



T. C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRESİ (*VITIS VINIFERA*) VE DÜŞÜK  
DOZ LAZER TEDAVİSİNİN (DDLT) AĞIZ İÇİ YARA  
İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOMORFOMETRİK  
OLARAK İNCELENMESİ**

Mehmet DEMİRKOL  
DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE HASTALIKLARI CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DANIŞMANLAR

Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS      Doç. Dr. Sevil KAHRAMAN

Gaziantep  
2014

**T. C.**  
**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**AĞIZ DIŞ VE ÇENE HASTALIKLARI CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRESİ (*VITIS VINIFERA*) VE DÜŞÜK DOZ LAZER TEDAVİSİNİN (DDLT) AĞIZ İÇİ YARA İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ**

MEHMET DEMİRKOL

Tez Savunma Tarihi: 28.04.2014  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

**Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

Bu tez çalışmasının bir “Doktora” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

**Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ**  
**Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı**

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS**  
**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Sevil KAHRAMAN**  
**Tez Danışmanı**

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**

**İmzası**

**Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ**

.....

**Prof. Dr. Ahmet KESKİN**

.....

**Doç. Dr. Sevil KAHRAMAN**

.....

**Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS**

.....

**Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN**

.....

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

28.04.2014

Mehmet DEMİRKOL

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tezimin hazırlanması boyunca desteğini, ilgisini ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle ufkumu genişleten, zengin bakış açısıyla yol gösteren, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS'a,

Doktora eğitimime ve tezimin hazırlanmasına katkıda bulunan ikinci tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Sevil KAHRAMAN'a,

Tez konumun belirlenmesinde ve deney çalışmalarımın bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. M. İsa KARA'ya,

Doktora eğitimim boyunca bilgilerinden, fikirlerinden ve deneyimlerinden son derece yararlandığım ve mesleğimde ilerlemem konusunda her zaman destek olan Sayın Prof. Dr. Sinan AY'a,

Tezimin hazırlanmasında emeği olan; Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL, histolojik değerlendirmeler için Prof. Dr. Sayın Sevinç İNAN, Araş. Gör. Sayın Işıl AYDEMİR'e, biyokimyasal analizlerin değerlendirilmesinde Sayın Prof. Dr. Seyithan TAYSI'ya,

Tüm doktora eğitimim boyunca beraber çalıştığım başta Dt. Bilal Ege olmak üzere tüm Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve bölümümüzün tüm çalışanlarına,

Ayrıca tüm yaşamım boyunca sevgileri ile yanımda olan ve her konuda olduğu gibi tezimin süresince de; maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşime,

Doktora eğitimimde ve tezimin çalışmaları boyunca birçok fedakarlık gösterip yardımını esirgemeyen, sabrı ve sevgisinden dolayı her an yanımda olan sevgili eşim Nermin DEMİRKOL'a,

en içten dileklerle teşekkür ederim...

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından DHF.13.04 numaralı proje ile desteklenmiştir.

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	i
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ii
<b>KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ</b> .....	v
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	vi
<b>RESİMLER LİSTESİ</b> .....	viii
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	x
<b>ÖZET</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	3
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	5
2.1. Yara.....	5
2.1.1. Yara iyileşmesi.....	5
2.1.2. Yara iyileşmesinin fizyolojisi.....	6
2.1.2.1. Hemostaz.....	8
2.1.2.2. Enflamasyon.....	11
2.1.2.3. Proliferasyon.....	13
2.1.2.4. Skar maturasyon fazı (Remodelling).....	16
2.1.3. Yara iyileşmesini olumsuz etkileyen faktörler.....	17
2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	18
2.2.1. Serbest radikaller.....	18
2.2.2. Serbest radikallerin oluşumu.....	19
2.2.3. Reaktif oksijen türleri.....	19
2.2.4. Reaktif nitrojen türleri ve nitrik oksit.....	20
2.2.5. NO ve yara iyileşmesi.....	21
2.2.6. Serbest radikallerin kaynakları.....	21
2.2.7. Oksidatif stres ve yara iyileşmesindeki rolü.....	21
2.2.8. Oksidatif strese karşı savunma mekanizmalar.....	23
2.2.8.1. Antioksidanların etki çeşitleri.....	24
2.2.8.2. Antioksidanların sınıflandırılması.....	24
2.2.8.2.1. Enzimatik antioksidanlar.....	25
2.2.8.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	25
2.2.9. Proantosiyanidinler ve genel özellikleri.....	27
2.2.9.1. Proantosiyanidinlerin antioksidan özellikleri.....	28
2.2.9.2. Emilimi, biyoyararlanımı ve metabolizması.....	29

2.2.9.3. Toksisitesi.....	29
2.2.9.4. Yara iyileşmesinde proantosiyanidinler.....	30
2.3. Düşük Doz Lazer Tedavisi.....	30
2.3.1. Lazerin tanımı ve tarihçesi.....	30
2.3.2. Lazer ışının özellikleri ve oluşumu.....	31
2.3.3. Lazerin doku ile etkileşimi.....	32
2.3.4. Diş hekimliğinde kullanılan lazerler.....	33
2.3.4.1. Karbondioksit (CO <sub>2</sub> ) lazerler.....	33
2.3.4.2. Argon lazerler.....	33
2.3.4.3. Erbiyum lazerler.....	33
2.3.4.3.1. Er:YAG lazerler (Erbium-doped:Yttrium, Aluminum ve Garnet)....	33
2.3.4.3.2. Er,Cr:YSGG lazerler (Erbium,Chromium-doped:Yttrium, Scandium, Gallium ve Garnet) .....	33
2.3.4.4. Nd:YAG lazer(Neodymium-doped: Yttrium-Aluminum ve Garnet).....	34
2.3.4.5. Diyot lazerler.....	34
2.3.5. Düşük doz lazer tedavisinin etki mekanizması.....	35
2.3.5.1. Yara iyileşmesinde düşük doz lazer tedavisinin hücresel etkileri.....	35
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>38</b>
3.1. Etik Kurul.....	38
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	38
3.2.1. Deney hayvanları.....	38
3.2.2. Kullanılan laboratuvar gereçleri ve kimyasal maddeler.....	38
3.3. Üzüm Çekirdeği Ekstresi.....	39
3.3.1. Üzüm çekirdeği ekstresinin elde edilmesi.....	39
3.4. Yöntemler.....	39
3.4.1. Deney hayvanlarının hazırlanması.....	39
3.4.2. Deney hayvanlarının sınıflandırılması.....	40
3.4.3. Sekonder yara oluşturulması.....	41
3.4.4. Gruplara göre çalışma teknikleri.....	42
3.4.5. Ekstrenin hazırlanması ve uygulanması.....	44
3.4.6. Düşük doz lazer uygulaması.....	44
3.4.7. Kilo kontrolü.....	45
3.4.8. Sakrifikasyon protokolü ve örneklerin elde edilmesi.....	45
3.5. Total Oksidan ve Antioksidan Seviyelerinin Belirlenmesi.....	45

3.5.1. Total oksidan seviyesi (TOS) ölçümü.....	46
3.5.2. Total antioksidan seviyesi (TAS) ölçümü.....	46
3.5.3. Oksidatif stres indeksi.....	46
3.6. Histolojik ve Histomorfometrik İncelemeler için Örneklerin Hazırlanması.....	46
3.6.1. Hematoksilen-Eozin boyaması.....	46
3.6.2. Masson Trikrom boyaması.....	47
3.7. Histopatolojik ve Histomorfometrik Değerlendirme.....	47
3.8. İstatistiksel Yöntem.....	48
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>49</b>
4.1. Klinik Takip Bulguları.....	49
4.1.1. Vücut ağırlıkları.....	49
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	51
4.2.1. 4. 7. ve 14. gün grupları.....	51
4.3. Makroskopik Bulgular, Histolojik ve Histomorfometrik Analiz Sonuçları.....	52
4.3.1. 4. gün grupları.....	53
4.3.1.1. Makroskopik bulgular.....	53
4.3.1.2. Histolojik bulgular.....	59
4.3.2. 7. gün grupları.....	64
4.3.2.1. Makroskopik bulgular.....	64
4.3.2.2. Histolojik bulgular.....	69
4.3.3. 14. gün grupları.....	74
4.3.3.1. Makroskopik bulgular.....	74
4.3.3.2. Histolojik bulgular.....	79
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>84</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>97</b>
<b>7. EKLER.....</b>	<b>119</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>120</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<b>ÜÇE</b>	Üzüm Çekirdeği Ekstresi
<b>DDL</b>	Düşük Doz Lazer Tedavisi
<b><math>\alpha</math></b>	Alfa
<b><math>\beta</math></b>	Beta
<b>ADP</b>	Adenozin difosfat
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>TGF- <math>\beta</math></b>	Transforme Edici Büyüme Faktörü - Beta
<b>PDGF</b>	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
<b>VEGF</b>	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>FGF</b>	Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>EGF</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör Nekroze Edici Faktör-Alfa
<b>NADPH</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>ROT</b>	Reaktif Oksijen Türevleri
<b>IGF</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
<b>TSP-1</b>	Trombospondin-1
<b>FAF</b>	Fibroblast Aktifleştirici Faktör
<b>KGF</b>	Keratinosit Büyüme Faktörü
<b>GM-CSF</b>	Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
<b>MMP</b>	Matriks Metalloproteinaz
<b>ECM</b>	Ekstrasellüler Matriks
<b>SR</b>	Serbest Radikaller
<b>NO<math>\cdot</math></b>	Nitrik Oksit
<b>RNT</b>	Reaktif Nitrojen Türleri
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>TF-mRNA</b>	mRNA Doku Faktörü
<b>AP-1</b>	Aktivatör Protein-1
<b>TAS</b>	Total Antioksidan Seviyesi
<b>TOS</b>	Total Oksidan Seviyesi
<b>OSİ</b>	Oksidatif Stres İndeksi



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Yara iyileşmesinde zamana göre hücresel olaylar.....	7
Şekil 2. Pıhtılaşmada ekstresek ve intrinsek yol.....	9
Şekil 3. Pıhtılaşma fiziolojisi.....	10
Şekil 4. Makrofajların yara iyileşmesindeki fonksiyonları.....	13
Şekil 5. VEGF'in iyileşme sürecindeki etkileri.....	16
Şekil 6. Serbest radikallerin temel yapısını gösteren şematik resim.....	19
Şekil 7. Sağlıklı bir hücrede oluşan serbest radikaller.....	20
Şekil 8. Antioksidanların serbest radikali nötralize etmesi.....	24
Şekil 9. Lazer ışığının dalga boyu.....	32
Şekil 10. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama ve standart sapma değerlerini gösteren TAS, TOS ve OSİ grafiği.....	51
Şekil 11. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren epitelde mitoz sayısı grafiği (* p<0.05).....	55
Şekil 12. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren kapiller sayısı ve genişliği grafiği (* p<0.05) .....	56
Şekil 13. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren enflamatuar hücre sayısı grafiği (* p<0.05) .....	56
Şekil 14. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren fibroblast sayısı grafiği (* p<0.05).....	57
Şekil 15. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren kollajen lif grafiği (* p<0.05).....	57
Şekil 16. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren epitelde mitoz sayısı grafiği (* p<0.05).....	65
Şekil 17. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kapiller sayısı ve genişliği grafiği (* p<0.05).....	66
Şekil 18. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren enflamatuar hücre sayısı grafiği (* p<0.05).....	66
Şekil 19. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren fibroblast sayısı grafiği (* p<0.05).....	67
Şekil 20. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kollajen lif grafiği (* p<0.05).....	67

<b>Şekil 21.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren epitelde mitoz sayısı grafiği (* p<0.05).....	75
<b>Şekil 22.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kapiller sayısı ve genişliği grafiği (* p<0.05).....	76
<b>Şekil 23.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren enflamatuar hücre grafiği.....	76
<b>Şekil 24.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren fibroblast sayısı grafiği (* p<0.05).....	77
<b>Şekil 25.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kollajen lif grafiği (* p<0.05).....	77

## RESİMLER LİSTESİ

<b>Resim 1.</b> Ratların gruplandırılarak kafeslere yerleştirilmesi.....	40
<b>Resim 2.</b> Ratın palatinal mukozasında rugaların hemen arkasında oluşturulan 4 mm çapındaki tam kalınlık mukozal defekt.....	42
<b>Resim 3.</b> Rata düşük doz lazer tedavisinin uygulanışı.....	45
<b>Resim 4.</b> 4. gün gruplarına ait makroskopik görüntüler ( <b>A</b> , Kontrol grubu 4. gün; <b>B</b> , ÜÇE grubu 4. gün; <b>C</b> , DDLT grubu 4. gün; <b>D</b> , ÜÇE + DDLT grubu 4. gün, Ok; mukozal defekt bölgesi).....	54
<b>Resim 5.</b> Kontrol 4. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	60
<b>Resim 6.</b> ÜÇE grubu 4. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	61
<b>Resim 7.</b> DDLT grubu 4. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	62
<b>Resim 8.</b> ÜÇE+DDLT grubu 4. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	63
<b>Resim 9.</b> 7. gün gruplarına ait makroskopik görüntüler ( <b>A</b> , Kontrol grubu 7. gün; <b>B</b> , ÜÇE grubu 7. gün; <b>C</b> , DDLT grubu 7. gün; <b>D</b> , ÜÇE + DDLT grubu 7. gün, Ok; mukozal defekt bölgesi).....	64
<b>Resim 10.</b> Kontrol 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	70
<b>Resim 11.</b> ÜÇE grubu 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> : Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	71
<b>Resim 12.</b> DDLT grubu 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	72

<b>Resim 13.</b> ÜÇE+DDLT grubu 7. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	73
<b>Resim 14.</b> 14. gün gruplarına ait makroskopik görüntüler ( <b>A</b> , Kontrol grubu 14. gün; <b>B</b> , Ekstre grubu 14. gün; <b>C</b> , Lazer grubu 14. gün; <b>D</b> , Ekstre + lazer 14. gün, Ok; mukozal defekt bölgesi.).....	74
<b>Resim 15.</b> Kontrol 14. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	80
<b>Resim 16.</b> ÜÇE 14. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	81
<b>Resim 17.</b> DDLT 14. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	82
<b>Resim 18.</b> ÜÇE+DDLT 14. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, <i>E</i> :Epitel, <i>Lp</i> :Lamina propria, <i>H&amp;E</i> :Hematoksilen eozin, <i>M&amp;T</i> :Masson Trikrom x200).....	83

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Oksidatif ve nitrooksidatif stresin etkileri ve hedef bölgeleri.....	23
<b>Tablo 2.</b> Endojen kaynaklı enzimatik antioksidanlar.....	26
<b>Tablo 3.</b> DDLT'nin yara iyileşmesinde hücreler üzerindeki olası etkileri.....	37
<b>Tablo 4.</b> Deney hayvanlarının gruplandırılması.....	41
<b>Tablo 5.</b> Histolojik değerlendirme kriterleri.....	48
<b>Tablo 6.</b> Başlangıç ağırlık ve deney sonu ağırlık karşılaştırmaları.....	49
<b>Tablo 7.</b> Deney sonunda gruplar arasındaki ağırlık farklarının karşılaştırması.....	50
<b>Tablo 8.</b> KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının TAS, TOS, ve OSİ değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri.....	51
<b>Tablo 9.</b> KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının TAS, TOS ve OSİ değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel farklılıklarının karşılaştırılması.....	52
<b>Tablo 10.</b> KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri.....	55
<b>Tablo 11.</b> KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	58
<b>Tablo 12.</b> KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri.....	65
<b>Tablo 13.</b> KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	68
<b>Tablo 14.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri.....	75
<b>Tablo 15.</b> KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	78

## ÖZET

### ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRESİ (*VITIS VINIFERA*) VE DÜŞÜK DOZ LAZER TEDAVİSİNİN (DDLT) AĞIZ İÇİ YARA İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ

Mehmet DEMİRKOL

Doktora Tezi, Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mutan Hamdi ARAS

Tez Ortak Danışmanı: Doç. Dr. Sevil KAHRAMAN

Nisan 2014, 120 sayfa

Yara iyileşmesi hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve dokunun yeniden şekillenmesi olarak 4 faza ayrılmış kompleks biyolojik bir süreçtir. Yaranın iyileşmesine olumlu etkileri olan pek çok farklı ajanların olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı üzüm çekirdeği ekstresinin (ÜÇE) ve düşük doz lazer tedavisinin (DDLT), ratlarda palatinal mukoza iyileşmesi üzerine etkilerini ve rat serumlarındaki total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyelerini araştırmaktır. Ratların palatinal yumuşak dokularına, standart biyopsi punch ile tam kalınlık 4 mm çapında mukozal defekt oluşturularak, ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı (n=18). Gruplar; kontrol (ÜÇE ve DDLT almayan), ÜÇE (300 mg/kg/gün) ile tedavi edilen grup, diyet lazer uygulanan grup, ÜÇE (300 mg/kg/gün) ve diyet lazer ile kombine tedavi edilen grup olarak belirlendi. Diyet lazer uygulanan deney gruplarına (lazer, lazer+ÜÇE) 4 gün boyunca günde bir kez 8 J/cm<sup>2</sup> dozunda olmak üzere DDLT uygulandı (810 nm dalga boyunda, devamlı modda, 0.25 W, 9 sn). Bu gruplar daha sonra 4., 7. ve 14. günlerde sakrifiye edilmek üzere 3 alt gruba ayrıldı, ÜÇE ve ÜÇE+DDLT grupları arasında TOS ve OSİ değerlerinde 4. günde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi. ÜÇE ve DDLT'nin kombine kullanımının, rat palatinal yumuşak dokularındaki yara iyileşmesini, sadece ÜÇE ya da lazer gruplarına göre hızlandırdıkları, bunu da vaskülarizasyon, reepitelizasyon ve kollajen sentezini uyarak yaptıkları sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Yara iyileşmesi, Üzüm çekirdeği ekstresi, Düşük doz lazer tedavisi, Oksidatif stres, Diyet lazer

## ABSTRACT

### HISTOMORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE EFFECTS OF GRAPE SEED (*VITIS VINIFERA*) EXTRACT AND LOW-LEVEL LASER THERAPY (LLLT) ON INTRAORAL WOUND HEALING

Mehmet DEMİRKOL

Ph.D. Thesis, Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mutan Hamdi ARAS

Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. Sevil KAHRAMAN

April 2014, 120 pages

Wound healing is a complex biological process that can be divided into four distinct phases of haemostasis, inflammation, proliferation and tissue remodelling. Many factors are known to have positive effect including different therapeutic agents for wound healing. The aim of this study was investigate the effect of grape seed extract (GSE) and low-level laser therapy (LLLT) on palatal mucoperiosteal wound healing and total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSi) in serum by biochemical assays. A standardized full-thickness wound was created in the mucoperiosteum of the hard palates of the rats using a 4-mm-diameter biopsy punch. The animals were randomly divided into four groups ( $n=18$ ): Controls (mucosal injury without taken GSE and laser radiation), mucosal injury treated with GSE via orogastric (300 mg/kg per day) treated with diode laser, treated with GSE via orogastric (300 mg/kg per day), and diode laser. The laser experimental animal groups (laser, laser+GSE) received at  $8 \text{ J/cm}^2$  dose from first to fourth days (810 nm, continuous mode, average power 0.25 W, application time 9 s). GSE experimental animal groups (GSE, laser+GSE) were received until sacrificed. These groups were further divided into three subgroups for sacrifice on the 4th, 7th and 14th days of wound healing. Significant differences were observed in TOS and OSi levels on 4th days between the GSE and GSE+LLLT . The data strongly indicate that combined therapy of GSE+LLLT is efficient than only laser or GSE accelerating the hard palate wound healing process after wounding, probably by inducing vascularization, reepitelization on the wound edge and stimulating collagen synthesis.

**Keywords:** Wound healing, Grape seed extract, Low-level laser therapy, Oxidative stress, Diode laser.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Travma ve cerrahi girişimler başta olmak üzere çeşitli nedenlere bağlı olarak organizmanın içinde veya dış yüzünde organ veya dokuların devamlılığının bozulması yara olarak tanımlanmaktadır. Yaralar kesici ve delici aletler ile mekanik olarak, travma sonucu, fiziksel, kimyasal, mikroorganizmalar veya hekim tarafından tedavi etme amacıyla oluşabilmektedir (1). Hastalıklara karşı medikal tedavinin yanı sıra, cerrahi yolla tedavi hala önemli bir seçenektir. İlerleyen tıbbi metodlarla birlikte cerrahi girişimlerde de yeni yaklaşımlar ortaya çıkmaktadır. Bilindiği üzere cerrahi yaklaşımla patolojik neden uzaklaştırılırken, meydana getirilen yaranın hızlı bir şekilde tatmin edici fonksiyonellik ve estetik ile iyileşmesini sağlamak temel amaçtır. Bu nedenle cerrahların çabaları yara iyileşme sürecini anlamak ve komplikasyonları önlemeye yönelik olmalıdır. Son yıllarda hücresel ve moleküler düzeyde yapılan ileri çalışmalar sayesinde, doku yenilenmesi ve yara iyileşmesindeki biyolojik mekanizmaların daha net bir şekilde anlaşılması sağlanmıştır (2). Ağız, çene ve çevre dokuları içerisinde uygulanacak cerrahi girişimler sonucu oluşan yaraların hızlı ve komplikasyonsuz iyileşmesi, tedavinin başarısı açısından önem arz etmektedir. Ağız içerisinde çeşitli nedenlerle oluşturulan bu yaralar Diş Hekimliği, Ağız Diş ve Çene cerrahisinin temel uğraşı alanlarından biridir. Bu branş dahilinde tedavi amacıyla meydana getirilen yaralar hastanın beslenme, nefes alma gibi hayati fonksiyonlarını veya konuşmada olduğu gibi iş ve sosyal hayatını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Aynı zamanda yara iyileşme sürecinin uzunluğu enfeksiyon riskini önemli ölçüde arttırmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar son yıllarda farklı yara tiplerinde farklı yara iyileştirici ajanların etkilerini incelemişlerdir (2). Kullanılan ajanlardan birisi de antioksidanlardır. Bu antioksidanlar içerisinde bulunan proantosiyandinler, kuruyemişler, tohumlar, sebzeler, meyveler ve ağaç kabuğunda doğal olarak bulunan birleşimlerdir. Yapılan çalışmalar ile siyah üzüm çekirdeğinden (*Vitis Vinifera*) elde edilen ekstrenin, özellikle proantosiyandinler için hem nicelik ve hem de nitelik açısından zengin bir kaynak olduğu gösterilmiştir (3,4). Bunun yanında proantosiyandinlerin güçlü antioksidan özellikleri ile oksidatif hasara neden olan serbest radikallerin inhibisyonuna neden oldukları hem in-vivo hem in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle proantosiyandinler oksidatif stres ile hasara uğrayan dokuların korunmasında yüksek antiinflamatuvar özellikleri ile çok



etkilidirler (5,6). Bu anlamda üzüm çekirdeğinden elde edilen ekstrenin önemi çalışmamız adına büyüktür.

Tıp ve diş hekimliğinde yakın zamanda popüler olmaya başlayan diğer bir stimüle edici faktör düşük doz lazer tedavisidir (DDLTL). Vazodilatasyona ve artan lokal kan akımına yol açan DDLTL bu sayede bölgeye daha fazla oksijen taşınmasına ve immün hücrelerin doku içine daha fazla geçişine neden olur. Ayrıca; endotelyumdaki düz kaslarda gevşemeyi ve rahatlamayı sağlar. Bu iki etki sayesinde hızlanmış doku iyileşmesi meydana gelir. Bu tedavi şeklinin en önemli özelliği ve aynı zamanda en önemli avantajı non-invaziv olması, yara iyileşmesini hızlandırması, ödemi, enflamasyonu ve ağrıyı azaltması gibi etkileridir (7-9).

Bu çalışmada, sağlıklı ratların palatinal mukozalarında tam kalınlık mukozal defekt oluşturularak üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği ekstresi (ÜÇE), DDLTL ve ikisinin kombine kullanımının rat palatinal mukoza yara iyileşmesi, serum Total antioksidan seviyesi (TAS), Total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) üzerine etkilerinin histomorfometrik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Yara

Yara tanım olarak; canlı dokunun fiziksel, kimyasal, cerrahi ve mikroskobik nedenlerle vücut yapılarının bütünlüğünün bozulması veya doku kaybı sonucunda organizmada fizyolojik özelliklerin geçici ya da tamamen kaybolmasıdır. Yara iyileşmesi, hücresel, fizyolojik ve biyokimyasal bir dizi olayın bütünleşmesi sonucu meydana gelir. İyileşme süreci, yaralanmadan hemen sonra başlar, günler, aylar hatta yıllar sürebilen aktif dinamik bir süreç olarak devam eder (10-12). İyileşme aşamaları birbirinin içine geçmiş, karmaşık etkiler ile birbirini izleyen, sınırları tam olarak belirlenemeyen bir durumdur (13). Bu sürecin hızlandırılması ve iyileşmenin tamamlanması için uygulanacak tedavi yöntemleri arasında kesin bir standardizasyon da bulunmamaktadır.

Her yara iyileşmesinde, doku tipinden ve yaralanma çeşidinden bağımsız olarak benzer olaylar oluşur. Son yıllarda hücresel ve moleküler düzeyde yapılan ileri çalışmaların, yara iyileşmesi konusunda yeni bulgular sağlaması, iyileşme üzerinde hızlandırıcı etki yapsa da, iyileşmeyen yaralar ya da aşırı iyileşme özelliği gösteren yaralar ve tümörler gibi kontrolsüz çoğalan dokuların patofizyolojisi de günümüzde hala tam olarak anlaşılammıştır (14).

#### 2.1.1. Yara iyileşmesi

Yaralanmadan sonra 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 (15). Yara iyileşmesi; temel olarak primer, sekonder ve tersiyer iyileşme olmak üzere üç başlık altında incelenir (16).

*Primer yara iyileşmesi:* Yara kenarları anatomik olarak birbirine yaklaştırılarak, iltihapsız, minimum doku kaybı, yara kenarları arasında hiç aralık kalmadan sütür, stapler veya yapışkan bantlarla kapatılarak yapılan ve minimal skar oluşumu ile meydana gelen iyileşme, primer yara iyileşmesi olarak adlandırılır (15,17). Primer yara iyileşmesinde önemli etkisi olan epidermis, sütürasyondan sonraki saatler içerisinde her

iki yara yerinde kalınlaşır. Kesi hattı boyunca insizyon aralığının derinliğine doğru ilerler ve 24-48 saat içerisinde orta hatta birleşerek devamlı ince bir tabaka oluşturur. Bu bakteriyel invazyon için bariyer teşkil eder. Matriks proteinlerinin sentezi, depolanması ve kollajen liflerinin oluşumu dengeli bir süreçte devam eder (10).

*Sekonder yara iyileşmesi:* Oluşan doku defektinin herhangi bir müdahale yapılmadan uzun bir süreçte granülasyon ve bağ dokusu ile dolması sonucu meydana gelen iyileşmedir. Sonradan süturları alınarak yara yerleri birbirinden ayrılmış olan cerrahi yaranın iyileşmesi de bu gruba girer. Primer iyileşmeden farkı, inflamatuvar yanıtın daha şiddetli, granülasyon dokusunun ve yara kontraksiyonunun oluşumuyla birlikte skarın daha fazla miktarda görülmesidir. Ayrıca kenar epitelizasyonu izlenir (1,10). Sekonder iyileşme genellikle avülziv yaralanma, lokal enfeksiyon ya da yaranın yetersiz kapanmasıyla birlikte görülür. Bu tür yaralarda, çok miktarda nekrotik artık, eksuda ve fibrin bulunur (15,18).

*Tersiyer yara iyileşmesi:* Gecikmiş primer iyileşme olarak da adlandırılabilir. Bu tür iyileşme de enfeksiyon nedeniyle kontamine olabileceği düşünülen yara açık bırakılarak dokunun kanlanmasına izin verilir. Enfeksiyonu engellemek için normal yara bakımıyla ölü dokuların debritleme yapılır ve bakteri kontaminasyonu en aza indirilir. Granülasyon dokusu yeterli duruma gelince deri kapatılır (15,19).

### **2.1.2. Yara iyileşmesinin fizyolojisi**

Yaralanmanın hemen sonucunda travmanın oluş nedenine bağlı olmaksızın, yara bölgesinde dokunun morfolojik ve fonksiyonel özelliklerini yeniden kazanmasını sağlayacak özelleşmiş hücrelerin göç etmesiyle oldukça karmaşık olaylar dizisi başlar (2,20). Tüm dokularda aynı biyolojik ve biyokimyasal prensipleri takip eder (21). Normal yara iyileşmesi, birçok hücrel faaliyetin zincirleme çalışması ile gerçekleşir. Bu faaliyetler, fagositoz, kemotaksis, mitogenez, kollajen sentezi, diğer matriks komponentlerinin sentezidir (22). Bu süreç sınırları çok belirgin olmamakla birlikte 4 fazdan oluşur. Bunlara “yara iyileşmesi fazları” denilir (23). Bu evrelerin herhangi birisinde meydana gelebilecek olan değişiklik veya gerçekleşmesindeki gecikme iyileşmenin tamamlanamamasına neden olabilmektedir (10).

Yara iyileşme fazları ; (23)

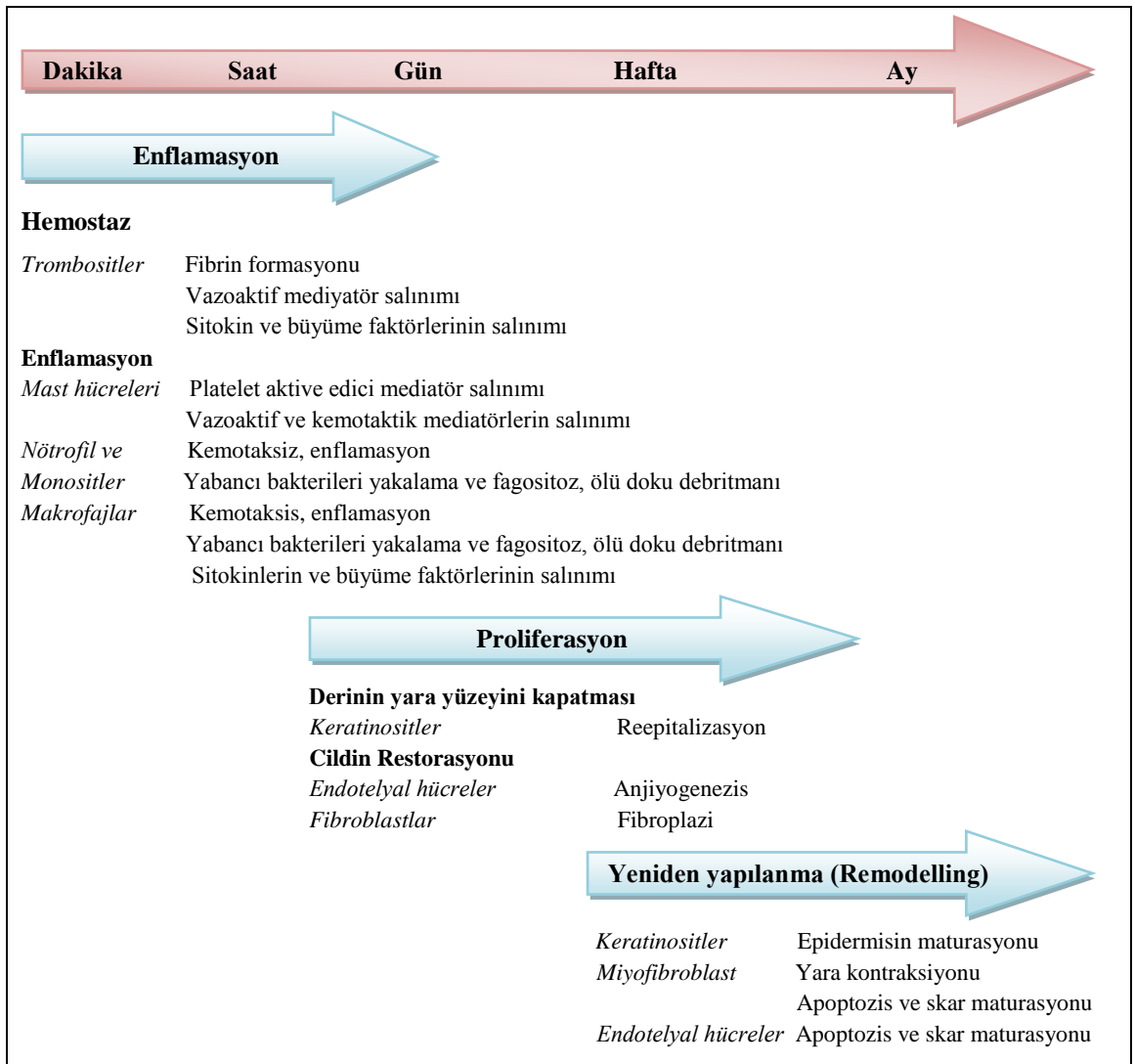
1) Hemostaz

2) Enflamasyon

3) Proliferasyon

4) Skar maturasyonu fazı

Hemostaz ve enflamasyon fazı yaklaşık üç gün, proliferatif faz yaklaşık 10 gün ve skar maturasyonu fazı (rejeneratif) yaklaşık 2 yıl devam eder (24). Yara iyileşmesinde zamana göre etkili olan hücreler ve fonksiyonları Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Yara iyileşmesinde zamana göre hücrel olaylar (1)

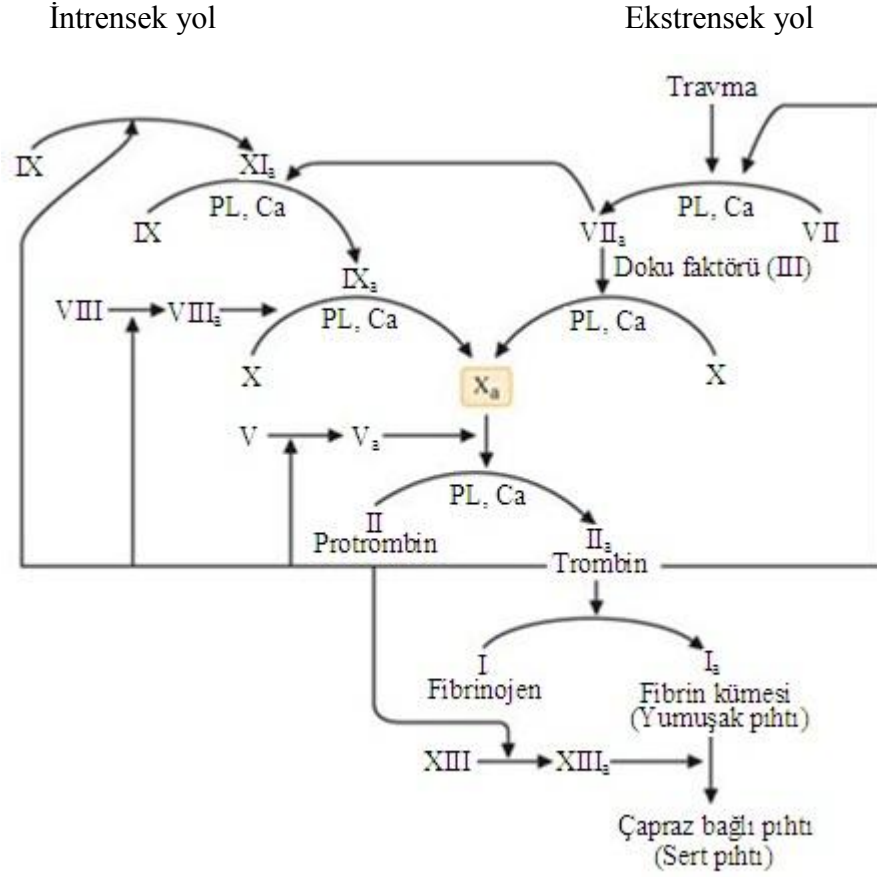
### **2.1.2.1. Hemostaz**

Hemostaz doku hasarına karşı verilen ilk cevaptır. Cildin bütünlüğünün bozulmasından sonra oluşan vasküler hasar, hemostaz için gerekli olan moleküler ve hücresele olayların başlamasına neden olur. İyileşme aşamaları hemostaz safhası olmadan başlamaz (11).

Travma sonucu kanamaya ilk yanıt katekolamin salınımını takiben oluşan yaklaşık 5-10 dakika süren geçici vazokonstriksiyondur. Periferik dolaşımdan gelen adrenalin ile sempatik aktivasyona bağı açığa çıkan lokal noradrenalin en önemli vazoaktif aminlerdir. Bunun yanında hasar bölgesinde yer alan hücrelerden salınan prostoglandinlerinde etkisi vardır (25).

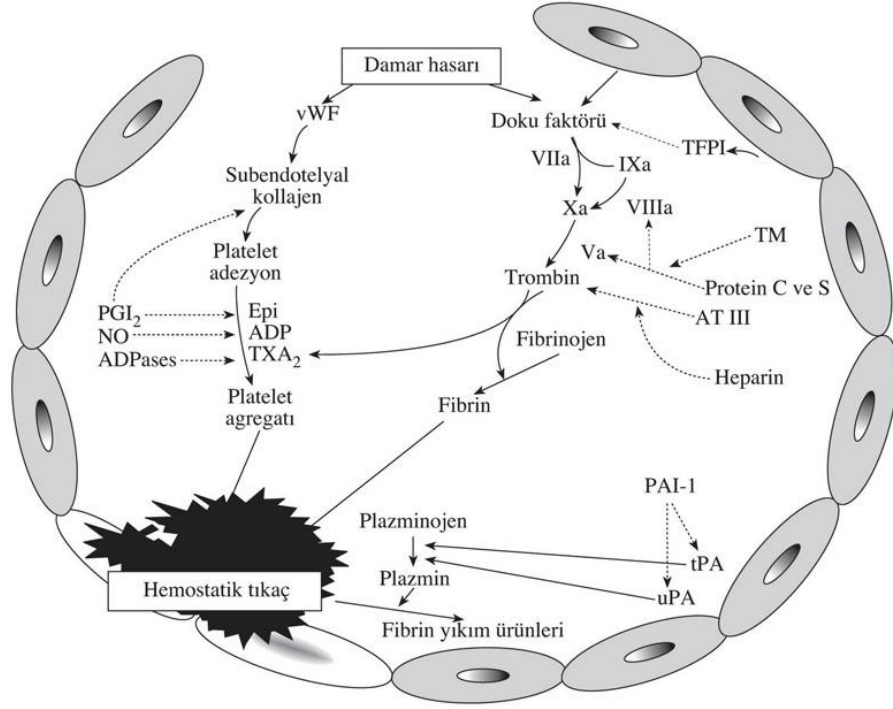
Faktör XII'nin (Hagemann faktörü) aktive olması ile hemostaz aşamasının dört ana biyokimyasal sistemi olan kompleman, plazminojen, kinin ve pıhtılaşma sistemlerinin aktivasyonu başlar (10). İlk olarak trombositler vasküler onarımı başlatacak mekanizmayı harekete geçirirler (11,26).

Yaralanma ile birlikte ortaya çıkan subendotelyal kollajene trombositlerin adhezyon ve agregasyonu ile trombosit pıhtı süreci başlar. Trombositler subendotelyal kollajene yapışması sonucu degranüle olurlar (21,27,28). Koagülasyon basamakları intrinsek ve ekstrinsek bileşenlerden oluşmuştur. İntrensek yol, normal yara iyileşmesi için şart olmasa da ekstrinsek yol için gereklidir. Ekstresek yol, doku faktörünün faktör VII veya VIIa ile birleşmesi ile başlar. Doku faktörü damar dışı alanlarda, özellikle de adventisyal fibroblastlarda bulunur (29). Ekstresek ve intrinsek yollar Şekil 2'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Pıhtılaşmada ekstrensek ve intrensek yol (30)

Aktif trombositlerin  $\alpha$  granüllerinden; adenozin difosfat (ADP), fibrinojen, fibronektin, trombospondin ve faktör VIII (vonWillebrand) gibi pek çok adeziv faktör salınır. Fibrinojen, fibronektin ve trombospondin trombosit agregasyonunu kolaylaştırırken faktör VIII trombositlerin kollajene yapışmasını hızlandırır. Trombosit pıhtısının oluşumu sonrası fibrinojenin trombinle polimerasyonu fibrin oluşumuna neden olur, fibrin de pıhtıyı genişletir. Ekstrasellüler matriksin bir kısmını oluşturarak, yaraya hücre göçünü sağlar. Bu mekanizmalar ile fibrin pıhtısı oluşarak hemostaz sağlanır. Ayrıca monosit, fibroblast ve keratinositler gibi hücrelerin tamir süreci sırasında geçebileceği geçici bir matriks oluşur (1,11,21,31). Pıhtılaşma fizyolojisi Şekil 3'te gösterilmiştir.



**Şekil 3.** Pıhtılaşma fiziyojisi (32)

Pıhtılaşma mekanizmalarındaki faktörlerin eksikliği veya değişikliği sonucunda bu basamakların herhangi bir yerinde bozukluk yara iyileşmesini bozabilir. Faktör XIII'ün (fibrin stabilize edici faktör) eksikliği gibi durumlarda yetersiz pıhtı oluşumu ile enflamasyon alanlarındaki hücrelerde azalmış adezyon ya da azalmış kemotaksise bağlı yara iyileşmesinde gecikme gözlenir (10). İnterlökinler (IL), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- $\beta$ ), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF) içeren proteinler salgılanarak yara ortamını korurlar ve iyileşmeyi düzenlerler (2,15).

Trombositler, pıhtı oluşumunda kemotaktik faktörlerin salgılanmasında görev almasının yanında nötrofil, makrofaj ve fibroblastları yara bölgesine çeken çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasını da uyararak, sonraki yara iyileşmesi evrelerinin gerçekleşmesine öncülük ederler (31,33). Trombositlerin sentezlediği bazı maddeler; PDGF, TGF- $\beta$ , fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF)'dür. Trombositlerden salgılanan bu büyüme faktörleri sayesinde fibroblast ve diğer mezenkimal hücrelerin etkinliği başlatılmış olur (26,34).

### 2.1.2.2. Enflamasyon

Yaralanmanın erken dönemlerinde reaktif vazokonstriksiyon 10-15 dakika içinde son bularak hemostaz sağlanır. Bunun yerini histamin, prostoglandinler, kininler ve lökotrienlerin mediatörlüğünü yaptığı daha kalıcı bir vazodilatasyon dönemi alır. Vazodilatasyon, endotel veya mast hücresi kaynaklı lökotrien, prostoglandin ve özellikle histamin kaynaklıdır. Trombin, kinin ve C3a/C5a'da geçirgenliği artırıcı kuvvetli ajanlardır (23). Artan damarsal geçirgenlik kan plazmasının ve diğer hücrel iyileşme mediatörlerinin damar duvarlarından diyapedez yoluyla geçmesine ve ekstravasküler alana yerleşmesine izin verir (15,27).<sup>\*</sup> Şişlik, kızarıklık, sıcaklık artışı, ağrı ve fonksiyon kaybını gösteren enflamasyonun klinik belirtileri ortaya çıkar (10,15). Yangının kardinal semptomları kızarıklık, şişlik, ısı artışı, ağrı ve fonksiyon kaybıdır. Vazodilatasyon ısı artışı ve eriteme neden olurken, ödem interstisyel dokuya sıvı geçişinden, ağrı ve fonksiyon kaybı lökositlerden ve mast hücreleri tarafından salgılanan histamin, kinin, prostoglandinler ve ödemden kaynaklanan basınçtan dolayı meydana gelir (15).

Yara bölgesinde sitokinlerin salınmasıyla, nötrofil ve monositler ile yoğun enflamatuvar hücre göçü olur. Yaralanmanın 6 saat sonrasında kemotaktik uyarılar ile bölgeye ilk gelen hücreler nötrofillerdir. 1-2 gün içerisinde en yüksek seviyeye ulaşarak, ilk 3 gün boyunca yara bölgesinde egemen hücre olarak bulunurlar (10,12,35). Nötrofilleri yara bölgesine çeken uyarı, etkin hale gelmiş makrofajlardan salgılanan PDGF, tümör nekroz edici faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), IL-1 ve IL-6'dan kaynaklanır. Nötrofillerin ana görevi yaradaki yabancı maddeleri, etkinliklerini yitirmiş ölü doku hücrelerini ve hasarlanmış matriks bileşenlerini fagosite etmektir (35). Fibrin pıhtı içerisinde göç eden kısa ömürlü lökositlerde, proteaz ve sitokin salgılayarak yarayı kontamine edici bakteri, cansız doku ve parçalanmış matriks unsurlarından temizlemeye yardım ederler (15). Buna ek olarak, yaralanmamış doku matriksi, proteaz inhibitörleri ile korunur (36). Yara bölgesinde aktif nötrofillerin bakterileri yok etmesi oksidatif patlama olarak adlandırılan Nikotinamid-adenin dinükleotid-fosfat (NADPH) oksidaz enziminin kullanıldığı bir reaksiyon ile reaktif oksijen türevleri (ROT) sentezi ile olur. Bu reaksiyonlar sonucu OH radikali sadece bakteriler için öldürücü değil doku hücrelerini de harap edici özelliği olan son derece aktif bir oksitleyici olarak rol oynar (12).

<sup>\*</sup>Diyapedez: Kan hücreleri (eritrosit, lökosit)"nin damar duvarlarından dışarıya sızması<sup>(37)</sup>

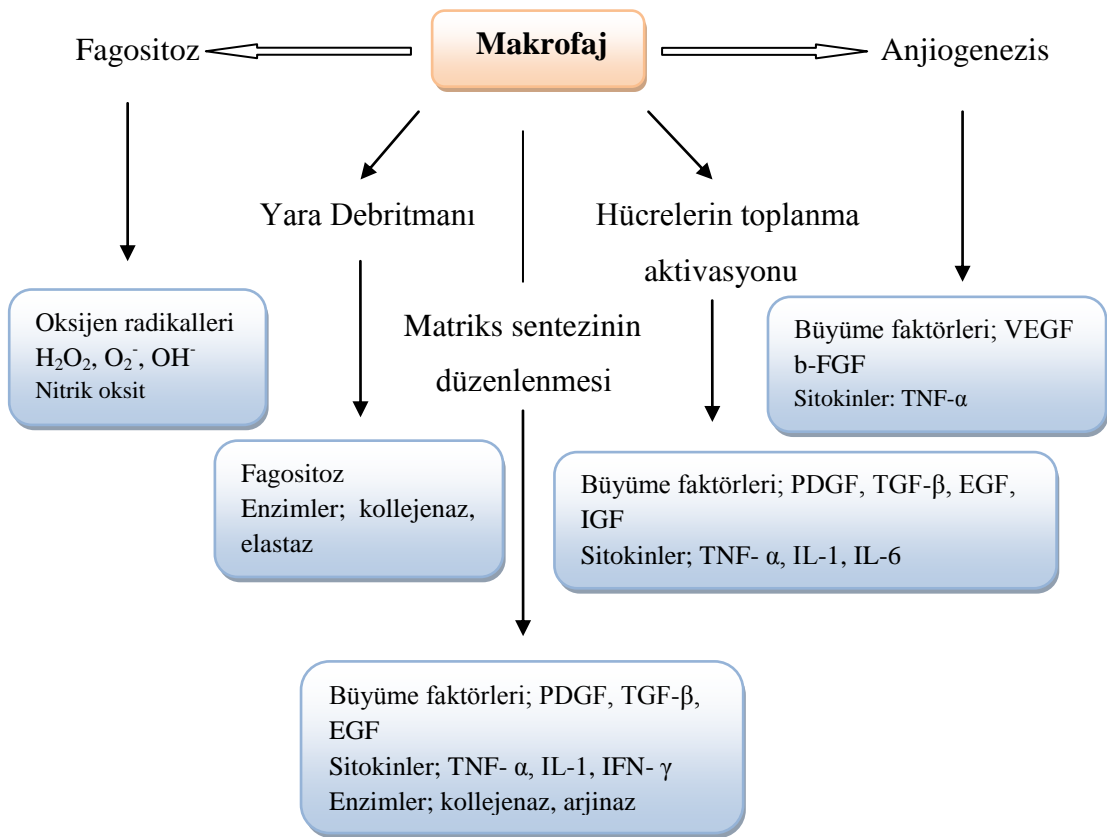


Nötrofillerin iyileşme bölgesinde kalış süresini ortamdaki bakteri miktarı belirlemektedir (38). Diğer yandan nötrofillerin uzun süre kalması daha fazla ROT üretimi ile dokuda hasara sebep olduğu bilinmektedir. Bu durum ise kronik yaralarda sıklıkla görülür (36). Aynı zamanda iyileşmeyen kronik yaralar yoğun nötrofil infiltrasyonuna maruz kalmaktadır. Buna bağlı olarak dokuda artmış olan kollajenaz enzimi ve esteraz salgısı, yara iyileşmesi için önemli olan PDGF ve TGF- $\beta$  gibi büyüme faktörlerinin yıkımına da sebep olabilir (39,40). Normal yara iyileşmesinde nötrofil infiltrasyonu ikinci ve üçüncü günlerinden sonra sona erer. Fakat fonksiyonunu kaybetmiş nötrofillerden salgılanan TNF- $\alpha$  ve interlökinleri (IL-1a, IL-1b) içeren proenflamatuar sitokinler, enflamatuar yanıtı daha uzun süreli stimüle etmeye devam ederler (15).

Mast hücreleri yara iyileşmesinde önemli rol oynayan bir başka hücredir. Yara bölgesinde bulunan mast hücreleri enzim, histamin ve diğer aktif aminleri sentezleyerek yara bölgesindeki enflamasyonun karakteristik bulgularının ortaya çıkmasına sebep olurlar (41,42).

Yara iyileşmesinin ikinci ve üçüncü günlerinden sonra nötrofillerin azalmasına bağlı olarak kan dolaşımıyla gelen monositler görülür. Bunlar, fenotipik değişiklik geçirerek yara makrofajlarına dönüşür. Aktif makrofajlar, yara iyileşmesinde, proliferatif faza geçiş için önemlidir. Aynı zamanda 3-5. günlerde makrofajlar yarada hakim hücre olurken, iyileşmenin de en önemli hücre gruplarından birini oluştururlar. Nötrofillere kıyasla daha büyük ve daha yavaş olan makrofajları, yarayı yabancı maddelerden temizlemenin ötesinde, yara debritleme, matriks sentez regülasyonu ve anjiyogenez de etkin rol oynarlar (10,12,35). Monosit ve makrofajdan yoksun bir yara iyileşmesinde debritleme yeterli düzeyde olamamakta, fibroblast ve endotelial hücre proliferasyonunda gecikme meydana gelmektedir (43). Makrofajlar, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, PDGF, insülin benzeri büyüme faktörü [IGF]-I ve -II, TNF- $\alpha$ , ve IL-1 gibi bir dizi büyüme faktörü ve sitokini ortaya çıkararak, fibroblast göçü, proliferasyonu ve kollajen sentezini uyarırlar (15,23,44). Makrofajlar, proteolitik enzimlerle lokal dokunun yeniden oluşumunu düzenleyip, yeni ekstrasellüler matriks oluşumunu uyararak ve trombospondin-1 (TSP-1) ve IL-1b gibi sitokinlerin lokal üretimi yoluyla anjiyogenez ve fibroplaziyi düzenleyerek erken yara iyileşmesinin tüm fazlarını etkilerler. Makrofajların yara iyileşmesindeki fonksiyonları Şekil 4'te gösterilmiştir.

Enflamatuvar fazda görev alan diğerk bir hücre ise lenfositler olup esas etkileri fibroblast proliferasyonu üzerinedir. IL-2 ve fibroblast etkinleştirici faktör (FAF) gibi uyarıcı, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN gibi inhibe edici faktörleri salgırlarlar. T lenfositler yara ortamında 5. günde görülmeye başlarken, sayıları 7. günde tavan yapar. B lenfositlerin ise yara iyileşmesinde fonksiyonları tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (45). Yaralanmadan sonraki beşinci güne kadar makrofajların miktarı ve etkinliği azalsa da, iyileşme tamamlanana kadar, yara iyileşmesini düzenlemeye devam ederler (15,23). Ortamdaki sitokin seviyesinin düşmesiyle birlikte enflamasyon safhasının sonlarına doğru monosit ve makrofaj infiltrasyonu giderek azalır (10).



**Şekil 4.** Makrofajların yara iyileşmesindeki fonksiyonları (10)

### 2.1.2.3. Proliferasyon

Yaralanmadan sonraki iki ile üçüncü gün arasında başlayarak, ortalama olarak 3 hafta süren ve granülasyon oluşumu, reepitelizasyon, fibroplazi, anjiyogenez olarak kendi içinde 4 faza ayrılan bu döneme proliferasyon aşaması denir (12,28). İyileşme aşamasının başlarında fibrince zengin matriks içinde enflamatuvar hücreler etkin rol oynarken, 3-5. günden sonra ortamda bulunan makrofajlar tarafından salgılanan PDGF,

TGF- $\beta$  gibi sitokinler tarafından fibroblastlar aktive edilir ve çevre dokudan yaraya göç ederek proliferere olurlar. Bu fazdan itibaren fibroblastlar baskın hücre haline gelirler (23). Fibroblastların yara yerindeki yoğunluğu 5-7. gün arasında maksimum seviyeye çıkar. Bu hücrelerin iyileşmedeki temel görevi yara onarımını yaparak, bağ dokusunun ana maddeleri olan kollajen, proteoglikan, retikülin ve elastini üretmektedir (10,12,35).

İyileşme sürecinde oluşan granülasyon dokusunun yapısını, fibronektin, hyaluronik asit ve kollajenden meydana gelen gevşek bir matriks içinde yer alan makrofaj ve fibroblastlar ile makroskopik olarak granüler görünüme yol açan yeni kan damarları oluşturur. Fibronektin ve hyaluronik asit, makrofaj ve fibroblastların göç edip yerleşeceği iskelet görevi görür (10,21). Daha sonra yara bölgesinin etrafındaki keratinositlerde farklılaşma ile reepitelizasyon başlar. Bu epidermin tamirinde görev alır. Keratinositlerin yaranın serbest kenarından hasarlı bölgeye migrasyonuna ve proliferasyonuna EGF, keratinosit büyüme faktörü (KGF), FGF 1-2-7, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve TGF neden olur. Bunun yanında keratinositlerin kendileri TGF- $\alpha$  ile  $\beta$ , EGF, PDGF, granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) ve TNF gibi bazı sitokinleri salgılayarak kendilerinin ve diğer hücrelerin gelişimine katkıda bulunurlar. Keratinositlerin göçü deride veya mukozada bariyer oluşana kadar devam eder (1,46-48).

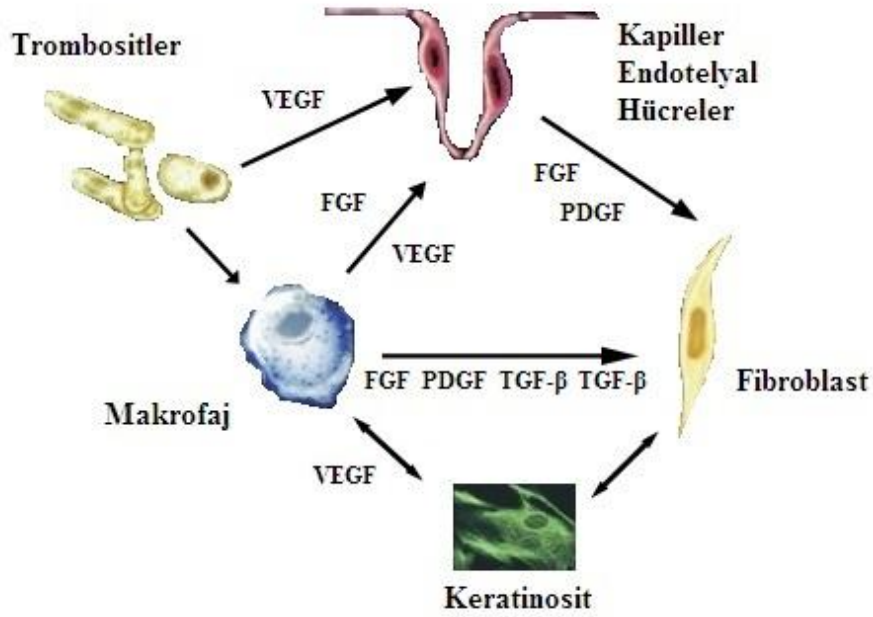
Fibroplazi, fibrin pıhtı içine fibroblast proliferasyonu, migrasyonu ve kollajen ile diğer matriks proteinlerinin üretimidir. Kollajen sentezinin başlaması ve proliferasyonu için fibroblastlar yaralı dokunun etrafındaki sağlam dokudan gelip aktive olurlar. Fibroblastlar için ana sinyali trombosit ve makrofajlar tarafından üretilen PDGF, FGF ve TGF- $\beta$  oluşturur. PDGF'ye yanıt olarak, fibroblastlar tip III kollajen, glikozaminoglikan ve fibronektinden oluşan geçici matriks sentezine başlarlar (12,49). TGF- $\beta$ , fibroblastların tip I ve tip III kollajen sentezlemesini uyarır, matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesini azaltır, doku inhibitörlerinin ve adezyon moleküllerinin üretimini artırır (1,36).

Bu safhada yara gerilim gücünde belirgin bir artış meydana gelir. 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 (50). Kollajen bağ dokusunun ana molekülü olup, sentezinin en yoğun olduğu dönem beşinci ve yedinci günler arasındadır. İnsanda total vücut proteininin %30'unu oluşturan kollajen en çok bulunan proteinlerden biridir. Kollajenin sentezi birçok etkene bağlı olmakla birlikte, dolaşım ve doku oksijen basıncı en önemli faktörlerdir. Kollajen oksijene bağımlı olarak birkaç basamakta gerçekleşmekle birlikte, kollajen sentezi en üst seviyede olduğu zaman parsiyel oksijen basıncı 250 mmHg iken, 20-25 mmHg seviyelerinde kollajen sentez hızı yarı yarıya düşmektedir. Bunun yanında kollajen üretiminin yapılabilmesi için demir, askorbik asit, pridoksin ve bakır gereklidir. Fibroblastların aktif olarak proliferasyon olabilmeleri için parsiyel oksijen basıncının 15 mmHg'nin üzerinde olması gerekmektedir (51-53).

Anjiogenez, tanım olarak yeni kan damarlarının oluşumu anlamına gelirken, bu aşamanın etkin hücreleri endotel hücreleridir (54). Ortamdaki düşük pH, laktat artışı ve azalmış oksijen basıncı gibi yüksek metabolik faaliyetlerde yeni kan damarlarının oluşumu için uyarıcı faktördür (55,56). Bunlar içerisinde hipoksi; anjiogenezisi başlatan temel uyarıcıdır. Yapılan bir çalışmada birkaç saat hipoksik ortamda tutulan çeşitli hücre kültürlerine, normal oksijen basıncı uygulanmaya başlandığında VEGF mRNA ekspresyonunda yükselme izlenmiştir (57).

Anjiogenezisin başlamasında hipoksinin etken faktör olduğu bilinmekle birlikte uzun süren hipoksi durumlarında yeni damar oluşum sürecinin devam edemediği görülmüştür (58). Endotel hücrelerinin göçünü ve proliferasyonunu ekstrasellüler matriks ve komşu hücrelerden gelen sinyaller, direkt ya da indirekt olarak endotel hücrelerini uyararak gerçekleştirir (54,59). Anjiogenezisi başlatan faktörler içinde; VEGF, FGF-2 ve anjiopoetinler en önemlilerindedir. Damar oluşumunda etkili olan VEGF salınımını anjiogenin, EGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , keratinosit büyüme faktörü (KGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), FGF, PDGF, IL-1 $\alpha$ , IL-6 gibi sitokin ve hormonlar uyarılmaktadır (60-62). VEGF'nin anjiogenezis ve iyileşme aşamasında etkileri Şekil 5'te gösterilmiştir. Bu uyarılar ile etkileşen endotel hücreleri, bazal membranı parçalayan plazminojen aktivatör ve kollajenaz gibi proteolitik enzimleri salgılayarak, perivasküler alana çıkar. Burada proliferasyon olarak neovaskülarizasyon olayını indükler (31).



**Şekil 5.** VEGF'in iyileşme sürecindeki etkileri (62)

#### 2.1.2.4. Skar maturasyon fazı (Remodelling)

Normal yara iyileşmesinin son safhası olan maturasyon ile yara, kollajenin ortaya çıkmasıyla şekillenme sürecine girer. Yara oluşumunun ikinci ve üçüncü haftası arasında başlar, matriksin yıkımı ile oluşumu arasında devam eden denge içerisinde ortalama birkaç yıl sürer. Bu basamakta yaranın metabolik ihtiyacı azaldıkça önceden mevcut yüksek vaskülarize granülasyon dokusu kaybolarak, yerini daha az hücre ve damardan oluşan normal cilt/mukoza görüntüsü veren skar oluşumuna bırakır. Klinik olarak bu durum, kızarıklığın ve şişliğin azalmasıyla birlikte pigmentasyonda değişikliklerle izlenir (15,31,38,63).

Kollajen yapım-yıkım döngüsü sitokinler ve büyüme faktörleri ile düzenlenerek, ekstrasellüler matriksin (ECM) yeniden yapılanmasıyla birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit bir dengeye ulaşır. Kollajenin yıkımı; fibroblastlar, granüositler ve makrofajlarca salgılanan MMP tarafından sağlanır. Bu dönemde mevcut Tip III kollajen yıkılarak, yerini Tip I kollajene bırakır (10,12,15,28). Sağlıklı dermiste Tip I/III oranı 4/1 iken, bu oran granülasyon dokusunda 2/1 oranına inmektedir. Başlangıçtaki oranına ise maturasyon safhasında tekrar yükselmektedir. Kollajen önceleri dayanıksız ve düzensiz yığınlar halindeyken, yeniden yapım-yıkım ile reorganize olur ve moleküler çapraz bağlar ile skar dokusu içinde sabitlenir (64). Zamanla oluşan dokunun gerginlik

gücü artar ve en sonunda orijinal gücünün %80-85'ine ulaşır. Skar dokusunda bulunan kollajen maturasyon sürecini tamamlasa dahi hiçbir zaman gerilme gücü orijinal halindeki %100'e ulaşamaz. Birinci haftada %3'e, üçüncü haftada %20'ye, altıncı ay sonunda ulaşabileceği maksimum gerilme gücü olan %85'e ulaşabilir (12,38,54).

Sağlıklı organizmalarda yara iyileşme periyodunu bozan herhangi bir endojen ya da ekzojen faktör müdahil olmadıkça iyileşme normal olarak tamamlanmaktadır. Fakat bu iyileşme sürecinin nasıl devam edip biteceği, ne kadar zaman alacağı çevreye ve organizmaya ait pek çok değişken belirlemektedir (65).

### **2.1.3. Yara iyileşmesini olumsuz etkileyen faktörler**

Cilt/mukozanın bütünlüğünün bozulmasından iyileşme periyodunda tam olarak rejenerasyon sağlanamasa da, sağlıklı bir dokuda eğer yara fonksiyonel ya da estetik bir soruna yol açmayacak bir büyüklükte değilse genellikle problemsiz iyileşmektedir. Fakat günümüzde bile birçok hastada yara iyileşmesinde sorun yaşanmaktadır. Bunlar içerisinde ileri yaş grubundakiler, diyabet hastaları, kanser nedeniyle radyoterapi yada kemoterapi alanlar ve kortikosteroid tedavisi altındaki hasta grubu başta gelmektedir (66). Bunun yanında yara iyileşmesini lokal ve sistemik olarak etkileyen birçok faktör bilinmektedir.

İyileşmeyi Bozan Lokal Faktörler;

- Uygun şekilde yapılmayan cerrahi işlemler (yaranın gergin kapatılması, aşırı ekartasyon, elektrokoterin yanlış kullanılması vb.)
- Uygun olmayan sütür ve sütür teknikleri
- Yaranın vaskülarizasyonunun bozulması ve doku iskemisi
- Enfeksiyon
- Kronik travma
- Yabancı cisim varlığı
- Yara bölgesinde hematoma ya da seroma
- Sıkı pansuman ya da yaranın uygunsuz kapatılması
- Yaranın erken mobilizasyonu
- Nekrotik dokuların yetersiz debritleme olarak sıralanabilir (10,12,35,65-67).

## İyileşmeyi Etkileyen Sistemik ve Çevresel Faktörler;

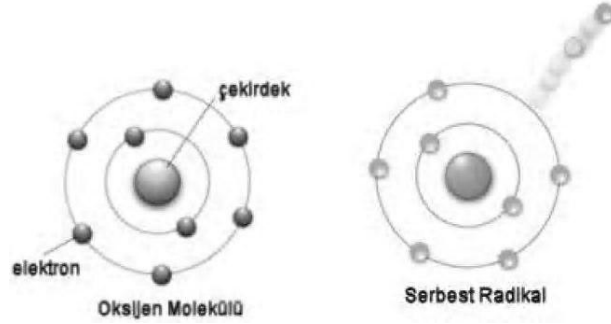
- Beslenmede yetersizlik ya da bozukluk (vitamin eksikliği, protein-kalori eksikliği, eser element)
- Dokunun perfüzyonunu bozan dolaşım sistemi hastalıkları
- Metabolik hastalıklar (kronik anemi)
- Endokrin hastalıkları (diabetes mellitus, hipotroidizm)
- Obezite
- İleri yaş
- Kronik hastalıklar (renal ve hepatik yetmezlik, hematopoetik, konnetif doku ve otoimmün hastalıklar, malignite)
- İlaçlar (kortikosteroid, antikoagülan ve antiagregan gibi kanamayı etkileyen ilaçlar, antineoplastikler, non-steroidal antienflamatuar ilaçlar)
- Sigara kullanımı
- İyonize radyasyon
- Bağ dokusunda değişiklik yapan genetik hastalıklar (Ehlers-Danlos sendromu, Osteogenesis imperfekta, Marfan sendromu)
- *Oksidatif stres*
- Çevre sıcaklığı gibi faktörlerden etkilenir (10,21,67-71).

## 2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

### 2.2.1. Serbest radikaller

Serbest radikaller (SR), dış atomik orbitallerinde bir veya birden fazla çift oluşturmamış elektron içeren ve bağımsız olarak varlığını devam ettiren yüksek enerjili, molekül ağırlığı düşük, stabil olmayan bileşiklerdir (Şekil 6). Bu moleküller pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirlerken, tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilir ve hücrelerin tüm fonksiyonları sonucunda oluşabilir (72,73). Dış orbitallerinde çift yapmamış elektron içerdiklerinden dolayı kendilerini yüksek derecede reaktif hale getirirler ve stabil bir duruma kavuşmaları için diğer bileşiklerle hızla reaksiyona girerler. Bunu, en yakınında bulunan bileşikten elektron alarak yapar ve elektron aldığı bileşiği SR haline getirir. İki SR'nin birbiriyle reaksiyonunda radikal özelliklerini kaybetmekte, eğer bunlardan birisi radikal değilse reaksiyon sonucunda radikal hale gelmektedir. SR'ler hücre içerisinde zincirleme olarak bu reaksiyonları devam ettirerek,

hücre içinde lipit, protein, DNA, karbonhidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar (71,74,75).



**Şekil 6.** Serbest radikallerin temel yapısını gösteren şematik resim (76)

### 2.2.2. Serbest radikallerin oluşumu

Biyolojik sistemlerde üretilen SR'ler 3 yolla meydana gelir.

- Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik ya da heterolitik yıkımı sonucu oluşurlar. En sık bu yolla meydana gelir.
- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar.
- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

Bu sistemler içerisinde en önemli SR'ler oksijen atomundan oluşanlardır (75).

### 2.2.3. Reaktif oksijen türleri

Oksijen atomuna sahip çeşitli SR'lerin oksijen metabolizması sırasında oluşan ve normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında kimyasal reaktivitesi yüksek formlarına reaktif oksijen türleri (ROT) denir (74,77). Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal bir sonucu olarak yaklaşık %1-2 miktarında ROT meydana gelir (78). İnsanda ise, günlük 250 gr dolayındaki oksijen tüketiminin %2-5'i ROT'a dönüşmektedir (79). Canlı hücrelerde oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, ısı, ultraviyole ışınlar, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi dış etkiler sonucu da oksijen türevi SR'ler oluşmaktadır. Bunların başlıcaları, hücre içi reaktif oksijen türleri radikal ve radikal olmayan olarak ikiye ayrılmaktadır (73,77,80). Sağlıklı bir hücrede oluşan SR'ler Şekil 7'de gösterilmiştir.

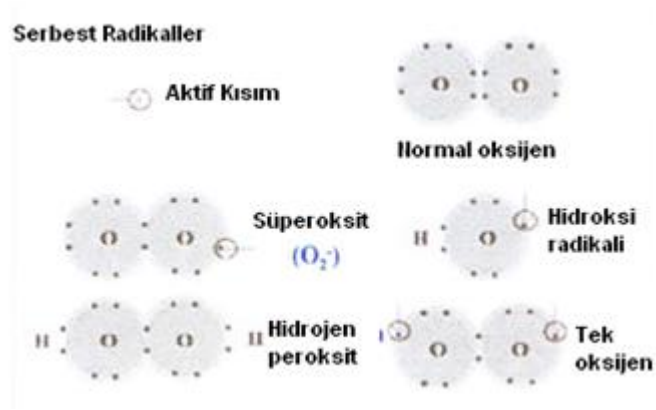


### Radikaller

- Süperoksit anyonu ( $O_2^-$ )
- Peroksil radikali ( $RO\cdot$ )
- Hidroksil radikali ( $OH\cdot$ )
- Hidroperoksil radikali ( $HO_2\cdot$ )

### Radikal olmayanlar

- Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
- Hipoklorik asit ( $HOCl$ )
- Ozon ( $O_3$ )
- Singlet oksijen ( $O_2$ )
- Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )



Şekil 7. Sağlıklı bir hücrede oluşan serbest radikaller (81)

Radikal olmayanlar (non-radikaller), gerçekte hasar oluşturabilecek radikal özelliklere sahip olmamalarına karşın; serbest radikal oluşturma potansiyeline sahip moleküller olarak bilinmektedirler (82).

#### **2.2.4. Reaktif nitrojen türleri ve nitrik oksit**

Nitrik oksit ( $NO\cdot$ ), düşük konsantrasyona sahip, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini devam ettiren düşük molekül ağırlıklı, memeli sekresyonu ürünüdür. Reaktif nitrojen türlerinden (RNT) olan ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştiren  $NO\cdot$  diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir.  $NO\cdot$  bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir. Bu nedenle radikal tanımına uymaktadır ve hücrede nitrooksidatif stres oluştururlar. Damar endotel hücrelerinde bulunan Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi ile lipofilik serbest radikalden L-arjinin sentezlenir (83). Makrofaj, lenfosit, nötrofil ve monositlerde iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz) fonksiyonuna bağlı olarak yoğun miktarda sentezlenmektedir (84).  $NO\cdot$  üzerine yapılan çalışmalarda bu molekülün biyolojik sistemlerde pek çok fizyopatolojik ve fizyolojik olayların regülasyonunda yer

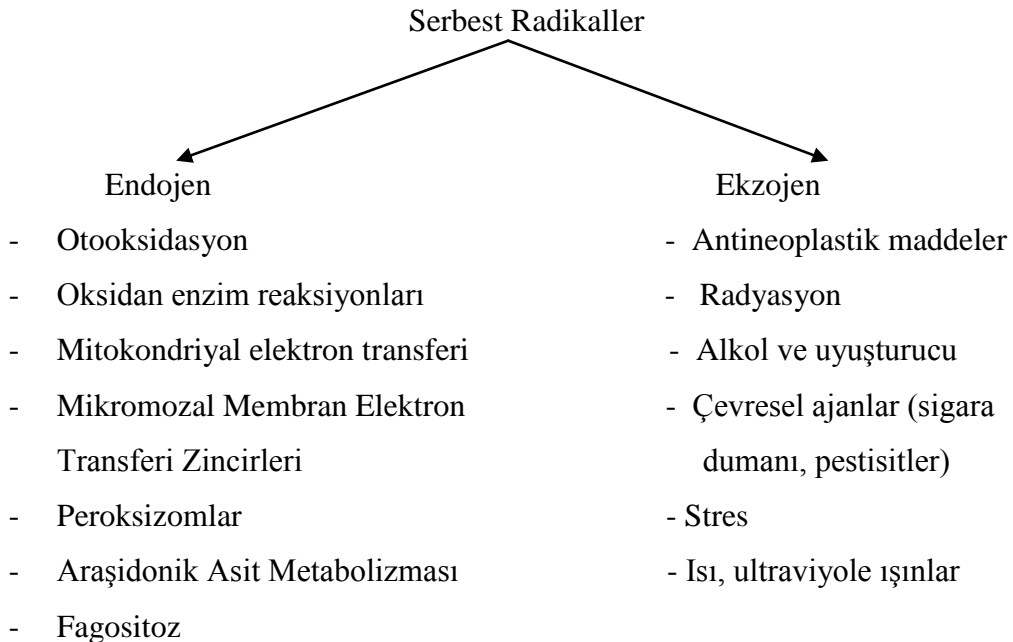
aldığı ve yapısının küçük olması sebebiyle ideal bir intersellüler ve transellüler molekül olduğu gösterilmiştir (85).

### 2.2.5. NO ve yara iyileşmesi

Yara iyileşme aşamasında NOS'un NO, arjinin ve sitrulini metabolize ettiği ve uzun bir süreç alan bu durumun sorumlusunun NO olduğu bilinmektedir (86). NO yapımı uyarıldığında keratinosit gelişimi durmaktadır. EGF ise, NO sentezini azaltarak iyileşmeyi hızlandırmaktadır. İyileşmenin enflamasyon fazında NO yapımını artırarak enfeksiyon önlenir, EGF yapımının indüklenmesiyle de epidermisin oluşumu için keratinosit gelişiminin hızlanması sağlanır (87).

### 2.2.6. Serbest radikallerin kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların sırasında oluşabildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon, ısı ve ultraviyole ışınlar gibi dış etkenlere maruz kalmasıyla da meydana gelebilir. Bu nedenle SR oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır (82,88,89).



### 2.2.7. Oksidatif stres ve yara iyileşmesindeki rolü

Metabolik olaylar sırasında ortaya çıkan ROT ve RNT derişimlerinin hücre içinde artarak toksik düzeye gelmesi sonucunda DNA, proteinler ve lipitleri içeren

biyomoleküller üzerinde yaptıkları oksidatif hasara 'oksidatif stres' denir. Bu durum serbest radikaller ile organizmanın antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Yapılan çalışmalar oksidatif stresin protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik yapıya zarar vererek dejeneratif ve kronik hastalıkların gelişimi üzerinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumunda nöronlar üzerinde etkili olan oksidatif stresin rol oynadığı belirtilmektedir. Kardiyovasküler sistem hastalıklarında özellikle damar iç yüzeyinde oksidatif stresin damar sertliğine neden olduğu gösterilmiştir. Oksidatif stresin yaşlanmayı teşvik ettiği, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama gibi pek çok hastalığa da sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (72,78).

Oksidatif stresin yara iyileşmesinde uyarıcı ve mikroorganizmalara karşı savunma etkisi olduğu gibi aşırı oksidan oluşumu da hücreler üzerinde oksidatif hasara neden olmaktadır. Travma sonrasında ekstremsel koagülasyonun başlaması ve trombin formasyonunun oluşumu amacıyla doku faktörü salgılanır. Pıhtılaşma sürecini güçlendirmek amacıyla mRNA doku faktörünün (TF-mRNA) indüklenmesinde oksidatif stres nedeniyle üretilen ROT önemli rol oynar (90,91). Reepitelizasyon aşamasında ROT kollajenaz salınımı aktive eder ve EGF'nin sinyalizasyonunu yönlendirir. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) aktivatör protein-1'i (AP-1) aktive ederek interstisyel kollajenazı (MMP-1) indükler (92). Bunun yanında mikromolar konsantrasyondaki  $H_2O_2$  keratinositlerden VEGF salınımını uyarır. ROT angiogenesis sırasında FGF-2'nin reseptörüne affinitesini artırır ve aynı zamanda salınımını indükleyerek damarlanmayı hızlandırır (93). Reaktif oksijen türleri fibroblastların, myofibroblastlara dönüşümüne aracılık ederek yara kontraksiyonuna yardımcı olurlar. Tüm bu olaylar oksidatif stresin yara iyileşmesinde yıkıcı etkisi olmadığı zaman gerçekleşmektedir (79,93).

Akut yaralarda oksidan seviyelerinde geçici bir yükselme olduğu gözlenmiştir. Antioksidan defans mekanizmaları oksidanların kademeli olarak detoksifikasyonlarını sağlarlar. Fakat kronik yaralarda enflamatuar faz boyunca kontrolsüz ve sürekli üretilen ROT ve RNT'den dolayı detoksifikasyon süreci engellenir. Her ne kadar kronik yaralarda antioksidan yanıt yükselmiş olsa da aşırı oksidan varlığı antioksidatif aktiviteyi azalttığı için oksidatif stres bastırılamaz (94). Kronik yaralar bu nedenle

enflamatuvar fazda ilerleyemeden kalarak, sonradan üretilecek granülasyon dokusuna eğilim gösteremezler (79). Klinik olarak, kronik yaralar 8 haftalık temel yara tedavisinden sonra bile iyileşme bulgusu vermezler. Bu tür yaralarda, oksidanların ve iNOS'un artmış ekspresyonu oksidatif ve nitrooksidatif stres bileşenlerinin oluşmasıyla sonuçlanacaktır (95). Bununla birlikte artmış RNT ve nitrit seviyelerinin diyabetik ayak ve kronik venöz ülserler ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (96,97). Oksidatif ve nitrooksidatif stresin yara iyileşmesindeki etki süreci ve hedef bölgeleri Tablo 1 'de gösterilmiştir.

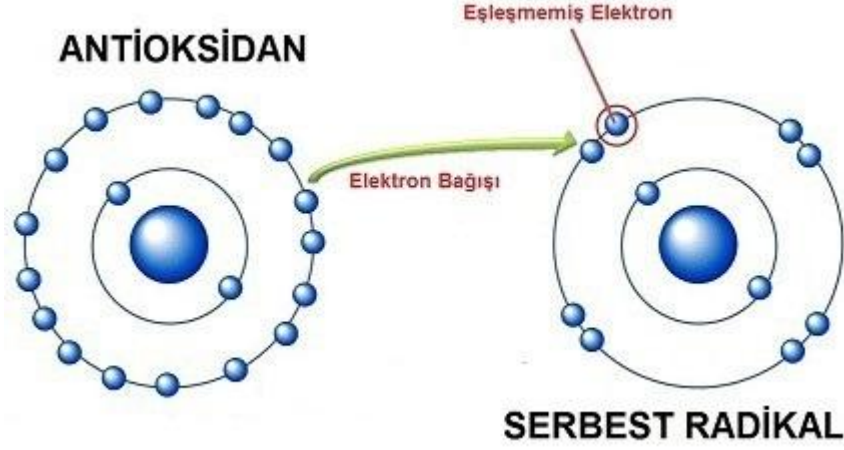
**Tablo 1.** Oksidatif ve nitrooksidatif stresin etkileri ve hedef bölgeleri (98)

<i>Süreç</i>	<i>Hedef Bölge</i>	<i>Etki</i>
<b>İnhibisyon</b>	Keratinositler	Migrasyon ve Proliferasyon
<b>İndüksiyon</b>	Fibroblastlar	Yaşlanma
<b>Hasar</b>	DNA, lipit ve proteinler	DNA'da modifikasyon, lipit peroksidasyonu ve protein oksidasyonu
<b>İnaktivasyon</b>	Proteaz inhibitörleri	Oksidasyon ve proteaz inhibitörlerinin inaktivasyonu
<b>Azalmış/Bitmiş aktivite</b>	Antioksidanlar	Enzimatik antioksidanların azalmış aktivitesi, non-enzimatik antioksidanların tükenmesi

### 2.2.8. Oksidatif strese karşı savunma mekanizmaları

Organizmada SR'lerin oluşumuyla meydana gelen oksidatif stresin yol açtığı hasara karşı biyolojik sistemlerde antioksidan olarak bilinen pek çok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Antioksidanlar elektronlarını vererek serbest radikalleri etkisizleştirir ve elektron verdikleri halde kendileri serbest radikallere dönüşmezler (Şekil 8). Ortamdaki SR'lerin oluşturduğu zincir reaksiyonlarını kırarak oksijenin yüksek reaktif ürünlerinin oluşumunu engellerler. Ayrıca antioksidanlar çok düşük konsantrasyonlarda bile lipit, protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilen substrat ile karşılaştığında substratın oksidasyonunu yavaşlatan veya önleyen madde olarak da tanımlanabilirler. Ortamda

bulunan ROT'ları süpürerek lipid peroksidasyonunu engelleyen antioksidanlar aynı zamanda peroksidasyon zincir reaksiyonunu durdurarak etki gösterirler (99-101).



**Şekil 8.** Antioksidanların serbest radikali nötralize etmesi (102)

### 2.2.8.1. Antioksidanların etki çeşitleri

Antioksidanlar etkilerini dört ayrı mekanizmayla gerçekleştirirler (99,101). Bunlar;

- Toplayıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini tutan veya reaktif olmayan yeni bir moleküle çevrilmesini sağlayan etkidir. Bu yol ile antioksidan enzimler etki göstermektedir.
- Bastırıcı Etki: Serbest oksijen radikalleri ile etkileşerek onlardan bir hidrojen atılması ile aktivitelerinin azaltılmasına veya inaktif şekle dönüştürülmesine sebep olan etkidir. Vitaminler ve flavonoidler bu yolla etki gösterirler.
- Onarıcı Etki: SR'lerin DNA üzerinde oluşturdukları oksidatif hasarın tamir edilme etkisidir.
- Zincir Kırıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayıp zincirlerini kırmak suretiyle fonksiyonlarını engelleyen etkidir. Bu mekanizmada hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metaller yer almaktadır.

### 2.2.8.2. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar aktivite mekanizmalarına göre enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere 2 ana gruba ayrılmaktadır.

### **2.2.8.2.1. Enzimatik antioksidanlar**

Oksidatif toksik ara ürünleri metabolize ederek sinerjik çalışırlar (103).

1. Süperoksit Dismutaz (SOD): Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir molekül olmakla birlikte, oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur. Bu yolla hücrede  $O_2^-$  düzeyleri kontrol altındadır (103,104).
2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): GSH-Px, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG, glutasyon disülfür) oksidasyonunu katalize ederken, hidrojen peroksiti de suya çevirir. Özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimdir (105).
3. Katalaz (CAT): Bütün hücrelerde ama özellikle peroksizomlarda bulunur. Peroksizomlar toksik maddeleri detoksifiye etmek için oksijen kullanan ve sonuçta  $H_2O_2$  üreten hücre yapılarıdır. Katalaz enzimi de hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil (OH) radikallerinin oluşumunu önlemek için bunları suya ve oksijene parçalar (99,105).
4. Glutasyon redüktaz (GR): Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyonu, okside glutatyona dönüştürür (99).
5. Glutasyon-S-Transferaz (GST): Araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı etkinlik gösterirler (106).
6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz: Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, süperoksit radikalini suya çevirerek detoksifiye eden enzimdir (106,107).

### **2.2.8.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar**

Düşük molekül ağırlıklı olan bu antioksidanlar okside olarak başka bir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirir veya önlerler. Endojen veya ekzojen kaynaklıdır. Endojen kaynaklı enzimatik antioksidanlar Tablo 2'deki şekilde gruplandırılabilir.

**Tablo 2.** Endojen kaynaklı enzimatik antioksidanlar (108)

<i>Sıvı fazlı olanlar</i>	
Glutatyon	Ferritin
Albumin	Metiyonin
Askorbik asit	Seruplazmin
Hemoglobin	Ürat
Melatonin	Laktoferrin
Myoglobin	Bilirubin
Sistein	
<i>Lipit fazlı olanlar</i>	
$\alpha$ -Tokoferol	$\beta$ -Karoten

Ekzojen kaynaklı antioksidanlar ise doğal ve doğal olmayan şeklinde 2 grup altında toplanabilirler. Doğal olmayanlar antioksidanlar bütül hidroksi, tert-bütül, propil galat, sodyum benzoat, etoksilin, troloks gibi maddeler olarak bilinmektedir. Ekzojen kaynaklı doğal antioksidanların kaynağı günlük diyetle alınan pek çok sebze ve meyve de bulunmaktadır. Bunlardan en bilinenleri askorbik asit,  $\beta$ -Karoten,  $\alpha$ -Tokoferol ve flavonoidlerdir (106,109-111).

Vitamin C olarak bilinen askorbik asit kan ve plazmada serbest radikallere karşı ilk savunmayı yapar. Lipit peroksidasyonunu engeller. Vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak antioksidan etkinliğini artırır (109,112). Vitamin C, yara iyileşmesinde kollajen formasyonunda rol oynamaktadır. Vitamin C'nin önemi bilinmekle beraber eksikliğinde skorbüt hastalığına ve yapısal damar bütünlüğünü bozarak spontan kanamalara neden olmaktadır. Moleküler düzeyde ise prolin ve lizinin hidroksilasyonu için vitamin C gereklidir. Ortaya çıkan hidroksilat ürünleri, kollajenin üçlü heliks sarmalını stabilize ederek yara iyileşmesini etkiler (113). Vitamin A olarak bilinen  $\beta$ -Karoten ise yağda çözünen bir antioksidan olarak hızla singlet oksijeni yakalar ve lipit peroksidasyonunu engeller.  $\beta$ -karoten hücre membranlarında bulunur ve vücudun ihtiyacına göre A vitaminine dönüştürülür. Hipodermiste birikerek deriye bronz renk verir (109,112).  $\alpha$ -Tokoferol'un (Vitamin E) en önemli görevlerinden birisi ROT'un ataklarına karşı membran lipitlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Yağda çözünen zincir

kırıcı bir antioksidandır. Membran yağ asitlerini lipit peroksidasyonundan korumak için C vitamini ile birlikte çalıştığı bilinmektedir. Yara iyileşmesi üzerine vitamin E ile ilgili yapılmış çalışmalar literatürde mevcuttur (74,112). Topikal vitamin E uygulaması yapılan diyabetik farelerde, yara iyileşmesinde anlamlı düzelmeler olduğu görülmüştür (114). Başka bir çalışmada yara iyileşmesi sonrası görülen keloid ve hipertrofik skar tedavisi üzerine vitamin E içerikli topikal solüsyonun etkinliği gösterilmiştir (115). Polifenoller diğer bir adıyla fenolik bileşikler bitkilerdeki fenilalanin, tirozin ve malonat amino asitlerinden meydana gelen maddelerdir. ROT'lar üzerindeki hidrojen atomunu vererek serbest radikalleri yakalama etkileri bulunmaktadır. Diyetle alınan bu antioksidan yeşil çay, üzüm ve soya ile ünlenmiştir. Bunlar; flavonoidler, fenolik asit, antosiyanin, kateşinler, flavonlar, flavonol, flavonon, isoflavonlar, lignanlar, prosiyanidin, resveretrol, tanin ve proantosiyanidindir (100,116).

### **2.2.9. Proantosiyanidinler ve genel özellikleri**

Proantosiyanidinler; kuruyemişler, tohumlar, sebzeler, meyveler ve ağaç kabuğunda doğal olarak bulunan birleşimlerdir. Üzüm çekirdeği ise, özellikle proantosiyanidin içeriği nicelik ve nitelik bakımından zengin bir kaynaktır. Üzüm çekirdeğinin güçlü antioksidan etkisinin fark edilmesi 1534 yılına dayanmaktadır. Jacques Cartier adlı Fransız bir araştırmacı New York'ta St. Lawrence nehrinde yaptığı keşif gezisi sırasında sürekli tuzlu et yiyen tayfalarda skorbüt benzeri şikayetlerin olduğunu gözlemleyerek bunun çevresel faktörlere bağlı olduğunu düşünmüştü. Daha sonra karaya çıkan tayfaların çam ağacı iğneleri ve kabuğundan yapılmış çayları içerek iyileştiklerini görüp ve bunları kitabına aktarmıştır. 1900'lü yıllarda ise Fransa Bordo Üniversitesi'nden Profesör Jacques Masquelier bunun vitamin C içeren çam iğnelerinden kaynaklandığını ve flavonoidlerin bunda etkisinin olabileceği fikrini ileri sürmüştür. Masquelier yaptığı çalışmalar sonunda bu etkiyi yapan bileşiklere 'piknojenoller' ismini vermiştir. Bugün oligomerik proantosiyanidin kompleks (OPCs) olarak bilinen bu içerik 1951'de çam ağacı kabuğundan, 1971 yılında da üzüm çekirdeğinden elde edilmiştir (3,117).

20. yüzyılın sonlarında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Fransızların diyetlerinde tereyağı gibi yüksek oranda doymuş yağdan zengin besinleri kullanmaları, sigara tüketiminin fazla olması, yeterli egzersiz yapmamalarına rağmen kardiyovasküler hastalıklardan ölüm risklerinin diğer ülkelerle karşılaştırıldığında daha az olduğu gözlenmiştir. Bu durum ilk defa 1979'da St. Leger ve arkadaşları daha sonra ise



1992’de S. Renaud ve arkadaşları tarafından ‘Fransız Paradoksu’ olarak tanımlanmıştır. Paradoksun nedeni olarak Fransızların yüksek oranda proantosiyanidin içeren kırmızı şarabı fazla tüketmeleri gösterilmiştir. Proantosiyanidinlerin kaynağının ise üzümün çekirdeğinin olduğu bulunmuştur (118,119). Üzüm (*Vitis vinifera L.*) dünyada yaygın olarak üretilen ve tüketilen bir meyvedir. *Vitis vinifera L.*’nin çok sayıda alt çeşitleri bulunmaktadır. Polifenoller bakımından zengin olan *Vitis vinifera L.*’nin %60-70 oranı çekirdeğinde, yaklaşık %4’ü de üzümün pulpa kısmında bulunmaktadır. Kabuk kısmında da antosiyanidin olarak adlandırılan başka bir tip polifenol vardır. Çekirdek kısmında bulunan polifenoller yapısı biraz farklıdır ve kombine isim prosiyanidin ya da proantosiyanidin olarak isimlendirilir (117,120). Proantosiyanidinler subgruplara göre katagorize edilen ve polifenolik bileşik olan flavonoidlerin spesifik bir grubudur. Proantosiyanidinler kondanse taninler grubundadırlar. Taninler hidroksile yapılarıdır, karbonhidratlar ve proteinler ile çözünmeyerek onlarla kompleksler oluştururlar. Bu özellikleri ile bağ dokusu korunmasında önemli görevler üstlenirler (3,121).

### **2.2.9.1. Proantosiyanidinlerin antioksidan özellikleri**

Proantosiyanidinler üzüm çekirdeğinde bulunan en önemli polifenollerdir ve sıvı ortamlarda serbest radikallerin yakalanmasında özellikle hidrofilik peroksil radikallerin yakalanmasında etkilidir. Güçlü antioksidan özellikleri düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunu ve oksidatif hasarla oluşturulmuş beyin ve karaciğerdeki apoptozisi inhibe ettiği bilinmektedir (117,122). Prosiyanidin içeriklerinin serbest radikal inhibisyon hızı vitamin C ile benzerdir. Üzüm çekirdeğinin süperoksit anyonları süpürme etkisi vitamin C, E ve diğer antioksidanlardan daha güçlüdür. Prosiyanidin oligomerlerinin süperoksit anyonunu süpürme etkisi (*scavenging*) gösterilmiştir. Prosiyanidin polimerizasyon derecesi ne kadar yüksek olursa süperoksit anyonunu süpürme etkisi de o kadar yüksek olmaktadır. Benzer şekilde prosiyanidinlerin singlet oksijeni söndürme etkisi (*quenching*) polimerizasyon oranıyla bağlantılıdır (122).

Yapılan çalışmalarda proantosiyanidinlerin antienflamatuar, antibakteriyel, antiallerjik, antikarsinojenik, vazodilatör, kardiyoprotektif, immünostimulan, antiviral, östrojenik etkilerinin olduğu görülmüştür. Bu etkilerini siklooksijenaz, fosfolipaz A2 ile lipooksijenaz inhibisyonu yaparak gösterirler (117,121,123-125). Kanseri oluşumunda, apoptozu düzenleyici ve antimitojenik aktiviteyi inhibe edici özelliği olmakla birlikte proantosiyanidin ve flavon-3-ollerin farklı mekanizmalar ile önlediği belirtilmiştir

(126). Üzüm çekirdeğinin intrasellüler kalsiyum hemostazını sağlama ve DNA üzerine koruyucu etkileri vardır (127). Kimyasal maddelerin neden olduğu böbrek ve karaciğer toksisitesine karşı karaciğer dokusunda bcl-xL ekspresyonunu artırdığı ve apoptotik karaciğer hücrelerini antagonize ederek vücudu koruduğu gösterilmiştir (128). Houde V ve arkadaşları periodontopatojen lipopolisakkaritler tarafından indüklenen oksidatif strese karşı proantosiyanidinlerin koruyucu etkilerinin olduğunu vurgulamışlardır (129).

### **2.2.9.2. Emilimi, biyoyararlanımı ve metabolizması**

Oral alınabilen flavonoidler ve ÜÇE, barsak hücrelerinde glukronid ile bağlanıp serumda karaciğere kadar albümin ile taşınır. Midenin asidik ortamında tam parçalanmadığından üst gastrointestinal sistemden emilimi daha azdır. Vücutta dağılımı alkol ve suda çözülüp oral alındığı zaman daha iyidir. Proantosiyanidinler metal iyonları ile kompleks oluşturur, böylece çinko ve demir gibi eser elementlerin biyoyararlanımını azaltırlar. Oligoproantosiyanidinler, polimerlere göre vücutta glikolizasyonu daha fazla olduğu için 7-10 gün plazmada kalabilir. Diğer suda çözünen antioksidan vitaminlere göre de bu belirgin bir avantajdır. Proantosiyanidinler karaciğerde metilasyon, dehidroksilasyon, oksidasyon, glukronik asitle veya sülfatla konjugasyon gibi biyotransformasyon reaksiyonları ile metabolitlerine ayrılırlar. Maksimum konsantrasyona ulaşma 45 dakikadır ve yarılanma ömrü 5 saattir. Metabolitler temel olarak idrar ve feçes ile az oranda CO<sub>2</sub> ile elimine edilirler. Tek doz oral uygulama sonrasında ÜÇE bileşikleri hızlı şekilde plazmada görülürler. Oral uygulamadan sonra; uygulanan dozun %70'i ilk 24 saat içinde idrar ve %45'i feçes ile atılır (121,130,131).

### **2.2.9.3. Toksisitesi**

Proantosiyanidinlerin toksisite ve mutajenik etkilerine dair yapılan toksik doz çalışmalarında herhangi bir etki bulunamamıştır. ÜÇE uzun yıllardır FDA onayı ile besin takviyesi olarak kullanılmaktadır. Tavsiye edilen dozu günlük 100 ila 300 mg arasında tavsiye edilmekle birlikte 1 mg/kg/gün olarak da oral alımı önerilmektedir. Hamilelerin ve emziren annelerin kullanmaması önerilmektedir (121,132). Yapılan in vitro çalışmalarda platelet agregasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu sebeple antiagregan ilaçlarla alınımında dikkatli olunmalıdır. Rat çalışmalarında yüksek doz (1500-4000mg/kg) verilen durumlarda bile toksik ve mutajenik etkiler gözlenmemiştir (117,133,134).

#### **2.2.9.4. Yara iyileşmesinde proantosiyandinler**

Proantosiyandinlerin yara iyileşmesini hızlandırdıkları bilinmekle birlikte bunu nasıl yaptıkları tam olarak açıklanamamıştır. ÜÇE'nin klinik olarak çeşitli redoks-aktif özelliklerinin olduğu rapor edilmiştir. Keratinositler üzerinde VEGF ekspresyonunu indüklediği gözlenmiştir. Ribonuclease protection assay (RPA) metodu kullanılarak ÜÇE'nin anjiogenezis ile ilişkili genlerdeki oksidan değişimleri çalışılmıştır. Ratlarda, tam kalınlıklı yara modeli oluşturulup topikal olarak uygulanan ÜÇE (2,5mg) uygulanarak yapılan bir çalışmada kontrol grubuna göre yara kontraksiyonu daha fazla görülmüştür. Histolojik olarak ÜÇE verilen grupta artmış epidermis ve granülasyon dokusuyla birlikte daha iyi yapısal organizasyon tespit edilmiştir. Yara kenarlarının VEGF protein ile daha çok boyandığı izlenmiştir. Bu çalışma ile proantosiyandinlerin VEGF salınımını indüklemeye aracı olduğu sonucuna varılmıştır. Hayvanlar üzerinde pozitif etkilerin görülmesine rağmen insanlar üzerinde yara iyileşmesine yönelik çalışmalar henüz yapılmamıştır (135,136).

Hemmati ve ark. tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, deneklerin sırt kısmında oluşturdukları 2x2 cm'lik tam kalınlık defektlere (%2, 5, 10 ve 70) ÜÇE içerikli kremi topikal olarak uygulamışlardır. %2'lik topikal uygulamanın yara iyileşmesini potansiyel olarak hızlandırdığı görülmüştür. Histolojik olarak hidroksiprolin içeriği daha yüksek bulunarak oluşan dokunun daha dirençli olduğu görülmüştür (137).

### **2.3. Düşük Doz Lazer Tedavisi**

#### **2.3.1. Lazerin tanımı ve tarihçesi**

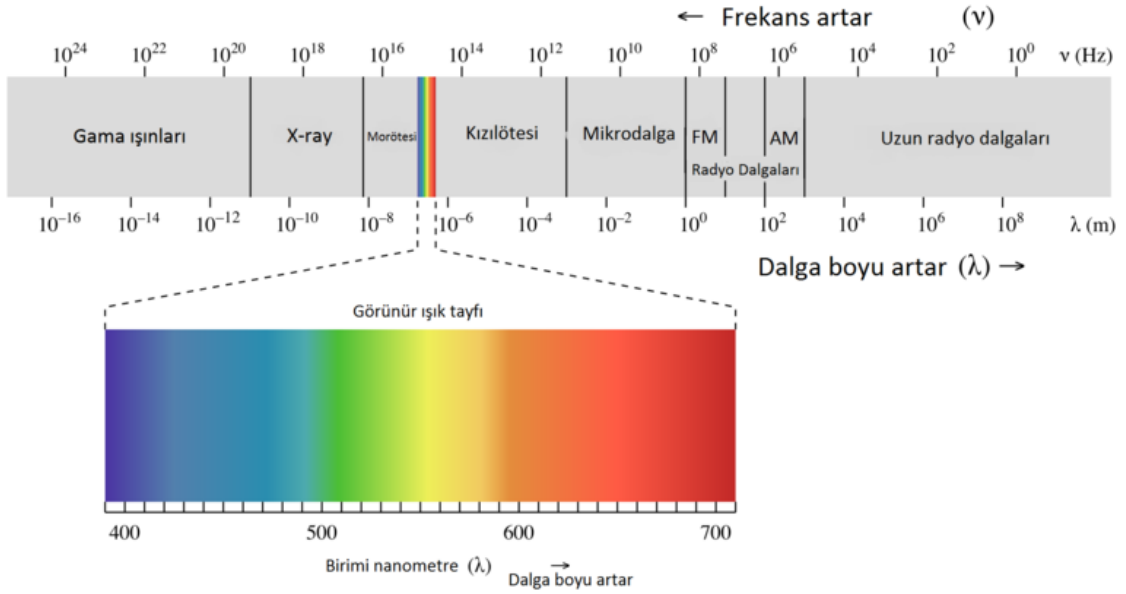
Lazerler 20. yüzyılın ilk yarısına ait en önemli buluşlardan olup olağandışı özelliklere sahip bir ışık kaynağıdır. Lazer 'Light Amplification by Stimulated Emission of Radition' tanımının baş harflerinden oluşmaktadır. Türkçe olarak 'uyarılma yoluyla oluşan radyasyon yayılımı ile elde edilen ışın' anlamına gelmektedir. Albert Einstein tarafından 1917 yılında ortaya konulan 'uyarılmış salınım' yani quantum kavramı, lazerin temel prensibini oluşturmaktadır. Einstein belli koşullar altında atom ve moleküllerin ışığı ve radyasyonu absorbe edeceğini, daha sonra depolanan bu enerji serbestlenirken yeni özellikler kazanabileceği tezini savunmuştur. 1950'lerin sonlarında 'lazer' kelimesi kullanılmış ve ilk kez 1960'larda yakut kristali kullanılarak geliştirilmiştir. Normal şartlar altında doğada bulunmayan lazer ışığı, aynı dalga boyuna sahip, eş frekanslı ve birbirine paralel hareket sergileyen fotonlardan meydana gelen,

yönlendirilebilir, bağdaşık, güçlü bir ışık demetidir. Normal ışıkta ise, ışığı oluşturan fotonların her biri farklı dalga boyundadır, birbirleriyle koordineli hareket etmezler ve saçılım gösterirler. Odaklanamazlar ve güçlü bir foton enerjisine sahip değillerdir. 1962'de Helyum-Neon lazer üretilmiştir. Lazer tıpta ilk kez, 1962'de retina dekolmanında kullanılmıştır. Daha sonraları çalışmaların artmasıyla, lazer ışınlarının metabolik aktiviteyi ve hücre bölünmesini hızlandırdığı, analjezik etki sağladığı ve yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunduğu anlaşılmıştır. Diş hekimliği alanında ilk lazer uygulamaları 1900 yılların başlarında Danimarkalı fizikçi Bohr'un kuantum mekanizması alanındaki teorilerine dayanmaktadır. 1964 yılında diş sert dokularında yakut lazerin kullanımı ile gerçekleştirilmiştir. 1985 yılında Nd:YAG lazerler in vivo olarak diş çürüklerinin temizlenmesinde kullanılmıştır. İlerleyen yıllarda Nd:YAG lazerin yumuşak doku cerrahisinde kullanımı da yapılmıştır (138,139).

### **2.3.2. Lazer ışının özellikleri ve oluşumu**

Modern fiziğe göre ışığın ikili doğası dalgalar ve fotonlardan oluşur. Işık elektromanyetik radyasyondur. Elektromanyetik spektruma göre ışığın sınıflandırılması şu şekildedir:  $\gamma$  ışınları, X ışınları, ultraviole ışınlar, görünür ışık (400-700 nm), yakın infrared, orta infrared, uzak infrared, mikro dalga ve radyo dalga ışınlarıdır (Şekil 9). Dalga boyu ışığın dominant karakterini belirler. Enerjinin en temel birimi ise fotondur. Lazer ışını belli bir enerji düzeyindeki fotonlar ve atomlar arasında gerçekleşen bir dizi olaylar sonucunda meydana gelmektedir. Madde ile ışık arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan ürün olan lazer, uygun şekilde uyarılmış bir ortamın atomlarının yayımladığı, yoğunlaştırılarak güçlendirilmiş ışığa dayanır (140,141).

Lazer ışını ve sıradan ışık birbirinden oldukça farklı yapıdadır. Örneğin bir masa lambası diffüz beyaz ışık gibi gözükürken aslında görünür spektrumda mor, mavi, yeşil, sarı, kavuniçi, kırmızı gibi birçok rengin birleşiminden oluşmaktadır. Monokromatik yapıdaki lazer ise tek bir spesifik renge sahiptir ve dental uygulamalarda bu renk görülebilir veya görülemez. Lazer ışını bu özelliğinden başka kollimasyon, kohorent, güç yoğunluğu ve etkinlik gibi karakteristik özelliklere sahiptir (138,142).



**Şekil 9.** Lazer ışığının dalga boyu (143)

### 2.3.3. Lazerin doku ile etkileşimi

Lazerin biyolojik dokularla etkileşimi ışığın dokuyla uyumu ile ilgilidir. Lazer doku etkileşimi dokunun optik özelliklerine ve lazerin hedef dokudaki 4 farklı etkileşimine bağlıdır. Işığın bir kısmı hiçbir etkiye yol açmadan doku içinde saçılım gösterir (saçılma), diğer bir kısmı doku yüzeyinden yansır (refleksiyon), kalan kısımları doku tarafından emilir (absorbsiyon) ve derin dokulara ulaşır (penetrasyon). Her biyolojik doku farklı absorpsiyon özelliği sergiler (140). Dokunun optik özelliklerini başlıca su içeriği ve pigmentasyonu belirler. Bunların dışında; mineral protein ve diğer makro moleküllerin varlığı dokunun ısı iletkenliği ve yoğunluğu, dokunun enflamasyon derecesi, damar yoğunluğu, progenitör hücrelerin iyileşme sürecine katılabilirliği de etkilidir (144). Genel olarak daha kısa dalga boyları (500-1000 nm) pigmente dokular ve kan elementleri tarafından absorbe edilir. Argon lazerin, hemoglobinde absorpsiyonu yüksek orandadır. Diyot ve Nd:YAG lazerlerin, melaninde absorpsiyonu daha yüksek iken, hemoglobinle daha az etkileşimleri vardır. Daha uzun dalga boylarının su ve hidroksiapatitte absorpsiyonları daha fazladır. Su için en fazla absorpsiyon, dalga boyu 3000 nm'nin hemen altında olan Er:YAG lazerde gerçekleşirken, hidroksiapatit tarafından da iyi absorbe edilir. 10600 nm'deki CO2 lazerin, su tarafından iyi absorbe edildiği bilinmektedir (145).

### **2.3.4. Diş hekimliğinde kullanılan lazerler**

#### **2.3.4.1. Karbondioksit (CO<sub>2</sub>) lazerler**

Atımlı ve devamlı dalga tipinde olmak üzere dalga boyu 10600 nm'dir. Minimal skar oluşumuyla birlikte güçlü hemostatik ve bakterisidal etkisi vardır. Sert doku minerallerinden özellikle fosfat iyonları tarafından absorbe edilir. CO<sub>2</sub> lazerin koagülasyon yaptığı tabaka 100-300 mikron kalınlıktadır. Doku penetrasyonu güce bağımlı olarak 0,5 mm derinliktedir (146,147).

#### **2.3.4.2. Argon lazerler**

488 nm (mavi) ve 514 nm (mavi-yeşil) olarak iki dalga boyu vardır. Bu lazer sıklıkla oftalmolojide ve vaskülarize dokularda çok yüksek oranda absorbe olduğundan vaskülarize malformasyonlarda kullanılır. Diş hekimliği uygulamalarında, diş beyazlatma ve çürük koruma çalışmalarında kullanılmaktadır (146,148).

#### **2.3.4.3. Erbiyum lazerler**

##### **2.3.4.3.1. Er:YAG lazerler (Erbium-doped:Yttrium, Aluminum ve Garnet)**

Bu tip lazerler sert dokuların uzaklaştırılmasında kullanılan ilk olarak 1974 yılında Zharikov tarafından bulunan ve suda iyi absorbe olabilen bir lazerdir. Dalga boyu 2940 nm'dir. Mine, dentin ve sementte aynı etkiyi gösterir. FDA, 1997 yılında sert doku tedavilerinde, 1999 yılında yumuşak doku cerrahisinde ve 2004 yılında kemik cerrahisinde kullanımını kabul etmiştir. Er:YAG lazerler dokuda fotoablasyon yaparak etki gösterir. Fotoablasyon etkisiyle ilişkili olarak sert dokuların uzaklaştırılmasında dokulardaki mikro patlamalar ve erimeler meydana gelirken bu etkiler mekanik doku kollapsına neden olur. Lazerin olası termal etkisini minimize etmek için de doku yüzeyi su spreyi ile soğutulur (146).

##### **2.3.4.3.2. Er,Cr:YSGG lazerler (Erbium,Chromium-doped:Yttrium, Scandium, Gallium ve Garnet)**

Dalga boyu 2780 nm olan ve sadece sert dokuda kullanılan lazerin hidroksiapatite yüksek affinitesi vardır. Erbiyum ailesine ait lazerlerin hemostatik özellikleri sınırlıdır ve dental sert doku işlemlerinde kullanılmaktadır (139,149,150).

#### **2.3.4.4. Nd:YAG lazer (Neodymium-doped: Yttrium-Aliminum ve Garnet)**

Nd: YAG lazer yeryüzünde ender olarak bulunan yitrium ve alüminyum elementleri ve neodmiyum iyonlarının kombinasyonu ile oluşan garnet kristali olan bir lazerdir. Katı aktif bir ortama sahip olan Nd:YAG lazer 1064 nm dalga boyunda, elektromanyetik spektrumda görünmez ışığa yakın bir yerdedir. İyonize olmaması nedeniyle dokularda karsinogenik ve mutajenik bir etki göstermez. Bu lazer yalnız serbest atım konumunda, mikro-saniyenin yüzde biri atım aralığı süresinde çalışır. Küçük çaplı, esnek, ucu açık ve dokuya temas eden fiberlerle kullanılır. Yumuşak dokuların kesilmesi koagülasyonu sırasında genellikle diğer lazerlere oranla daha fazla su soğutması ile çalışır ve iyi bir hemostaz sağlar. Bu lazer kavernoöz hemanjiomaların, vasküler malformasyonların tedavisinde başarılı ve güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. Diş sert dokularından çok az emildikleri için dişlere yakın yumuşak bölgelerde güvenle çalışılabilir (145,146,151,152).

#### **2.3.4.5. Diyot lazerler**

Dalga boyu 800-980 nm arasındadır. Sert, yarı iletken lazerdir. Elektrik enerjisini ışık enerjisine dönüştürmek için galyum, arsenid, alüminyum, indiyum gibi elementlerin kombinasyonu kullanılır. Yüksek oranda hemoglobin ve diğer pigmentler tarafından absorbe edilir (7,153). Yumuşak doku cerrahisinde kontakt modda uygulanırken koagülasyon amaçlı olarak non-kontakt modda kullanılır. Diyot lazerler argon lazerler gibi sürekli dalga emisyon modunda çalıştıkları zaman hedef dokuda hızlı ısı artışına neden olurlar. Bu yüzden operasyon bölgesi hava/su ile soğutulmalı ya da lazerin ucu cerrahi alan üzerinde hafifçe hareket ettirilerek uygulanmalıdır. Diyot lazerlerin oral cerrahide kullanım alanları oldukça geniştir. Vasküler lezyonların tedavisinde, yumuşak doku küretajında, periimplantitis tedavisinde, mukozal insizyonlarda, fibrotik dokuların eksizyonunda güvenle kullanılmaktadır. 980 nm dalga boyu olan diyot lazerler, iyi insizyon kalitesi ve yüksek koagülasyon özelliklerinden dolayı daha çok tercih edilmektedirler. Bunun yanında yüksek gülme hattına sahip hastalarda dişeti estetiğini sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır. Kolaylıkla taşınabilir cihazlar olduğu için yumuşak doku cerrahisinde oldukça idealdir. Düşük doz lazer tedavisinde kızıl ötesine yakın ışın yaydıkları için biostimülasyon ve ağrı kontrolünde kullanılabilir (7,145,148,153).

### **2.3.5. Düşük doz lazer tedavisinin etki mekanizması**

DDLT biyostimülasyon veya soft lazer terapisi olarak bilinmektedir. Biyostimülasyon ilk olarak 1960'ların sonlarında Hungarian Mester tarafından biyolojik doku üzerine 1-5 mW güçte ve 1-10 j/cm<sup>2</sup> etkinliğinde enerji verilmesi olarak açıklanmıştır. Düşük doz lazer terapisi kompleks bir mekanizmadır. Bu mekanizma görünür kırmızı ve yakın infrared ışıkların hücredeki fotoreseptörler (özellikle mitokondri membranındaki elektron taşıma zincirindeki) tarafından emilimi esasına dayanır. Işık, hücrenin solunum zinciri bileşenleri tarafından absorbe edilir, solunum zinciri ve indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) havuzundaki oksidasyon kısa süreli aktive olur. Bu da hücre aktivasyonunda artışa yol açar. Oksidatif fosforilasyonun uyarılması, hücredeki sitoplazma ve mitokondrinin redoks düzeyinde değişikliğine neden olur. Elektron taşıma zinciri ATP desteğinin artması hücreye daha fazla destekleyici güç sağlar. Bu durum mitokondri membranının elektrik potansiyelinin ve sitoplazmanın alkalizasyonunun artması ile nükleik asit sentezinin aktivasyonunda rol oynar, verilen elektromanyetik enerji tüm hücre fonksiyonlarını stimüle eder (7,140,154).

#### **2.3.5.1. Yara iyileşmesinde düşük doz lazer tedavisinin hücresel etkileri**

DDLT vazodilatasyon ve lokal kan akımında artış sağlayarak bölgeye daha fazla oksijen taşınmasına ve immün hücrelerin doku içine daha fazla geçmesine olanak tanır. Endoteldeki düz kaslarda gevşeme ve rahatlama sağlar. Böylece hızlı bir doku iyileşmesi meydana gelir. Mast hücreleri üzerinde vazoaktif etkiyi artırır. Bazı çalışmalarda mast hücrelerinin degranülasyonuna neden olduğu bildirilirken bazı çalışmalarda polimorfonükleer hücrelerin ve mast hücrelerinin artışına yol açtığı bildirilmiştir. Mast hücreleri, ciltte, oral mukozada ve pulpada mikrovasküler endotelde çok miktarda bulunurlar. Mast hücrelerinin granüllerinde pro-enflamatuar sitokin ve TNF- $\alpha$  bulunur. Degranülasyon ile sitokinlerin salınımı, endotelial-lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak dokuların lökosit infiltrasyonunu indükler (155-158). Bazı mast hücrelerinin proteazı, bazal membranı değiştirir ve lökositlerin doku içerisine geçişini kolaylaştırır (159). Mast hücreleri lökosit geçişinin kontrolünde önemli bir rol oynar. Mast hücrelerinin fonksiyonlarının DDLT tarafından düzenlenmesi ağız boşluğundaki enflamasyon alanlarının tedavisinde önemlidir. Düşük doz lazer uygulaması ciltte, bukkal mukozada ve diş etindeki fibroblastlarda proliferasyon, maturasyon, hareket kapasitesi, miyofibroblastlara dönüşüm ve bazal fibroblast büyüme faktör salınımında artış sağlarken, pro-enflamatuar prostoglandin E<sub>2</sub>



salınımında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Tüm bu etkiler, deride, bukkal mukoza ve diş etinde düşük dozlarda (örn; 2 J/cm<sup>2</sup>) fibroblastların proliferasyonunu artırdıklarını göstermiştir. Aksine yüksek dozlarda fibroblastların proliferasyonu ve bFGF üretiminde baskılanmaya neden olur (160). Makrofajlar üzerine olan etkisi; artan fagositik etki ve bazal fibroblast büyüme faktörünün aşırı salınımı yönündedir. Makrofajlar, fibrini doku iyileşmesinin yıkım aşamasında rezorbe eder. Onarımla ilgili cevabının ilk evrelerinde (örn; travmadan 6 saat sonra) DDLT, fagositik aktivitenin artması aşamasını hızlandırır. Dokuların iyileşmesi sırasında rezorpsiyonun hızlanması, proliferasyon aşamasının daha hızlı ve erken başlamasına zemin oluşturur. Lenfositler, epitel hücrelerinde daha hareketli olmaya başlar. Defekti örtmek üzere doku alanı boyunca göç ederken daha aktive olur ve daha çabuk proliferer olur. Bu sayede endotelium granülasyon dokusunu daha hızlı oluşturur. Erken epitelizasyon, artan fibroblastik reaksiyonlar, lökosit infiltrasyonu ve neo-vaskülarizasyon DDLT ile ışınlanan tüm dokularda izlenir. DDLT'nin yara iyileşmesi boyunca hücreler üzerindeki etkileri Tablo 3'te gösterilmiştir. Bu oluşumların birlikte etkisi doku onarımı için gerekli olan zamanı azaltırken, onarımdaki dokunun direncini artırır (161). Histolojik çalışmalar göstermiştir ki, lazerin yara epitelizasyonunu, hücresel içeriği, granülasyon doku oluşumunu ve kollajen doku miktarını artırdığı görülmüştür (162,163). Bu sonuçlar insanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalar sonucunda doğrulanmıştır (164).

Medrado AR ve ark. ratlar üzerine yaptıkları çalışmada DDLT yara iyileşme sürecinde eksüdasyon fazını kısalttığı ve reperatif fazı ise uyardığını görmüşlerdir. İyileşmenin özellikle, 24-72. saatleri arasında en fazla kontraksiyonun geliştiğini ve myofibroblastların düzgün olarak dizildiğini rapor etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda yara iyileşmesinde morfolojik değişikliklerin indüklendiği fakat yaranın skatrizasyon süresinin kısalmadığı bildirilmiştir. İyileşmenin erken fazında yara eksüdasyonunu azaltarak, sitokinlerin salınımını uyararak, ağrıyı ve şişliği hafifleterek yapmaktadır (8). Bu çalışmadaki benzer bulgular Mester ve Braverman'nın çalışmalarında da ifade edilmiştir (165,166). DDLT 'nin fibroblastların proliferasyonu üzerine etkileri in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (167). Bu tespit ilk Skinner ve ark. yaptığı in vitro çalışmada gözlenmiş (168), daha sonra ise in vivo çalışmalar ile bu gözlem desteklenmiştir. Yapılan insan çalışmalarında ise, Porreau-Schneider ve ark. lazer uygulamasından sonraki 48 saat içinde ağız içerisinde miyofibroblastların varlığını gözlemlerken, kontrol grubunda aynı süre içinde bu hücelere rastlamamışlardır (169).

**Tablo 3.** DDLT'nin yara iyileşmesinde hücreler üzerindeki olası etkileri (7)

Fibroblastlar	Proliferasyon Maturasyon Hareket kabiliyeti Miyofibroblastlara transformasyon PGE <sub>2</sub> ve IL-1 sekresyonunda azalma bGFG salınımında artma
Makrofajlar	Fagositoz Fibroblast büyüme faktörlerinin salınımı Fibrinin rezorbsiyonu
Lenfositler	Aktivasyon Proliferasyonda artma
Epitelyal hücreler	Hareketlilik
Endotelyum	Granülasyon dokusunda artış
Sinir dokusu	Enflamatuar mediatörlerin salınımında azalma Olgunlaşma ve rejenerasyon Aksonal büyüme

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Etik Kurul**

Çalışmaya başlamadan önce, B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/82 ve 400 sayılı Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Yere Etik Kurul onayı alınmış ve çalışma sırasında Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesinde belirtilen "Etik kurallara uygunluk esası" kuralına uyulmuştur.

Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Birimi (BAP) tarafından desteklenen DHF.13.04 kodlu çalışmanın deneysel kısmı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

#### **3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler**

##### **3.2.1. Deney hayvanları**

Çalışmamızda 300-350 g ağırlığında 72 adet genç erişkin erkek Wistar-Albino cinsi rat kullanılmıştır. Ratlar standart deney kafesleri içerisine konularak yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın hayvan odasında (22-24 °C de, %55-70 nem, 12 saat aydınlık/karanlık oda) standart laboratuvar diyeti uygulanmıştır. Deneyde sıçanlar rastgele seçilerek her grupta 6 rat olacak şekilde 12 grup oluşturulmuştur.

##### **3.2.2. Kullanılan laboratuvar gereçleri ve kimyasal maddeler**

- Ketazol % 10 (Ketamin hidroklorür, Richter Pharma AG, Wels – Avusturya)
- Rompun®flakon (Ksilazin hidroklorür, Bayer Türk Kimya San. Ltd.Şti.)
- Carprofen 4 mg/kg (Rimadyl, Pfizer)
- % 0,9'luk serum fizyolojik
- Formaldehit (%10'luk Formol)
- Sarı kapaklı tüp 8.5 ml
- 4 mm çapında punch frez (Umutsan)

### **3.3. Üzüm Çekirdeği Ekstresi**

Araştırmada kullanılan Üzüm çekirdeği Ege bölgesinde Denizli, Çal civarında üretilen Çalkarası olarak bilinen *Vitis Vinifera L.* çeşidi olan üzümün çekirdeğinden elde edilmiştir. ÜÇE'nin hazırlanması ise, Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

#### **3.3.1. Üzüm çekirdeği ekstresinin elde edilmesi**

Çalışmada kullanılan kara üzüm çekirdeği (*Vitis vinifera L.*) Denizli ilinden Ağustos-2012 yılında toplanmıştır. Sağlıklı tohumlar seçilerek kurutulmuş ve mekanik parçalayıcıda küçük parçalar haline getirilmiştir. Parçalanan tohumlar 100'er gram tartılarak Soxhlet Cihazının (Gerhardt EV 14) kartuşlarına yerleştirilmiştir. Soxhlet cihazında her kartuş için 500 mL saf etil alkol (Merck) ile 50-60 °C'de 6 saat özütmeye tabi tutulmuştur. Elde edilen özütler Whatman no: 4 ile filtre edildikten sonra yüksek vakum altında Rotary Evaporatörde (Heildolph Heizbad HB Digit) 40 °C'de yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen özütler +4 °C'de deney başlayana kadar muhafaza edilmiştir.

### **3.4. Yöntemler**

#### **3.4.1. Deney hayvanlarının hazırlanması**

Çalışmada kullanılan ratlar standart deney kafesleri içerisine konularak, yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın hayvan odasında (22-24 °C de, %55-70 nem, 12 saat aydınlık/karanlık oda) standart laboratuvar diyeti uygulandı. Buldukları odanın nispi nem oranı % 30-45 arasında tutuldu ve odanın havalandırması filtre edilerek, olası kontaminasyon riski önlendi. Ratlar kafeslerde, altlarında talaş olacak şekilde barındırıldılar. Kafesler her gün temizlenerek, altına kuru talaşlar konularak, ratlar özel odalarında suya ve yeme rahatlıkla ulaşabilir durumda muhafaza edildi. Deneyde ratlar rastgele seçilerek her grupta 6 rat olacak şekilde 12 grup olarak oluşturulmuştur (Resim 1).



**Resim 1.** Ratların gruplandırılarak kafeslere yerleştirilmesi

### **3.4.2. Deney hayvanlarının sınıflandırılması**

Sağlıklı ratlarda üzüm çekirdeği ekstresinin ve DDLT' nin ağız içi yara iyileşmesine olan etkilerinin değerlendirildiği araştırmada kullanılacak ratlar rastgele seçilerek Üzüm çekirdeği ekstresi, DDLT, Üzüm çekirdeği ekstresi + DDLT ve kontrol olmak üzere 4 ana gruba ayrıldı. Bu gruplar da kendi içerisinde 4. 7. ve 14. gün olarak 3 alt gruba ayrıldı. Bu gruplar Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 4.** Deney hayvanlarının gruplandırılması

Gruplar	n	
Kontrol Grubu	Grup 1- Kontrol grubu - 4. gün (KG4)	6
	Grup 2 - Kontrol grubu - 7. gün (KG7)	6
	Grup 3 - Kontrol grubu - 14. gün (KG14)	6
Çalışma Grubu (ÜÇE)	Grup 4 - Çalışma grubu, ÜÇE - 4. gün (EG4)	6
	Grup 5 - Çalışma grubu, ÜÇE - 7. gün (EG7)	6
	Grup 6 - Çalışma grubu, ÜÇE - 14. gün (EG14)	6
Çalışma Grubu (DDLT)	Grup 7 - Çalışma grubu, DDLT - 4. gün (LG4)	6
	Grup 8 - Çalışma grubu, DDLT - 7. gün (LG7)	6
	Grup 9 - Çalışma grubu, DDLT - 14. gün (LG14)	6
Çalışma Grubu (ÜÇE + DDLT)	Grup 10 - Çalışma grubu, ÜÇE + DDLT - 4. gün (ELG4)	6
	Grup 11 - Çalışma grubu, ÜÇE + DDLT - 7. gün (ELG7)	6
	Grup 12 - Çalışma grubu, ÜÇE + DDLT - 14. gün (ELG14)	6

### 3.4.3. Sekonder yara oluşturma modeli

Tüm gruplardaki ratlara işlem öncesi kas içi [intra musküler (i.m)] enjeksiyon ile 45 mg/kg Ketamin hidroklorür ve 2,5 mg/kg Xylasin hidroklorür verilerek genel anestezi uygulandı. Tüm cerrahi işlemler steril cerrahi koşullar altında asepsi, antisepsi ve sterilizasyon kurallarına dikkat edilerek gerçekleştirildi. Ratların intraoral olarak üst çene palatinal bölgelerinde rugaların hemen arkasında 4 mm çapında punch frez ile tam kalınlık sirküler mukozal defekt oluşturulup, yara bölgesi sekonder olarak iyileşmeye bırakıldı (Resim 2). Postoperatif olarak hayvanlara analjezik olarak günde bir kere Carprofen 4 mg/kg (Rmadyl, Pfizer) sübkütan (3 gün) uygulanmıştır.



**Resim 2.** Ratın palatinal mukozasında rugaların hemen arkasında oluşturulan 4 mm çapındaki tam kalınlık mukozal defekt

#### **3.4.4. Gruplara göre çalışma teknikleri**

Tüm çalışma ve deney grubundaki ratlarda yaranın oluşturulduğu gün 0. gün olarak kabul edilmiştir. Gruplardaki tüm ratlar sakrifiye edilene kadar standart koşullarda beslenmişlerdir.

**Grup 1 Kontrol Grubu - 4. gün (KG4):** Bu gruptaki ratlara yara oluşturulması haricinde herhangi bir uygulama yapılmamış olup çalışmanın standardizasyonu açısından sadece sakrifiye edilene kadar orogastrik yolla 1 cc serum fizyolojik verildi. Yara oluşturulmasından sonraki 4. günde ise denekler sakrifiye edildi.

**Grup 2 Kontrol Grubu - 7. gün (KG7):** Bu gruptaki ratlara yara oluşturulması haricinde herhangi bir uygulama yapılmamış olup çalışmanın standardizasyonu açısından sadece sakrifiye edilene kadar orogastrik yolla 1 cc serum fizyolojik verildi. Yara oluşturulmasından sonraki 7. günde ise denekler sakrifiye edildi.

**Grup 3 Kontrol Grubu - 14. gün (KG14):** Bu gruptaki ratlara yara oluşturulması haricinde herhangi bir uygulama yapılmamış olup çalışmanın standardizasyonu açısından sadece sakrifiye edilene kadar orogastrik yolla 1 cc serum fizyolojik verildi. Yara oluşturulmasından sonraki 14. günde ise denekler sakrifiye edildi.

**Grup 4 Çalışma Grubu, ÜÇE - 4. gün (EG4):** Bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk ekstre uygulaması yara oluşturulmadan 1 saat önce verilmiş olup toplamda 4 gün boyunca orogastrik yolla 300 mg/kg/gün ÜÇE verilerek, 4. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 5 Çalışma Grubu, ÜÇE - 7. gün (EG7):** Bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk ekstre uygulaması yara oluşturulmadan 1 saat önce verilmiş olup toplamda 7 gün boyunca orogastrik yolla 300 mg/kg/gün ÜÇE verilerek, 7. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 6 Çalışma Grubu, ÜÇE - 14. gün (EG14):** Bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk ekstre uygulaması yara oluşturulmadan 1 saat önce verilmiş olup toplamda 14 gün boyunca orogastrik yolla 300 mg/kg/gün ÜÇE verilerek, 14. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 7 Çalışma Grubu, DDLT - 4. gün (LG4):** Operasyonun yapıldığı günden itibaren bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına 4 gün boyunca defekt bölgesine, günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca diyot lazer ile (810 nm, model; Fotona XD-2 diode laser, Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozu uygulandı. 4. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 8 Çalışma Grubu, DDLT - 7. gün (LG7):** Operasyonun yapıldığı günden itibaren bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına 4 gün boyunca defekt bölgesine, günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca diyot lazer ile (810 nm, model; Fotona XD-2 diode laser, Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozu uygulandı. 7. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 9 Çalışma Grubu, DDLT - 14. gün (LG14):** Operasyonun yapıldığı günden itibaren bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına 4 gün boyunca defekt bölgesine, günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca diyot lazer ile (810 nm, model; Fotona XD-2 diode laser, Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozu uygulandı. 14. günde denekler sakrifiye edilmiştir.



**Grup 10 Çalışma Grubu, ÜÇE + DDLT - 4. gün (ELG4):** Bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk ekstre uygulaması yara oluşturulmadan 1 saat önce verilmiş olup toplamda 4 gün boyunca orogastrik yolla 300 mg/kg/gün ÜÇE verilmiştir. Bununla birlikte, 4 gün boyunca defekt bölgesine, günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca diyot lazer ile (810 nm, model; Fotona XD-2 diode laser, Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozu uygulanarak, 4. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 11 Çalışma Grubu, ÜÇE + DDLT - 7. gün (ELG7):** Bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk ekstre uygulaması yara oluşturulmadan 1 saat önce verilmiş olup toplamda 7 gün boyunca orogastrik yolla 300 mg/kg/gün ÜÇE verilmiştir. Bununla birlikte, 4 gün boyunca defekt bölgesine, günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca diyot lazer ile (810 nm, model; Fotona XD-2 diode laser, Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozu uygulanarak, 7. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

**Grup 12 Çalışma Grubu, ÜÇE + DDLT - 14. gün (ELG14):** Bu çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk ekstre uygulaması yara oluşturulmadan 1 saat önce verilmiş olup toplamda 14 gün boyunca orogastrik yolla 300 mg/kg/gün ÜÇE verilmiştir. Bununla birlikte, 4 gün boyunca defekt bölgesine, günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca diyot lazer ile (810 nm, model; Fotona XD-2 diode laser, Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozu uygulanarak, 14. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

#### **3.4.5. Ekstrenin hazırlanması ve uygulanması**

Üzüm çekirdeği ekstresi 1ml serum fizyolojikte 100 mg olacak şekilde hazırlanarak, orogastrik gavaj için hazır hale getirildi.

#### **3.4.6. Düşük doz lazerin uygulanması**

Çalışmamızda 810 nm, dalga boyunda Fotona XD-2 diyot lazer, (Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) günde 1 kez, 1 cm uzaklıktan 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozunda kullanıldı (Resim 3). Lazer uygulamasında ilk doz, palatinal defekt oluşturulduktan hemen sonra başlanmış olup standardizasyonun sağlanması açısından her gün aynı saatlerde olmak üzere 4 gün uygulanmıştır.



**Resim 3.** Rata düşük düşük doz lazer tedavisinin uygulanışı

#### **3.4.7. Kilo kontrolü**

Denekler her gün tartılarak kilo kayıpları takip edildi.

#### **3.4.8. Sakrifikasyon protokolü ve örneklerin elde edilmesi**

Deney prosedüründe verilen günler tamamlandıktan sonra ratlara ötenazi uygulandı. Ratlar ötenazi edilmeden önce, son vücut ağırlıkları tartıldı. Tüm gruplardaki ratlar kas içi (i.m.) enjeksiyon ile 45 mg/kg Ketamin hidroklorür ve 2,5 mg/kg Xylasin hidroklorür ile genel anestezi altına alındı. Daha sonra tüm ratlardan intrakardiyak kan alındı. Serumu kan hücrelerinden ayırtmak için 10 dakika x 4000 g'de santrifüje edildi. Elde edilen serum örnekleri laboratuvar incelemesine kadar -80 C°'de saklandı. Kan kaybı sonucunda ötenazi oluşturulduktan sonra deneklerin ağız içerisindeki sekonder yara bölgesinde çevre dokuyu 0,5 cm içerisine alacak şekilde üst çeneleri alındı. Çıkarılan dokular daha sonra % 10' luk tamponlanmış formol içeren biyopsi kapları içine konuldu. Çalışmanın deneysel aşamasında hayvanlara verilen genel anesteziye bağlı gelişen komplikasyonlara bağlı olarak E14 ve L14'den birer hayvan kaybedilerek çalışma 70 denek ile tamamlandı.

#### **3.5. Total oksidan ve antioksidan seviyelerinin belirlenmesi**

Rat serumlarına ait biyokimyasal analizler Gaziantep Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarı tarafından gerçekleştirildi.

### **3.5.1. Total oksidan seviye (TOS) ölçümü**

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerini ölçmek için, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı (170).

### **3.5.2. Total antioksidan seviye (TAS) ölçümü**

Örneklerin total antioksidan status düzeyi ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanan yöntem kullanıldı (171). Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox denk olarak ifade edildi.

### **3.5.3. Oksidatif stres indeksi (OSİ)**

Oksidatif stres indeksi belirteci olan OSİ 'nin hesaplanması total oksidan seviyesinin total antioksidan seviyeye yüzde oranı şeklinde yapılmaktadır (172). Hesaplamayı gerçekleştirebilmek için total antioksidan seviyesinin milimol trolox/litre olan birimi mikromol trolox/litreye çevrilip hesaplandı.  $OSİ = [(TOS, \mu\text{mol/L}) / (TAS, \mu\text{mol Trolox eşdeğeri/L}) \times 100]$ .

## **3.6. Histolojik ve Histomorfometrik İncelemeler için Örneklerin Hazırlanması**

### **3.6.1. Hematoksilen-Eozin boyaması**

Gruplardan elde edilen örnekler % 10'luk formalin solüsyonu içinde 48 saat tespit edildi. Örnekler EDTA (ethylenediaminotetra-acetic acid) solüsyonu içerisinde (100 ml 0.1 M fosfat tamponda çözünmüş pH: 7.1) 2 günde bir kez değiştirilerek, + 4°C'de 5 hafta süreyle, kontrol edilerek dekalsifiye edildiler.

Distile su ile yıkanan örneklere, derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidratasyonu takiben, ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulandı ve sonrasında parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Bloklardan alınan 5 µm kalınlıktaki seri kesitler histolojik değerlendirme için, 1 gece 60° etüvde ve 1 saat ksilende deparafinize edildikten sonra, rehidratasyon işlemi uygulanarak hematoksilen-eozin (Surgipath, 01562E, 01602E, Peterborough, UK) ile boyandı.

### **3.6.2. Masson Trikrom boyaması**

Alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika ile iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %95'den %60'a azalan alkol serilerinden geçirildi ve sonrasında 5 dakika akan su altında yıkandı. Bovin solüsyonda 56<sup>0</sup>C'de 15 dakika mordantlama yapıldı ve ardından sarı renk gidinceye kadar akan suda yıkandı. Weigert demirli hematoksilenle 10 dakika çekirdek boyaması yapılarak tekrar akan suda 10 dakika yıkama yapıldı. Daha sonra Biebrich Scarlet-Asit fuksin solüsyonunda 5 dakika bekletilen kesitler kırmızı renk gidinceye kadar distile suda yıkandı. Fosfotungstik/fosfomolibdik asitte 5 dakika bekletildi ve ardından 5 dakika Anilin mavisi ile boyama işlemimini takiben %1'lik asetik asitle 2 dakika muamele edilerek 5 dakika distile suda yıkandı. Sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

### **3.7. Histopatolojik ve Histomorfometrik Değerlendirme**

Örneklerin Hematoksilen-eosin (H&E) boyaması ile dokunun genel görünümü (enflamasyon), Masson Trikrom (M&T) boyamaları ile genel bağ dokusu yapısı (fibroblast, kollajen) incelenmiştir. Tüm grupların kesitlerinde keratinize çok katlı yassı epitel yapısında olan palatinal mukoza epiteli ve altında yer alan bağ dokusu yapısındaki lamina propriya değerlendirilmiştir. Gruplarda palatinalde oluşturulan mukozal defekt 4., 7. ve 14. günlerde histolojik düzen, epitelde bazal hücrelerde mitoz, lamina propriyada enflamatuvar hücreler, kapiller damarlar, fibroblast ve kollajen lifler açısından 5 ayrı değişkenle değerlendirildi.

X 200'lük büyütme alanında, epitelyum bazal hücrelerde mitotik hücre sayısı, lamina propriyada kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuvar hücre sayısı, aktif fibroblast hücre sayısı ve kollajen lifler aşağıda Tablo 5'te belirtildiği şekilde skorlanmıştır. Değerlendirilmeler yapılırken Kirchner ve ark'nın kullandığı skora sisteminden yararlanılmıştır (173). Bu şekilde histolojik ifade mümkün olduğunca matematiksel hale dönüştürülmeye çalışılmıştır.

**Tablo 5.** Histolojik değerlendirme kriterleri

Epitelde mitoz sayısı	Kapiller sayısı ve genişliği	Enflamatuar hücre	Fibroblast Sayısı	Kollajen Lifler
1-5 : 1	1 : az	1 : az	1-30 : 1	1 : normal
5-10 : 2	2 : orta	2 : orta	30-60 : 2	2 : orta
> 10 : 3	3 : artmış	3 : artmış	> 60 : 3	3 : artmış

### 3.8. İstatistiksel Yöntem

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Shaphiro wilk testi kullanılmıştır. İki den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında normal dağılıma sahip değişkenler için tek yönlü ANOVA ve LSD çoklu karşılaştırma testleri, normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Kruskal Wallis testi ve Dunn çoklu karşılaştırma testlerinden faydalanılmıştır. Tek yönlü ANOVA’da varyansın homojenitesi Levene testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS Windows versiyon 22.0 paket programı kullanılmış ve  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Takip Bulguları

#### 4.1.1. Vücut ağırlıkları

Deneye başlamadan önce ve deney sonunda, tüm gruplardaki ratların ağırlık değerleri ölçüldü. Ratların gruplara göre çalışmanın başlangıç ile 4., 7. ve 14. günlerindeki vücut ağırlıkları Tablo 6’da gösterilmiştir. Tüm grupların birbirleriyle olan ağırlık karşılaştırmaları ise Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Başlangıç ağırlık ve deney sonu ağırlık karşılaştırmaları

Gruplar	n	Başlangıç Ağırlık (g)		Deney sonu Ağırlık (g)		p
		Ortalama	Standart sapma	Ortalama	Standart sapma	
KG4	6	318,67	7,815	313	13,084	0,172
EG4	6	317,17	8,448	317	8,854	0,907
LG4	6	320,17	9,704	314	7,457	0,035
ELG4	6	319,67	8,189	323,83	9,948	0,325
KG7	6	321,83	7,600	324,83	4,622	0,302
EG7	6	318	8,899	322	7,099	0,060
LG7	6	318,50	7,817	321,83	4,070	0,229
ELG7	6	320,17	9,432	318,83	8,329	0,552
KG14	6	322	12,231	335	11,082	0,001
EG14	5	318,40	5,273	335,20	4,087	0,003
LG14	5	317,60	8,503	334	8,485	0,001
ELG14	6	320,33	9,709	336	9,077	0,001

Yapılan varyans analizinde, 4. günde sakrifiye edilen gruplarda sadece LG4 (p=0.035) grubunda istatistiksel olarak anlamlı kilo kaybı olurken, diğer gruplar içinde anlamlı bir fark olmasa da ELG4 grubunda kilo artışı meydana gelmiştir. 7. gün gruplarında öncesi ve sonrası arasında istatistiksel bir fark olmadığı ELG7 grubu haricinde ise kilo aldıkları belirlenmiştir. 14. günde ise tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede kilo aldıkları belirlenmiştir.

**Tablo 7.** Deney sonunda gruplar arasındaki ağırlık farklarının karşılaştırılması

<i>p=0.001</i>	<b>KG4</b>	<b>EG4</b>	<b>LG4</b>	<b>ELG4</b>	<b>KG7</b>	<b>EG7</b>	<b>LG7</b>	<b>ELG7</b>	<b>KG14</b>	<b>EG14</b>	<b>LG14</b>	<b>ELG14</b>
<b>KG4</b>		0.418	0.839	0.031	0.019	0.072	0.077	0.239	0.001	0.001	0.001	0.001
<b>EG4</b>	0.418		0.543	0.169	0.116	0.312	0.329	0.710	0.001	0.001	0.002	0.001
<b>LG4</b>	0.839	0.543		0.050	0.031	0.108	0.116	0.329	0.001	0.001	0.001	0.001
<b>ELG4</b>	0.031	0.169	0.050		0.839	0.710	0.685	0.312	0.027	0.031	0.053	0.016
<b>KG7</b>	0.019	0.116	0.031	0.839		0.566	0.543	0.226	0.043	0.049	0.080	0.027
<b>EG7</b>	0.072	0.312	0.108	0.710	0.565		0.973	0.521	0.010	0.013	0.023	0.006
<b>LG7</b>	0.077	0.329	0.115	0.685	0.543	0.973		0.543	0.009	0.012	0.021	0.005
<b>ELG7</b>	0.239	0.710	0.329	0.312	0.226	0.521	0.543		0.002	0.002	0.005	0.001
<b>KG14</b>	0.001	0.001	0.001	0.027	0.043	0.010	0.009	0.002		0.969	0.847	0.839
<b>EG14</b>	0.001	0.001	0.001	0.031	0.049	0.013	0.012	0.002	0.969		0.824	0.877
<b>LG14</b>	0.001	0.002	0.001	0.053	0.080	0.023	0.021	0.005	0.847	0.824		0.699
<b>ELG14</b>	0.001	0.001	0.001	0.016	0.027	0.006	0.006	0.001	0.839	0.877	0.699	

Çalışmanın sonunda kontrol ve deney grupları arasında birbirleriyle yapılan ağırlık farkı karşılaştırılmasında, 4. gün gruplarında; kontrol grubuna göre sadece ELG4 lehine ( $p=0.031$ ) istatistiksel fark bulunmuştur.

KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının birbirleriyle karşılaştırılmasında hiçbiri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). 7. gün grupları 4. ve 14. gün grupları ile kıyaslanınca;

- KG7 ile KG4 ( $p=0.019$ ), KG7 ile LG4 ( $p=0.031$ ), KG7 ile KG14 ( $p=0.043$ ), KG7 ile ELG14 ( $p=0.043$ ),
- EG7 ile KG14 ( $p=0.010$ ), EG7 ile EG14 ( $p=0.013$ ), EG7 ile LG14 ( $p=0.023$ ), EG7 ile ELG14 ( $p=0.006$ ),
- LG7 ile KG14 ( $p=0.009$ ), LG7 ile EG14 ( $p=0.012$ ), LG7 ile LG14 ( $p=0.021$ ), LG7 ile ELG14 ( $p=0.005$ ),
- ELG7 ile KG14 ( $p=0.002$ ), EGL7 ile EG14 ( $p=0.002$ ), ELG7 ile LG14 ( $p=0.005$ ), ELG7 ile ELG14 ( $p=0.001$ ) grupları arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur.

- KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının birbirleriyle karşılaştırılmasında hiçbiri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. ( $p>0.05$ ).

## 4.2. Biyokimyasal Bulgular

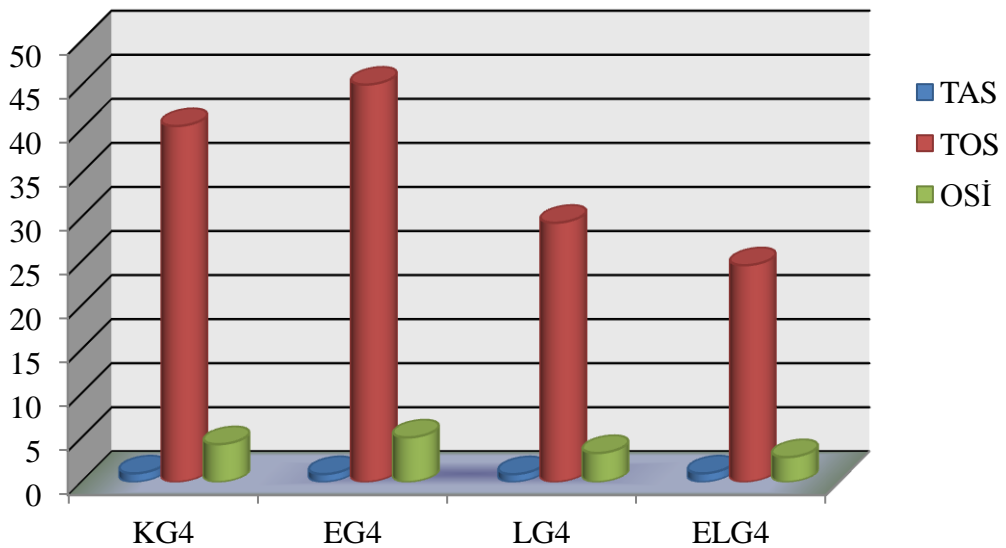
### 4.2.1. 4. 7. ve 14. gün grupları

4. günde TAS değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. TOS ve OSİ’de ise EG4 ile ELG4 anlamlı farklılık gösterdi. 7. ve 14. günlerde TAS, TOS ve OSİ bakımından istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

İstatistiksel farklılık gözlenen KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının TAS, TOS ve OSİ değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 8 ile Şekil 10’da gösterilmiştir. TAS, TOS ve OSİ değerlerinin KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarında birbirlerine göre istatistiksel farklılığı ise Tablo 9’da gösterilmiştir.

**Tablo 8.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının TAS, TOS ve OSİ değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri

Değişkenler \ Gruplar	Ortalama değer ± Standart sapma			
	KG4 (n=6)	EG4 (n=6)	LG4 (n=6)	ELG4 (n=6)
TAS	0,97±0,21	0,89±0,11	0,88±0,55	0,97±0,17
TOS	40,37±17,15	45,07±11,32	29,40±12,36	24,58±4,88
OSİ	4,28±1,27	5,05±1,01	3,28±1,24	2,81±1,33



**Şekil 10.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama ve standart sapma değerlerini gösteren TAS, TOS ve OSİ grafiği



**Tablo 9.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının TAS, TOS ve OSİ değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel farklılıklarının karşılaştırılması

Değişkenler	KG4 (n=6)	EG4 (n=6)	LG4 (n=6)	ELG4 (n=6)
TAS	0,97±0,21	0,89±0,11	0,88±0,55	0,97±0,17
TOS	40,37±17,15	45,07±11,32	29,40±12,36	24,58±4,88 <sup>†</sup>
OSİ	4,28±0,21	5,05±1,01	0,97±0,21	2,81±1,33 <sup>†</sup>

p<0.05

\*KG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

<sup>†</sup>EG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

<sup>‡</sup>LG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

<sup>§</sup>ELG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

- KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarında sadece EG4 ile ELG4 grupları arasında TOS (p=0.037), OSİ ise (p=0.015) istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi.

- KG7, EG7, LG7 ve ELG7 grupları arasında TAS, TOS ve OSİ değişkenleri bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p>0.05).

- KG14, EG14, LG14 ve ELG14 grupları arasında da TAS, TOS ve OSİ değişkenleri bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p>0.05).

### 4.3. Makroskopik Bulgular ve Histolojik, Histomorfometrik Analiz Sonuçları

Ratların palatinal mukozalarında oluşturulan tam kalınlık defektler sakrifikasyon sonucu makroskopik olarak değerlendirilmiştir. Histolojik ve histomorfometrik verilerin istatistiksel analizinde kullanılan epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif ile ilgili parametrelerine ait sürekli değişkenlerde grup sayısı, ortalama ve standart sapma değerleri tablo ve grafiklerle özetlenmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shaphiro wilk testi ile test edilmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda normal dağıldığı tespit edilen epitelde mitoz sayısının KG4, EG4, LG4 ve ELG4 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu (p=0.018) görülmüştür. Normal dağılmadığı tespit edilen parametrelerin KG4, EG4, LG4 ve ELG4 grupları arasında istatistiksel olarak analizinde ise, kapiller sayısı ve genişliğinin (p=0.007), enflamatuar

hücre sayısının ( $p=0.009$ ), fibroblast sayısının ( $p=0.007$ ) ve kollajen lif miktarının ( $p=0.011$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu bulunmuştur.

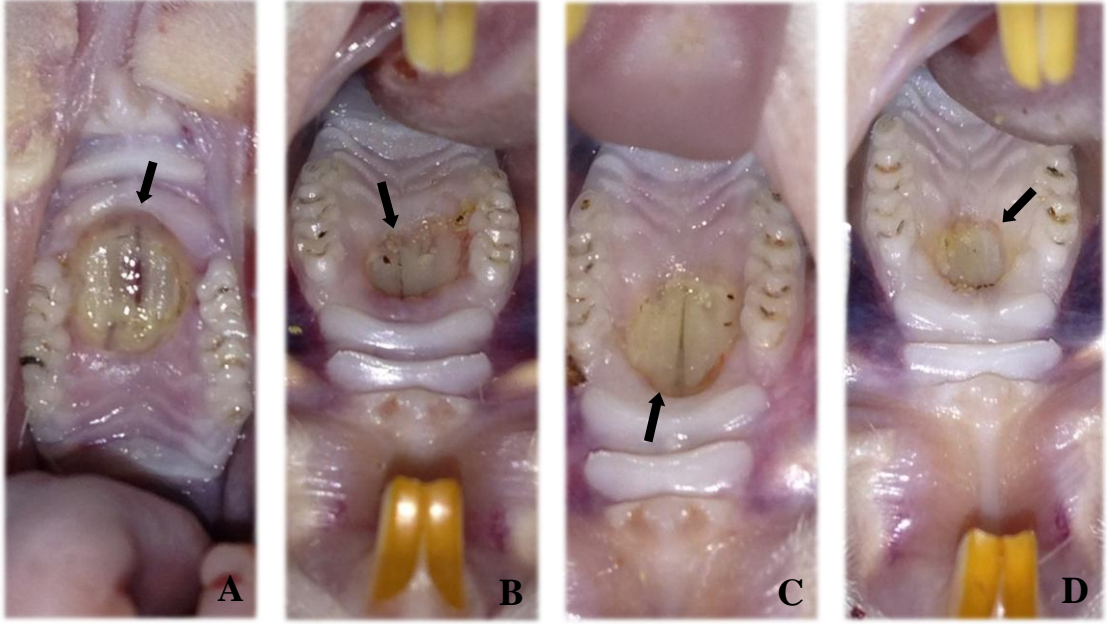
KG7, EG7, LG7 ve ELG7 grupları arasında fibroblast sayısının normal dağıldığı ( $p=0.025$ ) tespit edilmiştir. Normal dağılmadığı görülen parametrelerin KG7, EG7, LG7 ve ELG7 grupları arasındaki analizinde epitelde mitoz sayısı ( $p=0.004$ ), kapiller sayısı ve genişliği ( $p=0.007$ ), enflamatuar hücre sayısı ( $p=0.013$ ) ve kollajen lif miktarının ( $p=0.004$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu bulunmuştur.

14. günde ise normal dağılmadığı tespit edilen parametrelerin KG14, EG14, LG14 ve ELG14 grupları arasındaki istatistiksel olarak analizinde ise, epitelde mitoz sayısının ( $p=0.003$ ), kapiller sayısı ve genişliğinin ( $p=0.007$ ), enflamatuar hücre sayısının ( $p=0.014$ ), fibroblast sayısının ( $p=0.003$ ) ve kollajen lif miktarının ( $p=0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu bulunmuştur.

#### **4.3.1. 4. gün grupları**

##### **4.3.1.1. Makroskopik bulgular**

4. gün grupları klinik olarak değerlendirildiğinde ilk başta yaranın enflamasyon ve ödem durumu ele alınmış olup sonrasında yaranın kapanma potansiyeline bakılmıştır. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının hiçbirinde yarada enfeksiyon bulgusuna rastlanmamış olup, herhangi bir dene kaybı da olmamıştır ve yara iyileşmesi açısından makroskopik olarak birbirlerinden çok belirgin farklar görülememiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında EG4 ve ELG4 gruplarında yara kenarlarında ödemin ve hipereminin daha iyi olduğu gözlenmiştir. 4. gün gruplarının klinik iyileşme görüntüleri Resim 4'te sunulmuştur.



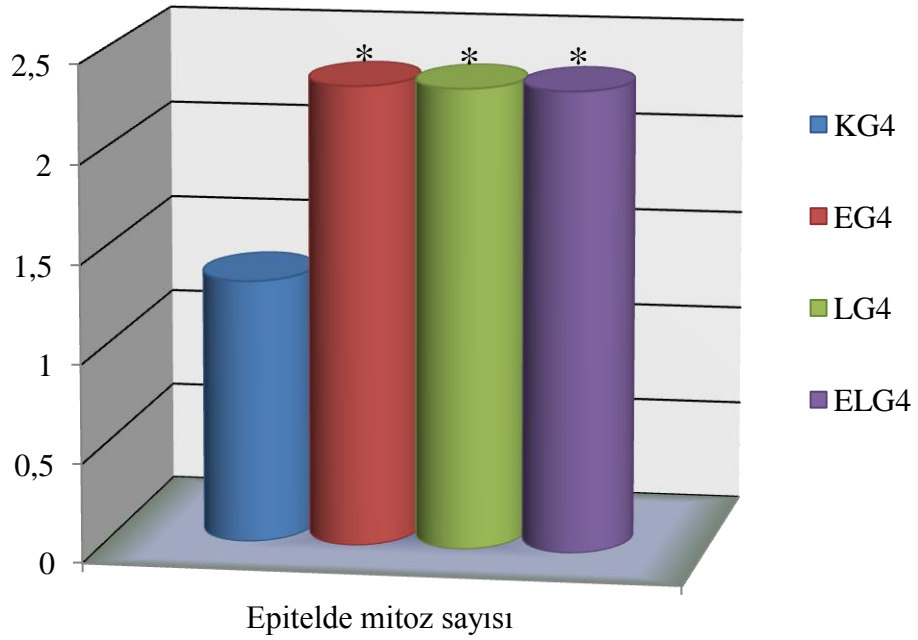
**Resim 4.** 4. gün gruplarına ait makroskopik görüntüler (**A**, Kontrol grubu 4. gün; **B**, ÜÇE grubu 4. gün; **C**, DDLTL grubu 4. gün; **D**, ÜÇE + DDLTL grubu 4. gün, Ok; mukozal defekt bölgesi)

4. günde KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre sayısı, fibroblast sayısı ve kollajen lifler ilgili ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 10 ve Şekil 11-15 ile gösterilmiştir.

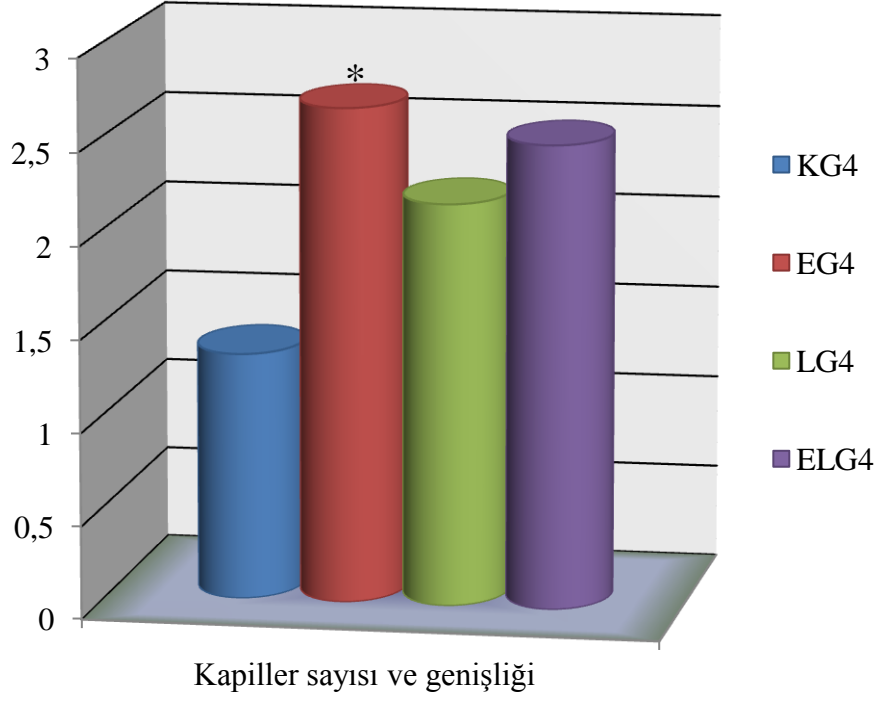
Epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif ile ilgili iyileşme düzeylerinin KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarında birbirlerine göre istatistiksel farklılığı Tablo 11’de gösterilmiştir.

**Tablo 10.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri

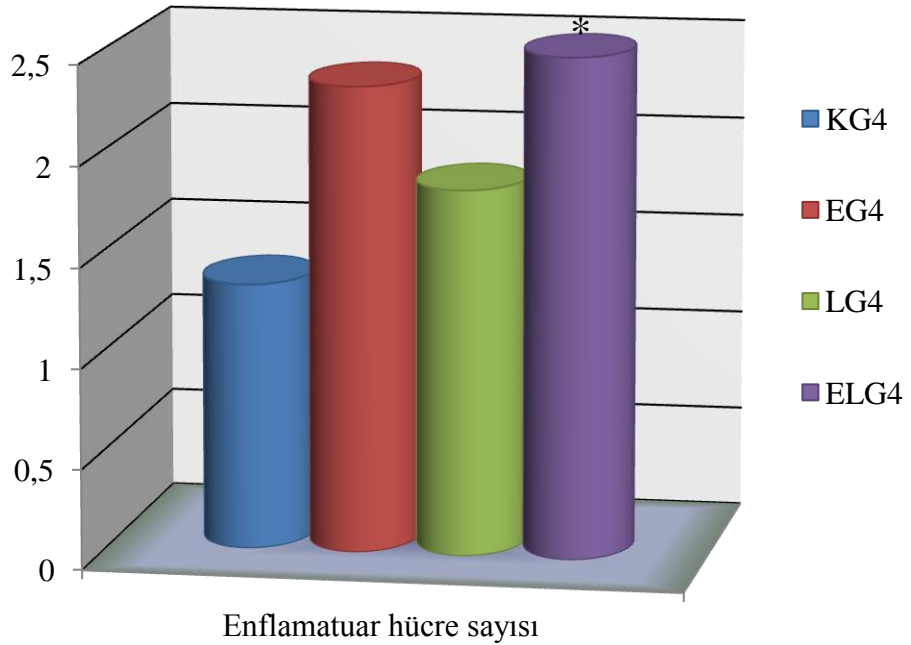
Gruplar Değişkenler	Ortalama değer ± Standart sapma			
	KG4 (n=6)	EG4 (n=6)	LG4 (n=6)	ELG4 (n=6)
Epitelde mitoz sayısı	1,33±0,516	2,33±0,516	2,33±0,516	2,33±0,516
Kapiller (sayısı ve genişliği)	1,33±0,516	2,67±0,516	2,17±0,408	2,50±0,548
Enflamatuar hücre sayısı	1,33±0,516	2,33±0,516	1,83±0,408	2,50±0,548
Fibroblast sayısı	1,17±0,408	2,67±0,516	2,17±0,753	2,50±0,548
Kollajen lifler	1,17±0,408	2,33±0,516	2,17±0,753	2,50±0,548



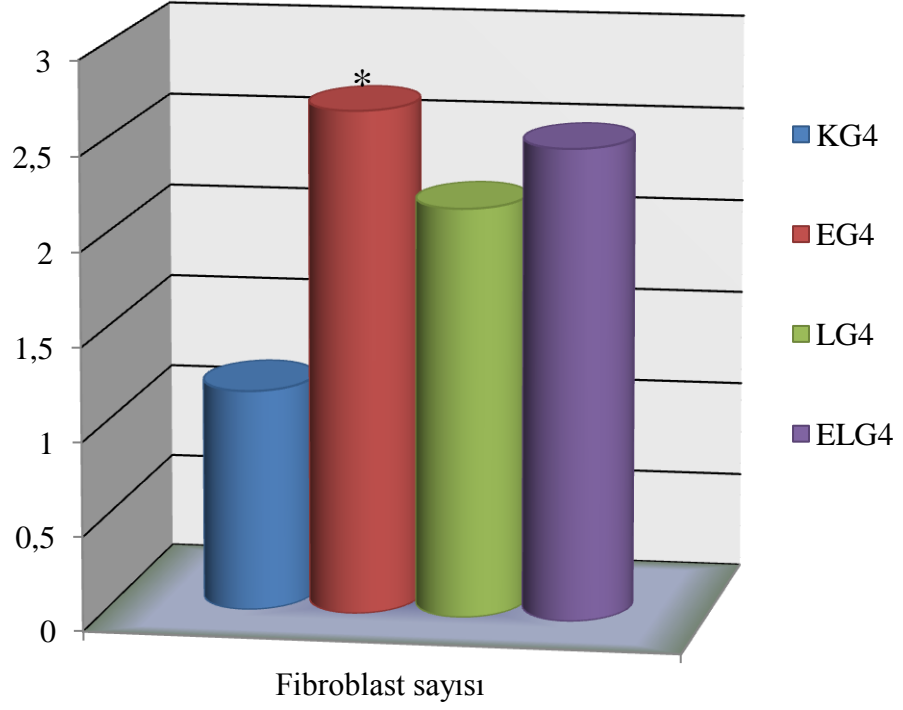
**Şekil 11.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren epitelde mitoz sayısı grafiği (\* p<0.05)



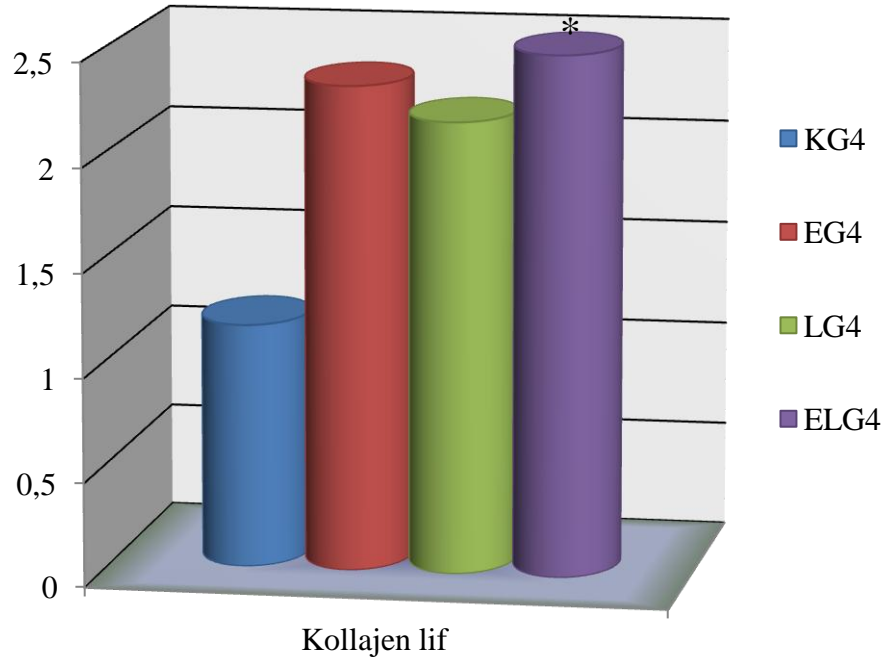
**Şekil 12.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren kapiller sayısı ve genişliği grafiği (\* $p<0.05$ )



**Şekil 13.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren enflamatuar hücre sayısı grafiği (\* $p<0.05$ )



**Şekil 14.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren fibroblast sayısı grafiği (\* $p<0.05$ )



**Şekil 15.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarına ait ortalama değerleri gösteren kollajen lif grafiği (\* $p<0.05$ )

**Tablo 11.** KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılması

<b>Değişkenler Medyan [%25-%75]</b>	<b>KG4 (n=6)</b>	<b>EG4 (n=6)</b>	<b>LG4 (n=6)</b>	<b>ELG4 (n=6)</b>
<b>Epitelde mitoz sayısı</b>	1[1-2]	2[2-3] <sup>*</sup>	2[2-3] <sup>*</sup>	2[2-3] <sup>*</sup>
<b>Kapiller (sayı ve genişlik)</b>	1[1-2]	3[2-3] <sup>*</sup>	2[2-2,25]	2[2-3]
<b>Enflamatuar hücre sayısı</b>	1[1-2]	2[2-3]	2[2-3]	2,50[2-3] <sup>*</sup>
<b>Fibroblast sayısı</b>	1[1-2]	3[2-3] <sup>*</sup>	2[1,75-3]	2,50[2-3]
<b>Kollajen lif</b>	1[1-1,25]	2[2-3]	2[1,75-3]	2,50[2-3] <sup>*</sup>

p<0.05

\*KG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

†EG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

‡LG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

§ELG4 ile diğer 4. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

LSD sonucuna göre;

- Epitelde mitoz sayısı; tüm gruplar birbiriyle kıyaslandığında KG4 grubuna göre EG4, LG4 ve ELG4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.003, p=0.003, p=0.003).

Dunn testi sonuçlarına göre;

- Kapiller sayı ve genişlik; EG4'te KG4'e göre kapiller sayı ve genişlikte istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.019). Ancak elde edilen değerlere bakıldığında ELG4'te vaskülarizasyonun LG4'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da daha iyi olduğu görülmüştür.

- Enflamatuar hücre; ELG4'te KG4'e göre enflamasyonun istatistiksel olarak daha fazla olduğu bulunmuştur (p=0.039). Sonuçlara göre LG4'te enflamatuar hücre sayısı EG4 ve ELG4 gruplarına göre daha az olduğu fakat istatistiksel olarak anlam taşımadığı

görülmüştür. 8 J/cm<sup>2</sup> dozunda düşük doz lazer uygulanan grupta kontrole göre enflamasyonun hafif indüklendiği izlenmiştir.

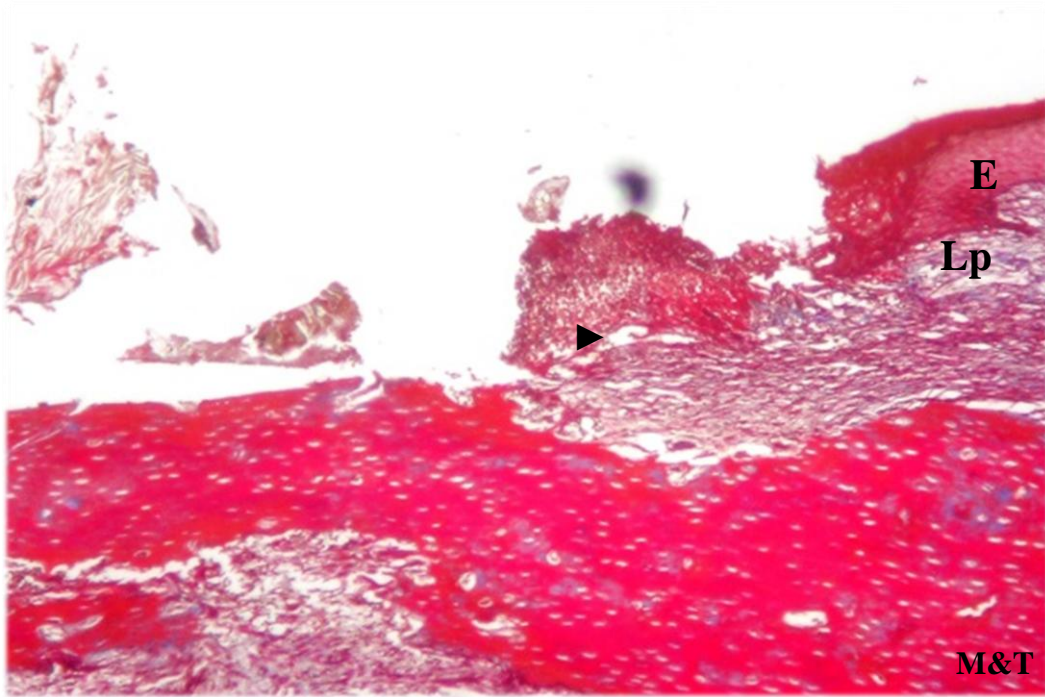
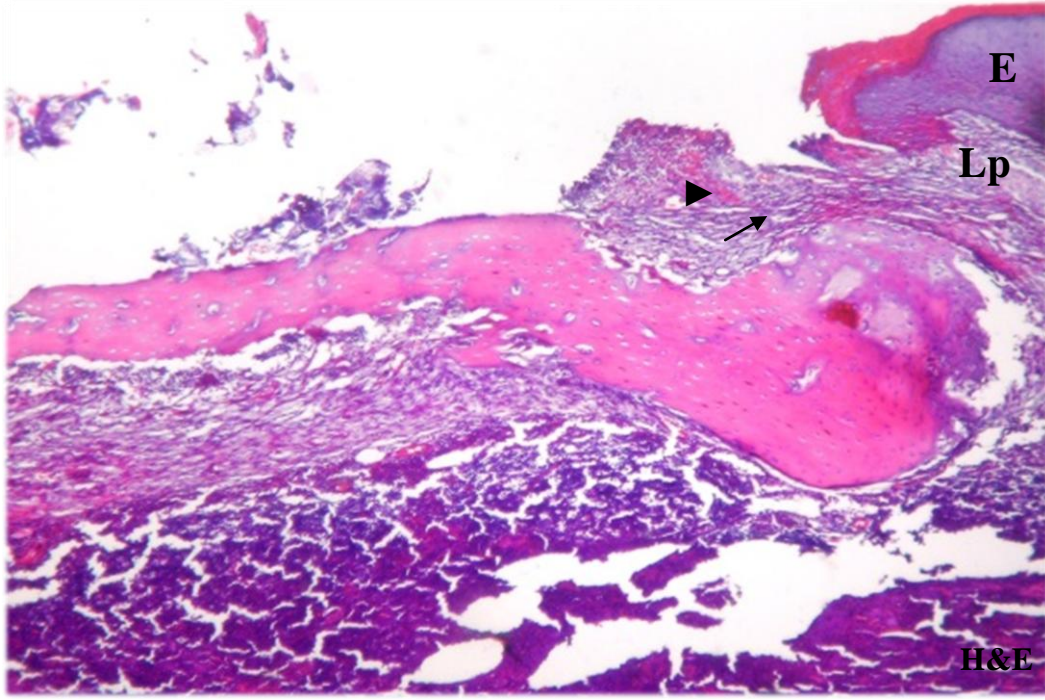
- Fibroblast sayısı; EG4'te KG4'e göre fibroblast sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.016). Fakat diğer iki çalışma grubu olan LG4 ve ELG4'te artış istatistiksel olarak anlamlı değer taşımasa da, kontrole göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.

- Kollajen lifler; ELG4'ün KG4'e göre istatistiksel olarak daha iyi olduğu bulunmuştur (p=0.027). EG4 ve LG4'ün kollajen lif sayısı KG4'e göre daha fazla iken üzüm çekirdeği ekstresi ile birlikte lazer uygulandığında kollajen lif sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmuş, bu durum makroskobik olarak da ELG4'te defekt alanın daha fazla küçülmesiyle paralellik göstermektedir.

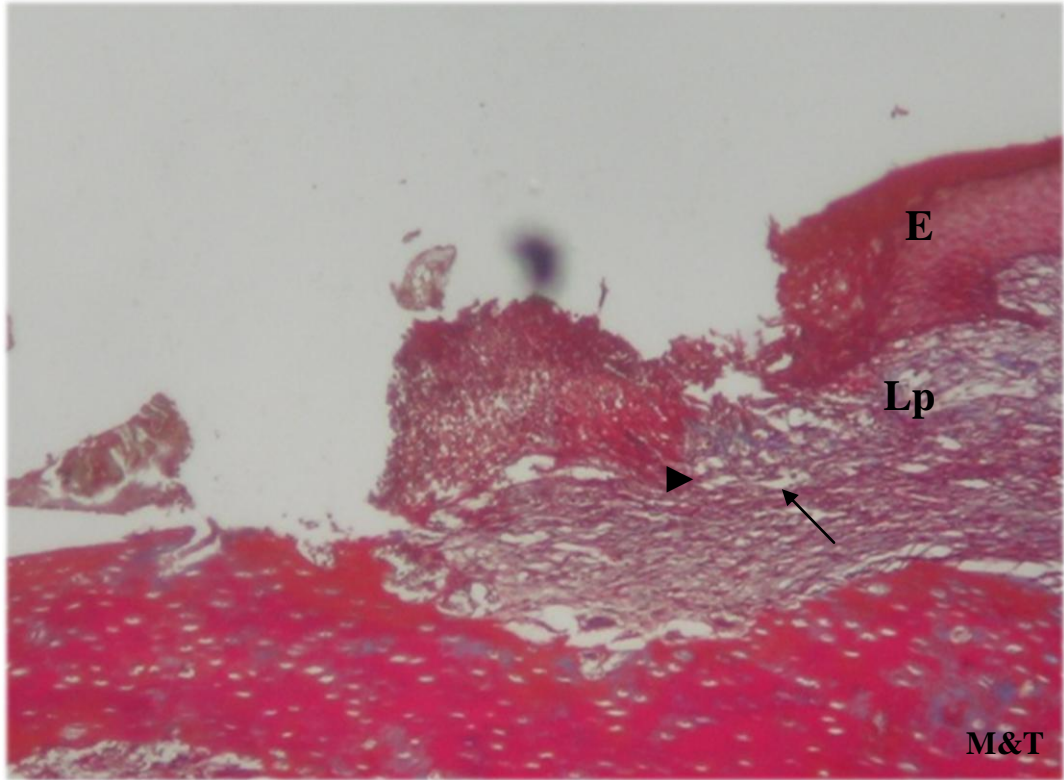
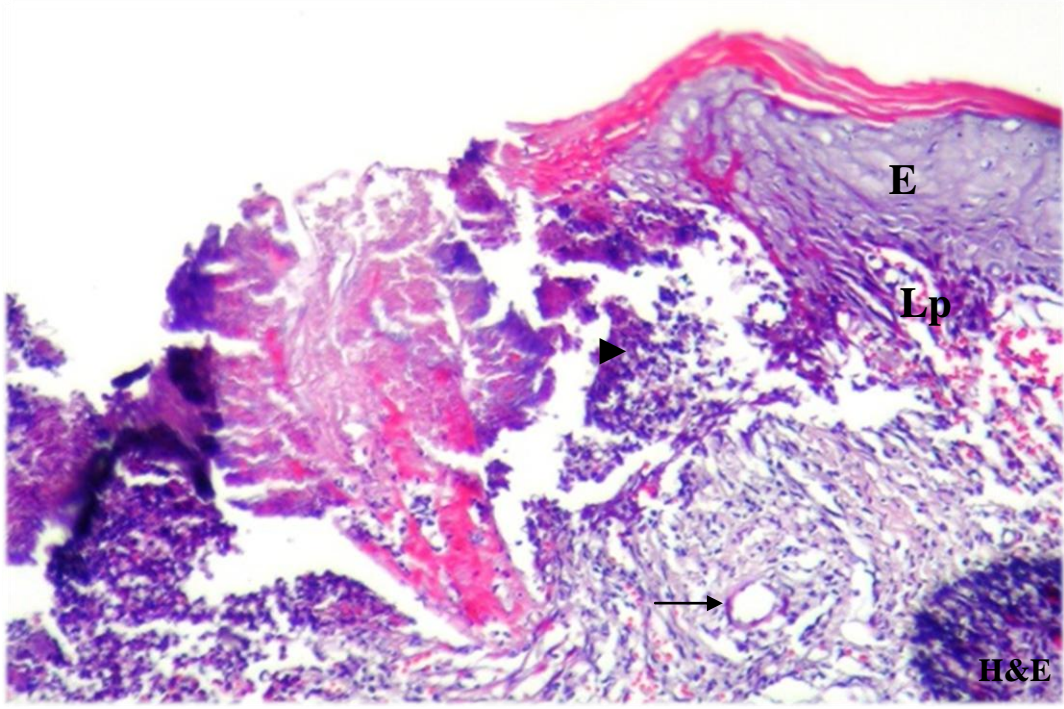
#### **4.3.1.2. Histolojik bulgular**

4. günde sakrifiye edilen KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının Hematoksilen-eozin ve Masson trikrom boyamaları ile ışık mikroskopunda yapılan histolojik değerlendirmesinde çalışma gruplarının hepsinde kontrol grubuna göre defekt kenarında epitelin mitotik aktivitesinin yüksek olduğu ve reepitelizasyonun başladığı görüldü. Vaskülarizasyon açısından ele alındığında EG4'de kapiller damar oluşumu daha fazla izlendi. Enflamatuar hücre infiltrasyonunun çalışma gruplarında yüksek olduğu, sadece DDLT uygulanan grupta orta dereceli enflamasyon izlenirken ÜÇE ile uygulanan grupta enflamasyonun şiddetlendiği görüldü. ÜÇE, ÜÇE+DDLTL uygulanan iki grupta enflamatuar hücre sayısındaki artışın kapiller sayısı ve genişlik artışıyla paralellik gösterdiği izlendi. Mukoza epiteli altında gözlenen fibroblast proliferasyonunun ve kollajen liflerin ELG4'de çevre sağlam dokuyla benzer özellikler göstererek EG4 ve LG4 gruplarından daha iyi olduğu izlendi. KG4, EG4, LG4 ve ELG4 gruplarının H&E ve M&T ile boyanmış palatinal mukozaya ait histolojik kesitleri Resim 5-8'de gösterilmiştir.



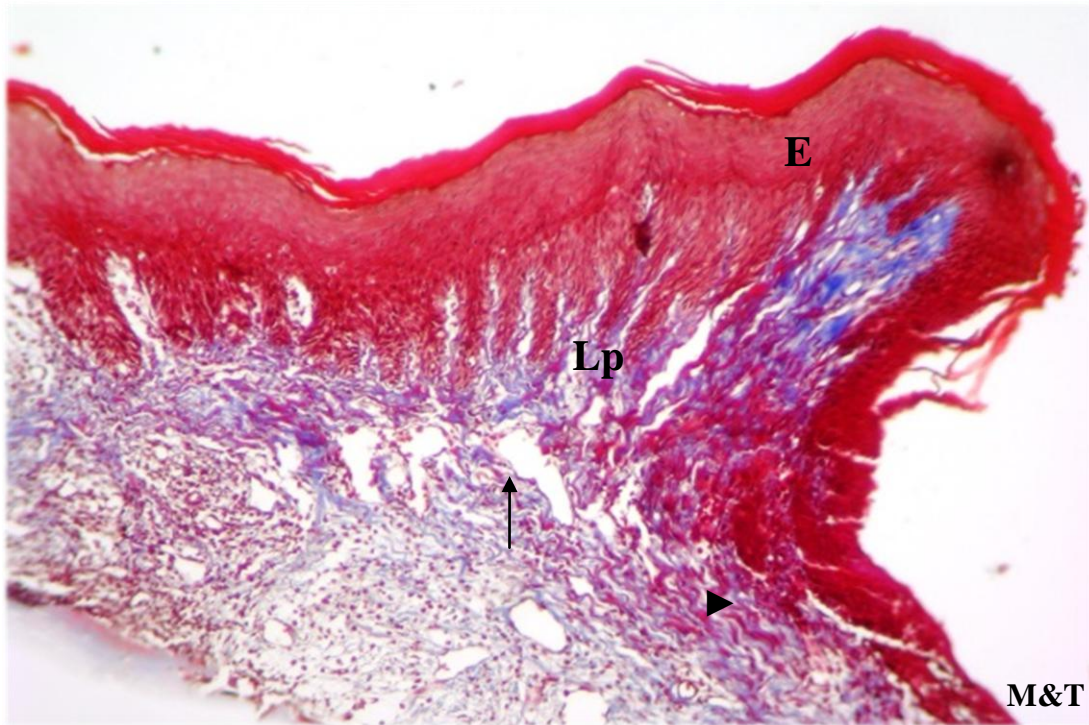
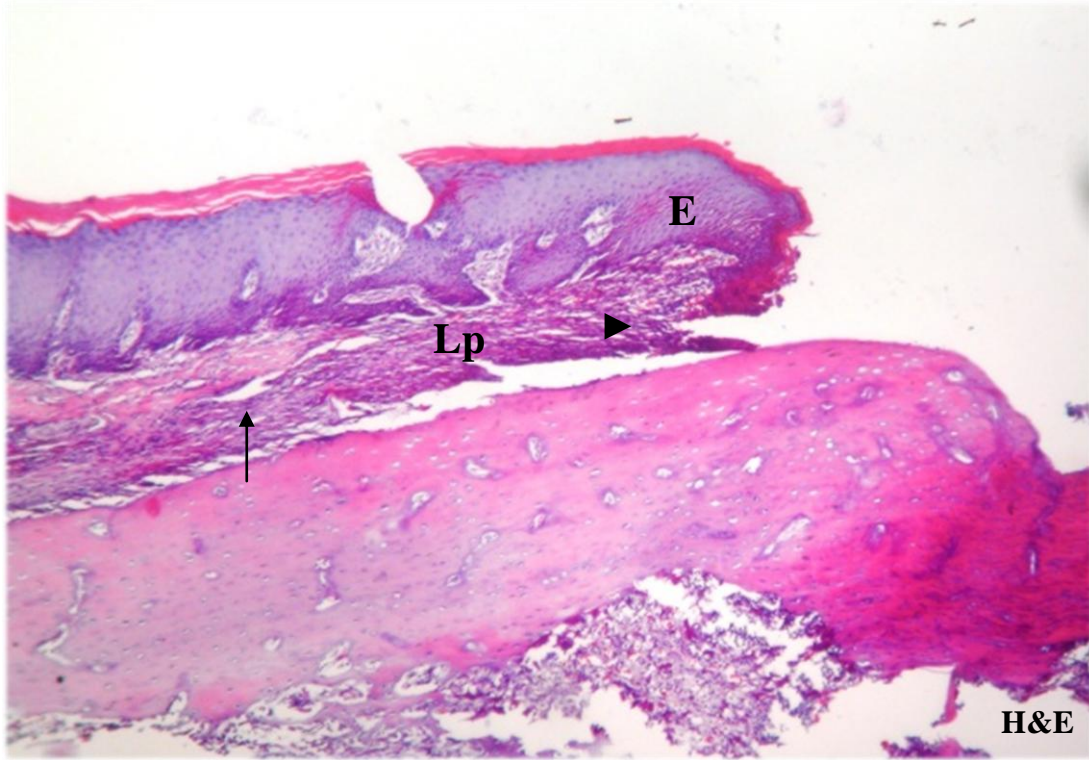


**Resim 5.** Kontrol 4. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, E:Epitel, Lp:Lamina propria, H&E:Hematoksilen eozin, M&T:Masson Trikrom x200)

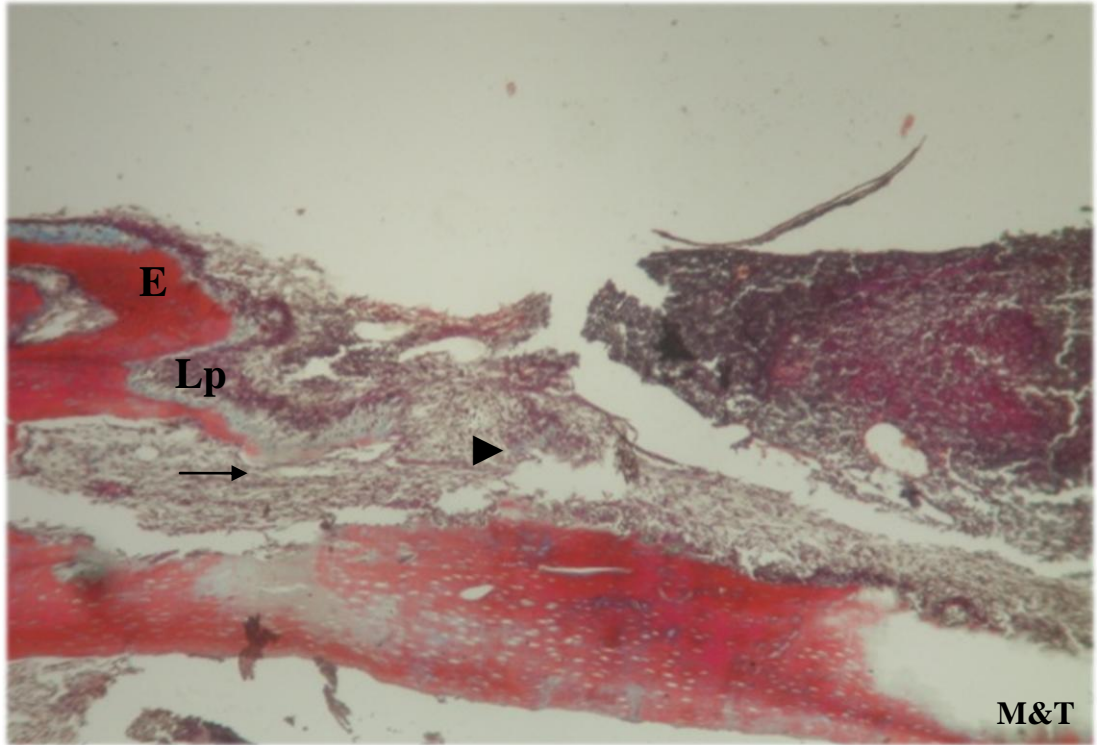
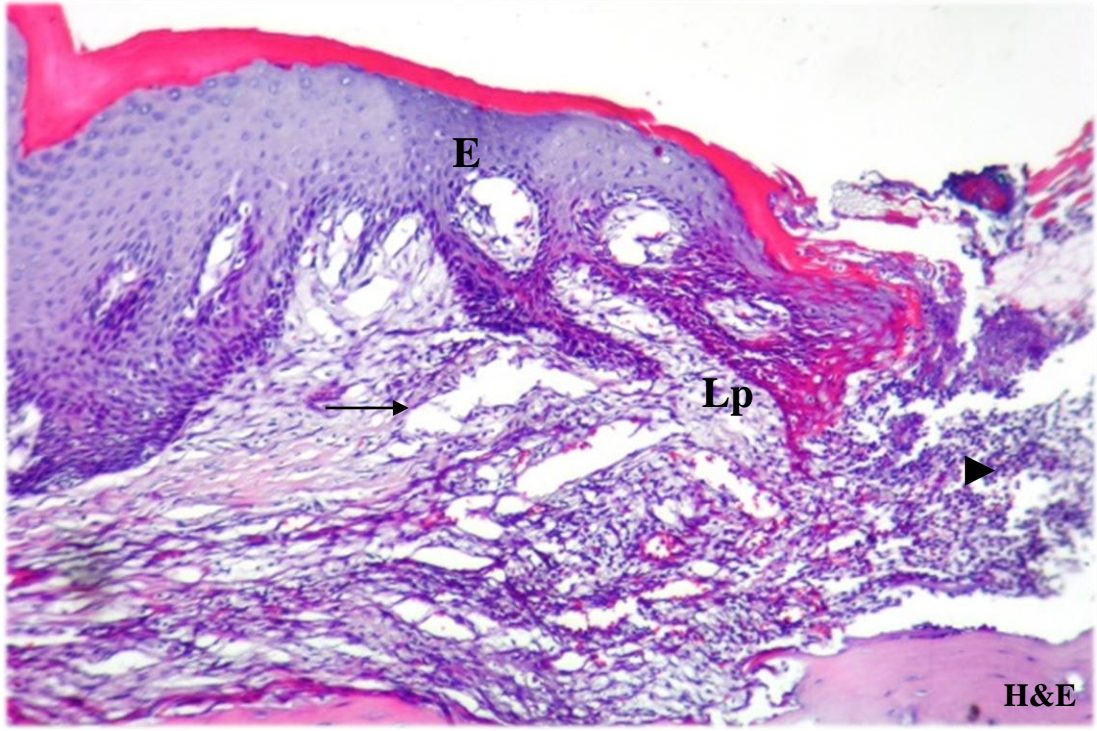


**Resim 6.** ÜÇE grubu 4. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)





**Resim 7.** DDLT grubu 4. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)



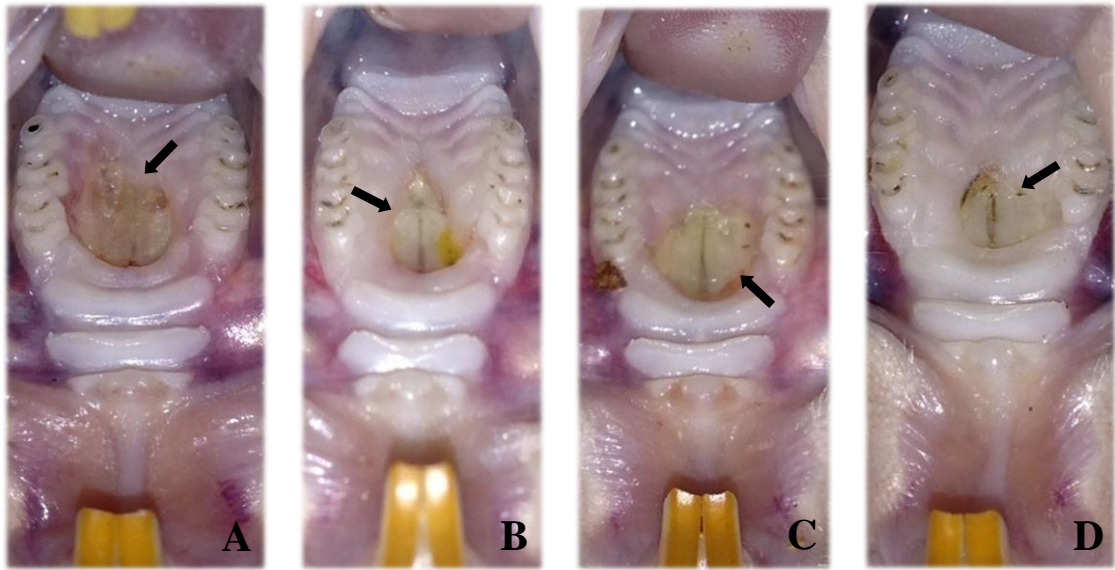
**Resim 8.** ÜÇE+DDLT grubu 4. gün palatinal mukoza epitel (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)



### 4.3.2. 7. gün grupları

#### 4.3.2.1. Makroskopik bulgular

7. gün grupları klinik olarak değerlendirildiğinde yaranın enflamasyonuna, ödeme ve yaranın kapanma potansiyeline bakılmıştır. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının hiçbirinde yarada enfeksiyon bulgusuna rastlanmamış olup herhangi bir denek kaybı da olmamıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında EG7 ve EGL7 gruplarında yara kenarlarında ödemin ve hipereminin daha iyi olduğu gözlenmiş olup yara kenarları defekt alanın ortasına doğru daha hızlı göç etmiştir. 7. gün gruplarının klinik iyileşmeleri Resim 9'da sunulmuştur.



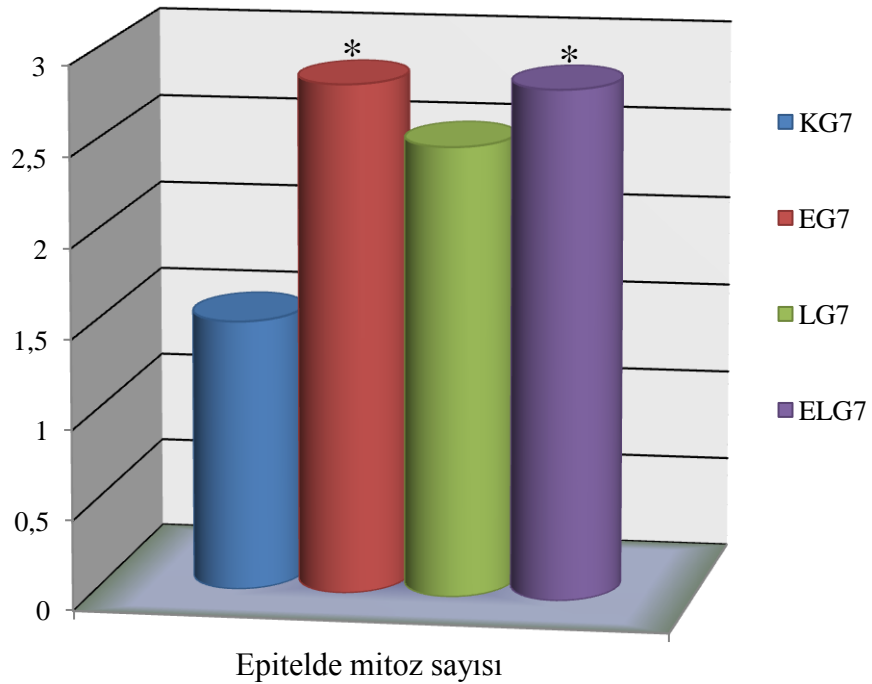
**Resim 9.** 7. gün gruplarına ait makroskopik görüntüler (A, Kontrol grubu 7. gün; B, ÜÇE grubu 7. gün; C, DDLT grubu 7. gün; D, ÜÇE + DDLT grubu 7. gün, Ok; mukozal defekt bölgesi)

7. günde KG7, EG7, LG7 ve ELG7 grupları arasında epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre sayısı, fibroblast sayısı ve kollajen lif ilgili ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 12 ve Şekil 16-20 ile gösterilmiştir.

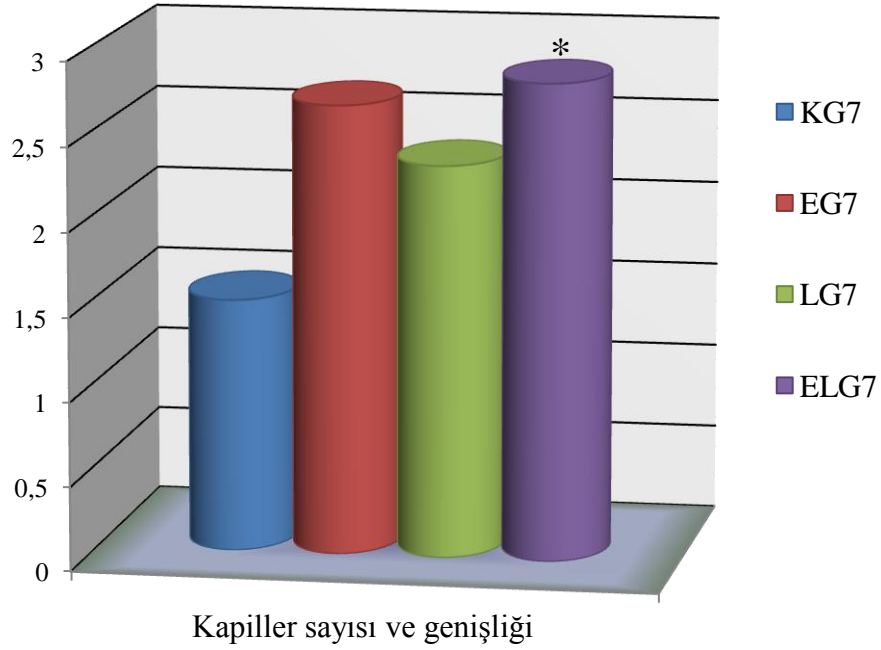
Epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif ile ilgili iyileşme düzeylerinin KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarında birbirlerine göre istatistiksel farklılığı Tablo 13'te gösterilmiştir.

**Tablo 12.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri

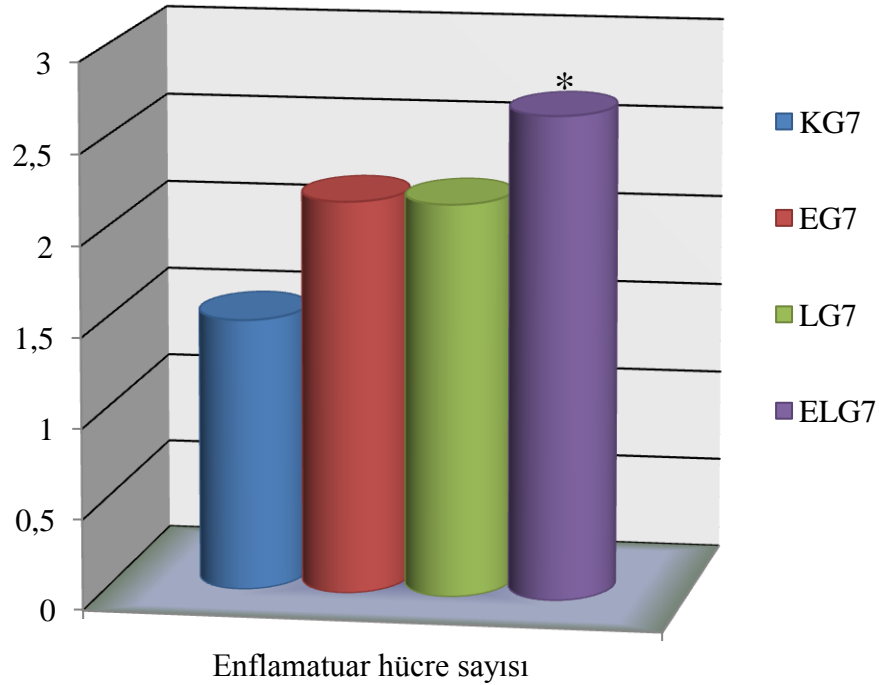
Değişkenler	Ortalama değer ± Standart sapma			
	KG7 (n=6)	EG7 (n=6)	LG7 (n=6)	ELG7 (n=6)
Epitelde mitoz sayısı	1,50±0,548	2,83±0,408	2,50±0,548	2,83±0,408
Kapiller sayısı ve genişliği	1,50±0,548	2,67±0,516	2,33±0,516	2,83±0,408
Enflamatuar hücre sayısı	1,50±0,548	2,17±0,408	2,17±0,408	2,67±0,516
Fibroblast sayısı	1,67±0,516	2,67±0,516	2,33±0,516	2,67±0,516
Kollajen lif	1,50±0,548	3,00±0,000	2,33±0,516	2,50±0,548



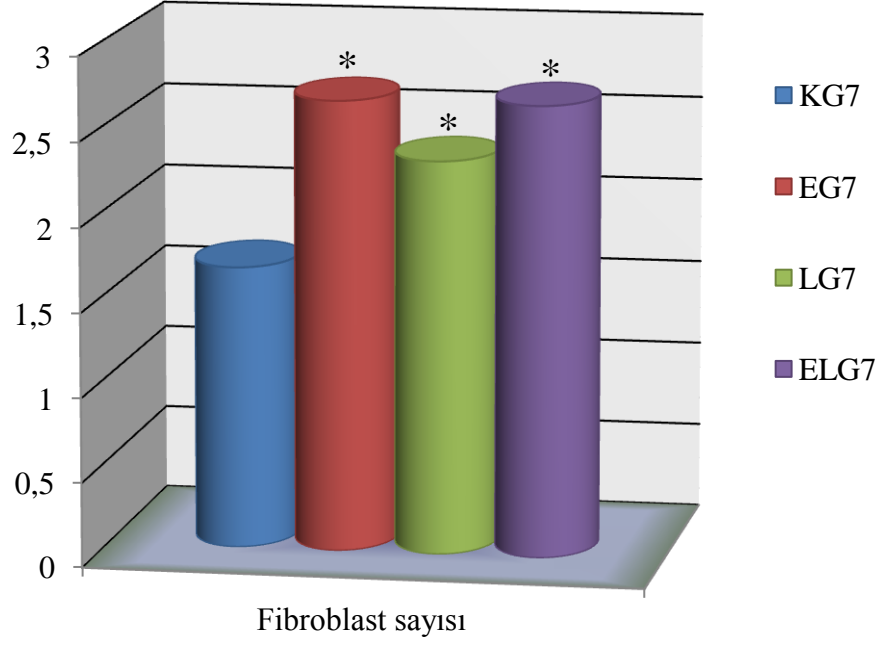
**Şekil 16.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren epitelde mitoz sayısı grafiği (\* p<0.05).



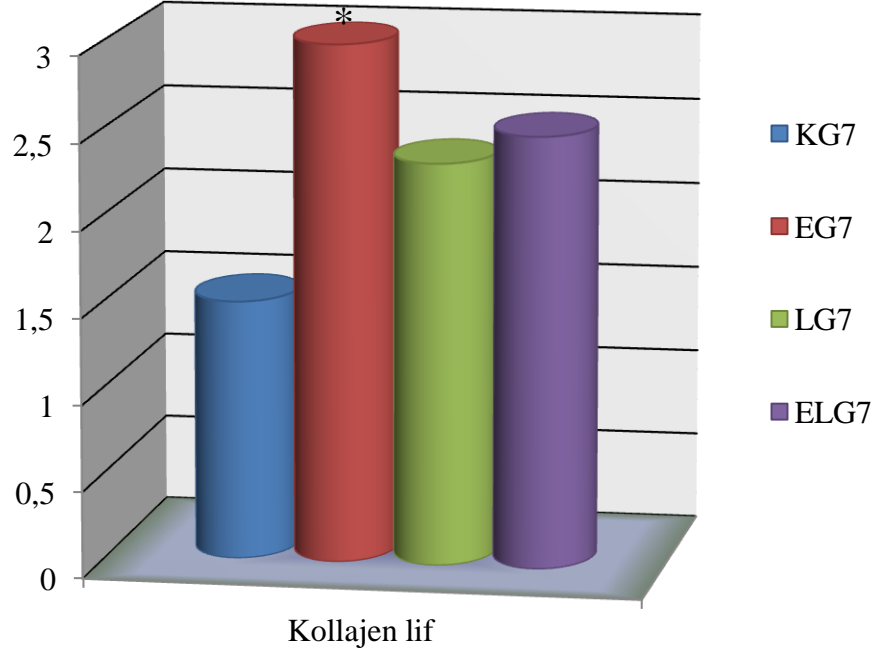
**Şekil 17.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kapiller sayısı ve genişliği grafiği (\* $p<0.05$ ).



**Şekil 18.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren enflamatuar hücre sayısı grafiği (\* $p<0.05$ ).



**Şekil 19.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren fibroblast sayısı grafiği (\*  $p < 0.05$ ).



**Şekil 20.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kollajen lif grafiği (\*  $p < 0.05$ ).



**Tablo 13.** KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılması

<b>Değişkenler Medyan [%25-%75]</b>	<b>KG7 (n=6)</b>	<b>EG7 (n=6)</b>	<b>LG7 (n=6)</b>	<b>ELG7 (n=6)</b>
<b>Epitelde mitoz sayısı</b>	1,50[1-2]	3[2,75-3] <sup>*</sup>	2,50[2-3]	3[2,75-3] <sup>*</sup>
<b>Kapiller (sayı ve genişlik)</b>	1,50[1-2]	3[2-3]	2[2-3]	3[2,75-3] <sup>*</sup>
<b>Enflamatuar hücre</b>	1,50[1-2]	2[2-2,25]	2[2-2,25]	3[2-3] <sup>*</sup>
<b>Fibroblast sayısı</b>	2[1-2]	3[2-3] <sup>*</sup>	2[2-3] <sup>*</sup>	3[2-3] <sup>*</sup>
<b>Kollajen lifler</b>	2[1-2]	3[3-3] <sup>*</sup>	2[2-3]	2,50[2-3]

p<0.05

\*KG7 ile diğer 7. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

†EG7 ile diğer 7. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

‡LG7 ile diğer 7. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

§ELG7 ile diğer 7. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

Dunn testi sonuçlarına göre;

- Epitelde mitoz sayısı; KG7'ye göre EG7 (p=0.029) ve ELG7 (p=0.029) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur.

- Kapiller sayı ve genişlik; KG7 ile kıyaslandığında diğer 7. gün çalışma gruplarından daha yüksek görülmüş olmasına rağmen ELG7'de KG7'ye göre kapiller sayı ve genişlikte istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.019).

- Enflamatuar hücre; EG7 ve LG7'de KG7'ye göre fazla ELG7'ye göre daha düşük iken sadece ELG7 grubu KG7 ile kıyaslandığında enflamasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.029).

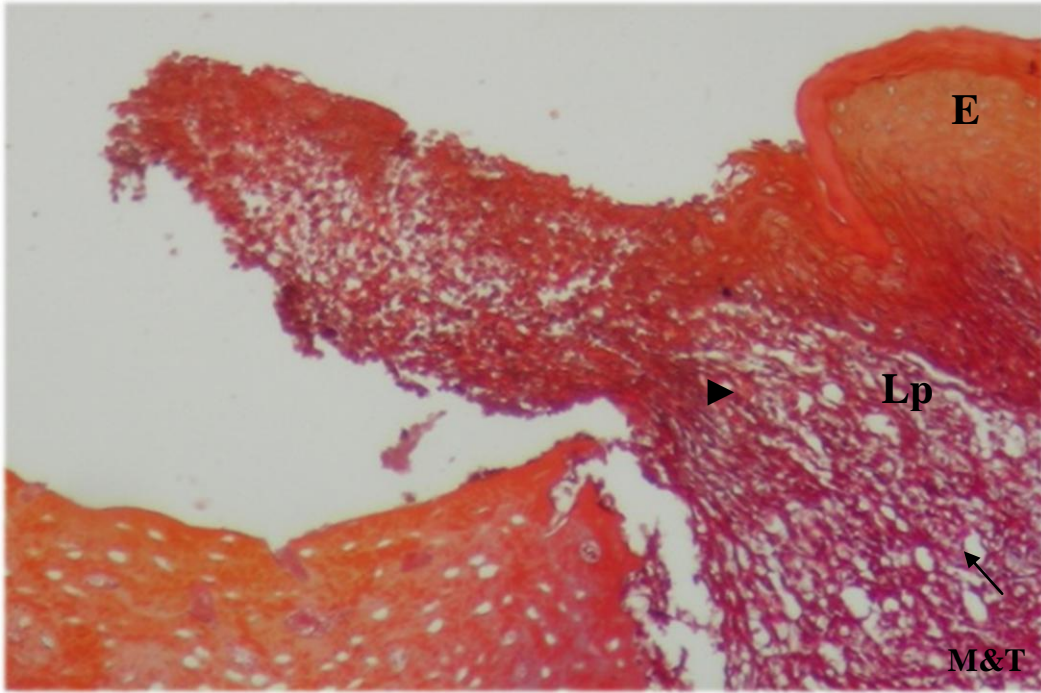
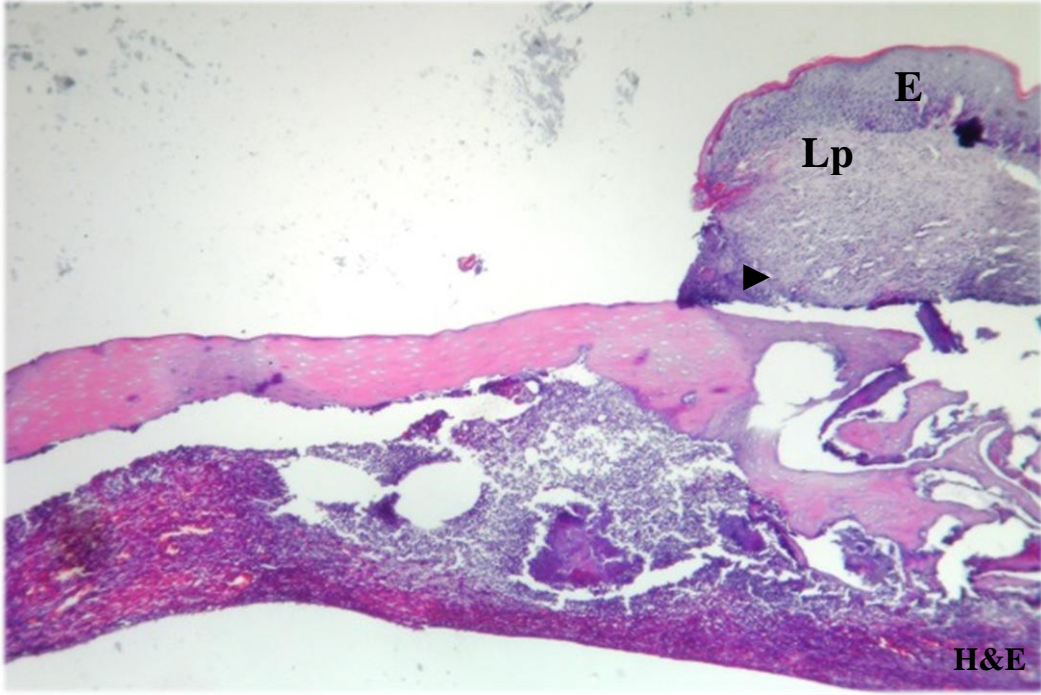
- Kollajen lifler; lazerin dahil olduğu gruplarda (LG7 ve ELG7) kollajen liflerin EG7'ye göre daha düşük kontrole göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sadece EG7'nin KG7 ile karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur (p=0.007).

LSD testi sonucuna göre;

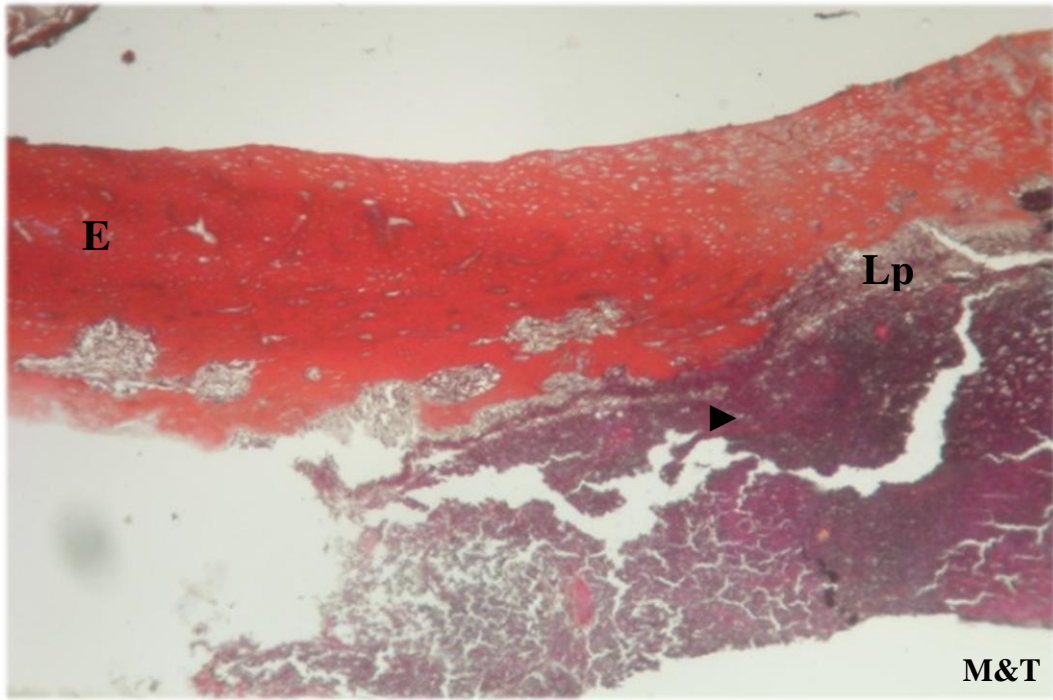
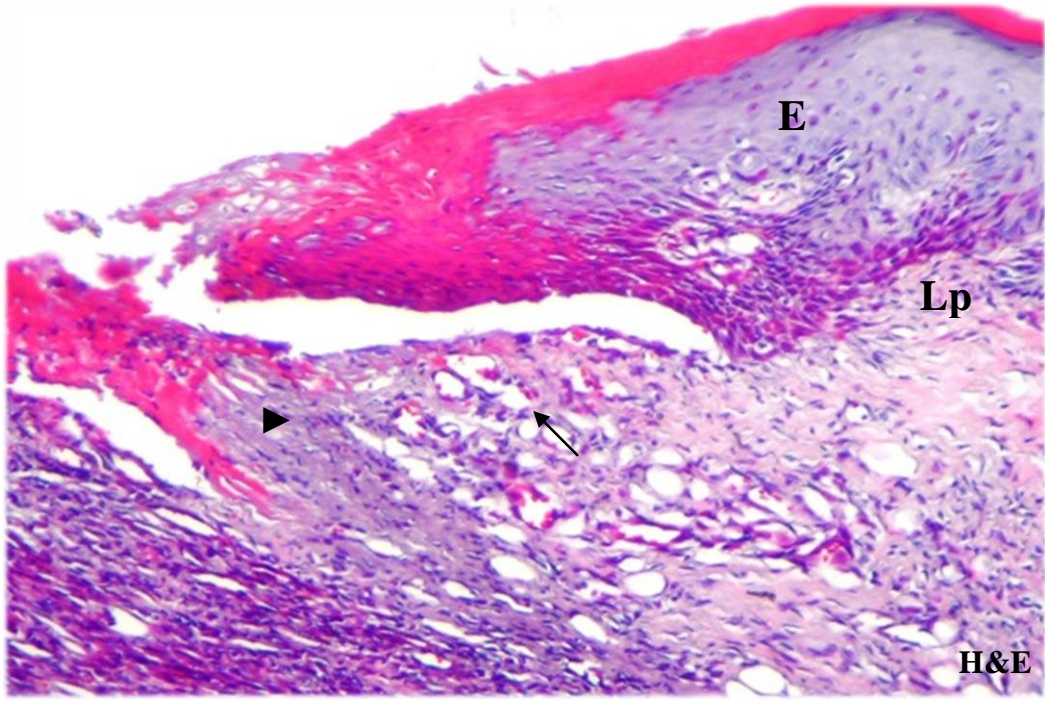
- Fibroblast sayısı; tüm gruplar birbirleriyle kıyaslanınca KG7'ye göre EG7, LG7 ve ELG7 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p=0.003$ ,  $p=0.037$ ,  $p=0.003$ ).

#### **4.3.2.2. Histolojik bulgular**

7. günde kurban edilen KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının Hematoksilen-eozin ve Masson trikrom boyamaları ile ışık mikroskopunda yapılan histolojik değerlendirmesinde ÜÇE+DDLT grubunda histolojik aktivitenin en yüksek olduğu görüldü. Enflamatuar hücre infiltrasyonu 4. güne göre ÜÇE grubunda daha düşük gözlemlendi. Kollajen liflerin ÜÇE grubunda daha düzenli seyrettiği tespit edildi. KG7, EG7, LG7 ve ELG7 gruplarının H&E ve M&T ile boyanmış palatinal mukozaya ait histolojik kesitleri Resim 10-13'te gösterilmiştir.

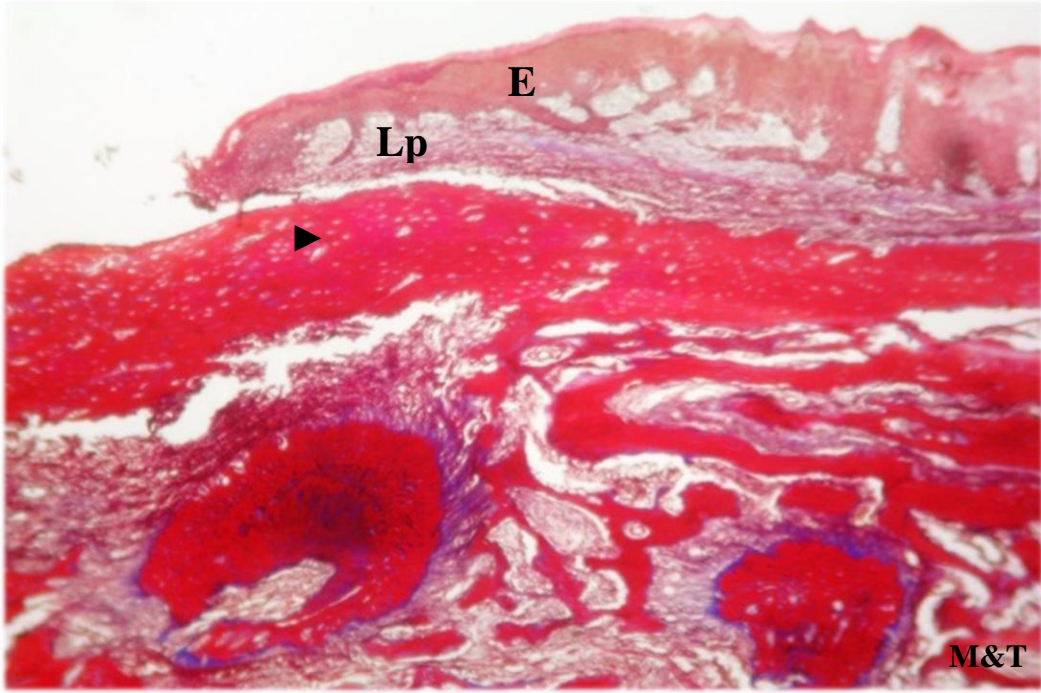
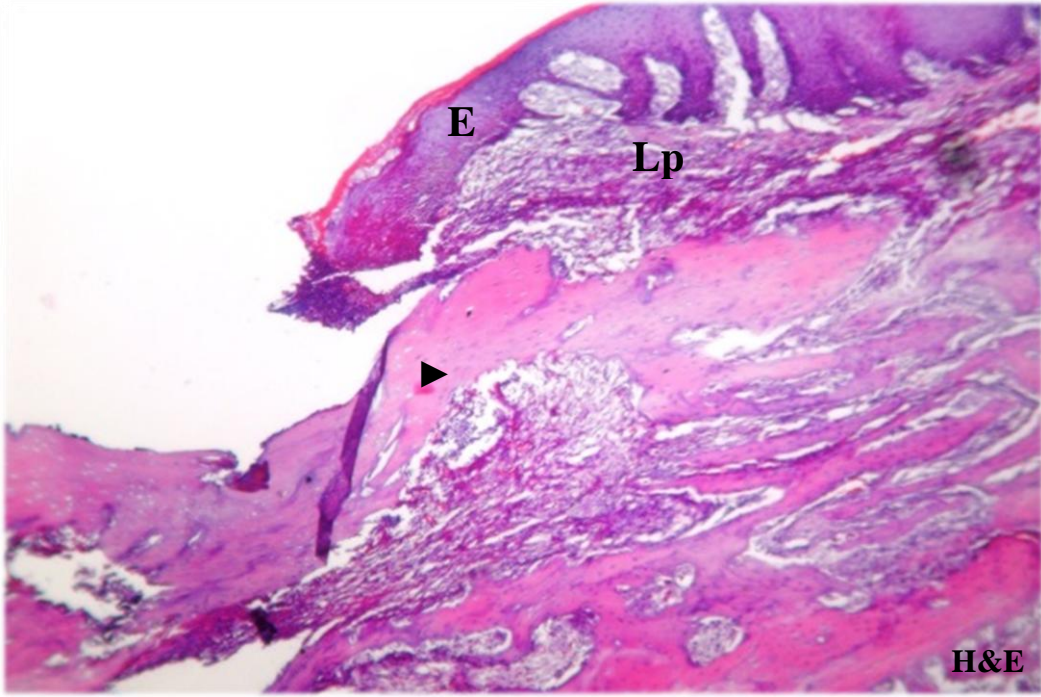


**Resim 10.** Kontrol 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)

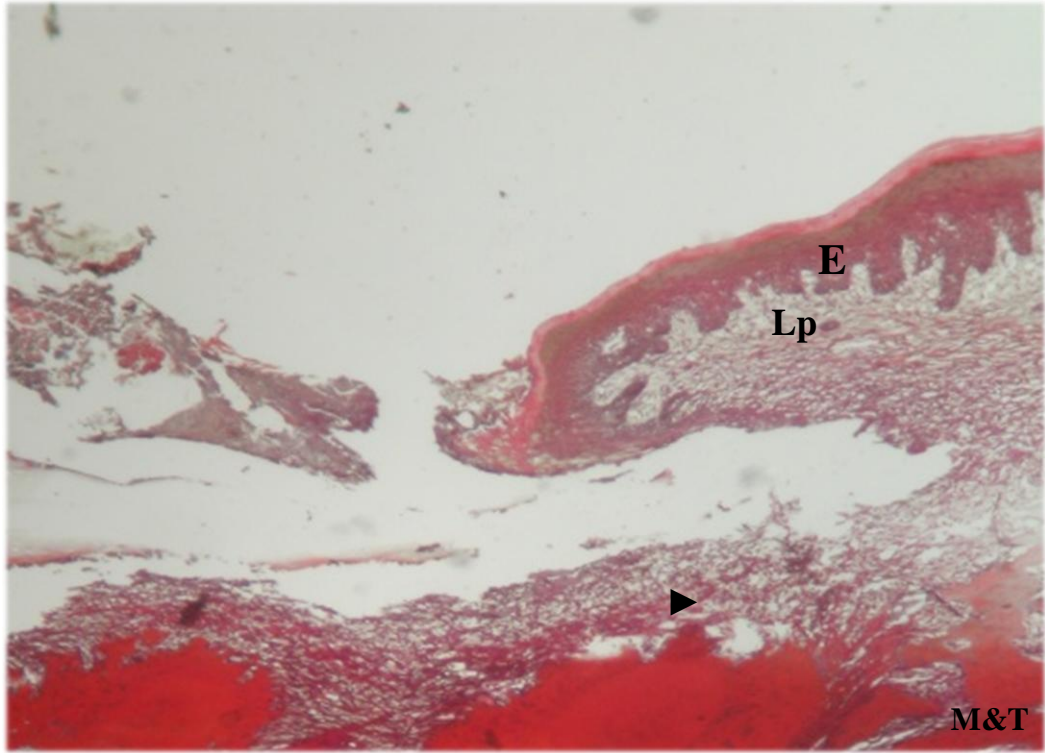
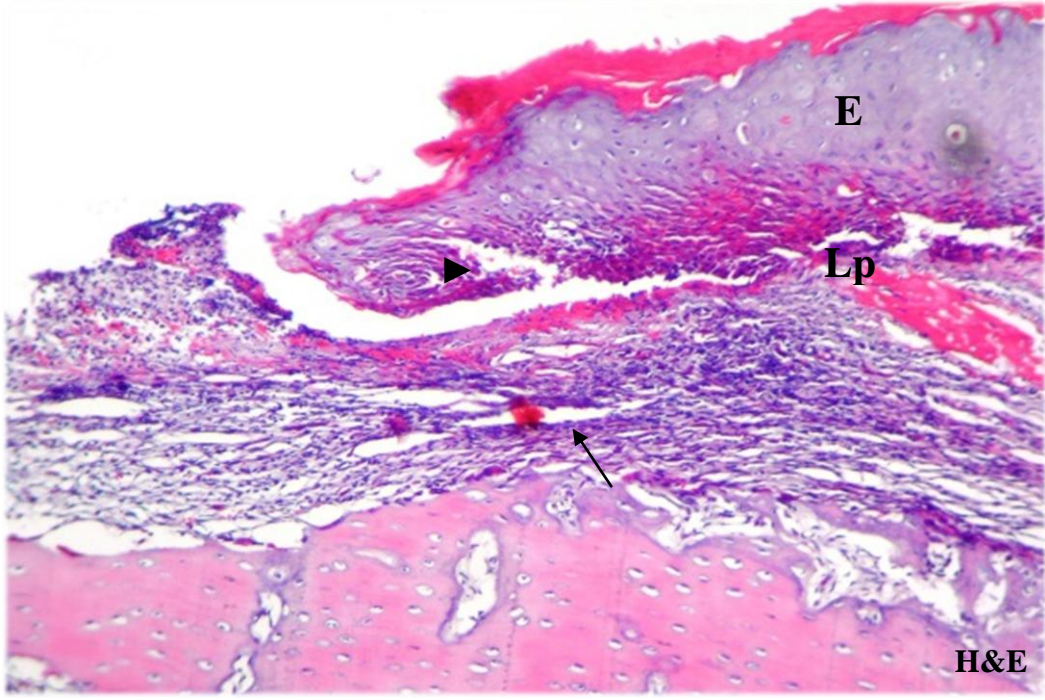


**Resim 11.** ÜÇE grubu 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)





**Resim 12.** DDLT grubu 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*;Hematoksilen eozin, *M&T*;Masson Trikrom x200)



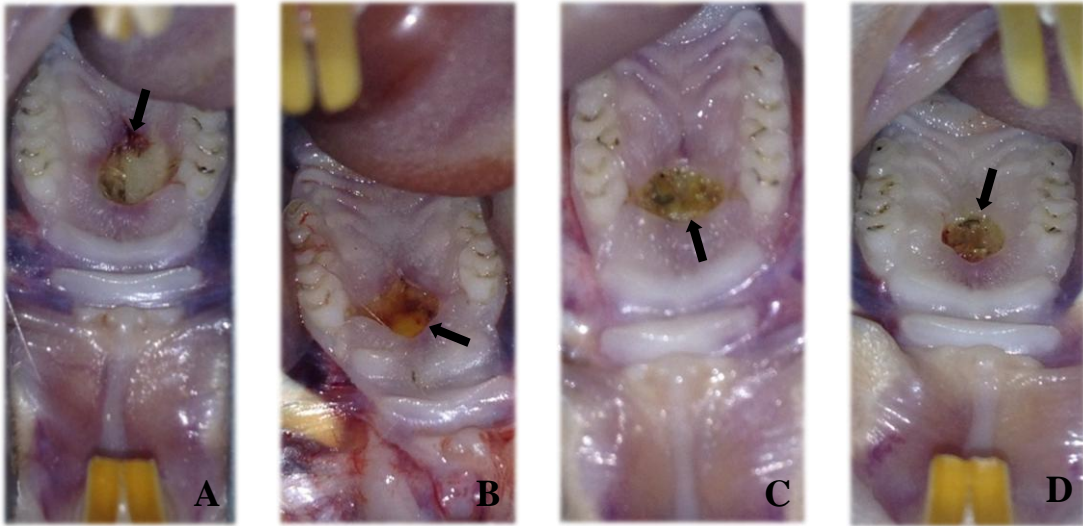
**Resim 13.** ÜÇE+DDLT grubu 7. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)



### 4.3.3. 14. gün grupları

#### 4.3.3.1. Makroskopik bulgular

14. gün grupları klinik olarak değerlendirildiğinde yaranın enflamasyonuna, ödeme ve yaranın kapanma potansiyeline bakılmıştır. KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının hiçbirinde 4. ve 7. gün gruplarında olduğu gibi yarada enfeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır. EG14 ve LG14 gruplarının her birinden birer denek anesteziye bağlı komplikasyonlar nedeniyle sonraki günlerde kaybedilmiştir. Yara iyileşmesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında EG4 ve EGL4 gruplarında yara kenarlarının defektin ortasına doğru daha hızlı geldiği ve tabanında mukozanın olgunlaşmaya başladığı görülmüştür. 14. gün gruplarının klinik iyileşmeleri Resim 14'te sunulmuştur.



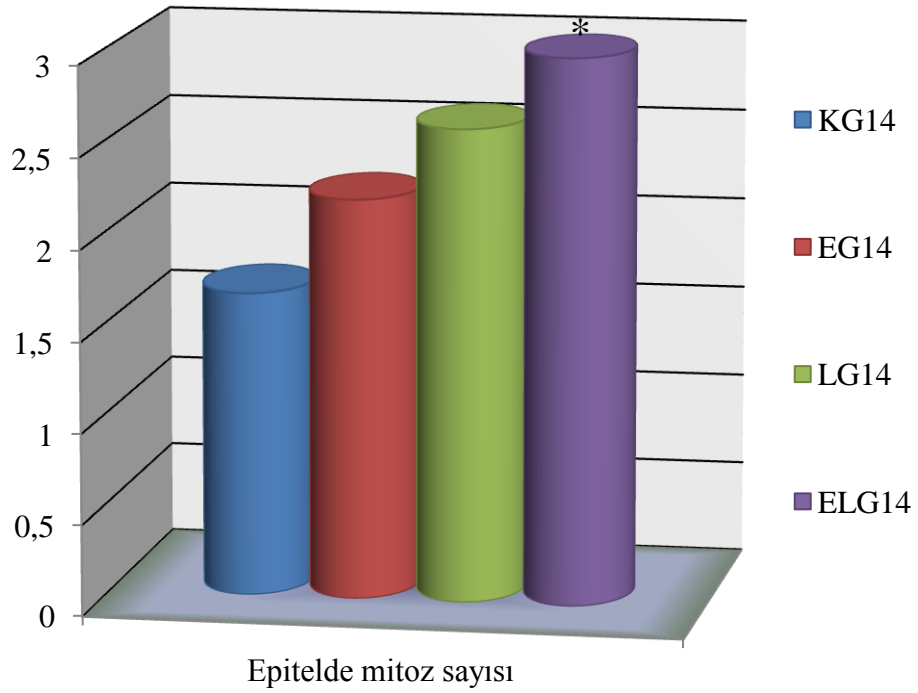
**Resim 14.** 14. gün gruplarına ait makroskopik görüntüler (*A*, Kontrol grubu 14. gün; *B*, Ekstre grubu 14. gün; *C*, Lazer grubu 14. gün; *D*, Ekstre + lazer 14. gün, Ok; mukozal defekt bölgesi)

14. günde KG14, EG14, LG14 ve ELG14 grupları arasında epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre sayısı, fibroblast sayısı ve kollajen lifler ilgili ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 14 ve Şekil 21-25 ile gösterilmiştir.

Epitelde mitoz sayısı, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif ile ilgili iyileşme düzeylerinin KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarında birbirlerine göre istatistiksel farklılığı Tablo 15'te gösterilmiştir.

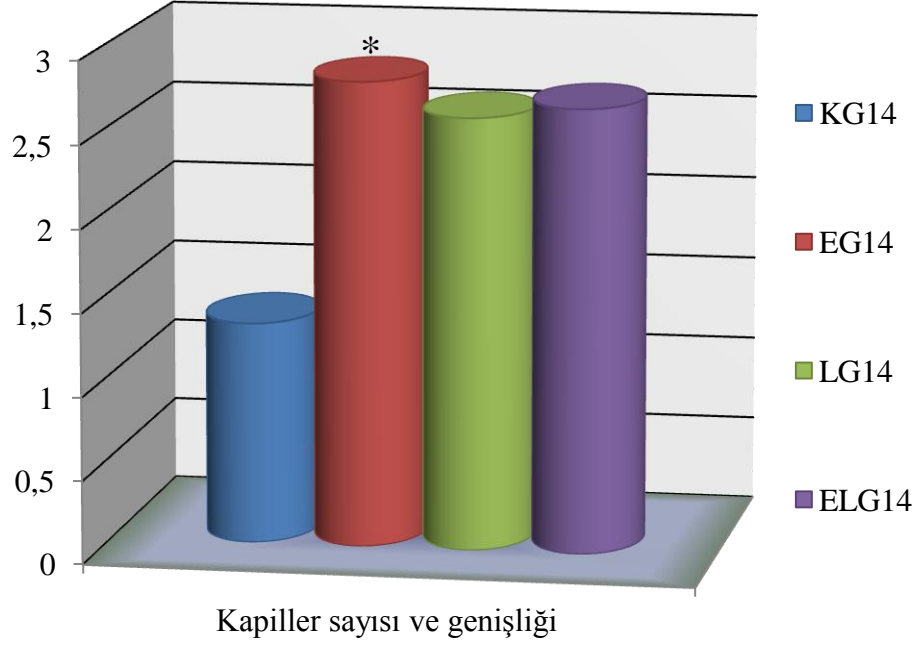
**Tablo 14.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri

Değişkenler	Ortalama değer ± Standart sapma			
	KG14 (n=6)	EG14 (n=5)	LG14 (n=5)	ELG14 (n=6)
Epitelde mitoz sayısı	1,67±0,515	2,20±0,447	2,60±0,548	3,00±0,000
Kapiller sayısı ve genişliği	1,33±0,516	2,80±0,447	2,60±0,548	2,67±0,516
Enflamatuar hücre sayısı	1,50±0,548	2,00±0,000	2,60±0,548	2,50±0,548
Fibroblast sayısı	1,67±0,516	3,00±0,000	2,60±0,548	2,83±0,408
Kollajen lifler	1,83±0,408	3,00±0,000	2,80±0,447	3,00±0,000

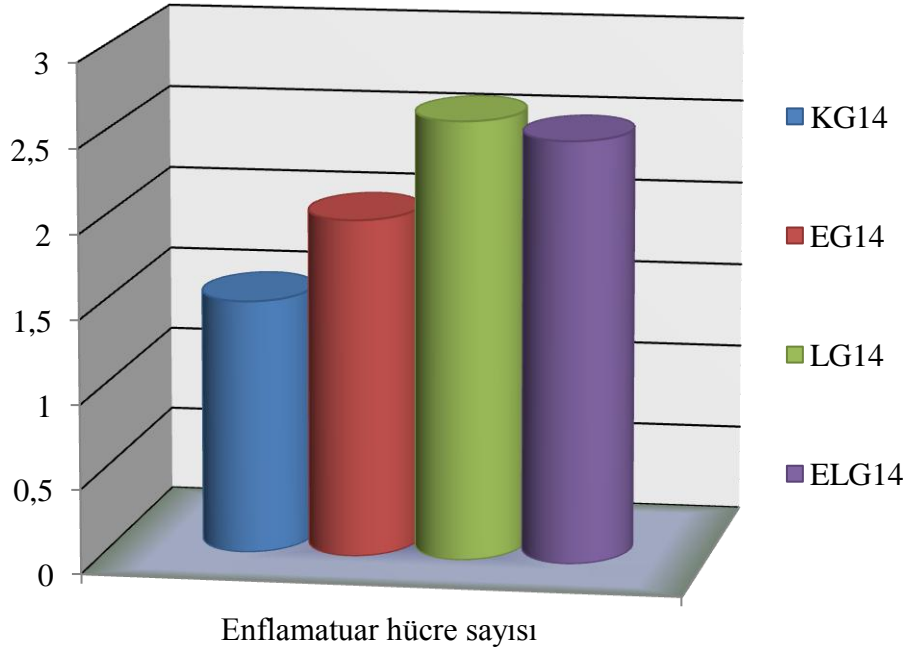


**Şekil 21.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren epitelde mitoz sayısı grafiği (\* p<0.05).

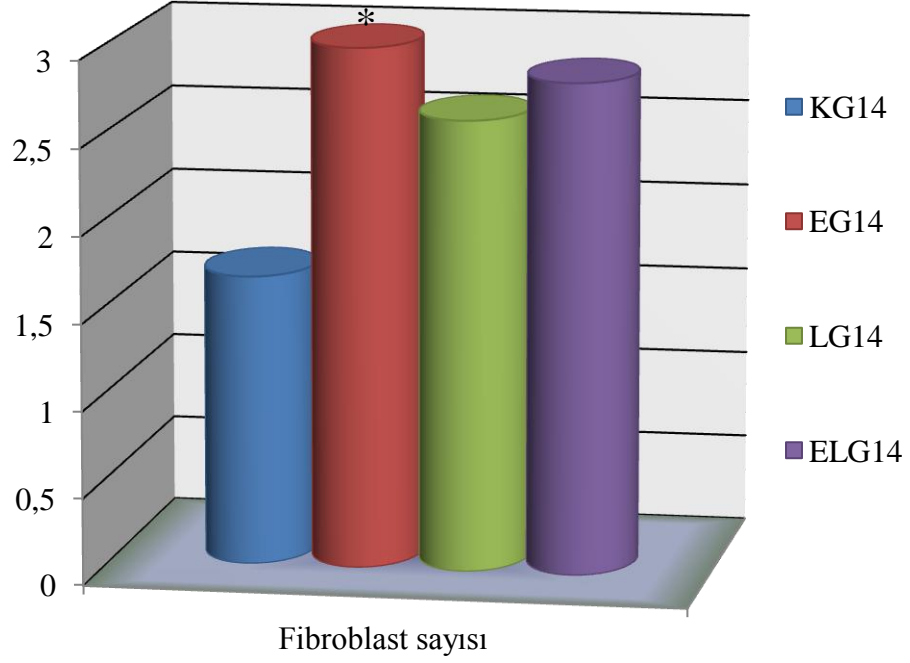




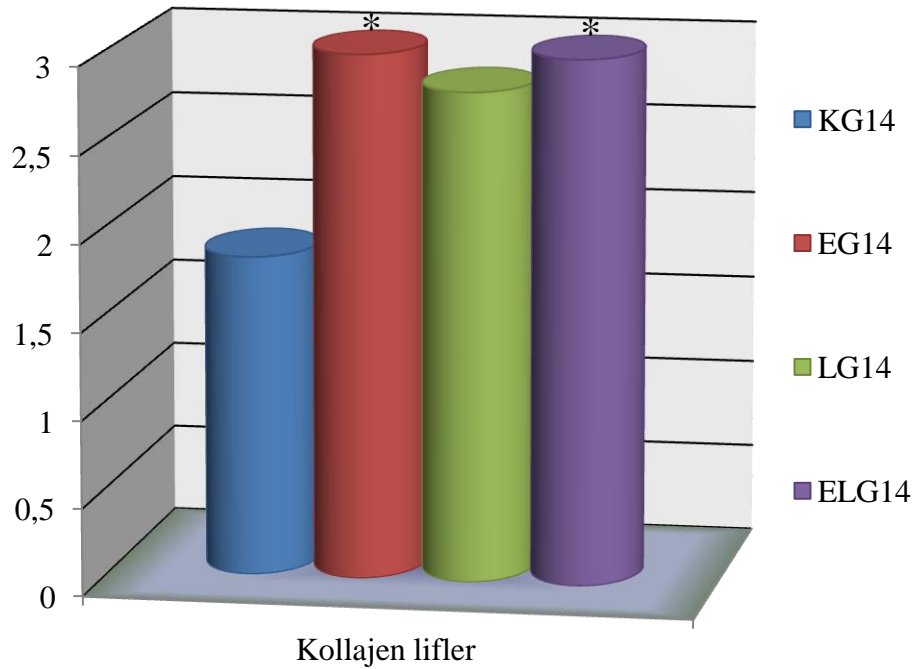
**Şekil 22.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kapiller sayısı ve genişliği grafiği (\*  $p < 0.05$ ).



**Şekil 23.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren enflamatuar hücre sayısı grafiği



**Şekil 24.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren fibroblast sayısı grafiği (\*  $p < 0.05$ ).



**Şekil 25.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarına ait ortalama değeri gösteren kollajen lif grafiği (\*  $p < 0.05$ ).

**Tablo 15.** KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının epitelde mitoz sayısı, kapiller sayı ve genişlik, enflamatuar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif değişkenleri bakımından birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılması

<b>Değişkenler Medyan [%25-%75]</b>	<b>KG14 (n=6)</b>	<b>EG14 (n=5)</b>	<b>LG14 (n=5)</b>	<b>ELG14 (n=6)</b>
<b>Epitelde mitoz sayısı</b>	2[1-2]	2[2-2,50]	3[2-3]	3[3-3] <sup>*</sup>
<b>Kapiller (sayı ve genişlik)</b>	1[1-2]	3[2,50-3] <sup>*</sup>	3[2-3]	3[2-3]
<b>Enflamatuar hücre</b>	1,50[1-2]	2[2-2]	3[2-3]	2,50[2-3]
<b>Fibroblast sayısı</b>	2[1-2]	3[3-3] <sup>*</sup>	3[2-3]	3[2,75-3]
<b>Kollajen lifler</b>	2[1,75-2]	3[3-3] <sup>*</sup>	3[2,50-3]	3[3-3] <sup>*</sup>

p<0.05

<sup>\*</sup>KG14 ile diğer 14. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

<sup>†</sup>EG14 ile diğer 14. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

<sup>‡</sup>LG14 ile diğer 14. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

<sup>§</sup>ELG14 ile diğer 14. gün grupları karşılaştırıldığında p<0.05

Dunn testi sonuçlarına göre;

- Epitelde mitoz sayısı; KG14'e göre EG14, LG14 ve ELG14 gruplarında yüksek bulunurken, sadece ELG14'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.008).

- Kapiller sayı ve genişlik; EG14'de KG14'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.034). LG14 ve ELG14 gruplarında da, kontrol grubu kapiller sayısında ve genişliğinde göre artış gözlemlendiği fakat bunun istatistiksel bir ifade taşımadığı görülmüştür.

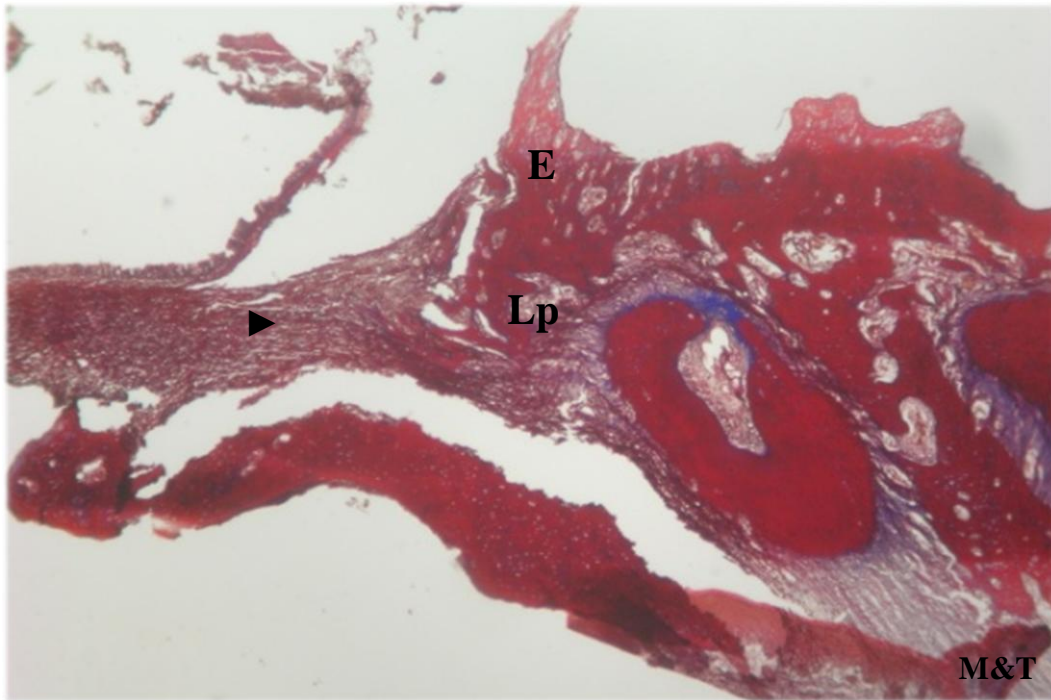
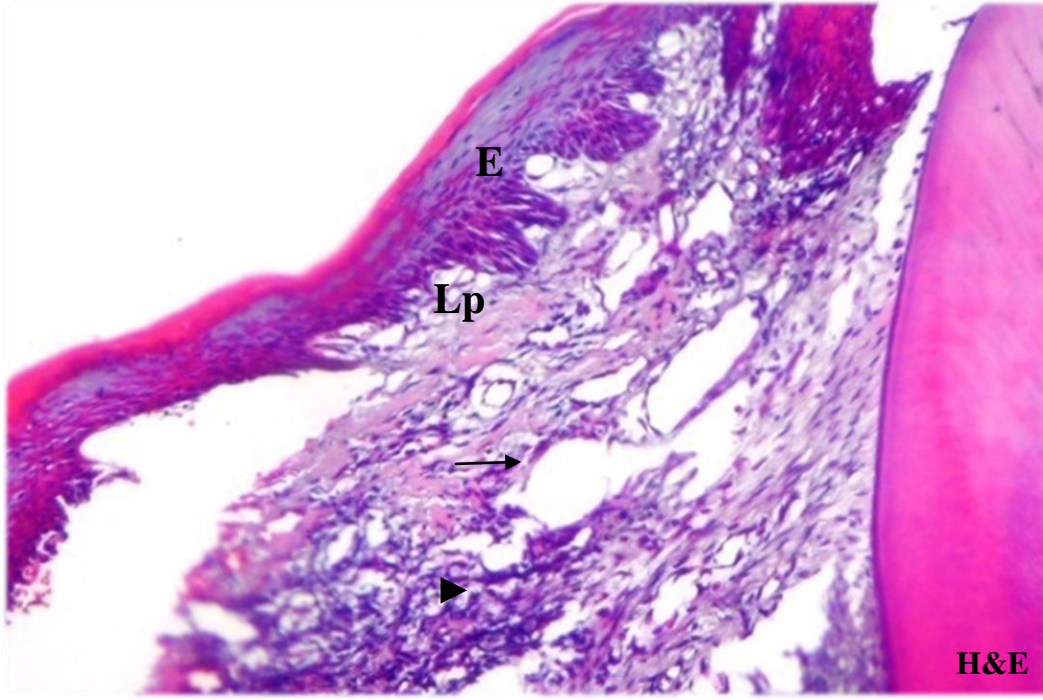
- Enflamatuar hücre sayısı; KG14, EG14, LG14 ve ELG14 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

- Fibroblast sayısı; KG14'ye göre EG14, LG14 ve ELG14 gruplarında daha yüksek olmasına rağmen sadece EG14'de kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (p=0.020).

- Kollajen lifler; KG14'ye göre EG14, LG14 ve ELG14 gruplarında daha yüksek olmasına rağmen sadece kontrole göre EG14 ve ELG14'de istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p=0.028$ ,  $p=0.018$ ).

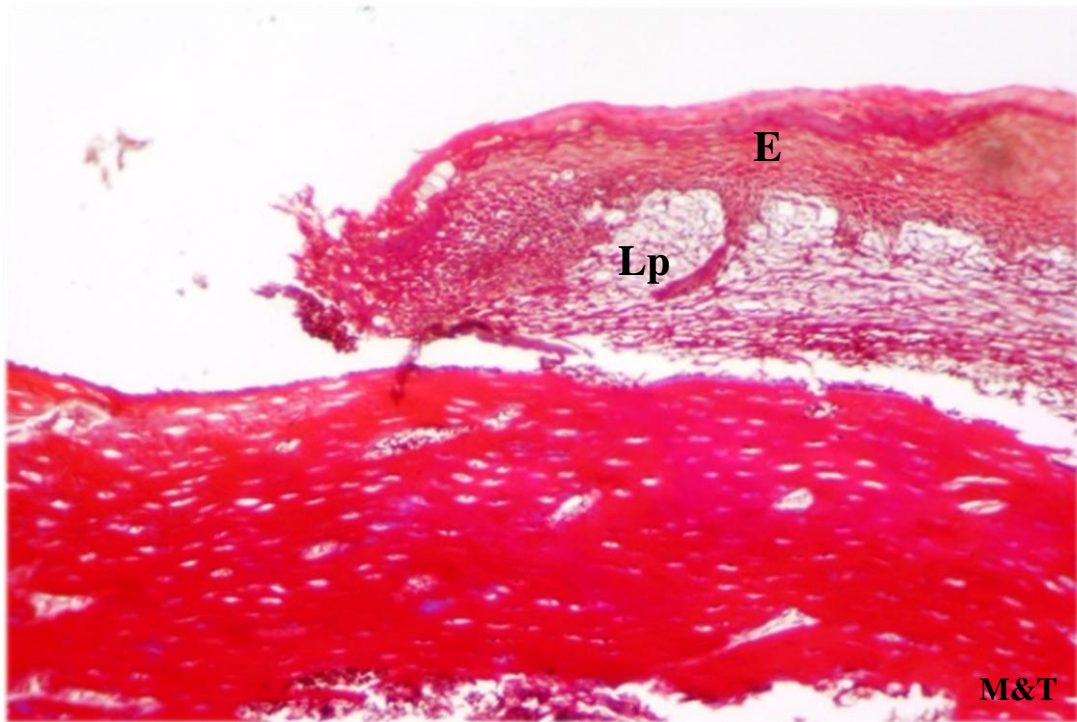
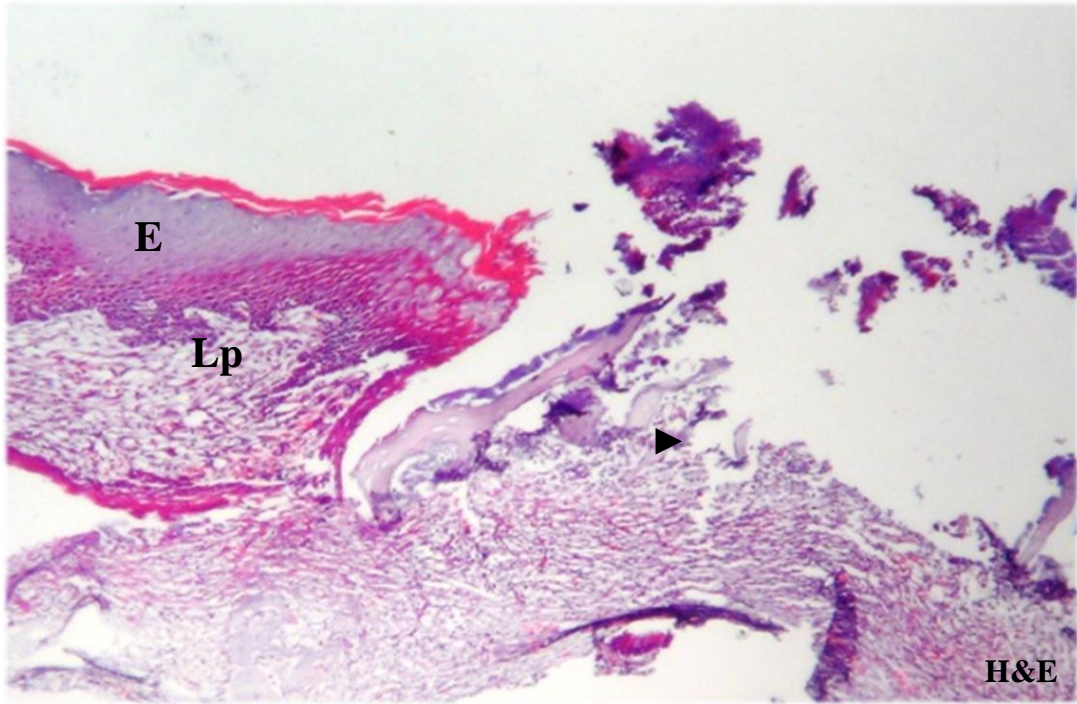
#### **4.3.3.2. Histolojik bulgular**

14. günde sakrifiye edilen KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının Hematoksilen-eozin ve Masson trikrom boyamaları ile ışık mikroskopunda histolojik ve histomorfometrik değerlendirmesi yapıldı. Çalışma gruplarının hepsinde kontrol grubuna göre defekt kenarında epitelin mitotik aktivitesinin yüksek olduğu ve reepitelizasyonun devam ederek defektin ortasına doğru epitelin göç ettiği ve defekt tabanında epitelin olgunlaşmaya başladığı görüldü. Vaskülarizasyon açısından ele alındığında EG14'de kapiller damar oluşumu daha fazla izlendi. Enflamasyonun şiddetinin tüm gruplarda azaldığı görüldü. Mukoza epiteli altında gözlenen fibroblast proliferasyonunun ve kollajen liflerin ELG14'de çevre sağlam dokuyla benzer özellikler göstererek daha düzenli yapı göstererek EG14 ve LG14 gruplarından daha iyi olduğu izlendi. KG14, EG14, LG14 ve ELG14 gruplarının H&E ve M&T ile boyanmış palatinal mukozaya ait histolojik kesitleri Resim 15-18'de gösterilmiştir.

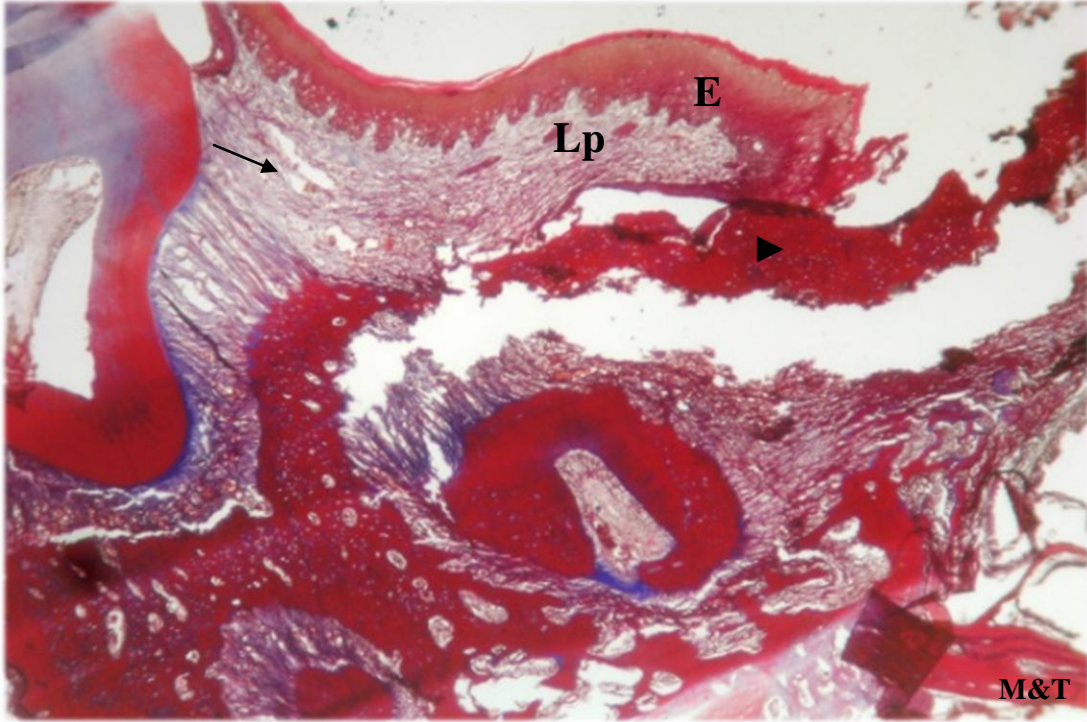
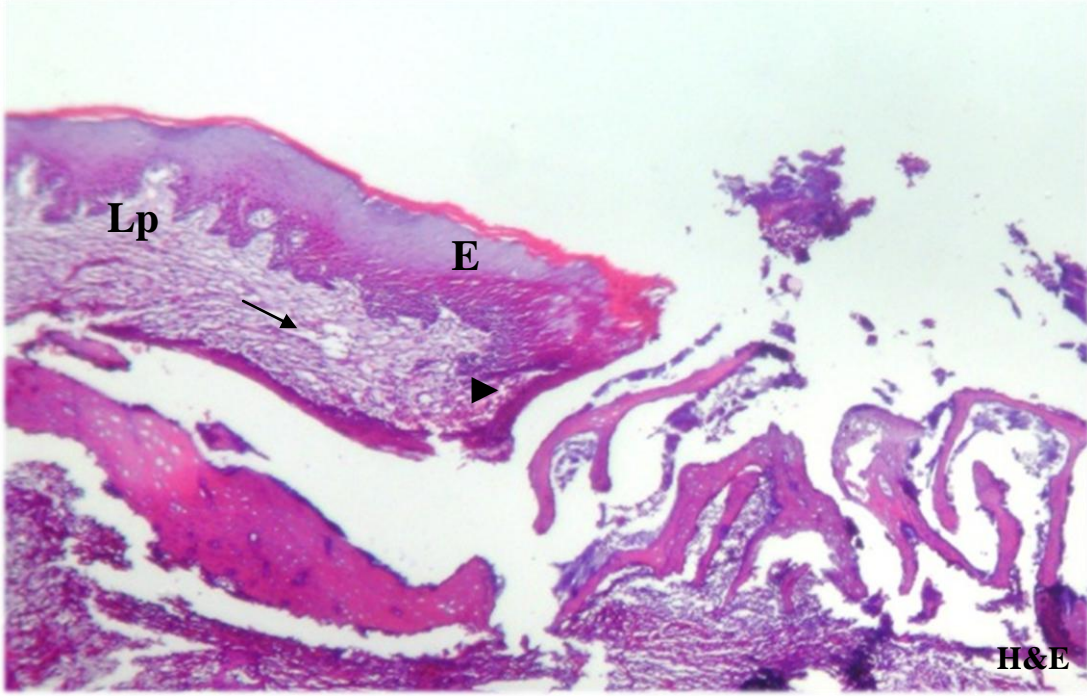


**Resim 15.** Kontrol 14. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)



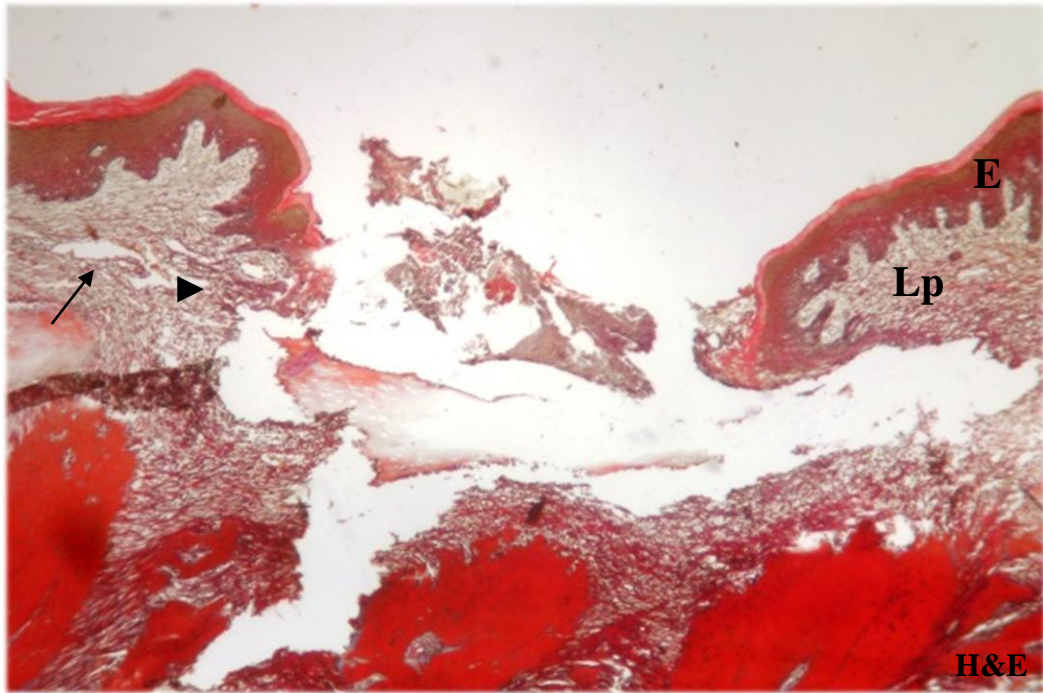
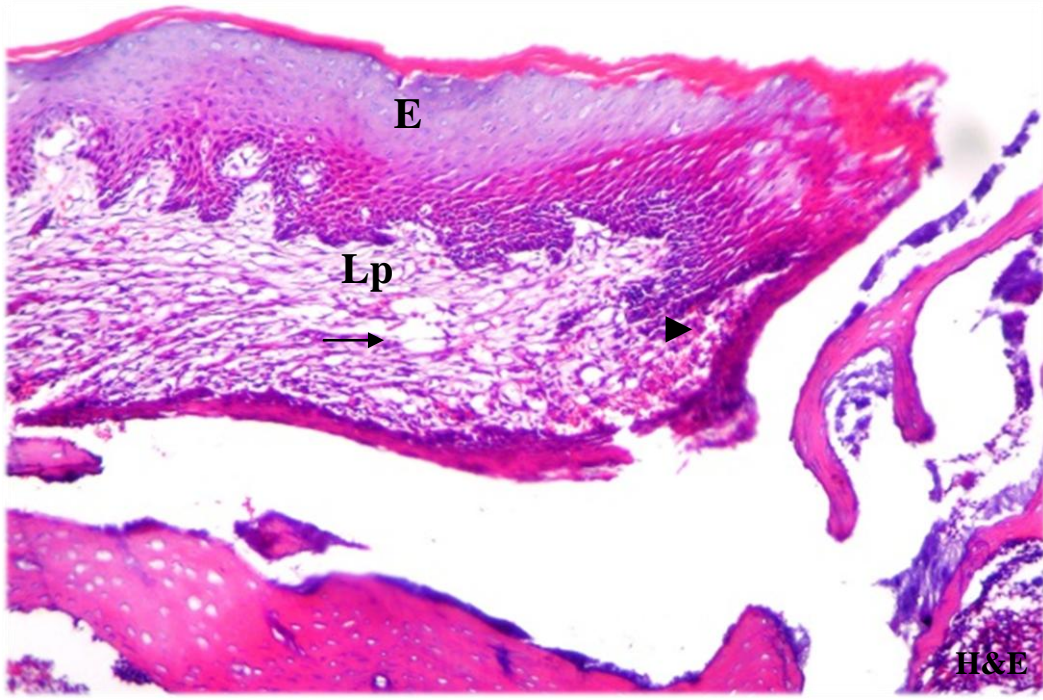


**Resim 16.** ÜÇE 14. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, E:Epitel, Lp:Lamina propria, H&E:Hematoksilen eozin, M&T:Masson Trikrom x200)



**Resim 17.** DDLT 14. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)





**Resim 18.** ÜÇE+DDLT 14. gün palatinal mukoza epiteli (Ok:kapiller, ok başı:enflamatuvar alan, *E*:Epitel, *Lp*:Lamina propria, *H&E*:Hematoksilen eozin, *M&T*:Masson Trikrom x200)



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamızda, DDLT'nin, proantosiyanidinlerden zengin ÜÇE'nin ve bunların her ikisinin kullanımının; ratların palatinal bölgelerinde oluşturulan tam kalınlık yara modelinde sekonder iyileşme süreci üzerine etkileri incelenmiştir. 4., 7. ve 14. günlerde palatinal defekt bölgelerinden alınan dokular ile intrakardiyak kanlardan elde edilen serum örnekleri histolojik, histomorfometrik ve biyokimyasal olarak çalışma ve deney grupları ile karşılaştırılmıştır. Literatürde, DDLT'nin farklı dozları ile ilgili birçok çalışma rapor edilmesine karşın, ÜÇE'nin ve özellikle kombine kullanımının nasıl bir etki yaptığına dair yeterli bilgi bulunmadığından, çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçların yara iyileşmesi açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Canlılar, yaşamları boyunca pek çok çeşit travmaya maruz kalmaktadırlar. Bunun sonucunda organizmada, dokunun kaybı veya bütünlüğünün bozulması gibi geçici ya da daimi olarak canlının birtakım fizyolojik özellikleri kaybolmaktadır. Cerrahi girişimler sonucunda yumuşak ve sert dokunun iyileşmesini, hastanın genel sağlık durumunun ve yara bölgesinin lokal kanlanabilme özelliğini etkilemesi yanında, iyileşmeyi hızlandıran veya yavaşlatan çok sayıda ekzojen faktör bulunmaktadır. Bu etkenlerin yanında, cerrahi bir müdahalenin başarısı iyileşmenin sorunsuz olarak tamamlanmasıyla ölçülür. Bu anlamda yara iyileşmesi fizyolojisi, tek bir organ sistemine bağlı olmayan, farklı hücresel ve hücre dışı etkenlerin birleşmesiyle oluşan bir süreçtir (12,15). Bu sebeple iyileşmenin fizyolojik mekanizmasının bilimsel olarak anlaşılabilmesi amacıyla bir yara modelinin oluşturulma ihtiyacı doğmaktadır. Bunu da en iyi tanımlayabilecek model, insan yara iyileşmesi modelidir. Fakat genetik ve çevresel etmenler, laboratuvar yöntemleri ve sıkı etik kontroller nedeniyle yara iyileşmesinde insan modelinin kullanılmasında güçlükler vardır. Bu amaçla insan modeline benzer fizyolojik özellikler göstermesi sebebiyle araştırmacılar farklı deney hayvanları üzerinde inceleme yapmaktadırlar (174).

Deneysel hayvan modelleri oluşturulurken rat, tavşan, fare gibi kemirgen hayvanlar sıklıkla tercih edilmektedir. Yapılan literatür taramalarında da yara iyileşmesi ve lazerin iyileşmeye katkısının incelendiği çalışmalarda genellikle kemirgen hayvanların, en çok da sıçanların tercih edildiği görülmektedir. Pek çok araştırmacı da, deney modeli olarak

ratların oral dokularını kullanmışlardır (175-178). Ratların cilt yapısı insan cilt yapısından farklıdır. Bu farklılık ratlarda gevşek cilt dokusu, bağ dokusu fakirliği, derilerinde subkütan panniculus kasının bulunmasından dolayıdır. Açık yaralarda üretilen kollajenin büyük kısmının bu kastan kaynaklandığı ileri sürülmektedir. İnsanda kollajen üretiminde rol oynayan askorbik asit besin yoluyla karşılanabilirken, ratlar ise bunu kendileri sentezleyebilmektedirler (179-181).

Çalışmamızda, dişi ratların menstural sikluslarına bağlı hormonal değişimlerin araştırmada yara iyileşmesini etkileyebileceği düşünülerek erkek ratlar tercih edilmiştir. Oluşturulan yara modelinin literatürde tanımlı olması, yeterli sayıda deney hayvanı temin edilebilmesi ve bakımının kolay olması, maliyet değişkenliğinin daha az olması, doku örneklerinin hazırlanmasındaki kolaylık ve cerrahi müdahalenin basit olması gibi nedenlerle rat tercih edilmiştir. Sekonder yara iyileşmesini incelediğimiz bu çalışmamızda yara modeli olarak rat palatinal dokusunda eksizyon ile oluşturulmuş punch yara modeli kullanılmıştır. (8,178,182,183).

Enflamatuar süreç eksizyonel yaralarda, insizyonel yaralardan daha dirençli olduğu için çalışmamızda eksizyonel yara modeli tercih edilmiştir. Ayrıca palatal yara iyileşmesi üzerine DDLT'nin etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma literatürde bulunmaktadır. Bu bölgedeki yaraların önemi, yara kenarlarının daha dens yapıda olmaları ve yara marjlerinin birbirine yaklaşması için daha uzun zaman gerekmesidir (178,184). Bu yüzden palatal yaraların iyileşmesinin hızlanması ağız cerrahisi uygulamalarında önem arz etmektedir.

Son yıllarda, yara iyileşmesini etkileyen faktörlerden birisi olarak bilinen serbest radikaller üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar, hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayan hücre hasarının, serbest radikallere bağlı olarak ortaya çıkabildiğini göstermiştir. Vücutta belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı vücudun kendi içinde bulunan doğal antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Diğer bir ifadeyle sağlıklı bir denge içindedir. Aynı zamanda, bu denge içerisinde oluşan SR'ler hücredeki pek çok biyokimyasal olayın düzenlenmesinde aktif rol oynarlar (2,20,185,186). Düşük seviyedeki SR hücrede patojenlere karşı savunma hattı oluşturmakla birlikte, hücre içi sinyalizasyon mediatörleri için gereklidir. SR'lerin yara iyileşme sürecindeki pozitif etkileri pek çok

çalışmada değerlendirilmiştir (98,186,187). Örneğin, yapılan bir çalışmada yara anjiogenesizinde düşük seviyedeki hidrojen peroksitin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (188).

SR'lerin hücre içindeki detoksifikasyonu pek çok endojen veya ekzojen kaynaklı antioksidanlar ile yapılmaktadır. Eğer SR'lerin detoksifikasyonu yetersiz olur veya aşırı SR üretimi meydana gelirse hücrede oksidatif stres meydana getirerek, bu durum ciddi hücre hasarına, erken yaşlanmaya hatta neoplastik transformasyona yol açarak kanserin gelişimine zemin hazırlamaktadır (189,190). Son yıllarda yara iyileşme sürecine olumlu katkılar yapabilecek birçok kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bunun yanında, biyostimülatif etkileri bilinen DDLT'nin de yara iyileşmesinde etkili rol oynadığı bilinmektedir (9,191).

Oksidatif stresin oluşturduğu yıkıcı etkileri azaltmak veya engellemek adına günümüzde eksojen kaynaklı antioksidanların taze meyve, sarı-yeşil sebze, yeşil çay, kuruyemişler, tohumlar ve ağaç kabuğunda bol miktarda bulunduğu belirtilmiştir. Bu antioksidanlardan flavonoidlerin spesifik bir grubu olan proantosiyanidinlerin özellikle üzüm çekirdeğinde bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. En önemli polifenollerden biri olarak proantosiyanidinler SR'lerin uzaklaştırılmasında özellikle hidrofilik peroksil radikallerini yakalamada etkilidir (117,122). Proantosiyanidinlerin insan sağlığı üzerinde antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antiviral, antikanserojenik olduğu bilinmekle birlikte kardiyovasküler sistem üzerinde trombozisi ve platelet agregasyonunu inhibe ettiği, iskemik perfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur (126). Yara iyileşmesindeki etkileri ise henüz insan çalışmalarında gösterilmiş olmamasına rağmen pek çok hayvan modelinde iyileşmeyi hızlandırdıkları görülmüştür (136).

Günümüzde yapılan araştırmalar göstermiştir ki, vücudun antioksidan seviyesi diyetten büyük oranda etkilenmektedir. Üzüm çekirdeğinden elde edilen proantosiyanidinler günlük diyetle antioksidan destek olarak alınmaktadır. Bugüne kadar yapılan in vivo çalışmalarda ise proantosiyanidinlerin herhangi bir yan etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Uzun yıllardır Amerika ve Avrupa kullanılan bir besin takviyesidir ve FDA tarafından 'genel olarak güvenli kabul edilen' besin statüsünde yer almaktadır. Tavsiye edilen

ÜÇE'nin dozu günlük 100 ila 300 mg arasında değişmektedir. Hamilelerin ve emziren annelerin ÜÇE kullanmaması önerilmektedir (192).

Proantosiyanidinlerin akut ve kronik toksitesi üzerine literatürde yapılmış çalışmalar mevcuttur. Yamakoshi ve ark. akut ve subakut oral toksite için Fischer 344 ratı, mutajenik potansiyeli belirlemek için Salmonella typhimurium kullanarak reverse mutasyon testi, kromozomal bozukluk için CHL hücreleri ve ddY fareleri kullanılarak da mikronükleus testi yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda, 14 gün boyunca 2 ve 4 g/kg dozda herhangi bir akut toksite ve mutajenik durum görülmemiştir. Ratların günlük diyetlerine %0,02, 0,2 ve 2 oranlarında ÜÇE ilave edilerek 90 günlük uzun süreli kullanımda % 2'lik yüksek doz grubunda bile herhangi bir yan etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (117). Ray ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, bir yıl boyunca erkek B6C3F1 farelere günlük 100 mg/kg veya 6 ay boyunca dişi farelere 500 mg/kg ÜÇE takviyesi sonucunda hayati organların histolojisinde ve serum biyokimyasında tespit edilen bir yan etki olmamıştır (193). Tavşanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise, 0,5 g ÜÇE deri altı enjeksiyonla verilmiş ve 85 mg ÜÇE ise göze damlatılmış ve ciltteki irritasyon orta dereceli olarak bulunmuş ve 14 günde tamamen iyileşmiştir. Bizim çalışmamızda ise, ÜÇE orogastrik yolla 300 mg/kg/gün olarak verilmiştir ve literatürde belirtilen güvenli doz aralığı içindedir (121).

Proantosiyanidinler ya da kondanse taninler pek çok bitki tarafından sentezlenen biyolojik olarak aktif polifenolik biyoflavonoidlerdir. ÜÇE'nin klinik olarak bilinen redoks-aktif özelliklerinin olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (5,194,195). Proantosiyanidinlerin yara iyileşmesini artırıcı etkileri olduğu bilinmekte fakat bunu nasıl yaptıkları tam olarak açıklanamamaktadır. İyileşme üzerindeki düzenleyici etkilerine dair hayvan ve hücre kültürü çalışmaları literatürde mevcuttur. Pek çok büyüme faktöründen biri olan VEGF'nin yaralarda anjiogenesisi uzun süre boyunca stimüle ettiğine inanılmaktadır. ÜÇE'nin anjiogenesisde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Proantosiyanidinler ile anjiogenesis arasındaki ilişki Khanna ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ilk defa gösterilmiştir. İnsan keratinosit hücre kültürü çalışmalarında Elisa yöntemiyle, oksidan indüklü VEGF'nin keratinositlerden kültür ortamına salınımının proantosiyanidinler tarafından modüle edilerek kolaylaştığı bildirilmiştir (196). Khanna ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise araştırmacılar, ratların sırtlarında eksizyonel yara oluşturulup topikal ÜÇE'yi (25 µl'de

100 mg/ml) 5 gün boyunca uygulamışlar ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Topikal ÜÇE uygulamasının yaranın kapanmasını ve kontraksiyonunu hızlandırdığını gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda yarada iyi sınırlı hiperproliferatif epitelyal bölge, yüksek hücre yoğunluğu, artmış bağ dokusu depozisyonu, daha düzgün histolojik yapı bulunmuştur. Ayrıca yara kenarında VEGF’de ve tenascin ekspresyonunda artış izlenmiştir (197). Bu çalışmadaki bulgularla benzer şekilde bizim çalışmamızda da, sadece ÜÇE’nin verildiği ve bununla birlikte DDLT ile kombine uygulandığı gruplardan elde edilen veriler ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda 4. ve 7. günde sakrifiye edilen ÜÇE gruplarında yara kenarındaki epitelin mitotik aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Bu veriler ışığında proantosiyanidinlerin yara bağ dokusunda histolojik olarak fibroblastları uyarak kollajen lif miktarında artış meydana getirdiği ve iyileşmeyi daha iyi düzenlediği klinik gözlemlerle de teyit edilmiştir.

Hemmati ve ark. ise tavşanların sırtında tam kalınlık deri defekti oluşturarak ÜÇE’yi topikal krem (eucerin krem) olarak (%2, 5, 10 ve 70 oranda) yara bölgesine uygulamışlar ve denekleri 7. ve 15. günde sakrifiye etmişlerdir. % 2’lik oranda tedavi edilen grupta (13. günde iyileşme tamamlanmış) en yüksek hidrokisprolin içeriğinin ve yüksek doku direncinin olduğu bildirilmiştir (137).

Çalışmamızda uyguladığımız süre ve dozdaki ÜÇE’nin yara iyileşmesi üzerinde anlamlı derecede olumlu etkisi olduğu bulunmuştur. Proantosiyanidinlerin anjiogenezisi artırdığı önceki çalışmalarda da rapor edildiği gibi biz de çalışmamızda 4. ve 14. günde sakrifiye edilen gruplar içerisinde sadece EG4’ de kapiller sayı ve genişliğinde 7. günde ise ÜÇE ve DDLT’nin birlikte uygulandığı grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu görülmüştür.

Yara iyileşmesinde düzenleyici rolü olan ve bizim çalışmamızda da kullanılan DDLT’nin ilk kullanımı Master ve ark. tarafından düşük enerji seviyeli ruby lazer (1 J/cm<sup>2</sup>) uygulanmasıyla başlanmıştır (165,198). Biyostimülatif amaçlı kullanılacak lazerler için aralıklı veya sürekli atımlı, görülür veya görülmez dalga boylu birçok farklı tip lazer önerilmektedir. Önceleri, DDLT için gaz lazerler kullanılmaya başlanmış olup bunlar içerisinde de en çok 633 nm dalga boyuna sahip HeNe lazerler kullanılmıştır. Diğer bir lazer de 488-515 nm arası dalga boyuna sahip Argon lazerlerdir. Bu gaz

lazerlerle beraber ruby (694 nm), ve kripton (521, 530, 568 ve 647 nm) gibi solid faz lazerler de kullanılmıştır. Daha sonra yarı iletken infrared Galyum Arsenid diyot lazer (GaAs, 904 nm) ve Galyum Aluminyum Arsenid (GaAlAs, 820-830 nm) lazerin kullanımı başlamıştır (199).

Düşük enerji seviyeli lazerlerin hangi güç ve dalga boyu parametrelerinde ne kadar süre uygulanması gerektiği ve hedef dokuda en iyi etkinin sağlanabilmesi için bazı özellikleri bilinmelidir. 1 ile 100 W arasında çalışan cerrahi amaçlı lazerlerden farklı olarak düşük doz lazerler 1 mW ile 400 mW arasında güce sahiptir. Diğer önemli özellikleri ise, 300 ile 1064 nm arasında dalga boyuna sahip olmasının yanında aralıklı, atımlı veya sürekli modda çalışabilmesi ve total dozlaşma süresinin 10 ila 3000 saniye arasında olabilmesidir. Bu parametrelerin değiştirilmesi ile 0.01 J/cm<sup>2</sup> ile 100 J/cm<sup>2</sup> arasında bir güç hedef bölgeye aktarılabilir (179,200,201).

Düşük enerji seviyeli lazerler monokromatik, kohorent bir ışık yaymaktadırlar. Hedef bölgedeki hücrelerde minimal seviyede ısı değişimi oluşturarak doku hasarını azaltırlar ve bu özellikleri ile soğuk lazer adını alırlar. Düşük maliyetlerinden dolayı HeNe lazerler önceleri sıklıkla kullanılırken, son zamanlarda yapılan çalışmalarda daha derin dokulara penetrasyon göstermesi, suda ve deri pigmentlerinde düşük emilmesi diyot lazerlerin daha fazla tercih edilmesine neden olmuştur. Fakat pek çok çalışmada lazer parametrelerinin değişkenlik göstermesi sebebiyle farklı sonuçlar ortaya çıktığından DDLT'nin uygulama protokolü konusunda literatürde hala tam bir fikir birliği bulunmamaktadır (8,148,178,184,199,202,203).

Bizim çalışmamızda ise, Üşümez ve ark.'nın ratlarda oluşturduğu mukozitis modelinde kullanılan diyot lazer uygulama protokolü referans alınarak, 810 nm dalga boyunda Fotona XD-2 (Fotona, Ljubljana, SLOVENIA) diyot lazeri günde 1 kez, 1 cm uzaklıkta 0,25 W çıkış gücünde, devamlı çalışma modunda, 9 sn boyunca toplam 8 j/cm<sup>2</sup> enerji dozunda cerrahi işlemin yapıldığı günden itibaren 4 gün boyunca kullanılmıştır (191).

DDLTL, termal etki yapmadan iyileşmenin hızlı olması istenen çeşitli klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır (204). Galyum Aluminyum Arsenid (GaAlAs) ve helyum-neon (HeNe) lazerler yara iyileşmesini desteklemede ve ağrı modülasyonunda çoğunlukla kullanılmaktadır (205). DDLTL'nin enflamatuar süreçlerde

ağrı kontrolünde etkili olduğu, lokal mikrovaskülarizasyonu arttırdığı, fibroblast proliferasyonunu tetiklediği ve kollajen üretimini stimüle ettiği rapor edilmiştir (9,180). Ayrıca DDLT'nin rejeneratif potansiyeli artırarak hücrel metabolizmayı uyardığı ve enflamasyona karşı, vazodilatasyon ve analjezi özelliğiyle de denge kurduğu gösterilmiştir (8,206).

Deneysel olarak indüklenen enflamasyonun etkilerini DDLT azaltabilmektedir. Reis ve ark. ratların derisinde oluşturdukları 6 mm'lik punch yaralarında GaAlAs lazeri (4 J/cm<sup>2</sup>, 9 mW, 670 nm) kullanmışlar. DDLT uygulanan grupta cerrahi sonrası doku onarımının hızlanarak ödemin azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca deksametazon ile birlikte DDLT uygulanan grupta kortikosteroid varlığına rağmen polimorfonükleer hücre infiltrasyonunun olduğu gözlemlenmiştir. (207).

Morais ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, intra-artiküler Zymosan verilerek artrit oluşturulan rat modeline 685 ve 830 nm dalga boyunda semikondüktör lazer uygulanmış ve lazerin ödem oluşumunu %23, vasküler permeabiliteyi de %24 oranında azaltarak eklemdeki hiperalejiyi düşürdüğü bildirilmiştir (208). Fahimipour ve ark. rat palatinal mukozalarında oluşturdukları yumuşak doku defektine 4 J/cm<sup>2</sup> ve 7.5 J/cm<sup>2</sup> dozlarda HeNe lazer (632 nm, 5 mW) ile 4 J/cm<sup>2</sup> ve 7.5 J/cm<sup>2</sup> dozlarda GaAlAs (830 nm, 25 mW) lazeri operasyonun ilk gününden itibaren sakrifiye edilecekleri güne kadar uygulamışlardır. 3., 7. ve 14. günlerde denekleri sakrifiye ederek yara iyileşmesini incelemişlerdir. 3. ve 7. gün örneklerinde kontrol grubuna göre HeNe ve GaAlAs gruplarında polimorfonükleer hücrelerin önemli derecede düşük olduğu, 7. ve 14. günlerde ise kontrole göre her iki lazer grubunda fibroblast, yeni kan damar sayısı ve kollajen fiber miktarının daha yüksek bulunduğunu rapor edilmiştir (184). DDLT'nin enflamatuar reaksiyonu inhibe etmesinin lazerin dalga boyundan bağımsız olduğuna Qadri ve ark. da insanlar üzerinde yaptığı çalışmasında, periodontal ve gingival enflamasyonun lazerin dalga boyundan etkilenmediği sonucunu çıkararak destek vermiştir (209).

Medrado ve ark. ratlarda yaptıkları yara iyileşmesi çalışmalarında 8 mm'lik oval cilt defekti oluşturmuş, GaAlAs (670 nm, 9 mW) lazer kullanarak 4 ve 8 j/cm<sup>2</sup> dozları birbirleriyle karşılaştırmışlardır. Her iki dalga boyunda da kontrol grubuna oranla enflamatuar hücre sayısının ve ödemin istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı

fakat kollajen ve elastin fiberlerin miktarında az bir artış olduğu rapor edilmiştir. Kontrol grubuna göre cerrahiden sonraki 3. günde düz kas alfa-aktin myofibroblastlarda her iki grupta belirgin bir artış olduğu görülmüştür. 4 J/cm<sup>2</sup>'lik tedavi dozunun 8 J/cm<sup>2</sup>'lik dozdan daha etkili olduğu rapor edilmiştir (8).

Enflamatuar fazda defekt alanında özellikle polimorfonükleer hücrelerin baskın olduğu bununla birlikte immün hücrelerin de birikerek aktive olduğu bilinmektedir (210). Lazerin enflamatuar faza etkisi 2 mekanizma ile açıklanabilir. Birincisi, Nagashima ve ark. tarafından savunulan DDLT'nin ciddi enflamatuar reaksiyonları inhibe etmesi ve kollajen oluşumunun artmasına yol açmasıdır (211). Kami tarafından rapor edilen diğer görüş ise, lazer ışının enflamasyonu hafif indüklediği ve kan akışını artırdığı şeklindedir (212). Çalışmamızda da, LG4'de, EG4 ve ELG4 gruplarına göre enflamatuar hücre sayı ortalamasının daha az olduğu, kontrol grubuna göre ise fazla olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür. Bizim sonuçlarımız da Kami'nin rapor ettiği görüş doğrultusundadır.

Yara iyileşmesinde vaskülarizasyon endotel proliferasyonun artmasıyla yakın ilişkilidir. Schindl ve ark. insan endotel hücrelerine DDLT'nin uyarıcı etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarında, hücre kültürlerine 670 nm dalga boyunda 2 J/cm<sup>2</sup> ve 8 J/cm<sup>2</sup> olmak üzere iki farklı dozda 6 gün boyunca diyot lazer uygulamışlar ve sonuç olarak; DDLT'nin endotel hücrelerin proliferasyonunu ve anjiogenezisini uyardığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığını rapor etmişlerdir (213). Goncalves ve ark. ise yeni damar oluşumunda GaAlAs lazerin 60 J/cm<sup>2</sup> dozunda 30 J/cm<sup>2</sup>'ye göre daha anlamlı bir sonuç verdiğini savunmuşlardır (214). Fakat bu sonuçtan farklı olarak 20 J/cm<sup>2</sup> dozun cilt yaralarında etkili olduğu başka bir çalışmada vurgulanmıştır (215). Bizim çalışmamızda da sadece 8 J/cm<sup>2</sup> dozunda 4 gün boyunca uygulanan diyot lazerin LG4, LG7 ve LG14 gruplarında anjiogenezisi uyardığı fakat oluşan farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur.

Yara iyileşmesinin fibrotik fazı çoğunlukla hidroksprolin, prolin ve glisinden oluşan kollajen sentezi ile karakterizedir (216). Kollajen sentezinin DDLT ile stimüle edilerek, iyileşmeyi artırdığı yapılan çalışmalarda savunulmuştur (217-219). Silveria ve ark. ratlarda yara modeli oluşturarak yaptıkları çalışmada, defekt alanına HeNe ve GaAlAs lazer uygulayarak fibrogenesis ve oksidatif stres parametrelerini değerlendirmişlerdir.



Sonuç olarak; derideki yara alanında her iki lazer grubunda da enflamasyonun azaldığı, fibroblastik doku yapısı uyarılarak lazerin fibroblastların proliferasyon ve migrasyonunu sağladığı, böylelikle kollajen sentezinin arttığı rapor edilmiştir (220). Saygun ve ark.'nın insanlarda gingival fibroblastlardan salınan ve üretilen büyüme faktörleri üzerine lazer ışının etkisini araştırdıkları çalışmalarında, DDLT'nin gingival fibroblastlarda proliferasyona neden olarak büyüme faktörlerinin salınımını uyardığı ve periodontal yara iyileşmesine katkı sağladığı görülmüştür (221).

Bizim çalışmamızda bu araştırmaların sonuçlarını destekleyici yöndedir. LG7 ve LG14 grupları değerlendirildiğinde; KG7'ye göre fibroblast sayısı LG7'de istatistiksel olarak daha yüksekken ( $p=0.037$ ), kollajen miktarı ortalamasının daha fazla olduğu fakat istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur. KG14'e göre LG14'de ise fibroblast sayısı ve kollajen miktarı ortalaması daha yüksek gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Yara iyileşmesinin özellikle enflamatuar fazında SR'lerin önemli rol oynadıkları bilinmektedir (206). ROT'un cildin yaralanması sonrası doku hasarına katkıda bulunduğu ve iyileşme mekanizmasını bozduğu da bilinmektedir (135). Artmış ROT membran lipidlerinin peroksidasyonu, sülfidril enzimlerin inaktivasyonu, proteinlerin çapraz bağlanması ve DNA'nin bozulması gibi yollarla doku hasarını yapabilmektedir (186). Bu potansiyel yıkıma karşı organizma enzimatik ve non-enzimatik defans sistemlerine sahiptir. İyileşme sürecinde oluşan oksidatif strese karşı, hücrel antioksidan sistemlerin aktivasyonu ile DDLT arasında literatürde artan sayıda kanıt bulunmaktadır (220).

Literatürde bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarda, antioksidan enzim aktivitesinin artmasıyla yara iyileşmesi sırasında ortamda artmış ROT bulunsa bile DDLT ile oksidatif hasarın boyutunun minimal olacağı bildirilmiştir (214). Goncalves ve ark. farklı enerji yoğunluğundaki GaAlAs lazerin etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında tiyobarbitürik asit seviyeleri ile yara kontraksiyonu ve kollajen maturasyon indeksi ile de katalaz seviyeleri arasında bir dereceye kadar negatif korelasyon olduğunu tüm 7. gün gruplarında gözlemlemişlerdir (214). Diğer yandan, bazı çalışmalarda ise DDLT'nin rat nötrofillerindeki solunumsal patlamayı (respiratory burst) inhibe ettiği, epitel hücrelerinde ise mitokondriden kaynaklı serbest radikal seviyelerini düşürdüğü

rapor edilmiştir (222). Buna ek olarak hücrel redoks durumundaki değişikliğin fotobiyostimülatör sürece neden olduğu bildirilmiştir (223). Bu bilgiyle paralel olarak Silveria ve ark. yaptıkları çalışmada DDLT uygulamasının antioksidan enzimlerinden süperoksit dismutaz ve katalaz seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (220). Bu biyokimyasal düzenlemeler enflamatuvar yanıtın miktarındaki azalmayla ve sonrasındaki ROT seviyesinin düşmesiyle mümkündür. Süperoksit dismutaz aktivitesi süperoksit anyonunu daha az biyoaktif molekül olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub>'ye dönüştürerek oksidatif strese karşı hücrenin korunmasında önemli rol oynar (224). Süperoksit dismutaz enzimi indüklenebilir bir enzimdir ve aktivitesi O<sub>2</sub> konsantrasyonuna bağlıdır. Silveria ve ark.'nın çalışmasında belirtildiği gibi DDLT'nin varolan antioksidan etkileri ile lipid peroksidasyonu ve protein karbonilazasyonu baskılandıkça, düşük doz lazer uygulanan rat gruplarında gözlenen azalmış süperoksit dismutaz aktivitesi ortamdaki oksidatif stres azalmasında belirteç olabilmektedir (220). Silveria ve ark.'nın çalışma sonuçlarıyla benzer sonuçları Firat ve ark. rapor etmiştir. Çalışmalarında ratlarda palatinal rat modeli oluşturarak yaptıkları rat modelinde 940 nm dalga boyunda GaAlAs lazeri 10 J/cm<sup>2</sup> dozunda cerrahi sonrası 2., 4. ve 6. günlerde uygulayarak 7., 14. ve 21. günlerde denekleri sakrifiye etmişlerdir. Biyokimyasal inceleme sonucu TAS, TOS ve OSİ değerlerini gruplar arasında karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında 14. günde lazer ile tedavi edilen grupta TAS seviyesinin TOS ile paralel şekilde arttığı görülmüştür. Fakat kontrol grubunda böyle bir paralel artış izlenmemiştir. TAS ve TOS değerlerinin 14. günle kıyaslandığında 21. günde azalma gösterdiği tespit edilmiştir (178).

Çalışmamızda kullandığımız DDLT'nin oksidatif strese olan etkisinin yanında ÜÇE'nin ve her ikisinin kombine kullanımı sonrası etkisine bakılmıştır. Literatürde proantosiyandinlerin oksidatif strese etkisine yönelik çalışmalar bulunmasına karşın DDLT ile birlikte kullanımı ile ilgili araştırma bilgimiz dahilinde bulunmamaktadır. Bu noktada proantosiyandinlerin oksidatif strese olan etkilerine dair pek çok çalışmanın yapıldığı görülmektedir. Ozkan ve ark. ratlara 25 mg/kg siklosporin A vererek buna bağlı ratlarda kardiyotoksisite modeli oluşturmuşlardır. Siklosporin verilen grupta TOS, OSİ ve malondialdehit seviyelerinin önemli derecede arttığını, siklosporin ve ÜÇE verilen grupta OSİ ve malondialdehit seviyelerinin azaldığı, TAS seviyesinin ise önemli derecede arttığı rapor edilmiştir (225). Ulusoy ve ark. da pronantosiyandinlerin siklosporin A'nın indüklediği nefropati üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Kandaki üre miktarının, kreatinin, TOS, OSİ, malondialdehit ve apoptik indeksin siklosporin

verilen grupta anlamlı derecede arttığını belirterek, ÜÇE ile birlikte siklosporin verilen ratlarda ise kandaki üre miktarının, kreatinin, OSİ ve apoptik indeksin azaldığı TAS seviyesinin ise yükseldiği çalışma sonucunda bildirilmiştir (226). Ulusoy ve ark. yaptığı başka bir çalışmada 100 mg/kg ÜÇE verilen ratlarda amikasin tarafından indüklenen nefropatiye bağlı oksidatif hasarın azalarak biyokimyasal ve histopatolojik düzelmeye sağlandığı bildirilmiştir (227). Literatürde proantosiyanidinlerin biyolojik etkilerini belirlemek amacıyla in vivo ve in vitro pek çok çalışma yapılmıştır (121). Antikanser kemoterapotik ajanların kanser hücrelerinin gelişimini durdurmada çok etkili olduğu bilinmektedir. Fakat bu yararları yanında normal sağlıklı hücrelerde toksisite oluşturması dezavantajdır. Yapılan bir araştırmada kemoterapotik ajan verilerek kültüre edilmiş karaciğer hücreleri üzerinde oluşturulan toksisitenin ÜÇE ile azaltıldığı ortaya konmuştur (228). Myokardiyal-iskemik reperfüzyon hasarı patogenezinde SR'ler kritik rol oynamaktadırlar. Proantosiyanidinlerin ise kalpteki iskemik hasarda koruyucu özellik gösterdikleri belirtilmiştir (229). İnsanlarda yaşla birlikte kognitif yeteneklerinin de azaldığı bilinmektedir. Asha Devi ve ark. ise yetişkin ve orta yaş ratlarda yaptıkları çalışmada 3 ay boyunca proantosiyanidin verilen 3 ile 12 aylık ratların kognitif yeteneklerini test etmişlerdir. Sakrifikasyon sonucu hipokampusdan elde edilen oksidatif stres belirteçleri değerlendirilmiştir. ÜÇE'nin lipit peroksidasyonunu ve hidrojen peroksit seviyelerini düşürdüğü, hipokampustaki sülfidril proteinini ise artırdıkları bulunmuştur (230).

Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre 7. ve 14. günlerde grupların birbirleriyle karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sadece 4. günde EG4 ile ELG4 arasında TOS ve OSİ bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmiştir.

Üzüm çekirdeği ile DDLT'nin ve her ikisinin yara iyileşmesindeki etkilerinin kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak incelenmesi amacıyla ratların palatinal mukozalarında punch frez ile tam kalınlıklı yaralar oluşturuldu. Sonrasında her grup 4., 7., ve 14. günler olmak üzere 3 alt gruba ayrılarak vücut ağırlıklarındaki değişikliklerini, total oksidan ve antioksidan seviyesi ile oksidatif stres indeksini; yine aynı günlerde alınan doku örneklerinden, histopatolojik ve histomorfometrik olarak yara iyileşmesini, epitelde mitoz sayısını, kapiller sayısı ve genişliği, enflamatuvar hücre, fibroblast sayısı ve kollajen lif miktarını, değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada;

- Tüm gruplar kilo açısından değerlendirildiğinde sadece 14. gün gruplarının hepsinde ratların kilo alımında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir. Bu kilo artışının rat palatinal mukozalarında defekt alanının önemli derecede küçülmesi ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

- 4. günde klinik olarak yara kenarlarında tüm çalışma ve kontrol gruplarında hiperemi ve ödemin görüldüğü fakat kontrole göre sadece LG4 ile ELG4'te hipereminin daha iyi olduğu izlenmiştir.

- Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre 4. günde hem ÜÇE hem de DDLT'nin yara epitelindeki mitoz sayısını arttırdığı görülmüştür. Proantosiyanidinlerin vaskülarizasyonu indüklediği gözlenmiş fakat özellikle DDLT ile birlikte kullanıldığında yarada enflamasyonu azaltmadığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde ÜÇE+DDLDT uygulamasının bağ dokusu oluşumunda sadece ÜÇE veya DDLT'ye göre istatistiksel olarak fark oluşturacak şekilde artırdığı bulunmuştur. Bu tespit klinik olarak da defektin anlamlı derecede küçülmesi bulgusu ile paralellik arz etmektedir.

- Genel anlamda 7. gün gruplarında klinik olarak 4. güne göre hipereminin azaldığı yara kenarlarının daha düzenli bir yapı almaya başladığı görülmüştür. Histolojik olarak ise epiteldeki mitotik aktivitenin ÜÇE'nin verildiği gruplarda (EG7 ve ELG7) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yaradaki yeni vasküler gelişiminin kombine uygulamada (ÜÇE+DDLDT) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ve bu durumla beraber enflamasyonunda arttığı tespit edilmiştir. Fibroblastik aktivitenin ve kollajen liflerin gelişiminin EG7'de daha yoğun izlendiği görülmüştür. Bu sonuçlara bakıldığında proantosiyanidinler ile lazerin birlikte hücrel olayların düzenlenmesinde biyostimülatif etkisinin arttığı fakat bu noktada bu etkiye yol açan nedenin lazerin mi yoksa proantosiyanidinlerin mi uyarıyı indüklediği bilinmemektedir.

- 14. gün gruplarında EG14'de kapiller sayı ve genişliğinde, kollajen lif ve fibroblast sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Tüm gruplarda enflamasyonun azaldığı ÜÇE verilen grupta anjiogenesisin ve fibroblast sayısının arttığı bulunmuştur. DDLT ile birlikte ÜÇE'nin uygulandığı grupta ise epitelin mitotik aktivitesinde ve kollajen lif miktarında anlamlı bir artış izlenmiştir.

- Bu sonuçlara göre üzüm çekirdeğinde bulunan proantosiyandinlerin palatinal yara iyileşmesinde olumlu yönde uyarıcı rol oynadığı, bununla birlikte 8 J/cm<sup>2</sup> dozunda uygulanan düşük doz lazer ile daha iyi etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, ÜÇE'nin ağız içi yara iyileşmesinin hücresel olayların düzenlenmesinde uyarıcı rol oynayarak iyileşmeyi desteleyerek hızlandığı bulunmuştur. Bununla birlikte ÜÇE'nin DDLT ile birlikte kullanımıyla özellikle iyileşmenin proliferasyon safhasındaki bağ dokusu komponentlerinin gelişimini uyararak katkı sağladığı görülmüştür. Literatürde bu konuyla ilgili yeterli veri bulunmadığı için ileride çalışmamızdan alınan sonuçların insan çalışmalarına rehber olabileceğini ve komplikasyonlu ağız içi yara iyileşmelerinde olumlu yönde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

## 6. KAYNAKLAR

1. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* 2007;25:9-18.
2. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003;83:835-870.
3. Fine AM. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev.* 2000;5:144-151.
4. Leigh MJ. Health Benefits of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE). *Nutrition Noteworthy.* 2003;6:1-5.
5. Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1997;95:179-189.
6. Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Bagchi DJ, Balmoori J, Stohs SJ. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen Pharmacol.* 1998;30:771-776.
7. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J.* 1997;42:247-254.
8. Medrado AR, Pugliese LS, Reis SR, Andrade ZA. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2003;32:239-244.
9. do Nascimento PM, Pinheiro AL, Salgado MA, Ramalho LM. A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. *Photomed Laser Surg.* 2004;22:513-518.
10. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997;77:509-528.

11. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci.* 2004;9:283-289.
12. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7 Suppl):12-34.
13. David M, Young and Stephen J. Wound healing. Ed:Miller. In: *Modern surgical Care* 1998;1:1237-1247.
14. Townsend CM, Sabiston DC. *Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*, 17<sup>th</sup> Ed. USA: Elsevier Saunders, 2004: 183-207.
15. Shetty V. Wound healing. In: Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. London: BC Decker Inc; 2004; p.3-15.
16. Strodtbeck F. Physiology of wound healing. *Newborn Infant Nurs Rev.* 2001;1:43-52.
17. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Tissue renewal and repair: regeneration, healing, and fibrosis. In: *Robbins and Cotran. Pathologic Basis of Disease*. 7<sup>th</sup> ed, Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders Company; 2005; p.87-119.
18. Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin North Am.* 2003;83:483-507.
19. Önerci M, Haberal İ. *Temel cerrahi teknikler*, 3. Baskı. Selim Ofset Basımevi, Ankara. 2001: 43-51.
20. Schafer M, Werner S. Transcriptional control of wound repair. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:69-92.
21. Ekmekçi P, Bostancı S. Yara İyileşmesi. *T Klin Dermatoloji.* 2002;12:114–120.
22. Mast BA, Cohen IK. *Normal Wound Healing. Plastic Surgery Indications, Operations, Outcomes, Vol.1, Chapter 5*, Mosby, St.Luis, 2000.
23. Monaco J, Lawrence W. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg.* 2003;30:1-12.

24. Clark RA. Cutaneous tissue repair: basic biological consideration.I. J Am Acad Dermatology. 1985;13:701-725.
25. Wokalek H. Cellular events in wound-healing. CRC Critical Reviews in Biocompatibility. 1988;4:209-246.
26. Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. Trends Cell Biol. 2005;15:599-607.
27. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. J Invest Dermatol. 2007;127:514-25.
28. Gurtner GC, S Werner, Y Barrandon, MT Longaker. Wound repair and regeneration. Nature. 2008;453:314-321.
29. Levi M, ten Cate H, van der Poll T. Endothelium: interface between coagulation and inflammation. Crit Care Med. 2002;30(5 Suppl):220-224.
30. Pıhtılaşmada ekstrinsik ve intrinsik yol, <http://kcumb2013.wikispaces.com/CP+II+Mid-Term>, Erişim tarihi: 23 Şubat 2014.
31. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med. 1999;341(10):738-746.
32. Pıhtılaşma fizyolojisi, [http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu\\_folder/2005-EK2/imag/2005-12-Ek2-010-024Sekil1.jpg](http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu_folder/2005-EK2/imag/2005-12-Ek2-010-024Sekil1.jpg), Erişim tarihi: 23 Şubat 2014.
33. MacKay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. Altern Med Rev. 2003;8:359-377.
34. Cockbill S. Wounds the healing process. Hospital Pharmacist. 2002;9:255-260.
35. Broughton G, 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plast Reconstr Surg. 2006;117:1e-S-32e-S.
36. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. Adv Skin Wound Care. 2004;17:24-35.
37. Açıklamalı tıp terimleri sözlüğü. 9. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2005;230.



38. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg.* 1998;176:26-38.
39. Nwomeh BC, Liang HX, Diegelmann RF, Cohen IK, Yager DR. Dynamics of the matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-8 in acute open human dermal wounds. *Wound Repair Regen.* 1998;6:127-134.
40. Nwomeh BC, Liang HX, Cohen IK, Yager DR. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. *J Surg Res.* 1999;81:189-95.
41. Artuc M, Hermes B, Steckelings UM, Grutzkau A, Henz BM. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing--active participants or innocent bystanders? *Exp Dermatol.* 1999;8:1-16.
42. Barbul A, Shawe T, Frankel HL, Efron JE, Wasserkrug HL. Inhibition of wound repair by thymic hormones. *Surgery.* 1989;106(2):373-376.
43. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.* 1975;78:71-100.
44. RF Diegelmann, Cohen IK, Kaplan AM. The role of macrophages in wound repair: a review. *Plast Reconstr Surg.* 1981;68:107-113.
45. M Schaffer, Barbul A. Lymphocyte function in wound healing and following injury. *Br J Surg.* 1998;85:444-60.
46. Serdaroğlu S Arzuhal N. Proteolitik enzimler ve yara iyileşmesi. *Dermatose.* 2002;2:20-24.
47. Greenhalgh DG. The role of growth factors in wound healing. *J Trauma.* 1996;41:159-167.
48. Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN. Growth factors in wound healing single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest.* 1989;84:640-646.
49. Chow LW, Loo WT, Yuen KY, Cheng C. The study of cytokine dynamics at the operation site after mastectomy. *Wound Repair Regen.* 2003;11(5):326-330.

50. Myers BA. Wound Management principles and practice. New Jersey (NJ): Pearson Education Inc, 2004.
51. Robson MC. Wound infection. A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *Surg Clin North Am.* 1997;77:637-650.
52. Siddiqui A, Galiano RD, Connors D, Gruskin E, Wu L, Mustoe TA. Differential effects of oxygen on human dermal fibroblasts: acute versus chronic hypoxia. *Wound Repair Regen.* 1996;4:211-218.
53. Hunt TK, Niinikoski J, Zederfeldt B. Role of oxygen in repair processes. *Acta Chir Scand.* 1972;138:109-110.
54. Theoret CL. Update on wound repair. *Clin Tech Equine Pract.* 2004;3:110-122.
55. LaVan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg.* 1990;17:463-472.
56. Knighton DR, Hunt TK, Scheuenstuhl H, Halliday BJ, Werb Z, Banda MJ. Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science.* 1983;221:1283-1285.
57. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature.* 1992;359:843-845.
58. Darrington RS, Godden DJ, Park MS, Ralston SH, Wallace HM. The effect of hyperoxia on the expression of cytokine mRNA in endothelial cells. *Biochem Soc Trans.* 1997;25:292.
59. Katusic ZS. Superoxide anion and endothelial regulation of arterial tone. *Free Radic Biol Med.* 1996;20:443-448.
60. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatol Surg.* 2008;34:1159-1169.
61. Kumar I, Staton CA, Cross SS, Reed MW, Brown NJ. Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and its receptors in human surgical wounds. *Br J Surg.* 2009;96(12):1484-1491.

62. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res.* 2009;153:347-358.
63. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30:1019-1030.
64. Ehrlich HP, Krummel TM. Regulation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound Repair Regen.* 1996;4:203-210.
65. Williams DT, K Harding. Healing responses of skin and muscle in critical illness. *Crit Care Med.* 2003;31:547-557.
66. Reed BR, Clark RA. Cutaneous tissue repair: practical implications of current knowledge. II. *J Am Acad Dermatol.* 1985;13:919-941.
67. Şenol M. Yara iyileşmesi. *T Klin J Dermatol.* 1995;5:49-53.
68. Izadi K, P Ganchi. Chronic wounds. *Clin Plast Surg.* 2005;32:209-222.
69. Ramasastry SS. Chronic problem wounds. *Clin Plast Surg.* 1998;25:367-396.
70. Biger C. Cutaneous manifestations of endocrinologic diseases. *Dermatology.* 2001;36:262-269.
71. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26:351-357.
72. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004;15 91-96.
73. Cheeseman KH, TF Slater. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49:481-493.
74. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994;344:721-724.
75. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turkish Journal of Biochemistry.* 2006;31:51-56.

76. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005;12:1161-1208.
77. Naqui A, Chance B, Cadenas E. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annu Rev Biochem.* 1986;55:137-166.
78. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 2003;17:1195-1214.
79. Dissemond J, Goos M, Wagner SN. The meaning of oxidative stress in the pathogenesis and therapy of chronic wounds (German). *Hautart.* 2002;53:718-723.
80. Demple B, Harrison L. Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology. *Annu Rev Biochem.* 1994;63:915-948.
81. Sağlıklı bir hücrede oluşan serbest radikaller, <http://www.rainlife.com.tr/index.php?p=161>, Erişim tarihi: 23 Şubat 2014.
82. Canakçi CF, Çiçek Y, Canakçi V. Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc).* 2005;70(6):619-628.
83. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids.* 2003;25:207-218.
84. Salvemini D, Masini E, Anggard E, Mannaioni PF, Vane J. Synthesis of a nitric oxide-like factor from L-arginine by rat serosal mast cells: stimulation of guanylate cyclase and inhibition of platelet aggregation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;169(2):596-601.
85. Erbaş D. Nitric Okside. *Gazi Medical Journal.* 1998;9(Suppl 1):1-11.
86. Schaffer MR, Tantry U, van Wesep RA, Barbul A. Nitric oxide metabolism in wounds. *J Surg Res.* 1997;71:25-31.
87. Weller R. Nitric oxide--a newly discovered chemical transmitter in human skin. *Br J Dermatol.* 1997;137:665-672.
88. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(17):7915-22.

89. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc.* 1988;63(4):390-408.
90. Chung AW1, Radomski A, Alonso-Escolano D, Jurasz P, Stewart MW, Malinski T, Radomski MW. Plateletleukocyte aggregation induced by PAR agonists: regulation by nitric oxide and matrix metalloproteinases. *Br J Pharmacol.* 2004;143:845-855.
91. Herkert O, Diebold I, Brandes RP, Hess J, Busse R, Gohlach A. NADPH oxidase mediates tissue factor-dependent surface procoagulant activity by thrombin in human vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2002;105:2030-2036.
92. Wenk J, Brenneisen P, Wlaschek M, Poswig A, Briviba K, Oberley TD, Scharffetter-Kochanek K. Stable overexpression of manganese superoxide dismutase in mitochondria identifies hydrogen peroxide as a major oxidant in the AP-1-mediated induction of matrix-degrading metalloproteinase-1. *J Biol Chem.* 1999;274:25869-25876.
93. Sen CK. The general case for redox control of wound repair. *Wound Repair Regen.* 2003;11:431-438.
94. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
95. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of NO. *Free Radic Biol Med.* 1998;25:434-456.
96. Abd-El-Aleem SA, Ferguson MW, Appleton I, Kairsingh S, Jude EB, Jones K, McCollum CN, Ireland GW. Expression of nitric oxide synthase isoforms and arginase in normal human skin and chronic venous leg ulcers. *J Pathol.* 2000;191:434-442.
97. Jude EB, Boulton AJ, Ferguson MW, Appleton I. The role of nitric oxide synthase isoforms and arginase in the pathogenesis of diabetic foot ulcers: possible modulatory effects by transforming growth factor beta 1. *Diabetologia.* 1999;42:748-757.

98. Soneja A, Drews M, Malinski T. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. *Pharmacol Rep.* 2005;57Suppl:108-119.
99. Dekkers JC, van Doornen LJ, Kemper HC. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 1996;21:213-238.
100. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in Fruits and Vegetables- The Millennium's Health. *International Journal of Food Science and Technology.* 2001;36:703-725.
101. Frankel EN, Meyer AS. The Problems of Using One-Dimensional Methods to Evaluate Multifunctional Food and Biological Antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2000;80:1925-1941.
102. Antioksidanların serbest radikali nötralize etmesi, <http://hastaneciyiz.blogspot.com.tr/2013/01/antioksidan-nedir.html>, Erişim tarihi: 23 Şubat 2014.
103. Nelson SK, Bose SK, Grunwald GK, Myhill P, McCord JM. The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo: a fundamentally new approach to antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med.* 2006;40:341-347.
104. Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J Clin Chem.* 1992;36:66-70.
105. Natarajan V. Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J Lab Clin Med.* 1995;125:26-37.
106. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 2004;52:794-804.
107. Aydemir B, Karadağ SE. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Vet J.* 2009;2:56-60.
108. Çatakçı A. Işıklı dolgu cihazlarının insan fibroblast hücrelerinde oluşturduğu etkilerin canlılık aktivite ve oksidatif stres yönünden değerlendirilmesi. 2012, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 98 sayfa, Erzurum (Prof. Dr. Yusuf Ziya Bayındır).

109. Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging*. 2007;2:377-387.
110. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40.
111. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004;44:275-295.
112. Podda M, Grundmann-Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2001;26:578-582.
113. Collins N. Adding vitamin C to the wound management mix. *Adv Skin Wound Care*. 2004;17:109-112.
114. Galeano M, Torre V, Deodato B, Campo GM, Colonna M, Sturiale A, Squadrito F, Cavallari V, Cucinotta D, Buemi M, Altavilla D. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice. *Surgery*. 2001;129:467-477.
115. Perez OA, Viera MH, Patel JK, Konda S, Amini S, Huo R, Zell D, Tadicherla S, Berman B. A comparative study evaluating the tolerability and efficacy of two topical therapies for the treatment of keloids and hypertrophic scars. *J Drugs Dermatol*. 2010;9:514-518.
116. Nichols JA, Katiyar SK. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res*. 2010;302:71-83.
117. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Kikuchi M. Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food Chem Toxicol*. 2002;40:599-607.
118. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. 1992;339:1523-1526.

119. St Leger AS, Cochrane AL, Moore F. Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *Lancet*. 1979 1:1017-1020.
120. Zhao J, Wang J, Chen Y, Agarwal R. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*. 1999;20:1737-1745.
121. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*. 2000;148:187-197.
122. Ariga T. The antioxidative function, preventive action on disease and utilization of proanthocyanidins. *Biofactors*. 2004;21:197-201.
123. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med*. 1996;20:933-956.
124. Kim TH, Jeon EJ, Cheung DY, Kim CW, Kim SS, Park SH, Han SW, Kim MJ, Lee YS, Cho ML, Chang JH, Min JK, Kim JI. Gastroprotective Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extracts against Nonsteroid Anti-Inflammatory Drug-Induced Gastric Injury in Rats. *Gut Liver*. 2013;7:282-289.
125. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, Vinson JA. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res*. 2003;523-524:87-97.
126. Cos P, De Bruyne T, Hermans N, Apers S, Berghe DV, Vlietinck AJ. Proanthocyanidins in health care: current and new trends. *Curr Med Chem*. 2004;11:1345-1359.
127. Bagchi D BM, Stohs S, Ray SD, Sen CK, Preuss HG. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;957:260-270.
128. Ray SD, Kumar MA, Bagchi D. A novel proanthocyanidin IH636 grape seed extract increases in vivo Bcl-XL expression and prevents acetaminophen-induced



- programmed and unprogrammed cell death in mouse liver. *Arch Biochem Biophys.* 1999;369:42-58.
129. Houde V, Grenier D, Chandad F. Protective effects of grape seed proanthocyanidins against oxidative stress induced by lipopolysaccharides of periodontopathogens. *J Periodontol.* 2006;77:1371-1379.
  130. Matuschek E, Towo E, Svanberg U. Oxidation of polyphenols in phytate-reduced high-tannin cereals: effect on different phenolic groups and on in vitro accessible iron. *J Agric Food Chem.* 2001;49:5630-5638.
  131. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 2001;74:418-425.
  132. Kar P, Laight D, Shaw KM, Cummings MH. Flavonoid-rich grape seed extracts: A new approach in high cardiovascular risk patients? *Int J Clin Pract Suppl.* 2006;60:1484-1492.
  133. Pütter M, Grottemeyer KH, Würthwein G, Araghi-Niknam M, Watson RR, Hosseini S, Rohdewald P. Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by aspirin and pycnogenol. *Thromb Res.* 1999;95:155-161.
  134. Chang WC, Hsu FL. Inhibition of platelet aggregation and arachidonate metabolism in platelets by procyanidins. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1989;38:181-188.
  135. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing: an emerging paradigm. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;957:239-249.
  136. Fitzmaurice SD, RK Sivamani, and RR Isseroff. Antioxidant therapies for wound healing: a clinical guide to currently commercially available products. *Skin Pharmacol Physiol.* 2011;24:113-26.
  137. Hemmati AA, Aghel N, Rashidi I, Gholampur-Aghdami A. Topical grape (*Vitis vinifera*) seed extract promotes repair of full thickness wound in rabbit. *Int Wound J.* 2011;8:514-520.

138. Karu TI, Tiphova OA, Fedoseyeva GE. Biostimulating action of lowintensity monochromatic visible light: is it possible? *Laser Chem.* 1984;5:19-25.
139. Uysal D, Güler Ç. Diş Hekimliğinde Lazer: Bir Literatür Derlemesi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg.* 2012;6:44-53.
140. Bhat AM. Lasers in prosthodontics - An overview part 1: Fundamentals of dental lasers. *J Indian Prosthodont Soc.* 2010;10:13-26.
141. Martens LC. Laser physics and a review of laser applications in dentistry for children. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011;12:61-67.
142. Guttenberg SA, Emery RW 3rd. Laser physics and tissue interaction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2004;16:143-147.
143. Lazer ışığının dalga boyu, [http://en.wikipedia.org/wiki/File:EM\\_spectrum.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:EM_spectrum.svg), Erişim tarihi: 23.02.2014.
144. Odabaş ME. Vital pulpa tedavilerinde lazer uygulaması. *GÜ Diş Hek Fak Derg.* 2011;28:51-58.
145. Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dent Clin North Am.* 2004;48:751-770.
146. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2004;36:59-97.
147. Rossmann JA, Gottlieb S, Koudelka BM, MJ McQuade. Effects of CO2 laser irradiation on gingiva. *J Periodontol.* 1987;58:423-425.
148. Kahraman SA. Low-level laser therapy in oral and maxillofacial surgery. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2004;16:277-288.
149. Tokonabe H, Kouji R, Watanabe H, Nakamura Y, Matsumoto K. Morphological changes of human teeth with Er:YAG laser irradiation. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17:7-12.
150. DenBesten PK, White JM, Pelino J. The safety and effectiveness of an er: yag laser for caries removal and cavity preparation in children. *Med Laser Appl.* 2001;16:215-222.

151. Raffetto N, Gutierrez T. Lasers in periodontol therapy. A five-year retrospective. *J CDHA*. 2001;16:17–20.
152. White JM, Goodis HE, Rose CM. Use of the pulsed Nd: YAG laser for intraoral soft tissue surgery. *Lasers Surg Med*. 1991;11:455-461.
153. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications. *Aust Dent J*. 1997;42:302-306.
154. Soares DM, Ginani F, Henriques AG, Barboza CA. Effects of laser therapy on the proliferation of human periodontal ligament stem cells. *Lasers Med Sci*. 2013 Sep 7. [Epub ahead of print].
155. Walsh LJ, Davis MF, Xu LJ, Savage NW. Relationship between mast cell degranulation and inflammation in the oral cavity. *J Oral Pathol Med*. 1995;24:266-272.
156. Walsh LJ. Mast cells and oral inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14:188-198.
157. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88:4220-4224.
158. Walsh LJ. Ultraviolet B irradiation of skin induces mast cell degranulation and release of tumour necrosis factor-alpha. *Immunol Cell Biol*. 1995;73:226-233.
159. Walsh LJ, Kaminer MS, Lazarus GS, Lavker RM, Murphy GF. Role of laminin in localization of human dermal mast cells. *Lab Invest*. 1991;65:433-440.
160. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. *Photochem Photobiol*. 1994;59:167-170.
161. Bisht D, Mehrotra R, Singh PA, Atri SC, Kumar A. Effect of helium-neon laser on wound healing. *Indian J Exp Biol*. 1999;37:187-189.
162. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg Med*. 1997;20:56-63.

163. Lyons RF, Abergel RP, White RA, Dwyer RM, Castel JC, Uitto J. Biostimulation of wound healing in vivo by a helium-neon laser. *Ann Plast Surg.* 1987;18:47-50.
164. Marei MK, Abdel-Meguid SH, Mokhtar SA, Rizk SA. Effect of low-energy laser application in the treatment of denture-induced mucosal lesions. *J Prosthet Dent.* 1997;77:256-642.
165. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg.* 1971;122:532-535.
166. Braverman B, McCarthy RJ, Ivankovich AD, Forde DE, Overfield M, Bapna MS. Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. *Lasers Surg Med.* 1989;9:50-58.
167. Almeida-Lopes L, Rigau J, Zangaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med.* 2001;29:179-184.
168. Skinner SM, Gage JP, Wilce PA, Shaw RM. A preliminary study of the effects of laser radiation on collagen metabolism in cell culture. *Aust Dent J.* 1996;41:188-192.
169. Pourreau-Schneider N, Ahmed A, Soudry M, Jacquemier J, Kopp F, Franquin JC, Martin PM. Helium-neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblasts. *Am J Pathol.* 1990;137:171-178.
170. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38:1103-1111.
171. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37:277-285.
172. Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(2):656-657.

173. 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;11:127-131.
174. Durmaz CE. Ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş yara yeri üzerine standart heparin (Heparin sodyum) ve düşük moleküllü heparinin (Enoksaparin) etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi. 2009, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü, Doktora tezi, 89 sayfa, Ankara, (Doç. Dr. Necdet Doğan).
175. D'Arcangelo C, Di Nardo Di Maio F, Prosperi 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;103:764-773.
176. Chinpairoj S, Feldman MD, Saunders JC, Thaler ER. A comparison of monopolar electrosurgery to a new multipolar electrosurgical system in a rat model. *Laryngoscope.* 2001;111:213-217.
177. 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;108:373-380.
178. Firat ET, Dag A, Gunay A, Kaya B, Karadede MI, Ersoz Kanay B, Ketani A, Evliyaoglu O, Uysal E. The effect of low-level laser therapy on the healing of hard palate mucosa and the oxidative stress status of rats. *J Oral Pathol Med.* 2014;43:103-110.
179. Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg.* 2005;31:334-340.
180. Conlan MJ, Rapley JW, Cobb CM. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. *J Clin Periodontol.* 1996;23:492-496.
181. Cohen IK and BA Mast. Models of wound healing. *J Trauma.* 1990;30:S149-55.

182. Camacho-Alonso F, Lopez-Jornet P, Bermejo-Fenoll A. 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;100:58-63.
183. Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Lasers Surg Med.* 1992;12:441-449.
184. Fahimipour F, Mahdian M, Houshmand B, Asnaashari M, Sadrabadi AN, Farashah SE, Mousavifard SM, Khojasteh A. The effect of He-Ne and Ga-Al-As laser light on the healing of hard palate mucosa of mice. *Lasers Med Sci.* 2013;28:93-100.
185. Wlaschek M, Scharffetter-Kochanek K. Oxidative stress in chronic venous leg ulcers. *Wound Repair Regen.* 2005;13:452-461.
186. Sen CK, Roy S. Redox signals in wound healing. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1780:1348-1361.
187. D'Autréaux B, Toledano MB. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ros homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8:813-824.
188. Roy S KS, Nallu K, Hunt TK, Sen CK. Dermal wound healing is subject to redox control. *Mol Ther.* 2006;13:211-220.
189. Cerutti PA, Trump BF. Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells.* 1991;3:1-7.
190. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;91:31-38.
191. Usume A, Cengiz B, Oztuzcu S, Demir T, Aras MH, Gutknecht N. Effects of laser irradiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci.* 2013 May 1 [Epub ahead of print].
192. Kar P, Laight D, Shaw K, Cummings M. Flavonoid-rich grapeseed extracts: a new approach in high cardiovascular risk patients? *Int J Clin Pract.* 2006;60:1484-1492.

193. Ray S, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, Preuss HG, Stohs SJ. Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2001;109:165-197.
194. Bagchi D, Garg A, Krohn R, Bagchi M, Bagchi D, Balmoori J, Stohs S. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1998;30:771-776.
195. Ye X, Krohn R, Liu W, Joshi S, Kuszynski C, McGinn T, Bagchi M, Preuss H, Stohs S, Bagchi D. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem*. 1999;196:99-108.
196. Khanna S, Roy S, Bagchi D, Bagchi M, Sen CK. Upregulation of oxidant-induced VEGF expression in cultured keratinocytes by a grape seed proanthocyanidin extract. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;31:38-42.
197. Khanna S, Venojarvi M, Roy S, Sharma N, Trikha P, Bagchi D, Bagchi M, Sen CK. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002;33:1089-1096.
198. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med*. 1985;5:31-39.
199. Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med*. 1995;16:331-342.
200. Basford J. The clinical and experimental status of low-energy laser therapy. *Crit Rev Phys Rehabil Med*. 1989;1:1-9.
201. Carvalho PT, Mazzer N, dos Reis FA, Belchior AC, Silva IS. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2006;21:177-183.

202. Hansen HJ, U Thorøe. Low power laser biostimulation of chronic oro-facial pain. A double-blind placebo controlled cross-over study in 40 patients. *Pain*. 1990;43:169-179.
203. Sun G, Tunér J. Low-level laser therapy in dentistry. *Dental Clinics of North America*. 2004;48:1061-1076.
204. Miyata H, Genma T, Ohshima M, Yamaguchi Y, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Otsuka K. Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated protein kinase activation of cultured human dental pulp cells by low-power galliumaluminium-arsenic laser irradiation. *Int Endod J*. 2006;39:238-244.
205. Thawer HA, Houghton PE. Effect of laser irradiation on the growth and development of fetal mouse limbs in an in vitro model. *Lasers Surg Med*. 1999;24:285-295.
206. Silveira PC, Silva LA, Fraga DB, Freitas TP, Streck EL, Pinho R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low level laser therapy. *Photochem Photobiol* 2009;95:89-92.
207. Reis SR, Medrado AP, Marchionni AM, Figueira C, Fracassi LD, Knop LA. Effect of 670-nm laser therapy and dexamethasone on tissue repair: a histological and ultrastructural study. *Photomed Laser Surg*. 2008;26:307-313.
208. de Moraes NC, Barbosa AM, Vale ML, Villaverde AB, de Lima CJ, Cogo JC, Zamuner SR. Anti-inflammatory effect of low-level laser and light-emitting diode in zymosan-induced arthritis. *Photomed Laser Surg*. 2010;28:227-232.
209. Qadri T, Miranda L, Tuner J, Gustafsson A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. *J Clin Periodontol*. 2005;32:714-719.
210. Carrinho PM, Renno AC, Koeke P, Salate AC, Parizotto NA, Vidal BC. Comparative study using 685-nm and 830-nm lasers in the tissue repair of tenotomized tendons in the mouse. *Photomed Laser Surg*. 2006;24:754-758.
211. Nagashima T, Kidokoro H, Isigaki H. Intra-arterial infusion of PGE1 in peripheral arterial disease. *J Gendai Iryou*. 1982;14:1000-1013.



212. Kami T. Improvement of flap survival by application of hypobaric oxygen training. *Keio J Med.* 1990;39:6-13.
213. Schindl A, Merwald H, Schindl L, Kaun C, Wojta J. Direct stimulatory effect of low-intensity 670 nm laser irradiation on human endothelial cell proliferation. *Br J Dermatol.* 2003;148:334-336.
214. Goncalves RV, Novaes RD, Cupertino Mdo C, Moraes B, Leite JP, Peluzio Mdo C, Pinto MV, da Matta SL. Time-dependent effects of low-level laser therapy on the morphology and oxidative response in the skin wound healing in rats. *Lasers Med Sci.* 2013;28:383-390.
215. Corazza AV, Jorge J, Kurachi C, Bagnato VS. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. *Photomed Laser Surg.* 2007;25:102-106.
216. Fukushima K, Badlani N, Usas A, Riano F, Fu FH, Huard J. The use of an antifibrosis agent to improve muscle recovery after laceration. *The American journal of sports medicine.* 2001;29:394-402.
217. Al-Watban FA, Andres BL. Polychromatic LED therapy in burn healing of non-diabetic and diabetic rats. *J Clin Laser Med Surg.* 2003;21:249-258.
218. Stadler I, Lanzafame RJ, Evans R, Narayan V, Dailey B, Buehner N, Naim JO. 830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model. *Lasers Surg Med.* 2001;28:220-226.
219. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. *Lasers Surg Med.* 1998;22:281-287.
220. Silveira PCL, Silva LA, Freitas TP, Latini A, Pinho RA. Effects of low-power laser irradiation (LPLI) at different wavelengths and doses on oxidative stress and fibrogenesis parameters in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci.* 2011;26:125-131.
221. Saygun I, Karacay S, Serdar M, Ural AU, Sencimen M, Kurtis B. Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like

- growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. *Lasers Med Sci.* 2008;23:211-215.
222. Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B.* 2007;89:50-55.
223. Liu XG, Zhou YJ, Liu TC, Yuan JQ. Effects of low-level laser irradiation on rat skeletal muscle injury after eccentric exercise. *Photomed Laser Surg.* 2009;27:863-869.
224. Musalmah M, Fairuz AH, Gapor MT, Ngah WZ. Effect of vitamin E on plasma malondialdehyde, antioxidant enzyme levels and the rates of wound closures during wound healing in normal and diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2002;11(Suppl 7):448-451.
225. Ozkan G, Ulusoy S, Alkanat M, Orem A, Akcan B, Ersoz S, Yulug E, Kaynar K, Al S. Antiapoptotic and antioxidant effects of GSPE in preventing cyclosporine A-induced cardiotoxicity. *Ren Fail.* 2012;34:460-466.
226. Ulusoy S, Ozkan G, Yucesan FB, Ersöz Ş, Orem A, Alkanat M, Yuluğ E, Kaynar K, Al S. Anti-apoptotic and anti-oxidant effects of grape seed proanthocyanidin extract in preventing cyclosporine A-induced nephropathy. *Nephrology.* 2012;17:372-379.
227. Ulusoy S, Ozkan G, Ersoz S, Orem A, Alkanat M, Yucesan FB, Kaynar K, Al S. The effect of grape seed proanthocyanidin extract in preventing amikacin-induced nephropathy. *Ren Fail.* 2012;34:227-234.
228. Joshi SS, Kuszynski CA, Bagchi M, Bagchi D. Chemopreventive effects of grape seed proanthocyanidin extract on Chang liver cells. *Toxicology.* 2000;155:83-90.
229. Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D, Das DK. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 1999;31:1289-1297.

230. Asha Devi S, Sagar Chandrasekar BK, Manjula KR, Ishii N. Grape seed proanthocyanidin lowers brain oxidative stress in adult and middle-aged rats. *Exp Gerontol.* 2011;46:958-964.

## EKLER

### Ek 1: Yerel etik kurul karar metni

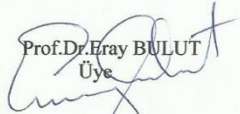

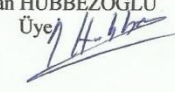

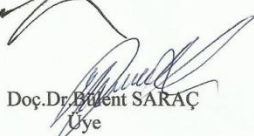
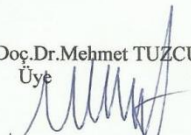
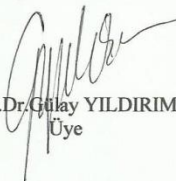

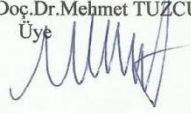
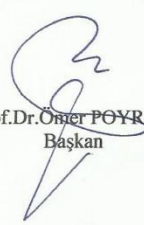
**T.C.**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

Sayı : B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/ 82 07.11.2013  
Konu : Etik Kurul Kararı hk.

Sayın  
Doç.Dr.Mutan Hamdi ARAS  
Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.11.2013 tarihinde Prof.Dr.Ömer POYRAZ başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Doç.Dr. Mutaf Hamdi ARAS'ın yürüttüğü yapmış olduğu 04.11.2013 tarih ve 400 sayılı "Üzüm çekirdeği ekstresi (Vitis Vinifera) ve düşük doz lazer tedavisinin (DDL) ağız içi yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histomorfometrik olarak incelenmesi" isimli Doktora Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

 Prof.Dr.Eray BULUT Üye	 Prof.Dr.Mustafa TURAN Üye	 Doç.Dr.İhsan HUBBEZOĞLU Üye
 Doç.Dr.Zübeyda AKIN POLAT Üye	 Doç.Dr.Bülent SARAÇ Üye	 Doç.Dr.Mehmet TUZCU Üye
 Yrd.Doç.Dr.Gülşay YILDIRIM Üye	 Yrd.Doç.Dr.Hakan İŞİDAN Üye	 Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN Üye – Başkanvekili
Semiha EKİNCİ Sivil Üye		Turhan DUYMUŞ Sivil Üye
	 Prof.Dr.Ömer POYRAZ Başkan	

## ÖZGEÇMİŞ

16.01.1984 yılında BİLECİK/Bozüyük'te doğdum. İlkokul eğitimimi Tunçbilek 60. Yıl Işık İlköğretim Okulu'nda, ortaokul ve lise eğitimimi ise Tavşanlı Anadolu Lisesi ve Bozüyük Mustafa Şeker Anadolu Lisesi'nde tamamladım. Lisans eğitimime 2003 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde başlayarak 2008 yılında mezun oldum. Mezuniyet sonrası doktora eğitimine başlayana kadar Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi kliniğinde volenter olarak bulundum. Doktora eğitimime 2010 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalında başladım. 2009 yılında Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne Araştırma Görevlisi olarak atanarak görevimi sürdürmekteyim.