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

DİABETİK RATLARDA KANTARONUN DERİ YARASI ÜZERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet ALTIPARMAK

KAYSERİ-2012

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

DİABETİK RATLARDA KANTARONUN DERİ YARASI ÜZERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet ALTIPARMAK

Danışman
Doç. Dr. Teoman ESKİTAŞÇIOĞLU

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSU-11-3764 kodlu proje ile desteklenmiştir

KAYSERİ-2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince; emeğini, bilgisini esirgemeyip hem hoca hem de bir baba gibi arkamda desteğini hissetiğim Prof. Dr. Galip Kemali Günay hocama, tecrübesi ve pratik çözümleri ile çok sey öğrendiğim Prof. Dr. Atilla Çoruh hocama, el becerisindeki ustalığı ve disiplinini örnek aldığım Prof. Dr. İrfan Özyazgan hocama, sayısız ameliyatı bizzat yaptıran, sabrı ve insanlığı ile hem hocam hem abim olarak gördüğüm Doç. Dr. Teoman Eskitasçıoğlu'na, ve herkese sonsuz teşekkürler…

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
KISALTMALAR LİSTESİ v
TABLO LİSTESİ vi
ŞEKİL ve RESİM LİSTESİ vii
ÖZET viii
ABSTRACT x
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Derinin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu 3
2.2. Yara Terminolojisi 6
2.2.1. Akut Yaralar 7
2.2.2. Kronik Yaralar 8
2.3. Yara İyileşmesi 8
2.3.1. Yara İyileşmesinde immünite 8
2.3.2. Yara İyileşmesinin Fazları 9
2.3.2.1. İnflamatuar Faz 9
2.3.2.2. Proliferatif Faz 13
2.3.2.3. Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma 16
2.4. Yara İyileşme Şekilleri 19
2.4.1. Primer İyileşme 19
2.4.2. Sekonder İyileşme 19
2.4.3. Tersiyer İyileşme 19
2.6. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler 20
2.6.1. Diabet ve Yara İyileşmesi 22

2.6.2. Deneysel Diabet 23
2.6.3. Streptozotosin 24
2.7. Sarı Kantaron (Hypericum Perforatum) 25
2.7.1. Hypericum Perforatum ve Yara İyileşmesi 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM 29
3.1. Deney Hayvanları (Deneysel Çalışmanın Tanımlanması) 29
3.1.1. İnsizyonel ve Eksizyonel Yara Modelleri 30
3.1.2. Kantaron Yağının Hazırlanışı 30
3.2. Deney Grupları 31
3.2.1. Sakrifikasyon Yöntemi 33
3.3. İncelenecek Parametreler 33
3.3.1 Histopatolojik İnceleme 33
3.3.2. Kopma Kuvveti İncelemesi 34
3.3.3. Yara Kontraksiyon Hızının İncelenmesi 35
3.3.4. İnsizyonel yarada doku hidroksiprolin konsantrasyon ölçümü 36
3.3.5. İstatistiksel Yöntem 37
3.3.6. Tedavi gruplarının etki skoru 38
4. BULGULAR 39
4.1. İnsizyonel yaralarda kopma kuvveti bulguları 39
4.2. İnsizyonel yaralarda doku hidroksiprolin konsantrasyon bulguları 40
4.3. Eksizyonel yaralardaki kontraksiyon bulguları 42
4.4. Yeni damar oluşum bulguları (Anjiogenez) 43
4.5. Histopatolojik Bulgular 43
4.5.1. İnflamatuar hücre yoğunluğu bulguları 43
4.5.2. Fibroblast sayısı 45
4.5.3. Kollajen yoğunluğu bulguları 47

4.5.4. Yaraların epitelizasyon düzeyleri 48
4.6. Tedavi gruplarının etki düzeyi 49
5. TARTIŞMA 51
6. SONUÇLAR 58
7. KAYNAKLAR 60
ONAY 69

KISALTMALAR LİSTESİ

D : Dalton

Diabet : Diabetes Mellitus

EGF : Epidermal büyüme faktörü

FGF : Fibroblast büyüme faktörü

HE : Hematoxilen Eozin

IL-1 : İnterlökin-l

IL-4 : İnterlökin-4

IL-8 : İnterlökin-8

M : Molar

MMP : Matrix Metalloproteinaz

MMP-2 : Jelatinaz

MMP-3 : Stromelisin

N : Newton

NO : Nitrik Oksit

PDGF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

SF : Serum Fizyolojik (‰ 9 NaCl)

TGF-ß : Transforming büyüme faktörü-Beta

TNF -α : Tümör nekroz faktör- alfa

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Hemostatik faktörlerin ve trombositlerden salgılanan faktörlerin işlevleri..... 11

Tablo 3.1. Deney planı..... 32

Tablo 3.2. Histopatolojik Skorlama..... 34

Tablo 3.3. Verilerin değerlendirildiği istatistiksel yöntemler..... 37

Tablo 3.4. Tedavi gruplarının etki düzeylerinin karşılaştırılma skorları..... 38

Tablo 4.1. Grupların kopma kuvveti bulgularının karşılaştırılması..... 39

Tablo 4.2. Gruplar arasında doku hidroksiprolin konsantrasyonlarının karşılaştırılması..... 41

Tablo 4.3. Gruplar arasındaki kontraksiyon yüzdelerinin karşılaştırılması..... 42

Tablo 4.4. Gruplardaki kesit alanına düşen yeni damar sayıları..... 43

Tablo 4.5. İnsizyonel yaralarda 3.gün inflamatuar hücre yoğunluğunun karşılaştırılması..... 44

Tablo 4.6. Gruplar arasında 21.günde fibroblast sayısının karşılaştırılması..... 46

Tablo 4.7. Grupların 3.günde kollajen yoğunluğunun karşılaştırılması..... 47

Tablo 4.8. Grupların 7.günde epitelizasyon düzeylerinin karşılaştırılması..... 48

Tablo 4.9. Tedavi gruplarının etki düzeylerinin karşılaştırılması..... 50

ŞEKİL ve RESİM LİSTESİ

Şekil 2.1. Derinin şematik vertikal kesiti. 4

Şekil 2.2. Epidermis katmanları 5

Şekil 2.3. Yara iyileşme dönemleri ve bu dönemlerde etkili hücre tipleri 10

Şekil 2.4. Makrofajların yara iyileşmesindeki işlevleri 12

Şekil 2.5. Yara iyileşmesinin inflamatuar fazı 13

Şekil 2.6. Yara iyileşmesinin proliferasyon aşaması 16

Şekil 2.7. Yara iyileşme tipleri 20

Şekil 2.8. Streptozotosinin kimyasal yapısı 24

Şekil 2.9. Kantaron çiçeği. 26

Şekil 3.1. İnsizyonel ve eksizyonel yaralar.. 30

Şekil 3.2. Deney planının şematik görünümü. 33

Şekil 3.3. Tensiometri cihazının şematik görünümü. 35

Şekil 3.4. Eksizyonel yaraların asetata işaretlenmesi. 36

Şekil 4.1. Gruplar arasında insizyonel yaralarda kopma kuvveti bulgularının karşılaştırılması. 40

Şekil 4.2. Gruplar arasında doku hidroksiprolin konsantrasyonunun karşılaştırılması. 41

Şekil 4.3. Eksizyonel yaraların kontraksiyon yüzdelerinin karşılaştırılması. 42

Şekil 4.4. Gruplar arasında 3.gündeki inflamatuar hücre yoğunluğunun karşılaştırılması. . 45

Şekil 4.5. Gruplar arasında 21.günde fibroblastik aktivitenin karşılaştırılması 46

Şekil 4.6. Grupların 3.günde kollajen yoğunluklarının karşılaştırılması 48

Şekil 4.7. Grupların 7.gündeki epitelizasyon düzeylerinin karşılaştırılması 49

Şekil 4.8. Tedavi gruplarının etki düzeylerinin karşılaştırılması 50

Resim 4.1. Çalışmanın 3.gününe ait histopatolojik görünümler. 45

Resim 4.2. Çalışmanın 7.gününe ait diabetik ve oral kantaron gruplarının histopatolojik görünümü 49

ÖZET

Giriş ve Amaç: Normal bir yara iyileşmesi; inflamatuar faz, proliferatif faz ile olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazlarını içerir. Bu fazlardan herhangi birinde oluşacak gecikme veya olumsuzluk yaranın kapanmaması veya iyileşmede gecikme ile sonuçlanır. Diabet, yara iyileşmesini etkileyen önemli sistemik hastalıklardan biridir. Sık görülmesi ve yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı diabetik hastalardaki cerrahi yaralar günümüzde hala problem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ülkemizde yaygın olarak bulunan kantaron çiçeği, geleneksel yöntemlerle hazırlanarak kantaron yağı (oleum Hypericum Perforatum) haline dönüştürülmesi sonucunda çeşitli rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Literatürde kantaron yağının normal yaralardaki olumlu etkisi gösterilmişse de, problemli yaralar üzerindeki etkisi üzerinde yapılmış bir çalışmaya rastlanmamamıştır. Bozuk yaralara örnek teşkil etmesi bakımından diabet seçilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Ağırlıkları 350-400 gr arasında değişen toplam 54 adet Spraque-Dawley ratın interskapular bölgelerinden birbirine paralel ve aralarında en az 2 cm aralık olacak şekilde 2 adet 4 cm'lik insizyonel yara oluşturuldu. Dorsal bölgenin kaudaline ise kenar uzunlukları 3 cm olan bir kare şeklinde eksizyonel yara oluşturuldu. Her grupta 9 rat olacak şekilde diabetik, kontrol, oral kantaron, topikal kantaron, oral zeytinyağı ve topikal zeytinyağı adlarıyla rastgele 6 grup oluşturuldu. Kontrol grubu hariç diğer gruplara 30 mg/kg dozunda streptozotosin verildi ve 1 hafta sonra alınan kan şekeri 200 mg/dl üzerinde olanlar çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubuna ve diabetik gruba cerrahi işlemden sonra biopsilerin alımı dışında bir işlem yapılmadı. Tedavi gruplarına ise 21 gün boyunca oral kantaron ve oral zeytinyağı gruplarına 1,25 ml/kg dozunda kantaron veya zeytinyağı gavaj yoluyla verildi. Topikal kantaron ve topikal zeytinyağı gruplarında ise 21 gün boyunca yaraların üzerine ince bir tabaka halinde kantaron veya zeytinyağı sürüldü. Postoperatif 1, 3.ve 7.günlerde histopatolojik inceleme için soldaki insizyonel yaralardan 1x1 cm boyutlarında biopsiler alındı. Postoperatif 21.günde ise sağdaki insizyonel yaradan kopma kuvveti ve hidroksiprolin ölçümü için 1x1 cm ölçülerinde biopsi alındı. Yine 21.günde eksizyonel yaralar, histopatolojik inceleme için çıkarıldı ve ratlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Kopma kuvveti bakımından değerlendirildiğinde oral ve topikal kantaron gruplarında diabetik gruba göre anlamlı oranda yüksek olduğu (p<0,05), topikal zeytinyağının ise anlamlı değere yakın olduğu (p≤0,051) tespit edildi. Oral zeytinyağının kopma kuvveti üzerinde anlamlı bir etkisine rastlanmadı. Doku hidroksiprolin konsantrasyonunun oral ve topikal kantaron gruplarında diabetik gruba göre anlamlı oranda yüksek olduğu (p<0,05), topikal zeytinyağının anlamlı değere yakın olduğu (p≤0,053) ve oral zeytinyağının ise anlamlı etkisinin olmadığı gösterildi. Eksizyonel yaralardaki kontraksiyon bulgularının gruplarda istatistiksel anlamda bir fark yaratmadığı fakat oral kantaron ve oral zeytinyağının yüksek kontraksiyon bulgularına sahip olduğu bulundu. Yeni damar oluşumu açısından 7.gündeki anjiogenezin oral ve topikal kantaron gruplarında diabetik gruba göre yüksek, 21.günde ise düşük olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterildi. Üçüncü gündeki inflamatuar hücre yoğunluğunun oral kantaron ve topikal zeytinyağı gruplarında diabetik gruba göre anlamlı oranda yüksek olduğu (p<0,05) ve oral zeytinyağının nispeten daha düşük fakat diabetik gruba göre yüksek olduğu gösterildi. Topikal kantaronun ise etkisinin olmadığı görüldü. Fibroblastik aktivite bulgularının 21.günde oral kantaron ve topikal zeytinyağı gruplarında anlamlı oranda yüksek olduğu (p<0,001) görüldü. Kollajen yoğunluğunun 3.günde oral kantaron ve topikal zeytinyağı grubunda anlamlı oranda yüksek olduğu (p<0,05) gösterildi. Yaraların 7.gündeki epitelizasyon düzeyleri açısından oral kantaron ve topikal zeytinyağı gruplarında diabetik gruba göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamlı değere yakın (p≤0,052) bulundu. Diğer günlerdeki değerlerde anlamlı bir fark saptanmadı. Tedavi gruplarının etki skoru bakımından değerlendirildiğinde ise oral kantaronun diğer tedavi gruplarına göre daha potent olduğu gösterildi.

Sonuç: Bu çalışma, oral kantaronun topikal kantarona ve üretiminde kullanılan zeytinyağına göre bozuk yaraların iyileşmesinde daha etkili sonuç verdiği ve immüniteyi düzenleyici olarak görev yapmış olabileceğini gösterdi. Bu, histopatolojik, biyokimyasal ve mekanik bulgularla desteklendi. Bu çalışmada elde edilen sonuçların klinikte diabetik hastalarda kantaronun kullanımı konusunda literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler: kantaron, diabet, yara iyileşmesi

ABSTRACT

A normal wound healing includes the inflammatory, proliferative and remodelling phases. A delay or impairment in these phases result in wound dehiscence or a latency in wound healing. Diabetes is an important systemic factor affecting wound healing. Because it is prevalent and it has adverse effects on wound healing, surgical wounds in diabetic patients are still remaining as a problem in the present day.

As a common plant in our country, St.John's wort is traditionaly prepared as an oily extract (oleum Hypericum Perforatum) and used as a folk remedy for various diseases. Although the beneficial effects of hypericum perforatum on normal wound healing are revealed in the literature, there is no study on problematic wounds. Diabetes is chosen to be a sample of problematic wounds.

Materials and Methods: : In order to make an incisional wound model on 54 Spraque-Dawley rats weighing 350-400 gr, we incised at least 2 cm spaced 2 parallel 4 cm cutaneous wounds on the interscapular region and sutured the skin edges. A square shaped excisional wound was made with a margin of 3cm caudal of the dorsal region. The rats were divided into 6 groups randomly as diabetic, control, oral hypericum perforatum, topical hypericum perforatum, oral olive oil and topical olive oil which every group had 9 rats each. Streptozotocin was administered intraperitoneally in a dose of 30 mg/kg to every group except the control group and blood glucose levels of the rats higher than 200 mg/dl 1 week after it were included in the study. There were no procedures carried out in control and diabetic groups except taking biopsies. A dose of 1,25 ml/kg hypericum perforatum or olive oil were administered orally to the oral hypericum perforatum and oral olive oil groups for 21 days. To the topical hypericum perforatum and topical olive oil groups, hypericum perforatum or olive oil were applied as a thin layer on the wounds for 21 days. In postoperative days 1, 3 and 7, bipopsies of 1x1cm were taken from the left incisional wounds for histopathological analysis. In postoperative day 21, biopsies of 1x1cm were taken from the right incisional wounds for tensile strength and hydoxyproline analysis. The excisional wounds were taken completely for histopathological examination on day 21 and the rats were sacrificed.

Findings: According to tensile strength, oral and topical hypericum perforatum groups were significantly higher compared to the diabetic group (p<0,05) and the topical olive oil is found to have a nearly significant result (p≤0,051). There have no significancy in oral olive oil group on tensile strength. Tissue hydroxyproline concentrations were significantly higher in oral and topical hypericum perforatum groups than the diabetic group (p<0,05) and the topical olive oil was nearly significant (p≤0,053). Oral olive oil had no sgnificant effect on tissue hydroxyproline. Contraction rates in excisional wounds had no statistically significant difference between groups but oral hypericum perforatum and oral olive oil groups had the higher contraction rates. In day 7, oral and topical hypericum perforatum had higher angiogenesis than the diabetic group and in day 21, they had lower but it was not statistically significant. Inflammatory cell density in day 3 was significantly higher in oral hypericum perforatum and in topical olive oil compared with the diabetic group (p<0,05). Oral olive oil however, had relatively lower but still higher inflammatory cell density compared with the diabetic group. Topical hypericum perforatum had no effect on this parameter. In day 21, oral hypericum and topical olive oil had significantly higher fibroblastic activity (p<0,001). Collagen density was significantly higher in day 3 in oral hypericum and topical olive oil groups (p<0,05). Epitelization in day 7 was high in oral hypericum perforatum and topical olive oil but nearly significant (p≤0,052). There were no statistically significant differences in other days. According to the potency rate of treatment groups, oral hypericum perforatum had a higher potency rate compared with the other treatment groups.

Result: This study has proved that oral hypericum perforatum had more positive effects on problematic wounds compared with topical hypericum perforatum and olive oil which is used in producting the oleum hypericum perforatum. And also it is shown that oral hypericum perforatum had an immunmodulatory effect on problematic wounds. This was supported by histopathological, biochemical and mechanical findings. These results could be an addition to the literature about the clinical usage of hypericum perforatum on diabetic wounds.

Keywords: hypericum perforatum, diabetes, wound healing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara, doku bütünlüğünün bir hasar sonucu bozulması durumudur. İyileşme ise vücudun bu yaralanmaya karşı bir savunma mekanizmasıdır. Yara iyileşmesi, organizmanın multisistemik bir cevabı olup, ardışık, birbiri ile bağlantılı, karmaşık, hücresel, fizyolojik ve biyokimyasal olayların bütünüdür (1-4). Yaralanma anından itibaren başlayan bu süreçte oluşacak herhangi bir gecikme veya olumsuzluk, yaranın kapanmaması ve iyileşmede gecikme ile sonuçlanır. Gecikmiş yara kapanması veya yara dudaklarının açılması cerrahide güncel bir problem olarak önemini korumaktadır.

Lokal ve sistemik birçok faktör yara iyileşmesini etkilemektedir (1-5). Birçok iyileşme problemi hastalardaki sorunlardan kaynaklanmaktadır. Diabet, yara iyileşmesini etkileyen önemli sistemik hastalıklardan biridir (6). Diabetik hastalarda yara iyileşmesini birçok faktör etkilemektedir. ABD'de 20,8 milyon, dünyada 170 milyon diabetes mellitus tanısı almış insan yer almaktadır. Bu sayının 2030'da ikiye katlanacağı öngörülüyor (7). Bu denli sık görülmesi ve yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkilerinden dolayı diabetik hastalardaki cerrahi yaralar günümüzde hala problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla bozuk yara iyileşmesine örnek teşkil eden diabetik insan ve hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar klinikle daha uyumludur (6).

Ülkemizde yaygın olarak bulunan kantaron çiçeği, geleneksel yöntemlerle hazırlanarak kantaron yağı (oleum Hypericum Perforatum) haline dönüştürülmesi sonucunda çeşitli rahatsızlıklar ve klinik durumlarda kullanılmaktadır. Farklı klinik yararları kanıtlanmış olmakla birlikte en yaygın olarak bilinen etkilerinden biri de yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkileridir (8). Hypericum Perforatum'un enflamasyon peryodunu kısaltması, fibroblast göçünü hızlandırması, kollajen depolanmasını arttırması gibi yara

iyileşmesi üzerine birçok olumlu etkisi in-vivo ve in-vitro deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır (8, 9). Hypericum Perforatumun ayrıca klinik çalışmalarla da yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (10).

Hypericum Perforatum geleneksel olarak hem topikal hem de oral olarak kullanılmakla beraber, deneysel çalışmalarda da topikal faydalarının yanı sıra, oral uygulamanın yara iyileşmesindeki faydaları da ortaya konmuştur (11). Normal yaralardaki faydaları bilinmesine karşın, kantaron yağının bozuk yara iyileşmesi gösteren durumlardaki etkisi bilinmemektedir. Bozuk yaralara örnek teşkil etmesi bakımından diabet seçilmiştir. Bozuk yaralardaki etkinin açıklanması, klinikte diabetik hastalarda çoğunlukla karşımıza çıkan yara iyileşmesi problemlerine bir çözüm yolu olması yönünden önemlidir. Literatürde Hypericum Perforatumun problemli yaralar üzerindeki etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda geleneksel olarak kullanılan ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu düşünülen kantaron yağının diabetik ratların sırtlarında oluşturulan insizyonel ve eksizyonel yara modellerinde histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal, mekanik ve görsel incelemelerle problemli yara iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılması ve sistemik ile topikal uygulama arasında fark olup olmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

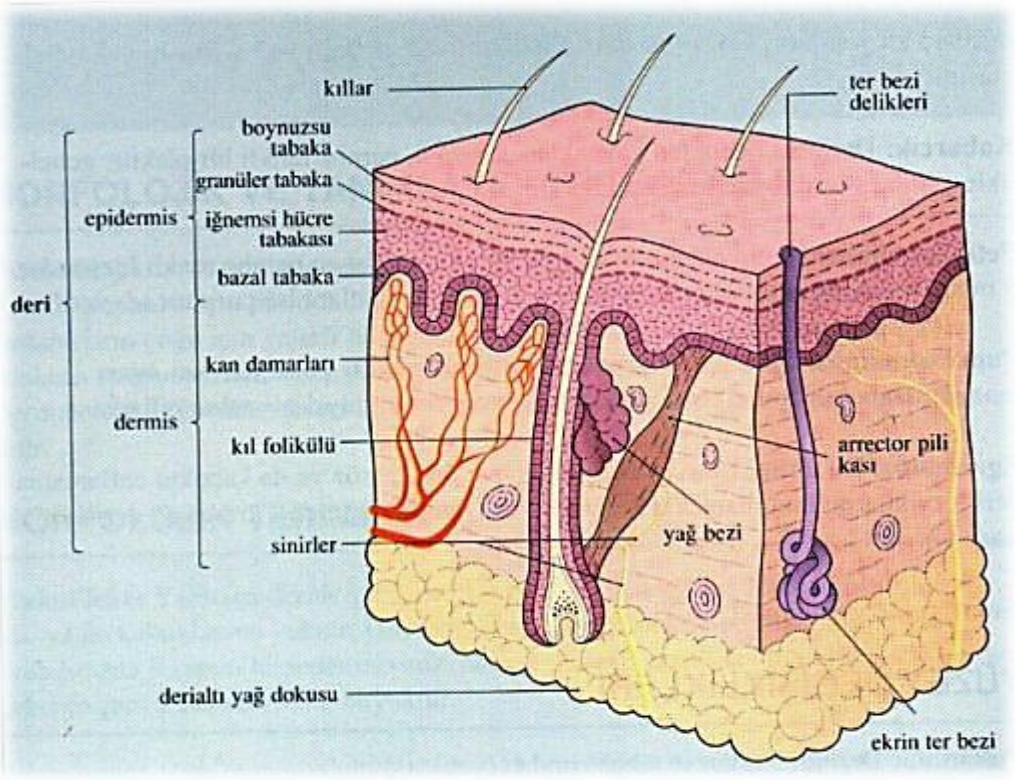
2.1. Derinin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu

Deri, tüm memeli canlıların yaşamı için gerekli, kendine özgü birçok fonksiyonları olan, dış ortamla organizma arasındaki ilişkiyi sağlayan, aynı zamanda birtakım ruhsal tepkilerimizi de yansıtan vücudun en ağır ve en geniş organıdır. Toplam vücut ağırlığının yaklasık % 16'sını meydana getirir ve yetişkinlerde 1,2-2,2 metrekarelik bir yüzey oluşturur (12).

Deri, bir organ olarak önemli fizyolojik ve immünolojik özelliklere sahiptir. İmmün sistemin önemli bir komponenti olarak yer almaktadır. Derinin özellikleri kişiden kişiye ve aynı kişide farklı anatomik bölgelerde renk, elastikiyet, kalınlık, kıl ve sebase yağ bezleri açısından değişkenlik göstermektedir (13).

Deri ektodermal orijinli epitelyal bir tabaka olan epidermis, mezodermal orijinli bir bağ dokusu tabakası olan dermis ve hipodermis tabakalarından meydana gelir (Şekil 2.1.). Bu tabakaların dışında kıl folikülleri, sebase bezler ve ter bezleri gibi deri ekleri ile immün hücreler, sinirler ve damarlar da derinin yapısında yer alırlar (14).

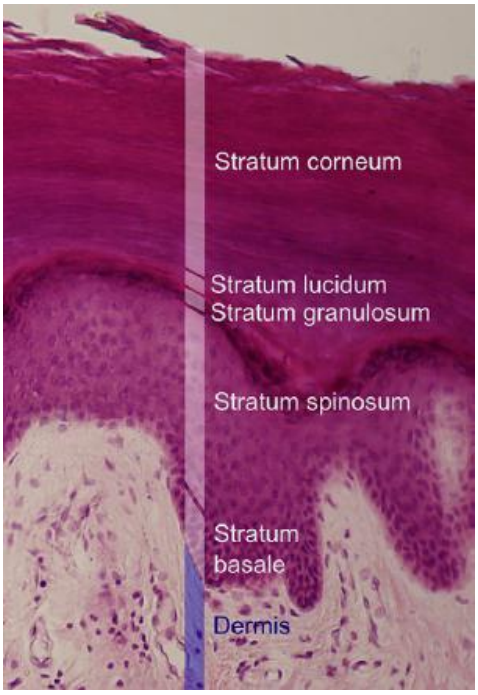
Cerrahi işlemlerin ilk aşamasında deri insizyonu olduğu düşünülürse, bu yapının anatomisinin önemi daha iyi anlaşılır.



Şekil 2.1. Derinin şematik vertikal kesiti.

Deri, yara iyileşmesinde önemli rolleri olan ve temel anatomisini oluşturan iki tabakadan meydana gelmektedir.

I- Epidermis: Derinin en üst tabakası olan epidermis, su geçirmez özelliği olan ve görünen kısımdır. Derideki renk, elastikiyet ve belirli bir deformite veya skar bu katmanda kendini gösterir. Çok katlı yassı keratinize epitelden meydana gelir fakat aynı zamanda daha az görülen 3 hücre tipini de kapsar: Melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri. Keratinositler epidermisin %95'ini oluşturur ve bazal tabaka tüm çoğalan keratinositlerin kaynağıdır. Yara iyileşmesindeki epidermal cevaptan primer olarak bu keratinositler sorumludur (16). Dermisden yukarı doğru keratin üreten 5 hücre tabakasından meydana gelir (Şekil 2.2.). Bunlar korneum, lusidum, granulozum, spinosum ve bazal tabakalarıdır.



Şekil 2.2. Epidermis katmanları (15)

II- Dermis: Derinin elastikiyeti ve dayanıklılığını sağlayan tabakadır. Deri kanlanmasının çoğunu alan tabakadır. Dermis, ince ve yüzeyel papiller dermis ile kalın ve derinde bulunan retiküler dermis olarak iki kısımdan oluşur. Üç komponentten oluşur:

1-Hücreler (fibroblast, histiyosit, lenfosit, plazma ve mast hücreleri)

2-Lifler (kollajen, elastin ve retikulum)

3-Temel madde (fibronektin, glikozaminoglikan, hyaluronik asit, kondroidin sülfat ve dermatan sülfat)

Hipodermis, deri altı yağ dokusu ve fibröz trabeküllerden oluşur. Dermiste paralel seyreden bağ dokusu lifleri, bu tabakada deri yüzeyine dik olarak seyrederler(septa), buna bağlı olarak bu tabaka, içerisinde yağ hücre topluluklarından zengin bölmelere (lobül) ayrılmıştır. Bu yağ topluluğuna 'pannikülus adipozus' denir. Bu tabaka damar ve sinir yönünden çok zengindir. Isı kaybını engelleme, travmalara karşı koruma ve yedek besin deposu görevini görür.

Deri ekleri

1-Boynuzlaşmış (keratinize) deri ekleri; kıllar ve tırnaklar

2-Salgı yapan deri ekleri; sebase bezler (pilosebase ünite) ve ter bezleri (ekrin, apokrin) olarak iki yapısal gruptan oluşur.

Epidermiste yer alan pilosebase ünite, epitelizasyonda rol alan bazal keratinositlere dönüşebilen epitelyal kök hücrelere sahiptir.

Derinin sinirleri: Duyusal sinirler; ağrı, ısı, basınç ve proprioseptif duyuları alır. Ayrıca dokunma duyusunu alan Merkel hücreleri, ince dokunma duyusunu alan Meissner korpuskulleri ile basınç ve vibrasyonu alan Pacinian korpuskulleri de deride bulunurlar. Efferent sinirler ise kan damarları ve deri eklerini uyarırlar.

Derinin damarları: Deride biri yüzeyel diğeri derin olmak üzere 2 ayrı kapiller pleksus vardır. Subdermal pleksus subkutan doku ile dermis arasında, dermal pleksus papiller dermiste bulunur. Epidermiste damar bulunmaz (12,14).

Derinin lenf damarları: Derinin lenfatik sistemi stratum spinozumdaki hücreler arası boşluktan başlar. Papiller katta ilk lenf kapillerleri teşekkül eder, daha büyük damarlara dönüşür ve subkutan tabaka altında genel lenf sistemine ulaşır. Lenf damarları, kan damarları ile paralel şekilde uzanır.

Vücudumuzun en geniş organı olan deri, dış etkenlere karşı korunmayı sağlayan en önemli etkendir. Dış ortamdan gelen çok çeşitli travmalara karşı organizmayı korurken derinin kendisinde de birçok yaralanmalar oluşabilmektedir (14).

2.2. Yara Terminolojisi

Deri ve/veya mukozayı oluşturan yapıların; travma, cerrahi girişim ya da hastalıklar gibi farklı nedenlerle anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulması ya da kaybı ile var olan fizyolojik özelliklerinin geçici veya tamamen kaybolmasına ‘yara’ denir. Genellikle “normal deri bütünlüğünün ortadan kalkması” olarak tanımlanır (1-4,17,18)

Yaralar tiplerine ve etyolojilerine göre akut ya da kronik olarak ikiye ayrılır.

2.2.1. Akut Yaralar

Geçici bir etkenin neden olduğu ve kabul edilebilir bir sürede iyileşen yaralardır. Akut yara tipleri; açık yara ve kapalı yara şeklindedir.

Açık Yaralar

Açık yaralar; yaralanmaya neden olan objelere göre sınıflandırılır.

- İnsizyon: Keskin uçlu objeler tarafından oluşan genellikle temiz yaralardır.
- Laserasyon: Sert dokuların üstündeki yumuşak dokulara gelen keskin olmayan darbelerin neden olduğu derideki ya da mukozadaki düzgün olmayan yırtıklardır. Ezici komponenti de vardır.
- Abrazyon: Pürüzlü bir yüzeyde düşme, kayma sonucu oluşan, epidermis ve bazen de papiller dermisin etkilendiği yüzeysel yaralardır.
- Delici Yaralar: İğne, çivi gibi objelerin batmasıyla oluşan yaralardır.
- Penetrasyon Yaraları (Kesici Yaralar): Bir bıçak benzeri objenin vücut bütünlüğünü bozması ile oluşan yaralardır.
- Ateşli Silah Yaraları: Bir ateşli silahtan çıkan objenin oluşturduğu yaralardır. Bazen giriş ve çıkış deliği vardır.
- Yanıklar

Kapalı Yaralar

Kapalı Yaralar; açık yaralardan daha tehlikelidirler ve üç temel başlıkta sınıflandırılırlar.

- Kontüzyon: Künt bir travma sonucu subkutan dokularda hasar gelişmesidir.
- Hematom: Subkutan dokularda damarlarda gelişen hasar sonucunda deri altında kan birikimidir.
- Ekimoz: Herhangi bir travma sonrası deri altına olan kanamanın vücut tarafından metabolize edilmesiyle oluşan renk değişiklikleri.
- Ezilme: Dokulara ya çok büyük miktarda bir gücün kısa sürede, ya da daha az bir gücün uzun süre de uygulandığı durumlarda oluşur.

2.2.2. Kronik Yaralar

Genelde üç ay içinde iyileşmeyen veya tekrarlayan yaralardır. Genellikle inflamatuar aşamada uzama olur. Akut yaralarda anabolik ve katabolik fazlarda tam bir denge varken, kronik yaralarda bu denge kaybolmuştur ve katabolizma ön plandadır.

Kronik yaraların büyük bir kısmı ya tamamen iyileşmez veya iyileşme süreci uzun süre devam eder. Bu durum, hastalarda ciddi bir emosyonel ve fiziksel stres oluşturması yanında hastaya ve bağlı olduğu sağlık güvence sistemine yük oluşturur. Bu durum aynı zamanda iş gücü kaybına da neden olur ve ekonomik yönden önemlidir.

2.3. Yara İyileşmesi

Travmatik bir doku hasarı sonucu organizmanın bu hasarı onarmak için verdiği yanıt hasarlı dokunun yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesidir. İyileşme süreci, yaralanma anından itibaren başlar, günler, aylar hatta yıllar sürebilen aktif dinamik bir süreçtir (1-4,19). Aslında iyileşme evreleri birbirinin içine geçmiş, karmaşık bir takım etkiler ile birbirini izleyen, sınırlarını tam olarak çizmenin mümkün olmadığı bir süreçtir (20). Hatta yaranın farklı bölgelerinde iyileşmenin farklı fazları yer alabilir (15). İyileşmenin doğal kaskadını bozan herhangi bir durum, sonraki fazları da etkileyerek anormal iyileşme, kronik yara ve skar oluşumuyla sonuçlanabilir (16).

2.3.1. Yara İyileşmesinde immünite

Yara iyileşmesinin başarılı sonuçlanabilmesi, immün sistemin çalışmasına bağlıdır. İmmün hücreler yara iyileşme sürecini sitokinler, lenfokinler ve büyüme faktörleri gibi sinyal moleküllerinin salınması yoluyla düzenler (21).

İmmün sistem, hümoral ve hücresel immünite olarak ikiye ayrılır. Hümoral sistem, antikorları ve komplemanları içerir. Bakterilere karşı vücudun ilk reaksiyonu oluşturması bakımından önemlidir fakat bunun dışında yara iyileşmesi üzerinde önemli bir katkısı yoktur. Hücresel immünite ise nötrofillerden, makrofajlardan ve lenfositlerden oluşur. Bu hücre grupları yarada belirli zaman dilimlerinde kendini gösterir, sayıca artar ve yara yerine migrasyonları da farklı fakat birbiri içine geçmiş yara iyileşmesi safhalarını oluşturur (21).

2.3.2. Yara İyileşmesinin Fazları

Yara iyileşmesi birbiriyle bağlantılı ve içi içe geçen üç faza ayrılır;

1- Hemostaz ve inflamasyon

2- Proliferatif Faz

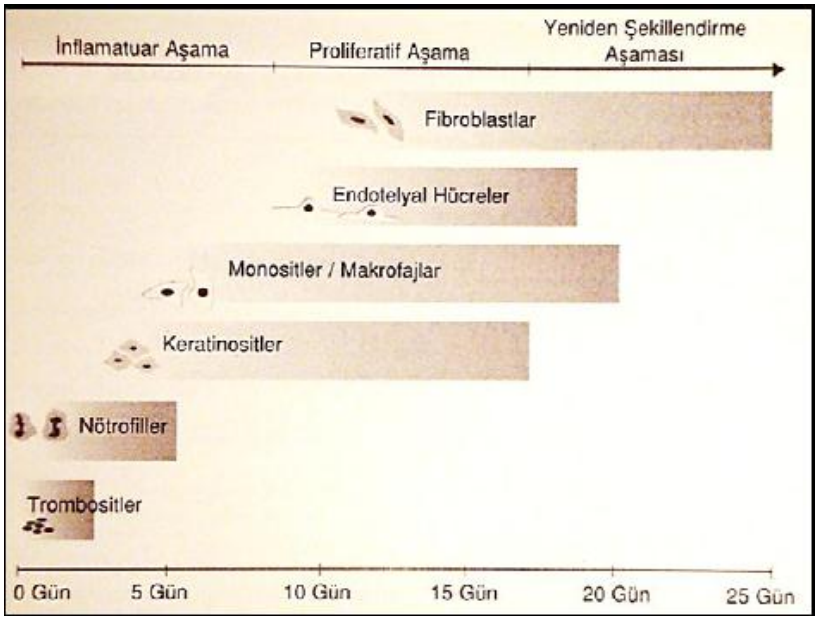
3- Olgunlaşma ve yeniden yapılanma

Yara iyileşmesi dönemleri ve bu dönemlerde etkili hücre tipleri Şekil 2.3.'de gösterilmiştir. İlk aşama olan hemostaz, vazokonstrüksiyon oluşturarak, kan kaybının önlenmesine, plateletlerin hapsolduğu fibrinöz ağı meydana getirerek yara iyileşmesinin inflamatuar fazının tetiklenmesine yol açar. Bunu takiben humoral kaskadın oluşturduğu hücresel cevapla farklı tipte hücrelerin yara yerine akın etmesiyle yeni ekstrasellüler matriks ve kan damarları oluşumu gerçekleşir. Proliferatif fazda epitelizasyon, kontraksiyon ve kollajen üretimi meydana gelir. Yara iyileşmesinin son fazı olan olgunlaşma ve yeniden yapılanma safhasında, kollajen organize olur ve anjiogenez ön plana çıkar (18).

2.3.2.1. İnflamatuar Faz (Hemostaz ve İnflamasyon, 1-6. günler)

Hemostaz ve inflamasyon doku hasarına karşı verilen ilk cevaptır.

Hemostaz evresi, travmadan sonra hasarlanmış damarlardan oluşan kanamaya yanıt olarak katekolamin salınımını takiben geçici vazokonstrüksiyon ile başlar. Damar duvar bütünlüğünün bozulmasıyla ortaya çıkan subendotelyal kollajenler zorunlu olarak trombositlerle temas eder ve Hageman faktörünü (faktör XII) aktive ederler (1,3). Bu da trombositlerin sekresyonuna yol açar ve sitokinlerin, büyüme faktörlerinin salgılanmasına yol açar (1-4,19).



Şekil 2.3. Yara iyileşme dönemleri ve bu dönemlerde etkili hücre tipleri (4)

Aktive olmuş hageman faktörü (faktör XII) dört ana biyokimyasal sistemi harekete geçirir. Bunlar pıhtılaşma, kompleman, kinin sistemi ve plazmin yapımı şeklinde sıralanabilir (1,19).

Trombositler onarımı başlatacak mekanizmayı harekete geçirirler. Açığa çıkan Tromboksan A_2 (TXA_2), vazokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonuna neden olarak trombosit tıkacını oluştururlar. Bu süreçte ortaya çıkan fibrin, hem bir örgü oluşturarak bariyer oluşturur, hem de inflamatuar hücre ve fibroblast göçü için uygun bir yer hazırlar (2,3).

Hemostatik ve trombosit kaynaklı faktörlerin işlevleri Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Hemostatik faktörlerin ve trombositlerden salgılanan faktörlerin işlevleri (1).

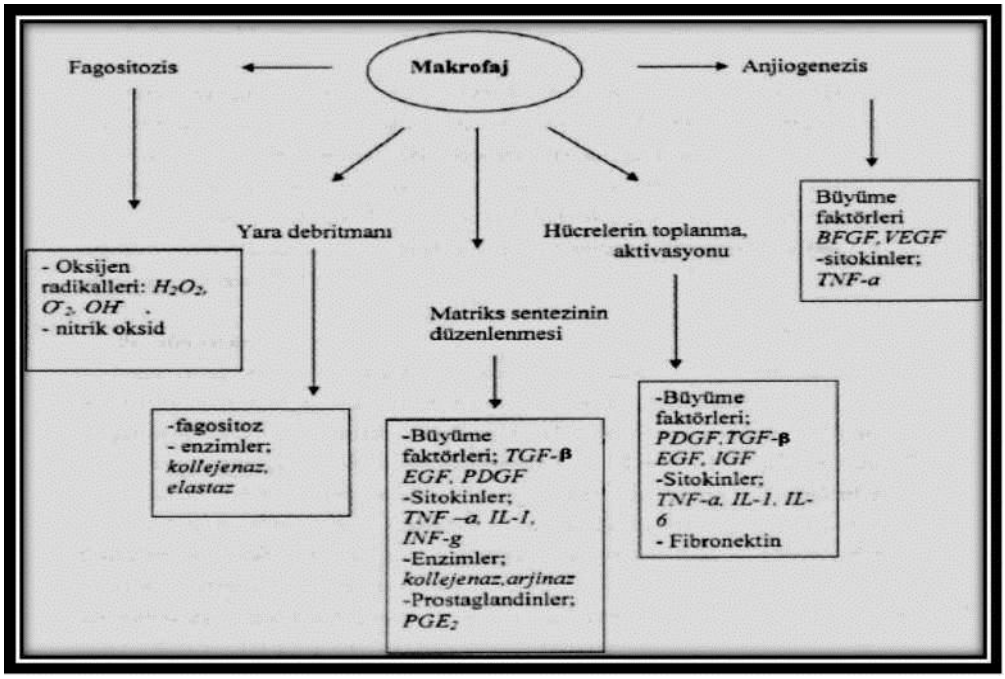
Faktörler	**İşlevleri**
Hemostatik Faktörler	
Fibrin, Plazma Fibronektin	*Koagülasyon, kemotaksis, yapışma, hücre göçü için temel yapı*
Faktör XIII (Fibrin stabilize eden faktör)	*Kemotaksis ve yapışmaya neden olmak*
Dolaşım büyüme faktörleri	*Kemotaksis, mitogenez ve fibroplazinin düzenlenmesi*
Kompleman	*Antimikrobiyal aktivite, kemotaksis*
Trombosit Kaynaklı Faktörler	
Sitokinler, Büyüme faktörleri	*Kemotaksis, mitogenez ve fibroplazinin düzenlenmesi*
Fibronektin	*Matriks oluşumu, trombosit kümelenmesi*
Trombosit Aktive edici Faktör (PAF)	*Trombosit kümelenmesi*
Tromboksan A_2 (TXA_2)	*Vazokonstrüksiyon, trombosit kümelenmesi, kemotaksis*
Serotonin	*Vasküler geçirgenliğin artışı, nötrofil kemotaksisi*
Trombosit Faktör 4 (PF_4)	*Fibroblast ve monosit kemotaksisi, kollajenaz inhibisyonu ve heparinin aktivasyonunu etkisizleştirmek*

Pıhtı oluşumu ile kanama durdurulduktan sonra, endotel hücrelerinden salgılanan histamin, prostoglandin E_2, prostosiklin ve endotelyal büyüme faktörü ile vazodilatasyon gelişir ve damar geçirgenliği artar (22,23). Polimorf nüveli lökositler ve plazma, damar yatağından dışarıya çıkıp yara bölgesine göç ederler. Yara bölgesine gelen lökositler inflamasyon aracılarını serbestleştirirler (2,3).

İnflamasyon evresi, kapiller geçirgenlik artışıyla başlamış olur. Trombositlerin damar endoteli bazal membranına yapışıp fosfolipaz A_2'yi aktive etmesiyle ekstrasellüler aralığa araşidonik asit serbestlenir. Prostoglandin E_1 ve E_2 özellikle artar (2,3)

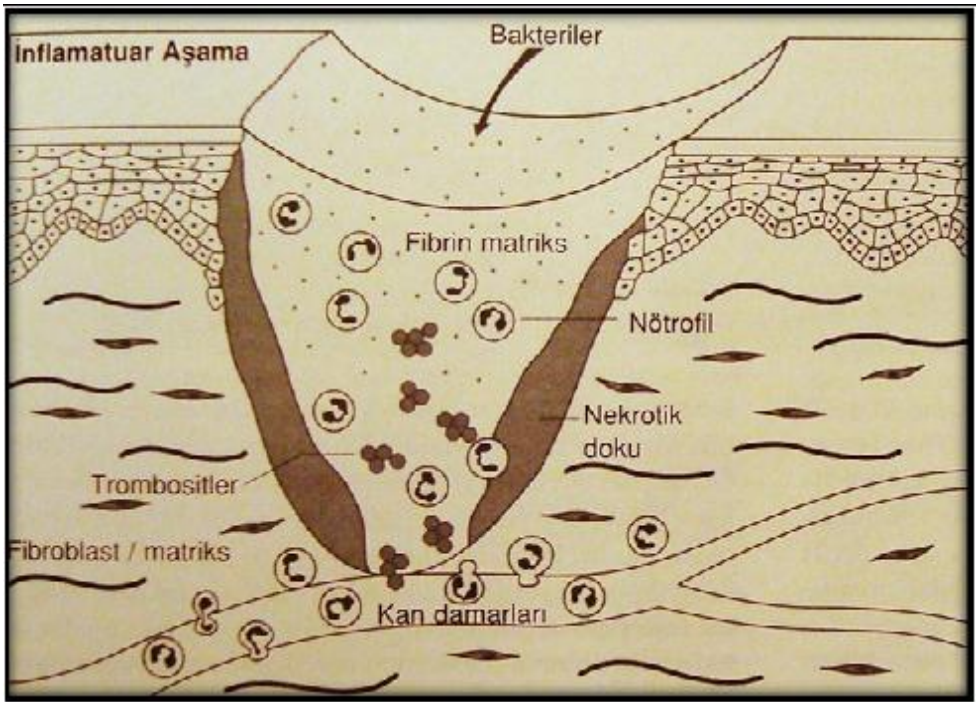
Artan kan akımı ve trombositlerden salınan kemotaktik faktörler aracılığı ile bölgeye yoğun inflamatuar hücre göçü olur. İnflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği, kompleman faktörler, interlökin-1, Tümör nekroz faktör- alfa (TNF-α), Transforming growth faktör-β, Trombosit Faktör 4 (PF-4) gibi kemotaktik maddeler, nötrofil kemotaksisini uyarır (2,3).

Nötrofiller yara yerine ilk gelen ve inflamasyonun erken fazında baskın olan hücrelerdir. Nötrofiller travmayı takiben 6 saat sonra yarada görülürler ve ilk iki gün boyunca hakim olan hücrelerdir. Nötrofillerin yara yüzeyindeki ana görevi, yabancı cisimle bakterilerin fagositozu ve proteaz salınımıyla da travmadan zarar gören hücre kalıntılarının yara bölgesinden temizlenmesidir (1-3, 22, 23). Yarada 2-3. günlerde monosit yoğunluğu başlar. Nötrofil sayısının azalmasıyla beraber monosit/makrofaj sayısı da artar. Makrofajlar 3-5. günlerde yarada hakim hücre olurlar. Aktif makrofajların yara bölgesinde bulunması yara iyileşmesi için esastır. Makrofajların yara iyileşmesindeki temel görevleri ana hatları ile fagositoz ve antimikrobiyal etki, yara debridmanı, matriks sentez regülasyonu, hücre aktivasyonu ve anjiogenezdir (2-4). Makrofajların yara iyileşmesindeki işlevleri Şekil 2.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Makrofajların yara iyileşmesindeki işlevleri (1)

Makrofajlar sadece fagositoz yapmakla kalmaz, aynı zamanda çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımını gerçekleştirir (1). Keratinosit ve fibroblast aktivasyonunu arttırırlar (24). Ayrıca nötral proteazlar yardımıyla bir taraftan plazminojenin plazmine dönüşümünü katalize ederken, diğer taraftan kompleman ve pre-hageman faktörü aktive eder (2-4).



Şekil 2.5. Yara iyileşmesinin inflamatuar fazı (4)

Aktive makrofajlar yara iyileşmesinde kilit rol oynayan hücrelerdir (1-4,25). Proliferatif faza geçişte oldukça önemlidir. Yara bölgesine lenfositlerin gelişi makrofajlarla beraber olur ve aktive olmalarından da makrofajlar sorumludur. İnflamatuar fazın sonlarına doğru ortamdaki sitokin düzeylerinin düşmesiyle monosit/makrofajların ağırlıkta olduğu hücre infiltrasyonu giderek azalır (Şekil 2.5.).

İnflamatuar faz, yaranın derinliğine ve genişliğine göre değişmekle beraber ortalama 3-5 gün devam eder (18,25).

2.3.2.2. Proliferatif Faz (Fibroplazi, epitelizasyon, anjiogenez, ekstrasellüler matriks sentezi; 4-21. günler)

Travmadan sonraki ilk 36-72. saatler içinde damarların adventisyasına yakın mezenşimal hücrelerin farklılaşmasından fibroblastlar oluşur. Fibroblastları yaraya göçünü uyaran ana sitokinler, makrofaj ve trombositlerden salgılanan, PDGF, TGF-β, EGF ve fibronektin'dir (22). Yara bölgesindeki nekrotik dokuları geçip yaralanma bölgesine fibroblastların ulaşabilmesi için fibroblastlar, TGF-β'nın uyarımı ile ortama proteolitik enzimler salgılarlar (22). Bu enzimler matrix metalloproteinazlardır (MMP). MMP-1, jelatinaz (MMP-2) ve stromelisin (MMP-3) ortamdaki nekrotik doku ve

eskarın debritmanını yapar. Fibroblast yoğunluğu, yara yerinde 6. günde maksimum düzeye ulaşır. Fibroplazi safhası, fibroblastların aktivite gösterdiği ve zemin maddesi ile bağ dokunun sentezlendiği dönemdir. Yara gerilim gücünde belirgin bir artış meydana gelir. Bu fazda; fibroblastlar ile epitel ve endotel hücreleri hakimdir. Endotelyal hücreler ise yara kenarındaki sağlam venüllerden tomurcuklanma yoluyla veya anjiogenez sonucu oluşan yeni kapillerlerden ortaya çıkar (1).

Fibroblastların ana fonksiyonu kollajen sentezidir (1,4). Kollajen sentezini uyaran sitokinlerin başında ise TGF-β, PDGF ve EGF gelmektedir (21). Kollajen sentezi yaralanmanın 5-7. günlerinde maximum seviyededir. Fibroblastlar aynı zamanda fibronektin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi proteinler de sentezler (22). Bu maddeler kollajen fibrillerinin kümelenmesi esnasında çapını ve büyüklüğünü etkileyerek bağ dokusunun fiziksel özelliklerinin oluşmasında rol oynarlar (1,4). Fibroblastlar kollajenin sentez ve birikimi yanında bağ dokusunun yapısal ve fonksiyonel olarak uygun şekil almasında da görev alırlar.

Ekstrasellüler matrix sentezi 2-3. günlerde başlayıp, 15-20. güne kadar devam eder. Bu dönemin en önemli hücre ürünü kollajendir. Kollajen tüm vücut proteinin %30'unu oluşturmaktadır ve vücut ısısında proteolitik enzimlerin etkisine dayanıklıdır (1,4). Kollajen moleküllerinin en belirleyici özelliği, üç polipeptit alt biriminden oluşan büklümlenmiş kangal olan üçlü sarmaldır. Polipeptit alt birimler olan α-zincirler, bir ortak eksen etrafında dönerek 3000 Amstrong uzunluğunda ve 15 Amstrong çapında katı bir çubuk benzeri bir molekül yapar; bunlar fibrilleri oluştururlar; fibriller de kümelenerek fiberleri oluştururlar. Kollajen moleküllerinin ikinci çarpıcı özelliği, amino asit dizisinin tekrarlayan tripeptit olmasıdır. Birinci aminoasit glisin, ikincisi genelde prolin, üçüncüsü ise hidroksiprolindir (15,26). Sağlam deride %80-90 tip-I kollajen geri kalan %10-20'lik kısmı ise tip-III kollajen oluştururken, granülasyon dokusunun %30'unu tip-III kollajen oluşturmaktadır (22).

Doku kaybı olan yaralarda, sıvı kaybını engellemede ve enfeksiyon oluşumuna karşı koymada epitelyal hücre artışı önemlidir. Epitelizasyon, insizyonel yaralarda, yaralanmadan hemen sonra başlar ve 24-48 saat içinde tamamlanır (22). Yara temiz, bazal lamina sağlamsa ve yara nemli tutulmuşsa epitelizasyon hızı artar. Epitelizasyonun tamamlanmasında, EGF, TGF-α, platelet kaynaklı EGF ve keratinosit

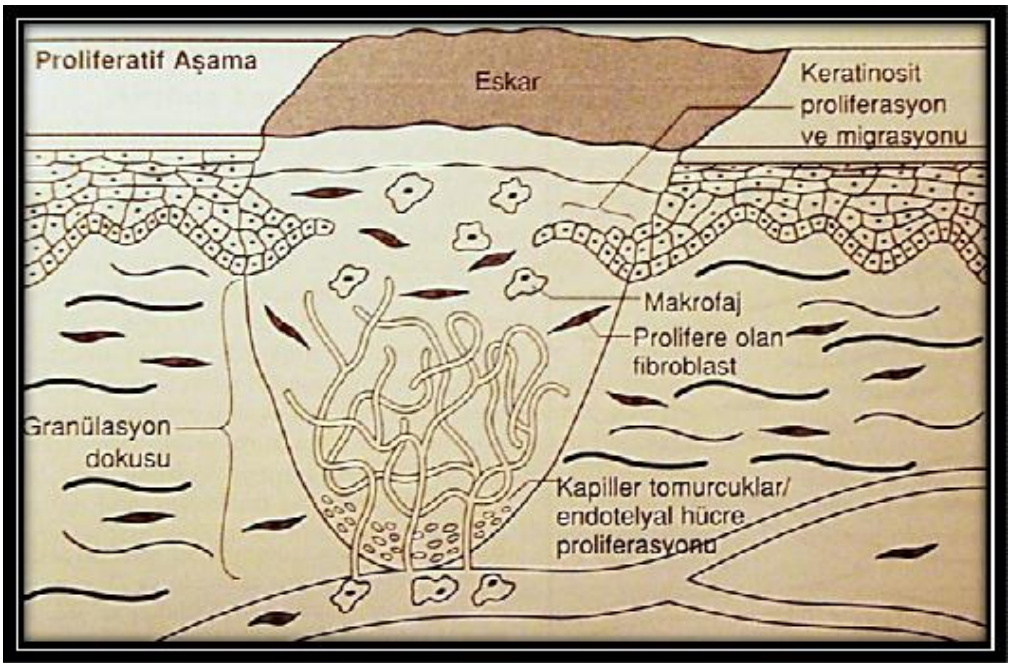
growth faktör (KGF diğer adı FGF-7) etkili olan sitokinlerdir. Ekstraselüler matriks, büyüme faktörleri ve yaranın oluşturduğu elektriksel alandaki değişiklikler epitelyal hücrelerin migrasyonu için uyarıcı etki gösterirler. Kısmi kalınlıklı yaralarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma olurken, tam kat yaralarda epitel yalnızca yara kenarlarından ilerler.

Fibroblastlar yara içine göç ederken yeni kapiller oluşumu ile paralel hareket ederler. Gerek serum gerek yara sıvısı, hem fibroblastlar hem de endotelyal hücreler için kemotaktiktir (1). Aktive olan makrofajlar tarafından salınan anjiogenik faktörlerin uyarısıyla yara bölgesinde endotelyal hücre tomurcuklarından yeni kapillerler oluşur. Kısacası; onarım alanında bulunan damarların tomurcuklanmasıyla yeni damarların oluşumu olayına anjiogenezis veya neovaskülarizasyon denir (27). Dördüncü günde belirginleşir ve yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder. Primer uyarıcısı vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'dür (1-4,27). Erken dönemde trombositlerce salgılanan transforming büyüme faktörü-Beta (TGF-β) ve PDGF de dolaylı olarak anjiogenezi uyarır (2,3,27). Makrofajlar salgıladıkları TNF-α ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleriyle anjiogenezde de anahtar rol oynarlar ve NO sentezini sağlarlar (1,28).

Açık yaralarda granülasyon dokusu, hasardan yaklaşık 5 gün sonra yeni damar oluşumu ile başlar. Yeni kan damarlarının yanında makrofaj, fibroblast ve gevşek bağ dokusu içerir. Granülasyon dokusunda hemen her zaman bulunan makrofajlara ek olarak uygun kemotaktik uyarı varlığında nötrofiller, eozinofiller, mast hücreleri ve lenfositler de görülür. (Şekil 2.6.)

Yara kontraksiyonu insizyonel yaralar için daha az önemli olmakla beraber açık yaralar için büyük önem arz etmektedir. Granülasyon dokusunun gelişimi ile eş zamanlı olarak yara kontraksiyonu gerçekleşir (1,4,22). Doku kaybı olan yaralanmalarda, aktin filamentlerinden zengin miyofibroblastlarca başlatılan kontraksiyon hareketi, yaranın lokalizasyonuna bağlı olmakla beraber günlük 0,6-0,7mm lik kontraksiyona uğrayarak yara kenarlarını yaranın geometrik merkezine doğru çeker (22). İlerleyici kontraksiyon yara boyutunu küçültür, ilerleyen epidermis sonuçta granülasyon dokusunu tamamen örter.

İnsizyonel yaralarda myofibroblastlar, yaralanmanın 4-6. günlerinde yaranın santral bölgesinde ortaya çıkar ve 2-3 hafta sonra kaybolur (22).Yara kontraksiyonu hücre aracılı bir durum olup kollajen sentezine ihtiyaç duymaz. Yara kontraksiyonunda TGF-β anahtar rol oynar.



Şekil 2.6. Yara iyileşmesinin proliferasyon aşaması (4)

Yara yüzeyinin örtülmesinin tamamlanmasını takiben epidermis keratinize olmaya başlar.

2.3.2.3. Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma (8. gün-1 yıl)

Kollajenin ortaya çıkması ile başlayan bir süreçtir. Bu fazın ana özelliği kollajen depozisyonu, organizasyonu ve iyi bir şekilde ağ yapı oluşturmasıdır. Bu faz sırasında yoğun hücresel ve vaskülaritesi olan doku, daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusu ile yer değiştirir. Fibroblast ve inflamatuar hücreler giderek azalır (1-4).

Yarada fibroblastlar tarafından sentezlenen ilk kollajen olan tip III kollajen, organize olmamış ve daha çok jel benzeri yapıdadır. Bu fazda tip III kollajen giderek yıkılır ve yerini tip I kollajene bırakır. Oluşan bu yeni kollajen lifleri uygulanan stres çizgilerine uygun dizilirler ve organize olurlar (22).

Kollajen yapım ve yıkımı ekstrasellüler matriksin yeniden yapılanmasıyla birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit bir dengeye ulaşır. Kollajen yıkımı fibroblastlar, granülositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları (MMP) tarafından sağlanır. Bu enzimler doku metalloproteinaz inhibitörleri tarafından inhibe edilir (TIMPs). Doku metalloproteinaz inhibitörleri ve matrix metalloproteinazları (MMP) arasındaki denge TGF-β, PDGF ve IL-1 tarafından regüle edilir (22). Yarada oluşan yeni kollajen lifler, önce kendi aralarında kovalent bağlarla bağlanırlar. Yara çevresindeki eski kollajen liflerine bağlanma ise sonradan gerçekleşir. Yaranın gerginliği, sağlamlığı ve mekanik etkilere verdiği cevapta en önemli faktör kollajen miktarı ve bunun niteliğidir. Kollagen miktarı, çapraz bağlanma yoğunluğu ve yapım-yıkım arasındaki dengesi yaranın gücünü belirler. Kopma kuvveti ile kollajen fibrillerinin kalınlığı arasında doğru orantı vardır. Kollajen fibrillerin yerini daha fazla moleküller arası bağlar içeren organize fibrillerin alması ile gerilim kuvveti yavaş yavaş artar (1,2,4).

Olgunlaşma fazının süresini hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi ve inflamasyon periyodunun süresi/yoğunluğu gibi çoklu değişkenler belirler.

İyileşme ilerledikçe kollajende artış, fibroblast ve damar sayısında azalma gerçekleşir. Damarların büyük kısmında trombozis ve dejenerasyon gelişir. Sonuçta, granülasyon dokusu inaktif görünümde iğsi şekilli fibroblastlar, yoğun kollajen demetleri, elastik doku parçaları, ekstrasellüler matriks ve az sayıda damarlardan oluşan skar dokusuna dönüşür. Gelişen skar dokusu başlangıçta pembedir, damarsal yapıların azalması ile ileri aylarda giderek solar (1,4).

Cerrahi açıdan yara iyileşmesinde meydana gelebilecek bütün morfolojik ve kimyasal olayların en önemli sonucu, yara gerilim kuvvetinin normal doku düzeyine gelmesidir. Ancak yara gerilim kuvveti hiçbir zaman normal derinin % 80'ini geçmez. Deri elastisitesi ve enerji absorbsiyon kapasitesi normale dönmez (1,4,22).

Gerilim kuvveti; her kesit alanı birimine uygulanan kuvvettir. Yaranın yapısal kuvveti olarak da tanımlanır (1). Kopma kuvvetiyle koreledir. Yeni kollajen sentezi miktarını ve yara iyileşmesinin erken fazının iyi bir şekilde devam ettiğini yansıtır (29). Kopma kuvveti, 1960'lı yıllardan bu yana yara iyileşmesinde objektif bir kriter olarak kullanılır (30).

Yara kopma kuvveti, iyileşen yarayı ayırmak için gereken kuvvet miktarının direkt ölçümüdür. Yaranın kollajen içeriği ile bağlantılıdır ve en önemlisi klinik durumu tam yansıtır.

Yara iyileşmesinde bütün bu safhaların sonunda yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik olan yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur (1-4).

2.3.2.3.1. Kollajen ve Hidroksiprolin

Yara bölgesindeki kollajen miktarı, yara iyileşmesini gösteren önemli parametrelerden birisidir.

Kollajen, deri, kıkırdak, kemik ve tüm dokuların başlıca yapı proteinidir. Vücutta en fazla miktarda bulunan protein olan kollajen, total vücut proteininin %30'unu oluşturur ve vücut ısısında proteolitik enzimlerin etkisine dayanıklıdır (1,4).

Kollajen moleküllerinin en belirleyici özelliği, üç polipeptid alt birimden oluşan büklümlenmiş kangal olan üçlü sarmaldır. Polipeptid alt birimler olan α-zincirler, bir ortak eksen etrafında dönerek 3000 A° uzunluğunda ve 15 A° çapında katı bir çubuk benzeri bir molekül yapar. Bunlar fibrilleri oluşturur, fibriller de kümelenerek fiberleri oluştururlar. Kollajen moleküllerinin ikinci özelliği, amino asit dizisinin tekrarlayan tripeptit olmasıdır. Birinci aminoasit glisin, ikincisi genelde prolin, üçüncüsü ise hidroksiprolindir (26).

Hidroksiprolin ve hidroksilizin kollajenle doğrudan birleşmezler. Bunların ön maddeleri olan prolin ve lizin, protokollajenin peptit zincirlerine bağlanarak hidroksil hale dönerler. Burada protokollajen prolin hidroksilaz ve protokollajen lizil hidroksilaz enzimleri katalizör olarak rol oynarlar. Bu reaksiyonda α-ketoglutarat, oksijen, demir ve askorbik asit kofaktör olarak kullanılır (26,31). Hidroksiprolin kollajen aminoasitlerinin %11'ini oluşturur. Hidroksilasyonu tamamlanan bu α-zincirler, üçlü helezon meydana getirerek tropokollajen moleküllerini yaparlar (26). Bu moleküller transferaz enzimleriyle hücre dışına çıkartıldıktan sonra özel tarzda bir araya gelerek kollajen fibrillerini oluştururlar. Kollajendeki aldehit grupları arasına lizil oksidaz enzimi ile sağlanan bağlantılar da eklendiğinde sağlam kollajen fibrilleri oluşur. Kollajen fibrilleri arasındaki moleküller içi ve arası bağlar, yaranın kopma kuvvetine ve sağlamlığına etki

eder (26, 31, 32).

Kollajen ilk sentezlendiğinde çapraz bağları azdır ve nötral çözücülerde çözülebilir. Çapraz bağları arttıkça sadece asit çözücülerde çözülebilir hale gelir. Molekül tüm çapraz bağlantılarını tamamlayıp son halini aldığında ise hiçbir çözücüde çözülemez; ki bu da molekülün en dayanıklı halidir. Dokudaki çözülebilen ve çözülemeyen kollajen düzeyi saptanarak yara iyileşmesi hakkında fikir edinilebilir (26, 31, 32).

2.4. Yara İyileşme Şekilleri

Yara iyileşmesi 'mekanizmasına göre' 3 gruba ayrılır. Şekil 7'de özetlenmiştir.

2.4.1. Primer İyileşme

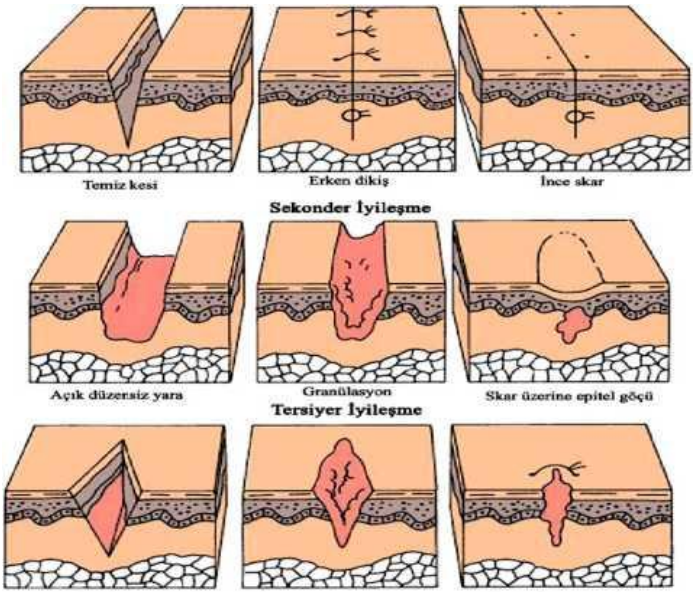
Doku kaybı olmaksızın yara kenarları karşılıklı getirilerek sütür, stapler veya yapışkan bantlarla kapatılması esasına dayanan iyileşmelerdir (1). Primer iyileşmede epidermis önemli rol oynar (1,4,33). Her iki yara kenarındaki epidermis saatler içinde kalınlaşır, kesi yerleri boyunca insizyon aralığının derinliğine doğru ilerler ve 24-48 saat içinde yüzey kurutunun altında orta hatta birleşerek devamlı ancak ince bir tabaka oluşturur. Bakteriyel invazyon için bariyer oluşturur. Kollajenin ve diğer matriks proteinlerinin sentezi, depolanması, kollajen lifleri arasındaki bağların oluşumu dengeli bir şekilde devam eder (4).

2.4.2. Sekonder İyileşme

İnflamatuar ülserasyon, abse oluşumu ve geniş doku defektleri olan yüzey yaralanmalarında olduğu gibi aşırı miktarda hücre ve tam kat doku kaybı varlığında, iyileşme süreci daha karışıktır. Kontraksiyon ve yüzey epitelizasyonu ile karakterizedir. Primer iyileşmeden farkı, inflamatuar yanıtın daha şiddetli, granülasyon dokusunun daha fazla miktarda oluşu ve yara kontraksiyonudur (1,4).

2.4.3. Tersiyer İyileşme (Gecikmiş primer iyileşme)

Başlangıçta çok ileri derecede kontamine olduğundan primer kapatılamayan ancak 4-5 günlük açık bırakmadan sonra iyi kanlanabilen dokularda uygulanır. Bu yöntem, yara yatağındaki inflamatuar sürece, bakteri konsantrasyonunu en aza indirmek için zaman tanır. Daha sonra genellikle primer kapama uygulanır. (1,4)



Şekil 2.7. Yara iyileşme tipleri

2.6. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Cerrahide yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktörlerin varlığı bilinmektedir.

Son yıllarda moleküler biyoloji, immünohistokimya ve en son olarak da biyomühendislik alanlarında sağlanan gelişmeler sayesinde yara iyileşmesinin metabolik, hümoral ve hücresel düzeyde anlaşılması kolaylaşmıştır. Yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktör belirlenmiştir (1-4,15,33).

- **Lokal faktörler:**
  - Cerrahi alanının doku kan akımı (oksijenizasyon)
  - İskemi
  - Enfeksiyon (nekrotik doku, yara lokalizasyonu)
  - Yabancı cisimler
  - Ödem/artmış doku basıncı (doku gerginliğinin artması, vs.)
  - Yara yerinde hematom ve seroma gelişimi

- Cerrahi teknikte yetersizlik ve yanlış sütür materyali
- Çok baskılı pansuman

- **Sistemik faktörler:**
  - Doku perfüzyonunu etkileyen kardiyovasküler sistem hastalıkları
  - Kan oksijenizasyonunu etkileyen respiratuar sistem hastalıkları
  - Obezite
  - Metabolik hastalıklar (üremi, kronik anemi)
  - Endokrin hastalıklar (**Diabet**, hipotroidizm)
  - Renal ve hepatik hastalıklar
  - Yaşlılık
  - Hipotermi
  - Ağrı
  - Sepsis
  - Beslenme bozuklukları (protein-kalori eksikliği, vitamin eksikliği, eser element eksikliği vs.) ve dehidratasyon
  - Sigara (nikotin)
  - Kortikosteroid
  - İyonize radyasyon
  - Kemoterapotik ilaçlar (kolşisin, metotreksat, 5-florourasil, siklofosfamid)
  - Nonsteroid anti-enflamatuar ilaçlar
  - Bağ doku metabolizma bozukluğu yapan genetik hastalıklar (Kutis laxa, Ehler-Danlos, Osteogenezis İmperfekta, Marfan Sendromu) (1-4, 15, 33).

Uygun bir yara iyileşmesi için, tedavi yöntemlerinin uygulanmasının yanı sıra yara iyileşmesini olumsuz etkileyebilecek faktörlerin de en aza indirgenmesi gerekmektedir. Bu faktörlerin arasında sıklıkla karşımıza çıkan diabet, yara iyileşmesini etkileyen önemli hastalıklardan biridir (6). Dolayısıyla bozuk yara iyileşmesine örnek teşkil eden diabetin, yara iyileşme modellerinde kullanılması klinikle uyumludur.

2.6.1. Diabet ve Yara İyileşmesi

Diabet, yavaş ilerleyen, kronik metabolik hastalıklardan birisidir. Diabetin pek çok organ üzerinde olumsuz etkisi vardır. Yara iyileşmesi için bir risk faktörü olarak kabul edilmesine ve birçok araştırmayla teyit edilmesine rağmen diabetin yara iyileşmesini nasıl engellediğinin işleyişi net bir şekilde aydınlatılamamıştır (34). Yara iyileşmesinde görülen aksaklıklar, yetersiz insülin salınımı ve artan kan glikoz miktarı sebebi ile olabilir çünkü hiperglisemi hücrelerin davranışlarını etkilemektedir (35). Diabetik insan ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, inflamasyon, kollajen birikimi, hücrelerarası matriks farklılaşması, fibroblast çoğalması ve yara kontrakasiyonu gibi yara iyileşme sürecinde anormallikler olduğunu göstermektedir (36).

Diabetlilerde görülen yetersiz yara iyileşmesinin inflamatuar faz sırasındaki anormal doku cevapları ile ilgili olduğu düşünülmektedir (34, 36). Yara iyileşmesinin ilk evresi olan inflamatuar fazın tipik özellikleri, diabetli hastaların yaralarında anormallikler gösterir. Yara bölgesinde hücre birikiminin azalması, inflamatuar hücre yoğunluğunun azalmasına ve böylece inflamatuar medyatörlerin azalmasına yol açmaktadır. Bu da fibroblast göçünün yavaşlamasına ve kollajen sentezinde azalmaya neden olur ve bu da yara geriminin azalmasıyla sonuçlanır. Azalmış anjiogenezin yol açtığı hipoksi ve enfeksiyon riskinde artışın haricinde diabetik yara iyileşmesinde bahsedilen problemlerin çoğunluğu inflamasyon peryodunda yer almaktadır. Bu da bu peryodun dengesinin yara iyileşmesinin temelini oluşturduğunu gösterir (9).

Diabetik hastaların %98'inde kapiller endotelinin bazal membranın fonksiyon bozukluğu sebebiyle vazodilatasyon cevabı bozuktur (37). Bu sertliğin sebebi protein glikolizasyonudur (34, 35). Hasar görmüş endotel tamir edilirken hücre içi yüksek glikoz endotel hücrelerince bazal membran sentezini uyarır. Aşırı protein birikimi ile yeni oluşan bazal membran kalınlaşır ve kapiller geçirgenlik azalır. Sonuç olarak lökosit ve eritrosit göçü azalır (37). Ayrıca yara bölgesine gelen enflamatuar hücrelerin yara

alanını terk etmeleri gecikir ve kronik enflamasyon oluşur (36, 38). Diabette yara iyileşmesinin erken evrelerinde lökosit aktivitesinin bozulması daha sonraki evrelere de etki eder (38) ve fibroblast çoğalması ve kollajen sentezini de önler (39). Bozuk granülasyon dokusu oluşur (37, 40).

Diabette yara iyileşmesinin bozukluğunun bir başka nedeni de kollajen sentezinin seçici inhibisyonudur (41). Farmakolojik olarak diabet oluşturulmuş hayvanlarda kontrol grubuna göre % 30 daha az kollajen içeriği saptanmıştır (42). Diabet, kollajen oranına olduğu gibi kalitesine de etki eder. Kollajenin çapraz bağlanma oranını karbohidrat metabolizması belirler (43). Yapılan bir çalışmada diabette insan kollajeninin daha çabuk yaşlandığı gösterilmiştir (44). Diabette kollajenin glikolizasyonu da diabetik olmayanlara göre daha fazla artış göstermiştir (45). Kollajen sentezindeki azalmaya bağlı olarak diabette yaranın kopma kuvvetinde azalma belirlenmiştir. Bu durum özellikle tedavi edilmemiş hayvanlarda gösterilmiştir. İnsülin tedavisi azalmış yara gerim gücünü geriye çevirmez (46).

İnsülinin fizyolojik konsantrasyonu tip I kollajen üretimini artırır (47). Diabette glikokortikoid miktarı artar. Glikokortikoidler, prokollajen mRNA üretimini, tip I ve tip III kollajen üretimini olumsuz yönde etkilemektedir (48). Ayrıca MMP üretiminin arttığı ve matriks metalloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) üretiminin azaldığını gösteren çalışmalar vardır (35,49). C vitamini yara iyileşmesi sürecinde kollajen sentezinde önemli rol üstlenir. Diabette görülen yetersiz C vitamini (50) kollajen sentezinde çapraz bağlanmayı azaltır, 3'lü heliks yapısının oluşumu gecikir (37).

Artmış ateroskleroz ve nöropati nedeniyle azalmış perfüzyon, diabetik hastalarda enfeksiyon için artmış risk teşkil etmektedir. Bunun yanında uzun süren immün fonksiyon bozukluğu ve azalmış anjiogenez de bu anormal iyileşmeye katkıda bulunur (15). Yara yerinde açılma, hipertrofik skar, keloid ve kronik ülsere dönüşüm de diabetik yaralarda görülebilen problemlerdendir (15).

2.6.2. Deneysel Diabet

Diabet, sık görülen ve yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkileri olan bir hastalıktır. Diabetik hastalardaki cerrahi yaralar günümüzde dahi hala problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla bozuk yara iyileşmesine örnek teşkil eden diabetik insan ve

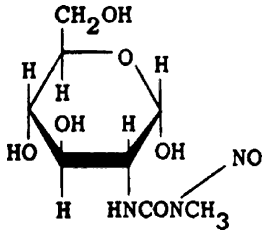
hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar klinikle daha uyumludur (6). Diabet kronik bir hastalık olup, uzun dönem incelemeler veri toplama açısından çok vakit alacağından hayvan modelleri üzerinde çalışılmaktadır. Hayvan modelleri genelde insan diabet modellerine benzese de kesinlikle tıpatıp aynı olmadığı unutulmamalıdır.

Deneysel diabet modellerinde en çok kullanılan diabetojenik ajanlar Streptozotosin ve Alloksan olmuştur (51). Genetik olarak diabet oluşturulmuş hayvanlar da kullanılmıştır ancak streptozotosinin genetik olarak oluşturulan diabete göre yara iyileşmesine daha az zarar verdiği ve erişkindeki diabeti daha iyi karakterize ettiği bildirilmiştir (52).

Streptozotosin Alloksan'a göre daha az toksisiteye sahip olup pankreasın β hücrelerini seçici bir şekilde geri dönüşümsüz olarak tahrip eder. Ayrıca streptozotosinin oluşturduğu diabet insanda görülen diabete çok benzediği için deneysel olarak daha fazla kullanılmıştır. β hücre yıkımı ile insanlardaki Tip I diabete benzer şekilde diabet oluştururlar (53).

2.6.3. Streptozotosin

Diabetojenik özelliği olan dar spektrumlu bir antibiyotiktir. Streptomyces achromogenes kültürlerinden 1959 yılında Herr ve Eble tarafından elde edilmiş, 265 D molekül ağırlığında 2-deoksiglikozun nitroz üre türevidir. Şekil 2.8.'de gösterilen streptozotosin (STZ) Langerhans adacıklarının β hücreleri için özgün toksik etki gösteren bir maddedir.



Şekil 2.8. Streptozotosinin kimyasal yapısı (54).

Streptozotosin açık sarı renkte, suda ve alkolde kolayca çözünebilen bir maddedir. Suda pH 4,5'da çözünüp stabil kalmakta, bu pH'nın dışında derhal parçalanmaktadır. Önceleri antibiyotik olarak kullanılırken antitümöral etkiye sahip olduğu ve kanserojen rol oynadığı bulunmuştur. Bugün ise diabetojenik etkisinden yararlanılmakta ve deneysel diabetik çalışmalarda kullanılmaktadır. Kan glikoz düzeyini en yüksek düzeye

çıkaran STZ dozu genellikle 60-65 mg/kg'dır (54). Literatürde kullanılan doz çeşitlilik göstermekle beraber verilme şeklinde de farklılıklar bulunmaktadır. Diabetik hayvan çalışmalarının bazılarında 2 doz intravenöz 60 mg/kg streptozotosin kullanılırken (55), bir kısmında da tek doz 70 mg/kg streptozotosini 0.1 M sitratta pH 4,0 iken intraperitoneal olarak uygulamıştır (56). Ön çalışma neticesinde 30 mg/kg dozda streptozotosini 0.1 M sitratta pH 4,5 iken intraperitoneal olarak uygulanmasının ratları diabetik yapmaya yettiği gözlemlendi ve çalışmamız bu dozda gerçekleştirildi. Daha yüksek dozlarda hayvanlar öldü, daha düşük dozlarda ise diabetik hale gelmediler.

2.7. Sarı Kantaron (Hypericum Perforatum)

Hypericaceae familyasına ait olan ve kılıç otu, mayasıl otu, kan otu, yara otu, binbir delik otu olarak da adlandırılan sarı renkli bir bitkidir. Avrupa'da daha çok St.John's wort (Aziz John bitkisi) olarak bilinir. Bu ismi, Aziz John günü olan 24 Haziran'da bitkinin çiçek açması ve toplanması nedeniyle almıştır. Işığa tutulduğunda yapraklarının file şeklinde delikli görünmesi nedeniyle binbir delik otu, sıkıldığında çiçeğinden kırmızı boya akması nedeniyle de kan otu adı halk arasında yaygın olarak kullanılmıştır. Dünya'da daha çok Avrupa'da, batı Asya'da ve kuzey Afrika'da yaygın olarak bulunurken, Türkiye'de genel olarak her dağlık alanda ve daha sık olarak Toroslar civarında rastlanmaktadır (8).

Hypericum Perforatum, tedavi amaçlı olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Daha çok depresyon üzerindeki olumlu etkileri ile dikkat çekmiş (57) ve bu etkilerini standart antidepresanlara göre daha az yan etkiyle göstermiştir (58). Ülkemizde yara ve yanıklarda kullanımıyla ünlüdür.

Kantaron çiçeği ile su ve yağ karışımı hazırlanabilir fakat ülkemizde geleneksel kullanım daha çok yağ karışımı üzerinedir. Hypericum Perforatumun çiçekli kısımlarıyla hazırlanan su karışımının Türk geleneğindeki kullanım alanları arasında ürogenital enflamasyon, diabetes mellitus, nöralji, kalp rahatsızlıkları, gastrit, hemoroid ve peptik ülser sayılabilir. Yağ karışımının ise daha çok kesilerde ve yanıklarda kullanıldığını gösteren yayınlar vardır (8,59). Gastrit ve peptik ülser gibi rahatsızlıklarda yağ karışımının oral kullanımı da yaygındır. Yeşilada ve arkadaşları (60), kantaronun bu etkisini Helicobakter piloriye karşı olan aktivitesinden kaynaklandığını savunmuşlardır (60).

Şekil 2.9. kantaron çiçeğine bir örnektir.

Şekil 2.9. Kantaron çiçeği.

Her ne kadar Avrupa'da ve Türk geleneklerinde yara iyileşmesinde Hypericum Perforatum kullanılmış olsa da, bu bölgelerin dışında Hypericaceae ailesinden birkaç tür daha bu amaçla kullanılmıştır. Örneğin Hindistan'da Hypericum Patulum ve Hypericum Hookerianum yine bu amaçla kullanılan türlerindendir. Mukherjee ve arkadaşları (61) Hypericum Hookerianumun methanol ekstresini hazırlamışlar ve ratlarda insizyonel ve eksizyonel yara iyileşmesi üzerine çalışmışlar. Buna göre yara kontraksiyonunda, doku rejenerasyonunda, kopma kuvvetinde ve epitelizasyon kapasitesinde artma kaydetmişlerdir (61). Yine aynı şekilde Hypericum Patulum üzerinde çalışılmış ve aynı sonuçlar elde edilmiştir (62). Süntar ve arkadaşları (9), geleneksel kullanım alanı olmayan Hypericum Scabrum üzerinde de çalışmışlar fakat yara iyileşmesi üzerine etkisinin olmadığını ortaya koymuşlardır (9). Bu da yara iyileşmesi etkisinin Hipericaceae ailesinin yalnızca belirli türlerine özgü olduğunu göstermektedir. Bizim bu çalışmada Hipericaceae ailesinden Hypericum Perforatumu kullanmamızın sebebi geleneklerimizde kullanım alanı bulmasındandır.

2.7.1. Hypericum Perforatum ve Yara İyileşmesi

Hypericum Perforatumun bileşenleri arasında hyperforin, hyperisin ve flavonoid grubundan hyperozid, isoquersitrin, rutin ve epikatesin yer almaktadır. Bunlar arasında yara iyileşmesinde en çok hyperforinin etkili olduğu fakat diğer maddelerin de yardımcı olduğu gösterilmiştir (63, 64-66). Yara iyileşmesinde Hypericum Perforatumun etki

mekanizmaları arasında Süntar ve ark'nın (9) çalışmasına göre enflamasyon peryodunu kısalttığı (antienflamatuar etki), enfeksiyona direnci arttırdığı, fibroblast migrasyonunu arttırdığı ve kollajen depolanmasını arttırdığı bulunmuştur. Bunun yanında fibroblast yüzdesinde artış meydana getirdiği, fibroblastlardaki kollajen sentezini arttırdığı da gösterilmiştir (67).

Hypericum Perforatum içerisindeki Hyperforin maddesi siklooksijenaz-1 ve 5-lipooksijenaz'ın ikili inhibitörü olarak görev yapmaktadır (64). Bu anti-enflamatuar etkiye Hypericum Perforatumun bileşenlerinden flavonoidler (kuersetin ve amentoflavon) ve psödohiperisinin de katkısının olduğu gösterilmiştir (65). Flavonoidlerin aynı zamanda lipid peroksidasyonunun inhibisyonunu sağlayan iyi bilinen bir antioksidan olduğu ortaya konmuş. Bu antioksidan etkinin de hücre yıkımını engellediği ve kollajen fibrillerinin yıkımını azalttığı vurgulanmıştır (66).

Kantaronun literatürde bahsedilen antienflamatuar etkisinin yara iyileşme sürecini olumsuz etkilediği düşünülebilir. Uzun süren enflamasyon peryodu yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır. İyileşme sürecini kısaltmak ve bunun yanında ağrıyı ve skar oluşumunu da azaltmak amacıyla antienflamatuar bir aktiviteye ihtiyaç vardır (68). Süntar ve arkadaşları (9) kantaronun enflamasyon peryodunu kısalttığını ve enfeksiyona karşı bir direnç oluşturduğunu öne sürmüşlerdir. Bahsi geçen bu çalışmaların hepsi normal yaralardaki çalışmalar olup diabetik yaraları temsil etmemektedir.

Bilindiği üzere yara bakımının birinci hedefi yarayı enfeksiyondan korumaktır. Literatürde, Hypericaceae ailesinden olan bitkilerin önemli derecede antibakteriyel ve antiviral etkilerinden bahsedilmektedir (60,69). Schempp ve arkadaşları (70), hiperforinin metisilin rezistans Stafilokok Aerus grubu ve diğer gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğunu savunmuşlardır. Hatta Gurevich ve arkadaşları (71) Hypericum Perforatum içerisindeki hiperforin maddesinin etkili olduğu bakteri ve mantarları listelemişlerdir. Literatür bilgileri kantaronun bahsi geçen etkilerinin yara iyileşmesine katkısı olduğunu fakat asıl etki mekanizmasının bu olmadığını göstermektedir.

Hypericum Perforatumun yara iyileşmesi üzerindeki asıl etkisi birçok araştırmacının merak konusu olmuştur. Öztürk ve arkadaşlarının (67) yürüttüğü deneysel çalışmada kantaronun tavuk embriyonik fibroblastları üzerindeki etkisi araştırılmış ve in vitro ortamda pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Rao ve arkadaşları (11) kantaronun %50'lik

etanol ekstresini ratlarda oral olarak uygulamış ve in vivo olarak yara iyileşmesi üzerine çalışmışlar ve olumlu etkisi olduğunu bulmuşlardır. Bunun yanında Lavagna ve arkadaşları (10) tarafından kantaronun zeytinyağı ekstresi kullanarak yaptığı çalışmada cerrahi yaralar üzerinde kantaron yağının etkisini araştırmış ve kontrol grubuna göre daha etkili olduğu görülmüştür. Literatürdeki diğer klinik çalışmalar, kantaron yağının bası yaralarına (72), ve atopik dermatite (73) de faydalı olduğunu göstermişlerdir. Süntar ve arkadaşlarının (9) yürüttüğü deneysel bir çalışmada ise ratlar üzerinde insizyonel ve eksizyonel yaralarda geleneksel olarak hazırlanmış kantaron yağının yara iyileşmesi üzerine etkisi ve Hypericum Perforatumun içerisindeki aktif komponent araştırılmış ve Türk geleneklerine göre hazırlanmış kantaron yağının yara iyileşmesinde etkin rol oynadığı kanıtlanmıştır (9). Hazırlanmasında kullanılan zeytinyağının da yara iyileşmesinde etkin olduğu fakat içerisine kantaron çiçeklerinin eklenmesiyle daha etkili olduğu belirlenmiştir (9).

Yara iyileşmesinde Hypericum Perforatumun en sık bahsedilen etkisi anti-enflamatuar etkidir. Çalışmalar da en çok bu etki üzerinde yoğunlaşmıştır. Hammer ve arkadaşlarının (74) in vitro çalışmasında prostoglandin E2, tümör nekroz faktör-α ve interlökin-10 gibi pro-inflamatuar medyatörlerin üretiminin engellenmesi şeklinde etki gösterdiğini savunmuşlardır. Albert ve arkadaşları (75), bu etkiyi açıklarken siklooksijenaz-1 ve 5-lipooksijenazın dual inhibisyonundan bahsetmişlerdir. Bu etkilere Hypericum Perforatumun içeriğindeki hiperforin, hiperisin, psödohiperisin ve flavonoidlerin sahip olduğu gösterilmiştir. Fakat hangi maddenin daha etkin olduğu tartışma konusu olduğundan, çalışmamızda bu maddelerin ayrı şekilde kullanılması yerine klasik kantaron yağı uygulamasının daha doğru sonuç vereceği düşünüldü.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları (Deneysel Çalışmanın Tanımlanması)

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 14.09.2011 tarih ve 11/114 karar numaralı izni ile, sistemik ve topikal uygulanan Hypericum Perforatumun yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) ağırlıkları 350-400 gr arasında değişen toplam 54 adet Spraque-Dawley rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar birbirlerine zarar vermemeleri için ayrı ayrı standart plastik kafeslerde muhafaza edildi. Ratların bulunduğu ortam, ortalama 20°C olacak şekilde ısıtıldı ve klimayla havalandırıldı. Ortam nemi % 40-50 arasında tutuldu. Sabah 7:00'den akşam 19:00'a kadar 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde ışık sistemi kuruldu.

Diabetik yapılacak olan ratlar işlemden önce 12 saat aç bırakıldı. Ratlara ön çalışma neticesinde elde ettiğimiz 30 mg/kg dozdaki streptozotosinin intraperitoneal olarak uygulanmasından 1 hafta sonra kuyruk kanından bakılan kan şekeri değerinin 200 mg/dl'nin üzerinde olmasını diabetik olarak kabul edildi ve bu değerin altında olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Kan şekeri 80-120 mg/dl olan kontrol grubuna ise bu uygulama gerçekleştirilmedi.

İntraperitoneal (İP) 50 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketamin HCL, *Ketalar, EWL Eczacıbaşı Warner Lambert İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. İstanbul*) ile anestezi sağlandıktan sonra ratların sırtlarında insizyonel ve eksizyonel yaralar oluşturuldu. Ratlar uyandıktan sonra, yüksek doz pentobarbutal ile sakrifiye edildikleri 21. güne kadar standart rat yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

3.1.1. İnsizyonel ve Eksizyonel Yara Modelleri

Ratların anestezi uygulamasını takiben sırt tüyleri traş makinesi ile deriye hasar vermemeye özen gösterilerek traşlandı. Ratlar yüz üstü pozisyonda tespit edildi ve cerrahi alan temizliği yapıldı. Gal ve arkadaşlarının (76) tariflediği deney modeli modifiye edilerek rat sırtlarında insizyonel ve eksizyonel yaralar planlandı. Rat sırtının sefalik bölgesine 15 numara bistüri kullanılarak birbirine paralel ve aralarında en az 2 cm olacak şekilde 4 cm'lik 2 adet tam kat deri insizyonu yapılıp 4/0 ipek ile sütüre edilerek insizyonel yara modeli oluşturuldu. Dorsal bölgenin alt kısmına ise epidermis ve dermisi içine alacak şekilde kenar uzunlukları 3 cm olan bir kare şeklinde deri defekti (eksizyonel yara modeli) oluşturuldu ve kenarları fasyaya dikildi (Şekil 3.1.'de).

Şekil 3.1. İnsizyonel ve eksizyonel yaralar. İnsizyonel yaranın dikilmiş hali.

3.1.2. Kantaron Yağının Hazırlanışı

Literatürdeki bilgiler, kantaron yağının yalnızca Türk geleneklerinde yaygın olmayıp tüm dünyada kullanım alanı olduğunu göstermektedir (63). Şeffaf bir kavanoz veya şişe içerisine sıkıştırmadan yerleştirilen kantaron çiçeklerinin üzerini örtecek kadar saf zeytinyağı konulur ve ağzı kapatılır. En az 4 hafta kadar güneş görecek şekilde bekletilir. Bu yöntem literatürde "güneş ışığı maserasyon yöntemi" olarak geçmektedir (63). Bazı yayınlarda konulan kantaron çiçeklerinin önceden kurutulup toz haline getirilmiş olması gerektiği belirtilmiştir (9). Çalışmamızda taze çiçekler kullanılarak

içeriğinde bulunan kırmızı boyar maddenin zeytinyağı içerisine daha kolay karışması sağlandı. Ayrıca halk arasındaki hazırlanış biçimi daha çok karanlıkta bekletmek olduğundan, çalışmamızda şeffaf şişelerdeki kantaron güneş görmeyecek şekilde bekletilerek hazırlanması tercih edildi.

3.2. Deney Grupları:

Deneyde kullanılan ratlar, her grupta 9 rat olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrıldı.

Grup 1: Diabetik yara. Ratlara streptozotosin uygulamasından 1 hafta sonra diabetik oldukları teyit edildi ve cerrahi işlem gerçekleştirildi. Anestezi nedeniyle bu gruptan 2 rat öldü.

Grup 2: Normal yara (Kontrol). Ratlara 1.gündeki cerrahi işlem sonrası sakrifiye edildikleri 21.güne kadar biopsi işlemleri dışında başka bir işlem yapılmadı. Anestezi nedeniyle bu gruptan 2 rat öldü. Bu grubun dışındaki diğer tüm gruplardaki hayvanlar diabetik yapılarak deneye dahil edildi.

Grup 3: Diabetik yara (Oral kantaron). Deneklere cerrahi işlem sonrası başlayıp sakrifiye edildikleri 21.güne kadar literatürde uygulanan 1,25 ml/kg dozda (62) kantaron gavaj yardımıyla verildi. Bu gruptan 1 hayvan anestezi nedeniyle öldü.

Grup 4: Diabetik yara (Topikal Kantaron). Bu gruba operasyondan hemen sonra başlayıp sakrifiye edildikleri 21.güne kadar insizyonel ve eksizyonel yaralara kantaron yağından ince bir tabaka halinde sürüldü. Yaranın üzeri herhangi bir kapama örtüsü ile örtülmeden takip edildi. Bu gruptan anestezi ve diabet nedeniyle 2 hayvan öldü.

Grup 5: Diabetik yara (Oral Zeytinyağı). Bu gruba yine oral kantaron grubundaki işlemlerin aynısı gerçekleştirildi fakat farklı olarak gavaj yoluyla kantaron değil, zeytinyağı verildi. Verilen zeytinyağı %1'den az asiditeye sahip saf zeytinyağıydı. Zeytinyağı dozu yine 1,25 ml/kg olarak uygulandı. Grupta 2 hayvan anestezi nedeniyle öldü.

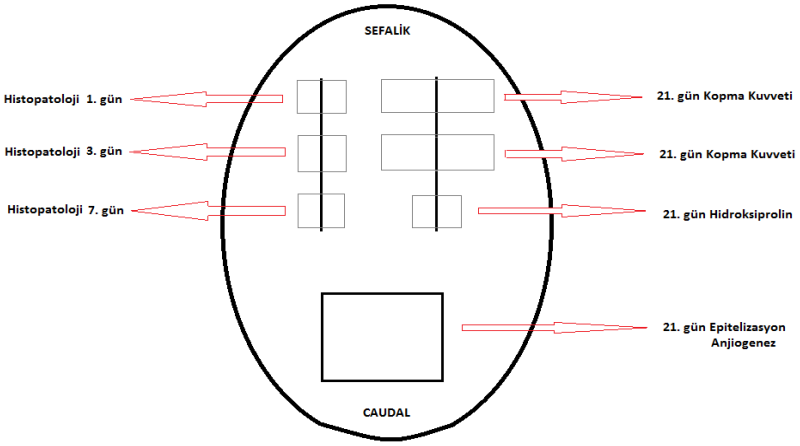
Grup 6: Diabetik yara (Topikal Zeytinyağı) Bu gruba topikal kantaron grubundaki gibi operasyondan hemen sonra başlayıp 21.güne kadar ince bir tabaka halinde %1'den

az asiditeye sahip saf zeytinyağı sürüldü ve yaraların üzerleri örtülmeden takip edildi. Bu gruptan ölen rat olmadı.

Deney planı Tablo 3.1.'de özetlenmiş ve Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Deney planı.

	Diabetik	**Kontrol**	**Oral Kantaron**	**Topikal Kantaron**	**Oral Zeytinyağı**	**Topikal Zeytinyağı**
STZ verilmesi	30 mg/kg ip.		30 mg/kg ip.	30 mg/kg ip.	30 mg/kg ip.	30 mg/kg ip.
Kan şekeri ölçümü	KŞ>200 mg/dl	KŞ= 80-120 mg/dl	KŞ>200 mg/dl	KŞ>200 mg/dl	KŞ>200 mg/dl	KŞ>200 mg/dl
0.gün	Cerrahi işlem + asetat çizimi	Cerrahi işlem + asetat çizimi	Cerrahi işlem + asetat çizimi	Cerrahi işlem + asetat çizimi	Cerrahi işlem + asetat çizimi	Cerrahi işlem + asetat çizimi
Günlük İşlem			Gavajla 1,25 ml/kg kantaron yağı	İnce tabaka halinde kantaron sürülmesi	Gavajla 1,25 ml/kg zeytinyağı	İnce tabaka halinde zeytinyağı sürülmesi
1.gün	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi
3.gün	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi
7.gün	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi	Biopsi
21.gün	Biopsi + asetata çizim	Biopsi + asetata çizim	Biopsi + asetata çizim	Biopsi + asetata çizim	Biopsi + asetata çizim	Biopsi + asetata çizim



Şekil 3.2. Deney planının şematik görünümü.

3.2.1. Sakrifikasyon Yöntemi

Çalışma sonunda ratlar intraperitoneal yüksek doz (100 mg/kg) pentobarbütal enjeksiyonu yapılarak sakrifiye edildi.

3.3. İncelenecek Parametreler

İncelenecek parametreler arasında histopatolojik olarak enflamasyon, proliferasyon (fibroblast sayısı, kollajen miktarı), anjiogenez ve epitelizasyon değerleri ele alındı. Hidroksiprolin, kopma kuvveti ve kontraksiyon yüzdesi değerleri incelendi.

3.3.1 Histopatolojik İnceleme

Tüm gruplarda soldaki insizyonel yaralardan, insizyon hattını ortalayacak şekilde 1, 3 ve 7.günlerde 1x1 cm'lik tam kat alınan ve % 10'luk formalinde tespit edilen spesmenler örneklendi. Çalışmanın 21.günündeki histopatoloji incelemeler eksizyonel yaralardan alınan örneklerle gerçekleştirildi. Örneklenen parçalar 24 saat doku takibinden sonra parafin bloklara gömüldü. Her örnekten yara yüzeyini içine alan yaklaşık 5-6 mikron kalınlığında üçer kesit alınarak preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar iyileşen yaralardaki inflamatuar değişiklikleri gözlemek için Hematoksilen Eozin ile boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirildi. Histopatolojik inceleme, aynı patolog tarafından hangi doku örneğinin hangi gruba dahil olduğunu bilmeden ve doku örnekleri içinden rastgele seçim yapılarak gerçekleştirildi (kör değerlendirme). Dokular

histopatolojik olarak; inflamatuar hücre yoğunluğu, fibroblast sayısı ve kollajen yoğunluk düzeyi göz önüne alınarak Tablo 3.2.'de gösterildiği üzere 0-3 puan üzerinden semikantitatif olarak değerlendirildi. Buna göre 20 büyütmede her bir alandaki sayıların ortalaması 0=yok, 1-5 arası=hafif, 6-10 arası=orta derecede, 11 ve fazlası=şiddetli olarak derecelendirildi. Epitelizasyon ise 0-2 puan üzerinden semikantitatif olarak Tablo 3.2.'de gösterildiği üzere değerlendirildi.

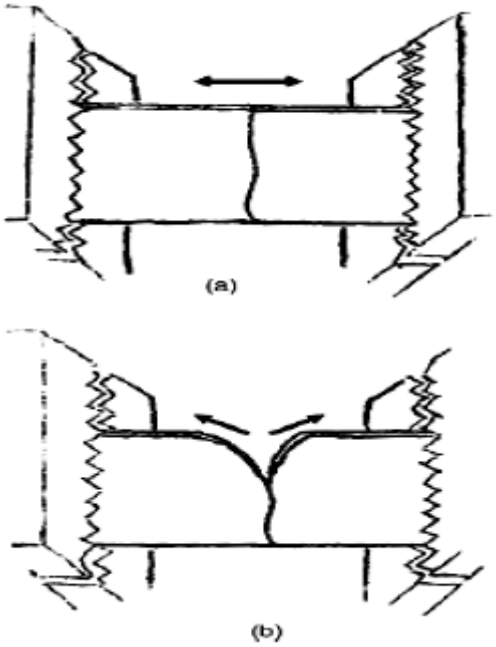
Tablo 3.2. Histopatolojik Skorlama

Skor	İnflamatuar Hücre İnfiltrasyonu	Fibroblast Sayısı	Kollajen Yoğunluk Düzeyi	Skor	Epitelizasyon
0	Yok (0)	Yok (0)	Yok (0)	0	Yok
1	Hafif (1-5)	Hafif (1-5)	Hafif (1-5)	1	Kısmi
2	Orta derecede (6-10)	Orta derecede (6-10)	Orta derecede (6-10)	2	Tam
3	Şiddetli (10<)	Şiddetli (10<)	Şiddetli (10<)		

Soldaki insizyonel yaradan alınan 1, 3 ve 7. günlerdeki histopatolojik inceleme için alınan örnekler, yeni damar oluşumu açısından incelenmek üzere formalinle tespit edilen parafin bloklardan yaklaşık 5-6 mikronluk doku kesitleri poly-l-lysine kaplı lamlara alındı. Örnekler Hematoksilen Eozin ile boyanarak aynı patolog tarafından kör bir şekilde yeni damar oluşumları her bir örnek için 20 büyütmede 5 farklı alanda sayılarak ortalamaları alındı. Eksizyonel yaradan 21. günde alınan örnekler ise 20 büyütmede 10 farklı alanda sayım yapılıp ortalamaları alınarak değerlendirildi.

3.3.2. Kopma Kuvveti İncelemesi

Ratlar 21.günde sakrifiye edildikten sonra Özbek ve arkadaşlarının (29) tariflediği şekilde rat sırtında sağda yer alan insizyondan kopma kuvveti ölçülmek üzere 3x1 cm'lik deri şeriti elde edildi. Aynı gün ERÜ Mustafa Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulu Tekstil Bölümü tensiometri cihazında yaklaşık 2 saat içerisinde çalışıldı.

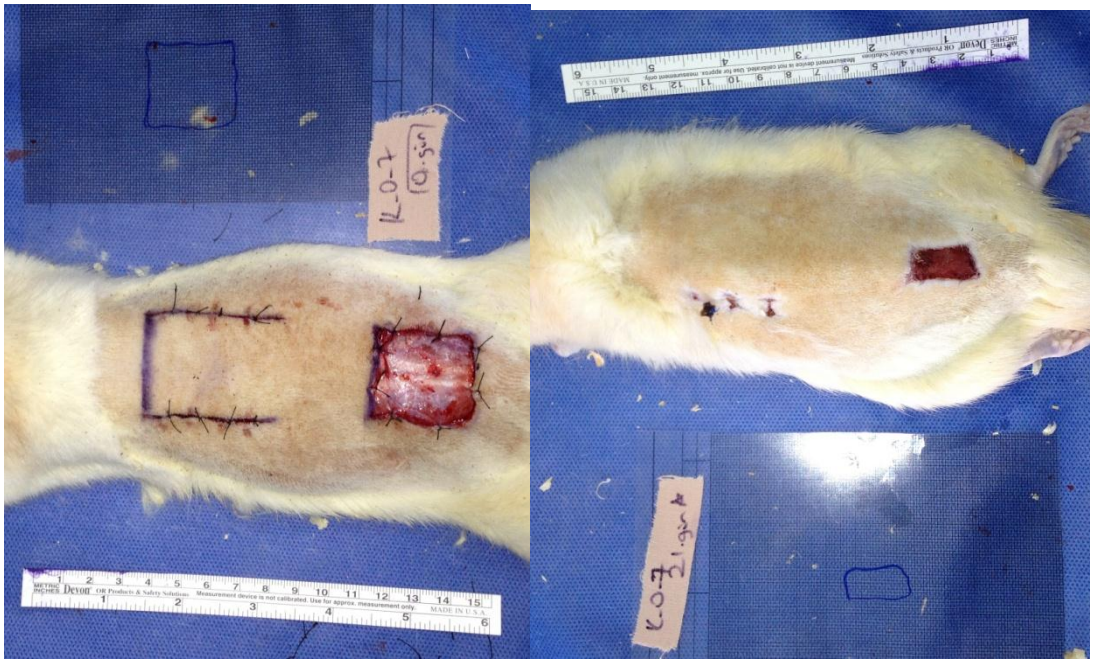


Şekil 3.3. Tensiometri cihazının şematik görünümü. Tensiometri cihazının çeneleri, aralarındaki mesafe 10 mm olacak sekilde ayarlandı. 3x1 cm' lik deri seritleri insizyon hattı tam ortada olacak sekilde yerleştirildi (a). Çenelerin biribirinden uzaklaşarak yaratacağı gerilme hızı 10 mm/dakika olarak ayarlanarak distraksiyon yapıldı (b). İnsizyon hattında derinin kopma kuvveti Newton (N) olarak kaydedildi.

Deri şeridinin sabit olarak tutulacağı Instron marka tensiometre cihazının (TT-CM Model, Instron Eng Cooperation, Massachussets, USA) çeneleri, aralarındaki mesafe 10mm olacak şekilde ve çenelerin birbirinden uzaklaşarak yaratacağı gerilme hızı 10mm/dk olarak ayarlandı ve tüm ölçümlerde standart olarak kullanıldı (Şekil 3.3.). Deri şeritlerinin çenelere insizyon hattından eşit mesafede bağlanmasına dikkat edilerek kopmaların daima insizyon hattından olması sağlandı. Çenelerle deri şeritleri arasına zımpara kağıdı konarak kaymaları engellendi. Kopma kuvveti sonuçları alındı ve Newton (N) cinsinden kaydedildi.

3.3.3. Yara Kontraksiyon Hızının İncelenmesi

Her iki grupta ratların eksizyonel yaralarında iyileşmenin seyri, ratların tespitinin sağlanmasından sonra, 1, 7, 14, 21.günlerde foroğrafları çekilerek ve 0. ve 21.günlerde asetat kağıdına 0,4mm çapında ucu olan asetat kalemi kullanılarak yaraların boyutları çizilerek takip edildi (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Eksizyonel yaraların asetata işaretlenmesi. Oral Kantaron grubunun 7 numaralı ratının cerrahinin yapıldığı günde ve postoperatif 21.günde çekilen fotoğrafı.

Asetat kağıtları tarayıcıdan geçirilerek yaraların yüzey alanları bilgisayarda planimetrik program (Alpi Image) yardımıyla ölçüldü (78). Alpi planimetrik program, deneysel çalışmalarda flep canlılık yüzdesinin hesabı için kullanılan bir programdır. Kontraksiyon yüzdesi daha önceki çalışmalarda kullanılan aşağıdaki formülle hesaplandı (79).

$$\textit{Kontraksiyon yüzdesi (\%) 21. gün} = 100 - \frac{\textit{21. gün total yara alanı}}{\textit{0.gün orijinal yara alanı}} \times 100$$

3.3.4. İnsizyonel yarada doku hidroksiprolin konsantrasyon ölçümü (µg/mg)

Ratlar 21.gün sakrifiye edildikten sonra sağdaki insizyonel yaralarından, insizyon hattını ortalayacak şekilde yaklaşık 1x1 cm'lik tam kat alınan soku örnekleri SF ile yıkandı. Filtre kağıdı ile kurutularak epandorf tüplerine konuldu ve -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Ölçümler Erciyes Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuarlarında gerçekleştirildi.

Bu dokuların hidroksiprolin konsantrasyonları, Bergman ve arkadaşlarının tanımladıkları yöntem ile kolorimetrik olarak çalışıldı (32). Hassas terazi ile yaş

ağırlıkları belirlenen dokular 3 ml 6 N HCl asit içeren tüplere konuldu. 100 °C'de 10 saat bekletilerek tamamen hidrolize edildi. Hidrolizatların pH'sı, pH metre aracılığıyla ve NaOH yardımıyla nötürleştirildi. Elde edilen numuneden 1 ml başka tüpe alınarak üzerine eşit hacimde izopranolol eklendi. Karışım vortekslenerek hidroksiprolinin ekstrakte olması sağlandı. Dört bin devirde 15 dk santrifüj edilen karışımın üst fazından alınan iki adet 0,3 mililitrelik ekstrakt, hidroksiprolin analizinde kullanıldı. Diğer bir ifadeyle her bir numune çift çalışılarak ortalama değerleri analizde kullanıldı. Spektrofotometrik çalışma için numune, standart ve kör olmak üzere 3 ayrı deney tüpleri yönteme uygun şekilde isopranolol, kloramin-T ve Ehrlich reaktifi ilave edilerek hazırlandı. Tüpler kapatılarak 60°C'de 25 dakika su banyosunda bekletilerek renklerin ortaya çıkışı gözlendi. Tüpler 2-3 dakika musluk suyu altında soğutuldu. Çözeltinin absorbansı 558 nanometrede spektrofotometre aracılığıyla köre karşı okundu ve standart çözeltisine karşı değerlendirildi. Elde edilen optik dansite değerleri, kullanılan dokunun ağırlığı ve eklenen sıvıların miktarları da göz önüne alınarak her bir miligram yaş doku başına düşen hidroksiprolin konsantrasyonu mikrogram cinsinden hesaplandı.

3.3.5. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel verilerin analizinde "SPSS for Windows" paket programının 15.0 numaralı versiyonu kullanıldı. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ile bakılarak normal dağılım gösteren veriler tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlı olanlar post-hoc testlerden Tukey testi ile karşılaştırıldı. Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testinin exact yöntemlerinden yararlanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi (Tablo 3.3.).

Tablo 3.3. Verilerin değerlendirildiği istatistiksel yöntemler

İstatistiksel Yöntem	Parametreler
ANOVA (Ort ± SS) Nicel değişkenler	Doku hidroksiprolin, kopma kuvveti, kontraksiyon, anjiogenez
Pearson Chi-Square n(%) Nitel değişkenler	Histopatolojik bulgular (inflamatuar hücre yoğunluğu, fibroblastik aktivite, kollajen yoğunluğu, epitelizasyon)

3.3.6. Tedavi gruplarının etki skoru

Tedavi yöntemlerinin üstünlüğünü değerlendirmek ve birbirleri arasında bir kıyas ortaya koymak çoklu gruplarda zor olmaktadır. Çalışmanın sonunda, yara iyileşmesinin değerlendirildiği tedavi grupları, incelenen 9 parametrede aldıkları sonuçlara göre sıralandı. Buna göre en düşük=1, düşük=2, orta=3 ve yüksek=4 olarak skorlandı (Tablo 3.4.). Bu skorlamaya göre tedavi gruplarının etki düzeyi karşılaştırıldı.

Tablo 3.4. Tedavi gruplarının potenslerinin karşılaştırılma skorları

Skor	***Parametre Sonucu**
1	En Düşük
2	Düşük
3	Orta
4	Yüksek

*Hidroksiprolin, kopma kuvveti, kontraksiyon yüzdesi, anjiogenez (7.gün), anjiogenez (21.gün), inflamatuar hücre yoğunluğu, fibroblast sayısı, kollajen yoğunluğu, epitelizasyon.

4. BULGULAR

Çalışmamızda kontrol grubu haricindeki diğer gruplardaki ratlar diabetikti. Diabetik ratlarda poliüri, polidipsi, kilo kaybı gözlemlendi. Diabete bağlı olarak gelişen poliüri nedeniyle kafes altları çabuk ıslanıp kirleniyor ve ratların hipotermiye girme ihtimalleri artıyordu. Bu nedenle hayvanlar kafeslere teker teker konulmak suretiyle çalışma sürdürüldü. Bu ayrıca ratların yara yerlerine zarar verme ihtimallerini de azaltmaktaydı. Bunların dışında diabetik ratların hareketlerinde yavaşlama, derilerinde sarımtırak değişiklikler de gözlemlediğimiz diğer bulgulardı.

4.1. İnsizyonel yaralarda kopma kuvveti (N) bulguları

Kopma kuvveti bulguları diabetik ratlarda ortalama 10,72 N, kontrol grubunda 17,28 N, oral kantaron grubunda 18,36 N, topikal kantaron grubunda 16,72 N, oral zeytinyağı grubunda 15,97 N ve topikal zeytinyağı grubunda da 15,98 N olarak ölçüldü (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1.).

Tablo 4.1. Grupların kopma kuvveti (N) bulgularının karşılaştırılması

Gruplar	**Kopma Kuvveti (N)** Ort ± SS	***p***
Diabetik (n=7)	**10,72** ± 0,99 *	**0,004**
Kontrol (n=7)	**17,28** ± 1,89	
Oral Kantaron (n=8)	**18,36** ± 6,92 **	
Topikal Kantaron (n=7)	**16,72** ± 3,78 **	
Oral Zeytinyağı (n=7)	**15,97** ± 1,64	
Topikal Zeytinyağı (n=9)	**15,98** ± 1,26 ***	

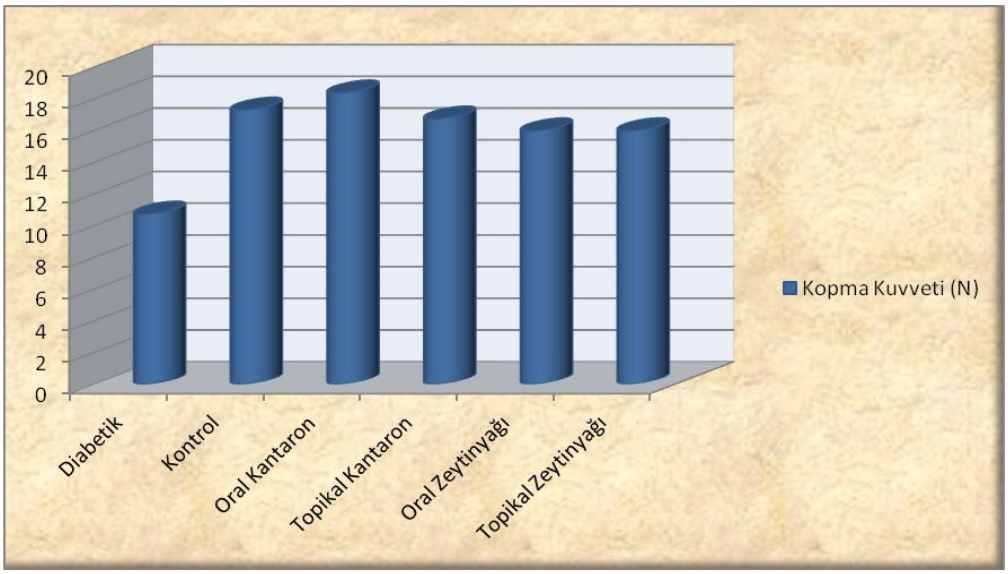
* ***p*<0,05** Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşüktür.

** ***p*<0,05** Diabetik gruba göre anlamlı şekilde yüksektir.

*** ***p*≤0,051**

Oral ve topikal uygulanan kantaronun diabetik ratlara göre insizyonel yaralardaki kopma kuvvetini anlamlı bir şekilde arttırdığı görülmüştür. ***(p<0,05)*** Oral kantaron ile topikal uygulanan kantaron arasındaki ilişki bakımından değerlendirildiğine anlamlı olmasa da oral kantaronun daha etkili olduğu görülmüştür. Bunun yanında diabetik grubun kontrol grubuna göre kopma kuvvetinin öngörüldüğü üzere anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür. **(*p*<0,05)**

Zeytinyağının topikal uygulandığı grupta ise kopma kuvvetinin arttığı ve anlamlı bir değere yakın olduğu bulunmuştur. **(*p*≤0,051)** Oral uygulanan zeytinyağı grubunda ise anlamlı bir fark bulunamamıştır.



Şekil 4.1. Gruplar arasında insizyonel yaralarda kopma kuvveti bulgularının karşılaştırılması.

4.2. İnsizyonel yaralarda doku hidroksiprolin konsantrasyon bulguları (µ/mg)

İnsizyonel yaralardaki doku hidroksiprolin konsantrasyon değerleri diabetik grupta 2,48 µg/mg, kontrol grubunda 3,90 µg/mg, oral kantaron grubunda 3,85 µg/mg, topikal kantaron grubunda 3,48 µg/mg, oral zeytinyağı grubunda 2,94 µg/mg ve topikal zeytinyağı grubunda ise 3,35 µg/mg olarak ölçüldü (Tablo 4.2. ve Şekil 4.2.).

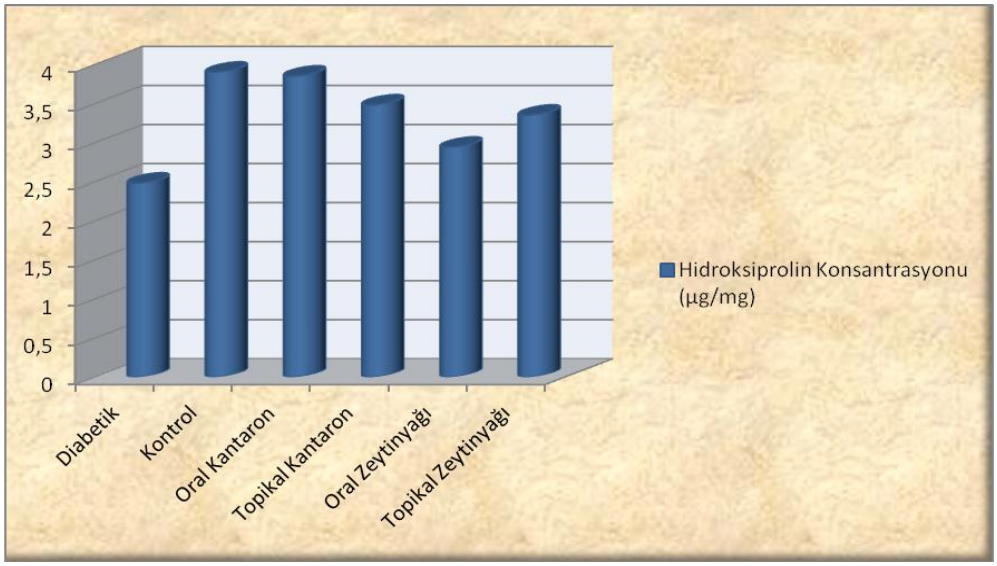
Tablo 4.2. Gruplar arasında doku hidroksiprolin konsantrasyonlarının karşılaştırılması

Gruplar	**Hidroksiprolin Konsantrasyonu** Ort ± SS	***p***
Diabetik (n=7)	**2,48** ± 0,45 *	**<0,001**
Kontrol (n=7)	**3,90** ± 0,60	
Oral Kantaron (n=8)	**3,85** ± 0,69 **	
Topikal Kantaron (n=7)	**3,48** ± 0,48 **	
Oral Zeytinyağı (n=7)	**2,94** ± 0,52	
Topikal Zeytinyağı (n=9)	**3,35** ± 0,64 ***	

****p* <0,05** Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşüktür.
*****p* <0,05** Diabetik gruba göre anlamlı şekilde yüksektir.
******p*≤0,053**

Diabetik ratlarda hidroksiprolin konsantrasyon değerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düştüğü görüldü. **(*p*<0,05)** Oral kantaron ve topikal kantaron uygulamalarının insizyonel yaralardaki hidroksiprolin konsantrasyon değerlerini diabetik ratlara göre anlamlı şekilde yükselttiği ortaya çıkmıştır. **(*p*<0,05)** Oral kantaron grubundaki değerler topikal kantaron grubuna göre yüksek olsa da birbirleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

Topikal zeytinyağı uygulaması, doku hidroksiprolin değerlerini anlamlı değere yakın yükseltmiştir. **(*p*≤0,053)**



Şekil 4.2. Gruplar arasında doku hidroksiprolin konsantrasyonunun karşılaştırılması.

4.3. Eksizyonel yaralardaki kontraksiyon bulguları

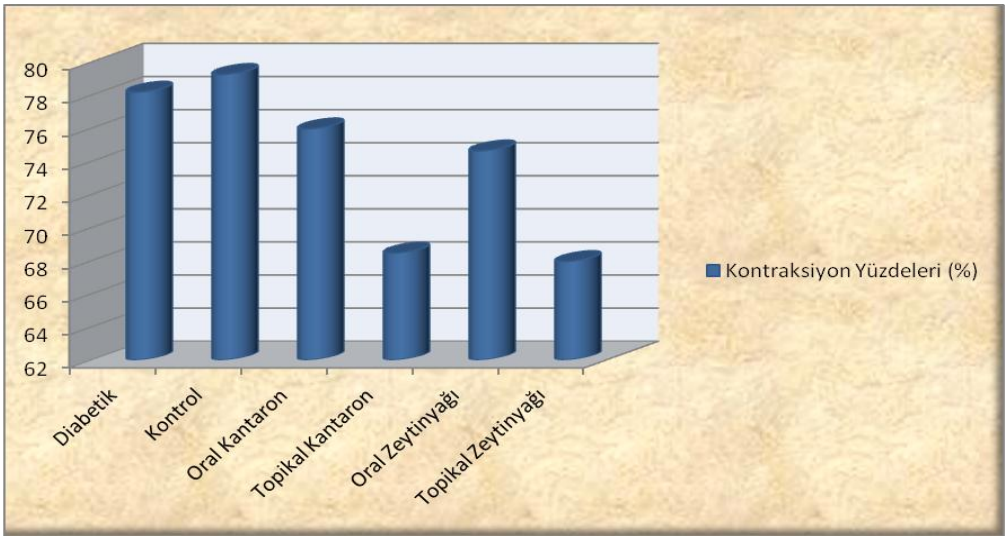
Eksizyonel yaraların kontraksiyon yüzdeleri diabetik grupta %78,18, kontrol grubunda %79,25, oral kantaron grubunda %75,96, topikal kantaron grubunda %68,46, oral zeytinyağı grubunda %74,63 ve topikal zeytinyağı grubunda ise %67,95 olarak ölçüldü (Tablo 4.3. ve Şekil 4.3.).

Tablo 4.3. Gruplar arasındaki kontraksiyon yüzdelerinin karşılaştırılması.

Gruplar	**Kontraksiyon yüzdeleri** Ort ± SS	**P**
Diabetik (n=7)	**78,18** ± 6,09	**0,037***
Kontrol (n=7)	**79,25** ± 3,83	
Oral Kantaron (n=8)	**75,96** ± 5,90	
Topikal Kantaron (n=7)	**68,46** ± 6,45	
Oral Zeytinyağı (n=7)	**74,63** ± 5,39	
Topikal Zeytinyağı (n=9)	**67,95** ± 14,34	

***p*<0,05**

Grupların kontraksiyon yüzdeleri genel olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı görünmesine karşın birbirleriyle aralarında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Üstelik diabetik grupla kontrol grubunun kontraksiyon yüzdeleri birbirlerine yakın olarak bulunmuş, tedavi grupları ise hepsinden düşük olarak yer almıştır. Bunun yanında tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise oral kantaron ve oral zeytinyağı gruplarının topikal kantaron ve topikal zeytinyağına göre daha yüksek oranda kontraksiyon yüzdesine sahip oldukları görülmektedir.



Şekil 4.3. Eksizyonel yaraların kontraksiyon yüzdelerinin karşılaştırılması.

Bu verilere göre oral kantaron ve oral zeytinyağı gruplarındaki kontraksiyon yüzdeleri diğer tedavi gruplarına göre daha yüksek bulunmuş fakat anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

4.4. Yeni damar oluşum bulguları (Anjiogenez)

Gruplardaki yeni damar oluşumu incelendiğinde çalışmanın 1. ve 3.günlerinde yeni damar oluşum bulgularına rastlanmadığından karşılaştırma yapılamadı. Bunun yanında 7. **(*p*=0,738)** *ve* 21.günlerde **(*p*=0,753)** ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Gruplar arasında yeni damar oluşumlarının kesit alanındaki sayıların ortalaması açısından karşılaştırılmaları Tablo 4.4.'de yer almaktadır.

Tablo 4.4. Gruplardaki kesit alanına düşen yeni damar sayıları

Gruplar arasında anjiogenez ortalamalarının karşılaştırılması						
	Diabetik	**Kontrol**	**Oral Kantaron**	**Topikal Kantaron**	**Oral Zeytinyağı**	**Topikal Zeytinyağı**
Anjiogenez 7.gün	**5,20**	4,55	**6,55**	**6,68**	3,30	5,47
Anjiogenez 21.gün	**14,01**	12,61	**12,50**	**12,51**	13,37	11,43

Bu tabloya göre aralarında anlamlı bir fark olmasa da 7.günde kantaron gruplarında diabetik gruba göre fazla sayıda yeni damar bulunurken, 21.günde ise diabetik gruptan daha az sayıda olması ilgi çekici bir bulgudur.

4.5. Histopatolojik Bulgular

Gruplar arasındaki inflamatuar hücre infiltrasyonu, fibroblast sayısı, kollajen yoğunluğu ve epitelizasyon değerleri karşılaştırıldı. Bu parametreler değerlendirilirken bazı grupların hayvan sayısında azalma olmuştur. Bunun sebebi, histopatolojik incelemelerin her preparatta sağlıklı bir şekilde yapılamamasıdır. Dolayısıyla, gruplardaki hayvan sayısındaki azalma bir hata değil, histopatolojik değerlendirmenin yapılabildiği sayıdır.

4.5.1. İnflamatuar hücre yoğunluğu bulguları

İnflamatuar hücre yoğunluk düzeyleri Tablo 3.1.'deki skorlama sistemine göre yapıldı. Grupların inflamatuar hücre yoğunlukları insizyonel yarlarda 1, 3 ve 7.günlerde,

eksizyonel yarada ise 21.günde bakıldı. Çalışmamızda 1 **(*p*=0,118)**, 7 **(*p*=0,667)** ve 21.günlerdeki **(*p*=0,356)** inflamasyon değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Fakat genel olarak bakıldığında oral kantaronun ve topikal zeytinyağının dokulardaki inflamatuar hücre yoğunluklarını, istatistiki olarak anlamlı olmasa dahi, diabetiklere göre önemli oranda arttırdığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda 3.gündeki **(*p*=0,032)** değerler açısından bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuş ve buna göre gruplar arasındaki inflamatuar hücre infiltrasyon değerleri Tablo 4.5.'de ve Şekil 4.4.'de özetlenmiştir.

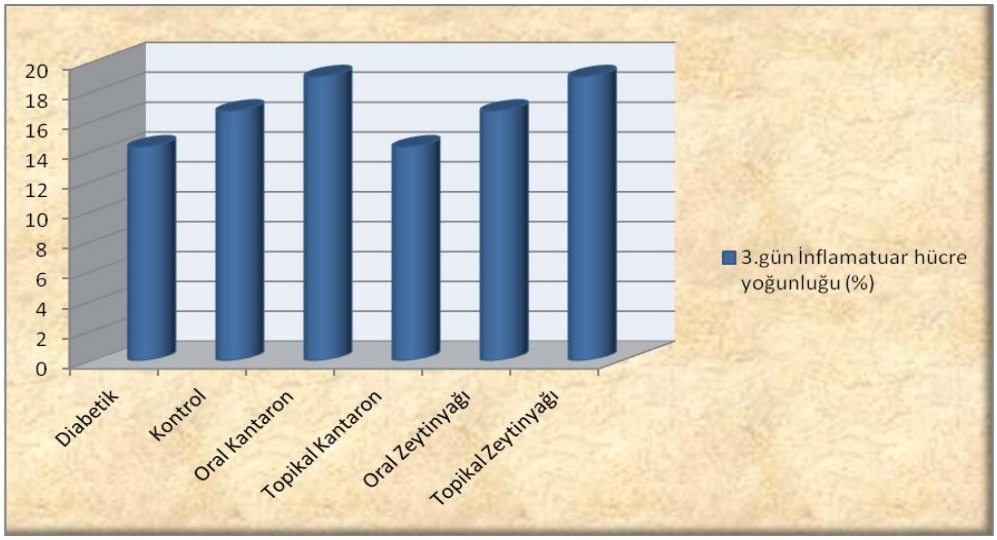
Tablo 4.5. İnsizyonel yaralarda 3.gün inflamatuar hücre yoğunluğunun karşılaştırılması

İnflamatuar Hücre Yoğunluğu 3.Gün							
	Diabetik n(%)	**Kontrol n(%)**	**Oral Kantaron n(%)**	**Topikal Kantaron n(%)**	**Oral Zeytinyağı n(%)**	**Topikal Zeytinyağı n(%)**	**Toplam**
Yok	0 (%0)	0 (%)	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	1
Hafif	6 (%20)	5 (%16,7)	7 (%23,3)	2 (%6,7)	6 (%20)	4 (%13,3)	30
Orta	0 (%0)	2 (%33,3)	1 (%16,7)	0 (%0)	1 (%16,7)	2 (%33,3)	6
Şiddetli	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	3 (%60)	0 (%0)	2 (%40)	5
Toplam	**6 (%14,3)***	**7 (%16,7)**	**8 (%19,0)**	**6 (%14,3)***	**7 (%16,7)**	**8 (%19,0)***	**42**

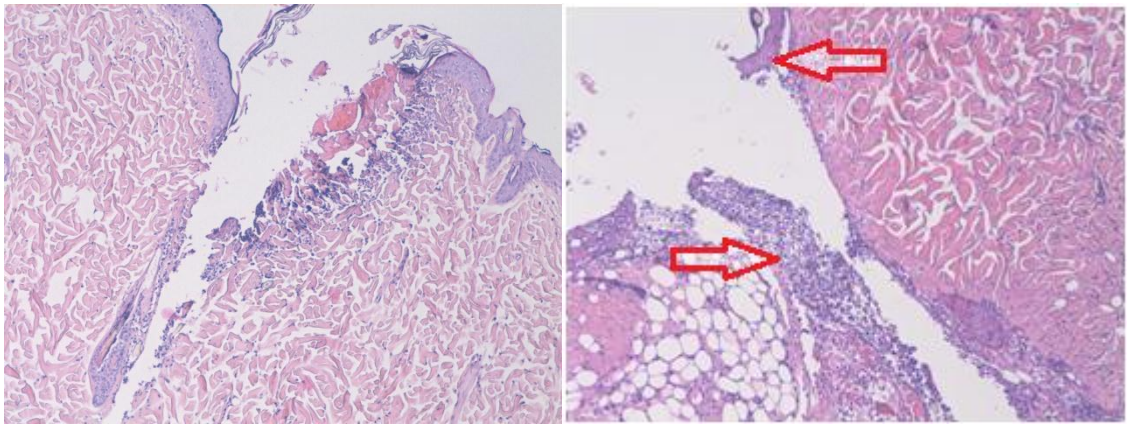
χ^2= 24,083; *p*=0,032

***Histopatolojik değerlendirmenin yapılabildiği hayvan sayısı**

Tablo 4.5.'e göre 3.gündeki insizyonel yaraların inflamatuar hücre yoğunluğu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmuştur. Kontrol grubunda diabetik ratlara göre enflamasyon hücrelerinin daha yoğun olduğu görülmektedir. Benzer şekilde oral kantaron, oral zeytinyağı ve topikal zeytinyağı gruplarındaki hücre yoğunluklarının diabetik grubunun hücre yoğunluğuna göre anlamlı şekilde fazla olduğu fakat topikal kantaronun buna etkisi olmadığı görülmüştür. (Resim 4.1.)



Şekil 4.4. Gruplar arasında 3.gündeki inflamatuar hücre yoğunluğunun karşılaştırılması.



Resim 4.1. Çalışmanın 3.gününe ait histopatolojik görünümler. Soldaki resimde Diabetik grubun 3.gündeki inflamatuar hücre yoğunluğunun histopatolojik görünümü (100x, H.E.). Sağda ise Oral kantaron grubununun inflamatuar hücre yoğunluğunun görüntüsü bulunmaktadır. Alttaki ok inflamasyon hücrelerinin yoğunluğunu göstermektedir. Üstteki ok ise epitelin ilerlemeye başladığını işaret etmektedir.

4.5.2. Fibroblast sayısı

Dokulardaki fibroblastik aktivite düzeyleri Tablo 3.1.'deki skorlama sistemine göre değerlendirildi. Buna göre fibroblast sayısı açısından bakıldığında 1.günde fibroblastik aktivite olmadığından karşılaştırılamadı. Fibroblastların görüldüğü 3.gün **(*p*=0,410)** ve 7.gündeki **(*p*=0,101)** değerler açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

İnsizyonel yarada anlamlı farkın olmadığı fibroblast sayısının eksizyonel yarada 21.gündeki **(p<0,001)** karşılaştırmada anlamlı olduğu görülmüştür. Buna göre değerler Tablo 4.6.'da ve Şekil 4.5.'de gösterildiği gibidir.

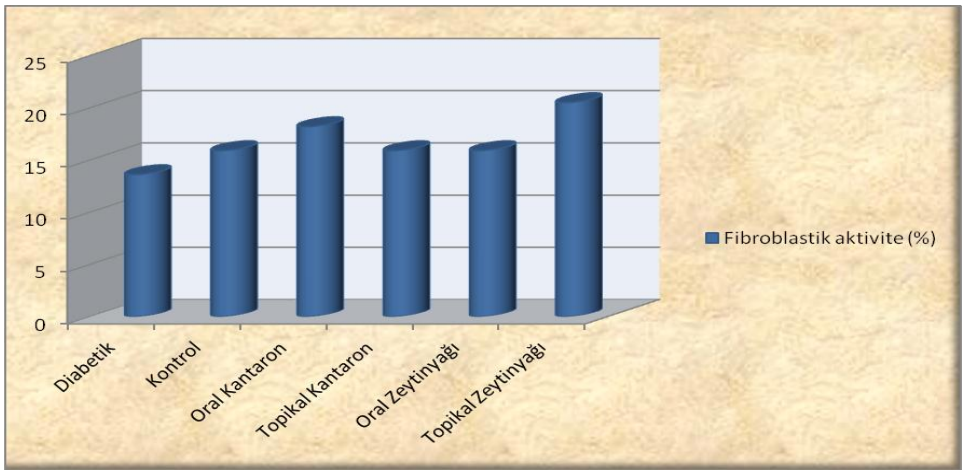
Tablo 4.6. Gruplar arasında 21.günde fibroblast sayısının karşılaştırılması

Fibroblast sayısı 21.Gün							
	Diabetik n(%)	**Kontrol n(%)**	**Oral Kantaron n(%)**	**Topikal Kantaron n(%)**	**Oral Zeytinyağı n(%)**	**Topikal Zeytinyağı n(%)**	**Toplam**
Yok	0 (%0)	0 (%)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0
Hafif	0 (%0)	0 (%0)	2 (%66,7)	1 (%33,3)	0 (%0)	0 (%0)	3
Orta	6 (%22,2)	7 (%25,9)	6 (%22,2)	6 (%22,2)	2 (%7,4)	0 (%0)	27
Şiddetli	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	5 (%35,7)	9 (%64,3)	14
Toplam	**6 (%13,6)***	**7 (%15,9)**	**8 (%18,2)**	**7 (%15,9)**	**7 (%15,9)**	**9 (%20,5)**	**44**

χ^2= 42,769; p<0,001

***Histopatolojik değerlendirmenin yapılabildiği hayvan sayısı**

Tablo 4.6'ya göre 21.gündeki fibroblast sayısı bakımından değerlendirildiğinde, oral kantaron, topikal kantaron, oral zeytinyağı, topikal zeytinyağı ve kontrol gruplarının diabetik gruba göre anlamlı oranda yüksek olduğu ortaya konmuştur. Bunlar arasında en yüksek değerlere oral kantaron ve topikal zeytinyağı sahiptir. Bu iki grup arasında anlamlı bir fark yoktur.



Şekil 4.5. Gruplar arasında 21.günde fibroblastik aktivitenin karşılaştırılması

4.5.3. Kollajen yoğunluğu bulguları

Dokulardaki kollajen yoğunluğu, Tablo 3.1.'deki skorlama sistemine göre değerlendirildi. Buna göre dokuların patolojik incelemesinde 1.günde kollajen yokluğu nedeniyle değerlendirme yapılamadı. Çalışmanın 3.gününde gruplar arasında anlamlı fark bulundu **(*p*=0,02)**. Çalışmanın 7. **(*p*=0,370)** ve 21.gününde **(*p*=0,234)** ise gruplar arasında bir fark bulunamamıştır. Kollajen yoğunluğunun 3.gündeki karşılaştırılması, Tablo 4.7.'de ve Şekil 4.6.'da özetlenmiştir.

Tablo 4.7. Grupların 3.günde kollajen yoğunluğunun karşılaştırılması

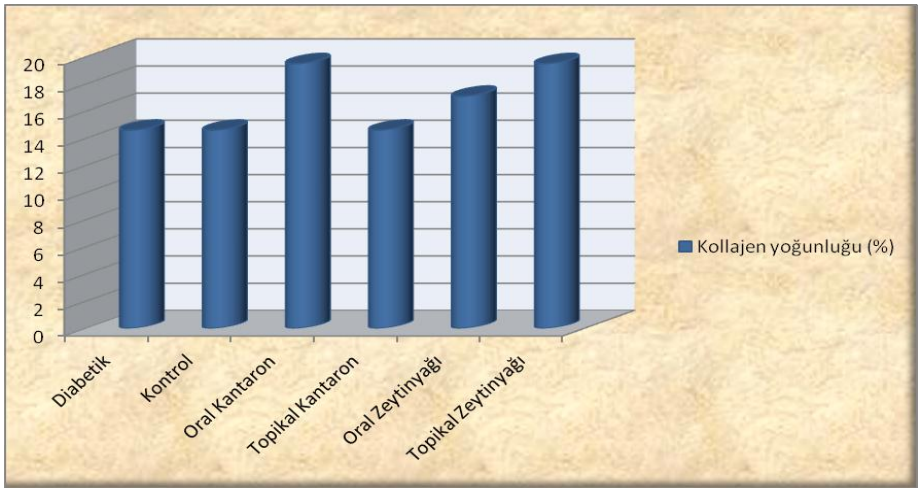
Kollajen yoğunluğu 3.Gün							
	Diabetik n(%)	**Kontrol n(%)**	**Oral Kantaron n(%)**	**Topikal Kantaron n(%)**	**Oral Zeytinyağı n(%)**	**Topikal Zeytinyağı n(%)**	**Toplam**
Yok	0 (%0)	0 (%)	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	1
Hafif	6 (%16,2)	3 (%8,1)	8 (%21,6)	5 (%13,5)	7 (%18,9)	8 (%21,6)	37
Orta	0 (%0)	3 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	3
Toplam	**6 (%14,6)***	**6 (%14,6)***	**8 (%19,5)**	**6 (%14,6)***	**7 (%17,1)**	**8 (%19,5)***	**41**

χ^2= 24,748; *p*=0,002

*** Histopatolojik değerlendirmenin yapılabildiği hayvan sayısı**

Bu tabloya göre Diabetik grupla Kontrol grubu arasında sayısal olarak bir fark görülemese de kollajen yoğunluğu diabetik grupta hafif olmakla beraber kontrol grubunda ise bu sayının yarısı orta düzeyde kollajen miktarını göstermektedir.

Oral kantaron, oral zeytinyağı ve topikal zeytinyağı gruplarının diabetik grupla karşılaştırıldığında anlamlı olarak kollajen yoğunluklarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında topikal kantaronun ise kollajen yoğunluğunun diabetik gruptakiyle aynı miktarda kollajen yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.6. Grupların 3.günde kollajen yoğunluklarının karşılaştırılması

4.5.4. Yaraların epitelizasyon düzeyleri

Çalışmanın 1.gününde epitelizasyon olmadığından gruplar arasında karşılaştırılma yapılamadı. Deneyin 3. **(*p*=0,340)** ve 21. **(*p*=0,296)** günlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanamadı. Gruplar arasındaki istatistiki karşılaştırmada anlamlı değere en yakın sonuç 7.günde görüldü **(*p*=0,052).**Çalışmanın 7.günündeki epitelizasyon değerleri Tablo 4.8.'de ve Şekil 4.7.'de özetlenmiştir.

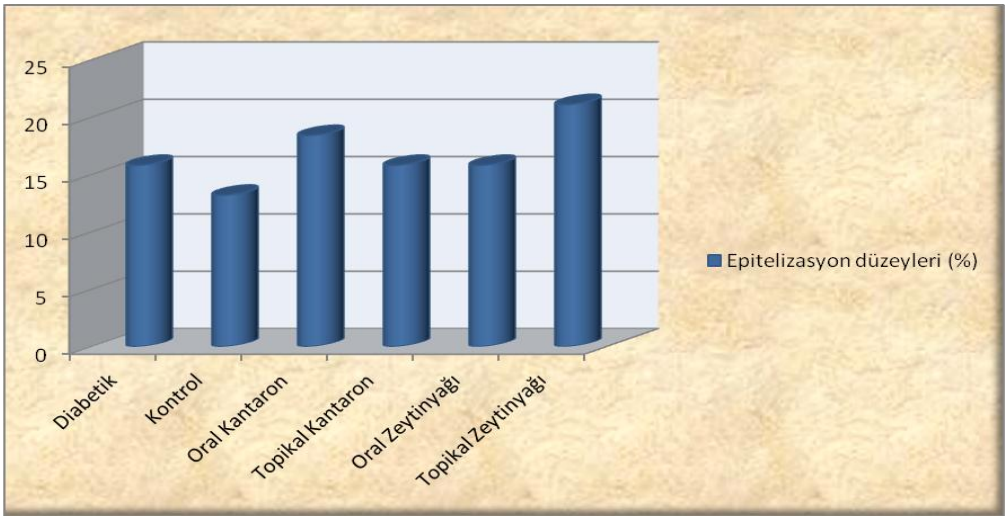
Tablo 4.8. Grupların 7.günde epitelizasyon düzeylerinin karşılaştırılması

Epitelizasyon düzeyleri 7.Gün							
	Diabetik n(%)	**Kontrol n(%)**	**Oral Kantaron n(%)**	**Topikal Kantaron n(%)**	**Oral Zeytinyağı n(%)**	**Topikal Zeytinyağı n(%)**	**Toplam**
Kısmi	0 (%0)	1 (%7,1)	3 (%21,4)	1 (%7,1)	3 (%21,4)	6 (%42,9)	14
Tam	6 (%25,0)	4 (%16,7)	4 (%16,7)	5 (%20,8)	3 (%12,5)	2 (%8,3)	24
Toplam	**6 (%15,8)***	**5 (%13,2)***	**7 (%18,4)***	**6 (%15,8)***	**6 (%15,8)***	**8 (%21,1)***	**38**

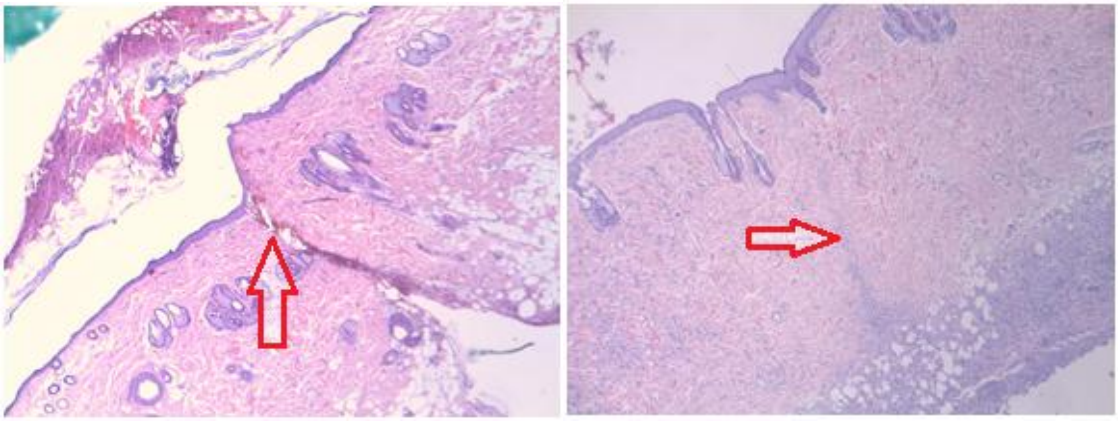
χ^2= 10,720; *p*=0,052

*** Histopatolojik değerlendirmenin yapılabildiği hayvan sayısı**

Bu tabloya göre gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı değere yakın bir sonuç elde edilmiştir. Oral kantaron ve topikal zeytinyağı grubundaki yaraların epitelizasyonunun, diabetik gruba göre daha iyi olduğu görülmektedir. (Resim 4.2.)



Şekil 4.7. Grupların 7.gündeki epitelizasyon düzeylerinin karşılaştırılması



Resim 4.2. Çalışmanın 7.gününe ait diabetik ve oral kantaron gruplarının H.E. ile boyalı histopatolojik görünümü (40x, H.E.). Soldaki kesitte diabetik gruba ait kesit yer almaktadır. Okla kollajen organizasyonundaki bozukluk görülmektedir. Sağda ise oral kantarona ait kesitte epitelizasyon ve kollajen organizasyonuna ait görünüm bulunmaktadır.

4.6. Tedavi gruplarının etki düzeyi

Çalışmamızda kullandığımız tedavi yöntemlerinin her birinin yara iyileşmesi üzerine etkisi bulunmaktadır. Fakat hangi tedavi grubunun daha üstün olduğunu ortaya koymak, incelenen parametrelerin fazlalığı ve alınan sonuçların farklılığı nedeniyle zor olmaktadır. Bu nedenle tedavi grupları incelenen parametrelerde alınan sonuçlara göre

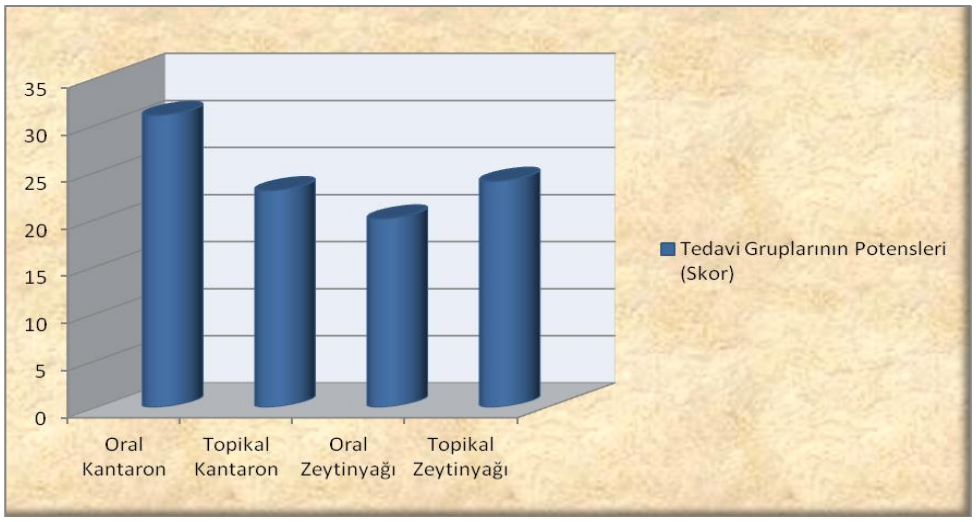
Tablo 3.4.'teki gibi skorlandı ve bu skorların toplamına göre etki düzeyleri karşılaştırıldı.

Tedavi gruplarının etki düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.9.'da ve Şekil 4.8.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.9. Tedavi gruplarının etki düzeylerinin karşılaştırılması

	Oral Kantaron (OK)	**Topikal Kantaron (TK)**	**Oral Zeytinyağı (OZ)**	**Topikal Zeytinyağı (TZ)**	**Sıralama**
Kopma Kuvveti	4	3	1	2	OK>TK>TZ>OZ
Hidroksiprolin	4	3	1	2	OK>TK>TZ>OZ
Kontraksiyon	4	2	3	1	OK>OZ>TK>TZ
Anjiogenez 7.gün	3	4	1	2	TK>OK>TZ>OZ
Anjiogenez 21.gün	2	3	4	1	OZ>TK>OK>TZ
İnflamatuar hücre yoğunluğu	4	2	3	4	OK=TZ>OZ>TK
Fibroblastik aktivite	3	2	2	4	TZ>OK>TK=OZ
Kollajen yoğunluğu	4	2	3	4	OK=TZ>OZ>TK
Epitelizasyon	3	2	2	4	TZ>OK>TK=OZ
SONUÇ	**31**	**23**	**20**	**24**	**OK>>TZ>TK>OZ**

Bu tabloya göre oral kantaron grubu, diğer tedavi gruplarına göre yara iyileşmesi parametreleri açısından bakıldığında daha potent olduğu belirlenmiştir. Topikal kantaronun zeytinyağı gruplarından etki bakımından farkı olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.8. Tedavi gruplarının etki düzeylerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Bu çalışma; tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan kantaron yağının mevcut bilinen faydalarına ek olarak diabetik yaralarda etkisinin olup olmadığını görmek ve sistemik ile topikal kullanım arasındaki farkın araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında kantaron yağının üretiminde kullanılan saf zeytinyağının da aynı şekilde yara iyileşmesine etkisi araştırılmıştır.

Kantaron yağının normal yara iyileşmesi üzerine etkisi bilinmesine karşın bozuk yaralardaki etkisi, klinikteki uygulamalar açısından bir merak konusu olmuştur. Bu nedenle bozuk yaralara örnek teşkil etmesi bakımından diabet seçilmiştir. Bozuk yaralardaki etkinin açıklanması, klinikte diabetik hastalarda çoğunlukla karşımıza çıkan yara iyileşmesi problemlerine bir çözüm yolu olması yönünden önemlidir. Ayrıca bu çalışmamız, oral uygulama ile sistemik kullanım arasındaki farkın ortaya konması açısından da faydalı olacağı düşüncesiyle gerçekleştirilmiştir. Literatürde Hypericum perforatumun bozuk yara iyileşmesi üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Hypericum Perforatumun bileşenleri arasında birçok etkin madde bulunmaktadır. Bu maddeler ayrı ayrı yara iyileşmesi çalışmalarında denenmişlerdir. Fakat bizim çalışmamızda bu maddelerin ayrı etkilerinden çok geleneksel kullanımın etkisi araştırıldığından hypericum perforatumun yağ ekstresi hazırlanarak çalışıldı.

Yara iyileşmesi; inflamasyon, proliferasyon ve yeniden oluşum safhalarından oluşan, derinin birbiri içine geçmiş savunma mekanizmalarının bir bütünüdür. Bu iyileşme peryodunun ilk aşaması olan enflamasyon ise mikrobiyal kontaminasyona karşı

resistans oluşturur (80). Yara iyileşmesi, doku hasarına karşı verilen hücresel cevabı içermekte ve bu cevapta keratinositler, fibroblastlar, endotelyal hücreler, makrofajlar ve plateletler yer almaktadır. Diabet, bu hücrelerin ortaya çıkışında, salgıladıkları sitokinlerde, inflamatuar medyatörlerde veya büyüme faktörlerinde azalmaya yol açarak yara iyileşmesini bozmaktadır (81).

Çalışmamızda postoperatif 3.günündeki inflamatuar hücre yoğunluğu, oral kantaron grubunda diabetik gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ve kontrol grubuna göre de yüksek inflamatuar hücre infiltrasyonuna sahip olduğu görüldü. Topikal kantaron grubunda ise inflamatuar hücre yoğunluğu, diabetik grupla aynı olduğu gözlendi. Topikal ve oral zeytinyağı gruplarında, topikalde daha fazla olmak üzere anlamlı derecede inflamatuar hücre yoğunluklarının yüksek olduğu ortaya kondu.

Literatürde kantaronun anti-enflamatuar etkisinden bahsedilirken diabetik yaralardaki etkisinin daha çok enflamasyonu arttırması ilgi çekicidir. Diabetik yarada zaten var olan enflamasyondaki gecikme, bölgede inflamatuar hücre birikiminin azalması enflamasyon peryodunun uzamasına, dolayısıyla yara iyileşmesinin bozulmasına yol açmaktadır. Fakat kantaronun enflamatuar hücre birikimini, yalnızca diabetik değil, kontrol grubuna göre de yükseltmesi, uzamış enflamasyon peryodunu kısaltmasına sebep olmaktadır. Diabet nedeniyle azalan hücre birikimi oral kantaron sayesinde artmış ve bu peryotta normal yara iyileşmesi için gereken enflamasyon sağlanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu da kantaronun normal yaralardaki etkisi ile diabetik yaralardaki etkisinin farklı olduğunu göstermektedir. Oral kantaron, normal yaralarda anti-enflamatuar etkiyle enflamasyon peryodunu kısaltırken, diabetik yaralarda ise azalmış olan enflamasyon yoğunluğunu arttırarak yine enflamasyon peryodunu kısaltmaktadır. Sonuç etki bakımından bakıldığında normal yaralar ile bozuk yaralarda oral kantaronun enflamasyon peryodunu kısalttığı fakat etki mekanizmasının farklı olduğu görülmektedir. Bu durumda oral kullanılan kantaron yağının genel olarak hem bozuk yaralar hem de normal yaralar göz önüne alındığında anti-enflamatuar etkisinin olduğundan değil, immün modülatör etkisi olduğundan bahsedilirse daha doğru bir tanımlama olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgu Sidhu ve arkadaşlarının (55) çalışma bulgularına benzemektedir. Bu çalışmaya göre Curcuminin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi kanıtlanmış ve bunun yanında inflamatuar hücre infiltrasyonunun kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür (55).

Öztürk ve arkadaşları, kantaronun yara iyileşmesindeki etkisinin fibroblastik aktivite ve kollajen sentezindeki artış ile gerçekleştiğini savunmaktadır (67). Süntar ve arkadaşları (9), Hypericum Perforatumun aktif komponentlerinin epitelizasyon üzerinde etkisinin olduğunu fakat fibroblast proliferasyonunu veya yeni damar oluşumunu etkilemediğini gösterdiler. Yara iyileşmesine etkilerinin daha çok fibroblast migrasyonunun ve kollajen depolanmasının arttırılması ve böylece kopma kuvvetinin artmış olabileceği yorumunu yapmışlardır (9). Çalışmamızın 3.gününde oral kantaron grubunun kollajen yoğunlukları diabetik gruba göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde 21.gündeki fibroblastik aktivitenin de gruplar arasında anlamlı fark yarattığı görülmüştür. Bu bulgular literatürdeki mevcut bilgileri desteklemekle beraber kantaron gruplarıyla zeytinyağı grupları arasında kollajen yoğunlukları ve fibroblastik aktivite bakımından anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir.

Eksizyonel yaralardaki epitelizasyon düzeylerine bakıldığında istatistiki olarak anlamlı bir fark olmasa da 7.günde gruplar arasında anlamlı sayılabilecek sonuçlar elde edilmiştir (p=0,052). Buna göre oral kantaron ve topikal zeytinyağı gruplarındaki epitelizasyonun diabetik gruba göre daha yüksek olması patolojinin diğer verilerini destekler durumdadır. Literatürdeki mevcut çalışmalarda da kantaronun epitelizasyon üzerindeki olumlu etkilerinden bahsedilmiş fakat etki mekanizmasının ileri çalışmalar gerektirdiği belirtilmiştir (9,67).

Yara iyileşmesinde 1.ve 3.günlerde yeni damar oluşumu açısından bir bulgu elde edilmemesi bekleniyordu ve beklendiği gibi sonuç alındı. Öte yandan 7.ve 21.günlerde ise anjiogenez açısından gruplar karşılaştırıldığında istatistiki olarak herhangi bir fark elde edilememiştir. Fakat 7.günde her iki kantaron grubundaki yeni damar sayılarının diabetik gruptan fazla olması ve 21.günde ise diabetik gruba göre damar sayılarının az olması ilgi çekici bir bulgudur. Schempp ve arkadaşlarının (82) yaptığı in vivo ve in vitro çalışmalarda Hypericum Perforatumun içeriğindeki etken maddelerden biri olan Hyperforinin anjiogenez inhibitörü olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada ratlara tümöral hücre enjeksiyonu yapılıp ardından hyperforin uygulaması sonrası damar yoğunlukları bakılmış ve kontrol grubuna göre anlamlı oranda azalmış anjiogenez gözlenmiştir. Apopitozu da indüklediği ve antitümöral bir etkiye sahip olduğu da literatürdeki diğer çalışmalarla desteklenmiştir (83). Sidhu ve arkadaşları (55), çalışmalarında Curcumin adında yemeklere konulan tatlandırıcının yara iyileşmesi üzerine etkisini araştırmışlar.

Bu çalışmaya göre Curcumin, yara iyileşmesinde olumlu etkiler sağlamıştır. Damar sayıları bakımından incelediklerinde ise 4.gündeki damar sayısının 11.günde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düştüğünü kaydetmişlerdir. Bunu da Curcumin ile tedavi edilen grupta kollajenizasyonun daha iyi oluşu, yara organizasyonunun daha iyi oluşu ve granulasyon dokusunun daha erken regresyonuyla açıklamışlardır (55). Ayrıca kontrol dışı artmış anjiogenezin aşırı granülasyon dokusuyla sonuçlandığını ve yara iyileşmesini bozduğunu vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda da kantaron gruplarında ilk başta yüksek anjiogeneze sahip olup daha sonra diabetik gruba göre daha düşük oranda anjiogenez görülmesi yara organizasyonunun diabetik gruba göre daha hızlı olma ihtimalini desteklemektedir.

Hidroksiprolin, yara dokusundaki kollajenin sayısal değeri açısından dolaylı bilgi sahibi olmamızı sağlamaktadır. Kollajen, bağ dokunun temel yapı proteinidir. Kollajen miktarı, bize yara iyileşmesi hakkında fikir verir. Diabette kollajen miktarında azalma ve çapraz bağlanmasında bozulma, kollajene spesifik lizil ve hidroksilizil kalıntılarının glukoz ve ketojenik metabolitler tarafından bloke edilmesi nedeniyle gerçekleşir (43).

Çalışmamızın hidroksiprolin değerlerine bakıldığında istatistiki olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen en yüksek değer oral kantaron grubuna ait olup onu topikal kantaron takip etmektedir. Topikal zeytinyağı ise anlamlı değere yakın sonuç vermiştir. Oral zeytinyağının hidroksiprolin değerleri üzerinde yüksek oranda bir fark yarattığından bahsedilemez.

Diabette artmış kollajenaz aktivitesinin yanısıra daha önemli olarak kollajenin sentezinde azalma vardır (43). Kantaron, kollajenaz aktivitesini, dolayısıyla kollajenolizisi direkt olarak azaltmış olabilir. Bunun yanında fibroblastik aktiviteyi de arttırarak kollajen sentezini arttırmış olabilir. Seifter ve arkadaşlarının (43) yaptıkları çalışmada, diabette azalmış olan inflamatuar hücre infiltrasyonunun kollajenolitik aktivitenin kaynağı olabileceği de belirtilmiş. Bizim çalışmamızda inflamatuar hücre yoğunluğunun kantaronla artması, kollajenolizisi azaltmış olabilir. Bu bulgular patolojik olarak bulunan artmış kollajen yoğunluğu ve sayısal değer bakımından artmış hidroksiprolin miktarını da desteklemektedir. Diabette yara iyileşmesi üzerine yapılan benzer çalışmalarda da aynı mekanizmayı görmekteyiz. Seifter ve arkadaşlarının (43) yaptıkları çalışmada ratlar streptozotosin ile diabetik hale getirilmiş ve A vitamininin yara iyileşmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Buna göre A vitamininin yaradaki

enflamatuar hücre yoğunluğunu arttırarak enflamasyon peryodunu kısalttığı ve böylece yara iyileşmesinde düzelme sağladığı bulunmuştur (43). Goodson ve Hunt (84), diabette insülin verildiğinde daha yüksek inflamatuar cevap alınarak yara iyileşmesinde düzelme sağlandığını vurgulamışlardır (84). Buna benzer bir çalışma Nagy ve arkadaşları (85) tarafından yapılmış. Alloksan ile diabetik hale getirilen hayvanlara insülin verildiğinde yara yerinde inflamatuar hücre yoğunluğunun daha fazla arttığı görülmüştür. Fakat bu insülinin dozu kan şekerini kontrol edecek düzeyde bir insülin dozu olmamasına rağmen yara iyileşmesini olumlu etkilediği rapor edilmiştir. Seifter ve arkadaşları (43) ise kan şekerinin düşmesini sağlayacak olan insülin dozunun kollajen çapraz bağlanmasını olumlu etkilediğini, bunun dışında yara iyileşmesini olumlu etkileyen tedavi yöntemlerinin ise kollajen miktarını arttırmak suretiyle etki ettiklerini savunmaktadırlar. Buna göre bizim çalışmamızda tedavi gruplarında, diabetik grupta olduğu gibi hayvanlarda poliüri ve polidipsinin devam etmesi, kantaronun karbohidrat metabolizması üzerinde bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu da kantaron yağının kollajen çapraz bağlanmasını etkilemediğini, yalnızca miktarında artış meydana getirdiği hipotezini desteklemektedir.

Kimyasal diabet oluşturulmuş ratlarda yara iyileşmesi ve yaranın kopma kuvveti diabet olmayan ratlara göre azalmıştır (86). Derideki insizyonların yaralanmanın ilk birkaç hafta sonrasındaki gücü, yaradaki kollajen miktarı ve bu kollajenin çapraz bağlanma derecesine bağlıdır (87). Kopma kuvvetindeki düşüklük yalnızca diabete özgü bir bulgu değildir. Örneğin C vitamini eksikliğiyle giden skorbüt hastalığında, yaralardaki zayıflık daha çok kollajen sentezindeki azlığa ve fibroblastlardaki sekresyon düşüklüğüne bağlıdır (88,89). Yaradaki zayıflığın kollajen miktarı kadar fibrillerin yerleşimine bağlı olduğu literatürdeki başka çalışmalar ile de gösterilmiştir (90). Seifter ve arkadaşları (43), diabette kollajenin çapraz bağlanmasının karbohidrat metabolizmasıyla ilgili olabileceğini ve yara iyileşmesinde kullanılan ilaçların, eğer kan şeker düzeyini düşürmüyorsa yalnızca kollajen miktarında artış meydana getirebileceğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda oral ve topikal kantaron grupları, diabetik gruba göre kopma kuvvetinde anlamlı düzeyde artış meydana getirmiştir. Yaralardaki bu fark, kantaronun kollajen düzeylerinde meydana getirdiği artışla açıklanabilir. Bunun yanında oral ve topikal zeytinyağı da yara kopma kuvvetinde artış meydana getirmişlerse de istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda insizyonel yaralardan farklı olarak eksizyonel yaralarda da inceleme yapılmış ve kontraksiyon yüzdeleri hesaplanmıştır. Literatürde, diabetik yaralardaki kontraksiyonun geç veya yetersiz olduğunu gösteren birçok yayın vardır (15,43). Diabetik yaralarda myofibroblastların belirteci olarak α-düz kas aktin proteini daha geç görüldüğü, dolayısıyla kontraksiyonun geç olduğu belirtiliyor (91). Fakat bizim çalışmamızda diabetik yaraların kontraksiyon yüzdelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olmadığı, hatta tedavi gruplarının bu değerlerin altında olduğu görülmüştür. Histopatolojik olarak kollajen yoğunluğu ve fibroblastik aktivite değerlerinin, sayısal analiz bakımından hidroksiprolin ve kopma kuvveti bulgularının birbirleriyle korele gittiği görülse de kontraksiyon yüzdelerinin bu verilerle alakasız şekilde sonuçlanması ilginç ve yorumlanması güç bir bulgudur. Zaten istatistiki olarak da anlamsız olan bu bulgunun var olan sonuçlarının açıklanmasının ileri araştırmalarla gerçekleşebileceğine inanmaktayız.

Türk kültüründe yaygın kullanım alanı bulan ve başta yara ve yanık olmak üzere birçok hastalığa faydasının olduğuna inanılan kantaron yağının sistemik ve topikal kullanımının diabetik yaralardaki etkisi araştırıldı. Ayrıca kantaron yağının etkisinin, kantaron çiçeğinden mi yoksa yağ ekstresi oluşturulurken kullanılan zeytinyağından mı kaynaklandığı sorusuna cevap arandı. Çalışmamızda bozuk yaralara örnek teşkil etmesi bakımından diabet seçildi ve tedavi gruplarının bozuk yaralar üzerindeki etkileri değerlendirildi. Bu değerlendirmeler yapılırken farklı parametreler kullanıldı ve bu parametrelerin her birine tedavi gruplarının farklı etkileri oldu. Bu tür sonuçlara literatürdeki diğer çalışmalarda da rastlayabiliriz. Yara iyileşmesine cevap bakımından aynı ilacın oral ile topikal kullanımında farklı parametrelerde farklı sonuçlar alınabildiğini görmek mümkündür (55). Bu sonuçların beklenen değerlerin aksine gelebildiğini kendi çalışmamızda da gördük. Cerrahi işlemden, çevresel faktörlerden, ilaç kullanım hatalarından ve çalışmanın seyrini değiştirebilecek, sonuçları etkileyebilecek birçok faktörden kaçınmaya çalıştık. Her ne kadar itinayla uğraştıksa da bazı gruplarda hayvanların ölmelerini önleyemedik. Topikal zeytinyağı grubunda diğer gruplara göre daha fazla hayvan bulunması istatistiki sonuçları da etkilemekteydi. Fakat neticede çalışmamızın amacı tedavi gruplarının etkinliğinin değerlendirmesi ve birbirleriyle kıyaslamak olduğuna göre, parametrelerde alınan sonuçları anlamlı olup olmadıklarına bakılmaksızın skorlama yapmak suretiyle kıyasladık. Böylece tedavide kullanılan maddelerin hem içeriğinin hem de veriliş şekillerinin etki düzeyleri

değerlendirilmiş oldu. Yaptığımız analize göre oral kantaronun diğer gruplara göre etkinlik bakımından üstünlüğü bulunmaktaydı. Yani sistemik verilen kantaronun, hem topikal uygulanan kantarona hem de içinde çözüldüğü zeytinyağının sistemik ve topikal kullanım şekillerine göre diabetik yarada daha etkili olduğu görüldü. Sosa ve arkadaşlarının (92) kantaronun topikal kullanım şekillerinin karşılaştırmasını yaptığı çalışmasında aldığı sonuç aktivite sıralaması bakımından şöyleydi:

Yağ ekstresi > etilasetik fraksiyon > hidroalkolik ekstre (92).

Süntar ve arkadaşlarının (9) çalışmasında ise topikal uygulanan kantaron yağının, yine topikal uygulanan zeytinyağıyla karşılaştırılmasında kantaron yağının daha potent olduğu bulunmuştur (9). Bu çalışmalar normal yaralarda olup yalnızca topikal uygulamaların karşılaştırılmasını içermekteydi. Çalışmamızın literatürdeki kantaron yağıyla ilgili mevcut çalışmalardan en büyük farkı diabetik yaralar üzerinde yapılmış olması ve sistemik ile topikal kullanımın karşılaştırılmasını içermesidir. Grupların sayıca fazlalığı istatistiki açıdan zorluk yaratsa da çalışmamızda önemli sorulara cevap alındığına inanmaktayız.

Bu çalışma, kantaronun bozuk yara iyileşmesine olan etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların klinikte diabetik hastalarda kantaronun kullanımı konusunda literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız. Böylece halk arasında yaygın olarak kullanılan kantaron yağının klinikte de kullanımının yolunun açılabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

1- Oral kantaronun çalışmanın 3.gününde inflamatuar hücre yoğunluğunu anlamlı oranda arttırdığı görüldü. **($p<0,05$)** Bu bulgu, literatürdeki mevcut bilgilerin aksine kantaronun anti-enflamatuar değil yaranın durumuna bağlı olarak immün cevabı düzenlediği varsayılabilir.

2- Fibroblast sayısı bakımından 21.günde oral kantaronun diabetik gruba göre anlamlı derecede **($p<0,001$)** yüksek olduğunu göstermektedir. Fakat zeytinyağı grubundan bu anlamda farkı yoktur.

3- Oral kantaron grubununun 3.gündeki kollajen yoğunluğunun diabetik gruba göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu **($p<0,05$)** belirlenmiştir.

4- Eksizyonel yaralardaki epitelizasyon sonuçları 7.günde anlamlı değere yakındır **($p<0,052$)**. Oral kantaron ve topikal zeytinyağının epitelizasyon değerleri diğer gruplara göre yüksek bulundu.

5- Oral kantaron grubunun, hidroksiprolin değerleri bakımından anlamlı oranda **($p<0,001$)** yüksek olduğu görülmüştür.

6- Oral kantaronun kopma kuvveti bakımından bozuk yaralarda anlamlı oranda düzelme sağladığı bulunmuştur. **($p<0,05$)** Bu bulgu hidroksiprolin ve kollajen yoğunluğu bulgularıyla da desteklenmiştir.

7- Eksizyonel yaralarda kontraksiyon yüzdesi açısından bakıldığında oral kantaronun diğer tedavi gruplarına göre daha yüksek yüzdeye sahip olduğu fakat

diabetik yarayla karşılaştırıldığında düşük seyrettiği görülmektedir. İstatistiki olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

8- İstatistiki açıdan anlamlı olmasa da Kantaron gruplarında yeni damar oluşumunun diabetik gruba göre 7.günde yüksek olup 21.günde düşük olması, kantaronun yara organizasyonunun iyileştirdiğinin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır.

9- Kantaron göz önüne alınmadığında zeytinyağının da hem oral hem topikal kullanımının bozuk yaralar üzerine iyileştirici etkisinden söz edilebilir fakat oral kantaronun etkisi kadar olmadığı bu çalışma ile gösterilmiştir.

10- Bu çalışma, oral kantaronun topikal kantarona ve üretiminde kullanılan zeytinyağına göre bozuk yaraların iyileşmesinde daha etkili sonuç verdiği ve immüniteyi düzenleyici olarak görev yaptığını gösterdi.

7. KAYNAKLAR

1. Gurtner, Geoffrey C. Wound Healing: Normal And Abnormal. In: Charles H. Thorne, et al. Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th Edition. Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins, 2007, s. 15-22.
2. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg. Clin. North. Am. 1997, Cilt 77, 509-28.
3. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. Plast. Recons. Surg. 2006, Cilt 117, 1-31.
4. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Plast. Recons. Surg. 2006, Cilt 117 (Suppl), 12-34.
5. Williams DT, Harding K. Healing responses of skin and muscle in critical illness. Ctir Care Med. 2003, Cilt 31 (8), 547-557.
6. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. J Clin Invest. 2007 May;117(5):1219-22. Review.
7. Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2004, 27:1047–1053.
8. Yesilada E, Honda G, Sezik E et al. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. Journal of Ethnopharmacology. 1995; 46, 133-152.
9. Süntar IP, Akkol EK, Yılmazer D, et al. Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. J Ethnopharmacol. 2010 Feb 3;127(2):468-77.

10. Lavagna SM, Secci D, Chimenti P et al. 2001. Efficacy of Hypericum and Calendula oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caeserian section. Il Farmaco 56,451-453.

11. Rao SG, Udupa AL, Udupa SL, et al. 1991. Calendula and Hypericum: Two homeopathic drugs promoting wound healing in rats. Fitoterapia 6,508-510.

12. Ferner H. Sobotta İnsan Anatomi Atlası. 3. Cilt. Berlin 1974. pp 191

13. Goldsmith LA. My organ is bigger than your organ. Arch Dermatol 126:301,1990.

14. Freedberg I.M., Eisen A.Z., Wolff K. Dermatology in general medicine. Ed. 5th ed. McGraw-Hill. New York 1999.

15. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: Histology and physiology of wound healing. Clin Plastic Surg. 2012;39:85-97.

16. Hom DB. Wound healing in relation to scarring. Facial Plast Surg Clin North Am. 1998;6:11.

17. Charles K. Management of acute wounds. Clin Plastic Surg 2007;34(4): 685-95

18. Krizek TJ, Harries RHC. Biology and tissue injury and repair. In: Georgiade Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. 3. Edition Ed: Georgiade GS, Williams and Wilkins 1997;1-9.

19. Hunt TK, Knighton DR, Goodson WH. Yara iyileşmesi Çev: Olcay I. Çağdaş Cerrahi Tanı ve Tedavi Ed. Hikmet Akgül 1985;1:125-38.

20. David M, Young P, Stephen J. Wound healing. Ed: Miller. In: Modern surgical care. 1998;1:1237-1247.

21. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. Am J Surg. 2004;187(5A):11S-16S.

22. Joan L. Monaco W. Thomas Lawrence. Acute wound healing. Clinics in plastic surgery,2003;30(1):1-12

23. Paul J. Leahy, W. Thomas Lawrence. Biologic Enhancement of Wound Healing. Clin Plastic Surg 2007; 34(4): 659-671

24. Rook JM, Hasan W, McCarson KE. Temporal effects of topical morphine application on cutaneous wound healing. Anesthesiology 2008; 109: 130-6.

25. Browder W, Williams D, Lucore P. Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. Surgery. 1988; 104:224-229.

26. Champe P.C. Biochemistry Lippicott's Illustrated Reviews (Çeviri) Tokullugil A.Biyokimya Nobel tıp Kitapevleri 1997;3: 25-38.

27. Akhavani M.A, Sivakumar B., Palelog E.M., Kang N. Angiogenesis and plastic surgery J Plast Reconstr Aesthet Surg 2008;61(12): 1425–37.

28. Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair The American Journal of Surgery 2002; 183(7): 406–412.

29. Özbek N, Güneren E, Yıldız L, Meydan D, Çakır S, Çoskun M. The effect preoperative conventional and hyperfractionated radiotherapy schedules on wound healing and tensile strength in rats: an experimental study Int. J. Maxillofac. Surg. 2005;34(2): 185-192.

30. Gorodetsky R, McBride WH, Withers HR. Assay of Radiation Effects in Mouse Skin as Expressed in Wound Healing. Radiation Research, 1988; 116(1):135-144.

31. Woessner JB. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. Arch Biochem Biophys 1961; 93: 440-447.

32. Bergmann I, Loxley R. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. Ann Chem 1963; 35: 1961-65.

33. Lorenz HP, Longaker MT. Wound healing: Repair biology and wound and scar treatment. In: Mathes Plastic Surgery 2. Edition. Ed: Mathes SJ. Saunder Elsevier 2006; 1: 209-234.

34. Fahey TJ, Sadaty A, Jones WG, et al. Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. J Surg Res. 1991; 50: 308-313.

35. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, et al. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast. Am J Pathol. 2003; 162 (1): 303-312.

36. Komesu MC, Tanga MB, Buttros KR, et al. Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. Pathophysiology. 2004; 11: 63-67.

37. King L. Impaired wound healing in patients with diabetes. Nursing Standart. 2001; 15(38): 39-45.

38. Ahmed N. Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. Diabetes Res Clin Pr. 2005; 67: 3-21.

39. Spanheimer RG. Direct inhibition of collagen production in vitro by diabetic rat serum. Metabolis 1988; 37(5): 479-485.

40. Grotendorst GR, Martin GR, Pencev D, et al. Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats. J Clin Invest. 1985; 76: 2323-2329.

41. Spanheimer RG, Umpierrez GE, Stumpf V. Decreased collagen production in diabetic rats. Diabetes 1988; 37: 371-376.

42. Andreassen TT, Seyer-Hansen K, Oxlund H. Biomechanical changes in connective tissues induced by experimental diabetes. Acta Endocrinol (Copenh). 1981; 98(3):432-6.

43. Seifter E, Rettura G, Padawer J, et al. Impaired wound healing in streptozotocin diabetes. Prevention by supplemental vitamin A. Ann Surg. 1981;194(1):42-50.

44. Hamlin CR, Kohn RR, Luschin JH. Apparent accelerated aging of human collagen in diabetes mellitus. Diabetes. 1975; 24: 902.

45. Hennessey PJ, Ford EG, Black CT, et al. Wound collagenase activity correlates directly with collagen glycosylation in diabetic rats. J Pediatr Surg. 1990;25(1):75-78.

46. Andreassen TT, Oxlund H. The influence of experimental diabetes and insulin treatments on the biomechanical properties of rat skin incisional wounds. Acta Chir Scand. 1987; 153:405-409.

47. Tokudome T, Horio T, Yoshihara F, et al. Direct effects of high glucose and insulin on protein synthesis in cultured cardiac myocytes and DNA and collagen synthesis in cardiac fibroblasts. Metabol. 2004; 53: 710-715.

48. Oishi Y, Fu ZW, Ohnuki Y, et al. Molecular basis of the alteration in skin collagen metabolism in response to in vivo dexamethasone treatment: effects on the synthesis of collagen type I and III, collagenase and tissue inhibitors of metalloproteinases. Br J Dermatol. 2002; 147(5): 859-868.

49. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, et al. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wound of diabetic and non-diabetic patients. Diabetologia. 2002; 45: 1011-1016.

50. Kashiba M, Oka J, Ichikawa R, et al. Impaired acorbic acid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Free Radical Bio Med. 2002; 33: 1221-1230.

51. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. Diabetes. 1976;25(7):595-603.

52. Greenwald DP, Shumway MD, Lawrence S. Endogenous versus Toxin-Induced Diabetes in Rats: A Mechanical Comparison of Two Skin Wound-Healing Models. Plastic Recon Surg. 1993; 91(6): 1087-1093.

53. Öztürk Y, Altan V, Yıldızoğlu N. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. Pharmacological Reviews. 1996; 48:69-112.

54. Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. Mutat Res. 2002;512(2-3):121-34.

55. Sidhu GS, Mani H, Gaddipati JP et al. Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice. Wound Repair Regen. 1999;7(5):362-74.

56. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. J Ethnopharmacol. 1998; 59(3):195-201.

57. Bilia AR, Gallori S, Vincieri F. St. John's wort and depression. Efficacy, safety and tolerability – an update. Life Sci. 2002; 70: 3077-3096.

58. Müller WE. Current St. John's wort research from mode of action to clinical efficacy. Pharmacol Res. 2003; 47:101-109.

59. Yesilada E, Honda G, Sezik E et al. Traditional medicine in Turkey. IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivison. Journal of Ethnopharmacology. 1993;39: 31-38.

60. Yesilada E, Gurbuz I, Shibata H. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-Helicobacter pylori activity. J Ethnopharmacol 1999; 66: 289-293.

61. Mukherjee PK, Verpoorte R, Suresh B. Evaluation of in vivo wound healing activity of Hypericum patulum (Family: Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. J Ethnopharmacol. 2000; 70: 315-321.

62. Mukherjee PK, Suresh B. The evaluation of wound healing potential of Hypericum hookerianum leaf and stem extracts. J Altern Complement Med. 2000; 6: 61-69.

63. Maisenbacher P, Kovar KA. Analysis and stability of Hyperici oleum. Planta Medica. 1992;58: 351-354.

64. Albert D, Zündorf I, Dingermann T, et al. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. Biochem Pharmacol. 2002;64: 1767-1775.

65. Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK, et al. Inhibition of prostaglandin E2 production by anti-inflammatory Hypericum Perforatum extracts and constituents in RAW264.7 mouse macrophage cells. J Agric Food Chem. 2007;55(18):7323-31.

66. Getie M, Gebre-Mariam T, Rietz R, et al. Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of Dodonea viscosa (Sapindaceae). Pharmazie. 2002;57(5):320-2.

67. Öztürk N, Korkmaz S, Öztürk Y. Wound-healing activity of St. John's wort (Hypericum perforatum L.) on chicken embryonic fibroblasts. J Ethnopharmacol. 2007 Apr 20;111(1):33-9.

68. Clark RAF. Cutaneous wound repair. In: Goldsmith LA (ed.) Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin. Oxford University Press. 1991; 576–601.

69. Cecchini C, Cresci A, Coman MM et al. Antimicrobial activity of seven Hypericum entities from central Italy. Planta Medica. 2007; 73: 564-566.

70. Schempp CM, Petz K, Wittner A et al. Antibacterial activity of hyperforin from St. John's wort, against multiresistant Staphylococcus Aureus and gram-positive bacteria. The Lancet. 1999; 353: 21-29.

71. Gurevich AI, Dobrynin VN, Kolosov MN et al. Hyperforin, an antibiotic from Hypericum Perforatum. Antibiotiki. 1971; 16: 510-513.

72. Lomagno P, Lomagno RC. Activity of Hypericum perforatum oil in the treatment of the bedsores in old people. Fitoterapia. 1979; 50:201-205.

73. Schempp CM, Windeck T, Hezel S, et al. Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's wort cream – a randomized, placebo controlled, double blind half-side comparison. Phytomedicine. 2003; 10(Suppl. IV):31-37.

74. Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK et al. Inhibition of prostoglandin E(2) production by antiinflammatory Hypericum perforatum extracts and constituents in RAW264.7 mouse macrophage cells. J Agric Food Chem. 2007;55(18):7323-31.

75. Albert D, Zündorf I, Dingermann T et al. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. Biochem Pharmacol. 2002; 64(12): 1767-75.

76. Gal P, Toporcer T, Vidinsky B. Postsurgical administration of estradiol benzeoate decreases tensile strength of healing wounds in ovariectomized rats. J Surg Research 2008; 147:117-122.

77. Zdunic G, Godevac D, Milenkovic M, et al. Evaluation of Hypericum Perforatum oil extracts for an antiinflammatory and gastroprotective activity in rats. Phytoter Res. 2009;23: 1559-1564.

78. Özyazgan İ, Yılmaz A. Deneysel çalışmalarda flep canlılık yüzdesinin hesabı için basit bir bilgisayar programı. Poster bildiri, XXVI. Ulusal Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kongresi Özet Kitabı, Ankara 2004:274.

79. Schallberg SP, Stanley BJ, Hauptman JG, et al. Effect of porcine small intestinal submucosa on acute full-thickness wounds in dos veterinary surgery. 2008; 37:515-524.

80. Kondo T. Timing of skin wounds. Legal Medicine. 2007; 9: 109-114.

81. Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: Effects on angiogenesis, vascular remodeling and wound healing. Int J Vasc Med. 2012; 2012: 918267.

82. Schempp CM, Kiss J, Kirkin V et al. Hyperforin acts as an angiogenesis inhibitor in vitro and in vivo. Planta Med. 2005; 71: 999-1004.

83. Schempp CM, Kirkin V, Simon-Haarhaus B et al. Inhibition of tumor cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. Oncogene 2002; 21: 1242-50.

84. Goodson WH, Hunt TK. Wound healing and the diabetic patient. Surg Gynecol Obstet. 1979; 149: 600.

85. Nagy S, Redei A, Karady S. Studies on granulation tissue production in alloxan-diabetic rats. J Endocrinol. 1961; 22: 143.

86. Prakash A, Pundit PN, Sharma LK. Studies of wound healing in experimental diabetes. Int Surg. 1974; 59:25.

87. Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, et al. The healing of rat skin wounds. Ann Surg. 1965; 161(2):293.

88. Barnes MJ, Constable BJ, Norton LF, et al. Studies in vivo on the biosynthesis of collagen and elastin in ascorbic acid deficient guinea pigs. Evidence for the formation and degradation of a partially hydroxylated collagen. Biochem J. 1970; 119: 575.

89. Pirani CL, Levenson SM. Effect of vitamin C deficiency on healed wounds. Proc Soc Exp Biol Med. 1953; 82:95.

90. Berberian GM, Kuyama T, Geever EF, et al. Wound healing deficit in lathyrism. Surg Forum. 1964; 15:50.

91. Darby IA, Bisucci T, Hewitson TD, et al. Apoptosis is increased in a model of diabetes-impaired wound healing in genetically diabetic mice. Int J Biochem Cell Biol. 1997; 29:191-200.

92. Sosa S, Pace R, Bornancin A, et al. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from Hypericum perforatum L. J Pharm Pharmacol. 2007;59(5):703-9.

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Mehmet ALTIPARMAK'a ait **"Diabetik Ratlarda Kantaronun Deri Yarası Üzerine Etkisi"** adlı çalışma, jürimiz tarafından Plastik **Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı** Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: …./…./2012

İmza

Başkan: .....

Üye: .....

Üye: .....