

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANA BİLİM DALI**

**YANIKTA STAZ ZONUNUN KURTARILMASINDA
PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PRP) NİN ETKİNLİĞİ**

Uzmanlık Tezi

Dr.Alper URAL

Trabzon- 2015

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANA BİLİM DALI**

**YANIKTA STAZ ZONUNUN KURTARILMASINDA
PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PRP) NİN ETKİNLİĞİ**

Uzmanlık Tezi

**Dr.Alper URAL
TEZ Danışmanı: Doç. Dr. Muhammet URALOĞLU**

Trabzon - 2015

ÖNSÖZ

“Yanıkta staz zonunun kurtarılmasında PRP'nin etkinliği ” adlı uzmanlık tezi Karadeniz Teknik Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma laboratuvarında 10.06.2014 tarih ve 03 sayılı etik kurul kararı ile etik kurul onayı alınıp çalışmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada tavşanlarda deneysel yanık modeli oluşturulup uygulanan PRP tedavisinin akut yanıkta staz zonunu kurtamada ve iyileşmede etkileri araştırılmıştır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, akut yanıkta PRP tedavisinin standart tedaviye geçiş için yeterli sayıda bilimsel çalışma olmadığı görüldü. Bu çalışmanın akut yanık tedavisinde PRP'nin standart tedavi yöntemleri arasında gösterilebilmesi için yapılmış ön çalışma olacağını düşünmekteyiz.

Uzmanlık eğitimim boyunca her türlü destek ve yardımlarını gördüğüm, başta Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Naci Karaçal'a, sevgili hocam Doç. Dr. Murat Livaoglu'na, tez danışmanım olan ve bana mikrocerrahiyi sevdiren sevgili hocam Doç. Dr. Muhammet Uraloğlu olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, bugünlere gelmemde en fazla emeği olan sevgili anneme ve babama, kardeşim Burcu'ya, her an ve her konuda yanımda olan sevgili eşim Dilan'a sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

YANIKTA STAZ ZONUNU KURTARMADA PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PRP) NİN ETKİNLİĞİ

Yanık; geçmişten bugüne insanlığın en büyük problemlerinden biri olmuştur. Yanık tedavisi zor, yüksek maliyetli ve hastalar için ağrılıdır. Yanık ayrıca kalıcı kötü kozmetik izlere yol açmakta ve ciddi iş gücü kaybına neden olmaktadır. Yanık patofizyolojisindeki gelişmelere bağlı olarak yanık ciltte oluşan yanık zonları tarif edilmiş ve tedaviler buna göre şekillenmeye başlamıştır. Bu zonlar; koagulasyon, staz ve hiperemi zonedur. Hiperemi zonu normalde kendiliğinden iyileşebilen zonedur. Koagulasyon zonedunun tedavisi debridman ve oluşan defektin deri grefti ile onarımıdır. İlk 24-48 saatte yanık tedavisi iyi yönetilirse staz zonu kurtarılabilir; aksi takdirde nekroze olur. İlerleyen iskemi, inflamasyon ve apoptozisin staz zonunda nekroza yol açtığı iyi bilinmektedir. Büyüme faktörleri ile fibroplazi, epitelizasyon ve neovaskülarizasyonu arttıran; antiinflamatuvar özellikler gösteren plateletten zengin plazma (PRP) bu çalışmada kurtarıcı ajan olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada; 20 adet Yeni Zelanda türü dişi tavşan kullanıldı. Her bir grupta on tavşan olacak şekilde iki gruba ayrılan tavşanların sağ kulaklarına kaynar suda 15 dk bekletilerek ısıtılmış pirinç plaklar 20 sn süre dokundurularak yanık oluşturuldu. Deney grubundaki tavşanların sağ kulaklarında staz zonlarına tek doz PRP enjekte edilirken; diğer gruptaki tavşanlara aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edildi. Yanık sonrası 72. saatte sintigrafik değerlendirmeyi takiben tavşanların sağ kulakları immünohistokimyasal inceleme için eksize edildi. Histopatolojik olarak reepitelizasyon, nötrofil infiltrasyonu, fibroblast proliferasyonu, anjiogenez, makrofaj dansitesi, apoptozis oranlarının ölçümü ve Image J programı ile staz zonu alan ölçümleri yapıldı. Histopatolojik sonuçlar ve fotoanaliz sonuçları Mann Whitney U ve student-T testleri ile değerlendirildi. Deney grubunda staz zonu alan ölçümleri, reepitelizasyon, nötrofil infiltrasyonu, fibroblast proliferasyonu ve apoptozis oranları yönlerinden anlamlı bulundu.

Akut yanıkta PRP uygulaması staz zonunda anti-apoptotik ve anti-inflamatuar etki göstermiştir. Staz zonunun kurtarılmasında PRP epitelyal dokuda ve bağ dokusunda yüksek rejenerasyon sağlamıştır. Sonuç olarak; PRP tedavisinin apoptozisi ve inflamasyonun yıkıcı etkilerini azaltarak staz zonunun kurtarılmasında anlamlı etkinlik göstermiştir. PRP ileri çalışmalarla değerlendirildikten sonra klinik kullanımda yer alacaktır.



SUMMARY

THE EFFICIENCY OF PLATELET RICH PLASMA (PRP) ON SALVAGING ZONE OF STASIS IN BURNS

Burn has been one of the most important problems of mankind since early ages. Burn treatment is complicated, expensive, and painful for patients. Burn also results in cosmetically undesirable scars and serious lost time injury. According to the development on understanding pathophysiology of burn, zones are described. Based on these zones, burn treatment is configured. These zones are coagulation, stasis and hyperemia zones. The hyperemia zone can heal without any treatment. The coagulation zone should be debrided and grafted over the skin defect. The appropriate management of the stasis zone in the first 24-48 hours results in full recovery. If this can not be achieved, necrosis can occur as a result of prolonged ischemia, inflammation and apoptosis.

In this study platelet rich plasma (PRP) is used as a savior agent which reduces inflammation and enhances fibroplasia, epithelization and angiogenesis in the presence of growth factors. 20 New Zealand type female rabbits were used. They were divided into two groups, each consisting of ten rabbits. The brass comb, which had gained adequate heat in boiling water for 15 minutes, pressed onto each rabbit's right auricula for 20 seconds to burn them in a pattern. Single dose of autogenous PRP was injected to stasis zone of experimental group while saline at the same amount was injected to sham group. After 72 hours of burn trauma; scintigraphic examination was carried out. Subsequently, rabbits' burnt ears were excised for immunohistochemistry assay. Histopathologic examination of reepithelization, neutrophil infiltration, fibroblast proliferation, angiogenesis and macrophage density were performed and apoptotic ratios were measured. Stasis zone area was also calculated by using the programme Image J for photoanalysis. The results were evaluated by Mann Whitney U and student-T tests.

In the experimental group the vital areas of salvaged stasis zone, reepithelization, neutrophil infiltration, fibroblast proliferation and apoptotic ratios were statistically significant compared to sham group. Application of PRP on stasis zone has shown anti-apoptotic and anti-inflammatory effects in acute burn. In

salvage of stasis zone, PRP had maintained considerable epithelial and connective tissue regeneration.

In conclusion, PRP treatment is significantly effective in salvage of stasis zone by preventing the destructive effects of inflammation and decreasing apoptosis. PRP will take part in clinical practice after evaluating with further studies.

Keywords: Burn, stasis zone, PRP



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	II
SUMMARY.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
RESİMLER DİZİNİ.....	X
TABLOLAR DİZİNİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yanık tanımı.....	3
2.1.2. Yanık tarihçesi.....	3
2.1.3. Yanık epidemiyolojisi ve etiyolojisi.....	4
2.1.4.1. Derinin anatomisi.....	5
2.1.4.2. Yanık yarasının derecesinin belirlenmesi.....	6
2.1.4.3 Yanık Genişliğinin Belirlenmesi.....	8
2.1.5. Yanıkta Oluşan Zonlar.....	9
2.1.6. Yanık Patofizyolojisi.....	9
2.2. Yanıkta Sistemik Değişiklikler.....	11
2.3. Yara iyileşmesi.....	14
2.4. Yanık Tedavisi.....	19
2.5. PRP.....	22
2.5.1. PRP'nin tanımı ve tarihçesi.....	22
2.5.2. PRP'nin etki mekanizması teorileri.....	22
2.5.3. PRP'nin Kullanıldığı Alanlar.....	25
2.5.4. PRP'nin Hazırlanışı ve Uygulama Şekli.....	26
2.5.5. PRP'nin Kontrendike Olduğu Durumlar.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Standart Hazırlık.....	28
3.2. Deney ve Kontrol Grupları.....	29
3.3. PRP Hazırlanışı.....	29
3.4. Cerrahi Teknik.....	35

3.5.Değerlendirme Yöntemleri.....	40
4. BULGULAR	45
4.1. Fotoanaliz bulguları	45
4.2. Histopatolojik bulgular	55
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ	70
7.KAYNAKLAR	71



KISALTMALAR

PRP: Platelet rich plasma (Plateletten zengin plazma)

TZP: Trombosit zengin plazma

PPP: Platelet poor plasma(Plateletten fakir plazma)

PDGF; Platelet derived growth factor (Trombosit eldesi büyüme faktörü)

PNL; Polimorf nüveli lökosit

IL: İnterlökin

PAF: Platelet activating factor(Platelet aktive edici faktör)

KGF: Keratinosit growth factor

TNF; Tumor necrosis factor (tümör nekroz faktör)

TGF; Transforming growth factor (transforme edici büyüme faktörü)

VEGF; Vasküler Endotelyal Growth Faktör

IGF: Insulin like growth factor(İnsulin benzeri büyüme faktörü)

bFGF: Basic Fibroblast Growth Faktör

HGF: Hepatosit growth faktör

DNA: Deoksiribonükleik asit

IFN: İnterferon

ECM: Ekstraselüler matriks

MMP: Matriks metalloproteinaz

MT-MMP: Membran tipi MMP

TIMP: Tissue inhibitor of metalloproteinaz (metalloproteinaz doku inhibitörü)

GIS: Gastrointestinal sistem

CD: Cluster of differentiation(Hücre yüzey reseptörü)

CRP: C-reaktif protein

TVYYA: Total vücut yanık yüzdesi alanı

HRGP: Histidin rich glikoprotein(Histidinden zengin glikoprotein)

ECGF: Endotelial cell growth factor(Endotelyal hücre büyüme faktörü)

CTAP: Connective tissue activating protein(Bağ doku aktive edici protein)

NAP: Nötrofil aktive edici peptid

MRSA: Metisiline rezistan stafilokokkus aureus

TUNEL: Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP nick end labeling

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1: Derinin anatomik ve histolojik yapısı
Şekil-2: Wallace'ın 9'lar kuralı ve Lund-Browder şeması
Şekil-3: Jackson'a göre yanık zonları
Şekil-4: Yanıklı hastada metabolik değişiklikler
Şekil-5: Trombosit granüllerinin içerikleri
Şekil-6: PRP'deki büyüme faktörleri



RESİMLER DİZİNİ

- Resim-1: Her iki grup bazal trombosit değeri ölçümleri için alınan örnekler
- Resim-2: Anestezi altında Yeni Zelanda tipi dişi tavşan deney öncesi
- Resim-3: Anestezik olarak kullanılan Ksilazin ve Ketamin
- Resim-4: PRP kiti
- Resim-5: Plateletten zengin plazma aktivatörü
- Resim-6: Santrifüj Cihazı
- Resim-7: PRP tüplerinin santrifüj cihazına yerleştirilmesi
- Resim-8: Santrifüj sonrası PRP tüpü ve plateletten zengin plazmanın ayrıştırılması
- Resim-9: Elde edilen plateletten zengin plazma ve aktivasyonu
- Resim -10: Yanık oluşturulan pirinç çubuk
- Resim-11: Yanık oluşturulması işlemi
- Resim-12: Yanık oluşturulmuş sağ kulak
- Resim-13: Tavşanın kulağından kan alınması
- Resim-14: SF grubunda staz zonuna serum fizyolojik intradermal enjeksiyonu
- Resim-15: Deney grubunda staz zonuna PRP intradermal enjeksiyonu
- Resim -16: Milimetrik cetvel yardımıyla Image-J ile kalibrasyon yapılması
- Resim-17: Staz zonu alanlarının Image-J kullanılarak hesaplanması
- Resim-18: Tavşanlara 72.saatte sintigrafi çekilmesi
- Resim -19: SF grubu 1 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -20: SF grubu 2 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -21: SF grubu 3 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -22: SF grubu 4 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -23: SF grubu 5 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -24: SF grubu 6 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -25: SF grubu 7 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -26: SF grubu 8 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -27: SF grubu 9 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim -28: SF grubu 10 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim-29: PRP grubu 1 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim-30: PRP grubu 2 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni
- Resim-31: PRP grubu 4 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-32: PRP grubu 5 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-33:PRP grubu 6 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-34: PRP grubu 7 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-35: PRP grubu 8 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-36: PRP grubu 9 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-37: PRP grubu 10 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

Resim-38: A: S grubu; B: P grubu. Epitel (↑), Subepiteliyal nötrofil infiltrasyonu

Resim-39: S grubuna ait mikrofotograf. Bağ dokusunda azalma (↑), nötrofil infiltrasyonu

Resim-40: A: S grubu; B: P grubu. Apoptotik epitel hücreler

Resim -41: A: S grubu; B: P grubu. Apoptotik bağ dokusu hücreleri (▲), normal fibroblast hücreleri

TABLolar DİZİNİ

Tablo-1: Her iki grubun bazal trombosit değerleri ve elde edilen plateletten zengin plazmadaki trombosit değerleri

Tablo-2: Her iki gruptaki histopatolojik veriler, staz zonu alanı ve apoptozis oranları

Tablo-3: Her iki grup arasındaki histopatolojik farklılıkların grafiği

Tablo-4: Her iki grup epitelyum ve bağ dokusundaki apoptozis yüzdeleri farkı grafiği

Tablo-5: Her iki grupta kurtarılan ortalama staz zonu alanları farklılıkları grafiği



1.GİRİŞ

Yanık en sık karşılaşılan, en önemli fiziksel ve psikolojik travmalardan biridir. Yarattığı sosyal ve ekonomik problemlerle ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Organizmanın bölgesel olarak sıcak yanıcı veya yakıcı bir madde ile temas etmesiyle oluşur. Genellikle ısı, elektrik, kimyasal maddeler, radyasyon gibi etmenlerle oluşur. Yanığın ciddiyeti yanığa maruz kalma süresine, yakıcı maddenin şiddetine, ısısına, konsantrasyonuna ve dokunun direncine bağlıdır (1).

Yanık hemen her zaman deri ve deri katlarını içeren, bazen de vücudun diğer organlarını hasara uğratan bir yaralanma türüdür. Hastaların tedavisi çok disiplinli bir yaklaşım gerektirir. Yanık şiddetine göre aylar sürebilecek tedavi sürecinde, genel cerrahi, yoğun bakım, plastik ve rekonstrüktif cerrahi, fizik tedavi ve psikiyatri gibi birçok bilim dalının ortak çabası gerekir (2).

Jackson yanığı destrüksiyonun şiddeti ve kan akımı değişimlerini baz alarak üç farklı alana ayırmıştır(3). Santraldeki koagülasyon zonu koagülasyon nekrozu ile karakterizedir. Santral zonu çevreleyen orta zon staz zonu olarak isimlendirilmiştir. En dış tabaka ise artmış kan akımını içeren hiperemi zonudur ve doku hasarına karşı oluşan inflamatuvar cevabı temsil eder. Yanık sonrası doku hasarının bu paterni en azından 24-48 saat hatta daha uzun süre devam eder. Yanık patofizyolojisinin iyi anlaşılıp staz zonunun kurtarılması yanık alanının potansiyel derinliği ve genişliğini azaltarak mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde düşürecektir(3).

Yanığın erken evresinde staz zonundaki bu değişiklikler geri dönüşümlüdür. Staz zonunun 24 saat sonra dermal iskeminin ilerleyici karakterine bağlı olarak nekroza uğraması dikkatleri buraya çekmiştir. Bu zondaki patolojik değişiklikler durdurulabilirse, ikinci derece yanıkların ya da tam hasara uğramamış yanık cildin nekroze olması önlenir. Bu zonu kurtarmak için birçok farmakolojik ajan araştırılmıştır ve birçoğu da deneme aşamasındadır.

Staz zonunun patofizyolojisi üzerindeki araştırmalar geri dönüşümsüz doku nekrozunun 1-48.saatler arasındaki ilerleyen hipoksi ve iskemi sonucu bu ara zonun total doku kaybı ile sonuçlandığını göstermiştir(4). Bu zondaki doku hasarının yanığın erken evresinde geri dönüşümlü doğası olmasından dolayı yanığın ilk saatlerinden başlayarak ilerleyen iskemiye engellemek hedefi ile araştırmalar bu

zonun kurtarılmasına odaklanmıştır. Deneysel çalışmalarda bu zonun kurtarılmasında antitrombolitik, antikoagulan, antiinflamatuvar ve antioksidan ajanlar kullanılmıştır.

Trombositten Zengin Plazma (PRP) kolay ve nispeten maliyeti düşük ayrıca otojen elde edilebilmesi nedeniyle düşük riskli olan bir uygulamadır. Bu uygulama trombositlerin içerdiği granüllerde bulunan büyüme faktörlerinin etkisinden yararlanmaya çalışır. PRP trombositlerin yoğunlaştırılması ardından kontrollü bir şekilde aktiflenmeleri sonucunda ortama bu faktörleri salmaları esasına dayanan biyolojik bir yöntemdir. PRP içerisinde bulunan büyüme faktörlerinden, platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforming büyüme faktörü (TGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), insülin kaynaklı büyüme faktörü-I (IGF-I), platelet faktör 4 (PF-4) trombosit aktive edici faktör (PAF) başta gelenlerdir (5).

Son yıllarda birçok dokunun iyileşmesinde olumlu etkileri sebebiyle ortopedi, maksillofasial cerrahi başta olmak üzere birçok bölümde kullanılmaya başlayan bu yöntemin özellikle büyüme faktörleri arasından PDGF, FGF, VEGF, KGF ve EGF'nin hem deneysel çalışmalarda hem de klinik çalışmalarda yanık yarasının iyileşme oranını ve hızını arttırdığı gösterilmiştir (6,7).

Bu çalışmada plateletten zengin plazmanın akut yanıkta oluşan staz zonunda iyileşme üzerindeki etkilerini araştırmak ve nekroza dönmeden kurtarılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.1 Yanık Tanımı

Organizmanın bölgesel olarak sıcak veya yanıcı, yakıcı bir materyalle temas etmesi sonucu oluşan doku hasarına yanık denir. Isı, elektrik, kimyasal maddeler ve radyasyon gibi etkenlerin enerjisi ile dokuların dayanabileceğinden fazla miktarda karşılaşması sonucu gelişen koagülasyon nekrozudur. Dokunun gördüğü zarar ve oluşacak yanığın şiddeti, maruz kalınan yanıcı ve yakıcı materyalin miktarı, temas süresi, ısı, konsantrasyonunun yüksekliği ve dokunun direnci ile orantılıdır(8).

Yanığın etkilediği yere ve derinliğine bağlı olarak şok, enfeksiyon, elektrolit imbalansı ve respiratuar yetmezlik gibi komplikasyonlara sebep olabilir. Fiziksel komplikasyonların ötesinde uzun dönem hastanede yatış, skarlar ve deformiteler nedeniyle de ciddi psikolojik ve duygusal sorunlara neden olabilir(9).

2.1.2 Yanık Tarihçesi

Yanık ile ilgili ilk bulgular 3500 yıl kadar önce mağara adamlarının mağaradaki resimlerinde bulunmuştur. M.Ö.1500'deki Mısır papirüsleri bal ve reçine karışımı merhem kullanıldığı gösterilmiştir. M.Ö.600'de Çinliler çay yaprakları özütleri ve karışımlarını kullanmışlardır. Bundan yaklaşık iki yüz yıl sonra Hipokrat erimiş yağ ve reçine ile yoğrulmuş pansumanları önermiştir. Ambroise Pare (M.S. 1510-1590) ortaçağ simyasına ait kremler önermiş ve yanık için erken yara eksizyonu işlemini tanımlamıştır. Guilhelmus Fabricius Hildanus 1607 yılında yanık patofizyolojisini tartıştığı ve kontraktür tedavisi için çok değerli katkılar içeren 'De Combustionibus'u yayınlamıştır. 1797'de Edward Kentish yanık ağrısını hafifletmek ve bül oluşumunu azaltmak amacıyla baskılı giysi kullanımını tarifleyen bir deneme yayınlamıştır. 1944 yılında Lund ve Browder yanan yüzey alanlarını ölçmüşler ve hekimlerin kolayca çizip yanık yüzdesini sayısal olarak tanımlayabileceği şemalar geliştirmişlerdir. 1946'da Dr.Oliver Cope ve Dr. Francis Moore hücreler arası boşluğun majör sıvı kaçağı olan alan olduğunu tespit ederek TVYYA'na göre verilmesi gereken sıvı miktarını formüle etmişlerdir(10). Modern anlayışa uygun yanık tedavisine 2.Dünya savaşı sonrasında başlanmış; modern yanık merkezlerinin oluşturulması ile yanık tedavisinde önemli aşamalar kaydedilmiştir(1). İlk yanık hastanesi 1850 yılında Edinburg'da, Burn House adı ile açılmış ve yanık tedavisinde araştırma amacıyla değişik yöntemler kullanılmıştır. 1947 de ABD de Brook Army

Hospital ve Army Burn Center of the Surgical Reseach Unit'in açılması ile yanıklarla ilgili kapsamlı araştırmalar başlamıştır(11). 1967'de tanımlanan erken tanjansiyel eksizyon ve greftleme kısa sürede yaygın olarak kullanılmaya başlanmış; Jackson ve Shore'nin geliştirdiği yeni yöntemlerle mortalite azaltılmıştır. Bu gelişmeler sonucunda 25-30 yıl önce %50 yanıklı hastada mortalite riski %50'nin üzerinde iken bu oran günümüzde %10'un altına düşmüştür (12).

2.1.3 Yanık Epidemiyolojisi ve Etyolojisi

Tüm dünyada bir yılda yanığa bağlı yaklaşık 265.000 ölüm görölmektedir. Ölümcül yanıkların %90'ından fazlası gelişmekte olan ya da düşük ve orta gelirli ölkelerde gözlenmektedir(13).Ölkemizde 1996 Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre yılda ortalama 70.000 kişi yanık nedeni ile hastanelere başvurmakta; ortalama 200 kişi de yanık nedeni ile ölmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise her yıl 2 milyon kişi yanık nedeni ile hastanelere başvurmakta,75.000 hasta major yanık nedeni ile hastaneye yatmakta ve 14.000 kişi bu nedenle ölmektedir. Ölkemizde yanık epidemiyolojisi ile ilgili ulusal veri yoktur. Dr. Yılmaz ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları alan taraması ile yanık insidansının hesaplanmasında Sivas bölgesinde yanık insidansı binde 3,7 olarak bulunmuş, 7 yaş ve altı çocuklarda bu oran daha yüksek olarak saptanmıştır(14). Dr.Çiftçi ve arkadaşlarının orta Anadolu daki hastalar üzerinde yaptığı retrospektif çalışmada olguların çoğunluğunu (%44,6) 0-5 yaş arası çocukların oluşturduğunu ve en sık sebebin (%54.1) sıcak sıvı ile oluşan haşlanma yanıkları olduğunu bildirmiştir (15).

Yanık nedenleri 7 grupta sınıflandırılabilir. Güneşle temas, sıcak su, yağ veya buharla haşlanma, sıcak bir yüzeyle temas, alevle temas, kimyasal madde, elektrik, radyasyon yanıkları. Bunların arasında sıcak su ile haşlanma ve alev yanıkları tüm yaş gruplarında en sık görölen yanık nedenleridir. İnsanlar hayatın ilk birkaç yılında veya 20-30 yaş arasındaki dönemde yanıkla daha çok karşılaşmaktadır. Olguların %80'i ev kazaları sonucu gelişir. 5 yaş altındaki çocuklarda tüm yanıkların %75'i haşlanma ile ve çoğunlukla mutfak veya banyoda olur(16). Yetişkinlerde ise parlayıcı sıvılarla alev yanığı daha çok görölür ve mortalitesi yüksektir. Yangınlar, yetişkin yanıklarının %5'inden sorumludur ama ölümlerin %44'ü yangın nedeni ile oluşur. Yetişkinlerde ikinci sırada elektrik yanıkları gelmektedir. Haberal ve ark. ölkemizde çocuklarda yanık nedenlerinin literatüre uygun olduğunu, fakat

erişkinlerde elektrik yanığı oranının literatüre göre daha yüksek olduğunu (%33) ortaya koymuşlardır(17).

60 yaş ve üzeri yaşlılar ile 3 yaş ve altı çocuklar mortalite açısından en ciddi risk gruplarını oluşturmaktadırlar. Yanık olgularında ölüm oranı ortalama %5'dir. Ölüme neden olan yanıklar arasında alev yanıkları ilk sıradadır. Sıvı ile haşlanma ikincil ölüm nedenidir(18). Pediatrik yaş grubunda Dr.Arslan'ın 2005-2009 arasında İstanbuldaki pediatrik yanık popülasyonu üzerindeki çalışmasında mortalite oranları sıklığını sırasıyla en sık alev yanığı (%13,9), elektrik yanığı (%10) ve haşlanma yanıkları (%3,1) olarak bildirmiştir(19).

2.1.4.1 Derinin anatomisi

Üstte epidermis, altta dermisten oluşur. Dermis ile epidermis birleşme yeri papiller uzantılar içerir. Dermis hücre içermeyen bağ doku elemanları bulundurur. Bağ dokusunun arasında sinirler, kan damarları, lenfatikler, kas üniteleri, pilosebase, ekrin ve apokrin üniteler vardır. Dermisin altında pannikulus adipozus denilen içinde yağ hücreleri bulunan gevşek bağ dokusu vardır. Epidermis çok katlı yassı keratinize epitelden ve 5 katmandan oluşur.

1. Stratum bazale: En alt tabakadır. Bu tabakadaki keratinositler mitotik aktiviteden ve epidermin sürekli yenilenmesinden sorumludur. Melanositler nöral krest kökenlidir ve stratum bazale ile stratum spinozum arasında dallanmalar yaparlar.

2. Stratum spinozum: Tonofibril denilen filamentlerle dolu olup sürtünme ile baskıya karşı direnç oluşturur. Stratum bazale ve stratum spinozumun ikisine birden malpigi tabakası denir ve epidermisteki tüm mitozlar bu bölgede olur. Langerhans hücreleri yıldız şekilli hücrelerdir ve özellikle stratum spinozumda bulunurlar. Bunlar kemik iliğinde yapılan makrofajlardır. Antijenleri T lenfositlere tanıtırlar ve immün reaksiyonlarda rol oynarlar.

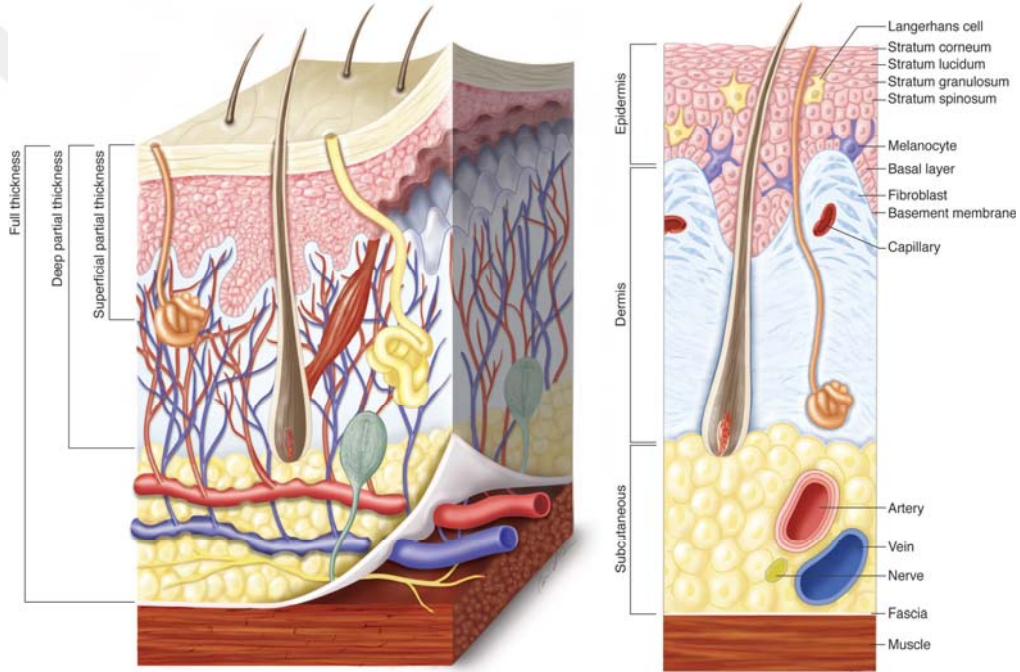
3. Stratum granulozum: Stoplazmalarında keratohiyalin maddesi bulduran hücrelerden oluşur. Ayrıca lameller granüller lipit içerir ve hücreler arası boşlukta bariyer görevi yaparak yabancı maddelerin penetrasyonunu engeller.

4. Stratum lucidum: Derinin daha kalın olduğu el ayası ve ayak tabanı gibi bölgelerde belirginleşen bir tabakadır. Yassı hücrelerden oluşur.

5. Stratum korneum: En üst tabakadır. Stoplazması keratin ile

dolu nükleussuz yassı hücrelerden oluşur. Bu hücreler keratini salgıladıktan sonra boynuzsu hücelere dönüşürler.

Dermis: Papiller dermis ve bunun altında bulunan retiküler dermis katmanlarından oluşur. Dermis derinin dayanıklılığını sağlar ve deri eklerini bir arada tutar. Dermiste kıl folikülleri, ter ve yağ bezleri, damarlar sinirler ve lenfatikler bulunur. Dermisteki hücreler fibroblastlar, mast hücreleri, histiyositler, makrofajlar, endotel hücreleri, lenfositler ve nadir görülen eozinofillerdir. Papiller dermis düzensiz kollajen lifleri, elastik fibriller, fibrositler ve yoğun bir damarsal ağa sahip hücreler arası maddeden oluşur. Fibroblast, mast ve makrofaj hücrelerini içerir. Papiller dermisteki yoğun vasküler ağ epidermisin beslenmesini sağlar.



Şekil -1: Derinin anatomik ve histolojik yapısı

Retiküler dermis daha kalındır, düzensiz bağ dokusundan ve özellikle tip 1 kollajenden oluşur. Papiller dermise nazaran retiküler dermis daha az hücre içerir. Retiküler dermiste bulunan kollajen bantları deriye gerilim kuvveti sağlar. Fibroblastlar kollajen ve elastin üretir. Kollajen ve elastin, deriye gerilmeye karşı dayanıklılık ve esneklik kazandırır.

2.1.4.2 Yanık yarasının derecesinin belirlenmesi

Deri ve deri altı dokularda ulaştığı derinlik seviyesine göre yanığın derecesi belirlenir. Yanığın derecesinin bilinmesi uzun dönem morbidite ve mortalitenin

belirlenmesinde ve tedavi planının doğru yapılandırılmasında çok önemlidir. Yanığın derinliğini erken dönemde belirlemek her zaman mümkün olamamaktadır, doku hasarı genellikle 48-72 saat sonra belirginleşir. Yanık yarasının derinliği değişken patofizyolojik mekanizmalar ve birçok faktöre bağlı olarak artabilir. İlk 3-5 günlük subakut dönemde yüzeysel derinlikte bir yanık derin parsiyel kalınlıkta yanık ya da tam kat yanığa dönüşebilir(20). Yanık derinliğini belirlemek için seri klinik gözlem, ultrasound incelemesi, i.v. floresan verilmesi, termal kamera kullanılması, biyopsi, vital boyalar, lazer doppler flowmetre kullanılabilir. Günümüzde yanık derinliğini belirlemede en çok kabul gören yöntem seri klinik gözlemdir (21). Geleneksel olarak yanık derinliği dört farklı derecede sınıflandırılır.

Birinci derece yanık: Epiderminin yüzeysel tabakasında hasar vardır. Stratum bazale sağlamdır. Salınan histamin/kinin nedeniyle vazodilatasyon ve endotel hücre mobilizasyonu vardır. Klinik olarak; cilt pembe, parlak renkli ve kuru ve ağrılıdır. Nemli pansuman ile 1 hafta içinde sıklıkla hiç skar bırakmadan iyileşir.

İkinci derece yanık: Epiderminin bariyer fonksiyonunun bozulması nedeniyle cilt nemlidir. Dermal sinirlerin ve kan desteğinin hala olması nedeniyle cilt kırmızıya ağarmış ve ağrılıdır. Koagülasyon nekrozu epiderminin tamamında ve kısmen dermiste gözlenir. Dermal tutulum seviyesine göre yüzeysel ya da derin olarak ayrılır. Yüzeysel parsiyel ikinci derece yanıklarda retiküler dermise kadar hasar ilerlemiş iken derin parsiyel ikinci derece yanıklarda retiküler dermis de etkilenmiştir. Subdermal pleksusta konjesyon nedeniyle epidermis ile dermis arasında proteinden zengin sıvı içeren bül oluşur. İkinci derece yüzeysel yanıklar daha hassastır ve cilt hiperemiktir. İyileşme sağlam kalan kıl kökü, yağ ve ter bezleri gibi deri eklerinden spontan epitelize olarak gerçekleştiğinden aylarca sürebilir ve derin formlarda hipertrofik skar bırakma eğilimi yüksektir. Derin dermal yanıklarda, kılcıl damarlarda yoğun trombüs gelişimi ve yanık yüzeyinin nekrotik bir tabaka ve debris ile kaplı olması, yanık yüzeyinden sıvı kaybını engeller. Ancak çevre dokularda kapiller geçirgenlik arttığı için ödem kaçınılmazdır. Bu tip yanıklar yakından takip edilmeli, hasta travmadan veya enfeksiyondan korunmalı, doku perfüzyonu sağlanmalıdır. Aksi takdirde 3. derece yanığa dönüşebilir.

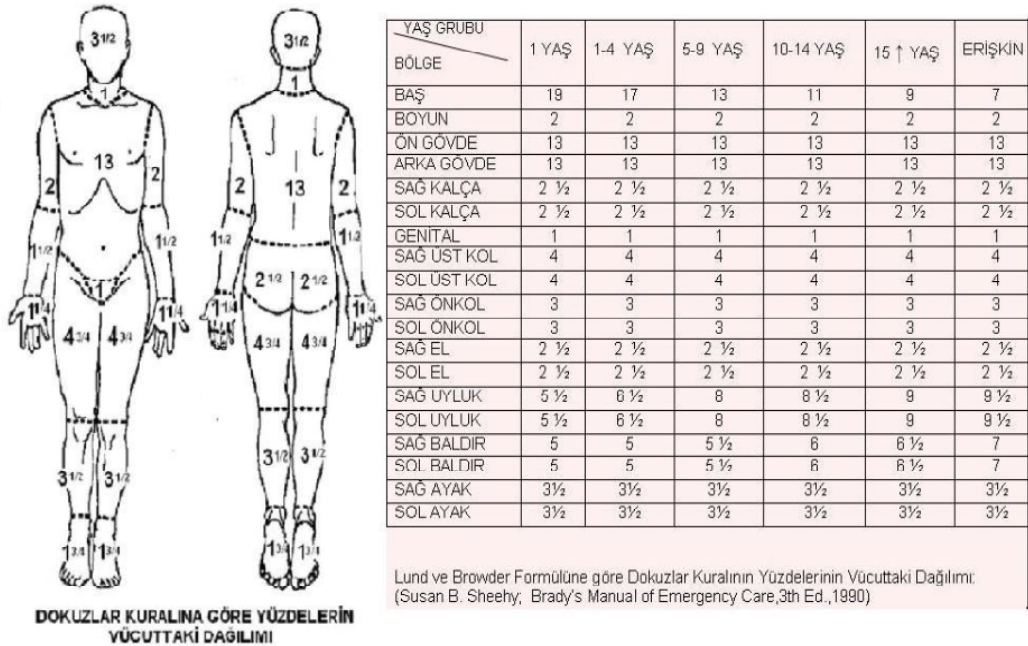
Üçüncü derece yanık: Epidermisi, dermisi ve deri eklerini içeren tam kat hasar vardır. Subdermal pleksusta koagülasyon nekrozu bulunduğu için yanık alan

kurudur. Serbest sinir uçları da hasarlanmış olduğundan ağrısızdır. Kan damarları hasarlanmıştır; deri beyaz, siyah, kahverengi ya da kırmızı görünümde olabilir. Koagule proteinlerden oluşan eskarın sonucu olarak cilt serttir.

Dördüncü derece yanık: Yanık subkutanöz yağ dokunun da altında fasya, kemik, tendon, kas gibi diğer dokuları da nekroze etmiştir.

2.1.4.3 Yanık Genişliğinin Belirlenmesi

Yanığın genişliği tüm vücut yüzeyine oranla yüzde olarak belirtilir. Bu amaçla vücuttaki çeşitli bölgeler kapladığı alanın büyüklüğü oranında derecelendirilmiştir. Bu yüzdelerin doğru hesaplanması, sağkalımda en önemli müdahale olan sıvı replasmanının doğru yapılmasını sağlar. Yanık alan yüzdesi tayini için genellikle Wallace'ın dokuzlar kuralı kullanılırken, çocuklarda başın büyük ve alt ekstremitelerin kısa olması nedeniyle yanık genişliğini daha doğru hesaplayabilmek için Lund ve Browder'in şeması kullanılır.



Şekil-2: Wallace'ın 9'lar kuralı ve Lund-Browder şeması

Wallace yöntemi ile erişkin hasta ilk görüldüğünde zaman hızlı ve kabaca hesaplama yapılır. '9'lar kuralı'na göre baş %9, üst ekstremitelerin her biri %9, alt ekstremitelerin her biri %18, vücut ön yüzü %18, arka yüzü %18 ve perine %1 olarak hesaplanır.

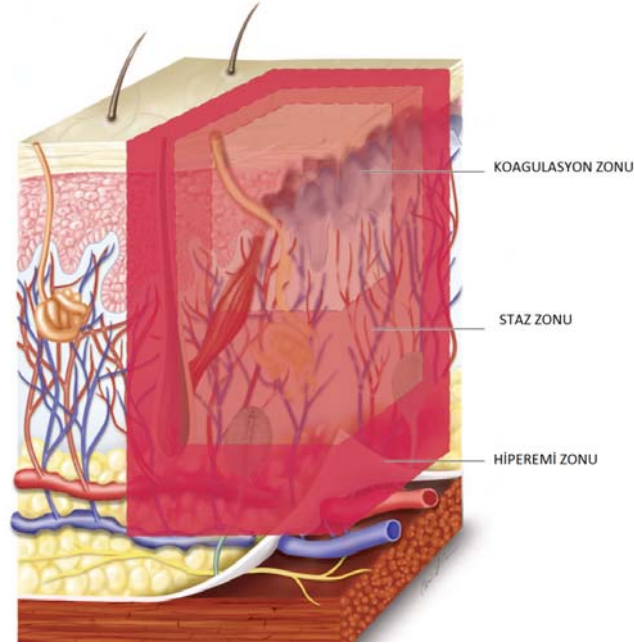
2.1.5 Yanıkta Oluşan Zonlar

Yanık sonrası hasar oluşan alanın merkezinde nekroz oluşur ve etrafa doğru daha az şiddetli şekilde ilerler. Yanık yarasını anlamada Jackson'un 1953'deki tanımladığı üç zon hala geçerli olup güncel yaklaşımın temelini oluşturmaktadır (3).

Koagulasyon Zonu (Nekroz zonu): Isıya bağlı hasarın en yoğun olduğu, protein denaturasyonunun gözlemlendiği ve hücrelerin tamamen nekroze olduğu alandır.

Staz Zonu (Hasar Zonu): Nekroz zonunu çevreleyen hem canlı hem de canlı olmayan hücreleri içeren, kapiller vazokonstriksiyon ve iskemi ile karakterize alandır. Bu belirsiz alan risk altındaki zonu temsil eder ve progresif iskemi, ödem ve enfeksiyon durumunda nekroza dönüşür. Uygun yara bakımı ile bu değişikliklerin geri döndürülmesi ve bu zonun kurtarılması mümkündür (22).

Hiperemi Zonu: Staz zonunun etrafında dokuların enflamasyonu sonucu salınan mediatörlerin indüklediği vazodilatasyonla karakterize alandır. Hüresel hasar azdır ve enfeksiyon veya ciddi hipoperfüzyon oluşmadığı sürece tamamen iyileşmesi beklenir.



Şekil-3: Jackson'a göre yanık zonları

2.1.6 Yanık Patofizyolojisi

Yanığın vücuttaki fizyopatolojik değişiklikleri bir alana düşen ısının neden olduğu etkiler ve bunların üzerindeki belirgin bir akut iltihabi süreç ile karakterize edilir (23). Yanık sonrası absorbe edilen ısının sistemik kompensatuar mekanizmaları

etkilemesiyle dokularda lokal değişiklikler başlar. Moleküler düzeyde 40°C derecede protein denatürasyonu başlar.51-60 derecelik ısının 20 saniyede meydana getirdiği minör termal yaralanmayı da kapsayan travma inflamatuvar reaksiyona sebep olur. Yanık bölgesinde yaralanmaya ilk cevap olarak gelişen vazodilatasyonla birlikte inflamatuvar reaksiyon gelişir. Geniş yanıklarda hem yanık bölgeden hem de diğer dokulardan yoğun bir mediyatör salınımı olur. Kapiller permeabilite artar, damar dışına çıkan plazma hücreler arası mesafede birikerek yanık bölgesinde lokal ödem oluşurken sistemik olarak da uzak organlarda ödem oluşur.

Lokal inflamasyonun hücrel debrisleri temizleme ve mikrobiyal ajanlardan koruma gibi faydalı etkisi vardır(24). Ancak nötrofil ve makrofajların baskın olduğu uzamış akut inflamatuvar reaksiyon proinflamatuvar sitokin seviyelerinin kalıcı olarak yükselmesine neden olarak kollajen yapısının bozulmasına, keratinositlerde apoptozise, nötrofillerin venül endotelyumlarına yapışarak mikrovasküler yapıda bozulmaya ve serbest oksijen radikalleri üretimine sebep olarak plazma membranları, DNA çapraz bağları ve peptid fragmanlarında bozulmaya neden olur (25). Oksidanlar ve proteazlar deride ve kapiller endotelial hücrelerde hasar oluşturarak iskemik dokularda nekroz oluşma durumunu kuvvetlendirir(20). Yanık sonrası inflamatuvar hücre aktivasyonu sonucu oluşan medyatörler özellikle dermal papilladaki kapiller endotelial hücrelerden salınan serbest oksijen radikalleri, komplemanlar, sitokinler ve bakteriyel endotoksinlerdir(26). İnflamasyon membran fosfolipidleri hasarlandığı zaman başlar. Fosfolipaz A aktive olarak fosfolipidleri araşidonik aside yıkarak araşidonik asit kaskadını aktifler. Bu kaskadın ürünü olan çeşitli prostanoidler ve lökotrienler vazodilatasyona, kapiller geçirgenlik artışına, nötrofil kemotaksisi ile diapedezine ve mast hücrelerinde degranülasyonuna neden olur. Diğer yandan aktive olan kompleman kaskadı da nötrofil kemotaksisini stimüle eder. Nötrofillerden serbest oksijen radikallerinin serbestleşmesi bir taraftan hücre membran peroksidasyonu ile hasar oluştururken diğer taraftan da fosfolipaz A'yı stimüle ederek araşidonik asit kaskadını aktifleştirir ve inflamasyonu şiddetlendirir. İnflamasyon esnasında ortamdaki oksijenin nötrofiller tarafından kullanılması doku hipoksisini arttırır. Isının hücre hasarı yaptığı alanda damar içi trombozlar meydana gelir. Hücrelerin bir kısmının canlı olduğu alanlarda ısı ve inflamatuvar mediatörlerin etkisiyle kapiller trombozun ilerlemesi iskemiye neden olarak doku nekrozunu

arttırır. Ölü dokular ve bakteriyel kolonizasyona bağlı olarak ortamdaki nötrofiller artar. Nötrofillerden salınan proteazlar ve oksidan ajanlar canlı dokulara da zarar verir (27).Staz zonunda retiküler dermisdeki azalmış kan akımının hiperkoagulasyon, sıvı kaybı, ödem, vazokonstriksiyon, nötrofil tıkaçları, eritrosit kümelenmesi ve oksijen radikallerinin vasküler endotelde yarattıkları hasarın bir kombinasyonu sebebiyle olduğu düşünülür(28). Retiküler dermiste meydana gelen bu yetersiz perfüzyon derideki keratinosit rezervlerini tehlikeye atarak gecikmiş yara iyileşmesine ve yanığın genişleyip derinleşmesine sebep olur(29).

Yanık sonrası oluşan hücre ölümünde hem apoptozis hem de nekroz rol oynar. Apoptozis intrinsik veya ekstrinsik yolla oluşur. Her iki yolun sonunda da hücre içi proteazlar aktive olur ve hücre ölümü gerçekleşir. Son yıllarda Gravante G ve ark. derin kısmi kalınlıktaki yanıklarda apoptotik hücre ölümü olup olmadığını araştırmak için yaptıkları çalışmada apoptotik hücreleri; terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) aracılı dUTP nick end labeling (TUNEL) ve Fas antijen ekspresyonuna bakarak saptamışlardır. Staz zonunda DNA markerı (TUNEL) ve Fas antijeni pozitif olan hücrelerin apoptozis gösterdiği ve total hücrelere göre apoptotik oran 44% olarak bulmuştur. Yanığın apoptozisi uyardığını, buradaki apoptozisin yanıktan sonra en az 20 gün devam ettiğini ve derin kısmi kalınlıktaki yanıklarda, yüzeysel yanık ve tam kat yanıklara oranla çok daha fazla apoptotik hücre bulunduğunu göstermişlerdir (30,31).

2.2 Yanıkta Sistemik Değişiklikler

TVYYA % 30 ve üzeri yanıklarda salınan sitokinler ve diğer inflamatuvar mediyatörler sistemik yanıt oluşturacak düzeylere ulaşırlar(32). Yanan bölgedeki vazodilatasyona bağlı plazma proteinleri azalır; sistemik hidrostatik basınç düşüşü olur ve buna bağlı olarak da sistemik ödem oluşur. Ödemden başlıca sorumlu olan mediyatörler histamin, kininler, vazoaktif aminler, prostoglandinler, lökotrienler, komplemanlar, PAF ve katekolaminlerdir. Yanık ödeminde en erken etki histamine aittir. Histamin ve bradikinin salınımı kapiller geçirgenliğin artmasına, bölgesel ve uzak interstisiyel ödem gelişimine neden olur. Ketanserin gibi antiseratoninerjiklerin periferik vasküler direnci azalttığı ancak ödemi azaltmadığı bildirilmiştir(33).

Sistemik mediyatörlerden IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α salınımı sistemik inflamatuvar yanıtı yol açar. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar cevap

denge-sizliğinden dolayı immün disfonksiyon gelişebilir. Ödem artışı, organ disfonksiyonu ve immün yetmezlik sonucu sepsis ve çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanan bakteri translokasyonu görülebilir. Yanıkta tüm organ ve sistemlerde fizyopatolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır.

2.2.1 Kardiyovasküler Sistem

Termal hasara ilk anda verilen kardiyovasküler yanıt kalp debisinde azalma ve sistemik vasküler dirençte artma şeklindedir. Adrenalin, noradrenalin, vazopressin ve anjiotensin salınması sistemik ve pulmoner vasküler direnci artırır (34). Bu tabloyu kalp debisinin progresif bir şekilde arttığı ve sistemik vasküler direncin azaldığı hipermetabolik bir durum takip eder (35). IL-1 ve TNF- α gibi ajanlar myokard kasılmasında meydana gelen ilk azalmadan sorumlu olabilir; ama kalp debisindeki azalmanın temel nedeni hipovolemi ve kan viskozitesinde meydana gelen artıştır(34). Sıvı resusitasyonu ile hipovolemi düzeltilirse kardiyak performans da düzelir. İkinci 24 saatlik dönemde hacim defisiti yerine konulmuş olur ve mikrovasküler geçirgenlikte meydana gelen değişiklik azalır, sistemik vasküler direnç normal seviyelerin altına düşer ve oluşan hipermetabolik durumda böylece kalp debisi 2-6 günden sonra normalin üstüne çıkar(36). Yanıktan 3-4 gün sonra yanıklı hastalarda normal popülasyona göre 1,5 kat artmış bir kardiyak output gözlenmektedir(37). TVYYA'nın % 30 'undan daha geniş yanıklarda erken ve yeterli sıvı resusitasyonuna rağmen düzeltilemeyen kontraktıl defektler oluşabilir (38).

2.2.2 Renal Sistem Değişiklikleri

Azalmış kan akımı ve kardiyak output böbreklerdeki kan akımında ve glomerüler filtrasyon hızında azalma ile sonuçlanır. Anjiotensin, aldosteron ve vazopressin gibi medyatörler ve stres hormonları termal travma sonrası renal kan akımını daha da düşürerek etki eder. Tüm bunların sonucu olarak oligüri ortaya çıkar ve tedavi edilmediği durumda akut tübüler nekroz ve böbrek yetmezliği gözlenebilir. Yeterli sıvı resusitasyonu yapılan hastalarda renal yetmezlik beklenmemekle birlikte ilk günlerde proteinüri ve takiben 4-7. günlerde albüminüri görülebilir (39).

2.2.3 Gastrointestinal Sistem Değişiklikleri

Adinamik ileus, mide dilatasyonu, mide ülseri sıklığında artma, gastrointestinal kanama, mezenterik arter kan akımında azalma yanıkta sık görülen GİS bulgularıdır. İntestinal mukoza bariyeri iskemi-reperfüzyon hasarı,

hipoperfüzyon ve sitokinlerin salınımı sonucu bozular. Sonuç olarak bakteri ve toksinlere karşı permeabilite artar(40). İnce bağırsak mukoza atrofisi yanık yüzdesi ve apoptozise bağlı artmış epitelyal hücre ölümü ile orantılı olarak ilk 12 saat içinde gelişir. Yanığın ilk saatlerinde mukozal atrofiye paralel olarak glikoz, amino asit ve yağ asitlerinin emilimi ile mukozal lipaz aktivitesi azalır. Bu değişiklikler ilk birkaç saatte pik yapar; ancak 48-72 saatte normale döner(41). Yanığın genişliği ile orantılı olarak polietilen glikol, laktuloz ve mannitole karşı intestinal permeabilite artar(42). Majör yanıklarda, abdominal kompartman sendromu intraabdominal basınç artışına bağlı gelişebilir. Bunun sonucu; pulmoner kompliyansa azalma, hemodinamik instabilite ve oligüri gibi organ disfonksiyon bulguları gelişebilir(43). TVYYA geniş akut yanıklarda AST, ALT ve bilirubin değerleri artar. Ayrıca, ödem ve hepatik yağlanma sonucu transferrin ve albümin değerlerinde düşme, haptogloblin, akut faz reaktanları, CRP ve kompleman düzeylerinde artış meydana gelir(44).

2.2.4 Hipermetabolizma

Majör yanıklarda akut faz sonrası stres hormonları artar ve hipermetabolik bir durum oluşur. Enerji tüketimi, vücut ısısı, kas katabolizması, protein ve kilo kaybı, lipoliz, glikoliz ve insülin direnci artar. Bu artış yanığın derecesi ile orantılıdır(45). Bu değişiklikler, yanık debridmanı ve greftleme işleminden sonraki bir yıla kadar sürebilmektedir(46). TVYYA % 30 ve üzerindeki yanıklı hastalarda metabolizma hızı iki katına çıkar. Yağ oksidasyonundaki artış ve protein katabolizmasındaki artış nedeniyle kilo kaybı görülür. Kilo kaybı yanık yüzey alanı, yaş, cinsiyet, kilo, yanık öncesi var olan hastalık ile ilişkili olarak değişir(47).

2.2.5 Hematolojik Değişiklikler

Eritrositler TVYYA ve derinliği ile doğru orantılı olarak tahrip olur. Akut fazda hemokonsantrasyon, hematokrit ve kan viskozitesinde artış izlenir. Resüsitasyon sonrası hemodilüsyona bağlı hematokrit düşer. Ayrıca yara yerinde platelet agregasyonu sonucu trombositopeni meydana gelir (48).

2.2.6 Pulmoner Değişiklikler

Erken dönemde ağrı ve anksiyeteye bağlı hiperventilasyon görülebilir. Sıvı resüsitasyonuna başlanması ile ventilasyon sayısı normalin 2-2,5 katına çıkabilir. Bu artış TVYYA ile doğru orantılı olup hipermetabolizma halini yansıtır (49).Gerek direkt alev, duman ya da toksik gaz inhalasyonu, gerekse indirekt olarak sistemik

etkilenim sonucu; solunum yollarında mukozal ödem, mukosilier aktivitede azalma, endobronşial döküntüler ve sürfaktan aktivitesinde azalma meydana gelmektedir(50). Klinik olarak; laringospazm, bronkospazm, pnömoni, trakeobronşiyolit gelişmektedir(51). Yanıkta, sistemik mediatörlerin etkisi sonucu; pulmoner ödem, pulmoner hipertansiyon ve pulmoner kompliyansa azalma meydana gelmektedir (52).Yeterli doku perfüzyonu sağlayan en az sıvıyı vermek ikincil akciğer komplikasyonlarını önlemek için doğru bir yaklaşımdır(49).

2.2.7 İmmün Sistemdeki Değişiklikler

Yanık immün fonksiyonları baskılar. Bakteriyel yara enfeksiyonu, pnömoni, fungal ve viral enfeksiyonları da kapsayan birçok komplikasyon riski doğar. Bu yatkınlık immün sistemin bütün kısımlarındaki nötrofil makrofaj, T-lenfosit ve B-lenfosit etkinliği de dahil hücresel fonksiyonların baskılanması sebebiyledir. TVYYA'nın %20'sinden fazla olan yanıklarda immün fonksiyonların bozulması yanık alanı ile orantılıdır. Bu hastalarda lenfosit sayısının azalması ile T-hücre aktivitesinde azalma olurken, B-hücre aktivitesindeki bozulmada immünoglobulin sentezinde azalmaya yol açmaktadır (39).

2.3 Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi birçok hücre türünün, medyatörlerin ve ECM'nin de dahil olduğu dinamik bir süreçtir. Yanıkta da yara genel iyileşme prensipleri geçerlidir. Yara iyileşmesi süreci inflamasyon, proliferasyon ve remodeling fazlarını içerir.

2.3.1 İnflamasyon Fazı

İnflamasyon fazı, yara iyileşmesi sürecinin ilk aşamasıdır. Yaralanmayı takiben yara bölgesindeki yıkıma uğramış damarlar hemen daralır. Bu daralmayı takiben 10-15 dk sonra başta histamin olmak üzere lökotrienler, prostoglandinlerin etkisi ve kininlerin de katkısı ile vazodilatasyon gözlenir. Bu medyatörlerin etkisiyle kapiller kaçak ve permeabilitede artış gözlenir. Kompleman faktörleri 3a ve 5a kapiller kaçağı artırır; aynı zamanda nötrofiller ve monositler için kemoatraktan olarak davranır. Yara oluşur oluşmaz trombositlerde degranulasyon oluşur ve kompleman ve pıhtılaşma kaskadı aktive olarak hemostaz için fibrin pıhtısını oluşturur; bu fibrin pıhtısı yara iyileşmesi için çatı görevi oluşturur(53). Trombüsün oluşumunu takiben hemostaz sağlanmış olur. Trombositlerin degranulasyonu sonucu yara bölgesine toplanacak nötrofiller, makrofajlar, epitelyal hücreler, mast hücreleri,

endotelial hücreler ve fibroblastlar için kemotaktik ajan olarak görev alan EGF, IGF-1, PDGF ve TGF- β gibi potent sitokinler salınır ve aktive olur(53,54). Trombositlerin degranulasyonu sonucu alfa granüllerinden yara iyileşmesinin erken ve geç fazlarında görevli birçok immünomodulator faktör salınır. Bunlardan en önemlileri PDGF, FGF-2 ve TGF- β 'dir.

Yara bölgesine ilk gelen inflamatuvar hücreler arasında nötrofiller çoğunluktadır. Komplemanlar, Platelet Faktör IV, TGF- β , TNF- α , IL-1, LTB₄ gibi immünomodulator faktörler bu migrasyonu stimule eder. Lökositler endotelial hücre membranlarındaki intraselüler adezyon molekülleri ve kendi hücre yüzeylerindeki integrinlerin etkileşimi ile yara alanına yaklaşır. Bunu marginasyon denir. Platelet faktör IV ve PAF nötrofil yüzeyinde; lökositlerin endotelden transmigrasyonunu sağlayan ve diapedez olarak adlandırılan işlemi sağlayan CD 11/CD18 adlı integrin ekspresyonunu artırır(55). Nötrofiller, hücresel yıkım maddelerini, yabancı cisimleri ve bakterileri yara bölgesinden uzaklaştırır. Yara bölgesinde kalan nötrofiller yaşlanır ve apoptozise giderler. Apoptozis endojen kalsiyum bağımlı endonükleazların aktivasyonu ile karakterizedir ve geri dönüşsüz hücre ölümünün belirteçidir. Nötrofiller inflamatuvar hücrelerden en başta apoptozise uğrayan olup makrofajlarca fagosite edilirler. 2-3 gün içinde inflamatuvar hücre sayısı monositlerin hakimiyetine geçer. Makrofajlar doku ve bakteri yıkım ürünlerini fagosite etmekle beraber ayrıca kollagenaz ve elastaz gibi MMP'leri yara alanına salarak bu yıkıma ekstraselüler olarak katkıda bulunur(56). Kanda dolaşan monositler yara bölgesine göç eder ve makrofajlara dönüşür. Bu makrofajlar doku makrofajlarıyla beraber onarım sürecini yönetir. Makrofajın ürettiği sitokinler ve immünomodulator faktörler angiogenezis, fibroblast migrasyonu ve proliferasyonu, kollajen üretimi ve yara kontraksiyonu ile ilişkilidir. Makrofaj ve lenfositler yarada yaklaşık 7 gün kalır ve inflamasyonun uzamasına dair bir stimulan olmadıkça giderek azalır. Lenfositler makrofajlar gibi hem inflamatuvar hemde proliferatif fazda bulunurlar. Belli bir antijen tarafından harekete geçiriliren T hücresi, antijeni antikor üreten hücrelere tanıtır ve lenfokinler salgılayarak lenfosit ve fibroblastlar üzerine de etkili olur. Lenfositlerin yara iyileşme sürecini nasıl etkilediği tam olarak netlik kazanmamıştır. İnflamatuvar hücrelerin apoptozisi antijen sunumunu ve daha önemlisi sitokin konsantrasyonlarının değişimini etkiler(57). İnflamasyon, koruyucu ve tamir

mekanizmaları ile ortadan kaldırılamazsa doku hasarına neden olmaktadır. Sonuçta fibrozis ve doku harabiyeti oluşmaktadır.

2.3.2 Proliferasyon Fazı

Proliferatif faz inflamasyon fazını takip etmesine karşın aralarında keskin bir geçiş sınırı yoktur. Proliferatif faz travmadan 48-72 saat sonra başlayıp 3-6 hafta kadar devam edebilir(58). Yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra ECM granülasyon dokusuyla yer değiştirmeye başlar. Proliferasyon fazı kapiller yatak, fibroblast, makrofaj, kollajen, fibronektin ve hyaluronik asitten oluşan granülasyon dokusu ile karakterizedir. Bu fazda kompleks sitokin ağı tarafınca düzenlenen anjiogenezis, fibroplazi ve epitelizasyon hakimiyeti mevcuttur. Bu fazdaki olayların esas hücresi fibroblasttır. Fibroblastlar inflamatuvar alanda çoğalır ve ECM bileşenlerini üretir. PDGF ile IGF beraber fibroblastların proliferasyonunu arttırmaktadır. Fibroplazi boyunca PDGF ve TGF-b en önemli iki sitokindir. Bunlar fibroblastların hem çoğalmasını hem de migrasyonunu stimule etmektedirler(59). Fibroblastların migrasyonunu bu dönemde stimule eden diğer faktörler EGF ve fibronektindir(60). Fibroblastların migrasyonunda integrinler temel rol oynar. Migrasyonun olabilmesi için integrin reseptörlerinin yara matriksinde fibronektin ve fibrini bağlaması esastır. Hücre yüzeyinde bulunan integrinler, fibroblastlarla ECM arasındaki ilişkiyi kolaylaştırır. İntegrinler onarım sırasında hücre fonksiyonunu kontrol eden düzenleyicilerdir. Yaradaki fibroblastlar makrofajlardan salınan TGF-b etkisiyle miyofibroblastlara dönüşürler. İnflamatuvar fazda oluşan geçici fibrin matriks, makrofajlardan ve fibroblastlardan salınan MMP'ler ile yıkılarak kollajen, glikoprotein ve protoglikandan zengin gevşek ECM oluşur. Fibroblastlar yara bölgesine fibrillere paralel olarak hareket ederler. Fibroblastlar bu göçleri sırasında hücrel yıkım ürünleri ve matriks fibrilleriyle karşılaşır. Bu engelleri çeşitli MMP'lerin yardımıyla aşarlar. Şimdiye kadar 24 farklı MMP tanımlanmıştır (61). MMP'ler proteoglikanların, lamininin, fibronektinin ve kollajenin yıkımında görevlidir. MMP-3 ve diğer MMP'ler b-1 integrinler aracılığıyla kollajen fibrilleri ve fibroblastların arasında bağlanma yerlerini modifiye ederek etki göstermektedir. MMP'lerin görevi, bazal membranın yıkımı ve ECM'nin endotelial hücrelerin geçişine izin verecek şekilde yıkımıdır. MMP-1, MMP-2, MMP-9, MT-MMP ve MMP-19 anjiogenezde rol alan en önemli MMP'lerdir (62).

Kollajen granülasyon dokusunun temel proteini olup hidroksiprolin ve hidroksilizin amino asit dizilimlerinden oluşur. Matriks ile dolan yarada fibroblastların kontakt inhibisyonu ile kollajen üretimi durur. Mevcut durum fibroblasttan zengin granülasyon dokusu şeklindedir. Daha sonra hücreler bilinmeyen bir mekanizma ile apoptozise giderek aselüler skar formasyonu oluşur.

a)Epitelizasyon

Epitelizasyon, yaralanmadan sonra derinin bariyer özelliğinin yeniden kazandırılması amacıyla epitel hücrelerin ayrılmasını, göç etmesini, çoğalmasını ve keratinize olmasını sağlayan süreçtir. Bu süreç yaralanmayı takiben hemen başlar. Bazal hücrelerin birbiriyle temasının kesilmesi keratinositlerin migrasyonu için sinyaller oluşmasına neden olur. Ek olarak yaradan epitelyal hücre oluşumu ve migrasyonunu uyaran faktörler salınır. Özellikle epitelyal hücreleri hedefleyen büyüme faktörleri EGF, TGF- α , KGF-1 ve KGF-2 'dir (63).

b)Anjiogenez

Anjiogenez; epitelizasyon ve bağ doku oluşumu için gerekli oksijen, enerji ve ham maddelerin bölgeye taşınıp, metabolit ve artık ürünlerin geri dönüşümü için gerekli olan yeni kan damarı oluşumunu tanımlar. Anjiogenez 24-48 saat içinde başlar ve yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra makroskopik olarak saptanabilir. Periferdeki intakt venüllerden yara kenarına göç eden endotelial hücreler proliferasyon olarak yeni kapiller tübüller meydana gelir. Yıkılmış bazal membran endotel hücrelerin anjiogenetik faktör salgılamalarına neden olur. Ayrıca endotel hücrelerinin ürettiği fibronektin reseptörleri damar çevresinde bulunan fibronektin ile etkileşerek yeni damar oluşumunun yaraya doğru ilerlemesi için kanal görevi görür. Anjiogenezde rol alan büyüme hormonlarından bazıları; TNF- α , TGF-b, VEGF, FGF, PDGF, anjiogenin, anjiotropin, anjiopoietin-1, trombospondin, ürokinaz şeklinde olup, plateletlerden, makrofajlardan ve hasarlanmış endotel hücrelerinden salgılanır. VEGF çoğunlukla epitelial hücrelerce üretilmekte olup hem mitojenik hem kemotaktik özellik gösterir. Hipoksi de ayrıca VEGF için potent bir stimulatördür. Endotelial hücreler, bazal membran, ECM, lokal faktörler ve sitokinler arasındaki kompleks etkileşim anjiogenezi başlatır. Yaranın kenarındaki korunmuş olan kapiller damarlar hücresel migrasyon ve proliferasyonla oluşacak endotelial tomurcuklanmalara yol açar. Bu endotelial hücreler sonrasında bir kıvrım

oluştururlar ve lümen ise bu sünmüş entodelyal hücre zincirinden gelişir. Bu tomurcuklanmalar birbirileriyle temas ederek ve bağlanarak yeni kapiller damarı oluşturur. Anjiogenez boyunca integrinler ve MMP'lerin rolu endotelyal hücrelerin migrasyonu açısından büyüktür. Bazal membran kollajenin MMP'ler tarafından bozulması endotelyal hücrelerinin migrasyonunu bu süreçte daha da artırır. Travma bölgesi revaskülerize olduğu vakit sitokinlerin dinamikleri değişir ve vasküler sistem sonunda olgunlaşmış olur (64).

c)Yara Kontraksiyonu

Yaralanmadan birkaç gün sonra başlar ve defektin kapatılması için yarayı çevreleyen yara dudaklarının merkeze doğru hareketi sonucu gelişen bir küçülmedir. Fibroblastlar aktin filamanı içeren myofibroblastlara dönüşür ve kontraktil özellik kazanır. Bu hücreler sadece yarada bulunurken sağlam bağ dokusunda bulunmaz. TGF-b1, IGF-1 ve PDGF'yi içeren çok sayıda sitokin yara kontraksiyonunda görev alır (59, 65, 66). Bu sitokinler ekstraselüler matriksteki yapılar ve mevcut hücreler arası b-1 integrinlerin aktivasyonu yolu ile etkileşim yaratarak etkilerini gösterir. Kontraksiyon süreci hücre aracılıdır ve yeni kollajen sentezi yoktur. Yara kontraksiyonu tersinmezdir ve yara dudakları birbirine değdiğinde kontraksiyon sona erer. Yara kontraksiyonu bittiğinde myofibroblastlar kaybolur.

2.3.3 Matürasyon Fazı

Matürasyon fazı, yara iyileşmesinin en uzun aşamasıdır. Yaranın granülasyon dokusuyla dolup keratinosit migrasyonu ile reepitelizasyon sağlanmasını takiben başlar. Yara matürasyonu klinik olarak yara kontraksiyonu, kızarıklık ve yara kalınlığında azalma, yara kuvvetinde artma ile karakterizedir. Matürasyon fazında yara kalınlığı azalırken, yaranın tensil kuvveti ters orantılı olarak artar(67). Bu ECM'nin remodelizasyonu ile ilişkilidir. Kollajen üretimi yaralanmadan sonra ortalama 21.güne kadar sürekli bir artış gösterir. Bu aşamadan sonra kollajen sentezinde bir azalma gözlenir(62). Kollajen sentezindeki bu azalma kollajen matriksinin kendisi, IFN-gama ve TNF- α tarafınca düzenlenir. 6.haftada yaranın tensil kuvveti, olması gerekenin % 80'ine ulaşır. 21. gün ile 6. hafta arasında geçen yara kuvvetinin arttığı bu dönemde gerçekleşen asıl olay, kollajenin yıkımı ve yeniden düzenlenmesidir. Kollajenin yıkımı esas olarak MMP ve TIMP üretimi ile ilişkilendirilmiştir. MMP-2, TIMP-2, MMP-7, ECM remodelizasyonunun erken

aşamalarında sentezlenir. Yara maturasyonu açısından MMP ve TIMP üretimi dengesi önemlidir. Matürasyon fazında ECM niteliğinde belirgin değişiklikler meydana gelir. Zamanla, Tip I kollajen miktarı artarken, Tip III kollajen, proteoglikan ve su miktarı azalır. Kollajen fibrillerinin kalınlığı, interfibriller bağlanma artar ve fibriller yeniden düzenlenir. Yara iyileşmesinin erken dönemlerine kollajen fibrilleri düzensiz şekilde dizilmişlerdir. Bu, iyileşmenin erken döneminde yüksek kollajen miktarına rağmen yara kuvvetindeki zayıflığı açıklar(64,68). Skarın yeniden düzenlenmesi ve olgunlaşması yaklaşık 12 aya kadar devam etmekle birlikte skar asla yaranlanmamış normal dermisin gücüne kavuşamaz.

2.4 Yanık Tedavisi

İlk değerlendirmede öncelikle sistematik bir yaklaşımla hayatı tehdit eden durumlar belirlenmeli, ardından yanmaya neden olan etken etkisizleştirilmeli ve ortam hem kurtarıcı hem de hasta için güvenli hale getirildikten sonra hayatı tehdit eden acil durumlar tedavi edilmelidir. Yanmanın durdurulması, etkenden uzaklaştırma ve yanmış elbiselerin çıkarılması yolu ile yapılmalıdır. Erken soğutma yara derinliğini ve ağrıyı azaltabilir. Yanık hastasında ek travma olabileceği unutulmamalı, havayolu ve boyun stabilizasyonu(A), solunum(B) ve dolaşım(C) ilk değerlendirmede sağlanmalıdır. Solunum yolu açıklığı ve karbonmonoksit zehirlenmesi açısından inhalasyon hasarı sorgulanmalıdır. İnhalasyon hasarının değerlendirilmesinde; yüz ve boyun yanığı, siyah balgam, yüz kıllarında tütsülenme, patlama, kapalı ortamda yangın ve şuurda bozulma öyküsü önemlidir. İnhalasyon hasarı düşünülüyorsa maske ile nemli oksijen solutulmalıdır. Sıvı tedavisi i.v. ringerli laktat olarak verilmelidir. Vücut alanının %20'si yanmış hastada i.v. sıvı verilmesi gerekir. Bu oran yaşlı ve çocuklarda %10'dur. Erken dönemde mortalitenin önemli nedeni hipovolemi olduğundan sıvı tedavisine erkenden başlanmalıdır.

Kimyasal yanıklar ve radyasyon yanıkları gibi yanıklarda hemen erken dönemde yara bol su ile yıkanmalıdır. Yanığın ilk 30 dk soğuk suya tutulması veya soğuk suda ıslatılmış kompreslerle soğutulması ödemi, yanık derinliğini ve nekrozu azaltır. Yanıklar küçük, basit veya büyük ciddi yanıklar olarak ele alınmalıdır. Basit yanıklar ayaktan tedavi edilebilir. Ciddi yanıklar yanık merkezlerinde tedavi edilmelidir. Hastanede yatırılarak tedavi edilmesi gereken yanık endikasyonları şunlardır;

1. 10 yaş altı ve 50 yaş üstündeki % 10'dan fazla 2. ve 3. derece yanıklar
2. Yaşı 10-50 arasında olan %15 -20'den fazla 2. ve 3. derece yanıklar
3. Yüz, el, ayak, genital bölge, perine ve eklem yüzeyleri gibi estetik ve fonksiyonel açıdan tehlike doğurabilecek 2. ve 3. derece yanıklar
4. Tüm yaş grubunda %5 ' den fazla 3. derece yanıklar
5. Elektrik yanıkları
6. Kimyasal yanıklar
7. İnhalasyon yanıkları
8. Yanık öncesi sağlık durumu zaten bozuk olan yanıklı olgular
9. Yanıkla birlikte ek travma (kemik kırıkları, kafa travması vs) olan olgular
10. Ekstremitelerde sirküler derin yanıkları olan olgular

2.4.1 Yanıklı Hastada Sıvı Resüsitasyon Tedavisi

Yetişkinlerde TVYYA'nın %15'ini ve çocuklarda %10'unu geçen yanıklarda sıvı resüsitasyonu gerekir. Sıvı resüsitasyonunda gecikme yanık komplikasyonlarının ve mortalitenin artmasına neden olur(69). Total vücut yüzeyinin %25'inden daha azı yanmış olan olgularda ileus gelişme riski düşük olduğu için sıvı resüsitasyonu oral yolla yapılabilir. Daha geniş yanıklarda ilk 48 saatte sıvı resüsitasyonunun i.v. olarak yapılması gerekir. Parkland formülüne göre hastalara ilk 24 saatte, 4 ml/kg/yanık yüzdesi formülü ile hesaplanan miktarda kristaloid solüsyonu verilir. İlk 24 saat içinde kolloid verilmez. Sıvı resüsitasyonunun yeterliliği; kan basıncı, nabız sayısı, bilinç durumu, idrar çıkışı ve gerektiğinde santral venöz basınç ölçümü ile değerlendirilir. Verilen sıvının hızı saatlik idrar çıkışını 0,5-1 ml/kg/saat olacak şekilde ayarlanmalıdır. Yaralanma zamanı resüsitasyon için başlangıç noktası olarak kabul edilmeli ve verilmiş olan herhangi bir sıvı, hesaplanan ihtiyaçtan çıkarılmalıdır. Yaralanmadan sonraki ilk 8 saatte damar geçirgenliği daha fazla olduğu için formüllerle hesaplanan sıvının yarısı bu ilk 8 saatlik dönemde; geri kalan miktar 16 saatlik zaman diliminde verilir.

2.4.2 Yanıklı Hastanın Cerrahi Tedavisi

Yanıkla başvuran hastaların büyük çoğunluğu minör yanıklı hastalardır. Temel tedavi algoritması yanmanın durdurulması, yanığın soğutulması, yeterli analjezi sağlanması, yanık yarasının pansumanı ve bakımını kapsar. Minör yanıkların ayaktan tedavisinde pansumanların ağrısız olmasının sağlanması ve skar oluşumunun

azaltılmasına yönelik önlemler alınmalıdır. 1.derece yanıklarda klasik bir pansumana ihtiyaç olmazken 2. derece yanıklarda enfeksiyon ya da kontaminasyon varsa bakterilere karşı etkinliği olan materyaller kullanılır. Yanık yarası pansumanında yağlı pomadlar, merhemler emdirilmiş tül veya gazlı bezler, ince film şeklindeki biyosentetik örtü materyalleri ve biyolojik materyalleri içeren birçok seçenek mevcuttur. İkinci derece yüzeysel yanıkların 3 hafta içerisinde dermis eklerinden rejenera olarak kötü skar bırakmadan iyileşmesi beklenir. Minör yanıklarda modern ve nispeten pahalı yara bakım ürünleri, geçici allogreftler gibi yaklaşımlar kabul görmüştür. Kontaminasyon yoksa vazelin ve parafin emdirilmiş tül veya gazlı bezler sık tercih edilir. Yanık pansumanında sık kullanılan antibiyotikli pomadlar gümüş sülfadiazin, mafenid, nitrofurazon, polimiksin+oksitetrasiklin ve basitrasin gibi etken maddeleri içeren topikal ajanlardır.

Klinik olarak 2.derece yüzeysel ya da derin yanık lehine sınıflandırılmayan olgularda erken eksizyon ve greftleme işleminden konservatif yaklaşım spontan iyileşme gösteren yaralarda daha az skarla iyileşme sağlayacaktır. Spontan iyileşme gösteremeyen yaraların konservatif izlemi ise belli bir süre sonra enfeksiyon ve sepsise temel hazırlamakta, dolayısıyla tavsiye edilmemektedir. Yaklaşık 10-14 gün konservatif izlem sonunda 3 hafta içerisinde spontan iyileşme ile yaranın kapanacağına kanaat getirilirse konservatif tedaviye devamı uygundur ancak yara kapanmayacak gibiyse yaranın eksizyonu ve greftleme uygulanır.

Derin 2.derece ve 3.derece yanıklarda rejenerasyon sağlayacak sağlam dermis olmadığından tedavisi klasik erken debridman ve greftlemedir. Erken cerrahi debridman tanjansiyel eksizyon ve tam kat eksizyon şeklinde yapılabilir. Eğer yanık eskarının spontan ayrışmasını ya da zeminde granülasyon dokusunun oluşmasını bekleyip daha sonra greftleme yapılırsa sonuç erken eksizyon ve greftlemeden daha kötü olur. Beklenerek greftleme yapılan olgularda hipertrofik nedbe ve kontraktür oluşumu daha ağır ve daha sıktır.

2.5 PRP (PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA)

2.5.1 PRP'nin Tanımı ve Tarihçesi

PRP düşük plazma hacminde yoğun trombosit konsantrasyonunu ifade eder ve normal kandan daha fazla oranda trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini içerir. PRP otolog trombositlerin az bir plazma içinde yoğunlaştırılmış şeklidir. İlk kez Marx ve arkadaşları tarafından PRP otojen kanın plazma fraksiyonunun trombosit konsantrasyonunun temel değerlerinin üstünde olan kısmı olarak tanımlanmıştır(70). Yara iyileşmesinin hızlandırılmasında trombosit kullanımı 1985'ten sonra başlamıştır. Düşük plazma hacminde yoğunlaştırılmış trombosit konsantrasyonu anlamına gelen PRP ilk olarak diş hekimliği ve ortopedik cerrahideki başarılı uygulamalarının ardından diğer branşlarda da ilgiyle kullanılmaya başlanmıştır(71). İlk dönemlerde PRP'nin oral ve maksillofasiyal cerrahide implant ve kemik grefti uygulamalarında faydalı etkileri tespit edilmiştir. Daha sonraları PRP uygulamalarına ilgi giderek artmış; kronik yaralarda ve flep cerrahisi oluşturan kozmetik cerrahi prosedürlerde kullanıma girmiştir. PRP'nin kozmetik cerrahide yanık sonrası yara iyileşmesinde ve radyoterapi yanıkları sonrası yara iyileşmesini artırıcı etkileri kanıtlanmış ve bildirilmiştir(72,73).

2.5.2 PRP'nin Etki Mekanizması

Trombositlerin özellikle içerdikleri büyüme faktörlerinin hemostaz ve iyileşmede temel rol oynadığı gösterilmiştir(74). Trombositler beyaz kan hücrelerinin bir tipi olan megakaryositlerin sitoplazmik fragmanları olup çekirdeksiz hücrelerdir ve retiküloendotelyal sistemdeki makrofajlar tarafından 7-10 gün içinde dolaşımdan uzaklaştırılır. Özellikle yaşamları boyunca büyüme faktörleri sentezlerler ve bunları pıhtılaşmaya cevap olarak aktif bir şekilde sekrete ederler(75). Trombositler içinde alfa, delta ve lambda olmak üzere 3 çeşit granül bulunur. Dense granüller diğer trombositlerin potent aktivatörü ve toplayıcısı olan ADP'yi depolar ve salgılar. Lambda granüller lizozomlara benzer ve çeşitli hidrolitik enzimleri içerir.

Delta granül	Alfa granül	Lambda granül
Nükleotidler <ul style="list-style-type: none"> ATP, ADP GTP, GDP 	Yapışkan glikoproteinler <ul style="list-style-type: none"> Fibronektin, Vitronektin, vWF, Trombospondin 	Asit proteazlar <ul style="list-style-type: none"> Katepsin D, E Karboksipeptidazlar Kollajenaz Asit fosfataz Ariksülfataz
Aminler <ul style="list-style-type: none"> Serotonin Histamin 	Hemostaz faktörleri <ul style="list-style-type: none"> Fibrinojen, Faktör V, VII, XI, XIII, Kininojenler, Protein S, Plasminojen 	Glikohidrolazlar <ul style="list-style-type: none"> Heparinaz Diğerleri
	Hüresel mitojenler <ul style="list-style-type: none"> PDGF, TGF-β, ECGF, EGF, FGF-II, VEGF, IGF-II, IL-β 	
	Proteoglikanlar <ul style="list-style-type: none"> βTG, PF4, HRGP, PBP, CTAP-III, NAP-II 	
	Proteaz inhibitörleri Albumin ve immünglobülinler	

Şekil-5: Trombosit granüllerinin içerikleri

Alfa granüllerde ise büyüme faktörleri depolanır. Bu büyüme faktörlerinden PDGF, TGF-b1, VEGF ve EGF en önemlileri olarak bilinmektedir. Bu faktörler mezenkimal kök hücre, osteoblast, endotel hücreleri ve fibroblastların replikasyonunu stimule ederler. Monositlerin, fibroblastların, mezenkimal kök hücrelerinin ve osteoblastların üzerinde kemotaktik etkileri vardır(76).

PRP içeriğindeki büyüme faktörleri ve etki mekanizmaları.	
PDGF- $\alpha\alpha$	Fibroblast ve makrofajlar için kemotaktik
$\alpha\beta$, $\beta\beta$	Fibroblast, düz kas hücreleri ve endotel hücreler için mitojenik
TGF- β 1	Anjiogeneze aracılık eder
β 2	Fibroblast, düz kas hücrelerine mitojenik Endotel hücreleri, keratinosit ve lenfositler baskular Kollajen, proteoglikan, fibronektin ve matris yıkıcı proteinleri düzenler
VEGF	Endotel hücreler için kemotaktik ve mitojenik Anjiogeneze aracılık eder
EGF	Anjiogeneze aracılık eder Endotel hücreler, fibroblast ve keratinositler için mitojenik
HGF	Rejenerasyona aracılık eder
FGF	Doku organizasyonu ve rejenerasyonuna aracılık eder
FGF-9	Yeni folikül üretimine yardımcı

Şekil-6: PRP'deki büyüme faktörleri

Vasküler büyüme uyarımını takiben makrofajlar bölgeye ulaşır, kendi sitokinlerini ve büyüme faktörlerini salgırlar. Bu olay yeni, devam eden bir lokal

doku onarımını ve yeniden büyüme başlatır(77). PRP içeriğindeki büyüme faktörlerinin yaş ve cinsiyetle ilişkisi bulunmamıştır.

Fizyolojik şartlarda trombositlerin aktivasyonu esnasında bu sitokinler ve büyüme faktörleri kendi biyoaktif durumlarına dönüşür ve pıhtılaşma sonrası 10 dk süresince salınır. Sentezlenmiş olan büyüme faktörlerinin %95'ten fazlası ise 1 saat süresince salınır. Salınım sonrası büyüme faktörleri mezenkimal kök hücreler, osteoblast, fibroblast, endotel hücreler ve epidermal hücrelerle eksprese olan transmembran reseptörlerine bağlanır. Bu durum internal sinyal iletim yolağını tetikler. Büyüme faktörlerinin reseptörlerle birleşmesi sonrası tirozin kinaz reseptörlerinin eksternal parçası ile stoplazmadaki messenger protein aktive olur. Aktive olmuş TKR sitoplazmik kuyruğu artık messenger proteinler için bağlanma bölgesi olarak görev yapar. Bu aktivasyon ile hücre çekirdeğine girip hücre bölünmesini sağlayan hedef genlerin aktivasyon kaskadı başlar. Takiben messenger RNA transkripsiyonu olur ve hücre tamiri ve rejenerasyonu kaskadı başlar(78,79). Hücre çoğalması, matriks oluşumu, osteoid üretimi, kollajen sentezi gibi normal yara iyileşme sürecini artıran gen sekanslarının ekspresyonuna yol açar. PRP faktörleri hücre içine veya nükleusa girmediğinden mitojenik veya kanserojen özelliklerinin olmadığı varsayılmaktadır.

PRP'nin aynı zamanda E.coli, MRSA, C.albicans ve C.neoformans gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ve dahası ağrı kesici etki de gösterdiği bildirilmiştir (80). Olgun kan pıhtısının pH'sı 7,0-7,2 arasında değişir. TZP'nin pH'sı 6,5-6,7 olduğu için bakteri artışını engeller çünkü bakteriler düşük pH'lı asidik solüsyonlarda çoğalmazlar. PRP güçlü bir MMP-1 uyarıcı olup bu sayede yara iyileşmesi sırasında ECM'ye tekrar şekillenme olanağı tanır.

PRP ayrıca sitokin salınımını baskılayarak inflamasyonu baskılayabilir ve kapiller anjiogenezi tetikleyerek rejenerasyon ve re-epitelizasyonu artırır. PRP'deki VEGF endotel hücre stimülasyonu ve anjiogeneziste önemli rol oynamakta, EGF fibroblast, endotel hücreleri ve keratinositler için mitojen iken IGF 'nin de hücre apoptozisinin modülasyonunda önemli etkileri vardır.(81,82).

PRP'nin yanıktaki etkilerini araştıran Hao T, 2. derece derin yanık yarası tanjansiyel eksizyon sonrası hastaların bir kısmına PRP ve dermal matriks; diğer kısmına ise sadece dermal matriks uygulayarak tedavi etmiş ve PRP eklediği

gruptaki hastalarda yanık yarasının iyileşme zamanında kısıalma, iyileşme oranında artma ve enfeksiyon oranında belirgin azalma olduğunu bildirmiştir(83). PRP'nin yara iyileşmesi üzerindeki etkisi içerdiği trombosit sayısına, trombosit konsantrasyonuna, elde edilen plateletten zengin plazmanın hacmine, mevcut travmanın türü ve genişliğine ve hastanın genel sağlık durumu gibi birçok etmene bağlıdır. Bugün için tüm farklı PRP hazırlama metodlarının etkilerinin tam karakterizasyonu yapılmamış olduğundan her bir farklı PRP hazırlama yöntemi ile farklı trombosit sayıları, farklı trombosit aktivasyon oranları ve yine değişik derecelerde büyüme faktörü seviyeleri elde edilebileceğini bilmek önemlidir; bununla birlikte literatürde PRP içeriğindeki elde edilen trombosit sayılarının bazal değer seviyesinde, bazal değer iki katından az ve sekiz katına kadar olan değerlerle yapılan çalışmalar mevcuttur (84,85). PRP'nin çok yüksek konsantrasyonlarda yara iyileşmesine ters etki ederek iyileşmeyi baskılayabileceği düşünülmektedir. Zira biyoaktif maddelere doz cevabı lineer artış göstermez, çan eğrisi şeklindedir ve hücre tipi ve sitokin ortamı ile ilişkilidir.

2.5.3 PRP'nin Kullanıldığı Alanlar

İlk dönemlerde PRP'nin maksillofasial cerrahide implant ve kemik grefti uygulamalarında faydalı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Diyabetik ayak yaraları da dahil olmak üzere kronik ülserler ve iyileşmeyen yaralarda, yumuşak doku defektleri gibi doku rejenerasyonu gerektiren alanlarda PRP 'nin; vaskülarizasyonu, epitelizasyonu ve granülasyonu artırdığı birçok klinik çalışmada gösterilmiştir.

Diyabet, vasküler yetmezlik, enfeksiyöz, posttravmatik, nöropatik ve vaskülit kökenli değişik etiyojileri olan kronik kutanöz yaralarda haftada 1 defa PRP uygulaması ile yara iyileşmesinde olumlu etkilerin olduğu bildirilmiştir(86). Birçok kozmetik cerrahi prosedürde kaldırılan fleplerin altına PRP uygulanmış ve dren kullanımına, kompresif pansumana gerek olmaması, postoperatif ağrı ve ödemi azaltması ve yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerine bağlı daha kısa sürede iyileşme sağladığı bildirilmiştir(87). Oküler cerrahide maküladaki tam kat eksikliklerin tedavisinde ve retinal yaralanmalarda proliferatif hücre cevabını artırdığı bildirilmiştir(88). Yine spinal cerrahide titanyum implantlar etrafına uygulanan PRP ile kemik rejenerasyonunda artış olduğu görülmüştür. Ayrıca PRP'nin alopesi areatada da yeni bir tedavi seçeneği olabileceği vurgulanmaktadır.

Trink ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada PRP enjeksiyonunun yeni saç oluşumunu belirgin oranda arttırdığı ve saç distrofisini azalttığı bildirilmektedir(89).

2.5.4 PRP'nin Hazırlanışı ve Uygulama Şekilleri

PRP; trombosit fonksiyonlarını ve içerdikleri biyoaktif molekülleri daha güçlü bir şekilde kullanabilmek için kandan trombositlerin ayrıştırılarak konsantre hale getirilmesi prensibi ile elde edilir. Bu elde edilen plazma kısmı otolog olarak hazırlanabildiği gibi allojenik kan ürünlerinden de hazırlanabilmektedir. Kan bankaları tarafından PRP'nin hazırlanması, plasmaferez ile de olabilir ancak yatak başı ayrıştırma araçlarına göre yüksek maliyete sahiptir ve PRP'nin elde edilmesi başarısız olabilir. Dahası kan bankasının hazırladığı PRP, klinisyenin ulaşabileceği yerde olmayabilir. Standart hücre ayrıştırıcıları ile PRP hazırlanması işleminde genel olarak bir ünite kan kullanılmaktadır. Hızlı ve yavaş santrifüj teknikleri ile normal trombosit konsantrasyonu 2-4 kat artırılabilir. Bunlardan bazıları (Fresenius,Wilmington,DE), SequestraMedtronic, Minneapolis,MN), Haemonetics Cell Saver 5 (Haemonetics Corp.,Braintree, MA)'dir (90,91). Ayrıca 6 ml'den 45-50 ml'ye kadar PRP hazırlayabilen küçük kompakt ofis sistemleri de bulunmaktadır. Bunlardan bazıları şunlardır; GPS (Cell Factor Technologies, Inc. Warsaw, IN), the PCCS (Implant Innovations, Inc. Palm Beach Gardens, FL),the Symphony II (DePuy, Warsaw, IN), the SmartPReP (Harvest Technologies Corp, Norwell, MA), Magellan(Medtronic, Minneapolis, MN) (85).

PRP hazırlanması için piyasada bulunan çok sayıdaki hazır kit ve sistemlerden farklı oranlarda trombosit ve büyüme faktörleri içeren ürünler elde edilebilmesiyle birlikte tümü aynı prensiple çalışmaktadır. Trombositlerin istenen zamandan önce aktifleşmemesi ve içerdikleri büyüme faktörlerini kaybetmemeleri için hastadan alınan kan antikoagülan bir solüsyon içerisine alınır. PRP kitinin özelliğine göre tek ya da iki aşamalı santrifüj edilebilir. Santrifüj işlemlerinden sonra kırmızı kan hücreleri, PPP ve PRP birbirlerinden ayrıştırılır. Bazı hazırlama sistemlerinde bir tek santrifüj işlemi sonrası PRP kısmı enjektörle tüp içinden çekilirken bazı hazırlama sistemlerinde ilk santrifüj işleminde eritrositlerden ayrıştırılıp takip eden ikinci bir sentrifugasyon ile PRP PPP'den ayrılır. Trombositlerin aktivasyonunu sağlamak için trombin ve kalsiyum kloridin solüsyona

eklenmesi gereklidir. Aktive olan trombositler uygulandıkları alanda pıhtı oluştururken aynı zamanda ortama da içerdikleri büyüme faktörlerini salgılar.

2.5.5 PRP'nin Kontrendike Olduğu Durumlar

PRP kullanımı koagülasyon defektlerinde (trombositopeni, antikoagulan kullanımı, hipofibrinojenemi), anemik durumlarda, hemodinamik instabilite varlığında ve bovin trombin hipersensitivitesi olanlarda kontraendikedir. Bunun yanında kronik karaciğer hastalıklarında, HIV pozitif hastalarda, immünoşüpresyonda ve sepsis durumlarında PRP uygulanmamalıdır. Yan etki olarak ekimoz, ağrı ve geçici ateşlenme olabilir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: TTU-2015-125
Çalışmamız Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 10.06.2014 tarih ve 03 sayılı etik kurul kararı ile Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada kullanılan tavşanlar Ankara'dan Saki Yenilli Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarı 'ndan temin edildi. Tavşanların izlemi, tavşanlara yapılan tüm girişimler KTÜ Deneysel Araştırma Laboatuvarı ve KTÜ Nükleer Tıp Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma 21.04.2015 ile 24.04.2015 ve 06.05.2015 ile 09.05.2015 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmamızda ağırlıkları 1850- 4800 gr arasında değişen 20 adet Yeni Zelanda tipi dişi tavşan kullanıldı. Tavşanların bakımı ve beslenmesi merkez çalışanları tarafından sağlandı. Tavşanların hepsi standart tavşan yemi ile beslenip, aynı ölçütteki kafeslerde ayrı olarak tutuldu. Tavşanların sağlık durumları günlük olarak kontrol edildi. Tavşanlar çalışma döneminde aynı besinlerle ve aynı miktarlarda beslendiler. Cerrahi müdahaleler KTÜ Deneysel Araştırma laboratuvarında aynı cerrah tarafından standart şekilde gerçekleştirildi.

3.1 Standart Hazırlık

Anestezi ve yanık uygulaması için; eldiven, ketasol (ketamin), Xylazinbio (xylazine hidroklorid), betadine (povidone-iodine),su ısıtıcı, pirinçten yapılmış çubuk kullanıldı. Plateletten zengin plazma hazırlamak, tavşanlardan kan alabilmek ve hazır hale getirilen PRP'yi enjekte etmek için enjektör (5cc,3cc,10cc) , kelekli vacutainer, hypodermal 21G x 50 mm iğne, hypodermal 30G x 13 mm iğne, mavi uçlu branül, 1 adet 100ml balans tüpü, Eppendorf 5810 Hamburg, Germany marka santrifüj cihazı, Traylife PRP kiti ve platletten zengin plazma için Traylife PRP aktivatörü kullanıldı.

3.2 Deney ve Kontrol Grupları

Çalışmada yaşları 210-240 gün olan, ağırlıkları 1900-4800 gram arasında değişen Yeni Zelanda tipi 20 adet dişi tavşan kullanıldı. Kullanılan tavşanlar rastgele her grupta 10 adet tavşan olacak şekilde iki gruba ayrıldı (n=10). Yanık Travma modeli deney gruplarına standart olarak uygulandı.

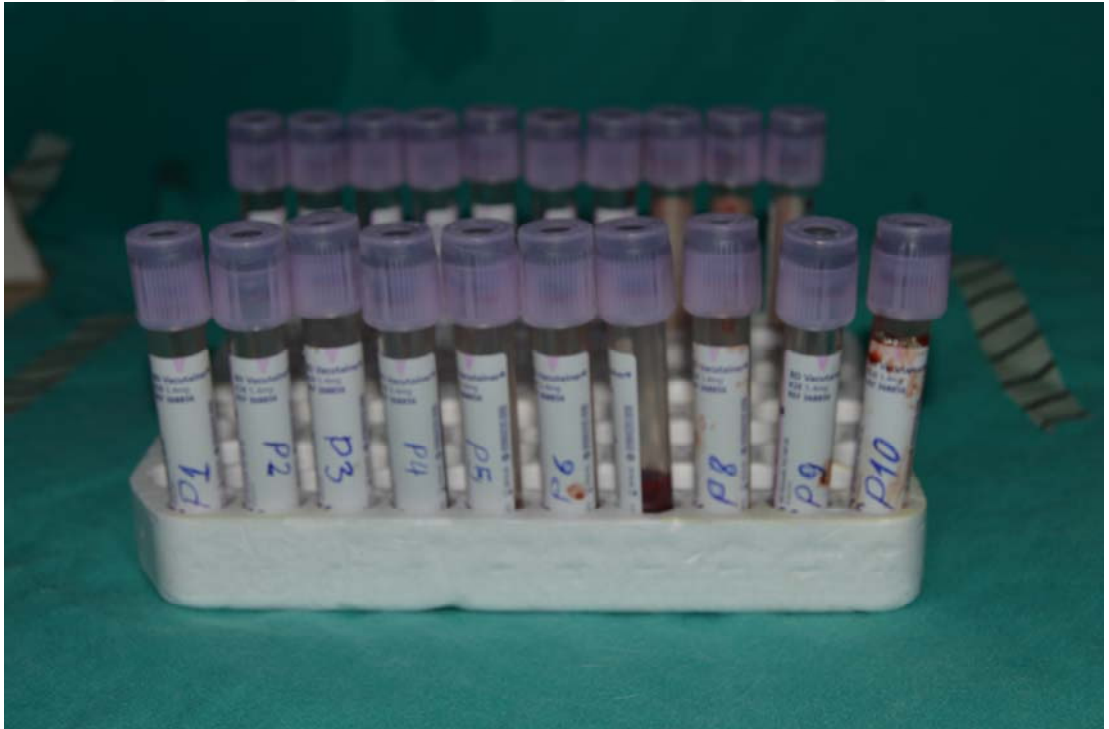
Grup 1 (SF Grubu) : 10 adet tavşandan oluşturuldu. Aralarında 0,5 x2 cm 3 adet boşluk olan 1X2 cm'lik 4 adet pirinç çubuktan plak ile 15 dakika kaynatılmış suda 20 saniye bekletilerek tavşanların sağ kulağında 1 X 2 cm'lik dört adet tam kat yanık alanlar oluşturuldu. Sağ kulak yakıldıktan sonra bazal trombosit sayımı için sol kulaktan 1 cc kan alındı. Oluşturulan yanık sonrası her bir tavşanın sağ kulağında tanımlanmış olan staz zonlarına orta ve derin retiküler dermis seviyesine serum fizyolojik enjekte edildi.

Grup 2 (PRP Grubu) : Aralarında 0,5 X2 cm'lik 3 adet boşluk olan 1X2 cm'lik 4 adet pirinç çubuktan plak ile 15 dakika kaynatılmış suda 20 saniye bekletilerek tavşanların sağ kulağında 1 X 2 cm'lik dört adet tam kat yanık alanlar oluşturuldu. Sağ kulakta oluşturulan yanık sonrası sol kulaklarından 10 cc kan alındı. Alınan kan sitratlı tüpte santrifüj sonrası PRP elde edildi. Oluşturulan yanık sonrası her bir tavşanın sağ kulağına hazırlanan plateletten zengin plazma staz zonlarına orta ve derin retiküler dermis seviyesine enjekte edildi.

3.3 PRP Hazırlanışı

Plateletten zengin plazmanın hazırlanmasında, Traylife PRP sistem (Promoitalia Italy) kullanıldı. Santrifüj yapım sahası sterildi. Eppendorf 5810 Hamburg, Germany santrifüj cihazı, ve Traylife PRP kiti ve aktivatörü kullanıldı. Tüpler antikoagulan olarak biyo-uyumlu tamponlu sodyum sitrat ve sitrik asit içermektedir. Bu karışım kanın ve plazmanın pıhtılaşmamasını sağlamaktadır. Tavşanların sol kulağından sarı uçlu branül ile 10 cc kadar kan alındı. Alınan bu 10 cc kanın 1 cc'lik kısmı bazal trombosit sayımı için kullanıldı. Alınan kanın kalan 9cc lik kısmı sitratlı tüpe konuldu. Tüpte antikoagulan ile karışması için 5-6 kez sallandı. Ardından 100 ml lik balans tüpü karşısına koyularak santrifüj cihazındaki yuvasına yerleştirildi, 10 dakika süreyle 2000 devir/dk. santrifüj edildi. Santrifüj edilmiş bu

iki adet tüp dikey konumda dikkatlice çıkartılarak rafa dik olarak yerleştirildi. 9 ml'lik kan için elde edilen serum (PRP+PPP) miktarı yaklaşık 5-6 ml idi. Her santrifüj sonucunda tamamen aynı miktarda olmamakla birlikte tüplerde biriken eritrosit tabakası yaklaşık 3-4 ml idi. Santrifüj sonrası tüpte en altta eritrosit tabakası, plateletten ve lökositlerden zengin buffy coat ve plazma oluştu. Eritrosit tabakası dışında kalan serumun yaklaşık 2/3' ünden daha fazlası plateletten fakir plazma idi ve yaklaşık 1 cc kadarı buffy coat'ı içeren kısım aspirasyon iğnesi ile tam eritrosit seviyesi sınırından özellikle plateletlerin en yoğun olduğu buffy coat tabakasından itibaren enjektörle tüpün içinden enjeksiyon yapacak 30 G'luk hipodermal enjektöre çekildi. Elde edilen yaklaşık 0,9 – 1,0 ml plateletten zengin plazmanın aktivasyonu için adenozin, guanin, sitozin ve timin nükleotidleri ile zenginleştirilmiş kalsiyum klorit solusyonundan 0,5 ml eklenerek PRP aktive edildi. Aktive edilen plateletten zengin plazmanın jel formuna dönmemesi için ilk 8 dakikada uygulanmak üzere deney grubundaki tavşanlarda oluşturulan staz zonuna enjekte edilmek üzere kullanıma hazır hale getirildi.



Resim-1: Her iki grup bazal trombosit değeri ölçümleri için alınan örnekler

SF GRUBU	BAZAL TROMBOSİT SAYISI	PRP GRUBU	BAZAL TROMBOSİT SAYISI	PRP'DEKİ TROMBOSİT SAYISI
S 1	168000/ μ l	P 1	336000/ μ l	625000/ μ l
S 2	210000/ μ l	P 2	139000/ μ l	167000/ μ l
S 3	137000/ μ l	P 3	518000/ μ l	832000/ μ l
S 4	156000/ μ l	P 4	259000/ μ l	376000/ μ l
S 5	348000/ μ l	P 5	250000/ μ l	344000/ μ l
S 6	235000/ μ l	P 6	316000/ μ l	354000/ μ l
S 7	383000/ μ l	P 7	349000/ μ l	378000/ μ l
S 8	227000/ μ l	P 8	242000/ μ l	260000/ μ l
S 9	120000/ μ l	P 9	343000/ μ l	374000/ μ l
S 10	154000/ μ l	P 10	339000/ μ l	527000/ μ l

Tablo-1: Her iki grubun bazal trombosit değerleri ve elde edilen plateletten zengin plazmadaki trombosit değerleri



Resim -2: Anestezi altında Yeni Zelanda tavşanı deney öncesi



Resim-3: Anestezik olarak kullanılan Ksilazin ve Ketamin



Resim-4: PRP kiti



Resim-5: Plateletten zengin plazma aktivatörü



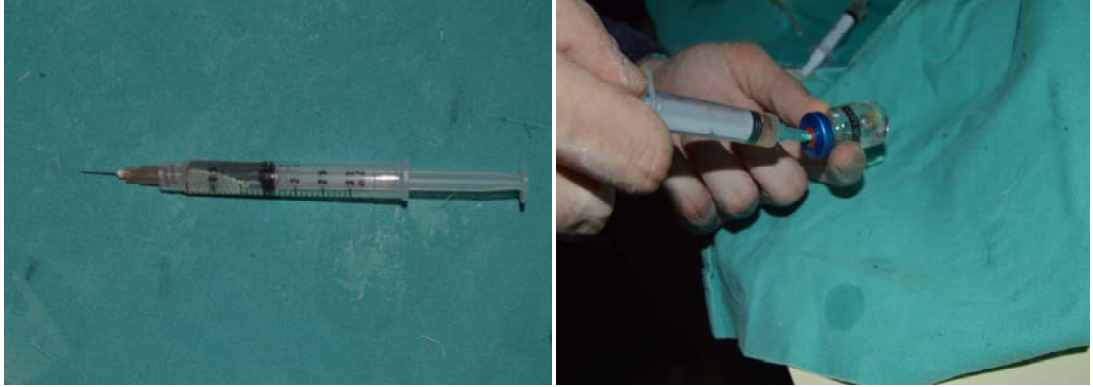
Resim-6: Santrifüj Cihazı



Resim-7: PRP tüplerinin santrifüj cihazına yerleştirilmesi



Resim-8: Santrifüj sonrası PRP tüpü ve plateletten zengin plazmanın ayrıştırılması



Resim-9: Elde edilen plateletten zengin plazma ve aktivasyonu

3.4 Cerrahi Teknik

Her bir tavşana 5mg/kg Ksilazine Hidroklorid (Xylazinbio %2 (R), ve 35 mg/kg Ketamin Hidroklorid (Ketasol-50 mg/ml) intramuskuler olarak enjekte edilerek anestezi ilaçlar uygulandı. Anestezi sonrası her bir kulak ventral bölgesi

traşlandı. Serum fizyolojik ile yıkanarak kıllar uzaklaştırıldı. Povidon iyot ile saha temizliği sağlandı. Antibiyotik profilaksisi uygulanmadı.

Regas ve Erlich'in tanımladığı yanık modeline uygun 2x1 cm lik 4 adet ucu olan aralarında 0,5 x 2 cm'lik 3 adet boşluk olan pirinçten yapılmış çubuk kaynayan suda 15 dakika bekletildi. Uygun ısı kazanan pirinç çubuk ortalama 95 +-2 C derece sıcak su ile kendi ağırlığının dışında basınç uygulanmayacak şekilde 20 saniye süre ile temas ettirilerek derin üçüncü derece yanık oluşturuldu.

Sham grubundaki tavşanlar yanık travması oluşturulduktan sonra pirinç çubukların arasındaki zonların hepsine 0,5 ml serum fizyolojik intradermal olarak orta ve derin retiküler dermis seviyesine enjekte edildi.

Deney grubundaki tavşanlara da aynı şekilde 15 dakika kaynamış suda 20 saniye bekleyen pirinç çubuk hiçbir şekilde basınç yapmaksızın kendi ağırlığı ile sağ kulağına temas ettirilerek iç yüzlerinde yanık oluşturuldu. Sedasyon altındaki deney grubundaki tavşanların karşı kulağından alınan kan ile hazırlanan PRP santifüj sonrası DNA aktivtöründen 0,5 ml çekilerek plazma ile karıştırıldı ve aktive edildi. Aktive edilen plateletten zengin plazma oluşturulan yanıktan sonraki ilk 30 dakika içinde her bir staz zonuna 0,5 ml miktarında olmak üzere toplam miktar olarak 1,5 ml intradermal olarak orta ve derin retiküler dermis seviyesine enjekte edildi. Her tavşan için ayrı kanül ve enjektör kullanıldı. Enjeksiyon sırasında ucu körelen kanül travmatizasyonu engellemek için yeni steril bir enjektör ucu ile değiştirildi. Deneysel yanık oluşturma ve enjeksiyonların ardından analjezi amaçlı tavşanların içme suyuna 3 gün boyunca 2mg/ml parasetamol katıldı. Yanık alanlarında enfeksiyon bulgusu izlenmedi. Deney grubundaki 3 numaralı tavşan (P3) sintigrafi öncesi anemi nedeniyle exitus olduğu için deneyden çıkarılmayı gerektirdi.

Yanık oluşturulduktan 72 saat sonra tavşanlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Nükleer Anabilim dalı sintigrafi laboratuvarına alındı. Laboratuarda sintigrafik görüntüleri alındıktan sonra tavşanlar dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edilerek sağ kulakları yanık alanlar, staz zonu ve sağlam dokuyu kapsayacak şekilde eksizel olarak %10'luk formaldehit solusyonu içine alınarak immünohistokimyasal inceleme için histoloji laboratuvarına gönderildi.



Resim -10: Yanık oluşturulan pirinç çubuk



Resim -11: Yanık oluşturulması işlemi



Resim-12: Yanık oluşturulmuş sağ kulak



Resim-13: Tavşanın kulağından kan alınması



Resim-14: SF grubunda staz zonuna serum fizyolojik intradermal enjeksiyonu

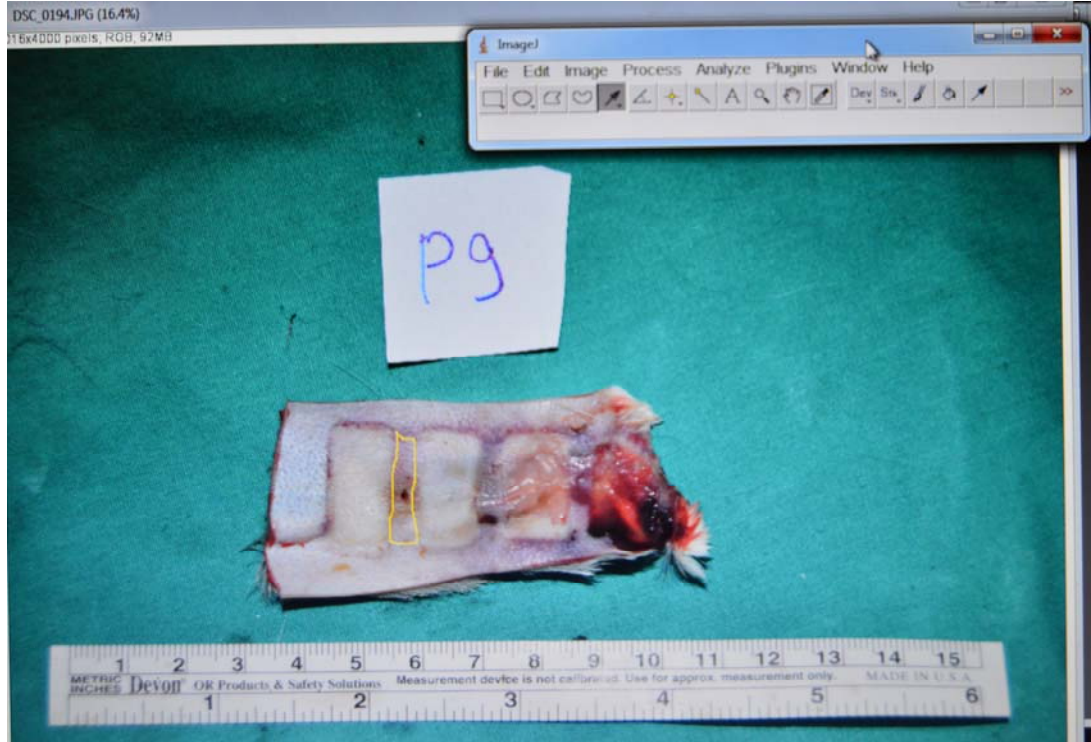


Resim-15: Deney grubunda Staz zonuna PRP intradermal enjeksiyonu

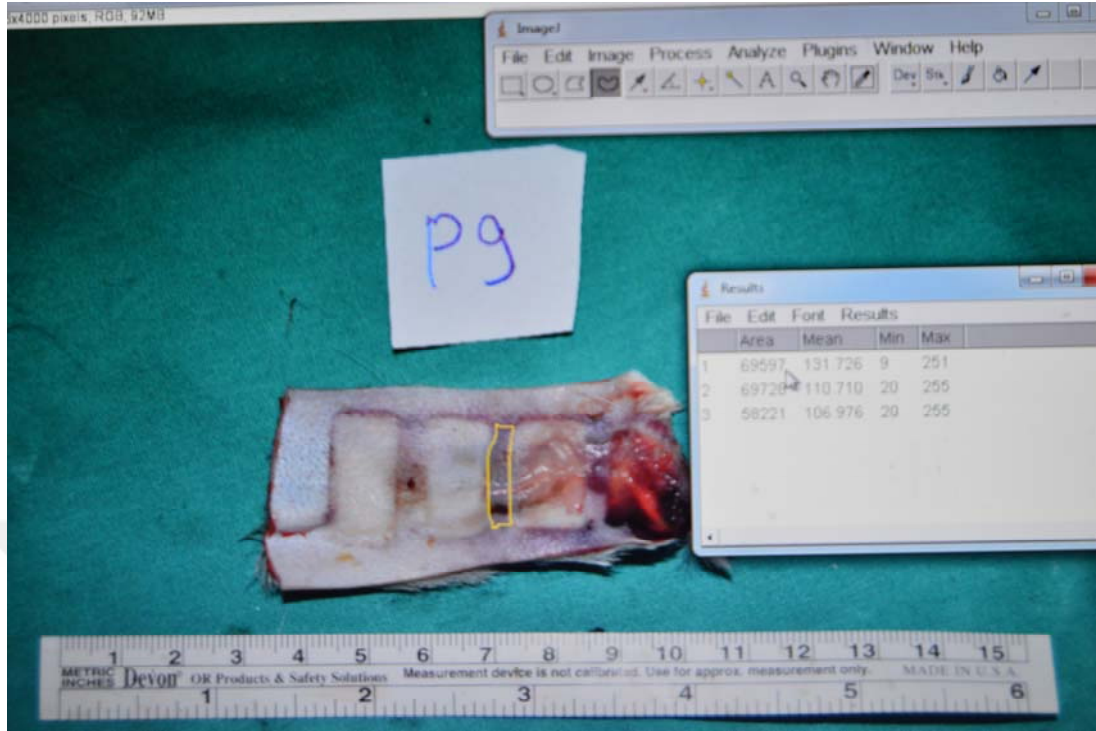
3.5 Değerlendirme Yöntemleri

3.5.1 Yanık cildin iyileşme oranının ölçülmesi: (foto analiz)

Her iki grupta da her bir tavşanın sağ kulağında pirinç çubukla 2 X 1 cm'lik 4 adet yanık cilt adası oluşturulduktan sonra her bir oluşturulan yanık cilt alanı 200 mm² ve ve yanık alanların arasında her biri 0,5 X 2 cm' lik 100 mm² olan toplam 3 adet staz zonu elde edildi. Her hayvandaki yanık öncesi toplam staz zonu alanı 300 milimetrekare olarak kabul edildi. Travmanın 4.gününde tavşanlar sakrifiye edilmeden hemen önce çekilen fotoğraflarda staz zonlarının hesaplanması için Image J (National Institutes of Health, USA) programı kullanıldı. ImageJ bütün java bazlı sistemlerde kullanılabilen resimleri görüntülemeye, analiz etmeye yarayan; alan ölçümleri yapabilen, uzaklıkları, açıları ölçebilen ve histogramlar oluşturmaya yarayan bir programdır. Bu programın özelliklerinden faydalanılarak her fotoğtafa konan milimetrik cetvel yardımıyla alan ölçümü için kalibrasyon yapıldı. Her kulaktaki toplam 3 adet staz zonu alanı kalibrasyon sonrası ayrı ayrı mm² biriminden hesaplandı. Her denekte ayrı ayrı hesaplanan staz zonu alanları karşılaştırıldı.



Resim -16: Milimetrik cetvel yardımıyla Image-J ile kalibrasyon yapılması



Resim-17: Staz zonu alanlarının Image-J kullanılarak hesaplanması

3.5.2 Histopatolojik değerlendirme: Re-epitelizasyon, İltihabi İnfiltrasyon, Makrofaj Dansitesi, Anjiogenezis, Fibroblast Proliferasyonu, Apoptozis ve Staz Zonu ölçümleri:

Her bir çalışma grubuna ait kulak örnekleri koagülasyon ve staz zonlarını içerecek şekilde 3 parçaya bölündü. Birbirini takip eden kısımlar numaralandırıldı. Alınan doku örnekleri %10 luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Tespit sonrası %70, %90, %96 ve %100'lük dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Xylen'de şeffaflaştırıldı. Parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen Eozin (H&E) ve bağ dokusu yapısının izlenebilmesi için Masson's trikrom ile boyandı. Elde edilen preparatların histopatolojik değerlendirmesi, çalışma gruplarından habersiz, bu konuda deneyimli bir histolog tarafından ışık mikroskopik olarak yapıldı. Değerlendirmede tüm preparatlar ışık mikroskopta (Olympus BX 51; Olympus Optical Co, Ltd, Tokyo, Japan) değişik büyütme oranlarında genel morfoloji açısından gözden geçirildi. Staz zonunu bir fotoğraf karesinde görebilmek için Olympus BX 51 ışık mikroskobuna

bağlı Olympus DP 71 dijital fotoğraf makinesi ile görüntüler alındı. Bütün dijital görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı ve Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany) ile staz zonu incelendi.

Histopatolojik olarak subepitelial nötrofil infiltrasyonu, epitelizasyon, anjiogenezis, makrofaj dansitesi ve fibroblast proliferasyonu açısından değerlendirildi. Işık mikroskopik ölçüm ve sayımlarda Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany) kullanıldı.

Subepitelial nötrofil infiltrasyonunun değerlendirmesinde nötrofiller X400 büyütmede 5 farklı alanda sayıldı ve ortalaması alındı. Her alanda ortalama 0-5 hücre (1 +), 5-10 hücre (2 +) ve 10 hücreden fazlası (3+) olarak değerlendirildi. Aynı skorlama sistemi fibroblast proliferasyonu ve makrofaj dansitesini değerlendirmede de kullanıldı.

Epitelizasyonun değerlendirmesinde, staz zonunda epitelizasyonun olduğu kısmın tüm staz zonunun uzunluğuna oranı yüzde olarak hesaplandı. Skorlamada epitelizasyon yok ise (0), %25 'e kadar epitelizasyon (1), %25-50 epitelizasyon (2), %50-75 epitelizasyon (3), tamamen epitelizasyon var ise (4) puan olarak değerlendirildi.

Anjiogenezis skorlamasında yarıkantitatif olarak anjiogenezis hiç yok ise:0, hafif: 1, orta:2, şiddetli: 3 puan olarak değerlendirildi.

Apoptozis Değerlendirmesi

Apoptotik hücrelerin işaretlenmesi için parafin bloklara gömülü doku örneklerinden 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kulak derisi epidermis epitel hücreleri ve dermis bağ dokusu hücrelerinde apoptozisi değerlendirmek için TUNEL (Terminal deoxynucleotidy transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay) tekniği kullanıldı. TUNEL tekniğini uygulamada in situ cell death detection kit (Roche, Mannheim, Germany) kullanıldı. Apoptotik hücrelerin renklendirilmesinde 3,3'-diaminobenzidine (DAB) içeren kit (DAB, Sigma, St. Louis, MO, USA) kullanıldı. Nekroz alanları bulunmayan, homojen boyanmış kahverengi hücreler apoptotik hücre TUNEL (+) olarak tanımlandı. Her bir gruba ait epidermis epitel hücreleri ve dermis bağ dokusu hücrelerinde apoptotik ve normal

hücreler x400 büyütmede 5 farklı alanda 100 hücre sayıldı Apoptotik hücre yüzdesi hesaplandı.

3.5.3 Sintigrafik Değerlendirme

Deneyin 4.günü yanık oluşturulduktan yaklaşık 72 saat sonra anestezi altında hem kontrol grunundaki hem deney grubundaki tavşanlara sol kulak veninden 3mCi Teknesyum-99m MIBI enjekte edildi. Enjeksiyondan 30 dakika sonra tavşanlar sintigrafı laboratuvarına götürüldü. Baş ve diğer kulak görünütü alanına girmemesi için kurşun bloklar ile kapatılarak ekarte edildi. Ardından 10 dakika boyunca gamma kamera pinhole collimatör altına konuldu ve statik sintigrafik görüntüler elde edildi.



Resim-18: Tavşanlara 72.saatte sintigrafı çekilmesi

3.5.4 İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirme SPSS 13.0 programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler bakımından (fibroblast proliferasyonu, nötrofil infiltrasyonu, reepitelizasyon, anjiogenez, makrofaj dansitesi, epitel apoptozis oranları, bağ dokusu apoptozis oranları ve canlı staz zonu alan ölçümleri) gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirildi.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Ölçümsel verilerin iki grupta karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan verilerde Student-T testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan verilerde Mann Whitney U testi kullanıldı. Elde edilen sonuçlar $p < 0.05$ olduğu durumda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Foto Analiz Bulguları

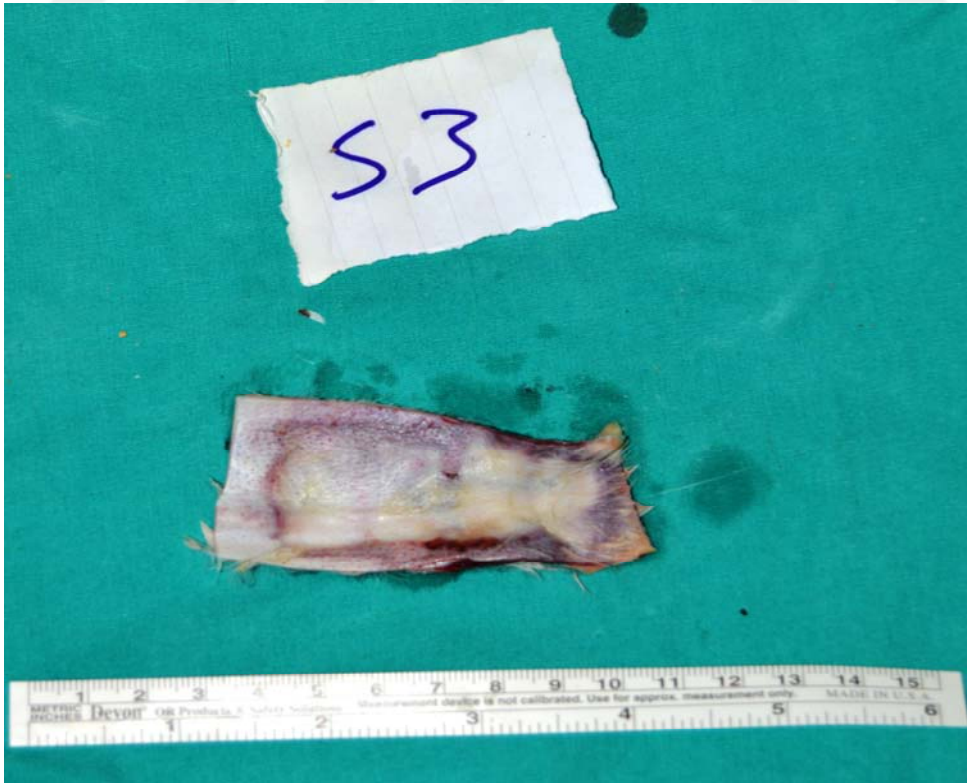
SF GRUBU GÖRÜNTÜLERİ



Resim -19: SF grubu 1 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -20: SF grubu 2 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -21: SF grubu 3 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -22: SF grubu 4 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



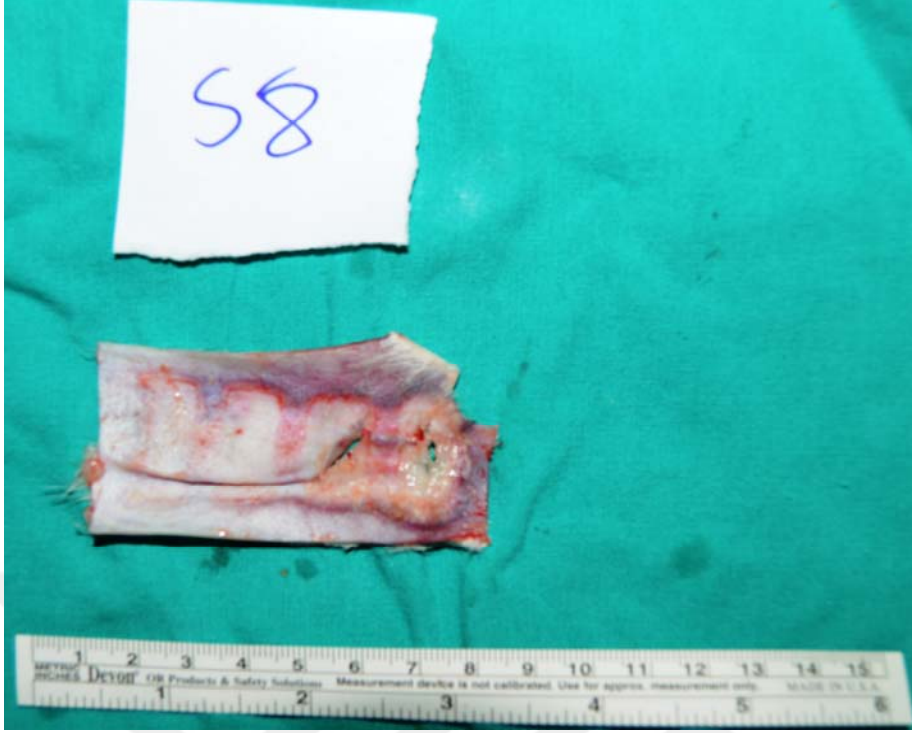
Resim -23: SF grubu 5 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -24: SF grubu 6 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -25: SF grubu 7 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -26: SF grubu 8 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -27: SF grubu 9 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -28: SF grubu 10 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

DENEY GRUBU GÖRÜNTÜLERİ



Resim -29: PRP grubu 1 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -30: PRP grubu 2 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -31: PRP grubu 4 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -32: PRP grubu 5 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -33: PRP grubu 6 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -34: PRP grubu 7 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -35: PRP grubu 8 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



Resim -36: PRP grubu 9 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni



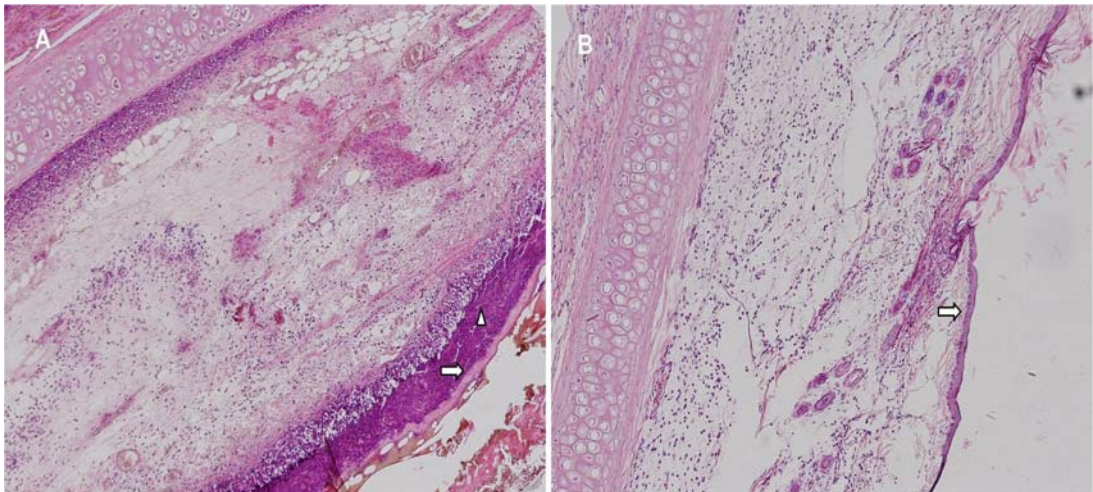
Resim -37: PRP grubu 10 numaralı tavşanın 4.gün ötenazi sonrası kulak spesmeni

4.2.Histopatolojik Bulgular:

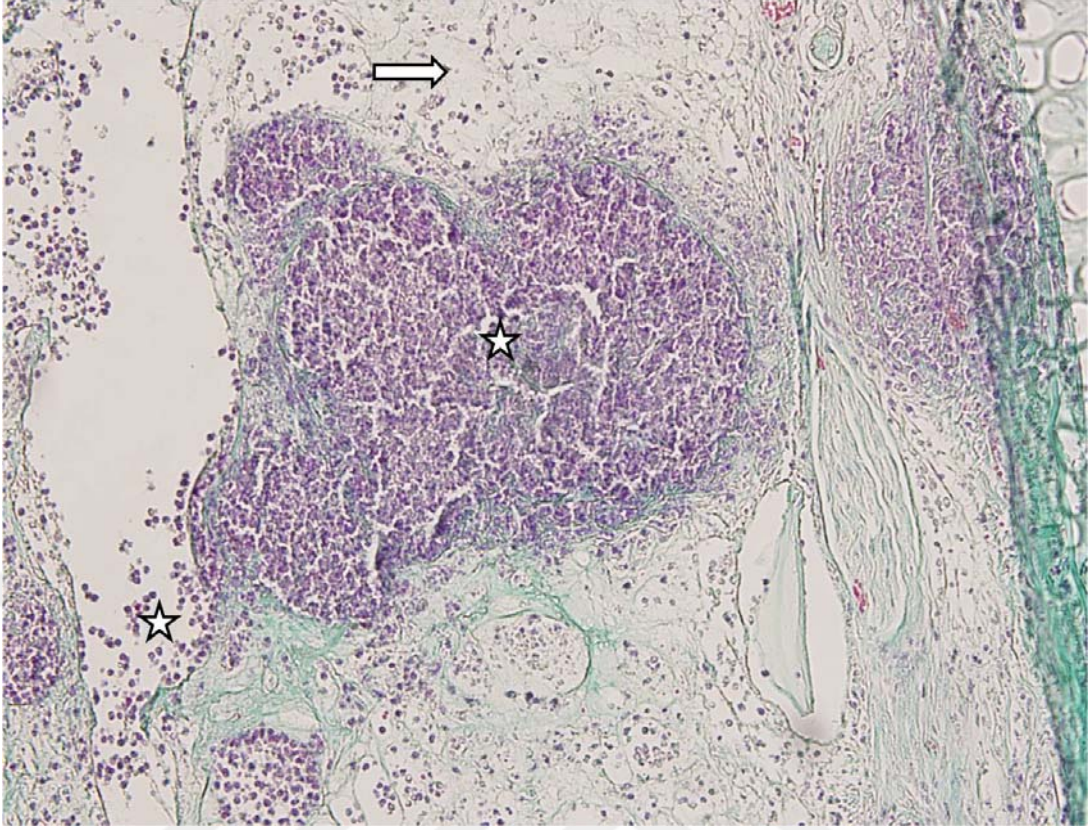
SF grubuna ait preparatlarda staz zonuna ait farklı kesitlerde belirgin olarak subepitelial yaygın nötrofil infiltrasyonu izlendi. Epitel tabakası oldukça incelmışti. Yer yer epitel tabakasının olmadığı alanlar mevcut idi. Dermiste yaygın nötrofil infiltrasyonu ve makrofaj dansitesinde artış izlendi. Dermiste bağ dokusu hücreleri oldukça azalmışti ve vasküler konjesyon mevcut idi (Resim 38,39).

PRP grubuna ait preparatlarda, epitel yapısının yer yer kesintiye uğramasına rağmen bütünlüğünü koruduğu izlendi. Subepitelial nötrofil infiltrasyonu izlenmedi. Dermiste nötrofil infiltrasyonu ve yer yer makrofajlar izlendi. Yaygın fibroblast proliferasyonu izlendi (Resim 38, resim 40).

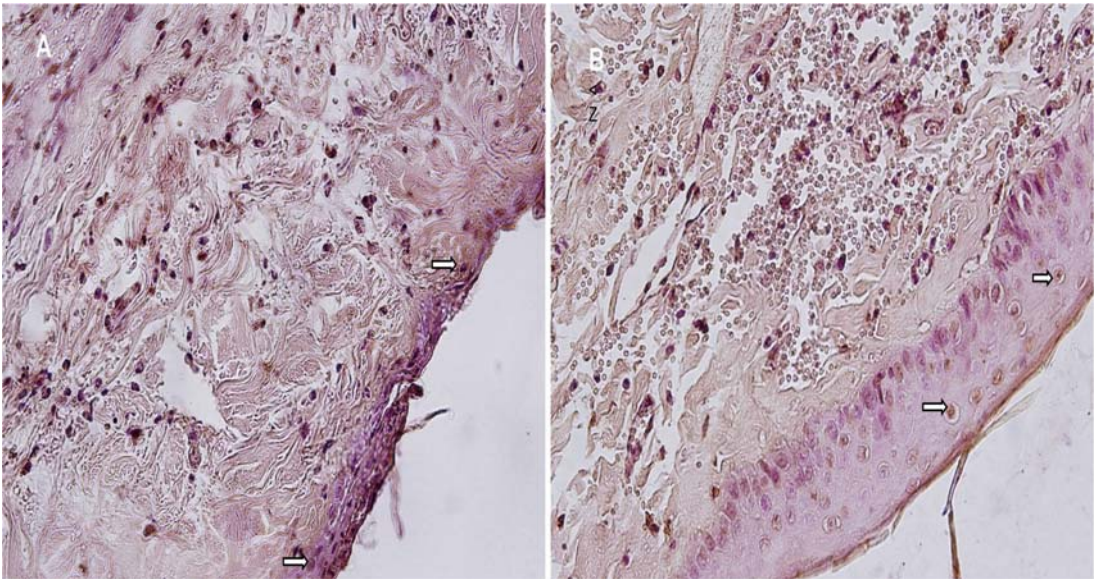
TUNEL tekniği uygulanarak yapılan apoptozis değerlendirmesinde, SF grubunda mevcut epitel hücrelerinde ve dermiste bağ dokusu hücrelerinde apoptozis belirgin olarak izlendi. PRP grubunda epitel hücrelerinde apoptozis serum fizyolojikle tedavi edilen gruba göre oldukça azdı (Resim 40). Dermiste bağ dokusunda apoptotik ve normal bağ dokusu hücreleri bir arada izlendi. Yaygın fibroblast proliferasyonu mevcut idi (Resim 41).



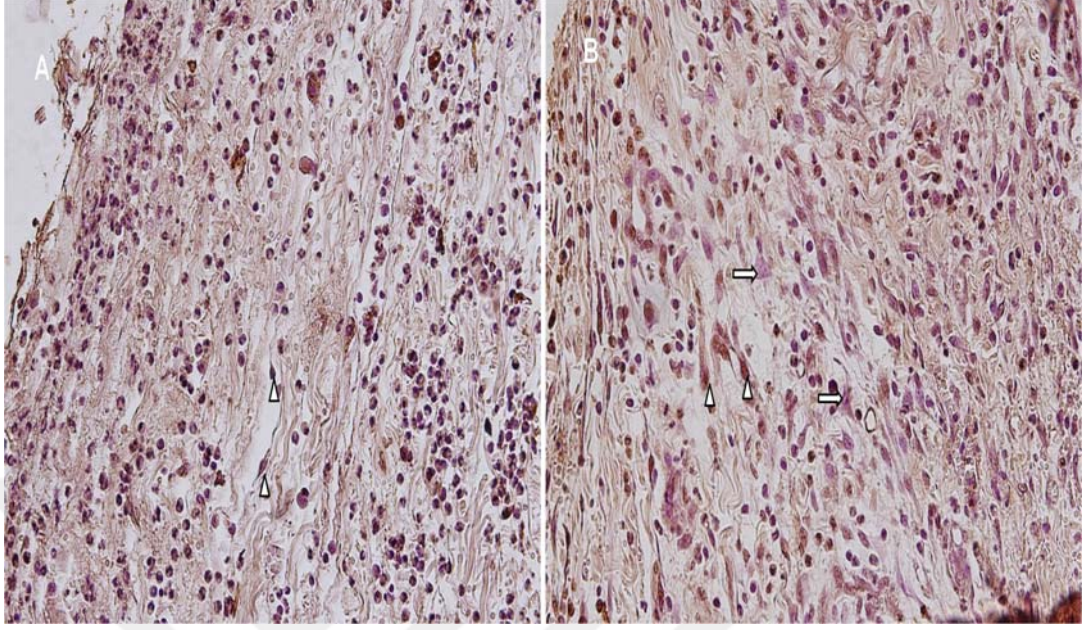
Resim-38: A: S grubu; B: P grubu. Epitel (↑), Subepitelial nötrofil infiltrasyonu (▲), (H&E X100).



Resim-39: S grubuna ait mikrofotograf. Bağ dokusunda azalma (↑), nötrofil infiltrasyonu (yıldız), (Masson trikrom X200).



Resim-40: A: S grubu; B: P grubu. Apoptotik epitel hücreleri (↑), (TUNEL analiz X400).



Resim -41: A: S grubu; B: P grubu. Apoptotik bağ dokusu hücreleri (▲), normal fibroblast hücreleri (↑),(TUNEL analiz X400).

Histopatolojik olarak elde edilen ve fotoanalizde elde edilen veriler dökümente edildi ve istatistiksel olarak araştırıldı.

Deney grubunda plateletten zengin plazma enjekte edilen tavşanlarda Image-j kullanılarak fotoanalizi sonucu toplam olarak kurtarılan staz alanı 1180,3 mm² ölçülmüş olup ortalama yine plateletten zengin plazma enjekte edilen her bir tavşan başına ortalama değer olarak kurtarılan staz zonu ölçümü 131,114 mm² ölçüldü.

SF grubunda total olarak kurtarılan alan 647,59 mm² ölçülmüş olup denek başına kurtarılan ortalama staz alanı 64,759 mm² ölçüldü. Veriler sayısal olarak elde edildi. Student-T testi uygulanarak farklılık araştırıldı.

	SF GRUBU (ortalama)	PRP GRUBU (ortalama)	Pdeğeri (p <0,05 = anlamlı)
Reepitelizasyon (0-4)(skor)	0,70	3,56	<0,001*
Nötrofil infiltrasyonu (1-3)(skor)	2,80	1,78	0,007*
Makrofaj Dansitesi(1-3) (skor)	1,50	1,11	0,076
Fibroblast Proliferasyonu (1-3)(skor)	1,20	2,44	<0,001*
Anjiogenez (0-3) (skor)	0,70	1,00	0,203
Epitel Apoptozis Yüzdesi (%)	21,10	8,11	<0,001*
Bağ Doku Apoptozis Yüzdesi (%)	61,10	30,33	<0,001*
Staz Zonu Alanı (mm ²)	64,75	131,11	0,018*
Trombosit Sayısı (10 ³ / µl)	213,80	285,89	0,068

Tablo-2:Her iki gruptaki histopatolojik veriler, staz zonu alanı ve apoptozis oranları

*: istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) olan parametreler

Reepitelizasyon skorlaması: 0:Epitelizasyon yok
1:%25e kadar epitelizasyon var
2:%25-50 epitelizasyon var
3:%50-75 epitelizasyon var
4:Tamamen epitelizasyon var

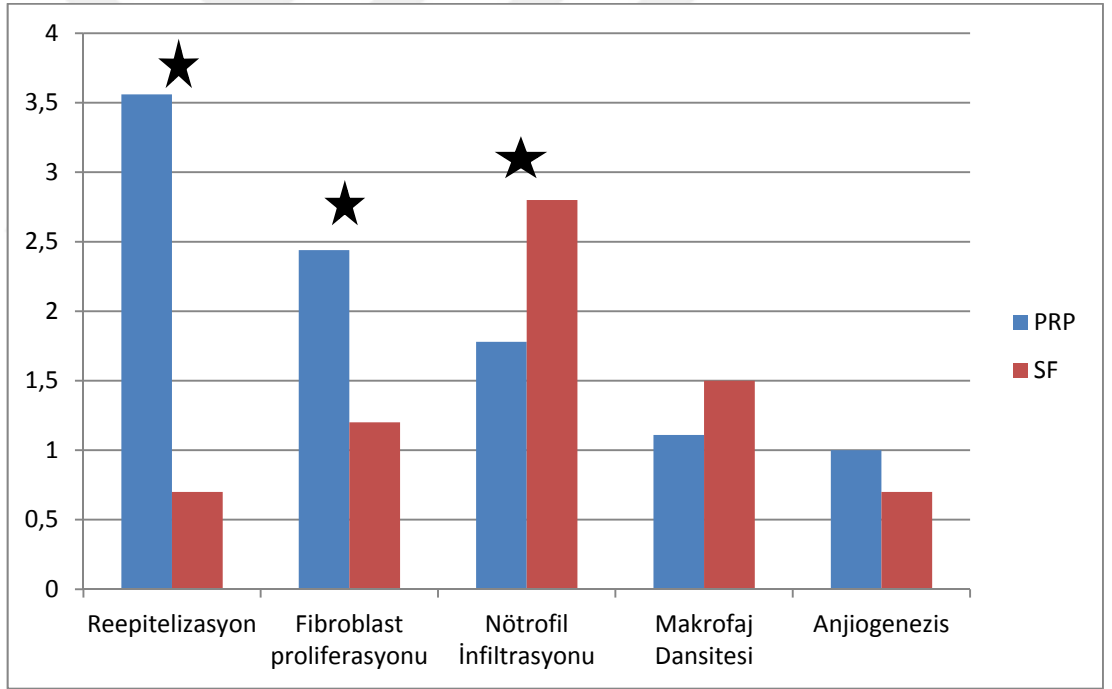
Nötrofil İnfiltrasyon skorlaması: 1:Her alanda 0-5 nötrofil
2:Her alanda 5-10 nötrofil
3:Her alanda >10 nötrofil

Fibroblast proliferasyon skorlaması: 1:Her alanda 0-5 fibroblast
2:Her alanda 5-10 fibroblast
3:Her alanda >10 fibroblast

Makrofaj dansitesi skorlaması: 1:Her alanda 0-5 makrofaj
2:Her alanda 5-10 makrofaj
3:Her alanda >10 makrofaj

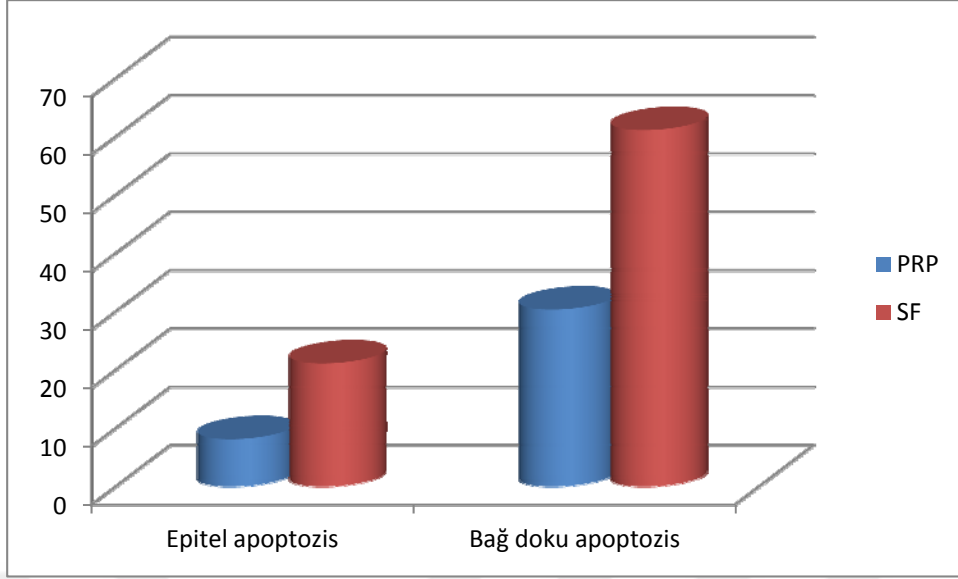
Anjiogenez skorlaması: 0:Hiç yok
1:hafif
2:orta
3:şiddetli

Normal dağılıma uyan verilerde PRP grubunda reepitelizasyon, canlı staz zonu alanı SF grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmış olup p değeri 0,05'ten küçük bulunmuştur. PRP grubunda epitelyum ve bağ dokudaki apoptozis oranları SF grubuna göre anlamlı derecede düşük saptanmış olup p değeri 0,05'ten küçük bulunmuştur. Her iki grubun bazal trombosit sayıları arasında anlamlı bir fark saptanmamış olup p değeri 0,05 'ten daha yüksek bulunmuştur.



Tablo-3: Her iki grup arasındaki histopatolojik farklılıklar grafiği

★ : İstatiksel olarak anlamlı olan histopatolojik parametreler



Tablo-4: Her iki grup arasındaki epitelium ve bağ dokusundaki apoptozis yüzdeleri farkı grafiği : PRP grubunda SF grubuna göre hem epitelium dokusunda hem de bağ dokusunda istatistiksel olarak anlamlı daha düşük apoptozis gözlenmiştir.



Tablo-5: Her iki grupta kurtarılan ortalama staz zonu alanları farklılıkları grafiği: PRP grubunda ortalama staz zonu alanı 131,114 mm², SF grubunda ortalama staz zonu alanı 64,759 mm² ölçülmüştür. PRP grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha fazla canlı staz zonu saptanmıştır.

Fibroblast proliferasyonu ve Nötrofil infiltrasyonu için p değeri 0,01 den küçük saptanmış olup PRP grubunda fibroblast proliferasyonu anlamlı derecede yüksek ve nötrofil infiltrasyonu ise SF grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük ölçülmüştür.

Makrofaj dansitesi PRP grubunda SF grubuna göre daha düşük saptanmış olmakla birlikte p değeri 0,076 ölçülmüştür; istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.

Anjiogenezis PRP grubunda SF grubuna kıyasla daha yüksek oranda görülmesine karşın p değeri 0,05 'ten daha yüksek saptanmış olup her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

4.3 Sintigrafik Bulgular

Her iki gruptaki tavşanlara yanık sonrası 72.saatte Tc99m MIBI i.v. olarak sol kulak venlerinden enjekte edildi.30 dakika kadar radyonüklidin difüzyon süresi beklendikten sonra Siemens E.cam Dual HEAD Pinhole collimatör ile 10 dakikalık statik görüntüler elde edildi. Her iki grup arasında alınan görüntülerde anlamlı fark sintigrafik olarak gözlenemedi.

5. TARTIŞMA

Yanık, insanoğlunun karşılaşılabileceği en önemli fiziksel ve psikolojik travmalardan biridir. Çoğunlukla korunabilme olasılığı olan, genellikle çocukları ve yaşlıları etkileyen trajik olaylardır ve sıklıkla ev kazaları sonucunda oluşmaktadır. Major yanıkların mortalitesi, morbiditesi yüksektir ve yarattığı sosyal ve ekonomik problemler nedeni ile özellikle gelişmekte olan toplumlarda ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir (8). Yanıklar hekimleri zorda bırakmakla beraber cerrahi tedavisi de zor ve pahalı olan patolojilerdir. Major bir yanık morbiditeye neden olacağı gibi ciddi ekonomik ve sosyal problemlere neden olabilir.

Yanık, ne kadar derine inmişse ve ne kadar geniş bir yüzeye yayılmışsa, sonuçları o kadar ağır olur. Patolojik ve metabolik hasarlarla tüm vücuda etki eder. Yanığın şiddetine göre; deri, deri altı dokuları, kaslar, kemikler, sinirler, kan damarları, solunum sistemi zarar görebilir. Hava yolu tıkanabilir, solunum yetmezliği ve solunum durması gerçekleşebilir.

Yanığın zararları ve komplikasyonları kronik olarak da devam edebilir. Tüm bu sonuçlar hastada psikolojik sorunlara da yol açabilir. Yanığın tedavisi multidisipliner bir yaklaşım gerektirir (1). Vücudun en geniş organı olan deri, onu fiziksel, kimyasal ve biyolojik zararlı etkilere karşı da korumaktadır. Yetişkin bir kişide ortalama 1.73 m²'lik bir bariyerdir. Fakat bu geniş yüzeyin, dış ortamdan yanıcı ve yakıcı materyellerle temas etme şansı da yüksektir.

Yanık travmasının ciltte oluşturduğu tahribat ilk önce temas anında ısının neden olduğu koagülasyon nekrozu ile oluşan hücre hasarı ile onu takip eden 48-72 saat içinde hücre ölümüyle sonuçlanan ilerleyici dermal iskemiye bağlı gecikmiş hasar ile oluşur. Jackson'ın 1953'te oluşturduğu yanık yarası sınıflandırması hala bugün yanık patofizyolojisinin temelini oluşturmaktadır. Jackson yanık sonrası oluşan alanları koagülasyon bölgesi, staz bölgesi ve hiperemi bölgesi olarak tanımlamıştır (3). Hiperemi alanı, en dışta, staz bölgesini çevreleyen, ortama salınan inflamatuvar mediatörlere bağlı vazodilatasyon ile karakterize alan olup tamamen sorunsuz iyileşir. Koagülasyon bölgesi, yaralanmanın merkezinde ve en fazla hasar görmüş bölgedir. Bu bölgedeki hücreler nekroze olur ve nekroz geri dönüşümsüz

hasar ile sonuçlanır. Staz bölgesi, koagulasyon bölgesinin çevresinde bulunan vazokonstriksiyon ve iskemi ile karakterize bölgedir.

Yanıklardaki morbidite koagulasyon zonu ve hiperemi zonu arasında kalmış bu staz zonunun durumuna göre belirlenir. Bu bölgede yanıktan sonraki özellikle ilk 72 saatteki uygun müdahaleler ve farmakolojik ajanlarla trombotik olaylar, inflamasyon ve iskeminin ilerlemesi önlenbilir ise doku hasarının geri dönmesi ve bu zonun kurtarılabilceği bilinmektedir. Nişancı M. ve arkadaşları ratlarda yaptıkları bir çalışmada yanık oluşturup F5 ve F8 inhibisyonu üzerinden antitrombotik özelliği ve TNF-alfa inhibisyonu üzerinden antiinflamatuvar etkinliği olan aktive protein C'yi intravenöz olarak yanıktan 2 saat sonra deney grubuna 100mg/ kg dozda vermişler ve lazer dopplerle kan akım hızlarını ölçmüşlerdir. 3. günde kontrol grubu ile çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamışlardır (92,93).

Deneysel olarak staz zonunun kurtarılmasını hedefleyen çok sayıda araştırmacı bu alanda çeşitli yöntemler ve farmakolojik ajanlar denemişlerdir. Yakın zamanda Öksüz S' in staz zonunun kurtarılması üzerine ratlarda yaptığı çalışmasında ratlardan allojenik olarak mezenşimal kök hücrelerini izole etmiş ve subkutanoz planda staz zonuna enjekte ederek tedavi uygulamıştır (94). Yapmış olduğu çalışmada TUNEL immünohistokimyasal yöntemi kullanarak deney grubundaki ratların staz zonunda kontrol grubuna göre daha düşük apoptozis oranları saptamıştır. Literatürde de belirtildiği üzere apoptozisin baskılanması daha yüksek canlı doku sağkalımı ile ilişkilendirilmiştir. Biz de benzer şekilde PRP 'nin staz zonuna enjeksiyonu sonrasında TUNEL yöntemi değerlendirmesi sonucunda deney grubunda daha düşük apoptozis olduğunu gözlemledik. Bizim çalışmamızda tedavi edici ajan olarak kullanılan PRP'nin tavşanların kendisinden elde edilmiş olması ve hazırlanma işleminin daha kolay olması avantaj sayılabilir.

Eski M. ve arkadaşları akut yanıkta staz zonunun nekroza dönmesinin engellenmesi amaçlı cerium nitrat çalışmışlardır. Ratların dorsumunda oluşturulan termal travmayı hemen takiben 30 dakika boyunca cerium nitrat banyosu sonrasında sonuçlarında azalmış lökosit aktivasyonu, daha az kapiller kaçak, daha az ödem saptamışlar ve bunun neticesinde staz zonunda kontrol grubuna göre daha

fazla sağkalım bildirmiştir. Cerium nitratla tedavi edilen grupta staz zonlarında artmış reepitelizasyon ve azalmış nötrofil kümülasyonu bildirilmiştir (95).

Uygur F. ratlarda deneysel olarak yanık oluşturmuş, tedavi edici ajan olarak 7 gün boyunca ratlara intraperitoneal olarak 5mg/kg simvastatin vermiştir. Statinlerin endotelial duvarda trombomodulin sentezini arttırdığını; antitrombotik ve antiinflamatuvar özellikler gösterdiğini belirtmişlerdir. Lazer doppler ile staz zonlarındaki kan akımlarını ölçerek staz zonunda intravasküler koagülasyonun azaldığını ve kontrol grubuna göre daha fazla akım olduğunu bildirmişlerdir (96).

Staz zonunun kurtarılmasını hedefleyen çalışmalar arasında Cemal F. ve arkadaşları antiinflamatuvar ve antioksidan özelliği olan b-glukanı tedavi edici ajan olarak kullanmışlardır. Dorsumlarında yanık oluşturdukları deney grubundaki ratlara günlük 50mg/kg oral b-glukan vermişler ve yanık sonrası 7.günde kontrol gruplarına göre staz zonunda anjiogeneziste ve fibroblast proliferasyonunda artışı, nötrofil infiltrasyonunda belirgin azalmayı göstermişlerdir ancak reepitelizasyonda artış gösterememişlerdir. Reepitelizasyonun kontrol grubuna göre staz zonunda deney grubunda daha yüksek olduğunu b-glukan ile tedavinin 21.gününde göstermişlerdir(97). Bizim tedavi yöntemimizde ise deney grubundaki tavşanlara sadece tek doz PRP uygulanmış olup staz zonunda 72 saat sonra tama yakın reepitelizasyon, fibroblast proliferasyonunda artışın yanında inflamasyonun baskılandığı nötrofil infiltrasyonu ve makrofaj dansitesinde de azalma gözlenmiştir.

Shalom A. ve arkadaşları yanık patofizyolojisi üzerinde teorik olarak serbest oksijen radikallerinin ortamdan uzaklaştırılarak staz zonunda iskeminin azaltılabileceğini savunmuşlardır. Bu amaçla yapmış oldukları deneyde ratlara yanık oluşturulmadan 20 dakika önce profilaktik olarak intravenöz 20 mg/ kg dozunda insan rekombinant bakır çinko superoksit dismutaz enjekte etmişlerdir. Ancak deney grubunda profilaktik olarak serum fizyolojik enjekte edilen kontrol grubuna göre bir fark saptanmamış; staz zonundaki iskemi ve inflamasyonun baskılanmasında superoksit dismutaz ile herhangi bir sonuç elde edememişlerdir. Deneyin başarısız olmasını muhtemel olarak serbest oksijen radikallerinin yanık patofizyolojisinde staz zonu üzerinde aslında çok küçük bir rolü olması yönünde yorumlamışlardır (98).

Zor F. ise staz zonunun patofizyolojisinin yalnızca vasküler tromboz ile açıklanamayacağını; diğer önemli bir mekanizmanın da staz zonunda indirekt olarak

etkilenmiş hücrelerin ısıya olan dirençlerinin azalması olduğunu belirtmişlerdir. Bununla ilgili yapmış oldukları deneylerinde yanık oluşturdukları ratlara 10 gün boyunca günlük 5mg/kg intraperitoneal olarak glutatyon vermiştir. Glutatyonun hücrelerin ısıya olan direncini arttırması ve serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini tamponlaması esasına dayanarak deney grubundaki ratlarda staz zonunda anlamlı sağkalım elde edilmiştir(99).

Staz zonunda antioksidanların etkinliği ile ilgili Deniz M. ve arkadaşları yaptıkları deneyde n-asetil sisteini kullanmışlar. Endojen bir antioksidan olan glutatryonun öncül maddesi n –asetilsisteini 10 gün boyunca yanık oluşturdukları ratlara bir gruba 490 mg/kg oral yolla diğer grupta ise hem oral hemde intraperitoneal olarak vermişlerdir. Sonuçlarında bu iki gruptaki staz zonları kontrol gruplarına göre daha iyi olmasına karşın kendi içlerinde istatistiksel farklılık saptanmamış.10 gün tedavi sonucunda canlı staz zonu yüzdesini %27 olarak bildirmişlerdir(100). Bizim deneyimizde ise sadece bir kez PRP uygulaması sonucunda 3.günde staz zonunda canlı doku yüzdesi % 43,6 olarak ölçüldü. Bu çalışma ve antioksidanların staz zonundaki etkinliği ile ilgili yapılan diğer çalışmalara ve sonuçlarına bakıldığında staz zonu patofizyolojisinde antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antitrombotik yolakların antioksidanlardan daha büyük bir paya sahip olduğu açıkça gözükmemektedir.

Literatürdeki çalışmalar sonucu ve staz zonunun kurtarılması üzerinde etkinlikleri hala araştırılmakta olan çok sayıda ajan olmasına karşın mikrosirkülasyonu düzenleyen ve anti-trombotik özellikler gösteren ilaçların birçoğunun yan etkileri klinikte kullanılmalarnı engellemiştir. Dahası akut yanıkta staz zonunu kurtarmada güvenilir, düşük maliyetli ve etkinliği yüksek olan bir ilaç bugün için halen rutin olarak klinik kullanımda yer bulmamıştır.

İşte bu nedenlerden dolayı kişinin kendi kanından elde edilebilmesi sayesinde oldukça güvenilir olan, hazırlaması ve uygulaması kolay, özellikle yara iyileşmesinde önemli görev alan birçok büyüme faktörünü açığa çıkaran trombosit zengin plazmanın staz zonunun kurtarılmasında etkinliğini çalışmaya değer bulduk. Literatür taramasında akut yanık tedavisinde staz zonunu kurtarmak için PRP'nin kullanıldığı hiçbir çalışmaya rastlanmadı.

Plateletten zengin plazma (PRP), otolog insan trombositlerinin az bir plazma içinde yoğunlaştırılmış şeklidir. PRP trombositler içindeki alfa granüllerinin degranülasyonu yoluyla çalışır. Pıhtılaşmadan sonraki 10 dakika içinde alfa granüllerden büyüme faktör sekresyonu başlar ve yaklaşık 1 saat içinde presentezlenmiş büyüme faktörlerinin %95'i salınır. Pratikte PRP içindeki büyüme faktörlerin salınması için PRP hazırlandıktan sonra içindeki alfa granüllerin indüklenmesi gerekmektedir. Bu indükleme in vitro olarak hazırlanan PRP içine kalsiyum ve/ veya trombin eklenerek sağlanır. Bundan dolayı PRP pıhtılaşmamış şekilde hazırlanmalıdır ve uygulama bölgesinde aktivasyon sonrasında 10 dk içinde kullanılmalıdır (4,85).

PRP' nin elde edilebilmesi için 8-10 cc kana ihtiyaç duyulmaktadır. Hayvan çalışmalarında özellikle küçük hayvanlarda, PRP hazırlamak için gereken kanı aynı hayvandan almak mümkün olamamaktadır; çünkü hayati tehlike ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde yapılan deneylerde kullanılan PRP, otolog değil homolog hazırlanmaktadır. Bu nedenle oluşabilecek immün reaksiyonlara bağlı olarak deneylerde yanlış negatif sonuçlar oluşabilir. Biz de sonuçların klinik uygulamalara daha fazla benzemesi ve plateletten zengin plazmayı otolog olarak hazırlayabilmek için fare yerine tavşan kullandık.

Yanıkla ilgili literatüre bakıldığında yapılan çalışmalar total vücut yüzeyi alanının % 40 ve daha üzerindeki ciddi yanıklarda yanığın ciddiyetiyle orantılı olarak sitokin cevabıyla sonuçlanan hipermetabolik durum oluştuğunu göstermektedir. Bizim oluşturduğumuz yanık işleminde ise her bir tavşandaki yanık alanı total vücut yüzeyi alanına kıyasla oldukça küçük bir yüzdeye sahip olduğundan sitokin seviyelerini uyaracak düzeyde değildi. Sistemik sitokin düzeyleri bu sebeple araştırılmadı. Her ne kadar genişlik olarak bu denli küçük yüzdeye sahip bir yanıkta yanık şoku oluşması beklenmese de sistemik olarak aktif faktörlerin yine de salınabileceği belirtilmekte ve plateletler üzerindeki kesin etkilerinin nasıl olacağını bilinemeyeceği belirtilmiştir. Genel olarak yanığın trombositlerin üzerinde yaratmış olduğu etkiler üzerinde kısıtlı bilgilere sahip olunmasının yanında; geniş ve ciddi yanıklarda sistemik olarak dolaşımda artan IL-1 ve TNF-a'nın dolaşımdaki trombositlerle etkileşime girebileceği veya trombositler tarafından tutulabileceği gerekçeleriyle akut yanıkta kullanılmak üzere hazırlanan otolog plateletten zengin

plazmanın total vücut yüzeyi alanının % 10'u ve daha küçük alanları tutan yanıklarda uygulanmasının daha uygun olacağı önerilmiştir (5). Bizim çalışmamızdaki deney prosedürü yine bu önerilere uygun yapılmış idi.

Genel olarak literatürde bazal trombosit değerinden birkaç katı konsantrasyon faktörüne kadar elde edilen plazmalar ile çalışmalar mevcuttur. Kesin olmamakla birlikte mevcut patolojiye bakılmaksızın hazırlanan PRP'de bazı yazarlarca en az $0,8 \times 10^6$ sayıda platelet olması önerilmektedir (70). Ancak hem akut yanık için hemde staz zonu için optimum konsantrasyon faktörü bilinmemektedir ve patolojiye göre etkin ve ideal PRP için konsantrasyon faktörleri farklılık göstermektedir; bunun ötesinde daha yüksek konsantrasyonlu, daha fazla platelet olması daha iyi sonuç verir fikri ratlarda intestinal anastomozlar üzerinde yapılan çalışmalarda yüksek konsantrasyona sahip PRP'nin yara iyileşmesi üzerinde inhibitör etkilerinin olduğunu gösterilerek kanıtlandığı üzere doğru değildir (101). Bizim deneyimizde de çalışma grubunda hazırlanmış olan plateletten zengin plazma bütün deneklerde bazal trombosit değerlerinden daha yüksek olup ortalama 1,37 konsantrasyon faktörü elde edildi. Deney grubu ve sham grubunun deney öncesi trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak fark yoktu. Çalışma grubundaki bütün deneklerde hazırlanan plateletten zengin plazmalardaki trombosit sayıları hepsinde bazal trombosit seviyelerinin üzerinde idi. Ölçüm ve histopatolojik değerlendirmeler sonucu deney grubunda plateletten zengin plazmadaki konsantrasyon faktörü grup içinde kıyaslandığında konsantrasyon faktörü daha düşük plazma enjekte edilen bazı deneklerde daha yüksek konsantrasyon faktörüne sahip plateletten zengin plazma enjekte edilen deneklere göre daha iyi histopatolojik bulgulara rastlanmış ve alan olarak da daha fazla canlı staz zonu sağkalımı gözlenmiştir. Bu bulgular da PRP'nin akut yanıkta kullanımında kalitesinin esas belirleyicisinin konsantrasyon faktörü olmadığını desteklemektedir. Literatürde akut yanıkla ilgili bu konuda bilgi kısıtlıdır, dolayısı ile çeşitli çalışmalarla daha fazla araştırma yapılmalıdır.

Farklılık gösteren trombosit sayısı değerlerinin yanında plateletlerin içerdiği büyüme faktörleri içeriğinde de büyük oranda değişkenlik söz konusudur. PRP içindeki büyüme faktörlerinin kantitatif ölçümü birçok çalışmada yapılmış ve önemli oranda varyasyonlar gösterdiği bildirilmiştir (84,102). PRP'deki büyüme faktörlerinin miktarı başta trombositlerdeki α -granüllerdeki büyüme faktörü

konsantrasyonu olmak üzere PRP hazırlama tekniğine, hazırlama esnasında trombositlerde fragmentasyon olup olmamasına, hazırlanan PRP’de lökosit olup olmadığına ve plateletin aktivasyonunun tam olması gibi birçok etmene bağlıdır(84,85). Sonuç olarak ne bazal trombosit sayısı ne de PRP’ deki trombosit sayısıyla elde edilen büyüme faktörleri arasında tam bir bağlantı bulunamamıştır (84,103). Tüm bu değişkenliklerin varlığında hazırlanan plateletten zengin plazmanın kalitesini ölçmek için en iyi yöntem daha uygun bir alternatif olmadığından büyüme faktörlerinin kantitatif ölçümüdür(104,105).

Farklı platelet konsantrasyon faktörlerinde ve farklı zamanlamada farklı yanık yüzdesi alanları üzerinde uygulanacak plateletten zengin plazmanın salınacak değişik büyüme faktörlerini nasıl etkilediği bizim çalışmamızda ölçülememiş olup ileri çalışmalarla araştırılması PRP ile yanık tedavisinde yol gösterici olacaktır.

Yanık sonrası iskemi ve reperfüzyon hasarı ile etkilenen dokuda bunu takip eden kümülatif hücre ölümü ve disfonksiyonundan apoptozisin sorumlu olduğu gösterilmiştir (106,107). Kısa süreli tam bir iskemi durumu sonrası reperfüzyonun apoptozisle sonuçlanmasının sebebi bu kısa anoksik duruma hassasiyetten ziyade oklüzyon gevşediğinde bile etkilenen dokuya yeterli arteriyel akım olmamasıdır. Staz zonundaki dokunun nekroze olarak kaybedilmesi ve kliniğin kötüleşmesi apoptotik hücre sayısı ile doğru orantılı olarak direkt ilişkilidir.

Yanık travması sonrası deride apoptozisin artmış olduğu hem deneysel hem klinik olarak ispatlanmıştır (30,31). PRP’ nin bu yönden anti-inflamatuar ve başta IGF üzerinden apoptozis üzerinden modülasyon yapıcı etkisi bilinmektedir (81). Bizim çalışmamızda da ölçtüğümüz veriler bu bilgileri desteklemekte olup TUNEL yöntemi ile hem epitelyum hem bağ dokuda apoptozis oranları PRP grubunda belirgin derecede düşük gözlemlendi. Çalışmanın dördüncü günlerinde her bir denek için alınmış sintigrafik görüntülerde en fazla staz zonu sağkalımı gözlenen olgularda bile net görüntüler alınamadı. Bu durumun nedenleri arasında öncelikle kan alınması işlemi için kullanılan yanık oluşturulmamış kulak arter ve venlerinin tromboze olmuş olması, bunun neticesinde verilen radyonüklidin yeterli miktarda difüzyon gösterememesi, radyonüklid maddenin bulaş göstermiş olma nedeniyle görüntü kalitesini düşürmüş olma ihtimali, yanık oluşturulan zonların tam kulağın dominant arter ve veni üzerinde olması nedeniyle bunun dışında yeterli subdermal pleksus

ağının olmaması olabilir. Bu ihtimallerin ötesinde radyonüklidler ile kan akımı ölçümlerinin her zaman aynı şekilde gösterilemediği, güvenilir olmadığı ve bu yöntemlerle hücresel düzeydeki canlılığın saptanmasında birçok belirsizlikler olduğu ve bir uzlaşma olmadığı da bildirilmiştir(108).

Histopatolojik olarak deney grubunda makrofaj dansitesi de serum fizyolojik ile tedavi edilen gruba göre daha düşük gözlenmiş olmasına karşın istatistiksel olarak farklılığı gösterilemedi.

Bununla birlikte iltihabi nötrofil infiltrasyonu çalışma grubunda SF grubuna göre yine belirgin derecede az gözlendi ve istatistiksel olarak anlamlılığı kanıtlandı. Çalışma grubunda elde edilen bu antiinflamatuvar etkinlikler serum fizyolojik enjekte edilen gruba göre belirgin oranda daha az konjesyon ve özellikle dermiste daha fazla canlı bağ doku sağkalımı ile sonuçlanmasına yardımcı olmuştur.

Başlıca bu anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkileri olmak üzere plateletten zengin plazmadaki büyüme faktörlerinin de rejeneratif ve proliferatif özellikleri ile deney grubunda istatistiksel olarak daha yüksek oranda reepitelizasyon, daha fazla fibroblast proliferasyonu göstermiş olup tüm bunların sonucunda istatistiksel olarak belirgin daha fazla canlı staz alanı sağkalımı elde edilmiştir.

Bizim yaptığımız bu çalışma ve yukarıda sunduğumuz daha önce yapılan deneysel araştırmaların ışığında plateletten zengin plazma akut yanıkta staz zonunun kurtarılmasında başarılı bulunmuştur. PRP'nin hazırlanmasındaki standartın geliştirilmesi, yanıktaki en uygun konsantrasyon faktörünün, uygulama dozunun ve sıklığının belirlenmesi açısından daha fazla araştırmaların ardından PRP akut yanık tedavisinde klinik kullanımda aktif olarak yer alacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tavşanlarda oluşturulan yanık staz zonunda plateletten zengin plazma enjekte edilen çalışma grubunda bulunan sonuçlarda;

- Çalışma grubunda kontrol grubuna göre yanık alandan alınan preperatlarda elde edilen sonuçlara göre fibroblast proliferasyonunda p değeri 0,05'ten küçük bulunmuştur. İstatiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir.
- Çalışma grubunda kontrol grubuna göre yanık alandan alınan preperatlarda elde edilen sonuçlara göre reepitelizasyonda p değeri 0,05'ten küçük bulunmuştur. İstatiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir.
- Çalışma grubunda kontrol grubuna göre yanık alandan alınan preperatlarda elde edilen sonuçlara göre iltihabi nötrofil infiltrasyonunda p değeri 0,05 'ten küçük bulunmuştur. İstatiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir.
- Çalışma grubunda kontrol grubuna göre yanık alandan alınan preperatlarda elde edilen sonuçlara göre hem epitelyum hücrelerinde hem de bağ dokusu hücrelerinde apoptozis yüzdeleri p değeri 0,05'ten küçük bulunmuştur. İstatiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir.
- Ölçülebilen değerlerle elde edilen canlı staz zonu alanı değerlerinde de p değeri 0.05 ten küçük olduğu bulunmuştur. Her iki grup arasında anlamlı fark olduğu gösterilmiştir.
- Bu çalışma plateletten zengin plazm uygulamasının total vücut yüzdesi alanına göre %10'dan daha küçük akut yanık olgularındaki staz zonunun kurtarılmasında; etkin bir tedavi olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Plateletten zengin plazmanın akut yanık için en uygun tedavi dozu, uygulama sıklığı, tedavi süresi ve ideal terapödik algoritma oluşturularak aktif olarak klinik kullanıma girmesi için ileri çalışmalar yapılmasını önermekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- 1- Pruitt BA, Mason AD. Epidemiological demographic and outcome characteristics of burn injury. in: Herndon DN, ed. Total burn care. London: W.B. Saunders; 1996. p.5.
- 2- Yorgancı K, Öner Z. Yanıklar. İçinde Sayek _ (yazar). Temel Cerrahi. 3.baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 494-508
- 3- Jackson DM. The diagnosis of the depth of burning. Br J Surg 1953; 40: 588–596
- 4- Boykin JV, Eriksson E, Pittman RN. In vivo microcirculation of scald burn and the progression of postburn dermal ischaemia. Plast Reconstr Surg 1980; 66: 191–8.
- 5- Pallua N, Wolter T, Markowicz M. Platelet-rich plasma in burns. Burns. 2010 Feb;36(1):4-8.
- 6- Ching YH, Sutton TL, Pierpont YN, Robson MC, Payne WG. The use of growth factors and other humoral agents to accelerate and enhance burn wound healing. Eplasty 2011;11:e41.
- 7- Akita S, Akino K, Imaizumi T, Hirano A. Basic fibroblast growth factor accelerates and improves second-degree burn wound healing. Wound Repair Regen 2008; 16: 635–41.
- 8- Gürdal S, Yücel T. Yanık Giriş, Epidemiyoloji ve Etiyolojisi Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2007, 3(1):1-3
- 9- Feck G A, Baptiste M S, Tate C L. Burn injuries: epidemiology and prevention. Accid Anal Prev 1979: 11: 129–136.
- 10- Baro RE, Herndon DN. Total Burn Care. In: Herndon DN (Edt) History of treatment of burns (3rd ed) Saunders Elsevier, Texas, 2007, pp.1-6.
- 11- Salmanpakoğlu N. Yanıklar ve Tedavileri. GATA Basımevi Ankara 1998; 11.
- 12- Juan P. Barret- Nerin, David N. Herndon, Principles and practice of Burn surgery 2005, s. 1-(426).
- 13- Forjuah SN, Burns in low- and middle- income countries. A. review of available literature on descriptive epidemiology, risk factors, treatment and prevention. Burns 2006; 529-537.

- 14- Yılmaz S, Sezer RE, Karagöz N, Erçöçen AR, Sezer H , ve ark. Sivas'ta alan taramasıyla yanık insidansının araştırılması, Türkiye Klinikleri J. med. Sc; 2010;30(5):1552-1560
- 15- Epidemiologic evaluation of patients with major burns and recommendations for burn prevention. Ciftçi I, Arslan K, Altunbaş Z, Kara F, Yılmaz H. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2012 Mar;18(2):105-10.
- 16- Lai CS, Lin SD, et al. Burns in young children: A study of mechanism of burns in children aged 5 years and under in the Hamilton, Ontario Burn Unit. Burns 1995; 21: 463.
- 17- Haberal M, Uçar N, Bilgin N. Epidemiological survey of burns in Ankara, Turkey and desirable burn prevention strategies. Burns 1995; 21: 601-6.
- 18- Curreri PW, Luterman A. Burns. in: Schwartz SI, ed. Principles of Surgery. 5.ed. NewYork: McGrawv Hill Company; 1989. p.285-304.
- 19- Epidemiology of pediatric burn injuries in Istanbul, Turkey. Arslan H, Kul B, Derebaşınlioğlu H, Çetinkale O.Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2013 Mar;19(2):123-6.
- 20- Kao CC, Garner WL. Acute burns. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105:2482–2492
- 21- Kamolz LP, Kitzinger HB, Andel H, Frey M. The surgical treatment of acute burns. *Eur Surg* 2000;38(6):417-423
- 22- Zawacki BE. Reversal of capillary stasis and prevention of necrosis in burns. *Ann Surg* 1974; 180(1):98–102.
- 23- Buz A. Parsiyel Kalınlıkta Termal Yanıkların Tedavisinde Mezoterapinin Etkinliği- Deneysel Çalışma. Bülent Ecevit Üniv. Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.D. Tıpta Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2012; 3-20
- 24- Chitnis D, Dickerson C, Munster AM, Winchurch RA. Inhibition of apoptosis in polymorphonuclear neutrophils from burn patients. *J Leukoc Biol* 1996; 59: 835–9.
- 25- Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns* 2008;34: 6–17.

- 26- Moore FD Jr, Davis C, Rodrick M, Mannick JA, Fearon DT. Neutrophil activation in thermal injury as assessed by increased expression of complement receptors. *N Engl J Med* 1986;314:948–53.
- 27- Keck M, Herndon DH, Kamolz LP, Frey M, Jeschke MG. Pathophysiology of burns. *Wien Med Wochenschr.* 2009;159(13-14):327-36.
- 28- Baskaran H, Toner M, Yarmush ML, Berthiaume F. Poloxamer-188 improves capillary blood flow and tissue viability in a cutaneous burn wound. *J Surg Res* 2001;101: 56–61.
- 29- Papp A, Romppanen E, Lahtinen T, Uusaro A, Harma M, Alhava E. Red blood cell and tissue water content in experimental thermal injury. *Burns* 2005; 31: 1003–6.
- 30- Gravante G, Palmieri MB, Esposito G et al. Apoptotic cells are present in ischemic zones of deep partial-thickness burns. *J Burn Care Res.* 2006;27(5):688-93.
- 31- Gravante G, Palmieri MB, Esposito G et al. Apoptotic death in deep partial thickness burns vs. normal skin of burned patients. *J Surg Res.* 2007;141(2):141-5.
- 32- Hettiaratchy S, Dziewulski P. Pathophysiology and types of burns. *BMJ* 2004;328:1427-9.
- 33- Carvajal H, Linares H, Brouhard B. Effect of antihistamine, antiserotonin, and ganglionic blocking agents upon increased capillary permeability following burn edema. *J Trauma* 1975; 15: 969–975.
- 34- Latenser BA. Critical care of the burn patient: the first 48 hours. *Crit Care Med*, 2009; 37: 2819-26.
- 35- Gueugniaud PY, Carsin H, Bertin-Maghit M, Petit P. Current advances in the initial management of major thermal burns. *Crit Care Med*, 2000; 26: 848-56.
- 36- Kraft R, Herndon DN, Branski LK, Finnerty CC, Leonard KR, Jeschke MG (2012) Optimized fluid management improves outcomes of pediatric burn patients. *J Surg Res* 2012 June 6 Epub first
- 37- Williams FN, Herndon DN, Suman OE et al (2011) Changes in cardiac physiology after severe burn injury. *J Burn Care Res* 32: 269–274

- 38- Horton JW (2004) Left ventricular contractile dysfunction as a complication of thermal injury. *Shock* 22: 495–507
- 39- Lin E., Calvano S.E. ve Lowry S.F. Systemic Response to injury and metabolic support. Brunicaardi F.C. , Andersen D.K., Billiar T.R., Dunn D.L., Hunter J.G. ve Polloc R.E. (Ed.). *Schwartz's Principles of Surgery* New York,USA:The McGraw-Hill Companies, Inc. (8.bs.), 2005;3-42.
- 40- Venter M, Rode H, Sive A, et al. Enteral resuscitation and early enteral feeding in children with major burns- effect on McFarlane response to stress. *Burns*, 2007;33: 464-471.
- 41- Wolf SE, Ikeda H, Matin S et al (1999) Cutaneous burn increases apoptosis in the gut epithelium of mice. *J Am Coll Surg* 188: 10–16
- 42- Deitch EA, Rutan R, Waymack JP (1996) Trauma, shock, and gut translocation. *New Horiz* 4: 289–299
- 43- Burke BA, Latenser BA. Defining intraabdominal hypertension and abdominal compartment syndrome in acute thermal injury: a multicenter survey. *J Burn Care Res*,2008; 29: 580-584
- 44- Jeschke MG, Micak RP, Finnerty CC, et al. Changes in liver function and size after a severe thermal injury. *Shock*, 2007;28: 172-177.
- 45- Bishara S.Atiyeh, S. William A. Gunn, Saad A. Dibo Metabolic Implications of severe Burn injuries and Their Management: A systemic Review of literature. *World J Surg*. 2008; 32: 1857-1869.
- 46- Hart DW, Wolf SE, Micak RP, et al. Persistence of muscle catabolism after severe burn. *Surgery* 2000;128: 312-319.
- 47- Değerli Ü.Yanıklar, donmalar. İçinde Değerli Ü, Erbil Y (yazarlar). *Genel Cerrahi*.8.baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2006: 147-157
- 48- Lawrence C, Atac B, Hematologic changes in massive burn injury. *Crit Care Med*. 1992; 20: 1284-1288
- 49- Mazingo DW, Cioffi WG, Pruitt BA. Burns. In Bongard FS, Sue DY, Vintch JRE, editors. *Current Diagnosis & Treatment Critical Care*. 3rd edition. The McGraw-Hill Companies, 2008;723-51.
- 50- Enkhbaatar P, Taber DL. pathophysiology of acute lung injury in combined burn and smoke, inhalation injury. *Clin Sci (Lond)* 2004;107:137-143.

- 51- Madnani DD, Steele NP de Vries E. Factors that predict the need for intubation in patients with smoke inhalation injury. *Ear Nose Throat J.* 2006;85: 278-280.
- 52- Turnage RH, Nwariaku F, Murphy J, et al. Mechanisms of pulmonary microvascular dysfunction during severe burn injury. *World J surg*, 2002; 26: 848-853.
- 53- Tredget EE, Nedelec B, Scott PG, Ghahary A (1997) Hypertrophic scars, keloids, and contractures. The cellular and molecular basis for therapy. *Surg Clin North Am* 77(3):701–730
- 54- Niessen FB, Spauwen PH, Schalkwijk J, Kon M (1999) On the nature of hypertrophic scars and keloids: a review. *Plast Reconstr Surg* 104(5):1435–1458
- 55- Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1987; 48 : 549–54.
- 56- Werb Z, Banda MJ, Jones PA. Degradation of connective tissue matrices by macrophages: proteolysis of elastin, glycoproteins and collagen by proteinases isolated from macrophages. *J Exp Med* 1980;152:1340– 52.
- 57- Cohen IK, Diegelman RF, Dorne RY, et al. Wound healing. In: Greenfield LJ, Mulholland MW, Oldham KT, et al, editors. *Surgery: scientific principles and practice*. third edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1993. p. 86.
- 58- Slemp AE, Kirschner RE (2006) Keloids and scars: a review of keloids and scars, their pathogenesis, risk factors, and management. *Curr Opin Pediatr* 18(4):396–402
- 59- Seppa H, Grotendorst G, Seppa S, Schiffmann E, Martin GR. Platelet-derived growth factor is chemotactic for fibroblasts. *J Cell Biol* 1982; 92: 584–588.
- 60- Westermark B, Blomquist E. Stimulation of fibroblast migration by epidermal growth factor. *Cell Biol Int Rep* 1980; 4: 649–654
- 61- Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:21491–4.
- 62- Baum C, Arpey C. Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events; *Dermatol Surg* 2005; 31(6):674-8661
- 63- Jimenez PA, Rampy MA. Keratinocyte growth factor-2 accelerates wound healing in incisional wounds. *J Surg Res* 1999;81: 238–242.
- 64- Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg* 2003; 30: 1–12.

- 65- Parks WC. Matrix metalloproteinases in repair. *Wound Repair Regen* 1999; 7 : 423–432.
- 66- Gharaee-Kermani M, Phan SH. Role of cytokines and cytokine therapy in wound healing and fibrotic diseases. *Curr Pharm Des* 2001; 7: 1083–1103
- 67- Gurtner G. *Woundhealing: Normal and abnormal*; Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th edition. Lippincott-RavenPublishers, Philadelphia, 2007: 15-22
- 68- Soo C, Shaw WW, Zhang X. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:638–47.
- 69- Mitra B, Fitzgerald M, Cameron P, Cleland H. Fluid resuscitation in major burns. *ANZ J Surg* 2006;76:35-8.
- 70- Marx RE. Platelet Rich Plasma (PRP):What is PRP and what is not PRP ? *Implant Dent*.2001,10(4):225-8
- 71-3. Mehta S, Watson T. Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications. *J Orthop Trauma* 2008;22(6):432-8.
- 72- Stuart J, Kenney JG, Lettieri J, Spotnitz W, Baker J. Application of single-donor fibrin glue to burns. *J Burn Care Rehabil* 1988;9: 619–22.
- 73- Ellis D, Shaikh A. The ideal tissue adhesive in facial plastic and reconstructive surgery. *Otolaryngol* 1990;19: 68
- 74- Goss JR. Rejuvenation versus repair .In.Cohen IK,Diegelman Lindblad WJ,Editors.Wound healing,biochemical and clinical aspects.Philadelphia:WB Saunders;1992;40-62.
- 75-Anitua E,Andia I,Ardanza B,Nurden P,Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb. Haemost.*2004;91:4.
- 76-Jaehoon C,Kyung WM, Hak C. The efficacy and safety of platelet rich plasma and adipose derived stem cells. An update. *Archives of Plastic Surgery*.2012;585-92
- 77-Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review, *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2013 Mar;66(3):301-11
- 78- Antoniades HN, Williams LT. Human platelet-derived growth factor: structure and function. *Fed Proc*. 1983 Jun;42(9):2630-4.
79. Trippel CR, Einhorn TA, Mundy GR, Rosenfeld R. Growth factors as therapeutic

- agents. *J Bone Joint Surg* 1996;1272-86.
- 80- Edelblute CM, Donate AL, Hargrave BY, Heller LC. Human platelet gel supernatant inactivates opportunistic wound pathogens on skin. *Platelets* 2014; epub ahead of print
- 81-Maes C, Carmeliet P, Moermans K, Stockmans I, Smets N, Collen D et al. Impaired angiogenesis and endochondral bone formation in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF164 and VEGF188 *Mech. Dev.* 2002; 111:61.
- 82- Spencer EM, Tokunaga A, Hunt KT. Insulin like growth factor binding protein-3 is present in the α granules of thrombocytes. *Endocrinology* 1993;132:996.
- 83- Autogenous platelet-rich plasma gel with acellular xenogeneic dermal matrix for treatment of deep II degree burns. _Hao T, Zhu J, Hu W, Zhang H, Gao Z, Wen X, Zhou Z, Lu G, Liu J, Li W. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2010 Jun;24(6):647-9. Chinese.
- 84- Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1502–8
- 85-- Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006;118:147e–59e.
- 86- Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci.* 2004;30(2):145-51.
- 87 -Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (thrombocyte gel) and autologous thrombocyte-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001;107(1):229-37
- 88- Gehring S, Hoerauf H, Laqua H, Kirchner H, Kluter H. Preparation of autologous platelets for the ophthalmologic treatment of macular holes. *Transfusion.* 1999 Feb;39(2):144-8.
- 89 -. Trink A, Sorbellini E, Bezzola P, Rodella L, Rezzani R, Ramot Y et al. A randomized, double-blind, placebo and active –controlled, half-head study to evaluate the effects of platelet rich plasma on alopecia areata. *Br J Dermatol.* 2013;169(3):690-4

- 90 – Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous trombosit gel. *J Extra Corpor Technol* 2004; 36 :28-35
- 91 -Hannon TJ, Polston G, Pekarske WJ, et al. Determination of platelet yields from platelet rich plasma for five autotransfusion devices; Cardiothoracic Research and Education Foundation;1999
- 92-Nisancı M, Eski M, Sahin I, Ilgan S, Isık S. Saving the zone of stasis in burns with activated protein C: an experimental study in rats. *Burns* 2010;36: 397–402
- 93-Singer AJ, McClain SA, Taira BR, Guerriero JL, Zong W. Apoptosis and necrosis in the ischemic zone adjacent to third degree burns. *Acad Emerg Med.* 2008; 15: 549–554
- 94- Öksüz S, Ülkür E, Öncül O, Köse GT, Küçükodaci Z, Urhan M. The effect of subcutaneous mesenchymal stem cell injection on stasis zone and apoptosis in an experimental burn model *Plast Reconstr Surg.* 2013 Mar;131(3):463-71
- 95-.Eski M, Ozer F, Firat C, Alhan D, Arslan N, Senturk T, Işık S. Cerium nitrate treatment prevents progressive tissue necrosis in the zone of stasis following burn *Burns.* 2012 Mar;38(2):283-9
- 96- Uygur F, Evinc R, Urhan M, Celikoz B, Haholu A. Salvaging the zone of stasis by simvastatin: an experimental study in rats. *J Burn Care Res.* 2009 Sep-Oct;30(5):872-9.
- 97- Firat C, Samdanci E, Erbatur S, Aytekin AH, Ak M, Turtay MG, Coban YK. b-Glucan treatment prevents progressive burn ischaemia in the zone of stasis and improves burn healing: An experimental study in rats. *Burns.* 2013 Feb;39(1):105-12
- 98-Shalom A, Kramer E, Westreich M. Protective effect of human recombinant copper-zinc superoxide dismutase on zone of stasis survival in burns in rats. *Ann Plast Surg.* 2011 Jun;66(6):607-9
- 99- Zor F, Ozturk S, Deveci M, Karacalioglu O, Sengezer M. Saving the zone of stasis: is glutathione effective? *Burns* 2005; 31: 972–6.
100. Deniz M, Borman H, Seyhan T, Haberal M. An effective antioxidant drug on prevention of the necrosis of zone of stasis: N-acetylcysteine. *Burns.* 2013 Mar;39(2):320-5.

- 101- Yamaguchi R, Terashima H, Yoneyama S, Tadano S, Ohkohchi N. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. *J Surg Res* 2012;173:258–66.
- 102- Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin- 1 in Choukroun’s platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 2009;27: 63–9.
- 103- Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg* 2002;30: 97–2.
- 104- Tschon M, Fini M, Giardino R, et al. Lights and shadows concerning platelet products for musculoskeletal regeneration. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;3: 96–7.
- 105- Borzini P, Mazzucco L, Giampaolo A, Hassan HJ. Platelet gel—the Italian way: a call for procedure standardization and quality control. *Transfus Med* 2006;16: 303–4.
- 106- Schumer M, Colombel MC, Sawczuk IS, et al. Morphologic, biochemical, and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods of renal ischemia *Am J Pathol.* 1992;140:831–838.
- 107- Baldi A, Abbate A, Bussani R, et al. Apoptosis and postinfarction left ventricular remodeling. *J Mol Cell Cardiol.*2002;34: 165–174
- 108- Sarikaya A, Top H, Aygit AC, Benlier E, Unal Y. Predictive value of 99m Tc-sestamibi scintigraphy for healing of extremity amputation. *Eur J Nucl Med Mol imaging* 2006;33(12):1500–7
- .
- .