



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ FATİH SULTAN MEHMET
SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOğİ KLİNİğİ**

**SIçANLARDA OLUşTURULAN YARA MODELİ İYİLEşMESİNDE
VAKUM YARDIMLI KAPAMA İLE KOMBİNE KULLANILAN
TOPIKAL PROBİYOTİK VE TÜRE-SPEFİSİK MİKROBİYOTANIN
İYİLEşME ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Mehmet Berke Yuşan

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL / 2024



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ FATİH SULTAN MEHMET
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN YARA MODELİ İYİLEŞMESİNDE
VAKUM YARDIMLI KAPAMA İLE KOMBİNE KULLANILAN
TOPIKAL PROBİYOTİK VE TÜRE-SPEFİSİK MİKROBİYOTANIN
İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Mehmet Berke Yuşan

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Bekir Eray Kılınç

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL / 2024

TEŞEKKÜR

Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğinde almış olduğum uzmanlık eğitimi boyunca her zaman desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden çok şey öğrendiğim hastanemiz başhekimini değerli hocam sayın Doç. Dr. Barış Yılmaz'a;

Uzmanlık eğitimim süresince bilgisi, titizliği ve çalışkanlığıyla örnek aldığım, eksik kaldığım konularda gelişmem için beni sürekli öğrenmeye ve araştırmaya teşvik eden, tezimde ve bilimsel çalışmalara katılmamda büyük emekleri olan kliniğimizin eğitim sorumlusu ve tez danışmanı hocam sayın Doç. Dr. Bekir Eray Kılınç'a;

Uzmanlık eğitimine başladığım günden itibaren cerrahi kabiliyetlerimin gelişmesinde büyük katkıları olan, yanına herhangi bir şey için gittiğimde hiç geri çevirmeden samimiyetle ilgilenen kliniğimizin idari sorumlusu kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Ahmet Onur Akpolat'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimimdeki katkılarından ötürü hep minnettar kalacağım kliniğimizin birbirinden değerli uzmanlarına, daha önce birlikte çalışma fırsatı bulduğum ve tecrübelerinden faydalandığım hocalarıma, uzmanlarıma ve kıdemlilerime teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin histopatolojik değerlendirmesi sürecinde desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Alev Cumbul'a, her aşamadaki katkıları için SFA AR-GE ekibine ve Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezine çok teşekkür ederim.

Yıllardır omuz omuza çalıştığım, geceyi gündüzü beraber geçirerek bu yolu yürüdüğüm ve hep iyiliklerini gördüğüm kardeşlerime, asistan arkadaşlarıma ayrı ayrı çok teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, emekleri sayesinde büyüyüp yetiştiğim daimi öğretmenlerim anneme ve babama; varlığından güç aldığım biricik kardeşim Çayka'ya; anlayışı, desteği ve sevgisi ile en büyük destekçim olan canım eşim İlkay'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe	4
2.2. Yara ve Yara İyileşmesi	6
2.3. Yara İyileşmesinin Evreleri	6
2.3.1. Hemostaz ve İnflamasyon	6
2.3.2. Proliferasyon	8
2.3.3. Maturasyon ve Yeniden Şekillenme	9
2.4. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinler.....	11
2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	13
2.6. Vakum Yardımlı Kapama (VYK)	14
2.6.1. Tarihçe	14
2.6.2. Genel Prensipler ve Etki Mekanizması	15
2.7. Probiyotikler	17
2.7.1. Tarihçe	17
2.7.2. Probiyotikler ve Etki Mekanizmaları	18
2.7.3. Probiyotiklerin Kullanım Alanları	19
2.8. Mikrobiyota	21
2.8.1. Tarihçe	21
2.8.2. Mikrobiyotanın Gelişimi ve İşlevleri	21
2.8.3. Mikrobiyotayı Etkileyen Faktörler	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Etik Kurul.....	25
3.2. Çalışma Planı	25
3.2.1. Deney Hayvanları	25
3.2.1.1. Deney Hayvanı Sayılarının Belirlenmesi.....	25

3.2.1.2. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı	25
3.2.2. Deney Gruplarının Belirlenmesi	25
3.2.3. Cerrahi Teknik	26
3.2.4. Cerrahi Sonrası Takip	33
3.2.5. Sakrifikasyon	34
3.3. Değerlendirme Parametreleri	36
3.3.1. Makroskopik Değerlendirme	36
3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme	37
3.3.3. İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR	39
4.1. Makroskopik Bulgular	39
4.2. Histopatolojik Bulgular	44
4.3. İstatistiksel Bulgular	50
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇLAR	66
7. KAYNAKLAR	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

VYK: Vakum Yardımlı Kapama

HMP: İnsan Mikrobiyom Projesi

M.Ö.: Milattan Önce

PGE: Prostoglandin E

ECM: Ekstrasellüler Matriks

GAG: Glikozaminoglikan

MMP: Matriks Metalloproteinazlar

PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

TGF- β : Transforme Edici Büyüme Faktörü- β

IGF-1: İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü- 1

VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

TGF- α : Transforme Edici Büyüme Faktörü- α

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

HA: Hiyalüronik Asit

NSAİİ: Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar

NBYT: Negatif Basıncı Yara Tedavisi

NK: Natural Killer

IL: İnterlökin

IgA: İmmünglobulin A

NBYT: Negatif Basıncı Yara Tedavisi

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Yara iyileşmesinde görev alan bazı büyüme faktörleri.

Tablo 2: Yara iyileşmesinde görev alan bazı sitokinler.

Tablo 3: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.

Tablo 4: Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar.

Tablo 5: Mikrobiyotayı etkileyen faktörler.

Tablo 6: Oluşturulan deney grupları ve uygulanacak işlemler.

Tablo 7: Epidermal organizasyon skorlaması.

Tablo 8: Granülasyon seviyesi skorlaması.

Tablo 9: Anjiyogenez skorlaması.

Tablo 10: Grupların dağılımları.

Tablo 11: Sadece VYK kullanılan grubun (Grup 1) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.

Tablo 12: Sadece probiyotik kullanılan grubun (Grup 2) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.

Tablo 13: VYK ile topikal probiyotik kullanılan (Grup 3) grubun her kontroldeki yara alanı ölçümleri.

Tablo 14: VYK ile türe-spesifik mikrobiyota kullanılan grubun (Grup 4) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.

Tablo 15: Yara kontraksiyon yüzdesinin gruptaki değişimi.

Tablo 16: Yara kontraksiyon yüzdesinin gruptaki değişiminin grafik incelemesi.

Tablo 17: Sadece VYK kullanılan grubun histopatolojik skorları.

Tablo 18: Sadece topikal probiyotik kullanılan grubun histopatolojik skorları.

Tablo 19: VYK ile topikal probiyotik uygulanan grubun histopatolojik skorları.

Tablo 20: VYK ile türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grubun histopatolojik skorları.

Tablo 21: Grupların histopatolojik skorlarının grafik incelemesi.

Tablo 22: Gruplara göre histopatolojik skorların karşılaştırılması.

Tablo 23: Gruplarda epidermal organizasyon skorlarının dağılımı.

Tablo 24: Gruplarda granülasyon kalınlığı skorlarının dağılımı.

Tablo 25: Gruplarda anjiyogenez skorlarının dağılımı.

Tablo 26: Gruplarda toplam hasar skorlarının dağılımı.

Tablo 27: Gruplara göre yara alanı değişimlerinin karşılaştırılması.

Tablo 28: Gruplarda yara alanlarının değişimlerinin grafik incelemesi.

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Ebers Papirüsü'nün bir sayfası.

Şekil 2: Yara iyileşmesinin inflamasyon evresi.

Şekil 3: Yara iyileşmesinin proliferasyon evresi.

Şekil 4: Yara iyileşmesinin evrelerine şematik bir genel bakış.

Şekil 5: VYK sistemini oluşturan parçalar.

Şekil 6: VYK'nın etki mekanizmalarından makrodeformasyon.

Şekil 7: VYK etki mekanizmasının şematik gösterimi.

Şekil 8: Sprague Dawley cinsi erkek sıçan.

Şekil 9: Deneklerin dorsal bölgesinin tıraşlanması.

Şekil 10: Oluşturulacak yara modelinin ölçüm ve işaretlemeleri.

Şekil 11: Dermis ve epidermis dahil olacak şekilde tam kat kesinin yapılması.

Şekil 12: Oluşturulan yara modeli.

Şekil 13: Deneklere VYK (vakum yardımcı kapama) uygulanması.

Şekil 14: Yara bölgesine topikal probiyotik ürünün tatbiki.

Şekil 15: Probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota preparatlarının topikal kullanımı.

Şekil 16: Deneklerin takip edildiği tek bireylik kafesler ve laboratuvar ortamı.

Şekil 17: Eksize edilecek sahanın işaretlenmesi.

Şekil 18: Farklı deney gruplarından alınmış eksizyon materyalleri.

Şekil 19: Başlangıçtaki yara alanlarının ölçekle birlikte kayıt altına alınması.

Şekil 20: Dijital ortamda yara çaplarının ölçülmesi.

Şekil 21: Sadece VYK kullanılan grubun (Grup 1) yara çapı takipleri.

Şekil 22: Sadece topikal probiyotik kullanılan grubun (Grup 2) yara çapı takipleri.

Şekil 23: VYK ile birlikte topikal probiyotik uygulanan grubun (Grup 3) yara çapı takipleri.

Şekil 24: VYK ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grubun (Grup 4) yara çapı takipleri.

Şekil 25: Deney gruplarının karşılaştırmalı olarak Masson Trikrom ile boyanmış histolojik görüntüleri.

Şekil 26: Deney gruplarının karşılaştırmalı olarak Hematoksilen- Eozin ile boyanmış histolojik görüntüsü.

ÖZET

Amaç: Sıçanlarda oluşturulan yara modelinde vakum yardımcı kapama (VYK) ile birlikte kullanılan topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyotanın yara iyileşmesi üzerindeki etkisini incelemek.

Metot: Çalışmamızda 24 adet erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar eşit dört gruba ayrılarak birinci grup kontrol grubu seçildi ve oluşturulan yara modeline sadece vakum yardımcı kapama (VYK) uygulandı. İkinci grup sıçanlarda oluşturulan yara modeline ise yalnızca topikal probiyotik tatbik edildi. Üçüncü grup sıçanlarda oluşturulan yara modelinde VYK ile birlikte topikal probiyotik, dördüncü grup sıçanlarda ise VYK ile birlikte topikal türe-spesifik mikrobiyota uygulandı. Tüm grupların dördüncü, yedinci ve onuncu gününde kontrol görüntüleri alınıp yara bakımları yapıldı ve kapama materyalleri değiştirildi. Takiben tüm gruplar onuncu günde sakrifiye edilerek örnekler alındı ve oluşturulan yara modelinin iyileşme düzeyleri makroskopik ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Makroskopik ve histopatolojik değerlendirmeler sonucunda, VYK kullanılan diğer tüm gruplarda yapılan yara alanı takiplerinde VYK kullanılmayan topikal probiyotik grubuna göre yaraların daha hızlı küçüldüğü ve iyileşmenin daha iyi olduğu, VYK ile birlikte topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grupların histopatolojik olarak diğer gruplara anlamlı derecede üstün olduğu gösterildi. ($p<0,01$; $p<0,05$)

VYK ile birlikte topikal probiyotik kullanılan grup histopatolojik skorlar açısından VYK ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota kullanılan gruba üstünlük göstermektedir. Makroskopik yara alanı ölçümlerinde ise üstünlük VYK ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota kullanılan gruptadır. Ancak bu iki grup arasında her iki parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ($p=1,000$; $p>0,05$)

Sonuç: Çalışmamızda VYK uygulamasıyla birlikte topikal probiyotik veya türe-spesifik mikrobiyotanın tedaviye eklenmesinin yara iyileşmesi sürecinde olumlu etkileri olduğunu gösterdik. Ancak yara iyileşmesinde orta ve uzun dönem sonuçların ortaya konulması adına daha fazla, daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle günlük cerrahi pratikte yara tedavisinde bir standart oluşturulması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Yara iyileşmesi, vakum yardımcı kapama, probiyotik, mikrobiyota, sıçan modeli

ABSTRACT

Aim: The aim of our study is evaluating the effect of topical probiotics and species-specific microbiota used with Vacuum-assisted closure (VAC) on wound healing in a wound model created in rats.

Methods: Twenty four male Sprague Dawley rats were used in our study. The rats were divided into four equal groups, the first group was selected as the control group, and only Vacuum-assisted closure (VAC) was applied to the created wound model. Only topical probiotics were applied to the wound model created in the second group of rats. In the wound model created in the third group of rats, topical probiotic was applied with VAC, and in the fourth group of rats, topical species-specific microbiota was applied with VAC. On the fourth, seventh and tenth days of all groups, control images were taken, wound care was performed and the covering materials were changed. Subsequently, all groups were sacrificed on the tenth day, samples were taken and the healing levels of the created wound model were evaluated macroscopically and histopathologically.

Results: As a result of macroscopic and histopathologic evaluations, it was shown that the wound shrunk faster and healed better in the wound area follow-ups performed in all other groups using VAC compared to the topical probiotic group without VAC, and the groups in which topical probiotic and species-specific microbiota were applied together with VAC were significantly superior to the other groups histopathologically. ($p<0,01$; $p<0,05$)

The group using topical probiotic with VAC was superior to the group using species-specific microbiota with VAC in terms of histopathologic scores. In macroscopic wound area measurements, the group using species-specific microbiota with VAC was superior. However, no statistically significant difference was found between these two groups in both parameters. ($p=1,000$; $p>0,05$)

Conclusion: In our study, we have demonstrated that the addition of topical probiotics or species-specific microbiota to the VAC treatment has positive effects on the wound healing process. However, further and larger-scale studies are needed to reveal medium and long-term results in wound healing. It should be taken into consideration that a standard should be established in wound treatment, especially in daily surgical practice.

Key words: Wound healing, Vacuum assisted closure, probiotics, microbiota, rat model

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara, cilt ve mukozayı oluşturan dokuların anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün kaybolması halidir. Yaralanmadan sonraki amaç, doku bütünlüğünün tekrar sağlanması ve dokunun yaralanma öncesi haline geri döndürülmesidir. Yara iyileşmesi hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, revaskülarizasyon, reepitelizasyon, granülasyon ve remodelling gibi aşamaları içeren kompleks ve multifaktöryel bir süreçtir (1). Tarihin ilk zamanlarından itibaren hem geleneksel hem de modern tıbbın en çok üzerinde durduğu konulardan biri olan yaranın iyileşme süreci Ortopedi ve Travmatolojinin ve birçok cerrahi branşın günlük pratiğinde önemli yer tutmaktadır. Bozulmuş veya uzamış yara iyileşmesi süreci, hastaya fizyolojik ve psikolojik etkileri haricinde tedavi maliyetini artıran bir durumdur (2). Yara iyileşmesinde hedef girişte zikredilen aşamalara müdahale edilerek sürecin hızlandırılması, daha etkin hale getirilmesidir. Yapılacak tedavilerin basit, kolay ulaşılabilir, yaygın uygulanabilir ve maliyet-etkin yöntemler olması gerekmektedir.

Bugün geline nokta akut ve kronik yaralara, diyabetik yaralara ve bası ülserlerine, cerrahi insizyonlara bağlı yaralara yönelik tedavi protokollerinde genelgeçerlik yoktur. Yapılan çalışmalar ve kullanılan tedavi yöntemleri bir standart oluşturmaktan uzaktır.

Vakum yardımcı kapama (VYK), özellikle son yıllarda yara tedavisinde sıkça tercih edilen bir uygulamadır. Negatif basınç mekanizmasıyla yara tedavisinin tarihi oldukça eskilere dayansa da modern haliyle VYK tedavisi 1990'lı yılların başında gözenekli poliüretan bir sünger ve mekanik vakum sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. (3). O tarihten bu yana açık ve kontamine yaralarda, kronik yaralarda cerrahi debridman sonrası ek tedavi yöntemi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Negatif basınç mekanizmasıyla çalışan sistemin özellikle yara kontraktilitesini artırarak farklı yara çeşitlerinde granülasyonu hızlandırıcı ve enfeksiyonu azaltıcı etkisi gösterilmiş, mekanik ve fizyolojik mekanizmalarla yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği birçok klinik çalışmayla ortaya konmuştur (4). Ortopedi ve Travmatoloji pratiğinde de sıkça kullanılmasının yanında VYK tedavisi bir *panacea* addedilmemelidir. Endikasyonları, kullanım yöntemleri ve biyoteknolojik gelişmeler ile birlikte ele alınmalıdır (5). Literatürdeki çalışmalar tarandığında VYK tedavisinin sıklıkla tek başına uygulandığı görülmektedir. VYK ile kombine yara tedavileri kullanılarak yapılan çalışmaların sayısı görece çok az olsa da çalışmalarda elde edilen sonuçlar yara tedavilerinin geleceği açısından umut vericidir (6,7).

Probiyotikler, uygun ve yeterli miktarda uygulandıklarında konakçının florası üzerinde biyolojik değişikliklere yol açarak ona fayda sağlayan canlı organizmalardır. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkileri çok geniş bir çerçevede değerlendirilebilir. *Bifidobacterium*, *Saccharomyces* ve *Lactobacillus* gibi probiyotik türleri üzerinde çokça çalışılmış ve bu canlı mikroorganizmaların türlü sağlık sorunlarının tedavisinde kullanımının etkileri araştırılmıştır. Özellikle gastrointestinal sistem sorunlarında, nörolojik, psikiyatrik ve dermatolojik patolojilerin tedavisinde, Ortopedi ve Travmatoloji alanında probiyotiklerin etkileri son dönemde birçok çalışmada incelenmiştir (8).

Probiyotiklerin yara iyileşmesindeki rolleri oldukça önemlidir. Özellikle, inflamasyonu azaltarak ve lokal homeostazı etkileyerek yara iyileşmesini hızlandırdıkları gösterilmiştir (9). Probiyotikler kollajen konsantrasyonunu artırarak, anjiyogenezi uyararak ve granülasyonu hızlandırarak yara iyileşmesindeki etkilerini gösterirler. Patojen bakterilerle besin maddeleri ve konak hücrelerindeki bağlanma bölgeleri için rekabet ederek, toksin ve metabolitleri inaktive ederek, antimikrobiyal maddeler üreterek konak immün yanıtı uyararak etkili olurlar (10). Faydalı probiyotik türleri yara tedavileri için yeni bir potansiyele işaret etmektedir. Probiyotikler üzerine yapılan araştırmaların günbegün artması ve insan sağlığında oynadıkları rol ele alındığında yara tedavilerinde bütünleştirici bir unsur olarak değerlendirilmesi kaçınılmaz olmaktadır. Ancak, probiyotiklerin etkilerinin rejim, doz ve suş-bağımlı incelenmesi gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır. Literatürde topikal probiyotiklerin yara iyileşmesine etkilerini inceleyen birçok çalışma olmasına karşın VYK sistemi ile kombine edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır (9).

2007 yılında başlatılan İnsan Mikrobiyom Projesi (HMP), mikrobiyotanın insan sağlığı ve hastalıklar üzerindeki etkisini incelemeyi hedeflemiş ve bu proje doğrultusunda elde edilen sonuçlarla “mikrobiyota” kavramının çeşitli hastalıkların tedavilerinde faydalı kullanımı ortaya konmuştu (11). Mikrobiyota, insan vücudunda bulunan ökaryot veya prokaryot simbiyotik, kommensal, patojenik mikroorganizmaların tamamını tanımlar. Başladığı günden itibaren HMP ve devamındaki bilimsel araştırmalar ışığında insan vücudunu kolonize eden mikroorganizmaların etkilerinin incelenmesi anlamında bir rönesansa tanıklık ediyoruz. Mikrobiyota ve genomlarını ifade eden mikrobiyom kavramı; hastalıkların patogenezi anlamada, gidişatını göstermede ve yeni terapötik yaklaşımlar oluşturmadaki rolleri açısından dikkat çekicidir (12). Mikrobiyotanın bozulmasının, yani disbiyozisin birçok hastalığa sebep olabileceği gösterilmiştir. Bu hastalıklar arasında kardiyovasküler ve solunumsal rahatsızlıklar,

diyabet, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, siroz ve hepatit gibi karaciğer rahatsızlıkları ve kanser bulunmaktadır (13). Ortopedi ve Travmatoloji pratiğinde mikrobiyotanın osteoporoz, osteoartrit, osteomyelit ve periprostetik eklem enfeksiyonu, kırık iyileşmesi ile ilgili etkilerinin incelendiği çalışmalar mevcuttur (14).

Cilt ve ciltte oluşan yara mikrobiyotasını meydana getiren organizmalar çoğunlukla polimikrobiyal biyofilm şeklinde organize olurlar. Bu biyofilm organizasyonu ve polimikrobiyal ortam yara iyileşmesinin gecikmesine neden olur. Ancak cilt ve intestinal mikrobiyotadaki bazı kommensal türlerin patojenlerin etkisini inhibe edebildiği ve yara iyileşmesine olumlu etki edebildiği gösterilmiştir (15). Mikrobiyotanın konak ile arasındaki ambivalan ilişkinin analizi ve cilt mikrobiyotasının restore edilerek yara iyileşmesi sürecinin hızlandırılması yara tedavilerinde yeni terapötik çözümlerin adresi olmuştur. Türe-spesifik mikrobiyota uygulamasının VYK gibi negatif basınçlı yara tedavileriyle kombinasyonuna dair herhangi bir çalışma mevcut değildir. Yaptığımız literatür taramasında topikal probiyotik ve mikrobiyota uygulamalarının VYK ile birlikte yara iyileşmesi sürecine etkilerinin gösterildiği *in vivo* bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız bu açıdan literatürde ilk olma özelliğini taşımaktadır.

Çalışmamızın hipotezi olarak, yara iyileşmesinde etkileri literatürde ayrıca araştırılmış ve gösterilmiş olan VYK ile topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota tedavilerinin kombine uygulamalarının yara iyileşmesini hızlandıracağını, makroskopik ve histopatolojik olarak süreci olumlu etkileyeceğini ön görüyoruz.

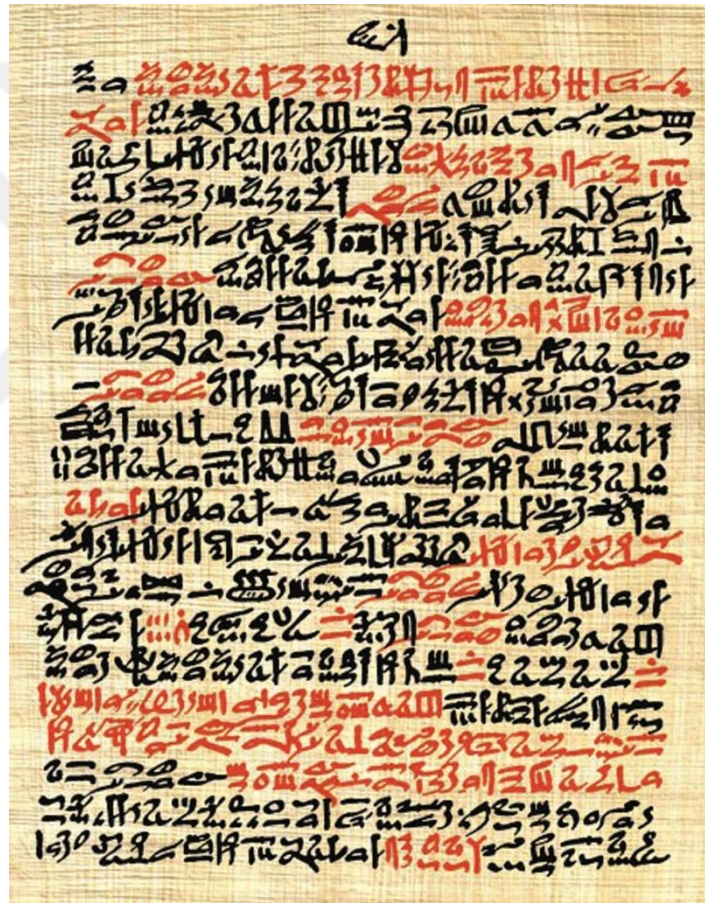
Çalışmamızın amacı, sıçanlarda oluşturan yara modelinde VYK ile birlikte topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota uygulamasının yara iyileşmesine etkilerinin makroskopik ve histopatolojik parametrelerle incelenerek gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Yara tedavisinin tarihi, bir anlamda insanlık tarihidir. İnsanoğlunun bildiği en eski tıbbi el yazmalarından biri, M.Ö. 2200 yıllarına ait olduğu düşünülen Sümerlerin bir kil tabletidir. Bu tablet belki de ilk defa iyileşmenin üç başlığına işaret etmiştir: Yarayı yıkamak, yaranın üzerini kapatmak ve yarayı sarmak (16).

M.Ö. 1600'lü yıllarda antik Mısır'daki hekimlerin açık yarayı tedavi ettiklerini, yara tiplerini sınıflandırdıklarını ve bunlara yönelik tedavi yöntemlerini tartıştıklarını meşhur Ebers ve Edwin Smith papirüslerinden görüyoruz (Şekil 1) (17, 18).



Şekil 1: Ebers Papirüsü'nün bir sayfası (17).

Antik dönemde yara bakımında yaygın olarak çamur veya kil, şifalı olduğu düşünülen otlar, yağ, bal, tiftik ve bira gibi maddeler kullanılmıştır. Birçok uygarlıkta yara bakımında kullanılan maddelerin benzer olması dikkat çekicidir (19).

Antik Yunanlıların da tıp ve yara tedavisine katkısı önemlidir. M.Ö. 200’lü yıllarda Hipokrat koleksiyonunda yaranın cerrahi drenajına yer verilmiştir. Bir Yunan berber tarafından M.Ö. 280 yılında icat edilen şırınganın yaralara sıvı enjeksiyonu ve cerrahi drenajda kullanıldığı not edilmiştir (20). Diğer bir yandan Yunanlar yara bakımında temizliğin önemini vurgulamışlar ve önceden kaynatılmış temiz su, sirke ve şarapla yaranın yıkanmasını önermişlerdir. Aynı zamanda akut ve kronik, enfekte ve temiz yara ayrımını yapmışlardır. Hem Hipokrat hem de Galen yarayı iki farklı şekilde tanımlamıştır: Birincisi temiz ve kuru, kolayca iyileşen; ikincisi kirli ve iyileşmesi için drenaj gerektiren yaralar. Ancak Bergamalı Galen’e atfedilen *pus bonum et laudabile* nazariyesi nedeniyle “irin” çok uzun yıllar boyunca yara iyileşmesi için gerekli ve olumlu değerlendirilmiştir (21, 22).

Romalı Aulus Cornelius Celsus meşhur “De Medicina” serisinin bir kitabında yara iyileşmesini ele almıştır. Yine inflamasyonun dört temel belirtisinin tanımı da Romalılardan gelmiştir: *rubor et tumor cum calore et dolore* (23, 24).

On dokuzuncu yüzyılda I. Semmelweis (1818-1865) ve L. Pasteur (1822- 1895) öncülüğünde “hastalık yapan mikrop” teorisi yaygınlaşmaya başlamıştır. Dr. Joseph Lister’in (1827-1912) antisepsi kuramı ve yarayı iyileştirmede fenol (karbolik asit) emdirilmiş pansuman malzemelerinin kullanması büyük bir atılımdı. Bu tarihten sonra antibiyotiklerin kullanılmaya başlaması ile enfeksiyonlar kontrol altına alınmış ve enfeksiyon kaynaklı ölüm oranları giderek azalmıştır (25).

Yirminci yüzyıla ve akabinde günümüze gelindiğinde artık modern yara tedavisinden bahsedebiliyoruz. Neredeyse beş bin yıl önce tarif edilen yara bakımı ilkeleri nesilden nesile aktarılacak ve geliştirilerek bugünkü halini almıştır. Artık binlerce yara bakım ve pansuman ürününden, hiperbarik oksijen tedavisinden, probiyotiklerden ve biyomühendislik ürünü negatif basınçlı sistemlerden faydalıyoruz.

Özetle, girişte belirtildiği gibi yara tedavisi tarihi insanlık tarihi kadar eskidir. Ve insanoğlu var oldukça yara iyileşmesi ile ilgili çalışmalar sürecektir.

2.2. Yara ve Yara İyileşmesi

Yara, en sade tanımıyla, cilt ve mukozayı oluşturan dokuların anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün kaybolması halidir. Yaralar, travmalar veya cerrahi insizyonlara bağlı ya da yanıklar gibi yaygın doku harabiyetiyle meydana gelebilir. Laserasyon, kontüzyon, hematoma ve sair durumlar da yara oluşmasına zemin hazırlayabilir (26). Yara oluşmasının hemen akabinde yara iyileşmesi cevabı başlar. Amaç, doku bütünlüğünün tekrar sağlanması ve dokunun yaralanma öncesi haline geri döndürülmesidir. Yara iyileşmesi, birçok hücre tipinin, sitokin ve mediyatörlerin rol aldığı kompleks ve multifaktöryel bir süreçtir. Yara tipleri, iyileşmenin süresine göre akut ve kronik yaralar olarak iki alt grupta incelenebilir. İyileşmenin sekiz haftadan uzun sürdüğü yaralar kronik yara olarak adlandırılır.

Yara iyileşmesi ise primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere ayrılır. Primer iyileşme, laserasyon ve cerrahi insizyon gibi yaraların 12-24 saat içinde kapatılması ile gerçekleşir. Bu iyileşme tipinde yara kenarları sütürler, bantlar ve mekanik cihazlar yardımıyla doğrudan tamir edilir. Sekonder iyileşme ise daha büyük travmalarda, geniş doku kayıpları varlığında söz konusudur. Yara kenarları karşılıklı olarak tamirle yaklaştırılmaz. Spontan iyileşme reepitalizasyon, kontraksiyon ve granülasyonla olur. Tersiyer iyileşme ise gecikmiş primer iyileşme olarak değerlendirilir. Genellikle kontamine olan ve ilk başta sekonder iyileşmeye bırakılan yaranın sonrasında temiz halde primer kapatılması olarak tanımlanabilir (26, 27).

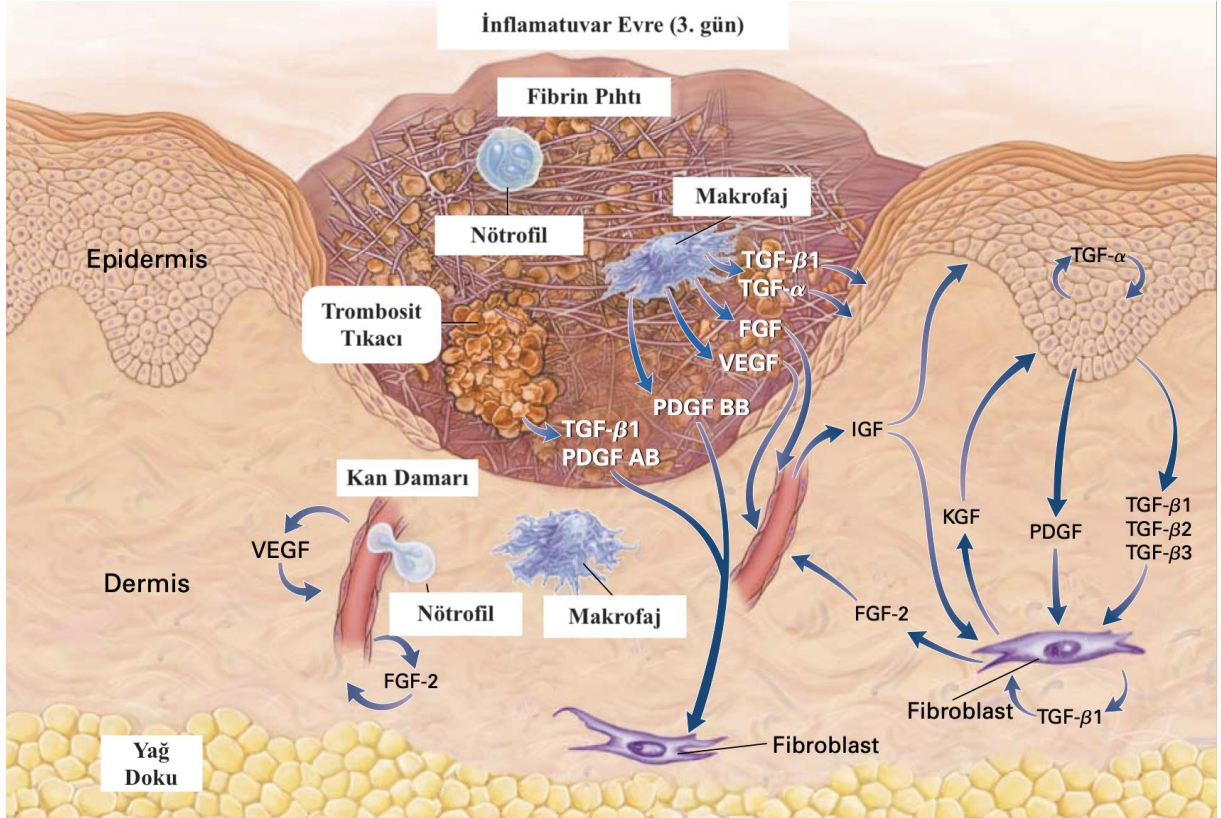
2.3. Yara İyileşmesinin Evreleri

Yara iyileşmesinin evreleri şunlardır: Hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon, maturasyon ve remodelling (yeniden şekillenme).

2.3.1. Hemostaz ve İnflamasyon

Yaralanmayı takiben doku ve kan damarlarının bütünlüğü bozulmasıyla kanama meydana gelmekte, kan bileşenleri damar dışına çıkmaktadır. Bu kanamanın kontrolü için yara iyileşmesindeki ilk fizyolojik yanıt hemostazdır (28). Damarlarda vazokonstriksiyon ile kısa süreli hemostazın sağlanmasının ardından süreç trombosit agregasyonu ve koagülasyon ile devam eder. Trombositlerin degranülasyonu sonrası ortama birçok mediyatör ve faktörler salınır. İnflamasyon fazını başlatacak olan hücresel yanıt bu faktörlerin salınmasıyla başlamış olur (29).

İlk vasküler yanıt olan lokal vazokonstriksiyonun ve hemostazın sağlanmasının ardından trombositler ve mast hücrelerinden salınan vazoaktif mediyatörler vazodilatasyona ve vasküler geçirgenlik artışına sebep olur. Bu sayede eksüdasyonun başlaması ile yara bölgesinde kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve ağrı gelişmesiyle inflamasyon ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2: Yara iyileşmesinin inflamasyon evresi (30).

İnflamasyon, yarayı onarıma hazır hale getirmek için gelişen bir reaksiyondur. İnflamatuvar mediyatörler ve kemotaktik ajanların salınmasıyla dokuya nötrofil göçü başlar. Nötrofiller, yara bölgesine ilk gelen lökositlerdir. Yaralanmadan sonra 24-48 saat içinde sayıları pik seviyeye ulaşır. Nötrofillerin vazifesi yara bölgesindeki bakterileri, ölü dokuları ve yabancı cisimleri fagosit etmektir. Sahip oldukları proteazlar ve salgıladıkları PGE sayesinde denatüre olmuş ECM elemanlarının ve nekrotik dokuların yıkılmasında rol alırlar (30).

Üçüncü günden sonra nötrofil sayısı azalırken monosit ve makrofajların sayısı artmaya başlar. 48-72. Saatlerde makrofaj sayısı en yüksek seviyelere ulaşır. Dolaşımdaki monositler yara yerine geldiği zaman aktive olarak makrofajlara dönüşür. Makrofajlar yara iyileşmesinde çok önemlidir. Salgıladıkları proinflatuvar peptidler, sitokinler ve büyüme faktörleri ile inflamasyonu devam ettirirler. Makrofaj kaynaklı sitokinler epitelizasyon, anjiyogenez, fibroblast ve kollajen oluşumu ile ilişkilidir (29, 30).

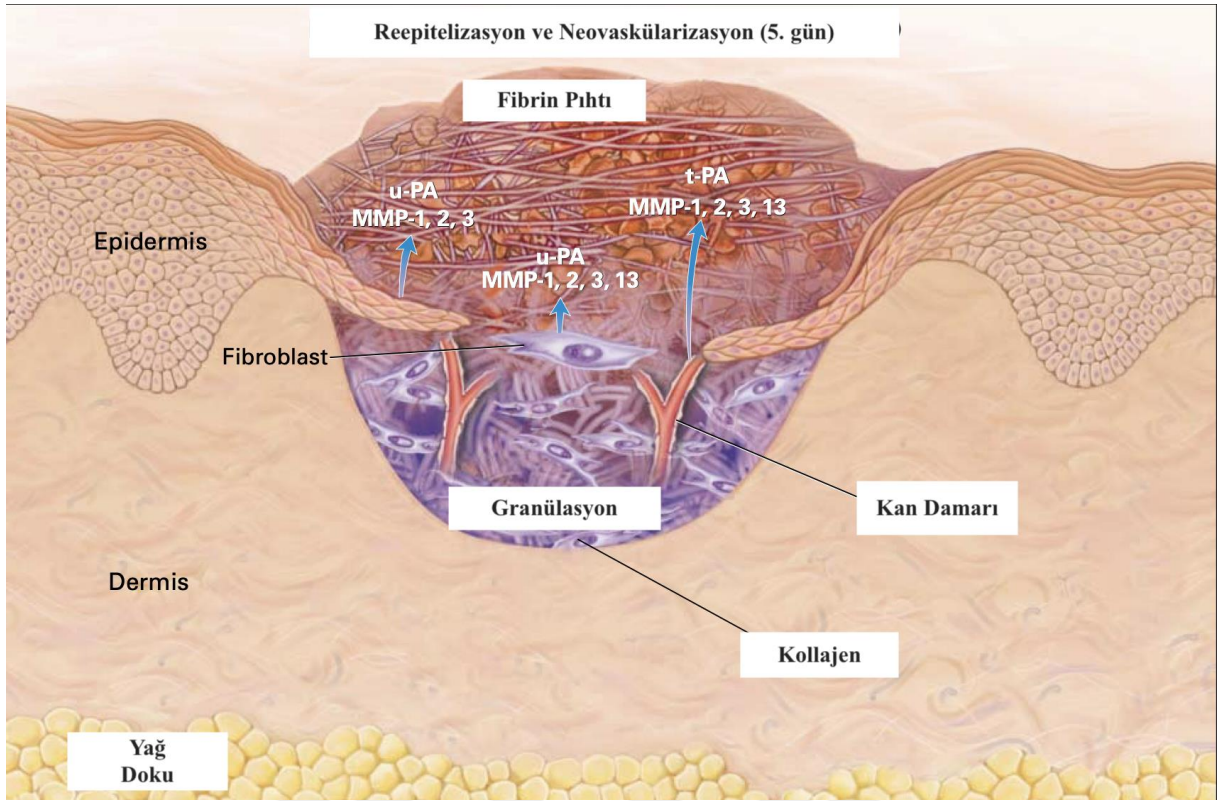
Yara bölgesine en son lenfositlerin gelmesiyle salınan ve fibroblastların aktivasyonunda rol oynayan sitokinler sayesinde ECM ve kollajen oluşumu sağlanır. Lenfositlerin yarada baskın hale gelmesi inflamatuvar evreden proliferatif evreye geçişin başlangıcı olur. İnflamasyon evresi, uzamasına neden olacak herhangi bir sebep yoksa ortalama 3-5 gün içinde sona ermektedir. Aşırı kontamine yaralarda bu evre uzamakta, iyileşme gecikmekte, makrofaj uyarımı ve skar dokusu artmaktadır (31).

2.3.2. Proliferasyon

Yaralanmadan sonraki 3-5. Günlerde inflamatuvar fazın bitmesi ve nekrotik dokuların, yabancı cisimlerin, enfeksiyonun ortadan kalkmasıyla iyileşmenin ikinci evresi olan proliferatif evre başlar (32). Proliferatif evre yaklaşık ikinci haftaya kadar sürer ve fibroplazi, anjiyogenez, granülasyon, epitelizasyon, kollajen sentezi gibi aşamaları ihtiva eder. Bu evrenin tipik oluşumu ve yara iyileşmesinin en önemli göstergesi granülasyon dokusudur. Bu doku fibroblast, fibronektin, hyaluronik asit, kollajen ve yeni oluşan kapiller damarlardan müteşekkil gevşek bir dokudur (33).

Fibroblastlar, trombosit ve makrofajlardan salınan sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkisiyle proliferate olurlar. Yara iyileşmesi sürecinde fibroblastların esas görevleri kollajen ve ECM ürünlerinin sentezlenmesidir. Kollajen oluşumu takriben 3.-5. Günlerde başlar. Kollajen tip 1 ve tip 3 yara iyileşmesindeki önemli kollajen tipleridir (34).

Makrofajlar ve trombositlerden salınan sitokinler anjiyogenezi başlatmakta da etkilidir. Endotel hücrelerinden yeni damarlar oluşması anlamına gelen anjiyogenez hücre hasarı ve hipoksiyle uyarılır.



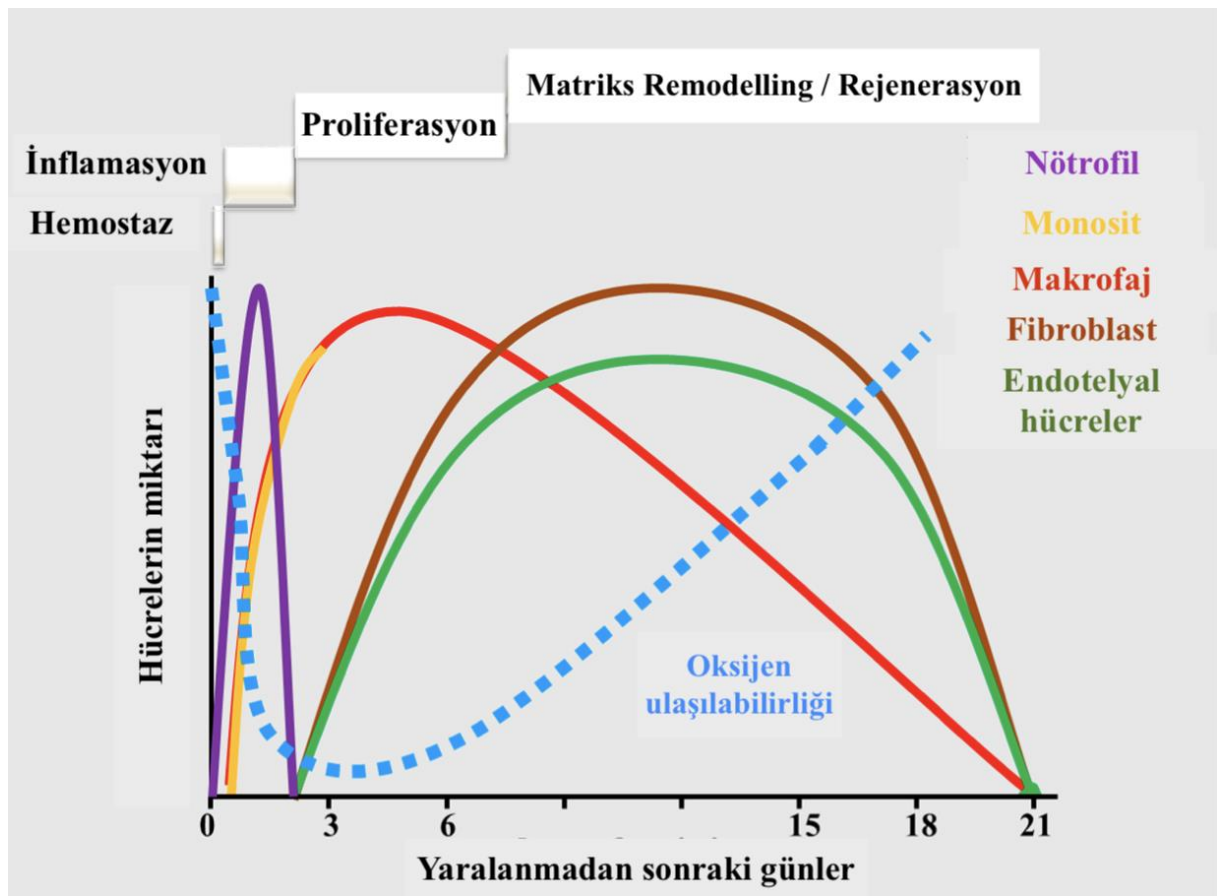
Şekil 3: Yara iyileşmesinin proliferasyon evresi (30).

Epidermis, dışarıya sıvı kaybını ve içeriye bakteri geçişini engelleyen çok önemli bir bariyerdir. Cilt tabakalarının en dışında yer alır. Yaralanmadan sonra bu bariyer özelliğin tekrar kazanılması amacıyla epitel hücrelerinin göçü, çoğalması, organize olması ve keratinize olma süreci epitelizasyon olarak adlandırılır. Bu süreçte keratinositler, fibronektin, kollajenaz ve diğer proteazlar görev almaktadır (28, 35). Aynı zamanda fibroblastların miyofibroblastlara transformasyonu ile yara kontraksiyonu ve GAG sentezi de bu evrede başlamaktadır. GAG'lar kollajen lifler ile birlikte ECM'nin ana yapısını teşkil ederler.

2.3.3. Maturasyon ve Yeniden Şekillenme

Yara iyileşmesinin son ve en uzun evresi olan remodelling (yeniden şekillenme) evresi maturasyon, kontraksiyon ve skar dokusu ile karakterizedir. Yaranın ECM ve fibroblastlar arasındaki etkileşim sonucu kontrakte olması, doku kalınlığını ve nizami olmayan skar oluşumunu azaltmada en önemli aşamadır. Maturasyon evresinde fibroblastların sayısı azalır, kollajen üretimi dengeye ulaşır, epitelizasyon tamamlanır, yara gerim direnci artar ve sonuçta iyileşmiş skar dokusu oluşur. Skar dokusu proliferatif evredeki granülasyon dokusunun yerini almıştır (36, 37).

Mezenkimal kökenli fibroblastlardan sentezlenen kollajenler, normal cilt ve granülasyon dokusunda olduğu gibi, olgulanmış skarda da en önemli bileşendir. Vücuttaki proteinlerin %25'ini, skar dokusundakilerin ise %50'sini oluştururlar. Kollajen sentez ve yıkımı büyüme faktörleri ve metallerproteinazlar ile dengede tutulur. Kollajenin birikimi ve organizasyonu bu evrenin temel olayıdır. Yara onarımında görev alan kollajenler tip 1 ve tip 3 kollajenlerdir (38). Yara iyileşmesinde en son evre yara gerilim direncinin oluşmasıdır. Yarada gerilim direnci evresi 7.-21. Günler başlayıp 12 aya kadar sürmektedir. Maturasyon ise iki yıl kadar devam edebilir (39).



Şekil 4: Yara iyileşmesinin evrelerine şematik bir genel bakış. Hemostaz ve inflamasyon evresinde nötrofiller ve makrofajlar hakimken, proliferasyon evresinde fibroblastlar ve endotel hücreleri baskındır (40).

2.4. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

Yara iyileşmesi cildin bariyer özelliğinin restorasyonunu hedefleyen kompleks ve multisellüler bir süreçtir. Bu süreç trombositlerin, makrofajların, endotel hücrelerinin, fibroblastların ve daha birçok hücrenin koordine çalışabilmesiyle meydana gelir. Yaranın iyileşebilmesi için bu hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu, infiltrasyonu ve farklılaşması gerekir. Bu aşamaların düzenlenmesini sinyal mediyatörü olarak görev yapan polipeptid yapıdaki büyüme hormonları ve sitokinler sağlarlar (41). Büyüme faktörleri etkisini parakrin, otokrin ve endokrin olarak gösterebilirler. Yara iyileşmesine katılan bazı büyüme faktörleri şunlardır: PDGF, TGF- β , IGF-1, VEGF, FGF, TGF- α , EGF.

PDGF trombositlerden, makrofaj ve monositlerden, endotel hücrelerinden salgılanır. Esas olarak kemoatraktan ve mitojenik aktivitesiyle önem teşkil eder. Nötrofil, makrofaj ve fibroblastların yaranın sahasına gelmesi ve proliferasyonundan sorumludur. Remodelling (yeniden şekillenme) evresinde özellikle kollajenaz miktarını artırmaları önemlidir. Hiyalüronik asit ve fibronektin sentezini de stimüle ederler. Birçok deney hayvanı çalışmasında PDGF'nin yara iyileştirici etkisi gösterilmiştir (42, 43).

TGF- β trombosit, makrofaj, nötrofil veya lenfosit kaynaklı olabilir. Yara iyileşmesinin tüm safhalarında görev alır. Makrofajların ve fibroblastların kemotaksisini ve proliferasyonunu uyarır. Kollajen sentezinin en önemli stimülanıdır. Anjiyogeneze ve yara kontraksiyonunda etkilidir.

VEGF, keratinosit ve makrofaj kaynaklıdır. VEGF-A alt tipi neovaskülarizasyon ve anjiyogenezin esas düzenleyicisidir. Hipoksik koşullarda VEGF salınımı uyarılır, özellikle iskemik yaralarda kullanımının etkinliğine dair deney hayvanı çalışmaları mevcuttur (44, 45).

FGF trombositlerden, hasarlı endotel hücrelerinden, makrofaj ve fibroblastlardan salgılanır. Vasküler geçirgenlik artışında ve neovaskülarizasyonda etkilidir. Bu etkilerinde endotel proliferasyonunu uyarmaları önemlidir.

EGF, trombositlerden ve makrofajlardan salgılanır. Endotel ve fibroblastların kemotaksisinde rol alır. Kollajenaz stimülanıdır ve anjiogeneze etkilidir. Reepitelizasyonu ve kollajen üretimini düzenler. EGF'nin topikal uygulanmasının yara iyileşmesindeki hızlandırıcı etkisi birçok çalışmada gösterilmiş ve özellikle diyabetik ayak ülserlerinde EGF içeren yara örtüleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (46, 47).

Büyüme Faktörü	Kaynaklandığı Hücreler	Görevi
PDGF	Trombosit, makrofaj, monosit, endotel	Kemoatraktan, mitojenik, proliferasyon, kollajenaz artışı, HA ve fibronektin sentezi
TGF- β	Trombosit, makrofaj, nötrofil, lenfosit	Kemoatraktan, proliferasyon, Kollajen sentezi, anjiyogenez, Yara kontraksiyonu
VEGF	Makrofaj, keratinosit, Endotel, trombositler	Neovaskülarizasyon, anjiyogenez, ECM sentezi
FGF	Trombosit, endotel, makrofaj, fibroblast	Vasküler permeabilite artışı, neovaskülarizasyon, endotel proliferasyonu
EGF	Trombosit, makrofaj	Kemoatraktan, kollajenaz stimulanı, Anjiyogenez, reepitelizasyon, kollajen sentezi
IGF-1	Fibroblastlar, plazma, Karaciğer hücreleri	Proteoglikan ve kollajen sentezi, fibroblast proliferasyonu
TGF- α	Makrofaj, trombosit, keratinositler	Kemoatraktan, kollajen sentezi Anjiyogenez, reepitelizasyon,

Tablo 1: Yara iyileşmesinde görev alan bazı büyüme faktörleri.

Yara iyileşmesinde görev alan sitokinler pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler olarak ikiye ayrılır. Proinflamatuvar sitokinlere örnek TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 iken IL-4 ve IL-10 da anti-inflamatuvar sitokinlerdir.

Pro-inflamatuvar sitokinler; keratinositlerin uyarılmasında, fibroblast kemotaksisi ve proliferasyonunda, ECM sentezi ve yıkımında, immün yanıtın oluşturulmasında görev alarak yara iyileşmesinde etkilidirler. Özellikle inflamatuvar evre IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin pik yaptığı dönemdir. Oluşturulan inflamasyon yanıtının sınırlandırılması ve sonlandırılması da yara iyileşmesi için elzemdir. Bu misyon başta IL-10 olmak üzere anti-inflamatuvar etkili sitokinlere aittir (48, 49).

Sitokin	Kaynaklandığı Hücreler	Görevi
Pro-inflamatuvar Sitokinler		
TNF- α	Makrofaj	Nötrofil farklılaşması, kollajen sentezi
IL-1	Makrofaj, keratinosit	Kollajen sentezi, fibroblast ve keratinosit kemotaksisi
IL-2	T- Lenfosit	Fibroblast infiltrasyonu
IL-6	Makrofaj, nötrofil, fibroblast	Fibroblast proliferasyonu
IL-8	Makrofaj, fibroblast	Keratinosit maturasyonu, makrofaj ve nötrofil kemotaksisi
Anti-inflamatuvar Sitokinler		
IL-4	T-lenfosit, mast hücresi, bazofil	Fibroblast ve kollajen sentezi inhibisyonu, TNF- α , IL-1 ve IL-6 inhibisyonu
IL-10	T-lenfosit, makrofaj, keratinosit	TNF- α , IL-1 ve IL-6 inhibisyonu, makrofaj ve nötrofil inhibisyonu

Tablo 2: Yara iyileşmesinde görev alan bazı sitokinler.

2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörleri lokal ve sistemik faktörler olarak iki başlıkta ele almak mümkündür. Önceki bölümlerde ifade edilen iyileşme evreleri ve biyofizyolojik fonksiyonlar uygun sekansta ve belirli bir süre boyunca optimal yoğunlukta meydana gelmelidir. Bu süreçte rol alan büyüme faktörleri, sitokinler, proteazlar, sellüler ve ekstrasellüler elemanların her biri farklı aşamalarda görevlidir. Bir ya da birden fazlasının herhangi bir sebeple etkilenmesi gecikmiş yara iyileşmesine ve kronik yaralara zemin hazırlar (50).

Lokal Faktörler	Sistemik Faktörler
• Doku iskemisi • Kan akımı ve oksijenasyon • Enfeksiyon • Yabancı cisim • Venöz yetmezlik • Hematom ve ödem • Uygulanan cerrahi teknik	• Yaş ve cinsiyet • Beslenme • Malnutrisyon ve obezite • Sistemik hastalıklar: Diyabet, romatoid artrit, metabolik hastalıklar,bağ doku hastalıkları, koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalıklar, maligniteler • Alkolizm ve sigara • Kemoterapi ve radyoterapi • İmmünsüprese ilaçlar, steroidler, NSAİİ

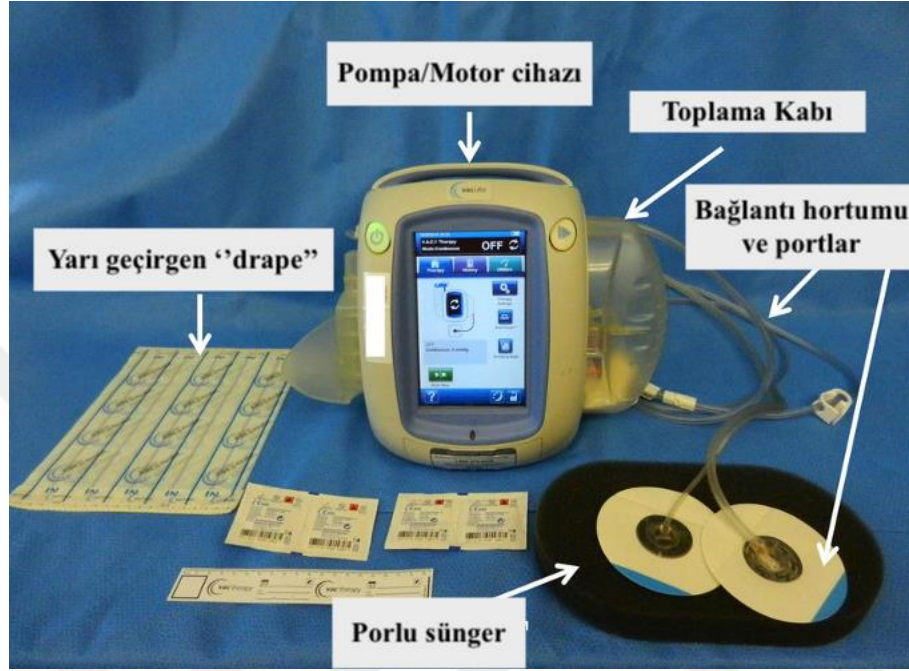
Tablo 3: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.

2.6. Vakum Yardımlı Kapama (VYK)

2.6.1. Tarihçe

Vakum yardımcı kapama (VYK), akut ve kronik yaralarda iyileşmeyi hızlandırmak için kullanılan ve yara bölgesine ‘negatif basınç’ uygulanması esasına dayanan non-invaziv bir yöntemdir. Negatif basıncın yara üzerine etkilerinin 20. yüzyılın ikinci yarısına doğru ortaya konmasına karşın ilk klinik uygulamalar 90’lı yıllarda görülmektedir. Negatif basınçlı yara tedavisi, ilk olarak 1989 yılında Chariker ve arkadaşları tarafından ‘insizyonel ve kutanöz fistüllerde drenaj sistemi’ tanımlaması ile kullanılmaya başlanmıştır (51). 1993 yılında Fleischmann ve arkadaşları bu sisteme benzer bir sistemin açık kırıklarda granülasyon dokusunun gelişmesine pozitif etkisini gözlemlemişlerdir (52).

1997 yılına gelindiğinde Morykwas ve Argenta yaptıkları hayvan modeli çalışmasında 125 mmHg subatmosferik (negatif) basınç uygulandığında granülasyon dokusunun maksimum düzeyde geliştiğini gözlemlemişlerdir. Bu etkinin negatif basınç aralıklı uygulandığı zaman arttığı, kan akımının ve granülasyon dokusu gelişmesinin daha iyi olduğu izlenmiştir (54, 55).



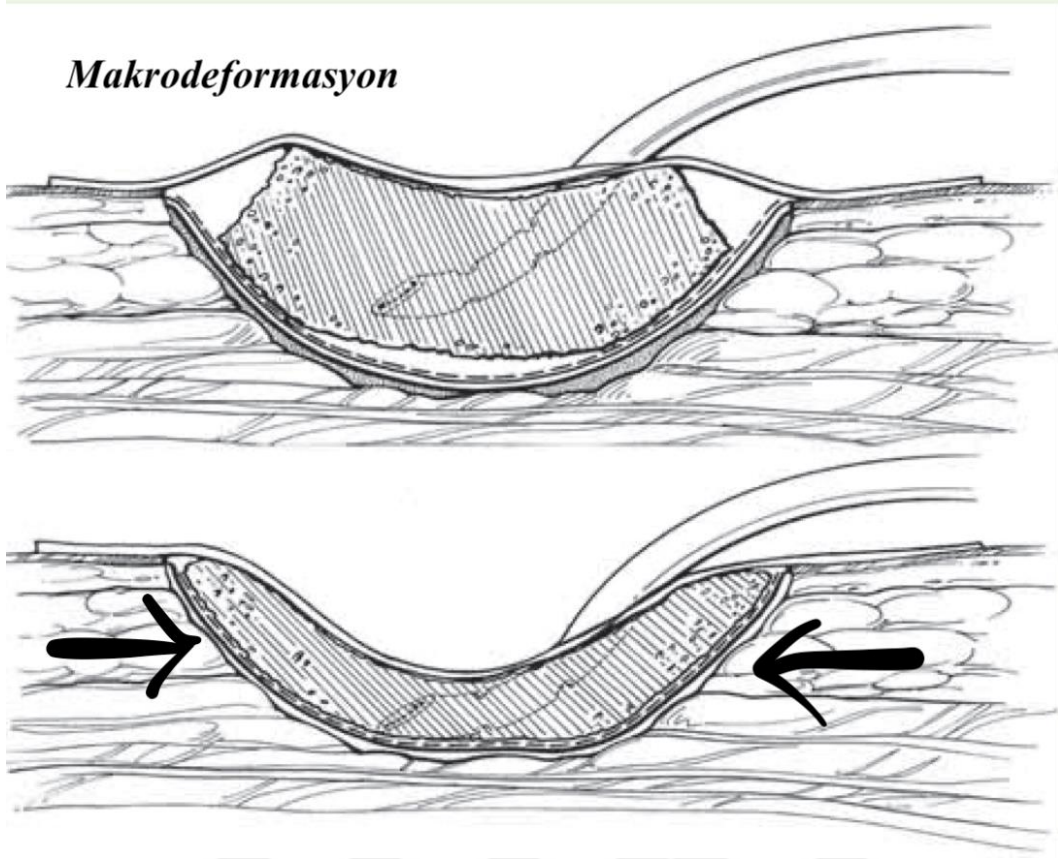
Şekil 5: VYK sistemini oluşturan parçalar (53).

Genel olarak Negatif Basıncılı Yara Tedavisi (NBYT) ve VYK sistemleri şu komponentlerden oluşur: porlu sünger, oklüzif yarı geçirgen yara kapatma materyali, negatif basınç yaratan bir hortumla yaraya bağlanan ve motor/pompa vazifesi gören bir cihaz (53) (Şekil 5).

2.6.2. Genel Prensipler ve Etki Mekanizması

VYK tedavisinin etki mekanizması dört başlıkta özetlenebilir: Makrodeformasyon, stabilizasyon, ödem ve eksüda azaltıcı etki, mikrodeformasyon (55).

VYK uygulamasında yara kenarlarındaki çekim kuvveti ile yarada anlamlı bir kontraksiyon etkisi olur. Bu kuvvet, porlu süngerin yapısından ve negatif basınçlı vakumla sünger hacmindeki azalmanın yara kenarlarına oluşturduğu etkiden kaynaklanır.



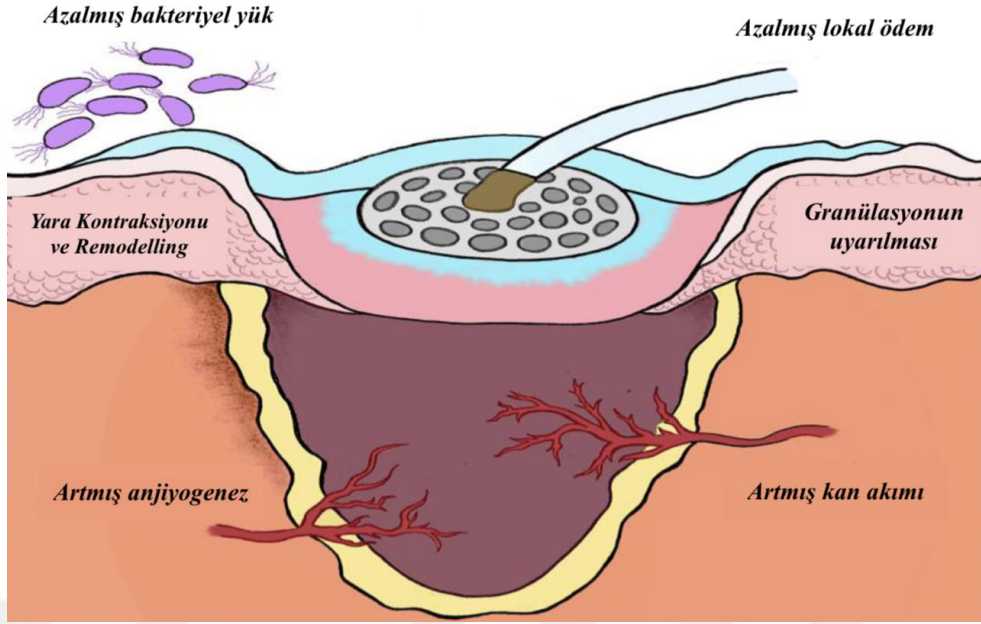
Şekil 6: VYK'nın etki mekanizmalarından makrodeformasyon (56).

VYK tatbiki yarayı dış mikroorganizmalardan koruyarak stabilize eder. Yaranın ılık ve nemli tutulmasında etkilidir. Ekstrasellüler kompartmandaki fazla sıvı oksijenasyonu bozar, hücrelere basıya ve iskemiye neden olur. Bu fazla sıvının VYK yardımıyla tahliyesi kompresyonu kaldırıp yaranın perfüzyonunu artırır. Bu esnada eksüda, patojenler ve metabolik artıklar da yara bölgesinden uzaklaştırılır. Ortamdaki pro-inlamatuvar sitokinlerin seviyesinin azalması için VYK tedavisinin bir gün tatbiki bile yeterlidir (57).

Yara ile süngerin temas yüzeyinde vakum kuvvetinden kaynaklanan mikrodeformasyonlar oluşur. Bu deformasyonlara bağlı gerilim kuvveti ECM vasıtasıyla iletilir. Bu sayede anjiyogeneze ve hücresel proliferasyon stimüle edilir.

Nihayetinde, VYK tedavisinin yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi şu şekilde özetlenebilir: VYK tedavisi,

- Yara bölgesinde ödemi ve eksüdayı azaltır. Anjiyogenezi uyarır.
- Dokudaki bakteri kolonizasyonunu azaltır.
- Yara kontraksiyonunu ve perfüzyonunu artırır.
- Vaskülarizasyonu ve granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırır (58).



Şekil 7: VYK etki mekanizmasının şematik gösterimi (59).

2.7. Probiyotikler

2.7.1 Tarihçe

Probiyotiklerin fermente gıdalar ile yakın ilişkisi düşünüldüğünde tarihinin insanlığın en eski zamanlarına dayandığını varsayabiliriz. Yaklaşık on bin yıl önce avcılık ve toplayıcılığın yerini çiftçilik almaya başlamış, o tarihten bu yana insanoğlu ekmek, peynir, kıymız, kefir, bira ve şarap gibi fermente ürünler üretmeye başlamıştır (60).

Probiyotiklerin modern tarihi ise yirminci yüzyılın başlarında Ukraynalı mikrobiyolog İlya Meçnikov'un çalışmaları ile başlar. Meçnikov sağlıklı beslenme ve uzun insan hayatı için yaptığı çalışmalarda bağırsaklarda bakteri pütrifikasyonu sonucu oluşan toksinlerin yaşlanmaya neden olduğunu ve bu "zararlı" bakterilerin "yararlı" olanlarla değiştirilebileceği fikrini ortaya atmıştır (61).

Latince ve Yunanca kökenli hibrit bir kelime olan "probiyotik", "yaşam için" anlamına gelmektedir. İlk olarak, bu isimle 1953 yılında Alman bilimadamı Werner Kollath tarafından "sağlıklı bir hayat için gerekli maddeleri" tanımlamak için ortaya atılmıştır. Aynı tabir, 1965 yılına gelindiğinde Lilly ve Stillwell tarafından "bir organizmadan kaynaklanıp diğerinin büyümesini teşvik eden maddeleri" tanımlamak için kullanılmıştır. 1989 yılında probiyotikler Roy Fuller tarafından "konak hayvanın bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek ona faydalı etkiler oluşturan canlı mikroorganizmal besin desteği" şeklinde tanımlanmıştır (62).

O yıllardan günümüze kadar birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde probiyotiklerin etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

2.7.2. Probiyotikler ve Etki Mekanizmaları

İnsan vücudu yaklaşık 10^{14} canlı mikroorganizmayı bünyesinde barındırır. Bu sayı vücuttaki normal hücrelerin sayısından yaklaşık on kat daha fazladır. Bu mikroorganizmalar cilt, oral kavite, solunum, ürogenital ve gastrointestinal sistem de dahil olmak üzere insan vücudunun dış çevreyle teması olan hemen hemen her yüzeye kolonize olurlar. Sayılan vücut bölgeleri arasında kolonizasyonun en yoğun olduğu bölge gastrointestinal sistemdir. Bu floranın patojen bakteri kolonizasyonunu önlemek, immüniteyi sağlamak, enterositlere besin oluşturmak, motilite ve mukus sekresyonuna katkı sağlamak gibi vazifeleri vardır (63).

İntestinal ekosistem diyebileceğimiz bu floranın dengesi ilaçlarla, patojen bakterilerle, antibiyotik ve ilaç kullanımıyla, stres ve yaşlılıkla, çevresel toksik maddelerle ya da beslenme alışkanlıklarıyla değişebilir. Bu düzensizliklere en genel tabiriyle ‘‘disbiyozis’’ denmektedir. Aksine faydalı organizmaların bu dengeyi iyileştirici etkisine ‘‘probiyozis’’, bu mikroorganizmalara da ‘‘probiyotik mikroorganizmalar’’ adı verilir (64). Probiyotik olarak en yaygın kullanılan mikroorganizmalar laktik asit bakterileri olan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleridir.

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalarda olması gereken ortak özellikler şunlardır:

- İnsan kaynaklı ve güvenli olmalıdır. Karsinojenik ve patolojik olmamalıdır.
- Bağırsak epitel hücrelerine tutunarak gastrointestinal sistemde kolonize olabilmelidir.
- Stabil olmalıdır. Safra tuzlarına, gastrik asit ve düşük pH’a dirençli olmalıdır.
- Antimikrobiyal maddeler üretmeli ve immün sistemi uyarmalıdır (65).

Probiyotikler direkt antagonist olarak, mikrobiyal metabolizmayı etkileyerek veya immün sistemi uyararak etki edebilirler. Direkt spesifik-antagonist özelliklerini bakteriyosinler gibi antimikrobiyal maddeler yoluyla patojenleri inhibe ederek veya patojenle kompetitif etkileşip tutunmayı azaltarak gösterirler. Aynı zamanda patojenlerle besin maddeleri için rekabete girip toksin reseptörlerinin yıkımında rol alırlar. İmmün sistemi uyarır, mukozal bariyer fonksiyonu artırır. Antioksidan etkileri mevcuttur ve epitelyal apoptozu regüle ederler. Mukus ve IgA üretiminin uyarılması, NK ve fagosit hücrelerinin aktive edilmesi, endotoksin oluşumunun azaltılması gibi birçok etki mekanizması mevcuttur (66, 67).

2.7.3. Probiyotiklerin Kullanım Alanları

Probiyotiklerin birçok farklı hastalığın tedavisinde kullanımı mevcuttur (68-70):

- Akut enfeksiyöz veya antibiyotik ilişkili diyare
- Nekrotizan enterokolit
- Atopik ve alerjik hastalıklar, astım
- İnflamatuvar bağırsak hastalıkları
- Çölyak hastalığı
- İrritabl bağırsak sendromu
- H. Pylori enfeksiyonu
- Yara iyileşmesi
- Kanser
- Üriner sistem enfeksiyonları
- Cerrahi alan enfeksiyonları

Probiyotikler özellikle yara iyileşmesi tedavisinde granülasyon ve neovaskülarizasyonu artırarak, inflamasyon seviyesini düşürerek, nötrofil sayısını azaltarak ve reepitelizasyonu hızlandırarak etki gösterirler (8). Patojen bakterilerle besin maddeleri ve konak hücrelerindeki bağlanma bölgeleri için rekabet ederek, toksin ve metabolitleri inaktive ederek, antimikrobiyal maddeler üreterek konak immün yanıtı uyararak etkili olurlar. Aynı zamanda epitelyal bariyeri güçlendirirler ve fibroblastları indüklerler (10).

İntestinal probiyotikler ve kommensal mikroorganizmalar, kutanöz bariyer üzerindeki lokal etkileri haricinde sistemik bağışıklık, artmış besin emilimi ve *bağırsak-beyin-deri* ekseninin modülasyonu ile yara iyileşmesini etkileyebilir (10).

Mevcut veriler ışığında, *bağırsak-beyin-deri* ekseninde birçok bağlantı ve etkileşim olduğu ve intestinal mikrobiyom ile cilt rahatsızlıkları arasında güçlü bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu ilişki henüz tam anlamıyla ortaya konmamıştır ve probiyotiklerin yara iyileşmesi için terapötik bir potansiyeli olmasına rağmen, daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bakteriler		Küf ve Mayalar
• Lactobacillus L. bulgaris L. cellobiosus L. delbrueckii L. acidophilus L. brevis L. reuteri L. casei L. curvatus L. fermentum L. plantarum L. johnsonii L. rhamnosus L. helveticus L. salivarius • Bacillus B. subtilis B. pumilus B. licheniformis B. lentus B. coagulans • Enterococcus E. faecalis E. faecium • Leuconostoc L. mesenteroides	• Bifidobacterium B. adolescentis B. bifidum B. longum B. infantis B. brevis B. thermophilus • Pediococcus P. cerevisiae P. acididacticil P. pentosaceus • Streptococcus S. cremoris S. thermophilus S. lactis S. intermedius S. salivarius • Bacterioides B. capillus B. suis B. ruminola B. amylophilus • Propionibacterium P. shermanii P. freudenreichii	• Aspergillus A. niger A. oryzae • Saccharomyces S. boulardii S. cerevisiae • Candida C. trulopsis

Tablo 4: Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar.

2.8. Mikrobiyota

2.8.1. Tarihçe

M.Ö. 400'lü yıllarda Hipokrat'tan aktarılan "Ölüm, bağırsaklarda oturur." ve "Kötü sindirim sistemi bütün fenalıkların kaynağıdır." sözleri insan sağlığında ve hastalıkların tanımlanmasında bağırsaklara atfedilen önemin çok eski zamanlara dayandığını göstermektedir (71). Özellikle geçtiğimiz son iki dekada bu yöndeki çalışmalar hızlanmış, özellikle 2003'te tamamlanan İnsan Genom Projesi ve akabinde 2007'de başlatılan İnsan Mikrobiyom Projesi ile bu çalışmalar önem kazanmıştır. 2010 yılında başlatılan "MetaHIT" metagenom projesiyle de intestinal sistemdeki mikrobiyal genlerden bir katalog oluşturulması hedeflenmiştir (72).

Günümüzde mikrobiyota ve probiyotik çalışmalarına ilgi artmış, hastalıkların tanımlanmasında mikrobiyotanın yeri sıkça tartışılır hale gelmiştir.

2.8.2. Mikrobiyotanın Gelişimi ve İşlevleri

Mikrobiyota, insan vücudunda bulunan ökaryot veya prokaryot simbiyotik, kommensal, patojenik mikroorganizmaların tamamını tanımlar. Bu mikroorganizmaların genomlarına ise "mikrobiyom" denmektedir. Mikrobiyota; işlevleri, genetik materyali, metabolizması ve sahip olduğu mikroorganizmaların ağırlığı ile bir "organ" olarak düşünülebilir (73). Bu mikroorganizmalar yaklaşık %90'dan fazlası gastrointestinal sistemde (>%70 kolon) olmak üzere solunum sistemine, genitoüriner sisteme ve deriye yerleşmişlerdir.

İnsanda mikrobiyal kolonizasyon ve mikrobiyota oluşumu fetal dönemde başlar. Bu gelişim süreci maternal ortamın kontrolündedir, anne ile ilgilidir. Annenin gebelik süreci, doğumun şekli, doğum sonrasındaki beslenme, stres, ilaçlar ve çevresel faktörler mikrobiyotanın gelişimini etkiler. Yaklaşık üç yaşına kadar bu değişim ve gelişimler hızla devam ederken üç yaş civarında nispeten stabil, erişkin benzeri bir yapıya ulaşır. Mikrobiyotanın yapısı tıpkı "parmak izi" gibi biricik ve kişiye hastır (74).

İntestinal mikrobiyotanın immünolojik, homeostatik ve metabolik birçok işlevi vardır.

Diyetle alınan karbonhidratlar, intestinal mikrobiyotadaki mikroorganizmaların esas besin kaynağıdır. Özellikle *Bacteriodes* cinsi mikroorganizmalar transferaz, liyaz ve hidrolaz grubu enzimler aracılığıyla karbonhidrat metabolizmasını regüle ederler. Özellikle kolon mikrobiyotası, karbonhidratların fermentasyonu ile kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA) sentezlenmesini sağlar.

Bütirat, asetat, propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitleri konak için zengin enerji kaynaklarıdır. Özellikle bütirat, kanser hücrelerinin ve toksik metabolitlerin apoptozunda rol alarak etki eder. Ayrıca bu yağ asitleri motilitenin düzenlenmesinde ve yara iyileşmesinde de etkilidirler (75).

Lipid metabolizması üzerinde mikrobiyotanın etkisi adipositlerde lipoprotein lipaz aktivitesinin baskılanmasıyla görülür. Aynı zamanda lipid hidrolizini artırıcı etkileri de gösterilmiştir (76).

İntestinal mikrobiyota, proteazların varlığıyla protein metabolizmasında da etkin rol alır. Yine bağırsaktaki mikroorganizmalar K ve B vitaminlerinin bileşenlerinin, konjuge linoleik asit sentezinde görev alır; piruvat, sitrat, fumarat ve malat gibi yüksek enerji metabolizması ara ürünlerinin miktarını artırır (77).

Bağırsak mikrobiyotasının diğer metabolik fonksiyonlarından bazıları şunlardır:

- Bağırsakta karbonhidrat metabolizması sonucu ortaya çıkan oksalatın katabolizmasında rol alırlar.
- Diyetle alınan polifenollerin metabolizmasında görevleri vardır.
- Metabolik stres varlığında eksprese edilen AMP-aktif protein kinaz (AMPK) oluşumunu inhibe ederler. Bu sayede lipogenez, ketogenez, mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu meydana gelir.
- Bağırsakta özellikle ileum mikrobiyotası primer ve sekonder safra asitlerinin dekonjugasyonunda rol oynarlar (78).
- Ksenobiyotik metabolizmasında görev alarak diyet bileşenlerini, endüstriyel kimyasalları, farmasötikleri metabolitlere dönüştürürler (79).

İnsandaki bağışıklık sisteminin en önemli parçalarından biri bağırsak mikrobiyotasıyla direkt ilişkili olan intestinal immün sistemdir. İntestinal mikrobiyota ile immün sistem arasındaki etkileşim prenatal dönemde başlayarak tüm yaşam boyunca immünmodülasyon ve öz-antijenlere yanıt oluşması yoluyla devam eder. İntestinal sistem, doğum anından itibaren diyet kaynaklı birçok antijen ve bakterilerle etkileşim halindedir. Bu yüzden intestinal immün sistem normal, kommensal bakterileri ve diyet içeriklerini patojen olanlardan ayırmalıdır. Bu immün yanıt; epitel hücreleri, mukozal immün sistem ve intestinal mikrobiyota arasındaki etkileşim ile gerçekleşir (80). Bu etkileşimler, konak bağışıklık sisteminin matürasyonunda önemli rol oynar. Özellikle neonatal dönemde oluşan disbiyozis otoimmün hastalıklarla, obezite ile, hipertansiyon ve Tip-2 DM ile, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ile yakından ilgilidir (81).

İntestinal mikrobiyotanın immünolojik etkilerinden bazıları şunlardır (82, 83):

- Kommensal bakterilerin konsantrasyonu, intestinal epitel ve immün sistem hücrelerinden IL-25, IL-33, TGF- β , IgA, TSLP (timik stromal lenfopoietin) gibi mediyatörlerin salınımını uyarır.
- İntestinal mikrobiyota, naif CD8⁺ ve CD4⁺ lenfositlerin dönüşümünde etkilidir.
- IL-17 ve IL-22 sekresyonuyla intestinal inflamasyonu düzenlerler.
- Mikrobiyota ve intestinal enterik hücrelerin toll-like reseptör (TLR) ilişkisi antimikrobiyal peptid üretilmesini uyarır.
- Dendritik hücrelerin uyarılmasıyla peptidoglikan ve lipopolisakkaritler üretilir. Bunlar da sekretuvar IgA ve alkalen fosfataz üretimini artırır (84).
- İntestinal mikrobiyota, diyet ürünlerinden önemli immünmodülatörlerden olan indol ve poliaminler gibi metabolitler üretir. Bunlar da müsin üretimini uyararak patojenlere karşı mukozal savunmayı, bariyer etkisini artırır.
- İntestinal mikrobiyota kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) aracılığıyla Treg hücrelerinin çoğalmasını sağlar. Bu hücreler FOXP3⁺ transkripsiyon faktörü ekspresyonu ile immün yanıtı regüle ederek homeostazi ve kommensal mikroorganizmalara toleransı sağlar (85).

İntestinal mikrobiyota kadar cilt mikrobiyotası da patojenlerden korunmada, immün sistemin regüle edilmesinde etkilidir. Cildimiz milyonlarca mikroorganizmaya ev sahipliği yapmaktadır. Cilt mikrobiyotasının yapısı önemli miktarda doğum esnasında oluşur ve doğum şekli mikrobiyal kompozisyonda hayati önem arz eder. Farklı mikroorganizmalara farklı vücut bölgelerine has kolonizasyonlar cilt mikrobiyotasının önemli bir özelliğidir. Cilt mikrobiyotasını teşkil eden en önemli mikroorganizmalar şunlardır:

Actinobacteria (52%), *Firmicutes* (24%), *Proteobacteria* (17%) ve *Bacteroidetes* (%7). Bunların içinde de en yaygın olanları *Actinobacteria* şubesinden *Corynebacteria* ve *Propionibacteria*, *Firmicutes* şubesinden ise *Staphylococci*'dir. Ciltteki fungal kompozisyonun en büyük komponentini ise *Malassezia* cinsi oluşturur (86).

Yara iyileşmesinde ise cilt mikrobiyotasının ambivalan bir konumu vardır. Henüz etkileri tam olarak net gösterilmemişse de cilt mikrobiyotasını oluşturan bazı türler yara iyileşmesini olumlu etkilerken bazı türlerin olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Cilt ve yara mikrobiyotasının modülasyonu yara iyileşmesi sürecinin optimizasyonu için araştırılmaya değer bir noktada durmaktadır (87).

2.8.3. Mikrobiyotayı Etkileyen Faktörler

Mikrobiyotayı Etkileyen Faktörler (88,89)
• Doğum şekli • Anne sütü ve infant dönemi beslenme • Genetik • Enfeksiyonlar • İlaçlar ve antibiyotikler • Diyet • Gastrik asit ve motilite • Prebiyotik ve probiyotik • Yaş • Kronik hastalıklar • Stres • Sosyoekonomik düzey • Sigara • Fiziksel aktivite • Coğrafya ve sosyokültürel düzey • Fetal mikrobiyota transplantasyonu (FMT)

Tablo 5: Mikrobiyotayı etkileyen faktörler.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Etik Kurul ve Proje Onayı

Çalışmamız Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ACU- HADYEK) tarafından 2022/81 başvuru ve karar sayısı ile 07.12.2022 tarihinde onay alınmıştır. Çalışmada kullanılan denekler Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilmiştir. Çalışma Ocak 2024- Mart 2024 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Çalışma Planı

3.2.1 Deney Hayvanları

3.2.1.1. Deney hayvanı sayılarının belirlenmesi

Çalışmanın %95 güven düzeyi ($\alpha = 0,05$) ve %80 güç ile tanımlanabilmesi için $n=24$ deney hayvanının alınmasının uygun olacağı, etki büyüklük düzeyinin ise büyük ve 0,791 olduğu tespit edildi. Bu veriler ışığında, çalışmanın yeterli güce sahip olduğu ve etki büyüklüğü düzeyinin ise oldukça yüksek olduğu görüldü. Çalışma dört grup üzerinden yürütülecek ve grup sayıları da eşit olarak dağıtılacak ise grup içi sayılarının $n=6$ ve minimum denek sayısının 24 olması gerektiği belirlendi.

3.2.1.2. Deney hayvanlarının temini ve bakımı

Çalışmamızda Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı tarafından üretilen 24 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan (rat) kullanılmıştır. (Şekil 8) Deneklerin bakım ve takibi aynı laboratuvarında yapılmıştır. Deneklerin ortalama yaşı 12 hafta olup ağırlıkları 400-450 gram arasında tespit edilmiştir. Denekler tek bireylik yalnızca kendilerine ait kafeslerde takip edilmiş olup çalışma süresince deneklere standart besin rejimi uygulanmıştır. Su ve besin kısıtlaması yapılmamıştır. Deney hayvanları, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusa 22-24 santigrat derece sıcaklıkta takip edilmiştir. Su ve yemleri günlük olarak değiştirilen deneklerin kafes temizliği günde bir yapılmıştır.

3.2.2. Deney Grupları

Denekler herhangi bir özellik gözlemlenmeden rastgele seçilerek dört gruba ayrıldı. Her grup 6 adet denekten oluşturuldu. Gruplar; yalnızca VYK uygulanan kontrol grubu, yalnızca topikal probiyotik kullanılan grup, VYK ile birlikte topikal probiyotik kullanılan grup ve VYK ile birlikte topikal mikrobiyota uygulanan grup şeklinde isimlendirilerek oluşturuldu (Tablo 6).

Grup Adı	Açıklama	Sıçan Sayısı
Grup 1	Oluşturulan yara modeline yalnızca VYK uygulandı.	6
Grup 2	Oluşturulan yara modeline yalnızca topikal probiyotik uygulandı.	6
Grup 3	Oluşturulan yara modeline topikal probiyotik ile birlikte VYK uygulandı.	6
Grup 4	Oluşturulan yara modeline türe-spesifik topikal mikrobiyota ile birlikte VYK uygulandı.	6
Toplam deney hayvanı sayısı		24

Tablo 6: Oluşturulan deney grupları ve uygulanacak işlemler.

3.2.3. Cerrahi Teknik

Cerrahi işlem Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Cerrahi işlem başından sonuna kadar bir veteriner hekim kontrolünde genel anestezi altında tek bir cerrah tarafından yapılmıştır. Cerrahi teknik için daha önce yapılan yara iyileşmesi deney hayvanı çalışmaları referans alınmıştır (90-92).

Denekler operasyondan önce tartılarak gerekli anestezi dozu hesaplanıp operasyondan yaklaşık 15 dk önce genel anestezi uygulanmıştır. Anestezi için 10 mg/kg Ksilazin Hidroksiklorid (Rompun; Bayer Healthcare) ve 50 mg/kg Ketamin Hidroksiklorid (Ketalar; Pfizer) kombinasyonu deneklere intramüsküler uygulanmıştır. Cerrahi sırasında yeterli anestezinin sağlanamadığı görülen denekler için ek doz uygulaması inhaler anestezikler yardımıyla veteriner hekim kontrolünde yapılmıştır. Preoperatif antibiyotik profilaksisi olarak 10 mg/kg Sefazolin Sodyum (Sefazol, Mustafa Nevzat İlaç San. Türkiye) intramüsküler uygulanmıştır. Cerrahi işleme başlamadan önce anestezinin etkinliğini değerlendirmek amaçlı deneklere ağırlı uyarı verilmiştir. Anestezinin etkinliği sağlandıktan sonra cerrahi prosedüre başlanmıştır.



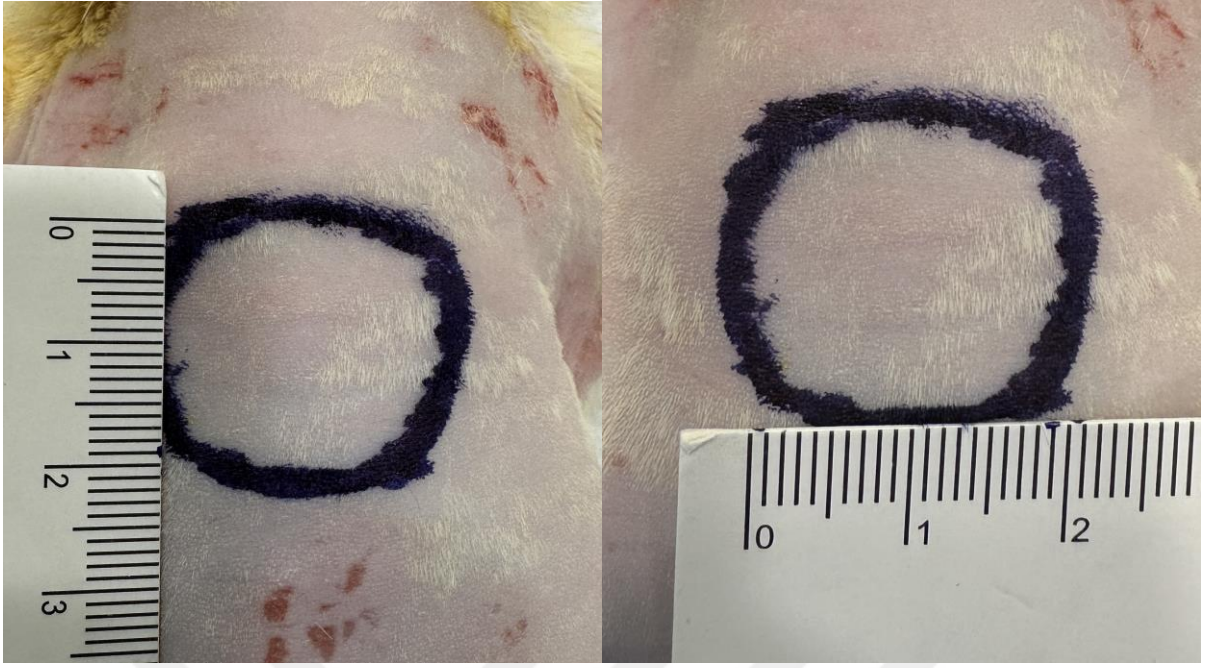
Şekil 8: Sprague Dawley cinsi erkek sıçan.

Cerrahi öncesi hazırlık olarak deneklerin dorsal bölgesindeki kılları elektrikli tıraş makinesi ile tıraşlanmıştır (Şekil 9). Denekler “prone” pozisyonuna alınarak cerrahi alan %10 povidone iyot (Poviofix, Naturel Medikal) ve %70’lik alkol solüsyonu ile temizlenmiş ve sonrasında tüm cerrahi işlemler steril şartlarda yapılmıştır. Cerrahi işlem 3 adet benzer steril cerrahi set ile dönüşümlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 9: Deneklerin dorsal bölgesinin tıraşlanması.

Denekler cerrahiye hazırlandıktan ve asepsi sağlandıktan sonra tıraşlanan dorsal bölgede 2x2 cm çapında, sirküler yara modelinin işaretlemeleri yapılmış ve sonrasında dermis ve epidermisi ihtiva eden, *panniculus carnonus*'a değin tam kat kesi ile yara formu oluşturulmuştur (Şekil 10 ve Şekil 11). İşlemler esnasında hiçbir denekte aktif ve masif kanama izlenmemiştir. Kesiye bağlı minimal kanamalar tamponlama ile durdurulmuştur.



Şekil 10: Oluşturulacak yara modelinin ölçüm ve işaretlemeleri.

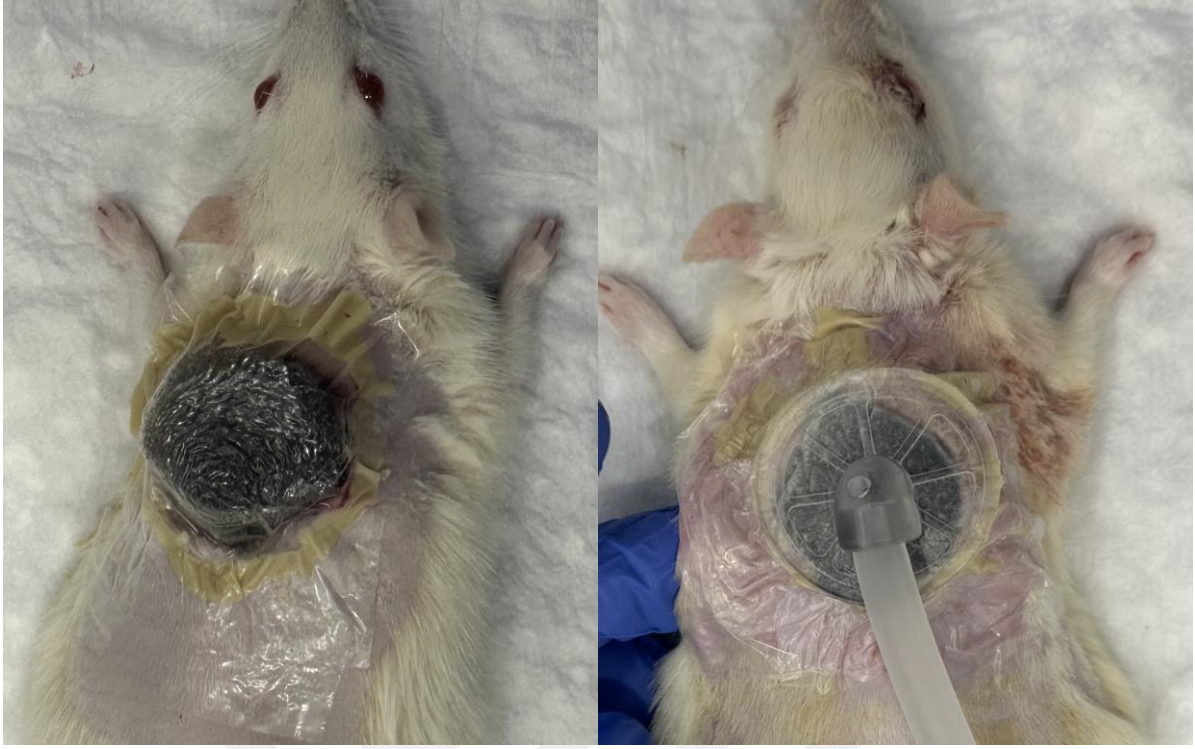


Şekil 11: Dermis ve epidermis dahil olacak şekilde tam kat kesinin yapılması.



Şekil 12: Oluşturulan yara modeli.

Yara modeli oluşturulmasını takiben bir gruba yalnızca VYK sistemi (CONFORT, C500 NPWT) uygulandı. VYK uygulanan gruplarda negatif basınç sisteminin kaçaksız çalışması için stoma macunu (Coloplast Türkiye Medikal Gereçler) kullanıldı (Şekil 13). Literatürdeki veriler ışığında, VYK sistemi aralıklı ve 125 mmHg basınçta çalışacak şekilde ayarlandı (54, 55). Deneklerin birbirine ve VYK sistemlerine zarar vermesini önlemek adına ayrı ayrı kafeslerde takip edilmesi sağlandı. VYK sistemi, takiplerde batarya problemleriyle karşılaşmamak adına, bir günün en az 22 saati açık kalacak şekilde sürekli güç kaynağına bağlı çalıştırıldı.



Şekil 13: Deneklere VYK (vakum yardımcı kapama) uygulanması.

Yara modeli oluşturulan ikinci grupta ise yara bölgesine yüzeyi tamamen kapatacak şekilde yaklaşık 1,5 gr topikal probiyotik (ATA BIO, İstanbul) preparatı kullanıldı (Şekil 14).



Şekil 14: Yara bölgesine topikal probiyotik ürünün tatbiki.

Yara modeli oluşturulan üçüncü grupta yara bölgesine yüzeyi tamamen kapatacak şekilde yaklaşık 1,5 gr topikal probiyotik preparatı ile VYK sistemi kombine edilmiştir.

İkinci ve üçüncü gruplarda topikal probiyotik olarak toplam $1,2 \times 10^{10}$ cfu /g kuru toz şeklinde saflaştırılmış taze liyofilize stok kültür kullanılmıştır.

Topikal kullanılan özel karışım probiyotik içeriği:

Lactobacillus acidophilus ATA-LTC-La060301- $2,0 \times 10^9$ cfu/g

Lactiplantibacillus plantarum ATA-LTC-Lp230198- $2,0 \times 10^9$ cfu/g

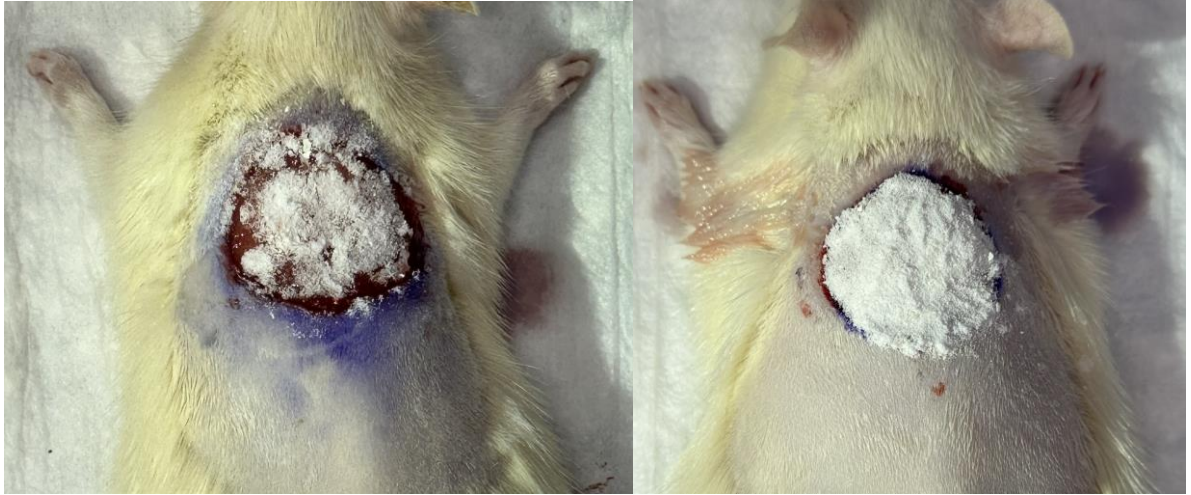
Lacticaseibacillus rhamnosus ATA-LTC-Lr010902- $2,5 \times 10^9$ cfu/g

Bifidobacterium animalis ATA-LTC-Ba030100- $5,5 \times 10^9$ cfu/g

Yara üzerine ortalama alan hesaplarına göre yaklaşık 1,5 gr civarında toz stok kültür uygulandı. Bu da yaklaşık $1,8 \times 10^{10}$ cfu/g canlılığa tekabül etmektedir.

Dördüncü grupta ise oluşturulan yara modelinde yüzeyi tamamen kapatacak şekilde yaklaşık 1,5 gr topikal türe-spesifik mikrobiyota preparatı (SFA ARGE, İstanbul) ile birlikte VYK sistemi tatbik edilmiştir.

Mikrobiyota içeriği için referans verilen yayının çalışmaları esnasında sağlıklı erkek Sprague Dawley ratların ileoçekal bölgesinden örnekler alınıp mikrobiyom analizi yapılarak -196°C 'de saklanmıştır (93). Elde ettiğimiz örneklerde baskın şubeler *Actinobacteriota*, *Bacteriodes* ve *Firmicutes* idi.



Şekil 15: Probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota preparatlarının topikal kullanımı.

3.2.4. Cerrahi sonrası takip

Cerrahi sonrası denekler kendilerine özel kafeslerde tek bireyler halinde takip edildi (Şekil 16). Dördüncü, yedinci ve onuncu günlerde yara bakımları ve kontrolleri yapıldı, bu günlerde uygulanan materyaller usulünce değiştirildi. Analjezi amaçlı deneklere 200 mg/kg Parasetamol (Parol; Atabay) içme suyuna karıştırılarak yapıldı. Her deney grubunda onuncu günün sonunda deneklere sakrifikasyon planlandı. Bu süre içerisinde izole probiyotik uygulanan gruptaki bir denekte dördüncü günde ve mikrobiyota ile kombine VYK sistemi kullanılan deney grubuna ait iki denekte yedinci günde yüzeysel yara yeri enfeksiyonu düşündürecek minimal seröz akıntı geliştiği izlendi. Ek bir debridmana ihtiyaç olmadan rutin takip ile yaranın iyileştiği görüldü. Diğer hiçbir denekte yara iyileşmesinde problem yaşanmadı ve deneklerden kaybedilen olmadı.

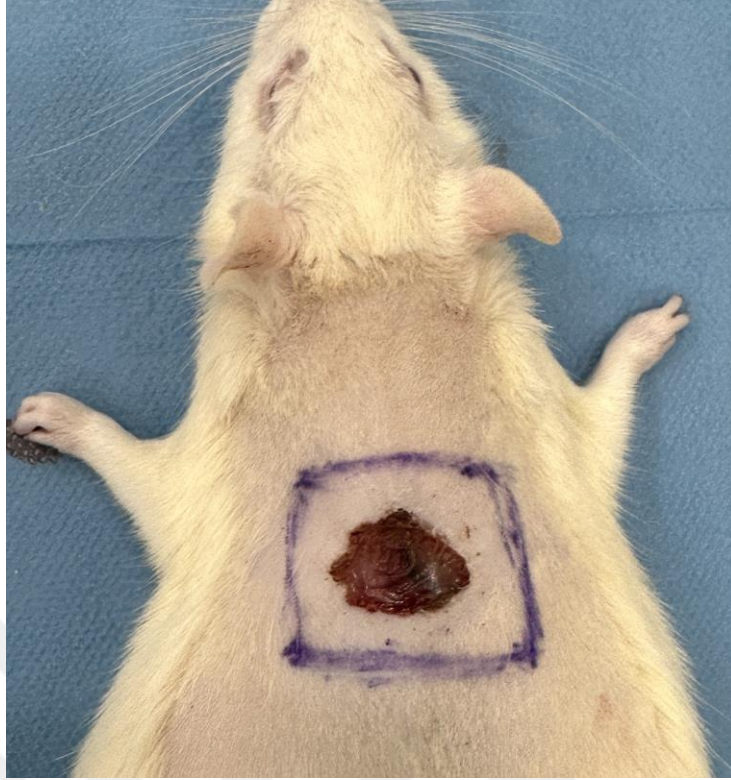




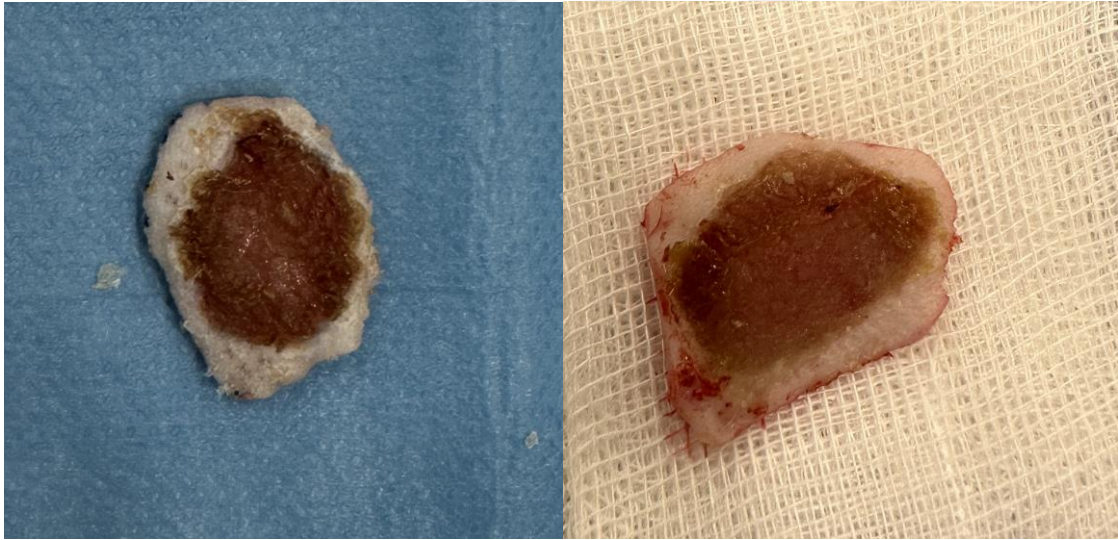
Şekil 16: Deneklerin takip edildiği tek bireylik kafesler ve laboratuvar ortamı.

3.2.5. Sakrifikasyon

Tüm sakrifikasyon işlemleri Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında bir veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi. Sakrifikasyondan on beş dakika önce deneklere 150 mg/kg Ketamin Hidroksiklorid (Ketalar; Pfizer, Türkiye) IM uygulandı. İlaç etkinliği kalp tepe atımı ve solunum kontrolü ile yapıldı. Anestezi altında deneklere servikal dislokasyon yapılarak sakrifikasyon tamamlandı. Deneklerin exitus olduğu teyit edildikten sonra yara sahasının çevresi tekrar işaretlendi ve tam kat eksize edilerek çıkarıldı (Şekil 17 ve Şekil 18). Eksize edilen dokular iki ayrı gözlemci tarafından manuel palpasyonla ve inspeksiyonla kontrol edildi. Örnekler histolojik çalışma için %10'luk Formaldehit solüsyonuna (Kimyalab, Türkiye) alınarak histopatolojik incelemenin yapılacağı Yeditepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına teslim edildi. Sakrifikasyon işlemi sırasında hiçbir denekte enfeksiyon ve apse oluşumu gözlenmedi.



Şekil 17: Eksize edilecek sahanın işaretlenmesi.



Şekil 18: Farklı deney gruplarından alınmış eksizyon materyalleri.

3.3. Değerlendirme Parametreleri

3.3.1. Makroskopik Değerlendirme

Cerrahi işlem gerçekleştirildikten sonra, yara bölgesinin fotoğrafları cerrahi işlemin gerçekleştirildiği ilk gün (0. gün) çekilerek lezyonun çapına ve başlangıçtaki yara alanına ($A = \pi r^2$) dair ölçümler kayıt altına alındı (Şekil 19).



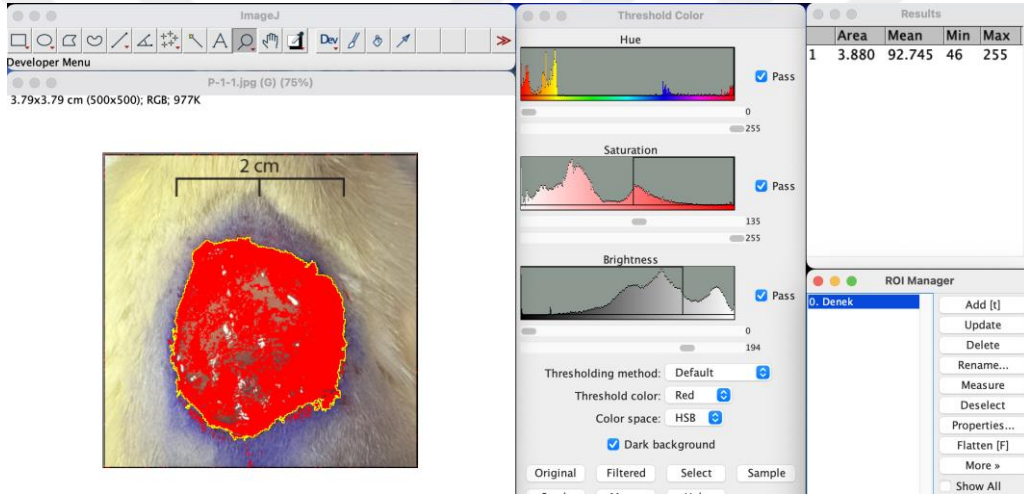
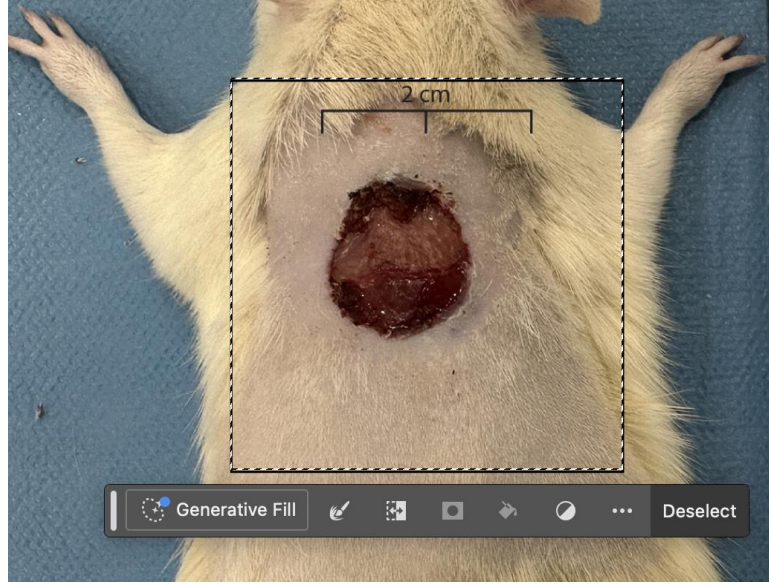
Şekil 19: Başlangıçtaki yara alanlarının ölçekle birlikte kayıt altına alınması.

Aynı işlem, sabit uzaklıkta ve yara bölgelerinin yanına “santimetre (cm)” cinsinden uzunluk belirten standart ölçekler konularak 4., 7. ve 10. günlerde tekrarlandı.

Elde edilen fotoğraflar üzerinden bilgisayar ortamında ImageJ v1.54g (“National Institutes of Health”, ABD) ve Photoshop v25.7 (Adobe, ABD) yazılımları yardımıyla yara çapları ve alanları ölçüldü, kontraksiyon oranlarının hesaplamaları yapıldı. Takiben cm^2 ve yüzdelik oranlar cinsinden ifade edilerek kaydedildi (Şekil 20).

n günündeki kontraksiyon yüzdesi (%) :

$$(1 - n \text{ günündeki yara alanı (cm}^2\text{)} / 0. \text{ gündeki yara alanı}) \times 100$$



Şekil 20: Dijital ortamda yara çaplarının ölçülmesi.

3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Makroskopik değerlendirmenin sonrasında 10. günde denekler sakrifiye edilerek dorsal bölgesi yara alanını ihtiva edecek şekilde işaretlendi ve tam kat eksize edildi. Elde edilen doku örnekleri histopatolojik incelemeye alındı. Bu histopatolojik inceleme Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapıldı.

Doku örnekleri %10'luk nötral formaldehit (pH=7.4) solüsyonu olan doku kaplarına alınarak +4 °C'de fiksede edildi. Rutin takip işlemlerini takiben parafine gömülüp bloklandı. Parafin bloklama işlemi sonrasında 5 mikron (µm) boyunda kesitler elde edilerek Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson-Trikrom yöntemleri ile boyandı ve ışık mikroskobu altında histopatolojik

olarak incelendi. Kesitler Leica 6000 DM mikroskopunda Leica Application Suite yardımıyla incelendi ve fotoğraflandı. Mikroskopik değerlendirmeler bir histolog tarafından kör olarak yapıldı.

Skorlamada epidermal organizasyon, granülasyon seviyeleri ve anjiyogenez değerlendirildi.

Epidermal Organizasyon Skorlaması:
Dokuda zayıf epidermal oluşum, $\geq 20\%$; (1)
Dokuda eksik epidermal oluşum, $\geq 40\%$; (2)
Dokuda orta derecede epitelyal proliferasyon, $\geq 60\%$; (3)
Dokuda epidermal yeniden şekillenmesinin $\geq 80\%$ 'inin tamamlanması; (4)

Tablo 7: Epidermal Organizasyon Skorlaması.

Granülasyon Seviyesi Skorlaması:
İnce granülasyon tabakası: (1)
Orta düzeyde granülasyon tabakası: (2)
Kalın granülasyon tabakası: (3)
Çok kalın granülasyon tabakası: (4)

Tablo 8: Granülasyon Seviyesi Skorlaması.

Anjiyogenez Skorlaması:
Az sayıda yeni oluşmuş kılcal damar, 3-4 / bölge; (1)
Ara sıra tıkanıklık, orta derecede ödem ve kanama, intravasküler fibrin birikimi ve trombozun olmaması; (2)
Yeni oluşmuş kılcal damarlar, 5-6 / bölge; (3)
Yeni oluşmuş ve normal görünen kılcal damarlar, > 7 / bölge; (4)

Tablo 9: Anjiyogenez Skorlaması.

3.3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS 26.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken, nicel değişkenler ortalama, standart sapma, medyan, min ve max değerleriyle, nitel değişkenler frekans ve yüzde gibi tanımlayıcı istatistiksel metodlar ile gösterildi. Verilerin normal dağılıma uygunluklarının değerlendirilmesinde Shapiro-Wilk test ve Box Plot grafiklerden yararlanıldı.

Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin üç grup ve üzeri karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunn testi kullanıldı. Grup içi değerlendirmelerde Friedman testi kullanıldı.

Sonuçlar % 95’lik güven aralığında, anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Araştırma 24 denek ile Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapılmıştır.

Gruplar		n (%)
Grup 1	VYK (Vakum Yardımlı Kapama)	6 (25,0)
Grup 2	Topikal probiyotik uygulanan	6 (25,0)
Grup 3	VYK (Vakum Yardımlı Kapama) ile birlikte topikal probiyotik uygulanan	6 (25,0)
Grup 4	VYK (Vakum Yardımlı Kapama) ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota uygulanan	6 (25,0)

Tablo 10: Grupların dağılımları.

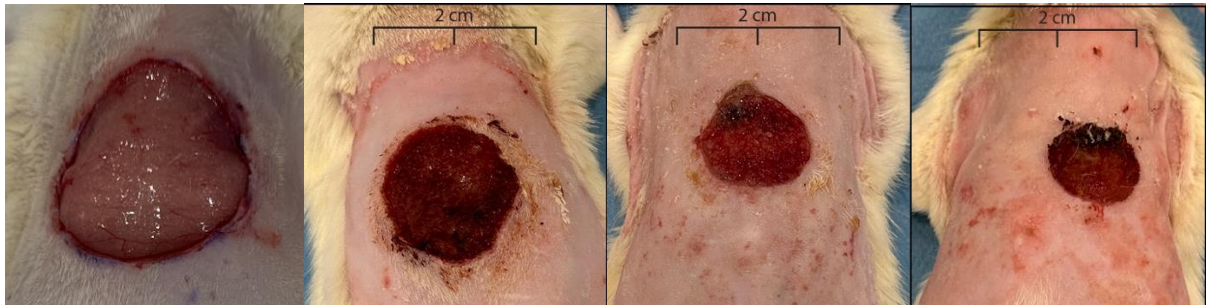
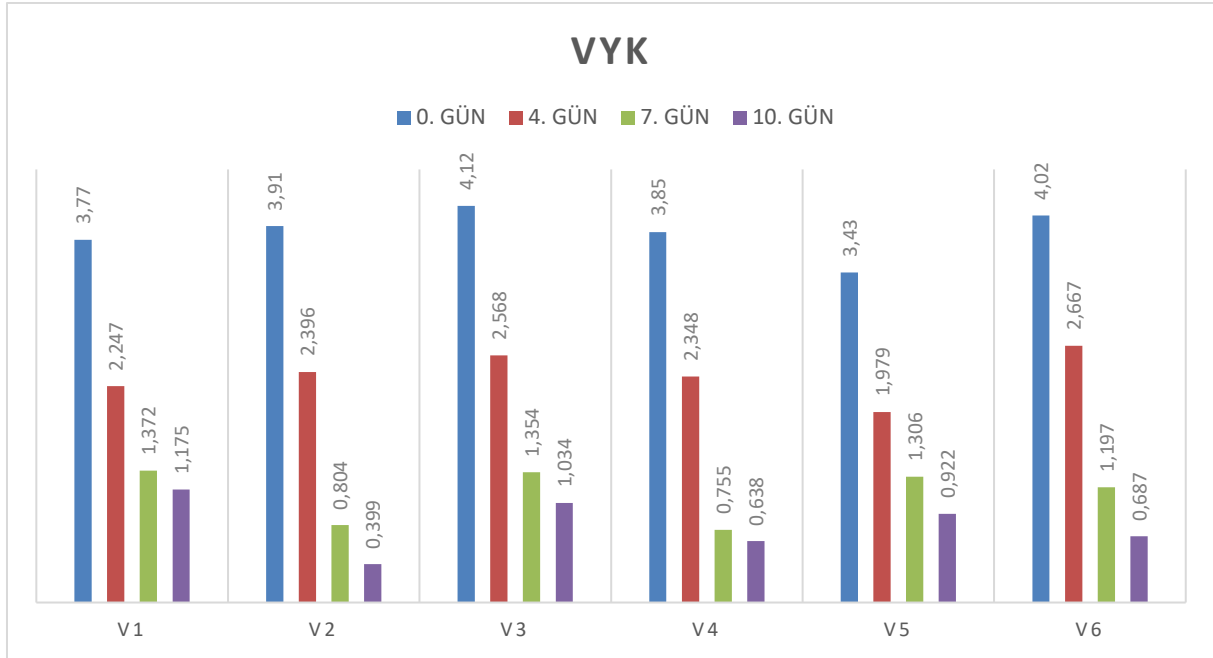
Deneklerin %25’inin (n=6) oluşturulan yara modeline VYK, %25’inin (n=6) topikal probiyotik, %25’inin (n=6) VYK ile birlikte topikal probiyotik, %25’inin (n=6) VYK ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota uygulanmıştır.

4.1 Makroskopik Bulgular

Deneklerin yara alanları 0. gün, 4. gün, 7. gün ve 10. gün ölçülerek kayıt altına alındı. Bu ölçümler fotoğrafa dahil eden standart ölçekler yardımıyla dijital ortama aktarıldı ve yara alanı ölçümleri yapıldı.

GRUPLAR	0. GÜN	4. GÜN	7. GÜN	10. GÜN
V1	3,77	2,247	1,372	1,175
V2	3,91	2,396	0,804	0,399
V3	4,12	2,568	1,354	1,034
V4	3,85	2,348	0,755	0,638
V5	3,43	1,979	1,306	0,922
V6	4,02	2,667	1,197	0,687
ORTALAMA	3,85	2,3675	1,13133333	0,80916667

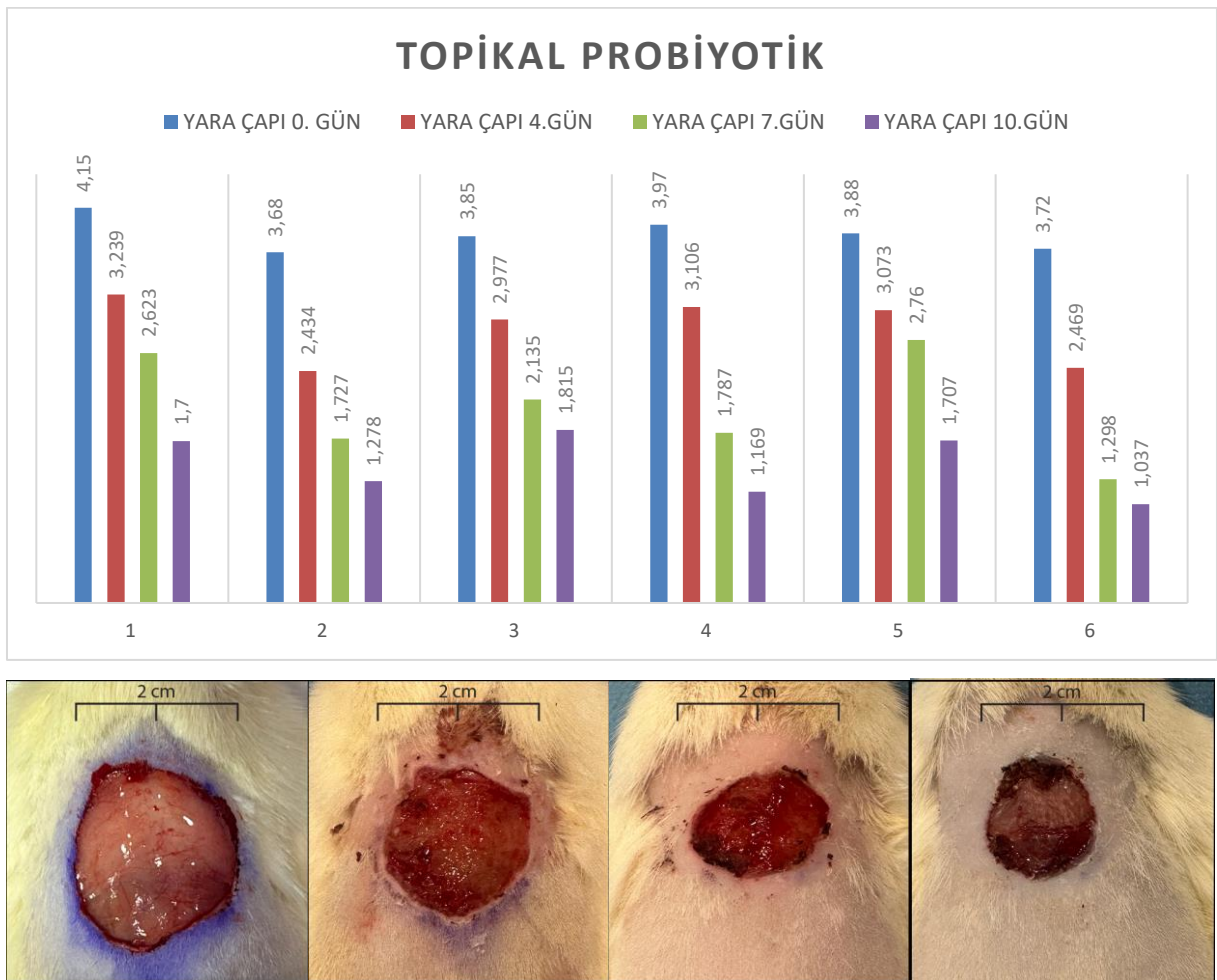
Tablo 11: Sadece VYK kullanılan grubun (Grup 1) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.



Şekil 22: Sadece VYK kullanılan grubun (Grup 1) yara çapı takipleri.

GRUPLAR	0. GÜN	4.GÜN	7.GÜN	10.GÜN
P1	4,15	3,239	2,623	1,7
P2	3,68	2,434	1,727	1,278
P3	3,85	2,977	2,135	1,815
P4	3,97	3,106	1,787	1,169
P5	3,88	3,073	2,76	1,707
P6	3,72	2,469	1,298	1,037
ORTALAMA	3,875	2,883	2,055	1,451

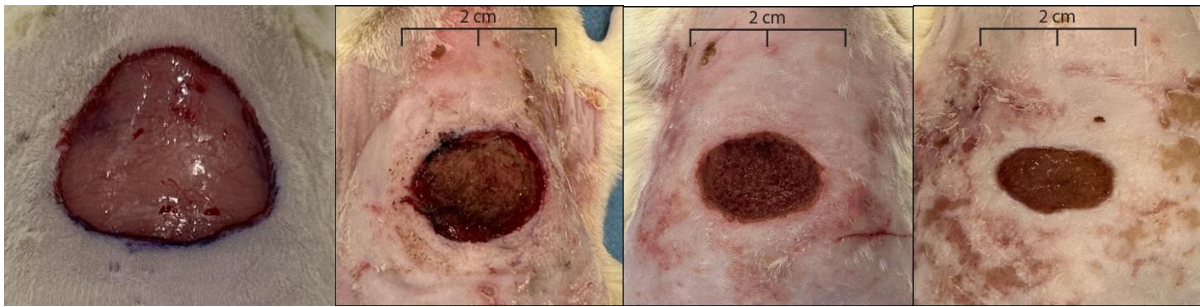
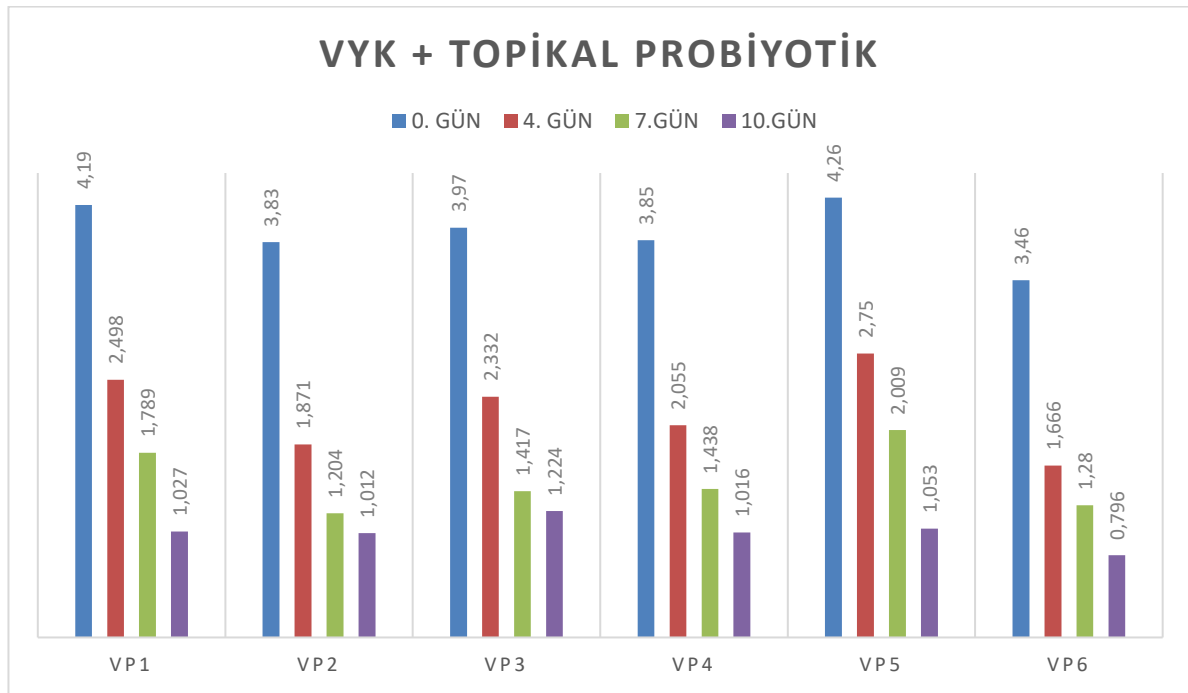
Tablo 12: Sadece topikal probiyotik kullanılan grubun (Grup 2) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.



Şekil 21: Sadece topikal probiyotik uygulanan grubun (Grup 2) yara çapı takipleri.

GRUPLAR	0.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	10.GÜN
Vp1	4,19	2,498	1,789	1,027
Vp2	3,83	1,871	1,204	1,012
Vp3	3,97	2,332	1,417	1,224
Vp4	3,85	2,055	1,438	1,016
Vp5	4,26	2,75	2,009	1,053
Vp6	3,46	1,666	1,28	0,796
ORTALAMA	3,92666667	2,19533333	1,52283333	1,02133333

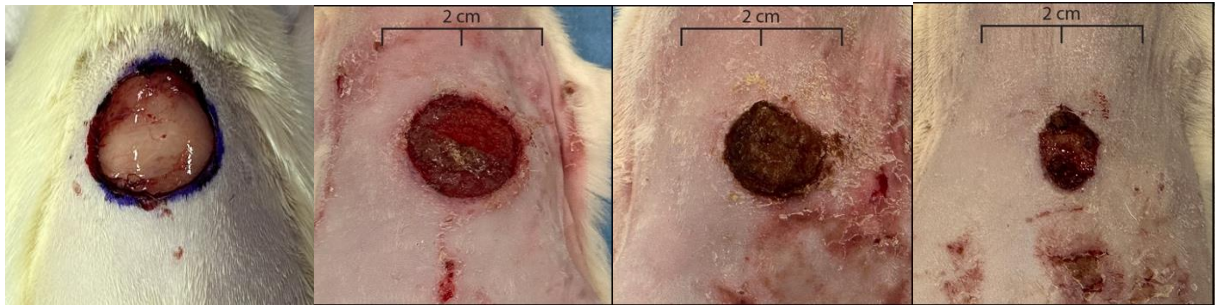
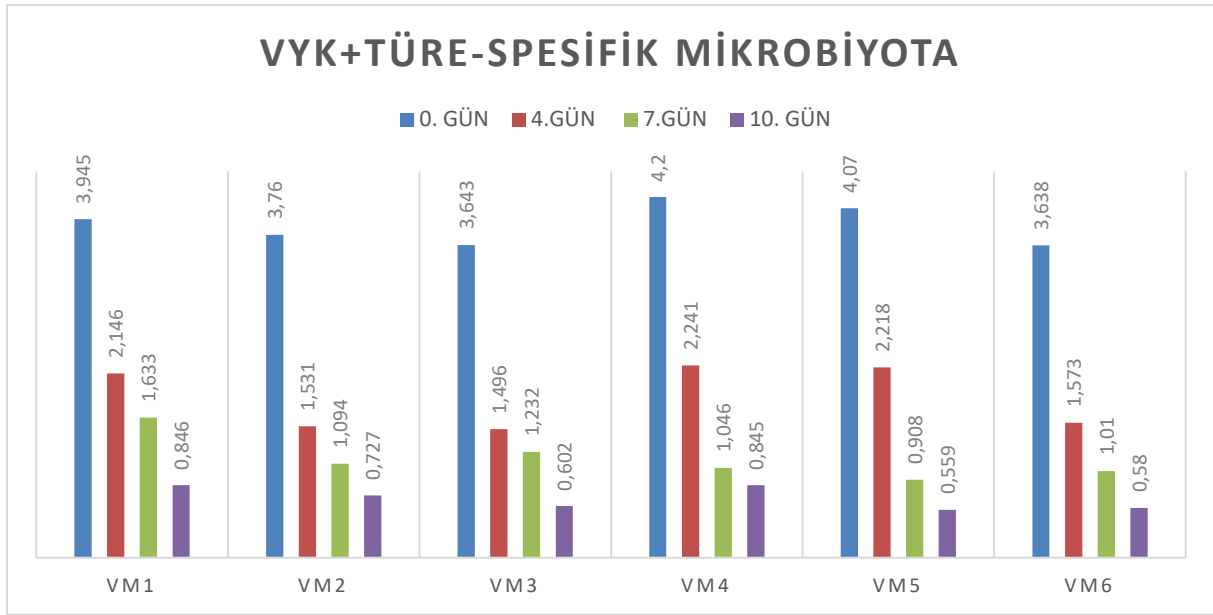
Tablo 13: VYK ile topikal probiyotik kullanılan grubun (Grup 3) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.



Şekil 23: VYK ile topikal probiyotik uygulanan grubun (Grup 3) yara çapı takipleri.

GRUPLAR	0.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	10.GÜN
Vm1	3,945	2,146	1,633	0,846
Vm2	3,76	1,531	1,094	0,727
Vm3	3,643	1,496	1,232	0,602
Vm4	4,2	2,241	1,046	0,845
Vm5	4,07	2,218	0,908	0,559
Vm6	3,638	1,573	1,01	0,58
ORTALAMA	3,876	1,8675	1,15383333	0,69316667

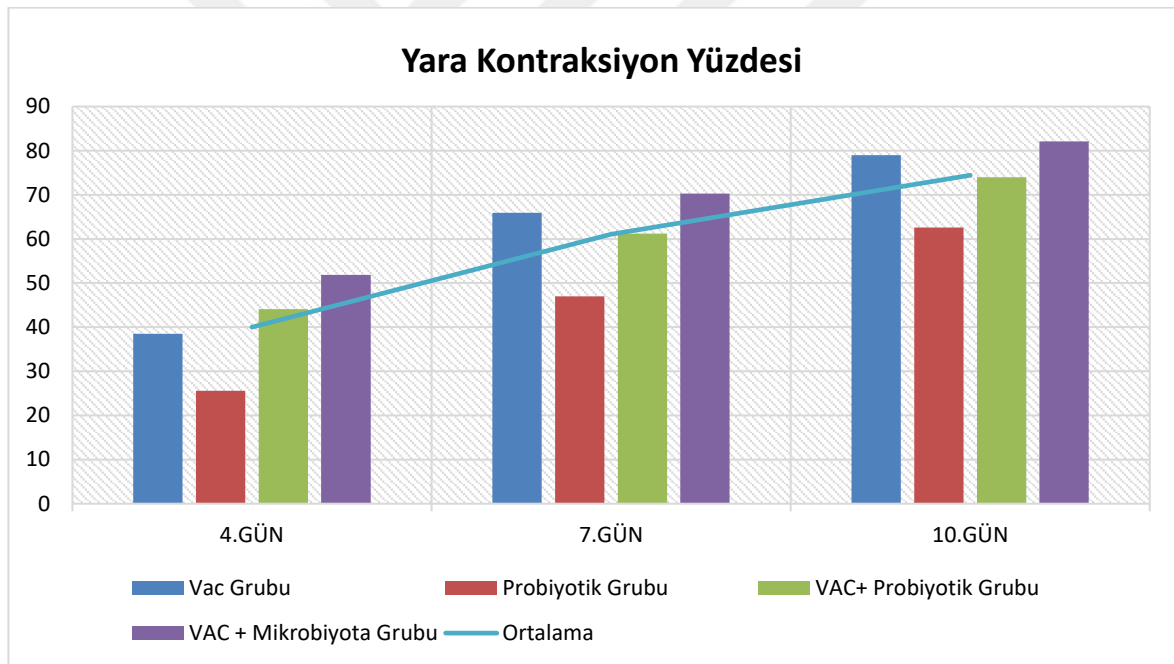
Tablo 14 : VYK ile türe-spesifik mikrobiyota kullanılan grubun (Grup 4) her kontroldeki yara alanı ölçümleri.



Şekil 24: VYK ile türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grubun (Grup 4) yara çapı takipleri.

YARA KONTRAKSİYON YÜZDESİ (%)	4.GÜN	7.GÜN	10.GÜN
Grup 1	38,51	65,9	78,99
Grup 2	25,6	47	62,6
Grup 3	44,09	61,24	74
Grup 4	51,82	70,24	82,12
Ortalama	40,005	61,095	74,4275

Tablo 15: Yara kontraksiyon yüzdesinin gruptaki değişimi.



Tablo 16: Yara kontraksiyon yüzdesinin gruptaki değişiminin grafik incelemesi.

4.2. Histopatolojik bulgular

Histolojik değerlendirme sonrası skorlama sonuçları aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

Grup	Denek No	Epidermal Organizasyon	Granülasyon Kalınlığı	Anjiyogenez	TOPLAM SKOR
Grup 1	1	1	4	2	7
	2	2	3	1	6
	3	1	3	1	5
	4	1	4	1	6
	5	1	3	1	5
	6	1	4	2	7
	ORT.	1,167	3,500	1,333	6,000
	STDSAPMA	0,408	0,548	0,516	0,894

Tablo 17: Sadece VYK kullanılan grubun histopatolojik skorları.

Grup	Denek No	Epidermal Organizasyon	Granülasyon Kalınlığı	Anjiyogenez	TOPLAM SKOR
Grup 2	1	3	2	2	7
	2	2	2	2	6
	3	2	3	3	8
	4	2	2	2	6
	5	3	2	1	6
	6	2	2	1	5
	ORT.	2,333	2,167	1,833	6,333
	STDSAPMA	0,516	0,408	0,753	1,033

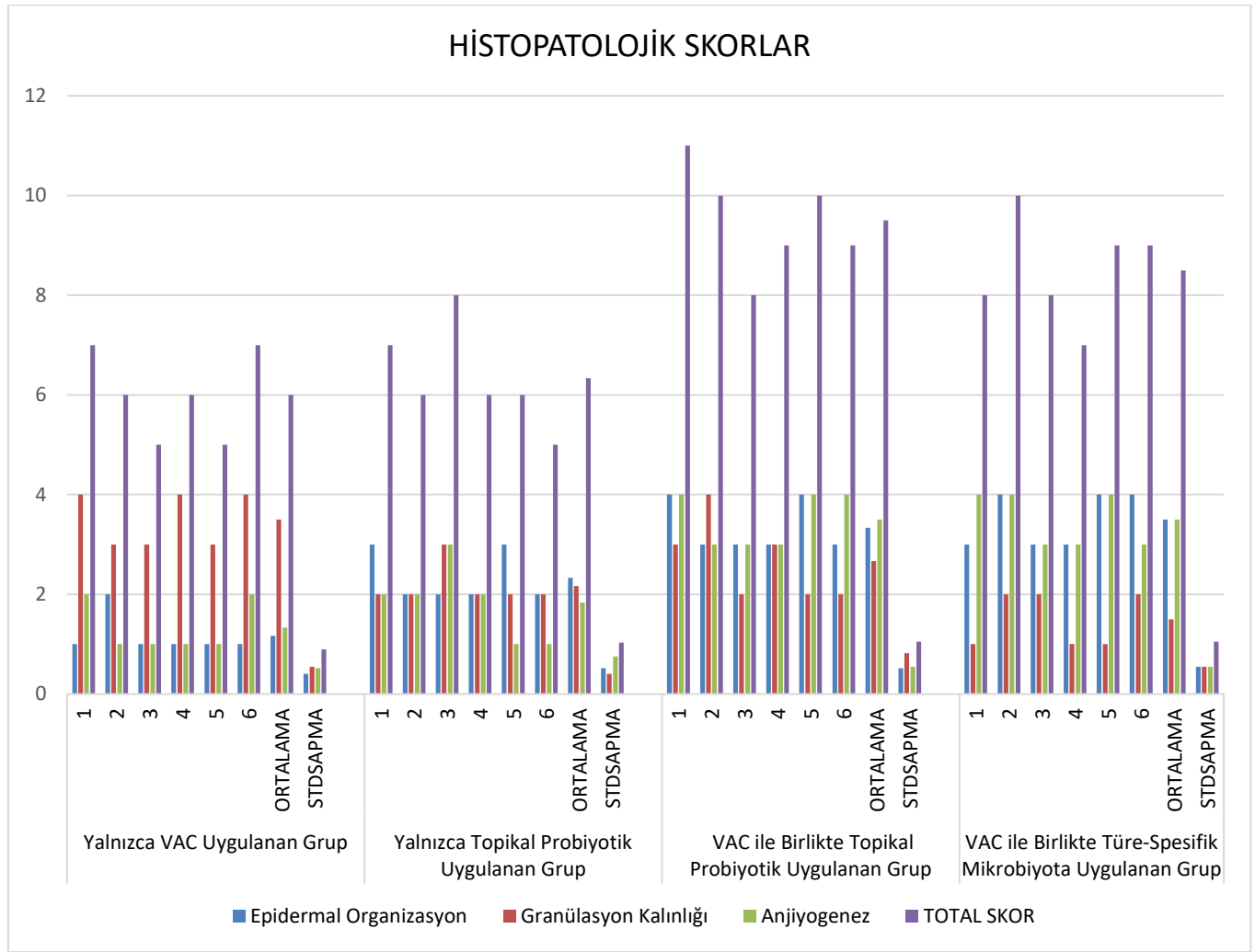
Tablo 18: Sadece topikal probiyotik kullanılan grubun histopatolojik skorları.

Grup	Denek No	Epidermal Organizasyon	Granulasyon Kalınlığı	Anjiyogenez	TOPLAM SKOR
Grup 3	1	4	3	4	11
	2	3	4	3	10
	3	3	2	3	8
	4	3	3	3	9
	5	4	2	4	10
	6	3	2	4	9
	ORT.	3,333	2,667	3,500	9,500
	STDSAPMA	0,516	0,816	0,548	1,049

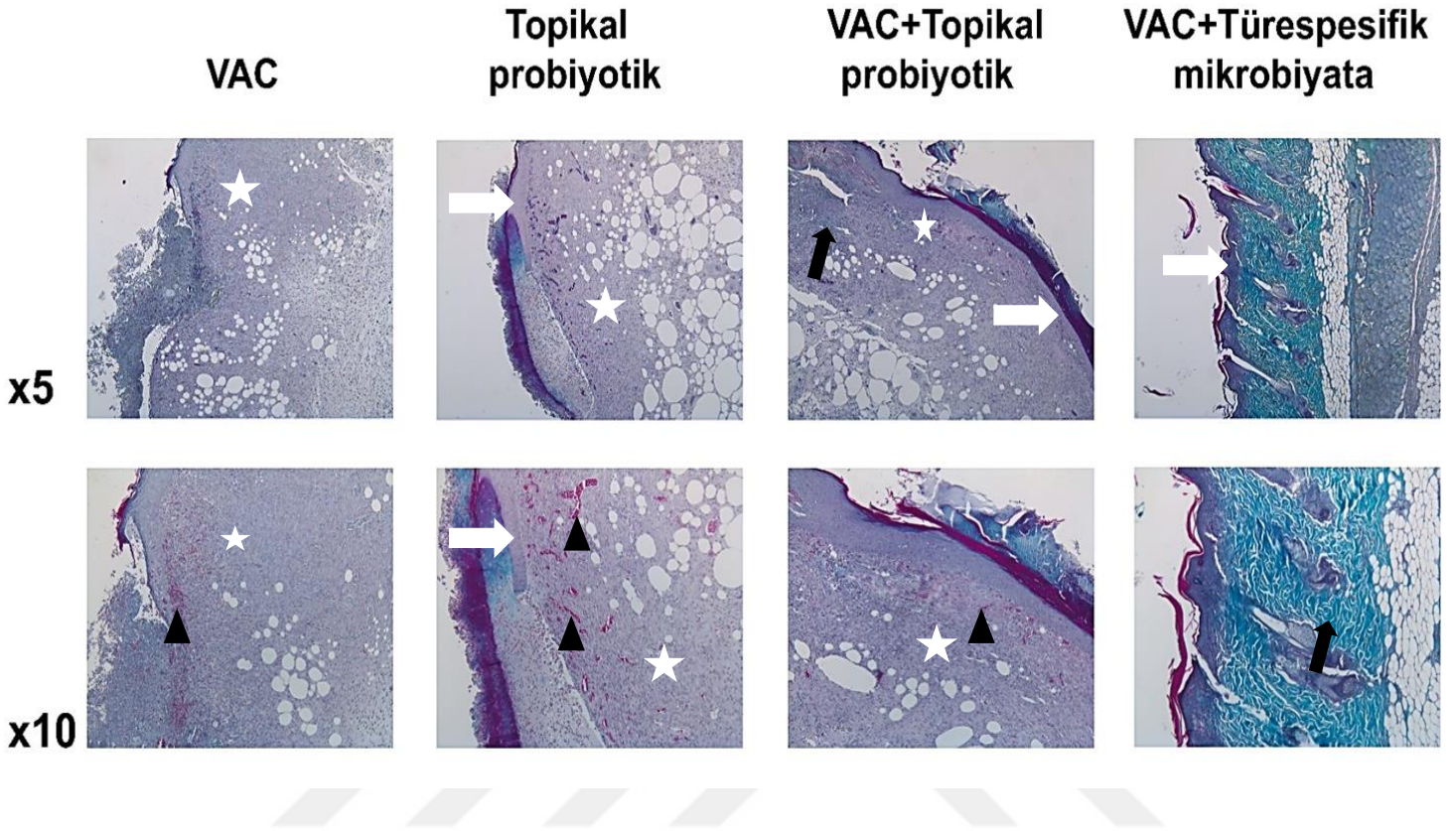
Tablo 19: VYK ile topikal probiyotik uygulanan grubun histopatolojik skorları.

Grup	Denek No	Epidermal Organizasyon	Granulasyon Kalınlığı	Anjiyogenez	TOPLAM SKOR
Grup 4	1	3	1	4	8
	2	4	2	4	10
	3	3	2	3	8
	4	3	1	3	7
	5	4	1	4	9
	6	4	2	3	9
	ORT.	3,500	1,500	3,500	8,500
	STDSAPMA	0,548	0,548	0,548	1,049

Tablo 20: VYK ile türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grubun histopatolojik skorları.



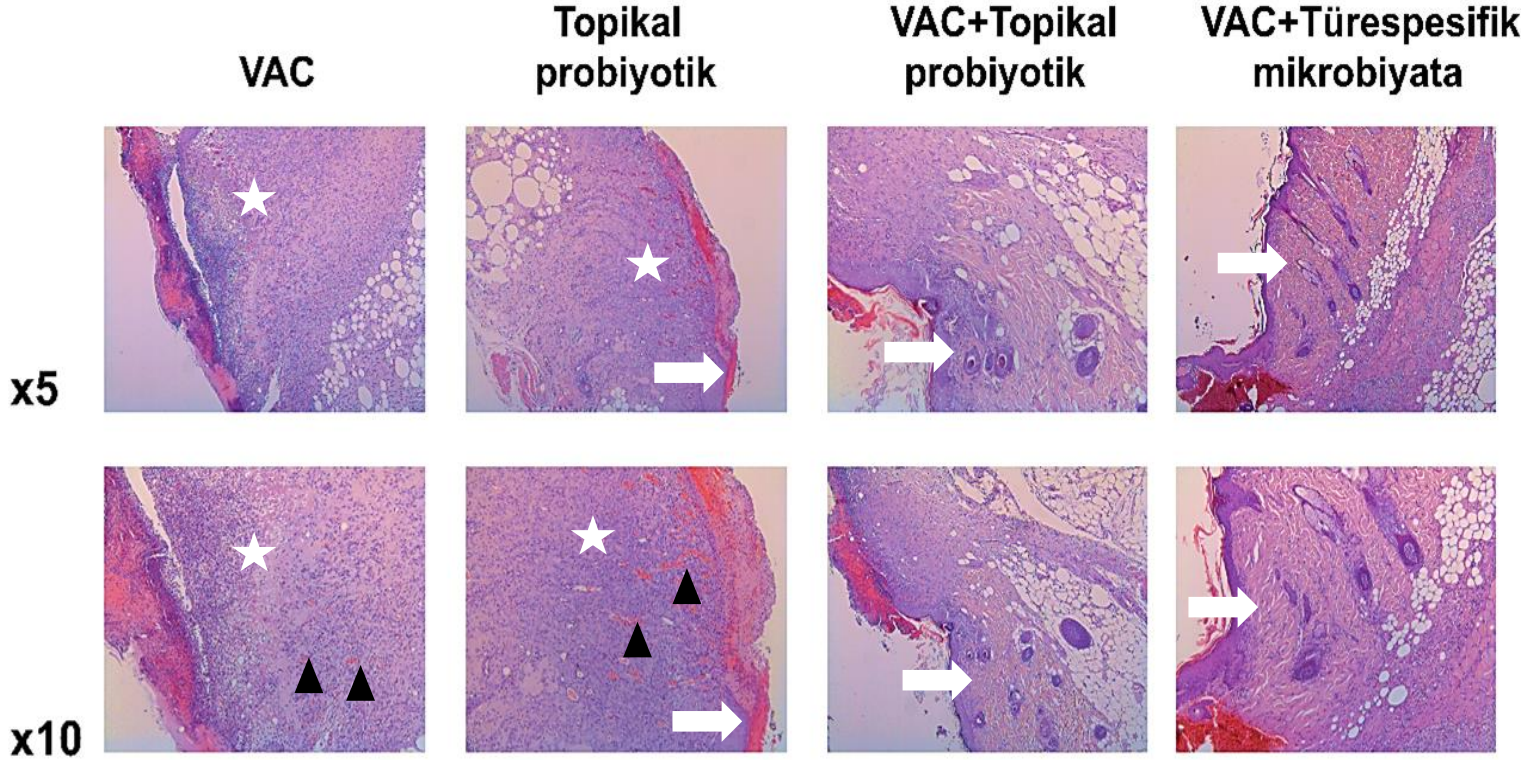
Tablo 21: Grupların histopatolojik skorlarının grafik incelemesi.



Şekil 25: Deney gruplarının karşılaştırmalı olarak Masson Trikrom ile boyanmış histolojik görüntüleri.

Resimde siyah ok başı yeni oluşan damarları, beyaz oklar epiteli ve yıldız simgesi ise granülasyon dokusunu göstermektedir. Kollajen lifler ise siyah oklar ile göstermektedir. Resimlerde yeni oluşan epitel dokusunun Grup 1 ve Grup 2’de iyileşmesi gerçekleşmemiştir. Kollajen liflerin ve bağ dokusunun Grup 3’te oluşmaya başladığı ve Grup 4’te ise dokunun iyileşme sürecinde olduğu gözlemlenmiştir.

Resimler x5 ve x10’luk büyütmededir. Skala 400 mikrometre ve 200 mikrometredir.



Şekil 26: Deney gruplarının karşılaştırmalı olarak Hematoksilen-Eozin ile boyanmış histolojik görüntüleri.

Resimde siyah ok başı oluşan yeni damarları, beyaz oklar epiteli ve yıldız ise granülasyon dokusunu göstermektedir. Resimlerde yeni oluşan epitel dokusunun Grup 1 ve Grup 2’de iyileşmesi gerçekleşmemiştir. Yeni damarların oluşması yine bu gruplarda şiddetli şekilde görülmektedir. Granülasyon dokusu yine bu gruplarda oldukça fazla olduğundan iyileşmeyi geciktirmiştir. Son grupta epitel rejenerasyonu ve kıl foliküllerinin varlığı dokunun iyileşme yönüne doğru gittiğinin belirtisidir. Kollajen liflerin ve bağ dokusunun Grup 3’te oluşmaya başladığını ve Grup 4’te ise dokunun iyileşme sürecinde olduğu gözlemlenmiştir.

Resimler x5 ve x10’luk büyütmededir. Skala 400 mikrometre ve 200 mikrometredir.

4.3. İstatistiksel Bulgular

		¹ VYK	² Topikal probiyotik	³ VYK+Topikal probiyotik	⁴ VYK +Türe-spesifik mikrobiyota	^a _p	Anlamlılık
Epidermal Organizasyon	<i>Ort±Ss</i>	1,17±0,41	2,33±0,52	3,33±0,52	3,50±0,55	0,001**	1<3,4 2<4
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	1 (1-1)	2 (2-3)	3 (3-4)	3,5 (3-4)		
	Dokunun ≥%20'sinde zayıf epidermal oluşum	5 (83,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
	Dokunun ≥%40'ı kadar eksik epidermal oluşum	1 (16,7)	4 (66,7)	0 (0)	0 (0)		
	Dokuda orta derecede epitel proliferasyon	0 (0)	2 (33,3)	4 (66,7)	3 (50)		
	Dokunun ≥%80'inin epidermal yeniden şekillenmesinin tamamlanması	0 (0)	0 (0)	2 (33,3)	3 (50)		
Granülasyon Kalınlığı	<i>Ort±Ss</i>	3,5±0,55	2,17±0,41	2,67±0,82	1,5±0,55	0,002**	1>2,4 3>4
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	3,5 (3-4)	2 (2-2)	2,5 (2-3)	1,5 (1-2)		
	İnce granülasyon tabakası	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (50)		
	Orta düzeyde granülasyon katmanı	0 (0)	5 (83,3)	3 (50)	3 (50)		
	Kalın granülasyon tabakası	3 (50)	1 (16,7)	2 (33,3)	0 (0)		
	Çok kalın granülasyon tabakası	3 (50)	0 (0)	1 (16,7)	0 (0)		
Anjiyogenez	<i>Ort±Ss</i>	1,33±0,52	1,83±0,75	3,5±0,55	3,5±0,55	0,001**	1<3,4 2<3,4
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	1 (1-2)	2 (1-2)	3,5 (3-4)	3,5 (3-4)		
	Az sayıda yeni oluşmuş kılcıl damar (3-4/bölge)	4 (66,7)	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)		
	Ara sıra tıkanıklık, orta derecede ödem ve kanama, intravasküler fibrin birikimi ve trombozun olmaması	2 (33,3)	3 (50)	0 (0)	0 (0)		
	Yeni oluşmuş kılcıl damarlar (5-6/bölge)	0 (0)	1 (16,7)	3 (50)	3 (50)		
	Yeni oluşmuş ve normal görünen kılcıl	0 (0)	0 (0)	3 (50)	3 (50)		

	damarlar (>7/bölge)						
Toplam Skor	<i>Ort±Ss</i>	5,67±1,03	6,33±1,03	9,5±1,05	8,5±1,05	0,001**	1<3,4
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	6 (5-6)	6 (6-7)	9,5 (9-10)	8,5 (8-9)		2<3,4

^aKruskal Wallis Test & Dunn-Bonferroni Test

**p<0,01

Tablo 22: Gruplara göre histopatolojik skorların karşılaştırılması.

Gruplara göre deneklerin epidermal organizasyon skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,001; p<0,01). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

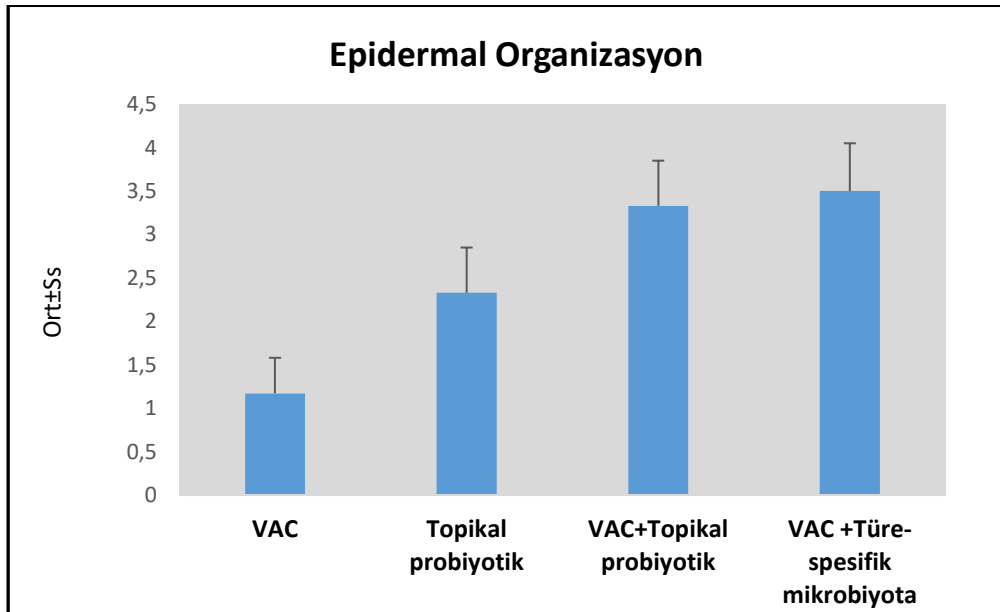
Grup 1'deki deneklerin skorları Grup 3 ve Grup 4'teki deneklerden anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (p=0,003; p=0,001; p<0,01).

Grup 2'deki deneklerin skorları Grup 4'teki deneklerden anlamlı olarak düşüktür (p=0,037; p<0,05).

Grup 1'deki deneklerin skorları ile Grup 2'deki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,583; p>0,05).

Grup 2'deki deneklerin skorları ile Grup 3'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,445; p>0,05).

Grup 3'teki deneklerin skorları ile Grup 4'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. (p=1,000 p>0,05).



Tablo 23: Gruplarda epidermal organizasyon skorlarının dağılımı.

Gruplara göre deneklerin granülasyon kalınlığı skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,002$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

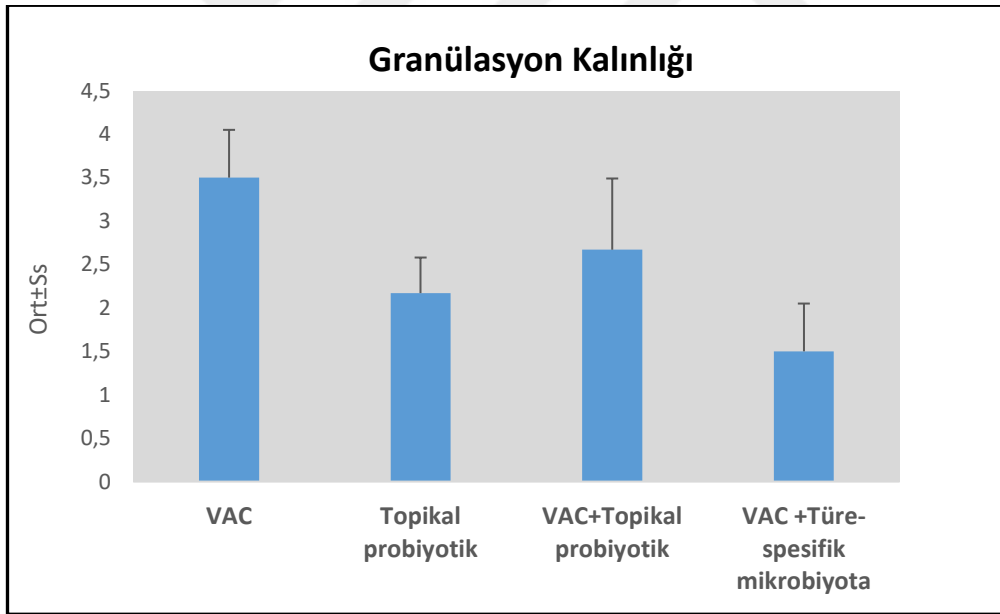
Grup 1'deki deneklerin skorları Grup 2 ve Grup 4'teki deneklerden anlamlı olarak yüksektir ($p=0,012$; $p=0,001$; $p<0,05$).

Grup 3'teki deneklerin skorları Grup 4'tekilerden anlamlı olarak yüksektir ($p=0,025$; $p<0,05$).

Grup 1'deki deneklerin skorları ile Grup 3'tekiler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,738$; $p>0,05$).

Grup 2'deki deneklerin skorları ile Grup 3'tekiler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 2'deki deneklerin skorları ile Grup 4'teki deneklerin skorları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).



Tablo 24: Gruplarda granülasyon kalınlığı skorlarının dağılımı.

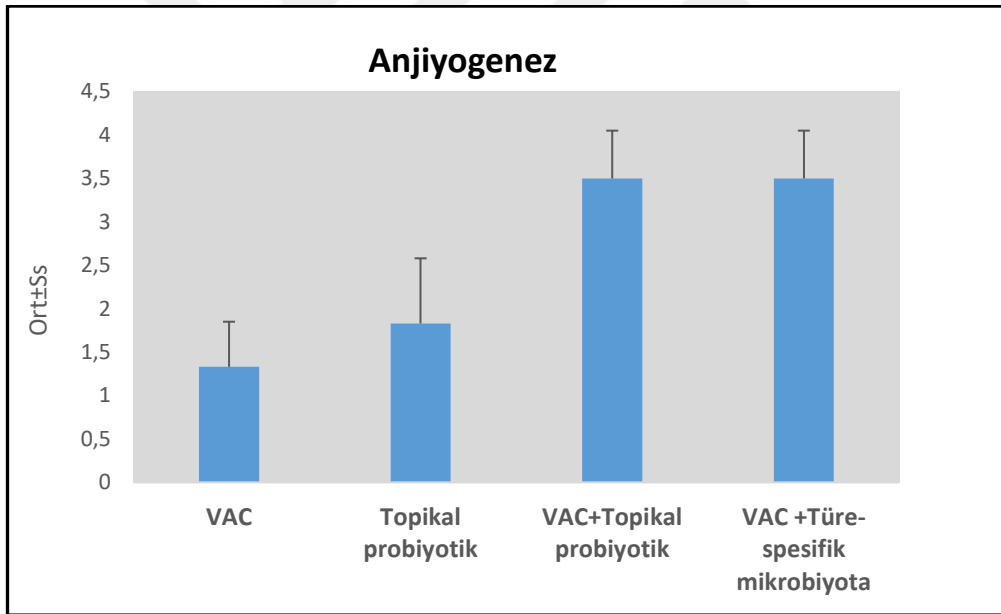
Gruplara göre deneklerin anjiyogenez skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

Grup 1'deki deneklerin skorları Grup 3 ve Grup 4'tekilerden anlamlı düşüktür ($p=0,001$; $p=0,001$; $p<0,01$).

Grup 2'deki deneklerin skorları Grup 3 ve Grup 4'teki deneklerin skorlarından anlamlı olarak düşüktür ($p=0,011$; $p=0,011$; $p<0,05$).

Grup 1'deki deneklerin skorları ile Grup 2'dekiler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 3'teki deneklerin skorları ile Grup 4'tekiler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).



Tablo 25: Gruplarda anjiyogenez skorlarının dağılımı.

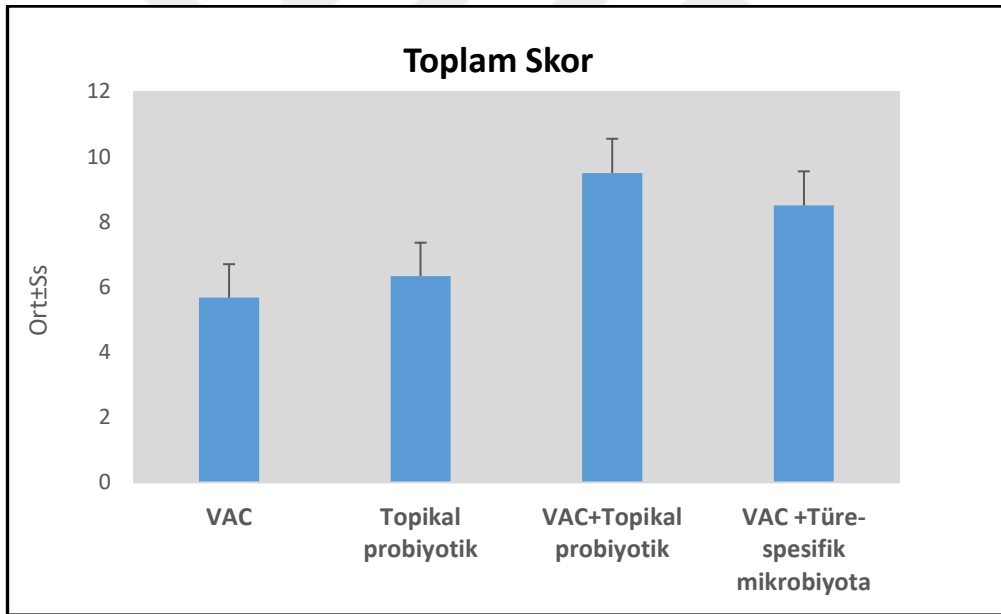
Gruplara göre deneklerin toplam hasar skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

Grup 1'deki deneklerin skorları Grup 3 ve Grup 4'teki deneklerin skorlarından anlamlı düşüktür ($p=0,001$; $p=0,007$; $p<0,01$).

Grup 2'deki deneklerin skorları Grup 3 ve Grup 4'tekilerden anlamlı düşüktür ($p=0,003$; $p=0,033$; $p<0,05$).

Grup 1'deki deneklerin skorları ile Grup 2'deki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 3'teki deneklerin skorları ile Grup 4'teki deneklerin skorları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).



Tablo 26: Gruplarda toplam hasar skorlarının dağılımı.

		¹ Topikal Probiyotik	² VYK + Topikal probiyotik	³ VYK	⁴ VYK +Türe-spesifik mikrobiyota	^a p	Anlamlılık
0.gün	<i>Ort±Ss</i>	3,88±0,17	3,93±0,29	3,85±0,24	3,88±0,23	0,939	-
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	3,9 (3,7-4)	3,9 (3,8-4,2)	3,9 (3,8-4)	3,9 (3,6-4,1)		
4.gün	<i>Ort±Ss</i>	2,88±0,34	2,2±0,41	2,37±0,24	1,87±0,37	0,004**	1>2,4
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	3 (2,5-3,1)	2,2 (1,9-2,5)	2,4 (2,2-2,6)	1,9 (1,5-2,2)		
7.gün	<i>Ort±Ss</i>	2,06±0,56	1,52±0,31	1,13±0,28	1,15±0,26	0,007**	1>3,4
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	2 (1,7-2,6)	1,4 (1,3-1,8)	1,3 (0,8-1,4)	1,1 (1-1,2)		
10.gün	<i>Ort±Ss</i>	1,45±0,33	1,02±0,14	0,81±0,29	0,69±0,13	0,002**	1>3
	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	1,5 (1,2-1,7)	1 (1-1,1)	0,8 (0,6-1)	0,7 (0,6-0,8)		4<1,2
	^b p	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**		
Değişim Δ							
0.gün-10.gün	<i>Ort±Ss</i>	-2,42±0,29	-2,91±0,23	-3,04±0,41	-3,18±0,20	0,011*	1<3,4
	^{bb} p	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**		

^aKruskal Wallis Test & Dunn-Bonferroni Test

^bFriedman Test & ^{bb}Wilcoxon Düzeltmeli Signed-Rank Test

Tablo 27: Gruplara göre yara alanı değişimlerinin karşılaştırılması.

Gruplara göre deneklerin 0. gündeki yara alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Gruplara göre deneklerin 4. gündeki yara alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,004$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

Grup 2'deki deneklerin 4. gündeki yara alanları Grup 3 ve Grup 4'teki deneklerin yara alanlarından daha fazladır ($p=0,022$; $p=0,001$; $p<0,05$).

Grup 2'deki deneklerin 4. gündeki yara alanları ile Grup 1 arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,615$; $p>0,05$).

Grup 3'teki deneklerin 4. gündeki yara alanları ile Grup 1 ve Grup 4 arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 1'deki deneklerin 4. gündeki yara alanları ile Grup 4'tekiler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,300$; $p>0,05$).

Gruplara göre deneklerin 7. gündeki yara alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,007$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

Grup 2'deki deneklerin 7. gündeki yara alanları Grup 1 ve Grup 4'tekilerden daha fazladır ($p=0,006$; $p=0,003$; $p<0,01$).

Grup 2'deki deneklerin 7. gündeki yara alanları ile Grup 3'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 3'teki deneklerin 7. gündeki yara alanları ile Grup 1 ve Grup 4 uygulananlar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,565$; $p=0,362$; $p>0,05$).

Grup 1'deki deneklerin 7. gündeki yara alanları ile Grup 4 arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

Gruplara göre deneklerin 10. gündeki yara alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,007$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

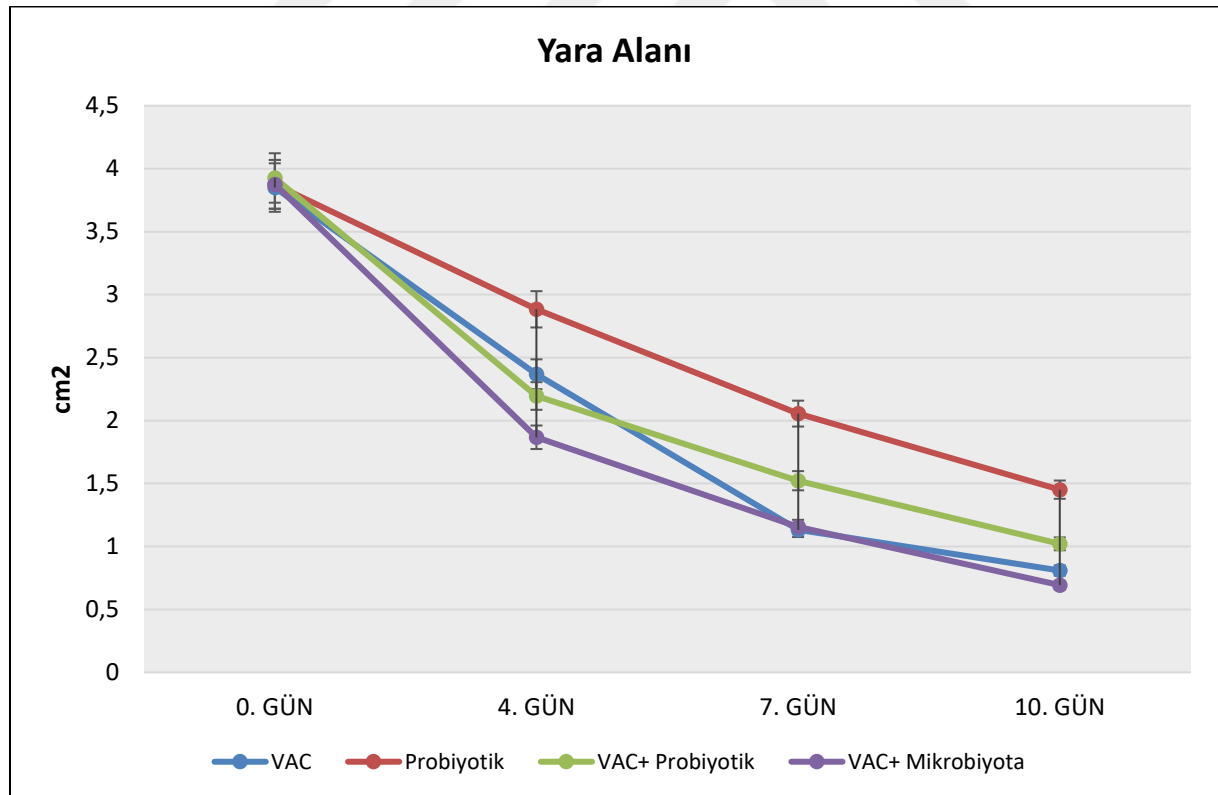
Grup 2'deki deneklerin 10. gündeki yara alanları Grup 1'deki yara alanlarına göre daha fazladır ($p=0,006$; $p<0,01$).

Grup 4'teki deneklerin 10. gündeki yara alanları Grup 2 ve Grup 3'teki deneklerin yara alanlarına göre daha azdır ($p=0,001$; $p=0,045$; $p<0,05$).

Grup 2'deki deneklerin 10. gündeki yara çapları ile Grup 3'tekiler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,615$; $p>0,05$).

Grup 3'teki deneklerin 10. gündeki yara çapları ile Grup 1 arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 1'deki deneklerin 10. gündeki yara çapları ile Grup 4'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).



Tablo 28: Gruplarda yara alanlarının değişimlerinin grafik incelemesi.

Sadece VYK uygulanan gruptaki (Grup 1) deneklerin 0. gün, 4. gün, 7. gün ve 10. gün yara alanlarındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). 0. güne göre 10. gün yara alanlarındaki ortalama $3,04\pm 0,41$ birimlik düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Topikal probiyotik uygulanan gruptaki (Grup 2) deneklerin 0. gün, 4. gün, 7. gün ve 10. gün yara alanlarındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). 0. güne göre 10. gün yara alanlarındaki ortalama $2,42\pm 0,29$ birimlik düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$; $p<0,01$).

VYK+ topikal probiyotik uygulanan gruptaki (Grup 3) deneklerin 0. gün, 4. gün, 7. gün ve 10. gün yara alanlarındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). 0. güne göre 10. gün yara alanlarındaki ortalama $2,91\pm 0,23$ birimlik düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$; $p<0,01$).

VYK+ türe-spesifik mikrobiyota uygulanan gruptaki (Grup 4) deneklerin 0. gün, 4. gün, 7. gün ve 10. gün yara alanlarındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). 0. güne göre 10. gün yara alanlarındaki ortalama $3,18\pm 0,20$ birimlik düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Gruplara göre deneklerin 0. güne göre 10. gündeki yara alanlarındaki değişim miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde;

Grup 2'deki deneklerin 0. güne göre 10. gündeki yara alanlarındaki ortalama değişim miktarı, Grup 1 ve Grup 4'tekilerden daha azdır ($p=0,010$; $p=0,002$; $p<0,05$).

Grup 2 uygulanan deneklerin 0. güne göre 10. gündeki yara alanlarındaki ortalama değişim miktarı ile Grup 3'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,300$; $p>0,05$).

Grup 3'teki deneklerin 0. güne göre 10. gündeki yara alanlarındaki ortalama değişim miktarı ile Grup 1 ve Grup 4'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p=1,000$; $p>0,05$).

Grup 1'deki deneklerin 0. güne göre 10. gündeki yara alanlarındaki ortalama değişim miktarı ile Grup 4'teki denekler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=1,000$; $p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada, sıçanlarda oluşturduğumuz yara modelinde VYK ile topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota tedavilerinin kombine uygulamalarının yara iyileşmesini hızlandırdığını, yara iyileşmesini sürecini olumlu etkilediğini ortaya koyduk. Bu değerlendirmeyi makroskopik yara alanı ölçümleri ve histopatolojik hasar skorlarını kullanarak gerçekleştirdik. VYK kullanılan diğer tüm grupların makroskopik yara alanı takiplerinde VYK kullanılmayan gruba göre anlamlı olarak daha iyi sonuçlara sahip olduğunu, yara alanının küçülmesini diğer gruba nazaran hızlandırdığını gösterdik. Elde ettiğimiz bulgularla VYK uygulamasıyla birlikte tedaviye topikal probiyotik veya türe-spesifik mikrobiyota eklenmesinin yara iyileşmesini hızlandırdığını, başta epidermal organizasyon ve anjiyogenez olmak üzere histopatolojik skorları anlamlı derecede olumlu etkilediğini göstermiş olduk.

Yara iyileşmesi hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, revaskülarizasyon, reepitelizasyon, granülasyon, maturasyon ve yeniden şekillenme gibi aşamaları içeren kompleks ve multifaktöryel bir süreçtir. Yara iyileşmesinde temel hedef, doku hasarıyla başlayan bu sürecin en hızlı şekilde ve komplikasyona mahal vermeden tamamlanmasını sağlamaktır. Birçok sitokin ve mediyatörün rol aldığı, lokal ve sistemik faktörlerden etkilenebilen bu sürecin herhangi bir şekilde akamete uğraması kronik yaraların oluşmasına sebep olur. Kronik yaralar hastayı fizyolojik ve psikolojik olarak etkilemenin yanı sıra hastane yatış süresini, iş gücü kaybını ve tedavi maliyetini de artıran bir durumdur.

Herhangi bir travmaya veya geçirilmiş cerrahiye bağlı oluşan yaraların tedavisi diğer tüm cerrahi branşlarda olduğu gibi Ortopedi ve Travmatolojinin de en önemli konularından birini teşkil eder. Geleneksel ve modern tıbbın neredeyse ilk insandan itibaren kafa yorduğu yara iyileşmesinin optimizasyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır ve her geçen gün bu çalışmaların yenileri literatüre eklenmektedir. Yaptığımız çalışmanın kendi konusunda literatürde bir ilk olması yönüyle gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutacağını, bu yönüyle yara iyileşmesi literatürüne katkı sunacağını düşünüyoruz.

Yara iyileşmesinde negatif basınçlı terapi ve vakum uygulamasının ilk örnekleri elli yılı aşkın süre önceye dayanmaktadır. Negatif basıncın yara üzerine etkilerinin 20. yüzyılın ikinci yarısına doğru ortaya konmasına karşın ilk klinik uygulamalar 90'lı yıllarda görülmektedir.

1989'da Chariker ve arkadaşları, NBYT'yi "insizyonel ve kutanöz fistüllerde drenaj sistemi" şeklinde tanımlamıştır (51). 1993'te ise Fleischmann ve arkadaşları buna benzer bir sistemle açık kırıklarda bu tedavinin granülasyonu artırdığı şeklinde bildirmişlerdir (52).

VYK sisteminin etki mekanizması bugünkü bildiğimiz haliyle ilk olarak Morykwas ve Argenta'nın 1997 yılında domuzlar üzerinde yaptığı çalışma ile tanımlanmıştır. Morykwas ve arkadaşları tarafından VYK sisteminin lokal kan akımını artırarak, granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırarak, yaradaki bakteriyel kolonizasyonu azaltarak ve lokalize ödemin uzaklaşmasını sağlayarak etki gösterdikleri belirtilmiştir (54). Labler ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada VYK uygulamasının IL-8 ve VEGF konsantrasyonlarını artırarak nötrofil kemotaksisini ve anjiyogenezi uyardığı; böylece neovaskülarizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (94).

Scherer ve arkadaşları diyabetik fareler üzerinde 125 mmHg negatif basınç ile yaptıkları çalışmada VYK tedavisinin yara yatağındaki vaskülarizasyonu ve hücre proliferasyonunu artırdığını bildirmişlerdir (95). Yine Morykwas ve arkadaşları domuzlarda yaptıkları çalışmada 25 mmHg, 125 mmHg ve 500 mmHg basınç düzeylerini karşılaştırmış ve 125 mmHg'daki aralıklı uygulama ile etkinliğin en yüksek olduğunu göstermişlerdir (96).

Şahin ve arkadaşları 30 hastayı dahil ettikleri çalışmalarında evre 3 ve 4 bası yaraları için VYK tedavisi uygulamışlar ve ıslak-kuru pansumana göre VYK uygulamasının daha yüksek etkinliğini ortaya koymuşlardır (97). Gabriel ve arkadaşlarının yaptığı metaanaliz çalışmasında negatif basınçlı yara tedavilerinin standart tedavilere nazaran daha az cerrahi debridman gerektirdiği, daha hızlı bir yara kapanma süresinin olduğu ve yara sahasındaki bakteriyel sayımların daha az olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır (98). Stannard ve arkadaşları 44 hastayı dahil ettikleri çalışmada VYK grubundaki yara hematoma gerilemesi sürecinin daha hızlı ve enfeksiyon oranlarının daha az olduğunu bildirmişlerdir (99).

VYK tedavisinin Ortopedi ve Travmatoloji harici muhtelif branşlarda da kullanım alanı geniştir ve etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Almeida ve arkadaşları pyoderma gangrenosum tedavisinde (100), Tuuli ve arkadaşları sezaryen geçirmiş obez kadın hastalarda (101), Tian ve arkadaşları yine aynı hasta grubunda profilaktik tedavi olarak (102), Zhang ve arkadaşları nekrotizan fasiitli hastalarda (103), Iacovelli ve arkadaşları Fournier gangreni tedavisinde (104), Chen ve arkadaşları diyabetik ayak ülserlerinde (105) VYK tedavisinin etkili olduğu bildirilmiştir. Yüz ve boyundaki defektli yaralarda, yanık hastalarında, abdominal duvar defektlerinde, ve spinal füzyon cerrahilerine bağlı yaralarda kullanımı gösterilmiştir.

Tanımlanmasının üzerinden bir dekad geçmeden VYK tedavisinin yara iyileşmesinde çok sık kullanılması, etki prensiplerinin çok fazla araştırmaya konu olması ve klinik kullanımdaki farklılıklar araştırmacıları bir konsensüs oluşturmaya itmiştir. 2011 yılında Krug ve arkadaşları, 400'den fazla bağımsız sağlık profesyonelinin katıldığı uluslararası uzman panelinin çıktılarını ve VYK tedavisi ile ilgili kanıta dayalı önerilerini yayınlamışlardır (106). Yine 2021 yılında Hurd ve arkadaşları tarafından benzeri bir uluslararası konsensüs panelindeki geleneksel ve tek kullanımlık negatif basınçlı tedavi sistemlerinin optimizasyonu ile ilgili öneriler bildirilmiştir (107).

Huang ve arkadaşlarının 2014 yılında, Normandin ve arkadaşlarının 2021 yılında, Quacinella ve arkadaşlarının 2023 yılında yayınladığı çalışmalar ve mezkur diğer birçok çalışma bize özetle şu ortak çıkarımları göstermiştir. VYK sistemi lokal subatmostferik basınç ve yara alanındaki drenajı sağlama etkisiyle granülasyonu artırır. Lokal kan akımını artırarak anjiyogenezi uyarır. Mevcut literatür iki dakikalık intervallerin olduğu beş dakikalık periyotlarda, aralıklı, 125 mmHg negatif basınç uygulamasının etkinliğini işaret etmektedir. Sistem 24 saatin en az 22 saatinde aktif çalışmalı, VYK kapama materyalleri steril koşullarda 48-72 saatte bir veya haftada üç kere değiştirilmelidir. Aktif kanama varlığında, malignite zemininde, debridmanın yapılmadığı osteomyelit benzeri kontrolsüz enfekte yaralar ve alerjik reaksiyonlar haricinde neredeyse tüm defektli yaralarda kullanımı endikedir (108-110). Eşlik eden diyabet, obezite, ileri yaş, immun-baskılayıcı tedavi gibi durumların olduğu cerrahi yaralarda, bazı durumlarda profilaktik şekilde dahi, kullanımı faydalı bulunmuştur (111). VYK tedavisinin etkinliği ve yara iyileşmesini hızlandıran, olumlu etkileri konusunda literatürde ve klinik kullanımda uzlaşıya varılmıştır. Ve yine güncel yara tedavileri literatürüne baktığımızda, VYK tedavisi kombine edilerek hayvan deneyleri yapılmış; rekombinant EGF, kalsiyum sülfat, otolog trombosit zengin plazma, trombosit zengin fibrin gibi tedavilerin etkinliği araştırılmıştır (112-115).

Çalışmamızda VYK tedavisini kullanım kolaylığı, rahatça ulaşılabilirliği ve hastane yatışlarını azaltan maliyet-etkin yönleriyle etkili bir yara tedavisi enstrümanı olması nedeniyle tercih ettik. Belirtilen literatür verilerini referans alarak aralıklı uygulama ve 125 mmHg negatif basınçla VYK sistemini kullandık. Yara takiplerini 4., 7. Ve 10. günde yaparak VYK sistemini her 72 saatte bir steril koşullarda değiştirdik. Deney esnasında VYK cihazlarını günde en az 22 saat aktif kalmasını sağlayacak şekilde güç kaynağına bağlı çalıştırdık.

Çalışmamız uygulama tekniği açısından literatürdeki diğer VYK tedavisi çalışmaları ile uyumlu olmakla beraber birlikte kullanıldığı topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota kombinasyonları ile de bir ilk olma özelliğini taşımaktadır. VYK sistemleriyle birlikte kullanılacak yardımcı yara tedavisi metodları araştırılırken çalışmamızın bu konuda ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Probiyotikler, intestinal ekosistem diyebileceğimiz bağırsak florasının dengesini sağlamada önemli vazifeleri olan canlı mikroorganizmalardır. Fermente besinlerin kullanılması ile tarihi çok eski zamanlara dayanan probiyotiklerin günümüzde cildiyeden genel cerrahi pratiğine, çocuk hastalıklarından ortopedi ve travmatolojiye tıbbın her branşında çok geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Konumuzu teşkil eden yara iyileşmesi üzerindeki etkileri de literatürde birçok çalışmaya konu olmuştur. Yapılan çalışmalar genel mahiyetiyle probiyotiklerin kollajen konsantrasyonunu artırarak, granülasyon dokusu seviyesinin yükselterek ve anjiyogenezi uyatarak etkili olduklarını ortaya koymuştur.

2005 yılında Valdez ve arkadaşları tarafından farelerde oluşturan modelde *Pseudomonas aureginosa* suşları kullanılarak enfekte yanık yaraları oluşturulmuş ve tedavide probiyotik organizma olarak *L.plantarum* kullanılmıştır. Deney sonucunda *P. Aureginosa* kolonizasyonunun probiyotik uygulamasıyla azaldığı, yara kenarlarındaki dermal rejenerasyonun daha iyi olduğu ve oluşan granülasyon dokusunun fibroblastlardan, kollajen matriksten ve kapiller damarlardan daha zengin olduğu gösterilmiştir (116).

2012’de Huseini ve arkadaşları benzer bir çalışma tasarlamışlar, 56 adet sıçanda yanık modeli oluşturup yine *P. aureginosa* ile enfekte etmişlerdir. Geleneksel gümüş sülfadiyazın ile kefir içeren topikal jel uygulaması karşılaştırılmış; kefirle tedavi edilen gruplarda yara boyutları daha küçük, inflamasyon daha az, epitelizasyon ve kollajen formasyonları daha iyi saptanmıştır (117). Oryan ve arkadaşları da benzer bir çalışmayı 2019 yılında yapmıştır. Kefirin yanık yaralarında fibroblast hücre göçünü indükleyerek ve IL-1 β ve TGF- β 1 modülasyonu ile yara iyileşmesini artıran etkisini göstermiştir (118).

2012 yılında Jones ve arkadaşları NO üreten probiyotikleri içeren bir ‘yama’ tasarlamış ve tavşanlarda oluşturdukları yara modelinde etkinliğini araştırmışlardır. NO’nun fibroblast, kollajen sentezinin ve doku kan akımını artırıcı etkisi bilinmektedir. Jones ve arkadaşları bu probiyotik kullanımı ile enfekte ve iskemik yarada iyileşmenin hızlandığını göstermişlerdir (119). Tsiouris ve arkadaşları, 2017 yılında yaptıkları bir meta-analizde daha önce kutanöz yaralarda probiyotik kullanımının yara iyileşmesi üzerindeki etkisini inceleyen altı hayvan

çalışmasını ele almış ve sonuçta probiyotiklerin yara iyileşmesindeki olumlu etkilerini ortaya konmuştu (120). Ong ve arkadaşları 2019'da 36 sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada oluşturdukları yara modeline *Staphylococcus aureus* inoküle etmişler ve yara iyileşmesinde *Lactobacillus plantarum* USM8613'ün etkinliğini araştırmışlardır. Sonuçta probiyotik uygulanan grupta stafiloksantin biyosentezinin ve biyofilm oluşumunun azalmasıyla *S. aureus* etkinliğinin azaldığı, β -defensin ekspresyonunun arttığı, reepitelizasyon ve yara iyileşmesinin daha hızlı olduğu gösterilmiştir (121). 2021'de Ming ve arkadaşları, fareler üzerinde yaptıkları çalışmada *Lactobacillus reuteri* enkapsüle edilen hidrojelini uygulandığı yaralarda probiyotik kullanılmayanlara nazaran yara alanlarında daha hızlı kapanmanın sağlandığını, kollajen depozitinin daha fazla olduğunu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun hafiflediğini bildirmişlerdir (122). Benzeri bir çalışmayı Wei ve arkadaşları *Saccharomyces boulardii* ile yapmış; literatüre canlı mikroorganizmalardan, probiyotiklerden mamul başka bir pansuman materyali daha eklemiştir (123). Mohtashami ve arkadaşları diyabetik 27 sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada kontrol grubu ile birlikte topikal uygulanan *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus bulgaricus*'un etkilerini mukayese etmiştir. Probiyotik uygulanmış gruplarda yara iyileşmesinin hızlandığını, IL-1 β ve TNF- α pro-inflamatuvar sitokinlerinin ekspresyonunun azaldığını, IL-10 ve TGF- β ₁ anti-inflamatuvar sitokinlerinin ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (124). Moysidis ve arkadaşları 52 sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada oluşturdukları yara modelinde biri kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturmuş, esas olarak tek probiyotik olarak *Lactobacillus plantarum*'u ikili probiyotik grubunu oluşturan *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacter longum* kombinasyonu ile karşılaştırmıştır. Erken fazlarda *L. plantarum*'u, genel olarak ise ikili probiyotik grubunu yara iyileşmesinde makroskopik ve histopatolojik açıdan daha etkili bulmuştur (125).

Özetle, güncel literatürde probiyotiklerin topikal olarak uygulanarak yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların çoğu hayvan deneyi, pek azı ise insan çalışmasıdır. Çalışmalar gerek probiyotik rejimlerinin şekli ve içeriği gerekse dozlama açısından heterojenite içermekte, ölçüm metodları ve değerlendirme kriterleri anlamında standardizasyondan uzaktır. Ancak, literatürde mevcut hiçbir çalışmada yara iyileşmesinde topikal probiyotik uygulamasının yan etkisi gösterilmemiş, yara iyileşmesinin normalden daha uzun olduğu bildirilmemiştir. (126,127). Bu durum yara iyileşmesi sürecinde topikal probiyotiklerin, canlı mikroorganizmaların kullanımıyla ilgili araştırmalar açısından umut vericidir. Biz de çalışmamızda probiyotik eldesini ve uygulamasını yukarıda literatür bilgileri ışığında gerçekleştirdik.

Probiyotik suşları olarak *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* ve *Bifidobacterium animalis* karışımını tercih ettik. Her bir suşun $2,0E+10^9$ cfu/g üzerinde olmasını sağladık. Yara alanı ölçümüne göre doz hesabı yaparak yara sahasında minimum $1,8 E+10^{10}$ cfu/g canlılık olacak şekilde topikal probiyotik uyguladık. Literatürde yer alan çalışmalar rejim olarak heterojenite içermekteydi. Oral kullanım da gösterilmekle birlikte topikal uygulamalar toz, jel ve merhem şeklinde farklılıklar göstermekteydi. Biz çalışmamızda kullanım kolaylığı açısından topikal uygulamayı ve kuru toz şeklinde saflaştırılmış taze liyofilize stok kültür kullanmayı tercih ettik.

Literatürden farklı olarak topikal probiyotik uygulamasının yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini VYK tedavisi ile kombine etmeyi inceledik. VYK uygulanan gruplara nispetle sadece probiyotik uygulanan gruplarda 10. günde yara alanlarının daha geniş olduğunu, ancak VYK ile birlikte uygulandığında probiyotik tedavisinin histopatolojik sonuçlarda özellikle anjiyogenez ve epidermal organizasyonu anlamlı derecede iyileştirdiğini gösterdik. Yara iyileşmesinde probiyotik kullanımının rejim, doz ve kullanılacak suşlar açısından standardize edilmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

Mikrobiyota, insan vücudunda bulunan ökaryot veya prokaryot simbiyotik, kommensal, patojenik mikroorganizmaların tamamını tanımlar. Özellikle intestinal mikrobiyotanın immünolojik, homeostatik ve metabolik birçok işlevi vardır. Konumuz olan yara iyileşmesinde ise cilt mikrobiyotası süreci direkt etkilemesi bakımından bir öneme haizdir.

Yara iyileşmesi sürecinde cilt mikrobiyotasının çelişik, ambivalan bir konumu vardır. Henüz etkileri tam olarak net gösterilmemişse de cilt mikrobiyotasını oluşturan bazı türler yara iyileşmesini olumlu etkilerken bazı türlerin olumsuz etkilemektedir. Özellikle cilt ve yara mikrobiyotasında biyofilm oluşturan türlerin yara iyileşmesi sürecini olumsuz etkilediği düşünülmektedir (128).

Yarayı oluşturan travma bir stres reaksiyonu meydana getirir ve bu reaksiyon sonucunda hasarlı epitel hücrelerinden adrenalın salgınır. Salınan adrenalın, β_2 - adrenerjik reseptör aktivasyonu ile yara iyileşmesinin erken fazında keratinosit göçünü ve re-epitelizasyonu zayıflatır. İşte bu noktada cilt mikrobiyotası sakini bazı bakteri türlerinin aromatik aminleri eser aminlere dönüştürerek β_2 - adrenerjik reseptör antagonisti gibi davrandığı gösterilmiştir. (86) SadA geni eksprese ederek bu amin dönüşümünü sağlayan *Staphylococcus* türlerinin intestinal mikrobiyotada yaygın varlığı gösterilmiştir ve bu cilt ve yara mikrobiyotası manipülasyonu için önemli bir veridir (129).

Cilt ve yara mikrobiyotasının modülasyonu, bu seçilmiş mikroorganizmaların yara iyileşmesi sürecinin optimizasyonunda kullanılması araştırılmaya değer bir noktada durmaktadır. Literatürde bu noktada birçok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir.

Luqman ve arkadaşları 2020’de fareler üzerine yaptıkları yara çalışmasında eser amin üreten *Staphylococcus epidermidis* türlerini içeren ‘‘mikrobiyota’’yı yaraya topikal uygulayıp iki haftalık sürede takip etmişlerdir. Makroskopik ve mikroskopik değerlendirmeler sonucu eser amin üreten mikrobiyota içeriğinin yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi ortaya konmuştur (130). Canesso ve arkadaşlarının ‘‘germ-free’’ yani mikroorganizmasız fareler ve standart fareleri karşılaştırarak yaptığı çalışma literatürde farklı bir bakış açısı olması açısından önemlidir. Bu çalışmanın sonucunda kommensal mikrobiyotanın olmadığı grubun yara iyileşmesinin daha hızlı ve daha sağlıklı olduğu sonucuna varılmıştır (131). Moeller ve arkadaşları 2019 yılında fareler üzerinde yaptıkları deneyde türler arası intestinal mikrobiyota transplantasyonu yapmışlar ve konakçının türe-spesifik intestinal mikrobiyotaya adapte olabildiğini deneysel olarak göstermişlerdir (132). Kunimitsu ve arkadaşları 2023 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada disbiyotik mikrobiyotanın etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları deneyde disbiyotik mikrobiyota transplantasyonu ile kolonize yara modeli oluşturulmuş ve bu yaraların iyileşmesinde kommensal gruba göre yara alanları daha geniş, nötrofil infiltrasyonu daha yüksek ve regülatör T hücrelerin sayısı daha az saptanmıştır (133).

Çalışmamızdaki çıkış noktamız, cilt mikrobiyotasının literatürde gösterilen yara iyileşmesindeki ambivalan pozisyonuydu. Bu sebeple intestinal kaynaklı türe-spesifik mikrobiyota ile yara mikrobiyotasını restore etmeyi hedefledik. Belirtilen literatürlerin referansıyla sağlıklı erkek Sprague Dawley ratların ileoçekal bölgesinden alınan örneklerle türe-spesifik mikrobiyota preparatımızı elde ettik. Örneklerimizde, intestinal mikrobiyota ile uyumlu şekilde *Actinobacteriota*, *Bacteriodes* ve *Firmicutes* baskın şubelerdi. Aynı zamanda cilt ve yara çevresi mikrobiyotasının restore edilmesi ile birlikte VYK tedavisinin kombine kullanımının yara iyileşmesine etkisini inceledik. Yaptığımız çalışmada VYK ile birlikte türe-spesifik topikal mikrobiyota uyguladığımız grup histopatolojik olarak sadece VYK ve sadece mikrobiyota uygulanan gruba göre anlamlı olarak üstün idi. Makroskopik yara alanı sonuçlarında ise 10 günlük takipte en çok yara alanı küçülmesi VYK ve topikal türe-spesifik mikrobiyotanın birlikte uygulandığı grupta saptandı. VYK ile birlikte topikal türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grup çalışmadan önce ön gördüğümüz gibi anjiyogenez ve epidermal organizasyon açısından en iyi histopatolojik skorlara sahipken ön gördüğümüzün aksine granülasyon seviyeleri olarak diğer grupların gerisindeydi.

Yara iyileşmesinin optimizasyonu, ideal tedavi metodunun araştırılması sürüp giderken cilt ve yara mikrobiyotasının restorasyonunun terapötik potansiyel açısından önemli bir yerde durduğunu düşünüyoruz. VYK sisteminin kombine edildiği ilk probiyotik ve mikrobiyota çalışması olması açısından çalışmamızın literatüre önemli bir tartışma kattığını ümit ediyoruz.

Çalışmamızın bazı limitasyonları bulunmaktadır. İlk olarak sıçanlarda akut yara modeli oluşturarak yaptığımız bu çalışmaların bulguları doğrudan insanlara aktarılamaz. Çünkü sıçan derisi insan derisinden farklıdır ve insanlarda bulunmayan *panniculus carnosus* kası kontraksiyon ve kollajen oluşumunu etkiler (134). Diğer yandan; yapmış olduğumuz değirmi, sirküler şekilli yara modeli de yaranın kontraksiyon oranlarını etkilemiştir. Diğer yara modellerinde farklı sonuçlar görülebilir. Yine bu yara iyileşmesi modelinde elde edilen sonuçları diyabetik yaralara, bası ülserlerine, enfekte yaraların tedavisine uyarlamak mümkün değildir. Ayrıca mikrobiyota ve probiyotik uygulamalarının etkileri kullanıldığı rejime, içerdiği suşa ve uygulanma dozuna bağlıdır.

Bildiğimiz kadarıyla, literatürde VYK uygulaması ile birlikte probiyotik ve mikrobiyota uygulamasının incelendiği başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden literatürdeki ilk çalışma olması nedeniyle bu noktada değerlendirme ve tartışma için yeterli veri bulunmamaktadır.

6. SONUÇLAR

Elde ettiğimiz bulgularla VYK uygulamasıyla birlikte tedaviye topikal probiyotik veya türe-spesifik mikrobiyota eklenmesinin yara alanının küçülmesini hızlandığını, başta epidermal organizasyon ve anjiyogenez olmak üzere histopatolojik skorları anlamlı derecede olumlu etkilediğini göstermiş olduk.

VYK kullanılan diğer tüm grupların makroskopik yara alanı takiplerinde VYK kullanılmayan topikal probiyotik grubuna göre daha iyi sonuçlara sahip olduğunu, VYK ile birlikte topikal probiyotik ve türe-spesifik mikrobiyota uygulanan grupların histopatolojik olarak diğer gruplara anlamlı derecede üstünlük gösterdiği sonucuna ulaştık.

VYK ile birlikte topikal probiyotik kullanılan grup histopatolojik skorlar açısından VYK ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota kullanılan gruba üstünlük göstermektedir. Makroskopik yara alanı ölçümlerinde ise üstünlük VYK ile birlikte türe-spesifik mikrobiyota kullanılan gruptadır. Ancak bu iki grup arasında her iki parametrede de anlamlı fark saptanmamıştır. Topikal probiyotik grubu, türe-spesifik mikrobiyotaya nazaran ulaşılabilirlik ve tedarik sürecinin kolaylığı açısından daha avantajlıdır.

Özetle, değerlendirdiğimiz veriler ışığında yara iyileşmesi sürecinde VYK tedavisiyle birlikte topikal probiyotik veya türe-spesifik mikrobiyotanın tedaviye eklenmesinin faydalı olacağını düşünöyoruz. Ancak yara iyileşmesinde orta ve uzun dönem sonuçların ortaya konulması adına daha fazla, daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle günlük cerrahi pratikte yara tedavisinde bir standart oluşturulması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.



7. KAYNAKLAR

- 1) Schilling J. A. (1976). Wound healing. *The Surgical clinics of North America*, 56(4), 859–874.
- 2) Ueno, C., Hunt, T. K., & Hopf, H. W. (2006). Using physiology to improve surgical wound outcomes. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 59S–71S.
- 3) Miller C. (2013). The History of Negative Pressure Wound Therapy (NPWT): From "Lip Service" to the Modern Vacuum System. *The journal of the American College of Clinical Wound Specialists*, 4(3), 61–62.
- 4) Argenta, L. C., Morykwas, M. J., Marks, M. W., DeFranzo, A. J., Molnar, J. A. et al. (2006). Vacuum-assisted closure: state of clinic art. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 127S–142S.
- 5) Robert N. (2017). Negative pressure wound therapy in orthopaedic surgery. *Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR*, 103(1S), S99–S103.
- 6) Xue, X., Bian, Y., Yang, M., Wei, W., Meng, L. et al. (2022). Evaluation of injectable platelet-rich fibrin produced by a simple twice-centrifugation method combined with vacuum sealing drainage technology in the treatment of chronic refractory wounds. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 979834.
- 7) Wei, S., Wang, W., Li, L., Meng, H. Y., Feng, C. Z. et al. (2021). Recombinant human epidermal growth factor combined with vacuum sealing drainage for wound healing in Bama pigs. *Military Medical Research*, 8(1), 18.
- 8) Mazzotti, A., Langone, L., Arceri, A., Artioli, E., Zielli, S. O. et al. (2023). Probiotics in Orthopedics: From Preclinical Studies to Current Applications and Future Perspective. *Microorganisms*, 11(8), 2021.
- 9) Bekiaridou, A., Karlafti, E., Oikonomou, I. M., Ioannidis, A., & Papavramidis, T. S. (2021). Probiotics and Their Effect on Surgical Wound Healing: A Systematic Review and New Insights into the Role of Nanotechnology. *Nutrients*, 13(12), 4265.
- 10) Lukic, J., Chen, V., Strahinic, I., Begovic, J., Lev-Tov, H. et al. (2017). Probiotics or pro-healers: the role of beneficial bacteria in tissue repair. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 25(6), 912–922.
- 11) Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The human microbiome project. *Nature*, 449(7164), 804–810.
- 12) Hernandez C. J. (2021). Musculoskeletal microbiology: The utility of the microbiome in orthopedics. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 39(2), 251–257.
- 13) Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D. et al. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 135.
- 14) Hiltzik, D. M., Goodwin, A. M., Kurapaty, S. S., Inglis, J. E., Pagadala, M. S. et al. (2024). The Role of the Gut Microbiome in Orthopedic Surgery-a Narrative Review. *Current reviews in musculoskeletal medicine*, 17(2), 37–46.
- 15) Tomic-Canic, M., Burgess, J. L., O'Neill, K. E., Strbo, N., & Pastar, I. (2020). Skin Microbiota and its Interplay with Wound Healing. *American journal of clinical dermatology*, 21(Suppl 1), 36–43.
- 16) Shah J. B. (2011). The history of wound care. *The journal of the American College of Certified Wound Specialists*, 3(3), 65–66.
- 17) Broughton, G., 2nd, Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). A brief history of wound care. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 6S–11S.
- 18) Breasted JH. The Edwin Smith Surgical Papyrus. Chicago: University Chicago Press; 1930.

- 19) Henry, G., & Garner, W. L. (2003). Inflammatory mediators in wound healing. *The Surgical clinics of North America*, 83(3), 483–507.
- 20) Majno, G. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World*. Cambridge: Harvard University Press, 1975. P. 570.
- 21) Freiberg J. A. (2017). The mythos of laudable pus along with an explanation for its origin. *Journal of community hospital internal medicine perspectives*, 7(3), 196–198.
- 22) Gorbach S. L. (1995). Good and laudable pus. *The Journal of clinical investigation*, 96(6), 2545.
- 23) Mouës, C. M., Heule, F., Legerstee, R., & Hovius, S. E. (2009). Five millennia of wound care products--what is new? A literature review. *Ostomy/wound management*, 55(3) .
- 24) Köckerling, F., Köckerling, D., & Lomas, C. (2013). Cornelius Celsus--ancient encyclopedist, surgeon-scientist, or master of surgery?. *Langenbeck's archives of surgery*, 398(4), 609–616.
- 25) Uzun M. A review of wound management materials. *J Textile Eng Fashion Technol*. 2018;4(1):53-59.
- 26) Leong M, Phillips LG. Wound Healing. Townsend MC, Sabiston Textbook of Surgery, 17th Edition, Elsevier, USA 2004; 183-208.
- 27) Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. Surgery (Oxford) 2008; 26:31–7.
- 28) Broughton, G., 2nd, Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 12S–34S.
- 29) Guo, S., & Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, 89(3), 219–229.
- 30) Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *The New England journal of medicine*, 341(10), 738–746.
- 31) Yager, D. R., & Nwomeh, B. C. (1999). The proteolytic environment of chronic wounds. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 7(6), 433–441.
- 32) Regan, M.C., Barbul, A. (1994). The cellular biology of wound healing. Schlag, G., Redl, H., Springer-Verlag (Eds.), Germany: Wound Healing, 3-17.
- 33) Mutsaers, S. E., Bishop, J. E., McGrouther, G., & Laurent, G. J. (1997). Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(1), 5–17.
- 34) Pierce, G. F., Mustoe, T. A., Altmann, B. W., Deuel, T. F., & Thomason, A. (1991). Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *Journal of cellular biochemistry*, 45(4), 319–326.
- 35) Grotendorst, G. R., Soma, Y., Takehara, K., & Charette, M. (1989). EGF and TGF- α are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissue regeneration. *Journal of cellular physiology*, 139(3), 617–623.
- 36) Sabiston, D. *Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*. 15th Ed. St. Louis, Mo.: Saunders, 1997. P. 209.
- 37) Rigler, D.J. (1997). Inflammation and repair, Jones, T.C., Hunt, R.D., King, N.W. (Eds.), *In Veterinary Pathology*, Pennsylvania: Williams & Wilkins, 150-157.
- 38) Pascoe, J.R. (1991). Wound healing. I.M. Gourley and C.R. Gregory (Eds.), *Atlas of*

Small Animal Surgery (Chapter 1), New York: Gower Medical, 2-13.

- 39) Shih, B., Garside, E., McGrouther, D. A., & Bayat, A. (2010). Molecular dissection of abnormal wound healing processes resulting in keloid disease. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 18(2), 139–153.
- 40) Nauta, T. D., van Hinsbergh, V. W., & Koolwijk, P. (2014). Hypoxic signaling during tissue repair and regenerative medicine. *International journal of molecular sciences*, 15(11), 19791–19815.
- 41) Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(5), 585–601.
- 42) Jian, K., Yang, C., Li, T., Wu, X., Shen, J. et al. (2022). PDGF-BB-derived supramolecular hydrogel for promoting skin wound healing. *Journal of nanobiotechnology*, 20(1), 201.
- 43) Li, H., Fu, X., Zhang, L., Huang, Q., Wu, Z. et al. (2008). Research of PDGF-BB gel on the wound healing of diabetic rats and its pharmacodynamics. *The Journal of surgical research*, 145(1), 41–48.
- 44) Breitbart, A. S., Grande, D. A., Laser, J., Barcia, M., Porti, D. et al. (2001). Treatment of ischemic wounds using cultured dermal fibroblasts transduced retrovirally with PDGF-B and VEGF121 genes. *Annals of plastic surgery*, 46(5), 555–562.
- 45) Corral, C. J., Siddiqui, A., Wu, L., Farrell, C. L., Lyons, D. et al. (1999). Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing. *Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960)*, 134(2), 200–205.
- 46) Dumantepe, M., Fazliogullari, O., Seren, M., Uyar, I., & Basar, F. (2015). Efficacy of intralesional recombinant human epidermal growth factor in chronic diabetic foot ulcers. *Growth factors (Chur, Switzerland)*, 33(2), 128–132.
- 47) Tiaka, E. K., Papanas, N., Manolakis, A. C., & Georgiadis, G. S. (2012). Epidermal growth factor in the treatment of diabetic foot ulcers: an update. *Perspectives in vascular surgery and endovascular therapy*, 24(1), 37–44.
- 48) Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews*, 83(3), 835–870.
- 49) Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*, 19, 683–765.
- 50) Guo, S., & Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, 89(3), 219–229.
- 51) Chariker ME, Jeter KF, Tintle TE, Bottsford JE. Effective management of incisional and cutaneous fistulae with closed suction wound drainage. *Contemp Surg* 1989;34:59–63.
- 52) Fleischmann, W., Strecker, W., Bombelli, M., & Kinzl, L. (1993). Vakuumversiegelung zur Behandlung des Weichteilschadens bei offenen Frakturen [Vacuum sealing as treatment of soft tissue damage in open fractures]. *Der Unfallchirurg*, 96(9), 488–492.
- 53) Özkayın, N., Erdem, M., & Tiftikcioğlu, Y. Ö. (2017). Negatif basınçlı yara tedavisi ve ortopedi pratiğinde kullanımı. *TOTBID Derg*, 16(3), 203-8.

- 54) Morykwas, M. J., Argenta, L. C., Shelton-Brown, E. I., & McGuirt, W. (1997). Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. *Annals of plastic surgery*, 38(6), 553–562.
- 55) Scherer, S. S., Pietramaggiori, G., Mathews, J. C., & Orgill, D. P. (2009). Short periodic applications of the Vacuum-assisted closure device cause an extended tissue response in the diabetic mouse model. *Plastic and reconstructive surgery*, 124(5), 1458–1465.
- 56) Plikaitis, C. M., & Molnar, J. A. (2006). Subatmospheric pressure wound therapy and the Vacuum-assisted closure device: basic science and current clinical successes. *Expert review of medical devices*, 3(2), 175–184.
- 57) Stechmiller, J. K., Kilpadi, D. V., Childress, B., & Schultz, G. S. (2006). Effect of Vacuum-Assisted Closure Therapy on the expression of cytokines and proteases in wound fluid of adults with pressure ulcers. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 14(3), 371–374.
- 58) Normandin, S., Safran, T., Winocour, S., Chu, C. K., Vorstenbosch, J. et al. (2021). Negative Pressure Wound Therapy: Mechanism of Action and Clinical Applications. *Seminars in plastic surgery*, 35(3), 164–170.
- 59) Hasan, M. Y., Teo, R., & Nather, A. (2015). Negative-pressure wound therapy for management of diabetic foot wounds: a review of the mechanism of action, clinical applications, and recent developments. *Diabetic foot & ankle*, 6, 27618.
- 60) Ozen, M., & Dinleyici, E. C. (2015). The history of probiotics: the untold story. *Beneficial microbes*, 6(2), 159–165.
- 61) Gasbarrini, G., Bonvicini, F., & Giamenzi, A. (2016). Probiotics History. *Journal of clinical gastroenterology*, 50 Suppl 2, *Proceedings from the 8th Probiotics, Prebiotics & New Foods for Microbiota and Human Health meeting held in Rome, Italy on September 13-15, 2015*, S116–S119.
- 62) McFarland L. V. (2015). From yaks to yogurt: the history, development, and current use of probiotics. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 60 Suppl 2, S85–S90.
- 63) Gerritsen, J., Smidt, H., Rijkers, G. T., & de Vos, W. M. (2011). Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes & nutrition*, 6(3), 209–240.
- 64) Di Tommaso, N., Gasbarrini, A., & Ponziani, F. R. (2021). Intestinal Barrier in Human Health and Disease. *International journal of environmental research and public health*, 18(23), 12836.
- 65) Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D. et al. (1998). Demonstration of safety of probiotics -- a review. *International journal of food microbiology*, 44(1-2), 93–106.
- 66) Rastall, R. A., Gibson, G. R., Gill, H. S., Guarner, F., Klaenhammer, T. R. et al. (2005). Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. *FEMS microbiology ecology*, 52(2), 145–152.
- 67) Kumar, Amit; Vandana, I. Probiotics: Nature's medicine. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases* 3(3):p 219-228, Jul–Sep 2013.
- 68) Bin-Nun, A., Bromiker, R., Wilschanski, M., Kaplan, M., Rudensky, B. et al. (2005). Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *The Journal of pediatrics*, 147(2), 192-196.
- 69) Wald, A., & Rakel, D. (2008). Behavioral and complementary approaches for the treatment of irritable bowel syndrome. *Nutrition in Clinical Practice*, 23(3), 284-292.

- 70) Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M. T., & McCormick, J. K. (2003). Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical microbiology reviews*, 16(4), 658-672.
- 71) Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological reviews*, 90(3), 859–904.
- 72) Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S. et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59–65.
- 73) Baquero, F., & Nombela, C. (2012). The microbiome as a human organ. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18 Suppl 4, 2–4.
- 74) Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I. et al. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial ecology in health and disease*, 26, 26050.
- 75) Macfarlane, S., & Macfarlane, G. T. (2003). Regulation of short-chain fatty acid production. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 67–72.
- 76) Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y. et al. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15718–15723.
- 77) Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M. et al. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World journal of gastroenterology*, 21(29), 8787–8803.
- 78) Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J. et al. (2018). Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European journal of nutrition*, 57(1), 1–24.
- 79) Koppel, N., Maini Rekdal, V., & Balskus, E. P. (2017). Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota. *Science (New York, N.Y.)*, 356(6344), eaag2770.
- 80) Shi, N., Li, N., Duan, X., & Niu, H. (2017). Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Military Medical Research*, 4, 14.
- 81) Korpela, K., & de Vos, W. M. (2022). Infant gut microbiota restoration: state of the art. *Gut microbes*, 14(1), 2118811.
- 82) Belkaid, Y., & Harrison, O. J. (2017). Homeostatic Immunity and the Microbiota. *Immunity*, 46(4), 562–576.
- 83) Adak, A., & Khan, M. R. (2019). An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 76(3), 473–493.
- 84) Bunker, J. J., & Bendelac, A. (2018). IgA Responses to Microbiota. *Immunity*, 49(2), 211–224.
- 85) Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell research*, 30(6), 492–506.
- 86) Johnson, T. R., Gómez, B. I., McIntyre, M. K., Dubick, M. A., Christy, R. J. et al. (2018). The Cutaneous Microbiome and Wounds: New Molecular Targets to Promote Wound Healing. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2699.
- 87) Luqman, A., & Götz, F. (2021). The Ambivalent Role of Skin Microbiota and Adrenaline in Wound Healing and the Interplay between Them. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4996.
- 88) Gomaa E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(12), 2019–2040.

- 89) Vandenplas, Y., Carnielli, V. P., Ksiazek, J., Luna, M. S., Migacheva, N. et al. (2020). Factors affecting early-life intestinal microbiota development. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 78, 110812.
- 90) Campos, L. F., Tagliari, E., Casagrande, T. A. C., Noronha, L., Campos, A. C. L. et al. (2020). EFFECTS OF PROBIOTICS SUPPLEMENTATION ON SKIN WOUND HEALING IN DIABETIC RATS. *Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva : ABCD = Brazilian archives of digestive surgery*, 33(1), e1498.
- 91) Haba, D., Ohmiya, T., Sekino, M., Qin, Q., Takizawa, C. et al. (2023). Efficacy of wearable vibration dressings on full-thickness wound healing in a hyperglycemic rat model. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 31(6), 816–826.
- 92) Dorsett-Martin W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: a review. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 12(6), 591–599.
- 93) Aslan, I., Tarhan Celebi, L., Kayhan, H., Kizilay, E., Gulbahar, M. Y., Kurt, H., & Cakici, B. (2023). Probiotic Formulations Containing Fixed and Essential Oils Ameliorates SIBO-Induced Gut Dysbiosis in Rats. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16(7), 1041.
- 94) Labler, L., Rancan, M., Mica, L., Härter, L., Mihic-Probst, D. et al. (2009). Vacuum-assisted closure therapy increases local interleukin-8 and vascular endothelial growth factor levels in traumatic wounds. *The Journal of trauma*, 66(3), 749–757.
- 95) Scherer, S. S., Pietramaggiori, G., Mathews, J. C., Prsa, M. J., Huang, S. et al. (2008). The mechanism of action of the Vacuum-assisted closure device. *Plastic and reconstructive surgery*, 122(3), 786–797.
- 96) Morykwas, M. J., Faler, B. J., Pearce, D. J., & Argenta, L. C. (2001). Effects of varying levels of subatmospheric pressure on the rate of granulation tissue formation in experimental wounds in swine. *Annals of plastic surgery*, 47(5), 547–551.
- 97) Şahin, E., Rizalar, S., & Özker, E. (2022). Effectiveness of negative-pressure wound therapy compared to wet-dry dressing in pressure injuries. *Journal of tissue viability*, 31(1), 164–172.
- 98) Gabriel, A., Camardo, M., O'Rourke, E., Gold, R., & Kim, P. J. (2021). Effects of Negative-Pressure Wound Therapy With Instillation versus Standard of Care in Multiple Wound Types: Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Plastic and reconstructive surgery*, 147(1S-1), 68S–76S.
- 99) Stannard, J. P., Robinson, J. T., Anderson, E. R., McGwin, G., Jr, Volgas, D. A. et al. (2006). Negative pressure wound therapy to treat hematomas and surgical incisions following high-energy trauma. *The Journal of trauma*, 60(6), 1301–1306.
- 100) Almeida, I. R., Coltro, P. S., Gonçalves, H. O. C., Westin, A. T., Almeida, J. B. et al. (2021). The role of negative pressure wound therapy (NPWT) on the treatment of pyoderma gangrenosum: A systematic review and personal experience. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 29(3), 486–494.
- 101) Tuuli, M. G., Liu, J., Tita, A. T. N., Longo, S., Trudell, A. et al. (2020). Effect of Prophylactic Negative Pressure Wound Therapy vs Standard Wound Dressing on Surgical-Site Infection in Obese Women After Cesarean Delivery: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 324(12), 1180–1189.
- 102) Tian, Y., Li, K., & Zeng, L. (2023). A systematic review with meta-analysis on prophylactic negative pressure wound therapy versus standard dressing for obese women after caesarean section. *Nursing open*, 10(9), 5999–6013.
- 103) Zhang, R., Zhang, Y., Hou, L., & Yan, C. (2023). Vacuum-assisted closure versus conventional dressing in

necrotizing fasciitis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 18(1), 85.

104) Iacovelli, V., Cipriani, C., Sandri, M., Filippone, R., Ferracci, A. et al. (2021). The role of Vacuum-assisted closure (VYK) therapy in the management of FOURNIER'S gangrene: a retrospective multi-institutional cohort study. *World journal of urology*, 39(1), 121–128.

105) Chen, L., Zhang, S., Da, J., Wu, W., Ma, F. et al. (2021). A systematic review and meta-analysis of efficacy and safety of negative pressure wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcer. *Annals of palliative medicine*, 10(10), 10830–10839.

106) Krug, E., Berg, L., Lee, C., Hudson, D., Birke-Sorensen, H. et al. International Expert Panel on Negative Pressure Wound Therapy [NPWT-EP] (2011). Evidence-based recommendations for the use of Negative Pressure Wound Therapy in traumatic wounds and reconstructive surgery: steps towards an international consensus. *Injury*, 42 Suppl 1, S1–S12.

107) Hurd, T., Kirsner, R. S., Sancho-Insenser, J. J., Fumarola, S., Garten, A. et al. (2021). International Consensus Panel Recommendations for the Optimization of Traditional and Single-Use Negative Pressure Wound Therapy in the Treatment of Acute and Chronic Wounds. *Wounds : a compendium of clinical research and practice*, 33(suppl 2), S1–S11.

108) Huang, C., Leavitt, T., Bayer, L. R., & Orgill, D. P. (2014). Effect of negative pressure wound therapy on wound healing. *Current problems in surgery*, 51(7), 301–331.

109) Normandin, S., Safran, T., Winocour, S., Chu, C. K., Vorstenbosch, J. et al. (2021). Negative Pressure Wound Therapy: Mechanism of Action and Clinical Applications. *Seminars in plastic surgery*, 35(3), 164–170.

110) Quacinella, M. A., Yong, T. M., Obremskey, W. T., & Stinner, D. J. (2023). Negative pressure wound therapy: Where are we in 2022?. *OTA international : the open access journal of orthopaedic trauma*, 6(4 Suppl), e247.

111) Boland, P. A., Kelly, M. E., Donlon, N. E., Bolger, J. C., Mehigan, B. J. et al. (2021). Prophylactic negative pressure wound therapy for closed laparotomy wounds: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Irish journal of medical science*, 190(1), 261–267.

112) Yang, R., Hua, H., Wang, X., Guo, Z., & Zhong, W. (2023). Vacuum sealing drainage combined with eggshell-like debridement antibiotic-loaded calcium sulphate for calcaneal osteomyelitis. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 18(1), 796.

113) Wei, S., Wang, W., Li, L., Meng, H. Y., Feng, C. Z. et al. (2021). Recombinant human epidermal growth factor combined with Vacuum sealing drainage for wound healing in Bama pigs. *Military Medical Research*, 8(1), 18.

114) Yin, X. L., Hu, L., Li, T., Zou, Y., & Li, H. L. (2023). A meta-analysis on the efficacy of Vacuum sealing drainage combined with autologous platelet-rich plasma in the treatment of Grade 2 and Grade 3 diabetic foot ulcers. *International wound journal*, 20(4), 1033–1041.

115) Zhang, H., Wang, S., Lei, C., Li, G., & Wang, B. (2022). Experimental study of negative pressure wound therapy combined with platelet-rich fibrin for bone-exposed wounds. *Regenerative medicine*, 17(1), 23–35.

116) Valdéz, J. C., Peral, M. C., Rachid, M., Santana, M., & Perdigón, G. (2005). Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound

treatment. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11(6), 472–479.

117) Huseini, H. F., Rahimzadeh, G., Fazeli, M. R., Mehrasma, M., & Salehi, M. (2012). Evaluation of wound healing activities of kefir products. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 38(5), 719–723.

118) Oryan, A., Alemzadeh, E., & Eskandari, M. H. (2019). Kefir Accelerates Burn Wound Healing Through Inducing Fibroblast Cell Migration In Vitro and Modulating the Expression of IL-1 β , TGF- β 1, and bFGF Genes In Vivo. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(3), 874–886.

119) Jones, M., Ganopolsky, J. G., Labbé, A., Gilardino, M., Wahl, C. et al. (2012). Novel nitric oxide producing probiotic wound healing patch: preparation and in vivo analysis in a New Zealand white rabbit model of ischaemic and infected wounds. *International wound journal*, 9(3), 330–343.

120) Tsiouris, C. G., Kelesi, M., Vasilopoulos, G., Kalemikerakis, I., & Papageorgiou, E. G. (2017). The efficacy of probiotics as pharmacological treatment of cutaneous wounds: Meta-analysis of animal studies. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 104, 230–239.

121) Ong, J. S., Taylor, T. D., Yong, C. C., Khoo, B. Y., Sasidharan, S. et al. (2020). Lactobacillus plantarum USM8613 Aids in Wound Healing and Suppresses Staphylococcus aureus Infection at Wound Sites. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(1), 125–137.

122) Ming, Z., Han, L., Bao, M., Zhu, H., Qiang, S. et al. (2021). Living Bacterial Hydrogels for Accelerated Infected Wound Healing. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurtemberg, Germany)*, 8(24), e2102545.

123) Wei, Y., Han, Z., & Mao, X. (2024). Injectable Living Probiotic Dressing Built by Droplet-Based Microfluidics and Photo-Cross-Linking to Prevent Pathogenic Infection and Promote Wound Repair. *Advanced healthcare materials*, 13(4), e2302423.

124) Mohtashami, M., Mohamadi, M., Azimi-Nezhad, M., Saeidi, J., Nia, F. F. et al. (2021). Lactobacillus bulgaricus and Lactobacillus plantarum improve diabetic wound healing through modulating inflammatory factors. *Biotechnology and applied biochemistry*, 68(6), 1421–1431.

125) Moysidis, M., Stavrou, G., Cheva, A., Abba Deka, I., Tsetis, J. K. et al. (2022). The 3-D configuration of excisional skin wound healing after topical probiotic application. *Injury*, 53(4), 1385–1393.

126) Knackstedt, R., Knackstedt, T., & Gatherwright, J. (2020). The role of topical probiotics on wound healing: A review of animal and human studies. *International wound journal*, 17(6), 1687–1694.

127) Togo, C., Zidorio, A. P., Gonçalves, V., Botelho, P., de Carvalho, K. et al. (2021). Does Probiotic Consumption Enhance Wound Healing? A Systematic Review. *Nutrients*, 14(1), 111.

128) Zielińska, M., Pawłowska, A., Orzeł, A., Sulej, L., Muzyka-Placzyńska, K. et al. (2023). Wound Microbiota and Its Impact on Wound Healing. *International journal of molecular sciences*, 24(24), 17318.

129) Luqman, A., Nega, M., Nguyen, M. T., Ebner, P., & Götz, F. (2018). SadA-Expressing Staphylococci in the Human Gut Show Increased Cell Adherence and Internalization. *Cell reports*, 22(2), 535–545.

130) Luqman, A., Muttaqin, M. Z., Yulaipi, S., Ebner, P., Matsuo, M. et al. (2020). Trace amines produced by skin bacteria accelerate wound healing in mice. *Communications biology*, 3(1), 277.

131) Canesso, M. C., Vieira, A. T., Castro, T. B., Schirmer, B. G., Cisalpino, D. et al. (2014). Skin wound healing is accelerated and scarless in the absence of commensal microbiota. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 193(10), 5171–5180.

- 132) Moeller, A. H., Gomes-Neto, J. C., Mantz, S., Kittana, H., Segura Munoz, R. R. et al. (2019). Experimental Evidence for Adaptation to Species-Specific Gut Microbiota in House Mice. *mSphere*, 4(4), e00387-19.
- 133) Kunimitsu, M., Nakagami, G., Minematsu, T., Koudounas, S., & Sanada, H. (2023). An in vivo critically colonised wound model with dysbiotic wound microbiota. *International wound journal*, 20(3), 648–658.
- 134) Masson-Meyers, D. S., Andrade, T. A. M., Caetano, G. F., Guimaraes, F. R., Leite, M. N. et al. (2020). Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *International journal of experimental pathology*, 101(1-2), 21–37.



