

**T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**SIÇAN YARA MODELİNDE REKOMBİNANT İNSAN EPİDERMAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ İLE SIĞLA YAĞI VE MORİNA BALIĞI KARACİĞER YAĞININ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

(DENEYSEL ÇALIŞMA)

DR. MEHMET BİÇER

UZMANLIK TEZİ

KONYA 2020

**T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**SIÇAN YARA MODELİNDE REKOMBİNANT İNSAN EPİDERMAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ İLE SIĞLA YAĞI VE MORİNA BALIĞI KARACİĞER YAĞININ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

(DENEYSEL ÇALIŞMA)

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. MEHMET BİÇER**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ŞAKİR TEKİN**

KONYA 2020

TEŞEKKÜR

Mensubu olmaktan gurur duyduğum Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda beş yıl boyunca bilgilerini ve yardımlarını benden esirgemeyen, cehaletin karanlığına ışık tutan, genel cerrahi eğitimim boyunca cerrahi bilgi ve becerimi artıran, hekimliğin etik değerlerini ve kuralları öğreten, tez sürecinin başından sonuna kadar engin görüş ve düşüncelerini, her türlü emek ve yardımlarını benden esirgemeyen bütün hocalarıma,

Bu tezi hazırlamamda yardımcı olan, her türlü yardımı yapan tez danışmanım Prof. Dr. Şakir TEKİN'e,

Tez yazım sürecinde değerli görüşlerini bildiren Prof. Dr. Mehmet Metin Belviranlı'ya,

Bu süreçte her türlü yardımı yapan dekanımız Prof. Dr. Celalettin Vatansev'e, Tezin deney aşamasında ve yazım sürecinde değerli görüş ve önerilerini paylaşan Prof. Dr. Tevfik Küçük kartlar ve Prof. Dr. Murat Çakır'a

Deneyle süresince hiçbir imkânı ve yardımını esirgemeyen Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi sorumlusu Prof. Dr. Selim KUTLU 'ya,

Tezin patoloji ve biyokimya sonuçlarını elde etmemde emeği olan Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğ. Üy. Fahriye KILINÇ hocama ve Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğ. Üy. İbrahim KILINÇ hocama, tezimin istatistiki analizlerinin hazırlanmasında emeği geçen Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğ. Üy. Harun YONAR' a, tezde kullandığımı bitkisel ve hayvansal ürünlerin temininde yardımcı olan eczacı Ahmet Nezihi Pekcan' a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, emektar hemşirelerimize, sağlık personellerine ve sekreterlerimize,

Yıllardır zorlu eğitim sürecimin getirdiği bütün güçlükleri benimle paylaşan, benimle sevinen, benimle üzülen, her türlü fedakârlığı yapan aileme;

En kalbi minnet ve şükranlarımı sunuyorum

Dr. Mehmet BİÇER

ÖZET

SIÇAN YARA MODELİNDE REKOMBİNANT İNSAN EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE SIĞLA YAĞI VE MORİNA BALIĞI KARACİĞER YAĞININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Yara iyileşmesi cerrahi operasyonlarda tam sağaltım için esastır. Çok yönlü kompleks mekanizmalı yara iyileşmesi için sıklıkla kombine yaklaşımlar gerekmektedir. Rekombinant insan epidermal büyüme faktörünün yara iyileşmesindeki olumlu etkileri bilinmektedir. Bu tezin amacı; rekombinant insan epidermal büyüme faktörünün yara iyileşmesi üzerindeki etkinliği ile sığla yağı ve morina balığı karaciğer yağının yara iyileşmesi üzerine etkinliğinin karşılaştırılmasıdır.

Bu tez çalışmasında Wistar ırkı sıçan kullanılmıştır. Denekler 8' erli Sham, Kontrol, RH-EGF, Morina ve Sığla gruplarına ayrıldı. Her grupta interskapular alandaki cilt bölgesinde oluşturulan yaraların iyileşme düzeyleri, TOS, TAS, OSI analiziyle birlikte Hematoksilen/Eozin, Masson Trikrom, Vasküler Endotelial Growth Faktörü (VEGF) immünohistokimyasal boyama yapılarak histolojik olarak belirlendi.

Sonuç olarak deneysel yöntemle sığla yağının, morina balığı karaciğer yağının ve RH-EGF'nin yara iyileşmesine olumlu sonuçlar doğurduğu tesbit edildi. Sığla yağının epitelizasyonda, morina balığı karaciğer yağının kollajen sentezinde daha etkili olduğu görüldü. Sığla yağı ve morina balığı karaciğer yağının klinik kullanıma geçebilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Sığla yağı, morina balığı karaciğer yağı, rekombinant insan epidermal büyüme faktörü, rat ve yara iyileşmesi

ABSTRACT

COMPARISON OF RECOMBINANT HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR AND THE EFFECTS OF ORIENTAL SWEET GUM AND COD LIVER OIL ON WOUND HEALING IN THE RAT MODEL

Wound healing is essential after surgical operations. Combined approaches is required for wound healing with multiple complex mechanisms. It is known human recombinant epidermal growth factor has positive effects on wound healing. We aimed to investigate and evaluate the effect of human recombinant epidermal growth factor, oriental sweet gum storax and cod liver oil on wound healing.

Wistar rats were used in the study. Subjects were divided into groups of 8 rats Sham, Control, RH-EGF, Cod and oriental sweet gum. In each group, the healing levels of wounds that created in the interscapular area were determined histologically by TOS, TAS, OSI analysis, Hematoxylin Eosin, Masson Trichrome, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) immunohistochemical staining.

As a result, it was determined by experimental method that oriental sweet gum, cod liver oil and RH-EGF have positive results on wound healing. It was observed that oriental sweet gum was more effective in epithelization and cod liver oil was more effective in collagen synthesis. More studies are needed for oriental sweet gum and cod liver oil to be used into clinical use.

Keywords:

Human recombinant epidermal growth factor, oriental sweet gum storax, cod liver oil, wound healing, rat

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	IVIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2. 1. YARA İYİLEŞMESİ	2
2. 2. YARA İYİLEŞMESİ TİPLERİ	2
2. 3. YARA İYİLEŞMESİ EVRELERİ	2
2.3.1. İnflamatuar Evre	3
2.3.2. Proliferatif Evre (Fibroblastik Evre)	5
2.3.2.1. FibroblastProliferasyonu:	5
2.3.2.1.1. Glikozaminoglikanlar (GAG):	5
2.3.2.1.2. Kollajen sentezi:	6
2.3.2.2. Anjiogenezis	8
2.3.3. Maturasyon Evresi (Remodeling Evresi)	8
2.4. EPİTELİZASYON	9
2.5. YARA KONTRAKSİYONU	9
2.6. YARA DİRENCİ	10
2.7. SKAR DOKUSU	10
2.8. YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	10
2.8.1. Yaş	10
2.8.2. Beslenme	11
2.8.3. İmmüsupresyon -Radyoterapi	11
2.8.4. Diğerleri:	12
2.9. BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE YARA İYİLEŞMESİNİN DÜZENLENMESİ	13
2.9.1. Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF):	14
2.9.2. Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- B)	15
2.9.3. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF):	16
2.9.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	16
2.9.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)	16
2.10. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	17
2.11. MORİNA BALIĞI KARACİĞER YAĞI (OLEUM JEKORİS ASELLİ)	18
2.12. SIĞLA YAĞI (LİQUİDAMBAR ORİENTALİS)	18
2.12.1. Sığla Yağının Özellikleri Ve İçeriği	19
2.12.2 Sığla Yağının Geleneksel Tedavideki Kullanım Alanları ve Kullanım Şekli	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. BİYOKİMYASAL GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.2. HİSTOPATOLOJİK GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.3. İSTATİSTİKSEL GEREÇ VE YÖNTEM	25
4. BULGULAR	26
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	26
4.1.1. Dördüncü Gün Alınan Biyopsi Sonuçları:	27
4.1.2 On Beşinci Gün Tamamlandıktan Sonra Alınan Biyopsi Sonuçları	30

4.1.3 HİSTOPATOLOJİK ŞEKİLLER:	34
4.2. YARA ALANI BULGULARI.....	37
4.2.1 Gruplar Arasında Yara Alanları Bakımından Yapılan Değerlendirme	37
4.2.2. Denek Gruplarının İki Biyopsi Arasındaki İlişkisinin İncelenmesi.....	40
4.2.3. İyileşme Günleri Bakımından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	40
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR	42
4.3.1. Dördüncü Gün Alman Biyopsilerin Biyokimyasal Sonuçları:	42
4.3.1.1. Total Antioksidan Aktivite (Total Antioxidant Status-TAS) Sonuçları:	42
4.3.1.2. Total Oksidan Aktivite (Total Oxidant Status - TOS) Sonuçları:....	42
4.3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi (Oxidative Stress Index - OSI) Sonuçları:...	42
4.3.1.4. Gruplar Arasında Biyokimyasal Sonuçlarda 1. Biyopsiler İçin Yapılan Değerlendirme	42
4.3.2. Onbeşinci Gün Alman Biyopsilerin Biyokimyasal Sonuçları:	45
4.3.2.1. Total Antioksidan Aktivite (Total Antioxidant Status -TAS) Sonuçları:	45
4.3.2.2. Total Oksidan Aktivite (Total Oxidant Status - TOS) Sonuçları:....	45
4.3.2.3. Oksidatif Stres İndeksi (Oxidative Stress Index- OSI) Sonuçları: ..	46
4.3.2.4. Gruplar Arasında Biyokimyasal Sonuçlarda 2. Biyopsiler İçin Yapılan Değerlendirme	46
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ	58
7. KAYNAKLAR	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ECM:** EkstrasellülerMatriks
EGF: EpidermalGrowthFactor
RH-EGF: Rekombinant Human EpidermalGrowthFactor
FGF: FibroblastGrowth Faktör
GAG: Glikozaminoglikanlar
Gr: Gram
H/E: Hematoksilen / Eozin
HCl: Hidroklorür
IL-1: İnterlökin 1
IL-2: İnterlökin-2
ILGF: İnsulin-LikeGrowth Faktör 1
IV: İntravenöz
KVS: Kardiyovasküler sistem
MBKY: Morina Balığı Karaciğer Yağı
MA: Moleküler Ağırlık
MMP: Metalloproteinaz
MTK: MassonTrikrom
MNL: Mono Nükleer Lökositler
MSS: Merkezi Sinir Sistemi
NO: Nitrik Oksit
OH-Prolin: Hidroksiprolin
OKT-1: Tüm T Hücre Reseptörleri İçeren Lenfositler
PAF: PlatelletActivatedGrowth Faktör
PDGF: PlatelletDerivatedGrowth Faktör
PGE: Prostaglandin-E
PMNL: PolimorfoNükler Lökositler
Ss: Standart Sapma
SSS: Santral Sinir Sistemi
TGF- α : TransformingGrowth Faktör Alfa
TGF- β : TransformingGrowth Faktör Beta
TNF: Tümör Nekroz Faktör
Tx A2: Tromboxan A

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Hematoksilen/Eozin Boyamada Histopatolojik Bulgular.....	34
Şekil 2 Masson Trikrom Boyamada Histopatolojik Bulgular	35
Şekil 3 İmmünohistokimyasal VEGF Boyamada Histopatolojik Bulgular	36



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Kollajen Tipleri Ve Buldukları Alanlar.....	7
Tablo 2: Büyüme Faktörleri Ve Biyolojik Etkileri.....	15
Tablo 3: Hemotoksilen Eozin Skorlaması.....	26
Tablo 4: Vasküler Endotelyal Growth Factor (Vegf) İmmün Boyası İçin Skorlama	26
Tablo 5: Dördüncü Gün Alınan Biyopsi Sonuçları Dağılımı.....	28
Tablo 6: On beşinci Gün Tamamlandıktan Sonra Alınan Biyopsi Sonuçları Dağılımı.....	31
Tablo 7: Birinci Biyopside Denek Gruplarının Yara Alanlarının Kruskal-Wallis H Test İstatistiği Sonuçları	37
Tablo 8: Birinci Biyopside Denek Gruplarının Yara Alanları Ortalamalarının Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Lsd) Sonuçları	38
Tablo 9: İkinci Biyopside Denek Gruplarının Yara Alanlarının Kruskal-Wallis H Test İstatistiği Sonuçları	38
Tablo 10: İkinci Biyopsi Yara Alanları Ortalamalarının Post Hoc Çoklu Karşılaştırma Sonuçları.....	39
Tablo 11: Denek Gruplarının İki Biyopsi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi.....	40
Tablo 12: Denek Gruplarının İyileşme Günlerine Ait Kruskal-Wallis H Test İstatistiği Sonuçları.....	40
Tablo 13: Deneklerin İyileşme Günlerinin Ortalamalarının Post Hoc Çoklu Karşılaştırma Sonuçları.....	41
Tablo 14: Birinci Biyopside Denek gruplarının TAS, TOS, OSI Değişkenleri İçin Anova Test İstatistiği Sonuçları.....	43
Tablo 15: Birinci Biyopside Denek Gruplarının TAS, TOS, OSI Değişkenleri İçin Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Tamhane) Sonuçları	44
Tablo 16: İkinci Biyopside Denek Gruplarının TAS, TOS, OSI Değişkenleri İçin Anova Test İstatistiği Sonuçları.....	47
Tablo 17: İkinci Biyopside Denek Gruplarının TAS, TOS, OSI Değişkenleri İçin Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Tamhane) Sonuçları.....	47

1. GİRİŞ

Yara iyileşmesi tıbbın ve hekimliğin en eski, en temel ve en önemli konularındandır. Yara, cildin ve cilt altı dokunun normal yapısının, bütünlüğünün ve işlevinin bozulmasıdır (1). Yara iyileşmesi; hücre çoğalması, hücre hareketi, kollajen sentezi, kollajen çapraz bağ oluşumu gibi birbiriyle ilişkili hücresel ve biyokimyasal dinamik olaylar sürecidir (2). Hemostaz sağlandıktan sonra, akut yaralar normalde enflamasyon, proliferasyon maturasyon ve remodelling fazlarını içeren birbirleri ile örtüşen fazlarla karakterize düzenli ve etkili bir şekilde iyileşir (3, 4, 5).

Organizmanın doğal tepkisi yaraları mümkün olduğunca kısa sürede kapatmak ve yapıların normal sürekliliğini geri getirmektir. Bu süreç yara iyileşmesi olarak adlandırılır. Yara iyileşmesi tüm dokularda aynı biyolojik ve biyokimyasal prensipleri takip eder (6). Yara tedavisinde bazı enzimsel, antimikrobiyal, fiziki ve cerrahi temizleme teknikleri kullanılabilir (7). Yara tedavisinde kullanılan çeşitli kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlardan hiçbiri yaygın olarak klinik uygulamaya girmemiştir.

Çok yönlü karmaşık bir mekanizma ile oluşan yaraların tedavisi de kombine bir yaklaşım gerektirir. Rekombinant insan epidermal büyüme faktörü (RH-EGF)'nin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu literatürde belirtilmiştir (8). MBKY'nin ve sıgla yağının yara iyileşmesini hızlandırdığı belirtilmiştir (9, 10, 11). Fakat her iki maddenin RH-EGF'ye kıyasla ne derecede etkin olduğu karşılaştırmalı olarak araştırılmamıştır. Ayrıca literatürde RH-EGF, MBKY ve sıgla yağının oksidatif stres üzerine etkileri ve bunların TAS, TOS, OSI değerleri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu projede, rutin klinik tedavide kullanılan RH-EGF' nin yara iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin, sıgla yağı (Liguidambar orientalis) ve MBKY (Oleum jekoris aselli) 'nın yara iyileşmesi üzerine etkileri arasında herhangi bir farklılık olup olmadığının deneysel modelde birbiriyle kıyaslanarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. YARA İYİLEŞMESİ

Canlılar sürekli çevresiyle etkileşim halindedir. Yaralanma meydana geldiğinde, vücut hızlıca onarım durumuna geçer (12). Yara, organizmada herhangi bir dokunun travma sonucu anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır (13). Yara iyileşmesi ise, vücudun yaralanmaya verdiği onarım tepkisidir. Yara iyileşmesi ölü veya hasarlanmış yapıların onarılması veya yenilenmesidir. Yara iyileşmesi enflamasyon, proliferasyon ve maturasyon bölümlerinden oluşur. Yara; cerrahi kesi, fiziki yaralanma, alev ile yanma, donma, kimyasal madde ile hasar, iskemi, kemoterapötik maddeler vb. sebeplerle oluşabilir (14).

2. 2. YARA İYİLEŞMESİ TİPLERİ

Yara iyileşmesi 3 sınıftan oluşur (14). Bunlar; Primer İyileşme, sekonder İyileşme, tersiyer İyileşmedir (Gecikmiş Primer İyileşme).

Primer iyileşme, yara dudaklarının bâriz doku kaybı ve bakteriyel bulaş olmadan yaklaştırılması sonucu oluşan iyileşmedir (15). Gecikmiş primer kapatma primer iyileşmenin alt tipidir. Bu alt tipte travmaya uğrayan alana steril şartlarda nemli pansuman yapılır. Sütüre edilmeyen alanda anjiogenez ile doku kanlanması ve oksijenizasyonu artar. Yara sahasına migrasyona uğrayan lökositler, enfekte materyali iyileşme sahasından uzaklaştırır. Travma sahası temizlendikten sonra yara dudakları sütüre edilerek kapatılır (16, 17).

Sekonder iyileşme, yara bölgesi herhangi bir yaklaştırma yapılmadan, granülasyon dokusu ile iyileşmesi sonucu onarım ve epitelizasyonun kendiliğinden gelişmesine denir. Bu iyileşmede yara bakım hizmeti daha önemlidir (18).

Tersiyer iyileşme, sekonder iyileşmeye bırakılan cerrahi alanın, toparlanması sağlandıktan sonra sütüre edilerek kapatılmasına tersiyer iyileşme denir. Primer iyileşmede meydana gelen gerilme kuvveti tersiyer iyileşmede de aynı değere ulaşır (18).

2. 3. YARA İYİLEŞMESİ EVRELERİ

Howes, Sooy ve Harvey'in çalışmaları sonucunda yara iyileşmesi üç evreye ayrılmıştır (4). Bunlar inflamatuvar evre, proliferatif evre (fibroblastik evre), maturasyon evresi (remodeling evresi)' dir

2.3.1. İnflamatuar Evre

İnflamatuar evre yaralanmadan sonraki ilk 24-48 saat içini alan kısımdır. Hemostazın sağlanması bu bölüm için başlangıç basamağıdır. Bağışıklık sisteminin hücreleri yara alanına göç ederek akut iltihabi cevabın oluşmasını sağlar. İnflamatuar evrenin en etkin yapıları vasküler yapılardır (19). Kanama ve sonrasında doku travmasına bağlı Hageman faktörünün aktivasyonu ile pıhtılaşma mekanizması başlar. Koagülasyon kaskadı sürecinde trombositler aktiftir. Trombositlerin etkisi ile travma sahasına gelen immün sistem hücreleri nekrotik doku, bakteri ve yabancı maddeleri uzaklaştırırlar (15,18). İnflamatuar evrede tromboksan A2 ve arasıdonik asit metabolitleri sonucunda vazokonstrüksiyon olur. Vazokonstrüksiyon hemostaza yardımcı olur. Erken dönemde olan vazokonstrüksiyondan sonra vazodilatasyon safhası meydana gelir. Mast hücreleri vazodilatasyondan sorumlu hücrelerdir. Bu etkiyi; salgıladıkları histamin serotonin gibi hormonlarla oluştururlar (19). Bu etkiden asıl sorumlu olan histamindir. İnflamasyonun sebebi ise permeabilite artışıdır. İlk 3 gün boyunca vazodilatasyon devam eder. Yaralanan bölgedeki ağrı ve ödem mediyatörlerin etkisiyledir. Aktive olmuş trombositlerden salınan prostoglandinlerden, kinin ve kompleman sisteminin elemanları inflamatuar hücre göçünü sağlar (20).

Vasküler permeabilite artışı olmasıyla immün sistem hücreleri travma sahasına geçerler. Nötrofillerin yaralanma sahasına gelmeleri birkaç saat sürer. Nötrofiller travma sahasına gelen ilk bağışıklık sistemi hücresi olup travmanın olduğu ilk 6 saatte yarada görülürler (19, 20). Nötrofil sayısının en azami sayıya ulaştığı süre 1-2 gündür. Cerrahi alan ya da travma bölgesinde enfeksiyon yoksa 48-72 saat sonra sayıları azalır (19). Nötrofillerin asıl görevi fagositoz, enfeksiyona karşı kalkan vazifesi görülmesi ve nekrotik materyalin ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Doku oksijenizasyonunun iyi olması nötrofillerin bakterisidal fonksiyonlarının etkinliğini artırır (19). Bu aktivite sonucu olarak ortamda serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Travma sahasında yabancı cisim ve enfeksiyon olmaması halinde nötrofil sayısı zamanla azalır. Hidrolitik enzimleri hücre dışına yayılır. Ortamda mikroorganizma ve yabancı cisim varsa enflamasyon süresi uzar ve nötrofil sayısının azalma süresi uzar. Eğer ortamda bakteri ve yabancı cisimler varsa inflamatuar süreç devam edecektir (20). Enflamasyonun erken dönemlerinde polimorfonükleer lökositlerin sayısı mononükleer lökositlerin sayısından fazladır. Ancak yara iyileşmesi devam ettikçe bu oran tersine dönerek mononükleer lökositlerin lehine sonuçlanır.

Lenfositlerin yarada baskın hale gelip sayı olarak en üst noktaya çıkmaları yaralanmanın yaklaşık 6. gününe tekabül eder. Lenfokinler lenfositlerden salınmakta olup fibroblastların travma sahasına göçünü hızlandırır (20). Lenfokinler ayrıca endotel hücrelerine etkilidir. Yaraya göç eden lenfositler iki gruba ayrılır. T hücreleri, yara iyileşmesi ve yara gerim kuvveti için önemli hücrelerdir (21). T hücrelerinin sayısı azaldığında ya da işlev bozukluğunda iyileşme dokusunun mukavemeti de azalmış olur. Makrofajlar, nötrofil ve lenfositlerden sonra yara bölgesine göç eder. Makrofajların yara iyileşmesindeki görevi, fibroblastik proliferasyonu, fibroblastların şekil değiştirmesini, angiogenezi ve kollajen sentezini uyarmaktır (19-21). Günümüzde makrofajların sadece fagositozdan sorumlu olmadığı bilinmektedir. Makrofajlar yara iyileşmesinde kilit rol oynarlar. İnflamasyon sürecinde makrofajlar yönetici konumundadır. Yara oluşumunun 1-2. haftasında eozinofillerin sayısında hatırı sayılır artış olduğu gösterilmiştir. Yine kollajen oluşumunun en fazla olduğu dönem bu zaman aralığıdır. Bu sayede eozinofillerin kollajen oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (20, 21). Makrofajlar dolaşımdaki monositler veya dokudaki mononükleer fagositik hücrelerdir. Makrofajlar yaralanmanın ilk safhalarında aktifleşerek ortama nitrik oksit salarlar. Ortamın oksijen düzeyinin düşmesi nitrik oksit salınımını artırır. Nitrik oksit sentezini artıran başlıca hücreler; endotel hücreleri, fibroblastlar, monositler ve lenfositlerdir. Nitrik oksitin yara iyileşmesini geciktirdiği literatürde gösterilmiştir (22). İnflamasyonun baskılanması; doğal olarak yara iyileşmesinin ötelenmesine ve yaranın geç kapanmasına ya da kapanamamasına sebep olur. Steroidler; yara alanına hücre göçünü, yaralanan bölgede yeni damar oluşumunu ve damar proliferasyonunu engeller. Bunun sonucunda enflamasyon süreci uzar ya da baskılanır. Sonuç olarak yara iyileşmesi bozulur (23). Fibronektin granülasyon fazının en etkili unsurlarındandır. Yaralanmadan itibaren ilk 1-2. gün travma bölgesinde yüksek düzeyde olurlar. Fibronektin; fibroblast, trombosit ve endotel gibi farklı hücrelerden salınabilir (4). Fibronektin; Fibrin, heparin, kollajen, proteoglikanların arasındaki bağlantıyı oluşturur. Ayrıca nötrofil, monosit, fibroblast ve endotel hücrelerinin yara yerine göçüne yardımcı olur. Travma sahasındaki debrisin uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Makrofajlar ve fibroblastların bakterilere karşı opsonize edilmesine yardımcı olur. Matriksin oluşmasında ve şekillenmesinde rol oynar. Bu işlevi sayesinde remodelling safhasında da etkindir. Howen ve arkadaşları, yara iyileşmesinin 1. ve 5. günleri arasında yaranın gerilmeye karşı olan direncinde artış olabildiğini kanıtlamışlardır. Bu ispatla, yara iyileşmesinin bu fazına yaranın gerilme fazı adını vermişlerdir (18). Bu dönemde yaradaki nekrotik materyal yara alanından uzaklaştırılır. Fibroblastlar ve damar endotel hücreleri migre olur. Bu fazın diğer

adı da substrat fazıdır. Bu dönemde yara bölgesinin onarılması için aktif hazırlık yapılmaktadır (19). Enflamasyonun erken döneminde, yara oluşumunun 1. gününde fibroblastların görünür hale geldiğini öne sürmüştür. Travmanın 3. ve 5.gününde azami düzeye çıktığını öne sürülmüştür. Aynı çalışmada fibroblastların mukopolisakkarit yapınının, kollajen üretiminin ve daha sonra olgunlaşma evresinde kollajen liflerinin maturasyonu için elzem olduğunu ortaya koyulmuştur. Glikoproteinlerin, mukopolisakkaritlerin ve yara bölgesinde oluşan diğer unsurların; yara gerilim direncinin meydana gelmesinde substrat fazında etkili olduğu kanaatine varılmıştır. (19,20,21).

2.3.2. Proliferatif Evre (Fibroblastik Evre)

Travmadan sonraki 48 ile 72 saat içinde başlayıp yaklaşık 21. güne kadar devam edip sonlanır (15). Bu evrenin sorumlu hücreleri fibroblast ve endotel hücreleridir. İlk 3 günde TGF- α salınır. Makrofajların yaptığı bu salgılama fonksiyonu ile fibroblastlar travma bölgesine gelirler. Makrofajlardan büyüme faktörleri ve sitokinler salınarak yeni damar oluşumu uyarılır (15, 21). Bütün bu işlemler sonucunda proliferatif evre başlamış olur. Proliferatif evre iki aşamada incelenir: Bunlar fibroblast proliferasyonu ve anjiogenezistir.

2.3.2.1. FibroblastProliferasyonu:

Fibroblastlar, TGF- α 'nın stimülasyonu sonucu travma bölgesine göç etmeye başlarlar. TGF-a makrofajlardan salınır. Fibroblastlar yara etrafındaki bağ dokusundan köken alır. Yaralanmadan 7 gün sonra yara alanındaki sayıları yüksek seviyelerde olur (24). Oksijen seviyesindeki düşüklük fibroblastların yara yerine göç etmesini engeller. Yara iyileşmesi için gerekli olan glikozaminoglikanlar ve kollajen fibroblastlar tarafından üretilir.

2.3.2.1.1 Glikozaminoglikanlar (GAG):

Hyaluronik asit glikozaminoglikanların öncülü olup en önce üretilen GAG'dır. GAG' lar disakkarit yapısındadır. Hyaluronik asitten sonra kondroidin-4-sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat sentezlenir. Fibroblastların da içinde bulunduğu mezenkimal hücrelerden jelatinöz karakterli temel yapı oluşturulur. Travma sahasında meydana gelen bu yeni oluşum kollajen liflerinin oluşmasını sağlar. Böylece yaranın organizasyonunda

temel yapı taşı vazifesini görür. Bu yapı sayesinde kollajen liflerinin düzenlenmesi sağlanır.

2.3.2.1.2. Kollajen sentezi:

Kollajen canlılarda bulunan yapısal proteinlerdendir. İnsandaki protein miktarının %30' unu oluşturur. Kuru deri kütlelerinin %75' ini oluşturur. Ekstrasellüler matriksin (ECM) temel protein yapısıdır (26). Boyu 300 nm, eni 15 nm ve ağırlığı yaklaşık 300 kilodaltondur. İnsanda yirmiden fazla kollajen türü bulunur. Bağ dokusunun ana molekülü kollajendir. Kollajen yapımı, ekstrasellüler matriksin anjiogenezis ve doku şekillenmesi için uygun hale gelmesini sağlayan temel basamaktır (27, 28, 29, 30). Kollajen üretimi fibroblastların endoplazmik retikulumunda başlar. Hücre içinde sentezlenip prolin ve lizinle hidroksile edilerek prokollajen olarak salgılanır. Hidroksilasyon için oksijen, C vitamini, demir ve ketogluterat gereklidir. Prokollajen polimerizasyona uğrar böylece tropokollajen oluşur (15). Tropokollajen yapılarının amino ve karboksi bölümlerine peptit dizileri eklenerek kollajen lifleri oluşur. Kollajen üretim hızı pek çok faktörden etkilenir ancak en sık dolaşımın yeterliliği ve dokunun oksijen basıncından etkilenir (25,26). Kollajen liflere sahip olan interstisyel matriks, fibroblastlar ve mezenkimal hücrelerden yapılıdır. Proteoglikanlar interstisyel matriksin ürünü olup nedbe dokusunun yarısını oluşturur. Nedbe dokusunun diğer yarısını kollajen oluşturur. Kollajenle birlikte yapılan bu maddelerin üretimi travmadan sonraki 14. günde en üst düzeye çıkar. Kollajen üretimi 7 - 14 günler arasında hızlanır. Ondördüncü ve 21. günler arasında ise en yüksek seviyededir. Yirmi birinci günden sonra yıkım ve sentez dengelidir. Bir aydan sonra sentez azalır. Normal deride %80 Tip I kollajen, %20 Tip III kollajen bulunur. Yara iyileşme sürecinde biriken kollajen tipleri farklılıklar göstermektedir. Yaralanmadan sonraki; ilk saatlerde Tip IV-V kollajen baskındır, 24. saatte Tip III kollajen, 60. saatte Tip I kollajen baskın olmak üzere, Tip III-IV kollajen birikimi olur (19). Kollajen tipleri ve bulunduğu dokular Tablo 1 'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tablo 1: Kollajen tipleri ve buldukları alanlar		
Sınıfı	Tipi	Bulduğu alanlar
Fibrilerkollajen	1	Kemik, tendon, deri, ligamentler, kornea
	2	Kıkırdak, gözün vitröz sıvısı
	3	Deri, kan damarları
	5	Kemik, dermis tip 1 kollajenle bağlı olarak
	11	Kıkırdak, intervertebral disk, tip 2 ile bağlantılı olarak
	24	Kemik, kornea
	27	Kıkırdak
Fibrik ilişkili kesintili üçlü heliksler (FACIT)	7	Mesane, dermis
	9	Kıkırdak, kornea
	12	Tendon, dermis
	14	Kemik dermis kıkırdak
	16	Böbrek ve dermis
	19	Bazal membran
	20	Civciv korneası
	21	Böbrek, mide
	22	Doku bağlantıları
	26	Over, testis
Ağ yapısındaki kollajenler	4	Bazal membran
	6	Kas, dermis, kornea, kıkırdak
	8	Beyin, deri, böbrek, kalp
	10	Kıkırdak
	28	Dermis, siyatik sinir

Tablo 1 devamı: Kollajen tipleri ve buldukları alanlar		
Kesintili üçlü sarmal yapısı olan membran ilişkili kollajenler (MACIT)	13	Dermis, göz, endotelyal hücreler
	17	Epitelhemidesmozomları
	23	Kalp, retina
	25	Kalp, testis, beyin
Çoklu kesintili üçlü sarmal yapısında olan kollajenler (MULTIPLEXINs)	15	Kapiller damarlar, testis, böbrek, kalp
	18	Karaciğer, bazal membran

2.3.2.2. Anjiogenezis

Anjiogenezis yaralanmayı takiben 4. günde gerçekleşmeye başlar. Anjiogeneziste de makrofajlar sorumlu hücrelerdir. Makrofajlardan salınan VEGF gibi faktörler sayesinde endotel ve mezotel hücreleri travma sahasına göç ederek vaskülarizasyonu sağlar (31). Endotel hücrelerinin göç etmesi, tomurcuklanması, birbirleriyle bağ kurmasıyla vaskülarizasyon olur. Bu sayede yeni kılcak ağ meydana gelmiş olur. Yaranın metabolik ihtiyaçlarına bağlı olarak, yeni kılcallarda şekil değişimi ve gerileme olur. Bu değişim ve gerileme sonucunda nedbe dokusunun kızarıklığının gerilemesi ve solması meydana gelir (21).

2.3.3. Maturasyon Evresi (Remodeling Evresi)

Travma sonrası 7. gün ile 21. gün arasında başlar. Yaklaşık 1 yıl kadar devam eder. Yaralanmanın ilk yedi gününde üretilen kollajen, olgunlaşma evresinde yerini çok daha sağlam ağ şeklindeki kollajene bırakır. Lifler arasındaki bağ sayısı artırarak sağlamlık ve mukavemet artar. İyileşmenin ilk safhalarında düzensiz dizilmiş olan kollajen lifleri, tedricen meydana gelen mekanik etkilerle zamanla organize olur (31). Olgunlaşma evresinde kollajen yapımı ve yıkımı denge halindedir. Bu yüzden kollajen miktarında artış olmaz. Kollajen lifleri, yaradaki gerilmeler boyunca dizilime uğrar ve yarada daha fazla gerilme kuvveti meydana getirir. Yara direnci; kollajen miktarından ziyade kollajenlerin dizilimleri ile daha alakalıdır. Kollajenler kollajenaz enzimi ile yıkılır. Bu enzim çinko içerir. Metalloproteinaz olan bu enzim kollajenin alfa heliks zincirlerinin birbirleri ile olan

bağını kopararak yıkımı yapar. Kollajenaz Tip I, II, III kollajeni yıkan major enzimdir (12, 15, 21). Olgunlaşma evresinde üretilen yeni kollajen lifleri birbirleriyle çapraz bağlar oluşturarak kalıcı kollajen liflerini oluştururlar. Bu evrede yapılan bağlar yara gerilim kuvvetini ve yara organizasyonunu sağlar. Etrafındaki kollajen lifleri ile de bağ oluşturarak üçlü helikal yapı kazanır. Bu evrede yara iyileşmesinde etkin rolü olan; hücreler arası matriks üyelerinden GAG 'ların ve proteoglikanların miktarı normal derideki düzeylerine geriler. Dokudaki ödem azalır (19). Anjiogenezis, fibroblast proliferasyonu geriler. İnflamatuar hücre sayısı azalır.

2.4. EPİTELİZASYON

Epitel mikroorganizmalardan ve fiziksel etmenlerden vücudu koruyan tabakadır. Ayrıca dış ortamla alışverişi de sağlar (31).Epitel patojen bakteriler, iyonize radyasyon ve toksik maddelere karşı bariyer vazifesi göremez. Epitelizasyon yaralanmadan birkaç saat sonra başlar ve enfekte olmayan sütüre bir yarada 12 ila 24 saat sonra tamamlanır. Yirmidört saat sonra sıvı geçirmez hale gelir (32).

Epitelizasyon hücrelerin yara alanına göçüyle başlar. Hücreler çoğalır. Yara alanında yeterli hücre sayısına ulaşıldığında farklılaşma ile normal epitel dokusu oluşur. Yara kenarındaki epitel hücreleri bazal memrandan ve komşu hücrelerden düzleşip genişleyerek ayrılır. Böylece migrasyon başlamış olur. Hücreler yassılaştıkça komşu epitelden ayrılmaya çalışır (8). Hücrelerin migrasyonu bir başka hücreye temas ettiğinde durur. Epitel dokusu oluştuktan sonra keratinosit hücreleri meydana gelir. Böylece yüzeydeki keratin tabakası oluşturulmuş olur (33).

2.5. YARA KONTRAKSİYONU

Yara kontraksiyonu; yaranın kapatılması için elzem bir durumdur. Bu süreçte yara kademeli olarak çevre dokular tarafından kapatılır (34). Yara kontraksiyonundan myofibroblastlar sorumludur. Bu hücreler yara hattı boyunca fibriler yapılarını gerek yaranın orta hattını kapatmayı hedefler. Histamin, serotonin ve prostoglandinle kontraksiyon artar. Histaminin düzeyinin artması, doku kan akımını, anjiogenez ve fibroplaziyi artırarak yara kontraksiyonunu ve iyileşmeyi artırır (47). Kontraksiyon yara iyileşmesinde olağan ve gerekli bir süreçtir (35). Kontraksiyonun aşırı olması sonucu kontraktür oluşur. Düz kas inhibitörleri ile kontraksiyon azaltılabilir(36).

2.6. YARA DİRENCİ

Yara direncinden sorumlu olan yapı kollajendir. Bu görev travmanın erken dönemlerinde fibrine aittir. İlk 24 saatte yarada gerilimden sorumlu olan yapı epitel tabakası ve fibrin pıhtıdır (21,37). Yara direncinin anlaşılmasında iki önemli birim ifade edilmiştir. Bunlar; açılma direnci ve gerilim direncidir.

Açılma direnci yara kenarlarının ayrılmasına neden olan güç miktarının tasviri için kullanılır. Gerilim direnci ise yara bölgesine uygulanan kuvvete karşı yaranın gösterdiği mukavemetin tasviri için kullanılır. Ölçeklendirme değeri milimetrekaareye düşen kilogram olarak (kg/mm²) değerlendirilebilir (37). Yaranın ilk üç gününden bir aya kadar olan süre zarfında bu gerilim kuvveti kollajenin sentezinin artmasıyla artar (24). Travma bölgesinin direnci bölgesinin direnci hiçbir zaman sağlam derinin kuvvetine ulaşamaz. Bu oran en fazla %80' e ulaşabilir.

2.7. SKAR DOKUSU

Skar dokusu iki alt başlıkta incelenir. Bunlar fizyolojik skar ve patolojik skardır. Fizyolojik skar normal şekilde iyileştikten sonra oluşan skardır. Patolojik skar ise hipertrofik skar ve keloid olarak ikiye ayrılır.

Yara kenarından taşmayan fazla miktarda deri kollajeni içeren hipertrofik skardır. Genetik temeli yoktur. Yaralanmadan sonraki ilk ayda görülür. Cerrahi eksizyon iyi sonuç verebilir.

Keloid yaralanmadan birkaç ay sonra görülür. Yaranın etrafına taşar ve yaranın mevcut alanından daha geniş alan kaplar. Tek başına cerrahi yeterli olmayabilir. Cerrahi sonrası steroid eksizyonu ve radyoterapi fayda verebilir (17).

2.8. YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Yara iyileşmesi pek çok şeyden etkilenmektedir. Bunların başlıcaları aşağıda belirtilmiştir.

2.8.1. Yaş

Yaşlandıkça yara iyileşmesi yavaşlar. Ayrıca yaranın mukavemetinde de azalma meydana gelir. Epitelizasyonda ve fibroblast proliferasyonunda azalma gözlenir (38).

2.8.2. Beslenme

Beslenme yara iyileşmesi için çok elzemdir. Malnütrisyon yara iyileşmesini bozar. Özellikle esansiyel aminoasitler enflamasyonun sağlanması ve fibroblastların proliferasyonu için gereklidir. Serum protein düzeyi 2 gramın altında olan kişilerde inflamatuvar evre uzamış ve fibroplazi azalmıştır (12). Glukoz mononükleer fagositik hücreler için elzemdir. Lipitler ise hücre sentezi için önemiyet arzeder (18). Yara iyileşmesinde mineraller de kullanıldığından yara iyileşmesi için gereklidirler. Demir eksikliğinde, hidroksiprolin sentezlenmesi bozulur iyileşme gecikir. Manganez, kollajen metabolizmasında galaktozil transferaz ve glukozil tranferaz reaksiyonlarında kofaktördür (39). Mineral eksikliğinde hem iyileşmenin süresi uzar hem de iyileşme kalitesi düşer.

Vitamin A yara iyileşmesinde, fibroblast proliferasyonunda, kollajen çapraz bağlarının yapılmasında, epitel oluşumunda kritik rol alır. Günlük oral 25000 IU, yara alanına uygulanacaksa 200000 IU şeklinde kullanımı tavsiye edilmiştir. İmmünsüpre hastalarda yara iyileşmesinde meydana gelen negatif etkilerin düzeltilmesinde etkilidir. Eksikliğinde yara iyileşmesi bozulur (18).

Askorbik asit kollajen sentezi için kofaktördür. Fibroblast proliferasyonu, ekstraselüler matriks oluşumu ve olgunlaşması, kapiller formasyonun meydana gelmesi, granülasyon dokusunun oluşması gibi pek çok görevi vardır

E vitamini membranların sağlamlaştırılmasında görevlidir. En bilinen özelliği antioksidan etkisidir. Radyasyon yaralarında olumlu sonuçları vardır. Yara yeri açılma direncini artırır. Yüksek dozlarda kullanıldığında kollajen oluşumunu etkilediği için gerim kuvvetini azaltabilir (17).

Çinko; protein sentezinde görevli olan DNA-RNA polimeraz enzim sisteminin, kollajenaz ve metalloproteinazların kofaktörüdür. Serum çinko düzeyi 100 mg/dl 'den düşük olduğu durumlarda yara iyileşmesinin bozulduğu kanıtlanmıştır (13).

Bakır kollajen fibrillerinin kovalent çapraz bağlarının oluşumunda aktif görev alır. Bakır eksikliğine bağlı yara iyileşme kusuruna sık rastlanmaz (20). Çünkü bakır eksikliği nadir görülür.

2.8.3. İmmüsupresyon -Radyoterapi

Kemoterapötik ajanlar hem enfeksiyona yatkınlık oluşturması hem de yaraya göç eden mononükleer fagositik hücre sayısını azalttıklarından dolayı yara iyileşmesini uzatır.

Ayrıca iyileşen yaranın sağlamlığını da olumsuz etkiler. Bu etki kemoterapötik ajanın kullanımından 14-21 gün sonra ortadan kalkar (39). Radyoterapi granülasyon dokusunun meydana geldiği aşamada, hem kapiller hem de fibroblastik proliferasyonda azalma meydana getirir (46). Böylece yara iyileşmesini geciktirir. Ameliyat sonrası radyoterapi için en uygun zaman ameliyatı takiben 3. haftadır. Steroid ajanlar hem immünsüpresif etkileri hem de antiinflamatuvar etkileri sebebiyle yara iyileşmesini bozarlar. Yara iyileşmesinin neredeyse her evresini etkilerler. Epitelizasyonu ve anjiogenezisi yavaşlatırlar (31). Yara gerilim direncini azaltır, yara kontraksiyonunu olumsuz etkilerler. Uzun süreli steroid kullanan hastaların cildi incelmış, cildin kollajen miktarı azalmıştır.

2.8.4 Diğerleri:

2.8.4.1 Hipoksi

Oksijen yara iyileşmesi için gereklidir. İyileşen dokular normal dokudan daha fazla oksijen ihtiyacı duyar. Oksijen, yara iyileşmesinin tüm evreleri için gereklidir. Yaralanan sahadaki epitelizasyon hızının korunması için oksijenizasyon önemlidir (41). Travmanın olduğu bölgede kılcal damarlar da hasar gördüğünden yara sahası normal dokuya göre rölatif olarak daha hipoksiktir. İyileşen dokunun parsiyel oksijen basıncı 30-50 mmHg civarındadır (42). Düşük oksijen seviyelerinde kollajen sentezi aksadığı için daha zayıf skar dokusu meydana gelir. Bu delillerin ışığında hiperbarik oksijen yaranın oksijenizasyonunu artırdığı kanıtlanmıştır (43).

2.8.4.2. Fiziksel etmenler

Yara ortamının nemi, sıcaklığı yara iyileşmesini etkiler. Yara iyileşmesinde optimum sıcaklık 30°C derecedir. Sıcaklık ayrıca yara gerilim direncini de azaltır. On iki santigrad derecede yara gerilim direnci de azalır (16).

Mekanik stres yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Mekanik stres yokluğunda yara iyileşmesi bozulur. Yüksek düzeyde mekanik stres yara iyileşmesini olumsuz etkiler (15).

2.8.4.3. Sigara Kullanımı

Nikotin sempatik sinir sistemini aktifleştirerek kılcal damar ağında vazokontrüksiyona sebep olduğu için yara iyileşmesini bozar (40). Sigara kan oksijen basıncını düşürdüğü için rölatif hipoksi meydana getirir. Parsiyel arteriyel oksijen basıncı düşer. Sigaradaki karbonmonoksit sebebiyle karboksihemoglobin oluşur ve oksijen-hemoglobin dissiasyon eğrisi sola kayar. Böylece oksijenin hemoglobine bağlanması

zorlaşır. Hemogloblin yara bölgesine yeterince oksijen taşıyamaz. Böylece yara iyileşmesi bozulur.

2.8.4.4. İnterlökin-1, İnterlökin-2 (İL-1, İL-2)

İnterlökin-1 ve interlökin 2 sırasıyla makrofajdan ve yardımcı T hücrelerden salgılanır. İL-2, İL 1 düzeyini artırır. Her ikisi de fibroblast proliferasyonunu dolayısıyla kollajen sentezini artırır (20, 21).

2.8.4.5 Elektiriksel Değişiklikler

Yara çevresi elektrik potansiyele sahiptir. Yaralanmadan sonraki 1. günde yara alanındaki elektiriksel potansiyel pozitifdir. Ciltte defekt oluştuktan 4 gün sonra yara yüzey potansiyeli negatif olur, bu negatiflik iyileşme tamamlanana kadar devam eder (43). Elektiriksel yükün fibroblast göçünü, fibroblast proliferasyonunu, makrofaj hareketlerini ve fonksiyonlarını stimüle ettiği saptanmıştır.

2.8.4.6. Oksijen Kaynaklı Serbest Radikaller

Enflamasyon, iskemi, radyasyon ve kimyasal ajanlar serbest oksijen radikalleri oluşumuna neden olurlar. Bu radikaller hücreye zararlıdır. Bu nedenle yara iyileşmesini bozarlar (44). Yaşlanma, hiper oksijenizasyon sendromu, iskemi reperfüzyon hasarı, kimyasal yanıklar, vitamin A ve vitamin E eksikliklerinde görülür.

2.8.4.7. Enfeksiyon

Bir yarada enfeksiyonun varlığından bahsedebilmek için yaradaki bakteri miktarı her gram dokuda 100.000 'nin üzerinde olmalıdır. Beta-hemolitik streptokoklar daha az sayıyla bile enfeksiyon yapabilir. Enfeksiyon, yara iyileşmesini negatif yönde etkiler. Oksijenizasyonu bozar. İnflamatuvar evreyi uzatır kollajen oluşumunu baskılar (38). Bakteri metabolit ve toksinleri epitelyum oluşumunu etkiler. Enfekte yaralarda granülasyon dokusu daha ödemli, kanamalı ve kırılığandır. Enfekte yaralarda kollajen yıkımı artar yara kontraksiyonu azalır (45).

2.8.4.8 Herediter Hastalıklar

Pek çok genetik hastalık yara iyileşmesini etkiler. Bu hastalıklar, Ehler-danlos sendromu (cutis hiperelastica), progeria, werner sendromu, elastoderma, epidermolizis büllozadır (46,49).

2.9. BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE YARA İYİLEŞMESİNİN DÜZENLENMESİ

Büyüme faktörleri sitokindirler. Görevleri hücrelerin birbirleri ile haberleşmesini sağlamak ve hücreler arası sinyal iletimini düzenlemektir. Büyüme faktörleri protein

yapsındadırlar. Büyüme faktörleri yara iyileşmesinin tüm aşamalarında aktif rol alır. Protein sentezi, proliferasyon ve farklılaşma gibi birçok fonksiyonların düzenlenmesinde kilit rol alırlar. Çevrede bulunan immün hücreleri travma sahasına çekebilme özellikleri vardır. Bağ dokusunu destekleyip geliştirerek yara bölgesinin oksijenizasyonu ve kanlanmasını kolaylaştırırlar. Bunun için neovaskülarizasyonu aktifleştirirler. Böylece olgunlaşma evresine katkıda bulunurlar (59, 60, 61). Bu sitokinler yara alanında çeşitli hücrelerden salgılanıp; uygun hedef hücreler üstünde özel görevleri üstlenirler (62,63). Büyüme faktörleri etkilerini 3 farklı yolla gerçekleştirirler. Bu yollar:

- 1) Otokrin etki: Büyüme faktörlerinin köken aldığı hücre veya fenotipik olarak benzer olduğu hücreler üzerinde gösterdiği etkidir.
- 2) Parakrin etki: Büyüme faktörlerinin fenotipik olarak farklı olan ancak yakınındaki hücrelere yapmış olduğu etkidir.
- 3) Endokrin etki: Büyüme faktörlerinin köken olarak farklı fenotipteki ve daha uzak alandaki hücreler üstünde gösterdiği etkidir. Bu sayede büyüme faktörleri pek çok farklı hücre tipi üzerine etki edebilir ve hücre fonksiyonları indükleyebilir (62,63). Plateletler, yaralanma sonrasında sentezlenen PDGF, TGF, IGF, VEGF ve FGF gibi büyüme faktörlerinin birçoğunu içerir. Bu faktörlerin klinik önemi rekombinant DNA teknolojisiyle sentezlenen polipeptit yapıdaki büyüme faktörlerinin yumuşak doku iyileşmesini büyük ölçüde hızlandırmasıdır (61,62). Büyüme faktörleri ve biyolojik etkileri tablo 2 de gösterilmiştir.

2.9.1. Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF):

Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) makrofajlardan, monositlerden, endotel hücrelerinden, plateletlerin alfa granüllerinden ve düz kas hücrelerinden yaralanma sonrası salgılanır. PDGF bağ doku oluşumunda etkilidir (56, 57, 62). PDGF yara iyileşmesinin başlatılması ve sürdürülmesinde çok etkili bir büyüme faktörüdür. PDGF; PMNL'leri, makrofajları ve fibroblastları travma alanına çeker ve mitotik aktivitelerini güçlü şekilde artırır. PDGF GAG ve glikoproteinlerin sentezini artırarak nonkollajen ekstraselüler matriksin oluşumunu hızlandırır (57). PDGF kollajenaz miktarını da artırır. Bu göreviyle remodellingde görevli olduğu aşıkârdır. PDGF' nin ana işlevi iyileşme yeteneği olan kök hücrelerin ve mitoz öncesi kısmen farklılaşmış öncü hücrelerin çoğalmasını uyarmaktır. PDGF endotel hücrelerinin sayısını artırarak yeni damar oluşumunu artırır (57,63).

2.9.2. Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- B)

Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) doku hasarı sonrası trombosit, T-lenfosit, makrofaj ve PMNL'den salgılanır. Endotel hücre proliferasyonu, fibroblast hücre bölünmesini artırma, yara iyileşmesinin ilerleyen safhasında fibroblast sayısını azaltma, kollajen sentezini ve maturasyonunu düzenleme, diğer büyüme faktörlerinin yaptığı mitotik aktivite artışını düzenleme, endotel hücrelerinin göçünü ve anjiogenezini artırma gibi görevleri vardır (62,63).

Büyüme Faktörü	Salgılanan yer	Etki
VEGF:	Endotel, fibroblast, düz kas, platelet, nötrofil, makrofaj	Anjiogenez, migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi
IGF	Fibroblast, granülosit, hepatosit, epitel, mezenkimal hücreler	Migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi, anjiogenez
EGF	Platelet, makrofaj, fibroblast, granülosit, epitel	Migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi, anjiogenez
HB-EGF	Makrofaj, fibroblast, keratinosit, epitel, endotel, düz kas, T lenfosit	Migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi, anjiogenez
TGF-beta	Tüm hücreler	Migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi, anjiogenez
FGF	Keratinosit, fibroblast, endotel, düz kas, mast hücreleri	Migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi ve yıkımı, remodeling, anjiogenez
KGF	Fibroblast, mezenkimal hücreler	Proliferasyon, müsin üretimi
PDGF	Platelet, makrofaj, endotel, fibroblast	Migrasyon, proliferasyon, ECM sentezi, anjiogenez

TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 olarak 3 farklı formda bulunur. TGF- β 1 kemik ve trombositlerde yüksek miktarlarda bulunur. TGF- β trombositler veya makrofajlar tarafından ortama verildiğinde, fibroblastlar, kemik kök hücreleri, endotel hücrelerini uyarırlar. TGF- β , anjiogenezini ve bağ dokuda fibronektin, GAG ve kollajen üretimini stimüle eder (57, 62).

TGF- β 'nın en önemli görevlerinden birisi hücrelerin yara alanına çekilmesidir. Bu sayı artışı mitoz ile olur. TGF- β 'nın bu lokal konnektif doku yanıtı fibrozis ve anjiogenezise yol açar (64). TGF- β 'nın antiproliferatif etkisinin ana mekanizması EGF ve PDGF gibi diğer polipeptit büyüme faktörlerinin mitozu aktive edici etkilerinin antagonize edilmesidir.

2.9.3. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF):

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) platelet, makrofaj ve fibroblastlar tarafından salgılanır. Ayrıca mekanik olarak hasarlı endotel hücrelerinden de salgılanabilir. FGF neovaskülarizasyonu ve damar permeabilitesini artırır. FGF endotel hücrelerinin mitozunu artırır (66,67). FGF ailesinde 19'dan fazla farklı üye mevcuttur. Ancak bunların sadece 2 tanesi elde edilebilmiştir. Bunlar: FGF-1 ve FGF-2'dir. Her iki FGF fibroblast, keratinosit, düz kas hücreleri, endotel hücreleri, merkezi sinir sistemi ve santral sinir sistemindeki farklı hücre tiplerini içeren mezoderm, endoderm ve ektodermal orjinli çok çeşitli hücre grubunun çoğalmasını uyarır (68). Bunlara ilave olarak FGF-1 ve FGF-2 travma sonrası endotel hücrelerinin hem migrasyonunu hem de proliferasyonunu stimüle eder. Bu faktörler kollajenaz ve plasminojen aktivatörü üretimini artırır. Bu da hücreler arası matriksin yıkımına sebep olur. FGF-1 ve FGF-2 fibroblastların güçlü uyarıcısıdır (23).

2.9.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Trombosit, makrofaj, endotel, fibroblast ve keratinositlerden üretilir. VEGF ailesinin VEGF-A,B,C,D,E şeklinde 5 alt tipi mevcuttur. Çalışmalarda VEGF-A'nın anjiogenez ve neovaskülarizasyonun major düzenleyicisi olduğu tespit edilmiştir (69). Yaranın hipoksisi VEGF salınımını artırır. VEGF'nin bir diğer yararı ise damar yatağını geliştirerek yara iyileşmesinde görevli hücrelerin yaranın alanına ulaşmalarını sağlamaktır (57,62).

2.9.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

IGF karaciğer tarafından büyüme hormonuna bağlı üretilen peptit bir hormondur. Platelet, makrofaj, monosit ve kondrositlerden salgılanır. IGF-1 ve IGF-2 olarak adlandırılan iki formu vardır. Her ikisinin peptit zincirleri yapısal olarak insüline benzer. IGF'nin in vivo ve in vitro olarak doku büyümesi ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesine katkı sağladığı gösterilmiştir. IGF-1'in sistemik anabolik görevi de vardır.

IGF-1'in sentez yeri barsaklardır. Ayrıca barsaklar en duyarlı hedef dokularından birisidir. IGF otokrin yolla insülin faktörü olarak görev yapar. PDGF ile beraber yara iyileşmesinin hızını ve kalitesini artırır (70). IGF-1 hem normal fizyolojinin düzenlenmesinde hem de kanser gibi birçok patolojik durumda önemlidir. IGF hücre çoğalmasının başlatılması ve hücre ölümünün inhibe edilmesinde önemli rol oynamaktadır. IGF-2'nin erken büyüme için ihtiyaç duyulan başlıca büyüme faktörü olduğu düşünülmektedir. IGF-1'in ise azami büyümenin elde edilmesi için gerekli olduğu kabul edilmektedir (62,63).

2.10. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Epidermal büyüme faktörü Ağırlığı 6 kDa olan polipeptid yapıda bir büyüme faktörüdür. EGF, grup1 EGF ailesinin prototipidir. Bu ailenin diğer üyeleri betaselülin, epiregulin, epigen, Transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF- α), heparin bağımlı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF)' dir (64). EGF'nin birçok organda reseptörleri bulunmaktadır (örn: Akciğer, mide, duodenum, pankreas, böbrek, meme... vb) (51-53). EGF hakkındaki bilgilerin çoğu mutant fareler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir. EGF reseptör eksikliği olan farelerde bağırsak epitelinde defekt, deride defektler, akciğer ve çoklu organ yetmezliğinin geliştiği görülmüştür. Doğum sonrası bu farelerin yaklaşık 30 gün içinde öldüğü bildirilmiştir (54). EGF fibroblast, düz kas hücreleri, epitel tabakası ve endotelde DNA sentezi uyarılmasıyla organizma gelişiminde görev alır (69).

EGF trombosit, makrofaj ve monositlerden salgılanır. EGF endotel göçünü ve neovaskülarizasyonu artırır. Kollajen yapımını düzenler, epitelyal ve mezenkimal mitozu artırır. Bu büyüme faktörü birçok vücut sıvısında ve dokusunda bulunur. Sürekli olarak submandibuler bezlerden, mide mukus boyun hücrelerinden ve duodenumun Brunner bezlerinden, ince barsak panet hücrelerinden üretilebilir (71,72). EGF hücre farklılaşmasından da sorumludur. Reepitelizasyonu, anjiogenezisi ve kollajen aktivitesini artırır. Yara iyileşmesinde EGF, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve mobilizasyonunu indükler. EGF reepitelizasyon esnasında oldukça fazla şekilde yara kenarlarında üretilir ve MMP-1 ekspresyonunu artırır. Tip 1 kollajen dönüşümünü düzenler. MMP-1, kollajen tip 1 matrikse doğru dermis gibi dokularda epitel hücre göçünü kolaylaştırır (57).

2.11. MORİNA BALIĞI KARACİĞER YAĞI(OLEUM JEKORİS ASELLİ)

Morina, Gadidae familyasına mensup Gadus cinsi balıkların genel adıdır. İzlanda, Norveç ve Grönland gibi soğuk iklimlerde bolca bulunur. MBKY' yi diğer birçok balık yağından ayıran şey, yağ asidi profili ve yüksek A vitamini ve D3 vitamini seviyesidir.

MBKY 1934 den beri yaraların ve yanıkların tedavisinde topikal olarak kullanılmaktadır (77). MBKY aynı zamanda diyet takviyesi olarak da kullanılmaktadır. Poliansatüre yağ asitlerini, 20 karbonlu yağ asitlerini, palmitoleic asit, 22 karbonlu yağ asitlerini, vitamin A'yı (850 USPünite/gr düzeylerinde) ve vitamin D'yi (85 USP ünite /gr) içermektedir (78,79). MBKY osteomalazi, raşitizm tedavisinde, diyet takviyesi olarak ve yara iyileşmesinde topikal olarak geçmişten beri kullanılmaktadır. MBKY poliansature yağ asitlerinden zengin olması sebebiyle stres nedenli ya da streoid kullanımına bağlı gelişen mide ülserlerini önlemektedir (80). MBKY' nin iki çeşit üretim metodu vardır. Bu metodlardan biri balığın karaciğeri öğütüldükten preslerden geçirilir. Oluşan ürün çeşitli filtrelerden süzülür. Balık artıkları ve karaciğer kalıntıları süzüldükten sonra yüksek ısıya ve çeşitli kimyasallara maruz bırakılır. Bu işleme deoderizasyon işlemi adı verilir. Bu sayede balık yağının kokusu ve tadı giderilmiş olur. Diğer yağ elde etme metodunda ise soğuk preslemeden sonra elde edilen çözelti yüksek ısıya maruz bırakılmaz. Kağıt filtrelerden geçirilerek süzülür. Üzerindeki balık kokusu ve tadı değişmez. Kokusu nedeniyle bu yağın tüketilmesi zordur. Ancak bu ürüne ısı ve kimyasal uygulanmadığı için yüksek miktarda D3 vitamini, A vitamini ve omega-3 eikozopentaenoik asit (EPA) ve dokozoheksaenoik asit (DHA) içerir. MBKY yüksek vitamin ve esansiyel yağ asitlerini içerir. Bunlar da yara iyileşmesi için gerekli öncül maddeleri sağlarlar. Bu yüzden kuzey Avrupa ülkelerinde özellikle sahil kesiminde yaşayan toplumların alternatif tıp uygulamalarında sıklıkla yer almaktadır.

Bu tez çalışmasında ısıl işleme tabi tutulmuş MBKY kullanılmıştır.

2.12. SIĞLA YAĞI (LIQUİDAMBAR ORİENTALİS)

Ülkemizde sığla ya da yöresel adıyla günlük ağacı olarak bilinen Liquidambar orientalis, Hamamelidaceae familyasının Bucklandioideae alt familyasının, Liquidambar cinsinin bir türüdür (81, 82). Liquidambar, Latince *liquidus*, Arapça *amber* sözcüklerinin birleşmesinden meydana gelmiştir ve güzel kokulu sıvı demektir (83). Türkiye'de yetişen sığla ağacı Muğla ilimize bağlı Marmaris, Fethiye, Köyceğiz ve Ula yörelerinde alçak ve deniz seviyesine yakın

suludereler içerisinde ve sulak kısımlarda yetişmektedir. Az miktarda Denizli ilimizin Günlük Çayı, Gerenis Çayı, Burdur-Bucak, Acıpayam'ın Gölcük Köyü ve Antalya ilimizin Aksu Vadisi çevresinde taban suyunun yüksek olduğu arazilerde yetişmektedir (81, 84, 85, 86). *L. Orientalis* 'ten, sığla yağı (Styraxstorax, Styraxliquids, Oriental sweet gum, Levant styrax) adı verilen bir balzam elde edilir. Sığla ağacı dışında sadece Orta Amerika'da bulunan *L. Styraciflua*'dan elde edilebilmektedir. Sweet gum, Red gum, Styrax Americanus, White Peru Balsam olarak bilinen bu balzamin üretimi Honduras ve Guatemala'da da yapılmaktadır (81, 87).

Sığla yağının üretimi ağaçta yara oluşturulmasıyla başlar. Yara açılmasından önce ağacın kabukları mart ayı sonuna kadar traşlanarak inceltir. Bu şekilde ağaçlar yaklaşık 30 gün bekletilir. Mayıs sonlarına doğru ağaçta yara açılmasına başlanır. Bu işlemde kullanılan aletin adına "kaşık" adı verilir. Bu yaralar kabuk kısmını aşarak ağacın canlı olan kısımlarına kadar açılır. "Sur" ismi verilen işlemle açılan yaralar 7 gün sonra yenilenir. Sur işleminden 14 gün sonra yara içinde biriken yağ alınır. Bu ürün "sur arkası" olarak adlandırılır. Bu basamağın akabinde sığla üretimine başlanır. Sığla yağının üretimi Temmuz-ekim ayları arasında olur. Bu işlem temmuz ayı ortasından ekim ayı sonuna kadar sürer. Bu aylar arasında ağaçtan akan yağ yontularak alınır. Yağın toplanması süreci "sefer" olarak adlandırılır. Toplanan materyal ise "Kapçık" olarak adlandırılır. Bu ürün kabuk yağ ve ağaç parçalarını içerir. Bu karışım 30-90 dakika kaynatılır. Çıkan ürün torbalara konup preslerle sıkıştırılarak sığla yağı elde edilir. Torbalarda kalan ürün ise "günlük" diğer adıyla "buhur" olarak adlandırılır (88-90).

2.12.1. Sığla Yağının Özellikleri Ve İçeriği

İşlenmemiş sığla yağının alkol ekstraksiyonu ve oluşan bu ürünün distilasyonu ile sığla yağı elde edilir. Sığla yağı asit, alkol, ester ve fenol karakterde kimyasal bileşikler içerdiği tespit edilmiştir. Sığla yağının muhteviyatında Sinnamik asit, Styracin, Styrol, Styron, Storesinol, Storegenin maddelerinin bulunduğu literatürde gösterilmiştir (91). Bir çalışmada gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi ile yapılan analiz sonucunda sığılada birçok madde belirlenmiştir. Bu maddelerden terpinen-4-ol, α - terpinol, sabinene ve γ - terpineneen fazla bulunan maddeler olmuştur (92). Sığla balzaminin uçucu gaz kromatografisi analiz çalışması sonucunda ise ana bileşenlerin stiren (%89.5), α -pinen (%7.2), kamfenen (%0.3), β -pinen (%1.1), sinnamil alkol (%0.3), limonen (%0.3), asetofenon (%0.2), petilfenol (%0.2), 3-fenil propanol (%0.2) olduğu gösterilmiştir (93).

Sığlanın bu oranları farklı çalışmalarda farklı bulunmuş olup ağacın balzaminin toplanma zamanı ve toplanma şekline göre farklılıklar göstermektedir. *L.orientalis* ve *L.styraciflua* balzaminini karşılaştırmak için yapılan başka bir çalışmada ise *L.orientalis* balzaminin kimyasal içerik analizinde ana bileşik maddesini stiren olarak belirtilmiştir (94). Başka bir çalışmada ana bileşik maddesinin hidrosinnamil alkol ve transsinnamil alkol olduğunu gösterilmiştir (95). Sığla balzamu oda sıcaklığında suda çok az çözünür. İyi balzam suyu az içermelidir. Yine iyi bir ürün %60 etanolde çözünebilir. Etanolde tamamı çözünemeyip az miktarı kalabilir. Eter ve aseton sığlayı alkolden daha iyi çözer (93,96). Sığlanın özel bir kokusu vardır. Sığlanın tadı acıdır. Yağ formu yarı sıvıdır ve yapışkanlık özelliği vardır. Taze hali gri renktedir. Balzaminin üst yüzeyi koyu renk alır. Sığlanın saydamlık özelliği yoktur. Suyu %2 oranında ihtiva eder. %20'den az sinnamik asit olmamalıdır. (91, 97,98).

Biz de çalışmamızda kullandığımız sığla yağının komponentlerinin değerlendirilmesi amacıyla Eskişehir Anadolu Üniversitesi'ne bağlı Badebio Bioteknoloji Laboratuvarına gönderdik. Analizde Agilent 5975 GC-MSD sistemi kullanılmıştır. Analiz sonucu stiren (%95.75), α -pinen (%1.80), β -pinen (%0.22), sinnamil alkol (%0,17), asetofenon (%0.08), petilfenol (%0.25) olduğu gösterilmiştir. Sığla yağının analiz sonuçları yağın toplanma zamanı, toplama şekli ve işleme sürecindeki farklılıklardan etkilenmesi doğal bir sonuçtur. Yağın elde edildiği ağaçların da biyolojik yapıları aynı değildir. Bu yüzden sığla yağının bileşenlerinde net bir şekilde homojenizasyonu sağlamak güçtür. Mevcut analizde çalışmamızda kullandığımız sığla yağının sonucunun literatürdeki yayınlardaki sığla analizleri ile uyum içinde olduğu görülmüştür (93).

2.12.2. Sığla Yağının Geleneksel Tedavideki Kullanım Alanları ve Kullanım Şekli

Sığla pek çok amaçla kullanılır. Sığla alındıktan sonra kalan odunsu kısma buhur adı verilir. Bu küspe kısmı kiliselerde ve mabetlerde tütsü olarak kullanılmıştır. Batık Fenike gemilerinde sığla yağı tespit edilmesi o dönemde sığlanın ticaretinin yapıldığını düşündürmektedir. Eski Mısırlılarda mumyalama işleminde kullanılmıştır. Halk arasında sığla yağı, ekspektoran olarak kullanılmakla birlikte astım, bronşit ve diğer akciğer hastalıklarında da geleneksel tıp yöntemi olarak tercih edilmektedir (90, 99, 100). Antibakteriyel ve skatrisan etkisi bilindiğinden antiseptik olarak ve yaraların iyileşmesinde pomat olarak kullanılmış,

sünnet operasyonundan sonra, yaranın çabuk iyileşmesi için sığla balzamu ve bal karışımı emdirilmiş bir bezi sünnet yarası üzerine sarmışlardır. Mide ülseri tedavisinde kullanılmıştır (97,99, 100, 101, 102). Günümüzde sığla yağı parfüm endüstrisinde kokuların korunması amacıyla kullanılır. Parfümde kullanılan güzel koku veren uçucu yağlar, sığla yağı ile korunarak 24 - 36 saat uçmaları engellenir. Bu sebepten sığla yağı parfüm endüstrisinin önemli hammaddesidir. Ayrıca sığla yağı sabunlarda da kullanılmaktadır. Bu yönleri ile sığla bir ihraç ürünüdür (100, 101).

Sığlanın hemoroid tedavisinde kullanılabileceği literatürde gösterilmiştir (103). Doz bağımlı olarak Sığla yağının antibakteriyel özelliği olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yine doz bağımlı olarak hem bakterisidal hem de bakteriyostatik etkisi olduğu gösterilmiştir (88, 104). Sığla deri endüstrisinde antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır (105).Sığlanın bitki zararlılarına karşıda zirai ilaç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (106). Sığla yağı %45 oranında sinamik asit içerir. Sığla yağının sinamik asit sayesinde antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal etki gösterdiği gösterilmiştir (91,107). Başka bir çalışmada yüksek dozlardaki sığla yağının karaciğer hasarını engellediği ve antioksidan özelliği olduğu gösterilmiştir (108).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının deneysel aşamaları Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurulundan 2019-016 onay numarası ile etik kurul onayı alındı. Wistar cinsi yetişkin erkek sıçanlar KONÜDAM' dan temine dildi. HADYEK onayından sonra deneysel çalışmalara başlandı.

Çalışma için sekizerli 5 grup oluşturuldu. Gruplar sham, kontrol, RH-EGF, MBKY ve sığla yağı grubu idi. Sıçanlar 60 mg/kg ketamin anestezisi ile uyutuldu. Deneyler boyunca hiç bir gruptaki hayvana antibiyotik uygulanmadı. Ratlar standart sıcaklık ve nem ortamında tutuldu, standart laboratuvar yemiyle beslendi. Her denek ayrı kafeslerde tutuldu. Ratların pansuman materyali uygulanan gruplarda pansumanı çıkarmaması için elastik file bandaj kullanıldı.

Sham grubu (n=8): Bu gruptaki 8 sıçanın sırt bölgesinde interskapular alanda kesinin yapılacağı kıllı bölge ciltte yaralanmaya sebebiyet verilmeden tıraş edildi. Sonrasında tıraş edilen bölgeye kenar uzunluğu 1,5 cm olan kare şeklinde (2,25 cm²'lik alana sahip) tam kat deri defekti oluşturuldu. Oluşan yara üzerine hiçbir şey sürülmedi.

Kontrol grubu (n=8): Standart deri defekti sonrası bu gruptaki sıçanların sırt bölgesine aynı şekilde tam kat deri defekti oluşturuldu. Oluşan yara üzeri serum fizyolojik ile silindikten sonra serum fizyolojik emdirilmiş 4cm²'lik spanç ile yara örtülüp pansuman kapatıldı.

RH-EGF grubu (n=8): Standart deridefeksi sonrası 75 mikrogram RH-EGF içeren flakondan 0,1 ml yaranın dört kenarına subkutan yapıldıktan sonra serum fizyolojik emdirilmiş 4 cm² lik gazlı bez yara üzerine örtülüp pansumanla kapatıldı. Böylece RH-EGF uygulanan her hayvan her uygulamada toplamda 0,4 ml RH-EGF almış oldu. Literatüre göre RH-EGF iki güne bir uygulanmaktadır. Bu sebepten deneklere RH-EGF yapılmadığı günlerde sadece serum fizyolojik ile ıslatılmış pansuman materyali yenisi ile değiştirildi (1-10, 113).

MBKY grubu (n=8): Bu gruptaki 8 sıçanın sırt bölgesine aynı şekilde tam kat deri defekti oluşturuldu. Oluşan yara üzeri serum fizyolojik ile silindikten sonra; % 40 MBKY, %50 sarı vazelin ve kıvam oluşturması amacıyla %10 bal mumundan yapılan pomadın 2,5

gramı (yaraya sürülen MBKY miktarı 1 gr oldu) yara üzerine sürüldükten sonra 4 cm²'lik gazlı bez yara üzerine örtülüp pansuman kapatıldı (10, 119).

Sığla yağı grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanların sırt bölgesine aynı şekilde tam kat deri defekti oluşturuldu. Oluşan yara üzeri serum fizyolojik ile silindikten sonra %40 sığla yağı (liquidambar orientalis), %40 saf vazelin ve kıvam oluşturması amacıyla %20 bal mumundan yapılan pomadın 2,5 gramı (yaraya sürülen sığla yağı miktarı 1 gr olacak şekilde ayarlandı) sürüldü. İşlem sonrasında serum fizyolojik emdirilmiş 4 cm² lik gazlı bez yara üzerine örtülüp pansuman kapatıldı (11).

Yara çevrelerinin fotoğrafı yaraların oluşturulduğu ilk gün, ilk biyopsi alındıktan sonra 4. gün ve 15. gün deney tamamlandıktan sonra çekildi. Yara alanları tam iyileşme görülünceye kadar gözlemlendi ve tam iyileşme günü tespit edildi. Çekilen fotoğraflar Image J programı ile değerlendirilerek yara alanları hesaplandı. Yaralar oluşturulduktan sonraki 4.gün ve 15. gün, yara iyileşmesi tamamlandıktan sonra yara yerinden doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri N.E.Ü Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında tarafından Hemotoksilen/Eozin, MassonTrikrom ve İmmünohistokimyasal Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü boyaları ile boyandı (121,122).

Alınan doku örneklerinde N.E.Ü Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'nda Total Oksidan Aktivite (TOS) düzeyi ve Total Antioksidan Aktivite (TAS) düzeyi, Oksidatif Stres İndeksi belirlendi (110).

3.1. BİYOKİMYASAL GEREÇ VE YÖNTEM

Rat cilt örnek dokuları soğuk fosfat tamponu (50 mM, pH: 7,4) içerisine alındı. Doku örnekleri parametrelerin analizine kadar New Brunswick U570 (New Brunswick Scientific, New Jersey, USA) buzdolabında -80 °C' de saklandı. Çözdürülen doku örnekleri tartılarak 10 kat (w/v) soğuk fosfat tamponu (50 mM, pH: 7.2) içerisinde mekanik homojenizatör (Ika T10 basic ultra-turrax, Almanya) ve ultrasonik homojenizatör (BandelinSonopuls, Almanya) kullanılarak buz içerisinde homojenize edildi. Homojenatlar Hettich Rotina 46R (HettichZentrifugen, Tuttlingen, Almanya) marka soğutmalı santrifüj cihazında 4°C ve 10.000 g hızda 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar ayrıldı.

Cilt dokularından elde edilen süpernatantlarda TAS ve TOS seviyeleri (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

Cilt dokularından elde edilen süpernatantların doku protein seviyeleri Pierce bicinchoninic acid-BCA (Thermo Scientific, Illinois, ABD) kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

Cilt doku süpernatantlarında parametre seviye sonuçları protein seviyelerine bölünerek standardize edildi. TOS seviyeleri $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein olarak ve TAS seviyeleri mmol TroloxEquivalent/mg protein olarak verildi. Trolox, E vitaminin suda çözünen analogudur. Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde referans olarak kullanılır.

ELISA kitlerinin yıkama sürecinde Biotek ELX 50 mikroplate yıkayıcı (BioTek Instruments, Vermont, ABD) kullanıldı. Spektrofotometrik ölçümlerde Bio-rad Mikroplate absorban okuyucu xMark (Bio-rad Laboratories, California, ABD) sistemi kullanılarak absorban konsantrasyon kalibrasyon grafiklerine göre sonuçlar hesaplandı.

3.2. HİSTOPATOLOJİK GEREÇ VE YÖNTEM

Histopatolojik değerlendirme için komşu deriyi de içerecek şekilde alınan tam kat yara dokusu örnekleri %10'luk neutral buffered formalin solüsyonu ile fikse edildikten sonra ototeknikonla rutin doku takip işlemleri uygulandı. Takipten çıkan dokular parafin bloklara gömülerek mikrotomla her bir bloktan ortalama 4 μm kalınlığında kesitler alındı. Morfolojik değerlendirme için bir lama standart Hematoksilin/Eozin (H/E) ve bir lama Masson Trikrom (MTK), pozitif şarjlı bir lama immünohistokimyasal VEGF boyama yöntemi uygulanmak üzere kesitler lam yüzeylerine aktarıldı. VEGF boyamada VEGF antikoru (Concentrated Rabbit Monoclonal Antibody, EP1176Y, Biocare Medical, USA) 1:100 dilüsyonla kullanıldı ve boyama prosedürüne uygun olarak işlemler tamamlandı. Bunun için; lam üzerine alınan kesitler deparafinizasyon işleminden sonra %3 Hidrojen Peroksit solüsyonu ile 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra citrate buffer (Ph 6,0) solüsyonuna konuldu, 5 dakika ısıtıldı. Phosphate buffersaline (PBS) solüsyonu ile yıkandıktan sonra primer antikorla 30-60 dakika oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra secondary-conjugated polymer ile 30 dakika inkübasyona alındı. Kromojen olarak 5 dakika diaminobenzidine ile inkübe edildi ve hematoksilinle boyama yapıldı. Lamel ile kapatılan lamalar mikroskopik değerlendirmeye hazır hale getirildi.

Mikroskopik değerlendirme digital kamera ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus BX53F; Tokyo, JAPAN) altında patoloğ tarafından kör olarak yapıldı. Yara iyileşmesinin derecesini belirlemek için dermal ve epidermal rejenerasyon ve granülasyon dokusu

oluşumu irdelendi (73). H/E ile yapısal değişiklikler, MTK ile kollajen birikimi değerlendirildi (74). Morfolojik olarak semi-kantitatif skorlama ile epitelizasyon, kollajen sentezi, fibrozis ve fibroblast yoğunluğu, anjiogenez ve granülasyon dokusu oluşumu irdelendi. Kollajen sentezi, fibroblast yoğunluğu, anjiogenez ve granülasyon dokusu için; hiçbir değişiklik olmaması 0, düşük dansite 1, hafif dansite 2 ve yüksek dansite 3 olarak skorlandı (75). Epitelizasyonda skorlama; hiç oluşmamış ise 0, kısmen oluşmuş ise 1, ince epitelizasyon 2, kalın epitelizasyon 3 şeklinde belirlendi (75). VEGF ile boyanan endotel hücrelerinin yüzdesi belirlendi ve <%15, %15–50, %50–85, >%85 ve %100 pozitif boyanma oranına göre sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak skorlandı (73). Hücrelerin boyanma şiddeti hemen her alanda ve örnekte benzer oranda ve genel olarak orta derecede görüldü, bu nedenle boyanma şiddeti skorlanmadı.

3.3. İSTATİSTİKSEL GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının betimleyici istatistiklerinde ölçüme dayalı (nicel) değişkenler için aritmetik ortalama ve standart sapma; sayıma dayalı (kategorik) değişkenler için ise frekans ve yüzdelikler kullanılmıştır. Parametrik test varsayımlarından normallik varsayımı Kolmogorov Smirnov test istatistiği ile varyansların homojenliği varsayımı ise Levene test istatistiği ile incelenmiştir. Parametrik varsayımların sağlandığı ikiden fazla grup ortalaması karşılaştırmalarında Anova test istatistiği kullanılırken; sağlanmadığı durumda grup ortalamaları Kruskal Wallis test istatistiği ile incelenmiştir. Ayrıca grup ortalamaları arası farklılıkların incelenmesinde çoklu karşılaştırma testleri olan LSD ve Tamhane test istatistiklerinden yararlanılmıştır. Eşlenik grup ortalamalarının karşılaştırmalarında ise normallik varsayımı sağlanmadığından Wilcoxon testi kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi %5 olarak belirlenmiş olup, analizler SPSS versiyon 21 yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Hematoksilen eozin ile ilgili bulguları 5 ana başlık altında incelenmiştir. Bunlar epitelizasyon, granülasyon dokusu oluşumu, enflamasyon, anjiogenez ve fibroblast proliferasyonudur. Bunların skorlama sistemi tablo 3’ te verilmiştir. Masson Trikrom boyama skorlaması tablo 3’ te verilmiştir. VEGF immün boyası skorlaması tablo 4 ‘te verilmiştir. Histopatolojik bulguların mikroskopik fotoğrafları resim1, resim 2 ve resim 3 te gösterilmiştir.

		Tablo 3: Hemotoksilen/Eozin skorlaması			
Hematoksilen/Eozin skorlaması		0	1	2	3
	Epitelizasyon	Yok	Kısmen	İnce	Kalın
	Granülasyon Dokusu Oluşumu	Yok	Minimum	Orta	Belirgin
	Anjiogenez	Yok	Minimum	Orta	Belirgin
	Enflamasyon	Yok	Minimum	Orta	Şiddetli
	Fibroblast Proliferasyonu	Yok	Minimum	Orta	Şiddetli
MassonTrikrom (kollajen düzeyi) skorlaması	Kollajen birikimi	Yok	Minimum	Orta	Çok

Tablo 4: Vasküler endotelial growth factor (VEGF) immün boyası için skorlama					
Boyanan hücre oranı (%)	<% 15	% 15-%50	%50-%85	>%85	%100
Skor	1	2	3	4	5

4.1.1. Dördüncü Gün Alınan Biyopsi Sonuçları:

Dördüncü gün alınan biyopsi sonuçlarının histopatolojik değerlendirmesi ve dağılımı tablo 5' de gösterilmiştir

Sham grubunda hayvanlardan bir tanesi biyopsi alınmadan ölmüştür. Bu hayvandan ilgili veriler alınmamıştır. Kalan deneklerin %57' inde kısmi epitel (düzey 1) oluşumu görülmüştür. %43' lük kısımda preparatlarda epitel döküntüleri saptanmıştır. Bu görüntü epitel tabakasının oluştuğunu ancak boyanma esnasında döküldüğünü göstermiştir. Bu sebepten düzey değerlendirmesi yapılamamıştır. Ratların %72' sinde orta düzeyde (düzey 2) , %28' inde belirgin anjiogenez (düzey 3) saptanmıştır. Sıçanların % 86' sında belirgin granülasyon dokusu (düzey 3) görülürken, %14' ünde orta derecede (düzey 2) granülasyon dokusu görüldü. Deneklerin %57' sinde hafif düzeyde enflamasyon (düzey 1), %14' ünde orta derece (düzey 2), %29' unda ise şiddetli (düzey 3) derecede enflamasyon saptandı. Fibroblast proliferasyonunda hayvanların %72' inde minimal düzeyde fibroblast proliferasyonu (düzey 1), %14' ünde orta derecede (düzey 2) fibroblast proliferasyonu, %14' ünde fibroblast proliferasyonu saptanmadı (düzey 0). MTK boyamasında hayvanların %58' inde hiç kollajen birikimi görülmedi (düzey 0). % 42' sinde minimal miktarda (düzey 1) kollajen birikimi görüldü. VEGF boyasında ise hayvanların %58' inde vasküler hücrelerin %15' inden azı (düzey 1) boyanırken, deneklerin %42' sinde vasküler hücrelerin %15 -%50' si (düzey 2) boyandı.

Kontrol grubunda deneklerin %100' ünde yaradan alınan biyopsi materyalinin üzerinde epitel dokusu görülmedi. Ancak değerlendirilen preparatlarda epitel döküntülerinin görülmesi epitel oluşumunun gerçekleştiğini göstermiştir fakat epitelizasyon düzeyi değerlendirilememiştir. Deneklerin %50' sinde belirgin (düzey 3) anjiogenez görüldü. %50' sinde orta derecede (düzey 2) anjiogenez görüldü. Kontrol grubunda deneklerin %75' inde belirgin granülasyon dokusu (düzey 3), %25' inde orta derecede (düzey 2) granülasyon dokusu görüldü. Kontrol grubunda hayvanların %25' inde şiddetli (düzey3), %50' sinde orta derecede (düzey 2), % 25' inde hafif derecede (düzey 1) enflamasyon görüldü. Bu grupta deneklerin %87,5' inde minimal (düzey 1) fibroblast proliferasyonu görülürken, hayvanların %12,5' inde orta derecede (düzey 2) fibroblast proliferasyonu görüldü.

Tablo 5: Dördüncü gün alınan biyopsi sonuçları dağılımı												
	Sonuç	Skor	Sham		Kontrol		Rh-EGF		MBKY		Sığla	
Epitelizasyon	Yok	0	3	%43	8	%100	4	%58	3	%37,5	7	%87.5
	Kısmen	1	4	%57	0	%0	3	%42	5	%67,5	1	%12.5
	İnce	2	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Kalın	3	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
Anjiogenez	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Minimal	1	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Orta	2	5	%72	4	%50	0	%0	0	%0	1	%12.5
	Belirgin	3	2	%28	4	%50	7	%100	8	%100	7	%87.5
Granülasyon Dokusu Oluşumu	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Minimal	1	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Orta	2	1	%14	2	%25	0	%0	0	%0	1	%12.5
	Belirgin	3	6	%86	6	%75	7	%100	8	%100	7	%87.5
İnflamasyon	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Hafif	1	4	%57	2	%25	1	%14	6	%75	4	%50
	Orta	2	1	%14	4	%50	5	%72	2	%25	4	%50
	Şiddetli	3	2	%29	2	%25	1	%14	0	%0	0	%0
Fibroblast proliferasyonu	Yok	0	1	%14	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Hafif	1	5	%72	7	%87.5	7	%100	1	%12,5	3	%37,5
	Orta	2	1	%14	1	%12.5	0	%0	6	%75	5	%67,5
	Şiddetli	3	0	%0	0	%0	0	%0	1	%12,5	0	%0
MTK (MassonTrikro m) Kollajen birikimi	Yok	0	4	%58	1	%12.5	1	%14	0	%0	0	%0
	Hafif	1	3	%42	6	%75	3	%43	3	%37,5	5	%67,5
	Orta	2	0	%0	1	%12.5	3	%43	3	%37,5	3	%37,5
	Çok	3	0	%0	0	%0	0	%0	2	%25	0	%0
VEGF (Vasküler Endotelial Growth factor) Pozitiflik oranı	<%15	1	4	%58	2	%25	1	%14	4	%50	1	%12.5
	%15-%50	2	3	%42	6	%75	3	%43	3	%37.5	5	%67,5
	%50-%85	3	0	%0	0	%0	1	%14	1	%12.5	1	%12.5
	>%85	4	0	%0	0	%0	2	%29	0	%0	1	%12.5
	%100	5	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0

Kontrol grubunda MTK boyanmasında hayvanların %12,5' inde hiç kollajen birikimi olmamıştır (düzey 0). %75' inde minimal kollajen birikimi (düzey 1), kalan

%12,5' lik kısımda orta seviyede kollajen birikimi (düzey 2) görüldü. VEGF boyasında ise deneklerin %75' inde vasküler hücrelerin %15-%50 kadarı (düzey 2) boyandı. Deneklerin %25' inde ise vasküler hücrelerin % 15' den daha azı (düzey 1) boyandı

Rekombinant İnsan Epidermal Büyüme Faktörü uygulanan grupta bir hayvan biyopsi alınana kadar öldüğü için çalışma dışı kalmıştır. Bu grupta hayvanların %42' sinde kısmi (düzey 1) epitelizasyon görülmüştür. Hayvanların %58' inde epitelizasyon saptanmamıştır (düzey 0). Epitelizasyonun görülmediği diğer hayvanların preparatlarında epitel döküntüleri saptanmıştır. Bu durum bize epitelizasyonun gerçekleştiği ancak patolojik boyanma esnasında döküldüğü kanaatini oluşturmuştur. Anjiogenez değerlendirilmesinde hayvanların %100' ünde belirgin (düzey 3) anjiogenez görülmüştür. Deneklerin % 100' ünde belirgin (düzey 3) granülasyon dokusu saptanmıştır. Deneklerin %14' ünde hafif (düzey 1) enflamasyon, %72' sinde orta (düzey 2) derecede enflamasyon, %14' ünde şiddetli seviyede (düzey 3) enflamasyon saptanmıştır. %14,5' inde şiddetli (düzey 3) enflamasyon vardır. MTK boyamada hayvanların %43' ünde orta düzeyde (düzey 2) kollajen birikimi olmuştur. % 43' ünde düşük düzeyde (düzey 1) kollajen birikimi olmuştur. % 14' ünde hiç kollajen birikimi olmamıştır. Deneklerin %100' ünde hafif düzeyde (düzey 1) fibroblast proliferasyonu olmuştur. Bu deneklerin VEGF tutulum düzeyleri şöyledir: Hayvanların %29' undaki vasküler hücre tutulumu %85' den daha fazla (düzey 4) düzeydedir. Bu hayvanların %42' sindeki vasküler hücre tutulumu %50-%85 (düzey 3) arasındadır. Hayvanların %14' ünde ise vasküler hücre tutulumu %15' in altında (düzey 1) olarak değerlendirilmiştir.

MBKY grubunda epitelizasyon deneklerin %62,5' inde kısmen (düzey 1) saptanmış diğerlerinde görülmemiştir. Ancak bu grupta da epitelizasyonun görülmediği preparatlarda epitel döküntüleri görülmüştür. Bu durum epitelizasyonun gerçekleştiği lakin patolojik boyama esnasında ya da fiksasyon sırasında döküldüğünü düşündürmüştür. Hayvanların %100' ünde belirgin anjiogenez (düzey 3) saptandı. Deneklerin %100' ünde belirgin (düzey 3) granülasyon dokusu oluşumu tespit edildi. Hayvanların % 75' inde minimal enflamasyon (düzey 1) görüldü. Kalan %25' lik kısımda hayvanlarda orta düzeyde enflamasyon (düzey 2) saptandı. Hayvanların %12,5' inde şiddetli (düzey3), %75' inde orta düzeyde (düzey 2) ve kalan %12,5' lik kısımda ise minimal fibroblast proliferasyonu (düzey 1) görüldü. Bu grupta MTK boyamada kollajen birikimi hayvanların %25' inde çok miktarda (düzey 3) kollajen birikimi, %37,5' inde orta derecede (düzey 2), %37,5' inde minimal kollajen (düzey 1) birikmiştir. Üretilen kollajen düzenli iplikler şeklinde değil ağ şeklinde düzensiz kollajendir. VEGF immün boyasında % 12,5' inde vasküler hücrelerin

%50 - %85' i (düzey 3) boyanmıştır. Deneklerin %37,5' inde vasküler hücrelerin %15 - %50' si (düzey 2) boyanmıştır. Sıçanların %50' sinde vasküler hücrelerin boyanması %15' in altında (düzey 1) kalmıştır.

Sığla grubunda alınan biyopsilerde deneklerin % 12,5' inde kısmi epitelizasyon (düzey 1) görülmüştür. Ancak epitel oluşumunun görülmediği patoloji preparatlarında epitel döküntüleri saptanmıştır. Bu durum bize epitel oluşumunun gerçekleştiği ancak fragil olduğu için patolojide boyanma esnasında döküldüğünü göstermiştir. Deneklerin %50' sinde hafif derecede (düzey 1) enflamasyon, kalan %50' sinde orta derecede (düzey 2) enflamasyon izlenmiştir. Anjiogenez %87,5' inde belirgin derecede (düzey 3), kalan %12,5' inde orta derecede (düzey 2) saptanmıştır. Granülasyon dokusu oluşumu deneklerin %87,5' inde belirgin (düzey 3), %12,5' inde orta düzeyde (düzey 2) granülasyon dokusu görüldü. Bu gruptaki hayvanların %37,5' inde fibroblast proliferasyonu minimum düzeydeyken (düzey 1), %62,5' inde orta şiddette (düzey 2) fibroblast proliferasyonu görüldü. Sığla grubunda MTK boyamada deneklerin %62,5' inde minimal düzeyde (düzey 1), %37,5' inde orta miktarda kollajen birikimi (düzey 2) görülmüştür. Ancak bu kollajen birikimi düzensiz şekilli iplikçikler yapısındadır. VEGF boyanmada hayvanların %12,5' inde vasküler hücrelerin %85' inden daha fazlası (düzey 4) boyandı. Ratların %12,5' inde vasküler hücrelerin % 50-%85 kadarı (düzey 3), %62,5' inde vasküler hücrelerin %15- %50' si (düzey 2), sıçanların %12,5' inde vasküler hücrelerin % 15' den daha azı (düzey 1) boyandı.

4.1.2 On Beşinci Gün Tamamlandıktan Sonra Alınan Biyopsi Sonuçları

On beşinci gün alınan biyopsi sonuçlarının histopatolojik değerlendirmesi ve dağılımı tablo 6 'da gösterilmiştir

Sham grubunda hayvanlardan bir tanesi birinci biyopsiler öncesinde öldüğü için bir hayvandan ikinci biyopsilere ait veriler alınamadı. Hayvanların %86' sında kısmi epitel tabakası (düzey 1) oluştu. Ratların % 14' ünde ince epitelyum tabakası (düzey 2) oluştu. Deneklerin %58' inde orta düzeyde (düzey 2), deneklerin %42' sinde belirgin (düzey 3) anjiogenez görüldü. Sıçanların %42' sinde orta derecede (düzey 2), deneklerin % 58' inde belirgin derecede (düzey 3) granülasyon dokusu oluşumu saptandı.

Tablo 6: On beşinci gün tamamlandıktan sonra alınan biyopsi sonuçlarının dağılımı												
	Sonuç	Skor	Sham		Kontrol		Rh-EGF		MBKY		Sığla	
Epitelizasyon	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	1	%12,5	0	%0
	Kısmen	1	6	%86	7	%87,5	7	%100	6	%75	4	%50
	İnce	2	1	%14	1	%12,5	0	%0	1	%12,5	2	%25
	Kalın	3	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	2	%25
Anjiogenez	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Minimal	1	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Orta	2	4	%58	5	%62,5	2	%28	5	%62,5	6	%75
	Belirgin	3	3	%42	3	%37,5	5	%72	3	%37,5	2	%25
Granülasyon Dokusu Oluşumu	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Minimal	1	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Orta	2	3	%42	6	%75	6	%86	7	%87,5	6	%75
	Belirgin	3	4	%58	2	%25	1	%14	1	%12,5	2	%25
İnflamasyon	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Hafif	1	1	%14	0	%0	4	%57	5	%67,5	3	%37,5
	Orta	2	3	%43	5	%62,5	1	%14	2	%25	2	%25
	Şiddetli	3	3	%43	3	%37,5	2	%29	1	%12,5	3	%37,5
Fibroblast proliferasyonu	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Hafif	1	0	%0	2	%25	0	%0	0	%	0	%0
	Orta	2	5	%72	3	%37,5	5	%72	6	%75	8	%100
	Şiddetli	3	2	%28	3	%37,5	2	%28	2	%25	0	%0
MTK (MassonTrikróm) Kollajen birikimi	Yok	0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	Hafif	1	3	%43	0	%0	1	%14	0	%0	0	%0
	Orta	2	3	%43	8	%100	2	%29	1	%12,5	5	%62,5
	Çok	3	1	%14	0	%0	4	%57	7	%87,5	3	%37,5
VEGF (Vasküler Endotelial Growth factor) Pozitiflik Oranı	<%15	1	7	%100	2	%25	1	%14	4	%50	4	%50
	%15-%50	2	0	%	5	%67,5	4	%57	3	%37,5	4	%50
	%50-%85	3	0	%0	1	%12,5	2	%29	1	%12,5	0	%0
	>%85	4	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
	%100	5	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0

Deneklerin %14' ünde hafif (düzey 1), %43' ünde orta derecede (düzey 2), %43' ünde şiddetli enflamasyon (düzey 3) görüldü. fibroblast proliferasyonunda deneklerin %72' sinde orta derecede (düzey 2), %28' inde belirgin düzeyde (düzey 3) fibroblast proliferasyonu görüldü. MTK boyamada deneklerin %43' ünde minimum düzeyde (düzey 1), %43' ünde orta düzeyde (düzey 2), deneklerin %14'ünde çok miktarda (düzey 3) kollajen birikimi görüldü. VEGF boyamada deneklerin %100' ünde %15' den daha az (düzey 1) vasküler boyanma görüldü.

Kontrol grubunda deneklerin %87,5' inde kısmi (düzey 1) epitel tabakası, deneklerin %12,5' inde ince epitel tabakası (düzey 2) görüldü. Ratların % 62,5' inde orta derecede (düzey 2) anjiogenez, deneklerin %37,5' inde belirgin (düzey 3) anjiogenez görüldü. Deneklerin %75' inde orta derece (düzey 2), %25' inde belirgin (düzey 3) granülasyon dokusu görüldü. Deneklerin % 62,5' inde orta şiddetli (düzey 2) enflamasyon, % 37,5' inde şiddetli (düzey 3) enflamasyon görüldü. Fibroblast proliferasyonu deneklerin %25' inde minimal (düzey 1), %37,5' inde orta derecede (düzey 2), %37,5' inde belirgin (düzey 3) fibroblast proliferasyonu görüldü. MTK kollajen boyamada sıçanların %100' ünde orta derecede (düzey 2) kollajen görüldü. Bu grupta da düzgün fibriler yapıda kollajen görüldü. VEGF boyanmada hayvanların %25' inde vasküler hücrelerin %15' inden azı (düzey 1), % 67,5' inde vasküler hücrelerin %15 - %50' si (düzey 2), % 12,5' inde vasküler hücrelerin %50-%85' i (düzey 3) boyandı.

Rekombinant insan epidermal büyüme faktörü uygulanan grupta deneklerden bir tanesi ilk biyopsi öncesi öldüğü için ikinci biyopsi değerlendirilmesinde de ölen hayvanla ilgili veriler alınamamıştır. Deneklerin %100' ünde kısmi epitel tabakası (düzey 1) görüldü. Deneklerin %72' sinde belirgin anjiogenez (düzey 3) , % 28' inde orta derecede anjiogenez (düzey 2) görüldü. Deneklerin %86' sında orta derecede (düzey 2) granülasyon dokusu, deneklerin %14' ünde belirgin (düzey 3) granülasyon dokusu görüldü. Ratların %57' sinde hafif enflamasyon (düzey 1) %14' ünde orta derecede enflamasyon (düzey 2), %29' unda şiddetli (düzey 3) enflamasyon görüldü. Fibroblast proliferasyonunda deneklerin %72' sinde orta derecede (düzey 2), deneklerin %28' inde şiddetli (düzey 3) fibroblast proliferasyonu görüldü. MTK boyamasında deneklerin %57' sinde çok miktarda (düzey 3) kollajen, deneklerin % 29' unda orta derecede (düzey 2) kollajen, deneklerin %14' ünde az miktarda (düzey 1) kollajen birikimi görüldü. Bu grupta da biriken kollajen niteliği de düzgün ve ağsı yapıda kollajen vasfındadır. VEGF boyamada deneklerin % 14' ünde vasküler hücrelerin %15' inden azı (düzey 1), deneklerin %57' sinde vasküler

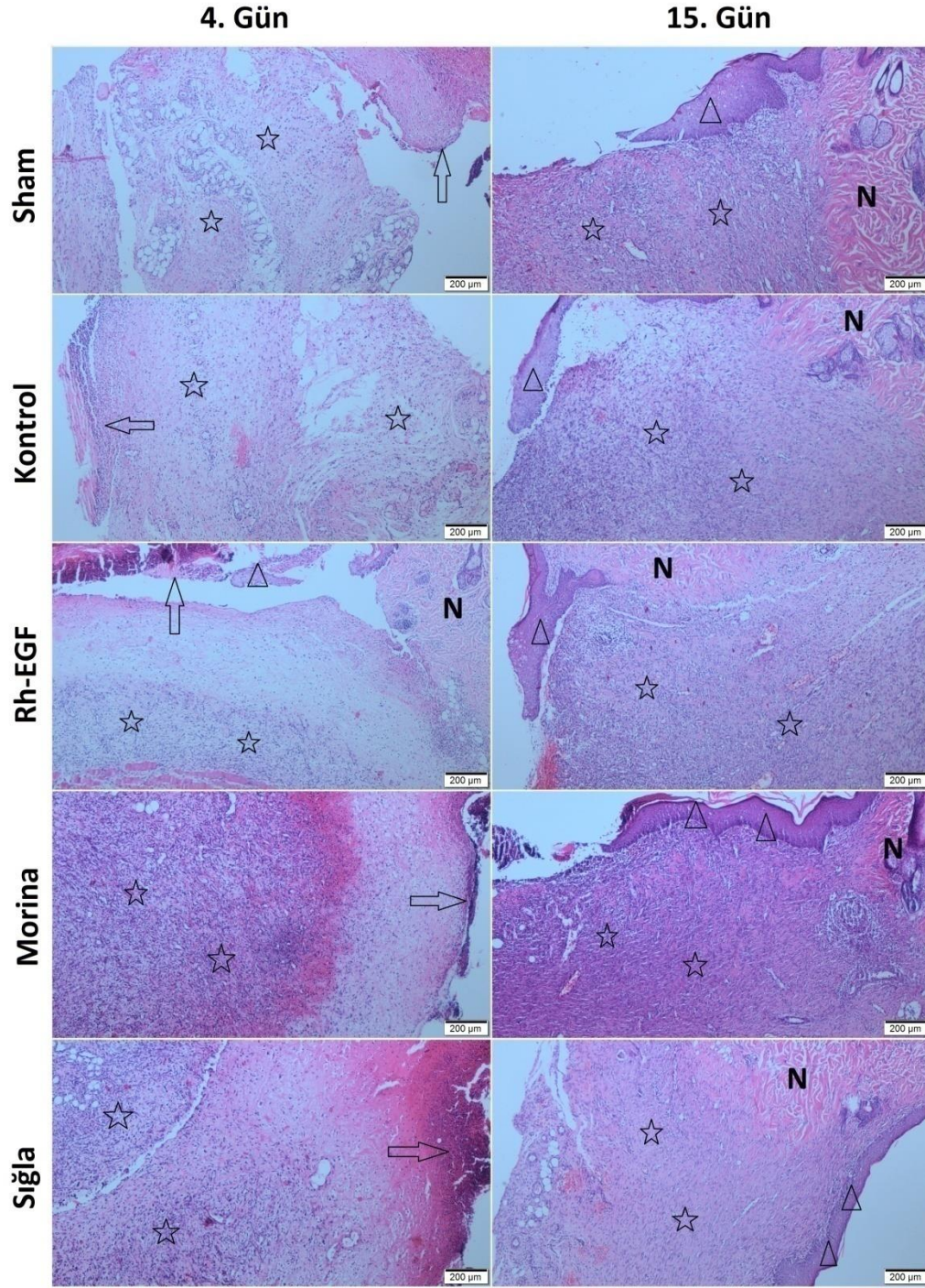
hücrelerin %15-%50' si (düzey 2), hayvanların %29' unda vasküler hücrelerin %50-%85' i (Düzey 3) boyandı.

MBKY grubunda deneklerin %87,5' inde kısmen epitelizasyon deneklerin %12,5' inde ince epitelizasyon tabakası görüldü. Deneklerin %37,5' inde belirgin anjiogenez (Düzey 3), kalan %62,5' inde orta derecede (düzey 2) anjiogenez görüldü. Hayvanların %87,5' inde orta derecede (düzey 2) granülasyon dokusu, %12,5' inde belirgin granülasyon dokusu görüldü. MBKY grubunda hayvanların %62,5' inde hafif düzeyde (düzey 1) enflamasyon, %25' inde orta derecede (düzey 2), %12,5' inde şiddetli (düzey 3) enflamasyon görüldü.

MBKY grubunda fibroblast proliferasyonunda ratların %37,5' inde şiddetli (düzey 3), %62,5' inde orta düzeyde (düzey 2) fibroblast proliferasyonu görüldü. MTK boyamasında deneklerin %87,5' inde çok miktarda (düzey 3) kollajen, deneklerin %12,5' inde orta düzeyde kollajen birikimi görüldü. İlk biyopsilerin aksine bu grupta da biriken kollajen düzenli ağ halinde kollajendi. VEGF boyamada hayvanların %50' sinde vasküler hücrelerin %15 'inden azı (düzey 1) boyandı. Deneklerin %37,5' inde vasküler hücrelerin %15 - %50' si (düzey 2) , deneklerin %12,5' inde vasküler hücrelerin %50 - 85' i (düzey 3) boyandı.

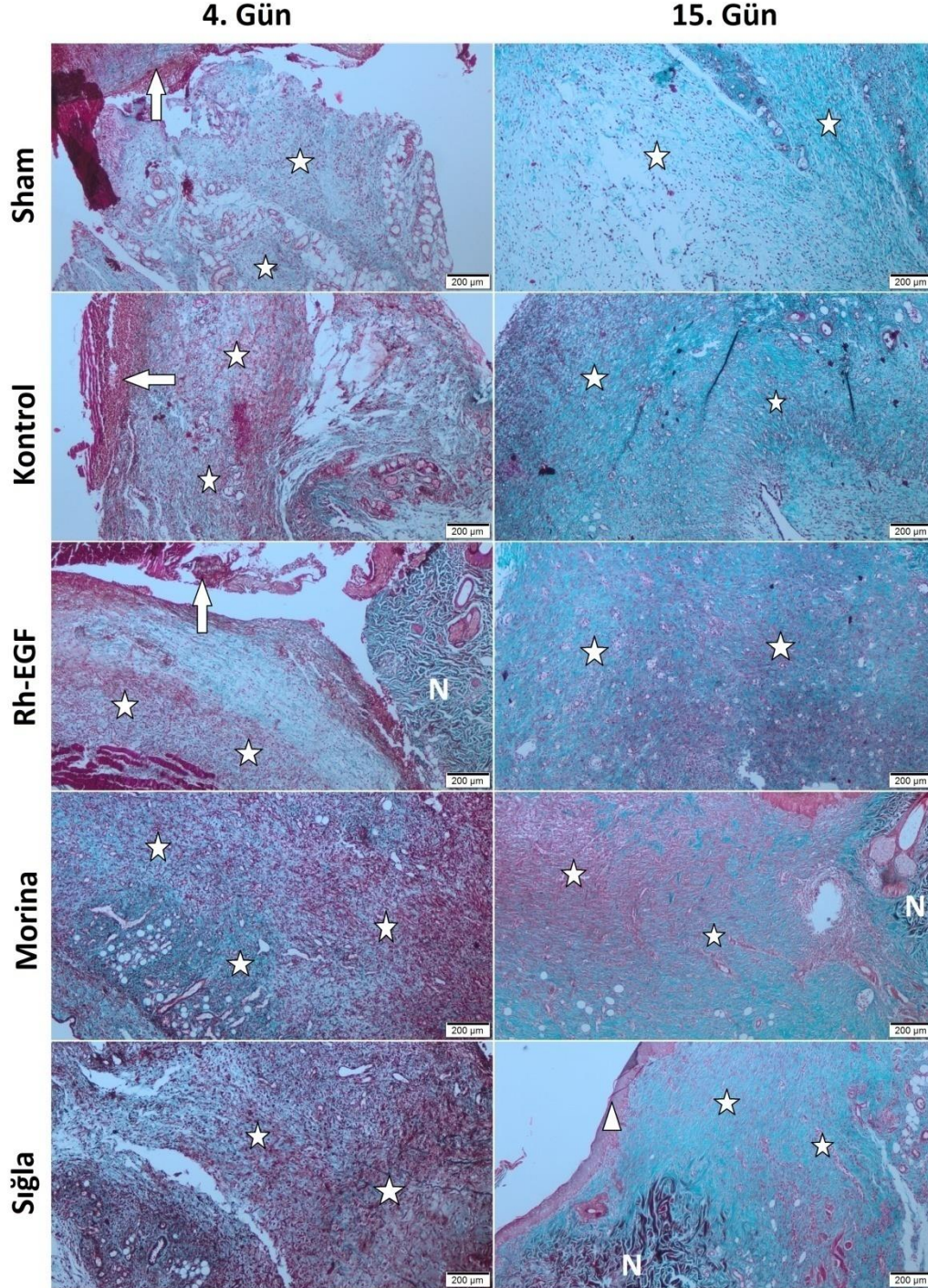
Sığla grubunda alınan biyopsilerde deneklerin %50' sinde kısmi (düzey 1) epitelizasyon, %25' inde ince epitelizasyon tabakası (düzey 2), deneklerin %25' inde kalın epitelizasyon tabakası (tam iyileşme, düzey 3) görüldü. Deneklerin %75' inde orta derecede (düzey 2) anjiogenez, deneklerin %25' inde belirgin anjiogenez (düzey 3) görüldü. Deneklerin %75' inde orta derecede (düzey 3) granülasyon dokusu oluşumu, %25' inde belirgin granülasyon dokusu (düzey 3) saptandı. Deneklerin %75' inde orta derecede (düzey 2) granülasyon dokusu saptandı. Bu gruptaki hayvanların %37,5' inde şiddetli enflamasyonun (düzey 3) devam ettiği görüldü. Bu gruptaki hayvanların %37,5' inde enflamasyonun hafif düzeyde (düzey 1), deneklerin %25' inde orta düzeyde (düzey 2) enflamasyon, %37,5' inde şiddetli (düzey 3) enflamasyon olduğu görüldü. Fibroblast proliferasyonunda deneklerin tamamında orta derecede (düzey 2) fibroblast proliferasyonu saptandı. MTK boyamada deneklerin %37,5' inde çok miktarda (düzey 3) kollajen, %62,5' inde orta derecede (düzey 2) kollajen saptandı. Bu kollajenin ilk biyopsilerden farklı olarak düzenli ağ şeklinde sıralanmış kollajen olduğu görüldü. VEGF boyamada deneklerin %50' sinde vasküler hücrelerin %15-50' sinin (düzey 2) boyandığı, %50' sinde %15' ten azının (düzey 1) boyandığı görüldü.

4.1.3 HİSTOPATOLOJİK ŞEKİLLER:



Şekil 1

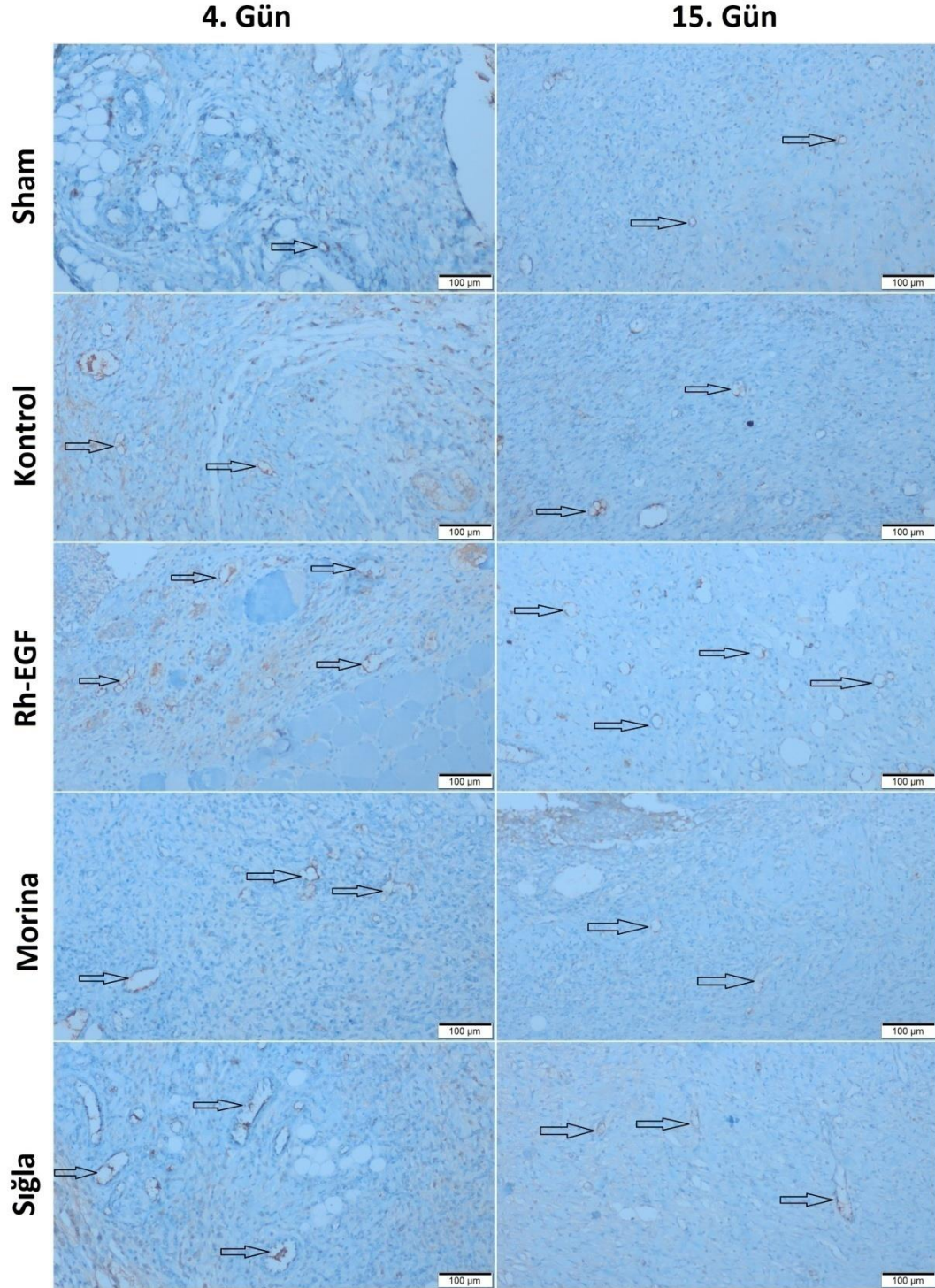
Histolojik kesitlerde grupların 4. ve 15. günlerine ait morfolojik değişiklikler izlenmekte. 4.günde yüzeyde eksuda ve fibrin tabakası (oklar) ön planda iken EGF grubunda kısmi epitelizasyon (üçgen) görülmekte. Epitelizasyonun ilerlemesi (üçgen) 15.güne ait kesitlerde daha belirgin olarak izlenmekte. Granülasyon dokusu gelişimi yıldızla işaretli olup 15. günde kollojen birikimi daha yoğun olarak görülmekte. Normal deri dokusuna ait komşu alanlar N harfi ile gösterilmiştir (Hemotoksilen/Eozin, 40x).



Şekil 2

Masson Trikrom boyamada grupların 4. ve 15. günde kollojen birikimi açısından histolojik kesitleri (Oklar yüzeydeki eksuda tabakasını, yıldızlar granülasyon dokusu ve

kollojen birikimi alanlarını, üçgen epitelize alanını, N harfi komşu normal deriyi göstermekte) (Masson Trikrom, 40x).



Şekil 3

İmmünohistokimyasal çalışmada, 4. ve 15. günde, grupların granülasyon dokusunda VEGF ile immünreaksiyon veren vasküler yapılar görülmekte (oklar) (VEGF, 100x).

4.2. YARA ALANI BULGULARI

Bütün hayvan grupları için deney sonunda iyileşme günleri tespit edildi. Sham grubundaki ratlar 19-24 gün arasında iyileşti. Ortalama iyileşme süresi $20,38 \pm 8,417$ gündür. Kontrol grubundaki ratlarda oluşturulan yaralar 21-25 gün arasında iyileşti. Ortalama iyileşme süresi $23,25 \pm 1,389$ gündür. Sığla yağı grubunda ratların yaraları 17-22 gün arasında iyileşmiştir. Ortalama iyileşme süresi $20,50 \pm 2,268$ gündür. MBKY grubundaki ratlar 15-19 günler arasında iyileşmiştir. Ortalama iyileşme süresi $16,88 \pm 1,356$ gündür. RH-EGF grubunda hayvanlar 15-22 gün arasında iyileşmiştir. Ortalama iyileşme süresi $14,88 \pm 6,468$ gündür.

4.2.1 Gruplar Arasında Yara Alanları Bakımından Yapılan Değerlendirme

Birinci biyopside incelenen denek grupları arasında farklılık olup olmadığı incelenmiş olup sonuçlar tablo 7' de verilmiştir. Birinci biyopside denek gruplarının ortalama yüzey alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p=0,043 < 0,05$).

Gruplar arasında farklılığın hangi gruplar arasında olduğuna karar vermek için yapılan çoklu karşılaştırma testi (multiple comparison tests) sonuçları tablo 8' de verilmiştir. Tablo 8' de verilen birinci biyopsideki yara alanları bakımından gruplar arası farklılıklardan, A ile E grubu arasında 0,4485 birimlik, E ile K grubu arasında 0,4485 birimlik fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Birinci biyopsileri incelenen deneklerin grup ortalamalarına göre de en fazla yara kapanma E grubunda iken; en az yara alanı kapanma miktarı A ile K gruplarında tespit edilmiştir.

Tablo 7. Birinci Biyopside Denek Gruplarının Yara Alanlarının Kruskal-Wallis H Test İstatistiği Sonuçları					
Biyopsi	Grup ismi	Grup kodu	Ortalama±Standart sapma	Kruskal-Wallis H test istatistiği	p
1	Sham	A	$1,9500 \pm 0,1283$	9,869	0,043
	Kontrol	K	$1,9500 \pm 0,3028$		
	RH-EGF	E	$1,5014 \pm 0,4701$		
	MBKY	M	$1,6388 \pm 0,2262$		
	Sığla	S	$1,7825 \pm 0,3090$		

İkinci biyopside incelenen denek grupları arasında farklılık olup olmadığı incelenmiş olup sonuçlar tablo 9’da verilmiştir. İkinci biyopside denek gruplarının ortalama yüzey alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p=0,000<0,05$).

Gruplar arasında farklılığın hangi gruplar arasında olduğuna karar vermek için yapılan çoklu karşılaştırma testi (multiple comparison tests) sonuçları tablo 10’ da verilmiştir.

Tablo 8. Birinci Biyopside Denek Gruplarının Yara Alanları Ortalamalarının Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (LSD) Sonuçları				
Gruplar LSD		(I-J)	Ortalama farkları	p
Sham (A)	E	A-E	0,4485*	0,010
	K	A-K	0,0000	1,000
	M	A-M	0,3112	0,058
	S	A-S	0,1675	0,298
Kontrol (K)	A	K-A	0,0000	1,000
	E	K-E	0,4485*	0,008
	M	K-M	0,3112	0,050
	S	K-S	0,1675	0,282
RH-EGF (E)	A	E-A	-0,4485*	0,010
	K	E-K	-0,4485*	0,008
	M	E-M	-0,1373	0,392
	S	E-S	-0,2810	0,085
MBKY (M)	A	M-A	-0,3112	0,058
	E	M-E	0,1373	0,392
	K	M-K	-0,3112	0,050
	S	M-S	-0,1437	0,355
Sıgla (S)	A	S-A	-0,1675	0,298
	E	S-E	0,2810	0,085
	K	S-K	-0,1675	0,282
	M	S-M	0,1437	0,355
*: Ortalama farklarının istatistiki anlamlı değerleri				

Tablo 9: İkinci Biyopside Denek Gruplarının Yara Alanlarının Kruskal-Wallis H Test İstatistiği Sonuçları					
Biyopsi	Grup adı	Grup kodu	Ortalama±standart sapma	Kruskal-Wallis H test istatistiği	p
2	Sham	A	1,6571±0,3949	25,853	0,000
	Kontrol	K	1,5412±0,3817		
	RH-EGF	E	0,5371±0,3413		
	MBKY	M	0,5287±0,1491		
	Sıgla	S	1,0475±0,3315		

Tablo 10’ da verilen ikinci biyopsideki yara alanları bakımından gruplar arası farklılıklardan, A ile E grubu arasındaki 1,1200 birimlik, A ile M grubu arasındaki 1,1283 birimlik, E ile K grubu arasında 1,0041 birimlik, E ile S grubu arasında 0,5103 birimlik, K ile M grubu arasında 1,0125 birimlik, K ile S grubu arasında 0,4937 birimlik, M ile S grubu arasında 0,5187 birimlik fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). İkinci biyopsileri incelenen Deneklerin grup ortalamalarına göre en fazla yara kapanma E grubunda iken; en az yara alanı kapanma miktarı A grubunda tespit edilmiştir.

Gruplar		(I-J)	Ortalama farkları	p
Sham (A)	E	A-E	1,1200*	0,000
	K	A-K	0,1158	0,501
	M	A-M	1,1283*	0,000
	S	A-S	0,6096*	0,001
Kontrol (K)	A	K-A	-0,1158	0,501
	E	K-E	1,0041*	0,000
	M	K-M	1,0125*	0,000
	S	K-S	0,4937*	0,005
RH-EGF (E)	A	E-A	-1,1200*	0,000
	K	E-K	-1,0041*	0,000
	M	E-M	0,0083	0,961
	S	E-S	-0,5103*	0,005
MBKY (M)	A	M-A	-1,1283*	0,000
	E	M-E	-0,0083	0,961
	K	M-K	-1,0125*	0,000
	S	M-S	-0,5187*	0,003
Sıgla (S)	A	S-A	-0,6096*	0,001
	E	S-E	0,5103*	0,005
	K	S-K	-0,4937*	0,005
	M	S-M	0,5187*	0,003

Tablo 10’ da verilen ikinci biyopsideki yara alanları bakımından gruplar arası farklılıklardan, A grubu ile E grubu arasında 0,9800 birimlik, A ile M arasında 0,9212 birimlik, E ile K arasında 1,0712 birimlik, K ile M arasında 1,0125 birimlik fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Bu gruplar dışındaki gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

4.2.2. Denek Gruplarının İki Biyopsi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Her bir denek grubunun 1. ve 2. Biyopsileri arasındaki değişimin incelenmesi sonucu elde edilen sonuçlar tablo 11’ de verilmiştir. İncelenen grupların hepsinde 2. biyopsilerin ortalamaları 1. biyopsilerden çok daha düşük olup, denek gruplarının iki biyopsileri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

		Ortalama±Standart sapma	Friedman Test İstatistiği	p
Sham (A)	1. biyopsi	1,9500±0,1283	-2,371	0,018
	2. biyopsi	1,6571±0,3949		
Kontrol (K)	1. biyopsi	1,950±0,3028	-2,521	0,012
	2. biyopsi	1,541±0,3817		
RH-EGF (E)	1. biyopsi	1,5014±0,4701	-2,366	0,018
	2. biyopsi	0,5371±0,3413		
MBKY (M)	1. biyopsi	1,6388±0,2262	-2,524	0,012
	2. biyopsi	0,5287±0,1491		
Sığla (S)	1. biyopsi	1,7825±0,3090	-2,521	0,012
	2. biyopsi	1,0475±0,3315		

4.2.3. İyileşme Günleri Bakımından Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Denek gruplarının iyileşme günleri arasındaki farklılık incelenmiş olup test sonuçları tablo 12’ de verilmiştir. Denek gruplarının ortalama iyileşme günleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p=0,000<0,05$).

Gruplar	Ortalama ± standart sapma	Kruskal-Wallis H test istatistiği	p
Sahm(A)	23,29±1,890	26,241	0,000
Kontrol (K)	23,25±1,389		
RH-EGF (E)	17,00±2,582		
MBKY(M)	16,88±1,356		
Sığla (S)	20,50±2,268		

Gruplar arasında farklılığın hangi gruplar arasında olduğuna karar vermek için yapılan çoklu karşılaştırma testi (multiple comparison tests) sonuçları tablo 13’ de verilmiştir.

Tablo 13: Deneklerin iyileşme günlerinin ortalamalarının Post Hoc Çoklu Karşılaştırma Sonuçları				
Gruplar LSD		(I-J)	Ortalama farkları	p
Sham (A)	E	A-E	6,286*	0,000
	K	A-K	0,036	0,972
	M	A-M	6,411*	0,000
	S	A-S	2,786	0,009
Kontrol (K)	A	K-A	-0,036	0,972
	E	K-E	6,250*	0,000
	M	K-M	6,375*	0,000
	S	K-S	2,750	0,008
RH-EGF (E)	A	E-A	-6,286*	0,000
	K	E-K	-6,250*	0,000
	M	E-M	0,125	0,902
	S	E-S	-3,500*	0,001
MBKY (M)	A	M-A	-6,411*	0,000
	E	M-E	-0,125	0,902
	K	M-K	-6,375*	0,000
	S	M-S	-3,625*	0,001
Sıgla (S)	A	S-A	-2,786	0,009
	E	S-E	3,500*	0,001
	K	S-K	-2,750	0,008
	M	S-M	3,625*	0,001
* :Ortalama farkları arasındaki istatistiki olarak anlamlı değerler				

4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.3.1. Dördüncü Gün Alınan Biyopsilerin Biyokimyasal Sonuçları:

4.3.1.1. Total Antioksidan Aktivite (Total Antioxidant Status-TAS) Sonuçları:

TAS sonuçlarında gruplar arasında değerler 1,54 - 7,18 mmol Trolox Equivalent/mg protein arasında değişmiştir. Ortalama TAS değerleri hesaplandığında en düşük TAS değeri RH-EGF grubunda $1,6257 \pm 0,0586$ mmol Trolox Equivalent/mg protein olarak hesaplanmıştır. En yüksek TAS değeri ise $6,7786 \pm 0,3639$ mmol Trolox Equivalent/mg protein değeri ile sham grubunda hesaplanmıştır. TAS ortalama değerleri tablo14' de gösterilmiştir

4.3.1.2. Total Oksidan Aktivite (Total Oxidant Status - TOS) Sonuçları:

TOS sonuçlarında gruplar arasındaki değerler 10.02 - 27 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein arasında değişmiştir. En küçük TOS değeri 10,2 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein ile kontrol grubunda saptanmıştır. En yüksek TOS değeri ise 24,09 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein ile RH-EGF grubunda saptanmıştır. Ortalama TOS değeri hesaplandığında en düşük ortalama TOS değeri $10,8825 \pm 0,6022$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein olarak kontrol grubunda hesaplanmıştır. En yüksek TOS ortalama değeri ise $24,6075 \pm 1,6955$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein olarak sığla grubunda görülmüştür. TOS ortalama değerleri tablo14' de gösterilmiştir.

4.3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi (Oxidative Stress Index - OSI) Sonuçları:

OSI sonuçlarında gruplar arasındaki değerler 0.17- 1.51 arasında değişmiştir. En düşük değer kontrol grubunda 0,17 ile; en yüksek değer 1,51 ile RH-EGF grubundadır. Ortalama OSI değeri hesaplandığında en düşük değer $0,1800 \pm 0,0107$ değer ile kontrol grubunda görülürken, en yüksek OSI değeri $1,3800 \pm 0,0764$ lik değer ile RH-EGF grubunda saptandı. OSI ortalama değerleri tablo14' de verilmiştir.

4.3.1.4. Gruplar Arasında Biyokimyasal Sonuçlarda 1. Biyopsiler İçin Yapılan Değerlendirme

Birinci biyopside incelenen denek grupları arasında TAS TOS OSI bakımından farklılık incelenmiş sonuçlar tablo 14’ de verilmiştir. Birinci biyopside ortalama TAS, TOS, OSI değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$).

Tablo 14: Birinci Biyopside Denek Gruplarının Tas, Tos, Osi Değişkenleri İçin Anova Test İstatistiği Sonuçları				
Değişkenler	Gruplar	Ortalama ± Standart sapma	Anova Test İstatistiği	p
TAS	A	6,7786±0,3639	572,086	0,001
	K	6,0650±0,2920		
	E	1,6257±0,0586		
	M	3,5438±0,1965		
	S	3,2875±0,1703		
TOS	A	14,9514±0,8201	212,793	0,001
	K	10,8825±0,6022		
	E	22,3871±1,1129		
	M	22,1075±0,9725		
	S	24,6075±1,6955		
OSI	A	0,2243±0,0237	590,233	0,001
	K	0,1800±0,0107		
	E	1,3800±0,0764		
	M	0,6275±0,0531		
	S	0,7513±0,0722		

Gruplar arasında farklılığın hangi gruplar arasında olduğuna karar vermek için yapılan çoklu karşılaştırma testi (multiple comparison tests) sonuçları tablo 15’ te verilmiştir. Tablo 15’ te verilen 1. biyopsideki TAS, TOS, OSI değişkenleri bakımından gruplar arası farklılıklar incelendiğinde her bir denek grubunun incelenen değişkenler bakımından gruplar arasındaki farklar TAS için S-M grupları dışında tüm grup kıyaslamaları; TOS için E-M ve E-S grupları arasında kıyaslama haricindeki tüm grup kıyaslamaları; OSI için ise tüm grup kıyaslamaları istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$)

Tablo 15: Birinci Biyopside Denek Gruplarının TAS,TOS,OSI Değişkenleri İçin Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Tamhane) Sonuçları

Değişken	Gruplar (Tamhane)	Ortalama farkları	p	
TAS	A	K	0,71357*	0,015
		E	5,15286*	0,000
		M	3,23482*	0,000
		S	3,49107*	0,000
	K	A	-0,71357*	0,015
		E	4,43929*	0,000
		M	2,52125*	0,000
		S	2,77750*	0,000
	E	A	-5,15286*	0,000
		K	-4,43929*	0,000
		M	-1,91804*	0,000
		S	-1,66179*	0,000
	M	A	-3,23482*	0,000
		K	-2,52125*	0,000
		E	1,91804*	0,000
		S	0,25625	0,138
S	A	-3,49107*	0,000	
	K	-2,77750*	0,000	
	E	1,66179*	0,000	
	M	-0,25625	0,138	
TOS	A	K	4,06893*	0,000
		E	-7,43571*	0,000
		M	-7,15607*	0,000
		S	-9,65607*	0,000
	K	A	-4,06893*	0,000
		E	-11,50464*	0,000
		M	-11,22500*	0,000
		S	-13,72500*	0,000
	E	A	7,43571*	0,000
		K	11,50464*	0,000
		M	0,27964	1,000
		S	-2,22036	0,098
	M	A	7,15607*	0,000
		K	11,22500*	0,000
		E	-0,27964	1,000
		S	-2,50000*	0,039
S	A	9,65607*	0,000	
	K	13,72500*	0,000	
	E	2,22036	0,098	
	M	2,50000*	0,039	
*: Ortalama farkları arasındaki istatistiki olarak anlamlı değerler				

Tablo 15 Devamı: Birinci Biyopside Denek Gruplarının TAS, TOS, OSI Değişkenleri İçin Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Tamhane) Sonuçları

Değişken	Gruplar (Tamhane)	Ortalama farkları	p	
OSI	A	K	0,04429*	0,018
		E	-1,15571*	0,000
		M	-0,40321*	0,000
		S	-0,52696*	0,000
	K	A	-0,04429*	0,018
		E	-1,20000*	0,000
		M	-0,44750*	0,000
		S	-0,57125*	0,000
	E	A	1,15571*	0,000
		K	1,20000*	0,000
		M	0,75250*	0,000
		S	0,62875*	0,000
	M	A	0,40321*	0,000
		K	0,44750*	0,000
		E	-0,75250*	0,000
		S	-0,12375*	0,018
	S	A	0,52696*	0,000
		K	0,57125*	0,000
		E	-0,62875*	0,000
		M	0,12375*	0,018
*: Ortalama farkları arasındaki istatistiki olarak anlamlı değerler				

4.3.2. Onbeşinci Gün Alınan Biyopsilerin Biyokimyasal Sonuçları:

4.3.2.1. Total Antioksidan Aktivite (Total Antioxidant Status -TAS) Sonuçları:

TAS sonuçlarında gruplar arasındaki değerler 1,77-10,01 mmolTrolox Equivalent/mg protein arasında değişmiştir. En düşük TAS değeri 1,77 mmolTrolox Equivalent/mg protein ile RH-EGF grubunda saptanmıştır. En yüksek TAS 10,01 mmolTrolox Equivalent/mg protein değeri ile sham grubunda saptanmıştır. İkinci biyopsilerin ortalama TAS değeri hesaplandığında en düşük ortalama TAS değeri $1,8829 \pm 0,0883$ mmolTrolox Equivalent/mg protein ile RH-EGF grubunda görülmüştür. En yüksek ortalama TAS değeri $9,4371 \pm 0,4509$ mmolTroloxEquivalent/mg protein ile sham grubunda görülmüştür. TAS ortalama değerleri tablo 16' da gösterilmiştir.

4.3.2.2. Total OksidanAktivite (Total Oxident Status - TOS) Sonuçları:

TOS sonuçlarında gruplar arasındaki değerler 13.49 – 30.65 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein arasında değişmiştir. En küçük TOS değeri 13,49 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein ile kontrol grubunda saptanmıştır. En yüksek TOS değeri ise 30.65 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein ile sığla grubunda saptanmıştır. Ortalama TOS değeri hesaplandığında en düşük ortalama TOS değeri $14,4650 \pm 0,8247$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein olarak kontrol grubunda hesaplanmıştır. En yüksek TOS ortalama değeri ise $27,9400 \pm 1,9235$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein olarak sığla grubunda görülmüştür. TOS ortalama değerleri tablo 16' da gösterilmiştir

4.3.2.3. Oksidatif Stres İndeksi (Oxidative Stress Index- OSI) Sonuçları:

OSI sonuçlarında gruplar arasındaki değerler 0.16-1.57 arasında değişmiştir. En düşük değer kontrol grubunda 0,16 olarak; en yüksek değer 1,57 ile RH-EGF grubundadır. Ortalama OSI değeri hesaplandığında en düşük değer $0,1725 \pm 0,0089$ değer ile kontrol grubunda görülürken, en yüksek OSI değeri $1,4043 \pm 0,1104$ lik değer ile RH-EGF grubunda saptandı. OSI ortalama değerleri tablo 16' da verilmiştir.

4.3.2.4. Gruplar Arasında Biyokimyasal Sonuçlarda 2. Biyopsiler İçin Yapılan Değerlendirme

İkinci biyopside incelenen denek grupları arasında TAS, TOS, OSI bakımından farklılık olup olmadığı incelenmiş olup sonuçlar tablo 16' da verilmiştir. İkinci biyopside ortalama TAS, TOS, OSI değerleri bakımından gruplar arasında denek grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0,05$).

Gruplar arasında farklılığın hangi gruplar arasında olduğuna karar vermek için yapılan çoklu karşılaştırma testi (multiple comparison tests) sonuçları tablo 17' de verilmiştir. Tablo 17' de verilen 2. biyopsideki TAS, TOS, OSI değişkenleri bakımından gruplar arası farklılıklar incelendiğinde her bir denek grubunun incelenen değişkenler bakımından gruplar arasındaki farklar TAS için 2M ve 2S grupları arasında; TOS için 2E ve 2S grupları arasında; OSI için ise 2M ve 2S grupları arasındaki ilişki dışında hepsi için istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

Tablo16: İkinci Biyopside Denek gruplarının TAS, TOS, OSI Değişkenleri İçin Anova Test istatistiği sonuçları

Değişkenler	Gruplar	Ortalama ± Standart sapma	Anova Test İstatistiği	p
TAS	2A	9,4371±0,4509	523,511	0,001
	2K	8,4025±0,3857		
	2E	1,8829±0,0883		
	2M	6,0000±0,2892		
	2S	6,5050±0,3581		
TOS	2A	20,0486±1,0891	126,806	0,001
	2K	14,4650±0,8247		
	2E	26,3586±1,3097		
	2M	23,5700±1,2559		
	2S	27,9400±1,9235		
OSI	2A	0,2129±0,0095	633,776	0,001
	2K	0,1725±0,0089		
	2E	1,4043±0,1104		
	2M	0,3938±0,0297		
	2S	0,4300±0,0453		

Tablo17: İkinci Biyopside denek gruplarının TAS, TOS, OSI değişkenleri için Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Tamhane) Sonuçları

Değişken	Gruplar (Tamhane)	Ortalama farkları	p	
TAS	2A	2K	1,03464*	0,005
		2E	7,55429*	0,000
		2M	3,43714*	0,000
		2S	2,93214*	0,000
	2K	2A	-1,03464*	0,005
		2E	6,51964*	0,000
		2M	2,40250*	0,000
		2S	1,89750*	0,000
	2E	2A	-7,55429*	0,000
		2K	-6,51964*	0,000
		2M	-4,11714*	0,000
		2S	-4,62214*	0,000
	2M	2A	-3,43714*	0,000
		2K	-2,40250*	0,000
		2E	4,11714*	0,000
		2S	-0,50500	0,078
	2S	2A	-2,93214*	0,000
		2K	-1,89750*	0,000
		2E	4,62214*	0,000
		2M	0,50500	0,078

*: Ortalama farkları arasındaki istatistiki olarak anlamlı değerler

Tablo17 Devamı: İkinci Biyopside Denek Gruplarının TAS, TOS, OSI değişkenleri için Post Hoc Çoklu Karşılaştırma (Tamhane) Sonuçları

Değişken	Gruplar (Tamhane)	Ortalama farkları	p	
TOS	2A	2K	5,58357*	0,000
		2E	-6,31000*	0,000
		2M	-3,52143*	0,001
		2S	-7,89143*	0,000
	2K	2A	-5,58357*	0,000
		2E	-11,89357*	0,000
		2M	-9,10500*	0,000
		2S	-13,47500*	0,000
	2E	2A	6,31000*	0,000
		2K	11,89357*	0,000
		2M	2,78857*	0,011
		2S	-1,58143	0,584
	2M	2A	3,52143*	0,001
		2K	9,10500*	0,000
		2E	-2,78857*	0,011
		2S	-4,37000*	0,002
	2S	2A	7,89143*	0,000
		2K	13,47500*	0,000
		2E	1,58143	0,584
		2M	4,37000*	0,002
OSI	2A	2K	,04036*	0,000
		2E	-1,19143*	0,000
		2M	-,18089*	0,000
		2S	-,21714*	0,000
	2K	2A	-,04036*	0,000
		2E	-1,23179*	0,000
		2M	-,22125*	0,000
		2S	-,25750*	0,000
	2E	2A	1,19143*	0,000
		2K	1,23179*	0,000
		2M	1,01054*	0,000
		2S	,97429*	0,000
	2M	2A	,18089*	0,000
		2K	,22125*	0,000
		2E	-1,01054*	0,000
		2S	-0,03625	0,579
	2S	2A	,21714*	0,000
		2K	,25750*	0,000
		2E	-,97429*	0,000
		2M	0,03625	0,579
*: Ortalama farkları arasındaki istatistiki olarak anlamlı değerler				

5. TARTIŞMA

EGF ilk olarak Dr. Stanley Cohen tarafından bildirilmiştir(123,124). RH-EGF, trombositler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılanır ve keratinositler üzerinde parakrin şekilde etki eder (125,126). RH-EGF, epitel hücrelerinin mitozunu ve göçünü uyararak sonuç olarak epitelizasyonu uyarır (127,128). RH-EGF' nin keratinosit göçünü, mitozunu hızlandırdığı ve böylece reepitelizasyonu teşvik ettiği tespit edilmiştir (129-133). Invitro çalışmalar, RH-EGF' nin akut yaralanmadan sonra reepitelyalizasyonu önemli ölçüde hızlandırdığı ve yaralarda gerilme mukavemetini arttırdığı gösterilmiştir (134-137). Kronik yaraların tedavisi için yapılan klinik deneyler, topikal RH-EGF eklenmesinin deri grefti alınan donör iyileşme bölgelerinde, venöz ülserlerde ve diyabetik ayak ülserlerinde epitelizasyonu artırdığını ve iyileşme süresini kısalttığını göstermektedir (138-140). Bizim çalışmamızda da RH-EGF epitelizasyonu artırdığını göstermiştir. RH-EGF epitelizasyonda sham, kontrol gruplarından iyi bulunmuştur. RH-EGF grubunun epitelizasyonda MBKY grubu ile benzer özellik gösterdiği istatistiksel olarak da kanıtlanmıştır. Sığla grubunun epitelizasyonu RH-EGF grubundan daha iyi bulunmuştur. Yapılan bir çalışma RH-EGF grubunun yara iyileşme alanlarındaki azalma miktarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu sonuç RH-EGF 'nin yara iyileşme alanına olan etkisini göstermiştir (141).

Literatürdeki bir çalışmada, histopatolojik incelemede RH-EGF' nin epitelizasyon ve granülasyon dokusunu artırdığı tespit edilmiştir (141). RH-EGF' nin granülasyon dokusuna olan proliferatif etkisinin en fazla olduğu zaman ilk 7 gündür (8). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak RH-EGF grubunda granülasyon dokusu kontrol ve sham grubuna göre fazla bulunmuştur. Bu fazlalık 4. gün biyopsilerinde yüksek miktarda olsa da 15. gün biyopsilerde gerilemiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuç literatür ile uyumludur.

RH-EGF' nin fibronektin sentezini hızlandırarak yara iyileşmesini etkilediği bilinmektedir (142). Fibronektin kollajenin diğer ECM elemanlarıyla bağlanmasını artırır. RH-EGF' nin farelerde cilt kesi yaralarından sonra kollajen liflerinin oluşumunu uyardığı ve gerginliği artırdığı gösterilmiştir (143,144). Bizim çalışmamızda da RH-EGF' nin kontrol ve sham gruplarına kıyasla kollajen miktarını artırdığı gösterilmiştir.

Skar genişliğini ve alanını azaltmada birden fazla faktörün rol oynadığı şüphesizdir. Bunların arasında RH-EGF' nin epitelizasyonu artırmadaki rolü vardır, ancak kasılmanın

arkasındaki anahtar faktör miyofibroblastlardan kaynaklanır. Bu tür miyoblastların, komşu hücrelerden gelen büyüme faktörlerinden etkilendiği bildirilmiştir (145). Literatürde yapılan bir çalışma RH-EGF ile tedavi edilen grupta miyofibroblastların artışını doğrulamıştır. RH-EGF' nin miyofibroblast proliferasyonunun uyarılması yoluyla yara kasılması üzerinde bir etkiye aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle, RH-EGF'nin sadece hızlı epitelizasyonla değil, aynı zamanda yarayı daraltarak yara genişliğini ve alanını azalttığı sonucuna varılabilir (146). Bu veriler ışığında çalışmamızda RH-EGF' nin hem epitelizasyonu artırarak hem de myofibroblastları aktive ederek daha iyi yara kapanmasını sağladığını göstermektedir.

RH-EGF yara oluşumunda önemli rol alan TGF- β 1 ekspresyonunu baskıladığı literatürde gösterilmiştir. TGF- β ' nin doğrudan fibroblastproliferasyonunu hızlandırarak fibrozu indüklediği ve fazla TGF- β 1 ekspresyonunun skar kontraktürü ile birlikte çeşitli fibroz hastalıklarının nedeni olduğu bildirilmiştir (147). Bizim çalışmamızda RH-EGF grubunda fibroblastik aktivitenin az olmasının nedeni olarak RH-EGF' nin TGF- β yı baskılaması örnek gösterilebilir.

RH-EGF parakrin etki ile VEGF-A' nin salınımını artırır (148-150). VEGF' nin 4 subtipi bulunmaktadır. Bunlar VEGF (A,B,C,D,E)' dir. VEGF-A; endotel hücreler, keratinosit, fibroblastlar, düz kas hücreleri, plateletler, nötrofil ve makrofajlardan sentezlenir (151-156).VEGF-A yara iyileşmesi için önemlidir. Çünkü yara iyileşmesi için gerekli olan erken dönem anjiogenez ve endotel hücre göçünü büyük ölçüde VEGF-A sağlar (157-159). VEGF-A endotel hücre proliferasyonunu ve lenfatik kanalların gelişimini artırır (160-165). Hayvan çalışmalarında VEGF-A' nin artmasının iskemik yara dudaklarındaki vaskülarizasyonu artırdığı gösterilmiştir (166-170). İnvitro çalışmalar VEGF-A'nın damar oluşumunu artırarak reepitelizasyonu artırdığını göstermiştir (171). Bizim çalışmamızda RH-EGF' nin yeni damar oluşumunu kontrol ve sham gruplarından daha fazla artırdığı histopatolojik olarak gösterilmiştir (tablo5,tablo 6).

Morina balığı, Gadidae familyasına mensup Gadus cinsi balıkların genel adıdır. İzlanda, Norveç ve Grönland gibi soğuk iklimlerde bolca bulunur. MBKY' yi diğer birçok balık yağından ayıran şey, yağ asidi profili ve yüksek A ve D3 vitaminleri seviyesidir. MBKY derin deniz balıklarının gövdesinden elde edilen balık yağı ile karıştırılmamalıdır (179). MBKY' nin çoklu doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine olan oranı; normal balık yağından daha fazladır (180).

MBKY 1934 den beri yaraların ve yanıkların tedavisinde topikal olarak kullanılmaktadır (77). MBKY poliansature yağ asitlerinden zengin olması sebebiyle stres

nedenli, steroid ve indometazin kullanımına bağlı gelişen mide ülserlerini önlemektedir (80). MBKY mide asit salgısını azaltarak ülser oluşumunu engellediği de gösterilmiştir (181,182). Benzer şekilde, balık yağlarında bol miktarda bulunan E vitamininin de indometazin kullanımına bağlı mide hasarı gelişimini azalttığı bildirilmektedir (183). MBKY mide mukozası üzerine hem hücresel düzeyde koruma göstermiş, hem de mukus bariyerinin salgılanmasını artırdığı için koruyucu bir bariyer oluşturduğu tespit edilmiştir (184). Bu etkinin sebebi olarak MBKY' nin omega-3 bakımından zengin olması gösterilmiştir (185,186). Omega-3 yağ asidi antioksidan etkiye de sahiptir (186). Balık yağı ayrıca ülseratif kolit için diyet takviyesi olarak kullanılmaktadır (187).

Barker ve ark. 1993'te yaptıkları çalışmada göre MBKY' nin diyetle alınmasının yaralanan damarların distalindeki ortamın mikrosirkülasyonu üzerindeki etkisini araştırmıştır. MBKY' nin diyetle verilmesinin kılcal perfüzyonu önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir (188). Bu durum, genel olarak MBKY' nin veya içindeki aktif bileşenlerden birinin (örn: çoklu doymamış yağ asitleri) mikrosirkülasyon üzerinde vazodilatör etkiye sahip olduğunu ve bu sayede yara iyileştirmesini artırdığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda MBKY uygulanan grubun anjiogenezde ve granülasyon dokusu kalınlık düzeyinde kontrol ve sham grubundan daha iyi olduğu RH-EGF grubuyla aynı sonucu verdiği ve sıgla grubundan da daha iyi olduğu görülmüştür (tablo 5, tablo 6).

Raju ve Kulkarni (1998) ve Ramesh ve ark. (1993), A vitamini ve D vitamininin sıçanlarda yara modellerinde epitelizasyonu teşvik ettiğini bildirmiştir (189,190). Bizim çalışmamızda da MBKY' nin kontrol ve sham grubuna göre daha iyi epitelizasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Epitelizasyonda MBKY grubu RH-EGF ile benzer sonuçlar vermiştir. Sıgla yağı grubu epitelizasyon bakımından MBKY grubuna göre daha iyi sonuç vermiştir. MBKY grubu fibroblast proliferasyonunda RH-EGF grubu ile benzer sonuçlar vermiş olup; sıgla grubu kontrol grubu ve sham grubundan daha iyi sonuçlar vermiştir.

Literatürdeki başka çalışmalar da A vitamininin yara iyileşmesinde önemli rol oynadığı göstermiştir (191-193). Brandaleone ve Papper, A vitamini eksikliği olan hayvanlarda MBKY ile yapılan lokal tedavinin daha fazla granülasyon dokusu ve daha hızlı epitelizasyon oluşumu sağladığını gösterdiler (193). Ayrıca A vitamininin neovaskülarizasyon süresini azaltma kabiliyetine sahip olması, MBKY' nin neovaskülarizasyondaki olumlu etkisini açıklayabilir (10). Bizim çalışmamızda MBKY grubunun kollajen oluşumu, epitelizasyon, fibroblast proliferasyonu, anjiogenez, enflamasyon bakımından kontrol ve sham grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Kollajen birikiminde MBKY grubu RH-EGF ve Sıgla grubuna göre daha iyi olduğu tespit

edilmiştir. Ancak VEGF boyamada yeni damar oluşumunda MBKY grubu, RH-EGF ve sığla grubundan geride kalmıştır. MBKY grubu neovaskülarizasyonda kontrol grubuna denk sonuç vermiş olup sham grubuna göre daha iyi sonuç vermiştir. Enflamasyon değerlendirilmesinde MBKY grubu enflamasyon bakımından sığla grubundan daha iyi bulunmuştur.

Ehrlich ve ark., Hunt ve ark. sıçan ve tavşanlarda kortizonun neden olduğu yaralarda, mekanik zayıflamanın; değişen konsantrasyonlarda hem lokal hem de sistemik vitamin A (1500 IU ila 7500 IU) uygulamasıyla tersine çevrilebileceğini göstermiştir (191,192). MBKY merheminin yara iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan bir randomize ve kontrollü deneyde, MBKY' nin küçük kemirgenler üzerindeki tam kalınlıktaki dermal yaralarda hem yara epitelizasyonunu hem de neovaskülarizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (10). Kantitatif klinik çalışmalar, MBKY'nin yanıkların, bacak ülserlerinin ve diyabetik yaraların daha hızlı iyileştiğini göstermiştir (194,195). Literatürde gösterilen bu veriler çalışmamızla örtüşmektedir.

Sığla ağacı Hamamelidaceae ailesine ait Türkiye' de yetişen endemik bir türdür (85). Sığla yağı (Styraxliquids; SL), sığla ağacının kabuğunda meydana gelen yaralanmalar sonucu elde edilen macun kıvamında bir maddedir. Sığla yağının iyi antiseptik özelliği vardır (92). Bölge halkı tarafından antiseptik, topikal antiparazitik, ekspektoran ve bazı cilt ve solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (94,106).

Literatürde göre sığla balsamının epitelizasyon etkisinin esas olarak sinamik asit ve onun esterleri, stirasin, storeinol ve diğer maddelerle ilişkili olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da sığlanın epitelizasyon yeteneği kontrol, sham RH-EGF ve MBKY gruplarına göre daha iyi bulunmuştur. Aynı çalışmada sığla yağı uygulanan grupta granülasyon dokusu kalınlığı tam kat yaralarda 4. ve 8. günlerde diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiş. Literatürde bu sonuç, yara iyileşmesinin proliferasyon aşamasının sığla yağı uygulanan yaralarda daha aktif olmasına bağlanmıştır.(172,173).

Bizim çalışmamızda sığla yağının uygulandığı hayvan grubunda granülasyon tabakası kontrol ve sham gruplarına göre daha kalın görülmüştür. Histopatolojik incelemede sığlanın epitelizasyon kapasitesinin MBKY ve rekombinant insan epidermal büyüme faktörüne kıyasla daha iyi olduğu görülmüştür. Ancak Sığla yağının granülasyon ve anjiogenezdeki etkinliğinde RH-EGF ve MBKY gruplarıyla bir farklılık saptanmamıştır.

Literatürde yapılan çalışmada rat modelinde yanık yarasında sığla yağı gümüş sülfadiazin ve kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır (76). Sonuçlarda sığla yağının yara iyileştirmesini hızlandırdığı görülmüştür. Ayrıca yarada epitelizasyon, enflamasyon, kollajen birikimi, anjiogenez, granülasyon dokusu oluşumu gibi değişkenlerde müsbet sonuçlar doğurduğu görülmüştür. Bu çalışmaya göre yanık yarasında sığlanın etkinliği kanıtlanmıştır.

Bir çalışmaya göre domuzlarda tam kat deri defekti oluşturularak yapılan deney modelinde sığla yağının epitelizasyon ve granülasyon oluşumunu artırdığını ve bu sonucun kontrol grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada sığla yağının etkisinin gümüş sülfodiazinle benzer ama hidrokolloid yara örtüsünden üstün olduğu gösterilmiştir (11).

Bir çalışmada sığla yağının yenidoğan Wistar sıçanlarında beyinde iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (174). Bu çalışma sığlanın topikal uygulamalardan başka patolojiler içinde kullanabileceği fikrini doğurmuştur.

Sığla yağı gastrik patolojilerde iyileştirici olarak kullanılmıştır. Ancak sığla yağındaki bazı maddelerin sığlanın sitotoksik etkisiyle birlikte oksidatif stres kaynağı olabileceğini göstermiştir. Sığlanın bu özelliklerini DNA hasarı üzerinden gerçekleştirdiğini bunun ise sığlanın antimikrobiyal etkisinin kaynağı olduğu vurgulanmıştır (175). Bu yüzden sığlanın sadece antioksidan özelliğini vurgulamak yanlış bir tutum olacaktır. Sığla antioksidan etkisiyle beraber oksidan özelliği de olan bir bitki yağıdır.

Bitki patojenleri üzerine yapılan bir incelemede sığlanın bitki zararlısı olan bazı mantar türlerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Bu antifungal etki sığla içerisinde bulunan sinnamil alkol vvehidroksi sinnamil alkol gibi bileşenlere bağlanmıştır (106).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada sığla yağının *Stap. aureus*, *Metisiline Dirençli E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Stap. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacteria erogenes* gibi mikroorganizmalara karşı etkinliği gösterilmiştir (104).

Literatürde sığla yağının oksidatif etkisini araştıran bir tez çalışmasında sığla yağı ile tedavi edilen grup diğer gruba göre daha düşük TOS seviyeleri gösterdiği görülmüştür (176). Bizim çalışmamızda sığla yağının TOS seviyeleri kontrol ve sham gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak yara bölgesinde oksidatif durum antioksidan durum ile dengede olduğu için bu ortamı oksidatif stres indeksiyle değerlendirmenin daha doğru olacağını düşünmekteyiz. Oksidatif stres indeksine baktığımızda sığla grubunun diğer gruplardan oksidatif stres indeksi olarak daha düşük olduğu görülmektedir. Bu da sığlanın

antioksidan kapasitesinin kendisinin yüksek TOS aktivitesini baskıladığı ve ortamın oksidatif durumunu antioksidan duruma çevirdiğini göstermektedir. Kontrol ve sham gruplarının oksidatif stres indeksi sıgla grubundan daha düşüktür. Literatürde bir çalışmada ratlarda sıgla'nın karaciğer hasarında serbest oksijen radikallerinin etkilerine karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (177). Başka bir çalışmada ratlarda fleplerin iyileşmesinde sıgla yağı uygulanmış, TAS seviyelerinin flep canlılığının yüksek olduğu grupta daha yüksek bulunmuştur (176). Bu çalışmalar sıgla'nın antioksidan kapasitesinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda sıgla grubunun yara iyileşmesi kontrol ve sham gruplarına göre daha iyi bulunmuştur. Bu durum bize tek başına oksidatif stresin yara iyileşmesinde inflamatuvar süreci hızlandırmasından dolayı daha iyi bir yara iyileşmesi sağladığını düşündürmektedir. Antioksidan kapasitesinin yüksekliğine rağmen oksidan kapasitesi de yüksek olan sıgla yağının iki yönlü etki gösterdiği görülmektedir.

Bizim çalışmamızda sıgla'nın TAS seviyesi EGF ve MBKY' ye göre yüksek bulunmuş ancak kontrol ve sham grubuna göre düşük bulunmuştur. Yara iyileşmesi kompleks bir süreç olduğu için biz bu konuda sadece TAS ve TOS düzeylerine bakarak oksidatif stresin durumunu değerlendirmenin uygun olmadığı kanaatindeyiz. Çünkü yara ortamında oksidan ve antioksidan sistem bir denge halindedir. Organizma ortamdaki gerekliliğe göre bu iki durumu dengede tutup en iyi yara iyileşmesini sağlamak zorundadır. Bizim çalışmamızda OSI sonuçları değerlendirildiğinde sıgla'nın RH-EGF grubundan daha düşük OSI sonucu aldığını göstermektedir. Bu durum istatistiki olarak anlamlıdır (tablo 15, tablo 17). Ancak yara iyileşmesi olarak RH-EGF grubu sıgladan daha iyi sonuç vermiştir. Bu sonuç OSI değeri düşüklüğünün yara iyileşmesinde tek başına etkili olmadığını başka faktörlerin de etkili olduğunu göstermiştir. MBKY grubunun sıgladan daha düşük OSI sonucu aldığını da çalışmamızda gösterdik. Ancak Sıgla ile MBKY grubundaki OSI farkı istatistiki olarak anlamlı değildir.

Literatürde sıgla yağının belirli kanser türlerine sitotoksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu durum sıgla'nın doz bağımlı olarak bu etkiyi gösterdiği literatürde belirtilmiştir (178). Çalışmamızda sıgla'nın antioksidan kapasitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak çalışmamızı literatür verileri ışığında incelediğimizde; sıgla'nın sadece antioksidan kapasitesinin değil oksidan kapasitesinin de etkin olduğunu düşündürmektedir. Yara iyileşmesini sadece oksidan-antioksidan sistem üzerinden değerlendirmenin yeterli olmadığı kanaatindeyiz. Çünkü kullandığımız materyaller farklı

ortamda, farklı dozlarda farklı davranışlar göstermektedir. Sıgla yağının oksidatif stres durumuna etkileri ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda elde edilen yara alanlarının değerlendirilmesinde 4. gün biyopsilerde gruplar arasında fark saptanmıştır. Gruplar kendi arasında kıyaslandığında RH-EGF grubu kontrol ve sham grubuna göre daha iyi olduğu saptanmıştır. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır (tablo 8). MBKY grubunda 4. gün biyopsilerinde yara alanlarındaki iyileşme miktarı kontrol ve sham grubuna göre daha iyi olmasına rağmen bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak MBKY grubunun kontrol grubuna göre kıyasında p değeri 0.05 tir. Bu da istatistiğin anlamlılığa çok yakın olduğunu göstergesidir. Sıgla grubunda yara iyileşmesinin 4. gün biyopsilerinde yara iyileşmesi kontrol ve sham gruplarına göre daha iyi olmasına rağmen bu iyilik hali istatistiksel olarak anlamlı değildir. RH-EGF, MBKY ve sıgla gruplarının birbirleri ile olan kıyaslamasında 4. gün yara alanı ortalaması en yüksek olan sıgla'dır (1,78 cm²). Sıgladan sonra 1,63 cm² lik yara alanı ortalamasıyla MBKY grubu gelmektedir. 4. Gün biyopsilerinde yara alanı ortalamalarında en iyi grup 1,50 cm²lik yara alanı ile RH-EGF grubudur. Bu üç grubun da birbirleri ile olan kıyaslamaları istatistiksel olarak anlamsızdır (E-M (p=0.392), E-S (p=0,085), S-M (p=0,355)).

Onbeşinci gün biyopsilerinde tüm gruplar değerlendirildiğinde yara alanı olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır. Bütün grupların kontrol ve sham grubuna göre daha iyi yara alanı kapatması göstermektedir. Bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır (tablo 9). İkinci biyopsilerde grupları kendi arasında kıyasladığımızda RH-EGF ve MBKY grubunun sıgla grubundan daha iyi yara iyileştirmesi gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır (M-S p=0.003, E-S p=0,005) RH-EGF grubunu MBKY grubuyla kıyasladığımızda MBKY grubu yara iyileşmesi ortalamasında RH-EGF' den daha üstün olmasına rağmen bu durum istatistiksel olarak anlamsızdır (P=0,961). Bütün grupların birinci biyopsileri ile ikinci biyopsileri arasındaki fark kıyaslandığında tüm gruplardaki iyileşme miktarı istatistiki olarak anlamlıdır. İyileşme günleri baz alındığında ortalama gün değeri olarak MBKY balığı karaciğer yağı grubu 16,88±1,356 günlük değer ile en hızlı iyileşmenin görüldüğü grup oldu. En yavaş iyileşme sham grubunda 23,29±1,890 görüldü. Grupları birbiri ile kıyasladığımızda RH-EGF tüm gruplardan daha hızlı iyileştirdi. Bu fark MBKY grubu hariç istatistiksel olarak anlamlıydı. RH-EGF ile MBKY grubu arasında istatistiksel olarak yara iyileşme günleri olarak anlamlı fark saptanmamıştır. MBKY grubuyla sıgla grubu kıyaslandığında MBKY grubunun iyileştirme günü olarak sıgladandaha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Bu sonuç istatistiksel olarak

anlamlıdır. Kontrol grubu sham grubuyla kıyaslandığında iyileştirme günü olarak sham grubu kontrol grubundan daha iyi olduğu görülmüştür. Ancak bu durum istatistiksel olarak anlamsızdır.

TAS, TOS ve OSI ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma vardır. Ancak yara iyileşmesi ile ilgili TAS, TOS, OSI'nin kullanıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. Sıgla yağı MBKY ve RH-EGF' nin içinde bulunduğu bir çalışma bulunmamıştır. Sadece bir çalışmada sıgla yağının TAS ve TOS değerine bakılmış ve TAS, TOS, OSI birlikte değerlendirilmemiştir. Literatürde yapılan bu çalışmada ratlarda fleplerin iyileşmesinde sıgla yağı uygulanmış TAS seviyeleriflep canlılığının yüksek olduğu grupta yüksek bulunmuştur (176). Bizim çalışmamızda sıgla'nın TAS seviyesi RH-EGF ve MBKY' ye göre yüksek bulunmuş ancak kontrol ve sham grubuna göre düşük bulunmuştur. Yara iyileşmesi birçok basamağı olan karmaşık bir süreç olduğu için biz bu konuda sadece TAS ve TOS düzeylerine bakarak oksidatif stres durumunu değerlendirmenin uygun olmadığı kanaatindeyiz. Çünkü yara ortamında oksidan ve antioksidan sistem bir denge halindedir. Organizma ortamdaki gerekliliğe göre bu iki durumu dengede tutup en iyi yara iyileşmesini sağlamak zorundadır. Bizim çalışmamızda OSI sonuçları değerlendirildiğinde sıgla'nın RH-EGF grubundan daha düşük OSI sonucu aldığını göstermektedir. Bu durum istatistiki olarak anlamlıdır (tablo15, tablo17). MBKY grubunun sıgladan daha düşük OSI sonucu aldığını çalışmamızda gösterdik. Ancak sıgla ile MBKY grubundaki OSI farkı istatistiki olarak anlamlı değildir. Bu sonuçlar gösteriyor ki sıgla grubunun antioksidan kapasitesinin oksidan kapasitesine olan üstünlüğü diğer gruplara göre daha iyidir. TAS değerleri birinci biyopsilerde kıyaslandığında en yüksek değerler kontrol ve sham grubunda hesaplanmıştır. MBKY ve sıgla grubu RH-EGF' den daha yüksek; kontrol ve shamdan daha düşük değerler göstermiştir. TOS değerlerinde ise en yüksek değer MBKY grubunda görülmektedir. RH-EGF ve sıgla birbirine yakın sonuçlar göstermiştir OSI değerleri kıyaslandığında en yüksek OSI değeri RH-EGF grubunda görülmüştür. MBKY grubunun OSI değeri RH-EGF grubundan düşük sıgla grubundan yüksektir. En düşük OSI değeri kontrol grubunda görülmüştür. Sham grubunun OSI değeri sıgladan daha düşüktür. İkinci biyopsi sonuçlarına baktığımızda birinci biyopsilerle benzer sonuçlar bulduğumuzu görmekteyiz (tablo15, tablo17). Bu sonuçlar değerlendirildiğinde ratların yara iyileşme süreleri ve yara alanları ile TAS, TOS, OSI sonuçları kıyaslandığında RH-EGF grubunun en yüksek OSI değerine sahip olmasına rağmen en hızlı yara iyileşmesini gösterdiği tarafımızca tespit edilmiştir. Bu sonuçla yara iyileşmesinde sadece antioksidan kapasitenin yüksek olmasının yeterli olmadığını göstermektedir. OSI değeri yüksek olmasına rağmen

RH-EGF grubunda yara iyileşmesinin daha iyi olması yara iyileşmesinde oksidatif durumun iyileşmeye katkısının olduğunu da göstergesidir. Özellikle bütün deney gruplarının OSI değerleri kontrol ve sham grubundan yüksek olmasına rağmen yara iyileşme süresinin ve yara alanlarındaki küçülmenin kontrol ve sham grubundan daha iyi olması bu düşüncemizi desteklemektedir. Yara iyileşmesinde kullandığımız RH-EGF, sığla yağı ve MBKY' nin yara iyileşmesinde TAS, TOS, OSI sonuçlarının değerlendirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.



6. SONUÇ

Çalışmalarımız sonucunda sığla yağının MBKY' nin ve RH-EGF' nin yara iyileşmesine olumlu etkileri olduğunu tesbit ettik. Sığla yağının ve MBKY' nin Rh-EGF' ye yakın sonuçlar doğurması bu doğal ürünlerin ilerde yara iyileşmesinde daha etkin kullanılabilceği kanaatini doğurmuştur. Üstelik RH-EGF' nin maliyeti göz önüne alındığında bu moleküle alternatif olma yolunda hem sığla yağı hem de MBKY umut vaat etmektedir. Ancak sığla yağı ve morina balığı karaciğer yağının daha etkin kullanılması için içerdikleri etken maddelerden yara iyileşmesine etki edenlerin tespiti gerekmektedir. Sığla yağının epitelizasyonda, MBKY' nin kollajen sentezinde daha etkili olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar yara iyileşmesinin farklı süreçlerine etkinlikleri tespit edilen bu bitkisel ve hayvansal ürünlerin karışımının daha iyi yara iyileşme sonucu doğurabileceğini düşündürmektedir. Bu doğal ürünlerin klinik uygulamalarda kullanılabilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Orr JW, Taylor PT. Wound healing. In: Complications in gynecological surgery: Prevention, recognition, and management, JB Lippincott, Philadelphia p.167
2. Şengezer M, Selmanpakoğlu N, Duman H, Çetin C. Epidemiological analysis of burn injuries in Gülhane Military Medical Academy Burn Center. *Türk Plast Cer Derg* 1995; 3: 747
3. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004; 9: 283.
4. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1975; 78: 71.
5. Mor-Vaknin N, Punturieri A, Sitwala K, Markovitz DM. Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nat Cell Biol* 2003; 5: 59.
6. Boykin JV, Eriksson E, Pittman RN. In vivo microcirculation of scald burn and the progression of postburn dermal ischaemia. *Plast Reconstr Surg* 1980; 66: 191–8
7. Arturson G. Pathophysiology of the burn wound and pharmacological treatment: the Rudi Hermans Lecture. *Burns* 1996; 22: 255–74
8. Hong JP, Park SW. The combined effect of recombinant human epidermal growth factor and erythropoietin on full-thickness wound healing in diabetic rat model. *Int Wound J* 2014; 11: 373–378
9. Kietzmann M, Braun M. Effects of the zinc oxide and cod liver oil containing ointment Zincojocol in an animal model of wound healing *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2006 Sep; 113(9): 331-4
10. Terkelsen LH, Eskild-Jensen A et al. Topical application of cod liver oil ointment accelerates wound healing: an experimental study in wounds in the ears of hairless mice. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2000 Mar; 34 (1):15-20
11. Oysel H, Teke Z et al. Effects of oriental sweet gum storax on porcine wound healing. *J Invest Surg.* 2012 Aug; 25 (4): 262 70
12. Robbins SL, Kumar B, Cotran R. 6 th ed, Tissue repair: Cellular growth, fibrosis and wound healing. In: Robbins SL. *Pathologic basic of disease.* Philadelphia: WB Saunders, 2000: 46-59
13. Phillips LG. Wound healing. In: Alberts B. *Surgical basic principles.* United States of America: Garland Inc. 1998: 131-143.
14. Genel Cerrahi Cilt-1. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Konu 4. Yara İyileşmesi 2002: 51-59.

15. F. Charles Brunicaardi, Dana K. Andersen, Timothy R. Billiar, David L. Dunn, John G. Hunter, Raphael E. Pollock Schwartz's Principles of Surgery 8th ed, Mc- Graw Hill, 2005; 223-248
16. Schilling JA. Wound Healing. Surgical Clinics of North America 1976; 56: 859- 874.
17. Carrico TJ, Mehrhof Jr. AI, Cohen IK. Biology of Wound Healing. Surgical Clinics of North America 1984; 64: 721-733.
18. Sayek İ. Temel Cerrahi. Engin A. 3. baskı, Ankara 2004; 322-323.
19. Akça T, Öcal K, Yara İyleşmesi ve Yara Bakımı. MEÜ Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ders Notları, 2010: 3-19
20. Robbins SL, Kumar B, Cotran R. 6 th ed, Acut and Chronic İnflammation: Robbins SL. Pathologic basic of disease. Philadelphia: WB Saunders, 2000: 26-45
21. F. Charles Brunicaardi, Dana K. Andersen, Timothy R. Billiar, David L. Dunn, John G. Hunter, Raphael E. Pollock Schwartz's Principles of Surgery 8th ed, Mc- Graw Hill, 2005; 3-43
22. Ausems ME, Hulsew'e KW, Hooymans PM, et al. Postoperative analgesia requirements at home after inguinal hernia repair: effects of wound infiltration on postoperative pain. Anaesthesia. 2007; 62 (4): 325–331.
23. Bagul A, Taha R, Metcalfe MS, et al. Pre-incision infiltration of local anesthetic reduces postoperative pain with no effects on bruising and wound cosmesis after thyroid surgery. Thyroid. 2005;15 (11): 1245–1248.
24. Drucker M, Cardenas E, Arizti P, et al. Experimental studies on the effect of lidocaine on wound healing. World J Surg. 1998; 22(4): 394–398. 52
25. Reddy GK, Enwemeka CS. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. Clin Biochem.1996; 29(3): 225–229.
26. Matthew D, Shoulders and Ronald T. Collagen Structure and Stability Raines Annu. Rev. Biochem. 2009; 78: 929–958.
27. Bornstein, P., & Sage, H. (1980). Structurally Distinct Collagen Types. Annual Review of Biochemistry, 957-1003.
28. Fratzl P, editor. Collagen: Structure and mechanics. New York: Springer International Publishing; 2008.
29. Prockop DJ, Kivirikko KI. Collagens: Molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem. 1995; 64: 403–34.
30. Sato, K., Yomogida, K., Wada T, et al. Type XXVI collagen, a new member of the collagen family, is specifically expressed in the testis and ovary. J Biol Chem. 2002; 277: 376 78–84.

31. Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses (parameters of repair). *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 891-901.
32. Chvapil M, Hameroff SR, O'Dea K, et al. Local anesthetics and wound healing. *J Surg Res.* 1979; 27 (6): 367–371.
33. Nietgen GW, Chan CK, Durieux ME. Inhibition of lysophosphatidate signaling by lidocain and bupivacaine. *Anesthesiology.* 1997; 86(5): 1112–1119.
34. Field FK, Kerstein MD. Overview of wound healing in a moist environment (review). *Am J Surg.* 1994; 167(1A): 2S–6S.
35. Luostarinen V, Evers H, Lytikainen MT, et al. Antitromboticeffects of lidocaine and related compounds on laser induced microvascular injury. *Acta Anesth Scand.* 1981; 9 (1): 25-28
36. Morris T, Appleby R. Retardation of wound healing by procaine. *Br J Surg.* 1980; 67(6): 391–395.
37. Morris T, Tracey J. Lignocaine: its effects on wound healing. *Br J Surg.* 1977; 64(12): 902–905.
38. Bisla K, Tanelian DL. Concentration-dependent effects of lidocaine on corneal epithelial wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992; 33 (11): 3029–3033.
39. Rosenberg PH, Renkoven OV. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine. *Anesthesiology.* 1985; 62 (2): 178–179.
40. Sakuragi T, Ishino H, Dan K. Bactericidal activity of 0,5 % bupivacaine with presentatives on microorganisms in the human skin flora. *Reg Anesth.* 1997; 22 (2): 178–184.
41. Hodson M, Gajraj R, Scott NB. A comparison of the antibacterial activity of levobupivacaine vs. bupivacaine: an in vitro study with bacteria implicated in epidural infection. *Anesthesia.* 1999; 54 (7): 683–702.
42. Guillier M, Boselli E, Bouvet L, et al. Levobupivacaine hydrochloride and sufentanil have no antimicrobial effect at 25 degrees C in vitro. *Eur J Anesthesiol.* 2007; 24(7): 634–639. 53
43. Zink W, Seif C, Bohl JR, et al. The acute myotoxic effects of bupivacaine and ropivacaine after continuous peripheral nerve blockades. *Anesth Analg.* 2003; 97 (4): 1173–1179.
44. Matsota P, Papageorgiou-Brousta M, Kostopanagiotou G. Wound infiltration with levobupivacaine: an alternative method of postoperative pain relief after inguinal hernia repair in children. *Eur J Pediatr Surg.* 2007; 17 (4): 270–274.

45. Gurbet A, BekarA, Bilgin H, et al. Pre-emptive infiltration of levobupivacaine is superior to at-closure administration in lumbar laminectomy patients. *Eur Spine J.* 2008;17 (9): 1237-1241.
46. Nyhus LM, Bombeck CT, Klein MS. Hernias. In: Sabiston DC, editor. *Textbook of Surgery: The biological basis of modern surgical practice.* Philadelphia Saunders Book 1991; 1334-1148.
47. L.P. Gartner, J.L.Hiatt, *Histology, 5 th ed, Mast Cell Development and Distribution,* Philadelphia: WB Saunders, 1997: 98-101.
48. Katz MH, Alvarez AF, Kirsner RS, et al. Human wound fluid from acute wounds stimulates fibroblast and endothelial cell growth. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 1054-1058.
49. P.C.Champe, R. A. Harvey. *Lippincott's İllustrated reviews serisinden: Biyokimya.* Esmâ Gür (Çeviren). 2. baskı, İstanbul; 1997; 38-49.
50. Schneider, M. R., &Wolf, E. (2009). The epidermal growth factor receptor ligands at a glance. *Journal of cellular physiology,* 218(3), 460-466. 41
51. Playford, R. J., Hanby, A. M., Gschmeissner, S., Peiffer, L. P., Wright, N. A., &McGarrity, T. (1996). The epidermal growth factor receptor (EGF-R) is present on the basolateral, but not the apical, surface of enterocytes in the human gastrointestinal tract. *Gut,* 39(2), 262-266.
52. Kelly, EJ, Newell, SJ, Brownlee, KG, Çiftçi, SM, Cullinane, C., Reid, WA, ... & Lagopoulos, M. (1997). Gelişmekte olan midede epidermal büyüme faktörü ve dönüştürücü büyüme faktörü α 'nın rolü: Çocukluk Dönemi Hastalıkları Arşivi- Fetal ve Yenidoğan Sürümü, 76 (3), F158-F162.
53. Patel, T. B., & Bertics, P. J. (Eds.). (2006). *Epidermal growth factor: methods and protocols (Vol. 327).* Springer Science & Business Media.
54. Sibilias, M., Wagner, B., Hoebertz, A., Elliott, C., Marino, S., Jochum, W., ve Wagner, EF (2016). Düzeltme: EGF reseptörü için insanlaştırılmış fareler ciltte, kemikte ve kalpte hipomorfik fenotipler sergiler. *Geliştirme,* 143 (24), 4755-4755.
55. Carpenter, G., & Cohen, S. (1976). Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblasts. *Journal of cellular physiology,* 88(2), 227-237.
56. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *PhysiolRev.* 2003;83:835-70.
57. Martin P. Wound healing aiming for perfect skin regeneration. *Science*1997; 276: 75-81.
58. Podolsky DK. Peptide growth factors in the gastrointestinal tract. In: Johnson LR, Ed. *Physiology of the gastrointestinal tract.* New York: Raven Press; 1994: 129-167.

59. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol.* 2000; 71 (10): 1654-61.
60. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *ImplantDent.* 2001; 10 (4): 225-8.
61. Appel TR, Pöttsch B, Müller J, vonLindern JJ, Bergé SJ, ReichRH,.Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13 (5): 522-8.
62. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 1996;1 9 (1Suppl): 23S-37S.
63. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. *Biology and clinical applications. J Bone Joint Surg Am.* 2002; 84: 1032-44.
64. Milani S, Calabrò A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. *Microsc Res Tech.* 2001; 53: 360-71.
65. Ciacci C, Lind SE, Podolsky DK. Transforming growth factor beta regulation of migration in wounded rat intestinal epithelial monolayers. *Gastroenterology.* 1993; 105 (1): 93-101.
66. Kandel J, Bossy-Wetzel E, Radvanyi F, Klagsbrun M, Folkman J, Hanahan D. Neovascularization is associated with a switch to the export of bFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell.* 1991; 66 (6): 1095- 104.
67. Blotnick S, Peoples GE, Freeman MR, Eberlein TJ, Klagsbrun M. T lymphocytes synthesize and export heparin binding epidermal growth factor like growth factor and basic fibroblast growth factor, mitogens for vascular cells and fibroblasts: differential production and release by CD4+ and CD8+ T cells., s. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91: 2890-94.
68. Galzie Z, Kinsella AR, Smith JA. Fibroblast growth factors and their receptors. *Biochem Cell Biol.* 1997; 75 (6): 669-85.
69. Nimni ME. Polypeptide growth factors: targeted delivery systems. *Biomaterials.* 1997; 18: 1201-25.
70. Read LC, Tomas FM, Howarth GS, Martin AA, Edson KJ, Gillespie CM, Owens PC, Ballard FJ. Insulin-likegrowth factor-I and its N-terminal modified analogues induce marked gut growth in dexamethasone-treated rats. *J Endocrinol.* 1992; 133: 421-31.
71. Marti U, Burwen SJ, Jones AL. Biological effects of epidermal growth factor, with emphasis on the gastrointestinal tract and liver: an update. *Hepatology.* 1989; 9: 126-38.
72. Wright NA, Pike C, Elia G. Induction of a novel epidermal growth factor secreting cell line age by mucosal ulceration in human gastrointestinal stem cells. *Nature.* 1990; 343: 82-5.

73. Perini JA, Angeli-Gamba T, Alessandra-Perini J, Ferreira LC, Nasciutti LE, Machado DE. Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: a histopathological, immunohistochemical and biochemical study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2015; 15: 203.
74. Kamar SS, Abdel-Kader DH, Rashed LA. Beneficial effect of curcumin nanoparticles-hydrogelon excisional skin wound healing in type-I diabeticrat: histological and immunohistochemical studies. *Annals of Anatomy*. 2019; 222: 94–102.
75. Duran A, Yaşar Ş, Aytekin S, Güneş P, Adaleti R, Duran A. Clinical and histopathological evaluation of the effects of platelet rich plasma, platelet poor plasma and topical serum physiologic treatment on wound healing caused by radiofrequency electrosurgery in rats. *Turk Derm-Turk Arch Dermatol Venereology*. 2018; 52: 44-50.
76. Kumral B, Yanık ME, Uygur R, Aktaş C, Emir S, Şener Ü, Aydın M, Erboğa M, Orhan AE, Yılmaz A, Uygur E, Kulaç M. Sıçanlarda yanık yara iyileşmesinde topikal olarak uygulanan sığla yağının etkileri. *NKUBAP.00.20.AR.14.10*. 2015.
77. Lohr, W.: Treatment of Burns with Cod Liver Oil. *Chirurgie*, Berlin, 6, 5, 1934.
78. Zamora A. Fatty acid composition of some common edible fats and oils. [last retrieved on 2005 Oct 16]. Available from: <http://www.scientificpsychic.com>.
79. Wilton P. Cod-liver oil, vitamin D and the fight against rickets. *CMAJ*. 1995;152: 1516–7. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
80. Manjari V, Das UN. Effect of polyunsaturated fatty acids on dexamethasone-induced gastric mucosal damage. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids*. 2000; 62: 85–96. [PubMed] [Google Scholar]
81. Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University, Edinburgh.
82. Örtel., E., (1988) Sığla ormanlarımızın durumu. *Orm. Arşt. Enst. Derg.* cilt 34, sayı 2, no:68, Ankara.
83. Önal, S., Özer, S. 1985. Ülkemizdeki Sığla Yağı üretimi ve Değerlendirilmesindeki Sorunlar. *Orman Ürünleri Endüstri Kongresi (ORENKO)*. Trabzon.
84. Acatay, A. (1963). Sığla Ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.)'nın Türkiye'de Yayılışı, Yeni Tespit Edilen *L. orientalis* var. *Suber* Varyetesi ve Sığla Ağaçlarına Musallat Böcekler, *İ.Ü. Orm. Fak. Dergisi*, Seri A, cilt XIII (2), s. 40–57.
85. Atay, I. (1985). Sığla Ağacının (*Liquidambar Orientalis* Mill) önemi ve Silvikültürel Özellikleri. *GÜ. Orman Fakültesi Dergisi*,. 35, 15-21. Aureli, P., et al. (1992). Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monogytogenes*. *Food Protect*. 55, 344-348.

86. İstek, A., Hafızoğlu, H. (2004). Sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.) odununun anatomik özelliklerinin belirlenmesi. Bartın Or. Fak. Dergisi, Sayı:1.
87. Acar, M.İ., Gemici, Y., Genç, A., Özel, N. (1993). Anadolu Sığla (*Liquidambar orientalis* Mill.) Ormanlarının ve Günümüzdeki Durumu. 2. Uluslararası Ekoloji ve Çevre Sorunları Sempozyumu. Türk-Alman Kültür İşleri Kurulu Yayın Dizisi No: 3 Ankara.
88. Özcan, M., Özkan, G., Özçelik S., Sağdıç, O. (2005). A study on inhibitory effect of sığla tree (*liquidambar orientalis* mill. Var. *Orientalis*) storax againsts several bacteria. *Phytother. Res.* 19: 549-551
89. Efe, A. (1987). "Liquidambar orientalis'in morfolojik ve palinolojik özellikleri üzerine araştırmalar." İst. Univ. Orm. Fak. Derg. Seri A, 37, 2.
90. Top, M., Vujovic, S., Zhang, J. (2007). The health benefits of traditional chinese plant medicines: Weighing the scientific evidence. *Rural Industries Reserarch and Development corparation.* February, 06: 128
91. Duru, M.E., Cakir, A., Harmandar, M., (2002). Composition Of The Volatile Oils İsolated From The Leaves Of *Liquidambar Orientalis* Mill. Var. *Orientalis* And *L.Orientalis* Var. *İntegriloba* From Turkey *Flavour And Fragrance Journal* *Flavour Fragr. J.;* 17: 95-98
92. Hafizoglu, H., et al., 1996. Chemical composition of levant storax. *Holzforschung.* 50, 116-117.
93. İstek, A. (1994). Sığla Yağı (*Storax*)'nın Kimyasal Bileşenleri, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
94. Fernandez, X., (2005). Chemical composition of the essential oils from Turkish and Honduras *Styrax.* *Flavour And Fragrance Journal.* 20, 70-73.
95. Kim, J., Seo, S. M., (2008). Nematicidal Activity of Plant Essential Oils and Components from Coriander (*Coriandrum sativum*), Oriental Sweetgum (*Liquidambar orientalis*), and Valerian (*Valeriana wallichii*) Essential Oils against Pine Wood Nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *J. Agric. Food Chem.* 56, 16.
96. Baytop, T.. (1950). Sur le *Styrax liquidus.* *Pharm. Acta Helv.* 25, 60.
97. Baytop, T., (1984). *Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Post and Present).* İstanbul.
98. Tyler, V.E., et al., (1981). *Pharmacognosy.* Lae & Febiger Publisher, Philadelphia.
99. Fıçıcıoğlu, S. (1988). Saflaştırılmış Sığla Balzamininin Analitik İncelenmesi,. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
100. Guenther, E. (1952). *The Essantial Oil.* Krieger Publishing CO., Malabor, Florida, New York.

101. Aureli, P., et al. (1992). Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monogytogenes*. *Food Protect.* 55, 344-348.
102. Bozkurt, Y., Göker, Y. (1986). *Orman Ürünlerinden Faydalanma Ders Kitabı*. G.Ü. Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul.
103. Gulec, M., et al., (2009). Investigation of vasoactive ion content of herbs used in hemorrhoid treatment in Turkey. *Pak J Pharm Sci.* 22, 187-92.
104. Oskay, M., Sarı, D. (2007). Antimicrobial Screening of Some Turkish Medicinal Plants. *Pharmaceutical Biology.* 45, 176-181.
105. Bayramoğlu, E.E. (2010). Soaking with Storax- Possibility of Using Siğla Tree (*Liquidambar orientalis* Mill. *Var orientalis*) Storax as Bactericide in the Soaking Float. *Jalca.* 105.
106. Lee, Y. S., et al. (2009). Effects of plant essential oils and components from Oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*) on growth and morphogenesis of three phytopathogenic fungi *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 93, 138–143.
107. Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, KHC., Duman, H., Kırimer N. (2002): Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Eskişehir.
108. Aydınöz, M. (2013). Karbon Tetraklorür'ün Karaciğerde Meydana Getirdiği Toksikasyona Karşı *Liquidambar Orientalis*'ten Elde Edilen Ekstrelerin Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi.
109. Acosta JB, Savigne W, Valdez C, Franco N, Alba JS, del Rio A, López-Saura P, et al. 2006. Epidermal growth factor intralesional infiltrations can prevent amputation in patients with advanced diabetic foot wounds. *Int Wound J* 3:232–239 [Google Scholar]
110. Armstrong DG, Lavry LA, Harkless LB. 1998. Validation of a diabetic wound classification system: The contribution of depth, infection, and ischemia to risk of amputation. *Diabetes Care* 21: 855–859[Crossref], [PubMed], [Web of Science ®], , [Google Scholar]
111. Armstrong DG, Lipsky BA. 2004. Diabetic foot infections: Stepwise medical and surgical management. *Int Wound J* 1: 123–132 [Google Scholar]
112. Berlanga J, Savigne W, Valdez C, Franco N, Alba JS, del Rio A, López-Saura P, et al. 2006. Epidermal growth factor intra-lesional infiltrations can prevent amputation in diabetic patients with advanced foot ulcers. *Int Wound J* 3: 232–239 [Google Scholar]
113. Berlanga-Acosta J. 2011. Diabetic lower extremity wounds: The rationale for growth factors based infiltration treatment. *Int Wound J* 8: 612–620 [Google Scholar]
114. Blume P, Driver VR, Tallis AJ, Kirsner RS, Kroeker R, Payne WG, Wali S, et al. 2011. Formulated collagen gel accelerates healing rate immediately after application in

patients with diabetic neuropathic foot ulcers. *Wound Repair Regen* 19:302–308 [Google Scholar]

115. Boyko EJ, Ahroni JH, Stensel V, Forsberg RC, Davignon DR, Smith DG. 1999. A prospective study of risk factors for diabetic foot ulcer: The Seattle diabetic foot study. *Diabetes Care* 22: 1036–1042 [Crossref], [PubMed], [Web of Science ®], , [Google Scholar]

116. Buckley A, Davidson JM, Kamerath CD, Woodward SC. 1987. Epidermal growth factor increases granulation tissue formation dose dependently. *J Surg Res* 43: 322–328 [Crossref], [PubMed], [Web of Science ®], , [Google Scholar]

117. Cinza AM, Quintana M, Lombardero J, Poutou R, Perez E, Tosar LC, Castellanos L, et al. 1991. A batch process for production of human epidermal growth factor in yeast. Product characterization. *Biotechnologia Aplicada* 8: 166–174 [Google Scholar]

118. Cruse PJ, Foord R. 1973. A five-year prospective study of 23,649 surgical wounds. *Arch Surg* 107: 206–210 [Crossref], [PubMed], [Web of Science ®], , [Google Scholar]

119. Kietzmann M, Braun M. Effects of the zinc oxide and cod liver oil containing ointment Zincojocol in an animal model of wound healing *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2006 Sep;113 (9): 331-4

120. M.O. Oztan, Arslan FD, et al. Effects of topical application of platelet-rich plasma on esophageal stricture and oxidative stress after caustic burn in rats: Is autologous treatment possible? / *Journal of Pediatric Surgery* 54 (2019) 1397–1404

121. S.S. Kamar, D. H. Abdel-Kader, et al. Beneficial effect of Curcumin Nanoparticles Hydrogel on excisional skin wound healing in type-I diabetic rat: Histological and immunohistochemical studies - *Annals of Anatomy* 222 (2019) 94–102

122. J.A.Perini, T. Angeli-Gamba Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: a histopathological, immunohistochemical and biochemical study-*BMC Complementary and Alternative Medicine* (2015) 15: 203.

123. Cohen S, Elliott GA. The stimulation of epidermal keratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. *J Invest Dermatol* 1963; 40: 1–5.

124. Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1990; 265: 7709–12.

125. Shiraha H, Glading A, Gupta K, Wells A. IP-10 inhibits epidermal growth factor-induced motility by decreasing epidermal growth factor receptor-mediated calpain activity. *J Cell Biol* 1999; 146: 243–54.

126. Schultz G, Rotatori DS, Clark W. EGF and TGF-alpha in wound healing and repair. *J Cell Biochem* 1991; 45: 346–52.

127. Fisher DA, Lakshmanan J. Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals. *Endocr Rev* 1990; 11: 418-42.

128. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg* 1993; 165: 728-37.
129. Tokumaru S, Higashiyama S, Endo T, Nakagawa T, Miyagawa JI, Yamamori K, Hanakawa Y, Ohmoto H, Yoshino K, Shirakata Y, Matsuzawa Y, Hashimoto K, Taniguchi N. Ectodomain shedding of epidermal growth factor receptor ligands is required for keratinocyte migration in cutaneous wound healing. *J Cell Biol* 2000; 151: 209–20.
130. Ando Y, Jensen PJ. Epidermal growth factor and insulinlike growth factor I enhance keratinocyte migration. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 633–9.
131. Nanney LB. Epidermal and dermal effects of epidermal growth factor during wound repair. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 624–9.
132. Reiss M, Sartorelli AC. Regulation of growth and differentiation of human keratinocytes by type beta transforming growth factor and epidermal growth factor. *Cancer Res* 1987; 47 (24 Pt 1): 6705–9.
133. Massague J, Pandiella A. Membrane-anchored growth factors. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 515–41.
134. Brown GL, Curtsinger LJ, White M, Mitchell RO, Pietsch J, Nordquist R, von Fraunhofer A, Schultz GS. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF-beta. *Ann Surg* 1988; 208: 788–94.
135. Hockel M, Schlenger K, Doctrow S, Kissel T, Vaupel P. Therapeutic angiogenesis. *Arch Surg* 1993;128: 423–9.
136. Jelkmann W. Biology of erythropoietin. *Clin Investig* 1994;72 (6Suppl): S3–10.
137. Goodnough LT, Monk TG, Andriole GL. Erythropoietin therapy. *N Engl J Med* 1997;336:933–8.
138. Brown GL, Nanney LB, Griffen J, Cramer AB, Yancey JM, Curtsinger LJ III, Holtzin L, Schultz GS, Jurkiewicz MJ, Lynch JB. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *N Engl J Med* 1989; 321: 76–9.
139. Falanga V, Eaglstein WH, Bucalo B, Katz MH, Harris B, Carson P. Topical use of human recombinant epidermal growth factor (Rh-EGF) in venous ulcers. *J Dermatol Surg Oncol* 1992; 18: 604–6.
140. Viswanathan V. A phase III study to evaluate the safety and efficacy of recombinant human epidermal growth factor (REGEN-D 150) in healing diabetic foot ulcers. *Wounds* 2006; 18: 186–96.
141. Young Seok Kim¹, Dae Hyun Lew¹, Kwan Chul Tark¹, Dong Kyun Rah¹, and Joon Pio Hong, Effect of Recombinant Human Epidermal Growth Factor Against Cutaneous Scar Formation in Murine Full-thickness Wound Healing, *J Korean Med Sci* 2010; 25: 589-96

142. Mimura Y, Ihn H, Jinnin M, Asano Y, Yamane K, Tamaki K. Epidermal growth factor induces fibronectin expression in human dermal fibroblasts via protein kinase C δ signaling pathway. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1390-8.
143. Lorenz HP, Longaker MT. Wound healing: Repair biology and wound and scar treatment. In: Mathes SJ, editor. *Plastic surgery*, 2nd ed, vol 1. Philadelphia: Saunders 2006; 209-35.
144. Dang CM, Beanes SR, Soo C, Ting K, Benhaim P, Hedrick MH, Lorenz HP. Decreased expression of fibroblast and keratinocyte growth factor isoforms and receptors during scarless repair. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111: 1969-79.
145. Liu M, Warn JD, Fan Q, Smith PG. Relationships between nerves and myofibroblasts during cutaneous wound healing in the developing rat. *Cell Tissue Res* 1999; 297: 423-33.
146. Baek RM, Song YT, Baek SJ, Lee JH, Im TG, Yoon BH. Effects of the recombinant human epidermal growth factor on full thickness wound of the rat skin. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 2003; 30: 201-8.
147. Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralizing antibody to TGF β 1,2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *J Cell Sci* 1994; 107: 1137-57.
148. Frank S, Hubner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 1995; 270: 12607-13.
149. Brogi E, Wu T, Namiki A, Isner JM. Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only. *Circulation* 1994; 90: 649-52.
150. Stavri GT, Zachary IC, Baskerville PA, Martin JF, Erusalimsky JD. Basic fibroblast growth factor upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in vascular smooth muscle cells. Synergistic interaction with hypoxia. *Circulation* 1995; 92: 11-4.
151. Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z. Wound macrophages express TGF- α and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping. *Science* 1988; 241: 708-12.
152. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol* 1998; 152: 1445-52.
153. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Stanley A, Ingham E, Walters C, Selby PJ. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 1998; 77: 956-64.
154. Gaudry M, Bregerie O, Andrieu V, El Benna J, Pocard MA, Hakim J. Intracellular pool of vascular endothelial growth factor in human neutrophils. *Blood* 1997; 90: 4153-61.

155. Berse B, Brown LF, Van de Water L, Dvorak HF, Senger DR. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol Biol Cell* 1992; 3: 211–20.
156. Jazwa A, Loboda A, Golda S, Cisowski J, Szelag M, Zagorska A, Sroczynska P, Drukala J, Jozkowicz A, Dulak J. Effect of heme and heme oxygenase-1 on vascular endothelial growth factor synthesis and angiogenic potency of human keratinocytes. *Free Radic BiolMed* 2006; 40: 1250–63.
157. Yebra M, Parry GC, Stromblad S, Mackman N, Rosenberg S, Mueller BM, Cheresh DA. Requirement of receptorbound urokinase-type plasminogen activator for integrin alphavbeta5-directed cell migration. *J Biol Chem* 1996; 271: 29393–9.
158. Suzuma K, Takagi H, Otani A, Honda Y. Hypoxia and vascular endothelial growth factor stimulate angiogenic integrin expression in bovine retinal microvascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1028–35.
159. Senger DR, Ledbetter SR, Claffey KP, Papadopoulos-Sergiou A, Peruzzi CA, Detmar M. Stimulation of endothelial cell migration by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor through cooperative mechanisms involving the alphavbeta3 integrin, osteopontin, and thrombin. *Am J Pathol* 1996; 149: 293–305.
160. Morbidelli L, Chang CH, Douglas JG, Granger HJ, Ledda F, Ziche M. Nitric oxide mediates mitogenic effect of VEGF on coronary venular endothelium. *Am J Physiol* 1996; 270 (1 Pt 2): H411–5.
161. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189: 824–31.
162. Goto F, Goto K, Weindel K, Folkman J. Synergistic effects of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on the proliferation and cord formation of bovine capillary endothelial cells within collagen gels. *Lab Invest* 1993; 69: 508–17.
163. Watanabe Y, Lee SW, Detmar M, Ajioka I, Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) delays and induces escape from senescence
164. Gerber HP, McMurtrey A, Kowalski J, Yan M, Keyt BA, Dixit V, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 30-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation. *J Biol Chem* 1998; 273: 30336–43.
165. Hong YK, Lange-Asschenfeldt B, Velasco P, Hirakawa S, Kunstfeld R, Brown LF, Bohlen P, Senger DR, Detmar M. VEGF-A promotes tissue repair-associated lymphatic vessel formation via VEGFR-2 and the alpha1beta1 and alpha2- beta1 integrins. *FASEB J* 2004; 18: 1111–3.

166. Walder CE, Errett CJ, Bunting S, Lindquist P, Ogez JR, Heinsohn HG, Ferrara N, Thomas GR. Vascular endothelial growth factor augments muscle blood flow and function in a rabbit model of chronic hindlimb ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 91–8.
167. Bauters C, Asahara T, Zheng LP, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Site-specific therapeutic angiogenesis after systemic administration of vascular endothelial growth factor. *J Vasc Surg* 1995; 21: 314–24; discussion 324–5.
168. Bauters C, Asahara T, Zheng LP, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Physiological assessment of augmented vascularity induced by VEGF in ischemic rabbit hindlimb. *Am J Physiol* 1994; 267 (4 Pt 2): H1263–71.
169. Takeshita S, Pu LQ, Stein LA, Sniderman AD, Bunting S, Ferrara N, Isner JM, Symes JF. Intramuscular administration of vascular endothelial growth factor induces dose-dependent collateral artery augmentation in a rabbit model of chronic limb ischemia. *Circulation* 1994; 90 (5 Pt 2): II228–34.
170. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994; 93: 662–70.
171. Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, Bhatt KA, Callaghan M, Bastidas N, Bunting S, Steinmetz HG, Gurtner GC. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am J Pathol* 2004; 164: 1935–47.
172. Khan IA, Abourashed EA. *Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics*, 3rd ed. New Jersey, NJ: Wiley; 2010:1–635.
173. Mani H, Sidhu GS, Singh AK. Enhancement of wound healing by shikonin analogue 93/637 in normal and impaired healing. *Skin Pharmacol Physiol*. 2004; 17: 49–56.
174. Zhang M, Ma Y, Chai L, Mao H, Zhang J, Fan X. Storax Protected Oxygen- Glucose Deprivation/Reoxygenation Induced Primary Astrocyte Injury by Inhibiting NF-kappaB Activation in vitro. *Frontiers in pharmacology*. 2018; 9: 1527.
175. Karadeniz B, Ulker Z, Alpsoy L. Genotoxic and cytotoxic effects of storax in vitro. *Toxicology and industrial health*. 2013;29(2):181-6.
176. Usta A, Sıçanlarda Random Deri Flebi Yaşayabilirliğine Sığla Yağının Etkisinin Araştırılması Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2020
177. Suzek H, Celik I, Dogan A, Yildirim S. Protective effect and antioxidant role of sweetgum (*Liquidambar orientalis*) oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Pharmaceutical biology*. 2016; 54 (3): 451-7
178. Nalbantsoy A, Karış M, Karakaya L, Akgül Y. Antioxidant, cytotoxic and iNOS activity of *Liquidambar orientalis* Mill. resin extracts. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2016; 41(3): 198-205.

179. Hutchinson DB. Fish liver oil v. fish oil. *Can Med Assoc J* 1988; 139: 1037–1037.
180. Hornstra G. Influence of dietary fish oil on arterial thrombosis and atherosclerosis in animal models and in man. *J Intern Med* 1989; 225: 532–559.
181. Güzel C, Ulak G, Sermet A, Çiçek R, Ulak M. Effect of fish oil on indometacin-induced gastric lesions in rats. *Arzneimittel for schung*. 1995;45: 1172–3. [PubMed] [Google Scholar]
182. Riber C, Wojdemann M, Bisgaard T, Ingels H, Rehfeld JF, Olsen O. Fish oil reduces gastric acid secretion. *Scand J Gastroenterol*. 1999; 34: 845–8. [PubMed] [Google Scholar]
183. Zaror-Behrens G, Mueller R, Greselin E, Behrens WA. Lack of vitamin E cytoprotective effects on indomethacin-induced gastric lesions. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1991; 72: 327–35. [PubMed] [Google Scholar]
184. Khare S., Asad M., Dhamanigi S. S., and Prasad V. S., Antiulcer activity of cod liver oil in rats, *Indian J Pharmacol*. 2008 Oct; 40(5): 209–214
185. Bhattacharya A, Ghosal S, Bhattacharya SK. Effect of fish oil on offensive and defensive factors in gastric ulceration in rats. *Food Chem Toxicol*. 1995; 33: 553–8. [Google Scholar]
186. Hasan E, Ersin F, Salih O, Sadik S, Birsen O, Omer A, et al. Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids*. 2004; 71: 149–52. [PubMed] [Google Scholar]
187. Stenson WF, Cort D, Rodgers J, Burakoff R, DeSchryver-Keckskemeti K, Gramlich TL, et al. Dietary supplementation with fish oil in ulcerative colitis. *Ann Intern Med*. 1992; 11: 609–14. [PubMed] [Google Scholar]
188. Barker JH, Gu JM, Anderson GL et al. The effect of heparin and dietary fish oil on embolic events and the microcirculation downstream from a small-artery repair. *Plast Reconstr Surg* 1993; 91: 335–343.
189. Raju, S.S. and Kulkarni, D.R. (1986): Vitamin A reverses the wound-healing suppressant effect of cyclophosphamide. *Indian Journal of pharmacology* 18: 154 – 157.
190. Ramesh, K.V., Mahindrakar, M.B. and Bhat, E.P. (1993): A new role for vitamin D: cholecalciferol promotes dermal wound strength and re-epithelization. *Indian Journal of Experimental Biology* 31: 778-779.
191. Ehrlich HP, Traver H, Hunt TK. Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. *Ann Surg* 1973; 177: 222–227.
192. Hunt TK, Ehrlich HP, Garcia JA, Dunphy JE. Effect of vitamin A on animals and man. *Ann Surg* 1969; 170: 633 -640.

193. Brandaleone H, Papper E. The effect of the local and oral administration of cod liver oil on the rate of wound healing in vitamin A-deficient and normal rats. *Ann Surg* 1941; 114: 791–798.
194. Brandaleone H. The effect of the direct application of cod liver oil upon the healing of ulcers of the feet in patients with diabetes mellitus. *Ann Surg* 1938; 108: 141–152.
195. Steel JP. The cod-liver oil treatment of wounds. *Lancet* 1935; August: 290–292.



