

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Mustafa Burak SAYHAN

**TAM KAT CİLT KESİSİ OLUŞTURULAN RATLARDA
CHITOSAN ACETATE BANDAGE'IN
YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDE ETKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Eren SERT

EDİRNE-2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde destek ve yardımlarını esirgemeyen, sayın hocam Doç. Dr. Mustafa Burak SAYHAN'a, hayata ve mesleğine karşı duruşuna hayran olduğum Prof. Dr. Mutasım SÜNGÜN'e, eski hocam Doç. Dr. Cemil KAVALCI'ya, tez çalışmam sırasında tüm içtenliğiyle yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN'a,

Hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini her an hissettiğim annem Meral SERT ve babam Mahir SERT'e,

Hayatıma ışık katan kızım Ada Era'nın altın kalpli annesi, eşim Alketa TOSKA'ya (TDSH),

Acısıyla tatlıısıyla onca zamanı beraber geçirdiğimiz tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
DERİ	3
YARA İYİLEŞMESİ.....	8
CHİTOSAN ACETATE BANDAGE.....	11
GEREÇ VE YÖNTEMLER	13
BULGULAR	18
TARTIŞMA	28
SONUÇLAR.....	31
ÖZET	33
SUMMARY	35
KAYNAKLAR	37
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

CAB : Chitosan Acetate Bandage

HE : Hematoksilen-Eozin

NaCl : Sodyum klorür

PMNL : Polimorfonükleer lökosit

GİRİŞ VE AMAÇ

Yara, canlı bir dokunun, fiziksel, kimyasal, biyolojik bir travma sonrası, anatomik ve fonksiyonel sürekliliğin bozulmasıdır (1). Vücut yaralanmayı takiben karmaşık ve etkileşimli bir yapılanma sürecine girmektedir. Travmalardan sonra ortaya çıkan ve iyi organize olan bu yapılanma süreci, yara iyileşmesi olarak tanımlanmaktadır (2,3). Yara iyileşmesi genel anlamıyla, cerrahi, travmatik veya çeşitli hastalıklar nedeniyle oluşan doku hasarına yanıt olarak ortaya çıkan; ardışık, birbirleriyle içi içe geçen, fizyolojik ve biyokimyasal olayların bütünüdür (4-7). Yara iyileşmesi sürecinin uzaması ya da olumsuz etkilenmesi organizma için büyük bir sorun teşkil eder. Bu nedenle yara iyileşmesi, üzerinde yaygın çalışılan bir konudur.

Yapılan araştırma ve çalışmalar yara iyileşmesi sürecini özümseme ve bu süreci kısaltmaya yöneliktir; yara iyileşmesinin normal süreci üzerine yapılan bu çalışmalara rağmen henüz tam olarak aydınlatılmayan aşamalar mevcuttur (3). Yapılan yara iyileşmesi çalışmalarının çoğu deri üzerinde gerçekleştirilmiştir (7). Yara bakımında esas amaç, yarada en iyi kozmetik ve fonksiyonel sonuçları sağlayacak şekilde iyileşmenin hızlandırılmasıdır (8). Çeşitli çalışmalarda yara bakımında kullanılan ilaçların etkileri ile ilgili farklı sonuçlar elde edilmiştir (9). Günümüzde yara yeri bakımında çeşitli topikal ajanlar kullanılmasına rağmen halen tek bir ajan konusunda tam bir fikir birliğine varılamamıştır.

Chitin, dünyada selülozdan sonra en yaygın bulunan ikinci biyopolimerdir. Karides, yengeç gibi kabuklu su ürünlerinin ana yapı taşlarından olup, eklem bacaklıların iskeletinde ve mantarların hücre duvar yapısında da bulunmaktadır. Chitin'in birçok türevi bulunmakla beraber, bunlar arasında en önemlisi Chitosan'dır. Chitin ve Chitosan hakkındaki ilk kapsamlı yayın, 1953 yılında Yasuda tarafından yapılmıştır (10,11). Bu konuda çeşitli uluslararası araştırmalar ve incelemeler günümüze dek sürmüştür. Bu polimerlerin yeni uygulama

alanlarını bulma ve bu alanlarda kullanımına yönelik araştırmalar halen kapsamlı ve yoğun bir şekilde devam etmektedir (11-14).

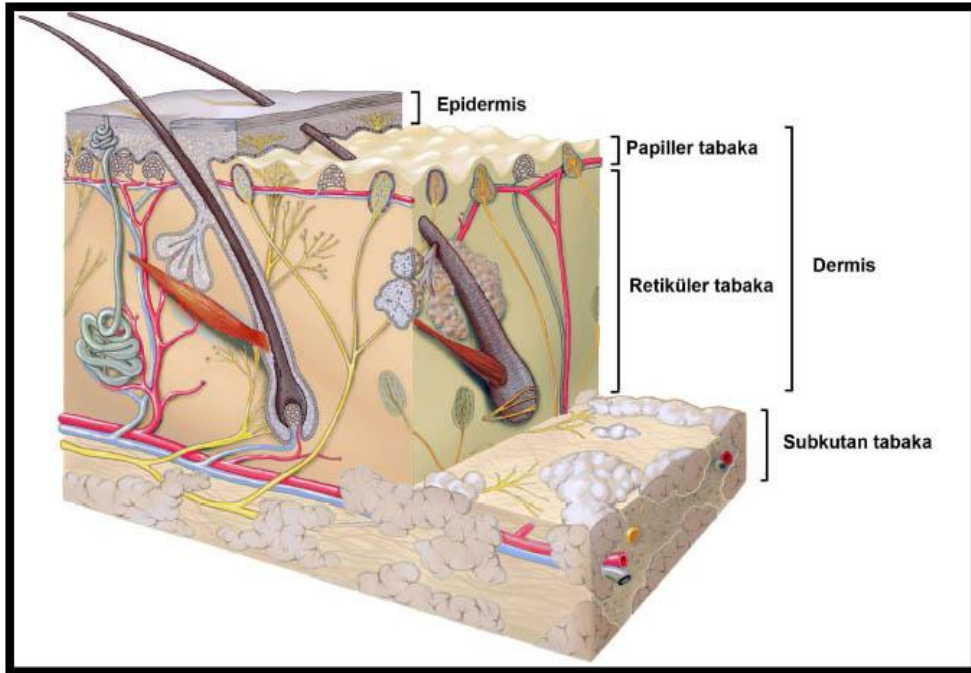
Chitosan'ın tıp ve eczacılık alanlarında; kontrollü ilaç salınımında, cerrahi sütün materyalleri, kontakt lens, yapay kan damarları olarak kullanımı araştırılmaktadır. Son yıllarda, dokular üzerine hemostatik ve antimikrobiyal etkileri göz önünde bulundurularak bandaj formları üretilmiş ve bu bandajlar yakın dönemde savaşlarda hemostatik amaçlı kullanılmaya başlanmıştır (11,15). Chitosan'ın, insan vücudu üzerine herhangi bir yan etki göstermediği çalışmalarla kanıtlanmıştır (16).

Literatürde kanama durdurucu özelliği ve antimikrobiyal etkinliği gözlenen Chitosan'ın, yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar az sayıdadır. Biz çalışmamızda tam kat cilt kesisi oluşturulan ratlarda Chitosan Acetate Bandage'ın (CAB) yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin araştırılmasını amaçladık.

GENEL BİLGİLER

DERİ

Deri vücudun en ağır ve en büyük organıdır, yetişkinlerde vücut ağırlığının %16'sını ve dış çevreye açık alanın 1,2-2,3 m² kadarını oluşturur. Ektodermden köken alan bir epitel katmanı olan epidermis ve mezodermden köken alan bir bağ dokusu katmanı olan dermisten meydana gelir. Epidermal türevler tırnaklar, kıllar, ter ve yağ bezlerini içerir. Dermisin altında hipodermis (subkutan tabaka) yer alır. Derinin bir parçası olmayan hipodermis, komşu dokuları deriye gevşekçe bağlar (Şekil 1) (17,18).



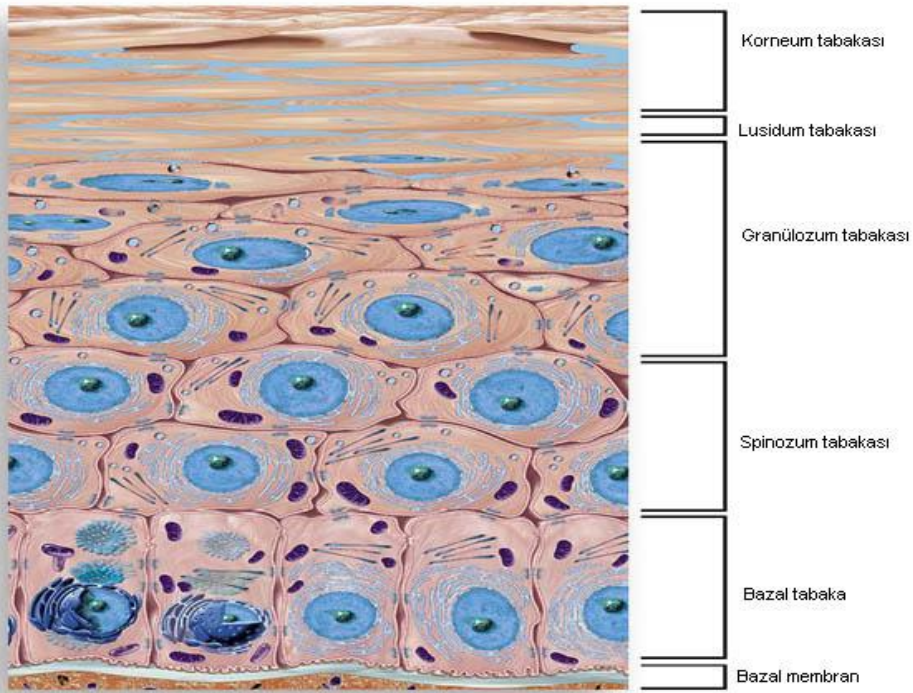
Şekil 1. Derinin katmanları (18)

Derinin suya görece az geçirgen olan dış katmanı, terleme ile su kaybını önler ve karada yaşama olanak tanır. Deri, çevre ile sürekli iletişim halinde olan bir reseptör organ gibi davranır ve organizmayı, çevresel hasarlardan korur. Epidermiste bulunan melanositlerde üretilip keratinositlerde biriktirilen melanin, güneşin ultraviyole ışınlarına karşı koruyucu bir etken oluşturur. Derinin kan damarları, yağ ve ter bezleri ısı ayarlanmasında, vücut metabolizmasında ve bazı maddelerin salgılanmasında görev alır (17).

Epidermis

Epidermis çok katlı yassı skuamöz epitelden oluşur ancak başta melanositler, Merkel hücreleri ve Langerhans hücreleri olmak üzere en az 3 farklı hücre tipi daha ihtiva eder. Keratinize epidermal hücreler keratinositlerdir. Keratinositler, beş tabaka halinde düzenlenmişlerdir (Şekil 2) (17,19):

1. Stratum bazale
2. Stratum spinozum
3. Stratum granülozum
4. Stratum lusidum
5. Stratum korneum



Şekil 2. Epiderminin tabakaları (19)

Stratum bazale bazal membran üzerine dizilmiş tek sıralı prizmatik ya da yüksek kübik hücrelerden oluşur. Stratum bazale hücreleri mitozla çoğalır; bölünen hücrelerin bir bölümü, stratum bazalenin kök hücre topluluğunu oluşturur ve epidermal hücrelerin sürekli yenilenmesinden sorumludur, geri kalanlar stratum spinozuma göç eder ve stratum korneuma kadar hücresel özelliklerini kaybederek farklılaşma sürecine girerler (17,20).

Melanositler, melanin pigmentini sentezlemekle görevli ve keratinositler arasında yerleşmiş hücrelerdir. Bazal tabaka hücrelerinin 4-10'da biri melanositlerdir. Hematoksilin-Eozin (HE) ile sitoplazmaları açık renkte görülür. Bu hücrelerin dendritik uzantıları bulunur. Sentezlenen melanin, bu uzantılar aracılığı ile melanozom adı verilen melanin paketleri halinde keratinositlerin üst yüzlerine taşınır. Bir melanosit çevresindeki çok sayıda keratinositi melanize eder, bu sisteme epidermal melanin ünitesi adı verilir (21).

Merkel hücreleri, duyuusal fonksiyonlu nöroendokrin hücreler olup bazal tabakada bulunurlar (palmoplantar bölge, oral ve genital mukoza, foliküller, tırnak yatağı). Bu hücrelerin duyuusal mekanoreseptörler olarak da işlevlerinin olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (17,21).

Keratinositler stratum spinozumda, yassı poligonal şekilli hücreler haline gelirler. Sitoplazmada lamelli bir yapı içeren granüller izlenir. Bu granüllere lamelli cisimcik adı verilir ve stratum granülozumda sayıları artar (17,20).

En fazla stratum spinozum tabakasında bulunan Langerhans hücreleri kemik iliğinden köken alırlar, deriye kan yoluyla taşınır ve antijenleri bağlama ve T lenfositlere sunma yeteneğine sahiptirler (17).

Stratum granülozum çok sıralı, yassı çekirdekli keratinosit tabakasıdır. Sitoplazmalarında, düzensiz şekilli, bir membranla kuşatılmamış keratohiyalin granülleri ve eşlik eden tonofilamanlar izlenir, ilk kez stratum spinozumdaki keratinositlerde gözlenen lipidden oluşmuş lamellar cisimciklerin sayısı, stratum granülozumda artar ve granül içeriği hücreler arası boşluğa salınır. Hücrelerarası boşlukta bu lamelli materyal geniş ve çok tabakalı bir kılıf şeklinde düzenlenir. Bu lipid yapı, stratum lusidumda, keratinositlerin yüzeyini kaplayarak epidermise su bariyeri özelliği kazandırır (20).

Stratum lusidum ve stratum korneum, birkaç sıra halinde dizilmiş, nükleusu olmayan keratinositlerden meydana gelir. Farklılaşmanın son noktasındaki stratum korneumdaki keratinositler, birleşik yassı yapılar şeklinde dizilirler. Bunlar, epidermis yüzeyinden dökülürler ve stratum bazalenin kök hücrelerinin farklılaşması ile sürekli olarak yenilenirler (20).

Dermis

Dermis, epidermisi destekleyen, epidermal ekleri barındıran ve epidermisi hipodermise bağlayan bağ dokudur. Kalınlığı bölgeden bölgeye değişmekle beraber, en fazla kalınlığa sırt bölgesinde ulaşır. Dermisin yüzeyi düzensiz yapıdadır ve epidermisin uzantıları ile iç içe geçmiş dermal papilla adı verilen uzantılara sahiptir. Dermal papillalar basınca daha fazla maruz kalan deri bölgelerinde daha fazla bulunur ve dermis ile epidermis arasındaki bağlantıyı güçlendirirler (17).

Dermis sınırları net ayırt edilemeyen iki tabakadan oluşur: Dışta papiller tabaka ve içte retiküler tabaka. Papiller tabaka gevşek bağ dokudan oluşur; fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve diğer bağ doku hücrelerini içerir. Damar dışına çıkmış lökositlere de rastlanır. Papiller tabakadan bazal laminaya giren kollajen fibriller dermise dek uzanır. Bunlar dermis ile epidermisi birbirine bağlar ve tutturucu fibriller olarak isimlendirilir (17,20).

Dermisin papiller tabakası ile epidermisin stratum germinativum tabakası arasında bir bazal lamina bulunur. Bazal laminanın altında ince bir fibriler ağ olan lamina retikularis yer alır. Bunların birleşerek oluşturdukları yapı olan bazal membran, ışık mikroskobu ile görülebilir (17).

Retiküler tabaka kalındır ve başlıca tip I kollajen içeren düzensiz bağ dokudan oluşur ve papiller tabakaya göre daha az hücre ve daha fazla lif ihtiva eder. Dermis elastik sisteme ait lifler içerir, bu lifler tipik olarak retiküler tabakada yer alır. Bu bölgeden çıkan lifler incelerek bazal lamina içine doğru ilerler, giderek elastin bileşenini yitirir ve bazal laminaya sadece mikrofibriler bileşeni ile girer. Derinin esnekliğinden bu elastik ağ sorumludur (17).

Dermisin hücresel elemanları:

Bu hücreler mezodermal kökenli olup 3 gruptan oluşur (20, 21).

1. Retikülohistiyositik hücreler: Fibroblastlar, histiositler ve mast hücreleri.
 - a. Fibroblastlar, diğer konnektif doku elemanlarını sentezler ve yıkarlar.
 - b. Histiyositler, dermiste az miktarda bulunan makrofajlardır. Patolojik durumlarda dermise göç ederler ve fagositozda rol oynarlar.
 - c. Mast hücreleri, sitoplazmalarında bulunan bazofilik granüllerden histamin ve benzer etkiye sahip bazı mediatörler salgırlarlar.
2. Myeloid hücreler: Polimorfonükleer lökositler (PMNL) ve eozinofiller. PMNL'ler inflamatuvar olaylarda, eozinofiller allerjik dermatozlarda dermiste birikirler.
3. Lenfoid hücreler: Derinin inflamatuvar olayları ve neoplastik hastalıklarında dermiste görülürler.

Hipodermis

Vücutta bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişen kalınlıklarda bir tabaka halinde, gevşek bağ dokudan ve yağ hücrelerinden meydana gelir. Klitoris, penis ve göz kapaklarında bulunmaz (20).

Deri Ekleri

1. Keratinize deri ekleri:

a. Kıllar:

Dudaklar, son falankslar, el ayası, ayak tabanı ve glans penis hariç tüm vücutta yaygın olarak bulunurlar. Kıl folikülü; epiderminin, derminin içine çökmesi ile oluşur. Kılın deri üzerinde görünen kısmına gövde, kıl folikülü içindeki kısmına kök denir (21).

b. Tırnaklar:

Parmakların son falankslarının dorsal yüzünde bulunan; konveks, yarı şeffaf, boynuzsu yapılardır. Tırnağın proksimalinde, büyümeyi sağlayan matriks bulunur. Matriks, tırnak plağı altında, yarım ay şeklinde, beyaz renkte görülür ve lunula adını alır. Tırnak plağının altında tırnak yatağı bulunur (21).

2. Salgı yapan deri ekleri:

a. Ter bezleri:

Merokrin türde salgı yapan ve uyarılmaları kolinerjik sinirler aracılığı ile olan ektrin ter bezleri; en çok alın, el ayası, ayak tabanı, aksiller ve genitoanal bölgelerde bulunurlar. Dudak, glans penis, prepisyum iç yüzü, labium minörler gibi vücut bölgelerinde bulunmazlar (21).

Apokrin türde salgı yapan ve uyarılmaları adrenerjik sinirler aracılığı ile olan apokrin ter bezleri; puberteden sonra aktif hale geçerler. Meme başı, aksiler ve genitoanal bölge gibi belirli yerlerde lokalize olmuşlardır (21).

b. Yağ bezleri:

Holokrin türde salgı yaparlar, salgılarına sebum ismi verilir. Sebum; yağ asitleri, yağ esterleri, skualen ve kollesterinden yapılmıştır. Yağ bezleri kıl folikülleri ile birlikte bulunurlar ve oluşturdukları yapıya pilosebace ünit adı verilir. Seboreik bölgeler denen; saçlı deri, kulak arkası, alın, kaşlar, sulkus nazolabialis, çene, sternal, interskapuler, genitoanal bölgeler gibi yerlerde fazla olmak üzere, birçok deri bölgesinde bulunurlarken; kıl olmayan el ayası, ayak tabanı gibi bölgelerde bulunmazlar (21).

YARA İYİLEŞMESİ

Yara bakımı tarihi, insanlık tarihi kadar eskidir. Eski Yunan'dan günümüze yara iyileşmesi tıbbın önemli ilgi alanlarından biridir. Yara iyileşmesi patofizyolojisi, tedavisi ve enfeksiyonları en aza indirecek tedavi yöntemleri üzerine çalışmalar günümüzde halen devam etmektedir (22).

Yara İyileşmesinin Tipleri

1. Primer yara iyileşmesi:

Sütürle kenarları birbirine yaklaştırılan temiz, infekte olmayan insizyonun iyileşmesidir. İnsizyon, bazal membran bütünlüğünün yalnızca küçük bir kesintisi ile görece az bağ doku ve epitel hücre kaybına yol açar (23).

2. Sekonder yara iyileşmesi:

Cerrahi müdahale yapılmadan, kendiliğinden iyileşmeye bırakılmış yaralardır. Bu yaraların iyileşme süreleri yaranın derinliğine ve kenarlarının birbirinden uzaklığına bağlıdır (23,24).

3. Tersiyer yara iyileşmesi:

Gecikmiş primer kapama olarak da adlandırılır. Birkaç gün açık bırakılan yara dudakları cerrahi olarak yaklaştırılır. Bu gecikme ödem şiddetinde azalma ve eksudanın drenajı gibi fizyolojik süreçlere yardımcı olur (25).

Yara İyileşmesinin Evreleri

Yara iyileşmesi süreci hemostaz ve inflamasyon (0-3 günler), hücresel proliferasyon (3-12. günler) ve matürasyon (3-6 ay) aşamalarını içerir (26).

1. İnflamasyon evresi:

Yara iyileşmesinin ilk basamağı hemostazdır. Yaralanma bölgesinde, hasarlanan damarlarda hemen vazokonstriksiyon meydana gelir. Trombositler, travma sonrası salınan trombotik doku faktörlerine yanıt olarak hızla agregre olur ve ilk pıhtı tıkaç oluşur. Koagülasyon yolları ile protrombin trombine, fibrinojen fibrine dönüşür, sonuçta pıhtı stabil bir yapı halini alır (27).

Erken dönemde gelişen vazokonstriksiyon 15 dakika içinde sonlanır ve hemen akabinde vazodilatasyon gelişir. Trombositlerden salınan transforme edici büyüme faktörü- β ,

pihtılaşma kaskadının aktivasyonu ile ortaya çıkan bradikinin, kompleman kaskadının aktivasyonu ile ortaya çıkan C5a, endotelde permeabilite artışına neden olup proteinden zengin sıvının damar dışına çıkmasına; bu da ödeme neden olur. Permeabilite artışı aynı zamanda yara alanına inflamatuvar hücrelerin migrasyonuna sebep olur (28,29).

Yaralanmadan sonra ortama ilk önce nötrofiller gelmektedir. Yara iyileşmesinin erken döneminde, yara kavitesini dolduran matrikste hakim hücreler nötrofillerdir. Nötrofiller ortamdaki bakterileri oksijen bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla öldürürken, fagositoz yaparak da l dokuları ortadan kaldırır (28,29).

Yaralanmadan 48-72 saat sonra nötrofiller yerlerini, makrofajlara bırakmaya başlar. Dolaşımdaki monositler dokuya geçerek makrofajlara dönüşürler (28). Makrofajlar fagositoz görevlerinin dışında, fibroblastların hücreler arası matriks üretimini sürdürmeleri için gereken bazı büyüme faktörlerinin salınımını ve anjiogenezi sağlar (28,29).

Makrofajlar yara iyileşmesi sürecinde düzenleyici rollerinden dolayı en önemli hücrelerdir. Uyarılmış makrofajlar lökotrien-B4 ve C4, tromboksan-A2 ve prostoglandin-F2 α salgırlarlar. Lökotrien-B4 nötrofiller için kemotaktik olup endotelial hücelere nötrofil tutunmalarını kolaylaştırır (27).

Yara bölgesinde, 5-7. günlerde, süreçteki rolleri açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, T lenfositler de yüksek oranda saptanır. Benzer Şekilde inflamatuvar evrenin geç döneminde mast hücreleri de görülür ancak fonksiyonları bilinmemektedir (30,31).

2. Proliferasyon evresi:

Proliferasyon evresi, fibrin matriksinin birikimi sonrası fibroblastların aktifleşmesiyle başlar. Transforme edici büyüme faktörü- β , platelet kökenli büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü gibi bazı büyüme faktörleri fibroblastların yaraya geçişini sağlar. Fibroblastların ana fonksiyonu olan ve yaralanmanın 2. günü başlayan kollajen sentezi için maksimum aktivite her zaman 5-7. gnlerdedir (24).

Proliferasyon evresi boyunca bir granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar granülasyon dokusunda baskın hücre tipi haline gelirler. Prolifere olup sonrasında lokal olarak depolanacak matriks bileşenlerini (hyaluronan, fibronektin, proteoglikanlar ve tip I ve III kollagen) retmeye başlarlar (32,33).

Aktive makrofajlar tarafından salınan anjiogenik faktörler, yara bölgesinde endotelial hücre tomurcuklarından yeni kapillerler oluşturur. Damarların onarım alanında tomurcuklanmasıyla yeni damarların oluşumuna anjiogenezi denir. Anjiogenezin primer uyarını vasküler endotelial büyüme faktörüdür. Makrofajlar salgıladıkları fibroblast büyüme

faktörü ve tümör nekroz faktörü- α gibi büyüme faktörleriyle anjiogenezde kilit rol oynarlar (34).

Epitelizasyon keratinositlerin bölünerek çoğalması ve granülasyon dokusunu örtmesidir. Yara kenarlarında yaralanmadan 24 saat sonra reepitelizasyon başlar. Epidermal hücre proliferasyonunu uyaran faktörler tam olarak bilinmemekle beraber ekstraselüler matriks, büyüme faktörleri ve yaranın elektriksel alan değişikliklerinin epitel hücrelerin migrasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (24,35).

3. Matürasyon evresi:

Matürasyon evresinde, kollajen sentez ve yıkımı dengelenir. Kollajen sentezinin baskılanmasında kollajenin kendisi, γ -interferon, tümör nekroz faktörü- α rol alır (31,35). Fibroblastlar tarafından yapılan kollajenin yıkımından, fibroblastlar, makrofajlar, epidermal hücreler ve endotelial hücrelerce üretilen proteolitik metalloproteinaz enzimleri sorumludur (35).

Erken dönemde düzensiz şekilde depolanan kollajen, matürasyon evresinde metalloproteinazlarca yıkılır. Fibroblastların yeniden sentezlediği kollajen bu evrede epitele paralel olarak, daha düzenli dizilir. Yara iyileşmesinin matürasyon evresinde, tip I kollajen daha önce sentezlenmiş olan tip III kollajenin yerini alır (36).

Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler (36-38)

1. Lokal faktörler:

- a. Yara yerinin özelliği (nöropati, basınç, ödem, kronik radyasyon hasarı)
- b. Doku iskemisi
- c. Enfeksiyonlar
- d. Yabancı cisim reaksiyonları
- e. Topikal ilaçlar (Potent kortikosteroidler, iyot)
- f. Hemostatik ilaçlar (Alüminyum klorid, ferrik subsulfat)

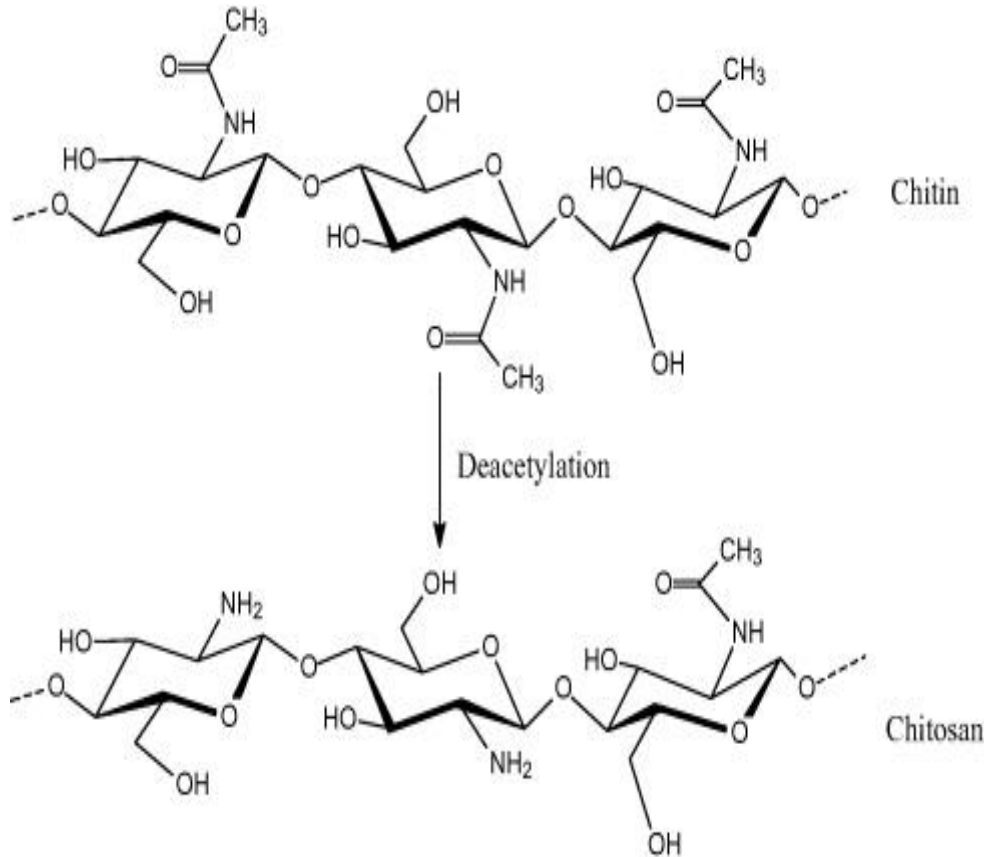
2. Sistemik faktörler

- a. İleri yaş
- b. Malnutrisyon ve beslenme bozuklukları
- c. Kronik hastalıklar (Hepatik, renal, kardiyovasküler, otoimmün yetmezlikler; diabetes mellitus, Cushing sendromu, Ehlers-Danlos sendromu, Werner sendromu, vaskülitler)

- d. Uzak maligniteler ve tedavi protokolleri (Kemoterapi, radyoterapi)
- e. Sistemik ilaçlar (Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, kortikosteroidler, penisilamin)
- f. Alkolizm
- g. Sigara kullanımı

CHITOSAN ACETATE BANDAGE

Chitin bazı deniz kabukluları ve böceklerde doğal olarak bulunan, destek görevi gören; bir $\beta(1\rightarrow4)$ bağlantısı ile oluşmuş 2-asetamido-2-deoksi- β -D-glukoz yapısında bir mukopolisakkarittir. Chitin'in sıcak sodyum hidroksit formları ile parsiyel deasetilasyonu sonucu, çözünürlüğü daha fazla olan polimer yapıda Chitosan oluşur (Şekil 3) (39,40).



Şekil 3. Chitin ve Chitosan molekülleri (40)

Chitosan; biyoyumluluğu, diğer materyallerle kompozit oluşturma kabiliyeti, bulunduğu dokuya göre mekanik özellikleri arttırması gibi özellikleri sayesinde; ince film tabaka, fibriller, granüller, çözelti ve jel haline getirilerek günümüzde kozmetik, gıda, ziraat ve tekstil gibi pek çok alanda kullanılabilir (11).

Chitosan'ın değişik molekül ağırlıklı ve farklı deasetilasyon derecesindeki preparatları, farklı kimyasal ve biyolojik özelliklerle, farklı etkiler göstermektedir. Yapılan çalışmalarda Chitosan'ın değişik türevleri saptanan hemostatik, antibakteriyel, antifungal, etkileri sebebiyle çeşitli preparatlar şeklinde kullanılmaktadır (41).

Chitosan, yara iyileşmesi sürecinde, PMNL ve mononükleer hücre aktivasyonu, sitokin üretimi, fibroblast aktivasyonu, kollajen sentezinin uyarılması aşamalarında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca doku rejenerasyonunu uyarıcı etkileri bulunmaktadır. Yaraya PMNL migrasyonu, yara iyileşmesinde önemli adımlardan birisi olup Chitin ve Chitosan'ın PMNL aktivitesini stimüle ettiği deney hayvanlarında yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (11,42).

Andres ve ark. (43) yaptıkları bir çalışmada Chitin ve Chitosan'ın çeşitli mikroorganizmalar üzerine etkilerini araştırmışlardır. Benzer şekilde No ve ark. (44) Chitosan ve türevlerinin gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerine etkilerini karşılaştırmışlardır. Başka bir çalışmada Seyfarth ve ark. (45) Chitosan ve türevlerinin antifungal etkilerini incelemişlerdir (46).

Burkatovskaya ve ark. (47) tarafından deri ve yanık iyileşmesi sürecine etkileri, Amin ve ark. (48) tarafından kemik enfeksiyonlarında antimikrobiyal etkileri, Rossi ve ark. (49) tarafından oral mukozit tedavisindeki potansiyel rolü, Okamura ve ark. (50) tarafından hayvan modelinde hemorajik sistit tedavisinde intravesikal kullanımı, Akıncıbay ve ark. (51) ve Boynueğri ve ark. (52) tarafından yapılan ayrı çalışmalarla periodontal rejenerasyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Oshima ve ark. (53) derinin açık yaralarında topikal Chitosan kullanan hastalarda ağrı hissinde azalma saptamışlardır. Benzer diğer iki çalışmada da Chitosan uygulanan evcil hayvanların ağrı semptomlarının azaldığı gösterilmiştir (54,55).

Chitosan hemostazı artırır, yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler, mineralize kemik matrikslerin osteokondüktif özellerini artırır, ilaçların kontrollü yavaş salınımlarını sağlar. Bakteriostatik, fungostatik, spermisidal, antikanserojen ve antikolesterolemik olduğu bildirilmiştir. Çözeltilerde iyon dansitesinin artması sebebi ile polianyonik ajanlar ile iyonik kompleksler oluşturur. Bu sayede büyüme faktörleri, antibiyotikler ve antiinflamatuvar ilaçlar Chitosan'a emdirilerek kullanılabilir (46).

Çalışmamızda kullandığımız HemCon[®] GuardaCare[™] (HemCon Medical Technologies, Inc. Portland, U.S.A.) ise sıkıştırılmış Chitosan Acetate içeren bir preparattır. Savaşlarda, kazalarda, yaralanmalarda ilk müdahalelerde ve cerrahi girişimler sırasında kanama durdurucu ajan olarak kullanılmaktadır (39,56,57).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 07.12.2012 tarih ve 2012.09.02 sayılı Etik Kurulu onayı (Ek 1) alındıktan sonra; rastgele seçimle belirlenen, sekizerli 4 gruptan oluşan, ağırlıkları 172-202 gram arasında değişen toplam 32 adet Sprague-Dawley tipi rat çalışmaya alındı. Deney hayvanları laboratuvarından temin edilen hayvanlar; deney boyunca uygun ısı, ışık ve karanlık koşullardaki kafeslerde barındılar. Kafeslerinde sürekli rahatça ulaşabildikleri gıda ve su bulunduruldu. Sağlık Araştırmaları Ulusal Topluluğu'nun "Laboratuvar Hayvanları Bakım Prensipleri" ve Laboratuvar Hayvan Kaynakları Enstitüsü ile Ulusal Sağlık Enstitüsünün yayınladığı, "Laboratuvar Hayvanlarının Bakım Ve Kullanım Kılavuzu" doğrultusunda deney hayvanları çalışması yapıldı. Çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi ve Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

ÇALIŞMA GRUPLARI

Grup NaCl₃ (n=8): Yara oluşturulmasını takiben üç gün süreyle, günlük %0.9 NaCl (Sodyum klorür) çözeltisi ile yara bakımı yapılan ve üçüncü gün sonunda anestezi uygulaması sonrası yara yerinden biyopsi alınan grup.

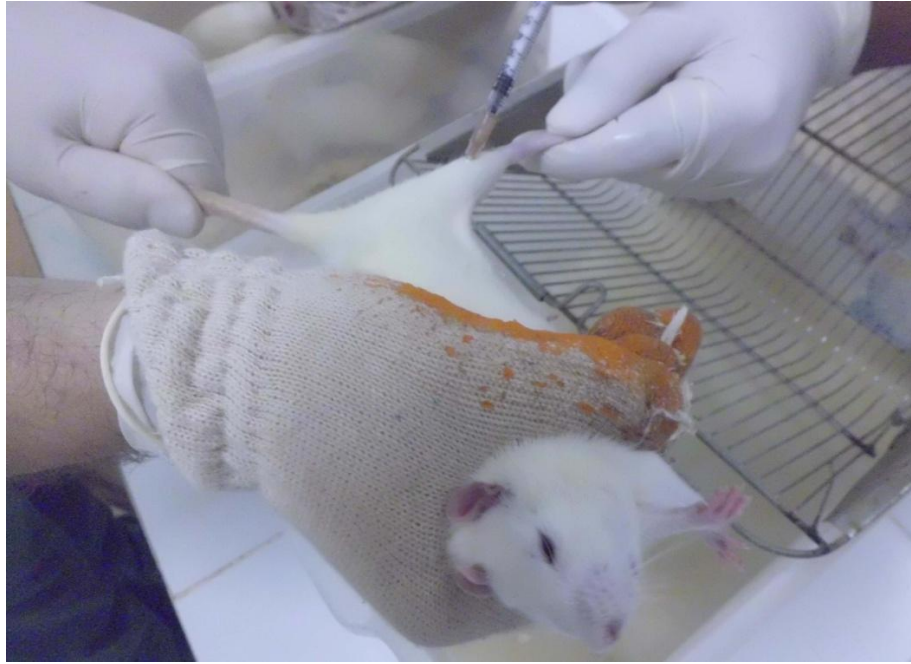
Grup CAB₃ (n=8): Yara oluşturulmasını takiben üç gün süreyle, yara dudaklarını örtecek şekilde CAB uygulanmasıyla yara bakımı yapılan ve üçüncü gün sonunda anestezi uygulaması sonrası yara yerinden biyopsi alınan grup.

Grup NaCl₇ (n=8): Yara oluşturulmasını takiben yedi gün süreyle, günlük %0.9 NaCl çözeltisi ile yara bakımı yapılan ve yedinci gün sonunda anestezi uygulaması sonrası yara yerinden biyopsi alınan grup.

Grup CAB₇ (n=8): Yara oluşturulmasını takiben yedi gün süreyle, yara dudaklarını örtecek şekilde CAB uygulanmasıyla yara bakımı yapılan ve yedinci gün sonunda anestezi uygulaması sonrası yara yerinden biyopsi alınan grup.

DENEKLERİN HAZIRLANMASI

Deneklerin, 50 mg/kg dozda ketamine hydrochloride (Ketalar flk; Pfizer İlaçları Ltd.Sti, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine hydrochloride (Rompun; Bayer, Türk Kimya San. Ltd. Sti. İstanbul, Türkiye) intramuskuler enjeksiyonu ile anestezisi sağlandı (şekil 4). Ratlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonunda masaya yatırıldı (şekil 5). Karın tıraşlanıp lokal saha temizliği polividon iyot (Batticon® Solüsyon, Adeka, Samsun, Türkiye) ile yapıldı.



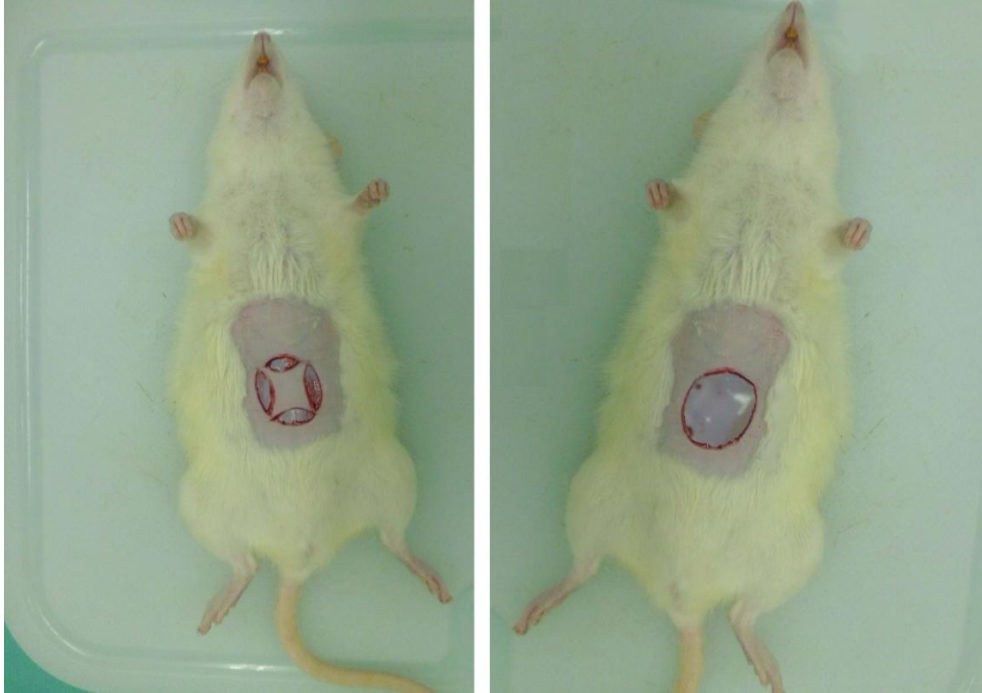
şekil 4. İnamuskuler ketamine hydrochloride ve xylazine hydrochloride enjeksiyonu ile anestezi sağlanması



Şekil 5. Ratların cerrahi işlem öncesi supin pozisyonu ve karın traşı

YARA OLUŞTURMA VE YARA BAKIM TEKNIĞİ

Tüm ratların karın bölgelerinde 2x2 cm² düzgün sınırlı alan bistüri yardımı ile kesilerek uzaklaştırıldı (Şekil 6).



Şekil 6. Ratların karın bölgelerinde yara oluşturulması

Her gün aynı saatte, anestezi uygulaması sonrası Grup NaCl₃ ve Grup NaCl₇'deki ratlara günlük %0.9 NaCl çözeltisi ile yara bakımı, Grup CAB₃ ve CAB₇'deki ratlara da günlük yara dudaklarını örtecek şekilde CAB uygulanması şeklinde yara bakımı yapıldı (Şekil 7). Grup CAB₃'de 2 adet rat öldüğü için çalışma dışına çıkartıldı. Ratların hiçbirinde makroskobik yara yeri enfeksiyonu ya da CAB'ye bağlı alerjik reaksiyon izlenmedi.



Şekil 7. Chitosan Acetate Bandaj ile yara bakımı

Grup NaCl₃ ve Grup CAB₃'teki ratlardan üçüncü gün ve Grup NaCl₇ ve Grup CAB₇'deki ratlardan yedinci gün sonunda, anestezi uygulaması sonrası, yara dudaklarını ve sağlam cildi içerecek şekilde tam kat cilt biyopsisi alındı. Ratlar, biyopsi sonrası servikal dislokasyon uygulanarak sakrifiye edildi.

DOKU HAZIRLANMASI VE HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Cilt doku örneklerindeki histopatolojik incelemeler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Histopatolojik inceleme için alınan her bir örnek %10 formaldehitte fikse edilerek daha sonra alkol ile dehidrate edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Işık mikroskopisinde inceleme yapılması için parafin bloklardan ince kesitler elde edildikten sonra bu kesitler HE boyasıyla boyanarak histolojik değişiklikler kantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme için Olympus BX 51 model mikroskop ve resimlerin çekilmesi için Zeiss Axioplan 2 Imaging MC80 DX model kamera kullanıldı.

Alınan örneklerin polimorf nüveli lökosit ve mononükleer iltihabi hücre yoğunluğu, total inflamatuvar skor, vasküler proliferasyon, fibroblastik proliferasyon ve fibrozis skoru (0, 1+, 2+, 3+) ile değerlendirilmesi yapıldı.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirme, 10240642 seri numaralı SPSS 20 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar Mean±SD (Standart Deviation) olarak verildi. Ölçülebilen verilerin normal dağılıma uygunlukları tek örnek Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda, gruplar normal dağılım göstermediğinden dolayı Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ve ikili karşılaştırma yöntemi olarak Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm istatistikler için anlamlılık sınırı $p<0.05$ kabul edildi.

BULGULAR

Histopatolojik değerlendirmede, total inflamatuvar skor değerleri karşılaştırıldığında; NaCl₃ grubunun değeri 2.75±0.46 iken, CAB₃ grubunun değeri 2.97±0.51 olarak tespit edildi. Ayrıca PMNL skorları karşılaştırıldığında; NaCl₃ grubunun değeri 2.88±0.35 iken, CAB₃ grubunun değeri 2.50±0.83 olarak tespit edildi. Total inflamatuvar skor ve PMNL skorları açısından grupların almış oldukları değerler ve karşılaştırmalı analizleri Tablo 1 ve 2’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 1. Grupların total inflamatuvar skor sonuçları

Gruplar (total inflamatuvar skor)	Gruplar (total inflamatuvar skor)	p*
NaCl ₃ (2.75±0.46)	CAB ₃ (2.97±0.51)	0.742
	NaCl ₇ (2.88±0.35)	0.535
	CAB ₇ (2.50±0.53)	0.317
CAB ₃ (2.97±0.51)	NaCl ₇ (2.88±0.35)	0.365
	CAB ₇ (2.50±0.53)	0.548
NaCl ₇ (2.88±0.35)	CAB ₇ (2.50±0.53)	0.117

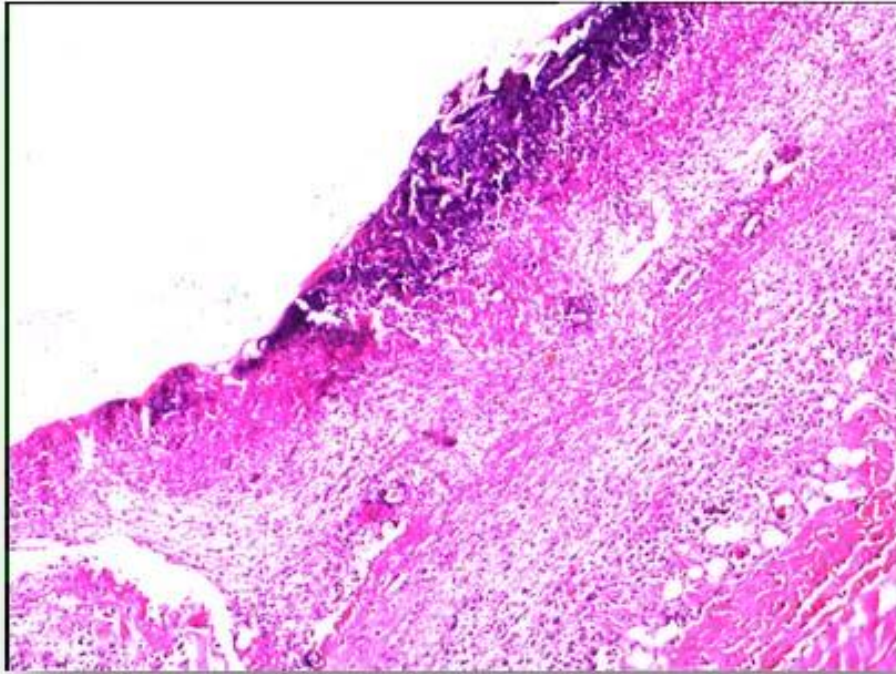
Mann-Whitney U testi, *p<0.05.

Tablo 2. Grupların polimorfonükleer lökosit skoru sonuçları

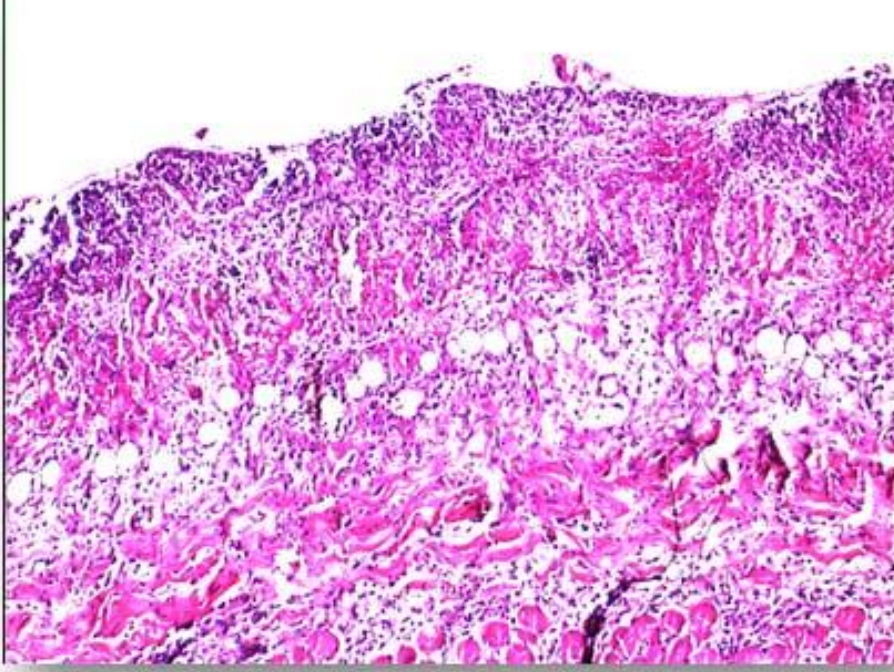
Gruplar (PMNL skoru)	Gruplar (PMNL skoru)	p*
NaCl ₃ (2.88±0.35)	CAB ₃ (2.50±0.83)	0.322
	NaCl ₇ (2.75±0.70)	0.927
	CAB ₇ (2.13±0.84)	0.038
CAB ₃ (2.50±0.83)	NaCl ₇ (2.75±0.70)	0.418
	CAB ₇ (2.13±0.84)	0.362
NaCl ₇ (2.75±0.70)	CAB ₇ (2.13±0.84)	0.078

Mann-Whitney U testi, *p<0.05

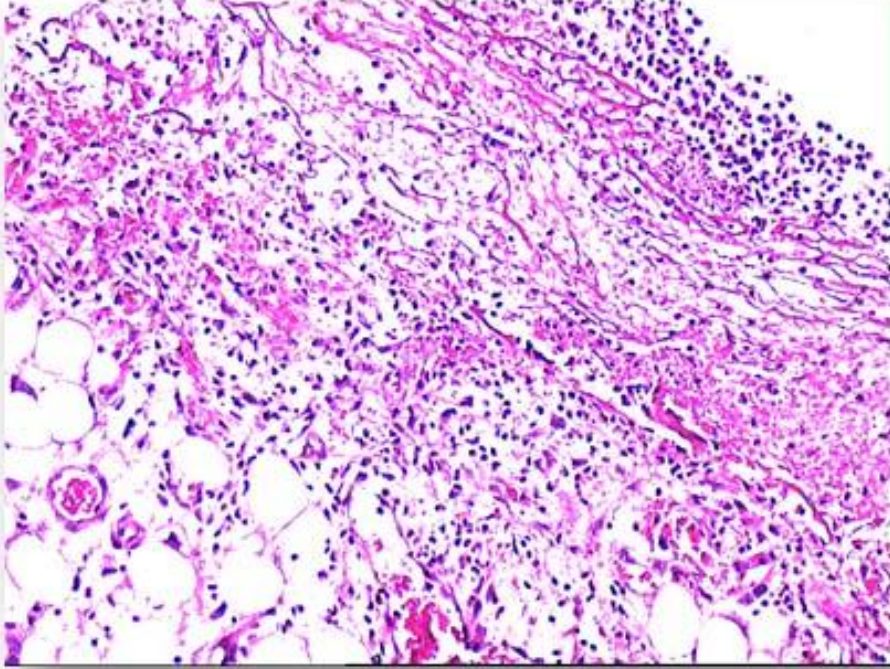
Yara iyileşmesinin 3. gününde Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta total inflamatuvar skor (p=0.742) ve PMNL skorları (p=0.322) arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. NaCl₃ grubu ile CAB₃ gruplarının total inflamatuvar skor ve PMNL skorlarına ait histopatolojik görüntü örnekleri Şekil 8, 9,10 ve 11’de verilmiştir.



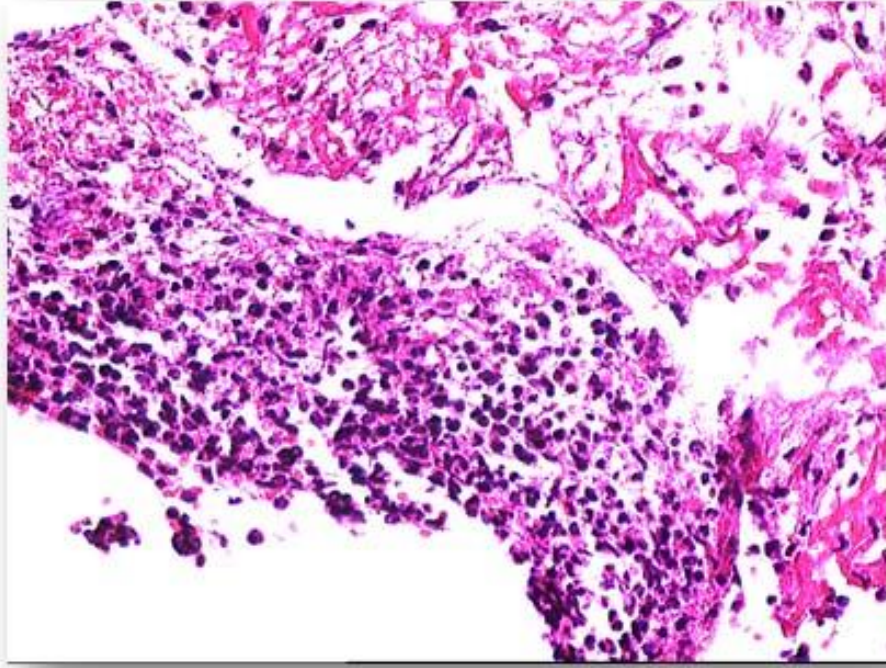
Şekil 8. NaCl₃ grubuna ait yara yeri örneğinde şiddetli aktivite gösteren ülsere iltihap, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 9. CAB₃ grubuna ait yara yeri örneğinde şiddetli aktivite gösteren ülsere iltihap, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 10. NaCl₃ grubuna ait yara yeri örneğinde yoğun PMNL infiltrasyonu, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 11. CAB₃ grubuna ait yara yeri örneğinde yoğun PMNL infiltrasyonu, Skor 3 (HE, X40)

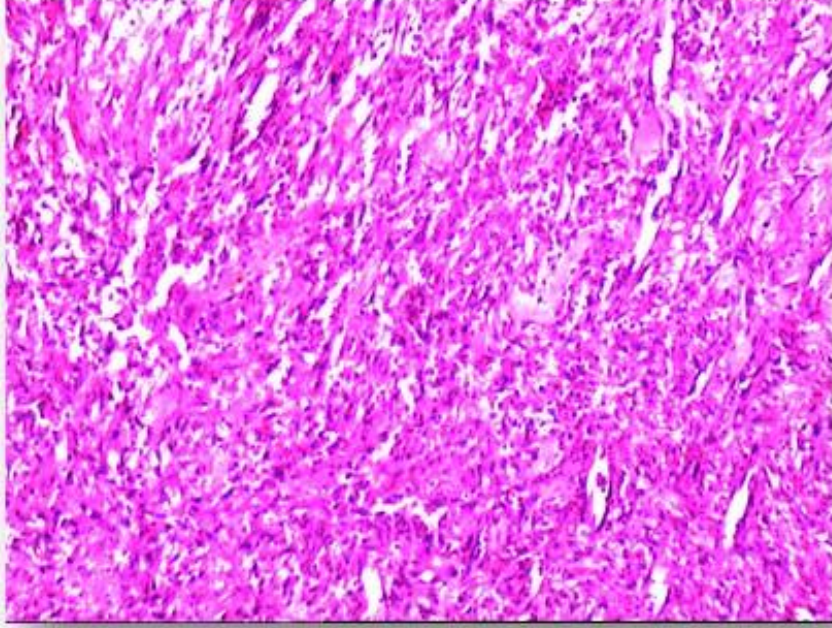
Histopatolojik değerlendirmede, mononükleer iltihabi hücre skorları karşılaştırıldığında; NaCl₇ grubunun değeri ile CAB₇ grubunun değeri 3.00±0.00 olarak benzer tespit edildi (p=1.000). Grupların almış oldukları mononükleer iltihabi hücre skorları ve karşılaştırmalı analizleri Tablo 3'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3. Grupların mononükleer iltihabi hücre skorları

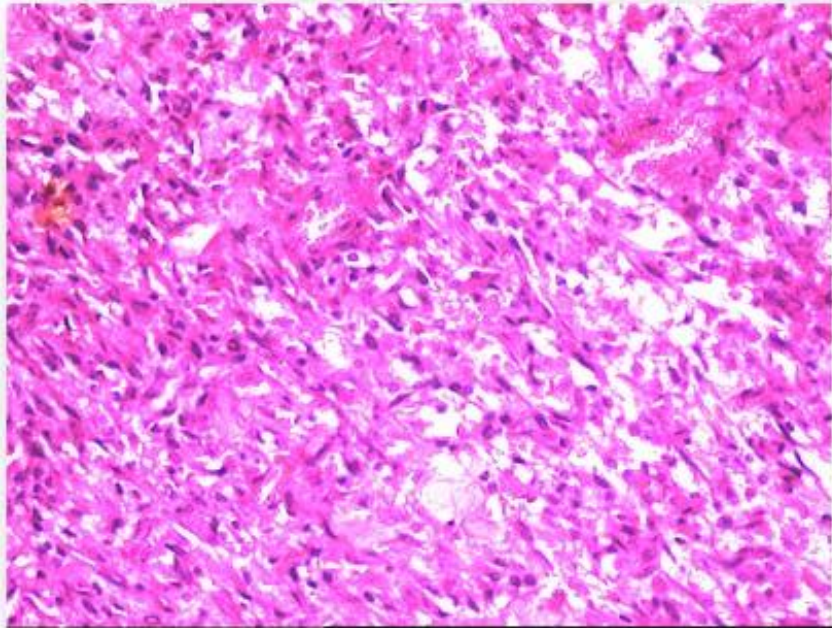
Gruplar (mononükleer iltihabi hücre skoru)	Gruplar (mononükleer iltihabi hücre skoru)	p*
NaCl ₃ (2.00±0.75)	CAB ₃ (2.17±0.40)	0.649
	NaCl ₇ (3.00±0.00)	0.003
	CAB ₇ (3.00±0.00)	0.003
CAB ₃ (2.17±0.40)	NaCl ₇ (3.00±0.00)	0.002
	CAB ₇ (3.00±0.00)	0.002
NaCl ₇ (3.00±0.00)	CAB ₇ (3.00±0.00)	1.000

Mann-Whitney U testi, *p<0.05

NaCl₇ grubu ile CAB₇ gruplarının mononükleer iltihabi hücre skorlarına ait histopatolojik görüntü örnekleri Şekil 12 ve 13’de verilmiştir.



Şekil 12. NaCl₇ grubuna ait yara yeri örneğinde mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 13. CAB₇ grubuna ait yara yeri örneğinde mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu, Skor 3 (HE, X40)

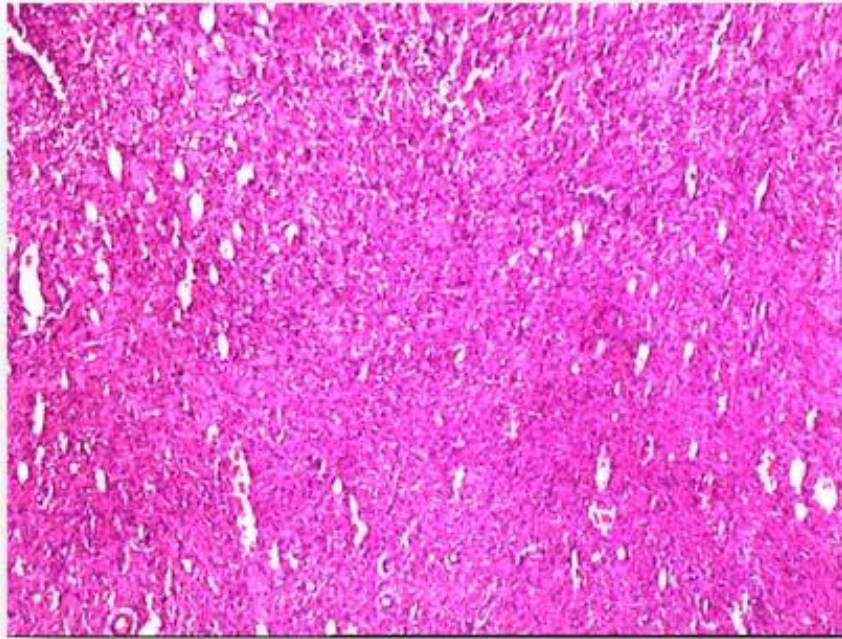
Histopatolojik değerlendirmede, vasküler proliferasyon skorları karşılaştırıldığında; NaCl₇ grubunun değeri ile CAB₇ grubunun değeri 3.00±0.00 olarak benzer tespit edildi (p=1.000). Grupların almış oldukları vasküler proliferasyon skorları ve karşılaştırmalı analizleri Tablo 4'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 4. Grupların vasküler proliferasyon skorları

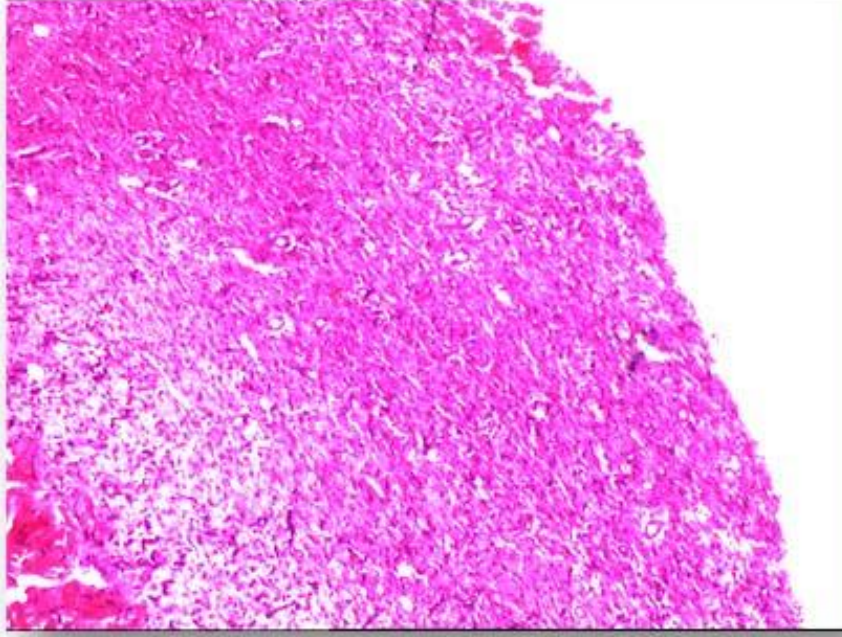
Gruplar (vasküler proliferasyon skoru)	Gruplar (vasküler proliferasyon skoru)	p*
NaCl ₃ (2.63±0.52)	CAB ₃ (3.00±0.00)	0.103
	NaCl ₇ (3.00±0.00)	0.063
	CAB ₇ (3.00±0.00)	0.063
CAB ₃ (3.00±0.00)	NaCl ₇ (3.00±0.00)	1.000
	CAB ₇ (3.00±0.00)	1.000
NaCl ₇ (3.00±0.00)	CAB ₇ (3.00±0.00)	1.000

Mann-Whitney U testi, *p<0.05

NaCl₇ grubu ile CAB₇ gruplarının vasküler proliferasyon skorlarına ait histopatolojik görüntü örnekleri Şekil 14, 15'de verilmiştir.



Şekil 14. NaCl₇ grubuna ait yara yeri örneğinde belirgin vasküler proliferasyon, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 15. CAB₇ grubuna ait yara yeri örneğinde belirgin vasküler proliferasyon, Skor 3 (HE, X40)

Histopatolojik değerlendirmede, fibroblastik skor değerleri karşılaştırıldığında; NaCl₇ grubunun değeri ile CAB₇ grubunun değeri 3.00±0.00 olarak benzer tespit edildi (p=1.000). Ayrıca fibrozis skorları karşılaştırıldığında; NaCl₇ grubunun değeri 3.88±0.35 iken, CAB₇ grubunun değeri 4.00±0.53 olarak tespit edildi (p=0.589). Fibroblastik skor ve fibrozis skorları açısından grupların almış oldukları değerler ve karşılaştırmalı analizleri Tablo 5 ve 6'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 5. Grupların fibroblastik skorları

Gruplar (fibroblastik skor)	Gruplar (fibroblastik skor)	p*
NaCl ₃ (2.88±0.35)	CAB ₃ (3.00±0.00)	0.386
	NaCl ₇ (3.00±0.00)	0.317
	CAB ₇ (3.00±0.00)	0.317
CAB ₃ (3.00±0.00)	NaCl ₇ (3.00±0.00)	1.000
	CAB ₇ (3.00±0.00)	1.000
NaCl ₇ (3.00±0.00)	CAB ₇ (3.00±0.00)	1.000

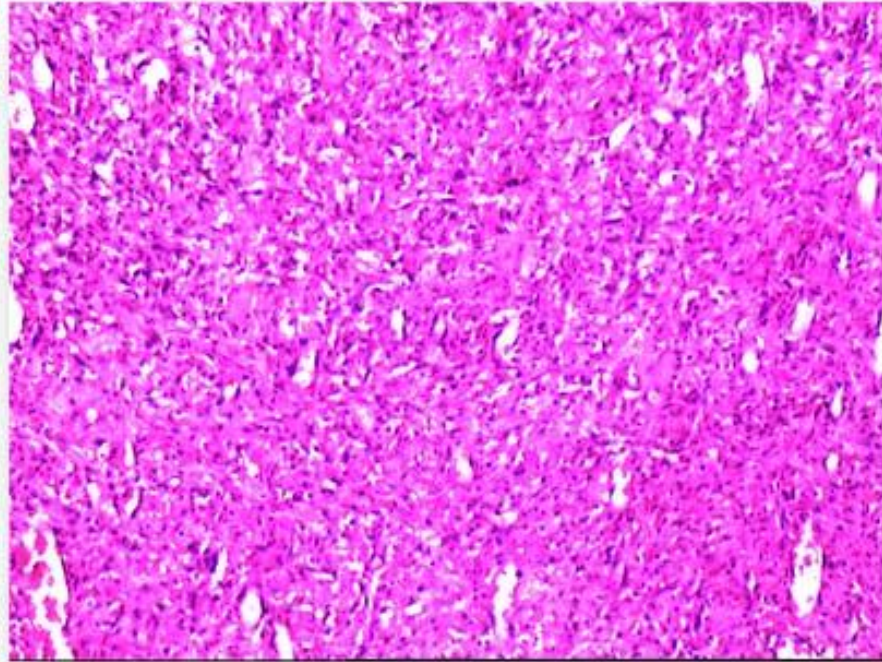
Mann-Whitney U testi, *p<0.05

Tablo 6. Grupların fibrozis skorları

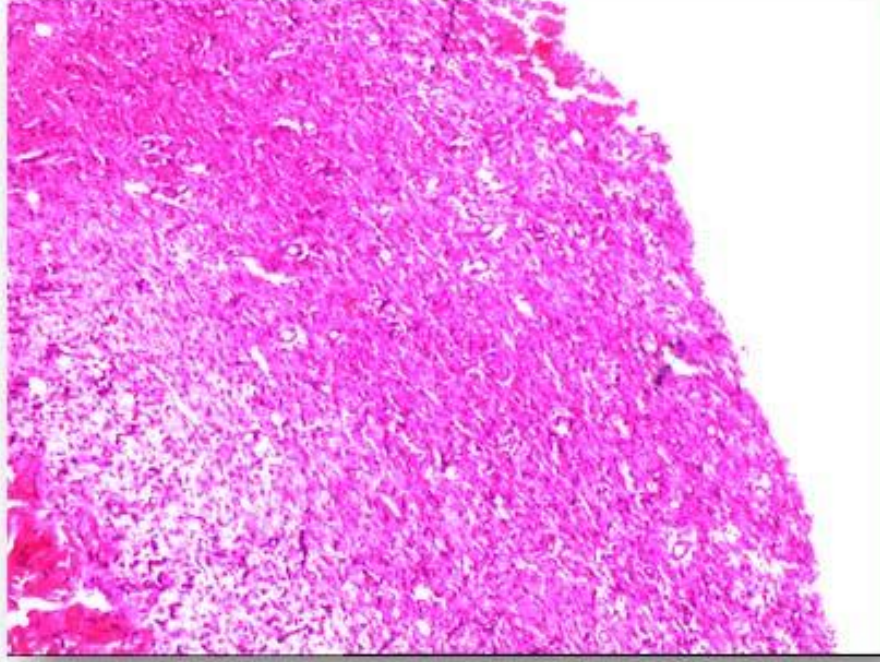
Gruplar (fibrozis skoru)	Gruplar (fibrozis skoru)	p*
NaCl ₃ (3.13±0.64)	CAB ₃ (3.50±0.54)	0.270
	NaCl ₇ (3.88±0.35)	0.014
	CAB ₇ (4.00±0.53)	0.013
CAB ₃ (3.50±0.54)	NaCl ₇ (3.88±0.35)	0.139
	CAB ₇ (4.00±0.53)	0.109
NaCl ₇ (3.88±0.35)	CAB ₇ (4.00±0.53)	0.589

Mann-Whitney U testi, *p<0.05

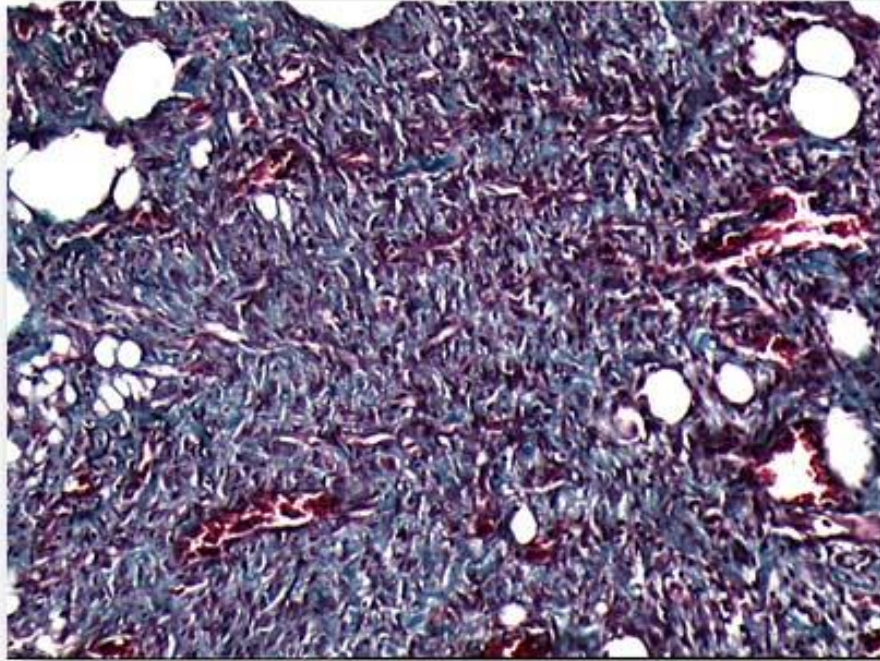
NaCl₇ grubu ile CAB₇ gruplarının fibroblastik ve fibrozis skorlarına ait histopatolojik görüntü örnekleri Şekil 16, 17, 18,19'da verilmiştir.



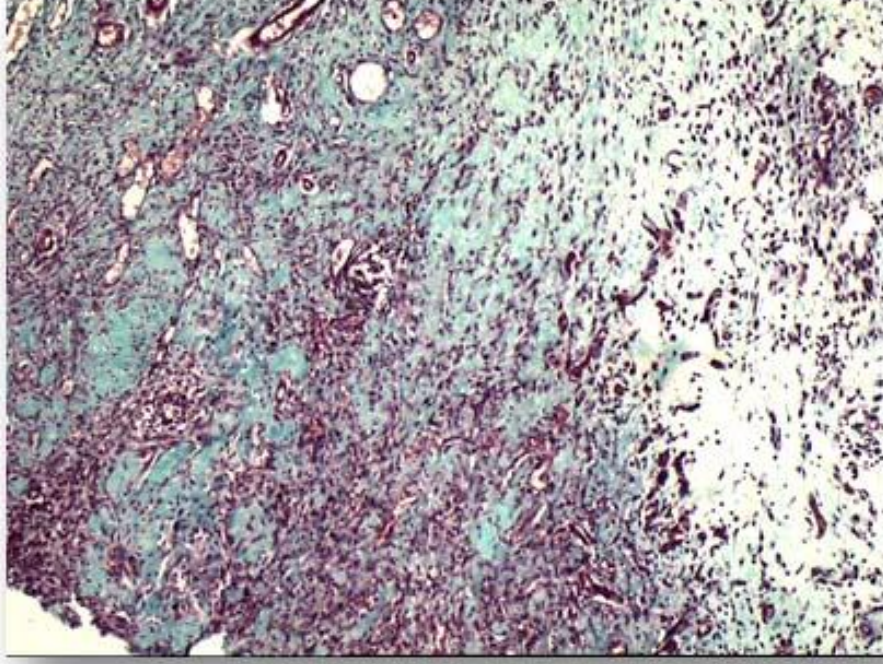
Şekil 16. NaCl₇ grubuna ait yara yeri örneğinde fibroblastik proliferasyon, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 17. CAB₇ grubuna ait yara yeri örneğinde fibroblastik proliferasyon, Skor 3 (HE, X40)



Şekil 18. NaCl₇ grubuna ait yara yeri örneğinde kalın demetler şeklinde bağ doku artışı, Skor 3 (Mason Trikom, X100)



Şekil 19. CAB₇ grubuna ait yara yeri örneğinde kalın demetler şeklinde bağ doku artışı, Skor 3 (Mason Trikom, X100)

TARTIŞMA

Tarih boyunca tıbbi folklorün ve sonrasında modern tıbbın en önemli sorunlarından biri olan yaralanmalar, milyonlarca acil servis başvurusunun nedenidir. Acil servislerde görev yapan hekimin acil müdahale dışında yaranın tedavisi konusunda vereceği karar hastanın yara komplikasyonlarına maruziyetini de etkileyecektir (22,58).

Yara iyileşmesi sürecinde denenen sistemik ya da topikal pek çok antibiyotik, antiinflamatuvar ilaç bulunmakla beraber son zamanlarda kanama durdurucu ajanların yara iyileşme sürecindeki etkileri incelenmekte ve yaralarda bu ajanların kullanımı ile ilgili çalışmalara daha sık rastlanmaktadır. Literatürde görece az yer alan CAB maddesinin, ratlarda tam kat cilt kesileri üzerine etkilerini histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık.

Chitin veya poli-N-asetil glukozamin doğada özellikle deniz artropodları ve deniz kabuklularının yapısal bileşiminde sıkça karşımıza çıkan yapısal bir maddedir. Chitin genelde suda çözünmez bir madde olmakla beraber deasetilasyonla beraber suda çözünür formu olan Chitosan polimerine dönüşebilir. Çalışmamızda kullanılan HemCon[®] GuardaCare[™] (HemCon Medical Technologies, Inc. Portland, U.S.A.) komprese bir Chitosan Acetate pansuman malzemesi olup hemostatik ajan olarak geliştirilmiştir ve Chitosan'ın polikatyonik doğası gereği doğal antimikrobiyal özellikler gösterir (59).

Literatürde Chitosan'ın çeşitli preparatlarının yara iyileşmesi üzerine etkileri ile ilgili bazı çalışmalar bulunmaktadır ve Chitosan'ın yara iyileşmesini uyardığı sanılmaktadır. Bu çalışmalar yazarların Chitosan'ın değişik türevlerini ve kopolimerlerini kullanması ve bazı yazarların Chitosan'a büyüme faktörleri eklemesi nedeniyle karşılaştırması zor çalışmalardır (60-62).

Chitosan'ın günümüzde temel kullanım alanı akut yaralanmalarda kanama durdurucu özelliğidir. Chitosan pıhtılaşma sürecini kısaltma özelliğini eritrosit ve platelet agregasyonunu artırma mekanizmasına borçludur. Literatür incelendiğinde Chitin'in trombositlerin agregasyonuna etkisinin daha baskın, Chitosan'ın ise kanın pıhtılaşmasını artırma gücünün daha fazla olduğu görülür (63).

Yara iyileşmesi süreci vazokonstriksiyonu takip eden trombosit migrasyonu ile başlayan hemostaz ve sonrasında karmaşık inflamatuvar süreçlerle devam eden, kendi içinde tutarlı ancak gerçekte bu kadar keskin sınırlarla ayrılamayan, iç içe geçmiş 3 evreden meydana gelir (64,65).

İnflamasyon evresinde, yara oluşumunu takiben, trombositlerden salınan kemotaktik moleküllere yanıt olarak yara dokusuna PMNL göçü olur. Nötrofiller yarada ilk 2 gün hakim hücre olarak bulunur, yabancı cisimlerin ve bakterilerin ortamdaki uzaklaştırılması ve fagositozu sürecinde yer alırlar (64,65). Ueno ve ark. (66) Chitosan'ın yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, yaralanmanın üçüncü gününde yara yerinde makrofajların migrasyonunda artışla birlikte PMNL infiltrasyonunun arttığını göstermişlerdir. Bu bulgular iyileşmenin erken dönemlerinde Chitosan'ın büyüme faktörlerinin ve proinflamatuvar mediatörlerin sekresyonunu yapan hücrelerin migrasyonunu stimüle etmesiyle ilişkilendirilebilir. Benzer bir şekilde Usami ve ark. (67,68) yaptıkları çalışmada, PMNL artışında Chitosan'ın bir kemoatraktan gibi davranmasının önemini vurgulamışlardır.

Çalışmamızda ise yara iyileşmesinin 3. gününde Chitosan uygulanan grup ile normal salın uygulanan grupta, total inflamatuvar skor ve PMNL skorları arasında anlamlı farklılık bulunmaması, yara iyileşmesinin erken evresinde Chitosan'ın beklenen etkiyi göstermediğini düşündürdü.

Yara iyileşmesi yaralı cildin onarım ve rejenerasyonu için gerekli fizyolojik bir süreçtir (33,69). Yara oluşumunun 3. gününde nötrofiller yerlerini, dokuya geçen monositlerin farklılaşmasıyla oluşan, makrofajlara bırakmaya başlar. Yara iyileşmesi sürecinin en önemli düzenleyicilerinden biri olan makrofajlar; salgıladıkları ürünlerle epitelizasyonu, angiogenezi, fibroblast proliferasyonunu uyarak bir sonraki evre olan proliferasyon evresine geçişte bir basamak oluştururlar (64,65).

Chitosan glikoprotein yapıdaki D-glukozamin ve N-asetil D-glukozamin'den oluşan bir bileşimdir. Daha önce yapılan çalışmalarda; bu bileşenlerden N-asetil D-glukozamin'in, kendisine ait spesifik reseptörlere bağlanması ile, varolan makrofaj ve mononükleer iltihabi hücre aktivasyonunu daha da arttırdığı saptanmıştır (66,70-73).

Makrofajların yaraya göçünün üçüncü gün başladığı ve 5-7 gün kadar sürdüğü

bilinmektedir (65). Çalışmamızda yara iyileşmesinin 7. gününde Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grubun mononükleer iltihabi hücre skorları arasında anlamlı farklılık tespit etmedik.

Anjiogenez yaralanmayı takip eden 4. günde makrofajlardan salınan anjiogenik faktörlerin stimülasyonu ile tetiklenen mekanizmalarla yara alanında yeni damarların oluşma sürecidir (64,65). Ueno ve ark. (74) köpeklerde oluşturulan radyasyon ilişkili yaralanmalarda, yara sahasına pamuk lifli Chitosan uygulaması sonrası artmış yeni damar oluşumunu saptamışlardır.

Çalışmamızda yara iyileşmesinin 7. gününde Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta vasküler proliferasyon skorları arasında anlamlı farklılık tespit etmedik. Yeni damarların oluşma sürecinin yaralanmayı takiben 5. günde tepe noktasına ulaşması temelinden yola çıkarak, Chitosan'ın yara iyileşmesinin anjiogenez safhasında beklenen olumlu etkisini gözlemleyemedik.

Yara iyileşmesinin proliferasyon evresi, fibrin ve fibrinojen matriksinin birikimi sonrası fibroblastların aktifleşmesiyle başlar. Çeşitli büyüme faktörlerinin etkisiyle fibroblastların yaraya geçişi sağlanır (24). Fibroblastların ana fonksiyonu, kollajen sentezidir, yaralanmanın 2. günü başlar ve maksimum aktivitesine 5-7. günlerde ulaşır (64,65).

Mori ve ark. (75) Chitosan'ın öncül maddesi olan Chitin ve türevlerinin in vitro fibroblast proliferasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında fibroblast kültürlerinde proliferasyon üzerine hızlandırıcı etki saptamazlarken, Hamilton ve ark. (76) Chitosan filmlerle temas eden hücrelerde değişen derecelerde fibroblast migrasyonu ve proliferasyonu artışı saptamışlardır. Benzer şekilde Kojima ve ark. (77) lifsiz polyester materyale emdirilmiş Chitosan ile yaptıkları yara iyileşmesi modelinde artmış kollajen sentezi ve artmış prolil hidroksilaz aktivitesi saptamışlardır (62,66).

Çalışmamızda yara iyileşmesinin 7. gününde Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta fibroblastik ve fibrozis skorları arasında anlamlı farklılık tespit etmedik.

Kollajenin ana maddelerinden biri olan hidroksiprolinin doku seviyesinin ölçülmesi, yara bölgesindeki kollajen sentez miktarını objektif olarak yansıtmaktadır. Hidroksiprolin doku seviyesinin tespiti, yara iyileşmesi sürecinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (78,79).

Çalışmamızda hidroksiprolinin doku seviyeleri ölçümleri yapılmaması kısıtlılık olarak kabul edilebilir. Fibroblastik skor ve fibrozis skorları ile doku hidroksiprolinin seviyeleri ölçümlerinin birlikte değerlendirilmesi, araştırmacıları gelecekte daha kapsamlı sonuçlara ulaştırabilir düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'nda planlanan çalışmamızda tam kat cilt kesisi oluşturulan ratlarda Chitosan Acetate Bandage'in yara iyileşmesi üzerindeki etkisini inceledik.

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda üniversitemiz Acil Tıp ve Patoloji Anabilim Dallarının ortaklaşa çalışması ile gerçekleştirilmiştir.

Deneysel olarak tam kat cilt kesisi oluşturulan ratlarda Chitosan Acetate'in yara iyileşmesi üzerinde etkisi; rat cildindeki histopatolojik değişiklikler değerlendirilerek şu sonuçlara ulaşıldı:

1. Yara iyileşmesinin 3. gününde (erken dönemde) Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta total inflamatuvar skor ve PMNL skorları arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.
2. Yara iyileşmesinin 7. gününde (geç dönemde) Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta mononükleer iltihabi hücre skorları arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.
3. Yara iyileşmesinin 7. gününde (geç dönemde) Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta vasküler proliferasyon skorları arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.
4. Yara iyileşmesinin 7. gününde (geç dönemde) Chitosan uygulanan grup ile normal salin uygulanan grupta fibroblastik ve fibrozis skorları arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

5. Tam kat cilt kesisi oluşturulan ratlarda kullandığımız Chitosan Acetate yara iyileşmesi üzerine tek başına histopatolojik değerlendirmeler göz önüne alındığında olumlu etkiyi göstermemiştir.
6. Çalışmamızda tek başına histopatolojik değerlendirmeler göz önüne alınmış olup, gelecekte birlikte yapılacak olan histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerle daha kapsamlı olabilecek sonuçlara ulaşılabilir.

ÖZET

Yara, travma sonrası doku bütünlüğünün bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise yaralanmanın ardından başlayan, üç evreden oluşan karmaşık bir süreçtir. İltihabi hücrelerin ve bu hücrelerden salınan mediatörlerin birbirini etkilemesi ile ilerleyen bu süreci hızlandırmak için topikal pek çok ajan kullanılmaktadır. Son yıllarda kanama durdurucu ajanların yara iyileşmesine etkileri üzerine çalışmalar hız kazanmıştır.

Bölümümüzde planlanan ve Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen çalışmamızda hakkındaki çalışmaların az sayıda olduğu Chitosan Acetate Bandage'ın yara iyileşmesine etkilerini araştırdık.

Her biri sekiz rat içeren 4 çalışma grubu oluşturuldu. Birinci grupta normal salinle yara bakımı yapıldı, 3. gün yara yerinden biyopsi alındı. İkinci grupta Chitosan Acetate Bandage'la yara bakımı yapıldı, 3. gün yara yerinden biyopsi alındı. Üçüncü grupta normal salinle yara bakımı yapıldı, 7. gün yara yerinden biyopsi alındı. Dördüncü grupta Chitosan Acetate Bandage'la yara bakımı yapıldı, 7. gün yara yerinden biyopsi alındı.

Örnekler total inflamatuvar hücre skoru, polimorf nüveli lökosit ve mononükleer iltihabi hücre yoğunluğu, vasküler proliferasyon, fibroblastik proliferasyon ve fibrozis skoru yönünden histopatolojik olarak değerlendirildi.

Üçüncü gün değerlendirilen ilk 2 grup arasında total inflamatuvar hücre skoru ve polimorf nüveli lökosit yoğunluğu açısından istatistiki anlamlı farklılık gözlenmedi. Benzer şekilde mononükleer hücre yoğunluğu, vasküler proliferasyon, fibroblastik proliferasyon ve fibrozis skoru yönünden yedinci gün değerlendirilen son 2 grup arasında istatistiki anlamlı farklılık gözlenmedi.

Sonuç olarak tam kat cilt kesisi oluşturulan ratlarda kullandığımız Chitosan Acetate

yara iyileşmesi üzerine tek başına histopatolojik değerlendirmeler göz önüne alındığında olumlu etkiyi göstermemiş olup gelecekte biyokimyasal değerlendirmelerle desteklenen histopatolojik incelemelerle daha kapsamlı olabilecek sonuçlara ulaşılabilir.

Anahtar kelimeler: Chitosan Acetate, yara iyileşmesi, travma

EFFECTS OF CHITOSAN ACETATE BANDAGE ON WOUND HEALING ON EXPERIMENTALLY CREATED FULL COAT SKIN WOUNDS ON RATS

SUMMARY

Wound is disintegrity of the tissue after trauma. Wound healing is a complex process which occurs in three stages. There are topical agents in usage to accelerate this continues process which is affected by inflammatory cells and secreted mediators. There are studies about the effects of the haemostatic agents on wound healing, recently.

In our study, which is planned in our department and carried out in Trakya University Experimental Animal Studies Laboratory, we aimed to investigate the effects of Chitosan Acetate Bandage on wound healing which hasn't been study thruly before.

Four separate study groups each of which included eight rats were formed. In the first group wound care were performed with normal saline and biopsies were performed on the third day. In the second group wound care were performed with Chitosan Acetate Bandage and biopsies were performed on the third day. In the third group wound care were performed with normal saline and biopsies were performed on the seventh day. In the fourth group wound care were performed with Chitosan Acetate Bandage and biopsies were performed on the seventh day.

Biopsy materials were examined histologically by total inflamatuar cell score, intensity of polimorphonuclear leukocytes and mononuclear inflamatory cells, vascular proliferation, fibroblastic proliferation and fibrosis score.

On the 3rd day first two groups were evaluated regarding the total inflammatory cell score and the intensity of the polimorphonuclear leukocytes and no statistically significant

difference was found. Likewise on the 7th day, the reminding two groups were evaluated regarding the mononuclear inflammatory cell intensity, vascular and fibrotic proliferation and the fibrosis score and no statistically significant difference was found either.

Although the Chitosan Acetate we have used on the wounds was found to have no positive effects in the histopathological evaluations, we believe that further studies combining the histopathological and biochemical evaluation methods are needed to determine better.

Key words: Chitosan Acetate, wound healing, trauma

KAYNAKLAR

1. Demirçay Z, Gün D. Diabetik bir hastada topikal GM-CSF'in yara tedavisinde kullanımı. *Turkderm* 2003;37(1):49-51.
2. Mustoe TA, O'Shaughnessy K, Loeters O. Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7 Suppl):35-41.
3. Güngör M. Ratlarda Vişne (*Prunus cerasus*) Çekirdeği Yağı, Çörek Otu (*Nigella sativa*) Yağı ve Toros Göknaarı (*abies cilicica carr.*) Reçinesinin Yara İyileşmesine Etkileri (tez). Kahramanmaraş: Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2013.
4. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Sur Clin North Am* 1997;77(3):509-28.
5. Yılmaz OE. Rat İskemik Yara Modelinde L-Arginin Tedavisinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi (tez). Ankara: Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
6. Mitchell R, Abbas AK, Kumar V, Fausto N. Cutaneous wound healing. In Kumar V, Abbas AK, Fausto N (Eds.). *Robbins Basic Pathology*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2007. p.72-8.
7. Nursal TZ, Baykal A, Hamaloğlu E. Yaşlılarda yara iyileşmesi: fark var mı? *Turk J Geriatr* 1999;2(1):29-32.
8. Gürdal M, Kireççi S, Pirinççi N, Sakız D, Karaman Mİ. Graft ve flep tedavisinde doğal balın yara iyileşmesindeki etkisi. *Turkish J Urology* 2003;29(3):245-9.
9. Kurt Özkaya N. Topikal Olarak Uygulanan Nitrofurazon Ve Rifampisin'in Kısmi Kalınlıkta Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri (tez). Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2013.
10. Yasuda K, Histochemical staining of hyaluronic acid with chitosan. *Okajimas Folia Anat Jpn* 1953;25(2):55-60.

11. Demir A, Seventekin N. Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları. *TTED* 2009;3(2):92-103.
12. Duman SS, Şenel S. Kitosan ve veteriner alandaki uygulamaları. *Veteriner Cerrahi Dergisi* 2004;10(3-4):62-72.
13. Guang WY. The Effect of Chitosan and Its Derivatives on the Dyeability of Silk. (Ph.D. Thesis). Hong Kong: Polytechnic University; 2002.
14. El-Tahlawy KF, El-Bendary MA, Elhendawy AG, Hudson SM. The antimicrobial activity of cotton fabrics treated with different crosslinking agents and chitosan. *Carbohydrate Polymers* 2005;60:421-30.
15. Montazer M, Afjeh G. Simultaneous x-linking and antimicrobial finishing of cotton fabric. *J Appl Polym Sci* 2007;103:178-85.
16. Berger J, Reist M, Mayer JM, Fel O, Peppas NA, Gurny R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm* 2004;57:19-34.
17. Junquiera LC, Carneiro J. Deri. Aytekin Y, Solakoğlu S (Editörler). *Temel Histoloji'de. Nobel Tıp Kitap Evleri*;2006. s.369-81.
18. Arslan A, Diyabetik Sıçanlarda Karnitinin Yara İyileşmesi Ve Flep Yaşayabilirliğine Etkisi: Deneysel Çalışma (tez). Zonguldak: Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
19. Sezgin S. Hemostatik Ajan Ankaferd'in Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri (tez). Malatya: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
20. Canda Ş, Canda T. *Patolojiye Giriş*. 3. Basım. Ankara: Hatiboğlu Yayınları. 1989.
21. Ross MH, Pawlina W. Integumentary system. In *Histology: A Text and Atlas*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2010. s.472-506.
22. Uzluk FN. *Genel Tıp Tarihi*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. Ankara: Güzel İstanbul Matbaası; 1958.
23. Mitchell RN, Cotran RS. Onarım: Hücre rejenerasyonu, Fibrozis ve yara iyileşmesi. (Çeviri: Özoran Y.) Çevikbaş U (Editör). *Temel Patoloji'de* 6. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. s.48-56.
24. Arslan MK, Yara iyileşmesi ve iyileşmeyi engelleyen faktörler. Kurt N (Editör). *Akut ve kronik yara bakımı'nda*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003. s.9-34.
25. Shai A, Maibach HI. *Wound healing and ulcers of the skin: diagnosis and therapy-the practical approach*. Berlin: Springer-Verlag; 2005. p.7-35.
26. Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing-exploring medicinal plants of India. *J Ethnopharmacol* 2007;114(2):103-13.

27. Ak Bozkırlı FB. Rat İskemik Yara Modelinde Topikal Clinoptilolite Zeolit Kullanımının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
28. Gurtner GC. Wound healing: normal and abnormal. In Thorne CH, Beasley RW, Aston SI, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL (Eds). *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams; 2007. p.15-22.
29. Avcı O, Basınç ülserleri. Tüzün Y, Kotoğyan A, Serdaroğlu S, Çokuğraş H, Tüzün B, Mat MC (Editörler). *Pediyatrik Dermatoloji'de İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri*; 2005. s.696-700.
30. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg* 2004;187(Suppl):11-6.
31. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing: an overview. *Clin Plast Surg* 2003;30(1):1-12.
32. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg* 2001;38:72-140.
33. Gokdemir MT, Kaya H, Sogut O, Demir T, Kocaslan S, Cevik M. Efficacy of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper on full-thickness skin wound healing. *HealthMED* 2013;7(4):1347-53.
34. Sunderkötter C, Steinbrink K, Goebeler M, Bhardwaj R, Sorg C. Macrophages and angiogenesis. *J Leukoc Biol* 1994;55(3):410-22.
35. Williamson D, Harding K. Wound healing. *Medicine* 2004;32(12):4-7.
36. Kirsner RS, Wound healing. In Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP (Eds.). *Dermatology*. Edinburgh: Mosby; 2003. p.2205-2218.
37. Medina A, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE. Pathophysiology of chronic nonhealing wounds. *J Burn Care Rehabil* 2005;26:306-19.
38. Galiano RD, Mustoe TA. Wound care. In Grabb and Smith's Plastic Surgery. Thorne CH, Beasley RW, Aston SI, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL (Eds.). 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams; 2007. p.23-32.
39. Ravi Kumar MNV, A review of chitin and chitosan applications. *React Funct Polym* 2000;46:1-27.
40. Tran DL, Pham GD, Nguyen XP, Vu DH, Nguyen NT, Tran VH, et al. Some biomedical applications of chitosan-based hybrid nanomaterials. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol* 2011;2:1-6.
41. Labrude P, Becq C. Pharmacist and chemist Henri Braconnot. *Rev Hist Pharm* 2003;51(337):61-78.

42. Usami Y, Okamoto Y, Takayama T, Shigemasa Y, Minami, S. Chitin and chitosan stimulate canine polymorphonuclear cells to release leukotriene B4 and prostaglandin E2. *J Biomed Mat Res* 1998;42:517-22.
43. Andres Y, Giraud L, Gerente C, Le Cloirec P. Antibacterial effects of chitosan powder: mechanisms of action. *Environ Technol* 2007;28(12):1357-63.
44. No HK, Park NY, Lee SH, Meyers SP. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol* 2002;74:65-72.
45. Seyfarth F, Schliemann S, Elsner P, Hipler UC. Antifungal effect of high- and low-molecular-weight chitosan hydrochloride, carboxymethyl chitosan, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-D glucosamine against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Candida glabrata*. *Int J Pharm* 2008;353:139-48.
46. Dai T, Tanaka M, Huang Y, Hamblin MR. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011;9(7):857-79.
47. Burkatovskaya M, Tegos GP, Swietlik E, Demidova TN, Castano AP, Hamblin MR. Use of chitosan bandage to prevent fatal infections developing from highly contaminated wounds in mice. *Biomaterials* 2006;27(22):4157-64.
48. Aimin C, Chunlin H, Juliang B, Tinyin Z, Zhichao D. Antibiotic loaded chitosan bar. An in vitro, in vivo study of a possible treatment for osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1999;366:239-47.
49. Rossi S, Marciello M, Bonferoni MC, Ferrari F, Sandri G, Dacarro C, et al. Thermally sensitive gels based on chitosan derivatives for the treatment of oral mucositis. *Eur J Pharm Biopharm* 2010;74(2):248-54.
50. Okamura T, Masui T, St John MK, Cohen SM, Taylor RJ. Evaluation of effects of chitosan in preventing hemorrhagic cystitis in rats induced by cyclophosphamide. *Hinyokika Kyo* 1995;41(4):289-96.
51. Akincibay H, Senel S, Ay ZY. Application of chitosan gel in the treatment of chronic periodontitis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007;80(2):290-6.
52. Boynuegri D, Ozcan G, Senel S, Uç D, Uraz A, Oğuş E, et al. Clinical and radiographic evaluations of chitosan gel in periodontal intraosseous defects: a pilot study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;90(1):461-6.
53. Oshima Y, Nishino K, Yonekura Y, Kishimoto S, Wakabayashi S. Clinical application of chitin non-woven fabric as wound dressing. *Eur J Plast Surg* 1987;10:66-69.
54. Okamoto Y, Minami S, Matsushashi A, Sashiwa H, Saimoto H, Shigemasa Y, et al. Application of polymeric N-acetyl-D-glucosamine (chitin) to veterinary practice. *J Vet Med Sci* 1993;55:743-7.
55. Minami S, Okamoto Y, Tanioka S, Sashiwa H, Saimoto H, Matsushashi A, et al. Effects of chitosan on wound healing. In *Frontiers in biomedicine and biotechnology vol 1*. M. Yalpani (Ed.). Mount Prospect, ATL Press; 1993. p.141-52.

56. Arbel J, Rozenbaum E, Reges O, Neuman Y, Levi A, Erel J, et al. Usage of chitosan for Femoral (USF) haemostasis after percutaneous procedures: a comparative open label study. *EuroIntervention* 2011;6(9):1104-9.
57. Rall JM, Cox JM, Songer AG, Cestero RF, Ross JD. Comparison of novel hemostatic dressings with QuikClot combat gauze in a standardized swine model of uncontrolled hemorrhage. *J Trauma Acute Care Surg* 2013;75(2 Suppl 2):150-6.
58. Hing E, Hall MJ, Ashman JJ, Xu J. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 2007 outpatient department summary. *Natl Health Stat Report* 2010;(28):1-32.
59. Rabea EI, Badawy ME, Stevens CV, Smagghe G, Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules* 2003;4:1457-65.
60. Alemdaroglu C, Degim Z, Celebi N, Zor F, Ozturk S, Erdogan D. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns* 2006;32:319-27.
61. Ishihara M, Obara K, Ishizuka T, Fujita M, Sato M, Masuoka K, et al. Controlled release of fibroblast growth factors and heparin from photocrosslinked chitosan hydrogels and subsequent effect on in vivo vascularization. *J Biomed Mater Res A* 2003;64:551-9.
62. Burkatovskaya M, Castano AP, Demidova Rice TN, Tegos GP, Hamblin MR. Effect of chitosan acetate bandage on wound healing in infected and noninfected wounds in mice. *Wound Repair Regen.* 2008;16(3):425-31.
63. Okamoto Y, Yano R, Miyatake K, Tomohiro I, Shigemasa Y, Minami S. Effects of chitin and chitosan on blood coagulation. *Carbonhyd. Polym* 2003;53:337-42.
64. Kaya E. Yara iyileşmesi. Ertekin C, Taviloğlu K, Güloğlu R, Kurtoğlu M (Editörler). *Travma'da*. İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2005. s.488-502.
65. Barbul A. Yara iyileşmesi. Geçim İE, Demirkan A (Editörler). *Schwartz's Cerrahinin İlkeleri'nde*. 8. baskı. Ankara 2008.s:231-56.
66. Ueno H, Mori T, Fujinaga T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;52(2):105-15.
67. Usami Y, Okamoto Y, Minami S, Matsushashi A, Kumazawa NH, Tanioka S, et al. Migration of canine neutrophils to chitin and chitosan. *J Vet Med Sci* 1994;56:1215-6.
68. Usami Y, Okamoto Y, Minami S, Matsushashi A, Kumazawa NH, Tanioka S, et al. Chitin and chitosan induce migration of bovine polymorphonuclear cells. *J Vet Med Sci* 1994;56:761-2.
69. Soares R, Azevedo I. Inhibition of S1P by polyphenols prevents inflammation and angiogenesis: NFkappaB, a downstream effector? *Free Radic Biol Med* 2007;42:311.
70. Schlesinger PH, Rodman JS, Doebber TW, Stahl PD, Lee YC, Stowell CP, et al. The role of extra-hepatic tissues in the receptor-mediated plasma clearance of glycoproteins terminated by mannose or N-acetylglucosamine. *Biochem J* 1980;192:597-606.

71. Warr GA, A macrophage receptor for (mannose/glucosamine)-glycoproteins of potential importance in phagocytic activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1980;93:737-45.
72. Shepherd VL, Campbell EJ, Senior RM, Stahl PD. Characterization of the mannose/fucose receptor on human mononuclear phagocytes. *J Reticuloendothel Soc* 1982;32:423-31.
73. Peluso G, Petillo O, Ranieri M, Santin M, Ambrosio L, Calabro D, et al. Chitosan-mediated stimulation of macrophage function. *Biomaterials* 1994;15:1215-20.
74. Ueno H, Ohya T, Ito H, Kobayashi Y, Yamada K, Sato M. Chitosan application to X-ray irradiated wound in dogs. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007;60:304-10.
75. Mori T, Okumura M, Matsuura M, Ueno K, Tokura S, Okamoto Y, et al. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro. *Biomaterials* 1997;18:947-51.
76. Hamilton V, Yuan Y, Rigney DA, Puckett AD, Ong JL, Yang Y, et al. Characterization of chitosan films and effects on fibroblast cell attachment and proliferation. *J Mater Sci Mater Med* 2006;17:1373-81.
77. Kojima K, Okamoto Y, Kojima K, Miyatake K, Fujise H, Shigemasa Y, et al. Effects of chitin and chitosan on collagen synthesis in wound healing. *J Vet Med Sci* 2004;66:1595-8.
78. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. III. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *Am J Surg* 1980;139:398-405.
79. Gökpınar İ, Gürleyik E, Pehlivan M, Özcan Ö, Özaydın İ, Aslaner A, ve ark. Erken enteral ve glutaminli enteral beslenmenin kolon anastomoz iyileşmesine etkisi: deneysel çalışma. *Ulus Travma Derg* 2006;12(1):17-21.

EKLER

Ek 1

T.C.

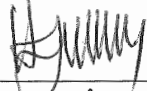
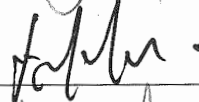
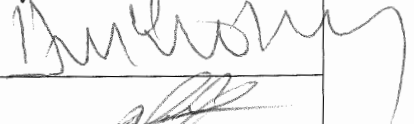

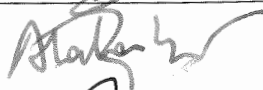
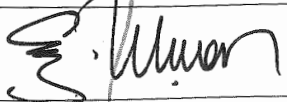
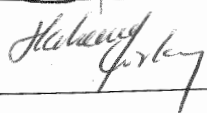
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 09
KARAR NO: 2012.09.02

Karar Tarihi: 07.12.2012

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Burak Sayhan'ın yaptığı Araş.Gör. Dr. Eren Sert'in Tıpta Uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYK-2012/84 protokol nolu "Tam Kat Cilt Kesisi Oluşturulan Ratlarda Chitosan Acetate'in Erken Yara İyileşmesi Üzerinde Etkisi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	