

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**İKİNCİ VE ÜÇÜNCÜ DERECE YANIK ALANLARDA,
AKUT, SUBAKUT VE KRONİK DÖNEMDE LENFATİK
DRENAJIN DEĞERLENDİRİLMESİ**
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

UZMANLIK TEZİ

DR. ONUR SAKA

İSTANBUL 2011

TEŞEKKÜR

“İkinci ve Üçüncü Derece Yanık Alanlarda, Akut, Subakut ve Kronik Dönemde Lenfatik Drenajın Değerlendirilmesi” konulu tez projem 4621 no’ lu proje olarak İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne, emeği geçen tüm birim yöneticilerine ve çalışanlarına teşekkürü gönülden borç bilirim.

Dr. Onur SAKA

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, görgü ve becerilerimin gelişmesinde deneyimlerimden yararlandığım, yetişmemde büyük emekleri geçen değerli hocalarım Sn. Prof Dr. M. Zeki GÜZEL, Sn. Prof. Dr. Muzaffer ALTINDAŞ, Sn. Prof. Dr. Oğuz ÇETİNKALE, Sn Prof. Dr. O. Akın YÜCEL, Sn. Prof. Dr. Yağmur AYDIN, Sn. Doç. Dr. Can ÇINAR ve Uzm. Dr. Hakan ARSLAN'a sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Uzmanlık tezimin oluşmasında emeği geçen başta tez danışmanım Prof. Dr. Yağmur AYDIN, saatlerini harcayıp, baş başa verip tezimi benim kadar benimseyen, haklarını hiçbir şekilde ödeyemeyeceğim C.T.F Nükleer Tıp A.D.' ndan Uzm. Öğr. Dr. Esra ARSLAN, C.T.F. Embriyoloji ve Histoloji A.D.' ndan Gamze TANRIVERDİ ve Mediha ESER'e, Deney Laboratuvarı sorumlusu tıbbi biyolog Çetin KARACA' ya ve eşim Nur Aybüke ULUDA' ya sonsuz teşekkür ederim

Uzmanlık eğitimim boyunca acı tatlı her şeyi paylaştığımız, çalışma arkadaşından öte ailem gibi olan servis, poliklinik, ameliyathane ve yanık ünitesi hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Bu günlere gelene dek her zaman yanımda olan, desteklerini eksik etmeyen, yaptıklarımın arkasında duran sevgili annem Ayşe ÖTER ve babam Nizamettin SAKA, kardeşim Elif SAKA, eşim Nur Aybüke ULUDA, anneannem Melek ÖTER, babaannem Gülizar SAKA, amcam Hüsamettin SAKA, halam Pınar SAKA, dayım Şahabettin ÖTER' e ve merhum dedelerim Ferruh ÖTER ile Ali SAKA' ya teşekkür ederim.

Dr. Onur SAKA

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ

1. Yanık
2. Lenfatik Sistem
3. Yanık Ödemi
4. Lenfatik Sistem İyileşmesi

II. AMAÇ

III. GEREÇ – YÖNTEM

1. Deneysel Çalışma Planı
2. Derin Lenfatik Sistem Haraplanması
3. Yakma İşlemi
4. Çevre Ölçümleri
5. Lenfosintigrafi
6. İmmünohistokimya
7. İstatistiksel Analiz

IV. BULGULAR

1. Yanık Takipleri
2. Çevre Ölçüm Bulguları
3. Lenfosintigrafi Bulguları
4. İmmünohistokimya Bulguları

V. TARTIŞMA

VI. ÖZET

VI. SUMMARY

VII. KAYNAKLAR

I. GİRİŞ

1. Yanık

Yanık bakımı, özelleşmiş cerrahi ve dahili bilgi gerektiren tıbbın en zor bölümlerinden biridir. Yanık her yaştan ve cinsiyetten bireyleri etkileyebilmektedir. Yanık travması, boyut olarak ayaktan pansumanla takip edilebilecek küçüklükte yaralar oluşturabileceği gibi çoklu organ yetmezliği ve ölüme sebebiyet verebilecek genişlikte yaralara da neden olabilir.¹

Ülkemizde yanıkla ilgili sağlıklı istatistiki bilgi bulunmamakla birlikte, Amerikan Yanık Birliği'nin açıkladığı son verilere göre ABD'de her yıl yaklaşık 2.2 milyon kişi yanık yaralanmasına maruz kalmakta, bunların 60.000'i tedavi amacıyla hastaneye yatırılmakta ve 5.500'ü ölmektedir.²

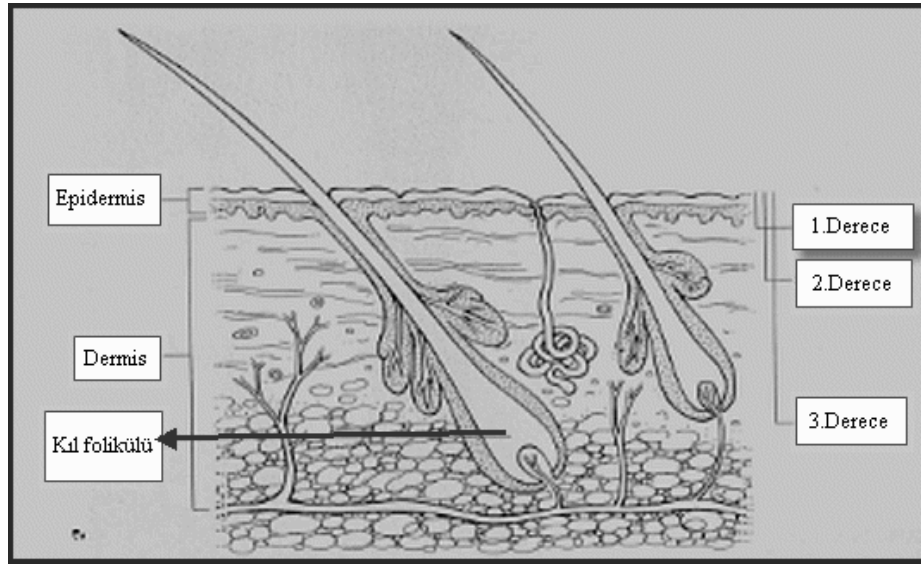
Haşlanma, yanık etiolojisi sıralamasında başı çekmektedir.¹ Haşlanma yanıkları her yaş grubunda görülmekle beraber, bu hasta grubunun %77'si 3 yaş altı çocuklardan oluşmaktadır.³ Haşlanma yanıklarında yanık derinliği, sıvının yoğunluğuna, sıcaklığına ve temas süresine bağlıdır.¹ Sıcak su ile oluşan yanıkların derinliği daha yoğun olan sıvılara göre daha azdır. Haşlanmaların çoğu sıcak su ile oluştuğu için ölüm oranları en az haşlanma yanıklarında gözlenmektedir.¹⁻³ Alev yanıkları sıklık açısından ikinci sırada bulunmaktadır. Alev yanıkları, alev ile temas süresine bağlı olarak değişmekle birlikte haşlanma yanıklarına göre daha derin yanıklara sebep olmaktadır. Temas, parlama, elektrik ve kimyasal yanıklar diğer etiyolojik sebeplerdir.¹

Yanık, deride lokal doku harabiyetine ve sistemik cevaba neden olmaktadır. Yanık tedavisinin büyük bir kısmı yanık derinliğine ve yanık alanın genişliğine göre belirlenir.² Bu nedenle hastanın başvuru anında doğru değerlendirilmesi, verilecek tedavi açısından hayati önem taşır.

Termal etmen deriyle temas ettiği bölgede kademeli bir hasar meydana getirir. Temas bölgesinin merkezinde hücreler ve çevreleyen ekstraselüler matriks proteinleri denatüre olur. Bu bölge nekroz zonu olarak isimlendirilir.² Bölgenin kan akışı hemen azalır. Nekroz zonunu çevreleyen alan, ilerleyen saatlerde metabolik olarak aktif olmasına rağmen bu bölgenin de kanlanmasında azalma olması nedeniyle zamanla hücre ölümleri görülebilir. Bu bölgeye staz zonu denmektedir.² Bu iki bölgeyi

çevreleyen alanda ise kan akışı reaktif olarak vazodilatasyona bağlı olarak artmakta ve alan hiperemik gözükmetedir. Bu nedenle bu alan hiperemi zonu olarak adlandırılmaktadır.

Doku harabiyetinin derinliği, yanık derecesini belirlemektedir. Birinci derece yanıklarda hasar epidermisle sınırlıdır. Birinci derece yanıklara en iyi örnek güneş yanıklarıdır. İkinci derece yanıklarda harabiyet epidermisin tamamıyla birlikte dermisin bir kısmını kapsamaktadır. Üçüncü derece yanıklarda ise epidermis ve dermisin tamamı etkilenmektedir. Deri altındaki dokuların (yağlı doku, kas, kemik vs.) da yandığı durumlarda ise dördüncü derece yanık söz konusudur.¹



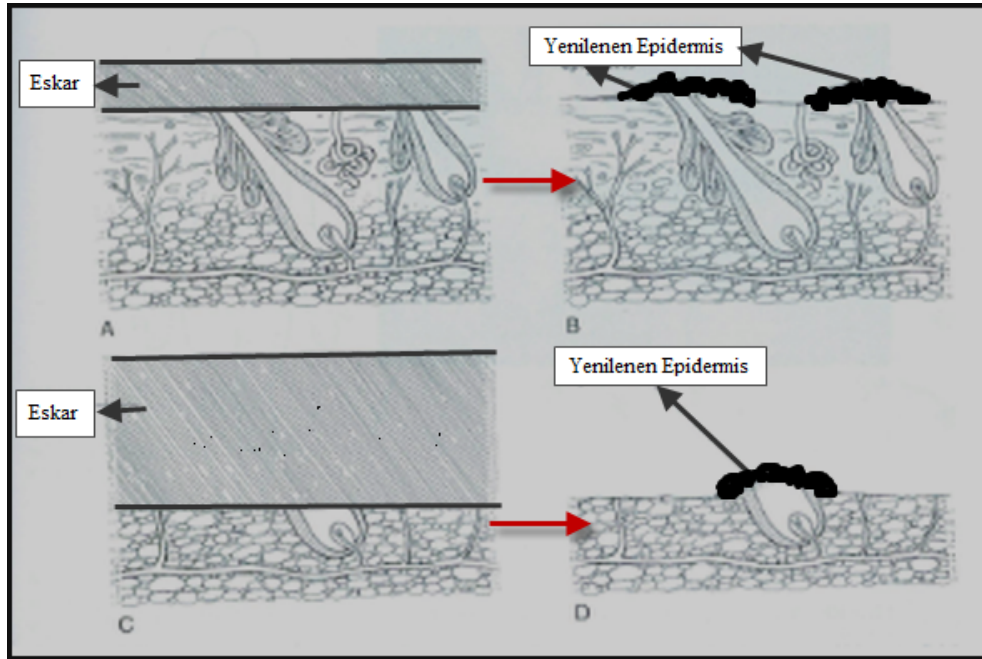
Resim-1 Yanık dereceleri

Termal etmenin sıcaklığı ve maruziyet süresi doku hasarının miktarını belirlemektedir. Ayrıca etkilenen vücut alanına göre yanığın ciddiyeti değişmektedir. Ayak tabanı ve el ayası derisi daha kalın olduğu için tam kat yanıklara daha dirençlidir.² Yanık derinliği ilk aşamada belli olmayabilir. 48-72 saat içerisinde nihai yanık derecesi daha net ortaya çıkar.

Epidermisin bazal tabakasındaki hücreler progenitör hücrelere dönüşmekte, bunlar da sürekli çoğalıp keratinositlere diferansiye olarak epidermal kök hücreler olarak davranmaktadırlar.^{2,4} 1,5-2 m² lik insan derisi bu şekilde yaklaşık 2 haftada yenilenmektedir.⁴ Birinci derece yanıklarda hızla çoğalan keratinositler nedeniyle iyileşme, kendiliğinden ve hızlı olmaktadır.⁴

Kıl folikülü çevresinde, kıl kökü ile cilt yüzeyi arasında yaklaşık orta kısımda “çıkıntı” olarak tarif edilen alanda epidermis ve deri eklerine dönüşme kapasitesine sahip multipotent kök hücreler bulunmaktadır.^{2,4,5,6} Bu bölgedeki hücreler normal zamanda deri yenilenmesine çok fazla katkıda bulunmazken, travma sonrasında cildin daha yukarı katmanlarına göç ederek çoğalmakta ve keratinositlere dönüşmektedir.^{2,4} İkinci derece yanıklarda, dermis kaybıyla orantılı olarak geride kalan kıl folikülü ve kök hücre sayısı azalmaktadır. İkinci derece yüzeysel yanıklarda iyileşme bu hücreler sayesinde 10-14 gün içerisinde gerçekleşmektedir.²

İkinci derece derin ve üçüncü derece yanıklarda geride kıl folikülü kalmadığı için kendiliğinden iyileşme görülmemektedir. İyileşme için tek kök hücre kaynağı yaranın etrafındaki hasar görmemiş deridir.² Küçük yaralarda kök hücre göçü ve kenar epitelizeasyonu sayesinde yara kendiliğinden, ancak uzun sürede kapanabilmektedir. Daha büyük yaraların onarımı için ise cerrahi müdahale gerekmektedir.



Resim-2 Deri yenilenmesi

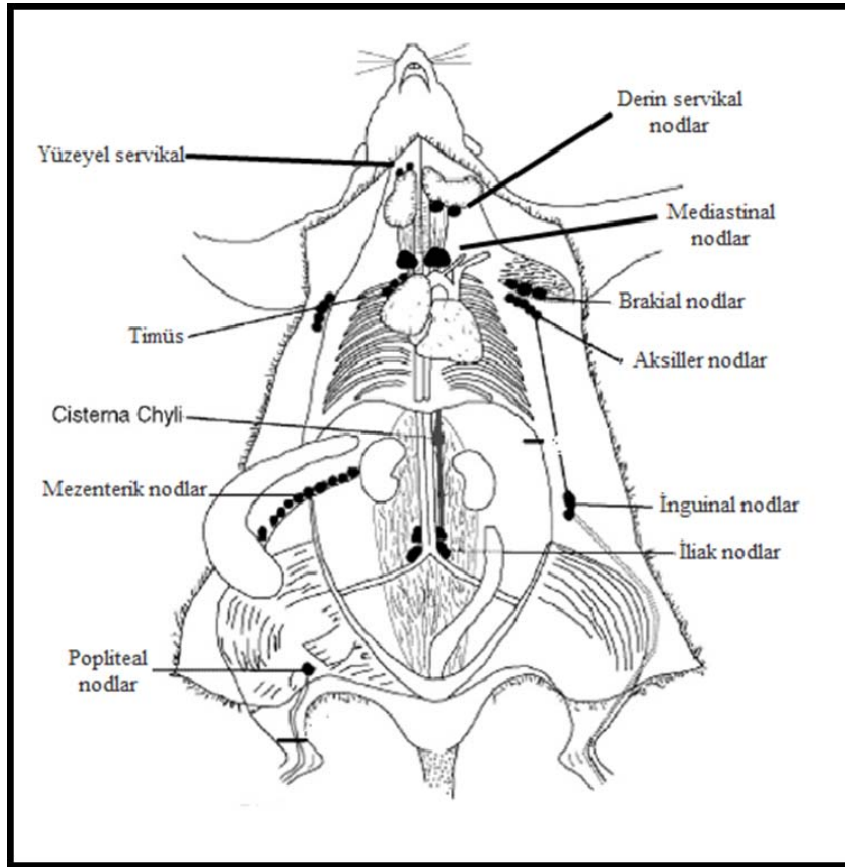
2. Lenfatik Sistem

Lenfatik sistem insan anatomisinin en az anlaşılan yapılarından birisidir.⁷ Kan damarlarının yanı sıra omurgalılarda ikinci damarsal sistemi oluşturmaktadır.⁸ Doku basıncının düzenlenmesi, immün yanıt ve diyetdeki yağların barsaklardan emilimi gibi hayati görevleri bulunmaktadır.^{8,9} Bu önemli görevlerinin yanı sıra lenfödem, kanser metastazları ve bazı inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynar.⁸ Deri, meme, solunum ve sindirim yollarından kaynaklanan kanserler sıklıkla lenfatik kanallar vasıtasıyla, boyun, koltuk altı, toraks ve batin boşluklarının içindeki lenf nodlarına yayılım gösterirler.⁷

İlk olarak Hipokrates tarafından MÖ 400'lü yıllarda "beyaz kan" içeren damarlar olarak tanımlanmıştır, sonrasında Gasparo Aselli tarafından 1600'lü yıllarda iyi beslenmiş bir köpeğin barsaklarında yer alan yağ dolu sütümsü venler olarak tarif edilmiştir.⁹ Entegre sistem olarak lenfatikler 18. yy sonunda William Hunter tarafından tanımlanmıştır.¹⁰ Derinin lenfatik drenajı ile ilgili en kapsamlı çalışmalardan biri Sappey tarafından 1874'te yapılmıştır. Kadavra interstisyel dokuları ve lenfatiklerine civa enjekte edilerek yapılmış çalışmanın sonuçları ile Sappey lenfatik atlası oluşturulmuş ve 100 seneye yakın bu bilgiler geçerli kabul edilmiştir. Lenfosintigrafi'nin 1970'li yıllardan sonra kullanılmasından beri yapılan çalışmalarla yeni lenfatik haritalandırma sistemlerinin oluşması ile Sappey'in tanımlamış olduğu bilgiler değişmeye başlamıştır.¹¹

Embriyolojik olarak lenfatik sistem, gelişimine kardiyovasküler sistemden sonra başlar ve gestasyonun 5. haftasına kadar ortada yoktur. Lenfatik sistemin kökeni tam olarak bilinmemekle birlikte mezenşimden veya ven endotelinden çıkan kese benzeri oluşumlardan kaynaklanabileceği sanılmaktadır.¹⁰ Lenfatik kapillerler doku içinde "çıkılmaz sokaklar" şeklinde başlayıp proteinden zengin lenf sıvısını interstisyel alandan toplarlar. Kan damarlarından ana farkları bazal membranlarıdır. Lenfatik kapillerler tek sıra endotel hücreden ve devamsızlık gösteren bazal membrandan oluşmaktadır. Ayrıca damar duvarında perisit ve düz kas hücresi bulunmamaktadır. Lenfatik damarlar toplayıcı lenfatiklere doğru ilerleyip büyüdükçe yapısal olarak giderek kan damarlarına benzemeye başlarlar.^{8,12} Lenfatik sistem, kan dolaşımına boyundaki ana venlere dökülerek katılır.

Anatomik çalışmalar deri için yüzeysel ve derin lenfatik sistemleri ortaya koymuştur.^{13,14} En zengin lenfatik kapiller ağ dermis tabakasında bulunurken, epidermiste lenfatik bulunmamaktadır. Yüzeysel ve orta dermis tabakasındaki kapaksız lenfatikler, kapaklı lenfatiklerin bulunduğu dermisin derin kısmına ve subdermal pleksuslara drene olmaktadır. Subdermal pleksus da ana drenaj damarları olan subkutan pleksuslara boşalmaktadır. Subkutan pleksustaki damarlarda musküler tabaka bulunmaktadır. Bu seviyeden önce tamamıyla pasif gerçekleşen lenfatik drenaj, subkutan pleksusta kısmen aktif şekilde işlemektedir. Subkutan pleksuslar da rejyonel lenf düğümlerine dökülmektedir. Büyük kas kompartmanlarının drenajını sağlayan derin bir lenfatik sistem de bulunmaktadır. Yüzeysel sisteme göre çok daha az drenaj sağlayan bu sistem derin fasyanın altında seyretmektedir. Derin subfasyal lenfatik sistemin supratroklear, inguinal ve popliteal lenf düğümlerinde yüzeysel lenfatik akımla bağlantıları vardır. Akım, kapakçıklar sayesinde derinden yüzeyle doğru tek yönlü gerçekleşmektedir.^{13,15}



Resim-3 Sıçan lenfatik sistemi

3. Yanık Ödemi

Yanık sonrası ağır doku ödemi gözlenmesi bilinen bir durumdur. Yanık sonrası gelişen ödem interstisyel dokuda sıvı hacminin genişlemesine bağlı olarak oluşmaktadır.¹⁶ Yanığın diğer tüm özelliklerinin tedavisi ile ilgili birçok yenilik görülmekteyken, yanık hastalarında ağır ödem gelişimi halen önemli bir problem olarak izlenmektedir.¹⁶

Yanık ödemi birçok önemli komplikasyonu beraberinde getirmektedir. Ödem oluşumu, intravasküler sıvı hacminde aşırı derecede kayba neden olmaktadır. Geniş yanıklar sonrasında, sıvı resüsitasyonu yapılmadığı takdirde hipovolemi gelişmesi kaçınılmazdır. Ödem sıvısı ile birlikte protein kaybı görülmekte ve bu da hipoproteinemiye neden olmaktadır. Hipoproteinemi gelişimi de bir kısır döngü oluşturup ödemin artmasını tetiklemektedir. Yine ödemin kendisi dokuda hipoksiye ve doku basıncında artışa neden olmaktadır. Agresif sıvı tedavisi hipovolemiyi düzeltmekte ancak ödemi arttırmaktadır.^{16,17}

Tüm yanıklarda, yanık alanda ödem görülmekle birlikte, vücut yüzey alanının % 20-30'undan daha geniş yanıklarda yanmamış dokularda da ödem görülmektedir.¹⁷ Hatta bazı yayınlarda geniş yanıklarda ödem sıvısının neredeyse %50'sinin yanmamış dokularda olduğu belirtilmiştir.^{18,19} Yanık derecesi arttıkça, ödemin tavan yaptığı zaman da artmaktadır. Örneğin bu değer % 10 yanıklı bir hasta için 3 saatken, % 40 yanıklı bir hastada 12 saattir. Bunun nedeni ise tahmin edilebileceği üzere yanık derecesi arttıkça intravasküler sıvı kaybının artmasıdır.^{18,19}

Yanık ödeminin fizyopatolojisinde birden fazla etmen rol oynamaktadır. Yanık travması sonrası ortaya çıkan mediatörlerin dolaylı veya dolaysız olarak etki göstermesi sonucu damar geçirgenliği artmaktadır. Damar geçirgenliğindeki artış nedeniyle büyük molekül ağırlıklı proteinler interstisyel alana kaçmakta bu da interstisyel kolloid ozmotik basıncını arttırmaktadır. Yine aynı şekilde damar basıncı da yükselmektedir. Bu etmenler damar dışına kaçan sıvı miktarını arttırmaktadır. Yanık travması sonrası interstisyel hidrostatik basınç azalmaktadır. Protein kaybı nedeniyle plazma kolloid ozmotik basıncı düşer. Bu etmenler de interstisyel alana çekilen sıvı miktarını arttırmaktadır.^{2,16,17}

Derin yanıklar sonrasında yüzeysel ve derin dermal lenfatik pleksus büyük bir kısmı ya hasar görür ya da dokudaki nekrotik mayi tarafından tıkanır. Hasarlı lenfatiklerin yeniden oluşmaya başlaması için 10-14 günlük bir süre gerekmektedir. Nekrozla tıkanan lenfatiklerin çalışmaya başlaması daha uzun sürebilir. Ödemin azaltılması için gerekli olan bu ana mekanizmanın da hasarlanmış olması yanık dokudaki sıvı ve protein birikimini arttırmaktadır. Yüzeysel yanıklarda lenfatik hasarın az olması bu problemi azaltmaktadır.¹⁶

4. Lenfatik Sistem İyileşmesi

Lenfatik sistem, her ne kadar dolaşım sisteminin önemli bir ögesi de olsa, lenfatiklerle ilgili bilgiler kan damarlarına göre sınırlıdır. Yara iyileşmesi sürecinde yaralı bölgedeki kan damarları anjiogenez ile iyileşirler.²⁰ Lenfatikler de kan damarları ile aynı anatomik bölgelerde olmalarına rağmen, yara iyileşmesi içerisinde, lenfatik iyileşmesi yani lenfanjiogenez ile ilgili bilgiler son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya çıkmaktadır. Bunun en önemli nedeni, lenfatik iyileşme için uygun deney modellerinin şimdiye kadar oluşturulamaması ve lenfatikleri inceleyecek işaretleyicilerin ancak son yıllarda geliştirilmiş olmasıdır.²¹

Anjiogenez ve lenfanjiogenez süreci için birçok moleküler düzenleyici tanımlanmıştır. Bu düzenleyiciler iki süreç için de benzerlik göstermektedir ancak süreçlerin işleyişi ile ilgili benzerlik olup olmadığı net değildir. Anjiogenez, embriyonik gelişim, yara iyileşmesi ve tümör gelişimi gibi süreçler esnasında aktif hale gelmekte, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü-A (VEGF-A-vascular endothelial growth factor A), Angiopoietin-2, Fibroblast Büyüme Faktörü (b-FGF-basic fibroblast growth factor) gibi polipeptid büyüme faktörleri ile düzenlenmektedir.²² Anjiogenezi tetikleyen ana fizyolojik itici güç ise “oksijen konsantrasyonu”dur. Hipoksik alanlardan salınan mediatörler bu alanlarda yeni kan damarı oluşumunu tetiklemektedir.²³ Dokulara oksijen sağlamanın, kan damarlarının birincil görevlerinden biri olduğu düşünüldüğünde, oksijen konsantrasyonu-anjiogenez ilişkisi, lenfanjiogenez için de ortaya atılmıştır.²¹ Lenfatik sistemin ana görevinin interstisyel sıvı dengesini sağlamak olması, lenfanjiogenez için ana fizyolojik itici gücün “interstisyel sıvı akımı” olabileceğini hipotez olarak ortaya çıkarmıştır. Yapılan çalışmalar da bu hipotezi doğrulamıştır.^{21,24,25} Doku harabiyeti sonrasında interstisyel bölgede biriken sıvı ve bu

sıvıda bulunan VEGF-C ve VEGF-D lenfanjiogenezin ana düzenleyicileridirler.²⁶ Bu büyüme faktörleri hasarlı doku sınırında bulunan lenfatik endoteldeki reseptörleri VEGFR-3'e bağlanmakta ve lenfanjiogenez interstisyel sıvı birikiminin olduğu bu bölgeye doğru ilerlemektedir.²¹

Lenfatik sistemin doğrudan hasarlandığı durumlar haricinde, dokuda oluşan ödem de dolaylı olarak lenfatik damarları etkileyebilmektedir. Lenfatik damarların etrafını saran elastin lifleri aşırı ödem ile hasar görmektedir. Elastin hasarı nedeniyle lenfatik damarların, kas kasılması ile gerçekleşen hareketleri oluşmamakta ve taşıma görevlerini yerine getirememektedirler.²⁷ Ödemi oluşturan mekanizma ortadan kalktığında, lenfatik damarlar çevresindeki interstisyel dokuda bulunan fibroblastlar tarafından yeni elastin lifleri sentezlenmekte ve damarların etrafı bu yeni liflerle tekrar sarılmaktadır.²⁷

Lenfatik iyileşmesi esnasında meydana gelen patolojik değişiklikler anormal iyileşmeye neden olabilir. Klinik çalışmalarda fibrozis ile lenfödem oluşumu arasında kuvvetli bir bağ söz konusudur. Radyoterapi, enfeksiyonlar ve geniş cerrahi rezeksiyonlar, fibrozise neden olarak lenfödem oluşum riskini arttırmaktadır.^{28,29} Fibrozis'in böbrek, kalp, karaciğer gibi organlarda da yetersizlik oluşturabildiği düşünüldüğünde, lenfatik sistem iyileşmesini kötü yönde etkilediği ve lenfödeme sebep olduğu söylenebilir.³⁰ Ayrıca çeşitli maddeler, yine lenfanjiogenez sürecine yön veren büyüme faktörleri ve mediatörler üzerinden etki göstererek lenfatik iyileşmeyi etkileyebilirler. IL-1 β , VEGF-C sentezlenmesini sağlayan bir mediatördür. Glukokortikoidler doğrudan, aspirin de COX enzimi üzerindeki inhibisyonu ile dolaylı olarak IL-1 β 'yı negatif yönde etkilemekte ve lenfatik iyileşmesini azaltmaktadır. Mikronize saf flavonoid parçacıkları ise sebebi bilinmeyen bir şekilde lenfatik iyileşmeyi hem hayvan hem insanlarda arttırmaktadır.^{31,32}

II. AMAÇ

Yanık travmasıyla birlikte akut dönemde ortaya çıkan ödemin birçok sebebi bulunmaktadır. Yanık yarasının iyileşme sürecinde subakut ve kronik dönemlerde ödem zamanla azalmaktadır. Yüzeysel yanıklarda yara iyileşmesinin sona ermesiyle birlikte ödem yok olmakla birlikte, derin yanıklarda ödem devamlılığını sürdürebilmektedir. Yara iyileşmesinin geç evrelerinde ve hatta sonlandıktan sonra dahi devam eden bu ödemin sebepleri net değildir.

Yüzeysel lenfatik sistemde yanık travması ile birlikte görülen hasar, yanığın akut döneminde görülen ödeme katkıda bulunmaktadır. Subakut ve kronik dönemlerde iyileşme ile birlikte lenfatik rejenerasyonun görülmesi nedeniyle bu ödemde azalma olmaktadır. Ancak rejenerasyonun asla tam olmaması ve fibrozis nedeniyle bir miktar doku ödeminin kalıcı olduğunu düşünmekteyiz. 2. derece derin ve 3. derece yanıklarda iyileşme esnasında fibrozis oluşumu ve lenfatiklerin taşıma fonksiyonunu sağlayan damar çeperindeki elastin lif hasarının²⁷, lenfatik rejenerasyonu etkilediğine ve asla yanık öncesi dönem seviyesinde fonksiyon göremediğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda yanık travması sonrasında, lenfatik sistem hasarı ve iyileşmesini, ayrıca lenfatik sistemde oluşan hasarın ödeme katkısını araştırmayı amaçlamaktayız. Literatürde yanık-lenfatik sistem hasarı ve iyileşmesi birlikteliğini inceleyen herhangi bir klinik veya deneysel çalışmaya rastlanmamıştır. Son yıllarda lenfatik sistem iyileşmesi ile ilgili birkaç deneysel çalışma bulunmakla birlikte, bu çalışmalarda cerrahi travma ve replantasyon sonrası derideki lenfatik iyileşme incelenmiştir. Çalışmamızın hem lenfatik sistem iyileşmesi ile ilgili bilgilere katkı sağlamasını hem de yanık-lenfatik sistem birlikteliğini, yüzeysel lenfatik sistem etkilerini derin lenfatik sistemden bağımsız olarak inceleyen yeni bir model olmasını amaçlamaktayız.

III. GEREÇ – YÖNTEM

1. Deneysel Çalışma Planı

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan etik kurul onayında belirtilen şartlara uygun olarak Cerrahpaşa Tıp Fakültesi bünyesindeki deneysel çalışma laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada denek olarak ağırlıkları 300-350 gr. arasında değişen 35 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, İstanbul Üniversitesi Deneysel ve Tıbbi Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edildi. Deney hayvanlarının bakımı, her kafeste 5 hayvan olacak şekilde 21-22° C oda sıcaklığında, 12 saat gündüz / 12 saat gece foto periyodunda, %18-20 protein içeren pellet sıçan yemi ve içme suyu sağlanan 7 adet polikarbonat kafeste yapıldı. Anestezi için 75 mg/kg Ketamin (Ketalar®) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun®) periton içi enjekte edildi.

Çalışmadaki sıçanlar üç ana gruba ayrılarak incelendi. İlk grupta 5 adet sıçan bulunmakta olup sıçanların sağ arka ekstremiteleri Sham grubunu, sol arka ekstremiteleri ise Kontrol grubunu oluşturmaktadır. İkinci grup 15 adet sıçandan oluşmakta olup 2. derece yanık grubudur. Bu gruptaki sıçanlar 5'er adet sıçandan oluşacak şekilde 3 alt gruba ayrılmaktadır. Bu alt gruplar 2.derece akut, subakut ve kronik (sırasıyla 2., 6. ve 16. hafta) dönem alt gruplarıdır. Üçüncü grupta yine 15 adet sıçan bulunmakta olup, 3. derece yanık grubudur. Bu gruptaki sıçanlar 5'er adet sıçandan oluşacak şekilde 3 alt gruba ayrılmaktadır. Bu alt gruplar 3. derece akut, subakut ve kronik (sırasıyla 2., 6. ve 16. hafta) dönem alt gruplarıdır.

İlk gruptaki sıçanların sol arka ekstremiteleri Kontrol grubunu oluşturmakta olup bu gruba herhangi bir yakma veya cerrahi girişim yapılmadı. Bu gruptaki sıçanlara 0., 2., 6. ve 16. haftalarda, alt ekstremitte çevre ölçümleri yapıp lenfosintigrafi uygulandı. Bu işlemler sonrasında 0., 2. ve 6. haftalarda uyluk proksimalinden histolojik inceleme amacıyla cilt cilt altı dokuyu içerecek şekilde insizyonel biopsiler alındı. 16. haftada yapılan sakrifikasyon sonrası sol uyluk proksimalindeki cilt-cilt altı doku histolojik inceleme amacıyla eksize edildi. Aynı sıçanların sağ arka ekstremiteleri ise Sham grubunu oluşturmakta olup yapılan cerrahi işlemle uyluk orta seviyesinden itibaren derin lenfatik sistem haraplandı. Bu gruba 0., 2., 6. ve 16. haftalarda çevre ölçümleri yapıp lenfosintigrafi uygulandı. Bu işlemler sonrasında 0., 2. ve 6. haftalarda uyluk

proksimalinden histolojik inceleme amacıyla cilt cilt altı dokuyu içerecek şekilde insizyonel biopsiler alındı. Bu gruptaki sıçanlar 16. haftada intraperitoneal enjeksiyon ile yüksek doz barbitürat (150 mg/kg pentobarbital) verilerek sakrifiye edildi ve histolojik inceleme yapıldı.

2. gruptaki sıçanların sağ arka ekstremitelerine yapılan cerrahi işlemle uyuk orta seviyesinden itibaren derin lenfatik sistem haraplandı. Yakma işlemi uygulandı. Tablo-2'de belirtildiği üzere akut, subakut ve kronik alt gruplara çevre ölçüm işlemleri ve lenfosintigrafi uygulandı. Yine aynı tabloda belirtilen zamanlarda sakrifikasyon yapıp, histolojik inceleme amacıyla biopsiler alındı.

3. gruptaki sıçanların sağ arka ekstremitelerine yapılan cerrahi işlemle uyuk orta seviyesinden itibaren derin lenfatik sistem haraplandı. Yakma işlemi uygulandı. Tablo-3'de belirtildiği üzere akut, subakut ve kronik alt gruplara çevre ölçüm işlemleri ve lenfosintigrafi uygulandı. Yine aynı tabloda belirtilen zamanlarda sakrifikasyon yapıp, histolojik inceleme amacıyla biopsiler alındı.

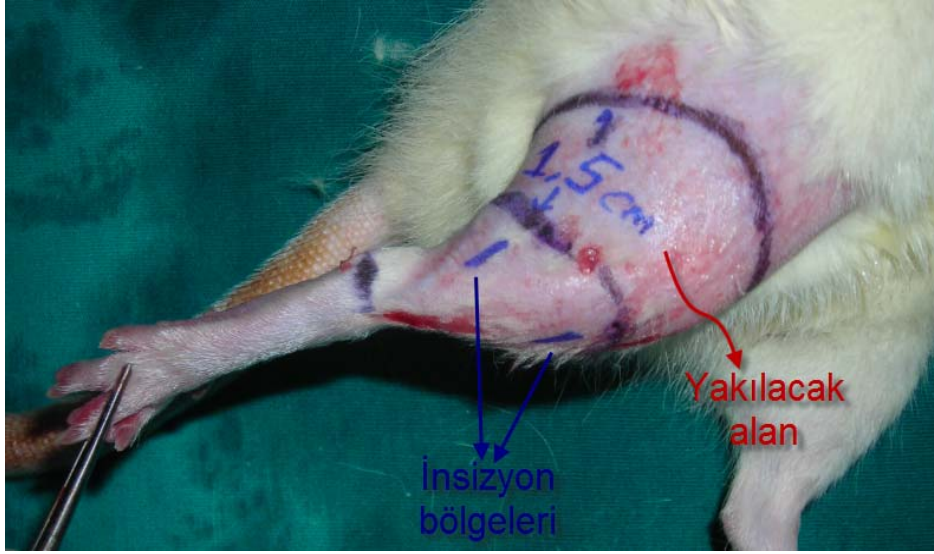
2. Derin Lenfatik Sistem Haraplanması

Derin lenfatik sistem haraplanması, Sham grubuna (1. gruptaki sıçanların sağ arka ekstremiteleri), 2. ve 3. derece yanık gruplarındaki sıçanların sağ arka ekstremitelerine uygulandı. Anestezi için 75 mg/kg Ketamin (Ketalar[®]) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun[®]) periton içi enjekte edildikten sonra kasıktan itibaren tüm ekstremiteye epilasyon kremi uygulandı ve tüyler temizlendi. Kasıktan itibaren uyluğa doğru 1,5 cm.'lik kısım işaretlendi ve yakılacak alan olarak belirlendi.

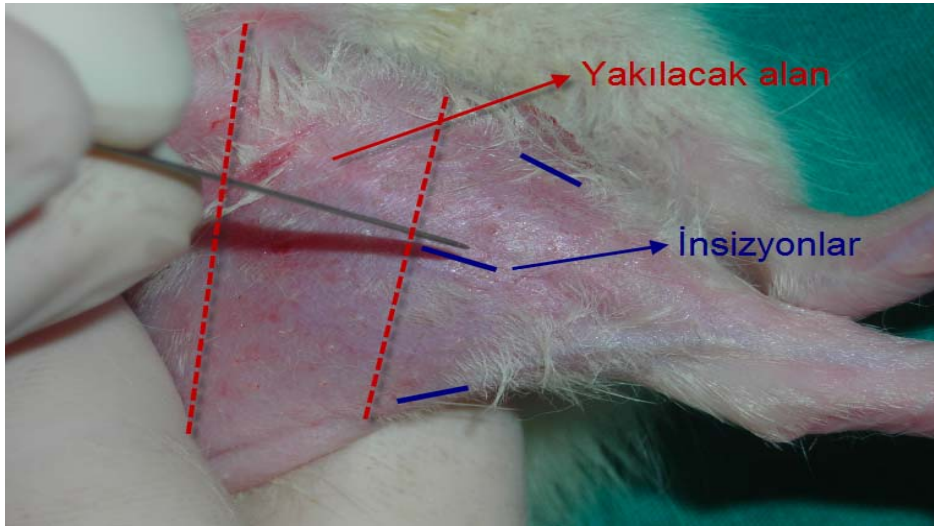
Yakılacak alanın hemen distalinde, diz ve poplitea seviyesine denk gelen bölgede, saat 12, 3, 6 ve 9 hizalarında vertikal tarzda dört adet 0,5 cm.'lik insizyonlar planlandı. İnsizyonların yapılmasını takiben suprafasyal planda dört insizyon çepeçevre birleştirildi.

İnsizyonlar diz-poplitea seviyesinde suprafasyal planda çepeçevre birleştirilirken atravmatik teknik uygulandı, subdermal ve subkutan planda seyreden yüzeysel lenfatik sistemin haraplanmamasına özen gösterildi. Sonrasında fasyalar kasların üzerinden çepeçevre kaldırıldı ve kesildi.

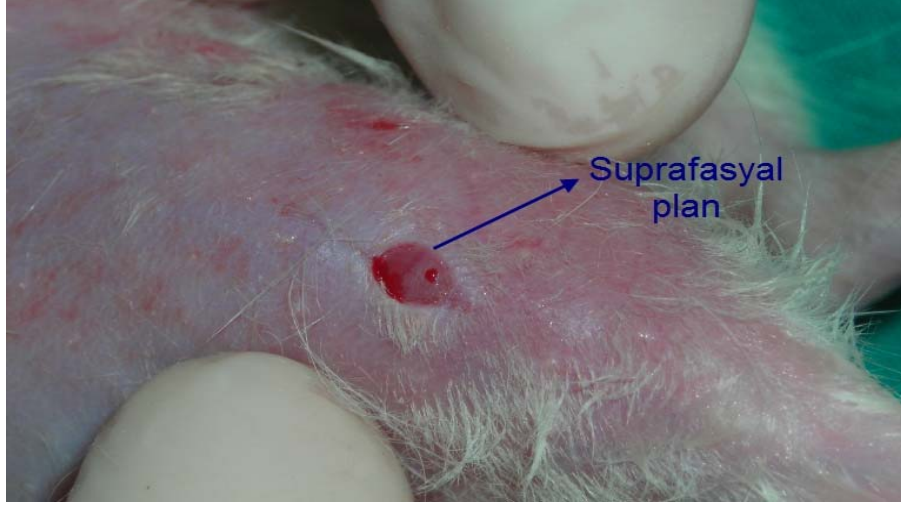
Fasyalar çepeçevre insize edildikten sonra portegünün ucuyla ezildi. Mevcut kanamalar kontrol edildikten sonra kesiler 3/0 keskin polyglycolide co-lactide (Pegelak Rapid® , Doğsan, Trabzon) sütürlere kapatıldı.



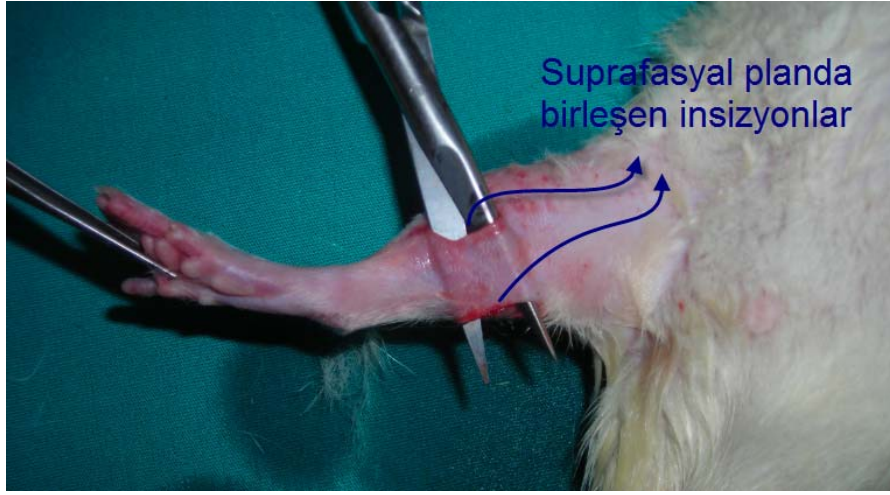
Resim-4 Yakılacak alan ve cerrahi insizyon planlaması



Resim-5 İnsizyonlar



Resim-6 Suprafasyal plan



Resim-7 Planın çepçevre birleştirilmesi



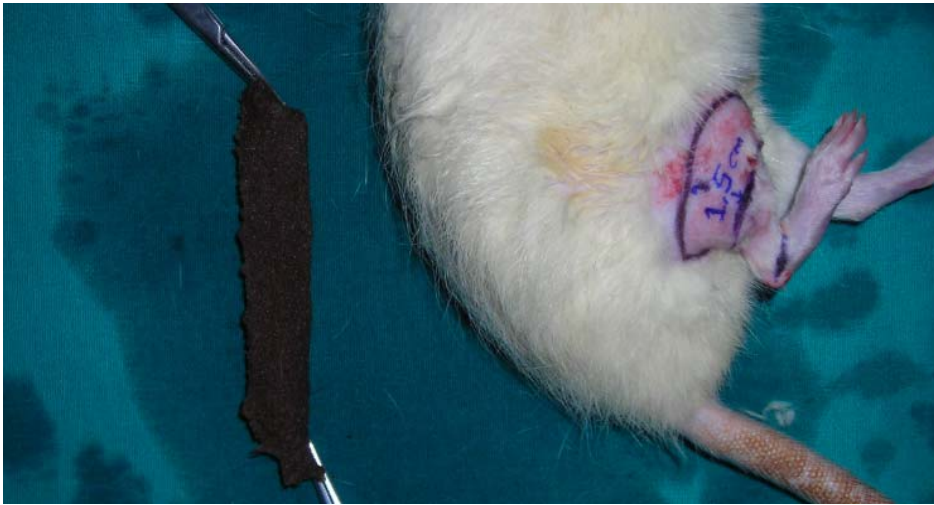
Resim-8 Fasyaların ortaya konması



Resim-9 İnsizyon onarımı

3. Yakma İşlemi

Derin faysa haraplanması işleminden hemen sonra yakma işlemine geçildi. İşlem Borman ve arkadaşlarının yayınında tarif edildiği üzere yapıldı.^{33,34} Yakma işlemi 2. ve 3. derece yanık gruplarındaki sıçanların sağ arka ekstremitelerine uygulandı. 1,5 cm yüksekliğinde ve sıçan uyluğunu çepeçevre saracak genişlikte, dikdörtgen keten kumaşlar kesildi. Kumaşlar 100°C kaynar su içinde bekletildi. Sonrasında kumaşlar, uyluk proksimalinde önceden işaretlenmiş, 1,5 cm genişliğinde alanlara uyluğu çepeçevre saracak şekilde temas ettirildi. 2. derece yanık grubundaki 15 sıçan için 5 saniye, 3. derece yanık grubundaki 15 sıçan için ise 10 saniye olacak şekilde temas sağlandı.



Resim-10 Yakılacak alan ve keten kumaş



Resim-11 Keten kumaşın cilde temas ettirilmesi



Resim-12 Yakma sonrası

Yakma işlemi tamamlandıktan sonra yakılmış alanla, insizyon sahalarına Fusidik asit (Stafine pomad[®], Koçak Farma, İstanbul) ve Lidokain HCl (Anestol pomad[®], Sandoz, İstanbul) sürüldü. Yaraların üzeri Comfeel plus[®] (Coloplast, Danimarka) şeffaf pansuman malzemesi ve gazlı bez ile kapatıldı.



Resim-13 Pansuman



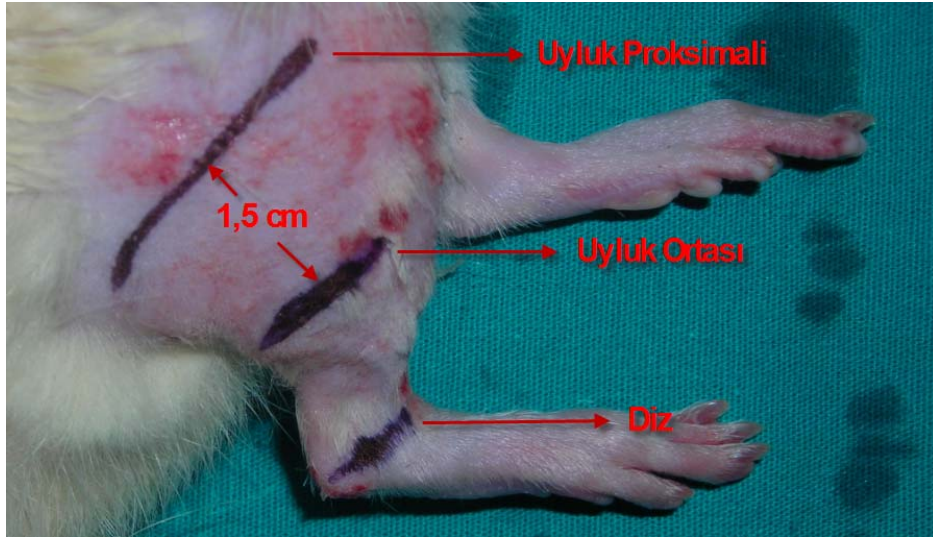
Resim-14 Pansuman

Pansumanlar yaraların günlük izlemlerine göre 2-3 günde bir değiştirildi. Pansumanlar ve yara bakımı anestezi altında Resim-13 ve 14'te gösterilen şekilde yapıldı. 2. derece yanık grubunda 4. hafta tamamlandıktan sonra pansuman ihtiyacı olmayacak şekilde tüm sıçanlarda epitelizasyon ve minimal sekonder iyileşme gözlemlendi. 3. derece yanık grubunda ise 10. haftanın sonuna dek pansuman gereksinimi oldu. Sıçanların tümünde kısmi epitelizasyon ve sekonder iyileşme saptandı. Yanık oluşumu sonrası sıçanlara ilk bir hafta, gün geçtikçe azalacak ağrıları nedeniyle ilk 4 gün iki doz,

sonraki 3 gün bir doz intraperitoneal 2,5 mg/kg Xylasine (Rompun®) enjeksiyonu ile analjezi sağlandı. Ayrıca pansuman malzemesi olarak uygulanan lidokain HCl içerikli Anestol Pomad®'ın lokal anestetik etkisinden yararlandı.

4. Çevre Ölçümleri

Çevre ölçümleri Tablo 1, 2 ve 3'te belirtildiği üzere Resim 15'te gösterilen bölgelerden mezura ile yapıldı.



Resim-15 Ölçüm sahaları



Resim-16 Ölçüm

5. Lenfosintigrafi

a. Genel Bilgiler

İnsanlarda, 24 saatlik zaman diliminde, 2-4 litrelik proteinden zengin (75-150gr) sıvı lenfatik sistem tarafından taşınmaktadır. Doğumsal, travmatik, cerrahi işlem vb. sebeplerden ötürü lenfatik akım tıkanıklıkları meydana gelebilir. Lenfosintigrafi bu tıkanıklıklarda tercih edilen tanı yöntemidir. Ekstremitelerdeki lenfatik akım bozukluklarını gösterebilmek için Tc^{99m} işaretli insan serum albumini, interdigital alandan subkutan veya intradermal enjeksiyon yapılabilir. Çift başlı gamma sayacı ile işaretli malzemenin dağılımına göre lenfatik akımda bozukluk veya tıkanıklık belirlenir. Bölgesel lenf nodu aktivitesi 15-60 dakikalar arası en yüksek düzeyde olmalıdır. Daha uzun süre, patoloji göstergesidir.

-Enjeksiyon bölgesinden alınmayan veya geciken madde varlığı

-Dermal geri akım mevcudiyeti

-Azalmış, zayıf veya hiç olmayan bölgesel lenf nodu varlığı

-Ekstravazasyon, lenfösel, lenfanjiektazi gibi durumlarda anormal lokalizasyonlu birikim mevcudiyeti, anormal olarak rapor edilir

b. Lenfosintigrafi metodu

Lenfosintigrafi işlemi Tablo 1, 2 ve 3'te belirtildiği üzere uygulandı. 0. haftadaki lenfosintigrafiler, Sham grubunda derin lenfatik sistem haraplanması sonrasında yapıldı. 2. ve 3. derece yanık gruplarında ise derin lenfatik sistem haraplanması ve yakma işlemi sonrasında uygulandı.

Enjeksiyon için 0,1 ml içinde 3,5 MBq (100 µCi) Tc^{99m} nanokolloid hazırlandı. Toplam 18,5 MBq (500 µCi) enjeksiyon tamamlandıktan hemen sonra dinamik görüntüler alınmaya başlandı. Görüntüleme düşük enerjili yüksek rezolüsyonlu kolimatör kullanıldı. Enerji penceresi 140 Kev ± % 20 aralık şeklinde ayarlandı.

Lenfosintigrafik inceleme için ADAC Medical Systems Vertexplus Epic Dual head Gamma Kamera ve Pegasys Computer (Philips Medical Systems[®], Hollanda) kullanıldı.

Lenfosintigrafi işlemi öncesinde sıçanlara periton içi 75 mg/kg Ketamin (Ketalar[®]) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun[®]) enjeksiyonu yapıldı.

1. gruptaki sıçanların sağ ve sol arka ayaklarına, 2. ve 3. gruptaki sıçanların ise yalnızca sağ arka ayaklarına interdigital aralıktan intradermal 500 μCi Tc -99m nanocolloid (partikül büyüklüğü, 0.05–0.8 μm) enjekte edildi. Her bir denek bilateral alt ekstremiteler sabit olacak şekilde gama kamera altına yerleştirildi ve enjeksiyonla eş zamanlı dinamik görüntüler alındı. Dinamik görüntüler X-SPECT (Single-photon emission computed tomography) ile anterior pozisyonda 15-180 saniye zaman aralıklı olarak 60 dakikada alındı. Elde edilen görüntülerde sıçanların tüm vücut kontürü görüldü. Ayrıca izlenen drenaj sahasında ilk gözlemlenen lenf nodu background aktivitesine göre yaklaşık 10 kat kadar yoğun izlendi. 1. gruptaki sıçanların her iki arka ekstremitesine de enjeksiyon yapıp çekim alındığı için, görüntülerin karışmaması amacıyla önce sol sonra sağ arka ekstremiteye işlemler yapıldı. Sağ arka ekstremitede işlemleri yapılırken sol arka ekstremitede sirküler kurşun blok ile kapatıldı. Dinamik görüntüler vizüel olarak değerlendirildi, ayak interdigital alana yapılan enjeksiyon sonrası, uygulanan radyofarmasötüğün inguinal lenf nodlarına geçiş süresi hesaplandı. Azalmış, zayıf veya hiç olmayan bölgesel lenf nodu varlığı “izlenemedi” olarak rapor edildi. Elde edilen görüntülerde **ilk gözlemlenen inguinal lenf nodu ve radyofarmasötüğün bu lenf noduna ulaşma süresi** belirtildi. Görüntüler 3 farklı okuyucu tarafından raporlandı.



Resim-17 X-SPECT ile lenfosintigrafi çekimi

6. İmmünohistokimya

a. Genel Bilgiler

İmmünohistokimya işaretlenmiş antikolar kullanılarak hücre ve doku antijenlerinin buldukları yerde gösterilmesini sağlayan bir yöntemdir. İmmünohistokimya yöntemi gerek ışık, gerekse elektron mikroskopide; tek aşamalı (direk) veya iki aşamalı (indirek) olmak üzere iki şekilde uygulanabilir.

Direk yöntemde gösterilmek istenen antijene özgü antikor floresan boya, enzim, altın tanecikleri v.b. işaretler ile işaretlenir. İşaretli antikorun dokudaki antijenle reaksiyona girmesi sağlanır. Yöntem tek aşamalı olduğundan çabuk tamamlanır. Ancak primer antikor, işaretlendiği için antikorun reaksiyon gücünde bir azalmaya neden olabilmektedir. Yöntemin hassasiyeti düşük olduğundan nadiren kullanılmaktadır ve yerini iki aşamalı (indirek) yöntem bırakmıştır.³⁵

İndirek yöntemde primer antikor işaretlenmez, ancak primer antikorun elde edildiği türün gama globulinine karşı oluşturulan sekonder bir antikor işaretlenerek ikinci bir aşama olarak uygulanır. Böylece; 1.aşamada, işaretsiz primer antikor antijene bağlanır. 2.aşamada ise işaretli sekonder antikor primer antikorun Fc bölgesi ile reaksiyona girer, böylece antijen iki aşamada indirek olarak işaretlenmiş olur. İndirek yöntem direk yöntemle göre daha hassastır. Primer antikor ile birden fazla sekonder antikor bulunabilir ve daha güçlü bir işaretlenme elde edilebilir.³⁵

b. Histolojik Metod

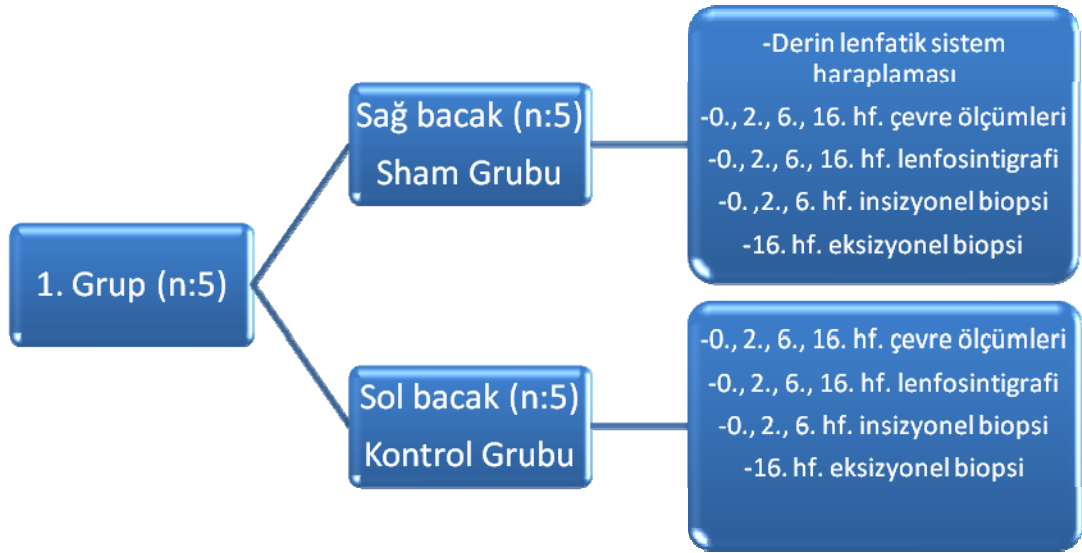
Sıçanlar, intraperitoneal enjeksiyon ile yüksek doz barbitürat (150 mg/kg pentobarbital) verilerek kurban edildikten hemen sonra yakma işlemine tabi tutulmuş dokular hızlıca sirküler olarak fasya üzerinden eksize edildi. Doku parçaları sıvı nitrojen ile dondurulduktan sonra -80°C' de bekletildi. Alınan uygun kesitlerin bir kısmı doku morfolojisini görebilmek amacı ile rutin Hematoksilen + Eozin boya prosedürü uygulanarak boyandı. Diğer kesitler ise lenf damarlarını görebilmek amacı ile LYVE-1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor) primer antikorunu ile immünohistokimyasal olarak işaretlendi. Boyanan örnekler Olympus BX61 marka ışık mikroskobu ile incelenerek gerekli ölçümler yapıldı ve uygun alanlar fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal işlem için Invitrogen (85-9043) kit protokolü uygulandı. Dokular aseton fiksasyonunu takiben, spesifik olmayan zemin boyanmasını önlemek amacıyla endojen peroksidazın giderilmesi için, ticari olarak elde edilen hazır H₂O₂ (Hidrojen Peroksit-Nalgene L808) içerisinde yaklaşık 1 dakika kadar tutuldu. Ardından PBS (Phosphate Buffered Saline) ile 3'er kez, 5'er dakika yıkandılar. Daha sonra doku antikorlarını bloke etmek için kesitler immünohistokimya kiti tarafından sağlanan "ultra V blok" ile 5 dakika süre ile muamele edildi. Ultra V bloğun uzaklaştırılmasını takiben PBS ile ara yıkama yapmadan kesitler üzerine primer antikor (LYVE-1), uygun antikor dilüe edici ajan içerisinde dilüe edilerek konuldu. Primer antikor ile muamele, oda sıcaklığında 1 saat süre ile gerçekleştirildi. Bu süre sonunda kesitler 3'er kez 5'er dakikalık süreler ile PBS ile yıkanarak primer antikorların fazlası giderildi. "Biotinlenmiş anti-polivalent" çözeltisi ile 10 dakika süresince muamele edilen dokuların sekonder antikorlarla reaksiyona girmesi sağlandı. Bu süre sonunda kesitler yine 3'er defa 5'er dakika olmak üzere PBS ile yıkandı. "Streptavidin peroksidaz" çözeltisi uygulandı ve oda sıcaklığında 10 dakika süreyle inkübe edildi. Ardından dokular 3'er defa 5'er dakika PBS ile yıkandı. AEC boya kiti (Life Science Division COI-12) tarafından elde edilen kromojen çözeltisi ile muamele edildi ve renk verme reaksiyonu bu şekilde başlatıldı. Kromojen çözeltisi kesitler üzerinde 5'er dakika tutulduktan sonra PBS ile yıkandı ve renk verme reaksiyonu sonlandırıldı. Mayer hematoksilen (Lab Vision TA-125-MH) ile dokular 15'er saniye muamele edildi ve PBS ile yıkanarak boya uzaklaştırıldı. Çeşme suyu ile 5 dakika hücrelerin boyanan çekirdekleri morartıldı. Ardından immünohistokimya kitinden elde edilen su bazlı "ultra mount" kapatma solüsyonu ile hücrelerin üzeri kapatıldı.

İnceleme 3 farklı gözlemci tarafından yapıldı. Preparatlar x40 büyütmede değerlendirilerek birim alandaki **lenfatik kapiller sayısı** belirlendi. Lenfatik kapiller sayısının belirlendiği alanlar, x100 büyütmede incelenerek birim alandaki **ortalama lenfatik kapiller alan** belirlendi. Alan hesaplaması için öncelikle birim alandaki lenfatik kapillerlerde x ve y ekseninde en uzun iki adet çap (r₁ ve r₂) bulundu (Resim- 36) ve $\pi r_1 r_2$ formülü uygulandı.³⁰

7. İstatistiksel Analiz

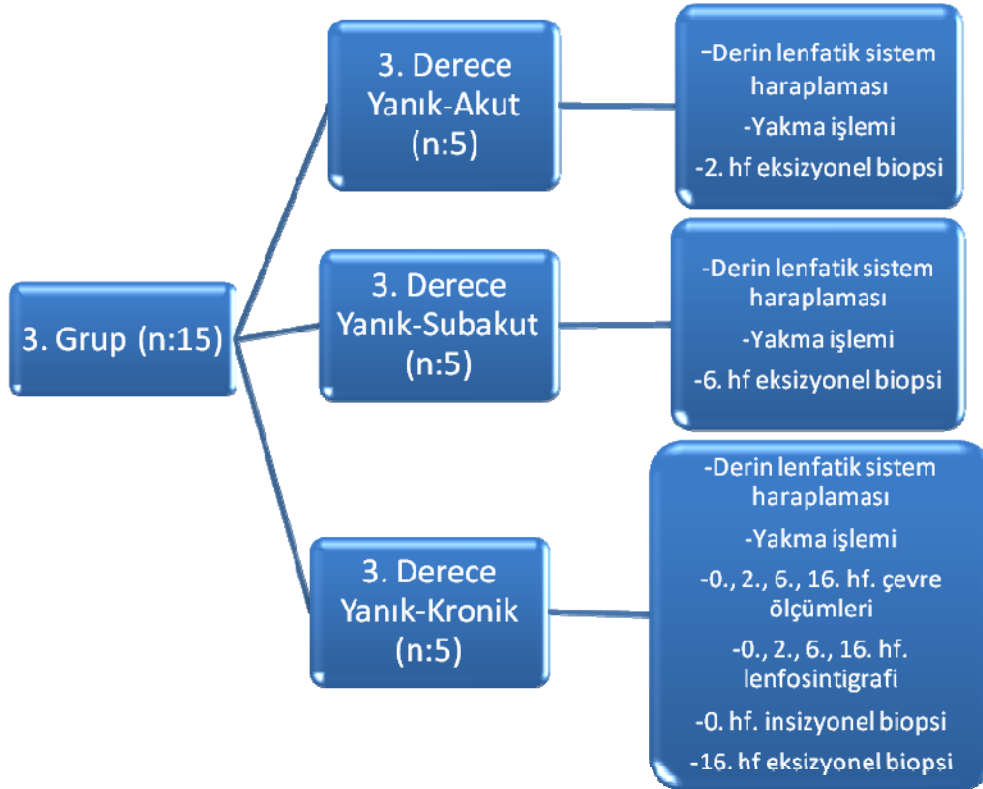
Verilerin istatistiki analizi GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, California, ABD) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Mann-Whitney testi ile, çoklu grup karşılaştırmalı analizleri Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Ortalama değerler ve standart sapma değerleri belirtildi. $p < 0.05$ anlamlı, $p < 0.001$ ileri derecede anlamlı olarak kabul edildi.



Tablo-1 1.Grup; yapılan işlemler ve zamanlamaları (hf.: hafta)



Tablo-2 2. Grup: yapılan işlemler ve zamanlamaları (hf.: hafta)



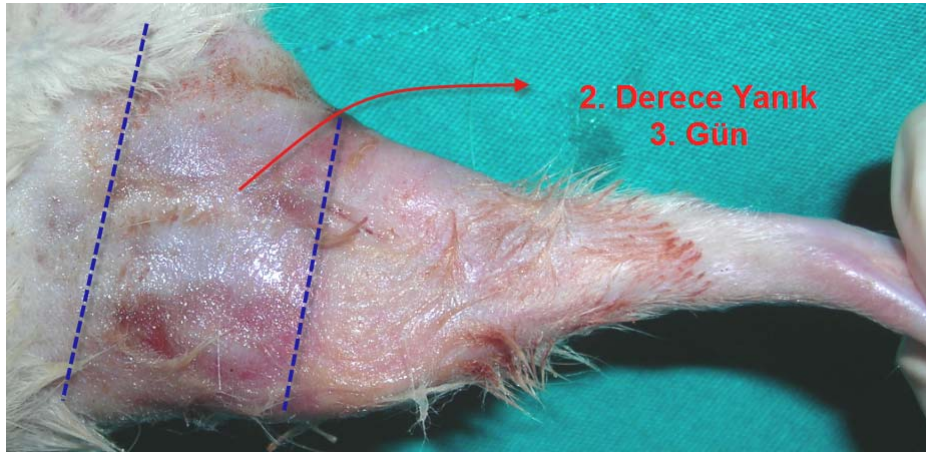
Tablo-3 3. Grup: yapılan işlemler ve zamanlamaları (hf.: hafta)

IV. BULGULAR

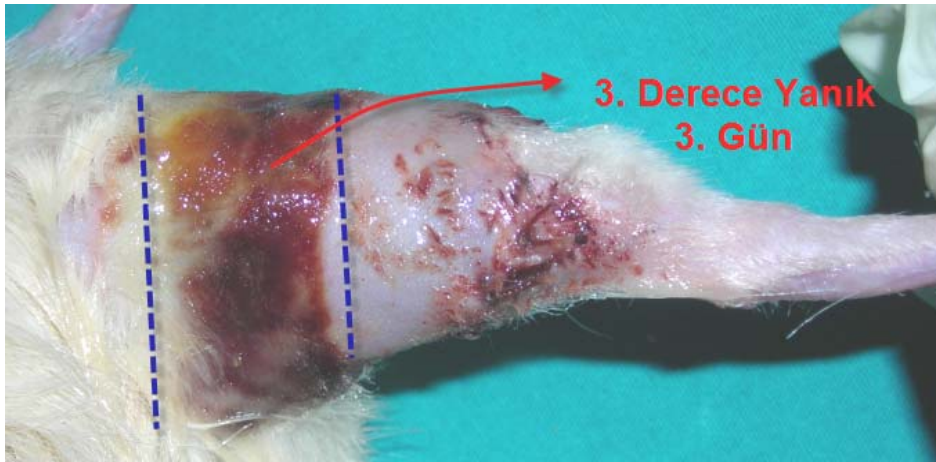
1. Yanık Takipleri

Yakma işlemi sonrasında, pansumanlar yaraların günlük izlemlerine göre 2-3 günde bir değiştirildi. 2. derece yanık grubunda 4. hafta tamamlandıktan sonra pansuman ihtiyacı olmayacak şekilde tüm sıçanlarda epitelizasyon ve minimal sekonder iyileşme gözlemlendi. 3. derece yanık grubunda ise 10. haftanın sonuna dek pansuman gereksinimi oldu. Sıçanların tümünde kısmi epitelizasyon ve büyük oranda sekonder iyileşme saptandı.

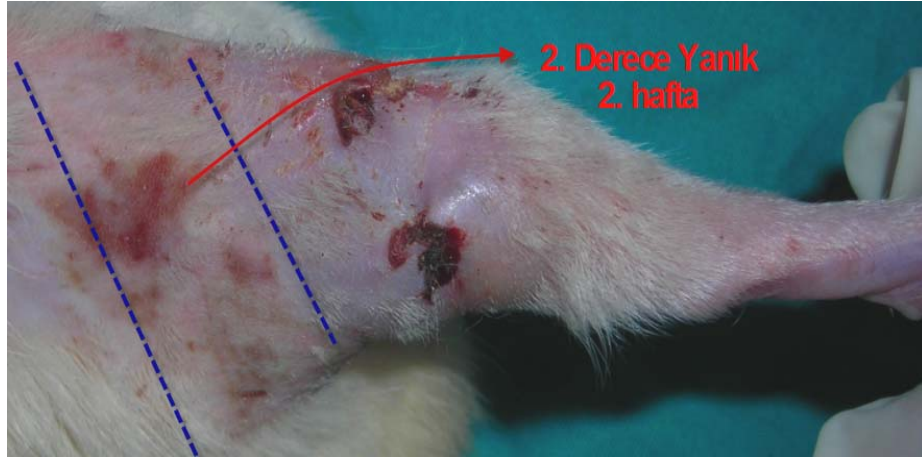
3. derece yanık grubunda oluşan eskar, 6. haftada yerini kendiliğinden granülasyon dokusuna bıraktı. Granülasyon dokusu da, 10. haftaya dek kenar epitelizasyonu ve yara kontraksiyonu ile tamamen iyileşti.



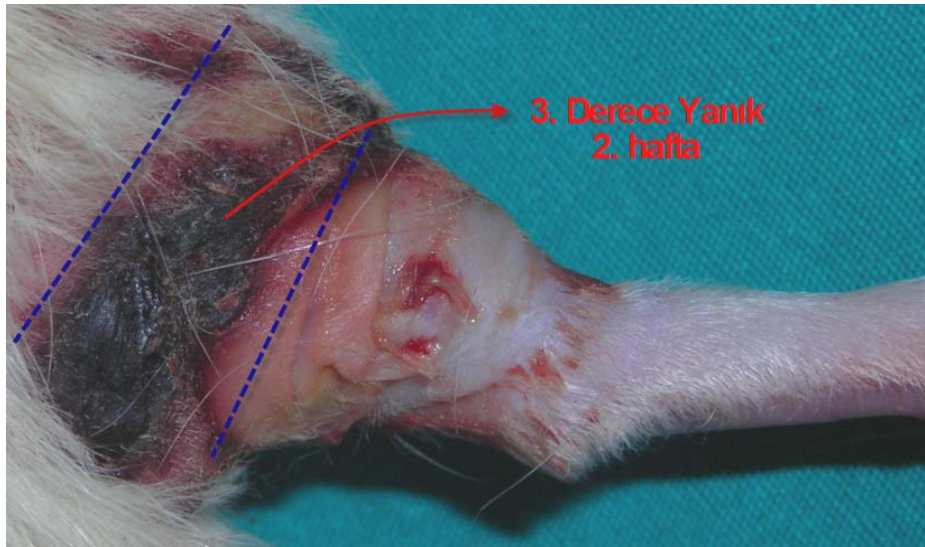
Resim-18 2. Derece yanık, 3.gün



Resim-19 3. Derece yanık, 3. gün



Resim- 20 2. Derece yanık, 2. hafta



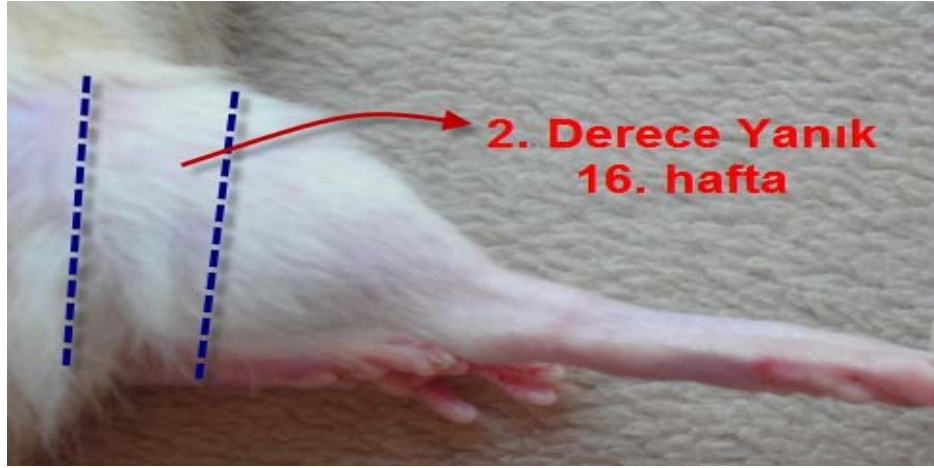
Resim- 21 3. Derece yanık, 2. hafta



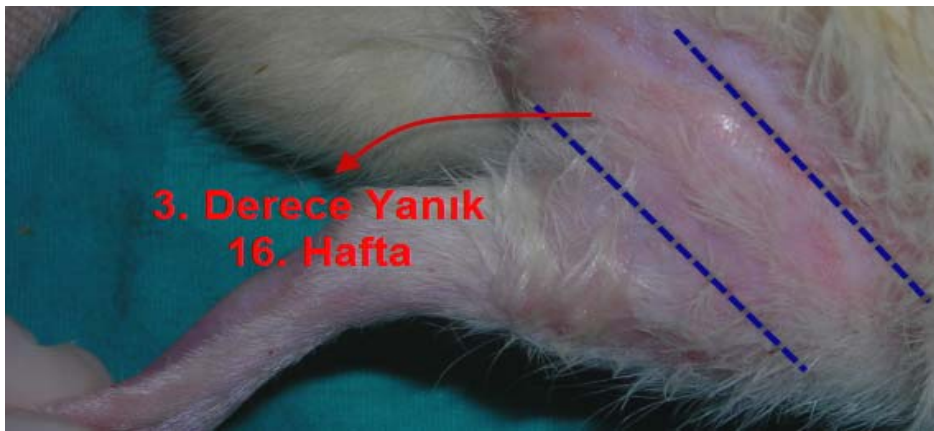
Resim-22 2. Derece yanık, 6. hafta



Resim-23 3. Derece yanık 6. hafta



Resim-24 2.derece yanık, 16.hafta



Resim-25 3. Derece yanık, 16. Hafta

2. Çevre Ölçüm Bulguları

| Ölçüm Alanları/ Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|-------------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Uyluk Proksimali | 7.2 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 |
| Uyluk Ortası | 5.8 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 |
| Diz | 3.6 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 |

Tablo-4 0.hafta

| Ölçüm Alanları/ Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|-------------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Uyluk Proksimali | 7.2 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.6 | 7.6 | 7.7 | 7.7 | 7.7 | 7.9 | 7.8 | 7.9 | 7.9 | 7.9 |
| Uyluk Ortası | 5.8 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 6.1 | 6.1 | 6.2 | 6.2 | 6.2 | 6.2 | 6.1 | 6.3 | 6.3 | 6.3 |
| Diz | 3.6 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.8 | 3.7 | 3.7 | 3.8 | 3.7 | 3.7 | 3.8 | 3.8 |

Tablo-5 2.hafta

| Ölçüm Alanları/ Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|-------------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Uyluk Proksimali | 7.2 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.4 | 7.3 | 7.4 | 7.4 | 7.4 | 7.7 | 7.6 | 7.7 | 7.7 | 7.7 |
| Uyluk Ortası | 5.8 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.1 | 6.0 | 6.2 | 6.2 | 6.2 |
| Diz | 3.6 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.8 | 3.7 | 3.7 | 3.8 | 3.8 |

Tablo-6 6. Hafta

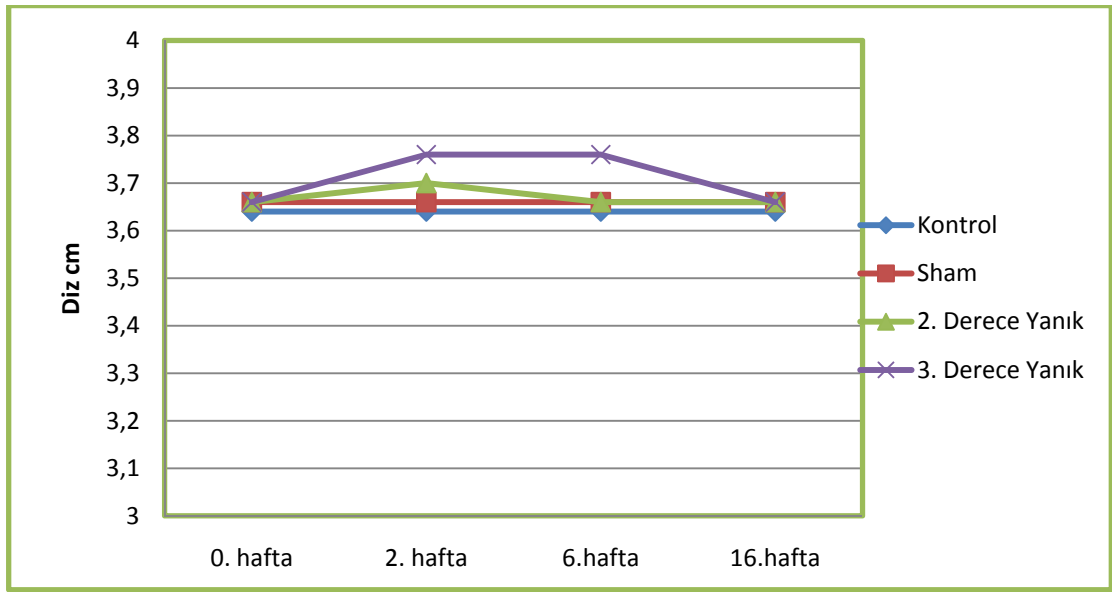
| Ölçüm Alanları/ Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|-------------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Uyluk Proksimali | 7.2 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.3 | 7.3 | 7.3 | 7.5 | 7.4 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| Uyluk Ortası | 5.8 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.8 | 5.8 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 6.0 | 5.9 | 6.1 | 6.1 | 6.1 |
| Diz | 3.6 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | 3.7 | 3.7 | 3.7 |

Tablo-7 16. Hafta

Yapılan ölçümler sonucunda, tüm gruplarda diz çevresinde, ölçüm haftalarında herhangi bir anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Anlamlı fark olmamasına karşın 2. derece yanık grubu içerisinde yapılan karşılaştırmalarda, 2. hafta ölçümlerinde diğer haftalara göre artış izlendi. 3. derece yanık grubunda ise bu artış hem 2. hem de 6. hafta ölçümlerinde mevcuttu. (Tablo-8)

| Gruplar | 0.Hafta | 2. Hafta | 6. Hafta | 16. Hafta |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrol | 3,64 ± 0,05 | 3,64 ± 0,05 | 3,64 ± 0,05 | 3,64 ± 0,05 |
| Sham | 3,66 ± 0,05 | 3,66 ± 0,05 | 3,66 ± 0,05 | 3,66 ± 0,05 |
| 2. Derece Yanık | 3,66 ± 0,05 | 3,70 ± 0,07 | 3,66 ± 0,05 | 3,66 ± 0,05 |
| 3. Derece Yanık | 3,66 ± 0,05 | 3,76 ± 0,05 | 3,76 ± 0,05 | 3,66 ± 0,05 |

Tablo-8 Diz çevre ölçüm değer ortalamaları ve standart sapma değerleri



Şekil-3 Diz çevre ölçüm bulguları

Uyluk ortası çevre ölçümlerinde Kontrol ve Sham grubu arasında herhangi bir anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0.05$). 2. derece yanık grubunda, 2. haftada Sham grubuna göre ileri derecede anlamlı artış mevcuttu ($p < 0.001$). Anlamlı fark olmamasına rağmen 2. derece yanık grubunda, Sham grubuna göre 6. hafta ölçümlerinde yükseklik gözlemlendi. 3. derece yanık grubunda, Sham grubuna göre 2. ve 6. haftalarda ileri derecede anlamlı artış mevcutken ($p < 0.001$), 16. haftada anlamlı artış saptandı ($p < 0.05$). Yine 3. derece yanık grubunda, 2. derece yanık grubuna göre 2. haftada anlamlı olmayan bir artış mevcutken ($p > 0.05$), 6 ve 16. haftalarda anlamlı yükselme kaydedildi ($p < 0.05$). 2. derece yanık grubu içerisindeki ölçümler karşılaştırıldığında 0. ile 2. hafta arasında ileri derecede anlamlı artış ($p < 0.001$), 2. ile

6. hafta arasında ileri derecede anlamlı azalma ($p < 0.001$), 6. ile 16. haftalar arasında anlamlı olmayan azalma saptandı ($p > 0.05$). 3. derece yanık grubundaki ölçüm verileri karşılaştırıldığında ise 0. ile 2. hafta arasında ileri derecede anlamlı artış ($p < 0.001$), 2. ile 6. hafta ve 6. ile 16. hafta ölçüm verileri arasında ise anlamlı olmayan azalma ($p > 0.05$) izlendi. 2. derece yanık grubunda 16. hafta ölçümleri, 0. hafta ile kıyaslandığında anlamlı fark yokken, 3. derece yanık grubunda 16. hafta ölçümleri, 0 haftaya göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). (Tablo-9)

| Gruplar | 0.Hafta | 2. Hafta | 6. Hafta | 16. Hafta |
|------------------------|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| Kontrol | 5,84 ± 0,05 | 5,84 ± 0,05 | 5,84 ± 0,05 | 5,84 ± 0,05 |
| Sham | 5,86 ± 0,05 | 5,86 ± 0,05 | 5,86 ± 0,05 | 5,86 ± 0,05 |
| 2. Derece Yanık | 5,86 ± 0,05 | 6,16 ± 0,05^{a,d} | 5,96 ± 0,05^d | 5,86 ± 0,05 |
| 3. Derece Yanık | 5,86 ± 0,05 | 6,24 ± 0,08^{b,e} | 6,14 ± 0,08^{b,f} | 6,04 ± 0,08^{c,f,g} |

Tablo-9 Uyluk ortası çevre ölçüm değer ortalamaları ve standart sapma değerleri

a $p < 0,001$; 2. Derece Yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

b $p < 0,001$; 3. Derece Yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

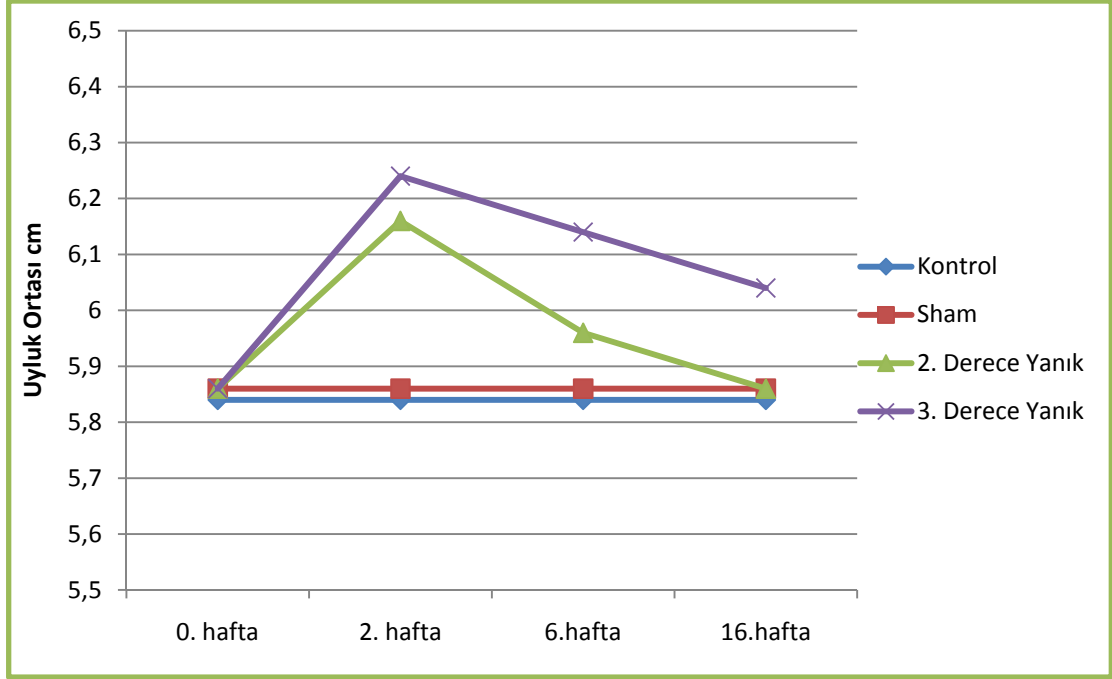
c $p < 0,05$; 3. Derece Yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

d $p < 0,001$; 2. Derece Yanık grubu içerisindeki ölçümler bir önceki ölçüm haftası ile kıyaslandığında

e $p < 0,001$; 3. Derece Yanık grubu içerisindeki ölçümler bir önceki ölçüm haftası ile kıyaslandığında

f $p < 0,05$; 3. Derece Yanık grubu, 2. Derece Yanık grubu ile kıyaslandığında

g $p < 0,05$; 3. Derece yanık grubu içerisinde 16. hafta değerleri, 0. hafta ile kıyaslandığında



Şekil-2 Uyluk ortası çevre ölçüm bulguları

Uyluk proksimali çevre ölçümlerinde Kontrol ve Sham grubu arasında herhangi bir anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0.05$). 2. derece yanık grubunda, Sham grubuna göre 2. haftada ileri derecede anlamlı ($p < 0.001$), 6. haftada ise anlamlı artış ($p < 0.05$) saptandı. 16. haftada ise aynı iki grup arasında anlamlı olmayan minimal bir fark mevcuttu. 3. derece yanık grubunda, hem Sham hem de 2. derece yanık grubuna kıyasla 2. ,6. ve 16. haftalarda anlamlı artış saptandı. 2. derece yanık grubu içerisindeki ölçümler karşılaştırıldığında 0. ile 2. hafta arasında ileri derecede anlamlı artış ($p < 0,001$), 2. ile 6. hafta arasında ileri derecede anlamlı azalma ($p < 0,001$), 6. ile 16. haftalar arasında anlamlı olmayan azalma saptandı ($p < 0,05$). 3. derece yanık grubundaki ölçüm verileri karşılaştırıldığında ise 0. ile 2. hafta arasında ileri derecede anlamlı artış ($p < 0,001$), 2. ile 6.hafta ve 6. ile 16. hafta ölçüm verileri arasında ise anlamlı derecede azalma ($p < 0,001$) izlendi. 2. derece yanık grubunda 16. hafta ölçümleri, 0. hafta ile kıyaslandığında anlamlı fark yokken, 3. derece yanık grubunda 16. hafta ölçümleri, 0 haftaya göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$) (Tablo-10)

| Gruplar | 0.Hafta | 2. Hafta | 6. Hafta | 16. Hafta |
|-----------------|-------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| Kontrol | 7,24 ± 0,05 | 7,24 ± 0,05 | 7,24 ± 0,05 | 7,24 ± 0,05 |
| Sham | 7,26 ± 0,05 | 7,26 ± 0,05 | 7,26 ± 0,05 | 7,26 ± 0,05 |
| 2. Derece Yanık | 7,26 ± 0,05 | 7,66 ± 0,05 ^{a,c} | 7,38 ± 0,04 ^{b,c} | 7,28 ± 0,04 |
| 3. Derece Yanık | 7,26 ± 0,05 | 7,88 ± 0,04 ^{d,e,f} | 7,68 ± 0,04 ^{d,e,f} | 7,48 ± 0,04 ^{d,e,f,g} |

Tablo-10 Uyluk proksimali çevre ölçüm değer ortalamaları ve standart sapma değerleri

a p< 0,001; 2. Derece Yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

b p< 0,05; 2. Derece Yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

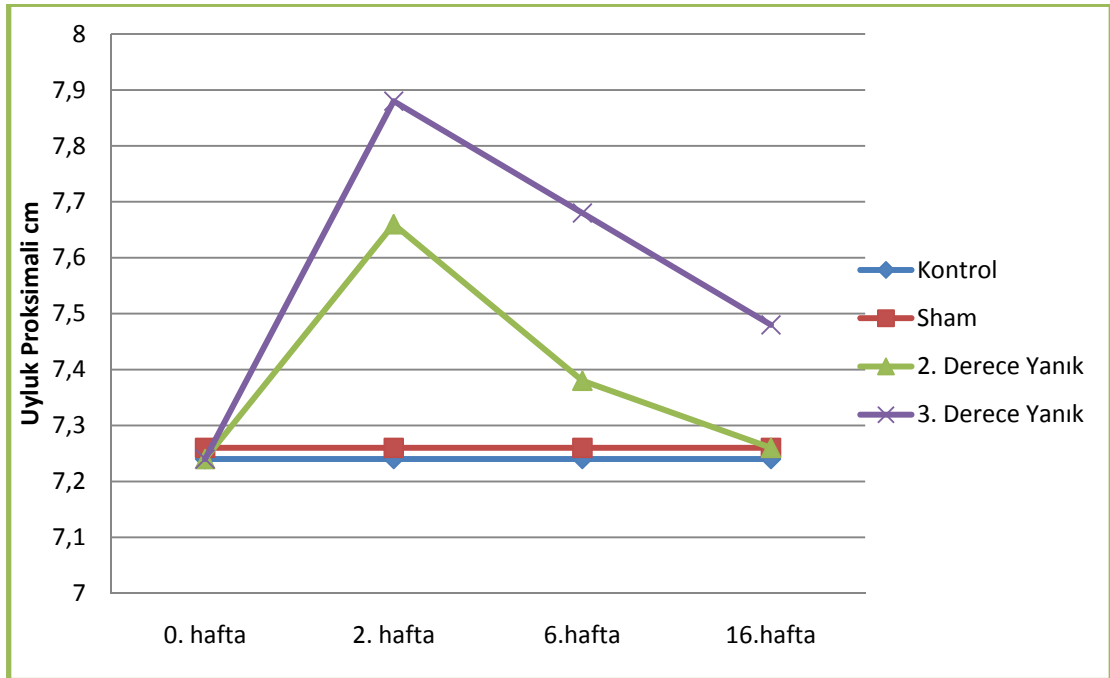
c p< 0,001; 2. Derece Yanık grubu içerisindeki ölçümler bir önceki ölçüm haftası ile kıyaslandığında

d p< 0,001; 3. Derece Yanık grubu içerisindeki ölçümler bir önceki ölçüm haftası ile kıyaslandığında

e p< 0,001; 3. Derece Yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

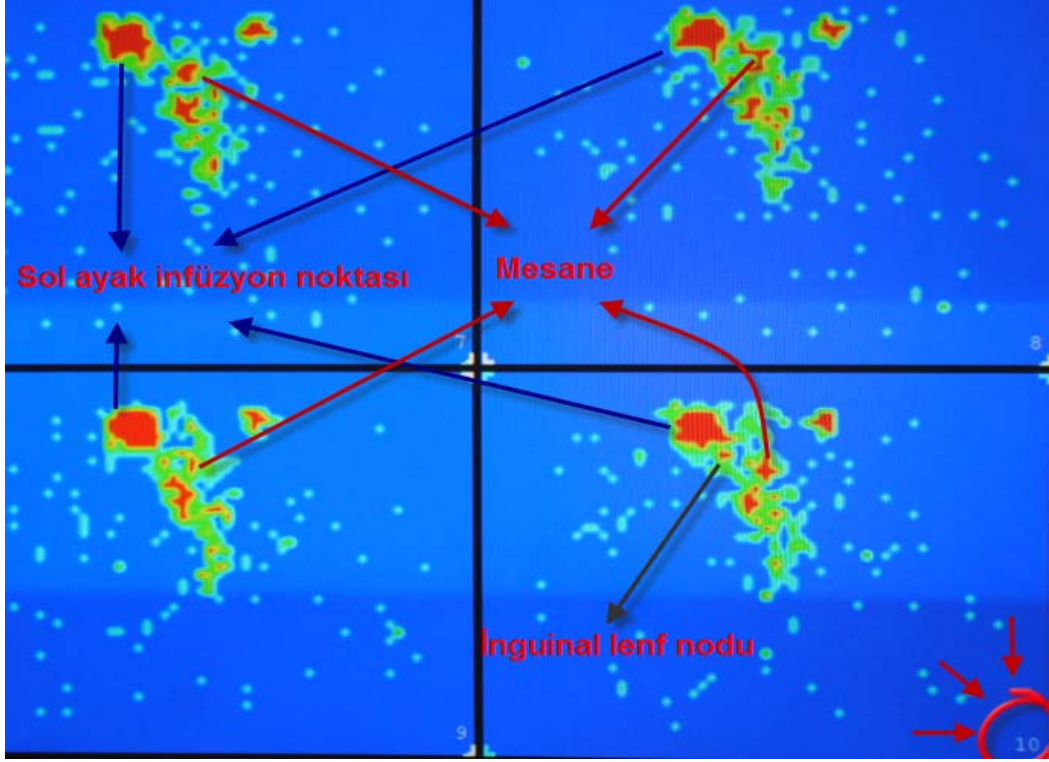
f p< 0,001; 3. Derece Yanık grubu, 2. Derece Yanık grubu ile kıyaslandığında

g p<0,001; 3. Derece yanık grubu içerisinde 16. Hafta değerleri, 0. Hafta ile kıyaslandığında.

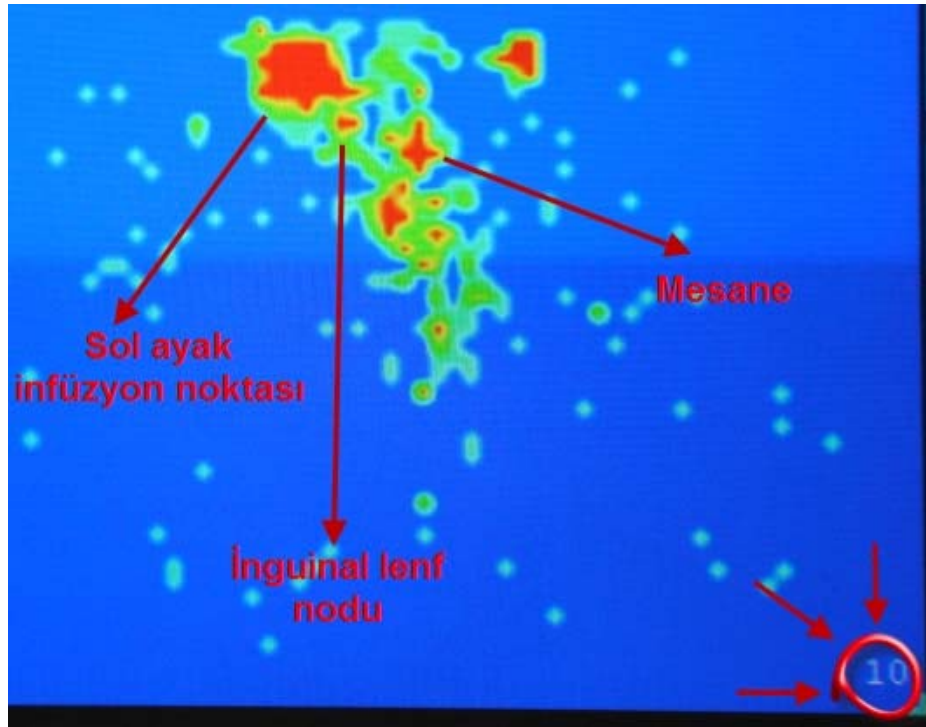


Şekil-3 Uyluk proksimali çevre ölçüm bulguları

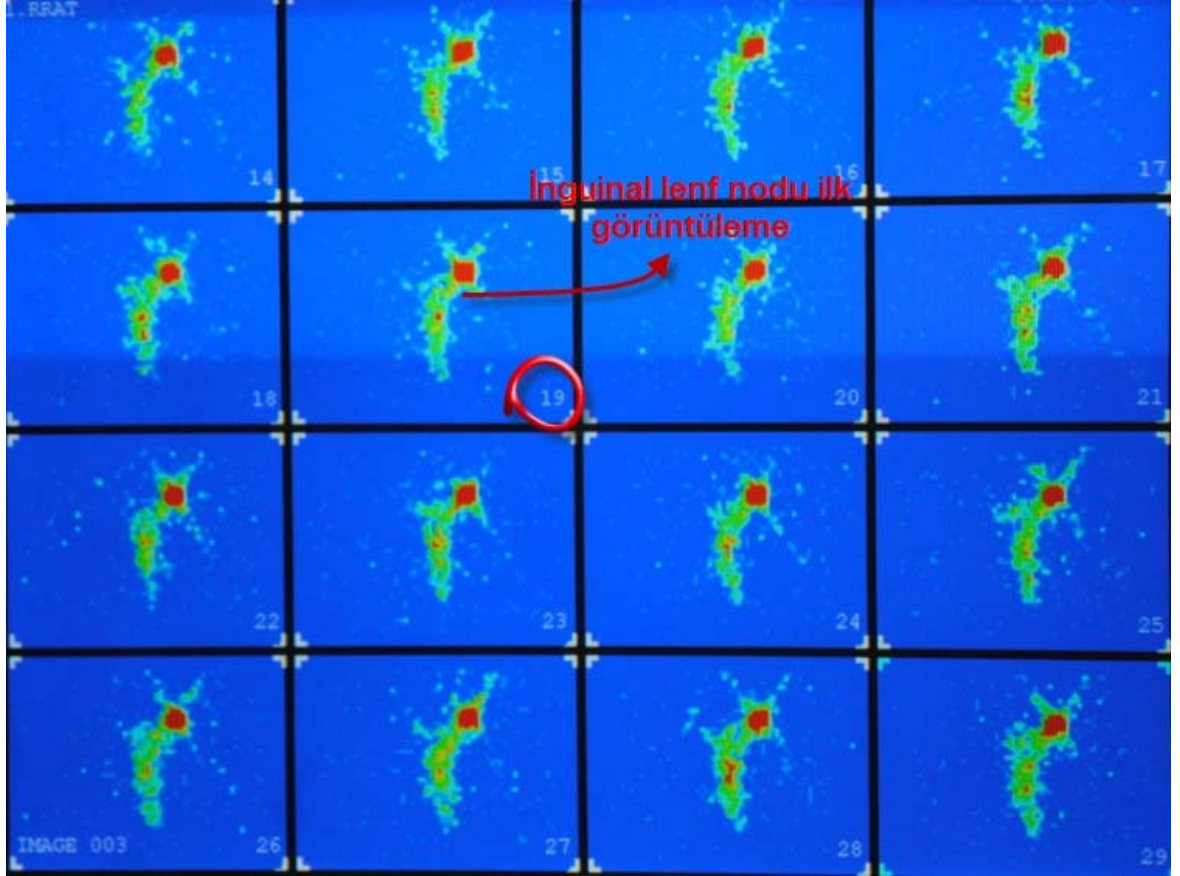
3. Lenfosintigrafi Bulguları



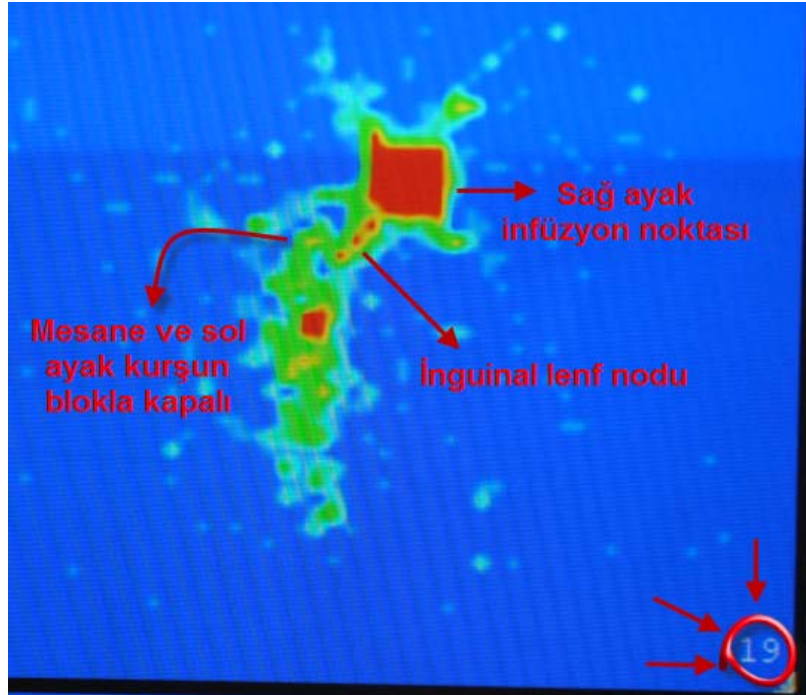
Resim- 26 Kontrol grubu, 0. hafta lenfosintigrafi değerlendirilmesi. İnguinal lenf nodu en belirgin şekilde 10. saniyede izlenmekte



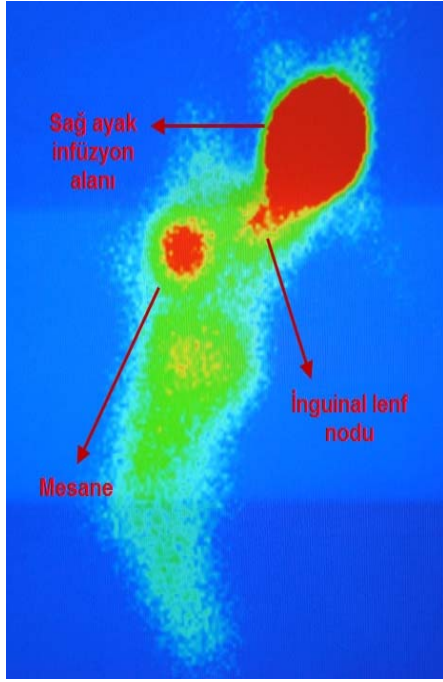
Resim- 27 Kontrol grubu, 0. hafta lenfosintigrafi değerlendirilmesi. İnguinal lenf nodu en belirgin şekilde 10. saniyede izlenmekte



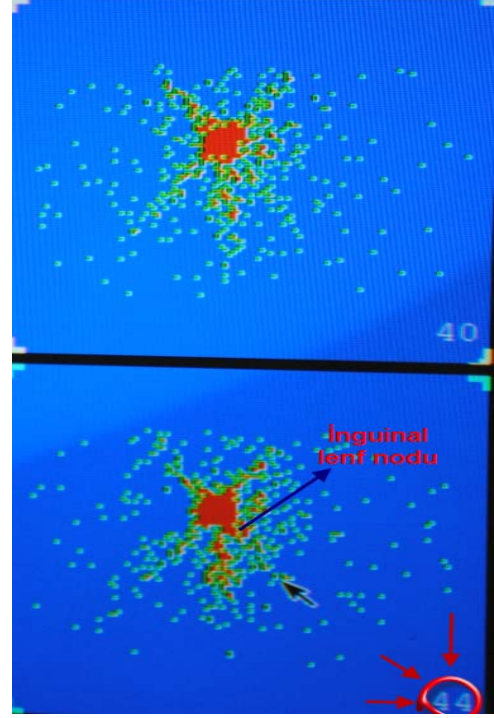
Resim- 28 Sham grubu 0. hafta lenfosintigrafi değerlendirilmesi. İnguinal lenf nodu en belirgin şekilde 19. saniyede görülmekte



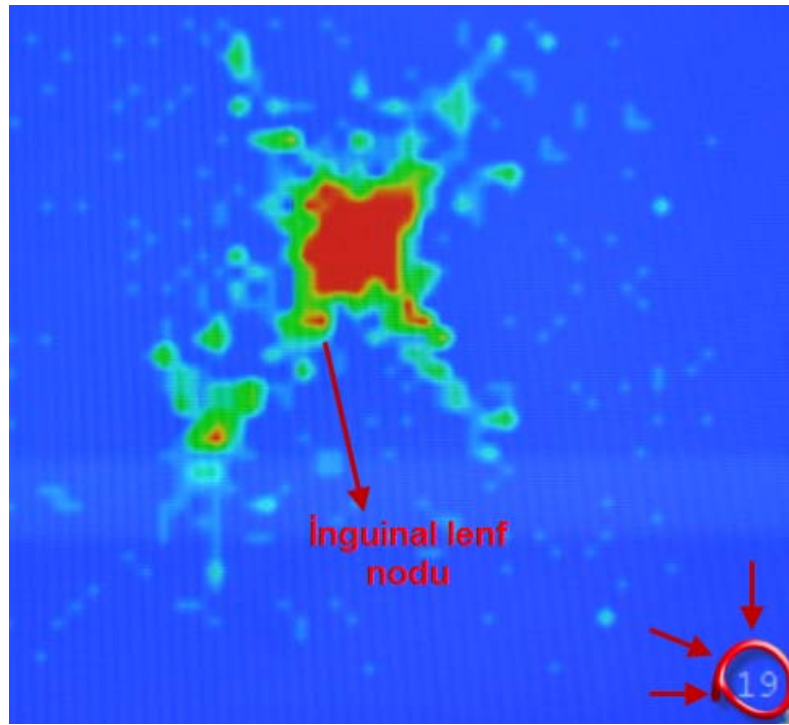
Resim- 29 Sham grubu 0. hafta lenfosintigrafi değerlendirilmesi. İnguinal lenf nodu en belirgin şekilde 19. saniyede görülmekte



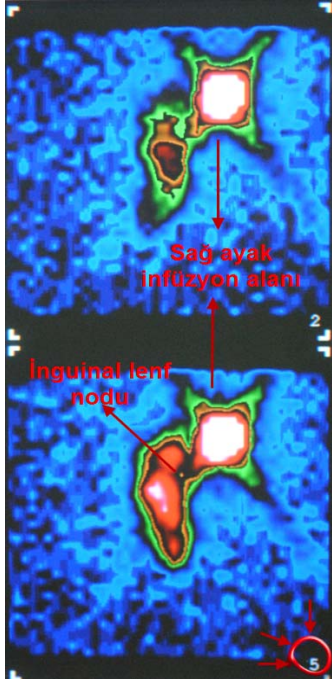
Resim- 30 2. Derece Yanık grubu, 2. hafta lenfosintigrafi değerlendirme. İnguinal lenf nodu en belirgin 554. saniyede görülmekte



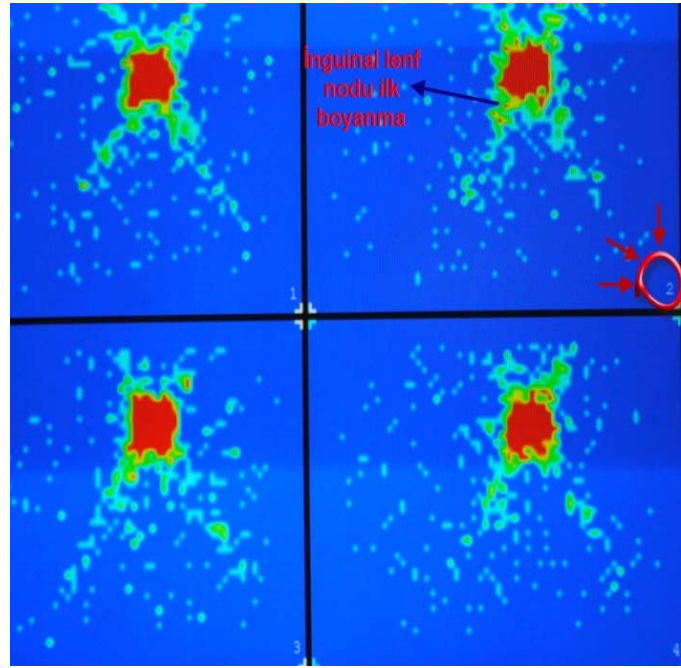
Resim- 31 2. Derece Yanık grubu, 6. hafta lenfosintigrafi değerlendirme. İnguinal lenf nodu en belirgin 44. Saniyede görülmekte.



Resim- 32 2. Derece Yanık grubu, 16. hafta lenfosintigrafi değerlendirme. İnguinal lenf nodu en belirgin 19. saniyede görüntüledi.



Resim- 33 3. Derece Yanık grubu, 6. hafta lenfosintigrafisi değerlendirilmesi. İnguinal lenf nodu en belirgin 1118. saniyede görüntüledi.



Resim- 34 3. Derece Yanık grubu, 16. Hafta lenfosintigrafisi değerlendirilmesi. İnguinal lenf nodu en belirgin 72. saniyede görüntüledi.

| Haftalar / Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|--------------------|---------------|----|---|---|---|------------|----|----|----|----|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|------|-----|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0.hafta | 1 | 10 | 6 | 3 | 5 | 19 | 25 | 22 | 30 | 28 | 938 | 860 | 912 | 946 | 998 | -- | -- | -- | -- | -- |
| 2.hafta | 2 | 8 | 6 | 4 | 4 | 17 | 20 | 20 | 21 | 21 | 662 | 554 | 626 | 688 | 712 | 1160 | 1118 | 920 | 1226 | 1198 |
| 6.hafta | 2 | 7 | 5 | 4 | 5 | 12 | 14 | 11 | 13 | 14 | 44 | 40 | 42 | 40 | 46 | 306 | 362 | 348 | 312 | 358 |
| 16.hafta | 1 | 9 | 6 | 3 | 4 | 5 | 8 | 6 | 5 | 6 | 19 | 27 | 23 | 21 | 30 | 72 | 52 | 46 | 56 | 64 |

Tablo-11 Lenfosintigrafisi Bulguları

Lenfosintigrafi ile interdigital alandan enjekte edilen radyofarmasötüğün, inguinal lenf nodlarına ulaşma süreleri kaydedildi. Sham grubu, Kontrol grubu ile kıyaslandığında, 0. , 2. ve 6. haftalarda geçiş sürelerinde anlamlı artış saptandı ($p < 0,05$). Sham grubu içerisindeki ölçümler kıyaslandığında tüm değerlerde haftalar ilerledikçe anlamlı azalma izlendi ($p < 0.05$). 2. derece yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında 0., 2. ve 6. haftadaki değerlerin ileri derecede anlamlı olarak artmış olduğu tesbit edildi ($p < 0,001$). 3. derece yanık grubunda 0. haftada 60 dakikalık lenfosintigrafi süresi boyunca inguinal lenf nodlarına geçiş izlenmedi. 3. derece yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında, 2. ,6. ve 16. haftalarda sürelerin ileri derecede anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$). 2. derece yanık grubu kendi içerisinde değerlendirildiğinde haftalar ilerledikçe, sürelerin ileri derecede anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü ($p < 0.001$). 3. derece yanık grubu kendi içerisinde değerlendirildiğinde haftalar ilerledikçe, sürelerin ileri derecede anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü ($p < 0.001$). 3. derece yanık grubu, 2. derece yanık grubu ile karşılaştırıldığında, 0. hafta hariç tüm haftalarda sürelerin ileri derecede anlamlı olarak artmış olduğu izlendi ($p < 0.001$). 2. derece yanık grubunun 16. hafta süreleri, Sham grubunun 0. hafta süreleri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0.05$). 3. derece yanık grubunun 16. hafta süreleri, Sham grubunun 0. hafta süreleri ile karşılaştırıldığında anlamlı artış görüldü ($p < 0.05$) (Tablo- 12)

| Gruplar | 0.Hafta | 2. Hafta | 6. Hafta | 16. Hafta |
|-----------------|--------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|
| Kontrol | 5 ± 3.9^a | 4.8 ± 2.2^a | 4.6 ± 1.8^a | 4.6 ± 3 |
| Sham | 24.8 ± 4.4^d | $19.8 \pm 1.6^{d,e,g}$ | $12.8 \pm 1.3^{d,e,g}$ | $6 \pm 1,2^{e,g}$ |
| 2. Derece Yanık | 930.8 ± 50.4^b | 648.4 ± 61.6^b | 42.4 ± 2.6^b | $24.2 \pm 4,2^b$ |
| 3. Derece Yanık | _____ | $1124.4 \pm 121.2^{c,f}$ | $337.2 \pm 26.3^{c,f}$ | $58 \pm 10,1^{c,f,h}$ |

Tablo 12 Lenfosintigrafi süre ortalamaları ve standart sapma değerleri

a $p < 0.05$; Kontrol ve Sham grubu kıyaslandığında

b $p < 0.001$; 2. Derece Yanık grubunda tüm haftalar kıyaslandığında

c $p < 0.001$; 3. Derece Yanık grubunda tüm haftalar kıyaslandığında

d $p < 0.001$; Sham ve 2. Derece Yanık grupları kıyaslandığında

e $p < 0.001$; Sham ve 3. Derece Yanık grupları kıyaslandığında

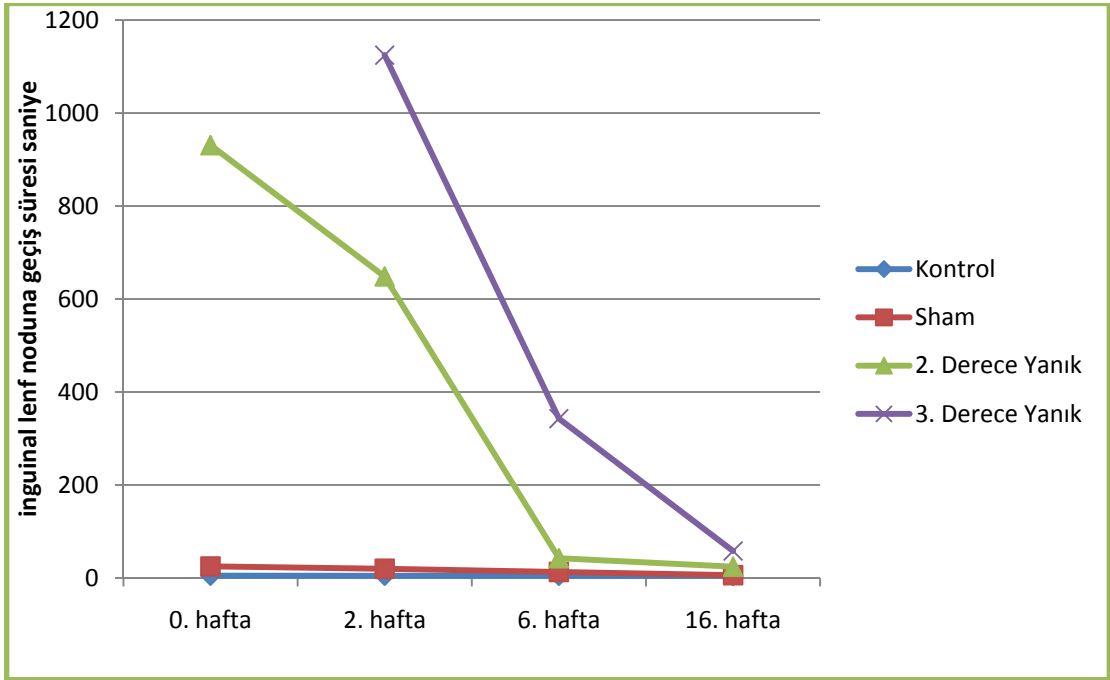
f $p < 0.001$; 2. Derece ve 3. Derece Yanık grupları kıyaslandığında

g $p < 0.05$; Sham grubu içerisindeki ölçümler bir önceki ölçüm haftası ile kıyaslandığında

h $p < 0.05$; 3. Derece yanık grubunun 16. hafta ölçümleri, Sham grubunun 0. hafta ölçümleri ile kıyaslandığında

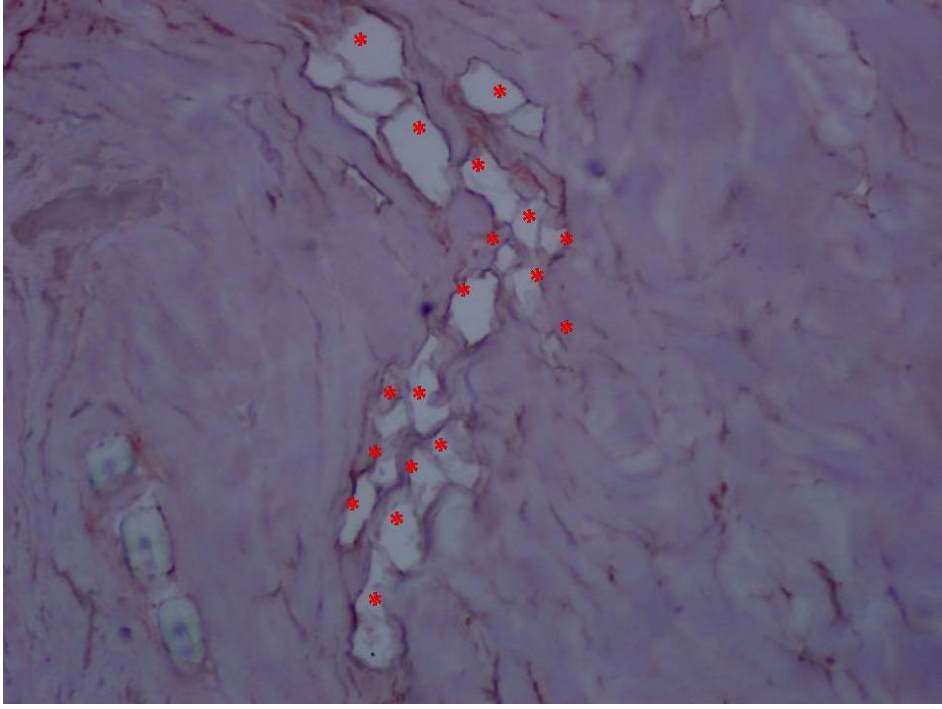


Şekil-4 Yanık-Lenfositografi Model Bulguları



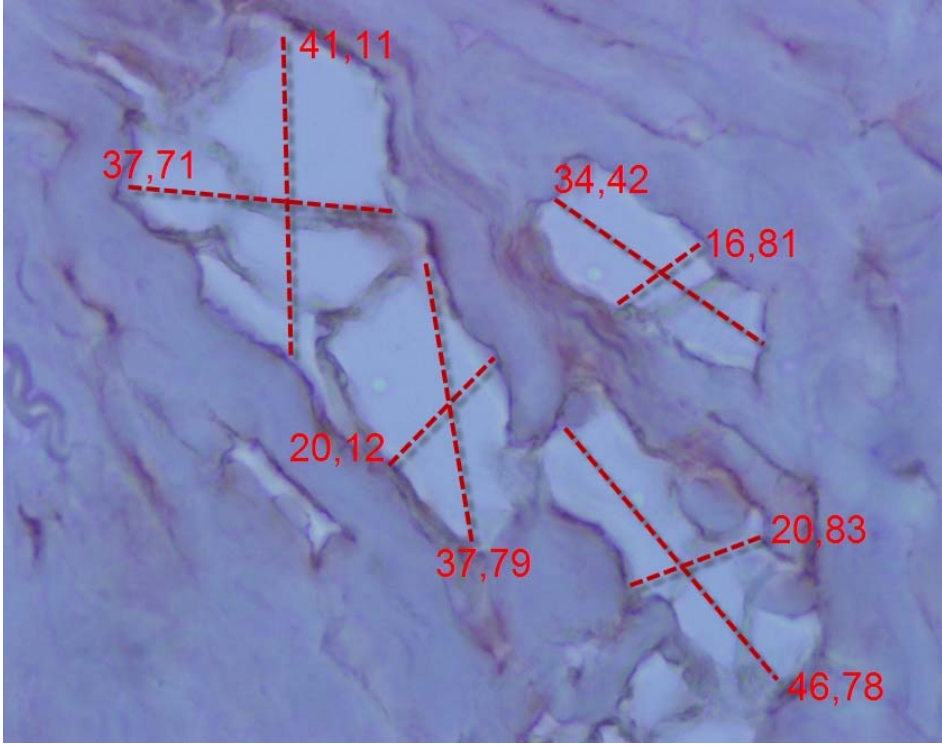
Şekil-5 Lenfosintigrafi Bulguları

4. Histoloji Bulguları

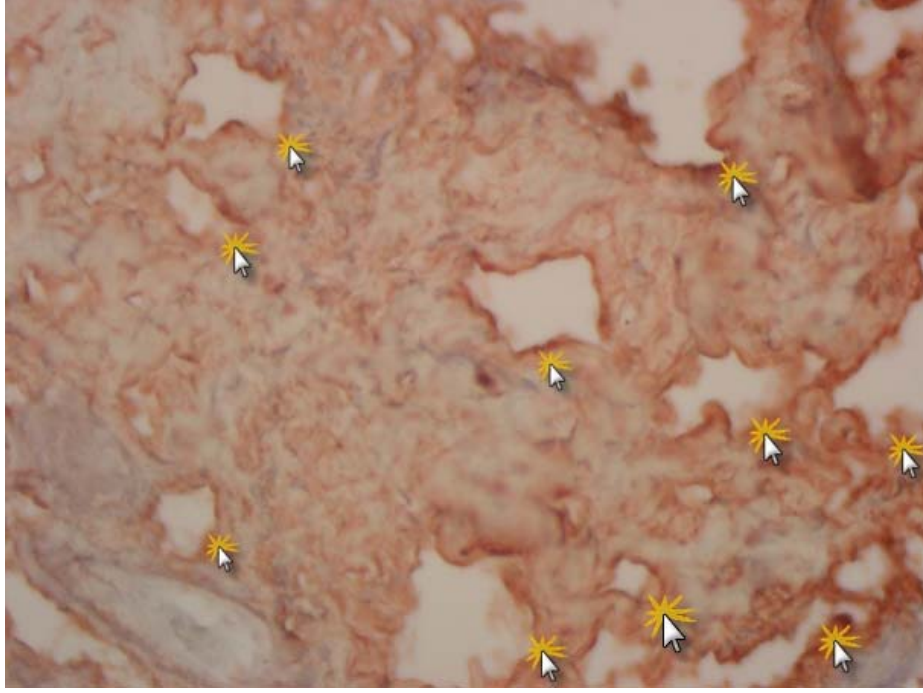


Resim-35 Kontrol grubu 0. Hafta, x 40 büyütme

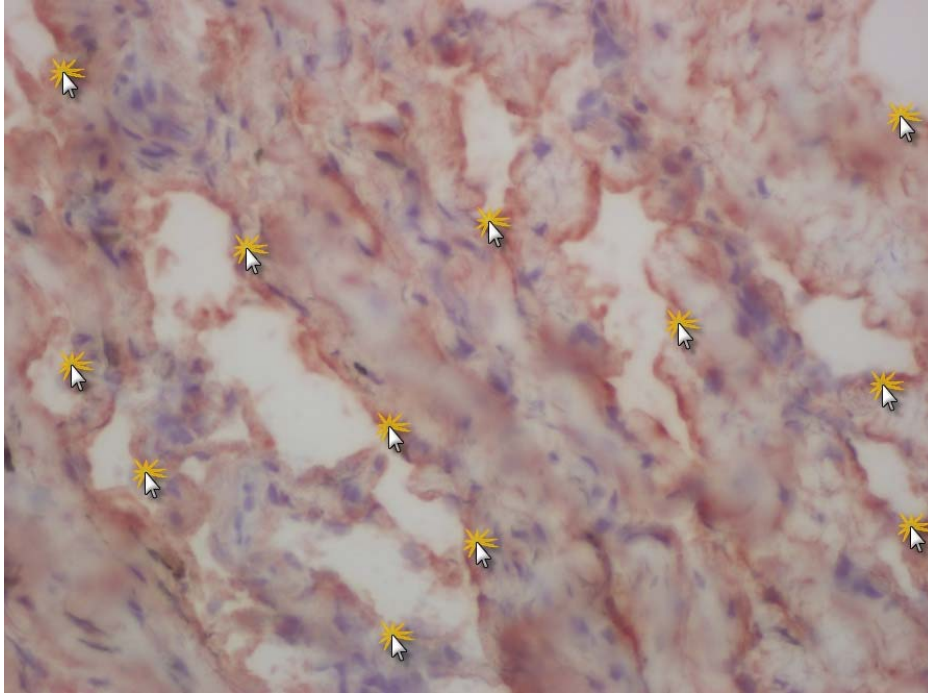
*lenfatik kapillerler



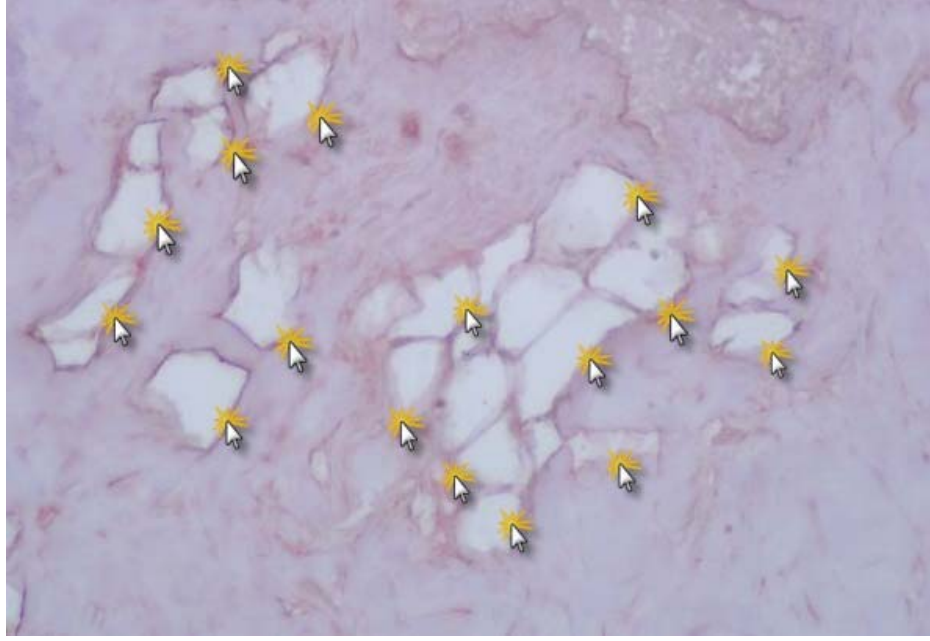
Resim- 36 Kontrol grubu, 0. hafta, x 100 büyütme. Lenfatik kapiller ortalama alanlarının saptanması amacıyla yapılan çap ölçümleri. (Birim: μm)



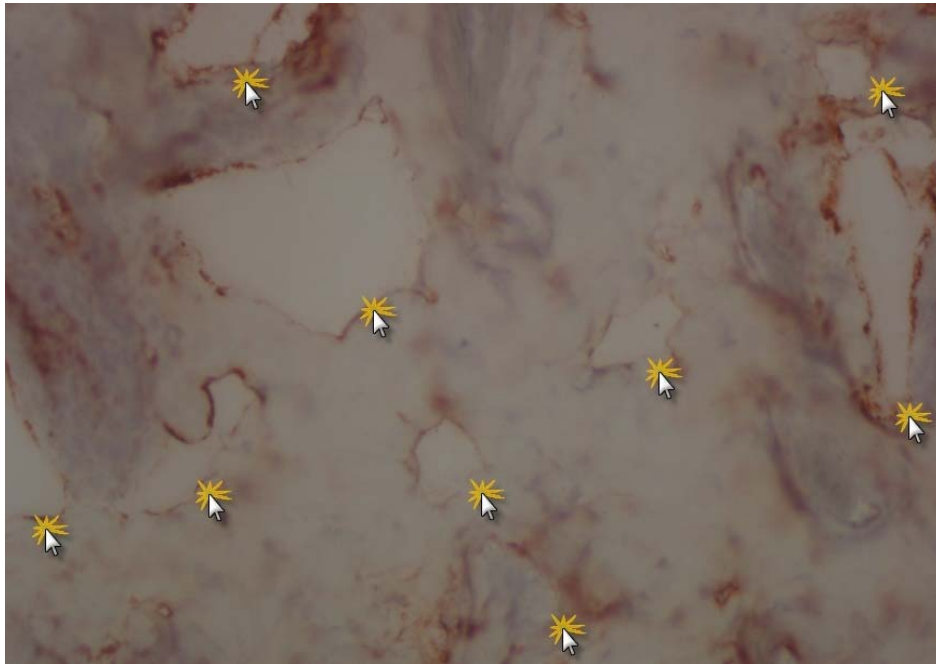
Resim- 37 2. Derece Yanık grubu, 2. hafta, x 100 büyütme. Işıklı oklar lenfatik kapillerleri göstermekte



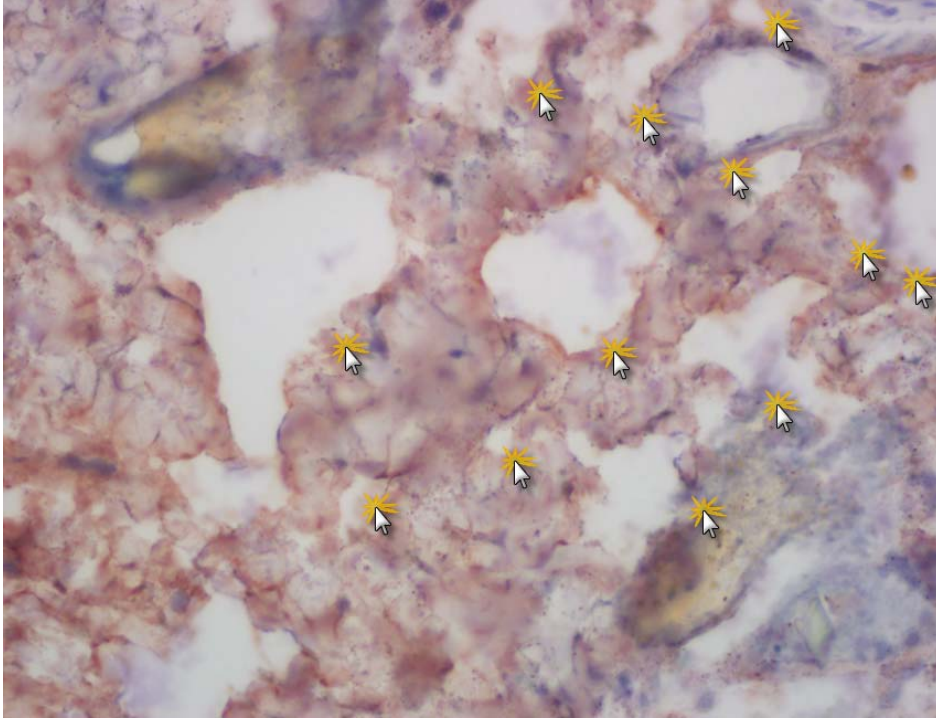
Resim- 38 2. Derece Yanık grubu, 6. hafta, x 40 büyütme. Işıklı oklar lenfatik kapillerleri göstermekte.



Resim- 39 2. Derece Yanık grubu, 16. hafta, x40 büyütme. Işıklı oklar lenfatik kapillerleri göstermekte.



Resim- 40 3. Derece yanık grubu, 6. hafta, x 40 büyütme. Işıklı oklar lenfatik kapillerleri göstermekte.



Resim- 41 3. Derece Yanık grubu, 16. hafta, x40 büyütme. Işıklı oklar lenfatik kapillerleri göstermekte.

| Haftalar / Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|--------------------|---------------|------|------|----|------|------------|------|------|------|------|-----------------------|------|-----|-----|------|-----------------------|------|-----|------|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0.hafta | 18,3 | 18 | 18,6 | 19 | 18 | 18 | 18 | 17,6 | 19 | 18,6 | 6 | 6,6 | 6 | 6,3 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2.hafta | 18 | 18 | 17,6 | 19 | 18,6 | 18,6 | 18,6 | 18,3 | 19 | 17,6 | 9 | 8 | 8,3 | 8 | 8,3 | 5,3 | 5 | 5,3 | 5,6 | 5 |
| 6.hafta | 17,6 | 18 | 18,3 | 18 | 18 | 17,6 | 17,6 | 18,3 | 18,3 | 18 | 13 | 13,3 | 14 | 14 | 14 | 10 | 9,6 | 11 | 10,3 | 11 |
| 16.hafta | 18,6 | 18,3 | 18,6 | 18 | 18 | 19 | 18,6 | 17,6 | 18 | 18 | 18,6 | 17,3 | 17 | 17 | 17,6 | 13 | 12,6 | 13 | 12,6 | 13 |

Tablo-13 İmmünohistolojik incelemede saptanan birim alandaki lenfatik kapiller sayısı

İmmünohistolojik inceleme ile birim alandaki lenfatik kapiller sayısı ve ortalama lenfatik kapiller alanları saptandı.

Lenfatik kapiller sayısı açısından, Kontrol ve Sham grubu arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 2. derece yanık grubu, Sham grubu ile karşılaştırıldığında lenfatik kapiller sayılarının 0. , 2. ve 6. haftalarda ileri derecede anlamlı azalma olduğu saptandı ($p < 0.001$). 3. derece yanık grubu, Sham grubu ile karşılaştırıldığında tüm haftalarda ileri derecede anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0.001$). 2. ve 3. derece yanık gruplarında tüm haftalardaki ölçümler, grup içerisinde birbirleri ile kıyaslandığında, haftalar ilerledikçe lenfatik kapiller sayısında ileri derecede anlamlı artış saptandı ($p < 0.001$). 2. derece yanık grubu, 3. derece yanık grubu ile kıyaslandığında, tüm haftalarda ileri derecede anlamlı yükseklik kaydedildi ($p < 0.001$). 2. derece yanık grubunda 16. hafta ölçümleri, Sham grubunun 0. hafta ölçümleri ile kıyaslandığında anlamlı farklılık yokken, 3. derece yanık grubu, Sham grubu ile aynı haftalarda karşılaştırıldığında ileri derecede anlamlı düşüş olduğu saptandı ($p < 0.001$).

| Gruplar | 0.Hafta | 2. Hafta | 6. Hafta | 16. Hafta |
|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Kontrol | 18,3 ± 0,4 | 18,2 ± 0,5 | 17,9 ± 0,2 | 18,3 ± 0,3 |
| Sham | 18,2 ± 0,5^a | 18,4 ± 0,5^a | 17,9 ± 0,3^a | 18,2 ± 0,5^a |
| 2. Derece Yanık | 6,1 ± 0,2^b | 8,3 ± 0,4^b | 13,6 ± 0,4^b | 17,5 ± 0,5 |
| 3. Derece Yanık | 0 ± 0^{c,d} | 5,2 ± 0,2^{c,d} | 10,3 ± 0,6^{c,d} | 12,8 ± 0,2^{c,d,e} |

Tablo- 14 Birim alana düşen lenfatik kapiller sayısı ve standart sapma değerleri

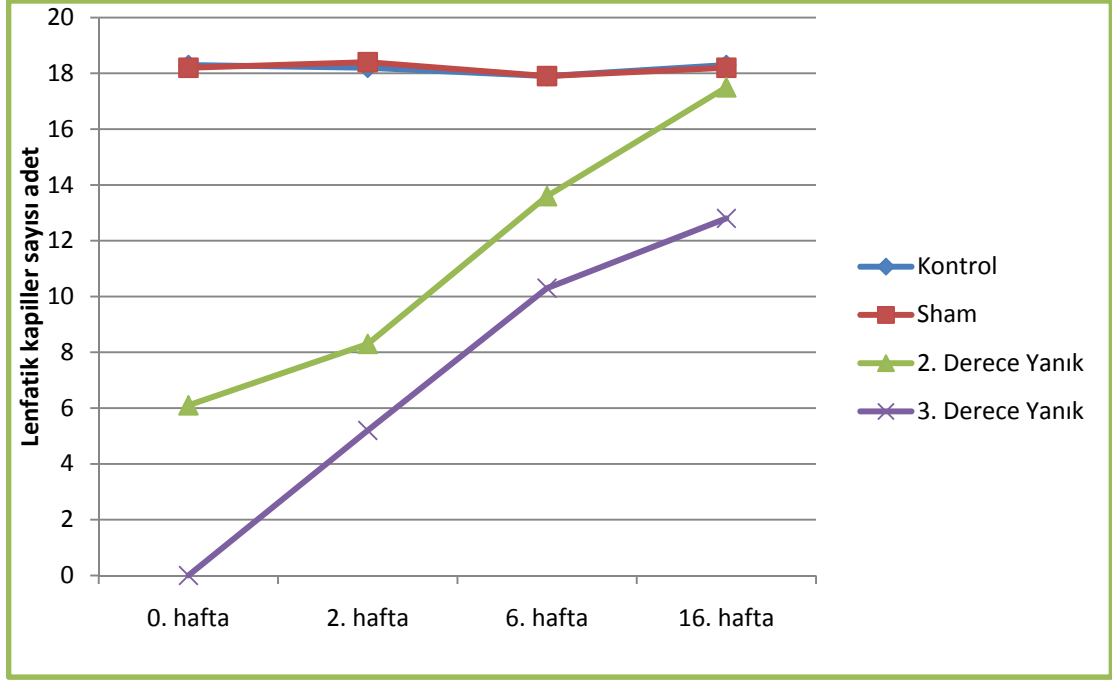
a $p < 0.001$; Sham grubu, 2. ve 3. Derece Yanık gruplarıyla kıyaslandığında

b $p < 0.001$; 2. Derece Yanık grubundaki tüm haftalar kıyaslandığında

c $p < 0.001$; 3. Derece Yanık grubunda tüm haftalar kıyaslandığında

d $p < 0.001$; 2. Derece yanık grubu, 3. Derece yanık grubu ile kıyaslandığında

e $p < 0.001$; 3. Derece Yanık grubunda 16. hafta ölçümleri, Sham grubunun 0. Hafta ölçümleri ile kıyaslandığında



Şekil-6 Tüm gruplarda, inceleme haftalarında izlenen lenfatik kapiller sayısı değişiklikleri

| Haftalar / Gruplar | Kontrol Grubu | | | | | Sham Grubu | | | | | 2. Derece Yanık Grubu | | | | | 3. Derece Yanık Grubu | | | | |
|--------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----|-----------------------|------|------|------|------|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0.hafta | 695 | 683 | 674 | 671 | 675 | 711 | 671 | 720 | 713 | 697 | 712 | 714 | 719 | 713 | 703 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2.hafta | 692 | 662 | 697 | 671 | 668 | 705 | 698 | 703 | 701 | 698 | 1501 | 1496 | 1471 | 1467 | 1444 | 698 | 692 | 694 | 687 | 698 |
| 6.hafta | 668 | 674 | 670 | 693 | 702 | 697 | 697 | 700 | 696 | 693 | 870 | 864 | 873 | 868 | 865 | 700 | 714 | 722 | 699 | 718 |
| 16.hafta | 688 | 681 | 674 | 693 | 675 | 674 | 690 | 681 | 673 | 672 | 690 | 695 | 686 | 700 | 692 | 727 | 731 | 734 | 731 | 736 |

Tablo-15 İmmünohistolojik incelemede saptanan birim alandaki lenfatik kapiller genişliği (μm^2)

Lenfatik kapiller alanları açısından inceleme yapıldığında, Sham grubu ölçümlerinin Kontrol grubuna göre, 0. ,2. ve 6. haftalarda anlamlı derecede artmış olduğu izlendi ($p < 0.05$). Sham grubundaki ölçümler kendi içerisinde değerlendirildiğinde, bir önceki hafta ölçümlerine göre azalma trendi gösterdiği ancak bunun anlamlı olmadığı saptandı ($p > 0.05$). 2. derece yanık grubu içerisinde tüm haftalar kıyaslandığında, ölçümlerde ileri derecede anlamlı farklılıklar saptandı ($p < 0.001$). 2. derece yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında 2. ve 6. haftalarda, alanlarda ileri derecede anlamlı artış saptandı ($p < 0.001$). 3. derece yanık grubunda 0. haftada lenfatik kapiller izlenemediği için, lenfatik kapiller alanları $0 \mu\text{m}^2$ olarak kabul edildi. 3. derece yanık grubu içerisinde tüm haftalar kıyaslandığında diğer haftaların, 0. haftaya göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu ($p < 0.001$). 3. derece yanık grubunda 2. ile 6. hafta ve 6. ile 16. haftalar arasında anlamlı artış olduğu saptandı ($p < 0.05$). 3. derece yanık grubu Sham grubu ile kıyaslandığında 6. haftada anlamlı, 16. haftada ise ileri derecede anlamlı artış olduğu saptandı. 2. derece yanık grubu, 3. derece yanık grubu ile karşılaştırıldığında tüm haftalarda ileri derecede anlamlı farklılıklar saptandı ($p < 0.001$).

| Gruplar | 0.Hafta | 2. Hafta | 6. Hafta | 16. Hafta |
|-----------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Kontrol | 679.6 ± 9.6 ^a | 678 ± 15.5 ^a | 681.4 ± 15 ^a | 682.2 ± 8.2 |
| Sham | 702.4 ± 19.4 | 701 ± 3 | 696.6 ± 2.5 | 678 ± 7.5 |
| 2. Derece Yanık | 712 ± 6.6 ^{b,e} | 1475 ± 23.2 ^{b,e,f} | 868 ± 3.6 ^{b,e,f} | 692.6 ± 5.2 ^{b,e} |
| 3. Derece Yanık | 0 ± 0 ^c | 693 ± 4.6 ^d | 710 ± 10.5 ^g | 731.8 ± 3.4 ^{d,h} |

Tablo- 16 Birim alandaki lenfatik kapiller alan ortalamaları ve standart sapma değerleri

a $p < 0,05$; Kontrol ve Sham grupları kıyaslandığında

b $p < 0,001$; 2. Derece Yanık gruplarındaki tüm haftalar kıyaslandığında

c $p < 0,001$; 3. Derece Yanık grubunda 0. hafta, diğer haftalarla kıyaslandığında

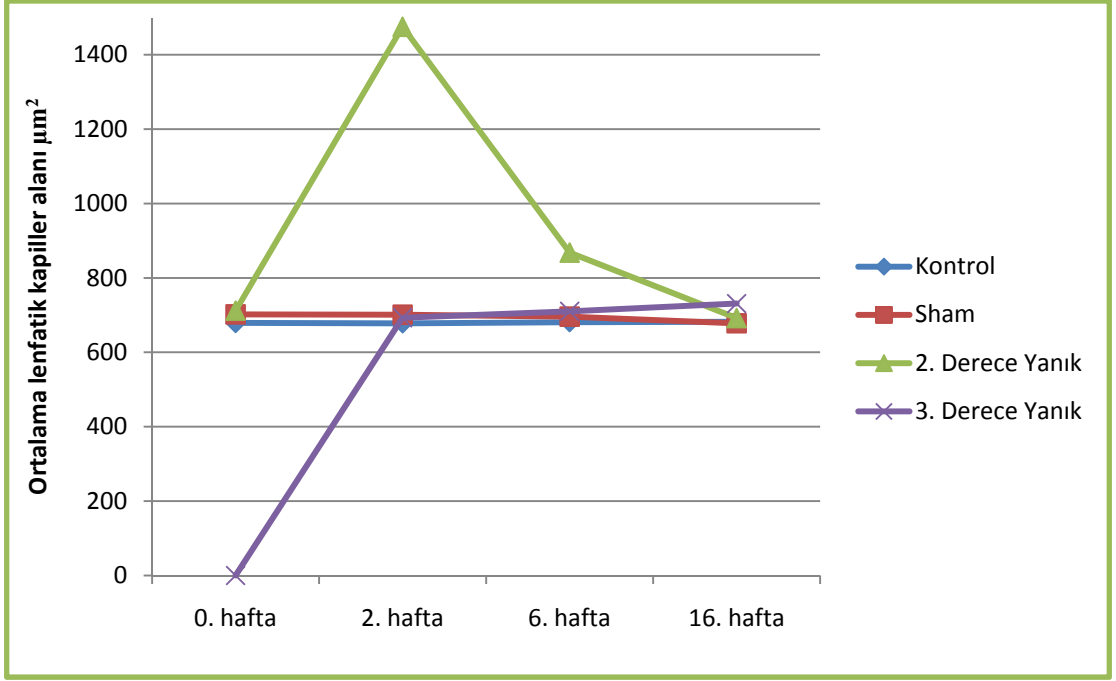
d $p < 0,001$; 3. Derece Yanık grubunda 2. hafta, 16. hafta ile kıyaslandığında

e $p < 0,001$; 2. Derece Yanık grubu, 3. Derece Yanık grubuyla kıyaslandığında

f $p < 0,001$; 2. Derece yanık grubu, Sham grubu ile kıyaslandığında

g $p < 0,05$; 3. Derece yanık grubu Sham grubu ile kıyaslandığında

h $p < 0,001$; 3. Derece yanık grubu Sham grubu ile kıyaslandığında



Şekil-7 Tüm gruplarda, inceleme haftalarında inzlenen lenfatik kapiller genişliği değişiklikleri

IV. TARTIŞMA

Yanık, boyutu her ne olursa olsun insanın hayatında karşılaştığı en sık travmalardan biridir. Travmanın ciddiyeti arttıkça morbidite artmakta, hatta ölümlerle sonuçlanabilmektedir. Yanığın fizyopatolojisi anlaşılmaya başladığından beri, bakımı ve tedavisi neredeyse tıbbın tüm dallarını ilgilendirir hale gelmiştir. Yanığın cerrahi tedavisi ile ilgili Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi girişimleri, morbidite ve mortaliteyi azaltmaktadır. Ayrıca son yıllarda kullanılmaya başlanılan deri hücre kültürleri, deri bankaları ve alloplastik deri ürünleri her ne kadar pahalı da olsa ciddi yanıkların tedavileri için umut oluşturmaktadır.

Yanık sonrası gelişen doku ödemi bilinen bir durumdur. Bu ödem yanığın derinliğine ve yanan yüzey alanına göre artmaktadır. Yanık ödeminin fizyopatolojisinde birden fazla etmen rol oynamaktadır. Yanık sonrası, salınan immünolojik mediatörler, damar geçirgenliğini değiştirmekte ve yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin interstisyel alana geçmesine sebep olmaktadır. Bu da interstisyel basıncı arttırmakta ve damar dışına sıvı kaybına dolayısıyla da erken dönemde görülen ödeme sebep olmaktadır.^{2,16,17}

Demling, makalesinde 2. derece yanıklarda ödem gelişiminin, 3.derece yanıklara göre çok daha hızlı olduğunu belirtmektedir. Ödem miktarının da, erken dönemde yine 2. derece yanıklarda daha fazla olduğu bildirilmektedir. Yüzeysel yanıklarda kan dolaşımının ve doku perfüzyonunun daha iyi olması bu durumun nedeni olarak gösterilmektedir.¹⁶ Aynı şekilde ödem geri emilimi 2. derece yanıklarda daha hızlı olmaktadır. Derin yanıklarda ödem subdermal alanda toplanmaktadır. Bu ödemin de dermal pleksuslardan geri emilimi çok daha yavaş gerçekleşmektedir. Demling bu duruma neden olarak yanığın derinleşmesiyle birlikte dermisin içindeki lenfatiklerin de hasar görmesini göstermektedir.¹⁶

Yanığın erken döneminde, özellikle ağır yanıklı vakalarda morbidite ve mortaliteyi arttıran “ödemin” en büyük sebebi vücudun immünolojik yanıtıdır. Ancak yanıkla birlikte oluşan lenfatik sistem hasarı hem akut dönemde ödeme katkıda bulunmakta hem de iyileşmenin subakut ve kronik safhalarında mevcut olan “yanık bölgesindeki” ödemin asıl sebebi olarak gösterilmektedir.^{16,17}

Yanık yaraları tedavi sürecinde, derinliklerine göre epitelizasyon, sekonder iyileşme, kısmi veya tam kalınlıklı deri grefti ile veya çeşitli flepler uygulanarak kapanabilmektedir. Ancak her iyileşme şekli, bünyesinde kendine ait morbiditeleri barındırmaktadır. Yaraların kapanma süreci ve sonrasında uzun süreli görülen ödem tüm iyileşme şekillerinde ortak olarak gözlenmektedir. Uzun süren bu ödem özellikle ekstremite bölgelerindeki yanıklarda hareketi güçleştirmekte, fizyoterapi gereksinimini arttırmakta ve bası giysisi, elastik bandaj, elevasyon gibi ek önleyici tedavi ihtiyacını doğurmaktadır. Buna yönelik gerekli girişimler yapılmadığı takdirde, eklem katılığı, kalıcı hareket kısıtlılığı, ciltte renk değişiklikleri, ağrı gibi şikayetler oluşmaktadır.

Literatür incelemesinde, yanıkta görülen lenfatik sistem hasarı ile ilgili çok az bilgi olduğunu fark ettik. Lenfatik sistem iyileşmesi ile ilgili kısıtlı sayıda makale mevcutken^{20,21,24,25,26,27,30,32,36}, yanık travmasına spesifik lenfatik sistem iyileşmesi ile ilgili herhangi bir deneysel çalışma bulunamadı.

Nogami ve arkadaşlarının çalışmasında, sıçan sırtında oluşturulan insizyonel yaralar lenfatik endotele spesifik podoplanin antikoru uygulanarak yapılan immünohistolojik teknikle incelenmiştir. 1. günden 84. güne dek herhangi bir lenfatik sistem iyileşmesi saptanmadığı belirtilmiştir. Bu nedenle lenfatik damarlarla, diğer damarların iyileşme şeklinin farklı olduğu bildirilmiştir.²⁰

Smarapoulos ve arkadaşlarının köpeklerde yaptığı arka bacak replantasyon çalışmasında, lenfatik sistem iyileşmesi indirekt lenfografi ve klasik histolojik teknikle incelenmiştir. İndirek lenfografi sonucunda lenfatik görüntüleme replantasyon sonrası ortalama 10. günde, histolojik incelemede ise 9. günde saptanmıştır. Histolojik incelemede düzenli lenfatik kapiller ağının oluşumu ise 21 günü bulmuştur.³⁶

Greco ve arkadaşları sıçan uyluğu ve hipokondriumunda oluşturdukları insizyonel yaraları Tc^{99m} -Dextran lenfosintigrafisi ve Evans mavisi kullanarak incelemiştir. Oluşturulan yaralarda lenfatik akımın 14. günde başladığı, mikronize saflaştırılmış flavanoid ekstresi kullanıldığında bu sürenin 7 güne çekilebileceği belirtilmiştir.³²

Avraham ve arkadaşlarının sıçan kuyruğunda oluşturdukları cerrahi yaradaki lenfatik sistem iyileşmesi Tc^{99m}-sülfür kolloid lenfosintigrafisi ve LYVE-1 antikoru kullanılarak uygulanan immünohistokimyasal teknikle incelenmiştir. Oluşturulan

yaralarda fibrozisi azaltmak için kollajen jel uygulanmıştır. Cerrahi sonrası 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan tetkiklerde kollajen jel uygulanan grupta daha az fibrozis saptanmıştır. Fibrozisin daha az olduğu grupta da lenfosintigrafi sürelerinin daha kısa, lenfatik kapiller sayılarının ise daha fazla olduğu saptanmıştır.³⁰

Lenfatik sistem iyileşmesi-interstisyel akım ilişkisi ilk olarak Boardman ve arkadaşlarının çalışması ile gösterilmiştir. Sıçan kuyruğunda oluşturulan yaralar mikrolenfanjiografi, LYVE-1'ı da içeren bir çok antikor kullanılarak uygulanan immünohistokimya ve in situ zimografi kullanılarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda iyileşme alanında ilk olarak interstisyel akımı sağlayan kanallar olduğu, lenfatik endotelin sonradan bu kanallara göç ettiği saptanmıştır.²¹

Boardman ve arkadaşlarının çalışması sonrası, aynı model üzerinden, VEGF-C (vascular endothelial growth factor C) ve ona ait reseptör VEGFR-3'ün lenfanjiogenezi tetikleyen ana modülatör-reseptör olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.²⁴⁻²⁶

Bunun gibi çalışmalarda derinin insizyonu ve yüzeysel lenfatik kesilmesi, deri greftleme, ikincil yara iyileşmelerinde, replantasyon ve organ transplantasyonlarında lenfatik rejenerasyon olduğu deneysel olarak daha önce gösterilmiştir. Ancak yanık iyileşmesi esnasında lenfanjiogenez mevcudiyetini gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bununla birlikte yalnızca yüzeysel lenfatik sistem iyileşmesini gösteren herhangi bir deneysel çalışma modeline rastlanmamıştır.

Çalışmamız; yanık oluşturma, derin lenfatik sistem haraplanması ve lenfanjiogenezi saptamak amacıyla çevre ölçümleri, lenfosintigrafi ile immünohistokimyanın kullanıldığı beş ayrı model birleştirilerek yapıldı.

Yanık oluşturma için, Sawada ve arkadaşlarının ilk olarak uyguladığı daha sonra Borman ve arkadaşları tarafından modifiye edilen model kullanıldı.³³⁻³⁴ Sıçan hayatını tehdit edecek boyutta yanık oluşturmamak için geniş alan yakılmadı. Modelin etkinliği pansumanlar sırasında gözlendi ve 3. gün, 2., 6. ve 16. haftalarda çekilen fotoğraflarla gösterildi.

Yanık alanda lenfatik iyileşmeyi göstermek için kullandığımız yöntemlerden ilki çevre ölçümleridir. Yanık alanı proksimali ve distalinde ölçümler doğrudan yanık alanındaki ödemi göstermek amacıyla yapıldı. Diz çevresi ölçümleri ise, çalışma

modelinin alt ekstremite genelinde ödeme neden olup olmadığını değerlendirmek amacıyla uygulandı.

Çalışmamızda lenfatik iyileşmenin nicel olarak gösterildiği diğer bir yöntem SPECT-CT ile yapılan dinamik lenfosintigrafidir. Bir çok çalışmada lenfatiklerin incelenmesi ve lenfatik iyileşmenin değerlendirilmesi amacıyla Tc^{99m} –kolloid, dextran ve sülfür kolloid ile yapılan lenfosintigrafi kullanılmıştır.^{30,32,37,38} Çalışmamızda çok daha küçük partiküller içeren, lenf kapillerine hızlı ve daha yüksek oranda geçen Tc^{99m}-nanokolloid kullanılarak lenfosintigrafi uygulandı. İnterdigital alandan verilen radyofarmasötüğün inguinal lenf noduna geçiş süresi hesaplandı.

Lenfatik iyileşmenin gösterilmesi amacıyla kullanılan son yöntem immünohistokimya'dır. İmmünohistokimyasal yöntemler kullanmadan özellikle küçük kan ve lenf damarlarının histolojik olarak birbirinden ayrımının oldukça zor olduğu literatürde bildirilmiştir.³⁹ Bu konuda yapılan çalışmalar sonrası kan ve lenf damarlarının endotelial bazal membran yapılarındaki farklılıklardan faydalanılarak lenf damarlarının ayrımına gidilmiştir. Son yıllarda birçok farklı antikor kullanılarak incelemeler yapılmıştır. Çalışmamızda lenfatik damar endotelinde bulunan hyaluronan reseptörü-1 'e spesifik LYVE-1 antikorunu kullanıldı. Lenfatik kapiller sayısı ve lenfatik kapiller genişliği incelenerek nicel sonuçlara ulaşıldı.

Çalışmamızda, yanık travması yalnızca yüzeysel lenfatik sistemi etkileyeceği için derin lenfatik sistemi dışlayarak yalnızca yüzeysel lenfatik sistemi inceleyen yeni bir model oluşturuldu. Sıçan alt ekstremitesinin inguinal lenf nodlarına kadar olan lenfatik drenajının ağırlıklı olarak yüzeysel lenfatik sistem sayesinde sağlandığı bilinmektedir. Derin lenfatik sistemin çok büyük bir kısmı da, poplitea proksimalinde kas fasyası içerisinde bulunmaktadır.³² Bu bilgiler doğrultusunda, lenfosintigrafik incelemeyi yüzeysel lenfatik sisteme spesifik hale getirebilmek amacıyla yakılacak alanın distalinde derin lenfatik sistem kas fasyası insize edilerek haraplandı. Kas fasyasına ulaşırken yüzeysel lenfatik sisteme en az hasarı verebilmek amacıyla vertikal, az sayıda ve kısa insizyonlar yapıldı.

Yüzeysel lenfatik sistemi, derin lenfatiklerden bağımsız olarak inceleyen bu yeni modelin etkinliğini değerlendirmek amacıyla çalışmaya kontrol grubu eklendi. Kontrol

grubu, çalışmamızda Sham grubunun kontrolüdür. Deney gruplarının kontrolü amacıyla Sham grubu kullanıldı.

Çevre ölçümlerinde, diz için hiçbir haftada gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. 2. derece yanık grubundaki az miktarda artış, 6. haftada, 3. derece yanık grubundaki az miktarda artış da 16. hafta ölçümlerinde normale dönmüş olarak bulundu. Çalışmamızda oluşturulan yanık ve derin lenfatik sistem haraplanması alt ekstremitelerde genelde bir ödem oluşturmamaktadır. Bu da oluşturulan yanığın akut dönemde bile sistemik etkiyle genel bir ödeme sebep olmadığını göstermektedir.

Uyluk ortası ve uyluk proksimali çevre ölçümlerinde 2.derece yanık grubu akut ve subakut dönemde Sham grubu ölçümlerine göre anlamlı olarak yüksek çıktı. Ancak 16. haftada normal olarak saptandı. 3. derece yanık grubu ise tüm dönemlerde Sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. 3. derece yanık grubunda çevre ölçümleri her dönemde 2. derece yanık grubuna göre yüksek bulundu. Yanık alanında gelişen ödem, 2. derece yanıklarda akut dönemden kronik döneme kadar gittikçe azalmakta ve normale dönmektedir. Ancak 3. derece yanıklarda ödemde azalma olmasına rağmen kronik dönemde bile normale dönmemektedir. Ayrıca ödem, tüm dönemlerde 3. derece yanıkta, 2. derece yanığa göre daha fazla olmaktadır.

Derin lenfatik sistemin haraplanmasına yönelik oluşturduğumuz yeni modelin etkinliğini lenfosintigrafi ölçümleri gösterdi. Derin lenfatik sistemi haraplanan Sham grubunda lenfosintigrafi süreleri, Kontrol grubuna göre kronik döneme kadar yüksek bulundu. 2. derece yanık grubunda lenfosintigrafi süreleri Sham grubuna göre daha fazla bulundu, ancak gittikçe azalarak kronik dönemde normale döndü. 3. derece yanık grubunda ise tam kat yanık olduğundan 0. haftada lenfatik akım saptanmadı. Akut dönemden itibaren Sham grubuna göre artmış süreler bulundu. Bu süreler kronik döneme kadar gittikçe azalsa da normale dönmedi. 3.derece yanık grubundaki süreler her dönemde 2. derece yanığa göre daha fazla olarak saptandı. Lenfosintigrafi ölçümlerine göre 2. derece yanıkta kronik döneme kadar lenfatik fonksiyon gittikçe iyileşmekte ve normale dönmektedir. 3. derece yanıkta iyileşme gözlenmemekte ancak kronik dönemde de normale dönmemektedir.

Lenfatik kapiller sayısında da deney grupları için lenfosintigrafi ölçümlerine paralel doğrultuda değişiklikler saptandı. Sham grubunda, Kontrol grubuna göre

herhangi bir farklılık gözlenmemesi derin lenfatik sistem haraplamasının lenfatik kapiller sayısında artışa yol açmadığı göstermektedir. Ancak aynı gruplar arasında lenfatik kapiller genişliğinde kronik döneme dek anlamlı farklılık saptandı. Bu da derin lenfatik haraplamasının yüzeysel lenfatiklerde dilatasyona sebep olduğunu göstermektedir. 2. derece yanık grubunda lenfatik sayısı, Sham grubuna göre kronik döneme kadar az bulundu. Kronik döneme dek artış gözlendi ve normale döndü. 3. derece yanık grubunda 0. haftada herhangi bir lenfatik kapiller görülemedi. Sham grubuna göre tüm dönemlerde lenfatik kapiller sayısı az bulundu. Zaman geçtikçe sayı artsa da kronik dönemde bile normale dönmedi. 3. derece yanık grubunda lenfatik kapiller sayısı 2. derece yanık grubuna göre tüm dönemlerde az bulundu. Lenfatik kapiller genişliklerine bakıldığında, 2. derece yanık grubunda Sham grubuna göre akut döneme kadar ileri derecede bir artış gözlendi, diğer dönemlerde azalarak kronik dönemde normale döndü. 3. derece yanık grubunda ise 0. haftada lenfatik kapiller izlenmemesi sebebiyle, genişlik de 0 olarak kabul edildi. Sonrasında tüm dönemlerde artış gözlendi ve Sham grubuna göre subakut ve kronik dönemde daha geniş bulundu. Bu veriler doğrultusunda 2. derece yanıklarda lenfatik kapiller genişliği akut döneme kadar artmakta sonrasında kronik döneme kadar azalarak normale dönmektedir. 3. derece yanıklarda ise akut döneme kadar artarak ancak normal lenfatik kapiller genişliğine ulaşabilmekte, kronik döneme kadar artmaya devam etmektedir. Kronik dönemde de normale göre daha geniş lenfatik kapillerler saptanmaktadır. Ryan ve De Berker'in makalesinde lenfatiklerin çevresinin elastin lifleri ile sarılı olduğundan ve bu liflerin kas hareketleri ile lenf sıvısının taşınması üzerine etkisi olduğundan bahsedilmiştir. Ödem sonrası bu liflerin hasar görmesi nedeniyle, lenfatik fonksiyonunun bozulduğu bildirilmiştir.² Avraham ve arkadaşlarının çalışmasında da fibrozis mevcudiyetinin lenfatik iyileşmeyi olumsuz yönde etkilediğinden söz edilmiştir.³⁰ 3. derece yanık grubundaki lenfatik kapiller genişlemesinin 2. derece yanık grubuna göre daha az ve daha geç olmasını, elastin lif hasarı ve fibroze bağlamaktayız. 2. ve 3. derece yanık grubunda lenfatik kapiller sayısında azalma olmasına rağmen ekstremitelerde genelde ödem oluşmamasını, reaktif olarak gelişen lenfatik kapiller dilatasyonuna ve iyileşen derin lenfatik sisteme bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonucunda yanık travması sonucunda yanık derecesine göre yüzeysel lenfatik sistemde görülen hasarın değiştiğini saptadık. Hasar, 3. derece

yanıklarda daha fazla olmakta ve sonucunda daha fazla ve uzun süren ödeme neden olmaktadır. 2. derece yanıklarda lenfatik sistem iyileşmesi daha hızlı olmakta ve kronik dönemde neredeyse normal hale gelmektedir. Buna paralel olarak akut ve subakut dönemlerde azalarak gözlenen ödem, kronik dönemde izlenmemektedir. 3. derece yanıklarda da gittikçe artan lenfatik iyileşme görülmekte, ödem azalmakta ancak kronik dönemde bile normale dönmemektedir.

Bu sonuçların ışığında yanık iyileşmesi esnasında yara epitelizeasyon, sekonder iyileşme veya greftle örtüldükten sonra dahi uzun süre devam eden ödem için uygulanan önleyici tedavilerin daha uzun süre kullanılması gerekmektedir. 2. derece yanıklarda kronik dönemde bu tedavilere gerek kalmazken, 3. derece yanıklarda kronik dönemde de kullanım gerekmektedir. Ayrıca yeni oluşturulan bu model kullanılarak yeni medikal tedavilerin yanık ödemi azaltmadaki etkileri gösterilebilir. Bu model, lenfatik iyileşmesinde yüzeysel lenfatik sistemi, derin lenfatik sistemin etkilerinden ayrı olarak inceleyebildiği için bundan sonra yapılacak lenfatik iyileşmesi çalışmalarında da kullanılabilir.

V. ÖZET

Yanık, insanın hayatında karşılaştığı en sık travmalardan biridir. Bununla birlikte yanık bakımı, özelleşmiş cerrahi ve dahili bilgi gerektiren tıbbın en zor bölümlerinden biridir. Yanık sonrası gelişen doku ödemi bilinen bir durumdur. Yanık ödeminin fizyopatolojisinde birden fazla etmen rol oynamaktadır. Yüzeysel lenfatik sistem hasarı bu etmenlerden biri olmakla beraber hasarın boyutu, iyileşmenin akut, subakut ve kronik evrelerinde gözlenen ödeme katkısı daha önce herhangi bir deneysel çalışma ile gösterilmemiştir. Ayrıca yanık-lenfatik sistem iyileşmesi birlikteliğini inceleyen herhangi bir deneysel model bulunmamaktadır. Çalışmanın amacı, yanık travması sonrasında, lenfatik sistem hasarı ve iyileşmesini, ayrıca lenfatik sistemde oluşan hasarın ödeme katkısını araştırmaktır.

Ağırlıkları 300-350 gr. arasında değişen 35 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan gruplarda sırasıyla 5, 15 ve 15 sıçan olacak şekilde üç gruba ayrıldı. 1. grubun sol arka bacakları Kontrol grubunu, sağ arka bacakları Sham grubunu oluşturmaktadır. 2. ve 3. gruplar 5'erli alt gruplar oluşturacak şekilde 2. ve 3. derece yanık akut, subakut ve kronik alt gruplarına ayrıldı. Sham grubu ile deney gruplarında derin lenfatik sistem, yakılması planlanan alanın distalinden haraplandı. Kontrol ve Sham grubunda yakma işlemi uygulanmadı. Diğer grupların sağ uyluk proksimal kısımları çepeçevre yakıldı. Tüm gruplarda 0., 2., 6. ve 16. haftalarda çevre ölçümleri, lenfosintigrafi ve immünohistokimyasal incelemeler yapıldı. Çevre ölçümlerinde uyluk proksimali, uyluk ortası ve diz çevresi ölçüldü. Lenfosintigrafide interdigital alandan verilen radyofarmasötik inguinal lenf nodlarına geçiş süresi hesaplandı. İmmünohistokimya ile lenfatik kapiller sayısı ve ortalama alanı incelendi.

Lenfosintigrafi ve lenfatik kapiller alan bulgularında, Sham grubu ile Kontrol grubu arasında anlamlı fark saptandı. Bu bulgular derin lenfatik sistem haraplanması modelinin etkin olduğunu göstermektedir. Tüm bulgulara bakıldığında, yanık travması sonucunda yanık derecesine göre yüzeysel lenfatik sistemde görülen hasarın değiştiğini saptadık. Hasar, 3. derece yanık grubunda daha fazla olmakta ve sonucunda daha fazla ve uzun süren ödeme neden olmaktadır. 2. derece yanık grubunda lenfatik sistem iyileşmesi daha hızlı olmakta ve kronik dönemde neredeyse normal hale gelmektedir.

Buna paralel olarak akut ve subakut dönemlerde azalarak gözlenen ödem, kronik dönemde izlenmemektedir. 3. derece yanık grubunda lenfatik iyileşme, zamanla artmakta, ödem azalmakta ancak kronik dönemde bile normale dönmemektedir.

Yanık iyileşmesi esnasında yara epitelizasyon, sekonder iyileşme veya greftle örtüldükten sonra dahi uzun süre devam eden ödem için kullanılan önleyici tedavilerin daha uzun süre kullanılması gerekmektedir. 2. derece yanıklarda kronik dönemde bu tedavilere gerek kalmazken, 3. derece yanıklarda kronik dönemde de kullanım gerekmektedir. Ayrıca yeni oluşturulan bu model kullanılarak yeni medikal tedavilerin yanık ödemi azaltmadaki etkileri gösterilebilir. Bu model, lenfatik iyileşmesinde yüzeysel lenfatik sistemi, derin lenfatik sistemin etkilerinden ayrı olarak inceleyebildiği için bundan sonra yapılacak lenfatik iyileşmesi çalışmalarında da kullanılabilir.

VI. SUMMARY

Burn is a commonly encountered type of trauma throughout human life. Burn care is a challenging task for plastic surgeons. Tissue edema developing after burn is a well known entity. Many causes take part in the pathophysiology of burn edema. Superficial lymphatic system damage is one of those causes. Size of this damage and its effects on edema during the acute, subacute and chronic phases of the healing are not shown with any experimental study. Besides this, there is no experimental model which examines the relation between burn edema and lymphatic system damage. Purpose of our study is to understand the lymphatic system damage and healing after burn trauma and contribution of lymphatic system damage on burn edema.

The study population consisted of 35 Sprague-Dawley male rats divided into three groups. First group (n:5) made up the control and sham groups, left and right hind legs respectively. Second (Second degree burn group, n:15) and third group (third degree burn group, n:15) were divided into three subgroups of five rats each. These subgroups represent the acute, subacute and chronic periods of the healing. Deep lymphatic systems of Sham, 2nd and 3rd degree burn groups were damaged distally to the planned area of burn. Burn procedure was not applied in control and sham groups. Proximal femoral areas of the remaining groups were burned circumferentially. Circumference measurements, lymphoscintigraphy and immunohistochemical analysis were applied in 0th, 2nd, 6th and 16th weeks in all groups. Proximal, mid femoral and knee circumferences were measured. The exact time for passage of radiopharmaceutic from interdigital area to inguinal lymph node was investigated by lymphoscintigraphy procedure. Number and average area of lymphatic capillaries were analysed with immunohistochemistry.

Sham and control groups were found to be significantly different according to the results of lymphoscintigraphy and lymphatic capillary area measurements. This result showed us the efficacy of our experimental model. We found that the damage in superficial lymphatic system differed according to the burn degree. The lymphatic system damage in the third degree burn group was more intense which ended up with more and longer lasting edema. However, healing was much faster in second degree burn group. Lymphatic system in this group recovered previous unburned state in

chronic period of healing. As a result, edema which decreased in acute and subacute periods was not traced in chronic period. The lymphatic healing in third degree burn group increased with time but the lymphatics didn't normalize in chronic period.

Burn wounds heal with epithelialization, secondary intention or grafting. The results showed us that during the time of healing, preventive treatments for edema should be applied for longer periods. These treatments should be continued in subacute period for second degree burns and longer time in chronic period for third degree burns. Our new experimental model can be used to show the effects of new medical treatments on reducing burn edema. This model can be used in the future lymphatic healing studies for superficial system without the effects of deep system.

VIII. KAYNAKLAR

1. Klein MB. Thermal, chemical, and electrical injuries. Ed: Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Barlett SP, Gurtner GC, Spear SL. *Grabb & Smith's Plastic Surgery*. 6th Edition, pp. 132-149, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2007.
2. Young DM. Burn and electrical injury. Ed: Mathes SJ. *Plastic Surgery*. 2nd Edition, Volume I, pp. 811-833, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2006
3. Pruitt BA, Wolf SE, Mason AD. Epidemiological, demographic and outcome characteristics of burn injury. Ed: Herndon DN. *Total Burn Care*. 3rd Edition, pp. 14-32, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2007
4. Bessey PQ. Wound care. Ed: Herndon DN. *Total Burn Care*. 3rd Edition, pp. 127-135, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2007
5. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science* 2006; 311(5769):1880-188
6. Kaur P. Interfollicular epidermal stem cells: identification, challenges, potential. *J Invest Dermatol* 2006; 126(7):1450-1458
7. Pan WR, Suami H, Taylor GI. Lymphatic drainage of the superficial tissues of the head and neck: Anatomical study and clinical implications. *Plast Reconstr Surg* 2008; 121(5):1614-1624
8. Cueni LN, Detmar M. The lymphatic system in health and disease. *Lymph Res Biol* 2008; 3-4:109-122
9. Butler MG, Isogai S, Weinstein BM. Lymphatic development. *Birth Defects Research* 2009; 87:222-231
10. Sadler TW. *Langman's Medikal Embriyoloji (Çev: Başaklar C.)* s. 171-215, Palme Yayıncılık, İstanbul, 1993

11. Reynolds HM, Walker CG, Dunbar PR, Sullivan MJO, Uren RF, Thompson JF, Smith NP. Functional anatomy of the lymphatics draining the skin: a detailed statistical analysis. *J Anat* 2010; 216:334-355
12. Shayan R, Karnezis, T, Tsantikos E, Williams SP, Runting AS, Ashton MW, Achen MG, Hibbs ML, Stacker SA. A system for quantifying the patterning of the lymphatic vasculature. *Growth Factors* 2007; 25(6):417-425
13. Beahm EK, Walton RL, Lohman RF. Vascular insufficiency of the lower extremity: Lymphatic, Venous and Arterial. Ed: Mathes SJ. *Plastic Surgery*. 2nd edition, Volume VI, pp. 1455-1490, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2006.
14. Clodius L. Lymphedema. Ed: McCarthy JG. *Plastic Surgery*. Volume VI, pp. 4093-4121, W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 1990.
15. Spratt J. Groin Dissection. *J Surg Oncol* 2000;73:243-262
16. Demling RH. The burn edema process: Current concepts. *J Burn Care Rehab* 2005; 26:207-227
17. Kramer GC, Lund T, Beckum OK. Pathophysiology of burn shock and burn edema. Ed: Herndon DN. *Total Burn Care*. 3rd Edition, pp. 93-106, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2007
18. Carvajal HF, Linares HA, Brouhard BH. Relationship of burn size to vascular permeability changes in rats. *Surg Gynecol Obstet* 1979;149:193-202
19. Brouhard BH, Carvajal HF, Linares HA. Burn edema and protein leakage in the rat: relationship to size of injury. *Microvasc Res* 1978;15:221-228
20. Nogami M, Hoshi T, Arai T, Toukairin Y, Takama M, Takahashi I. Morphology of lymphatic regeneration in rat incision wound in comparison with vascular regeneration. *Legal Medicine* 2009;11:213-218
21. Boardman KC, Swartz MA. Interstitial flow as a guide for lymphangiogenesis. *Circ Res* 2003; 92:801-808
22. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000;407:249-257

23. Bunn HF, Poyton RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev* 1996;76:839-885
24. Uzarski J, Drelles MB, Gibbs SE, Ongstad EL, Goral JC, McKeown KK, Raehl AM, Roberts MA, Pytowski B, Smith MR, Goldman J. The resolution of lymphedema by interstitial flow in the mouse tail skin. *Am J Heart Circ Physiol* 2008;294:1326-1334
25. Goldman J, Conley KA, Raehl A, Bondy DM, Pytowski B, Swartz MA, Rutkowski JM, Jaroch DB, Ongstad EL. Regulation of lymphatic capillary regeneration by interstitial flow in skin. *Am J Heart Circ Physiol* 2007;292:2176-2183
26. Rutkowski JM, Boardman KC, Swartz MA. Characterization of lymphangiogenesis in a model of adult skin regeneration. *Am J Heart Circ Physiol* 2006;291:1402-1410
27. Ryan TJ, De Berker D. The interstitium, the connective tissue environment of the lymphatic and angiogenesis in human skin. *Clinics in Dermatology* 1995;13:451-458
28. Hinrichs CS, Watroba NL, Rezaishiraz H. Lymphedema secondary to postmastectomy radiation: incidence and risk factors. *Ann Surg Oncol* 2004;11:573-580
29. Ververs JM, Roumen RM, Vingerhoets AJ. Risk, severity and predictors of physical and psychological morbidity after axillary lymph node dissection for breast cancer. *Eur J Cancer* 2001;37:991-999
30. Avraham T, Clavin NW, Daluvoy SV, Fernandez J, Soares MA, Mehrara BJ. Fibrosis is a key inhibitor of lymphatic regeneration. *Plast Reconstr Surg* 2009;124:438-450
31. Olszewski W. Clinical efficacy of micronized purified flavonoid fraction (MPFF) in edema. *Angiology* 2000;51:25-29
32. Greco KV, Lara PF, Oliveira-Filho RM, Greco RV, Sudo-Hayashi LS. Lymphatic regeneration across an incisional wound: inhibition by dexamethasone and aspirin, and acceleration by micronized purified flavonoid fraction. *Eur J Pharmacol* 2006;551:131-142
33. Borman H, Maral T, Bilezikci B, Haberal M. The use of superficial and deep partial thickness burned tissue for flap prefabrication. *Eur J Plast Surg* 2002;25:258-262

34. Sawada Y., Urushidate S., Yotsuyanagi T. Is Prolonged and Effective Cooling of a scalded wound effective? *Burns* 1997; 23: 55-58
35. Demir R (editör): *Histolojik Boyama Teknikleri (Başvuru Kitabı)*; Palme Yayıncılık, Ankara, 2001: 262- 283.
36. Smarapoulos EC, Papazoglou LG, Patsikas MN, Vretou E, Petropoulos AS. Lymphatic regeneration following hind limb replantation: An experimental study in dog. *Eur J Pediatr Surg* 2005;15: 337-342
37. Blum KS, Radtke C, Knapp WH, Pabst R, Gratz KF. SPECT-CT: a valuable method to document the regeneration of lymphatics and autotransplanted lymph node fragments. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34: 1861-1867
38. Smith AR, van Alphen WA, van der pompe WB. Lymphatic drainage in patients after replantation of extremities. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79: 163-170
39. Nerlich AG, Schleicher E. Identification of lymph and blood capillaries by immunohistochemical staining for various basement membrane components. *Histochemistry* 1991; 96: 449-453