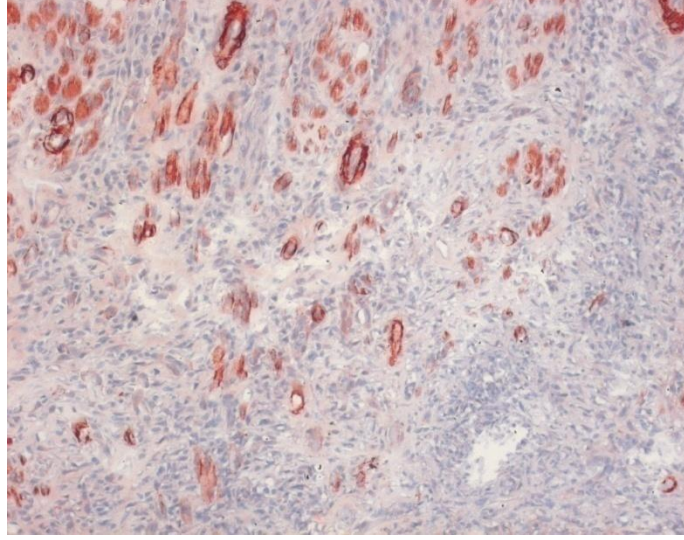
Sağlıklı grup içerisinde sırasıyla; Grup B, Grup K ve Grup E içerisinde 7., 14. ve 28. günler arasında yeni oluşan damar sayısı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 5). Diyabetik grup içerisinde de sırasıyla; Grup B, Grup K (Resim 10) ve Grup E içerisinde 7., 14. ve 28. günler arasında yeni oluşan damar sayısı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 6).



Resim 10: Diyabetik Grup K'da 28. günde yeni oluşan damarlar kahverengi renkte izlenmektedir.

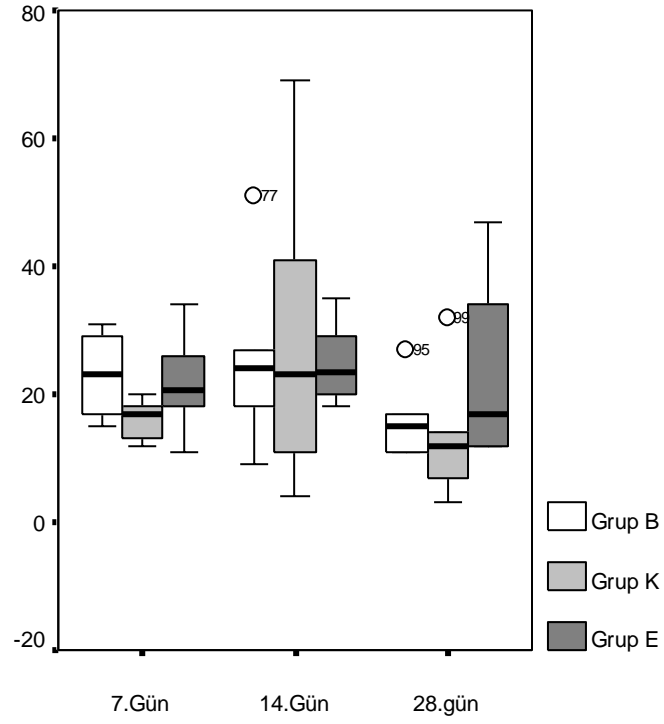
Grup B'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında yeni oluşan damar sayısı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup K'da 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında yeni oluşan damar sayısı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Buna karşın 7. gündeki yeni oluşan damar sayısı diyabetik gruba göre kontrol grubunda istatistiksel anlamlı olarak daha fazla idi. Grup E'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup

arasında yeni oluşan damar sayısı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$) (Resim 11).



Resim 11: Sağlıklı Grup E'de 28. günde yeni oluşan damarlar kahverengi renkte görülmektedir.

Sağlıklı grup içerisinde sırasıyla; 7., 14. ve 28. günler içerisinde cerrahi tipine göre yeni oluşan damar sayılarında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı ($p>0,008$). Diyabetik grup içerisinde de sırasıyla; 7.,14. ve 28. günler içerisinde cerrahi tipine göre yeni oluşan damar sayılarında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı ($p>0,008$).



Grafik 6: Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre yeni oluşan damar sayısı

4.3.2. Defekt Uzunluğunun Değerlendirilmesi

Görüntü analiz programı kullanılarak defekt uzunluğu incelenmiştir. Defekt uzunluğuna ait ölçümler Tablo 10'da verilmiştir (Grafik 7).

Sağlıklı grup içerisinde sırasıyla; Grup B, Grup K ve Grup E içerisinde 7., 14. ve 28. günler arasında defekt uzunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 8). Diyabetik grup içerisinde ise Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında defekt uzunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 9). Buna karşın, Grup B ve Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında defekt uzunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,004$ ve $p=0,006$). Grup B'de 7. ve 28. güne göre 14. gündeki defekt uzunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha fazla idi ($p=0,004$ ve $p=0,004$). 7. gün ile 28. gün arasında defekt uzunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yok idi ($p=0,132$). Grup K'da ise 7. gün ile 14. gün arasında ve 14. gün ile 28. gün arasında Bonferroni Düzeltmesine göre defekt uzunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($p=0,041$ ve $p=0,132$), 7. güne göre 28. gündeki defekt uzunluğundaki azalma istatistiksel olarak önemli bulundu ($p=0,002$).

Tablo 10: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt uzunluğu

Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik				p ^b	p ^c	p ^d
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a			
Grup B	2052 (1798,5-2267,7)	2054,5 (1544,7-2600,5)	1686,0 (942,7-2225,2)	0,558	1883,0 (1706,7-2088,2) ^{f,i}	2740,5 (2304,5-2973,7) ^{f,g}	1371,5 (1177,7-1922,5) ^g	0,004	0,394	0,093	0,699
Grup K	2755 (1825,2-2911,7)	1787,5 (1456,2-3058,7)	1603,5 (1236,2-1981,2)	0,128	2861,0 (2495,2-3397,5) ^h	1775,5 (1532,5-2605,0)	1369,0 (1164,2-1745,0) ^h	0,006	0,310	1,000	0,818
Grup E	2246,5 (2033,2-2538,7)	1822,5 (1494,2-1894,0)	2401,5 (1270,5-2891,2)	0,143	2277,5 (1876,0-2790,2) ⁱ	2099,0 (1452,0-2447,7)	1944,0 (1468,5-3123,0)	0,700	1,000	0,240	1,000
p^e	0,296	0,484	0,318		0,007	0,143	0,117				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

f 7. gün ile 14. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

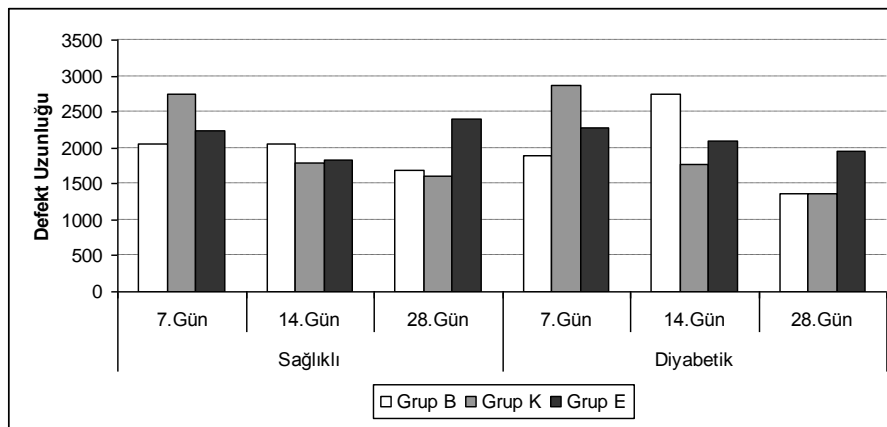
g 14. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

h 7. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

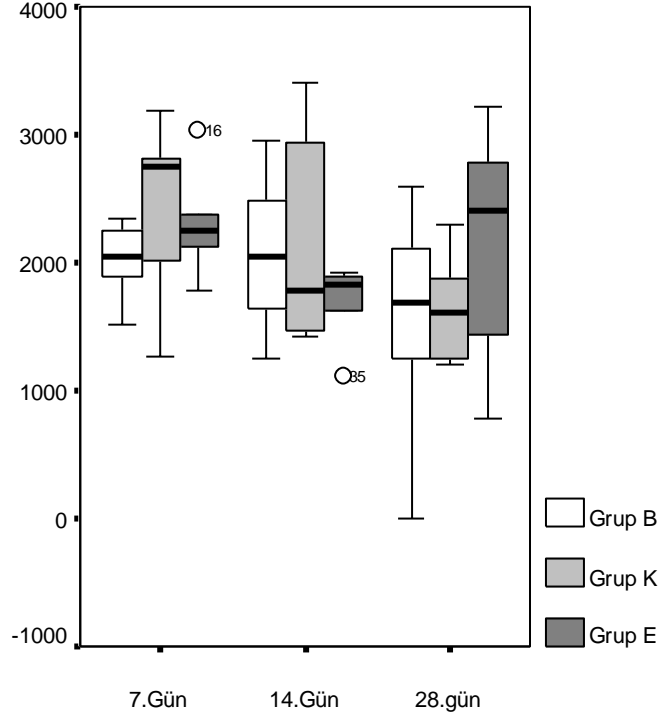
i Grup B ile Grup K arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

Grup B'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında defekt uzunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup K'da 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında defekt uzunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup E'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında defekt uzunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).

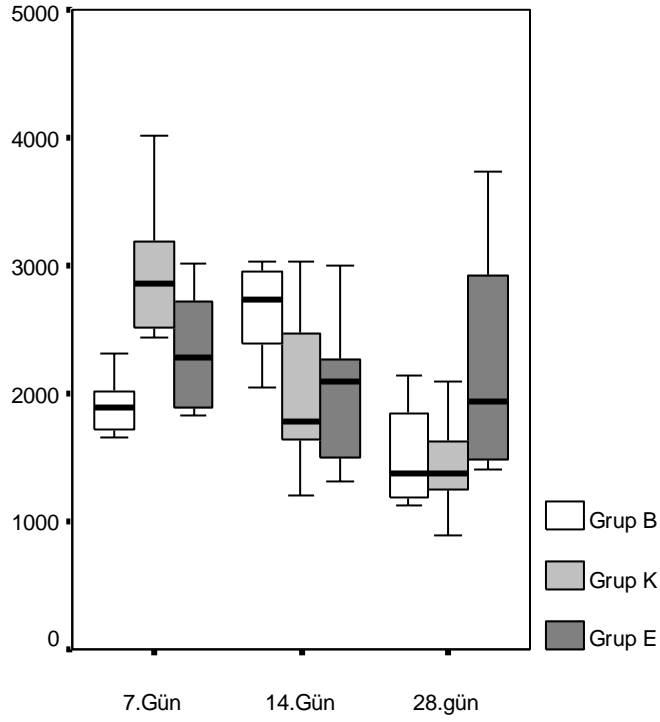
Sağlıklı grup içerisinde sırasıyla; 7., 14. ve 28. günler içerisinde cerrahi tipine göre defekt uzunluğunda Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı ($p>0,008$). Diyabetik grup içerisinde sırasıyla; 7. günde cerrahi tipine göre defekt uzunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,007$), Grup B ile Grup K arasında ve Grup K ile Grup E arasında defekt uzunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,093$ ve $p=0,093$). Grup B'ye göre Grup E'deki defekt uzunluğu ise istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$).



Grafik 7: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt uzunluğu



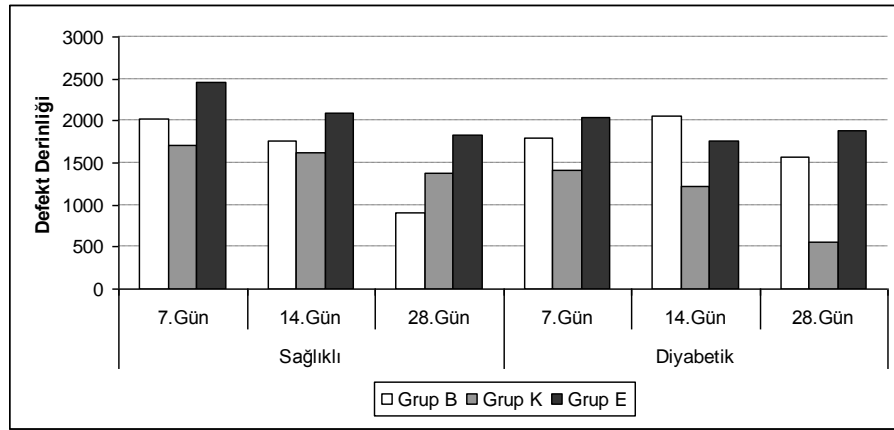
Grafik 8: Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt uzunluğu



Grafik 9: Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt uzunluğu

4.3.3. Defekt Derinliğinin Değerlendirilmesi

Görüntü analiz programı ile elde edilen tüm defektlerin günlere ve tekniklere göre ölçüm değerleri Tablo 11’de verilmiştir (Grafik 10).



Grafik 10: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt derinliği

Sağlıklı grup içerisinde Grup B’de günler arasında defekt derinliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,003$). Buna göre; 7. ve 14. güne göre 28. günde defekt derinliğindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$ ve $p=0,002$). Grup K ve Grup E içerisinde 7., 14. ve 28. günler arasında defekt derinliği yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 11). Diyabetik grup içerisinde Grup B Grup K ve Grup E’de 7., 14. ve 28. günler arasında defekt derinliği yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 12).

Tablo 11: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre defekt derinliği

Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik				p ^b	p ^c	p ^d
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a			
Grup B	2017,5 (1616,5-2185,2) ^f	1764,0 (1328,7-2261,0) ^g	904,5 (836,0-937,5) ^{f,g,h}	0,003	1794,5 (1344,7-2098,2)	2053,5 (1682,5-2576,0)	1572,0 (1192,2-2016,5)	0,279	0,589	0,310	0,002
Grup K	1715,5 (1519,0-1981,0)	1617,5 (1326,5-1998,7)	1378,5 (1048,7-1643,7)	0,220	1408,0 (1142,0-1878,0)	1215,0 (694,7-2369,2)	555,0 (497,5-967,5)	0,049	0,394	0,589	0,065
Grup E	2457,5 (1874,7-2832,7)	2097,5 (1983,7-2227,7)	1830,0 (1586,2-2151,2) ^h	0,149	2038,0 (1605,0-2451,7)	1770,5 (1571,5-2463,0)	1879,0 (1102,0-2052,7)	0,557	0,485	0,310	0,818
p^e	0,148	0,220	0,004		0,121	0,372	0,014				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

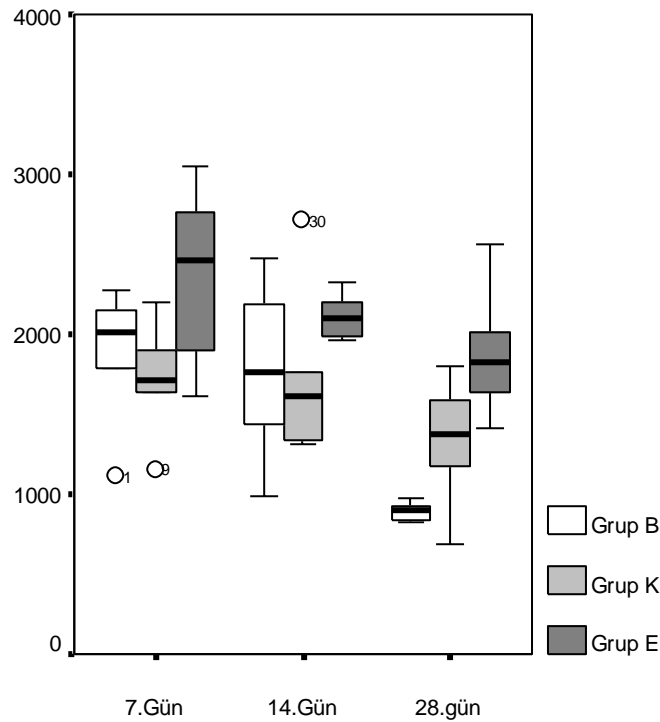
f 7. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

g 14. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

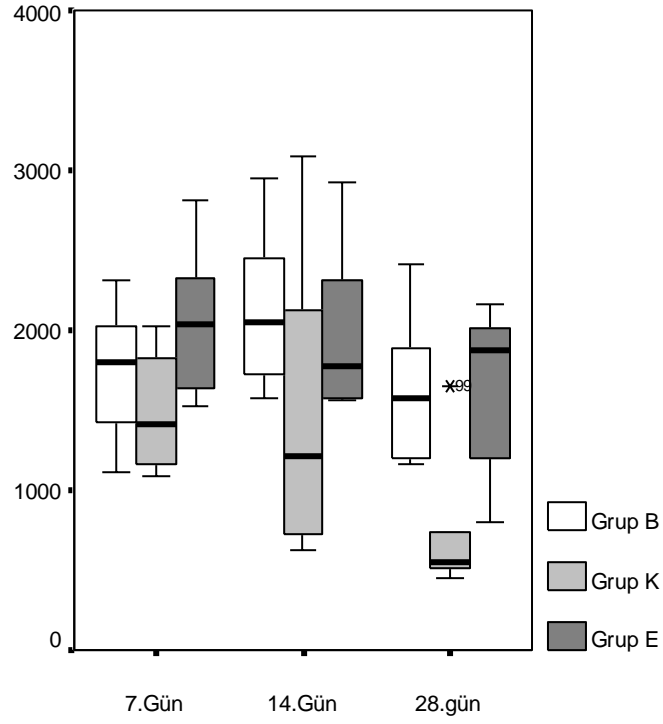
h Grup B ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

Sağlıklı grupta 28. günde yapılan cerrahilere göre de defekt derinliğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,004$). Söz konusu farkın kaynağı, Grup E'ye göre Grup B'deki defekt derinliğinin daha düşük bulunmasından kaynaklıydı ($p=0,002$). Benzer şekilde, diyabetik grupta 28. günde yapılan cerrahiler arasında da defekt derinliği yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre anlamlı farklılık yok idi ($p=0,014$)

28. günde B tipi cerrahi yapılan olgular içerisinde sağlıklı grubun defekt derinliği diyabetik gruba göre anlamlı olarak daha düşük idi ($p=0,002$).



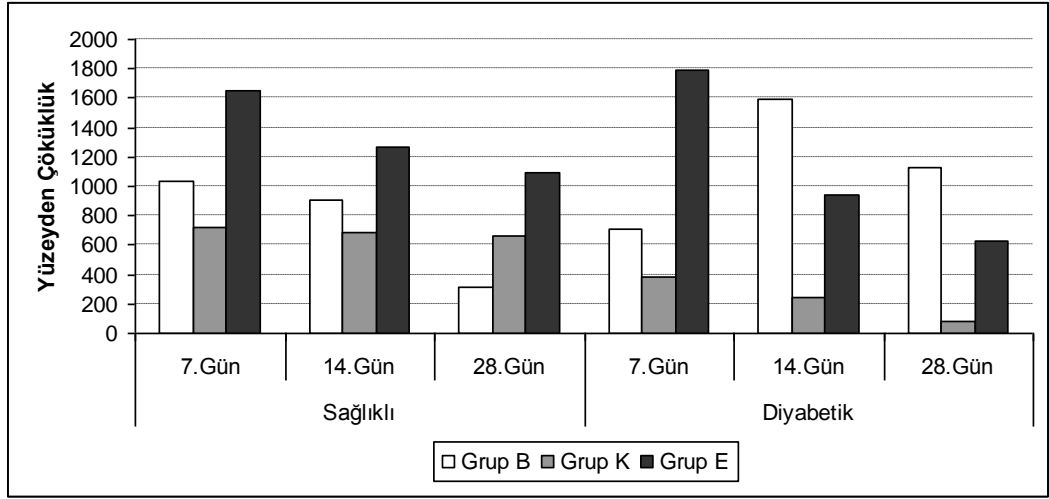
Grafik 11: Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt derinliği



Grafik 12: Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre defekt derinliği

4.3.4. YüzeYden Çöküklüğü Değerlendirilmesi

Görüntü analiz programı ile tekniklere ve günlere göre elde edilen defektin yüzeYden çöküklüğü değerlendirilmiş ve Tablo 12'de verilmiştir (Grafik 13).

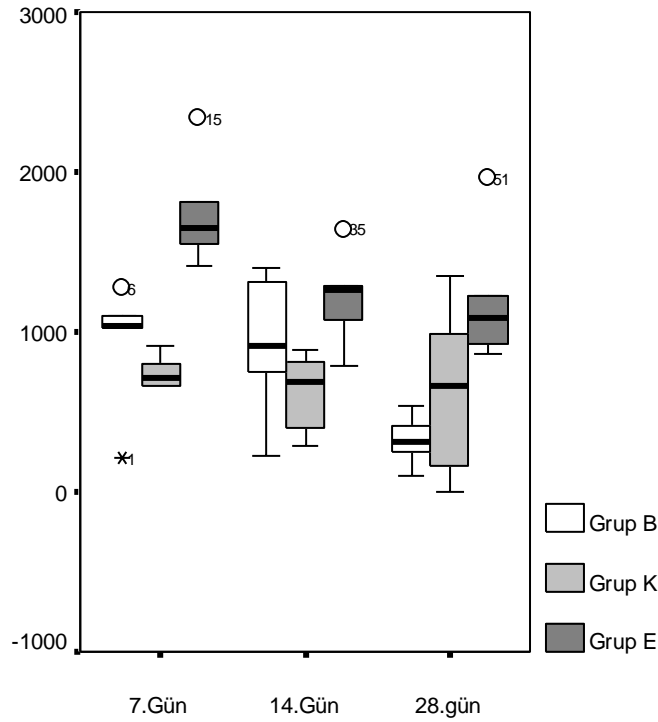


Grafik 13: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yüzeYden çöküklük

Sağlıklı ve diyabetik gruplar içerisinde sırasıyla; Grup B, Grup K ve Grup E içerisinde 7., 14. ve 28. günler arasında yüzeYden çöküklük yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$) (Grafik 14-15).

Grup B'de 7. ve 14. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında yüzeYden çöküklük yönünden Bonferroni

Düzeltilmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Buna karşın 28. gündeki yüzeyden çöküklük sağlıklı gruba göre diyabetik grupta istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p=0,002$). Grup K'da 7. gündeki yüzeyden çöküklük sağlıklı gruba göre diyabetik grupta istatistiksel anlamlı olarak daha düşük iken ($p=0,002$) 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında yüzeyden çöküklük yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup E'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında yüzeyden çöküklük yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).



Grafik 14: Sağlıklı grupta yapılan işlem ve günlere göre yüzeyden çöküklük

Tablo 12: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre yüzeyden çöküklük

Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik						
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	p ^b	p ^c	p ^d
Grup B	1033,5 (825,7-1144,7) ^h	909,0 (613,7-1331,2)	309,5 (210,2-443,2) ^f	0,050	706,5 (601-810,2)	1590,0 (956,7-1856,7)	1126,0 (803,7-1253,0) ^g	0,013	0,065	0,065	0,002
Grup K	718,5 (661,2-824,7) ⁱ	686,5 (375,5-829,5)	665,5 (125,2-1076,0)	0,755	381,0 (216,0-593,7) ⁱ	240,0 (131,2-2015,7)	86,0 (0-436,7) ^g	0,113	0,002	0,394	0,240
Grup E	1647,0 (1515,2-1945,5) ^{h,i}	1263,0 (1005,2-1378,2)	1092,0 (906,7-1406,2) ^f	0,030	1786,0 (1039,2-2174,5) ^{h,i}	946,0 (835,0-1250,5)	633,5 (414,0-1056,2)	0,021	1,000	0,310	0,026
p^e	<0,001	0,032	<0,001		<0,001	0,281	<0,001				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

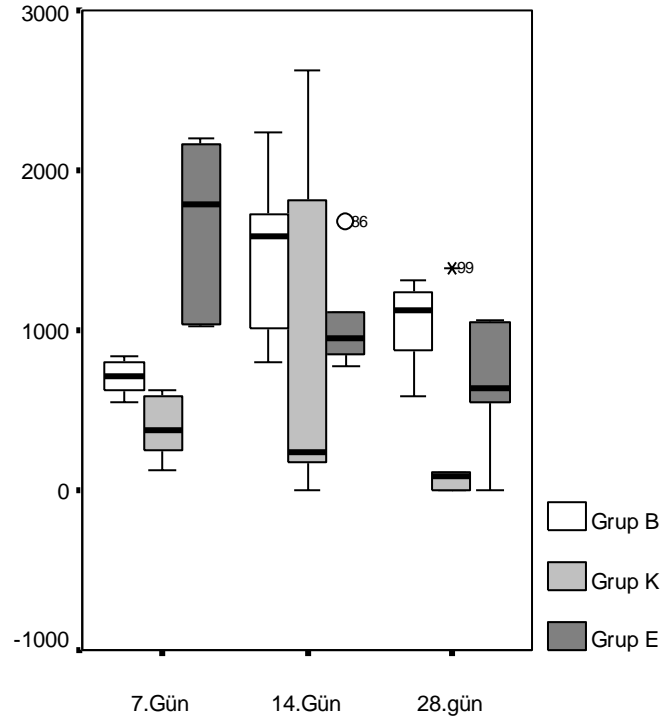
d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

f Grup B ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

g Grup B ile Grup K arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

Sağlıklı grup içerisinde 7. günde cerrahi uygulamaya göre yüzeyden çöküklük düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p < 0,001$). Grup B ve Grup K'ya göre Grup E'deki yüzeyden çöküklük miktarı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p = 0,002$ ve $p = 0,002$). Grup B ile Grup K arasında yüzeyden çöküklük miktarı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p = 0,065$). Sağlıklı grupta 14. gün içerisinde cerrahi tipine göre yüzeyden çöküklük yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($p > 0,008$), 28. günde yapılan cerrahilere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,001$). Söz konusu farkın kaynağı, Grup E'ye göre Grup B'deki yüzeyden çöküklüğün daha düşük bulunmasından kaynaklıydı ($p = 0,002$). Diyabetik grup içerisinde de 7. günde cerrahi uygulamaya göre yüzeyden çöküklük düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p < 0,001$). Grup B ve Grup K'ya göre Grup E'deki yüzeyden çöküklük miktarı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p = 0,002$ ve $p = 0,002$). Grup B ile Grup K arasında yüzeyden çöküklük miktarı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p = 0,015$). Diyabetik grupta 14. gün içerisinde cerrahi tipine göre yüzeyden çöküklük yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($p > 0,008$), 28. günde yapılan cerrahilere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,001$). Söz konusu farkın kaynağı, Grup K'ya göre Grup B'deki yüzeyden çöküklüğün daha yüksek bulunmasından kaynaklıydı ($p = 0,002$).

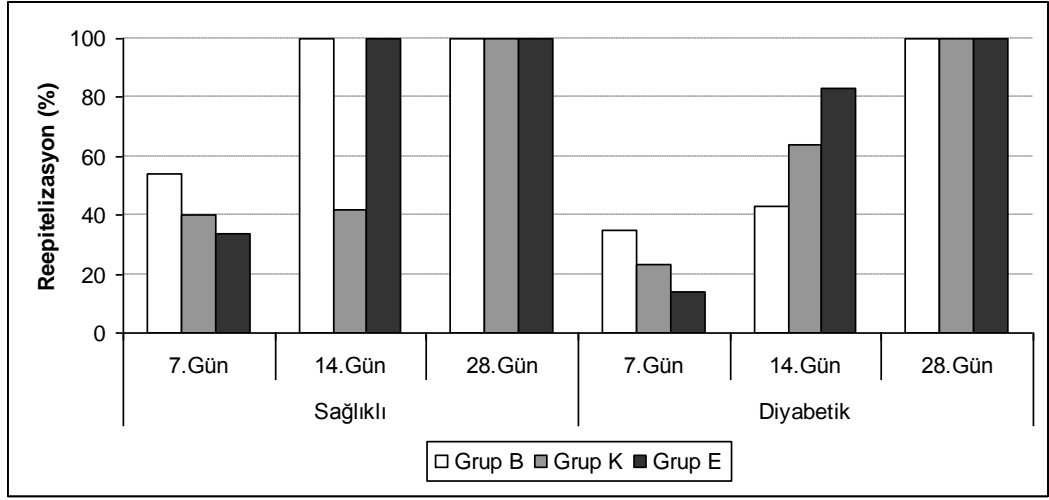


Grafik 15: Diyabetli grupta yapılan işlem ve günlere göre yüzeyden çöküklük

4.3.5. Reepitelizasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Görüntü analiz programı ile tekniklere ve günlere göre elde edilen reepitelizasyon düzeyleri değerlendirilmiş ve Tablo 13'de verilmiştir.

Sağlıklı grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,004$). 7. gün ile 14. gün arasında ve 14. gün ile 28. gün arasında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p=0,015$ ve $p=0,699$) 7. güne göre 28. gündeki reepitelizasyon düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,007$). Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,006$). 7. gün ile 14. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p=0,937$), 7. ve 14. güne göre 28. gündeki reepitelizasyon düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$ ve $p=0,007$). Sağlıklı grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,003$). 7. güne göre 14. gündeki reepitelizasyon düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,002$). Buna karşın, 7. gün ile 28. gün arasında ve 14. gün ile 28. gün arasında Bonferroni Düzeltmesine göre reepitelizasyon yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,026$ ve $p=0,394$) (Grafik 16).



Grafik 16: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre reepitelizasyon düzeyleri

Diyabetik grup içerisinde Grup B’de 7., 14. ve 28. günler arasında reepitelizasyon düzeyleri yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,009$). Grup K’da ise 7., 14. ve 28. günler arasında reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). 7. güne göre 14. ve 28. günlerdeki reepitelizasyon düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,004$ ve $p=0,002$). Buna karşın 14. gün ile 28. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,065$). Grup E’de de 7., 14. ve 28. günler arasında reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). 7. güne göre 14. ve 28. günlerdeki reepitelizasyon düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$ ve $p=0,002$). Buna karşın 14. gün ile 28. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,180$).

Grup E'de ise 7. günde sağlıklı gruba göre diyabetik grupta reepitelizasyon düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük iken ($p=0,004$), 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında reepitelizasyon yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).

Sağlıklı grup içerisinde 7.günde cerrahi uygulamaya göre reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,148$). Sağlıklı grup içerisinde 14. günde cerrahi uygulamaya göre reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,004$). Grup B ile Grup K arasında ve Grup B ile Grup E arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,310$ ve $0,818$), Grup K'ya göre Grup E'deki reepitelizasyon düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p=0,007$). Sağlıklı grup içerisinde 28. günde de cerrahi uygulamaya göre reepitelizasyon düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,148$). Diyabetik grup içerisinde ise sırasıyla; 7., 14. ve 28. günlerde cerrahi uygulamaya göre reepitelizasyon düzeyleri yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$).

Tablo 13: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre reepitelizasyon düzeyleri

Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik						
	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	p ^b	p ^c	p ^d
Grup B	53,9 (44,4-79,3) ^f	100 (97,0-100)	100 (100-100) ^f	0,004	35,3 (25,3-41,5)	43,1 (22,9-100)	100 (100-100)	0,009	0,015	0,093	1,000
Grup K	40,4 (32,9-78,2) ^f	41,8 (24,6-65,0) ^{g,i}	100 (100-100) ^{f,g}	0,006	22,7 (10,6-34,0) ^{f,h}	63,8 (42,8-100) ^h	100 (100-100) ^f	<0,001	0,065	0,180	1,000
Grup E	34,2 (7,5-46,5) ^h	100 (100-100) ^{h,i}	100 (48,9-100)	0,003	13,7 (11,2-19,6) ^{f,h}	83,3 (46,4-100) ^h	100 (100-100) ^f	<0,001	0,004	0,180	0,394
p^e	0,148	0,004	0,120		0,038	0,438	1,000				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

f 7. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

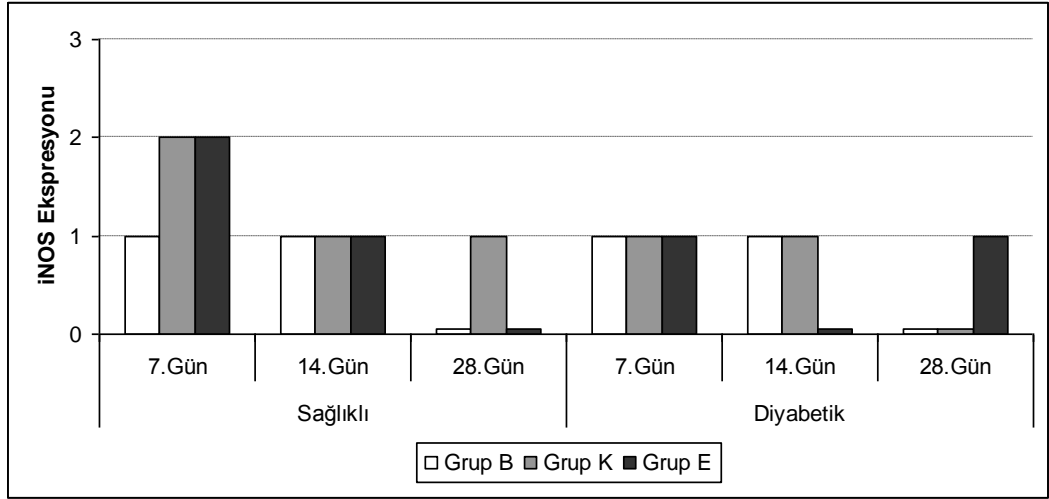
g 14. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

h 7.gün ile 14.gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

i Grup K ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

4.4. iNOS'un Değerlendirilmesi

iNOS ekspresyonu için enflamatuvar hücrelerdeki sitoplazmik boyanmalar pozitif olarak kabul edilirken, her örnek iNOS ekspresyonu (Grafik 17) iNOS ekspresyon yoğunluğu gösteren hücrelerin yüzdesine göre derecelendirildi (Tablo 14).

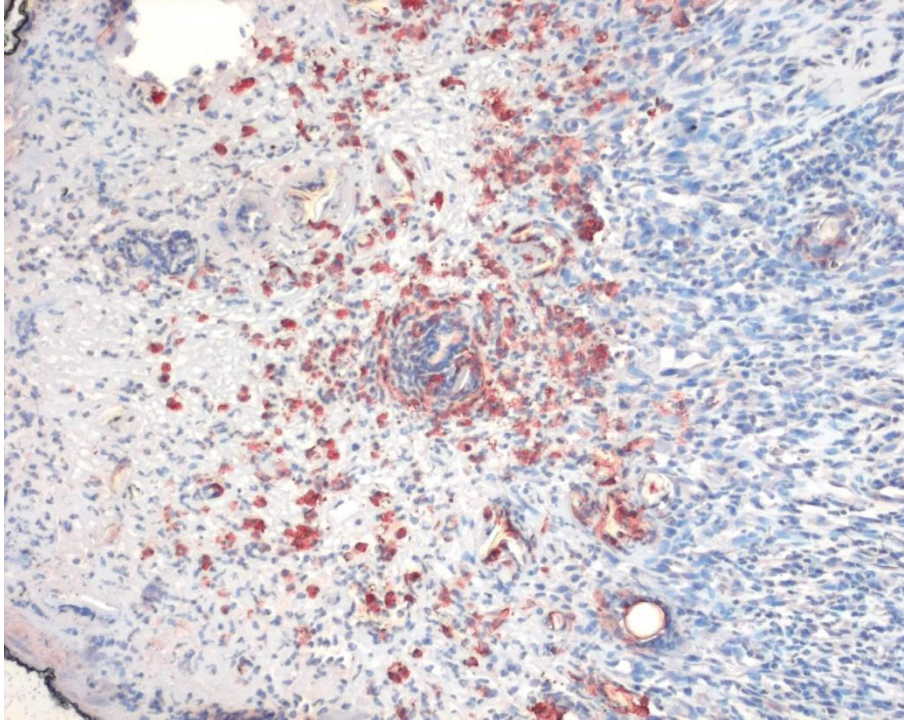


Grafik 17: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre iNOS ekspresyonu skorlarının dağılımı

Yapılan analizlere göre sağlıklı grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0,001$). 7. gün ile 14. gün ve 7. gün ile 28. gün arasında iNOS ekspresyonu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p = 0,394$ ve $p = 0,015$), 14. güne göre 28. gündeki iNOS ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p = 0,002$). Sağlıklı grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0,001$). 7. gün (Resim 12) ile 14. gün ve 7. gün ile 28. gün arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken

($p=0,394$ ve $p=0,015$), 14. güne göre 28. gündeki iNOS ekspresyon yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$).

Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,007$). 7. gün ile 14. gün ve 14. gün ile 28. gün arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,065$ ve $p=0,485$), 7. güne göre 28. gündeki iNOS ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$). Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,003$). 7. gün ile 14. gün ve 14. gün ile 28. gün arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,065$ ve $p=0,485$), 7. güne göre 28. gündeki iNOS ekspresyon yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$).



Resim 12 : Grup B' de 7. güne ait örnekte iNOS ekspresyon yoğunluğu gösteren, kahverengi boyanan hücreler izlenmektedir. (ABCx100)

Tablo 14: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre iNOS ekspresyonu ve iNOS ekspresyon yoğunluğu

Değişkenler	Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik				p ^b	p ^c	p ^d
		7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a			
iNOS Ekspresyonu	Grup B	1 (0,75-1) ^{ij}	1 (1-1,25) ^f	0 (0-0) ^f	<0,001	1 (1-1,25)	1 (0-2)	0 (0-1,25)	0,246	0,394	0,818	0,394
	Grup K	2 (2-2) ^{gi}	1 (0,75-1,5)	1 (0-1) ^g	0,007	1 (1-1) ^g	1 (0-1)	0 (0-0) ^g	0,003	0,002	0,485	0,065
	Grup E	2 (2-2) ^{gh,j}	1 (0,75-1) ^h	0 (0-1) ^g	<0,001	1 (0,75-1,25)	0 (0-1)	1 (0,75-1)	0,109	0,015	0,180	0,180
	p ^e	<0,001	0,514	0,059		0,729	0,296	0,028				
iNOS Ekspresyon Yoğunluğu	Grup B	1 (0,75-1) ^{ij}	1 (1-1,25) ^f	0 (0-0) ^f	<0,001	1 (1-1,25)	1 (0-2)	0 (0-1)	0,086	0,394	0,818	0,394
	Grup K	2 (2-2) ^{gi}	2 (1,5-2)	1 (0-1) ^g	0,003	1,5 (1-2) ^g	1 (0-1)	0 (0-0) ^g	0,002	0,180	0,041	0,065
	Grup E	2 (2-2) ^{gh,j}	1 (0,75-1) ^h	0 (0-1) ^g	<0,001	1 (0,75-1,25)	0 (0-1)	1 (0-1)	0,161	0,015	0,180	0,394
	p ^e	<0,001	0,048	0,059		0,284	0,296	0,059				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,006 için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,008 için istatistiksel olarak anlamlı).

f 14. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

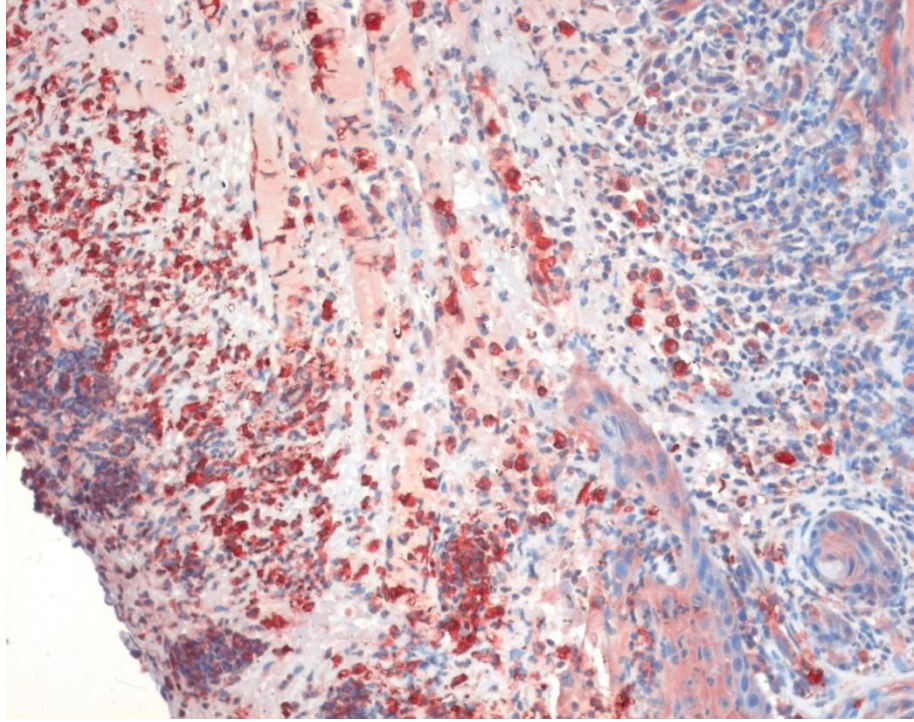
g 7. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

h 7. gün ile 14. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

i Grup B ile Grup K arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

j Grup B ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,008).

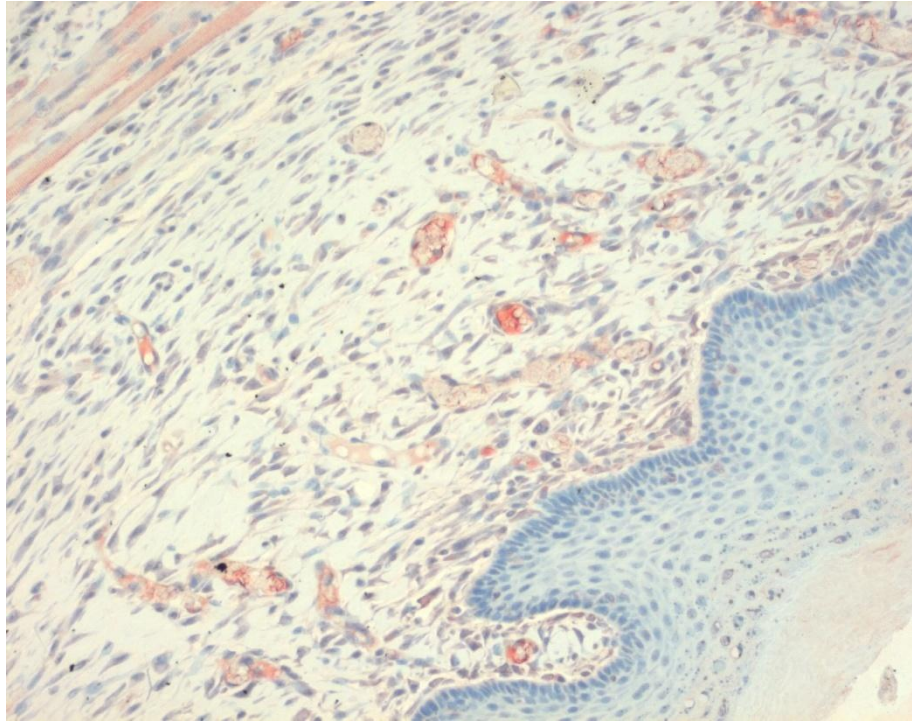
Sağlıklı grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). 7. güne göre (Resim 13) 14. gün ve 28. gündeki iNOS ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$ ve $p=0,002$). 14. gün ile 28. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,180$). Sağlıklı grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$). 7. güne göre 14. gün ve 28. gündeki iNOS ekspresyon yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$ ve $p=0,002$). 14. gün ile 28. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,180$).



Resim 13: Grup E' de 7. güne ait örnekte yaygın ve yoğun iNOS ekspresyon yoğunluğu gösteren, kahverengi boyanan hücreler izlenmektedir. (ABCx100)

Diyabetik grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyonu ve iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,246$ ve $p=0,086$).

Diyabetik grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,003$). 7. gün ile 14. gün ve 14. gün ile 28. gün arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,394$ ve $p=0,065$), 7. güne göre 28. gündeki iNOS ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$). Diyabetik grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,002$). 7. gün ile 14. gün ve 14. gün ile 28. gün arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,065$ ve $p=0,065$), 7. güne göre 28. gündeki (Resim 14) iNOS ekspresyon yoğunluğundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$).



Resim 14: 28. günde sağlıklı Grup K'da iNOS ekspresyon yoğunluğu gösteren kahverengi boyanan hücreler izlenmektedir. (ABCx200)

Diyabetik grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında iNOS ekspresyonu ve iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,109$ ve $p=0,161$).

Grup B'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında iNOS ekspresyonu ve iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).

Grup K'da 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında iNOS ekspresyonu ve iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). 7. günde sağlıklı grubun iNOS ekspresyonu diyabetik gruba göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,003$). Grup E'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında iNOS ekspresyonu ve iNOS ekspresyon oranı yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).

Sağlıklı grup içerisinde 14. günde ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,514$ ve $p=0,059$). Sağlıklı grup içerisinde 14. günde ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,048$ ve $p=0,059$). Sağlıklı grup içerisinde 7. günde Grup B'deki iNOS ekspresyonu Grup K ve Grup E'ye göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0,002$ ve $p=0,002$). Grup K ile Grup E arasında iNOS ekspresyonu yönünden istatistiksel

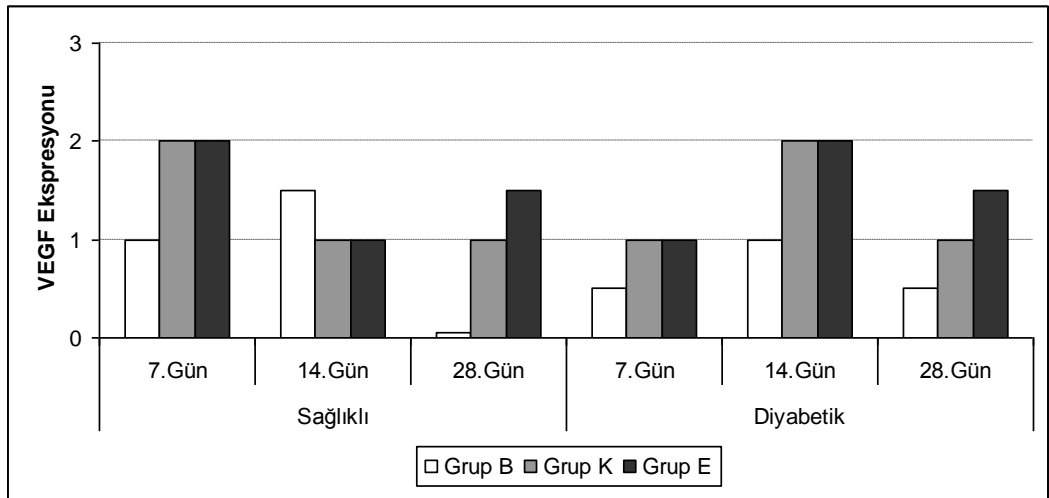
olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=1,000$). Sağlıklı grup içerisinde 7. günde Grup B'deki iNOS ekspresyon yoğunluğu Grup K ve Grup E'ye göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p=0,002$ ve $p=0,002$). Grup K ile Grup E arasında iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=1,000$).

Diyabetik grup içerisinde 7., 14. ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre iNOS ekspresyonu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,729$; $p=0,296$ ve $p=0,028$). Diyabetik grup içerisinde 7., 14. ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre iNOS ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,284$; $p=0,296$ ve $p=0,059$).

4.5. VEGF'nin Değerlendirilmesi

VEGF ekspresyon yoğunluğu pozitif enflamatuvar hücrelerin ve fibroblastların toplam hücrelere olan oranı şeklinde değerlendirildi (Tablo 15).

Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında VEGF pozitiflik oranı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,006$) (Grafik 18). 7. gün ile 14. gün ve 14. gün ile 28. gün arasında VEGF ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,065$ ve $p=0,240$), 7. güne göre 28. gündeki VEGF ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,006$). Sağlıklı grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden de istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,007$). 7. gün ile 14. gün ve 14. gün ile 28. gün arasında VEGF ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p=0,015$ ve $p=0,240$), 7. güne göre 28. gündeki VEGF ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$).



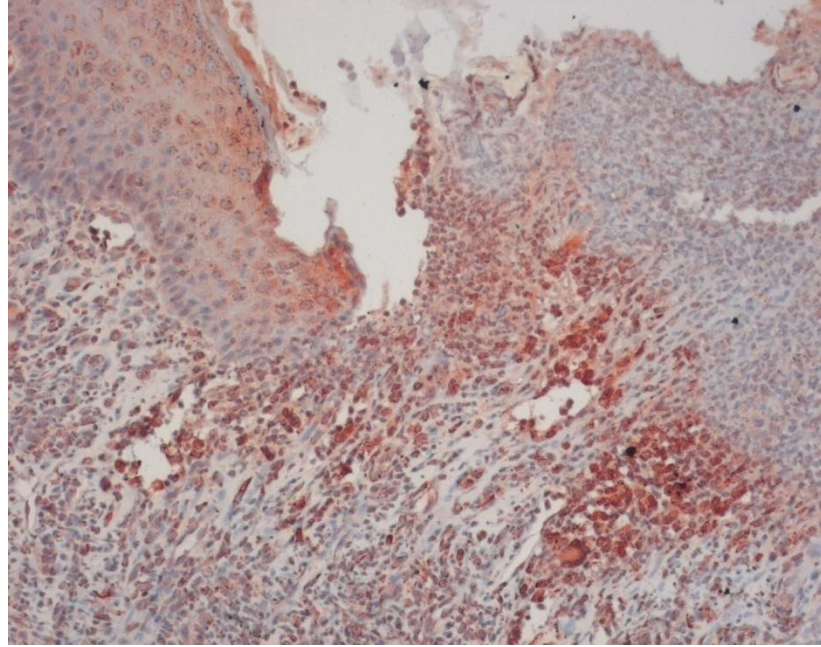
Grafik 18: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre VEGF ekspresyonu skorlarının dağılımı

Sağlıklı grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında VEGF ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,003$). 7. güne göre 14. gündeki VEGF ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı iken ($p=0,002$), 7. gün ile 28. gün arasında ve 14. gün ile 28. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,065$ ve $p=0,180$). Sağlıklı grup içerisinde Grup E'de 7., 14. ve 28. günler arasında VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,151$).

Diyabetik grup içerisinde Grup B'de 7., 14. ve 28. günler arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,410$ ve $p=0,171$). Diyabetik grup içerisinde Grup K'da 7., 14. ve 28. günler arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,047$ ve $p=0,301$). Diyabetik grup içerisinde Grup E'de 7., 14. (Resim 15) ve 28. günler arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,085$ ve $p=0,075$).

Grup B'de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup K'da 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$). Grup E'de de 7., 14. ve 28. günler içerisinde sağlıklı grup ile diyabetik grup arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni

Düzeltilmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,006$).



Resim 15 : Diyabetik Grup E'de 14. günde VEGF ekspresyonu gösteren kahverengi ile boyanan hücreler

Sağlıklı grup içerisinde 14. günde ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre VEGF ekspresyonu yönünden Bonferroni Düzeltilmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,119$ ve $p=0,026$). Sağlıklı grup içerisinde 14. günde ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden Bonferroni Düzeltilmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,738$ ve $p=0,009$). Sağlıklı grup içerisinde 7. günde cerrahi işlemler arasında VEGF ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,006$). Grup B'deki VEGF ekspresyonu Grup B'ye göre Grup E'de istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,007$). Grup B ile Grup K arasında ve Grup K ile Grup E arasında VEGF ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yok idi ($p=0,041$ ve $p=0,240$). Sağlıklı grup içerisinde 7. günde cerrahi işlemler arasında VEGF

ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,007$). Grup B'deki VEGF pozitifliği Grup B'ye göre Grup K'da istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,006$). Grup B ile Grup E arasında ve Grup K ile Grup E arasında VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,041$ ve $p=0,240$).

Diyabetik grup içerisinde 7., 14. ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre VEGF ekspresyonu yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$). Diyabetik grup içerisinde 7., 14. ve 28. günde cerrahi uygulamaya göre VEGF ekspresyon yoğunluğu yönünden de istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,008$).

Tablo 15: Gruplara, günlere ve yapılan cerrahiye göre VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu

Değişkenler	Cerrahi	Sağlıklı				Diyabetik						
		7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	7.Gün	14.Gün	28.Gün	p ^a	p ^b	p ^c	p ^d
VEGF Ekspresyonu	Grup B	1 (0,75-1,25) ^e	1,5 (1-2)	0 (0-0,5)	0,037	0,5 (0-1)	1 (0,75-1,25)	0,5 (0-1,25)	0,410	0,240	0,240	0,485
	Grup K	2 (1,75-2) ^f	1 (1-1,25)	1 (0-1) ^f	0,006	1 (0-1)	2 (1-2)	1 (0,75-1,5)	0,047	0,009	0,180	0,485
	Grup E	2 (2-3) ^g	1 (1-1)	1,5 (1-2)	0,003	1 (1-1,25)	2 (1,75-2,25)	1,5 (0,75-2)	0,085	0,009	0,015	0,818
	p ^e	0,006	0,119	0,026		0,096	0,043	0,348				
VEGF Ekspresyon Yoğunluğu	Grup B	1 (0,75-1,25) ^h	1 (1-1,25)	0 (0-0,25)	0,012	0,5 (0-1)	1,5 (0,75-2)	0,5 (0-1,25)	0,171	0,240	0,589	0,310
	Grup K	2 (2-2) ^{f,h}	1 (1-1,25)	1 (0-1) ^f	0,002	1 (0-2)	2 (1-2)	1 (0,75-2)	0,301	0,065	0,180	0,310
	Grup E	2 (1,75-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	0,151	1 (1-1,25)	2 (1,75-2)	1 (0,75-2)	0,075	0,065	0,180	0,818
	p ^e	0,007	0,738	0,009		0,199	0,423	0,427				

a Sağlıklı ve Diyabetik gruplarda cerrahi türler içerisinde zamana göre yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

b Cerrahi türler içerisinde 7. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

c Cerrahi türler içerisinde 14. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

d Cerrahi türler içerisinde 28. günde Sağlıklı grup ile Diyabetik grup arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,006$ için istatistiksel olarak anlamlı).

e Günler içerisinde sağlıklı ve diyabetik gruplarda cerrahi türler arasında yapılan karşılaştırmalar (Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,008$ için istatistiksel olarak anlamlı).

f 7. gün ile 28. gün arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

g Grup B ile Grup E arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

h Grup B ile Grup K arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$).

5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi farklı biyolojik ve immünolojik sistemleri kapsayan bir süreçtir.²¹ Bu süreç dokunun hasarlanması sonucu pıhtı oluşumu, enflamatuvar hücrelerin birikimi, granülasyon dokusunun oluşumu, yara kontraksiyonu ve oluşan destek dokunun sağlamaştırılması basamaklarını içerir.^{21,80,81} Bu kompleks sürecin daha iyi anlaşılması klinisyenlerin yara iyileşmesine ve olası başarısızlıklara yaklaşımında yardımcı olur.²¹

Bu çalışmada, yara iyileşmesi, deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratlarla, normal ratların dil dorsumlarında oluşturulan yaraların immünohistokimyasal boyamalarını takiben yapılan histopatolojik ve histomorfometrik yöntemlerle incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

D'Arcangelo ve arkadaşları⁸², Carew ve arkadaşları⁸³, Chinpairaj ve arkadaşları⁸⁴ ve Alonso ve arkadaşları^{2,85}, yaptıkları çalışmalarda yara modeli olarak rat oral dokularını kullanmışlardır. Liboon ve arkadaşları⁸⁶, domuzlarda, Schmelzheisen ve arkadaşları⁸⁷ ise tavşanlarda oral mukozada yara iyileşmesini incelemişlerdir. Ratlarda kullanılan modelin tanımlı olması, ratların kolay temin edilebilmesi, bakım kolaylığının olması, çalışmacı tarafından tek başına müdahalelerin daha kolay yapılabilmesi, çalışmacının geçmişte rat çalışması tecrübesinin bulunması, ratlarda ve insanlarda dilin morfolojisinin benzer olması nedeniyle bu çalışmada rat modeli kullanılmıştır.²

Yara iyileşmesi üç fazda incelenebilir. İlk 3-4 gün içinde vasküler ve enflamatuvar yanıtların izlendiği enflamasyon fazı başlar. Sonraki 10-14 gün boyunca görülen proliferatif fazda epitel rejenerasyonu, neoanjiyogenez ve fibroblast proliferasyonu oluşur. Bu da daha sonra kollajen sentezine yol açar. Üçüncü faz olan yeniden şekillenme fazı 6-12 ay ya da daha uzun süren bir dönem boyunca gerçekleşir. Bu zaman boyunca orijinal immatür kollajenin yerini daha stabil tip kollajen alır.^{21,84}

D'Arcangelo ve arkadaşları⁸², rat oral dokularında diot lazer ve bistüri ile oluşturulan yara iyileşmesini karşılaştırdıkları çalışmalarında cerrahi sonrası histopatolojik değerlendirmeleri 7. ve 14. günlerde yapmıştır. Alonso ve arkadaşları² ise, bistüri ile yapılan insizyonlardaki yara iyileşmesini, kriyocerrahi sonrası gelişen yara iyileşmesiyle karşılaştırmak için yaptıkları çalışmada 7.,14. ve 28. günlerde doku örneği alarak incelemişlerdir. Bu çalışmada da yara iyileşmesi 7., 14. ve kollajen maturasyonunun net izlenebilmesi için 28. günde alınan doku örnekleri incelenerek değerlendirilmiştir.

DM, yara iyileşmesini bozan en önemli faktörlerden biridir. Diyabetle iyileşme bozukluğu arasındaki fizyopatolojik ilişki karmaşıktır.³⁸ Diyabette yara iyileşmesinde bozulma problemi hala tam anlaşılammıştır. Ancak kompleks yara iyileşme sürecinin tüm evreleri (enflamasyon, proliferasyon, anjiyogenez ve matriks oluşumu dahil) bozulmuştur. Erken iyileşme döneminde azalmış kemotaksi, fagositoz, bakteri öldürme ve antioksidan seviyelerinde azalma diyabetlilerde iyileşme sürecindeki bozukluklarla ilişkili bulunmuştur.⁸⁸

Diyabetlilerde, iyileşmenin geç fazlarında da büyüme faktörü eksikliği, glukokortikoid seviyelerinde artma, azalmış hücre proliferasyonu ve apoptoziste artış görülür. Bunlar da daha zayıf granülasyon dokusu oluşumu ile sonuçlanır. Düz kaslarda azalmış α -aktin ekspresyonu ve adipoz doku fazlalığı da diyabette iyileşmeyi etkileyebilir.⁸⁸

Komesu ve arkadaşlarının⁸¹ ratlarda yara iyileşmesinde akut diyabetin etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, yaralanmayı takiben 1., 3. ve 7. günlerde aldıkları örneklerde enflamasyon derecesini değerlendirmişlerdir. Diyabetik ratlarda enflamasyon fazının daha geç başladığını ve kronik enflamasyonun daha uzun sürme eğiliminde olduğunu göstermişlerdir.⁸¹

Diyabetik hayvan modelleri, diyabetin etyopatogenezinin ve uzun dönemli komplikasyonlarının incelenmesinde giderek daha çok kullanılır hale gelmektedir. Biyomedikal çalışmalarda kullanılan, kimyasal olarak indüklenen ve spontan (genetik olarak indüklenen) geliştirilen diyabetli hayvan modelleri, en çok kullanılan iki yaygın modeldir. STZ ve alloxan, deneysel diyabeti indüklemek için kullanılan kimyasal maddelerdir.^{89,90} Bu çalışmada STZ uygulanması yoluyla deneysel diyabet modeli oluşturulmuştur.

Yara iyileşmesinde önemli rol oynadığı bilinen NO, deri vazodilatasyonu, anjiyogenez, enflamasyon ve çeşitli immün yanıtlarda görev almaktadır. Bu süreçlerin tümü yara iyileşmesine katılmaktadır.^{91,92} Deneysel modellerde, iNOS'un tek substratı olan subleman L-arginin verilmesi yara iyileşmesini hızlandırırken, diyetle L-arginin eksikliği yara

iyileşmesini geciktirmiştir. iNOS inhibisyonu ise insizyonel ve eksizyonel iyileşmeyi bozar.⁸⁸

Yamasaki ve arkadaşları⁹³, yaptıkları bir çalışmada, iNOS'u olmayan farelerde eksizyonel yaraların iyileşmesinin geciktiğini ortaya koymuştur. Çalışmacılar, iNOS inhibitörünü 14 gün boyunca sürekli vücuda veren bir pompa kullanarak inhibisyon sağlamışlar ve yaraların kapanmasında kontrol grubuna göre 4-5 günlük bir gecikme tespit etmişlerdir.⁹³

Lee ve arkadaşları⁹², yapmış oldukları bir çalışmada, NOS aktivitesinin yaralanmadan 24 saat sonra en yüksek seviyeye çıktığını göstermişlerdir. NO' nun, doku bütünlüğü bozulduktan kısa bir süre sonra maksimum seviyeye ulaşması, NO'nun non-spesifik konak immün yanıtında önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir.⁹²

Reichner ve arkadaşları⁹⁴ yaptıkları çalışmada, yaralanmadan sonraki 6-24 saat içinde yara yerindeki makrofajların çoğunda iNOS antijeninin eksprese edildiğini bulmuşlardır. iNOS pozitif makrofajların sıklığının yaralanmadan sonraki 3. ve 5. günlerde azaldığını, 10. güne gelindiğinde yaradaki çoğu makrofajın iNOS yönünden negatif olduğunu bulmuşlardır⁹⁴.

Bu çalışmada, yaralanmadan sonraki 7., 14. ve 28. günlerde incelenen iNOS ekspresyon yoğunluğunun 7. günde en yüksek seviyede olduğu ve iNOS pozitif makrofajların çoğunun deneyin sonunda iNOS yönünden negatif olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, Lee ve arkadaşları⁹²

ile Reichner ve arkadaşlarının⁹⁴ yaptıkları benzer çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Diyabette yara alanında NO eksikliği olduğu bilinmektedir. Witte ve arkadaşları⁸⁸, ekzojen nitrik oksit desteğinin diyabette yara iyileşmesindeki bozulmayı düzeltip düzeltmeyeceğini incelemişler ve nitrik oksit donörü *molsidomin*in diyabetteki bozulmuş yara iyileşme sürecini en azından kısmen düzelterebileceği sonucuna varmışlardır. Yara iyileşmesini incelerken diyabetli ve diyabetik olmayan ratlarda 7 cm'lik dorsal insizyon oluşturmuşlar ve her grubun yarısına molsidomin vermişlerdir. Kollajen metabolizması; yara dayanma gücü, hidroksprolin içeriği, kollajen tip I ve tip III için RNA ekspresyonu ve MMP2 aktivitesine bakılarak değerlendirilmiştir. Yara sıvısı, plazma NO metabolit seviyeleri ve enflamasyon hücrelerinin sayısını değerlendirmişlerdir. Hidroksprolin içeriği ve yara dayanma gücü, molsidomin tarafından anlamlı ölçüde arttırılmıştır. Yara sıvısındaki MMP2 aktivitesinin diyabetlilerde daha düşük olduğu ve NO donörleri ile arttırıldığı tespit edilmiştir.⁸⁸

Yara iyileşmesinin bozulduğu diyabet gibi durumlarda, NO metabolitlerinin oluşumunda azalma olduğu, Bulgrin ve arkadaşları,⁹⁵ Schäffer ve arkadaşları⁹⁶ ve Witte ve arkadaşlarının⁹⁷ yaptıkları çalışmalarda da gösterilmiştir. Benzer olarak bu çalışmada da, yaralanmadan sonraki 7., 14. ve 28. günlerde iNOS'un yara ortamındaki varlığı incelenmiş, iNOS ekspresyon yoğunluğu değerlendirilerek incelenmiş ve diyabette NO sentezinin eksikliği dikkat çekici bulunmuştur.

Yara iyileşmesi, birçok hücre tipi, büyüme faktörleri ve diğer proteinlerin birbirleriyle etkileşimlere girerek yürüttüğü bir süreçtir.

Araştırmacılar, bu faktörlerin iyileşmede gerçek rollerini ve iyileşme mekanizmasını ortaya çıkaracak çalışmalar yapmaktadırlar. Herhangi bir nedenle dokudaki damarlar yaralandığında, pıhtı formasyonundaki rollerinin yanı sıra yara iyileşmesini başlatan ve destekleyen büyüme faktörlerini salgılama fonksiyonlarından dolayı, yara bölgesinde trombositlerin yoğunluğu artar. Yara bölgesinde, trombositlerin sayıca artması, trombosit kaynaklı PDGF, TGF- β , IGF, EGF, FGF ve VEGF gibi başlıca büyüme faktörlerinin de yara bölgesindeki yerel yoğunluklarının artması anlamına gelmektedir.⁹⁸

Barleon ve arkadaşları⁹⁹, yapmış oldukları bir çalışmada VEGF'nin enflamasyonda makrofaj kemotaksisinde rolü olduğunu göstermişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre, VEGF'nin makrofajların aktivasyonuna yardımcı olduğu; endotel hücreleri üzerine direkt etki yaparak neoplastik ve enflamatuvar dokuların anjiyogenezine neden olduğu ve indirekt olarak da makrofaj aktivasyonunu desteklediği ortaya konmuştur.

Oral mukoza deriden daha hızlı iyileşir; ancak oral mukoza ve deride iyileşme mekanizmaları arasındaki farklılıkları araştıran çok az çalışma vardır. Yaralanmaya bağlı perfüzyon bozulmalarında olduğu gibi lokal hipoksi görülürse hücreler VEGF üretimini arttırarak buna cevap verir. VEGF yara anjiyogenezinin en önemli mediyatörüdür ve VEGF üretimi, yeterli besin, oksijen ve enflamatuvar hücre sağlamak için kapiller gelişimini stimüle eder. Yara iyileşmesi sırasında kapiller yoğunluk normal dokudakinin iki katından fazlasına ulaşır, bu da doku oksijen seviyelerinin artmasına sebep olur. Normal O₂ seviyesine ulaşınca, VEGF üretimi azalır, bu da anjiyojenik dönemin ön aşamasının sonuna gelindiğine işaret eder.¹⁰⁰

Diyabetik hastalarda zayıf enflamatuvar cevaba, zayıf granülasyon doku formasyonuna, anormal sitokin salınımı ve cevabına bağlı olarak yara iyileşmesinde gecikme görülebilir. Normal doku iyileşmesi sırasında anjiyogenezi stimüle eden en önemli faktör olan VEGF'nin diyabetik hastalarda düzenlenmesi bozulmuştur. Kirchner ve arkadaşları¹⁰¹, VEGF'nin etkilerini araştırmak için yapmış oldukları çalışmada, genetik olarak diyabet oluşturulmuş fareler ile diyabetik olmayan farelerde hazırladıkları yara modelini kullanmışlardır. Çalışmanın sonucunda, diyabetik gruplarda 5. günde akut enflamasyonun azalmış olduğunu görmüşlerdir. VEGF uygulanan grupta VEGF ile kesin ilişkilendirilebilecek değişiklikler saptanamamışlardır.¹⁰¹

Bu çalışmada, normal fizyolojik süreçte önemli rollerinin yanı sıra patolojik vaskülogenez ve anjiyogenezde de rol oynayan güçlü bir anjiyogenez faktörü olan ve diyabetik komplikasyonların gelişiminde etkili olduğu düşünülen VEGF'nin yara ortamındaki sentezi incelenmiştir. Diyabet oluşturulan grupta sağlıklı grup arasında VEGF ekspresyonu ve VEGF ekspresyon yoğunluğu arasında anlamlı farklılık bulunmasa da VEGF'nin diyabetik grupta daha az sentezlendiği görülmüş; fakat VEGF ile ilişkilendirilebilecek kesin sonuçlar saptanamamıştır. Bu sonuca göre diyabette, iyileşme problemlerine, VEGF'nin etkilerinin yanı sıra, zayıf enflamatuvar reaksiyon, enflamatuvar hücrelerdeki artmış apoptozis ve bunun yanı sıra yara çevresindeki azalmış lökosit migrasyonunun katkıda bulunabileceği düşünülebilir.

Brown ve arkadaşları,¹⁰² VEGF'nin normal yara iyileşmesinde salınımını incelemek için yaptıkları çalışmada, VEGF ekspresyonunun 3. günde en yüksek seviyeye ulaştığını ve 3 haftadan sonra normal düzeylere döndüğünü göstermiştir.¹⁰² Bu çalışmada sağlıklı

kriyocerrahi grubunda VEGF pozitiflik oranları açısından anlamlı fark bulunmuştur. 7. güne göre 28. günde VEGF pozitiflik oranı belirgin bir şekilde azalmıştır. Sağlıklı elektrocerrahi grubunda ise 7. güne göre 14. günde VEGF pozitiflik oranında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen verilere göre yara iyileşmesinin erken döneminde VEGF salınımının yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar Brown ve arkadaşlarının¹⁰² çalışmasının sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Diş hekimliğinde oral yumuşak dokulara uygulanacak cerrahi işlemler için en sık bistüri, elektrocerrahi ve lazer teknikleri kullanılır. Bu metotların hepsi kullanışlı olmakla beraber, farklı özellikleri mevcuttur. Hemostaz, iyileşme zamanı, enstrümanların fiyatı, kesme genişliği, anestezi gereksinimi gibi özelliklerinin yanı sıra, duman yayması, yanmış et kokusu çıkarması, hoş olmayan tat bırakması gibi kabul edilemeyebilir özelliklerinin olması, enstrüman seçiminde etkili kriterlerdir. Bu çalışmada, oral cerrahide sık kullanılmaları nedeniyle kriyocerrahi, elektrocerrahi ve normal bistüri teknikleriyle yara modeli oluşturulmuştur.⁷⁷

Sıvı nitrojenin -196 C derecelik bir buharlaşma ısısı vardır ve teorik olarak bu ısıyı dokularda oluşturabilir. Dokularda -25 C derecenin altındaki ısılar, buz kristal oluşumu ve elektrolit dengesizliğinin kombinasyonu ile genellikle hücre ölümüne neden olur. Böylece sıvı nitrojen kriyoprobları ve kriyospreyleri oral kavite dahil bir çok bölgede doku ölümünü sağlamak için kullanılabilir.¹⁰³ Kriyoterapi uygularken daha fazla hasar temin etmek için ani donmayı izleyen, donma-erime sikluslarının tekrarlanması gereklidir. Mallon ve arkadaşları¹⁰⁴ yüzünde bazal hücreli karsinom bulunan hastalara yapmış oldukları çift donma-erime siklusunda %95,3 kür elde ederken, tek donma-erime siklusu ile

%79,4 kür elde etmişlerdir.¹⁰⁴ Alonso ve arkadaşları,² rat dillerinde yapmış oldukları çalışmada sıvı nitrojen kullanmışlardır. Sıvı nitrojeni 15 saniye dokuya tatbik etmişler, 75 saniye erimeye bırakmışlar ve 15 saniye boyunca tekrar uygulamışlardır. Uygulanan bu donma-erime zamanları Pogrel ve arkadaşlarının¹⁰³ fare abdomeninde uyguladığı sürenin dörtte biridir; çünkü dorsal dilin mukozası çok daha incedir.¹⁰³ Bu çalışmada, dil dorsal yüzeyinde çalışıldığı için Alonso ve arkadaşlarının² çalışmasında belirtilen süreler kullanılmış, çift donma-erime siklusu tercih edilmiştir.

Elektrocerrahi diş hekimliğinde uzun yıllardan beri rutin olarak kullanılmaktadır.⁷⁷ Cihazın cerrahi ucu sadece keskin bir kenarla değil, her yönde kesi yapabilmektedir. Elektrocerrahideki aktif uç klasik bistüri ile kıyaslandığında, klasik bistüri hantal, kaba ve kıvrak olmayan bir alettir. Oysa elektrokoterler, ağız içindeki uygulamalarda her yönde, hızla kesebilen, küçük alanlarda “S” ler çizerek manevra yapabilen, cerrahi sırasında en az kanamaya sebep olan ve kesi yerine basınç uygulaması gerektirmeyen kullanışlı bir alet olarak ortaya çıkar.¹ Bu çalışmada hızlı hemostaz gibi bistüriye üstün özelliklerinden dolayı elektrocerrahi tekniği de kullanılmış ve sonuçları diğer tekniklerle karşılaştırılmıştır.

Bistüri ile cerrahi işlem yapılması her diş hekimi tarafından gerçekleştirilebilir. Tüm klinisyenler bistürinin yumuşak dokuda kullanılmasının negatif özellikleri konusunda fikir sahibidir. Yoğun kanama ve operasyon alanının kanla dolması sonucu görüş alanının azalması, bistüri kullanımının istenmeyen özellikleridir.⁷⁷ Bu çalışmada, oral cerrahide rutin olarak kullanılıyor olması, kullanımının basit olması, maliyetinin düşük olması, hızlı ve sorunsuz iyileşme sağlama özelliklerinden dolayı, diğer tekniklerle karşılaştırılması amacıyla bistüri tekniğinin de kullanılması tercih edilmiştir.

Sinha ve Gallagher'in³ domuz oral mukozası üzerinde bistüri, ultrasonik bistüri, CO₂ lazer ve monopolar ve bipolar elektrocerrahi ile yapmış oldukları çalışmada, tüm gruplardaki hayvanların vücut ağırlıklarının deneyin başlangıcına göre yaklaşık olarak %15-25 oranında arttığını bildirmişlerdir. En yüksek kilo alımının ise elektrocerrahi ve lazer grubunda olduğunu gözlemlemişlerdir. Bistüri ve ultrasonik bistüri grubunda da kilo alımının olduğunu belirtmişler ancak bunun normal seviyelerde olduğunu vurgulamışlardır.³

Alonso ve arkadaşları² ise ratların dil mukozasına uyguladıkları bistüri, bistüri+siyanoakrilat ve kriyocerrahi uygulaması sonrasında en yüksek kilo alımının 28. günde kriyocerrahi grubunda olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada da Sinha ve Gallagher'in³ çalışmasında olduğu gibi, sağlıklı grupta istatistiksel olarak anlamlı olmasa da başlangıçtan itibaren düzenli bir şekilde tüm gruplarda benzer olarak kilo alımının olduğu gözlenmiştir. Diyabetik grupta ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kilo kaybı gözlenmiştir. Bu kaybın diyabetin metabolizma üzerindeki yıkıcı etkilerinden kaynakladığı düşünülebilir.

Tip I diyabet hastalarında plazma insülin düzeyleri düşük ve ölçülemeyecek düzeylerde dir. Hastalara insülin tedavisi gereklidir.³⁶ Çağımızın en önemli hastalıklarından biri olan diyabet ve tedavisi üzerine yapılan çalışma sayısı son zamanlarda literatürde artış göstermektedir. Bu çalışmada, STZ uygulanması yoluyla deneysel diyabet oluşturulmuş ratların kan glukoz düzeyleri çalışmanın başlangıcından itibaren

ölçülmüştür. Ratlara diyabet tedavisi uygulanmadığı için kan glukoz seviyeleri belirgin bir artış göstermiştir.

Liboon ve arkadaşları⁸⁶, yara iyileşmesi üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, normal bistüri, CO₂ lazer, elektrokoter ve sabit-voltaj elektrokoterle domuz oral mukozası üzerinde kesi işlemi gerçekleştirmiştir. Çalışmacılar, her cerrahi enstrüman ile ayrı ayrı, hem dil, hem de yanak mukozasında eşit büyüklüklerde lezyon oluşturmuşlardır. Cerrahiden sonraki 0, 3., 7., 14., 28. ve 42. günlerde hayvanlara ötenazi uygulamışlar ve doku örneklerini incelemişlerdir. Sonuç olarak, cerrahi bistürinin çevre dokuda en az hasar oluşturduğunu, en hızlı kesme işleminin en az kanama ile elektrokoterle gerçekleştirildiğini göstermişlerdir. CO₂ lazerde, kotere göre daha da az kanama görülmüş, çevre dokuya en az hasar verilmiş, fakat aynı kesme işlemi tamamlayabilmek için lazerde sayısız hamleye, dolayısıyla daha fazla zamana gerek duyulmuştur. Kriyocerrahi, elektrocerrahi ve bistüri yöntemlerinin karşılaştırıldığı bu çalışmada, elektrocerrahi grubunda bistüri grubuna göre çok daha az kanama gözlenmiştir. Alonso ve arkadaşlarının² yapmış oldukları çalışmada bistüri ile açılan tüm yaralara suture atılması gerekmiş ve bu da bistüri tekniğinin en fazla hemoroji oluşturan bir prosedür olduğunu ortaya koymuştur. Sinha ve Gallgher³ de domuzların oral mukozası üzerinde yaptıkları bir çalışmada bistüri ile oluşturulmuş olan tüm yaralara suture atmak zorunda kalmışlardır. Bu çalışmada da bistüri ile hasar oluşturulan tüm dokularda kanama gözlenmiş ve suture kullanımı gerekmiştir.

Yaralanmayı takiben stabil pıhtının meydana gelmesi için intrinsek ve ekstrinsek pıhtılaşma faktörleri protrombini trombine, fibrinojeni fibrine çevirir. Böylece hemostaz sağlanmış olur.¹⁷ Bu

çalışmada da 7. günde tüm gruplarda görülen eksuda ve fibrin, 28. günde neredeyse kalmamıştır.

Yara iyileşmesinde granülasyon dokusu oluşumu önemlidir. Çünkü bu doku, reepitelizasyonda gereken dermal bütünlüğün sağlanması ve primer reepitelizasyonun tam olmadığı ya da hiç olmadığı durumlarda, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi için gereklidir. Ayrıca deri grefti ya da fleplerin canlı kalmasında da önemlidir.¹⁰⁵

Pollock ve arkadaşları¹⁰⁵, domuz modelinde granülasyon dokusu oluşumunu inceledikleri bir çalışmada NO, iNOS ve argininin granülasyon dokusu oluşumu ve yara iyileşmesinde önemli roller oynayabileceğini göstermişlerdir.¹⁰⁵

Amadeu ve arkadaşlarının¹⁰⁶ ratlarda yapmış oldukları bir çalışmada, eksizyonel kütanöz yara iyileşmesi sırasında NO sentez inhibisyonu indüklenmiş ve bunun; yara kontraksiyonu, enflamatuvar infiltrat, granülasyon dokusu oluşumu, neoepidermis kalınlığı ve vaskülarizasyon üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, NO sentezinin blokajının enflamatuvar hücre aktivasyon ve göçünü azaltarak, yara bölgelerinde mast hücre fonksiyonlarını değiştirerek ve özellikle de yara iyileşmesinin geç fazında kan damarlarının volüm yoğunluğunu azaltarak yara kontraksiyonunu bozduğu bulunmuştur. Çalışmacılar geç dönemde damarların volüm dansitesindeki azalmanın sebebini granülasyon dokusundaki mast hücrelerinin sayısındaki azalmaya bağlamışlardır.¹⁰⁶

Elektrocerrahi uygulamalarından sonra oluşan koagüle maddeler yara iyileşmesini geciktirebilir.⁷³ Diyabet gibi metabolik hastalıkları olan kişilerde elektrocerrahi kullanımı sonrası iyileşmede gecikmeler izlenebilir.⁷⁷ Bu çalışmada, diyabetik elektrocerrahi grubunda sağlıklı gruba göre 14. günde fibroblastik granülasyon dokusu anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Diyabetik grupta tam iyileşme ise bistüri ve kriyocerrahi grubuna göre elektrocerrahi grubunda daha zayıf bulunmuştur. Bu sonuçlar elektrocerrahi kullanımı sonucunda iyileşme sürecinin geciktiğini gösterir.

Kriyocerrahi yaralarında iyileşmenin normal iyileşmeye göre daha uzun sürdüğü bilinmektedir.⁶⁵ Alonso ve arkadaşlarının² yaptıkları çalışmada en uzun iyileşme süresi kriyocerrahi ile oluşturulan yaralarda gözlenmiştir. Pogrel ve arkadaşları da kriyocerrahi yaralarının en yavaş iyileşenler olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada da tam iyileşme yönünden, bistüri, elektrocerrahi, kriyocerrahi tekniği sağlıklı ve diyabetik gruplarda karşılaştırılmış, tam iyileşme diyabetik grupta sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde zayıf bulunmuştur.

Yara iyileşmesinde hücrelerin yara ortamına kemotaksisini fonksiyonel hücresel aktivasyon izler. Hücresel aktivasyon, lokal mediyatörlerin hücresel, biyokimyasal ve fonksiyonel özellikleri fenotipik olarak değiştirmesi anlamına gelir. Hücresel aktivasyon; yeni hücre yüzey antijen ekspresyonunu, sitotoksitede artışı, sitokinlerin üretiminde ve salınımında artışı ve diğer fenotipik değişiklikleri stimüle edebilir. Yara iyileşmesine katılan tüm hücreler aktive olmalıdır. Nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler enflamasyon sırasında dominanttır, ancak her hücre popülasyonunun yara iyileşmesinin başarılı sonuçlanmasına katkısı değişkendir. Makrofajlar ve lenfositler hayati rol oynar. Ancak nötrofillerin

rolü, bakteriyel kontaminasyonun bulunmaması kaydıyla hayati değildir; çünkü onların fagositoz ve antimikrobiyal savunmadaki rollerini makrofajlar üstlenebilir. Makrofajların aktivasyonunun yara iyileşmesinin debridman, matriks sentezi ve anjiyogenez gibi çeşitli yönleri üzerinde önemli etkileri vardır. Makrofaj aktivasyonu sitokinlerin salınımına yol açar, onlar da anjiyogenez ve fibroplaziye aracılık ederler. Yara makrofajlarının aktivasyonu, nitrik oksit sentezi ile de sonuçlanır. Yara iyileşmesine katılan başka bir çok hücre, örneğin fibroblastlar, monositler ve lenfositler de in vitro aktive olup nitrik oksit üretebilirler. Aktive makrofajlar sitokinler aracılığıyla lenfositler gibi başka hücreleri aktive edebilirler. Lenfositler de interferon ve interleükinler gibi lenfokinleri salırlar.²⁵ Bu çalışmada da tüm gruplarda lenfosit, makrofaj ve nötrofiller 7. günde yoğun bir şekilde görülmüş, sağlıklı grupta 28. günde neredeyse kalmamış, deney sonunda diyabetik kriyocerrahi ve diyabetik elektrocerrahi gruplarında ise kısmen de olsa varlığını devam ettirmişlerdir. Bu da diyabetin yara iyileşmesinin mekanizmasını bozduğunu göstermektedir.

Enflamasyon, yara iyileşmesinin gerekli ve istenen bir fazıdır. Enflamatuvar fazın amacı, yarayı debristen temizlemek ve yara bölgesine onarım için gerekli hücreleri çağırarak iyileşmenin ilerlemesi için zemin hazırlamaktır. Eğer bir birey bu enflamatuvar yanıtı vermekte başarısız olursa, iyileşme ilerleyemez ya da gecikir.²¹

Alonso ve arkadaşları² bistüri, bistüri+siyanoakrilat ve kriyocerrahinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, akut enflamasyonun en hızlı düzeldiği grubun bistüri+siyanoakrilat grubunda, yaralanmadan 7 gün sonra gerçekleştiğini göstermişlerdir. Kriyocerrahi grubunda örneklerin çoğunda belirgin bir şekilde akut enflamasyonun devam ettiğini, bistüri grubunda da örneklerin

sadece yarısında belli bir derecede düzelme olduğunu görmüşlerdir. 2. haftanın sonunda bistüri+siyanoakrilat ve kriyocerrahi grubundaki tüm yaralarda akut enflamasyon tam olarak düzelmişken bistüri grubunda birkaç örneğin hâlâ kronik enflamasyon fazında olduğunu bildirmişlerdir. 3. haftanın sonunda tüm tekniklerde enflamatuvar süreçlerin düzeldiğini göstermişlerdir.

Liboon ve arkadaşları⁸⁶ bistüri, CO₂ lazer, elektrokoter ve sabit-voltaj elektrokoterle yapmış oldukları yara iyileşmesi ile ilgili çalışmalarında şu sonuçları elde etmişlerdir: Operasyondan sonraki 1. haftanın sonunda elektrocerrahi ile oluşturulan kesilerde enflamasyon oranını diğer gruplara yakın olmakla beraber çok az miktarda yüksek bulmuşlar ve 2. haftanın sonunda enflamasyon gözlememişlerdir. Tamamen sağlam mukozanın oluşması tüm gruplarda 4 haftayı bulmuştur. Granülasyon dokusu oluşumu 4 hafta sürmüş ve bistüri ve elektrocerrahi tekniklerinin yara iyileşmesinin tamamlanması üzerinde farklı bir etkiye yol açmadığı bildirilmiştir. Ancak cerrahi bistüri ile yapılan kesilerde, epitelin yeniden oluşum hızı en yüksek bulunmuş, bunu elektrocerrahi grubu izlemiştir.

Bu çalışmada, Liboon ve arkadaşlarının⁸⁶ sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Operasyondan sonraki 1. haftada sağlıklı grupta, elektrocerrahi ile oluşturulan yaralarda enflamasyon derecesi bistüri ile oluşturulan yaralara göre daha yüksek bulunmuştur. 2. haftada elektrocerrahi grubundaki enflamasyon derecesi 1. haftaya göre belirgin şekilde azalmıştır. Diyabetik grupta ise elektrocerrahi ile oluşturulan yaralarda 28. günde bistüri ile oluşturulan yaralardan daha fazla enflamasyon görülmüştür.

Bu çalışmada, farklı cerrahi tekniklerle oluşturulan yaralardan alınan örnekler yapılan histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiş, bunun yanı sıra yeni damar oluşumu, defekt uzunluğu, defekt derinliği, yüzeysel çöküklük ve reepitelizasyon oranlarının da belirlenebilmesi için histomorfometrik yöntemler kullanılmıştır. Histomorfometrik yöntemle hassas değerlendirme yapabilmek için alınan kesitler neredeyse birbirlerine eşit seçilmiştir.

Yeni oluşan damar sayısı ile VEGF'nin ilişkisini incelemek için Galeano ve arkadaşlarının¹⁰⁷ yaptıkları çalışmada, adeno virüs taşıyıcısı ile VEGF₁₆₅ genini transfer ederek diyabetik yaralarda 7.günde damarlanmanın arttığı görülmüştür. Galiano ve arkadaşları¹⁰⁸ da topikal VEGF₁₆₅ uygulaması sonrasında damarlanmanın arttığını ve iyileşmenin hızlandığını göstermiştir. Bu çalışmada, diyabetik gruba göre sağlıklı grupta tüm cerrahi tekniklerde 7. günde oluşan yeni damar sayısı anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, diyabette VEGF sentezindeki azalmaya paralel olarak yeni oluşan damar sayısının da azaldığı sonucunu düşündürülebilir.

Bu çalışmada, defekt uzunluğu açısından değerlendirme yapıldığında ise sağlıklı grupta her üç grup için anlamlı bir fark oluşmazken, diyabetik bistüri grubunda 7. günde en az defekt uzunluğu elde edilirken, 14. ve 28. günde üç grup arasında bir fark görülmemiştir. Defekt uzunluğu açısından 7. günde en iyi grup bistüri grubu iken devam eden süreçte üç grup arasında bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuç elektrocerrahi tekniğinin diyabet hastaları üzerinde olumsuz etkileri olduğunu bildiren çalışmaları⁷⁷ desteklemektedir.

Yumuşak doku iyileşmesinde genellikle 3. haftanın sonunda, yaralanma bölgesinde, olgunlaşmaya aday bir skar dokusu gelişmiş olur ve bu dönemde başlayan yeniden şekillenme fazının tamamlanması bazen yıllarca sürebilir.¹⁰⁹ Bu çalışmada da sağlıklı grupta 28. günde en düşük defekt derinliği tespit edilmiştir ve 28. günde elektrocerrahi grubundaki defekt derinliği, bistüri grubuna göre daha fazla bulunmuştur. Diyabetik bistüri grubu ise sağlıklı gruba göre daha fazla defekt derinliği göstermiştir. Benzer bir şekilde yüzeyden çöküklük miktarları elektrocerrahi grubunda bistüri grubuna göre 28. günde daha fazla görülmüştür. Diyabetik grupta 28. günde bistürinin oluşturduğu yüzeyden çöküklüğün sağlıklı gruba göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Pogrel ve arkadaşları¹⁰³, yara iyileşmesi üzerinde yaptıkları bir çalışmada, CO₂ lazer, kriyocerrahi ve bistüri kullanarak rat abdomeninde 24 adet lezyon oluşturmuşlardır. Operasyon sonrası 7. günde bistüri ve lazer yarası epitelize olmuş, kriyocerrahi yarası ise epitelize olmamış ve şiddetli kronik enflamatuvar eksuda izlenmiştir. Bu çalışmada 7. günde sağlıklı bistüri grubunda yaklaşık %50 epitelizasyon, sağlıklı kriyocerrahi grubunda yaklaşık %40 epitelizasyon; diyabetik bistüri grubunda ise yaklaşık %35 epitelizasyon ve diyabetik kriyocerrahi grubunda yaklaşık %20 epitelizasyon izlenmiştir. Bu farklılığın sebebi, Pogrel ve arkadaşlarının rat abdomeninde çalışmış olmasına ve oluşturulan defekt miktarlarının farklı olmasına bağlı olabilir.

Alonso ve arkadaşları², bistüri, bistüri+siyanoakrilat ve kriyocerrahinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, 7. günde bistüri+siyanoakrilat grubunda ratların çoğunda tüm yaralarda reepitelizasyon olduğunu, oysa kriyocerrahi grubunda bir

kaç ratta sıfır derece reepitelizasyon mevcut olduğunu göstermişlerdir. 14. günde tüm yaraların hangi teknik kullanılırsa kullanılsın reepitelize olduğunu, 28. günde bistüri+siyanoakrilat grubunda daha çok düzenli kalınlığa sahip yaranın mevcut olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, reepitelizasyon düzeyi açısından değerlendirme yapıldığında, sağlıklı kriyocerrahi grubunda 14. günde daha az reepitelizasyon olduğu görülürken, 28. günde her üç grubun reepitelizasyon düzeyinin aynı olduğu gözlemlenmiştir. Diyabetik grupta ise 7. günde bistüri grubunda daha yüksek reepitelizasyon saptanırken, 28. günde her üç grubun reepitelizasyon düzeyinin aynı olduğu görülmüştür. Bu sonuçların ışığında reepitelizasyon düzeyleri yönünden bakıldığında, sağlıklı ve diyabetik gruplarda her üç cerrahi yöntemden birisinin diğerine üstünlüğü yoktur.

Bütün bu sonuçları birlikte değerlendirdiğimizde, sağlıklı grupta, yoğun kanamaya sebep olsa dahi yüksek iyileşme hızından dolayı ilk tercih edilmesi gereken yöntemin klasik bistüri tekniği olabileceği; diyabetik grupta ise diyabetin metabolik etkilerinin yaptığı olumsuz etkilerden dolayı, en az komplikasyona sebep olan kriyoterapi tekniğinin tercih edilebileceği sonucuna varılabilir.

6. SONUÇLAR

Sağlıklı ve deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratların dil dorsumlarında bistüri, elektrocerrahi ve kriyocerrahi ile açılan yaralardan sonra, 7.,14., ve 28. günlerde vücut ağırlıklarındaki değişiklikleri, hemostaz seviyelerini, kan glikoz seviyelerini; yine aynı günlerde alınan doku örneklerinden, histopatolojik olarak yara iyileşmesini, histomorfometrik olarak defekt derinliği, defekt uzunluğu, yüzeyden çöküklük ve reepitelizasyon miktarını, ayrıca iNOS ve VEGF ekspresyon seviyelerini incelemek ve bu bileşiklerin seviyelerinin yara iyileşmesindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada;

- STZ uygulandıktan 3 gün sonra diyabet tablosunun oluştuğu ve deneyin sonunda kan glikoz seviyesinin en yüksek düzeye ulaştığı,
- Sağlıklı grupta vücut ağırlıklarında artma, diyabetik grupta vücut ağırlıklarında deneyin sonuna kadar belirgin azalma olduğu,
- Bu üç teknik içinde en fazla kanamaya sebep olan tekniğin bistüri olduğu,
- 7. günde sağlıklı ve diyabetik tüm gruplarda tam iyileşme gözlenmezken, 28. günde sağlıklı ve diyabetik bistüri grubunda tam iyileşmenin büyük ölçüde tamamlandığı; kriyocerrahi grubunda tam iyileşmenin sağlıklı grupta tamamlandığı, ancak diyabetik grupta tamamlanmadığı; elektrocerrahi grubunda ise her iki grupta da tam iyileşmenin olmadığı,

- Sağlıklı ve diyabetik gruplar içinde 7. günde baskın hücre tipinin lenfosit, makrofaj ve nötrofil olduğu; 28. günde sağlıklı grupların hiçbirisinde makrofaj ve nötrofillerin bulunmadığı; diyabetik gruplarda ise bistüri grubu hariç diğer gruplarda lenfosit, makrofaj ve nötrofillerin varlığının devam ettiği,

- Sağlıklı ve diyabetik gruplar içerisinde, 7.günde en fazla enflamasyona neden olan tekniğin kriyocerrahi ve elektrocerrahi olduğu, 28. günde bistüri grubunda enflamasyonun tamamen ortadan kalktığı, kriyocerrahi grubunda her iki grupta da, 28. günde enflamasyonun anlamlı derecede azaldığı, elektrocerrahi grubunda ise her iki grupta da 28. günde enflamasyonun devam ettiği,

- Sağlıklı bistüri grubunda 7. güne göre 14. ve 28. günde yeni damar oluşumunda artışın daha az olduğu, kriyocerrahi grubunda hemen hemen aynı kalan bir damar oluşumu olduğu, elektrocerrahi grubunda önce artan, sonra azalan bir damar oluşumu olduğu; diyabetik her üç grupta da damar oluşumu üzerinde önemli bir fark ve değişimin gözlenmediği; sağlıklı gruplarda 7. günde yeni oluşan damar sayısının diyabetik gruba göre daha fazla olduğu bu durumun diyabette yara iyileşmesine verilen cevabın zayıflığının göstergesi olabileceği,

- Sağlıklı grupta defekt uzunluğu açısından değerlendirme yapıldığında anlamlı bir fark oluşmazken, diyabetik grupta en az defekt uzunluğunun 7. günde bistüri grubunda elde edildiği, 14. ve 28. günde üç grup arasında fark görülmediği, defekt uzunluğu açısından 7. günde en iyi grup bistüri grubu iken devam eden süreçte üç grup arasında farkın gözlenmediği,

- Sağlıklı grupta üç grup için defekt derinliğinde 7., 14., ve 28. günde bir fark yokken, 28. günde bistüri grubunda 7. ve 14. güne göre defekt derinliğinin anlamlı şekilde azaldığı, diyabetik grupta ise her üç grupta da 7. ve 14. günlerde gruplar arasında istatistiksel bir farkın olmadığı, 28. günde ise defekt derinliği en az olan grubun kriyocerrahi olduğu, 28. günde bistüri grubunda defekt derinliğinin sağlıklı grupta diyabetik gruba göre belirgin bir şekilde azaldığı,

- 28. günde bistüri grubunda yüzeyden çöküklüğün sağlıklı grupta diyabetik gruba göre belirgin bir şekilde azaldığı, diyabetik grupta kriyocerrahinin en az yüzeyden çöküklüğe neden olan teknik olduğu,

- 28. günde tüm, sağlıklı ve diyabetik gruplarda reepitelizasyonun %100 tamamlandığı,

- Sağlıklı grupta 7. günde görülen iNOS ekspresyonunun deneyin sonuna doğru neredeyse kalmadığı, bu durumun NO'nun yara iyileşmesinin erken fazında önemli görevler alabileceğini gösterdiği; diyabetik grupta 7. günde sağlıklı gruba göre iNOS ekspresyonunun daha az olduğu, bu durumun da diyabette görülen NO eksikliğini destekleyebileceği,

- Sağlıklı bistüri grubunda 7. günde görülen iNOS ekspresyonunun diğer tekniklere göre daha düşük olduğu, en az enflamasyona neden olan tekniğin bistüri olduğu,

- Sağlıklı grupta 7. günde izlenen VEGF ekspresyonunun 28. günde azaldığı, bu durumun VEGF'nin yara iyileşmesinin erken fazında görev aldığı,

- Sağlıklı gruba göre diyabetik grupta 7. günde VEGF ekspresyonunun daha az olduğu, bu durumun da yaralanmaya tepki olarak diyabetli organizmaların normal seviyelerde VEGF retemeyebileceğini gösterdiği sonuçlarına varılmıştır.

NO ve VEGF'nin yara iyileşmesi sürecinde rollerinin araştırıldığı bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, bu bileşiklerin yara iyileşmesini düzenleyecek ve hızlandıracak ajanlar olarak gelecekte tedavi amaçlı kullanılıp kullanılmayacaklarını araştıran, daha kapsamlı ileri çalışmalarla değerlendirilmesine ihtiyaç olduğu görülmektedir.

7. ÖZET

Kriyocerrahi, Elektrocerrahi ve Normal Bistüri Uygulamalarının Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Sağlıklı ve Diyabetik Ratlarda Histopatolojik ve Histomorfometrik Olarak İncelenmesi

Dokunun hasarlanması sonucu oluşan yara iyileşmesi, pıhtı oluşumu, enflamatuvar hücrelerin birikimi, granülasyon oluşumu, yara kontraksiyonu ve skar maturasyonunu kapsayan süreçte gerçekleşir. Diyabette, lokal dolaşım bozukluğu, enfeksiyon ve periferik nöropati nedeniyle iyileşmede bozukluklar görülür.

NO ile yara iyileşmesi arasındaki ilişkinin mekanizması belirsizliğini sürdürse de NO'nun iyileşmede rol aldığı bilinmektedir.

VEGF, anjiyogenez ve vaskülogenezde rol oynayan büyüme faktörüdür. Diyabette kötü yara iyileşmesinin VEGF üretimindeki azalmayla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir.

Yara iyileşmesinin kısa sürede, sorunsuz gerçekleşmesinin önemli olduğu oral bölgede, cerrahi işlemler sırasında minimal doku hasarı ile hemostaz elde etmek amacıyla farklı alternatifler öne sürülmüştür. Damarlardan zengin olan bu bölgede cerrahi işlem sırasında bistüri kullanımından kaynaklı kanama problemleri ortaya çıkabilmektedir. Elektrik enerjisini ısı enerjisine dönüştürerek doku yıkımı sağlayan elektrocerrahi,

hızlı hemostaz ve diseksiyon sağladığından diş hekimliğinde uzun süredir kullanılmaktadır. İntrasellüler, ekstrasellüler buz oluşumuyla hücrelerde direkt mekanik hasar oluşturan kriyocerrahide insizyon yarası ve kanama oluşmaz.

Bu çalışmada, sağlıklı ve diyabetik ratların, dil dorsumunda kriyocerrahi, elektrocerrahi ve bistüri ile oluşturulan yaralardan alınan örnekler, histopatolojik, histomorfometrik ve iNOS ve VEGF ekspresyon seviyeleri immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Tam iyileşme sağlıklı ve diyabetik grupta bistüriyle yapılan cerrahi işlemlerde gerçekleşmiş ancak bunun en fazla kanamaya sebep olan teknik olduğu görülmüştür. Sağlıklı grupta başlangıçta yüksek olan iNOS ve VEGF seviyeleri çalışmanın sonunda düşmüştür. Diyabetik grupta başlangıçta düşük olan bu seviyelerden, iNOS seviyeleri daha da azalmış, VEGF seviyelerinde anlamlı değişiklik olmamıştır. Başlangıçtaki iNOS ve VEGF seviyeleri sağlıklı grupta diyabetik gruba göre daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışma NO ve VEGF'nin yara iyileşmesinin erken fazında önemli rol oynayan moleküller olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Yara iyileşmesi, iNOS, VEGF, kriyocerrahi, elektrocerrahi, bistüri, histomorfometri

8. SUMMARY

Histopathological and Histomorphometric Investigation of the Effects of Cryosurgery, Electrosurgery and Scalpel on Wound Healing in Normal and Diabetic Rats

Wound healing involves the phases of inflammation, proliferation, and remodeling. In diabetes, impairment in wound healing occurs.

Although the exact mechanism of the relation between NO and wound healing remains unclear, it is known that NO plays part in wound healing.

VEGF is a growth factor and it has been suggested that impaired wound healing in diabetes is associated with the decrease in VEGF production.

Bleeding problems result from the use of scalpel in oral region which is rich in vessels during surgical procedures. Electrocautery has long been used in dentistry as it enables rapid hemostasis and dissection. Cryosurgery brings about direct mechanical injury in the cells with no incision wound and bleeding.

In the present study, tissue sample obtained from the wounds of healthy and diabetic rats' tongues formed by cryosurgery, electrosurgery and scalpel were compared using histopathological, histomorphometric and immunohistochemical methods for the investigation of the expression levels of iNOS and VEGF.

In healthy rats, iNOS and VEGF levels, which were high at the start, decreased by the end of the study. In diabetic rats when iNOS and VEGF levels, which both low at the start of the study, were examined. It was established that iNOS level decreased further while VEGF levels remained unchanged by the end. iNOS and VEGF levels were also established to be higher in healthy group compared to diabetic group.

In conclusion, this study demonstrated that NO and VEGF are molecules that may play an important role in the early phase of wound healing.

Key words: Wound healing, iNOS, VEGF, cryosurgery, electrosurgery, scalpel, histomorphometry

9. KAYNAKLAR

1. Bağcı EÇ, Bağcı A, Canpınar P. Protetik uygulamalarda elektrokoter kullanımı-II elektrokoter kullanım tekniği. Hacettepe Dişhekimliği Fakóltesi Derg 2007; 31(3): 63-73.
2. Alonso FC, Jornet PL, Fenoll AB. Effects of scalpel (with and without tissue adhesive) and cryosurgery on wound healing in rat tongues. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005; 100: E58-63.
3. Sinha UK, Gallagher LA. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO₂ laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. Laryngoscope 2003; 113: 228-236.
4. Gnanasekhar JD, Al-Duwairi YS. Electrosurgery in dentistry. Quintessence Int 1998; 29: 649-654.
5. Yücetaş ř. Ağız ve çevre dokusu hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2005.
6. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2009; 32: S62-67.
7. Vernillo AT. Diabetes mellitus: relevance to dental treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001; 91: 263-70.
8. Lebovitz HE. Diabetes Mellitus ve İlgili Sorunların Tedavisi. (Türkçe Çevirisi; Halil Sağlam, Çeviri Editörü İlhan Satman) 4. Baskı. İstanbul: Sigma Publishing Danışmanlık & Organizasyon Dış Tic. Ltd. şti.; 2005.s.5-7.
9. Yılmaz C, Yılmaz T, İmamoğlu ř. Diabetes Mellitus 2000. 1. Baskı. İstanbul: Gri Tasarım; 2000.
10. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Temel Patoloji. Çevikbaş U (çev), 6. Baskı, İstanbul: Nobel-Yüce; 2000.
11. Moore PA, Orchard T, Guggenheimer J, Weyant RJ. Diabetes and oral health promotion: a survey of disease prevention behaviors. J Am Dent Assoc 2000; 131(9): 1333-41

12. D'Attilio M, Di Maio F, D'Arcangela C, Filippi MR, Felaco M, Lohinai Z, et al. Gingival endothelial and inducible nitric oxide synthase levels during orthodontic treatment: a cross-sectional study. *Angle Orthod* 2004; 74(6): 851-8.
13. Rizk M, Witte MB, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. *World J. Surg* 2004; 28: 301-306.
14. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. 1.Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2003.
15. Ugar-Çankal D, Ozmeric N. A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 366(1-2): 90-100.
16. Mohammad G, Pandey HP, Tripathi K. Diabetic wound healing and its angiogenesis with special reference to nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 2008; 3(4): 203-208.
17. Arslan MK. Yara iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. İçinde: Kurt N, editör. *Akut ve Kronik Yara Bakımı*. 1.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003. s. 9-33.
18. Şenol M. Yara iyileşmesi. *T Klin J Dermatol* 1995; 5: 49-53.
19. Türker M. Primer ve sekonder yara iyileşmesinde prostoglandin düzeyi. *Ank Üniv Diş Hek Fak Derg* 1981; 8(1): 153-167.
20. Shetty V, Bertolami CN. Wound healing. In: Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD, editors. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2 nd ed. London: BC Decker Inc; 2004. p. 3-15.
21. Myers BA. *Wound Management*. 1 st ed. New Jersey: Pearson Education Inc; 2004.
22. Nursal TZ, Baykal A, Hamaloğlu E. Yaşlılarda yara iyileşmesi: Fark var mı?. *Geriatrici* 1999; 2(1): 29-32.
23. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003; 83: 835-870.
24. Schäfer M, Werner S. Transcriptional control of wound repair. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 69-92.

25. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin of North Am 1997; 77(3): 509-528.
26. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. Nature 2008; 453(7193): 314-21.
27. Kotil T. Deneysel diyabetli sıçanlarda yara iyileşmesinin histolojik ve ince yapı olarak incelenmesi. Yüksek lisans. İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2006.
28. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. J Invest Dermatol 2007; 127: 514-525.
29. Bissell MJ, Radisky D. Putting tumours in context. Nat Rev Cancer 2001; 1(1): 46-54.
30. Açıklamalı tıp terimleri sözlüğü. 9. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2005.s.230.
31. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. Clin Plast Surg 2003; 30(1): 1-12.
32. Bauer SM, Bauer RJ, Velazquez OC. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. Vasc Endovascular Surg 2005; 39(4): 293-306.
33. Şimşek ŞŞ. Çeşitli nitrik oksit inhibitörlerinin yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doktora. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2005.
34. Ferahbaş A. Skar oluşumunu etkileyen faktörler. Dermatose 2004; 4: 192-197.
35. Yar AS. Streptozotozin ile oluşturulmuş diyabetli sıçanlarda resveratrol kullanımı sonucunda siklooksijenaz-1 (cox-1) ve siklooksijenaz-2 (cox-2) genlerinin ekspresyonlarının araştırılması. Yüksek lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2008.
36. Özbey N, Orhan Y. Diabetes mellitus. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003.

- 37.** Kutlutürk F, Yılmaz MT. Tip 1 diyabet ve insülin tedavisi ilkeleri. İçinde: Satman İ, Boztepe H, Alagöl F, editörler. Endokrinoloji diyabet yıllığı. 1. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti.; 2007. s. 129-135.
- 38.** Greenhalgh DG. Wound healing and diabetes mellitus. Clin Plast Surg 2003; 30: 37-45.
- 39.** Nagy A, Nagashima H, Cha S, Oxford GE, Zelles T, Peck AB, Humphreys-Beher MG. Reduced oral wound healing in the NOD mouse model for type 1 autoimmune diabetes and its reversal by epidermal growth factor supplementation. Diabetes 2001; 50(9): 2100-2104.
- 40.** Lamster IB, Lalla E, Borgnakke WS, Taylor GW. The relationship between oral health and diabetes mellitus. J Am Dent Assoc 2008; 139: 19S-24S.
- 41.** Seifter E, Rettura G, Padawer J, Stratford F, Kambosos D, Levenson SM. Impaired wound healing in streptozotocin diabetes. Prevention by supplemental vitamin A. Ann Surg 1981; 194(1): 42-50.
- 42.** Neely AN, Clendening CE, Gardner J, Greenhalgh DG. Gelatinase activities in wounds of healing-impaired mice versus wounds of non-healing-impaired mice. J Burn Care Rehabil. 2000; 21(5): 395-402.
- 43.** Çekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün AD, Gözükara EM. Nitrik oksit (NO) ve Nitrik oksit sentaz (NOS)'ın fizyolojik ve patolojik özellikleri. T Klin J Pediatr 2001; 10: 226-236.
- 44.** Bildik A. Nitrik oksitin sentezi ve biyolojik önemi. Yüzüncü Yıl Üniv, Sağlık Bil Derg 2006; 9(2): 27-32
- 45.** Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. Am J Surg. 2002; 183(4): 406-12.
- 46.** Selvi M, Karataş F, Coşkun Ş, Erbaş D. Effect of L-NAME administration on plasma, heart tissue NO and MDA levels in Rabbit. Turk J Biochem 2007; 32(4): 160-164.

47. Frank S, Kämpfer H, Wetzler C, Pfeilschifter J. Nitric oxide drives skin repair: novel functions of an established mediator. *Kidney Int.* 2002; 61(3): 882-8.
48. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *T Klin Tıp Bilimleri* 2000; 20: 107-111Leahy PJ, Lawrence WT. Biologic enhancement of wound healing *Clin Plast Surg.* 2007; 34(4): 659-71.
49. Leahy PJ, Lawrence WT. Biologic enhancement of wound healing *Clin Plast Surg.* 2007; 34(4): 659-71.
50. Baldik Y, Diwan AD, Appleyard RC, Fang ZM, Wang Y, Murrell GA. Deletion of iNOS gene impairs mouse fracture healing. *Bone.* 2005; 37(1): 32-6.
51. Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis* 2001; 7(1): 2-10.
52. Kuyumcu A, Düzgün AP, Özmen MM, Besler HT. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg* 2004; 10(3): 149-159.
53. Most D, Efron DT, Shi HP, Tantry US, Barbul A. Characterization of incisional wound healing in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Surgery.* 2002; 132(5): 866-76.
54. Şencan M, Güneşçar R, Cevit Ö, Deveci D. Aspirinin kandaki anjiyojenik vasküler endotelial büyüme faktörü ve anti-anjiyojenik endostatin seviyelerine etkisi. *C.Ü. Tıp Fak Derg* 2007; 29(2): 56-61.
55. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999; 13(1): 9-22.
56. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003; 9(6): 669-76.
57. Breen EC. VEGF in biological control. *J Cell Biochem* 2007; 15: 102(6): 1358-67.
58. Wirostko B, Wong TY, Simó R. Vascular endothelial growth factor and diabetic complications. *Prog Retin Eye Res* 2008; 27(6): 608-21.

59. Turgut B, Güler M, Demir T, Türkçüoğlu P, Çeliker Ü. Oküler anjiyogenezde vasküler endotelial büyüme faktörünün rolü. *T Klin J Ophtalmol* 2007; 16: 38-46.
60. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, Levine JP, Gurtner GC. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia. *Am J Pathol* 2003; 162(1): 303-12.
61. Maruyama K, Asai J, li M, Thorne T, Losordo DW, D'Amore PA. Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing. *Am J Pathol.* 2007; 170(4): 1178-91.
62. Nakagawa T, Sato W, Sautin YY, Glushakova O, Croker B, Atkinson MA, Tisher CC, Johnson RJ. Uncoupling of vascular endothelial growth factor with nitric oxide as a mechanism for diabetic vasculopathy. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(3): 736-45.
63. Adışen E, Aksakal B. Dermatolojik cerrahinin tarihçesi. *T Klin Dermatoloji* 2007; 17: 192-200.
64. Çalikoğlu E, Gürgey E. Kriyocerrahinin Dermatolojide Kullanım Alanları. *T Klin Dermatoloji* 1999; 9: 104-111.
65. Çılbır HÖ, Karaca İ. Kriyocerrahi ve ağız cerrahisinde uygulama alanları. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 1997; 7(1): 94-99.
66. Korpan NN. A history of cryosurgery: its development and future. *J Am Coll Surg* 2007; 204(2): 314-24.
67. Abramovits W, Losornio M, Marais G, Perlmutter A. Cutaneous cryosurgery. *Dermatol Nurs* 2006; 18(5): 456-9.
68. Gage AA, Baust J. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. *Cryobiology* 1998; 37(3): 171-86.
69. Yeh CJ. Simple cryosurgical treatment for oral lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29(3): 212-6.
70. Dabak N, Tomak Y, Piskin A, Gulman B, Ozcan H. Early results of a modified technique of cryosurgery. *Int Orthop* 2003; 27(4): 249-53.

71. Korpan NN, editor. Basics of cryosurgery.1 st ed. Vienna: Springer; 2001.
72. Pradel W, Hlawitschka M, Eckelt U, Herzog R, Koch K. Cryosurgical treatment of genuine trigeminal neuralgia. Br J Oral Maxillofac Surg 2002; 40(3): 244-7.
73. Arndt KA. Dermatolojik tedavi el kitabı. Akkaya S, Kölemen F, Akan T, Kürkçüoğlu N (Çev), 3. Basım, Ankara, Taş Kitabevi, 1985.
74. Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransü O. Dermatoloji. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1994.
75. Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Rook's textbook of dermatology. 7 th ed. Massachusetts: Blackwell Publishing Co; 2004.
76. Akkaya S, Kölemen F, Akan T, Atakan N. Dermatoloji el kitabı. Ankara: Öztekin Matbaacılık; 1990.
77. Christensen GJ. Soft-tissue cutting with laser versus electrosurgery. J Am Dent Assoc 2008; 139: 981-4.
78. Riordan AT, Gamache C, Fosko SW. Electrosurgery and cardiac devices. J Am Acad Dermatol 1997; 37: 250-5.
79. Hirshberg A, Lib M, Kozlovsky A, Kaplan I. The influence of inflammation on the polarization colors of collagen fibers in the wall of odontogenic keratocyst. Oral Oncol 2007; 43(3): 278-82.
80. Demirçay Z, Gün D. Diabetik bir hastada topikal GM-CSF'in yara tedavisinde kullanımı. Turkderm 2003; 37: 49-51.
81. Komesu MC, Tanga MB, Buttros KR, Nakao C. Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. Pathophysiology 2004; 11(2): 63-67.
82. D'Arcangelo C, Di Nardo Di Maio F, Prospero GD, Conte E, Baldi M, Caputi S. A preliminary study of healing of diode laser versus scalpel incisions in rat oral tissue: a comparison of clinical, histological, and immunohistochemical results. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; 103(6): 764-73.

- 83.** Carew JF, Ward RF, LaBruna A, Torzilli PA, Schley WS. Effects of scalpel, electrocautery, and CO₂ and KTP lasers on wound healing in rat tongues. *Laryngoscope*. 1998; 108(3): 373-80.
- 84.** Chinpairaj S, Feldman MD, Saunders JC, Thaler ER. A comparison of monopolar electrosurgery to a new multipolar electrosurgical system in a rat model. *Laryngoscope* 2001; 111(2): 213-7.
- 85.** Camacho-Alonso F, López-Jornet P. Clinical-pathological study of the healing of wounds provoked on the dorso-lingual mucosa in 186 albino rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 136(1): 119-24.
- 86.** Liboon J, Funkhouser W, Terris DJ A comparison of mucosal incisions made by scalpel, CO₂ laser, electrocautery, and constant-voltage electrocautery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 116(3): 379-85.
- 87.** Schmelzeisen R, Stauch G, Hessel S. Effects of Nd-YAG laser and cryosurgery on the oral mucosa in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1989; 18(2): 114-6.
- 88.** Witte MB, Kiyama T, Barbul A. Nitric oxide enhances experimental wound healing in diabetes. *Br J Surg* 2002; 89(12): 1594-601.
- 89.** Öztürk Y, Altan V, Arı N. Diabetic Complications in Experimental Models. *Tr. J. of Medical Sciences* 1998; 22: 331-341.
- 90.** Öztürk Y Altan V, Yıldızoglu N. Effects of Experimental Diabetes and Insülin on Smooth Muscle Functions. *Pharmacological Reviews* 1996; 48: 69-112.
- 91.** Shi HP, Most D, Efron DT, Tantry U, Fischel MH, Barbul A. The role of iNOS in wound healing. *Surgery* 2001; 130(2): 225-9.
- 92.** Lee RH, Efron D, Tantry U, Barbul A. Nitric oxide in the healing wound: a time-course study. *J Surg Res*. 2001; 101(1): 104-8.
- 93.** Yamasaki K, Edington HD, McClosky C, Tzeng E, Lizonova A, Kovesdi I, et al. Reversal of impaired wound repair in iNOS-deficient mice by topical adenoviral-mediated iNOS gene transfer. *J Clin Invest* 1998; 101(5): 967-71.

- 94.** Reichner JS, Meszaros AJ, Louis CA, Henry WL Jr, Mastrofrancesco B, Martin BA, Albina JE. Molecular and metabolic evidence for the restricted expression of inducible nitric oxide synthase in healing wounds. *Am J Pathol.* 1999; 154(4): 1097-104.
- 95.** Bulgrin JP, Shabani M, Chakravarthy D. Nitric oxide synthesis is suppressed in steroid-impaired and diabetic wound healing. *Wounds* 1995; 7: 48-57.
- 96.** Schäffer MR, Tantry U, Efron PA, Ahrendt GM, Thornton FJ, Barbul A. Diabetes-impaired healing and reduced wound nitric oxide synthesis: a possible pathophysiologic correlation. *Surgery* 1997; 121(5): 513-9.
- 97.** Witte MB, Thornton FJ, Tantry U, Barbul A. L-Arginine supplementation enhances diabetic wound healing: involvement of the nitric oxide synthase and arginase pathways. *Metabolism* 2002; 51(10): 1269-73.
- 98.** Berberoğlu A. Periodontal dokuların iyileşmesinde büyüme faktörlerinin rolü. *Hacettepe Üniv Diş Hek Fak Derg* 2007; 31(3): 114-121.
- 99.** Barleon B, Sozzani S, Zhou D, Weich HA, Mantovani A, Marmé D. Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood* 1996; 87(8): 3336-43.
- 100.** Szpaderska AM, Walsh CG, Steinberg MJ, DiPietro LA. Distinct patterns of angiogenesis in oral and skin wounds. *J Dent Res* 2005; 84(4): 309-14.
- 101.** Kirchner LM, Meerbaum SO, Gruber BS, Knoll AK, Bulgrin J, Taylor RA, Schmidt SP. Effects of vascular endothelial growth factor on wound closure rates in the genetically diabetic mouse model. *Wound Repair Regen* 2003; 11(2): 127-31.
- 102.** Brown LF, Yeo KT, Berse B, Yeo TK, Senger DR, Dvorak HF, van de Water L. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) by epidermal keratinocytes during wound healing. *J Exp Med* 1992; 176(5): 1375-9.

- 103.** Pogrel MA, Yen CK, Hansen LS. A comparison of carbon dioxide laser, liquid nitrogen cryosurgery, and scalpel wounds in healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69(3): 269-73.
- 104.** Mallon E, Dawber R. Cryosurgery in the treatment of basal cell carcinoma. Assessment of one and two freeze-thaw cycle schedules. *Dermatol Surg* 1996; 22(10): 854-8.
- 105.** Pollock JS, Webb W, Callaway D, Sathyanarayana, O'Brien W, Howdieshell TR. Nitric oxide synthase isoform expression in a porcine model of granulation tissue formation. *Surgery* 2001; 129(3): 341-50.
- 106.** Amadeu TP, Costa AM. Nitric oxide synthesis inhibition alters rat cutaneous wound healing. *J Cutan Pathol* 2006; 33(7): 465-73.
- 107.** Galeano M, Deodato B, Altavilla D, Cucinotta D, Arsic N, Marini H, et al. Adeno-associated viral vector-mediated human vascular endothelial growth factor gene transfer stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. *Diabetologia* 2003; 46(4): 546-55.
- 108.** Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, Bhatt KA, Callaghan M, Bastidas N, et al. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am J Pathol* 2004; 164(6): 1935-47.
- 109.** Bayraktar B, Yücesir İ. Yumuşak doku yaralanmaları, iyileşme süreci ve tedavi yaklaşımları. *Klinik Gelişim* 2009; 22(1): 60-67.

10.TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince ilgisi, bilgisi, deneyimi ve iyi niyeti ile beni çok daha ileriye taşıyan, ileri görüşlülüğü ve zengin bakış açısı ile bana her zaman yol gösteren, tez danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Dilek UĞAR ÇANKAL'a; tez çalışmamın deney hayvanlarının hazırlanması kısmında emeği geçen Sayın Dr. Gülnihal KULAKSIZ ERKMEN, Dr. Özlem DALMIZRAK, Dt. Ezgi KARAÇELEBİ ve tüm GÜDAM sorumluları ve personeline; bu çalışmanın histopatolojik incelemelerini özveri ile yürüten Sayın Yrd. Doç. Dr. Benay YILDIRIM ve sevgili arkadaşım Dt. Cem DEMİR'e; doktora eğitimim boyunca engin deneyim, manevi destek ve iyi niyetlerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mustafa TÜRKER, Prof. Dr. Nadir GÜNGÖR, Prof. Dr. Derviş YILMAZ, Prof. Dr. İnci KARACA, Prof. Dr. Levent ARAL ve Yrd. Doç. Dr. İsmet ÖZKURT'a; bilgi ve becerilerini benimle paylaşan Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK, Doç. Dr. Barış ŞİMŞEK, Doç. Dr. Erkan ERKMEN, Dr. Şebnem ŞİMŞEK ve Dr. Mustafa Sancar ATAÇ'a; beraber çalıştığım başta Dr. Serdal VESKE olmak üzere tüm bölüm arkadaşlarıma, sonsuz emek ve sevgiyle beni bugünlere getiren aileme teşekkürlerimi sunarım.



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

17.05/2007

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/ 39-7900
KONU:

Sayın


Prof.Dr.Dilek Aynur ÇANKAL
Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi


G.Ü.ET-07.022 kod numaralı ve "Kriyocerrahi, elektrocerrahi ve normal bistüri uygulamalarının yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin sağlıklı ve diyabetik ratlarda histopatolojik ve histomorfometrik olarak incelenmesi" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.


Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.


It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-07.022 and entitled "Histopathological and histomorphometric investigation of the effects of cryosurgery electrosurgery and scalpel on wound healing in normal and diabetic rats." is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

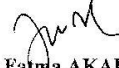

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER



Prof.Dr.Nedret KILIÇ


Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN

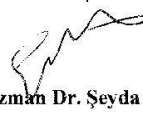
Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ


Prof.Dr.Fatma AKAR


Prof.Dr.Altan DOĞAN

Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU


Uzman Dr. Şeyda DİKER

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Turgay Peyami HOCAOĞLU
Doğum Tarihi : 19.05.1979
Doğum Yeri : Sivas
Eğitimi : Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız,
Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Ana Bilim Dalı
(2003- 2009)
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (1997-2002)
Sivas Cumhuriyet Lisesi Süper Lise Eğitim programı
ve Ankara Etimesgut Mehmetçik Lisesi (1993-1997)
Sivas Behrampaşa Ortaokulu (1990-1993)
Sivas Gaziosmanpaşa İlkokulu (1985-1990)

Üye Olduğu

Bilimsel Kuruluşlar :Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği

Yabancı Dili :İngilizce

Yayınları, Bildirileri ve Yer Aldığı Projeler:

Yayınları:

1. Uğar Çankal DA, Hocaoglu TP, Denizci S: Prevalence study of tongue lesions among Turkish schoolchildren. Saudi Med J 2005; 26(12): 1962-1967.

Bildiriler:

1. Hocaoglu TP, Uğar Çankal DA, Veske S, Barış E: Likenoid İlaç Reaksiyonu-Vaka Raporu. Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş,

Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı İsparta Sempozyumu, 25-27 Haziran 2004, Isparta, Türkiye

2. Uğar Çankal DA, Hoccoğlu TP, Denizci S. Türkiye’de okul çağındaki çocuklar arasında dil lezyonlarının prevalansı. Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği 12. Uluslararası Bilimsel Kongresi, Askeri Müze, 10-13 Ekim 2004, İstanbul, Türkiye.

3. Hoccoğlu TP, Erkmen E, Barış E. Glanduler Odontojenik Kist-Vaka Raporu. Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği 12. Uluslararası Bilimsel Kongresi, Askeri Müze, 10-13 Ekim 2004, İstanbul, Türkiye.

4. Ataç MS, Hoccoğlu TP. Kulak Memesinde Gömülü Kalmış Küpe Klipsi: Olgu Raporu. Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği 12. Uluslararası Bilimsel Kongresi, Askeri Müze, 10-13 Ekim 2004, İstanbul, Türkiye.

Projeler:

1. Kriyocerrahi, Elektrocerrahi ve Normal Bistüri Uygulamalarının Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Sağlıklı ve Diyabetik Ratlarda Histopatolojik ve Histomorfometrik Olarak İncelenmesi, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Araştırmacı, 2007.