

**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**



**KİSMİ KALINLIKTA YANIK SONRASI TROMBOSİT ZENGİN
PLAZMANIN LOKAL UYGULANMASININ YARA İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

HAZIRLAYAN

Dr. Ümit ÖZÇELİK

TEZ DANIŞMANLARI

Uzm. Dr. Yahya EKİCİ

Prof. Dr. Hamdi KARAKAYALI

ANKARA-2009

**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**



**KİSMİ KALINLIKTA YANIK SONRASI TROMBOSİT ZENGİN
PLAZMANIN LOKAL UYGULANMASININ YARA İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

HAZIRLAYAN

Dr. Ümit ÖZÇELİK

TEZ DANIŞMANLARI

Uzm. Dr. Yahya EKİCİ

Prof. Dr. Hamdi KARAKAYALI

ANKARA-2009

ÖZET

Yanık insan vücudunun karşılaştığı en ağır travmalardan biridir. Uzun süren tedavisi ve sıklıkla üzerine eklenen sekonder enfeksiyonlar nedeniyle mortalitesi halen yüksektir. Yanık alanın erken dönemde debridmanı ve greftlenmesi ile oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ancak hastanın ameliyatı kaldıramayacak durumda olması, greft için kullanılabilir yeterli sağlam cilt bulunmaması gibi çeşitli sebeplerle erken greftlemenin yapılamadığı durumlarda özellikle geniş yanık alanı bulunan hastalarda yara iyileşmesini hızlandıracak çeşitli ürünlerin kullanımı hastanın sağkalımını etkileyebilir ve görülebilecek enfeksiyöz komplikasyonları azaltabilir. Bu amaçla yara örtüm materyalleri ve yapay deriler üretilmiş ve denenmiştir ancak bunlar çoğunlukla pahalı ve ülkemizde nadir kullanılan ürünlerdir. Bu alanda halen çalışmalar devam etmekte olup yeni çözümler araştırılmaktadır.

Trombosit zengin plazma (TZP) genellikle oral ve maksillofasial cerrahide kemik rekonstrüksiyonunda kullanılan yeni ve oldukça yararlı bir üründür. Trombosit zengin plazma kan santrifüj edildikten sonra trombin ve kalsiyum klorid eklenerek visköz bir jel haline getirilerek hazırlanır ve trombositlerin aktive olması nedeniyle büyüme faktörlerinden zengin bir yapıya kavuşur. Trombositler yara iyileşme sürecinde oldukça önemlidirler. Yara bölgesine oldukça hızlı bir şekilde ulaşırlar ve koagülasyonu başlatırlar. Trombositler sadece pıhtı oluşumu ve bunu takiben lokal kan ve lenf kaybını durdurmayı sağlamakla kalmayıp aynı zamanda yara iyileşmesinde damarlanmayı tetiklemek, mezenkimal hücreleri uyarmak ve yara iyileşmesi için gerekli büyüme faktörlerini sağlamak gibi oldukça önemli bir role sahiptirler. Trombin gibi bazı proteinler trombosit degranülasyonu ile bu faktörlerin salınmasını sağlarlar. Trombosit granülleri katekolaminler, serotonin, adenosin trifosfat (ATP), albumin, fibrinojen, osteonektin, osteokalsin, kalsiyum gibi biyolojik olarak aktif birçok madde ve çeşitli pıhtılaşma faktörleri ile lokal olarak etkili trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü α (TGF- α), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), interlekin-1 (IL-1) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerini içerirler (5, 17). Bu büyüme faktörleri hücreler kemotaksisi, proliferasyonu, differansiasyonu ve ekstraselüler matriks depolanmasını artırır.

Trombosit zengin plazmanın yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini dikkate alarak yaptığımız bu çalışmada ratlarda kısmi kalınlıkta sıcak su yanığı modeli oluşturularak trombosit zengin plazmanın yanık yarısında yara iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırıldı.

Çalışmaya alınan toplam 30 rat çalışma grubu (grup 1; n=10), kontrol grubu (grup 2; n=10) ve kan donörü grubu (grup 3; n=10) olarak üç gruba ayrıldı. Kan donörü grubundan alınan kanlardan Başkent Üniversitesi Hastanesi Kan Merkezi'nde trombosit zengin plazma elde edilerek çalışma grubuna topikal olarak uygulandı. Yanık sonrası birinci haftada ratlar sakrifiye edilerek biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapıldı. Histopatolojik incelemede yara iyileşme süreci değerlendirilirken polimorfonükleer lökosit (PMNL), fibroblast, damar proliferasyonu ve kollajen birikimi modifiye Ehrlich-Hunt skorlaması ile değerlendirildi. Epitelizasyon varlığı ise var/yok olarak kaydedildi. Biyokimyasal incelemede ise doku hidroksiprolin düzeyi ölçüldü.

Yapmış olduğumuz çalışmada histopatolojik incelemeler sonucunda genel olarak bakıldığında ikinci grupta (kontrol grubu) yara iyileşmesinin inflamatuvar evrede durakladığı birinci grupta (çalışma grubu) ise iyileşmenin daha iyi olduğu ve proliferatif evreye geçtiği görüldü ancak yapılan istatistiksel analiz sonucunda iki grup arasında PMNL infiltrasyonu haricinde diğer bulgularda istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Doku hidroksiprolin düzeyi ölçümü sonucunda çalışma grubunda kontrol grubuna göre doku hidroksiprolin düzeyinin daha yüksek olduğu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p=0.03$).

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile trombosit zengin plazmanın kısmi kalınlıkta yanık sonrası yara iyileşmesini artırdığı gösterilmiş olup bu sonuçlardan hareketle trombosit zengin plazmanın yanık yüzdesi geniş yüzeysel kısmi kalınlıktaki yanıklarda klinik kullanıma girmesi sağlanabilir. Özellikle greftleme imkânı olmayan ve geniş yanık yüzeyine sahip hastalarda yanık alanların hızlı iyileşmesi komplikasyonların azalmasını ve sağkalımın artmasını sağlayacağından trombosit zengin plazmanın bu hastalar için bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Yine trombosit zengin plazmanın 3. derece yanıklarda yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin de deneysel yanık modellerinde araştırılması gerekmektedir.

ÖNSÖZ

Beş buçuk yıllık uzmanlık eğitimim boyunca bana bilgi ve tecrübelerini özveriyle aktaran, sonsuz sabır, sevgi ve emekleriyle beni bugünlere getiren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal, Sayın Prof. Dr. Esat Hersek, Sayın Prof. Dr. Hamdi Karakayalı, Sayın Prof. Dr. Gökhan Moray, Sayın Doç. Dr. Remzi Emiroğlu, Sayın Doç. Dr. Aydın Dalgıç, Sayın Doç. Dr. Mahmut Can Yağmurdur, Sayın Doç. Dr. Özgür Başaran, Sayın Doç. Dr. Şinasi Sevmiş, Sayın Yrd. Doç. Dr. Feza Karakayalı, Sayın Uzm. Dr. Yahya Ekici, Sayın Uzm. Dr. Cem Aydoğan'a saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Yine eğitim sürecimdeki katkı ve emeklerinden dolayı Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde görev yapmış Sayın Doç. Dr. Tarık Zafer Nursal ve halen görevli olan değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Turgut Noyan, Sayın Doç. Dr. Sedat Yıldırım, Sayın Doç. Dr. Akın Tarım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan Çalışkan, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali Ezer, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nurkan Törer, Sayın Uzm. Dr. Tamer Çolakoğlu, Sayın Uzm. Dr. Alper Parlakgümüş, Sayın Uzm. Dr. Sedat Belli'ye ve Başkent Üniversitesi Konya Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde görev yapmış Sayın Uzm. Dr. Veli Mavi ve halen görevli olan Sayın Uzm. Dr. Ahmet Tolu, Sayın Uzm. Dr. Erdal Karagülle, Sayın Uzm. Dr. Emin Türk'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tezin oluşumunda yaptıkları değerli katkılar nedeniyle; Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Suna Türkoğlu'na, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Özlem Özen'e ve Sayın Dr. Gülnur Güven'e teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca tanışma ve birlikte çalışma şansı bulduğum bir kısmı şimdi uzman olan tüm çalışma arkadaşlarıma yorucu çalışma ve eğitim sürecindeki katkı ve emeklerinden ötürü teşekkür ederim.

Ve en nihayetinde uzun eğitimim boyunca destek ve sevgilerini esirgemeyen değerli ailem ve hep sabredip benden vazgeçmeyen sevgili eşim Pınar'a çok teşekkür ederim.

Dr. Ümit ÖZÇELİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	III
ÖNSÖZ.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR	VII
ŞEKİLLER.....	VIII
TABLolar.....	IX
RESİMLER.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TERMAL YANIĞIN FİZYOpatOLOJİSİ.....	3
2.2. YANIK YARASININ DERİNLİĞİ VE SINIFLAMASI.....	4
2.3. YARA İYİLEŞMESİ.....	5
2.3.1. Hemostaz Evresi.....	5
2.3.2. İnflamasyon Evresi.....	6
2.3.3. Proliferasyon Evresi.....	6
2.3.4. Maturasyon Evresi.....	7
2.4. YANIKTA YARA İYİLEŞMESİ.....	7
2.5. TROMBOSİT ZENGİN PLAZMA VE ÖZELLİKLERİ.....	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	10
3.1. ARAŞTIRMA TİPİ.....	10
3.2. ARAŞTIRMA YERİ VE ORTAMI.....	10
3.3. ANESTEZİ.....	10
3.4. YANIK MODELİ	10
3.5. ARAŞTIRMA GRUPLARI	11
3.6. ARAŞTIRMA PARAMETRELERİ.....	13
3.6.1. Doku Hidroksiprolin Düzeyinin Ölçülmesi.....	13
3.6.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	14
3.7. TROMBOSİT ZENGİN PLAZMANIN HAZIRLANMASI.....	14
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	14
4. BULGULAR	15
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	15
4.1.1. İnflamatuar Hücre (PMNL) Dağılımı.....	16
4.1.2. Fibroblast Hücre Dağılımı.....	17
4.1.3. Damar Proliferasyonu.....	19
4.1.4. Kollajen Birikimi.....	20
4.1.5. Epitelizasyon.....	22
4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇLAR	28
7. KAYNAKLAR	29

KISALTMALAR

- ATP:** Adenozin trifosfat
BÜTF: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
EGF: Epidermal büyüme faktörü
FGF: Fibroblast büyüme faktörü
H-E: Hematoksilen eozin
IL-1: İnterlökin-1
IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü
NO: Nitrik oksit
PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PMNL: Polimorfonükleer lökosit
PTZ: Protrombin zamanı
TFP: Trombosit fakir plazma
TGF- α : Transforme edici büyüme faktörü- α
TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü- β
TZP: Trombosit zengin plazma
VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1: Hidroksiprolin kalibrasyon eğrisi

Şekil 2: Gruplara göre PMNL, fibroblast, damarlanma ve kollajen birikimi

Şekil 3: İnflamatuvar (PMNL) hücre dağılımı

Şekil 4: Fibroblast hücre dağılımı

Şekil 5: Damar proliferasyonunun dağılımı

Şekil 6: Gruplara göre kollajen birikimi

Şekil 7: Gruplara göre doku hidroksiprolin düzeyi dağılımı

Şekil 8: Doku hidroksiprolin düzeyi



TABLÖLAR

Tablo 1: Modifiye Ehrlich-Hunt skorlaması

Tablo 2: İnflamatuar (PMNL) hücre dağılımı

Tablo 3: Fibroblast hücre dağılımı

Tablo 4: Damar proliferasyonunun dağılımı

Tablo 5: Gruplara göre kollajen birikimi

Tablo 6: Epitelizasyon oranları

Tablo 7: Gruplara göre doku hidroksiprolin düzeyi dağılımı



RESİMLER

Resim 1: Sırt derisi traş edilmiş, povidon-iyodin ve serum fizyolojik ile hazırlanmış rat

Resim 2: Sıcak suda beklemiş sünger ile yanık oluşturulması

Resim 3: Yanık oluşturulduktan sonra trombosit zengin plazmanın uygulanması

Resim 4: Yanık yarasının opsite drape ile sarılması

Resim 5: Laparotomi için karnın traş edilip boyanması

Resim 6: Laparotomi

Resim 7: Vena kava inferiordan kan alınması

Resim 8: Orta derecede PMNL birikimi

Resim 9: Hafif derecede PMNL birikimi

Resim 10: Fokal fibroblast birikimi

Resim 11: Damar proliferasyonu

Resim 12: Kollajen birikimi

1. GİRİŞ

Yanık insan vücudunun karşılaştığı en ağır travmalardan biridir. Uzun süren tedavisi ve sıklıkla üzerine eklenen ikincil enfeksiyonlar nedeniyle mortalitesi halen yüksektir. Normal cilt bariyerinin bozulması, malnutrisyon ve baskılanmış immün sistem fonksiyonları gibi sebeplerle resüsitasyon fazını atlatmış yanık hastalarında en önemli mortalite sebebi enfeksiyonlardır. Son yıllarda yanık tedavisindeki gelişmeler ile yanık ve yanık komplikasyonlarına bağlı mortalite ve morbidite oranları azalmış olup yanık hastalarının erken dönem resüsitasyon ve tedavi yöntemlerinde birçok gelişme olmuştur. 1950'lerde %50 yanığı olan hastaların mortalite oranı %50 iken bugün bu oran %5'lere kadar düşmüştür. Yanık alanının erken dönemde debridmanı ve greftlenmesi ile oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ancak hastanın ameliyatı kaldıramayacak durumda olması, greft için kullanılabilir yeterli sağlam cilt bulunmaması gibi çeşitli sebeplerle erken greftlemenin yapılamadığı durumlarda özellikle geniş yanık alanı bulunan hastalarda yara iyileşmesini hızlandıracak çeşitli ürünlerin kullanımı hastanın sağkalımını etkileyebilir ve görülebilecek enfeksiyöz komplikasyonları azaltabilir. Bu amaçla yara örtüm materyalleri ve yapay deriler üretilmiş ve denenmiştir ancak bunlar çoğunlukla pahalı ve ülkemizde nadir kullanılan ürünlerdir. Bu alanda halen çalışmalar devam etmekte olup yeni çözümler araştırılmaktadır.

Trombosit zengin plazma (TZP) genellikle oral ve maksillofasial cerrahide kemik rekonstrüksiyonunda kullanılan yeni ve oldukça yararlı bir üründür. Trombosit zengin plazma kan santrifüj edildikten sonra trombin ve kalsiyum klorid eklenerek visköz bir jel haline getirilerek hazırlanır ve trombositlerin aktive olması nedeniyle büyüme faktörlerinden zengin bir yapıya kavuşur.

Trombositler yara iyileşme sürecinde oldukça önemlidirler. Yara bölgesine oldukça hızlı bir şekilde ulaşırlar ve koagülasyonu başlatırlar (1). Trombosit doğal yara iyileşmesi için gerekli büyüme faktörleri açısından oldukça zengin bir kaynaktır (2). Trombositler sadece pıhtı oluşumu ve bunu takiben lokal kan ve lenf kaybını durdurmayı sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda yara iyileşmesini tetikleyen büyüme faktörleri ve sitokinleri de salgırlarlar. Trombositlerin trombin gibi bazı proteinler tarafından sağlanan degranülasyonu ile fibrinojen, transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β 1 ve β 2), transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), trombosit tromboplastini, trombospondin, koagülasyon faktörleri, fibroblast büyüme faktörü, trombosit aktive edici faktör-4, interlökin1, kalsiyum, serotonin, histamin ve

hidrolitik enzimler gibi faktörler salınırlar (3). Kronik yaraların tedavisinde lokal büyüme faktörlerinin uygulanmasının terapötik etkinliği görülmüşse de sinerjistik etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (4). Büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri doku onarımında kilit noktaları regüle etmektedirler (5). Daha önce insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada dilüe edilmiş trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin iyileşmeyen kutanöz yaralarda başarılı olduğu görülmüştür (6). Bu çalışmada kontrol grubunda epitelizasyon oranı %15 iken çalışma grubunda %81 bulunmuştur. Herhangi bir yan etki ve aşırı skar oluşumu, malign transformasyon veya aşırı doku büyümesi görülmemiştir (6).

Büyüme faktörleri yara iyileşmesinde gerekli hücreler için gereklidir. Büyüme faktörleri hücreleri yaraya çeker, onların proliferasyonunu tetikler ve anlamlı derecede ekstraselüler matris depolanmasını artırır (7). TGF- β bunların arasında daha önemlidir çünkü yara iyileşmesinin birçok kısmını etkilemektedir. Bu nedenle kronik, iyileşmeyen veya yavaş iyileşen yaraların tedavisinde terapötik değeri olduğu saptanmıştır (2). PDGF dermal rejenerasyonu artırır, lokal olarak protein ve kollajen sentezini tetikler, endotelial göçü ve damarlanmayı artırır (8); ayrıca TGF- β ekspresyonunu da uyarır (9). TGF- β ve PDGF'nin yara kenarlarında trombositlerin α -granüllerinin degranülasyonu ile salgılandığı gösterilmiştir (10). Yine trombosit zengin plazma (TZP) ve trombosit fakir plazma (TFP) karşılaştırıldığında TGF- β ve PDGF seviyelerinin trombosit zengin plazmada daha yüksek olduğu görülmüştür. TGF- β 'nın yara iyileşmesinde hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını artırması nedeniyle trombosit zengin plazmanın kontrol grubuna göre daha çabuk proliferasyon ve diferansiyasyonu sağlayacağı ve daha da ötesi TZP ile tedavi edilen yaraların aşırı skar ve bağ doku oluşumu görülmeden daha organize kollajene sahip olacağı öngörülmektedir (2,11).

Trombosit zengin plazmanın yara iyileşmesini artırdığına dair birçok deneysel ve klinik çalışmalar mevcut olmakla beraber yanık yarasının iyileşmesi üzerindeki etkilerini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bütün bu bilgilerin ışığında bu deneysel çalışmanın amacı trombosit zengin plazmanın yüzeysel kısmi kalınlıkta yanık oluşturulmuş ratlarda yanık bölgeye lokal uygulanmasının yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Termal Yanığın Fizyopatolojisi

Deri vücudumuzun en büyük organlarından biri olup vücut ağırlığının yaklaşık %16'sını oluşturur. Yüzölçümü itibarıyla da deri yetişkin bir insanda yaklaşık 1,5-2 metrekare arasında bir sahayı kaplar. Derinin yaşamsal fonksiyonları; termal regülasyon, sıvı kaybına karşı koruma ve enfeksiyöz ajanlara karşı bariyer görevidir. Yanık yaralanması sonucunda derinin bu üç temel fonksiyonu bozulur (12).

Yanık, dokunun kendi ısısından daha sıcak veya soğukla, kimyasal madde, elektrik akımı veya radyoaktif ışınlarla teması sonucu ortaya çıkan bir yaralanma çeşididir. Yanık, toplumun büyük bir kısmının hayatı boyunca en az bir kez karşılaşabileceği bir travmadır. Büyük ve komplike yanık şok, enfeksiyon ve bunlara bağlı çoklu organ yetmezliği sonucu hayatı tehdit eder hale gelebilirken, küçük yanıklar çeşitli derecede fonksiyon kayıpları oluşturarak yaşam kalitesini etkileyebilir.

ABD'de her yıl 2.400.000 kişi yanık nedeniyle hastanelere başvurmakta, bunların 130.000'i hastaneye yatırılmakta, 10.000-12.000 kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Ülkemizde sağlıklı istatistiksel veriler olmasa da yaklaşık 1.000.000 kişi yanık nedeniyle hastanelere başvururken, bunların 12.000-13.000'i hastaneye yatırılmakta ve yaklaşık 2000 kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir.

Yanık yarısındaki fizyopatolojik değişiklikler bir alana düşen ısının neden olduğu etkiler ve bunların üzerine binen belirgin bir akut iltihabi süreç ile karakterize edilir. Termal yanığa bağlı doku hasarının esası, hücresel düzeyde sitoplâzma ve hücre zarında protein denatürasyonu ile mikrovasküler hasara bağlı iskemik zedelenmedir. Yanık sonrası ortaya çıkan doku harabiyeti lökosit ve endotel hücrelerinden salınan sitokinler aracılığıyla hem lokal hem de sistemik enflamatuar yanıtı neden olur. Özellikle ağır yanık olgularında dokularda ve dolaşımdaki lökositlerin giderek artması ve sitokinler aracılığıyla lökositlerden kontrolsüz bir şekilde serbest oksijen radikallerinin salınması sistemik enflamatuar yanıt sendromuna yol açar. Bu tablo organizmanın kendi hücrelerini de tahrip eden katabolik ve immünosupresif bir süreç olup morbidite ve morbiditeyi etkileyen en önemli faktördür (12).

Isının aniden artması ile yanık bölgesinde histamin, bradikinin, tromboksan, proteolitik enzimler, serbest oksijen radikalleri ve sitokinler salgılanarak lokal olarak vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artışı sonucu ödem oluşur. Eğer geniş bir yanık söz konusu ise bu etkiler sadece lokal olarak kalmaz ve tüm vücuttaki kapiller damarların

geçirgenliğindeki artış sonucu yanık şoku olarak bilinen aşırı sıvı kaybına bağlı hipovolemik şok gelişir. Bu ilk sistemik yanıt sonrası hipermetabolik yanıt ortaya çıkar ve katabolizma belirgin olarak artar. Bazal metabolizma hızında artış, bazal vücut ısısında artış, hiperdinamik dolaşım, substrat kullanımında yetersizlik, lipoliz, vücut kas kitlesinde erime ve yara iyileşmesinde gecikme ile karakterize olan bu süreç hücresel fonksiyonları bozar ve enfeksiyon riskini artırır. Ağır yanıklardaki mortalite ve morbiditenin önemli bir kısmından bu süreç sorumludur. Yine major bir yanık sonrası hem humoral hem de hücresel savunma mekanizmalarında baskılanma sonucu enfeksiyonlara yatkınlığa sebep olan immüsupresyon tablosu ortaya çıkmaktadır (12).

Sonuçta termal hasara bağlı ölümlerin başlıca sebebi yukarıda saydığımız fizyopatolojik nedenlerden ötürü enfeksiyonlardır. Bu süreci önlemek için canlılığını kaybetmiş yanık dokusunun hızla temizlenmesi, etkin nutrisyonel destek sağlanması ve devamlılığı bozulmuş derinin hızlı bir şekilde iyileştirilmesi veya yara örtüm materyali/yapay derilerle kapatılması gerekir.

2.2. Yanık Yarasının Derinliği ve Sınıflaması

Yanık yarası Jackson tarafından 3 bölgeye ayrılmıştır. Bunlar ısının doğrudan etkilediği ve protein denatürasyonu sonucu hücre ölümünün meydana geldiği koagülasyon bölgesi, koagülasyon bölgesinin etrafını saran staz bölgesi ve en dışta ise hiperemi bölgesidir. Staz bölgesindeki hücrelerin çoğu başlangıçta canlı iken zaman içinde oluşan trombüsler, fibrin depolanması, endotelde şişme ve vazokonstriksiyon sonucu kan akımının durması nedeniyle canlılığını kaybederler. Hiperemi bölgesinde ise hücre hasarı az olup kan akımı artmıştır ve belirgin bir vazodilatasyon vardır.

Yanık yarası patolojik olarak tam kalınlıkta yanık ve kısmi kalınlıkta yanık olmak üzere iki kısma ayrılır. Kısmi kalınlıkta yanık da kendi içinde yüzeysel ve derin olarak ikiye ayrılmaktadır.

Yanık yarası klinik olarak ise dört derecede incelenir. Bunlar;

1. Birinci derece yanıklar: Sadece derinin epidermis tabakasının hasarlandığı yanıklardır. Kırmızı renkli, kuru, ağrılı, bül oluşumunun olmadığı ve kendiliğinden bir hafta içinde skar bırakmadan iyileşen yanıklardır.

2. İkinci derece yanıklar: Yüzeysel ve derin olmak üzere iki kısımda incelenirler.

a.Yüzeysel ikinci derece yanıklar: Epiderminin tamamı ve papiller derminin hasarlandığı ve patolojik olarak yüzeysel kısmi kalınlıkta yanık yarasına tekabül eden

yanıklardır. Pembe renkli, oldukça ağrılı, basmakla kapiller dolaşımın görüldüğü, sıklıkla bül oluşumunun olduğu yanıklardır. İyileşme yanmamış derin dermisteki cilt eklerinden epitel hücrelerinin yüzeye doğru göç etmesi ile belirgin olmayan skar dokusu bırakarak 2-3 haftada tamamlanır.

b.Derin ikinci derece yanıklar: Epidermin tamamı ve derminin de çoğunun hasarlandığı ve patolojik olarak derin kısmi kalınlıkta yanığa tekabül eden yanıklardır. Kirli beyaz renkte, benekli, kapiller dolaşımın görülmediği, ağrısız, bül oluşumunun görülebildiği yanıklardır. İyileşme retiküler derminin canlı kalan deri eklerindeki epitel hücrelerinin yüzeye göç etmesi ile belirgin skar bırakarak 4-6 haftada tamamlanır.

3. Üçüncü derece yanıklar: Epidermis, dermis ve subkutan dokunun tamamen hasarlandığı ve patolojik olarak tam kalınlıkta yanık yarasına tekabül eden yanıklardır. Kahverengi, beyaz veya siyah renkte, kuru, sert, ağrısız yanıklar olup kendiliğinden iyileşme görülmez.

4. Dördüncü derece yanıklar: Deriye ek olarak kas, tendon, kemik gibi yapıların da hasarlandığı yanıklardır. Kendiliğinden iyileşme görülmez (12).

2.3. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi hasar gören dokuların onarımı ve kaybolan dokuların yerine konması ile doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasıdır. Bu süreç travma sonrası tetiklenen birtakım biyokimyasal ve hücresele olaylardan oluşur. Yara iyileşmesini 4 evrede inceleyebiliriz. Bunlar hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon evresidir.

2.3.1. Hemostaz Evresi

Bu ilk evre geleneksel olarak pıhtılaşma ile yarada hemorajinin oluştuğu hasar sınırlama evresi olarak görülür. Doku hasarı sonucu yırtılan damarlardan açığa çıkan trombositler subendotelyal kollajene temas ederler. Böylece faktör 12 aracılığı ile trombosit agregasyonu ve koagülasyonun intrensek dönemi aktive olur. Trombositlerden trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü α ve β (TGF- α , TGF- β), fibronektin ve serotonin salınır. Lokal olarak oluşan bu pıhtı sadece daha fazla kan kaybını önlemekle kalmayıp nötrofil, monosit, fibroblast ve endotelyal hücreler gibi yara bölgesine gelecek ilk dalga cevap hücrelerinin invazyonu için iskelet görevi oluşturur ki bu hücreler bir sonraki aşama olan inflamatuvar evreyi başlatırlar. Hemostaz yetersizliğinde hücrelerin inflamasyon alanına tutunması azalır (14,15).

2.3.2. İnflamasyon Evresi

Bu süreç yaralanan bölgeye kan akımında artış, damar geçirgenliğinde artış ve yarayı mikroorganizmaların kolonizasyonuna karşı koruyan, kurtarılabılır dokuları onaran ve tamiri mümkün olmayan dokuları ortadan kaldıran çok çeşitli lökositlerin yaraya geçişi ile karakterizedir. Lokal olarak sitokinler ve büyüme faktörleri salınır, hareketli hücrelerde aktivasyon başlar. Yara bölgesine ilk olarak nötrofiller gelir. Damar geçirgenliğinin artması, prostoglandinler, kemotaktik faktörler, mikroorganizmalar ve doku artıkları ile nötrofiller aktive olurlar. İnflamasyon döneminde özellikle retiküloendotelyal sistem hücreleri (nötrofil, makrofaj ve lenfositler) görev alırlar. Ancak enfeksiyon olmadığı sürece nötrofillerin yara iyileşmesinde rolü olmaz. Makrofajlar debridman, matriks sentezi ve damarlanmadan sorumludurlar. Trombositlerden salınan faktörler makrofajlar için en önemli aktivatörlerdir (16). Makrofaj aktivasyonu ile nitrik oksit (NO) sentezi ve damarlanma artar, fibroblastlar aktive olur. Yara bölgesindeki hipoksi de NO salınımını artırır. NO salınımı makrofaj dışında endotel hücreleri, fibroblastlar, monosit ve lenfositlerce de tetiklenir (15).

Yara çevresi inflamatuvar hücreler tarafından yeterince hazırlandığında yara iyileşmesi üçüncü evre olan proliferatif evreye ilerler.

2.3.3. Proliferasyon Evresi

Bu evrede esas olarak fibroblastlar aktive olur ve endotel hücreleri çoğalırlar. Fibroblastlar yara çevresindeki sağlıklı dokulardan yara içerisine ilerleyerek yara içinde fibröz bir dolgu şeklinde granülasyon dokusunu oluştururlar. Yara bölgesinde bulunan fibroblastlar sağlıklı dokulardakilere göre daha fazla kontraksiyon ve kollajen sentezleme özelliğine sahiptirler. Özellikle TGF- β ile aktive olan fibroblastlar daha fazla matriks proteini, matriks proteaz inhibitörü ve integrin reseptörü sentezlerler. Özellikle aktive olmuş makrofaj ve trombositlerden salınan sitokinler (PDGF ve EGF) fibroblast proliferasyonunu artırır. İnflamasyon evresinde görev alan nötrofiller ise bu evrede makrofajlar tarafından fagosite edilerek görevlerini tamamlarlar. Yine bu evrede yaradaki hematojen dolgunun içine doğru hasarlı dokunun çevresindeki venüllerdeki endotel hücrelerinin çoğalması ve damarlanma ile kapillerleri oluşturması ile bir damarlanma artışı görülür. Aynı zamanda yaralanmadan birkaç gün sonra yara kenarlarındaki ve yara içinde sağlam kalmış cilt eklerindeki (kıl, yağ follikül epiteli gibi) epitelyal hücrelerde çoğalmanın tetiklenmesi ile yaranın kapanmasını sağlayan epitelyal hücre örtüsü (epitelizasyon) oluşmaya başlar. Epitelizasyonu tetikleyen mekanizmalar tam olarak ortaya konamamış olsa da makrofaj ve epitel hücrelerinden salınan sitokinler ile kontrol edildiklerine dair bulgular vardır. Epitelizasyonu tetikleyen epidermal

büyüme faktörü (EGF) trombositlerden salgılanır, ancak kollajenin varlığı da epitelizasyonu tetikler. Epitelizasyon kontakt inhibisyon ile sona erer (14,15).

2.3.4. Maturasyon Evresi

Yara iyileşmesinin en uzun ve en az anlaşılmış evresidir. Yaranın kapanmasını takiben aylarca sürebilen, yaranın zeminindeki fibröz dokunun fibroblastlar tarafından modifiye edilerek yara iyileşmesinin son haline yani skar dokusuna çevrildiği evredir. Bu skar makroskopik olarak onu çevreleyen ciltten ayırt edilemez olduğu gibi (atrofik skar), çevre ciltten kabarıklık ve orijinal yara sınırlarında (hipertrofik skar) veya çevre ciltten kabarıklık ancak orijinal yara boyutlarını geçen büyüklükte (keloid skar) olabilir. Hipertrofik skar maalesef tedavi görmüş birçok yanık hastasında sıklıkla görülen skar çeşididir (14).

2.4. Yanıkta Yara İyileşmesi

Yanık yarasında iyileşmeyi sağlayan biyolojik süreçler diğer yara tiplerinden daha farklı işlemektedir. Yanık yarası ve diğer yaralar arasındaki ilk ve en aşikâr fark yanık hasarının kan damarları üzerine olan etkisidir. Yanık hasarı, hasarın olduğu bölgedeki kan damarlarına zarar vererek hasar bölgesine olan kan akımını azaltır veya durdurur ve bu bölgeyi çevreleyen bölgedeki kan akımını da değiştirir (17). Bir yanık yarası doku değişimlerine göre 3 bölgeye ayrılabilir. Ortada ısının doğrudan etkileyip protein denatürasyonu yapması ve ciltteki kan damarlarının koagülasyonuna bağlı oluşan geri dönüşümsüz cilt ölümünün gerçekleştiği koagülasyon bölgesi yer alır. Bu bölgeyi zaman içinde damarlarda oluşan trombüsler, fibrin depolanması, endotel şişmesi ve vazokonstriksiyon sonucunda kan akımının azaldığı staz bölgesi çevreler. Buranın da çevresinde yanmış cilt ile yanmamış cilt arasında yer alan belirgin vazodilatasyon sonucu kan akımının arttığı hiperemi bölgesi mevcuttur (12,17). Yanık hasarının kan damarları üzerindeki bu etkisi sonucunda kan damarlarında ya hiç yırtılma olmaz ya da çok az olur ve diğer yaralardan farklı olarak yara bölgesinde hemoraji görülmez. Neticede yara iyileşmesinin ilk baştaki hasar sınırlayıcı safhasında oluşan hematojen dolgu yanık yarasında oluşmaz.

Cilt hasarı genellikle ciltteki hücrelerin vital aktiviteleri ile değerlendirilirse de cildin yapısal elemanlarının hasarı da değerlendirmeye alınmalıdır. Bu sebeple yanık yarasındaki iyileşme ölçütleri diğer yara tiplerinden önemli derecede farklılık gösterebilir. Yara bölgesinde yaranın sınırlarını belirleyen hemorajinin olmaması nedeniyle iyileşen bölgenin kesin olarak tanımlanması mümkün olmayabilir.

Ciltte üç ana hücre popülasyonu bulunmaktadır. Epitelyal hücreler epidermisin yüzeyini kapamakta ancak aynı zamanda kıl follikülü, ter ve yağ bezlerinin de yapısını oluşturmaktadır. Fibroblastlar dermiste bulunurlar ve cilde gerilme kuvvetini sağlayan kollajeni oluştururlar. Endotel hücreleri ise kan damarlarında bulunmaktadır. Epitelyal hücre desteği iyileşme oranını artırmakla kalmayıp aynı zamanda iyileşen dokunun kalitesini de etkiler. Yüzeysel kısmi kalınlıktaki yaralarda yaralanan bölgeye yara kenarlarından ve hasar görmemiş kıl folliküllerinden, ter ve yağ bezlerinden bol miktarda yeni epitel hücre desteği sağlanır. Bu yaralarda dermisin üst kısmında hücresel hasar görülse de yapısal matriks göreceli olarak daha az hasar görmektedir. Bu nedenle iyileşme hasar görmüş yapısal matriksin yerine konmasını içermez ve spontan olarak iyi bir neticeye ilerler. Derin kısmi kalınlıkta ve tam kat kalınlıktaki yaralarda ise yeni epitel desteği derin yapılarıdaki epitel kaynakları tahrip olduğu için sadece yara kenarları ile sınırlı kalmaktadır. Hasar görmüş yapısal matriksin temizlenmesi ve yenilenmesi gerekmektedir. Bu şartlar altında yara iyileşmesi sadece yara kenarlarından olacaktır ki bu durum oldukça uzun bir süre alabilir ve cerrahi girişim gerektirebilir (17).

2.5. Trombosit Zengin Plazma ve Özellikleri

Son 20 yılda kutanöz yara iyileşmesinin regülasyonundaki hücresel ve moleküler ayrıntılar oldukça detaylı olarak incelenmiştir. Hiçbir ekzojen ajan tek başına yara iyileşmesinin tüm aşamalarını etkilememez. Trombosit zengin plazma (TZP), plazmanın içindeki trombositlerden gradient dansite santrifüj yöntemi ile elde edilmiş trombosit konsantrasyonudur. Yara iyileşmesini artırmak amacıyla ilk olarak Whitman ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (24). Trombosit zengin plazma, çeşitli yumuşak ve sert doku defektlerinin tedavisi amacıyla hemen hemen tüm cerrahi dallarda giderek artan bir sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. En çok kemik iyileşmesi ve iyileşmeyen kronik yaraların tedavisinde kullanılır (17).

Trombositler yara iyileşmesinde damarlanmayı tetiklemek, mezenkimal hücreleri uyarmak ve yara iyileşmesi için gerekli büyüme faktörlerini sağlamak gibi oldukça önemli bir role sahiptirler. Trombositler doğal yara iyileşmesinin sağlanması için gerekli büyüme faktörlerinden oldukça zengindirler. Trombin gibi bazı proteinler trombosit degranülasyonu ile bu faktörlerin salınmasını sağlarlar. Trombosit granülleri katekolaminler, serotonin, adenosin trifosfat (ATP), albumin, fibrinojen, osteonektin, osteokalsin, kalsiyum gibi biyolojik olarak aktif birçok madde ve çeşitli pıhtılaşma faktörleri ile lokal olarak etkili

trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü α (TGF- α), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), interlökin-1 (IL-1) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerini içerirler (5, 17). Bu büyüme faktörleri hücrel kemotaksisi, proliferasyonu, differansiasyonu ve ekstraselüler matriks depolanmasını artırır (7). TGF- β bunların arasında daha değerli olup doku iyileşmesinin birçok kısmını etkilemektedir. Bu nedenle kronik iyileşmeyen yaraların tedavisinde terapötik değeri olduğu saptanmıştır (2). Bir diğer önemli büyüme faktörü PDGF ise dermal rejenerasyonu artırır, protein ve kollajen sentezini tetikler, endotelial göçü ve damarlanmayı artırır (8), TGF- β ekspresyonunu uyarır (9).

Kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen TZP'de normal kan seviyesinin yaklaşık 3 ile 6 katı konsantrasyonda trombosit bulunmaktadır (18,21). Marx ve arkadaşları TZP'nin litrede en az 1000×10^9 trombosit içerdiğini bildirmişlerdir (22). Trombosit zengin plazma, genellikle otolog kan santrifüj edildikten sonra trombin ve kalsiyum klorür veya vitamin C ile kombine edilerek adeta cerrahi bir greft materyali olacak şekilde visköz koagülan bir jel haline getirilir (1). Ancak TZP hazırlanması için hastadan alınacak kanın anemiye yol açması ve genel durumu kötü hastalarda otolog kan almanın mümkün olmaması ve TZP'nin uzun süre depolanamaması gibi dezavantajlar nedeniyle homolog TZP kullanımı devreye girmiş ve en az otolog TZP kadar başarılı olmuştur (21).

Trombosit zengin plazma osteoblast kültürlerinde osteoblast proliferasyonunu ve matriks oluşumunu artırır (19). Hayvan modellerinde otolog kemik iliği ve TZP ile kombine edilen otolog kemik greftlerinde uzun kemik kırıkları sonrası kemik iyileşmesinin ve remodellingin arttığı gösterilmiştir (19, 20). Yine insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada akut travma yaralarında otolog TZP kullanımının yara iyileşmesini artırdığı gösterilmiştir (17).

Trombosit zengin plazma, yara iyileşmesinde epitelizasyonu, keratinosit farklılaşmasını, organize kollajen oluşumunu artırır ve aşırı skar oluşumunu azaltır (2,6). Atlar üzerinde yapılan bir çalışmada eksizyonel yara iyileşmesini artırdığı gösterilmiştir (2). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada özellikle iyileşmeyen kutanöz yaralarda başarılı olduğu görülmüştür (6). Herhangi bir yan etki, aşırı skar oluşumu, malign transformasyon görülmemiştir. Trombosit zengin plazma, Marquez-De-Aracena ve arkadaşları tarafından oküler yanıklarda topikal olarak kullanılmış ve yara iyileşmesini ve epitelizasyonu artırdığı gösterilmiştir (23). Trombosit zengin plazmanın kolon anastomozu yapılan ratlarda anastomoz sonrası inflamasyon, remodelling ve vaskülarite üzerine olumlu etkiler yaptığı gösterilmiştir (1).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Tipi

Deneysel çalışma protokolu Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Kurulu tarafından etik ve bilimsel yönden onaylandıktan sonra 'National Institute of Health Guide for the care and use of laboratory animals' kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Denejde kullanılan ratlar Başkent Üniversitesi Araştırma Merkezine bağlı Denej Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilmiştir.

3.2. Araştırma Yeri ve Ortamı

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi (BÜTF) Deneysel Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada herbiri randomize olarak seçilen, ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen erişkin 30 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Ratlar çalışmaya başlamadan 1 hafta önce üretim merkezinden araştırma merkezine getirilerek sıcaklığı sabit ortamda (22 °C), 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamında tutularak ve standart rat yemi verilerek deneje hazırlandı. Denejde kullanılacak ratlar 12 saat önce aç bırakılarak sadece su içmelerine izin verildi.

Denej sonrası, denekler herbiri ayrı kafeslerde normal oda ısısı ve atmosferine bırakılarak standart rat yemi ve su verilerek bir hafta izlendi.

3.3. Anestezi

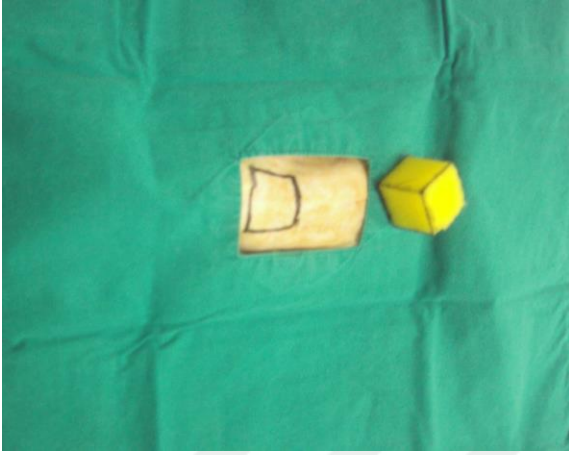
Bütün hayvanların anestezisi, 50 mg/ kg ketamin hidroklorür (Ketalar® Eczacıbaşı Warner-Lambert ilaç sanayi, Levent, İstanbul) ve 10 mg/kg xylazine hidroklorit'in (Rompon® Bayer, Şişli, İstanbul) aseptik şartlarda intraperitoneal verilmesi ile sağlandı. Yanık modeli uygulanan ratlara işlem sonrası fentanil sitrat (Fentanyl Citrate ampul Abbott, Beykoz, İstanbul) 0,02 micg/kg dozunda subkutan 2x1 enjeksiyon yapılarak analjezi sağlandı. Tüm ratların sakrifikasyonu yine anestezi altında (ketamin hidroklorür 60 mg/kg intraperitoneal) servikal dislokasyon ile gerçekleştirildi.

3.4. Yanık Modeli

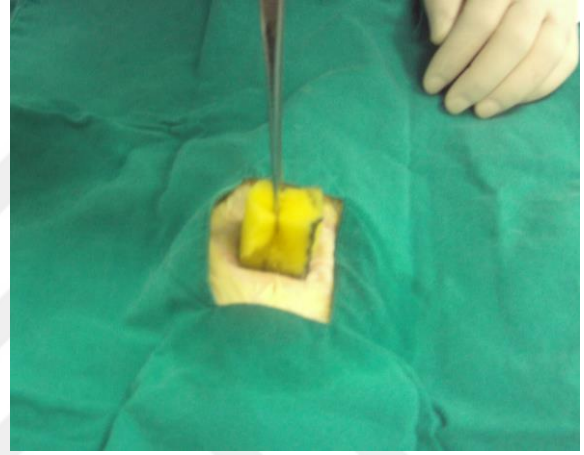
Yanık modeli olarak daha önceden Sawada ve arkadaşlarının kullandığı bir yöntemin modifikasyonu olan yanık modeli uygulandı (13). Kaynamakta olan su (100°C) içinde bekletilen 3x3x3 cm boyutlarında küp şeklinde kesilmiş Vileda (© Procter&Gamble) marka

sünger sırtta önceden belirlenmiş ve hazırlanmış bölge üzerine 35 saniye boyunca kendi ağırlığı ile uygulandı. Optimum sürenin saptanabilmesi için 5 adet rat ile ön çalışma yapılarak ratlar 15, 20, 25, 30, 35 saniye yakılarak histopatolojik olarak yanık derinliği incelendi ve 35 saniyede istenen yanık derinliğine ulaşıldığı görüldü. Tüm ratların sırt derileri işlemiden önce traş edildi, povidon-iyodin solüsyonu ve steril serum fizyolojik ile saha hazırlandı (Resim 1,2).

Yanık oluşturulan tüm ratlarda yüzeysel kısmi kalınlıkta yanık oluşturulduğu histopatolojik olarak teyid edildi.



Resim 1



Resim 2

Resim 1,2:

- 1:** Sırt derisi traş edilmiş, povidon-iyodin ve serum fizyolojik ile hazırlanmış rat
- 2:** Sıcak suda beklemiş sünger ile yanık oluşturulması

3.5. Araştırma Grupları

Yapılan istatistiksel ön çalışma ile istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunabilmesi için gereken minimum rat sayısının 8 olduğu tespit edildi. Deney sürecinde ortalama %20 rat kaybı olabileceği göz önüne alınarak grupların 10 adet rattan oluşturulmasına karar verildi. Çalışma için seçilen toplam 30 rat 3 gruba ayrıldı. Çalışma grubu, kontrol grubu ve kan donörü grubu.

Grup 1 (Çalışma Grubu): 10 adet rata yukarıda tarif edildiği şekilde sırt derisinde yanık oluşturulduktan sonra yanık bölgesi trombosit zengin plazma ile kaplanıp üzerine Opsite drape (© Smith&Nephew, Medical Limited, İngiltere) yapıştırıldı ve 7 gün sonra sakrifiye edildi (Resim 2,3,4).

Grup 2 (Kontrol Grubu): 10 adet rata yukarıda tarif edildiği şekilde sırt derisinde yanık oluşturulduktan sonra yanık bölgesi üzerine serum fizyolojik uygulanıp üzerine Opsite drape (© Smith&Nephew, Medical Limited, İngiltere) yapıştırıldı ve 7 gün sonra sakrifiye edildi (Resim 4).

Grup 3 (Kan Donörü Grubu): 10 adet ratın vena kava inferiorundan steril şartlar altında laparotomi yapılarak 8 cc kan alınıp 0,5 cc sodyum sitrat içeren protrombin zamanı (PTZ) tüpleriyle trombosit zengin plazma hazırlanması için BÜTF Hastanesi Kan Merkezine teslim edildi (Resim 5,6,7). Kanların alınmasını takiben ratlar sakrifiye edildi.



Resim 3



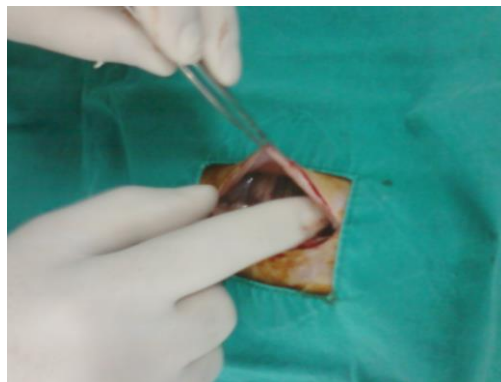
Resim 4

Resim 3: Yanık oluşturulduktan sonra trombosit zengin plazmanın uygulanması

Resim 4: Yanık yarasının opsite drape ile sarılması



Resim 5



Resim 6



Resim 7

Resim 5: Laparotomi için karnın traş edilip boyanması

Resim 6: Laparotomi

Resim 7: Vena kava inferiorundan kan alınması

3.6. Araştırma Parametreleri

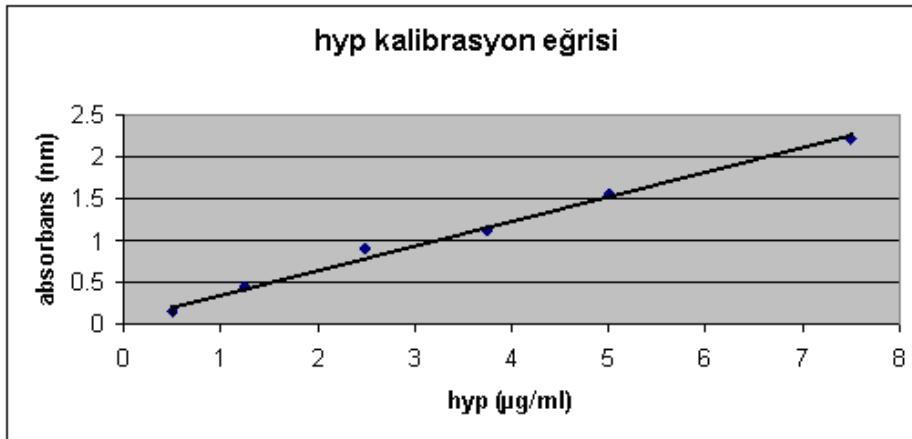
Yedinci günde sakrifiye edilen ratlardan alınan yanık doku örneklerinin yarısı doku hidroksprolin tayini için Biyokimya Anabilim Dalı'na diğer yarısı ise histopatolojik inceleme için Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Yanık dokularda doku hidroksprolin düzeyinin tayini ve histopatolojik incelemeler yapıldı. Deney sürecinde her iki gruptan ikişer adet rat kaybedildi. Deney bulguları 8'er rat üzerinden değerlendirildi.

3.6.1. Doku Hidroksprolin Düzeyinin Ölçülmesi

Doku örneklerinde hidroksprolin (hyp) derişiminin saptanması, Reddy ve Enwemeka'nın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (25). Yöntem, serbest hyp'nin kloramin-T ile oksidasyonu sonrası Ehrlich reaktifi ile oluşturduğu renkli bileşiğin spektrofotometrik olarak analizi esasına dayanmaktadır.

Çalışmada doku örnekleri analize kadar -86°C'de saklanmıştır. Analiz öncesi derin dondurucudan alınan örnekler liyofilizasyon işlemi sonrası 2gr/5ml olacak şekilde fizyolojik salin kullanılarak cam-cam homojenizatör ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar standart hyp (0,5-5 µg/50µl) ve kollajen çözeltileri alkali ortamda (2N NaOH) hidroliz edilmiştir. Nötralizasyon sonrası örneklerin kloramin-T ile oksidasyonu sağlanmış ve Ehrlich reaktifi ile oluşturdukları renkli bileşiğin absorbansı 563 nm'de reaktif körüne karşı spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür (Shimadzu UV-1601).

Kollajen çözeltileri ile yapılan çalışma ile baz hidrolizinin tam olarak gerçekleştiği doğrulanmıştır. Hyp standartları kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi örneklerde hyp derişiminin belirlenmesinde kullanılmıştır (Şekil 1). Her örnek çift olarak çalışmaya alınmış ve hyp derişimleri (µg hyp/gr kuru doku) aritmetik ortalama olarak ifade edilmiştir.



Şekil 1: Hyp kalibrasyon eğrisi ($y=0.2892x + 0.0769$)

3.6.2. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tek bir patolog tarafından yapıldı. Alınan dokular %10'luk formaldehit solüsyonu ile fikse edilip parafin bloklara gömüldü. Daha sonra alınan kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Hematoksilin-eozin (H-E) boyama ile yara iyileşmesi evreleri, trikrom boyama ile de kollajen birikimi 100 ve 200 büyütme ile incelendi.

Yara iyileşme süreci değerlendirilirken polimorfonükleer lökosit (PMNL), fibroblast, damar proliferasyonu ve kollajen birikimi modifiye Ehrlich-Hunt skorlaması ile değerlendirildi (tablo 1). Epitelizasyon varlığı ise var/yok olarak kaydedildi.

PMNL					
Fibroblast					
Kollajen	Yok	Fokal	Hafif	Orta	Belirgin
Damarlanma					
Değer	0	1	2	3	4

Tablo 1: Modifiye Ehrlich-Hunt skorlaması

3.7. Trombosit Zengin Plazmanın Hazırlanması

Her bir rattan alınan kan 0,5 cc sodyum sitrat içeren protrombin zamanı (PTZ) tüplerine dolduruldu ve BÜTF Hastanesi Kan Merkezi'nde iki aşamalı santrifüj işlemine tabi tutuldu. Önce kısa ve yavaş bir santrifüj (1500 devir/dk, 20°C, 10 dakika) ile kanın kırmızı küre ve plazma fraksiyonu ayrıldı. Ardından daha uzun ve hızlı bir santrifüj ile (2000 devir/dk, 20°C, 15 dakika) trombosit fakir plazma ile trombosit konsantresi ayrıldı. Trombosit konsantresi trombin (Diathrombin; Diamed, İsviçre) ve kalsiyum klorid (Calcium chloride; Diamed, İsviçre, 0.02 mol/L) ile birleştirilerek visköz koagülan bir jel oluşturuldu. Karışım oranı 1 ml trombosit konsantresi/0.1 ml trombin/1 ml kalsiyum klorid olarak belirlendi (1). Hazırlanan trombosit zengin plazma bir saat içinde kullanılacak şekilde deney gerçekleştirildi. Standart TZP hazırlama protokolü uygulandığı için trombosit içeriğinin miktarı ölçülmedi.

3.8. İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizleri SPSS 11.0 programı ile yapıldı. Histopatolojik hücre skorlamaları gibi nonparametrik veriler Ki-kare testi ile doku hidroksiprolin düzeyi gibi parametrik veriler ise Student-T testi ile değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

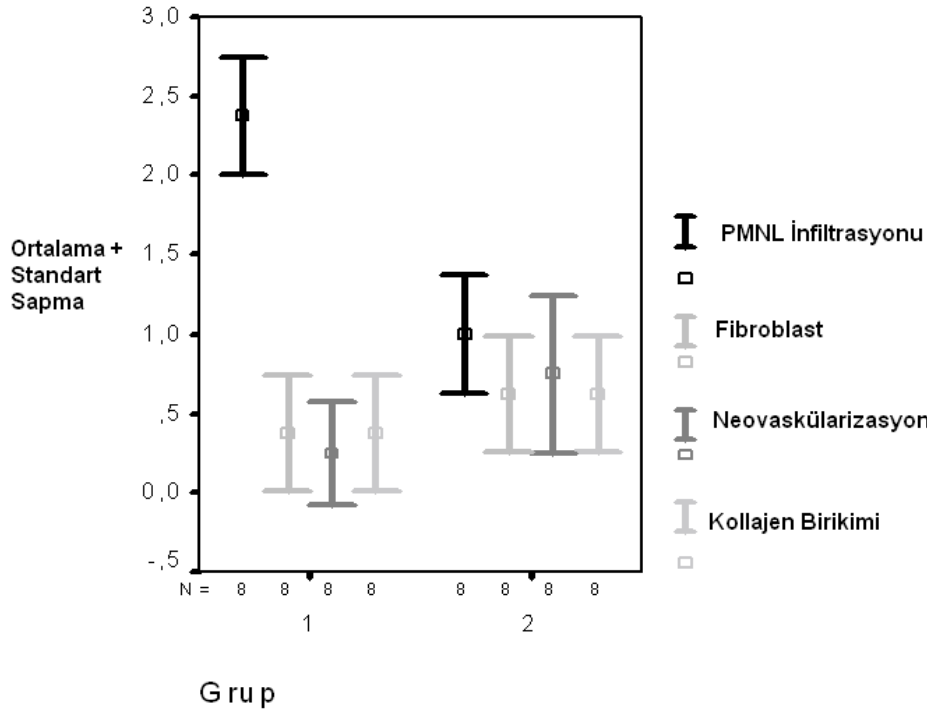
4. BULGULAR

Araştırma bulguları iki bölümde incelendi. Birinci bölümde her iki gruptaki yanık derisindeki patolojik değişiklikler ve çalışma sonunda çıkarılan yanık dokusundaki yara iyileşmesi histopatolojik olarak karşılaştırılırken ikinci bölümde ise her iki gruptaki iyileşmiş yanık dokusunun hidroksiprolin düzeyleri karşılaştırıldı.

4.1. Histopatolojik Bulgular

Deneyssel olarak yanık oluşturulan her iki grupta da makroskopik ve mikroskopik düzeyde yüzeysel kısmi kalınlıkta yanık oluşturulduğu tespit edildi. Makroskopik olarak pembe renkli, basmakla kapiller dolaşımın görüldüğü yanık oluşturulurken mikroskopik olarak epidermisin tamamı ve papiller dermisin hasarlandığı yüzeysel kısmi kalınlıkta yanık (yüzeysel ikinci derece yanık) oluşturulduğu gözlemlendi.

Genel olarak bakıldığında ikinci grupta (kontrol grubu) yara iyileşmesinin inflamatuvar evrede durakladığı birinci grupta (çalışma grubu) ise iyileşmenin daha iyi olduğu ve proliferatif evreye geçtiği görüldü ancak yapılan istatistiksel analiz sonucunda iki grup arasında PMNL infiltrasyonu haricinde diğer bulgularda istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Şekil 2).



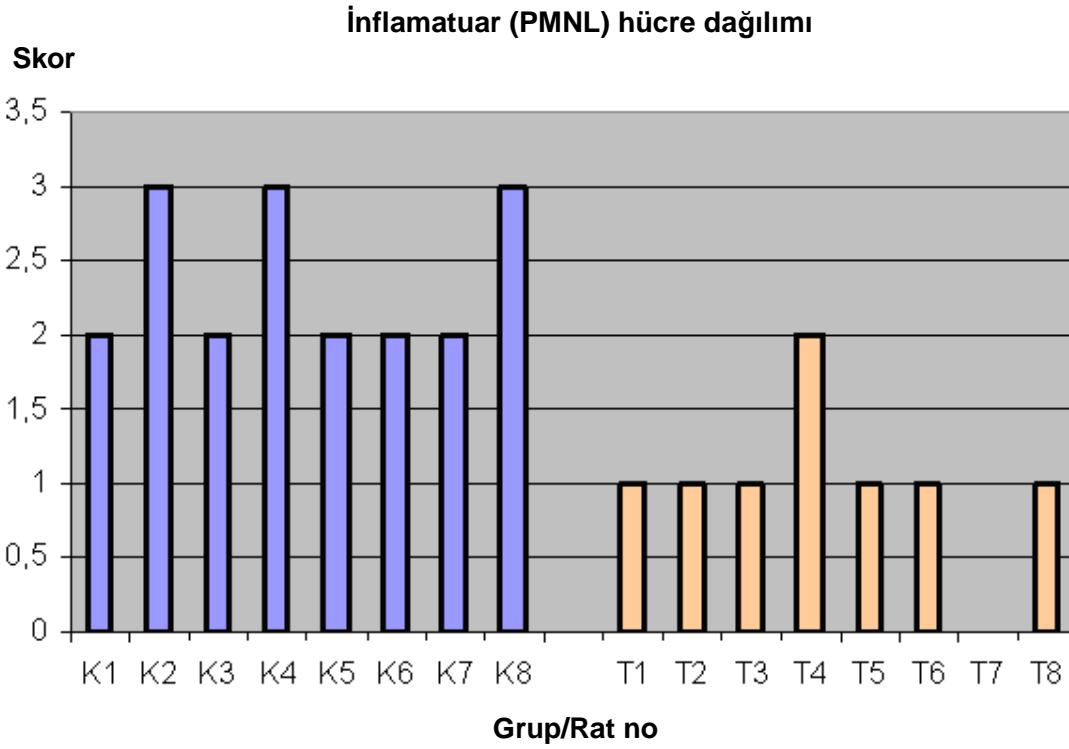
Şekil 2: Gruplara göre PMNL, fibroblast, damarlanma ve kollajen birikimi

4.1.1. İnflamatuvar Hücre (PMNL) Dağılımı

İnflamatuvar hücre yoğunluğunun gruplara göre dağılımı tablo 2 ve şekil 3'te, histopatolojik görünümleri ise resim 8 ve resim 9'da gösterilmiştir.

Grup \ Rat No	1	2	3	4	5	6	7	8
	Grup 1 (Çalışma Grubu)	1	1	1	2	1	1	0
Grup 2 (Kontrol Grubu)	2	3	2	3	2	2	2	3

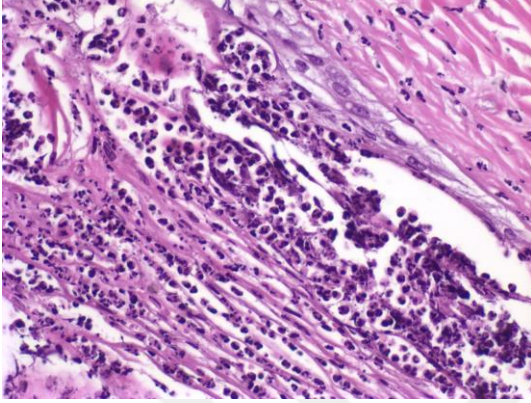
Tablo 2: İnflamatuvar (PMNL) hücre dağılımı



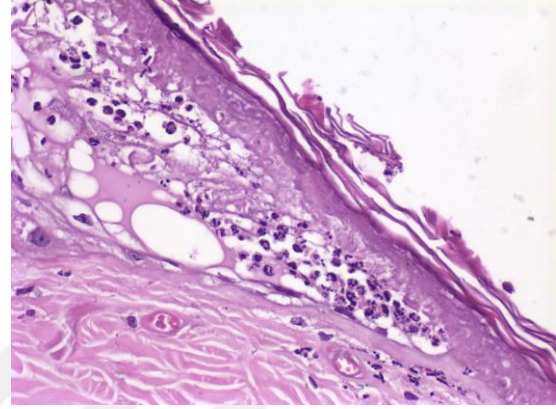
Şekil 3: İnflamatuvar (PMNL) hücre dağılımı

Kısaltmalar; K: Kontrol grubu (grup 2); T: Trombosit zengin plazma grubu (grup 1)

Birinci grubun (çalışma grubu) ortalama ve standart hatası 1 ± 0.53 iken ikinci grubun (kontrol grubu) ortalama ve standart hatası 2.375 ± 0.51 olarak saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ve kontrol grubunda yara iyileşmesinin inflamasyon evresinde kaldığı saptandı ($p=0.005$).



Resim 8: Orta derecede PMNL birikimi
(H-E x 40 büyütme, grup 2)



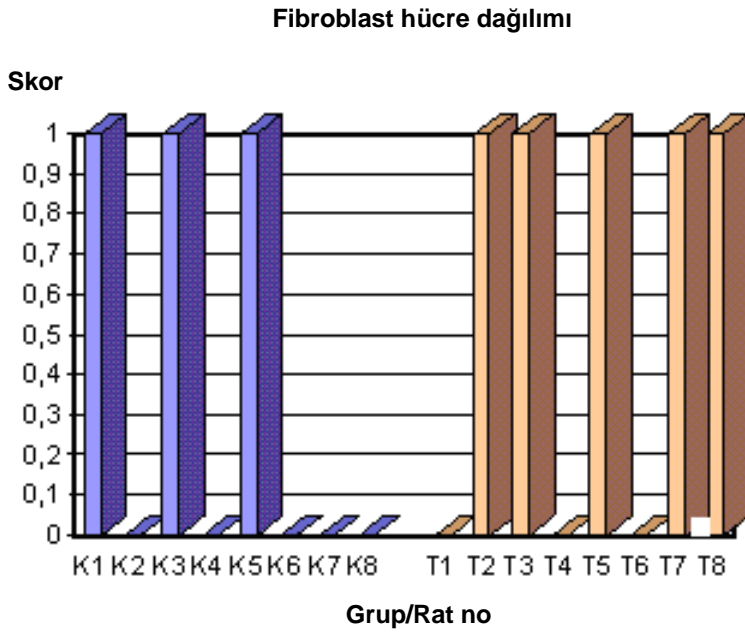
Resim 9: Hafif derecede PMNL birikimi
(H-E x 40 büyütme, grup 1)

4.1.2. Fibroblast Hücre Dağılımı

Fibroblast hücre yoğunluğunun gruplara göre dağılımı tablo 3 ve şekil 4'te, histopatolojik görünümü ise resim 10'da gösterilmiştir.

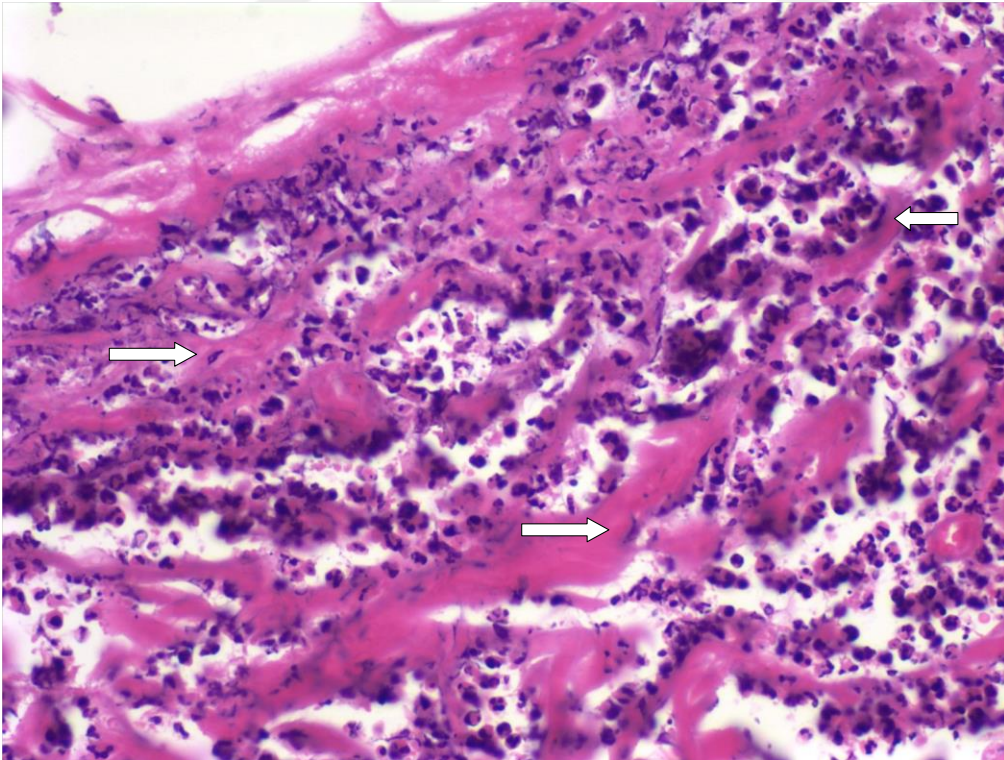
Grup \ Rat No	Rat No							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Grup 1 (Çalışma Grubu)	0	1	1	0	1	0	1	1
Grup 2 (Kontrol Grubu)	1	0	1	0	1	0	0	0

Tablo 3: Fibroblast hücre dağılımı



Şekil 4: Fibroblast hücre dağılımı

Kısaltmalar; K: Kontrol grubu (grup 2); T: Trombosit zengin plazma grubu (grup 1)



Resim 10: Fokal fibroblast birikimi

(H-E x 40 büyütme, grup 1)

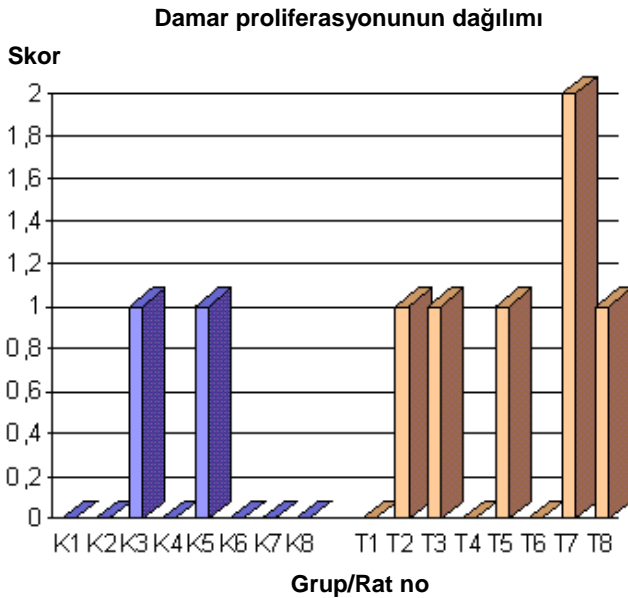
Birinci grubun (çalışma grubu) ortalama ve standart hatası 0.625 ± 0.51 iken ikinci grubun (kontrol grubu) ortalama ve standart hatası 0.375 ± 0.51 olarak saptandı. Fibroblast hücre dağılımı açısından her iki grup karşılaştırıldığında çalışma grubunda daha fazla fibroblast birikimi görüldü ancak istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.31$).

4.1.3. Damar Proliferasyonu

Damar proliferasyonunun gruplara göre dağılımı tablo 4 ve şekil 5'te, histopatolojik görünümü ise resim 11'de gösterilmiştir.

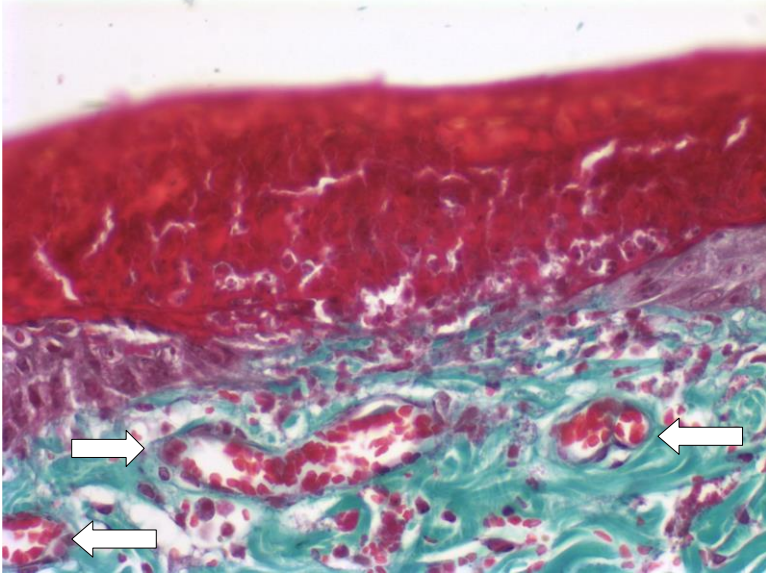
Grup \ Rat No	1	2	3	4	5	6	7	8
Grup 1 (Çalışma Grubu)	0	1	1	0	1	0	2	1
Grup 2 (Kontrol Grubu)	0	0	1	0	1	0	0	0

Tablo 4: Damar proliferasyonunun dağılımı



Şekil 5: Damar proliferasyonunun dağılımı

Kısaltmalar; K: Kontrol grubu (grup 2); T: Trombosit zengin plazma grubu (grup 1)



Resim 11: Damar proliferasyonu

(Trikrom boyama x 40 büyütme, grup 1)

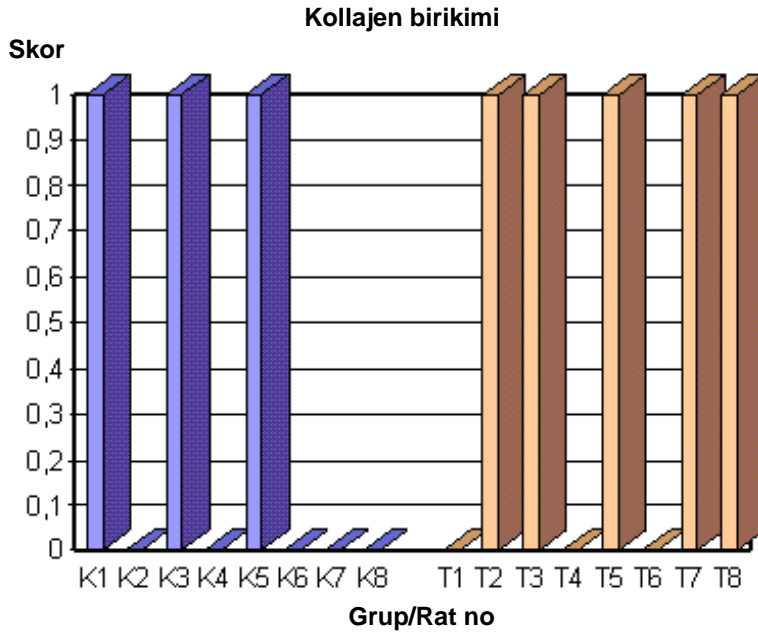
Birinci grubun (çalışma grubu) ortalama ve standart hatası 0.75 ± 0.7 iken ikinci grubun (kontrol grubu) ortalama ve standart hatası 0.25 ± 0.46 olarak saptandı. Damarlanma açısından her iki grup karşılaştırıldığında çalışma grubunda daha fazla damar proliferasyonu görüldü ancak istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.26$).

4.1.4. Kollajen Birikimi

Kollajen birikiminin gruplara göre dağılımı tablo 5 ve şekil 6'da, histopatolojik görünümü ise resim 12'de gösterilmiştir.

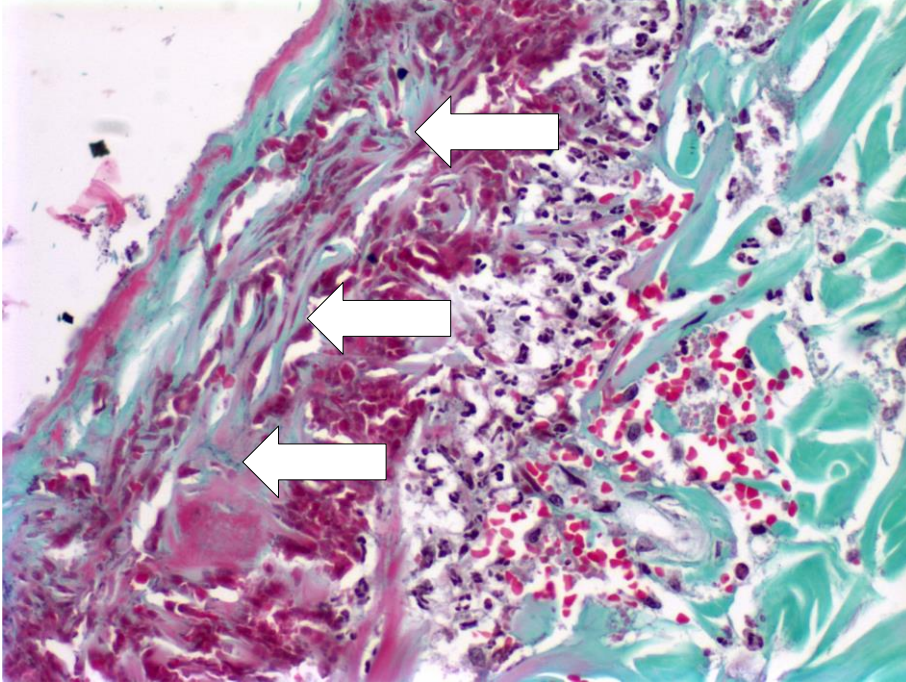
Grup \ Rat No	Rat No							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Grup 1 (Çalışma Grubu)	0	1	1	0	1	0	2	1
Grup 2 (Kontrol Grubu)	0	0	1	0	1	0	0	0

Tablo 5: Gruplara göre kollajen birikimi



Şekil 6: Gruplara göre kollajen birikimi

Kısaltmalar; K: Kontrol grubu (grup 2); T: Trombosit zengin plazma grubu (grup 1)



Resim 12: Kollajen birikimi

(Trikrom boyama x 40 büyütme, grup 1, yeşil renk ile boyalı alanlar kollajen birikimini göstermektedir)

Birinci grubun (çalışma grubu) ortalama ve standart hatası 0.625 ± 0.51 iken ikinci grubun (kontrol grubu) ortalama ve standart hatası 0.375 ± 0.51 olarak saptandı. Kollajen birikimi açısından her iki grup karşılaştırıldığında çalışma grubunda daha fazla kollajen birikimi görüldü ancak istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.31$).

4.1.5. Epitelizasyon

Birinci gruptaki (çalışma grubu) ratların %37.5'inde epitelizasyon görülürken ikinci gruptaki (kontrol grubu) ratların %25'inde epitelizasyon görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Epitelizasyon	Grup 1	Grup 2
Var (%)	37.5	25
Yok (%)	62.5	75

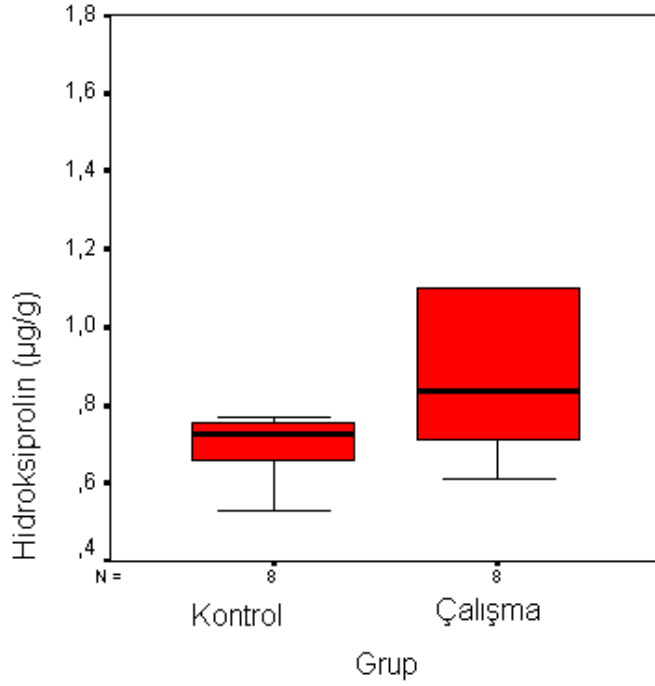
Tablo 6: Epitelizasyon oranları

4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

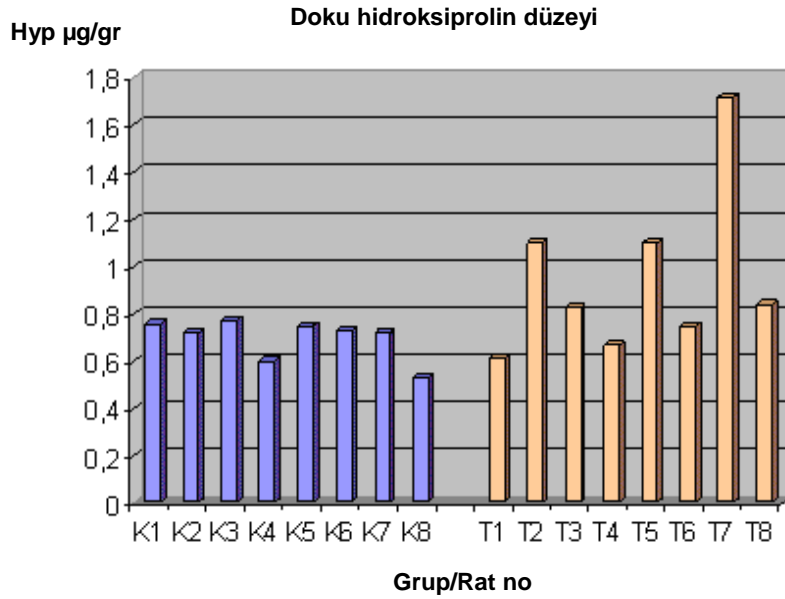
Doku hidroksiprolin düzeyinin gruplara göre dağılımı tablo 7 ve şekil 7 ve şekil 8'de gösterilmiştir.

Grup \ Rat No	1	2	3	4	5	6	7	8	Ortalama \pm Standart hata
	Grup 1 (Çalışma Grubu)	0.61	1.1	0.83	0.67	1.1	0.75	1.72	
Grup 2 (Kontrol Grubu)	0.76	0.72	0.77	0.6	0.75	0.73	0.72	0.53	0.69 \pm 0.08

Tablo 7: Gruplara göre doku hidroksiprolin düzeyi dağılımı ($\mu\text{g hyp/gr}$ kuru doku)



Şekil 7: Gruplara göre doku hidroksiprolin düzeyi dağılımı ($\mu\text{g hyp/gr}$ kuru doku)



Şekil 8: Doku hidroksiprolin düzeyi ($\mu\text{g hyp/gr}$ kuru doku)

Kısaltmalar; K: Kontrol grubu (grup 2); T: Trombosit zengin plazma grubu (grup 1)

Birinci grubun (çalışma grubu) ortalama ve standart hatası 0.95 ± 0.35 iken ikinci grubun (kontrol grubu) ortalaması 0.69 ± 0.08 olarak saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ve çalışma grubunda doku hidroksiprolin düzeyinin daha yüksek olduğu görüldü ($p=0.03$).

5. TARTIŞMA

Yanık alanının genişliği, hastanın yaşı ve yanık derinliği termal yanıklardan sonra mortalite ve morbiditeyi belirleyen en önemli etkenlerdir. Yine yanık derinliği hastanın uzun dönemdeki dışgörünüşünü ve fonksiyonlarını belirleyen en önemli etkidir (26). Yanık sonrasında meydana gelen immüsupresyon, malnutrisyon ve yanık dokusunun mikroorganizmalar için uygun bir üreme ortamı oluşturması nedeniyle enfeksiyonlar halen en önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Yine major yanıklardan sonra gümüş sülfadiazin kullanımı ve sepsise bağlı olarak kemik iliği baskılanır (26). Bu durum da yanıkta yara iyileşmesini baskılayan en önemli etkenlerden biridir. Kemik iliği hücrelerinin kronik bir yaraya topikal olarak uygulanmasını takiben yara akut bir yara gibi iyileşmeye başlar ve bir cilt grefti ile kapatılabilir (26). Laboratuvar çalışmalarında yaraya kemik iliği nakledildiğinde bu ilik hücrelerinin dermal fibroblast popülasyonunu yeniden oluşturduğu ve lokal cilt hücrelerinin de epidermisi yeniden oluşturdukları gösterilmiştir (27). Yine yapılan bir çalışmada dermal fibroblastlara göre kemik iliği stromal hücrelerindeki kollajen sentezi ile bFGF ve VEGF düzeylerinin daha fazla olduğu görülmüştür (28). Bu durum bize topikal olarak uygulanan kemik iliği hücrelerinin yara iyileşmesini artırdığını göstermektedir. Yine bir çalışmada bu hücrelerin damarlanmayı artırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (29).

Geniş yüzey alanına sahip yanıkların tedavisi oldukça problemlidir. Bu hastalarda erken debridman ve greftleme için kullanılacak otogreft miktarının yetersizliği tedavideki en önemli kısıtlayıcıdır (30). Bu nedenle bu hastalarda yara örtüm materyallerinin ve yapay derilerin kullanımı devreye girmiştir ancak halen bu ürünlerin kullanım endikasyonları net değildir. Derin kısmi yanıklarda ve tam kat yanıklarda yara iyileşmesindeki en önemli problem hücre ve yapısal matriks desteğinin yetersizliğidir. Geleneksel olarak cildin epitelizasyonu yara iyileşmesi olarak kabul edildiğinden ilk geliştirilen ürün laboratuvar ortamında üretilen epitelyal hücreler olmuştur. Buradaki en önemli problem ise hücrelerin yaraya uygulanabilecek hale gelene kadar geçen süredir. Geniş yanıklarda kullanılacak birkaç bin cm² alan için bu süre minimum 3 haftadır (30). Bu süre içinde ise doktorun hastanın tedavisindeki zorluklarla başa çıkması ve yarayı cilt hücre kültürünün uygulanması için hazır hale getirmesi gerekmektedir. Kullanılacak yara örtüm materyallerinin yara üzerinde bariyer oluşturarak sıvı kaybını önlemesi ve mikroorganizmalardan koruması, yara iyileşmesinde çoğalan hücreleri desteklemesi, damarlanmaya izin vermesi ve keratinositlerin tutunmasına ve farklılaşmasına izin vermesi gerekmektedir. Bütün bu özelliklere sahip bir yara örtüm

materyali henüz mevcut değildir. Bu problemlerin aşılması ve rutin klinik uygulamaya geçilebilmesi için zamana ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Epidermisin devamlılığını sağlamak üzere keratinositlerin farklılaşması organizma ve çevresi arasında önemli bir bariyer oluşturur. Yara iyileşmesi fibrin pıhtının oluşumu ile tetiklenir ve sonrasında inflamatuvar hücrelerin birikimi, damarlanma ile granülasyon dokusunun oluşması, fibroblast proliferasyonu, keratinositlerin göçü, dermisin kontraksiyonu ve skar maturasyonu ile sonuçlanır. Doku hasarına verilen cevapta keratinositler vücudun ilk savunma hattı olarak hemen yanıt verirler. Hasar sonrası keratinositler aktive olurlar ve çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri salgırlar. Yine keratinositler gibi kutanöz kök hücreler de doku hasarı sonrası aktive olurlar ve yara iyileşmesini hızlandırır (31).

Trombosit zengin plazma sadece çok miktarda trombosit içermekle kalmaz aynı zamanda tüm pıhtılaşma faktörlerini de içerir. Aktive olmuş trombositlerden salgılanan birçok sitokin ve büyüme faktörü yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarını etkilemektedir. Trombositler pıhtılaşmadan yaklaşık 10 dakika sonra bu faktörleri salgılamaya başlarlar ve büyüme faktörlerinin %95'inden fazlası bir saat içinde salgılanmış olur. Hazırlandıktan sonra TZIP yaklaşık 8 saat kadar stabil olarak kalır (1).

Trombosit zengin plazmada trombosit granülleri katekolaminler, serotonin, adenosin trifosfat (ATP), albumin, fibrinojen, osteonektin, osteokalsin, kalsiyum gibi biyolojik olarak aktif birçok madde ve çeşitli pıhtılaşma faktörleri ile lokal olarak etkili trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü α (TGF- α), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), interlökin-1 (IL-1), trombosit kaynaklı anjiogenez faktörü ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerini içerirler (5, 17). Bunların arasında en önemli iki büyüme faktörü TGF- β ve PDGF'dir. Polipeptid yapıdaki bu iki büyüme faktörü yara iyileşmesinin her aşamasında kilit öneme sahiptir. Hücre metabolizması, differansiasyon ve büyümeyi tetiklerler. Trombositlerin α granüllerinde en fazla bulunan protein olan trombospondin ise in vivo TGF- β aktivasyonunu sağlar (2).

Hemostaz, trombosit aktivasyonu ve agregasyonu ile oluşturulan fibrin pıhtısı ile sağlanır. Hemostaz oluştuktan sonra fibrin pıhtı, damarlanmayı ve pıhtının iyileşme dokusuna dönüştüğü yeniden düzenlemeyi sağlayan endotelial hücreler ve doku biçimlendiren hücrelerin göçü için bir zemin oluşturur. Birçok invitro ve invivo çalışma yara iyileşmesine katılan hücrelerin hepsinin büyüme faktörlerine duyarlı olduğunu göstermiştir (17). Fibroblastlar, bFGF, PDGFa, PDGFb, IGF ve EGF'ye duyarlıdır (32). EGF, fibroblastlar

için kemotaktik bir faktör olup topikal uygulaması ile epidermal rejenerasyonu ve yara gerilim kuvvetini artırdığı gösterilmiştir (17). Endotelial hücreler bFGF ve VEGF'ye duyarlıdır (33). Damarlanma ise özellikle VEGF, PDGF ve bFGF ile uyarılır (34). Damarlanma oluşumunda yer alan perisitler de yine PDGF ve VEGF bağımlıdır (35). PDGF, fibroblastların ve düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu uyarır ve nötrofiller ile monositler için kemotaktik bir faktördür (2). Yine diabetik ratlarda kullanıldığında PDGF'nin yara iyileşmesinde kollajen birikimini artırdığı gösterilmiştir (2). Kondrosit, osteoblast ve periosteal hücre büyümesi de yine platelet kaynaklı PDGF ve bFGF ile uyarılmaktadır (36).

TGF- β 1 normalde yara bölgesine göç eden birçok hücre tarafından üretilir. TGF- β 1 hücrelerin differansiasyonunu, proliferasyonunu, kemotaksis ve birçok ekstraselüler matriks proteininin sentezini regüle eder. Makrofajlardan hidrojen peroksit salınımı TGF- β tarafından baskılanır ki böylece makrofaj tarafından salgılanan büyüme faktörleri ve sitokinler etkilerini gösterebilirler (2). Hayvan modellerinde topikal olarak ekzojen TGF- β 1 kullanımının granülasyon dokusunu, kollajen oluşumunu ve yaranın gerilme kuvvetini artırdığı gösterilmiştir (2). Trombosit zengin plazmada trombosit fakir plazmaya göre 4 kat daha fazla TGF- β olduğu saptanmıştır (2). TGF- β , bazal keratinosit proliferasyonunu azaltır ve suprabazal hücrelerin differansiasyonunu artırarak epidermal rejenerasyonu artırır (2). Yine fibroblastların TGF- β ile uyarılması sonucu kollajen, fibronektin ve glikozaminoglikan sentezi artar (2). TGF- β , erken dönemde yarada kollajen sentezini ve kollajenin hızlı maturasyonunu tetikler (2). PDGF ve TGF- β birlikte kullanıldığında sadece TGF- β kullanımına göre kollajen birikimini daha fazla artırdığı gösterilmiştir (2).

Trombosit zengin plazmanın oral ve maksillofasyal cerrahide kombine yumuşak ve sert doku rekonstrüksiyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (17). İyileşmeyen kronik yaralarda da TZP'nin yara iyileşmesini artırdığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (17,37). Yine akut travma yaralarında ve insizyonel yaralarda da TZP yara iyileşmesini iki katına varacak derecede olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (2,17). Trombosit zengin plazma epitelyal differansiasyonu artırdığı gibi kollajenin de daha yoğun ve epidermise paralel sıkıca paketlenmiş lif demetleri şeklinde organize olmasını sağlar (2). Trombosit zengin plazma ile tedavi edilen yaralarda skar gelişimi ve bakteriyel enfeksiyonlara yol açan uzamış inflamasyonun görülmediği ve inflamasyon evresinin kısaldığı gösterilmiştir (2).

Bizim çalışmamızda topikal olarak trombosit zengin plazma uygulanan grupta kontrol grubuna göre beklenildiği üzere inflamatuvar evrenin kısaldığı, yara iyileşmesinin proliferatif evreye geçtiği ve kontrol grubunda ise iyileşmenin inflamatuvar evrede durakladığı

görülmüştür. Histopatolojik bulgular tek tek incelendiğinde PMNL infiltrasyonunun çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu ($p=0.005$) görülürken fibroblast hücre dağılımı, damar proliferasyonu, kollajen birikimi ve epitelizasyonun çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha fazla olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü ($p>0.05$). Buradaki farklılığın sebebi yanık yarasında iyileşmeyi sağlayan biyolojik süreçlerin normal yara iyileşmesinden farklı işlemesidir. Yanıkta yara iyileşmesi bölümünde anlatıldığı gibi yanık yarasında kan damarlarında yırtılma ve buna bağlı oluşan hematojen dolgu görülmez. Bilindiği üzere lokal olarak oluşan bu hematojen dolgu nötrofil, monosit, fibroblast ve endotelial hücreler gibi yara bölgesine gelecek ilk dalga cevap hücrelerinin invazyonu için iskelet görevi oluşturur. Hemostaz yetersizliğinde hücrelerin inflamasyon alanına tutunması azalır. Aynı zamanda yanık hasarı, hasarın olduğu bölgedeki kan damarlarına zarar vererek hasar bölgesine olan kan akımını azaltır veya durdurur. Yanık alanında yaranın sınırlarını belirleyen hemorajinin olmaması nedeniyle iyileşen bölgenin kesin olarak tanımlanması da mümkün olmayabilir. Yine yüzeysel kısmi kalınlıktaki yanıklarda dermisin üst kısmında hücresel hasar görülse de yapısal matriks göreceli olarak daha az hasar görmektedir. Dermisin alt tabakasında ve yapısal matrikste hasar olmaması nedeniyle sonuçta yara iyileşmesinde daha az yapısal matriks onarımı görülmektedir. Bu nedenle genellikle yara iyileşmesi hasar görmüş yapısal matriksin yerine konmasını içermez. Bu bağlamda değerlendirildiğinde trombosit zengin plazma verilen grupta fibroblast hücre dağılımı, damar proliferasyonu, kollajen birikimi ve epitelizasyonun çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha fazla görülmesi aslında yüzeysel kısmi kalınlıktaki bu yanık modelinde bile TZP'nin yara iyileşmesinin bu kısımlarını olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Bu düşüncemizi destekleyen bir diğer bulgu da dokudaki kollajen birikiminin en major göstergesi olan doku hidroksiprolin düzeyleri karşılaştırıldığında histopatolojik bulguların aksine çalışma grubunda kontrol grubuna göre doku hidroksiprolin düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunun görülmesidir. Yara iyileşmesinin en önemli göstergelerinden biri dokudaki kollajen miktarıdır. Dokudaki kollajen miktarının tespitinde doku hidroksiprolin düzeyi kullanılır. Omurgalılarda hidroksiprolinin hemen hemen tamamı kollajende bulunur. Bu nedenle doku hidroksiprolin tayini kollajen metabolizması ve düzeyini saptamakta uygun bir belirleyicidir. Bu bağlamda doku hidroksiprolin düzeyinin daha yüksek olduğu çalışma grubunda yara iyileşmesinin daha iyi olduğu kanıtlanmıştır.

6. SONUÇLAR

Yüzeyel kısmi kalınlıkta sıcak su yanığı oluşturulan ratlarda topikal uygulanan trombosit zengin plazmanın yara iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmada elde edilen histopatolojik ve biyokimyasal bulguların ışığında şu sonuçlara ulaşıldı.

- 1-) Trombosit zengin plazma yara iyileşmesinde inflamatuvar evreyi kısaltır, yaranın daha çabuk proliferatif evreye geçmesini sağlar.
- 2-) Trombosit zengin plazma yara iyileşmesinde epitelizasyonu artırmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır.
- 3-) Trombosit zengin plazma yara iyileşmesinde damarlanmayı artırmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır.
- 4-) Trombosit zengin plazma yara iyileşmesinde fibroblast birikimini artırmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır.
- 5-) Trombosit zengin plazma doku hidrokspirolin düzeyi açısından değerlendirildiğinde yara iyileşmesinde kollajen birikimini artırır.

Bu sonuçlardan hareketle trombosit zengin plazmanın yanık yüzdesi geniş yüzeyel kısmi kalınlıktaki yanıklarda klinik kullanıma girmesi sağlanabilir. Özellikle greftleme imkânı olmayan ve geniş yanık yüzeyine sahip hastalarda yanık alanların hızlı iyileşmesi komplikasyonların azalmasını ve sağkalımın artmasını sağlayacağından trombosit zengin plazmanın bu hastalar için bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Yine trombosit zengin plazmanın 3. derece yanıklarda yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin de deneysel yanık modellerinde araştırılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1-) Tekin A. Effects of platelet rich plasma on colonic anastomosis. *Journal of Surgical Research*, 2007;146:190-194.
- 2-) Carter CA. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*, 2003;74:244-255.
- 3-) Harrison P. Platelet α -granules. *Blood Rev*, 1993;7:52-62.
- 4-) Debus E.S. The role of growth factors in wound healing. *Zentralbl Chir*, 2000;125:49-55.
- 5-) Bennett N.T. Growth factors and wound healing. Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg*, 1993;166:74-81.
- 6-) Knighton D.R. Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet derived wound healing formula. *Surg Gynecol Obstet*, 1990;170:55-60.
- 7-) Declair V. The importance of growth factors in wound healing. *Ostomy Wound Manage*, 1999;45:64-68.
- 8-) Ross R. The biology of platelet derived growth factor. *Cell*, 1986;46:155-169.
- 9-) Pierce G. F. Transforming growth factor β reverses the glucocorticoid-induced wound healing deficit in rats: possible regulation in macrophages by platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci*, 1989;86:2229-2233.
- 10-) Assosian R. K. Transforming growth factor-beta in human platelets. *J Biol Chem*, 1983; 258:7155-7160.
- 11-) Choi Y. TGF-beta and retinoic acid: regulators of growth and modifiers of differentiation in human epidermal cells. *Cell Regul*, 1990;1:791-809.
- 12-) Tokyay R. Akın S. Özbek S. Yanık. In: Gülay H. ed. *Temel ve Sistemik Cerrahi (Cilt 1)* 1. Baskı. İzmir Güven Kitabevi, İzmir, 2005:271-310.
- 13-) Sawada Y. Is prolonged and excessive cooling of a scalded wound effective? *Burns*. 1997;23:55-58.
- 14-) Shakespeare P. Burn wound healing and skin substitutes. *Burns*. 2001;27:517-522.
- 15-) Witte M. General principles of wound healing. *Surg. Clin. North Am*. 1997;77:509-528.
- 16-) Schmit P. Enhanced expression of transforming growth factor-B type I and type II receptors in wound granulation tissue and hypertrophic scar. *Am. J. Pathol*. 1998;152:485-493.
- 17-) Kazakos K. The use of autologous PRP gel as an aid in the management of acute trauma wounds. *Injury*. 2008, doi:10.1016/j.injury.2008.05.002

- 18-) Sonnleitner D. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15:879-604.
- 19-) Griffin X. L. The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: A systematic review. *Injury*. 2008, doi:10.1016/j.injury.2008.06.025
- 20-) Jensen TB. Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation. An experimental study in dogs. *J Orthop Res*. 2004;22:653-8.
- 21-) Qian H. Preliminary separation of the growth factors in platelet-rich plasma: effects on the proliferation of human marrow-derived mesenchymal stem cells. *Chinese Medical Journal*. 2008;122:83-87.
- 22-) Marx RE. Platelet rich plasma: what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10:225-228.
- 23-) Marquez-De-Aracena R. Subconjunctival application of plasma platelet concentrate in the treatment of ocular burns. Preliminary results. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2007;82:475-482.
- 24-) Whitman D. H. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997;55:1294-1299.
- 25-) Reddy GK. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clin Biochem*. 1996;29:225-229.
- 26-) Monstrey S. Assessment of burn depth and wound healing potential. *Burns*. 2008;34:761-769.
- 27-) Fathke C. Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair. *Stem Cells*. 2004;22:812-22.
- 28-) Han SK. Potential of human bone marrow stromal cells to accelerate wound healing in vitro. *Ann Plast Surg*. 2005;55:414-9.
- 29-) Ichioka S. Bone marrow impregnated collagen matrix for wound healing: experimental evaluation in a microcirculatory model of angiogenesis, and clinical experience. *Brit J Plast Surg*. 2005;58:1124-30.
- 30-) Shakespeare P. The role of skin substitutes in the treatment of burn injuries. *Clinics in Dermatology*. 2005;23:413-418.
- 31-) Roh C. Cutaneous stem cells and wound healing. *Pediatric Research*. 2006;59:100-103.
- 32-) Loot MA. Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGF-I, bFGF and PDGF-AB compared to controls. *Eur J Cell Biol* 2002;81:153-60.

- 33-) Pintucci G. Trophic effects of platelets on cultured endothelial cells are mediated by platelet-associated fibroblast growth factor-2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Thromb Haemost.* 2002;88:834-42.
- 34-) Go RS. Angiogenesis in aortic rings stimulated by very low concentration of serum and plasma. *Angioneogenesis.* 2003;6:25-9.
- 35-) Lindblom P. Endothelial PDGF-b retention is required for proper investment of pericytes in the microvessel wall. *Genes Dev.* 2003;17:1835-40.
- 36-) Kaps C. Human platelet supernatant promotes proliferation but not differentiation of articular chondrocytes. *Med Biol Eng Comput.* 2002;40:485-90.
- 37-) Ganio C. The treatment of nonhealing wounds using autologous platelet-derived growth factors. *J Foot Ankle Surg.* 1993;32:263-8.

