

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

SIÇANLARDA YARA İYİLİŞMESİ ÜZERİNE
MMP-1'İN ETKİLERİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. Elif Seda KESKİN

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL

Nisan, 2017

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

SIÇANLARDA YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
MMP-1'İN ETKİLERİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. Elif Seda KESKİN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Muhammed Beşir ÖZTÜRK

İSTANBUL
Nisan, 2017

Yazar Bildirimi

“SIÇANLARDA YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE MMP-1’İN ETKİLERİ (DENEYSEL ÇALIŞMA)" isimli uzmanlık tezinde Dr. Elif Seda KESKİN

- Bu tezin kabulünden önce nerede ve ne kadarının yayınlandığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiş tir.
- Tezin hazırlanmasında katkısı olanları “Bilgilendirme” bölümünde eksik- siz olarak belirtmiştir.
- Bu tez ile ilgili çıkar çatışması olup olmadığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtilmiştir.
- Tez içerisinde başkalarının yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalarından yapılan alıntılar için gerekli kaynakları açıkça belirtmiştir.
- Tez içerisinde bas, ka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisinde alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır.

Nisan, 2017

Dr. Elif Seda KESKİN

İmza: _____

Bilgilendirme

- ✓ Bu tezin kabulünden önce hiçbir yerde yayınlanmamıştır.
- ✓ Tezin hazırlanmasında katkısı olanlar yazar *Dr. Elif Seda KESKİN* ve tez danışmanı Yrd. Doç. Dr. Muhammed Beşir ÖZTÜRK'dür.
- ✓ Bu tez ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Dr. Elif Seda KESKİN



Teşekkür

Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bize yol gösteren, eğitim ve yetişmemde büyük emeği olan Prof. Dr. Bekir ATİK'e, tezimi hazırlamamda bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Muhammed Beşir Öztürk'e ve eğitimim boyunca kendilerinden çok şey öğrendiğim bütün uzmanlarım ve eğitim görevlilerime, Doç. Dr. Ebru İtir'a, ayrıca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme ve asistan arkadaşlarıma, yoğun tez ve uzmanlık döneminde bana her zaman yardımcı olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eşim Op. Dr. Ekrem Keskin'e çok teşekkür ederim.

Dr. Elif Seda KESKİN

elifsedatamses@gmail.com

Özet

SIÇANLARDA YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE MMP-1'İN ETKİLERİ

(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Amaç: Skarlı yara iyileşmesi insanlar tarafından istenmeyen ve her zaman bir çözüm yolu aranan bir durumdur. Günümüzde ilerleyen teknoloji ve tıp bilimine rağmen, halen skarsız yara iyileşmesi başılamamıştır. Bu konuda fetal yara iyileşmesi üzerine birçok çalışma yapılmışsa da herhangi bir sonuç alınamamıştır. Literatürde, omurgalı bir canlı türü olan axolotllarda da rejenerasyon ve skarsız yara iyileşmesine rastlanılmıştır. Axolotl ve insan yara iyileşme süreçleri kıyaslandığında axolotl yara iyileşme sürecinin birinci gününden itibaren yara yerinde görülen MMP 1 enziminin, insan yara iyileşmesinde yara yerinde ancak 1 hafta sonra ortaya çıkması dikkat çeken farklılıklardandır. (1)MMP 1 enziminin üyesi olduğu kollejenazlar, epitelizasyondaki rolleri sebebiyle de yara iyileşmesinde önemli yer tutmaktadırlar. (2)Matrix metalloproteinaz 1'in yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri literatürdeki bazı çalışmalar ile gösterilmiştir. Ancak bu çalışmaların çoğu MMP 1 enziminin sistemik uygulanması ile yapılmıştır ve yine birçoğu epitelizasyon ile ilişkilidir. Literatürde MMP 1 enziminin intralezyonel lokal olarak uygulandıklarında, skar formasyonu ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bizde çalışmamızda MMP-1 enziminin intralezyonel olarak uygulanmasının skar formasyonu ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık.

Yöntem: Çalışmada herbir grupta 8 sıçan bulunan 5 grup oluşturuldu. Bu gruplar 3 kontrol ve 2 deney grubu olarak ayrıldı. Kontrol 1 grubunda yara iyileşmesi spontan olarak iyileşmeye bırakılırken, kontrol 2 grubuna intralezyonel serum fizyolojik, kontrol 3 grubuna sistemik serum fizyolojik uygulandı. Deney 1 grubuna ilk 7 gün boyunca intralezyonel MMP 1, deney 2 grubunaysa yine ilk 7 gün boyunca sistemik MMP 1 enzimi verildi. Oluşturulan tüm yaralar pansuman uygulanmadan takip edildi. Yara iyileşmesinin 4.,7.,14. ve 21. günlerinde her sıçandan biyopsiler alındı. Örnek kesitlere, dokunun krut şiddeti, lenfositik yanıt, vasküler

proliferasyon, fibroblast proliferasyonu, epitel hiperplazisi, yabancı cisim reaksiyonu, ülser oluşumu, akut inflamasyon, keloid skar oluşumu, hipertrofik skar oluşumu olmak üzere toplamda 10 adet histopatolojik parametreyi değerlendirmek amacıyla, hemotoksilen -eosin(H+E) boyası uygulandı. Bu piyesler, sadece biyopsilerin alındığı gün hakkında bilgisi olan patolojla birlikte değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmeler sonucunda elde edilen parametreler Likelihood- ratio testi ve Friedman testleri kullanılarak istatistiksel olarak ölçümlendirildi ve anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmadaki tüm gruplardan (deney grupları 1, 2 ve kontrol grupları 1,2,3); 4.,7.,14. ve 21. günlerde alınan biyopsi örnekleri; dokunun krut şiddeti, lenfositik yanıt, vasküler proliferasyon, fibroblast proliferasyonu, epitel hiperplazisi, yabancı cisim reaksiyonu, ülser oluşumu, akut inflamasyon, keloid skar oluşumu, hipertrofik skar oluşumu olmak üzere toplamda 10 adet histopatolojik parametre kullanılarak istatistiksel olarak birbirleriyle karşılaştırıldı. Çalışmamızda hipertrofik skarın; intralezyonel MMP-1 enzimi uygulanan deney 1 grubunda her 3 kontrol gruplarıyla kıyaslandığında anlamlı olarak azalmış olduğunu gördük. ($p: 0,007$) Fisher testiyle hesaplanan rölatif risk: 0,25 bulundu. İstatistiksel analize göre 3 kontrol grubunda bulunan tüm deneklerde, intralezyonel MMP-1 uygulanan deney grubu 1'deki deneklere göre 4 kat fazla skar gelişimi gözlemlendi. Ayrıca yine gruplar arası yapılan karşılaştırma sonucunda deney grubu 1 ve 2 de, kontrol grubu 1,2 ve 3 e göre vasküler proliferasyonun daha yoğun oluşmaya başladığı gözlemlendi. 4. günde kontrol gruplarındaki fibroblast proliferasyonu deney grubu 1 ve 2 de görülen fibroblast proliferasyona kıyasla anlamlı derecede şiddetli bulundu. Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney grupları, lenfosit infiltrasyonu açısından karşılaştırıldıklarında 4. günde istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi. Lenfositik yönelimin, yara yerinde 4. günde deney gruplarının kontrol grubu 1 ve 2 ye kıyasla anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi. 4., 7., 14. ve 21. günlerde tüm gruplar birbirleriyle kıyaslandığında dokunun krut şiddeti,, epitel hiperplazisi, yabancı cisim reaksiyonu, ülser oluşumu, akut inflamasyon ve keloid skar oluşumunda anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

Sonuç: Çalışmamızda yara iyileşmesinin ilk 7 gününde, intralezyonel MMP 1 enzimi uygulanmasıyla,yara yerinde fibroblast proliferasyonunda, lenfositik yönelimde ve skar formasyonunda belirgin azalma,aynı zamanda vasküler proliferasyonda belirgin artış saptanmıştır. Bu da bize MMP 1 enziminin ileride yapılacak ek çalışmalarla, antiskatrizan bir ajan olarak yada dolaşım bozukluğu mevcut yaralarda yara iyileşmesini hızlandırıcı bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürdü. Bu anlamda bir ilk olması nedeniyle çalışmamızın moleküler düzeyde yapılacak çalışmalara altyapı oluşturacak bulguları içerdiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Matriksmetallopeptidaz 1 enzimi, skar, yara iyileşmesi, histopatolojik inceleme

Abstract

EFFECTS OF MMP-1 ON WOUND HEALING IN RATS (EXPERIMENTAL STUDY)

Objective: Scarred wound healing is a situation, undesirable by people and always a solution is sought for. Despite advancing technology and medical science at the present time, scarless wound healing couldn't still be achieved. Regarding this subject; although many studies have been conducted on fetal wound healing, no results have been obtained. It is found when the literature is scanned that in addition to fetus, scarless wound healing is also observed in a species called as axolotl. When axolotl and human wound healing processes are compared with each other, it is striking that MMP 1 enzyme, which is observed as of the first day of the axolotl wound healing period, appears only after 1 week as of human wound healing. (1).

Collagenases, which are members of the MMP 1 enzyme, have an important place in wound healing due to their role in epithelization. The positive effects of matrix metalloproteinase 1 on wound healing were demonstrated by some studies in the literature. However, most of these studies were done with systemic application. As far as we investigated in the literature, there is no study analysing the effects of f MMP 1 enzyme on scar formation and wound healing when locally applied as intralesional. We investigated the effects of intralesional application of MMP-1 on scar formation and wound healing in our study.

Method: 5 groups were created with 8 rats in each group in the study. These groups were divided into 3 control groups and 2 experimental groups. As well as wound healing was allowed to heal spontaneously in control group 1; intralesional normal saline was applied to control group 2, systemic normal saline was applied to control group 3. The experimental group 1 was given intralesional MMP 1 for the first 7 days and group 2 was given systemic MMP 1 for the first 7 days. All created wounds were followed up without dressing. The biopsy were conducted on each rat in 4 th,7th,14th ve 21st days of wound healing. Hematoxylin eosin (H + E) stai

ning was applied to the sample sections in order to evaluate 10 histopathological parameters in total, including crust severity of tissue, lymphocytic response, vascular proliferation, fibro-blast proliferation, epithelium hyperplasia, foreign body reaction, ulcer formation, acute inflammation, keloid scar formation, hypertrophic scar formation. These pieces were solely evaluated with the pathologist who had information about the day the biopsy had been conducted. The parameters, obtained as a result of histopathologic evaluations, were statistically measured using Likelihood-ratio and Friedman tests, and the significance was evaluated at the level of $p < 0.05$.

Findings: The biopsy samples, conducted on all groups in the study (experimental groups 1, 2 and control groups 1, 2, 3) in 4 th,7th,14th ve 21st days, were statistically compared with each other using 10 histopathological parameters in total, including crust severity of tissue, lymphocytic response, vascular proliferation, fibro-blast proliferation, epithelium hyperplasia, foreign body reaction, ulcer formation, acute inflammation, keloid scar formation, hypertrophic scar formation. We observed in the comparisons made that MMP-1 enzyme, which we used in the local application to open wound, significantly reduces hypertrophic scar formation. We observed in our study that hypertrophic scar significantly decreased in the experimental groups 1, where intralesional MMP-1 enzyme was applied, in comparison to each of 3 control groups ($p: 0,007$). The relative risk was calculated as 0.25 by Fisher test. Based on the statistical analysis results, we found that scar development in all the subjects in 3 control groups was 4 times more than those in the experimental group 1 where intralesional MMP-1 enzyme was applied. Also, as a result of comparison between the groups, it was found that vascular proliferation started to become more intense in experimental groups 1 and 2, compared to control groups 1, 2 and 3. But, when all groups were compared with each other again in 4 th,7th,14th ve 21st days; any significant difference wasn't observed in terms of crust severity of tissue, lymphocytic response, fibro-blast proliferation, epithelium hyperplasia, foreign body reaction, ulcer formation, acute inflammation, keloid scar formation.

Conclusion: In the study, a significant decrease in scar formation and an increase in vascular prolifera with intralesional MMP 1 enzyme application, in the first 7 days from wound healing, made us think that MMP 1 can be used as an anticicatrizan agent, or an accelerator agent for the healing of the wounds with circulatory impairment, with additional studies to be conducted in the future. We think that our study includes findings that will constitute the infrastructure for the studies to be conducted at the molecular level, due to being first in this sense.

Key words: Matrix metalloproteinase 1 enzyme, scar, wound healing, histopathological evaluation.



İçindekiler

Şekil Listesi	xii
Tablo Listesi	xiii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. YARA İYİLEŞMESİ	3
2.1.1. Yara Terminolojisi	3
2.1.2. Yara İyileşmesi Tipleri	4
2.1.3. Yara İyileşmesi Evreleri	6
2.1.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	18
2.1.5. Fetal hayatta yara iyileşmesi	21
2.1.6. Yara İyileşme Bozuklukları	22
2.1.7. Deride Yara İyileşmesini Değerlendirmede Hayvan Modeli	24
2.2. MATRİKS PROTEİNLERİ, METALLOPROTEİNAZLAR VE İNHİBİTÖRLERİ	28
2.2.1. Matriks Metalloproteinazların Genel Özellikleri	29
2.2.2. Matriks Metalloproteinazların Fizyolojik Fonksiyonları	31
2.2.3. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması	32
2.2.4. MMP Enzim Aktivitesinin İnhibisyonu	32
GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. ARAŞTIRMA TİPİ, YERİ VE ORTAMI	35
3.2. ANESTEZİ VE CERRAHİ ÖNCESİ HAZIRLIK	35
3.3. YARA MODELLERİ	36
3.4. MMP 1'İN İNTRALEZYONEL VE SİSTEMİK UYGULANMASI	37
3.5. DENEY GRUPLARI	38
3.6. SAKRİFİKASYON YÖNTEMİ VE ÖRNEKLERİN TOPLANMASI	39
3.7. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER	40
3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	40

BULGULAR	42
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	42
4.1.1. Krut Şiddetinin Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	42
4.1.2. Epitel Hiperplazisinin Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	43
4.1.3. Vasküler Proliferasyonun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	44
4.1.4. Lenfosit Yöneliminin Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	48
4.1.5. Yabancı Cisim Reaksiyonunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	50
4.1.6. Fibroblast Proliferasyonunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	50
4.1.7. Ülser Varlığının Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	51
4.1.8. Akut İnflamasyonun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	52
4.1.9. Keloid Formasyonunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	52
4.1.10. Hipertrofik Skar Oluşumunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi	53
TARTIŞMA ve SONUÇ	58
5.1. TARTIŞMA	58
5.2. TEZİN KISITLILIKLARI	64
5.3. SONUÇ	65
Kaynaklar	66
Etik Kurul Onay Formu	82
Tez Değerlendirme Formu	84

Şekil Listesi

2.1:	Yara iyileşme tipleri	6
2.2:	Yara iyileşmesinin üç aşaması (inflamatuar, proliferatif, remodelling) ve bu aşamalarda aktif rol alan hücreler karakteristik hücreler	7
2.3:	Yara iyileşmesi aşamalarında deri morfolojisi a) yaralanma ve hemostas, b) inflamasyon, c) proliferasyon, d) remodeling	11
2.4:	Proliferasyon dönemi	15
3.1:	Deneklerin cerrahi işlem öncesi hazırlanması	36
3.2:	Deneklerde 4 mm lik punch biyopsi ile açık yara oluşturulması	36
3.3:	Denekte oluşturulan açık yara yerlerinin görünümü	37
3.4:	Açık yaraya MMP 1 enzim enjeksiyonu	38
4.1:	Deneklerin 7. Gün ve 21. Gün Fotoğrafları	56
4.2:	Grup 1 den alınan biyopsilerin 4. (sol) ve 7. (sağ) gün histopatolojik Ogörünümleri.....	56
4.3:	Grup 1'den alınan biyopsilerin 14. (sol) ve 21. (sağ) gün histopatolojik görünümleri.....	57
4.4:	Grup 4'ten alınan biyopsilerin 4. (sol) ve 7. (sağ) gün histopatolojik görünümleri.....	57
4.5:	Grup 4'ten alınan biyopsilerin 14. (sol) ve 21. (sağ) gün histopatolojik görünümleri.....	57

Tablo Listesi

2.1:	Yara iyileşmesinde sitokinler	14
2.2:	Epitelizasyonda etkili matriks proteinleri.....	22
2.3:	MMP ların Sınıflandırılması	32
4.1:	14. Günde, gruplar arası epitel hiperplazisi gösterilmektedir	43
4.2:	21. günde, gruplar arası epitel hiperplazisi gösterilmektedir	44
4.3:	4. günde, gruplar arası vasküler proliferasyon gösterilmektedir	45
4.4:	14. günde, gruplar arası vasküler proliferasyon gösterilmektedir. ...	46
4.5:	21. günde, gruplar arası vasküler proliferasyon gösterilmektedir. ...	47
4.6:	4. günde, gruplar arası lenfosit yönelimi gösterilmektedir.	48
4.7:	14. günde, gruplar arası lenfosit yönelimi gösterilmektedir	49
4.8:	21. gündeki gruplar arası lenfosit infiltrasyonu arası farklar gösterilmektedir	50
4.9:	4. gündeki gruplar arası fibroblast proliferasyonu farkları gösterilmektedir	51
4.10:	Gündeki gruplar arası akut inflamasyon farkları gösterilmektedir .	52
4.11:	Gündeki gruplar arası hipertrofik skar oluşumu farkları gösterilmektedir	53
4.12:	Gündeki gruplar arası hipertrofik skar oluşumu farkları gösterilmektedir	54
4.13:	Gündeki gruplar arası hipertrofik skar oluşumu farkları gösterilmektedir	55

Kısaltmalar

MMP	Matriks metalloproteinaz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ECM	Ekstrasellüler matriks
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
TAT	Tamamlayıcı ve alternatif tıp
MDA	Malonil dialdehid
SOD	Süper oksid dismutaz
MPO	Miyeloperoksidaz
H&E	Hematoksilen –Eozin
ROS	Reaktif oksijen türleri
TIMP	Doku Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri
U. S. FDA.....	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
ECM	Ekstrasellüler Matriks

GİRİŞ ve AMAÇ

Cildin skarlarla iyileşmesi medikal bir problem olup fonksiyon kaybı, estetik sorunlar, dokuların büyümesinde kısıtlılık ve psikolojik sorunlara neden olabilir. (3) Bir hasar sonrasında skar oluşması ve derinin tamamlanmamış rejenerasyonu yara iyileşmesinin normal seyri olsa da özellikle çocukluk çağında oluşan yaralar, ya da yüz gibi dikkat çeken yerlerde olan yaralar çok ciddi psikolojik sorunlarla sonuçlanabilir. Ayrıca, normal yara iyileşme seyrinin aşırı devam etmesi sonucunda keloid, hipertrofik skar gibi patolojik skarların oluşmasına bağlı olarak ağrı, kaşınma gibi belirtilere rastlanılabilir. (4) Bir yaranın skar ile iyileşmesi yalnızca deride sorunlara neden olmamaktadır. Gastrointestinal ve genitoüriner sistemde darlıklara ve yapışıklıklara neden olarak infertilite, barsak obstrüksiyonu gibi sorunlar ortaya çıkabilir, tendon ve ligamanlardaki yaralanma sonucunda hareket ve güç kısıtlılığı olabilir. Bu nedenle bir yaranın skarsız iyileşme olasılığının varlığı tüm tıp dallarının ilgi odağı olmuştur.

Skar oluşumunun klinik açıdan oluşturduğu sorunlardan başka, hipertrofik skar ile iyileşme yarada skar gelişiminin araştırılması için de ilgi çekici bir durumdur. Aynı cerrahlarca gerçekleştirilen ve onarılan birçok cerrahi yara normal olarak iyileşir iken, bazı olgularda ise skar fazlası ile hipertrofiye olmaktadır.

Bir yaranın skarsız iyileşebileceğini öğrenmek özellikle cerrahlar başta olmak üzere tüm tıp dallarının dikkatini çekmektedir. Bir yaranın skarsız iyileşebileceği ilk defa 1979'da fetus cilt yaralarının skarsız iyileştiğinin gösterilmesiyle anlaşılmıştır. (4) Bu tarihten itibaren fetal yara iyileşmesi ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Farklı hipotezler öne sürülmesine ve bu konu üzerine birçok çalışmalar yapılmasına karşın bir yaranın skarsız

iyileşmesini tetikleyen veya gerçekleştiren ana unsurların neler olduğu net olarak ortaya konamamıştır.

Fetüsün yanı sıra son zamanlarda Meksika'da bir gölde yaşayan axolotl adı verilen bir omurgalı üzerinde de skarsız yara iyileşmesi hakkında araştırmalar başlamıştır. Axolotllar skarsız

yara iyileşmelerine ek olarak benzersiz rejenerasyon yeteneği ile de araştırmalara sıkça konu olmaktadır. Axolotlların yara iyileşmesinde, inflamasyon fazında, yetişkin yara iyileşmesi inflamasyon fazına göre çok daha az makrofaj ve nötrofil olduğu görülmüştür. (5)Axolotllarda yine yetişkin yara iyileşmesinden farklı olarak ilk 24 saatte MMP 1 enzimi yara yerinde belirlemektedir. Erişkin yara iyileşmesinde ise MMP 1 enziminin yara yerinde belirmesi 1. haftanın sonlarına doğru olmaktadır. Ayrıca axolotllarda 24. Saatte tüm açık yarada epitelizasyon tamamlanmakta hemen ardından rejenerasyon başlamaktadır. (6)Bu da bize ilk 24 saatteki epitelizasyon tamamlanmasının MMP 1 enzim aktivitesiyle bağlantılı olabileceğini ve dolayısıyla skarsız yara iyileşmesinde de MMP 1 enziminin rolü olabileceğini düşündürmüştür. (7)

Literatürde, MMP lar, doku yeniden yapılanması, tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde rol aldıklarından (8) (9) (10) (11) (12) (13) ağırlıklı olarak onkojenik araştırmalara konu olmuş olsalar da, epitel proliferasyonu ve yara iyileşmesi konusunda da, MMP 1 enzimi ile yapılmış çalışmalar mevcuttur. Oluşturulan çeşitli hayvan denek modellerinde MMP 1 geni üzerinden, yara iyileşmesini ve epitelizasyonu hızlandırma veya yavaşlatmaya yönelik deneysel çalışmalar yapılmıştır. Ancak bunların çoğu deneklere dışarıdan etkiyle MMP 1 enziminin gen ekspresyon aktivasyonu sağlanmış veya deneklerin gen haritası değiştirilerek yapılan çalışmalardır. Ayrıca ağırlıklı olarak epitelizasyon faktörü üzerinde durulmuştur. İntralezyonel olarak MMP- 1 enziminin açık yara içine enjeksiyon sonrası yara iyileşmesi ve özellikle skar formasyonu üzerine olası etkilerini; histopatolojik açıdan değerlendiren herhangi bir çalışmaya yaptığımız literatür taramasında rastlamadık. Bu çalışmada MMP 1 enziminin, intralezyonel uygulanması ile, yara iyileşmesi ve skar formasyonu üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

2.1. YARA İYİLEŞMESİ

Travma, hastalık ya da cerrahi girişim gibi farklı nedenlerle vücut dokularının bütünlüğünün bozulması ya da bir kısmının kaybına 'yara' denir. Genellikle "normal deri bütünlüğünün ortadan kalkması" olarak tanımlanır. (14) (15)

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

2.1.1. Yara Terminolojisi

Akut Yaralar:

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

a.) Açık Yaralar

Açık yaralar; yaralanmaya neden olan objelere göre sınıflandırılır.

- İnsizyon: Keskin uçlu objeler tarafından oluşan genellikle temiz yaralardır.
- Laserasyon: Sert dokuların üstündeki yumuşak dokulara gelen keskin olmayan darbelerin neden olduğu derideki ya da mukozadaki düzgün olmayan yırtıklardır.
- Abrazyon: Pürüzlü bir yüzeyde düşme, kayma sonucu oluşan, epidermisin etkilendiği yüzeysel yaralardır.
- Delici Yaralar: İğne, çivi gibi objelerin batmasıyla oluşan yaralardır.
- Penetrasyon Yaraları (Kesici Yaralar): Bir bıçak benzeri objenin vücut bütünlüğünü bozması ile oluşan yaralardır.

- Ateşli Silah Yaraları: Bir ateşli silahtan çıkan objenin oluşturduğu yaralardır. Bazen giriş ve çıkış deliği vardır.

b.) Kapalı Yaralar

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

- Kontüzyon: Künt bir travma sonucu subkutan dokularda hasar gelişmesidir.
- Hematom: Subkutan dokularda damarlarda gelişen hasar sonucunda deri altında kan birikimidir.
- Ezilme: Dokulara ya çok büyük miktarda bir gücün kısa sürede, ya da daha az bir gücün uzun süre de uygulandığı durumlarda oluşur.

Kronik Yaralar:

Genelde üç ay içinde iyileşmeyen veya tekrarlayan yaralardır. Sıklıkla inflamatuvar aşamada uzama olur. Akut yaralarda, anabolik ve katabolik fazlarda tam bir denge varken kronik yaralarda, bu denge kaybolmuştur ve katabolizma ön plandadır. Kronik yaraların büyük bir kısmı ya tamamen iyileşmez veya iyileşme süreci yıllarca devam eder. Bu durum, hastalarda ciddi bir emosyonel ve fiziksel stres oluşturması yanında hastaya ve bağlı olduğu sağlık güvence sistemine yük oluşturur.

2.1.2. Yara İyileşmesi Tipleri

Doku yaralanması sonrası gelişen bir dizi olay, doku bütünlüğünü yeniden sağlamayı amaçlar.

Doku iyileşmesinde yara bölgesinde skar oluşumu ve belli derecede fonksiyon kaybı bulunur. Doku rejenerasyonunda ise; yaralanma öncesindeki dokuya yakın fonksiyon kaybı oluşmayan doku oluşur.

İdeal yara iyileşmesi bütünlüğünü kayıp etmiş dokunun normal anatomik fizyolojik ve histolojik yapısını tekrar kazanmasıdır.

Yara iyileşmesinin 3 tipi vardır:

- A) Primer iyileşme
- B) Sekonder iyileşme
- C) Tersiyer iyileşme

Primer iyileşme

Epitelial ve bağ doku kaybının az olduğu, epitelial bazal membranın düzgün zedelendiği ve yara kenarlarının cerrahi yöntemler kullanılarak (sütür, stapler veya vs) kapatılabildiği; esasına dayanan yara iyileşmesidir. (Şekil 5). (16)

İnsizyona komşu olan epidermin bazal tabakasında proliferen olan keratinositler; primer iyileşmede önemli rol oynar. (16) (17) Her iki yara kenarındaki epidermis saatler içinde kalınlaşır, kesi yerleri boyunca insizyon aralığının derinliğine doğru ilerler ve 48 saat sonunda fibrin tabakanın dış ortamla teması sonrasında dehidrate olarak gelişen yüzey kurutunun altında orta hatta birleşerek devamlı ancak ince bir tabaka oluşturur. Bu ince tabaka bakteriyel invazyon için bariyer sağlar.

3. günden itibaren makrofajların yara ortamında görülmesi ile kollajen sentezi başlar.

5. günde kollajen sentezi yoğunlaşır ve her iki yara marjini arasındaki kollajen liflerde köprüler oluşur. Epitelium tabakası matüre olur.

1. ayın sonunda üzeri sağlam epidermis ile kaplı, iltihap hücresi içermeyen, insizyon hattı boyunca deri eklerinin gözlemlenmediği skar doku meydana gelir.

Sekonder iyileşme

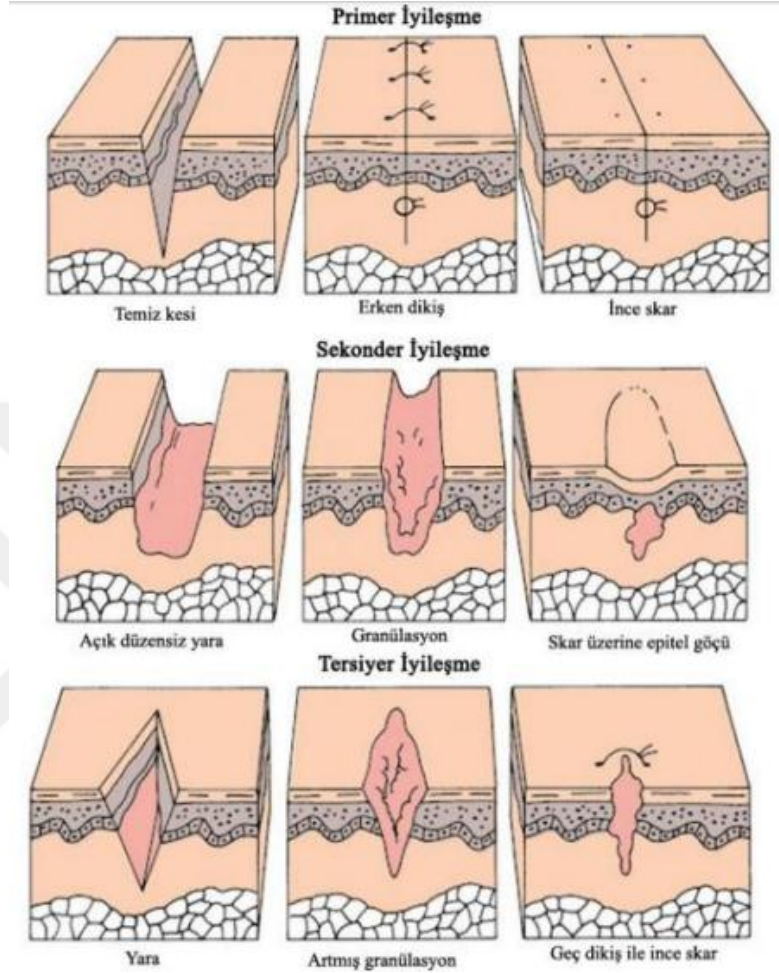
İnflamatuvar ülserasyon, abse oluşumu ve fazla miktarda doku kaybı varlığında sekonder iyileşme gerçekleşir. Sekonder iyileşme süreci daha karmaşık ve uzun sürelidir. Kontraksiyon ve yüzey epitelizasyonu temelinde yara iyileşmesi gerçekleşir.

Primer iyileşmeden farkı olarak ortamdan uzaklaştırılması gereken nekrotik doku ve eksuda varlığı nedeniyle inflamatuvar yanıt daha şiddetlidir, İnflamasyonun şiddetli olması, parankimal hücrelerde rejenerasyonun olmaması ve doku defekti nedeniyle granülasyon dokusu daha fazla miktardadır. (14)

Tersiyer iyileşme (Gecikmiş primer iyileşme)

Başlangıçta çok ileri derecede kontamine olduğundan primer kapatılamayan ancak 4-5 günlük açık bırakılmadan sonra iyi kanlanabilen

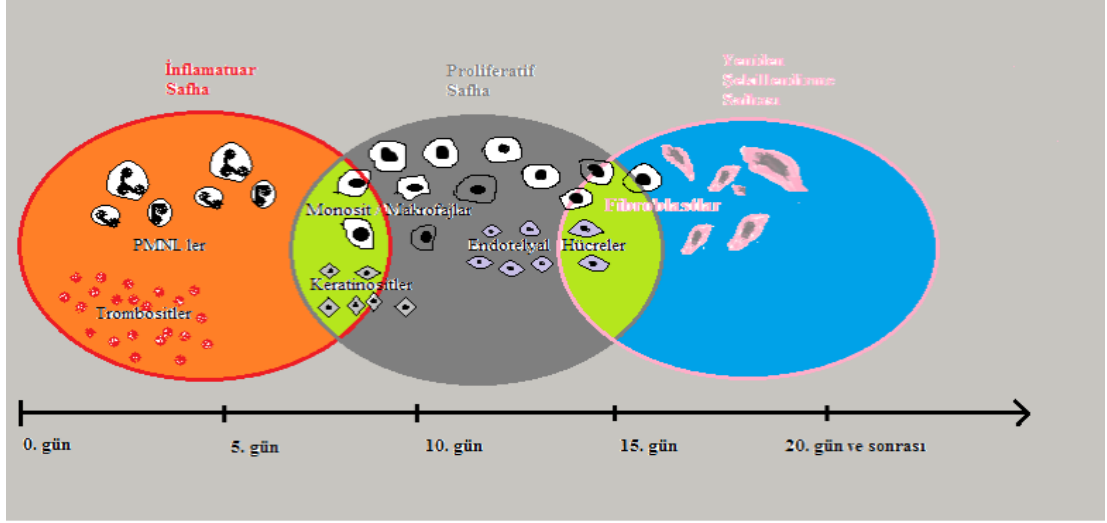
dokularda uygulanır. Bu yöntem, yara yatağındaki inflamatuvar süreç, bakteri konsantrasyonunu en aza indirmek için zaman tanır. Daha sonra genellikle primer kapama uygulanır. (16)



Şekil 2.1: Yara iyileşme tipleri (18)

2.1.3. Yara İyileşmesi Evreleri

Yara iyileşmesi karmaşık fakat sistematik bir olaydır. (19) Memelilerin deri dokularının bütünlüğünü bozan bir defekte verdikleri cevap 3 ayrı aşamada oluşur. Yaralanmayı takiben amacı devitalize dokuları uzaklaştırmak ve invaziv enfeksiyonun önüne geçmek olan inflamatuvar aşama başlangıçta yer alır. Bunun ardından, skar oluşumu ve doku rejenerasyonunun dengelenmesi sırasında ortaya çıkan bir proliferatif aşama gelir. Son olarak yara iyileşmesinin en uzun ve en az anlaşılmış aşaması olan yeniden şekillendirme ortaya çıkar (Şekil 6ve 7). (20)



Şekil 2.2: Yara iyileşmesinin üç aşaması (inflamatuar, proliferatif, remodelling) ve bu aşamalarda aktif rol alan hücreler karakteristik hücreler.

Inflamatuar evre

Yara iyileşmesinin inflamatuar aşaması doku yaralanmasını takiben derhal başlar. Bu aşamanın fonksiyonel öncelikleri hemostazı sağlanması, ölü ve devitalize olmuş dokuların ortamdan uzaklaştırılması ve bakteriler tarafından oluşturulacak kolonizasyonların ve invaziv enfeksiyonların önlenmesidir. (21) Bu evrede kan orijinli hücrelerin ve bunların mediatörlerinin, sitokinlerin salınımı belirgindir. Yaralanma ve doku hasarından hemen sonra başlayan kanama yara iyileşme sürecini başlatır. Yaralanmadan hemen sonra oluşan lokal vazokonstriksiyon meydana gelen ilk olaydır ve hemostaza yardımcı olur. Bu vazokonstriksiyon dolaşımdaki katekolaminler (epinefrin) , sempatik sinir sistemi aktivasyonu ve prostaglandinler ile olur.

Yaralanmadan sonra en önemli mekanizmalardan biri; kanamayı durdurmaya yönelik vücudun cevap reaksiyonudur. (22) Hemostaz yaralanmadan saniyeler sonra başlar; tamamlanması 1 saat civarı sürebilir.

Yaralanmadan sonra meydana gelen primer hemostaz (primer tıkaç) trombositlerin yaralı damar subendotelinde bulunan kollajene yapışması ve kümelenmesidir (agregasyon). Bu primer hemostatik tıkaç koagülasyon mekanizmasının bir parçası olmayıp, damar ve trombositler arasındaki fiziksel etkileşimin sonucudur.

Sekonder hemostaz ise primer hemostaz sağlayıcı geçici pıhtının oluştuğu yerde kalıcı fibrin pıhtısının oluşmasını ifade eder.

Yaralanma, kan damarlarının yapısının bozulması ve kırmızı kan hücreleriyle birlikte diğer kan içeriğinin ekstravazasyonuna yol açar. Bu ekstravazasyon sonucu intrinsik ve ekstrinsik yollardan pıhtı formasyonu başlar ve protrombinden trombinin aktivasyonu sağlanır. Aktive trombin, fibrinojeni daha sonra polimerize olarak kalıcı koagülasyon kaskadlarının son ürünü olan fibrine çevirir. (14) (23)

İntrinsik koagülasyon kaskadı 8, 9 ve 11. faktörlerden oluşur. “Trombin patlaması” doku faktörünün etkisi ile oluşur ve buda trombinin salındığı süreci oluşturur. (22) Ekstrinsik kaskad; doku faktörünün faktör 7’yi bağlamasıyla başlar. (22) Doku faktörü; normalde vasküler endotelde bulunmaz ancak ekstravasküler hücre yüzeyinde özellikle adventisyel fibroblastlarda, perisitlerde ve düz kas hücrelerinde bol miktarda bulunur. (24)

Fibrin hemostaza ek olarak erken iyileşme periodunda provisional matriksin primer komponentini de oluşturur. Fibronektinler migratuar hücrelerin fibrin ağına tutunmasını artıran glikoproteinlerdir. Hem matur dermisin hemde erken matriksin çok önemli bir komponentini oluştururlar. Fibronektin fibroblast ve epitel hücrelerde oluşturulur. İyileşmenin erken fazında hücre tutunmasına yardım eder ve çeşitli hücre tiplerinin migrasyonunu modüle eder. Ek olarak fibrin-fibronektin ağı çeşitli sitokinleri bağlar ve bu faktörlerin rezervuarı olarak görev yapar. Hem trombin hem de fibrin ek olarak yaralanma sonrası artan vasküler permeabiliteyi stimüle eder ve inflamatuvar hücrelerin ekstravasküler migrasyonunu stimüle eder. Aynı zamanda epitelizasyon ve anjigenezde rol oynar.

Kan pıhtısı ve trombüs oluşumu platelet aktivasyonuna bağlıdır. (22) Plateletler ekstravasküler kollajen ile temas edince kollajen ve fibrine yapışır ve ADP salgırlar. ADP kalsiyum iyonlarının varlığında platelet agregasyonunu artırır. Platelet agregasyonunu trombin ve yağ asitleri de artırır. Platelet agregasyonu plateletlerdeki integrin yüzey reseptörleri ile olur ve bu olay 4 adeziv glikoprotein ile düzenlenir. Platelet agregasyonu ile

alfa granüllerden sitokinler salgılanır ve böylece onarımı başlatacak mekanizmayı da harekete geçirirler.

Yaralanma yerindeki doku hasarı inflammatuar cevabı çok hızlı bir şekilde başlatır. İnflammatuar fazda lokal kimyasal mediatörler sayesinde 1. yüzyıllıkda Cels tarafından tarif edilen makroskopik fiziki bulgular (eritem, ödem, ağrı, ısı artışı gibi) ortaya çıkar. (22)

Vazokonstriksiyon 10-15 dakika sonra yerini vazodilatasyona bırakır. Vazodilatasyon ile birlikte endotel hücreleri arasında boşluklar oluşur. Vazodilatasyon histamin, kinin ve PG-ler sayesinde olur. Histaminin direkt ve indirekt vazodilatasyon oluşturur. Primer kaynağı inflammatuar bölgede mast hücrelerdir. Mast hücreler alerjik reaksiyonlarda yer alırken günümüzde mast hücrelerinin immun reaksiyonlarda da önemli role sahip oldukları ortaya konmuştur. (25) Yaralanmadan yaklaşık 48 saat sonra yarada mast hücreleri görünmeye başlar ve yara iyileşmesi sürecinde mast hücrelerinin sayıları artar. (26) Mast hücrelerinin yara iyileşmesi sürecine olumsuz etkilerinden başka, fibrozis mekanizmasında önemli rol oynadığı ortaya konmuştur. (27) (28) Mast hücrelerinden ayrıca ek olarak heparin, prostaglandin metabolitleri ve TNF-like peptid salınır.

Kininler 9 amino asitli peptidlerdir ve kısa etkili vazodilatatör etkiye sahiptirler ve kallikrein tarafından oluştururlar. PG1 ve PG2 vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artışı yaparlar. Fosfolipaz aktivitesi araziidonik asit salınımına yol açar ve bu da prostoglandin sentezini sağlar. Bakterisidal toksinler, kompleman faktörleri, histamin, PG2, PDGF, TNF- α ; FGF fibrin lökositler için kemotaktirdirler.

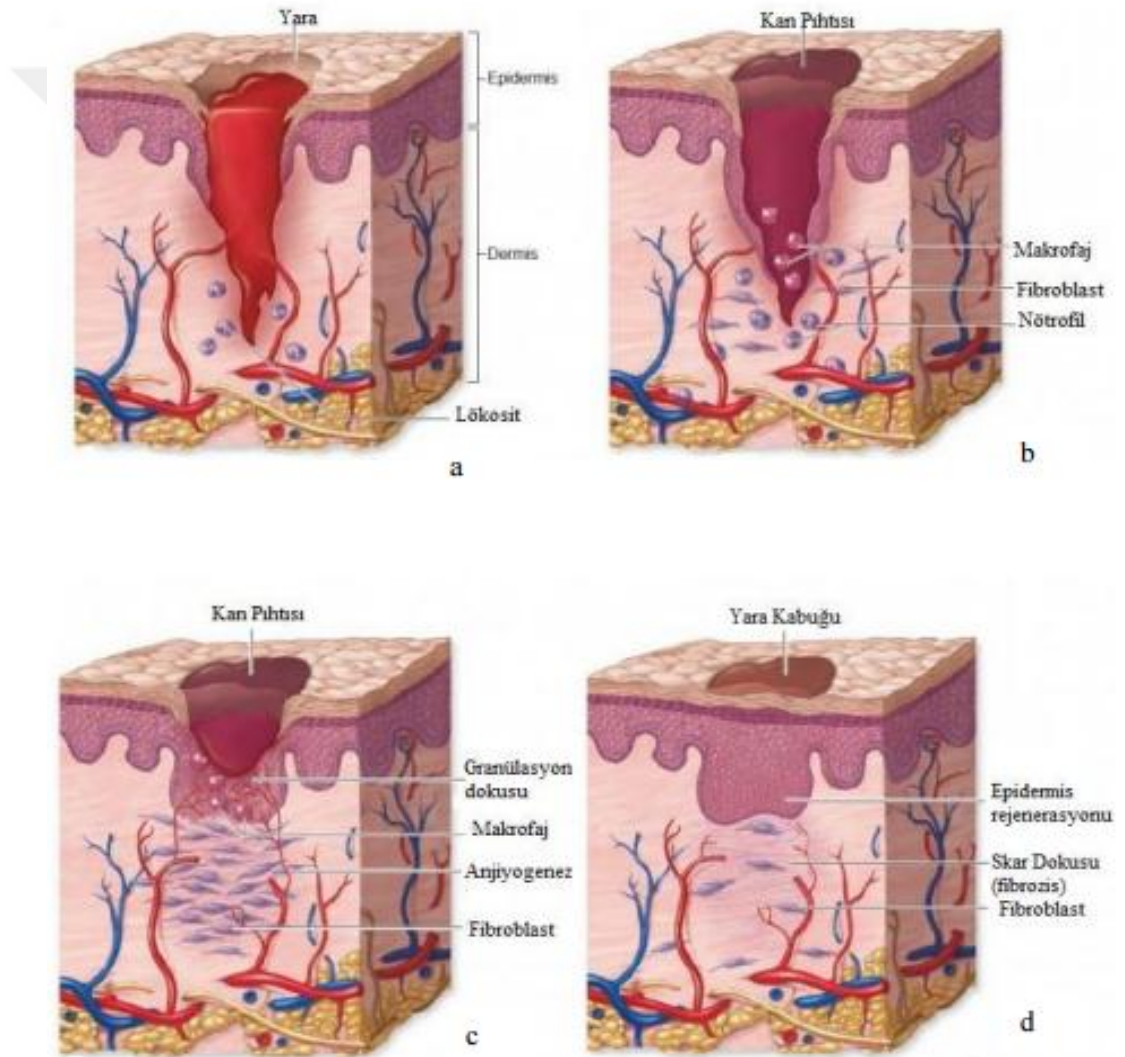
Endotel hücrelerinden ve aktive nötrofilden salınan platelat faktör 4 ise nötrofiller için kemotaktiktir. Bu iki faktör aynı zamanda nötrofil yüzeyindeki CD11 ve CD18 reseptörlerinin ekspresyonunu yaralanmış dokuda ilk gözlenen lökosit nötrofillerdir. Nötrofiller hidrolitik ve oksijen radikallerle defansif üniteler olarak görev yaparlar. Nötrofiller hasarlı doku ve bakterileri fagosite ettikten sonra yaralanma sahalarında postkapiller venlerden geçerken apoptozise uğrarlar ve bir kısmı makrofajlar tarafından fagosite edilirler. (22) Nötrofiller fagositoze ek olarak lokal fibroblast ve keratinosit aktivasyonunu sağlayan proinflammatuar sitokinleri de salgırlar. Nötrofiller yaralanma sonrası 24-48 saat sonra yaralanma

bölgesinde artarlar. Eğer kontaminasyon yoksa birkaç gün sonra nötrofillerin sayısı azalır. Nötrofillerin yara iyileşmesinde ilk evresinde önemli rol oynasa bile yokluğu yara iyileşmesinin bütünsel ilerlemesini etkilememektedir. Bununla birlikte bazı kaynaklarda; nötrofillerin yara yerinde uzun süre kalmaları akut yaraların iyileşmeyen kronik yaralara dönüşmesinin primer faktörü olduğu iddia edilmektedir. (21)

Monositler kapillerlerden diapedez ile ekstravasküler alana geçince serum faktörleri ve fibronektin ile makrofaj olurlar. Makrofajların yaralanma bölgesine gelmesi kemotaksis ile olur. Migrasyondan sorumlu spesifik faktörler arasında kollajen fragmanları, fibronektin fragmanları, elastin, kompleman komponentler, trombin, TGF- β sayılabilir.

Provisional matriksde bulunan makrofajlar T lenfositlerden salınan IL-2 ve INF-sigma ile aktive olurlar. Makrofajlar bakteri ve ölü dokunun fagositozunu sağlarlar, hasarlı matriksi yıkmak için kollajenaz ve elastaz salgırlarlar. Aynı zamanda TIMP (tissue inhibitor metalloproteinaz) salgırlarlar. Ek olarak bakteriyel endotoksin ile stimüle edilince makrofajlar nötrofil aktive edici protein gibi maddeler salgırlar bu da ek inflamatuvar hücreleri ortama çeker. Makrofajlar fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi ve diğer iyileşme proseslerini başlatan sitokinlerin primer kaynağıdır. Bunlar arasında TNF- α , PDGF, TGF- β ve FGF sayılabilir. Makrofajlar aynı zamanda PG, oksijen metabolitleri ve arginin sentezlerler. Bunlar da yara iyileşmesini regule ederler. TGF- β otokrin bir etki ile makrofajlardan kendi salgısını regüle eder ve ayrıca FGF, PDGF, VEGF ve İL-1 salınımını sağlar. Makrofajlardan salınan 20 den fazla sitokin ve büyüme faktörleri bilinmektedir. Makrofajların yarada tükenmesi günümüzde yara iyileşmesini bozan en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. (29) (30) Monositler bütün inflamatuvar faz boyunca kalırlar ve makrofajları üretirler. Belki de inflamatuvar fazın en önemli komponenti yaralanmadan 48-72 saat sonra baskın hale gelen makrofajlardır. (31) Monositlerin, özellikle makrofajların azlığı fibroblast fonksiyonunda gecikme, yetersiz anjiogenezis, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumu yanında yara iyileşmesinde şiddetli olumsuz değişikliklere yol açar. (32) Lenfositler TGF- β , interferon, interlökin ve TNF- α gibi hücrel ve humoral immuniteden sorumlu faktörler üretirler, bunlarda inflamatuvar süreçte makrofajlarla ilişki kurarak immun yanıt ile yara

iyileşmesi arasında bağlantı kurarlar. Eozinofiller normalde periferik dolaşımında az miktarda bulunurlar, yaralanma ile ekstravasküler dokuya migrasyon gösterirler ve TGF- β kaynağı olarak çalışırlar. Hemostaz sağlandıktan sonra inflamatuvar hücreler yaraya migrasyon gösterirler. Sonuç olarak yaraya ilk olarak nötrofiller gelirler. 48-72 saat sonra makrofajlar daha baskın olurlar. 5-7 gün sonra iyileşmekte olan yarada az miktarda inflamatuvar hücre kalır ve fibroblastlar predominant hücre tipi olur. Bu dönemde yabancı madde veya bakteri normal iyileşme senaryosunu kronik inflamasyona çevirebilir.



Şekil 2.3: Yara iyileşmesi aşamalarında deri morfolojisi a) yaralanma ve hemostaz, b) inflamasyon, c) proliferasyon, d) remodeling (33)

Proliferatif Evre

Travmadan sonraki ilk 36–72. saatler içinde damarların adventisyasına yakın mezenşimal hücrelerin farklılaşmasından fibroblastlar oluşur. Makrofaj ve trombositlerden salgılanan, PDGF, TGF beta, EGF ve fibronectin; fibroblastların yaraya göçünü uyaran ana sitokinlerdir. (34)

Yara bölgesindeki nekrotik dokuları geçip yaralanma bölgesine fibroblastların ulaşabilmesi için fibroblastlar, TGF-b'nın uyarımı ile ortama proteolitik enzimler salgırlar. Bu enzimler matrix metalloproteinazlardır (MMP). MMP-1, jelatinaz (MMP-2) ve stromelisin (MMP-3) ortamdaki nekrotik doku ve eskarın debridmanını yapar. (34)

Fibroblast yoğunluğu, yara yerinde 6. günde maksimum düzeye ulaşır. (35) Fibroblastlar yara onarımı yapan hücrelerdir ve bağ dokusunun ana maddeleri olan kollajen, proteoglikan, retikülin ve elastini üretirler. (14) (36) Fibroplazi safhası, fibroblastların aktivite gösterdiği ve zemin maddesi ile bağ dokunun sentezlendiği dönemdir. Yara gerilim gücünde belirgin bir artış meydana gelir. Bu fazda; fibroblastlar ile epitel ve endotel hücreleri hakimdir. Endotelyal hücreler ise yara kenarındaki sağlam venüllerden veya anjiogenez sonucu oluşan yeni kapillerlerden ortaya çıkar (Şekil 7). (35)

Fibroblastların ana fonksiyonu kollajen sentezidir. (37) Kollojen sentezini uyaran sitokinlerin başında ise TGF-beta, PDGF ve EGF gelmektedir. (34) Kollojen sentezi yaralanmanın 5-7. günlerinde maximum seviyededir. Fibroblastlar aynı zamanda fibronectin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi proteinler de sentezler. (34) Bu maddeler kollajen fibrillerinin kümelenmesi esnasında çapını ve büyüklüğünü etkileyerek bağ dokusunun fiziksel özelliklerinin oluşmasında rol oynarlar. (37) Fibroblastlar kollajenin sentez ve birikimi yanında bağ dokusunun yapısal ve fonksiyonel olarak uygun şekil almasında da görev alırlar. Ekstrasellüler matrix sentezi 2-3. günlerde başlayıp, 15-20. güne kadar devam eder. Bu dönemin en önemli hücre ürünü kollajendir. Kollojen tüm vücut proteinin %30'unu oluşturmaktadır ve vücut ısısında proteolitik enzimlerin etkisine dayanıklıdır. (35) Kollajen moleküllerinin en belirleyici özelliği, üç polipeptit alt biriminden oluşan bükümlenmiş kangal olan üçlü sarmaldır. Polipeptit alt birimler olan α -zincirler, bir ortak eksen etrafında dönerek 3000

Amstrong uzunluğunda ve 15 Amstrong çapında katı bir çubuk benzeri bir molekül yapar; bunlar fibrilleri oluştururlar, fibriller de kümelenerek fiberleri oluştururlar. Kollajen moleküllerinin ikinci çarpıcı özelliği, amino asit dizisinin tekrarlayan tripeptit olmasıdır. Birinci aminoasit glisin, ikincisi genelde prolin, üçüncüsü ise hidroksprolindir. (38) Hidroksprolin ve hidrosilizin kollajenle doğrudan birleşmezler. Bunların ön maddeleri olan prolin ve lizin, protokollajenin peptit zincirlerine bağlanarak hidrosil hale dönerler. Burada protokollajen prolin hidrosilaz ve protokollajen lizil hidrosilaz enzimleri katalizör olarak rol oynarlar. Bu reaksiyonda; α -ketoglutarat, oksijen, demir ve askorbik asit kofaktör olarak kullanılır. (38) Hidrosilasyonu tamamlanan bu α zincirler, üçlü helezon meydana getirerek tropokollajen moleküllerini yaparlar. (38) Bu moleküller transferaz enzimleri aracılığıyla hücre dışına çıkartıldıktan sonra özel tarzda bir araya gelerek kollajen fibrillerini oluştururlar. Kollajendeki aldehit grupları arasına lizil oksidaz enzimi ile sağlanan bağlantılarda eklendiğinde sağlam kollajen fibrilleri oluşur. Kollajen fibrilleri arasındaki moleküller içi ve arası bağlar, yaranın gerilim kuvvetine ve sağlamlığına etki eder. (38) Sağlam deride %80-90 tip-I kollojen geri kalan %10-20'lik kısmı ise tip-III kollojen oluştururken, granülasyon dokusunun %30'unu tip-III kollojen oluşturmaktadır. (38) Doku kaybı olan yaralarda, sıvı kaybını engellemede ve enfeksiyon oluşumuna karşı koymada epitelyal hücre artışı önemlidir.

Epitelizasyon, insizyonel yaralarda, yaralanmadan hemen sonra başlar ve 24-48 saat içinde tamamlanır. (34) Yara temiz, bazal lamina sağlamsa ve yara nemli tutulmuşsa epitelizasyon hızı artar. Epitelizasyonun tamamlanmasında, EGF, TGF-alfa, platelet kaynaklı EGF ve keratinosit growth faktör (KGF diğer adı FGF-7) etkili olan sitokinlerdir. Ekstraselüler matriks, büyüme faktörleri ve yaranın oluşturduğu elektriksel alandaki değişiklikler epitelyal hücrelerin migrasyonu için uyarıcı etki gösterirler. Kısmi kalınlıklı yaralarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma olurken, tam kat yaralarda epitel yalnızca yara kenarlarından ilerler.

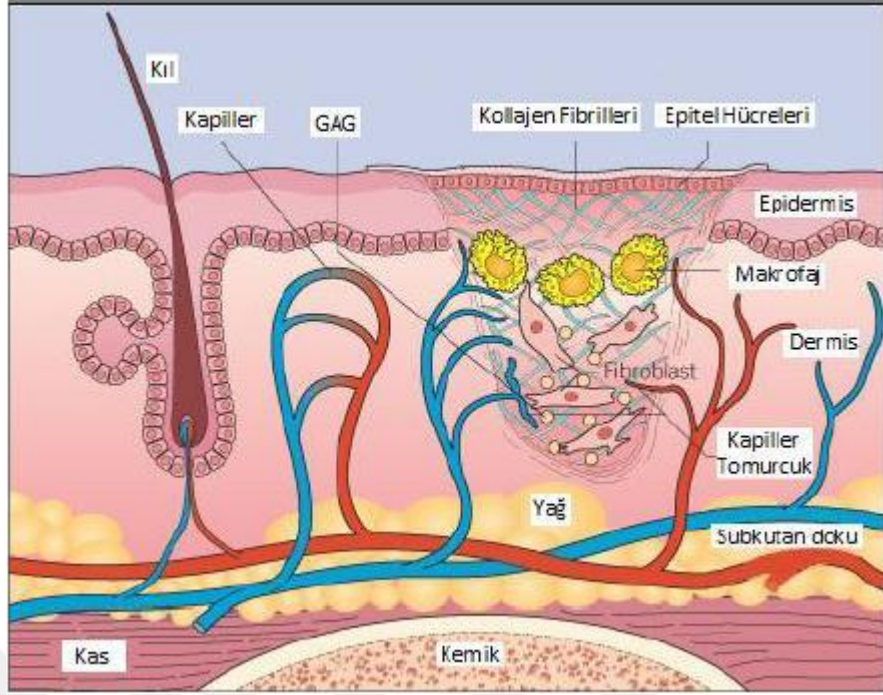
Fibroblastlar yara içine göç ederken yeni kapiller oluşumu ile paralel hareket ederler. Gerek serum gerek yara sıvısı hem fibroblastlar hem de endotelyal hücreler için kemotaktiktir. Aktive olan makrofajlar tarafından salınan anjiogenik faktörlerin uyarısıyla yara bölgesinde endotelyal hücre tomurcuklarından yeni kapillerler oluşur. Kısacası; onarım alanında

bulunan damarların tomurcuklanmasıyla yeni damarların oluşumu olayına angiogenesis veya neovaskularizasyon denir. (26) Dördüncü günde belirginleşir ve yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder. Primer uyarıcısı vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) 'dür. (39) Erken dönemde trombositlerce salgılanan tümör büyüme faktörü-Beta ve PDGF de dolaylı olarak angiogenezi uyarır. (14) Makrofajlar salgıladıkları TNF- α ve fibroblast büyüme faktörü gibi büyüme faktörleriyle angiogenezde de anahtar rol oynarlar ve NO sentezini sağlarlar. (35) Yara iyileşmesinde etkili olan sitokinler ve işlevleri Tablo 2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1: Yara iyileşmesinde sitokinler (40)

Büyüme	Kaynak	Yara iyileşmesindeki işlevleri Faktörleri
PDGF	Trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri, zedelenmiş hücreler	<i>Kemotaksi, fibroblast proliferasyonu, kollajenaz üretimi</i>
TGF- β	Makrofajlar, trombositler, nötrofiller, lenfositler, epitel ve endotel hücreleri, zedelenmiş hücreler	<i>Fibroblast proliferasyonu, kemotaksi, kollajen metabolizması</i>
EGF	Plazma, trombositler, makrofajlar, epitel hücreleri	<i>Epitel hücre proliferasyonu, granülasyon doku formasyonu</i>
VEGF	Endotel hc.	<i>Anjiogenez</i>
GM-CSF	Makrofaj, fibroblast, endotel hc	<i>Makrofaj proliferasyonu, matürasyonu ve aktivasyonu</i>
TGF- α	Aktive makrofajlar, trombositler, epitel hücreleri, zedelenmiş hücreler	<i>Epitel hücre proliferasyonu, granülasyon doku formasyonu</i>
KGF	Fibroblastlar	<i>Epitel hücre proliferasyonu</i>
IL-1	Makrofajlar	<i>Fibroblast proliferasyonu</i>
IL-4	T-hc, bazofil, mast hc	<i>Fibroblast proliferasyonu</i>
IL-8	Monosit, nötrofil, keratinosit	<i>PMN lökosit aktivasyonu ile kemotaksi başlatmak</i>
FGF	T-hc, makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri	<i>Fibroblast proliferasyonu, matriks depolanması, yara kontraksiyonu, anjiogenez</i>
TNF- α	Makrofajlar, T lenfositler	<i>Fibroblast proliferasyonu</i>
IGF-1	Plazma, karaciğer, fibroblastlar	<i>Kollajen ve sentezi, Fibroblast proliferasyonu</i>
IFNs	Lenfositler, fibroblastlar	<i>Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu</i>

PDGF ; Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, **TGF- β** ; Tümör büyüme faktörü-Beta, **EGF**; Epidermal büyüme faktörü, **TGF- α** ; Tümör büyüme faktörü-alfa, **KGF**; Keratinosit büyüme faktörü, **IL-1** ; İnterlökin-1 , **IL-4** İnterlökin-4; **IL-8** ; İnterlökin-8; **FGF**; Fibroblast büyüme faktörü, **TNF- α** ; Tümör nekroz faktör- alfa, **IGF-1**; İnsülin büyüme faktörü, **IFNs** ; İnterferonlar; **VEGF**; Vasküler endotelial büyüme faktörü; **GM-CSF**; Granülosit makrofaj koloni stimüle faktörü.



Şekil 2.4: Proliferasyon dönemi

Remodeling (Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma)

Kollajenin ortaya çıkması ile başlayan bir süreçtir. Bu fazın ana özelliği kollajen depozisyonu, organizasyonu ve iyi bir şekilde ağ yapısı oluşturmalarıdır. Bu faz sırasında yoğun hücreli ve vasküleritesi olan doku, daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusu ile yer değiştirir. Fibroblast ve inflamatuvar hücreler giderek azalır. (16) (35) Yarada fibroblastlar tarafından sentezlenen ilk kollajen olan tip III kollajen, organize olmamış ve daha çok jel benzeri yapıdadır. Bu fazda tip III kollajen giderek yıkılır ve yerini tip I kollajene bırakır. Oluşan bu yeni kollajen lifleri uygulanan stres çizgilerine uygun dizilirler ve organize olurlar. (34) Kollajen yapım ve yıkımı ekstrasellüler matriksin yeniden yapılanmasıyla birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit bir dengeye ulaşır.

Kollajen yıkımı fibroblastlar, granüositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları (MMP) tarafından sağlanır. Bu enzimler doku metalloproteinaz inhibitörleri tarafından inhibe edilir (TIMPs). Doku metalloproteinaz inhibitörleri ve matrix metalloproteinazları(MMP) arasındaki denge TGF- β , PDGF ve IL-1 tarafından regüle edilir. (34) Apoptotik mekanizmalar ve MMP'ların enzimatik aktivitesi bu dönemde devreye girer. Apoptozisin gerçekleşmediği durumlarda, aşırı skatrizasyon,

fibrozis ve keloid oluşumu gibi patolojik iyileşmeler görülebilir. (41) (42) Yeniden yapılanma safhasında, özellikle MMP-1, 2, 3, 7, 8, 9, 10 ve 12'nin rolü vardır. Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13); tip I, II ve III kollajeni, jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9); tip I, V, VII, X kollajeni, elastin ve diğer bazal membran proteinlerini, stromelizinler (MMP-3, MMP-10 ve MMP-11); kollajen IV, V, X ve elastini, matrilisinler (MMP-7); fibronektin, jelatin ve elastini parçalar. Membranöz tip MMP'lar (MMP-14 ve MMP-17) , hücre membranı üzerinde bulunur, diğer MMP'ların aktivasyonuna ve hücre yüzeyine bağlanmalarına yardım ederler. (43) Hücrelerdeki ve ekstraselüler matriksteki abartılı artışın ortadan kaldırılması ve yaralanmadan önceki duruma dönebilmesi için, dokunun yeniden yapılandırılması gerekir. Dokunun yeniden yapılandırılması, yara kontraksiyonu ve kollajenin yeniden şekillendirilmesi süreçleri ile karakterizedir. (43) Bu süreçte, fibronektin komponentleri, hiyalüronik asit ve proteoglikanlar, kollajen ve miyofibroblastlar devreye girer. (41) Yaranın kontraksiyonu işlemi, miyofibroblastlar tarafından yapılır. Bunlar; bölünme ve matriks kontraksiyonunu gerçekleştirme potansiyeli olan, intraselüler aktin mikrofilamentlerine sahip fibroblastlardır. Miyofibroblast diferansiyasyonu, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından salgılanan TGF- β tarafından indüklenir. Fibroblastlar, yara bölgesine geldikten sonra fibronektin üretirler. Fibronektin üretimi, başta TGF- β olmak üzere birçok büyüme faktörü tarafından tetiklenir. (44) (45) Matriksin önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit, hücre hareketlerinde belirgin bir kolaylaşmaya neden olur. Granülasyon dokusundaki fibroblastlar, bol miktarda hiyalüronik asit üretirler. Yeniden yapılandırma gerçekleşirken, hiyaluronik asit, hiyalüronidazlar tarafından yıkılır ve yerini daha güçlü bir yapıya sahip olan, ancak hücre hareketlerini yavaşlatan, sülfatlı proteoglikanlar alır.

İki temel proteoglikan olan kondroitin-4-sülfat ve dermatan sülfat, olgun skatris fibroblastları tarafından üretilirler. Bunlar onarımın 2. haftasında yara alanına gelir ve matriksin esnekliğini sağlar. (46) Kollajen, yeniden şekillendirme aşamasının en karakteristik proteinidir. Yarada oluşan yeni kollajen lifler, önce kendi aralarında kovalent bağlarla bağlanırlar. Yara çevresindeki eski kollajen liflerine bağlanma ise sonradan gerçekleşir. Yaranın gerginliği, sağlamlığı ve mekanik etkilere verdiği cevapta en önemli faktör kollajen miktarı ve bunun niteliğidir. Kollajen miktarı, çapraz

bağlanma yoğunluğu ve yapım yıkım arasındaki dengesi yaranın gücünü belirler. Kopma kuvveti ile kollajen fibrillerinin kalınlığı arasında doğru orantı vardır. Kollajen fibrillerin yerini daha fazla moleküller arası bağlar içeren organize fibrillerin alması ile gerilim kuvveti yavaş yavaş artar. (35)

Olgunlaşma fazının süresini hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi ve inflamasyon periyodunun süresi/yoğunluğu gibi çoklu değişkenler belirler. İyileşme ilerledikçe kollajende artış, fibroblast ve damar sayısında azalma gerçekleşir. Damarların büyük kısmında trombozis ve dejenerasyon gelişir. Sonuçta, granülasyon dokusu inaktif görünümde iğsi şekilli fibroblastlar, yoğun kollajen demetleri, elastik doku parçaları, ekstrasellüler matriks ve az sayıda damarlardan oluşan skar dokusuna dönüşür. Gelişen skar dokusu başlangıçta pembedir, damarsal yapıların azalması ile ileri aylarda giderek solar. (14) Cerrahi açıdan yara iyileşmesinde meydana gelebilecek bütün morfolojik ve kimyasal olayların en önemli sonucu, yara gerilim kuvvetinin normal doku düzeyine gelmesidir. Skar dokusundaki proteinin %50'den fazlasını kollajen oluşturur. İyileşen yaranın direnci, bu süreç boyunca yavaş yavaş artar. Üçüncü haftada, yara direnci, sağlam dokudakinin %20'si civarındadır. (47) Ancak yara gerilim kuvveti hiçbir zaman normal derinin %80'ini geçmez. Deri elastisitesi ve enerji absorpsiyon kapasitesi normale dönmez. (34) Gerilim kuvveti; her kesit alanı birimine uygulanan kuvvettir. Yaranın yapısal kuvveti olarak da tanımlanır. Kopma kuvvetiyle koreledir. Yeni kollajen sentezi miktarını ve yara iyileşmesinin erken fazının iyi bir şekilde devam ettiğini yansıtır. (48) Kopma kuvveti, 1960'lı yıllardan bu yana yara iyileşmesinde objektif bir kriter olarak kullanılır. (49) Yara kopma kuvveti, iyileşen yarayı ayırmak için gereken kuvvet miktarının direkt ölçümüdür. Yaranın kollajen içeriği ile bağlantılıdır ve en önemlisi klinik durumu tam yansıtır.

Yara iyileşmesinde bütün bu safhaların sonunda yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik olan yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur. (14) (16) (35)

2.1.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik faktörler olarak iki başlık altında toplanabilir. (50)

Lokal faktörler:

- 1- Zayıf cerrahi teknikler (aşırı gerilim veya aşırı ölü doku)
- 2- Vasküler bozukluklar (arteriyoskleroz veya venöz yetmezlik)
- 3- Doku iskemisi
- 4- Enfeksiyöz durumlar
- 5- Bazı topikal ilaçlar (potent kortikosteroidler, iyot)
- 6- Hemostatik ilaçlar (aluminyum klorid, ferrik subsulfat)
- 7- Yabancı cisim reaksiyonları
- 8- Yara yerinin özelliği: basınç, nöropati, kronik radyasyon hasarı, ödem

Sistemik Faktörler:

- 1- Malnutrisyon ve beslenme bozuklukları
- 2- Protein eksikliği ve vitamin eksiklikleri (vitamin A, vitamin C)
- 3- Sistemik ilaçlar (Kortikosteroidler, penisilamin, nikotin, NSAİİ, antineoplastik ilaçlar)
- 4- Kronik debile edici hastalıklar (hepatik, renal, hematopoetik, kardiyovasküler, otoimmün, onkolojik)
- 5- Endokrin hastalıklar (Diabetes mellitus, Cushing Sendromu)
- 6- Metabolik hastalıklar
- 7- Sistemik vasküler hastalıklar (vaskülit, ateroskleroz)
- 8- Genetik bağ doku hastalıkları (Ehlers-Danlos Sendromu, Werner sendromu)
- 9- Konjenital yara iyileşme bozuklukları
- 10- Alkolizm
- 11- Sigara kullanımı
- 12- Uzak malignite

13- Radyoterapi

14- Kanser kemoterapisi

15- İleri yaş

Yara bölgesi yara iyileşmesinde önemlidir. Kanlanması güçlü olan santral bölgedeki yaralar akral alanda olanlara göre daha hızlı iyileşirler. En hızlı iyileşme yüz bölgesinde olur. (51) Doku oksijen seviyeleri yara iyileşmesindeki morfolojik bulgular ile ilişkilidir. Hipoksi hücre migrasyonu ve anjiyogenezise katkıda bulunmakla birlikte, hücre proliferasyonu, kollajen sentezi ve bakteriyel dirençte bozukluğa yol açar. Vazokonstriksiyon veya vazodilatasyon etkileri olan bazı ilaçlar doku oksijenizasyonu ve beslenmesini bozarak yara iyileşmesini etkileyebilir. Epinefrin kanlanma ve oksijenizasyonu bozabilir. Doku pH'sındaki aşırı değişiklikler dokuda hasara neden olabilir. Doku pH'sındaki değişikliklere bağlı dokuda bakteri hasarı olabilir. *Pseudomonas*, *klebsiella* ve *proteus* alkali pH'da gelişen organizmalardır. *Pseudomonas aeruginosa* ile enfekte yaralar asetik asitin seyreltik solüsyonları ile yapılan topikal tedaviye yanıt verir. Nekroz durumunda anoksi, şiddetli inflamasyon ve enfeksiyon için artmış riskten dolayı yara iyileşmesi bozulur. Açık yaralarda antiseptiklerin kullanımı ölü dokuların oluşmasına yol açar. (52)

Hematomlar, yara iyileşmesini olumsuz etkilerler. Hematomlar mikroorganizmaların büyümesi için uygun ortam oluştururlar. Antikoagulan ve antitrombositler ilaçlar da hematom oluşumunu artırır. (52)

Enfeksiyon inflamasyon süresini uzatır ve yara iyileşmesi gecikir. Bakteriyel kolonizasyon ise yara iyileşmesini geciktirmez. Enfeksiyon olup olmadığına bakteri kültürleri değil, klinik bulguların olması ile karar verilir. (53) Klinik olarak enfeksiyon görülebilmesi için dokuda gram başına 100 binden fazla bakteri olması gerekir. Enfeksiyon proteolitik enzimlerin salınımı ve hücre lizisine yol açarak laktik asit birikimi ve lokal doku hipoksisi yapabilir. Ayrıca bakteriler tarafından üretilen proteazlar ve toksinler aracılığı ile direk doku hasarı olabilir. Bakteriler alternatif kompleman yolağını aktive ederek yara iyileşmesinin inflamatuvar fazında uzamaya ayrıca doku yıkımına neden olurlar. (52)

Yabancı cisimler yara iyileşmesine zarar verir. Doku oksijeni ve pH'ı yabancı cisim varlığında azalır. Alternatif kompleman yolağının aktivasyonu ile yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını uzatarak yara iyileşmesinde gecikmeye neden olur. (52) İlaçlar, yara iyileşme sürecini çeşitli evrelerde engelleyerek ve sıklıkla durdurarak yara iyileşmesini geciktirir. Kortikosteroidler, prostasiklin sentezini inhibe ederek inflamatuvar fazı suprese ederler. Granülasyon dokusu oluşumunu, epidermal rejenerasyonu, makrofaj kemotaksisini, fibroblast proliferasyonunu, kollajen sentezini ve glikozaminoglikan sentezini inhibe ederler. Metalloproteinaz ekspresyonunu suprese ederek kollajenin yıkımını inhibe ederler. Topikal florlu kortikosteroidlerin kullanımı ise reepitelizasyonu azaltabilir. (53) Aspirin ve NSAİİ gibi anti-trombositler ilaçlar yara iyileşmesinin koagülasyon fazını ve inflamatuvar fazını etkiler. Aspirin trombosit agregasyonunu geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. Aspirin ve NSAİİ, trombosit agregasyonunu ve araşidonik asit metabolizmasından kaynaklanan inflamatuvar medyatörleri inhibe ederler. Warfarin, heparin gibi antikoagülanlar koagülasyonu inhibe ederek hematom oluşum riskini artırma sureti ile yara iyileşmesini etkilerler. (52)

Radyoterapi uygulanmasının yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri vardır. Radyoterapi uygulama zamanına göre yara iyileşmesinin gecikme derecesi farklıdır. Radyoterapi inflamasyon evresinde uygulanırsa granülasyon dokusunun oluştuğu bu dönemde kapiller ve fibroblastik proliferasyonda azalma ve ayrıca hücre sayısında azalmaya neden olur. Yara iyileşmesinde en fazla gecikme radyasyona duyarlılığın en fazla olduğu proliferasyon evresindeki uygulamalarda olur. Yaralanmadan aylar veya yıllar öncesindeki radyoterapi uygulamalarında iyileşme sürecini olumsuz etkileyen, geri dönüşümsüz dermal fibrozis, vasküler tromboz, doku atrofisi gibi bazı değişiklikler meydana gelir. (54) Yara iyileşmesi sırasında protein sentezi ve glukoneogenez için aminoasitlere ihtiyaç vardır. Protein eksikliği durumunda humoral immünite, hücrel immünite, fagositoz ve bakteri inaktivasyonu bozulur. Kronik protein eksikliği özellikle kollojen sentezini ve depolanmasını azaltır. Ayrıca hipoalbuminemiye bağlı gelişen ödem, sekonder olarak bölgede beslenme bozukluğuna neden olur. Arjinin aminoasitinin destek olarak verilmesi kollajen depolanmasını artırarak yara gerilme gücünü artırır. (55)

Çinko, demir, bakır, manganez eksiklikleri de yara iyileşmesinde bozukluklara yol açar. Çinko pek çok koenzim kompleksinin bir parçası olup, fonksiyon yapabilmesi için çinko gereken 70'den fazla metalloenzim saptanmıştır. Bu enzimlerden bazıları nükleik asit ve protein sentezinde anahtar role sahiptir. Ayrıca immün fonksiyonların idamesi ile dermal ve epidermal fonksiyonlar için gereklidir. Ciddi eksikliklerinde lenfosit fonksiyonlarında bozulma, enfeksiyonlara yatkınlık ve yara iyileşmesinde bozukluklar ortaya çıkar. Epitelizasyonda gecikme, fibroblast proliferasyonunda ve kollajen sentezinde azalma görülür. Demir eksikliği ise anemi ve doku oksijenlenmesinde azalmaya yol açarak yara iyileşmesini geciktirir. Ayrıca kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonunda kofaktör olduğu için kollajen sentezinde bozukluk ve lenfosit proliferasyonunda bozukluklara yol açar. (56) Diabetes mellitusta kan viskozitesinde artış ve mikrovasküler trombozlarla kan akımı bozulur, buna bağlı olarak humoral ve hücrel immünite zayıflar. Yara iyileşmesi için gerekli olan inflamatuvar yanıt azalır. Fibroblast ve endotelial hücre proliferasyonu azalır epitelizasyon ve kollajen sentezi bozulur. Ayrıca şiddetli ve tedaviye dirençli enfeksiyonların gelişimi de diyabetik hastalarda yara iyileşmesini geciktiren faktörlerdendir. (55)

Sigara birkaç mekanizma ile yara iyileşmesinde olumsuz etkiler gösterir. Sigara içenlerde kan damarlarındaki hasara bağlı yara bölgesinde perfüzyon azalır. Ayrıca kollajen üretiminde azalma ve keratinosit migrasyonunda bozukluk yapar. (56)

2.1.5. Fetal hayatta yara iyileşmesi

Skarsız iyileşme, iyileşme sonrasında nedbe dokusunun oluşmaması ve deri eklerinin yeniden oluşmasıyla karakterizedir. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada 16,5 günlük fetüslerde oluşturulan tam kalınlıkta yaralar skarsız iyileşebilmiş fakat aynı yaralar 18,5 günlük fetüslerde oluşturulduğunda skarsız iyileşmenin sağlanamadığı görülmüştür. (57) Fetüsün bulunduğu ortam, yani amniyotik sıvı, erken fetal dönemde görülen skarsız iyileşme sürecinin kaynağı olarak kabul edilmekteydi fakat yapılan çalışmalar ile bu görüşten uzaklaşıldı. Erişkin atimik fareye greft olarak aktarılan insan fetüs derisine lineer insizyon yapılarak oluşturulan skarların iyileşmesi incelendiğinde greft kutanöz bölgeye yerleştirildiğinde skar ile iyileşme

olduğu, subkutanöz bölgeye yerleştiğinde ise skarsız iyileşme olduğu görülmüştür. Bu dokulardan elde edilen örneklerde skarlı iyileşmedeki kollajenin kaynağı fare ve skarsız iyileşmedeki kollajenin kaynağı ise fetüs olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak skarsız iyileşmedeki ana unsurun embriyonik fibroblastlar olduğu ortaya atılmıştır. (58) Bununla birlikte fetal dokuların erişkin dokulara göre yüksek miktarda kök hücre içermesinin ve fetal dokuların iyileşme hızının skarsız iyileşmeye katkısı konusunda literatürde herhangi bir bilgi yoktur.

Tablo 2.2: Epitelizasyonda etkili matriks proteinleri (59)

Kompatent	Kaynak	Lokasyon : Etki
Kollajen tip I	Fibroblastlar	Dermis : Epitel hücre birleşmesi ve migrasyon
Kollajen tip IV	Epitel hücreleri Fibroblastlar	Bazal membran : Epitel hücre birleşmesi ve migrasyon
Kollajen tip V	Epitel hücreleri	Bazal membran : Bilinmiyor
Fibronektin	Fibroblast Makrofaj	Yarada bazal membran : hücre adezyonu ve migrasyonu
Laminin	Epitel hücreleri	Bazal membran : Epitel hücre adezyonu ve migrasyonu inhibe eder
Vitronektin	Serum	Belli değil : Hücre adezyonu ve migrasyonu

2.1.6. Yara İyileşme Bozuklukları

Hipertrofik skar ve keloidler

Artmış skar dokusu ilk olarak MÖ 1700'lü yıllarda Smith papirüsünde tanımlanmıştır. 1962'de Mancini, bu skarları HS ve keloid olarak sınıflandırmıştır. (60) Literatürde bu iki hastalığı, yara iyileşmesinde aynı bozulmanın farklı görünümleri olarak kabul edenler ve hatta bu iki terimi aynı anlamda kullananlar da vardır. (61) (62) (63) Ancak çok sayıda morfolojik ve histolojik farklılıkların varlığı bu iki artmış skar tipinin gelişmesinde farklı mekanizmaların sorumlu olduğunu desteklemektedir. (61) (64). Semptomlar farklı hastalar 5 arasında değişkenlik gösterir; kaşıntı (en sık, ~ % 27), ağrı, hassasiyet, yanma, eklem hareketlerinin kısıtlanması, enfeksiyon, ülserasyon görülebilir. (63) (65) (66) HS'lar travmadan sonra genellikle ilk dört hafta içinde gelişen, orijinal lezyon sınırlarını aşmayan, zaman içinde bir miktar gerileme gösteren artmış skar dokusudurlar. Keloidler ise travmadan aylar hatta yıllar sonra gelişebilen, lezyon sınırlarını

aşan anormal skar dokusudur. (60) (61) (67) Keloid terimi Yunanca yengeç kısıkcı anlamına gelen 'chele'den türetilmiştir ki bu skar dokusunun normal dokulara lateral invaziv büyüme paternini tanımlar. (60) (61) Bu lezyonlar lokal olarak invaziv benign neoplastik skar tümörleri olarak da tanımlanabilir. (68) HS ve keloidler her iki cinste eşit olarak, daha çok genç yaşlarda ve her ırkta görülebilir. Ancak keloidler koyu tenli kişilerde beş – onbeş kat daha fazla, zenci ve Asyalı kişilerde (~%4,5–16) daha sık görülür. (69) (63) HS'ların insidansı keloidlerden daha fazladır. Yaranın derinliğine bağlı olarak oluşum sıklıkları cerrahi sonrası %39–68, yanık sonrası ise %33–91 arasında değişir. (60) (69) (70) Yanık hastalarında ve sekonder iyileşen yaralarda HS gelişiminde en önemli risk faktörü yara iyileşmesi için geçen süredir. (71) (72) Bu süre eğer ondört – yirmibir gün ise hastaların 1/3'ünde, yirmibir günden fazla ise hastaların %78'inde HS gelişimi gözlenir. (72) Keloidler sıklıkla kulak memesi, omuz, sırt, presternal bölgede görülür, kontraktürler görülmez. Keloidlerde cerrahi sonrası genelde daha büyük bir şekilde rekürrens gözlenir. HS'lar bölgesel yatkınlık açısından belli bölgeleri olmamakla birlikte hareket ve gerilimle ilişkili olarak en sık eklemlerin fleksör yüzlerinde gelişirler ve uygun cerrahi tedaviden genelde fayda görülür. (73) (74) Keloid ve HS'larda normal deri ve skara kıyasla artmış bağ doku depolanması, kan damarı yoğunluğu ve hücre sayısı mevcuttur. Deri ekleri kaybolmuştur, endotel hücreleri yuvarlak ve damar lümenine doğru kabarıktır. HS ve keloid arasında bağ doku organizasyonu ve hücrelerin oryantasyonu bakımından da histopatolojik farklılıklar vardır. HS'larda en belirgin patolojik özellik; fibroblastlar ve ince rastgele organize olmuş kollajenden oluşmuş nodüllerin varlığıdır. Sadece bu nodüllerde α -SMA içeren myofibroblastlar mevcuttur. Keloidlerde ise yoğun, kalın, soluk boyanan, birbirine paralel ve rastgele yerleşmiş kollajen liflerinin oluşturduğu rölatif olarak avasküler ve hiposellüler kitleler görülür. (62) (68) (67)

Keloid ve HS oluşumuna neden olan mekanizmalar kesin olarak bilinmemektedir. Keloid hastalarının çoğunda aile öyküsünün bulunması, keloidin genetik yatkınlığı olan kişilerde gelişimi görüşünü desteklemektedir. Keloidler sıklıkla puberte çağında oluşur, gebelikte büyür ve menapozda gerilerler; bu da yaş ve hormonal faktörlerin keloid oluşumunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. (60) (66) Keloid

hastalarında atopik semptomlar, HS hastalarına kıyasla daha sıktır. Skleroderma, Ehlers–Danlos hastalığı gibi bazı kalıtsal bağ doku hastalıklarında keloid oluşumu sık gözlenmektedir. (61) HS'lar derin dermise ulaşan özellikle travmatik yaralanmalar ve uzamış inflamasyon ve fibroplazi gösteren yaraların sonucunda, sistemik veya lokal yara faktörlerin katkısıyla ortaya çıkarlar. (65) (72) Uzun süren inflamasyon sonrası gelişen büyük 7 skarların hepsi keloid değildir. Örneğin kulak delme sonrası uzun süren inflamasyona bağlı gelişen kulak memesi keloidlerinin çoğu vücudunun diğer bölgelerinde normal skar oluşturan kişilerde görülür ve bu nedenle inflamasyona bağlı HS olarak değerlendirilmesi daha uygundur.

2.1.7. Deride Yara İyileşmesini Değerlendirmede Hayvan Modeli

Yara iyileşme süreci kompleks bir yapıya sahiptir. Bu süreci incelemek ve uygun sonuçları elde etmek için modellerin kullanılması ise hem gerekli hem de kaçınılmaz hale gelmiştir. Bu kadar önemli olan yara iyileşmesinin anlaşılması konusunda bilim dünyasının elindeki veriler genellikle hayvan deneylerine dayanmaktadır. Son dönemlerde hayvan yara modelleri dışında daha gelişmiş, ilave uzmanlıklar ve teknik gereksinimleri olan modeller de ortaya konmuştur (75). Deneysel modellerin oluşturulması bir ürün ya da maddenin bu sürece etkisini ve klinik kullanımda etkinliğini saptayabilmek amacıyla da oldukça gereklidir. İlaçların keşfi, toksik maddelerin saptanmasının ötesinde modeller farmakokinetik parametreleri tanımlamak, klinik endikasyonları, uygun formülasyonları saptamak için de kullanılabilir (76) (77). Deneysel hayvan modeli; kalıtsal, doğal kazanılmış veya tetiklenmiş patolojik süreçlerde, bir veya daha çok boyutta insana en yakın benzerliği gösterecek yaşayan organizma olarak tanımlanır (77). Deney hayvanları insanlardaki iyileşme sürecine göre çok daha hızlandırılmış modlara sahiptirler bu yüzden insan deneylerine göre günler veya haftalar içinde kıyaslamaya ve araştırmaya imkân tanır. Yara modeli dışında deneysel olarak diabet, obezite ve çeşitli immunsupresif durumlar oluşturulabilmektedir. Normal bir yara iyileşmesinde altta yatan ve bu süreci kontrol eden moleküler ve hücrel mekanizmaları ortaya koymak için, değişik hayvan modelleri geliştirilmiştir. Hem sağlıklı hem de bozulmuş veya değiştirilmiş iyileşme durumları ile karakterize hayvan modelleri üzerinde, eksizyonel yara iyileşmesindeki moleküler, hücrel ve doku düzeyinde değişiklikler incelenmiştir. Literatürde yayınlanmış

çalışmalarda bozulmuş veya değiştirilmiş yara iyileşmesi durumları, genetik olarak defektli hale getirilmiş veya transgenik olan hayvanlar üzerinde çalışılmıştır (75). Hayvan modelinde hemoraji, granülasyon dokusu oluşumu ve anjiogenik süreçler gibi tamir mekanizmaları ile birlikte görülen kompleks doku değişiklikleri araştırılabilir. Hayvan deneylerinde, kıyaslanabilirliği ve yinelenebilirliği garanti altına almak için, her bir deneyde belirli bir yaş ve ağırlıktaki hayvanlar kullanılmalıdır. Yaralanmış fareler oluşturulan hasara dayanıklıdır ve anestezinin etkisi geçtikten hemen sonra hareketlenerek, temizlenme ve beslenmeye başlarlar (77) (78) (79). Yara modeli oluşturulurken bazı ölçütler sorgulanmalıdır. Bu ltler, lezyonun tam olarak kopyalanabilmesi, birçok araştırmanın yapılabilmesi, çok sayıda biyopsi alınabilmesi, deney dışı bırakılabilmesi, hayvan aktivitesi ile uyumluluk gösterebilmesi, uğraşmada zorluk çıkarmaması, kullanılabilir sonuçlara ulaşacak zamana imkân sağlaması ve birden çok tre ulaşılabilmesi olarak sıralanabilir. Uygun hayvan modeli seçilen yaranın etyopatogenezi yansıtmalı ve klinik duruma uygun bir benzerlik sergilemelidir (79). Yara iyileşmesinde hayvan modelleri seçilirken sıçanların kullanımı oldukça yaygındır. Kolay reme, soy devamlılığı sağlama ve ağırlık olarak en büyük deney sıçanı olma özellikleri ile tüm cinsler arasından Sprague-Dawley cinsi sıçanları birçok yara yeri modelinde tercih edilmektedirler. Obezitenin ve ileri yaşın yara iyileşmesinde olumsuz etkilerinin olması nedeniyle U. S. FDA tarafından yara modellerinde belirli ağırlıklar ve kilo arasında sıçanlar önerilir ve çalışmalarda dikkate alınır (79) (80). Deri morfolojisindeki farklılıklara bağlı olarak sıçanlarda yara iyileşmesi insan derisindeki iyileşme paterni ile tam benzerlik göstermez. Yara kontraksiyonu sıçanlarda pannikulus karnosus kası ve endojen vitamin C kaynağı nedeniyle daha hızlı iken, insanlarda epitelizasyon daha hızlıdır. Avantajları arasında uzun yıllardır araştırmalarda kullanıldığı için çok iyi bilinen bir model olması, lezyon oluşturmak için uygun alan büyüklüğüne sahip olması ve kolayca denetlenebilir modeller olması sayılabilir (79). Yapılan birçok araştırmada sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen yara modellerinde en sık lokalizasyon sırttır. Bunun nedeni yüzey genişliği, hayvanın tatbik edilen ilaca kolay ulaşamaması (tırnak veya yalama sureti ile) ile açıklanabilir. Sprague-Dawley cinsi sıçan kolay üreme, soy devamlılığı sağlama ve ağırlık olarak en büyük deney sıçanı olma

özellikleri ile yara iyileşmesi modellerinde en sık kullanılan cinstir. Cinsiyet seçiminde androjenin yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri bilinse de yapılan çalışmaların çoğunluğunda erkek sıçan kullanılmaktadır. Ancak Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (U. S. FDA) tarafından son yıllarda önerilen klinik çalışmalarda dişi sıçan seçilmesidir. Yara iyileşmesi modellerinde önerilen sıçan ağırlıkları yara iyileşmesine obezitenin olumsuz etkileri olması sebebi ile 150-299 g arasındadır. 3-6 aylık sıçanlar insanlarda genç popülasyon ile bağdaştırılmaktadır. Eğer çalışmalarda özel yaş sınırlaması gerektiren parametreler yok ise genç sıçanlar önerilmektedir. Anestezi uygulamasında maliyet, uyuma süresi ve yara iyileşmesine olumsuz etkilerinin olmaması dikkate alınmalıdır ve bu nedenlerden ötürü en sık Na-pentobarbital, ketamin ve xylazin kullanılmaktadır (79). Epidermis ve üst dermisi içeren kısmi kat yara oluşturabilmek için hayvan modellerinde 100-150 mm kalınlığında deri yüzeyine paralel kesiler uygulanır. Deri eklerinde hasar oluşturulmadan bırakılır. Bu kesiler için deri grefti almak için kullanılan elektrik veya mekanik dermatomlar kullanılabilir. Kemirgenlerde bu şekilde yara oluşturmak derileri ince olduğu için zordur. Yara yerinde iyileşmeyi hızlandırmak amacı ile yara örtüsü kullanılabilir ancak bu durum tercihe bağlıdır. Yara oluşturmada çeşitli modeller söz konusudur. Bunlardan en sık kullanılanlar ise eksizyonel yara modeli, insizyonel yara modeli, ölü alan boşluk modeli ve yanık modelidir (79).

Eksizyonel yara yeri modeli:

Eksizyonel yara yeri modeli genellikle dorsal torasik bölgede, vertebral kolondan 1-1,5 cm, kulaktan ise 5 cm uzaklıkta yapılan yaralardır. Gereken alan hazırlığı yapıldıktan sonra 2,5 cm çapında steril bistüri veya 5-8 mm punch biopsi aleti ile önceden belirlenmiş ve traşlanmış alandan yuvarlak tam kat kalınlıkta deri çıkarılır. Bir sonraki aşamada ise oral veya topikal uygulamalar yapılır. Kollajen doku oluşumu, yara kontraksiyon oranı ve epitelizasyon parametreleri çalışılır. Yaralanmadan birkaç saat sonra yaranın üzeri ince bir kabukla örtülür ve bu kabuk onarımın ilk iki gününde daha güçlü bir hale gelir. Fareler genellikle yaralanma sonrası 1, 3, 5, 7 ve 13. günlerde, yaralı dokudan numune almak için sakrifiye edilirler. Bu günler, enflamasyon, keratinosit göçü ile proliferasyonu ve yeni stromanın oluşumunu da içeren tamir sürecinin merkezi zamanlarını

yansıtırlar. Yara sakrifiye edilmiş hayvandan bir makas yardımıyla çıkartılır. Burada önemli olan yara kenarlarını çevreleyen yeterli derecede doku çıkarılması ve alttaki derin dokuların da buna ilave edilmesidir. Böylece oluşan granülasyon dokusunun tamamının çıkarılması sağlanmış olur. Yara kenarları ve granülasyon dokusu tamir sürecinin merkezi olduğundan, daha sonra yapılacak olan yara kaynaklı gen ekspresyonu ve histopatolojik incelemeler için kritik öneme sahiptir (79).

İnsizyonel yara yeri modeli:

İnsizyonel yara yeri modeli oluşturmak için ise; alan hazırlığından sonra traşlanmış ciltte, vertebral kolonun her iki yanında ve 1. 5cm lateralinde steril bistüri ile 2 adet longitudinal paravertebral insizyon yapılır. Her bir insizyon 4-6 cm genişliğinde olup tam bir kanama kontrolü sağlandıktan sonra ayrılmış olan deri 0. 5-1 cm aralıklarla tekrar suture edilir. Yara ağzının her iki yanında süregelen iplikler iyi bir kapanma için mutlaka dikkatlice sabitlenmelidir. Yara açık bırakılır, istenen uygulamalar yapılır. Sütürler 7. gün alınır.

Epidermin bazal hücreleri mitotik aktivite ile çoğalır ve zamanla granülasyon dokusu gelişip, kollajen fibriller ortaya çıkar. Kollajen fibriller arasında oluşan çapraz bağlar ile yara direnme gücü üçüncü ayda önemli oranda normale döner. Yara direnme gücüne ilişkin deneysel çalışmalar sıklıkla yine domuzu, sıçan ve farelerde yapılmıştır (79) (80). Bu hayvan modelleri, insandaki yara iyileşmesini tam olarak karşılamaz.

Hayvanlar yara enfeksiyonlarından insanlar kadar çabuk etkilenmezler ve skar oluşumu da daha azdır. Yara gerilimi ise 8. ve 10. günler arasında ölçülür (80) (81).

Ölü boşluk yara yeri modeli:

Bu modelde granülom dokusu üzerinde fiziksel ve mekanik değişiklikler çalışılır. Ölü boşluk modelleri yara dokusu oluşumu ve maddelerin etkilerini incelemek amacıyla kullanılan yapay gözenekli implantlar vardır. Yaygın olarak kullanılan ölü boşluk yara modeli çalışmaları polivinil alkol (PVA) süngerler, çelik hasır silindir, genişletilmiş politetrafloroetilen (ePTFE) malzeme ve Cellstick içerir. Bu modelde hayvanın aksilla veya ingualindeki subkutan dokusunda çalışılır (79).

Yanık modeli:

Termal yaralanma, hücresel koruma mekanizmaları, hipermetabolizma, uzamış katabolizma, organ disfonksiyonu ve immünsüpresyon gibi lokal ve sistemik yanıtlarla karşımıza çıkabilir. Uygun bir yanık modeli su elementleri içermelidir. Yanığı oluşturmakta kullanılacak aletler, ilgili aletin sıcaklık derecesi ve temas süresi, termal yaralanmayı uygulama metodu; yanık derecesini etkileyecektir. Yanık için kullanılan herhangi bir havan modeli tekrar edilebilir ve güvenilir olmalıdır. Deneyde aynı temas süresi ve sıcaklık uygulanmalı, benzer hasar ile sonuçlanmalıdır (79). Yara yeri modeli oluşturmak isteyen araştırmacı amacına ve imkanlarına uygun olarak yukardaki modellerden birini seçebilir.

2.2. MATRİKS PROTEİNLERİ, METALLOPROTEİNAZLAR VE İNHİBİTÖRLERİ

Yaradaki normal ekstrasellüler matriks miktarı, matriks sentezi, birikimi ve yıkımı arasındaki dinamik denge tarafından belirlenir. Hücre dışı matriksin proteolitik yıkımı derinin tamirinde ve yeniden yapılanmasında önemlidir. En son kanıtlar yara bölgesindeki proteolitik yıkımın iyileşme bozukluğunun ana nedenlerinden biri olduğunu göstermektedir. Matriks metalloproteinazlar(MMP) , ECM bileşenlerini yıkma yetisine sahip bir grup enzim olup substratlara olan özgünlükleri ile ayrılırlar ve TIMP'leri ile inhibe olurlar. TNF- α 'nın MMP'lerinin üretimini artırırken TIMP'lerinin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. Tersine MMP'lerinin inhibisyonu, yara sıvısındaki TNF- α düzeylerinde azalmaya ve inflamatuvar hücrelerin sayısında düşüşe neden olurken, yaranın gerilim gücünde ve TGF- β düzeylerinde artışa sebep olur. Hem insan hem hayvan modellerindeki çalışmalar, bası ülserleri gibi kronik yaralarda MMP düzeylerinde, özellikle de MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve MMP-9'da artış ve TIMP düzeylerinde azalma olduğunu sergilemiştir. Bu bulgular pek çok araştırmacının kronik yaraların MMP düzeylerindeki inatçı yüksekliği ve TIMP düzeylerindeki azalmanın sonucu olduğu neticesine varmasına neden olmuştur. Bu MMP'lerinin hücre göçünün adheziv substratlarını ve büyüme faktörleri ve sitokinler gibi sinyal moleküllerini yıktığı gösterilmiştir. Ek olarak aşırı proteoliz, inflamatuvar hücre süreçlerini uygunsuz biçimde etkileyen bağ doku yıkım ürünlerinin yüksek düzeylerde

salınmasına neden olabilir. Yaradaki inflamasyonun artışı ile yaranın iyileşme sürecine girme olasılığı azalmaktadır. Denge, kollajen sentezinden kollajen yıkımına doğru kaymaktadır. (82)

2.2.1. Matriks Metalloproteinazların Genel Özellikleri

Ekstrasellüler matriks yıkımı, değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda görülebilmektedir. ESM ve bazal membran yıkımı başlıca dört grup enzim tarafından gerçekleştirilir:

- 1) Sistein proteazlar
- 2) Aspartik proteazlar
- 3) Serin proteazlar
- 4) Metalloproteazlar

Bütün gruplardaki proteolitik enzimlerin tümör invazyonu ve metastaz süreçlerinde görev alabilmelerine karşın, serin proteazlardan MMP'lerin daha aktif rol oynayabilecekleri ortaya konmuştur. (83) MMP'ler, çinko içeren nötral endopeptidaz enzim ailesi olup, ESM'in tüm elemanlarını yıkma özelliğine sahiptirler. MMPler fetal gelişim, postnatal doku tamiri gibi fizyolojik durumlarda ve ESM'in yeniden yapılanmasında önemli rol üstlenirler. Periodontit, derinin otoimmün olayları, dermal foto-yaşlanma, romatoid artrit, osteoartrit ve kronik ülserasyonlar gibi patolojik durumlarda da ESM'in MMP'ler tarafından artmış yıkımı söz konusudur. Serum MMP seviyelerinde artışa yol açan en önemli patolojilerden biri de kanserdir. (84) (85) (86) (87) (88)

Matriks metalloproteinazlar ilk defa 1962 yılında Jerome Gross ve Charles Lapiere tarafından tanımlanmıştır. (89) Yapılarına ve substrat özgüllüklerine göre 5 alt grupta incelenebilirler:

- 1-Kollajenazlar
- 2-Stromelisinler
- 3-Jelatinazlar
- 4-Membran tipi MMPler (MT-MMP)
- 5-Sınıflandırılmayan MMPler

Matriks Metalloproteinazların Yapısı Yapısal olarak incelendiğinde MMPlar 5 ana kısımdan oluşur:

1-Sinyal peptit

2-Propeptit

3-Zn bağlayıcı bölge içeren katalizör kısım

4-Hemopeksin benzeri kısım (substrat spesifitesini belirler)

5-Katalizör kısmı hemopeksin benzeri kısma bağlayan prolinden zengin bölge. (85)

MMP'ler çeşitli yapısal ortak özelliklere sahiptirler. Sinyal peptit endoplazmik retikulumdan ilk sentezlenen proteindir. Propeptit bölge, katalitik çinko bağlayan bölge ile etkileşerek enzimin inaktif formda kalmasını sağlayan bölgedir. Katalizör bölge propeptit bölgenin ayrılması ile yapısındaki çinko iyonları sayesinde enzim aktivitesini sağlayan bölgedir. MMP-7 ve MMP-26 dışındaki diğer MMP'ler C terminalinde hemopeksin/fibronektin benzeri bölge içerirler. Bu bölge aslında hem bağlayan bir peptiddir ve endojen doku inhibitörleri olan TIMP'lerin jelatinaz grubu MMP'lere (MMP-2, MMP-9) ve MMP-13'e bağlanması ile ilişkilidir. (90) Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri (TIMP) Matriks metalloproteinazların proteolitik aktiviteleri hem spesifik olmayan (α -2 makroglobulin, α -1 antiproteaz gibi) hem de spesifik olan inhibitörler (TIMP) ile engellenebilir. (84) TIMP'ler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel rol oynarlar. Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere irreversibl ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar. İnsanlarda TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere bugüne dek tanımlanmış dört TIMP türü bulunmaktadır. TIMPlar de MMPlar gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler. TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır. Ayrıca değişik MMP

türlerine göre de özgüllük gösterirler. Örneğin; Jelatinaz A (MMP-2) tercihen TIMP-2 ile Jelatinaz B (MMP-9) ise TIMP-1 ile inhibe edilir. (90)

2.2.2. Matriks Metalloproteinazların Fizyolojik Fonksiyonları

Normal fizyolojik koşullarda, MMP'ler embriyonik büyüme, doku morfogenezisi ve büyümenin devamlılığı için bağ dokusunda üretilmektedir. Bu üretim, trofoblast implantasyonu, menstürel siklus, ovulasyon, doku hasarının tamiri ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde oldukça önem taşımaktadır. (91) MMP'ların dokuların yeniden yapılandırılmasındaki rollerini gösteren çalışmalar bildirilmiştir. (92) MMP genlerinin, menstürel siklus, ovülasyon gibi reproduktif durumlar ile uterus, meme ve prostat involusyonu sırasında yüksek düzeyde eksprese edildiği bildirilmiştir. (93) (94) Örneğin, kollojenaz 2 ve kollejenaz 3 postpartum uterus involusyonunda up-216 Matriks Metalloproteinaz regüle olmaktadır. (95) (96) Ayrıca gonadotropinin indüklediği ovulasyonda MMP genlerinde ekspresyon olduğu ve MMP' ların folliküler duvar yıkımına yol açtığı bildirilmiştir. (97) MMP-2 ve MMP-3 pubertede meme bezlerinin morfogenezisini düzenlemektedir. MMP-2 ve MMP-9 adiposit differansiyasyonunu sağlayarak adipogeneziste rol almaktadır. (98) MMP'lar aynı zamanda yara iyileşmesinde yara kenarlarındaki hasarlı yüzeyde reepitelizasyonu gerçekleştirmek için keratinosit migrasyonunu sağlar. Hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda MMP-1 in proteolitik aktivitesinin keratinosit migrasyonu için gerekli olduğunu göstermiştir. (2) MMP' ların yara iyileşmesindeki rolü MMP-3 defisitli farelerde yara kontraksiyonundaki bozulması ile gösterilmiştir. (99) Kollojenaz resistans farelerde yara iyileşmesinde gecikme gözlenmiştir. (100) MMP'lar vasküler fonksiy onları da regüle etmektedirler. Örneğin, MMP -2 önemli vazokonstrüktör ajanlardan endotelinin salınımını artırırken, vazodilatasyona yol açan kalsitonin geni ile ilişkili peptidin (calcitonin gene related peptide) düzeyini azaltmaktadır. Yapılan bir çalışmada farelerde MT1 -MMP geni inaktive edilmiştir. Bu inaktivasyonun iskelet ve konnektif dokuda özellikle anjiogenezde defektlere yol açtığı görülmüştür. (101)

2.2.3. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması

MMP'lerin Sınıflandırılması MMP'ler substrat özgülüğü ve homolojisne göre 6 gruba ayrılırlar: kolajenazlar, jelatinazlar, stromelisinler, matrilisinler, membran-tip MMP'ler (MT-MMP) ve diğer MMP'ler (Tablo 2. 3) (102)

Tablo 2.3: MMP ların Sınıflandırılması

No	MMP	Sınıfı	Enzim	Substratlar
1	MMP-1	Kolajenaz	Kolajenaz-1	Kolajen (I-III, VII, VIII ve X), jelatin, agrekan, L-selektin, IL-1 β , proteoglikanlar, entaktin, ovostatin, MMP-2, MMP-9
2	MMP-8	Kolajenaz	Kolajenaz-2 / nötrofil kolajenaz	Kolajen (I-III, V, VII, VIII ve X), jelatin, agrekan, fibronektin
3	MMP-13	Kolajenaz	Kolajenaz-3	Kolajen (I-IV, IX, X ve XIV), jelatin, plazminojen, agrekan, perlekan, fibronektin, osteonektin, MMP-9
4	MMP-18	Kolajenaz	Kolajenaz-4	Tip 1 kolajen
5	MMP-2	Jelatinaz	Jelatinaz-A	Jelatin, kolajen IV-VI, X, elastin, fibronektin
6	MMP-9	Jelatinaz	Jelatinaz-A	Kolajen (IV, V, VII, X ve XIV), jelatin, entaktin, agrekan, elastin, fibronektin, osteonektin, plazminojen, MBP, IL-1 β
7	MMP-3	Stromelisinler	Stromelisin-1	Kolajen (III-V ve IX), jelatin, agrekan, perlekan, dekorin, laminin, elastin, kazein, osteonektin, ovostatin, entaktin, plazminojen, MBP, IL-1 β , MMP-2/TIMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-13
8	MMP-10	Stromelisinler	Stromelisin-2	Kolajen (III-V), jelatin, kazein, agrekan, elastin, MMP-1, MMP-8
9	MMP-11	Stromelisinler	Stromelisin-3	Bilinmiyor (kazein)
10	MMP-17	Stromelisinler	Stromelisin-2'ye homoloji (51.6%)	
11	MMP-7	Matrilisinler	Matrilisin (PUMP)	Kolajen (IV, X), jelatin, agrekan, dekorin, fibronektin, laminin, elastin, kazein, transferrin, plazminojen, MBP, β 4-integrin, MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-9/TIMP-1
12	MP-26	Matrilisinler	Matrilisin-2	Kolajen IV, fibronektin, fibrinogen, jelatin, α (1)-proteinaz inhibitör
13	MMP-14	MT-MMP	MT1-MMP (membran tip)	Kolajen (I-III), jelatin, kazein, fibronektin, laminin, vitronektin, entaktin, proteoglikanlar, MMP-2, MMP-13
14	MMP-15	MT-MMP	MT2-MMP	Fibronektin, entaktin, laminin, agrekan, perlekan; MMP-2
15	MMP-16	MT-MMP	MT3-MMP	Kolajen III, jelatin, kazein, fibronektin, MMP-2
16	MMP-17	MT-MMP	MT4-MMP	
17	MMP-24	MT-MMP	MT5-MMP	Fibronektin, kolajen tip 1 ya da laminin yok
18	MMP-25	MT-MMP	MT6-MMP	Projelatinaz A
19	MMP-12	Diğer enzimler	Makroloj metalloelastaz	Kolajen IV, jelatin, elastin, kazein, fibronektin, vitronektin, laminin, entaktin, MBP, fibrinogen, fibrin, plazminojen
20	MMP-19	Diğer enzimler	RASI 1	Tip 1 kolajen
21	MMP-20	Diğer enzimler	enamelinin	Amelojenin, agrekan, COMP
22	MMP-21	Diğer enzimler	1.kromozomda tanımlı MMP	
23	MMP-22	Diğer enzimler	1.kromozomda tanımlı MMP	
24	MMP-23	Diğer enzimler	İnsan over cDNA'sında	
25	MMP-28	Diğer enzimler	Epilisin	
26	MMP-29		İsminiendirilmemiş	

2.2.4. MMP Enzim Aktivitesinin İnhibisyonu

MMP'lerin spesifik doku inhibitörleri olan TIMP'ler enzim aktivitesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. Bununla birlikte α 2-makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de MMP inhibitörlerindendir (Şekil 2. 2). TIMP 'ler bağ dokusunun düzenlenmesinde temel proteinlerdir. Pek çok vücut dokusu ve sıvılarında bulunurlar. MMP' lere geri

dönüşümsüz ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar. İnsanlarda TIMP-1, 2, 3 ve 4 olmak üzere bugüne dek tanımlanmış 4 TIMP türü bulunmaktadır. TIMP'ler de MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler. Ayrıca değişik MMP türlerine göre de özgüllük gösterirler. Örneğin; Jelatinaz A (MMP-2) tercihen TIMP-2 ile Jelatinaz B (MMP-9) ise TIMP-1 ile inhibe edilirler (103) (104). TIMP'lerin klinik yansımalarına bakıldığında; Tümör dokusunda yüksek seviyede TIMP1 bulunmasının klasik adjuvan kemoterapi üstünde azaltıcı yararının olduğu ve primer meme kanserinde tümör dokusunda artmış TIMP1'in kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmiş, yine CD63'e bağlanması ile hücre gelişimi ve apoptozisi inhibe ettiği ama TIMP'lerin fonksiyon gösterme mekanizmalarının doku mikroçevresine bağlı olduğu bildirilmiştir. 50 Belirli hücre tiplerinde TIMP1 ve TIMP2'nin büyüme faktörü gibi aktivite gösterdiği ve kanser hücrelerinin tümörojenik ve metastatik fenotiplerini inhibe edebildiği de ayrıca saptanan bulgular arasındadır (102). TIMP1 ve TIMP2'nin eritrosit üretimini arttırması ve hücre gelişimi gibi düzenleyici aktivitelerinin olduğu, TIMP1/TIMP2/TIMP3 overekspresyonunun tümör gelişimini azalttığı, TIMP3'ün proapoptotik aktivite, TIMP1 ve TIMP2'nin ise antiapoptotik aktivitesinin olduğu bilinmektedir (105). TIMP4'ün plazma konsantrasyonunun kalp yetmezliği tanısında bir belirteç olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir (102). Son yıllarda peptid ve non-peptid yapıda sentetik MMP inhibitörleri de üretilmiştir. Bu inhibitörler en çok kanser tedavisinde olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, artrit, psöriyazis, peridontal hastalık ve makula dejenerasyonu gibi farklı hastalıkların tedavisinde denenmiştir. Bu ilaçların düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu azalttıkları, dolayısıyla ateroskleroz gelişimini inhibe ettikleri de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (106). Kolesterol biyosentezinde anahtar enzim olan HMGCoA redüktaz enzimini inhibe ederek etki gösteren statinlerin de lipid düşürücü etkilerinden farklı olarak MMP sentez ve aktivitesini ve böylece aterosklerotik plak oluşumunu azalttıkları bildirilmiştir. Son yıllarda özellikle makrofajlar tarafından gerçekleştirilen MMP sentezine PGE2'ye

bağlı bir yolağın aracılık ettiği ve buna siklooksijenaz (COX) ve PGE sentaz (PGES) enzimlerinin katıldığı bildirilmiştir. Bu nedenle spesifik COX-2 inhibisyonunun MMP ekspresyonunu inhibe edebileceği ileri sürölmektedir. Ateroskleroz ve kanser gibi MMP aktivitesinin arttığı patolojik durumlarda, endotelin (ET) reseptör antagonistlerinin, ET ile uyarılan MMP ekspresyon ve aktivitesini de inhibe ettikleri gösterilmiştir (106).



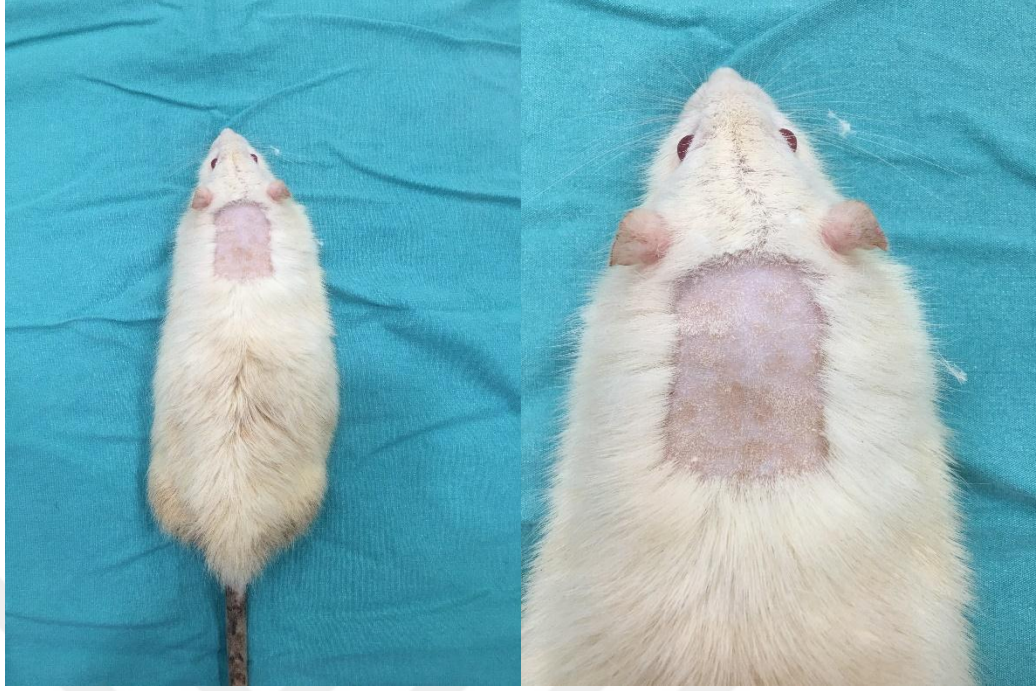
GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMA TİPİ, YERİ VE ORTAMI

Deney hayvanları Çalışmamız Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun HDK-2016-32 sayılı onayı ile 01. 02. 2017 – 02. 03. 2017 tarihleri arasında Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde (ACU-DEHAM) gerçekleştirildi (Proje No:31). Çalışmada 250–400 gr. ağırlıkları arasında 40 adet sprague dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar, 1'erli kafeslerde, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile 12 saat gece, 12 saat gündüz ortamında, sürekli 20°C oda sıcaklığı sağlanarak ve klimayla havalandırılarak muhafaza edildi.

3.2. ANESTEZİ VE CERRAHİ ÖNCESİ HAZIRLIK

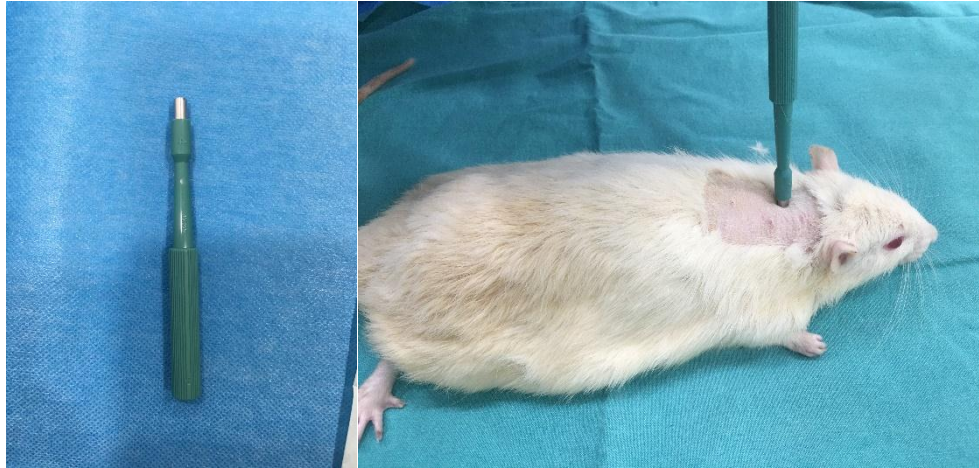
Anestezi, 100 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, EWL Eczacıbaşı Warner Lambert İlaç Sanayi ve Ticaret A. Ş., İstanbul) ve 5 mg/kg klorpromazin (Rompun® Bayer İstanbul) intraperitoneal verilerek sağlandı. Cerrahi öncesi profilaksi için 83 mg sefazolin intramuskuler olarak uygulandı. Cerrahi öncesinde deneklerin sırt bölgelerindeki tüyler elektrikli traş makinesi ile kesildi. Cerrahi saha standardize povidon iodinli solüsyon ve serum fizyolojik ile temizlendi.



Şekil 3.1: Deneklerin cerrahi işlem öncesi hazırlanması

3.3. YARA MODELLERİ

Deneklerin her birinin sırt bölgesine 4 mm'lik punch biyopsi aleti ile dairesel tam kat 4 adet eksizyonel yara modellerine uygun olacak şekilde (79) açık yaralar oluşturuldu.



Şekil 3.2: Deneklerde 4 mm lik punch biyopsi ile açık yara oluşturulması

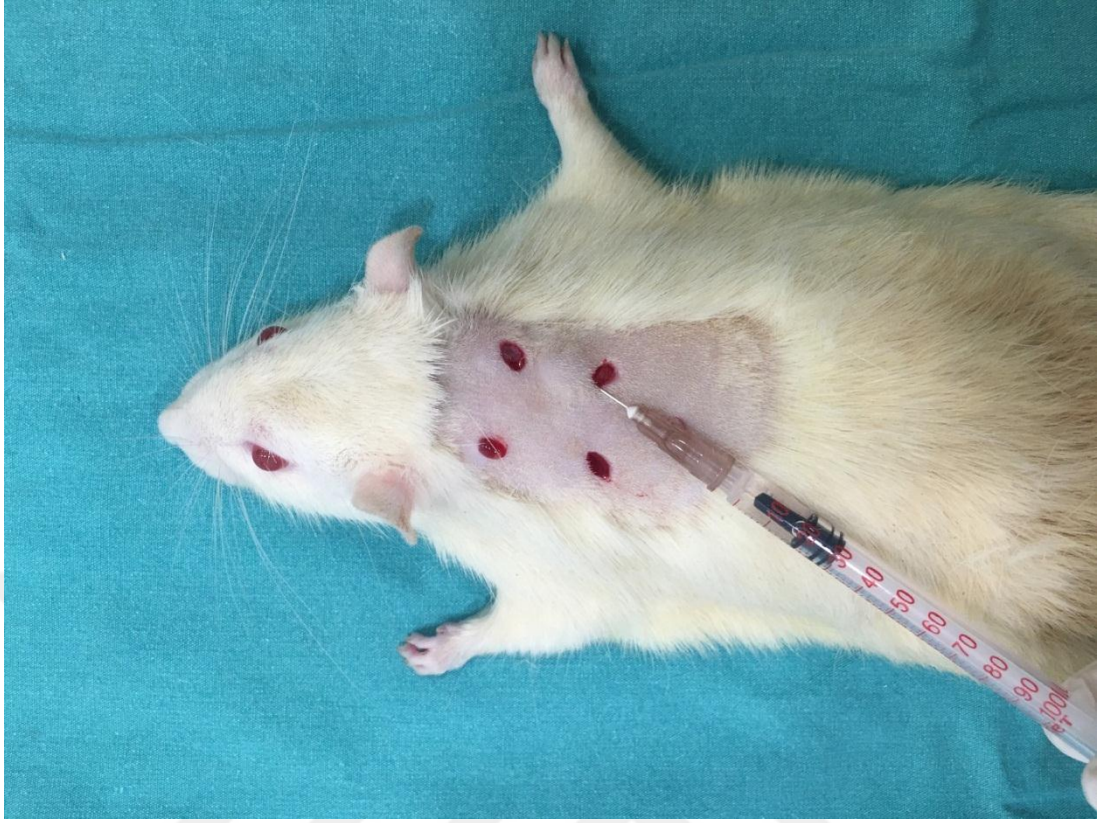


Şekil 3.3: Denekte oluşturulan açık yara yerlerinin görünümü

3.4. MMP 1'İN İNTRALEZYONEL VE SİSTEMİK UYGULANMASI

Deney için temin edilen MMP-1 (Sigma Aldrich MMP-1 Human^R) , cam şişe içerisinde toz halindeydi. Üretici firmanın önerisi doğrultusunda MMP-1 enzimi uygulama öncesinde serum fizyolojik içinde 0. 5-1. 0mg/ml oranında çözünerek hazırlandı. Yine üretici firmanın önerisi doğrultusunda -20 oC'lik buzlukta saklandı.

Deneyde kullanılacak enjeksiyonlar için 2 dizyem MMP-1, 3 cc serum fizyolojik içinde 300 ng (0. 0003 mg MMP 1) çözdürülerek hazırlandı. Hazırlanan karışımdan, ilk 7 gün, punch biyopsi ile oluşturulan tam kat 4 mm lik açık yaralara, intralezyonel olarak yara üzerine homojen olarak 1'er dizyem uygulandı. Sistemik uygulama için yine 3 cc içinde 300 ng (totalde 0. 0003 mg) MMP 1 çözdürülerek sıvı hale getirildi. Sistemik uygulamalar intraperitoneal uygulandı. IP uygulama ilaç dozları her bir sıçan için, lokal gruplara uygulanan toplam ilaç dozuna eşit olacak şekilde ayarlandı. Firmanın önerisi üzerine ilaç -20 C de saklandı. İlaç hazırlamaları, günlük yapılarak ilaç etkinlikleri korundu.



Şekil 3.4: Açık yaraya MMP 1 enzim enjeksiyonu

3.5. DENEY GRUPLARI

Deneyde kullanılan sıçanlar her grupta 8 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Her bir grubun sırt kısmından uygun saha temizliğini takiben 4 er adet 4 mmlik punch biyopsi ile açık yaralar oluşturuldu. 5 grubun 3 adeti kontrol grubu olarak 2 adeti de deney grubu olarak belirlendi. Bunlardan kontrol grubu 1'deki sıçanlara yara iyileşme sürecinde herhangi bir sistemik ya da lokal müdahalede bulunulmadı. Kontrol grubu 2 deki sıçanların sırttaki açık yaralarına intralezyonel olarak 1 er dizyem serum fizyolojik enjeksiyonu uygulanırken, kontrol grubu 3 teki sıçanlara sistemik olarak, kontrol grubu 2 deki sıçanlara intralezyonel olarak uygulanan serum fizyolojik dozu toplamı kadar serum fizyolojik, intraperitoneal olarak uygulandı. Belirlenen 2 adet deney grubundan deney grubu 1 deki sıçanların oluşturulan açık yaralarına birinci günden itibaren ilk 7 gün, günde bir defa olmak üzere, 1 er dizyem (3 cc içinde 300 ng = 0. 0003 mg MMP 1 çözdürülerek) MMP 1 intralezyonel olarak insülin enjektörü yardımıyla enjekte edildi. Deney grubu 2 ye ise yine birinci günden itibaren

Gereç ve Yöntem

ilk 7 gün, günde bir defa intraperitoneal olarak (sistemik) , 3cc içinde 0.0003 mg MMP 1 çözündürülerek 1 dizyem MMP 1 çözeltisi uygulandı. Cerrahi sonrası 21 gün boyunca denekler günlük olarak takip edildi. Her bir grubun 4 adet biyopsi yerlerinden; 1 nolu biyopsi sahasından 4. günde, 2 nolu sahadan 7. günde, 3 nolu sahadan 14. günde, 4 nolu sahadan 21. günde tekrar biyopsiler alındı. Tüm deneklerin yaraları açık bırakıldı. Pansuman uygulanmadı. Deney müddetince herhangi bir denekte enfeksiyonla karşılaşılmadı. Deney çalışma planı Tablo 3. 1 'de özetlenmiştir.

TABLO 3. 1:Deney çalışma planı

GRUPLAR	
	8 adet sıçanda tarif edildeği şekilde sırt derisine 4 adet 4 mm lik açık yara oluşturuldu. Ardından; 1 nolu biyopsi alanından 4. günde 2 nolu biyopsi alanından 7. günde 3 nolu biyopsi alanından 14. günde 4 nolu biyopsi alanından 21. günde Epitelizasyon seviyeleri ve yara iyileşme hızlarını karşılaştırmak üzere tekrar doku biyopsileri alınmıştır.
Kontrol grubu 1	Gruptaki tüm sıçanlara lokal veya sistemik bir müdahalede bulunulmamıştır.
Kontrol grubu 2	Gruptaki tüm sıçanlarda bulunan 4 adet yara bölgesine 1 er dizyem SF ilk 7 gün intralezyonel enjekte edilmiştir.
Kontrol grubu 3	Gruptaki tüm sıçanlara intraperitoneal olarak intralezyonel SF uygulanan gruba uygulanan ilaç dozu toplamı kadar serum fizyolojik enjekte edilmiştir.
Deney grubu 1	Gruptaki tüm sıçanlarda bulunan 4 adet yara bölgesine 1 er dizyem MMP 1 ilk 7 gün intralezyonel enjekte edilmiştir.
Deney grubu 2	Gruptaki tüm sıçanlara intraperitoneal olarak, intralezyonel MMP 1 uygulanan gruba uygulanan ilaç dozu toplamı kadar MMP1 maddesi enjekte edilmiştir.

3.6. SAKRİFİKASYON YÖNTEMİ VE ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Yirmibir gün süren çalışmamızın sonunda sıçanlar, yüksek doz anestezi madde uygulanarak 21. gün sakrifiye edildi.

Alınan tüm örnekler histopatolojik olarak incelenmek üzere Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalından bir patoloğa teslim edildi. Tüm incelemeler tek bir patolog tarafından gerçekleştirdi.

3.7. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Bütün deneklerden 4.,7.,14. ve 21. günlerde yara yeri kenarından 4mm'lik punch biyopsi ile alınan örnekler, %10'luk tamponlanmış , formaldehit içerisinde fikse edildi. Histopatolojik incelemeler için dokulardan 5-7 µm kalınlığına kesitler alındı. Örnek kesitlere, dokunun genel özelliklerinin araştırmak amacı ile Hemotoksilen -Eosin (H&E) , kollajen dağılımını saptamak amacı ile Masson'un üçlü boyası uygulandı. Tüm değerlendirmeler patolojla önceden belirlendi ve incelendi. Patolog; gruplar ve kullanılan ilaçlar hakkında bilgi verilmeksizin sadece örneğin yara iyileşmesinin hangi günde alındığı konusunda bilgilendirildi. Her örnekte daha önceden belirlenen parametreler değerlendirildi. Bu değerlendirilmelerde, bir büyütme alanındaki (1 BBA) yoğunluğa göre hiç yoğunluk olmaması 0, hafif yoğunluk olması 1, orta yoğunluk olması 2 ve şiddetli yoğunluk olması 3 olarak derecelendirildi.

Epidermis en ince alan, fibrozis ve granülasyon dokusu en kalın alan tespit edildi. Önceden oluşturulmuş , histopatolojik inceleme formunda krut şiddeti (0-1-2-3) , lenfositik yanıt (0-1-2-3) vasküler proliferasyon (0-1-2-3) , fibroblast proliferasyonu (0-1-2-3) , epitel hiperplazisi (0-1-2-3) , yabancı cisim reaksiyonu (0-1-2-3) , ülser oluşumu (0-1-2-3) , akut inflamasyon (0-1-2-3) , keloid skar oluşumu (var-yok) ve hipertrofik skar oluşumu (0-1-2-3) olmak üzere on adet parametre göz önüne alınarak değerlendirmeye alındı ve kaydedildi. Biyopsinin alındığı gün dışında bilgi sahibi olmayan patolojla değerlendirmeler yapıldı.

3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Nitel değişkenlerde bağımsız gruplar arasındaki denetim 2*2 dışındaki tablolarda Likelihood- ratio testiyle yapıldı. Sıralı değişkenlerin eş kümelerdeki değerlendirilmesi Friedman testiyle sağlandı. Anlamlılık sınır değeri 0,05 olarak kabul edildi.

Gereç ve Yöntem

Tümruplar 4.,7.,14. ve 21. günlerinde alınan biyopsiler baz alınarak dokunun krut şiddeti, lenfositik yanıt, vasküler proliferasyon, fibroblast proliferasyonu, epitel hiperplazisi, yabancı cisim reaksiyonu, ülser oluşumu, akut inflamasyon, keloid skar oluşumu ve hipertrofik skar oluşumu açısından birbirleriyle karşılaştırıldılar.



BULGULAR

Çalışmamızda Şubat 2017 ile Mart 2017 tarihleri arasında, Acıbadem Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi Hayvan Deneyi Laboratuvarında gerçekleştirildi. Toplam üç kontrol ve iki deney grubu olmak üzere 40 adet, 250-400 gram ağırlığında Sprague-Dawley cinsi, 4 aylık erkek sıçanlar kullanıldı. Gruplara sırasıyla sadece yara, yara+sistemik SF, yara +intralezyonel SF, yara +intralezyonel MMP1, yara + sistemik MMP 1 uygulanarak, tam kat yara yeri biyopsi örneklerinin 4., 7., 14. ve 21. günlerdeki makroskopik ve histopatolojik değişikliklerinin karşılaştırılması amaçlandı. İncelenen parametrelere göre elde edilen bulgular aşağıda sunulmaktadır.

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Histopatolojik bulgular tüm gruplardan 4., 7., 14. ve 21. Günlerde alınan yara yeri biyopsilerinin, krut şiddeti, lenfositik yanıt, vasküler proliferasyon, fibroblast proliferasyonu, epitel hiperplazisi, yabancı cisim reaksiyonu, ülser oluşumu, akut inflamasyon, keloid skar oluşumu ve hipertrofik skar oluşumu olmak üzere on adet parametrenin gruplar arası kıyaslanmasıyla belirlenmiştir.

Bulgularda yer alan tablolarda kontrol grubu 1, grup 1 olarak; kontrol grubu 2, grup 2 olarak; kontrol grubu 3, grup 3 olarak; deney grubu 1, grup 4 olarak; deney grubu 2 ise grup 5 olarak isimlendirilmiştir.

4.1.1. Krut Şiddetinin Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney gruplarının, krut şiddeti karşılaştırıldıklarında 4., 7., 14. ve 21. günde anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Bulgular

şılaştırıldıklarında 4., 7., 14. ve 21. günde anlamlı farklılık gözlenmemiştir. (4. gün: p=0,1,7. gün:p=0,313, 14. gün: p=0, 21. Gün p=0)

4.1.2. Epitel Hiperplazisinin Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney gruplarının, epitel hiperplazisi karşılaştırıldıklarında 4. ve 7. günde anlamlı farklılık gözlenmemiştir (4. gün: p=0,091, 7. gün: p=0,115).

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney grupları, epitel hiperplazisi açısından karşılaştırıldıklarında 14. ve 21. günde anlamlı farklılık gözlenmiştir (14. gün: p<0,001, 21. gün: p<0,001)

14. günde şiddetli hiperplazi varlığı sadece 2. Deney grubunda 2 hayvanda mevcuttu. Kontrol grubu 3'teyse hiçbir hayvanda epitel hiperplazisi izlenmedi.

Tablo 4.1: 14. Günde, gruplar arası epitel hiperplazisi gösterilmektedir

		EHP ŞİDDETİ	EHP ŞİDDETİ	EHP ŞİDDETİ	EHP ŞİDDETİ	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	4	4	0	8
		0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	4	4	0	0	8
		50,0%	50,0%	0,0%	0,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	8	0	0	0	8
		100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	7	0	1	0	8
		87,5%	0,0%	%12.5	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	2	3	0	2	7
		28,6%	42,9%	0,0%	5,1%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	21	11	5	2	39
		53,8%	28,1%	12,8%	5,1%	100%

21. günde şiddetli hiperplazisi varlığı hiçbir grupta gözlemlenmemiştir. Kontrol grubu 1 ve 2 'deyse 11 hayvanda hafif derecede epitel hiperplazisi izlenmiştir.

Tablo 4.2: 21. günde, gruplar arası epitel hiperplazisi gösterilmektedir.

	SIÇAN SAYISI	EHP ŞİDDETİ	EHP ŞİDDETİ	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	8	8
		0,0%	100,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	5	3	8
		62,5%	37,5%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	7	0	8
		100%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	7
		100%	0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	28	11	39
		71,8%	28,2%	100%

4.1.3. Vasküler Proliferasyonun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney grupları, vasküler proliferasyon açısından karşılaştırıldıklarında 4.,7. ve 21. günlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiler. (4. gün $p < 0.001$, 7. gün $p < 0,005$, 21. gün $p = 0,013$)

Bulgular

Tablo 4.3: 4. günde, gruplar arası vasküler proliferasyon gösterilmektedir.

		VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	4	4	0	8
		0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	1	2	5	0	8
		12,5%	25%	62,5%	0,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	1	1	3	3	8
		12,5%	12,5%	37,5%	37,5%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	2	4	1	1	8
		25%	50,0%	%12.5	%12.5	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	0	0	7
		100%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	11	11	13	4	39
		28,2%	28,2%	33,3%	10,3%	100%

4. günde şiddetli vasküler proliferasyon kontrol grubu 3'te 3 hayvanda deney grubu 1'de 1 hayvanda gözlemlenirken; deney grubu 2 'de hiçbir hayvanda gözlenmemiştir.

14. gün vasküler proliferasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. ($p=0,602$)

Bulgular

Tablo 4.4: 14. günde, gruplar arası vasküler proliferasyon gösterilmektedir.

		VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	8	0	0	8
		0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	5	1	2	0	8
		62,5%	12,5%	25%	0,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	4	1	3	0	8
		50,0%	12,5%	37,5%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	1	6	1	0	8
		%12.5	75%	%12.5	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	1	3	2	1	7
		14,3%	42,9%	28,6%	14,3%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	11	11	13	4	39
		28,2%	28,2%	33,3%	10,3%	100%

14. günde şiddetli vasküler proliferasyon sadece deney grubu 2 de 1 hayvanda gözlenmiştir.

21. günde şiddetli vasküler proliferasyon sadece kontrol grubu 2 de 1 hayvanda gözlenmiştir.

Bulgular

Tablo 4.5: 21. günde, gruplar arası vasküler proliferasyon gösterilmektedir.

		VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	VASKÜLER PROLİFERASYON	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	5	3	0	8
		62,5%	37,5%	0,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	3	4	1	8
		%37,5,5	50,0%	12,5%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	8	0	0	8
		100%	0,0%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	8	0	0	8
		100%	0,0%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	0	7
		100%	0,0%	0,0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	11	11	13	39
		79,5%	17,9%	2,6%	100%

Vasküler proliferasyonun; 7. günde kontrol grubu 3 ve deney grubu 1 in karşılaştırılmasında; deney grubu 1 de anlamlı olarak artmış olduğu görüldü. (p:0,031)

Vasküler proliferasyonun; 7. günde kontrol grubu 2 ve deney grubu 1 in karşılaştırılmasında; deney grubu 1 de anlamlı olarak artmış olduğu görüldü. (p:0,027)

Vasküler proliferasyonun; 7. günde deney grubu 1 ve kontrol grubu 1, deney grubu 2 karşılaştırılmasında; anlamlı bir fark saptanmamıştır.

4.1.4. Lenfosit Yöneliminin Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney grupları, lenfosit infiltrasyonu açısından karşılaştırıldıklarında 4., 14., ve 21. günlerde istatistiksel olarak anlamlı fark gösterirken

Tablo 4.6: 4. günde, gruplar arası lenfosit yönelimi gösterilmektedir.

		LENFOSİT YÖNELİMİ	LENFOSİT YÖNELİMİ	LENFOSİT YÖNELİMİ	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	8	0	8
		0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	0	8	0	8
		0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	0	1	7	8
		0,0%	12,5%	87,5%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	6	2	0	8
		75%	25%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	1	6	0	7
		14,3%	87,5%	0,0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	7	25	7	39
		17,9%	64,1%	17,9%	100%

(4. gün $p < 0.0001$, 14. gün $p < 0.001$, 21. gün $p < 0,0001$) 7. günde ise anlamlı istatistik gözlenmedi. (7. gün: $p = 0,099$).

Tablo 4.7: 14. günde, gruplar arası lenfosit yönelimi gösterilmektedir.

	SIÇAN SAYISI	LENFOSİT YÖNELİMİ	LENFOSİT YÖNELİMİ	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	8	8
		0,0%	100,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	0	8	8
		0,0%	100,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	6	2	8
		75%	25%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	4	4	8
		50,0%	50,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	4	3	7
		50,0%	42,9%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	14	25	39
		35,9%	64,1%	100%

4. günde şiddetli lenfosit infiltrasyonu kontrol grubu 3'te 7 hayvanda gözlemlenirken; diğer gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir.

14. günde şiddetli lenfosit infiltrasyonu tüm gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. En yoğun lenfosit infiltrasyonuysa kontrol grubu 1 ve 2 de gözlenmiştir.

21. günde şiddetli lenfosit infiltrasyonu tüm gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. En yoğun lenfosit infiltrasyonuysa kontrol grubu 1 de gözlenirken deney grubu 1 de sadece 1 hayvanda deney grubu 2 deyse hiçbir hayvanda gözlenmemiştir.

Tablo 4.8: 21. gündeki gruplar arası lenfosit infiltrasyonu arası farklar gösterilmektedir.

		LENFOSİT YÖNELİMİ	LENFOSİT YÖNELİMİ	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	8	8
		0,0%	100,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	3	5	8
		37,5%	62,5%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	3	5	8
		37,5%	62,5%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	7	1	8
		87,5%	12,5%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	7
		100,0%	0,0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	20	19	39
		51,3%	48,7%	100%

4.1.5. Yabancı Cisim Reaksiyonunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Deney ve kontrol gruplarının bütününde, hiçbir günde yabancı cisim reaksiyonu gözlenmemiştir. Biyopsi alınan günlerde gruplarda yabancı cisim reaksiyonu karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

4.1.6. Fibroblast Proliferasyonunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre ve gruplar arasında fibroblast proliferasyonu varlığı karşılaştırıldığında 4. ve 21. günlerde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. (4. gün $p < 0.0001$, 21. gün $p = 0,0004$)

Tablo 4.9: 4. gündeki gruplar arası fibroblast proliferasyonu farkları gösterilmektedir.

		FİBROBLAST PROLİFERASYONU	FİBROBLAST PROLİFERASYONU	FİBROBLAST PROLİFERASYONU	FİBROBLAST PROLİFERASYONU	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	0	6	2	0	8
		0,0%	75%	25%	0,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	2	2	2	2	8
		25%	25%	25%	25%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	0	1	7	0	8
		0,0%	12,5%	87,5%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	0	8	0	0	8
		0,0%	100%	0,0%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	6	1	0	0	7
		87,5%	14,3%	0,0%	0,0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	8	18	11	2	39
		20,5%	46,2%	28,2%	5,1%	100%

4. günde şiddetli fibroblast proliferasyonu sadece kontrol grubu 2 de 2 hayvanda gözlemlenirken; diğer gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. Ayrıca deney grubu 1 ve 2 de fibroblast proliferasyonu 6 hayvanda hiç fibroblast proliferasyonu gözlenmezken; 9 hayvanda sadece hafif derecede fibroblast proliferasyonu gözlenmiştir.

21. günde en şiddetli fibroblast proliferasyonu kontrol grubu 1 de 1 hayvanda gözlenirken diğer gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir.

4.1.7. Ülser Varlığının Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan 4.,7.,14. ve 21. günlerde ülser oluşumlarına bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. (4. gün $p=0,124$, 7. gün $p=0,253$, 14. gün $p=0$ 21. gün $p=0$).

4.1.8. Akut İnflamasyonun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney grupları, akut inflamasyon açısından karşılaştırıldıklarında 7.,14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. (7. gün $p=0.544$, 14. gün $p=0,545$, 21. gün $p:0,445$)

4. gün akut inflamasyon dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. ($p<0,001$)

Tablo 4.10: Gündeki gruplar arası akut inflamasyon farkları gösterilmektedir.

	SIÇAN SAYISI	AKUT İNFLAMASYON	AKUT İNFLAMASYON	AKUT İNFLAMASYON	TOTAL
		1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	4	3	1	8
		50,0%	37,5%	12,5%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	2	2	4	8
		25%	25%	50,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	1	6	1	8
		12,5%	75%	12,5%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	0	1	7	8
		0,0%	12,5%	87,5%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	6	0	1	7
		87,5%	0,0%	14,3%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	13	12	14	39
		33,3%	30,8%	35,9%	100%

4. günde şiddetli akut inflamasyon kontrol grubu 4'te 7 hayvanda grup 2'te 4 hayvanda gözlenmiştir.

4.1.9. Keloid Formasyonunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan 4.,7.,14. ve 21. günlerde keloid oluşumlarına bakıldığında hiçbir grupta keloid oluşumuna rastlanılmamıştır.

4.1.10. Hipertrofik Skar Oluşumunun Gruplar Arasında Değerlendirilmesi

Biyopsi alınan günlere göre; kontrol ve deney grupları, hipertrofik skar oluşumu açısından karşılaştırıldıklarında 7., 14., ve 21. günlerde istatistiksel olarak anlamlı fark gösterirken (7. gün $p < 0.0001$, 14. gün $p = 0.005$, 21. gün $p < 0,0001$) 4. günde ise hiçbir grupta hipertrofik skar oluşumu gözlenmedi.

Tablo 4.11: Gündeki gruplar arası hipertrofik skar oluşumu farkları gösterilmektedir.

	SIÇAN SAYISI	HİPERTROFİK SKAR	HİPERTROFİK SKAR	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	2	6	8
		25%	75%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	2	6	8
		25%	75%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	7
		100%	0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	27	12	39
		69,2%	30,8%	100%

7. günde kontrol grubu 1 ve 2'de skar oluşumu gözlenmiştir.

Tablo 4.12: Gündeki gruplar arası hipertrofik skar oluşumu farkları gösterilmektedir.

		HİPERTROFİK SKAR	HİPERTROFİK SKAR	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	4	4	8
		50,0%	50,0%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	7
		100%	0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	35	4	39
		89,7%	10,3%	100%

14. günde sadece kontrol grubu 1 'de skar oluşumu gözlenmiştir.

Tablo 4.13: Gündeki gruplar arası hipertrofik skar oluşumu farkları gösterilmektedir.

		HİPERTROFİK SKAR	HİPERTROFİK SKAR	TOTAL
		0 (Yok)	1 (Hafif)	
GRUP 1	SIÇAN SAYISI	3	5	8
		37,5%	62,5%	100,0%
GRUP 2	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 3	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100,0%	0,0%	100,0%
GRUP 4	SIÇAN SAYISI	8	0	8
		100%	0,0%	100,0%
GRUP 5	SIÇAN SAYISI	7	0	7
		100%	0%	100,0%
TOTAL	SIÇAN SAYISI	34	5	39
		87,2%	12,8%	100%

21. günde sadece kontrol grubu 1 de skar oluşumu gözlenmiştir.

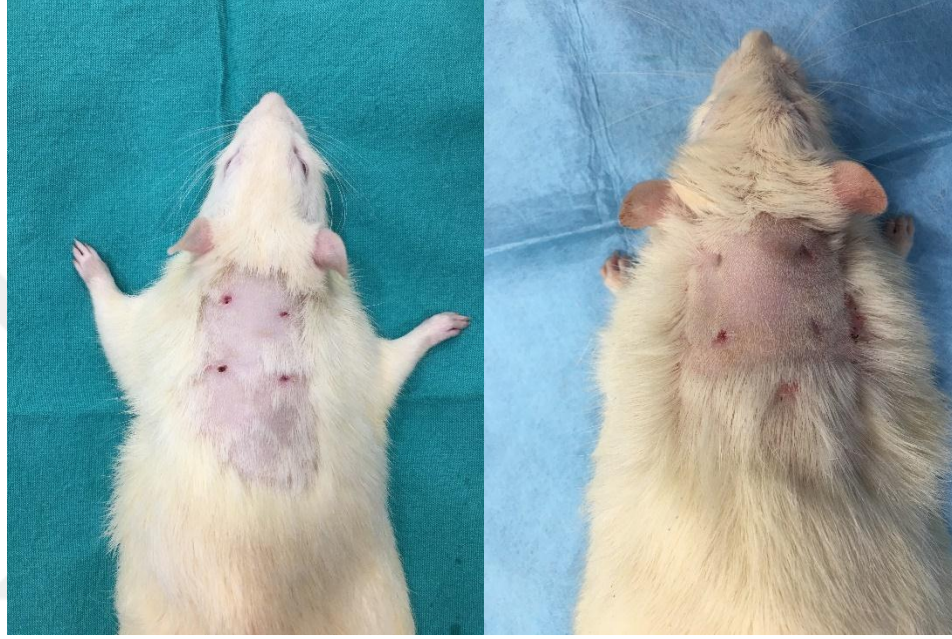
Hipertrofik skarın; 7. günde kontrol grubu 1 ve deney grubu 1 in karşılaştırılmasında; deney grubu 1'de anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü (p:0,007). Fisher testiyle hesaplanan rölatif risk: 0,25 bulundu. Kontrol grup 1'deki deneklerde, deney 1'deki deneklere göre 4 kat fazla skar gelişimi gözlemlendi.

Hipertrofik skarın; 7. Günde kontrol grup 2 ve deney grubu 1 karşılaştırılmasında; deney grubu 1 de anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü (p=0,007). Fisher testiyle hesaplanan rölatif risk: 0,2 bulundu. Kontrol grup 2'deki deneklerde, deney grup 1'deki deneklere göre 5 kat fazla skar gelişimi gözlemlendi.

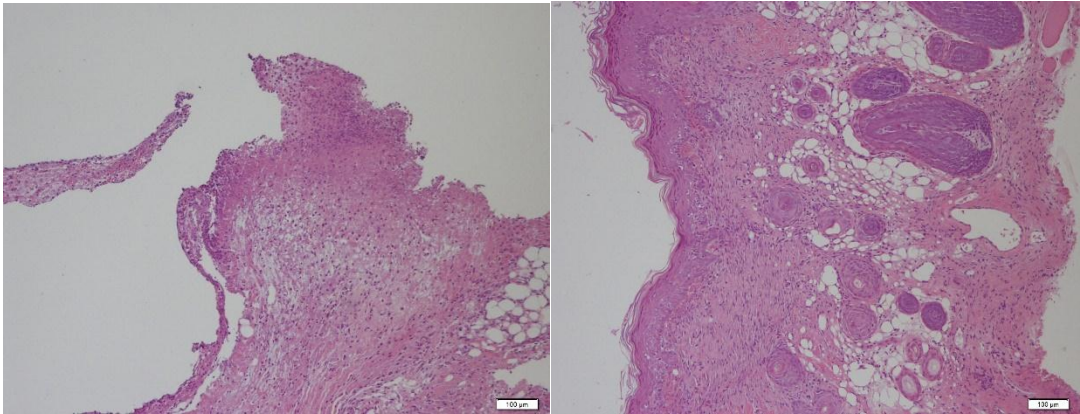
Hipertrofik skarın; 7. günde deney 1 ve deney 2 ve kontrol grubu 3 karşılaştırılmasında; anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Bulgular

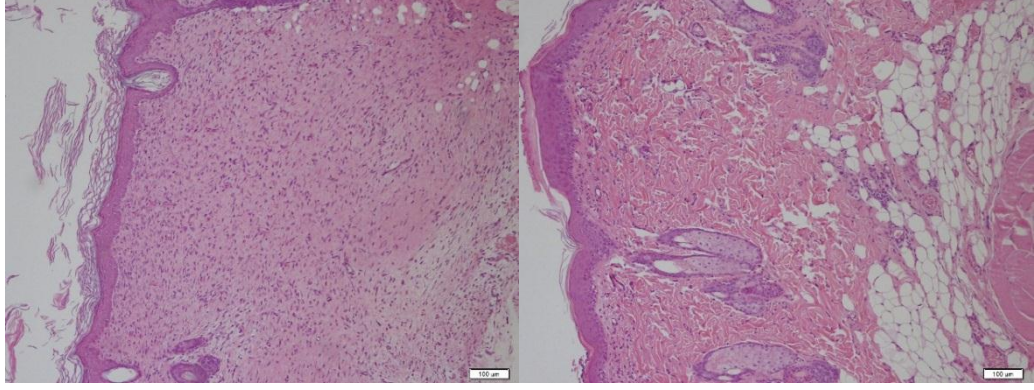
Sonuçlara bakıldığında kurut şiddeti, ülser oluşumu, akut inflamasyon, keloid oluşumu ve epitel hiperplazisi arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca deney grupları kendi aralarında tüm biyopsi günlerinde kıyaslandığında hiçbir parametrede gruplar arası anlamlı bir fark saptanmamıştır.



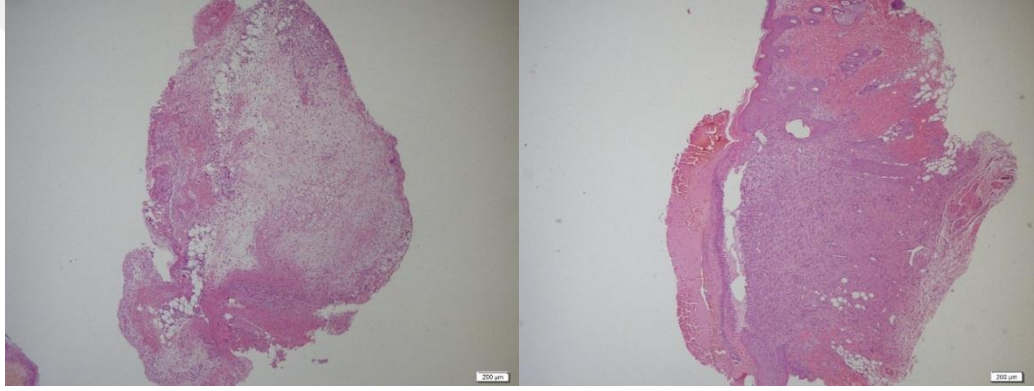
Şekil 4.1: Deneklerin 7. Gün ve 21. Gün Fotoğrafları



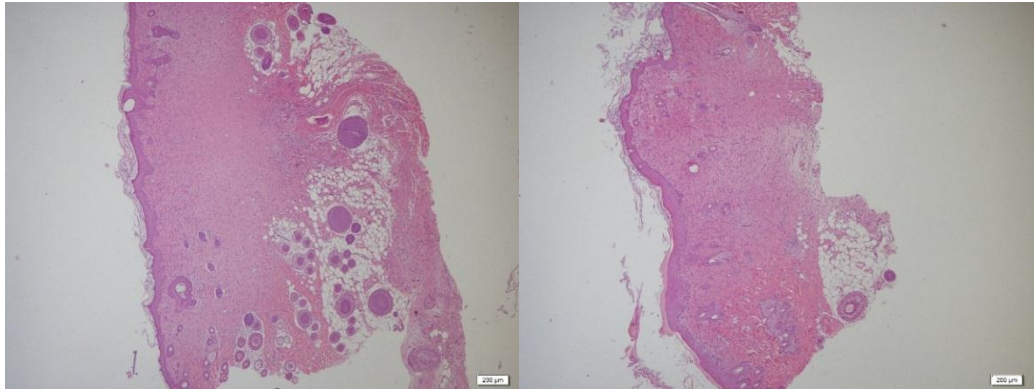
Şekil 4.2: Grup 1 den alınan biyopsilerin 4. (sol) ve 7. (sağ) gün histopatolojik görünüşleri



Şekil 4.3: Grup 1'den alınan biyopsilerin 14. (sol) ve 21. (sağ) gün histopatolojik görünüşleri



Şekil 4.4: Grup 4'ten alınan biyopsilerin 4. (sol) ve 7. (sağ) gün histopatolojik görünüşleri



Şekil 4.5: Grup 4'ten alınan biyopsilerin 14. (sol) ve 21. (sağ) gün histopatolojik görünüşleri

TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. TARTIŞMA

Normal fizyolojik koşullarda, MMP'lar embriyonik büyüme, doku morfogenezisi ve büyümenin devamlılığı için bağ dokusunda üretilmektedir. Bu üretim, trofoblast implantasyonu, menstürel siklus, ovulasyon, doku hasarının tamiri ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde oldukça önem taşımaktadır. (91) MMP'ların dokuların yeniden yapılandırılmasındaki rollerini gösteren çalışmalar da bildirilmiştir. (92) Ayrıca matriks metalloproteinazların, yara iyileşmesinde, yara kenarlarındaki hasarlı yüzeyde reepitelizasyonu gerçekleştirmek için keratinosit migrasyonunu sağladığı da gösterilmiştir. Kees S. ve arkadaşları 1997 de hücre kültürlerinde yaptıkları bir çalışmada, matriks metalloproteinaz enzim grubunun bir üyesi olan MMP-1 enziminin proteolitik aktivitesinin keratinosit migrasyonu için gerekli olduğunu göstermişlerdir. (2)

2013 yılında X Mu ve arkadaşlarının MMP 1 enzimi ile yaptıkları başka bir çalışmada kısmi rejenerasyon sağlanmıştır. Farelerle yapılan çalışmada deneklerin ayak 1. parmakları intertarsal eklemden ampute edilmiş ardından yara yerine ilk yedi gün intralezyonel MMP 1 enzimi uygulanmıştır. Çalışma bitiminde ampute distal falanksın rejenera olarak tekrar çıktığı gözlenmiştir. Ancak aynı prosedür proksimal intertarsal eklemlerden uygulandığında rejenerasyon gerçekleşmemiştir. (107)Yine aynı çalışmada ilk 24 saat içinde tüm açık yarada epitelizasyon tamamlanmıştır. Biz de literatürdeki bu bilgileri göz önünde bulundurarak MMP 1 enziminin uygun denekler üzerinde olası rejenerasyon, skarsız yara iyileşmesi ve epitelizasyon üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

Soylu A. ve arkadaşlarının 2006 da yaptıkları bir çalışmada, MMP' ların yara iyileşmesindeki rolü, MMP-3 defisitli farelerde yara kontraksiyonundaki bozulma ile gösterilmiştir. (99) Flataue ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da kollojenaz resistans farelerde yara iyileşmesinde gecikme gözlenmiştir. (100) Bettina Harteinstain ve arkadaşlarının yine kollejenaz ailesine mensup MMP-13 enziminin defisiti oluşturulmuş farelerde yaptıkları bir çalışmada yara kontraksiyonundaki bozulma gösterilmiştir. (108)

Mitsuse Inoue ve arkadaşları 1995 te; MMP-1 enzimi ve epitelizasyon arasındaki etkileşimi anlamak için in vitro ve in vivo başka bir çalışma yapmışlar. In vivo çalışmalarında 3 adet sağlıklı gönüllü kullanılmış. Gönüllülerin bacaklarında 6 mmlik punch biyopsi ile açık defektler oluşturulmuş. Bu yaralardan 1.,2.,3.,4.,6.,14. günlerde tekrar biyopsiler alınmış. Histopatolojik inceleme sonrası Fisher testiyle analizler yapılmış. Çalışmada yara kenarlarındaki bazal keratinositlerde, kollejenaz sentezinin ilk gün pik yaptığı ve 9. güne kadar azalarak, yara iyileşmesini takiben yok oldukları gözlemlenmiş. Aynı çalışmada başka hastalardan, meme küçültme operasyonlarında alınan derilerle, kollejenazlar in vitro olarak gözlemlenmiş. Yapılan in vitro çalışmada ise in vivoya benzer olarak, yara kenarındaki keratinositlerde yine kollejenazların 4 ila 6 saatte ortaya çıktıkları, 12-24 saatte pik yaptıkları, izleyen birkaç gün içerisinde azaldıkları ve epitelizasyonu takiben ortadan kayboldukları gözlemlenmiştir. (110)

Nwomeh ve arkadaşlarının, yara yerini kapattıkları oklusiv bandajların altında biriken koleksiyonlarla yaptıkları başka bir çalışmada da, MMP-8 enzimi en yoğun olarak 4. gün görülmüş ve 1 hafta süreyle yüksekliği devam etmiş. Aynı çalışmada MMP-1 enzim seviyeleri ise birkaç ayrı zamanda farklı yoğunluklarda saptanmış. (109) Biz çalışmamızda normal yetişkin yara iyileşmesinden farklı olarak, MMP 1 enzimini yara yerinde ilk 7 gün müddetince bulundurmaya amaçladık. Böylece MMP 1 enzimi etkisiyle inflamasyonu baskılayıp, epitelizasyonu hızlandırmayı, böylece oluşacak skarı azaltmaya çalıştık.

Saarialho-Kere UK ve arkadaşlarının 1993 yılında yaptıkları çalışmalarında yaralanmış insan cildinde, MMP-1 enziminin, dermisteki tip 1 kollojene bağlı yara kenarındaki keratinositler aracılığıyla, alfa 2 beta 1 üzerinden uyarıldıkları ve reepitelizasyonda bu yolak üzerinden görev aldıkları gözlemlenmiştir. (111) (112) (113) (114) Bizim çalışmamızda intralezyonel MMP-1 uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında epitelizasyon hızlarında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. İntralezyonel MMP-1 uygulamasıyla epitelizasyon hızı değişmemiştir. Bu da bize normal yara iyileşmesinde üretilen MMP-1 enziminin, epitelizasyon için, yeterli olduğu takdirde, epitelizasyonun sağlandığını ve ortama daha fazla MMP 1 enzimi eklenmesinin epitelizasyon üzerine herhangi bir etkisi olmadığını düşündürdü.

Beare AH ve arkadaşlarının 2003'te yaptığı bir başka çalışmada ise kollejenaz resistans farelerdeki yara iyileşmesi incelenmiştir. Öncelikle kollejenaz rezistans farelerin yara oluşturulmadan önceki deri kalınlıklarındaki artış dikkati çekmiştir. Daha sonra kontrol ve kollejenaz rezistans farelerde yaralar oluşturulmuş; burdan 1 ve 6. saatlerde; 1.,2.,3.,7.,10.,14. ve 70. günlerde tekrar biyopsiler alınmıştır. Yara iyileşmesi, kollejenaz rezistans farelerde 2 hafta kadar geriden takip etmiş ve kontrol gruplarıyla kıyaslandığında 7 günlük bir gecikme saptanmıştır. (115)Bu da bize kollejenazların yara iyileşmesindeki önemini gösteren bir başka çalışma olmuştur.

Özlem Öztürk ve arkadaşları kollejenazlarla ilgili 2013 te yazdıkları makalelerinde MMP'ların vasküler fonksiyonları da regüle ettiklerinden bahsetmişlerdir. Aynı makalede, MMP-2 önemli vazokonstrüktör ajanlardan endotelinin salınımını artırırken, vazodilatasyona yol açan kalsitonin geni ile ilişkili peptidin (calcitonin gene related peptide) düzeyinin azalmasına da değinmişlerdir. (116)Ayrıca Glikson M. ve arkadaşlarının MT1 -MMP geni inaktive edilmiş farelerle yaptıkları bir başka çalışmada da, deneklerde iskelet ve konnektif dokuda özellikle anjiogenezde defektlerin ortaya çıktığı görülmüştür. (101) Bizim çalışmamızda da vasküler proliferasyonun; literatürle uyumlu olarak; intralezyonel MMP-1 enzimi ve sistemik MMP-1 enzimi uygulanan deney gruplarının her ikisinde de, kontrol gruplarıyla kıyaslandıklarında anlamlı olarak artmış olduğu görülmüştür(p: 0,031).

İntralezyonel MMP-1 uygulamasının yara yerinde vasküler proliferasyonu hızlandırdığı dikkati çekmiştir.

Saliha Apakkan Aksun ve arkadaşlarının 2000'de yaptıkları bir çalışmada, MMP ve TIMP arasında bulunan oranın, çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda değişmekte olduğu ve bunlar arasındaki dengedeki olası oynamaların, değişik patolojik durumların patogenezinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Örneğin hepatik dokularda yara iyileşmesi sürecinde TIMP:MMP oranındaki artış, ECM nin MMPs aracılığı ile parçalanmasını önleyerek fibrozisi kolaylaştırabileceği belirtilmiştir. (117) (111) (112) (8) (114). Bizim çalışmamızda intralezyonel MMP-1 enzimi uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında yapılan histopatolojik incelemede yaralardaki fibroblast sayısı ve fibrozis gelişiminde anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Tüm gruplar arası fibroblast proliferasyonu varlığı karşılaştırıldığında 4. ve 21. günlerde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. (4. gün $p < 0.0001$, 21. gün $p = 0,0004$) 4. günde şiddetli fibroblast proliferasyonu sadece kontrol grubu 2 de 2 hayvanda gözlemlenirken; diğer gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. Ayrıca deney grubu 1 ve 2 de fibroblast proliferasyonu 6 hayvanda hiç fibroblast proliferasyonu gözlenmezken; 9 hayvanda sadece hafif derecede fibroblast proliferasyonu gözlenmiştir. Bu da bize MMP 1 enziminin fibroblast proliferasyonunu ve fibrozisi baskılayarak, skar gelişimini azalttığını düşündürmüştür.

JF Denis ve arkadaşlarının 2013 yılında axolotl ve skarsız yara iyileşmesi hakkında yaptıkları deneysel çalışmada farelerin ve axolotlların yara iyileşmelerini kıyaslamışlardır. Yaptıkları çalışmada ekstremite amputasyonu sonrası 1. saatte alınan örneklerde farelerde nötrofil gözlemlerken, axolotlarda hiç nötrofil gözlemlenmemişlerdir. 6. saatte yara yerinde sadece birkaç tane makrofaj gözlemlenmiş ve axolotlların skarsız yara iyileşmesinde çok hafif bir inflamasyon süreci olduğunu belirtmişlerdir. (118) Bizim yaptığımız çalışmada ise MMP 1 enziminin akut inflamasyonu baskılayacağını düşünürken tersine, 4. günde şiddetli akut inflamasyon deney grubu 2'de 7 hayvanda kontrol grubu 2'de ise 4 hayvanda gözlenmiştir. Bu yüksek inflamatuvar yanıtın her iki lokal uygulama grubunda diğer kontrol ve sistemik MMP 1 uygulanan gruplara göre yüksek çıkmış olması bize lokal ilaç reaksiyonuyla veya lokal

irritasyona bağlı uyarımla ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca çalışmamızda 4. günde şiddetli lenfosit infiltrasyonu kontrol grubu 3'te 7 hayvanda gözlemlenirken; diğer gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. 14. günde şiddetli lenfosit infiltrasyonu tüm gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. En yoğun lenfosit infiltrasyonuysa kontrol grubu 1 ve 2 de gözlenmiştir. 21. günde şiddetli lenfosit infiltrasyonu tüm gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir.

Teresa Di Colandrea ve arkadaşları 1998 de yaptıkları bir çalışmada, MMP-1 enzim regülasyonundan sorumlu geni etkileyecek değişimleri sağlayarak transgenik fareler üretmişlerdir. Bu transgenetik farelerde tam kalınlıklı açık yaralar oluşturmuş ve belirli günlerde biyopsiler tekrarlanarak yara iyileşmelerini kontrol gruplarıyla kıyaslamışlardır. Çalışma sonucunda MMP-1 regülasyon defekti olan transgenik farelerin yara iyileşmesinin gün ve faz olarak daha geride kaldığını tespit etmişlerdir. (119) Bizim çalışmamızda MMP-1 regülasyon defekti olan transgenik fare grubu kullanılmamıştır. Ancak deney gruplarına sistemik ve intralezyonel MMP-1 uygulanmıştır. Sistemik ve intralezyonel MMP-1 uygulanan deney gruplarında yara iyileşme hızlarında artış gözlemlenmemiştir.

2012 yılında Seifert ve arkadaşlarının suda ve karada yaşayan ayrı iki grup axolotllarla yara iyileşmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada dikkatleri yine skarsız yara iyileşmesi üzerine çekmişlerdir. Her iki gruptaki axolotlların sırtlarında 6 adet 6 mm punch biyopsi yardımıyla tam kat açık yaralar oluşturmuş ve yara iyileşmesini incelemişlerdir. Yetişkin yara iyileşmesine göre daha güçlü bir hemostaz, azalmış bir inflamasyon, daha gecikmeli bir ECM üretimi gözlemlemişlerdir. Ayrıca suda yaşayan axolotllarda skarsız yara iyileşmesi gözlemlenirken karaya çıkanlarda minimal skar oluşumu gözlemlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada suda yaşayan axolotllardaki MMP ların fibrotik cevabı kontrol ederek skar oluşumunu engellediği yönünde tahmin yürütmüş ancak çalışmayı daha ileri götürmemişlerdir. (120) Biz de bu bulgulardan cesaret alarak MMP 1 enziminin lokal enjeksiyonla skar formasyonunu azaltabileceğini düşündük ve çalışmamıza başladık. Çalışmamızda beklediğimiz gibi biyopsi alınan günlere göre ve gruplar arasında fibroblast proliferasyonu varlığı karşılaştırıldığında 4. ve 21. günlerde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptandı. (4. gün $p < 0.0001$, 21. gün $p = 0,0004$) 4. günde şiddetli fibroblast proliferasyonu sadece

kontrol grubu 2 de 2 hayvanda gözlemlenirken; diğer gruplarda hiçbir hayvanda gözlenmemiştir. Ayrıca deney grubu 1 ve 2 de fibroblast proliferasyonu 6 hayvanda hiç fibroblast proliferasyonu gözlenmezken; 9 hayvanda sadece hafif derecede fibroblast proliferasyonu gözlemlendi. Ayrıca fibrozisle bağlantılı olabileceği düşünülen hipertrofik skar formasyonunun; 7. günde kontrol grubu 1 ve deney grubu 1 in karşılaştırılmasında; deney grubu 1'de anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü ($p:0,007$). Fisher testiyle hesaplanan rölatif risk: 0,25 bulundu. Kontrol grup 1'deki deneklerde, deney 1'deki deneklere göre 4 kat fazla skar gelişimi gözlemlendi. Hipertrofik skarın; 7. Günde kontrol grup 2 ve deney grubu 1 karşılaştırılmasında; deney grubu 1 de anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü ($p=0,007$). Fisher testiyle hesaplanan rölatif risk: 0,2 bulundu. Kontrol grup 2'deki deneklerde, deney grup 1'deki deneklere göre 5 kat fazla skar gelişimi gözlemlendi.

Yara bakımında esas amaç, yarada en iyi kozmetik ve fonksiyonel sonuçların sağlanması ve yara iyileşmesinde rol alan faktörleri (inflatuar hücreler, trombositler, mediatörler, hücre dışı matriks vb.) etkileyerek bu süreyi kısaltmak ve ideal en az skar oluşturmayı sağlamaktır (121) (122) (123) (124) (125) (126). Biz de çalışmamızda, açık yaraya lokal uygulamayla kullandığımız MMP-1 enziminin, hipertrofik skar formasyonunu anlamlı olarak azalttığını gözlemledik. Çalışmamızda hipertrofik skarın; intralezyonel MMP-1 enzimi uygulanan deney 1 grubunda her 3 kontrol gruplarıyla kıyaslandığında anlamlı olarak azalmış olduğunu gördük. ($p: 0,007$) İstatiksel analize göre 3 kontrol grubunda bulunan tüm deneklerde, intralezyonel MMP-1 uygulanan deney grubu 1'deki deneklere göre 4 kat fazla skar gelişimi gözlemledik.

Sonuç olarak; çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular sistemik ve intralezyonel enjeksiyonla uygulanan MMP-1 enzimi kullanımının yara yeri iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ve uygun bir formda verilmesi durumunda klinik, histolojik ve immunhistokimyasal anlamda vasküler proliferasyonda artış sağlanabileceği ve skar formasyonunda azalma olabileceğini göstermiştir.

Bu da bize yara iyileşmesinde MMP-1 enziminde herhangi bir eksikliği olmayan hastalarda, lokal MMP-1 enzimi uygulanarak yara yerinde fazladan enzim oluşturulmasının, yara iyileşmesinde, kurut şiddeti, ülser oluşumu, akut inflamasyon, keloid oluşumu ve epitel hiperplazisini etkilemeyeceğini, ancak vasküler kaynaklı bir yarada yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyeceğini ve lenfositik yönelimi, fibroblast proliferasyonunu baskılayarak skar formasyonunda azalma sağlayacağını düşündürdü.

5.2. TEZİN KISITLILIKLARI

Çalışmamızı sunarken; çalışmanın sahip olduğu olumsuz yönlerdende bahsetmek gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın MMP-1 enziminin intralezyonel olarak uygulandığı ilk çalışma olması unutulmamalıdır. MMP-1 enzimi; olası skarı önlemesi, epitelizasyonu hızlandırması, angiogenezi arttırması ve onkoloji alanındaki etkileri nedeniyle devam etmekte olan birçok çalışmanın da konusu olmaya devam etmektedir. Fakat bu çalışmaların çoğu hayvan çalışmaları ile kısıtlıdır. Ayrıca çalışmamızda kullanılan MMP-1 enzimi literatür verisi ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda çeşitli çözeltilerde hazırlanıp uygulanmıştır fakat bu maddelerle ilgili standart bir veriliş yolu bulunmayışı etkilerini tam anlamıyla değerlendirmemizi kısıtlamış olabilir.

MMP 1 enziminin veriliş süresi, çalışmamızda 7 gün olarak belirlenmiştir, bunun yanı sıra sıçan yara iyileşmesinin tüm proliferasyon safhasına tamamen yayılmış olduğundan emin olunamamıştır. Bu da skar formasyonunu ve inflamatuvar fazı etkileyebilecek unsurlardan olabilir.

Ayrıca maddi kısıtlamalar nedeniyle çalışmamızda elde edilen patolojilerde metalloproteinaz tayin yöntemleri (monoklonal antikolar kullanılarak tek basamaklı sandwich enzim immün assay, in situ hibridizasyon, polimeraz zincir reaksiyonu, Northern blotting, Zimografî, Western immunoblotting analizleri) kullanılamamıştır. Ancak her ne kadar MMP-1 varlığı immunohistokimyasal olarak değerlendirilemesede, çalışmadaki tüm biyopsiler geniş kapsamlı histopatolojik incelemeye tabi tutulmuş ve eksiklikler giderilmeye çalışılmıştır.

Tüm bu kısıtlamalara rağmen biz çalışmamızda, sayıları oldukça çok olan bilimsel verilerden cesaret alarak daha önce literatürde rastlamadığımız, açık yarada intralezyonel MMP-1 enzimi etkilerini, deneysel hayvan modelleri kullanarak değerlendirmeye çalıştık.

Çalışmamız; intralezyonel MMP-1 enzimi uygulanmasının; yara yeri iyileşmesi üzerindeki etkilerini bu denli geniş bir kıyaslamaya olanak verecek ilk çalışma olması açısından değerli olabilir fakat bu maddenin yara yerindeki etkilerini anlamada gene de yetersiz kalacaktır. Bu nedenlerle çalışmamızın ileride moleküler düzeyde ve insan çalışmalarını kapsayacak çalışmalar için bir adım olabileceğini düşünmekteyiz.

5.3. SONUÇ

İntralezyonel olarak uygulanan MMP-1 ve intraperitonel verilen MMP-1'in yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda gözlemlediğimiz sonuçlara göre;

1. İntralezyonel ve sistemik uygulanan MMP-1 enziminin fibroblast proliferasyonunu baskıladığı,
2. İntralezyonel ve sistemik uygulanan MMP-1 enziminin anjiogenezi arttırdığı;
3. İntralezyonel ve sistemik uygulanan MMP-1 enziminin lenfositik yönelimi baskıladığı,
4. İntralezyonel ve sistemik uygulanan MMP-1 enziminin skar oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir.

Kaynaklar

1. David G. Armstrong) (Armstrong, David G., and Edward B. Jude. "The role of matrix metalloproteinases in wound healing. " *Journal of the American Podiatric Medical Association* 92. 1 (2002): 12-18.
2. Kees S, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Pras M, Livneh A. Attacks of pericarditis as a manifestation of familial Mediterranean fever (FMF). *QJM*. Oct;90(10):643-7, 1997.
3. Ferguson MW, O'Kane S. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to.
4. Lo DD, Zimmermann AS, Nauta A, Longaker MT, Lorenz HP. (2012).
5. Denis, Jean-François, et al. "Axolotl as a model to study scarless wound healing in vertebrates: role of the transforming growth factor beta signaling pathway. " *Advances in wound care* 2. 5 (2013): 250-260.
6. Huang, Ting-Yu, et al. "Cooperative regulation of substrate stiffness and extracellular matrix proteins in skin wound healing of axolotls. " *BioMed research international* 2015 (2015).
7. Mu, Xiaodong, et al. "Regeneration of soft tissues is promoted by MMP1 treatment after digit amputation in mice. " *PloS one* 8. 3 (2013): e59105.
8. Pilcher BK, Dumin JA Sudbeck BD, et al The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol* 1997;137:1445-1457.
9. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med*. 2005;9:267-85.
10. Maskos K. Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie*. 2005;87:249-63.

11. Nishizuka I, Ichikawa Y, Ishikawaa T, Kamiyama M, Hasegawa S, Momiyama N et al. Matrilysin stimulates DNA synthesis of cultured vascular endothelial cells and induces angiogenesis in vivo. *Cancer Lett.* 2001;173:175-82.
12. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol.* 1997;137:1445-57.
13. Wiseman BS, Sternlicht MD, Lund LR, Alexander CM, Mott J, Bissell MJ et al. Site-specific inductive and inhibitory activities of MMP-2 and MMP-3 orchestrate mammary gland branching morphogenesis. *J Cell Biol.* 2003;162:1123-33.
14. Broughton G., Janis J. E., Attinger C. E The basic science of wound healing *Plast. Recons. Surg.* 2006, 117(Suppl) ve 12S-34S.
15. Krizek T. J., Harries R. H. C. Biology and tissue injury and repair *Georgiade Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery* 3. edition Ed: Georgiade G. S., Williams and Wilkins 1997;1-9.
16. Gurtner, Geoffrey C. Wound Healing: Normal And Abnormal. In: Charles H. Thorne, et al. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* 6th Edition. Philadelphia:Lippincott-Williams and Wilkins, 2007, s. 15-22.
17. Lorenz HP, Longaker MT. Wound healing: Repair biology and wound and scar treatment. In: *Mathes Plastic Surgery* 2. Edition. Ed: Mathes SJ. Saunder Elsevier 2006 ve 209-234., 1:.
18. Arslantaş, M. K. (2007). İskemik Yara Tedavisinde Eritropoetinin Etkinliği, *Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2-17.*
19. Mitchell RN, Onarım: Hücre Rejenerasyonu, Fibrozis ve Yara İyileşmesi, "Temel Patoloji", Robbins SL, Çevikbaş, U, sf 55, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2011.
20. J2000, Phillips SJ. Physiology of wound healing and surgical wound care. *ASAIO* ve 96., 49: 89.

21. H. Thorne. 6th. edition. 2007., Grabb&Smith's Plastik surgery Charles.
22. Neligan Gurthner. Plastik surgery. 3rd edition, volume 1. 2012.
23. Baum C, Arpey C. Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events, 2005, DermatolSurg ve (6):674-86., 31.
24. Schecter AD, Spirn B, Rossikhina M, et al. Release of active tissue factor by human arterial smooth muscle cells. Circ Res. 2000;87:126-132.
25. De Vries VC, Noelle RJ. Mast cell mediators intolerance. Curr Opin Immunol. 2010 ve 22:643-648.
26. Trautmann A, Toksoy A, Engelhardt E, et al. Mast cell in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo. J Pathol. 2000 ve 190:100-106.
27. 2010, Pathophysiological role of skin mast cells in wound healing after scald injury: study with mast cell deficient W/W^v mice. Int Arch Allergy Immunol. ve., 151:80-88.
28. Gallant-Behm CL, Hildebrand KA, Hart D. A. The mast cell stabilizer ketotifen prevents development of excessive skin wound contraction and fibrosis in red Duroc pigs. Wound Repair Regen. 2008 ve 16:226-233.
29. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. J Invest Dermatol. 2007 ve 127:514-525.
30. Shock. 1995, Di Pietro LA. Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. ve 4:233-240.
31. Sasaki GH, Krizek TJ. Biology of tissue injury and repair. In: Giordano NG, et al (eds). Essentials of plastic maxillofacial and reconstructive surgery. Baltimore: Williams & Wilkins, 1967.

32. Leibovich SI, Ross R. The role of the macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1976 ve 84:501.
33. Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandor Y. and Longaker, M. T. (2008). Wound Repair and Regeneration, *Nature International weekournal of Science*, 453, 314- 321.
34. Joan L. Monaco W. Thomas Lawrence. Acute wound healing. *Clinics in plastic surgery*, 2003 ve 30(1):1-12.
35. Witte M. B., Barbul A. General principles of wound healing. *Surg. Clin. North Am.* 1997 ve 77(3): 509-28.
36. Paul J. Leahy, W. Thomas Lawrence. Biologic Enhancement of Wound Healing. *Clin Plastic Surg* 2007 ve 659-671., 34(4):.
37. Glat P. M., Longaker M., T, Wound healing. Đn: Aston S. J., Beasley R. W., Thorne C. H. M., eds: *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 5. edition Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers 1997. pp 3-12.
38. Champe P. C. *Biochemistry Lippicott's Đllustrated Reviews* (Çeviri) Tokullugil A. *Biyokimya Nobel tıp Kitapevleri* 1997;3: 25-38.
39. Akhavani M. A, Sivakumar B., Palelog E. M., Kang N. Angiogenesis and plastic surgery *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61(12): 1425-37.
40. Thorne C. *Grabb and smith's*. 6th edition. Wound healing: normal and abnormal. chapter 2; New york 2007. pp15-32.
41. İkizoğlu G. Ekstraselüler matriks, kan damarları ve sinirlerin biyolojisi. Tüzün Y, Gürer MA, Serveroğlu S, Oğuz O, Aksungur LA (eds). *Dermatoloji*. 3. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 33-99.
42. Green HDG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Biol* 1998; 30:1019-30.
43. Utz ER, Elster EA, Tadaki DK, et al. Metalloproteinase expression is associated with traumatic wound failure. *J Surg Res* 2009;15:1-7.

44. Yang CC, Lin SD, Yu HS. Effect of growth factors on dermal fibroblast contraction in normal skin and hypertrophic scar. *J Dermatol Sci* 1997;14:162-9.
45. Phan SH. Biology of fibroblasts and myofibroblasts. *Proc Am Thorac Soc* 2008;15(3):334-7.
46. Theoret CL. Update on wound repair. *Clin Tech Equine Pract* 2004;3:110-22.
47. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing: an overview. *Clin Plast Surg* 2003;30:1-12.
48. Özbek N, Güneren E, Yıldız L, Meydan D, Çakır S, Çoskun M. The effect preoperative conventional and hyperfractionated radiotherapy schedules on wound healing and tensile strength in rats: an experimental study *Int. J. Maxillofac. Surg.* 2005;34(2): 185-192.
49. Gorodetsky R, McBride WH, Withers HR. Assay of Radiation Effects in Mouse Skin as Expressed in Wound Healing. *Radiation Research*, 1988; 116(1):135-144.
50. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Eds. Thorne CH, Beasley RW, Aston SI, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL. 6. baskı Lippincott Williams, Philadelphia. 23-32.
51. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler. *T Klin Dermatol* 1(48):161-164.
52. Karukonda SRK, Flynn TC, Boh EE, McBurney EI, Russo GG, Millikan LE (2000b). The effects of drugs on wound healing –part II. Specific classes of drugs and their effects on healing wounds. *Int J Dermatol* 39: 321-333.
53. Ekmekçi P, Bostancı S Yara iyileşmesi. *T Klin Dermatol* (2002) 12:114-120.
54. Ramasastry, S. S. "Chronic wound problems. " *Clin Plast Surg* 25 (1998): 367-396.
55. FETİL, Emel. "Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler. " *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences* 1. 48 (2005): 161-164.
56. SHAI, A. HI Maibach *Wound Healing and Ulcers of the Skin Diagnosis and Therapy–The Practical Approach.* 2005.

Kaynaklar

57. İkizoğlu G. Ekstraselüler matriks, kan damarları ve sinirlerin biyolojisi. Tüzün Y, Gürer MA, Serveroğlu S, Oğuz O, Aksungur LA (eds). Dermatoloji. 3. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008;33-99.
58. Green HDG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Biol* 1998; 30:1019-30.
59. Gurtner GC Çeviri: Emiroğlu M, Kaya B Normal ve anormal yara iyileşmesi İçinde Ed:Thorne C. H. Çeviri Ed: Gültaş S. M. Grabb&Smith's Plastic Surgery 6. Baskı Ankara:Güneş Tıp Kitabevleri 2010;15-22.
60. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res.* 2009; 37:1528-1542.
61. Niessen FB, Spauwen PHM, Schalkwijk J, Kon M. On the nature of hypertrophic scars and keloids: A review. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104(5): 1435–1458.
62. Linares HA, Larson DL. Early differential diagnosis between hypertrophic and nonhypertrophic healing. *J Invest Dermatol* 1974;62(5):514–516.
63. Hillmer MP, MacLeod SM. Experimental Keloid Scar Models: A Review of Methodological Issues. *J Cutan Med Surg* 2002; 6(4):354–359.
64. Rahban SR, Garner WL Fibroproliferative scars. *Clin Plastic Surg* 2003;30:77– 89.
65. Tuan TL, Nichter LS. The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation. *Mol Med Today* 1998; 4(1):19–24.
66. Tredget EE, Nedelec B, Scott PG, Ghahary A. Hypertrophic scars, keloids, and contractures: The cellular and molecular basis for therapy. *Surg Clin North Am* 1997; 77(3):701–730.
67. Ehrlich HP, Ross R, Bornstein P. Effects of Antimicrotubular Agents on the Secretion of Collagen. *J Cell Bio* 1974; 62: 390–405.
68. Su CW, Alizadeh K, Boddie A, Lee RC. The problem scar. *Clin Plastic Surg* 1998; 25(3): 451–465.

69. English RS, Shenefelt PD. Keloids and hypertrophic scars. *Dermatol Surg* 1999; 25(8): 631–638.
70. Wolfram D, Tzankov A, Pülzl P, Piza-Katzer H, Hypertrophic Scars and Keloids – A Review of Their Pathophysiology, Risk Factors and Therapeutic Management. *Dermat Surg*, 2009; 35 (2): 171–181.
71. Broughton G., Janis J. E., Attinger C. E The basic science of wound healing *Plast. Recons. Surg.* 2006, 117(Suppl); 12S-34S.
72. Robson Martin C. Cytokine Manipulation of the wound. *Clin Plastic Surg* 2003; 30 (1): 57–65 67.
73. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest*, 2007; 117(3): 524–529.
74. Brody GS, Peng STJ, Landel RF. The etiology of hypertrophic scar contracture: Another view. *Plast Reconstr Surg* 1981;67(5):673–684.
75. Davidson J. Animal models for wound repair. *Archives of dermatological research.* 1998;290(1):S1 S11.
76. Dorsett-Martin WA. Rat models of skin wound healing: a review. *Wound Repair and Regeneration.* 2004;12(6):591–599.
77. Ansell DM, Holden KA, Hardman MJ. Animal models of wound repair: Are they cutting it? *Experimental dermatology.* 2012;21(8):581–585.
78. Galiano RD, Michaels V, Dobryansky M, Levine JP, Gurtner GC, et al. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound repair and regeneration.* 2004;12(4):485–492.
79. Aydin OE, Önder T, Ç'Inal H, Murat K, Çakmak MA. Deneysel Yara Modelleri. *Turkiye Klinikleri Journal of Plastic Surgery Special Topics (EJournal).* 2015;4(1):5–11.
80. Reid RR, Said HK, Mogford JE, Mustoe TA. The future of wound healing: pursuing surgical models in transgenic and knockout mice. *Journal of the American College of Surgeons.* 2004;199(4):578–585.

81. Fonder MA, Lazarus GS, Cowan DA, Aronson-Cook B, Kohli AR, et al. Kronik yara tedavisi: İyileşmeyen yaraların bakımı ve yara örtüleri konusunda pratik bir rehber. *Journal of The American Academy of Dermatology*. 2008;5(2):185–206.
82. Touitou, I., et al. Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*. 56, 1706–1712, 2007.
83. Ozen, S., Aktay, N., Lainka, E., Duzova, A., Bakkaloglu, A., Kallinich, T. Disease severity in children and adolescents with familial Mediterranean fever: a comparative study to explore environmental effects on a monogenic disease. *Ann. Rheum. Dis*. 68, 24.
84. Akar, S., Soy Turk, M., Onen, F., Tunca, M. The relations between attacks and menstrual periods and pregnancies of familial Mediterranean fever patients. *Rheumatol. Int*. 26, 676–679, 2006.
85. Ben-Chetrit E, Levy M. Reproductive system in familial Mediterranean fever: an overview. *Ann Rheum Dis*. Oct;62(10):916-9, 2003.
86. Lidar M, Scherrmann JM, Shinar Y,, et al. Colchicine nonresponsiveness in familial Mediterranean fever: clinical, genetic, pharmacokinetic, and socioeconomic characterization. *Semin Arthritis Rheum*. Feb;33(4):273-82, 2004.
87. Lidar M, Yaqubov M, Zaks N, et al. The prodrome: a prominent yet overlooked pre-attack manifestation of familial Mediterranean fever. *J Rheumatol*. 33:1089, 2006.
88. Fonnesu C, Cerquaglia C, Giovinale M, Curigliano V, Verrecchia E, de Socio G, La Regina M, Gasbarrini G, Manna R. Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint Bone Spine*. May;76(3):227-33, 2009.
89. Toubi E, Gershoni-Baruch R, Kuten A. Cisplatin treatment triggers familial Mediterranean fever attacks. *Tumori*;89:80-1, 2003. 87.

90. Ben-Chetrit E, Ben-Chetrit A. Familial Mediterranean fever and menstruation. *BJOG*;108:403-7, 2001.
91. Demitürk L, Özel AM, Çekem K, et al. Co-existence of *Helicobacter pylori* infection in patients with Familial Mediterranean Fever (FMF) and the effect of *Helicobacter pylori* on the frequency and severity of FMF attacks. *Dig Liver Dis*;37:153-8, 2005.
92. Özel AM, Demitürk L, Aydoğdu A, et al. Effect of *Helicobacter pylori* and eradication therapy on interleukin-6 levels in patients with Familial Mediterranean Fever. *Int J Clin Pract*;62:754-61, 2008.
93. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Migdal A, Sohar E, et al. The changing face of familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum*. Dec;26(3):612-27, 1996.
94. Younes M, Kahn MF, Meyer O. Hip involvement in patients with familial Mediterranean fever. A review of ten cases. *Joint Bone Spine*;69:560-5, 2002.
95. Shohat M, Halpern GJ. Familial Mediterranean Fever. Editors In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. *Source GeneReviews™* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. 2000 Aug 08 [updated 2009 Apr 30].
96. Sayarlioglu M, Cefle A, İnanc M, Kamali S, Dalkılıç E, Gul A, Ocal L, Aral O, Konice M. Characteristics of patients with adult-onset familial Mediterranean fever in Turkey: analysis of 401 cases. *Int J Clin Pract*.;59:202-5, 2005.
97. Garcia-Gonzalez A, Weisman MH. The arthritis of familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum*. Dec;22(3):139-50, 1992.
98. İncel NA, Sarac oglu M, Erdem HR. Seronegative spondyloarthritis of Familial Mediterranean Fever. *Rheumatol Int*;23:41-3, 2003.
99. Soylu A, Kasap B, Türkmen M, Saylam GS, Kavukçu S. Febrile myalgia syndrome in familial Mediterranean fever. *J Clin Rheumatol*.;12:93-6, 2006. 88.

100. Flatau E, Kohn D, Schiller D, Lurie M, Levy E. Schonlein-Henoch syndrome in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 25:42-47, 1982.
101. Glikson M, Galun E, Schlesinger M, Cohen D, Haskell L, Rubinow A, Eliakim M. Polyarteritis nodosa and familial Mediterranean fever: a report of 2 cases and review of the literature. *J Rheumatol* 16:536-539, 1989.
102. Bhupinder Singh Sekhon. Matrix metalloproteinases—an overview. *Research and Reports in Biology*:1 1-20 (Dovepress) , 2010.
103. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res*;77:863-8, 1995.
104. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*;49: 187-98, 2004.
105. Visse R and Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function and biochemistry. *Circ Res.* 92, 827- 839, 2003.
106. Buket Reel. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri ve Ateroskleroz. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 26:527-537, 2006.
107. Mu, Xiaodong, et al. "Regeneration of soft tissues is promoted by MMP1 treatment after digit amputation in mice. " *PloS one* 8. 3 (2013): e59105.
108. Hartenstein B, et al. Epidermal development and wound healing in matrix metalloproteinase 13-deficient mice. *J Invest Dermatol* 2006;126:486-96.
109. Nwomeh, Benedict C., et al. "MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. " *Journal of Surgical Research* 81. 2 (1999): 189-195.
110. Inoue, Mitsuse, et al. "Collagenase expression is rapidly induced in wound-edge keratinocytes after acute injury in human skin, persists during healing, and stops at re-epithelialization. " *Journal of Investigative Dermatology* 104. 4 (1995): 479-483.

111. Saarialho-Kere UK, et al. Cell-matrix interactions modulate interstitial collagenase expression by human keratinocytes actively involved in wound healing. *J Clin Invest* 1993;92: 2858–66.
112. Sudbeck BD, Pilcher BK, Welgus HG, Parks WC. Induction and repression of collagenase-1 by keratinocytes is controlled by distinct components of different extracellular matrix compartments. *J Biol Chem* 1997;272:22103–10.
113. Pilcher BK, et al. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol* 1997;137:1445–57.
114. Rohani MG, Pilcher BK, Chen P, Parks WC. Cdc42 Inhibits ERK-mediated collagenase-1 (MMP-1) expression in collagen-activated human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2014; 134:1230–7.
115. Beare, Alice HM, et al. "Severely impaired wound healing in the collagenase-resistant mouse. " *Journal of Investigative Dermatology* 120. 1 (2003): 153-163.
116. Öztürk, Özlem Görüroğlu. "Matriks Metalloproteinaz Enzim Ailesi. " *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 22. 2 (2013).
117. AKSUN, Saliha APAKKAN, Dilek ÖZMEN, and Oya BAYINDIR. "Metalloproteinases, Their Inhibitors And Related Physiological And Pathological Conditions." *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 21. 4 (2001): 332.
118. Denis, Jean-François, et al. "Axolotl as a model to study scarless wound healing in vertebrates: role of the transforming growth factor beta signaling pathway. " *Advances in wound care* 2. 5 (2013): 250-260.
119. Di Colandrea, Teresa, et al. "Epidermal expression of collagenase delays wound-healing in transgenic mice. " *Journal of Investigative Dermatology* 111. 6 (1998): 1029-1033.
120. Seifert, Ashley W., et al. "Skin regeneration in adult axolotls: a blueprint for scar-free healing in vertebrates. " *PloS one* 7. 4 (2012): e32875.

Kaynaklar

121. Pekcici SF: Kobaylarda vitamin C ve vitamin E uygulamalarının yara iyileşmesi ve doku mineral madde düzeyleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi. Konya 2007.
122. Kurt Y: Bombesin ve hiperborik oksijenin yara iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi. İstanbul 2001.
123. Robbins KC: Temel Patoloji(Basic Patology) Fifth edition. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul 1992:47-60.
124. Israelsson LA, Jonsson T: Closure of midline laparotomy incisions with polidioxanone and naylon: The importance of suture technique. British Journal of Surgery. 1994; 81/1606- 1608.
125. Gamelli RL, Greenhalgh DG. Wound healing caused by infections or nutritional depletion. Surgery 1987; 102:300.
126. Gürdal M, Kireççi S, Pirinççi N ve ark: Greft ve flep tedavisinde doğal balın yara iyileşmesindeki etkisi. Türk Üroloji Derg. 2003;29(3):245-249.
127. Wolf SE, Herndon DN. Burns. In Ed:Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL Sabiston Textbook of Surgery. 17th Edition Philadelphia: Elsevier Saunders 2004:183-208.
128. Decline F, Rousselle Keratinocyte migration requires $\alpha 2\beta 1$ integrin-mediated interaction with the lamini-5y2 chain. J Cell Sci 2001;114:811-823.
129. Rumalla VK, Borah GL cytokines, growth factors, and plastic sugery. Plast Reconstr Surg 2001;108:719-733.
130. Marinkovich MP, Kene DR, Rimberg CS, Burgeson RE. Celular origin of the dermalepidermal basement membrane. Dev Dyn 1993;197:255-267.
131. Engin A. Yara iyileşmesi. Temel Cerrahi Cilt 1. (Ed: Sayek I). Günes, Kitapevi, Ankara 1996:266-277.
132. Zubel DD, Hunt TK, Mueller RV, Goodsan WH: Wound healing. Ed: Doherty GM, Way LW. Current Surgical Diagnosis & Treatment. Lange Medical Books. 2002:86-99.

Kaynaklar

133. Erbil Y: Yara iyileşmesi. Genel Cerrahi Cilt 1. (Ed: Kalaycı G). Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara 2002:51-60.
134. Gençcelep M, Aslan L, Yüksel H, Karasu A, Bakır B: otolog fibrin yapıştırıcının açık yara tedavisinde iyileşme üzerine etkisi: deneysel çalışma. YYÜ. Vet. Fak. Derg. 2001: 12(1- 2) /101-104.
135. Franz MG: Yara iyileşmesi komplikasyonları. Cerrahide Komplikasyonlar. Güneş Tıp Kitapevi. Ankara 2008/102-103.
136. Engin A: Yara iyileşmesi. Temel Cerrahi El Kitabı. (Ed: Sayek İ). (Güneş Tıp Kitapevleri. Ankara, 2009:135-140.
137. Emami-Razavi SH, Esmacilli N, Forouzannia SK et. al: Effect of bentonite on skin wound healing: Experimental study in the rat model. Acta Medica Iranica 2006; 44(4):235-240.
138. Kaya E: Yara iyileşmesi. Genel Cerrahi. Ed: Bilgel H. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul 2007:169-191.
139. Parsak CK, Sakman G, Çelik Ü: Yara iyileşmesi, yara bakımı ve komplikasyonları. Çukurova üniversitesi 1994.
140. Talbot IC, Walter JB: General Patoloji. Seventh edition. 165-180) (Zubel DD, Hunt TK, Mueller RV, Goodsan WH: Wound healing. Ed: Doherty GM, Way LW. Current Surgical Diagnosis & Treatment. Lange Medical Books. 2002:86-99.
141. Hidalgo M, Eckhardt SG. Development of Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy. J. of Nation Cancer Ins. 2001; 93(3): 178-84.
142. Folgueras AR, Pendás AM, Sánchez LM, López-Otín C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. Int J Dev Biol 2004;48:411-24.
143. Armstrong, David G., and Edward B. Jude. "The role of matrix metalloproteinases in wound healing. " Journal of the American Podiatric Medical Association 92. 1 (2002): 12-18.
144. Phillips TJ Chronic cutaneous ulcers: etiology and epidemiology. J Invest Dermatol 1994, 102: 38-41.

Kaynaklar

145. Smith, APS. Etiology of the problem wound. In: Sheffield PJ, Fife CE, Smith APS (eds) Wound Care Practice. 1st ed, Flagstaff AZ, USA, Best Publishing Company, 2004, p:3.
146. Topalan, M., Önel, D. (2010). Güncel Yönleriyle Kronik Yara, Yara İyileşmesi, S:1, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi.
147. Aydın, H. Yara ve Nedbeler. Plastik Cerrahi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000, s. 91.
148. Gurtner, Geoffrey C. Wound Healing: Normal And Abnormal. et al. Charles H. Thorne. Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th Edition. Philadelphia: LippincottWilliams and Wilkins., 2007, s. 15-22.
149. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. Plast. Recons. Surg. 2006, Cilt 117, 1-31.
150. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Plast. Recons. Surg. 2006, Cilt 117 (Suppl) , 12-34.
151. Williams DT, Harding K. Healing responses of skin and muscle in critical illness. Ctr Care Med. 2003, Cilt 31 (8) , 547-557.
152. Etöz, A., Özgenel, G., Özcan, M. (2004). Negatif basınçlı pansuman uygulaması: Klinik deneyimlerimiz. Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi, 12(2): 102.
153. Çınar, C. (2001). Yara iyileşmesinde destek sağlayan yöntemler. İÜ. CerrahpaŞA Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Cilt Hastalıkları ve Yara Bakımı Sempozyumu, 18-19 Ekim, İstanbul.
154. Mostow EN. Diagnosis and classification of chronic wounds. Clinics in Dermatol. 1994; 12:3.
155. Young JR. Differential diagnosis of leg ulcers. Cardiovasc Clin 1983; 13:171. 7- Selected Reading in Plastic Surgery.
156. Tandara A. A., Mustoe T. A., Oxygen in wound healing-more than a.
157. Topikal negatif basınç uygulamalarımız. Ahmet Demir, Yener Demirtaş, Mehmet Çiftçi, Nuray Öztürk, Ahmet Karacalar. 3, basım yeri bilinmiyor: Türk Plastik Rekonstrüktif Estetik Cerrahi Dergisi, 2006, Cilt 14.

158. Nanney LB. Epidermal and dermal effects of epidermal.
159. Seifert, Ashley W., et al. "Skin regeneration in adult axolotls: a blueprint for scar-free healing in vertebrates. " *PloS one* 7. 4 (2012): e32875.
160. Adzick NS, Longaker MT. (1992). Scarless fetal healing. *Therapeutic.*
161. Bullard KM, Longaker MT, Lorenz HP. (2003). Fetal wound healing: current.
162. Longaker MT, Chiu ES, Harrison MR, Crombleholme TM, Langer JC, Duncan.
163. Longaker MT, Whitby DJ, Ferguson MW, Lorenz HP, Harrison MR, Adzick.
164. Lorenz HP, Longaker MT, Perkocha LA, Jennings RW, Harrison MR, Adzick.
165. Lorenz HP, Adzick NS. (1993). Scarless skin wound repair in the fetus. *West J.*
166. Coolen NA, Schouten KC, Middelkoop E, Ulrich MM. (2010). Comparison.
167. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN. Keloid or Hypertrophic scar. *The.*
168. Afshar, M. and R. L. Gallo, Innate immune defense system of the skin. *Veterinary.*
169. Zhong, S. P., Y. Z. Zhang, and C. T. Lim, Tissue scaffolds for skin wound healing.
170. Gauglitz, G. G. and M. G. Jeschke, Combined Gene and Stem Cell Therapy for.
171. Sgonc, R. and J. Gruber, Age-Related Aspects of Cutaneous Wound Healing: A.
172. Gauglitz, G. G., et. al., Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and.
173. Urioste S. S., Kenneth A. Arndt, and Jeffrey S. Dover, Keloids and Hypertrophic.

Kaynaklar

174. Zhu, Z., et al., The molecular mechanism of hypertrophic scar. Journal of Cell.
175. Wang Rijian, et. al., Hypertrophic scar tissues and fibroblasts produce more.





SAYI: HDK-2016/32
KONU: ACU-HADYEK 2016/31 sayılı başvurunuz

13.10.2016

Sn. Dr. Elif Seda Tamses

ACU-HADYEK 2016/31 sayılı "Sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine MMP 1'in etkileri (deneysel çalışma)" isimli projeniz Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yeref Etik Kurulu'nun 03.10.2016 tarihli 28. toplantısında incelenmiş ve etik olarak uygun bulunmuştur.

ACU-HADYEK 2016/32 sayılı karar ektedir.



Prof. Dr. Güldal SÜYEN

Acıbadem Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yeref Etik Kurulu Başkanı



**ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR FORMU**

BAŞVURU TARİHİ: 30.08.2016	KARAR TARİHİ: 03.10.2016
BAŞVURU SAYISI: 2016/31	KARAR SAYISI: 2016/32

Acıbadem Üniversitesi İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eah Tıp Fakültesi görevli Dr. Elif Seda Tamses'in yürütücüsü olduğu "Sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine MMP 1'in etkileri (deneysel çalışma)" isimli proje başvurusu Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun "03.10.2016" tarih ve "28" sayılı toplantısında görüşülmüş ve etik açıdan

Uygun Düzeltilmesi Gerekir Koşullu Olarak Uygun Uygun Değil

olarak değerlendirilmiştir.

Kurul Üyesi	İmza	Karara Katılıyorum	Karara Katılmıyorum
Prof. Dr. Güldal Süyen (Başkan)		(X)	()
Prof. Dr. Serap Arbak (Başkan Vekili)		(X)	()
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus		(X)	()
Prof. Dr. Alp Bayramoğlu		()	()
Prof. Dr. Yeşim Işıl Ülman		()	()
Yrd. Doç. Dr. Devrim Öz Arslan		(X)	()
Yrd. Doç. Dr. Figen Demir		(X)	()
Sabiha Turgut Genç		()	()
Vet. Hek. Samed Özer (Sekreter)		(X)	()

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ

TEZ DEĞERLENDİRME FORMU

TEZ BAŞLIĞI

SIÇANLARDA SKAR İYİLİŞMESİ ÜZERİNE
MMP-1'İN ETKİLERİ (DENEYSEL ÇALIŞMA)

YAZAR

Dr. Elif Seda KESKİN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Muhammed Beşir ÖZTÜRK

VAR YOK

SCI-Exp Kapsamında Yayınlanma Potansiyeli

Patent Alma Potansiyeli

KARAR

YORUMLAR

Tarih

... / ... / 20..

İsim Soyad

İmza

[Temizle](#) [Gönder](#) [Yazdır](#)