



**T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RATLARDA BUPİVAKAİN VE DEKSMEDETOMİDİNİN YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Cihat AYAZ

**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TOKAT
2024**



**T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RATLARDA BUPİVAKAİN VE DEKSMEDETOMİDİNİN YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Cihat AYAZ

**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Serkan KARAMAN**

**TOKAT
2024**

TEŞEKKÜR

İhtisas eğitimim süresince klinik ve teorik olarak yetişmemde emekleri olan saygıdeğer hocalarım Sayın Prof. Dr. Serkan KARAMAN'a, Sayın Prof. Dr. Tuğba KARAMAN'a, Doç. Dr. Hakan TAPAR'a, Dr. Öğr. Üyesi Mehtap GÜRLER BALTA'ya, Dr. Öğr. Üyesi Vildan KÖLÜKÇÜ'ye, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Tuğrul ŞAHİN'e kliniğimizden ayrılan fakat uzmanlık eğitimimde emeği olan hocam Prof. Dr. Mustafa SÜREN'e ve tüm mesai arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına saygı ve şükranlarımı sunar, teşekkür ederim. Tez hocam Sayın Prof. Dr. Serkan KARAMAN ve tez sürecimde benimle yakinen ilgilenen Sayın Prof. Dr. Tuğba KARAMAN hocalarıma tekrar teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Biyomühendislik Bölümü öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Seçil ERDEN TAYHAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Yahya TAYHAN'a ve Histoloji ve Embriyoloji AnaBilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Seda OCAKLI'ya, teşekkür ederim.

Bu süreçteki desteğinden dolayı eşim Merveye teşekkür ederim, iyiki varsın

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan annem, babam, ablam, kardeşime; iyi ki varsınız.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Deri.....	2
2.2. Yara	3
2.2.1. Yara İyileşmesi.....	4
2.2.1.1. Hemostaz ve İnflamasyon Evresi	6
2.2.1.2. Proliferasyon Evresi	8
2.2.1.3. Maturasyon ve Remodelling Evresi	9
2.2.2. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler	10
2.2.2.1. Yaş, Cinsiyet ve Irk	10
2.2.2.2. Beslenme	11
2.2.2.3. Kemoterapi-Radyoterapi	11
2.2.2.4. Hipoksi	11
2.2.2.5. Fiziksel etmenler	11
2.2.2.6. Sigara.....	11
2.2.2.7. Enfeksiyon.....	12
2.2.3. Yaranın İyileşme Sürecinde Sitokin Aktivitesi ve Büyüme Faktörleri.....	12
2.2.3.1. Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	13
2.2.3.2. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	13
2.2.3.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- B)	14

2.2.3.4. Epidermal büyüme faktörü (EGF).....	14
2.2.3.5. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF).....	14
2.3. Lokal Anestezi.....	17
2.3.1. Lokal Anestezikler	17
2.3.1.1. Lokal Anesteziklerin Tanımı ile Etki Mekanizmaları.....	17
2.3.1.2. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapıları ve Farmakolojik Özellikleri	18
2.4. Araştırmada Kullanılan Farmakolojik Ajanlar.....	20
2.4.1. Bupivakain	20
2.4.2. Deksmetomidin.....	22
2.4.2.1. Farmakolojik Özellikleri	23
2.4.2.2. Santral Sinir Sistemine Etkileri	24
2.4.2.3. Sedasyon, Anksiyoliz, Hipnozis ile Amnezi	24
2.4.2.4. Analjezi	25
2.4.2.5. Solunum sistemi üstüne etkileri	25
2.4.2.6. Kardiyovasküler sistem üstüne etkileri	25
2.4.2.7. Metabolik etkiler	25
2.4.2.8. Diğer Sistemlere Etkileri	26
2.4.2.9. Deksmetomidinin Koruyucu Etkileri	26
2.4.2.10. Yan Etkileri	28
2.4.2.11. Kullanım Endikasyonları ve Doz	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Etik Kurul Onayı ve Bilimsel Araştırma Proje Desteği	30
3.2. Deney Hayvanları.....	30
3.3. Deney Grupları ve Deneysel Yöntem	30
3.4. Ratlardan RNA eldesi.....	34
3.4.1. Total RNA'dan Revers Transkripsiyon ile Komplementer DNA (cDNA).....	35
3.4.2. Gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time-PCR, RT-	36

3.4.3. mRNA Ekspresyon Düzeylerinin 2- $\Delta\Delta$ CT Analiz Yöntemine Göre Hesaplanması	38
3.5. Histopatolojik Değerlendirme	39
3.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	41
4. BULGULAR	42
4.1. İmmünokimyasal Bulgular	42
5. TARTIŞMA	70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
7. KAYNAKLAR.....	77



ÖZET

RATLARDA BUPİVAKAİN VE DEKSMEDETOMİDİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Vücut yapılarının bütünlüğünün bozulmasıyla meydana gelen doku kayıplarına ‘yara’ ismi verilir. Yara iyileşmesi; hücresel, biyokimyasal ve fizyolojik bir dizi olayın bütünleşmesi sonucu meydana gelmektedir.

Bupivakain, amid türevi lokal anesteziklerden bir tanesidir. Bu ilaç lokal infiltrasyonda hem anestezi hem de analjezi etkileri gösterilmiştir. Yara yeri üzerinde ağrıyı azaltmak amacıyla sıklıkla kullanılan bupivakainin yara iyileşmesi üzerine etkileri tartışmalı olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.

Klinik anestezi yönetiminde selektif alfa 2 adrenerjik reseptör agonisti olan deksmedetomidinin sempatolitik, anksiyolitik, analjezik ve sedatif etkisinden faydalanılmaktadır. Birçok deneysel ve klinik çalışmada deksmedetomidin uygulanmasının anti inflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada, analjezik özelliği nedeniyle lokal infiltrasyon ile yaygın olarak kullanılan bupivakainin ve yakın zamanda kullanılmaya başlanan deksmedetomidinin yara yeri iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırılması planlandı. İnsizyon ile yara yeri oluşturulan ratlarda bupivakain, deksmedetomidin ve bunların birlikte kullanımlarının erken yara iyileşmesi etkisini inceleyerek yara iyileşmesi tedavisine alternatif olanakları ortaya koymak amaçlandı.

Çalışmaya 6 – 8 haftalık 250-350 gr ağırlığındaki, 28 adet Wistar albino cinsi erkek ratlar dahil edildi. Ratlar araştırma başlangıcına kadar oda sıcaklığında (22-24°C), ortalama % 35 nisbi nemde, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutulup, standart pellet yem ve su ile beslenerek izlendi. Herhangi bir yem ve su kısıtlamasına gidilmedi. Ratlar, her grupta 7' şer adet olmak üzere toplamda dört gruba ayrıldı.

Gruplardaki tüm ratların anestezisi intraperitoneal (ip) 50 mg/kg ketamin ile sağlandı. Gerekğinde ratların anestezisi derinliğini sabit tutmak için idame ketamin (yarı dozda, 25 mg/kg) refleks yanıtla (çene ya da iskelet kası tonusu izlenmesi) bakılarak tekrarlandı. Ratlar anestezisi uygulamasından sonra prone pozisyonda operasyon masasına sabitlendi. Sırt bölgesi tüyleri elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edilerek temizlendi. İnsizyon yapılacak saha povidon iyot ile silinip 2 dk beklendikten sonra steril gazlı bez ile kurulandı. Her grup için belirlenmiş olan solüsyonlar insizyon bölgesine infiltre edildikten 2 dk sonra sonra steril şartlar altında delikli kompres konularak sırt bölgesinden orta hat boyunca bistüri ile 4 cm'lik cilt ve cilt altı bağ dokusunu içeren longitudinal cerrahi kesi yapıldı ve sonrasında 3/0 prolene iplik ile cilt ve

cilt altı dokular karşılıklı olarak birleştirildi. İşlem sonrasında ağrı kesici olarak içme suyu yoluyla 30 mg/kg, 1-2 ml dozunda asetaminofen verildi. İşlemin herhangi bir aşamasında ve işlem sonrasında antibiyotik verilmedi. Ratlar optimum yaşam şartlarında aynı ortamda aynı tür yiyecek ve su ihtiyaçları karşılanarak barınaklarda 8 gün süre ile tutuldu. Günlük bir kez yara bakımları yapıldı. İşlem sonrası 8. günde intraperitoneal ketamin ile anestezi altında hayvanlar sakrifiye edildi.

Bütün ratlar 8. günün sonunda sakrifiye edilip sırt kısmında insizyon yapılan sahadan steril şartlarda 6*4 cm cilt, cilt altı dokusu şerit şeklinde çıkarıldı. Materyalin 2 cm'lik kısmı ile histolojik inceleme, 1 cm'lik kısmı ile dokuda hidroksiprolin, geriye kalan materyalle (1x1 cm²) tensiyometri cihazı ile yara yerinin gerilim kuvveti hesaplandı. 0. Saatte alınan intrakardiyak kan ile Tnf-alfa, interlokin 6 ve interlokin 10 düzeyleri RT-PCR yöntemi ile çalışıldı. Ek olarak dokulardaki hidroksiprolin seviyesinin analizi için ELISA yöntemi kullanıldı. Hidroksiprolin ELISA testi, A.B.T Laboratory Industry firmasının Rat Hyp(Hydroxyproline) ELISA Kitlerinde firmanın belirttiği protokol ile yapıldı. Histolojik değerlendirmeler, TOGÜ Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Elde edilen bütün sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda literatüre uyumlu bir şekilde deksmedetomidin verilen grupta bupivakain verilen gruba göre antiinflamatuvar sitokin olarak kabul edilen IL-10 gen ekspresyonunun anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı.

Çalışmamızda vaskülarite açısından kontrol ve deksmedetomidin grupları dışındaki tüm gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Bupivakain yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyerek bupivakainin damar sayısını azalttığı, deksmedetomidinin olumlu yönde etkileyen damar sayısını arttırdığı ve bupivakain+dexmedetomidin kullanılan grubun bupivakainden fazla ancak deksmedetomidin den az damar sayısı oluşturduğu görüldü.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında, bupivakainin yara yeri iyileşmesine olumsuz, deksmedetomidinin ise genel olarak yara yeri iyileşmesine olumlu etkilerinin olduğu düşüncesindeyiz. Bu iki ilaç beraber kullanıldığında ise deksmedetomidinin bupivakainin olumsuz etkisini az da olsa azalttığı kanaatindeyiz. Bu etkinin tam olarak ortaya konması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bupivakain, Deksmetomidin, Yara iyileşmesi, İnflamasyon, Yara infiltrasyonu

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF BUPIVACAINE AND DEXMEDETOMIDINE ON WOUND HEALING IN RAT

Tissue losses that occur due to the disruption of the integrity of body structures are called 'wounds'. Wound healing; occurs as a result of the integration of a series of cellular, biochemical and physiological events

Bupivacaine is one of the amide-derived local anesthetics. This drug has shown both anesthesia and analgesia effects in local infiltration. Various studies have shown that the effects of bupivacaine, which is frequently used to reduce pain on wounds, on wound healing are controversial.

The sympatholytic, anxiolytic, analgesic and sedative effects of dexmedetomidine, a selective alpha 2 adrenergic receptor agonist, are used in clinical anesthesia management. Many experimental and clinical studies have shown that dexmedetomidine administration has anti-inflammatory effects.

In this study, it was planned to investigate the effects of bupivacaine, which is widely used by local infiltration due to its analgesic properties, and dexmedetomidine, which has recently started to be used, on wound healing. It was aimed to reveal alternative possibilities for wound healing treatment by examining the early wound healing effects of bupivacaine, dexmedetomidine and their combined use in rats where wounds were created by incision.

28 Wistar albino male rats, 6 to 8 weeks old and weighing 250-350 g, were included in the study. Until the beginning of the research, the rats were kept at room temperature (22-24°C), at an average relative humidity of 35%, in a 12-hour light-12-hour dark environment, and were fed with standard pellet feed and water and monitored. There were no feed or water restrictions. Rats were divided into four groups in total, 7 in each group.

Anesthesia of all rats in the groups was provided with intraperitoneal (ip) 50 mg/kg ketamine. When necessary, maintenance ketamine (half dose, 25 mg/kg) was repeated by checking reflex responses (monitoring jaw or skeletal muscle tone) to keep the depth of anesthesia of the rats constant. After anesthesia, the rats were fixed to the operating table in the prone position. The back hair was shaved and cleaned with an electric shaver. The area where the incision was to be made was wiped with povidone-iodine and dried with sterile gauze after waiting for 2 minutes. After 2 minutes after the solutions determined for each group were infiltrated into the incision area, a perforated compress was placed under sterile conditions and a longitudinal surgical incision was made, including the skin and subcutaneous connective tissue, of 4 cm with a scalpel along the midline from the back area, and then with a 3/0 prolene

thread. skin and subcutaneous tissues were mutually combined. After the procedure, acetaminophen at a dose of 30 mg/kg, 1-2 ml was given through drinking water as a pain reliever. Antibiotics were not given at any stage of the procedure or after the procedure. Rats were kept in shelters for 8 days under optimum living conditions, in the same environment and with the same food and water needs. Wound care was performed once a day. On the 8th day after the procedure, the animals were sacrificed under anesthesia with intraperitoneal ketamine.

All rats were sacrificed at the end of the 8th day, and a 6*4 cm strip of skin and subcutaneous tissue was removed under sterile conditions from the area where an incision was made on the back. Histological examination was done with a 2 cm part of the material, hydroxyproline in the tissue with a 1 cm part, and the tension strength of the wound area was calculated with the tensiometry device with the remaining material (1x1 cm²). Tnf-alpha, interleukin 6 and interleukin 10 levels were studied by RT-PCR method with intracardiac blood taken at hour 0. Additionally, ELISA method was used to analyze the hydroxyproline level in tissues. Hydroxyproline ELISA test was performed in the Rat Hyp (Hydroxyproline) ELISA Kits of A.B.T Laboratory Industry with the protocol specified by the company. Histological evaluation was carried out in TOGU Histology and Embryology laboratory. All results obtained were evaluated statistically.

In our study, consistent with the literature, it was found that IL-10 gene expression, which is considered an anti-inflammatory cytokine, was significantly higher in the group given dexmedetomidine than in the group given bupivacaine.

In our study, a significant difference was found between all groups except the control and dexmedetomidine groups in terms of vascularity. It was observed that bupivacaine negatively affects wound healing and reduces the number of vessels, while dexmedetomidine increases the number of vessels, which has a positive effect, and the group using bupivacaine + dexmedetomidine formed more vessels than bupivacaine but less than dexmedetomidine.

In light of the data we obtained in our study, we think that bupivacaine has a negative effect on wound healing, while dexmedetomidine has a positive effect on wound healing in general. We believe that when these two drugs are used together, dexmedetomidine slightly reduces the negative effects of bupivacaine. More studies are needed to fully reveal this effect.

Key Words: Bupivacaine, Dexmedetomidine, Wound healing, Inflammation, Wound infiltration

SİMGELER VE KISALTMALAR

TGF- α : Transforme Edici Büyüme Faktörü-Alfa

MCP-1: Makrofaj Kemoatraktan Proteini

MMP-1,2,3 ve 9: Matriks Metalloproteinaz-1,2,3 ve 9

ECM: Ekstraselüler Matriks

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

VEGF: Vasküler Endotel Büyüme Faktör

IFN- γ : İnterferon gama

PDGF: Platelet Kökenli Büyüme Faktör

bFGF: Bazik Fibroblast Büyüme Faktör

TNF: Tümör Nekroz Faktör

PMNL: Polimorfonükleer lökosit

FGF: Fibroblast Büyüme Faktör

IL-1,2,6,8 ve 10: İnterloklin-1,2,6,8 ve 10

KGF: Keratinosit Büyüme Faktör

Na: Sodyum

VGSC: Voltaj Kapılı Sodyum Kanal

Ca: Kalsiyum

IV: İntervenöz

FDA: Food and Drug Administration

N₂: Azot

HCl: Hidroklorik Asit

mg: miligram

kg: kilogram

SKA: Serebral Kan Akımı

GABA: Gama aminobütirik asit

EEG: Elektroensefalografi

ng: nanogram

ml: milimetre

ark. : arkadaşları

IL-1 β : interloklin 1 beta

μ g: mikrogram

MAK: Minimum Alveolar Konsantrasyon

TOGÜ: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

gr: gram

Grup K: Kontrol Grubu

Grup B: Bupivakain Grubu

Grup D: Deksmetomidin Grubu

Grup B + D: Bupivakain + Deksmetomidin Grubu

İp: İntraperitoneal

Dk: Dakika

Cm: santimetre

cm²: santimetre kare

RT-PCR: Revers- Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

RNA: Ribonükleik asit

RL: Ringer Laktat

DNA: Deoksiribonükleik asit

RT: Revers transkripsiyon

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Hyp: Hidroksiprolin

H&E: Hematoksilen Eozin

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

K: kontrol

B: Bupivakain

D: Deksmetomidin

B + D : Bupivakain + Deksmetomidin

CT: döngü eşiği

min: minimum

max: maksimum

OD: optik dansite

µm²: mikrometre kare

µm: mikrometre

TIVA: Total intervenöz anestezi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Derinin histolojik yapısı (9).....	2
Şekil 2. Yara iyileşme süreci (11).....	6
Şekil 3. Deri yaralanmasının ardından inflamasyon basamağı; hemostaz ile inflamatuvar hücreler (9).	7
Şekil 4. Proliferatif Evre: Tıkaç organizasyonu, kollajen III sentezi, büyüme faktörlerinin salınımı ile anjiyogenezin başlaması (9)	9
Şekil 5. Maturasyon Evresi: Tamir süreci sona erer ve bağ dokusunun remodellingi ve yara kontraksiyonu (9)	10
Şekil 6. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapısı	19
Şekil 7. Bupivakain'in moleküler yapısı (40)	20
Şekil 8. Deksmetomidin'in moleküler şekli (45)	22
Şekil 9. α -2-adrenoseptör agonist reseptörünün deksmedetomidin ilişkisi. (74).....	27
Şekil 10. Anestezi sonrası sırt bölgesinin tıraşlanması ve cildin povidon iyot ile boyanması 31	
Şekil 11. Deneğin steril örtünmesi.....	31
Şekil 12. Deneğin sırt bölgesine longitudinal yönde 4 cm'lik cilt ve cilt altı bağ dokusunu içeren insizyon yapılması.....	32
Şekil 13. Kesi sonrası cilt altı dokular karşılıklı olarak birleştirildikten sonraki görünüm	32
Şekil 14. Tensiyometri Cihazı (USSC SUTURES)	33
Şekil 15. Real Time Pcr Cihazı (Analytic Jena qTower)	33
Şekil 16. Elisa sonuçlarını gösteren preparat	33
Şekil 17. RNA eldesindeki yapılan işlemlerin adım adım şematize olarak gösterimi	35
Şekil 18. Real Time Pcr Cihazı çıktısı ve CT hesaplanması'nın şematik gösterimi (82)	38
Şekil 19. Gruplara göre TNF- α geninin $2^{-\Delta CT}$ düzeylerinin grafiksel gösterimi.	44
Şekil 20. Gruplara göre IL-6 geninin $2^{-\Delta CT}$ düzeylerinin grafiksel gösterimi	45
Şekil 21. Gruplardaki IL-6 gen ekspresyonu kat değişiminin ($2^{-\Delta\Delta CT}$) şematik gösterimi....	46
Şekil 22. Gruplara göre IL-10 geninin $2^{-\Delta CT}$ düzeylerinin grafiksel gösterimi	47
Şekil 23. Gruplardaki IL-10 gen ekspresyonu kat değişiminin ($2^{-\Delta\Delta CT}$) şematik gösterimi...	48
Şekil 24. Rat Hyp (Hydroxyproline) ELISA Kit prosedürüne göre çizilen grafik	50
Şekil 25. Gruplar arasında fibröz skar doku alanının değerlendirilmesi değerlendirilmesi: ...	53
Şekil 26. Gruplar arasında fibröz skar doku alanının değerlendirilmesi:	54
Şekil 27. Gruplar arasında epitel doku kalınlık farklılıklarının değerlendirilmesi:	57
Şekil 28. Gruplar arasında epitel doku kalınlık farklılıklarının değerlendirilmesi:	58
Şekil 29. Gruplar arasında dokularda oluşan ödemin değerlendirilmesi:	61

Şekil 30. Gruplar arasında akut inflamasyon, kronik inflamasyon ve fibroblast yoğunluk farklılıklarının değerlendirilmesi:.....	63
Şekil 31. Gruplar arasında vaskülarizasyon farklılıklarının değerlendirilmesi:.....	67



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Yara iyileşmesinde büyüme sitokinlerin kaynakları ve görevleri (27)	15
Tablo 2. Yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin kaynakları ve görevleri (27).....	16
Tablo 3. Revers transkripsiyonun yapıldığı reaksiyon koşulları	35
Tablo 4. Revers transkripsiyonun yapıldığı termal koşullar.....	36
Tablo 5. Real time PCR için kullanılan primer diziler (80, 81)	37
Tablo 6. PCR reaksiyonu için gerekli bileşenler	37
Tablo 7. ELISA ve RT-PCR için kullanılan kimyasal malzemeler.....	39
Tablo 8. Ratların gruplara göre dağılımı	42
Tablo 9. Real Time Pcr Cihazı ile edilen dokulardaki TNF- α , IL-6, ve IL-10 C _T değerleri	43
Tablo 10. TNF- α gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) verileri	44
Tablo 11. IL-6 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması.....	45
Tablo 12. IL-6 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) verileri	46
Tablo 13. IL-10 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması.....	47
Tablo 14. IL-10 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) verileri	48
Tablo 15. Grupların Tensiyometri Sonuçlarına Göre Karşılaştırılması (kg/cm ²).....	49
Tablo 16. Tensiyometri sonuçlarının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	49
Tablo 17. Grupların Hidroksiprolin Konsantrasyonlarına Göre Karşılaştırılması (ng/ml) ...	50
Tablo 18. Hidroksiprolin konsantrasyonunun ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	51
Tablo 19. Grupların fibroblast sayılarına göre karşılaştırılması (adet).....	51
Tablo 20. Fibroblast sayılarının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	52
Tablo 21. Grupların Fibröz skar Alanına Göre karşılaştırılması (μm^2).....	55
Tablo 22. Fibröz skar alanının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	55
Tablo 23. Grupların fibroblast sayısı / fibröz skar alanına göre karşılaştırılması (adet/ μm^2)	56
Tablo 24. Fibroblast sayısı / fibröz skar alanı ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması.....	56
Tablo 25. Grupların epitel kalınlığına göre karşılaştırılması (μm).....	59
Tablo 26. Gruplardaki ratların hücre ödemi, kronik inflamasyon ve akut inflamasyon puanlarının dağılımı	60
Tablo 27. Gruplardaki hücre ödemi puanlarının yüzde dağılımı.....	61
Tablo 28. Grupların hücre ödeme göre karşılaştırılması	62
Tablo 29. Hücre ödeminin ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	62
Tablo 30. Gruplardaki kronik inflamasyon puan dağılımı	64
Tablo 31. Grupların kronik inflamasyona göre karşılaştırılması.....	64

Tablo 32. Kronik inflamasyonun ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	65
Tablo 33. Gruplardaki akut inflamasyon puan dağılımı.....	65
Tablo 34. Grupların akut inflamasyona göre karşılaştırılması	66
Tablo 35. Akut inflamasyonun ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	66
Tablo 36. Grupların vaskülariteye göre karşılaştırılması (adet)	68
Tablo 37. Vaskülaritenin ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	68
Tablo 38. Vaskülarite / fibröz skar alanı oranına göre karşılaştırılması (adet/ μm^2).....	69
Tablo 39. Vaskülarite / fibröz skar alanı oranının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması	69



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücut yapılarının bütünlüğünün bozulmasıyla meydana gelen doku kayıplarına ‘yara’ ismi verilir. Yara iyileşmesi; hücrel, biyokimyasal ve fizyolojik bir dizi olayın bütünleşmesi sonucu meydana gelmektedir. Yara iyileşmesi; karmaşık, dinamik ancak iyi düzenlenmiş bir dizi olaydan oluşmaktadır (1).

Yara biçimleri, iyileşme süreçleri ile sürecin sona erebilmesine göre akut ile kronik şeklinde iki gruba ayrılır (2). Akut yaralar; patolojik, travmatik, iskemik olaylar ya da cerrahi sonucu meydana gelmektedir. Kronik yara, yaralanmanın ardından 8 hafta içinde iyileşmeyen yaralar şeklinde isimlendirilmektedir (3). Cerrahi insizyon; epitel bazal membranın devamlılığının bozulmasına ve sınırlı sayıda olan epitel ile bağ dokusu hücrelerinin ölümüne neden olur. Bu insizyonun cerrahi sütürler yardımıyla kapatılması sonucunda primer yara iyileşme süreci başlamış olur. Yara iyileşmesi 3 ana fazdan oluşmaktadır: Eksudatif veya inflamatuvar faz(3 gün), proliferatif faz(10 gün), rejeneratif faz(6-12 ay) (4, 5).

Yara iyileşmesi, cerrahi insizyon ile beraber birçok yerde karşımıza çıkan hasta konforu, enfeksiyon riski ve mortalite açısından önemli bir durumdur. Yara iyileşmesi için birçok çalışma yapılmaya devam etmektedir. Literatürlerde yara iyileşme patofizyolojisini anlamak için çeşitli hayvan modelleri denenmiştir. Mevcut hayvan modellerinin hiçbirisi insandaki patolojiyi tam olarak taklit edemese de, yara iyileşme patofizyolojisini anlayabilmek ve yeni tedavi stratejilerini geliştirebilmek için bu modeller gereklidir (6).

Bupivakain, amid türevi lokal anesteziklerden bir tanesidir. Bu ilaç lokal infiltrasyonda hem anestezi hem de analjezik etkileri bulunmaktadır (6). Yara yeri üzerinde sıklıkla kullanılan bupivakainin yara iyileşmesi üzerine etkileri tartışmalı olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.

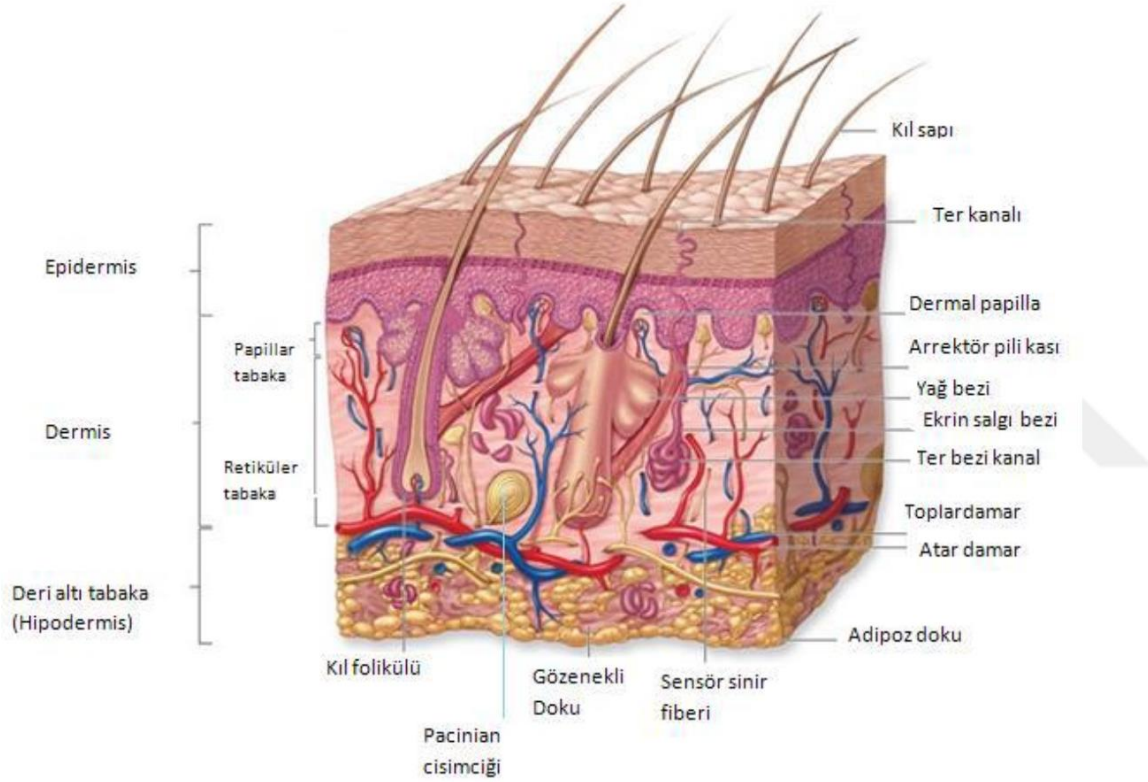
Klinik anestezi yönetiminde selektif alfa 2 adrenerjik reseptör agonisti olan deksmedetomidinin sempatolitik, anksiyolitik, analjezik ve sedatif etkisinden faydalanılmaktadır. Birçok deneysel ve klinik çalışmada deksmedetomidin uygulanmasının antinflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir (6).

Bu çalışmada, lokal infiltrasyon ile yaygın olarak kullanılan bupivakainin ve yakın zamanda kullanılmaya başlanan deksmedetomidinin, bunların birlikte kullanımı yara yeri iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri

Vücuttaki en büyük organ olan deri, vücut ağırlığının hemen hemen %15'ini meydana getirmektedir. Derinin bir çok önemli işlevi bulunmaktadır. Bunlar; fiziksel, kimyasal ve biyolojik saldırılara karşı vücudu koruma, vücuttan çok fazla miktarda su kaybının engellenmesi, termoregülasyon vb. (8). Derinin özellikleri, bireyden bireye hatta aynı bireyin farklı bölgelerinde bile kalınlık, esneklik, kıl, renk, doku yapısı ve sebaceöz bezlerin miktarı bakımından değişiklik gösterir (Şekil 1) (9).



Şekil 1. Derinin histolojik yapısı (9).

2.2. Yara

Yara; cildin ya da mukozanın epitel sınırında devamlılığının bozulması, hücre, doku ya da organların işlevsel ile yapısal özelliklerinin birçok neden kaynaklı bozulması şeklinde tanımlanmaktadır. (1). Yaralar; biçimlerine, etiyolojilerine ve iyileşme zamanlarına bakılarak akut veya kronik şeklinde 2 gruptan oluşmaktadır (2).

Akut Yara: Akut yaralar, fonksiyonel ve anatomik onarım neticesinde, zamanında ve düzenli bir iyileşme yolunu gözeterek kendilerini iyileştiren ve normal biçimde ilerleyen yaralar şeklinde gruplandırılır. İyileşme zamanı yaklaşık 5 ila 10 gündür, ayrıca 30 güne kadar sürebilmektedir (3). Akut yaralar tahmin edilebilir bir düzen ve zaman diliminde iyileşirler. Süreç, nadir komplikasyonlarla gerçekleşir ve sonuç iyi iyileşmiş yaradır. Cerrahi yaralar birkaç yolla iyileşebilir. Temiz ve sütürlerle kapatılmış insize edilmiş bir yaranın primer kapanma ile iyileştiği söylenebilir (10).

Akut yaraların iyileşme spektrumu geniştir. İyileşme esnasında mekanik bütünlüğü ve kuvveti incelendiğinde, yaralanma öncesindeki ile aynı seviyeye gelmek için sürekli ve kararlı bir artış ile karakterizedir. Geç iyileşen yaralar normal süresinde iyileşen yaralara kıyasla yara yıkım kuvvetinde azalma ile karakterizedir; ancak, sonunda her ikisi de normal iyileşen yaralarla aynı bütünlük ve kuvvete erişirler. Beslenme yetersizliği, enfeksiyonlar veya ciddi travma gibi durumlar altta yatan patofizyoloji düzeltildiğinde iyileşmesi gecikmiş yaralar hızlıca iyileşirler. Bozulmuş iyileşme, normal iyileşen yaralara eşit mekanik kuvvete erişmede yetersizlik ile karakterizedir. Diyabet, kronik steroid kullanımı veya radyoterapi nedeniyle doku hasarlanması gibi nedenlerle immun sistemi tehlikede olan hastalar bu tip bozulmuş iyileşmeye yatkındır (10).

Normal iyileşme hem sistemik hem lokal faktörlerden etkilenir. Yüksek riskli yaralarda oluşan komplikasyonlar iyileşmenin bozulmasına veya kronik iyileşmeyen yaralar gelişmesine neden olabilir (10).

Kronik Yara: Normal biçimde iyileşmeyen ve zamanında onarılmayan yaralardır. Hemostazis, inflamasyon, proliferasyon ve remodelling bölümlerinin en az birinde bazı faktörler sebebiyle değişiklikler bulunur. En sık görülen kronik yaralar; insanlarda meydana gelen diyabetik ayak ülserleri, basınç ülserleri, iskemik ve venöz ülserlerdir (3).

Kronik yaralar, anatomik ve fonksiyonel bütünlüğü sağlayan işlemlerin uygun bir şekilde ilerletilemediği veya onarım işlemlerinin yeterli anatomik ve fonksiyonel sonuçları sağlayamadığı yaralar olarak tanımlanır. Üç ayda iyileşmeyen yaraların önemli bir kısmı kronik şeklinde kabul edilir. Deri ülserleri, bunlar sıklıkla travmatize veya damarsal yetmezlikli yumuşak dokularda oluşur, yapısal olarak kronik kabul edilir ve kronik yaraların çoğunluğunu oluştururlar. Yara iyileşmesini geciktiren faktörlere ilaveten diğer nedensel mekanizmalar kronik yara etiolojisinde rol oynayabilir. Tekrarlayan travma, zayıf perfüzyon veya oksijenasyon ve/veya aşırı inflamasyon yarayı kronikleştirir (10).

Normal regülatuar sinyallere yanıtsızlık da kronik yaralar için bir neden olabilir. Bu durum normal büyüme faktörü sentezinin eksikliği olarak ortaya çıkabilir. Bu nedenle büyüme faktörlerinin yara çevresinde aşırı yıkımı olur ki belirgin şekilde proteolitikdir. Kronik yaralardaki fibroblastların çoğalma potansiyellerinin azaldığı bulunmuştur ve muhtemelen büyüme reseptörlerinin uyuması veya azalmış sunumlarından kaynaklanmaktadır (10).

Uzun süren herhangi bir yarada kronik ülserleri malign seyredebilir (Marjolin ülseri). Uzun bir zaman diliminde iyileşmeyen herhangi bir yara malign dönüşüme yatkındır. Malign olan yaralar, malign olmayan yaralardan yara kenarlarında dışa dönmenin olup olmaması yardımıyla klinik olarak ayırt edilebilir. Kronik yaralardan kaynaklanan kanserler hem skuamöz hem de basal hücreli kanserleri içerir (10).

2.2.1. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, dokuların bütünlüğünün ve işleyişinin bozulmasına yara deniyorsa bu işleyişin yeniden sağlanmasına ve doku bütünlüğünün yeniden kazanılmasına denilmektedir (4). Yara iyileşmesi; karmaşık, dinamik ancak iyi düzenlenmiş bir dizi fizyolojik olaydan oluşmaktadır. Yara iyileşmesi normal ilerleyişini sağlamak amacıyla birçok hücre ile biyokimyasal düzenleyicinin komplike bir etkileşiminden oluşur (5).

Yara iyileşmesi, yara biçimlerinin iyileşme sürelerine ve iyileşmede yönlendirilmelerine bakılarak primer, sekonder ve tersiyer şeklinde kategorilendirilir. Primer iyileşme; laserasyon ve cerrahi insizyon gibi yaraların 12 ila 24 saatte kapatılması sonucunda meydana gelir. Yara kenarları sütür, mekanik cihazlar ya da bantlar yardımıyla doğrudan bir araya getirilir. Sekonder iyileşme; ciddi yanıklarda, büyük travmalarda ve çeşitli cerrahi girişimlerden (örn: laparotomi) sonra görüldüğü gibi geniş doku kaybı olan yaralarda ortaya çıkar. Sekonder iyileşmede yara kapanması için aktif bir girişim yoktur ve yara, reepitelizasyon ve kontraksiyonla kapanır.

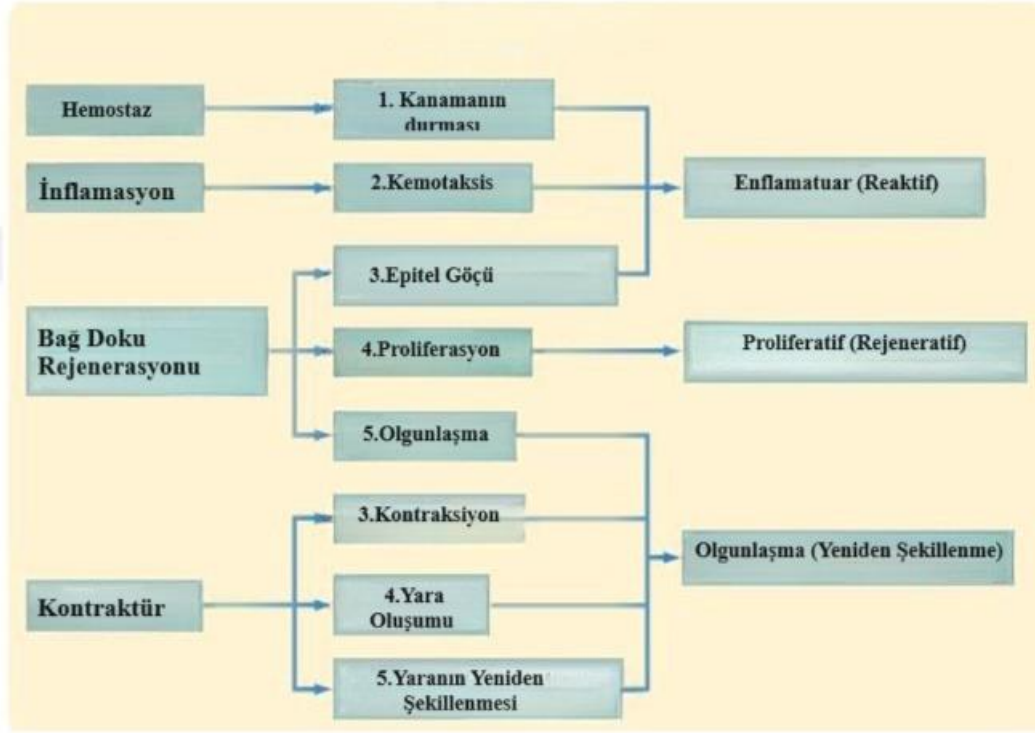
Tersiyer iyileşme ise; gecikmiş primer iyileşme olup enfeksiyonun önlenmesi için birkaç gün sonra kapatılan (örn: peritoneal kirlenme sonrası batın yaralanmaları) kontamine olmuş yaralarda görülür. Kontamine olan yara başlangıçta antibiyotiklerle, tekrarlayan debridmanlarla tedavi edilir, ardından sütur atmak, doku grefti yerleştirmek ya da flep uygulaması gibi cerrahi girişimler kullanılır (4, 5).

Cerrahi insizyon; epitel bazal membranın devamlılığının bozulmasına ve sınırlı sayıda olan epitel ile bağ dokusu hücrelerinin ölümüne neden olur. Bu insizyonun cerrahi sütürler yardımıyla kapatılması sonucunda primer yara iyileşme süreci başlamış olur (5).

Yara iyileşme sürecindeki esas evreler; inflamasyon (bu basamakta hemostaz yer almaktadır), proliferasyon (epitelizasyon) ve tekrar şekillenme (remodeling) olarak geçer (Şekil 1). Bu basamaklardan bir tanesinde olumsuzluk ya da gecikme olması, yaranın kapanmaması ya da onarımın uzamasına neden olmaktadır (4).

Yara iyileşmesi dokuda meydana gelen hasara hücresel bir cevap şeklinde oluşur ve keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, makrofajlar ve trombositlerin aktivasyonundan meydana gelir. Bu süreç, organize hücre göçü ile anjiyogeneze amacıyla endotel hücrelerinin işlev görmesinden meydana gelir. Bu hücre biçimlerinden salınan çeşitli büyüme faktörü ve sitokinler, yara iyileşmesini koordine eder ve ilerletir (11).

Yara iyileşmesi, inflamasyon, proliferasyon ve remodeling (yeniden yapılanma) olmak üzere iç içe geçmiş 3 evreden oluşmaktadır (Şekil 2) (11).

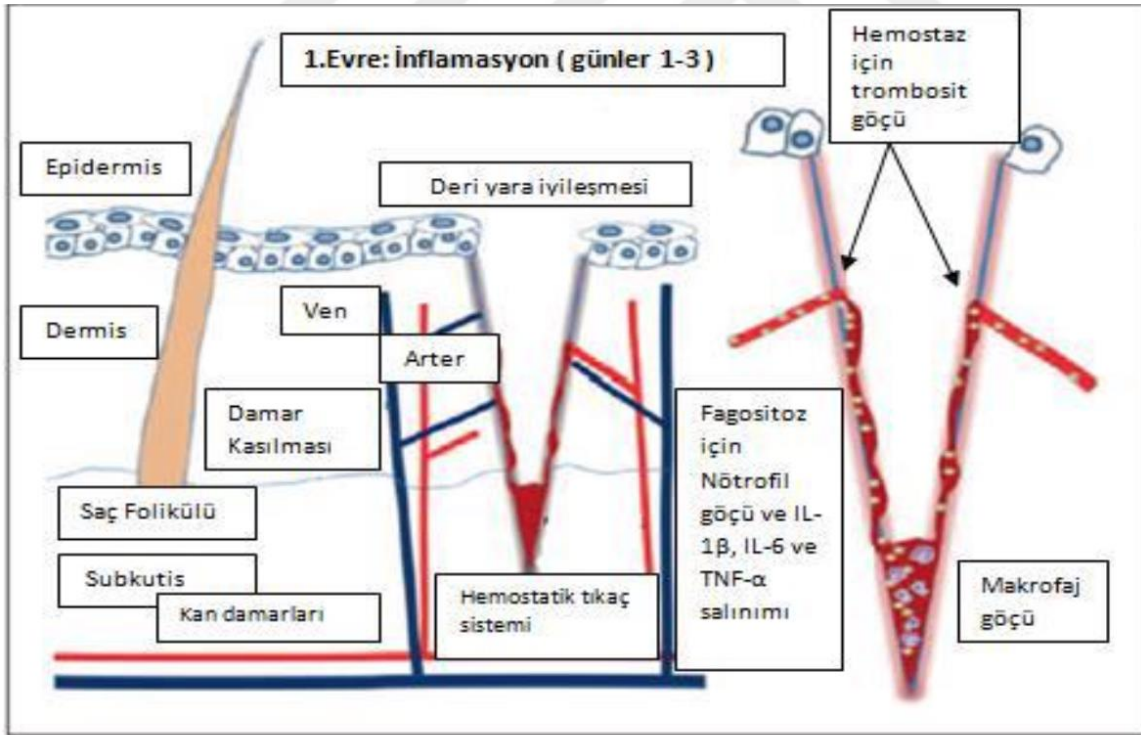


Şekil 2. Yara iyileşme süreci (11)

2.2.1.1. Hemostaz ve İnflamasyon Evresi

Hemostaz, damar yaralanmalarında kan kaybını sınırlayan kompleks bir süreçtir. Bu hemostatik sürece dört ana mekanizma katılır. Bunlar vasküler kontraksiyon, trombosit tıkaçı oluşumu, fibrin oluşumu ve fibrinolizistir. Kan damarı yaralanmalarında lokal arteriol ve kapillerdeki vazokontraksiyonu vazodilatasyon takip eder ve permeabilite artması sağlanır. Eritrosit ve trombositler hasar görmüş kapiller endoteline yapışır ve kapillerlerin tıkanmasını sağlayarak kanama durdurulur. Hemostazı sağlamak için oluşan fibrin pıhtısı polimorfonükleer lökositler ve monositler vb. inflamatuvar hücrelerin yara migrasyonu amacıyla bir iskele görevi görür. Hemostazı takiben yara yatağından kemotaktik faktörlerin salınımı ile inflamasyon başlatılır. Bu aşamada kanama durdurulmakta; yara yüzeyi kapatılmakta ve nekrotik doku, yabancı kalıntılar ve mikroorganizmalar uzaklaştırılmaktadır. İnflamasyon ise; artmış vasküler geçirgenlik, hücrelerin kemotaksis ile yara bölgesine göçü, sitokin ve büyüme faktörlerinin ortama salınması, göç eden hücrelerin aktivasyonu ile karakterizedir. Yaralanmadan sonraki 24 saat içinde yara alanına ilk olarak nötrofil ulaşır. Nötrofil migrasyonunu Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- β), Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF-

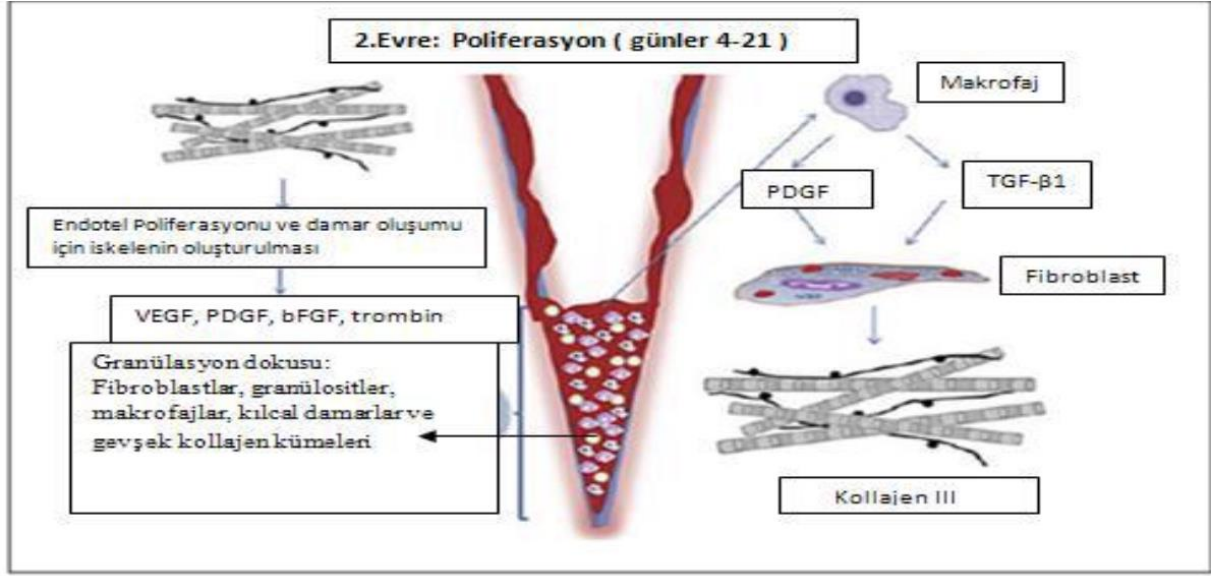
α) ve interlökin-1 (IL-1) uyarır. Yaralanma sonrası keratinositlerde makrofaj kemoatraktan proteini (MCP-1) indüklenir. Monositler/makrofajlar, T lenfositler ve mast hücreleri için güçlü bir kemo- çekicidir. Bu kemokinin ekspresyonu, kronik yaralarda devam eder ve polimorfonükleer hücrelerin ve makrofajların uzun süreli mevcudiyeti ile sonuçlanır, bu da uzun süreli inflamatuvar yanıtı yol açar. 48. saatten sonra ise makrofajlar yara alanına gelerek Matriks Metalloproteinaz-1,2,3 ve 9 (MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9) proteazlarını ekstraselüler matriksi (ECM) degrade etmek için salgırlar. Bunun yanında makrofajlar IL-1 eksprese ederek hemostaz, vazodilatör salınımı ve koagülasyonda rol oynarlar. Ayrıca kollajenaz üretimi ile ilişkili olup adezyon moleküllerini düzenlerler. Makrofajlar hücre proliferasyonunu, matriks sentezini ve anjiyogenezi İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF), Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), TGF- β ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) ile sağlar. 120. saatten sonra ise lenfositler ulaşır. Lenfositler yara iyileşmesinin 7. gününde en yüksek seviyelerine ulaşır (Şekil 5). Lenfositler interlökin-2 (IL-2) eksprese ederek fibroblastları stimüle etmesiyle birlikte TGF- β , TNF- α ve İnterferon gama (IFN- γ) salınımı da yapar (Şekil 3) (4, 10, 11).



Şekil 3. Deri yaralanmasının ardından inflamasyon basamağı; hemostaz ile inflamatuvar hücreler (9).

2.2.1.2. Proliferasyon Evresi

Bu evre anjiyogenez, kollajen sentezi, granülasyon doku formasyonu, ECM yeniden oluşumu, re-epitelizasyon ve yara kontraksiyonundan oluşur. Bu evre dördüncü günden 12. güne değin devam eder. Doku sürekliliğinin tekrar elde edilmesi bu evrede meydana gelir. Bu aşamada trombositler ve aktive makrofajlar tarafından salınan sitokinler ve büyüme hormonlarının etkisiyle yara bölgesindeki fibroblast ve endotel hücrelerinin çoğalması ön plandadır. İyileşen yaraya en son infiltre olan hücreler endotelial hücreler ve fibroblastlardır ve fibroblastlar açısından en kritik kemotaktik faktör Platelet Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)'dür. Fibroblast proliferasyonunu takiben yara makrofajlarından salınan sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından matriks sentezi için aktivasyonu sağlanır. İyileşmenin bu evresinde endotel hücreleri intakt venüllerden göç ederler ve yoğun olarak proliferasyon geçirirler. Bu göç, replikasyon ve yeni kılcal damarların oluşumu, büyüme faktörleri ve TNF- α , TGF- β ve VEGF gibi sitokinlerden etkilenir. PDGF ve TGF- β , trombositler ve aktive makrofajlar tarafından salgılanır. PDGF; nötrofillerin, makrofajların, düz kas hücrelerinin ve fibroblastların kemotaksisini başlatır. Ayrıca fibroblastlarda ve düz kas hücrelerinde mitoz bölünmeyi uyarır. TGF- β makrofajları etkileyerek esansiyel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), PDGF, IL-1 ve TNF- α gibi sitokinlerin salgılanmasını uyarır. Fibroblastlar yaraya doğru çevre dokudan göç eder. Yara bölgesi civarında sağlam venüllerden çoğalan endotel hücreleri bölgeye gelir, ardından anjiyogenezi başlatır ve yeni bir kapiller ağ meydana getirir (Şekil 4). (10, 11).

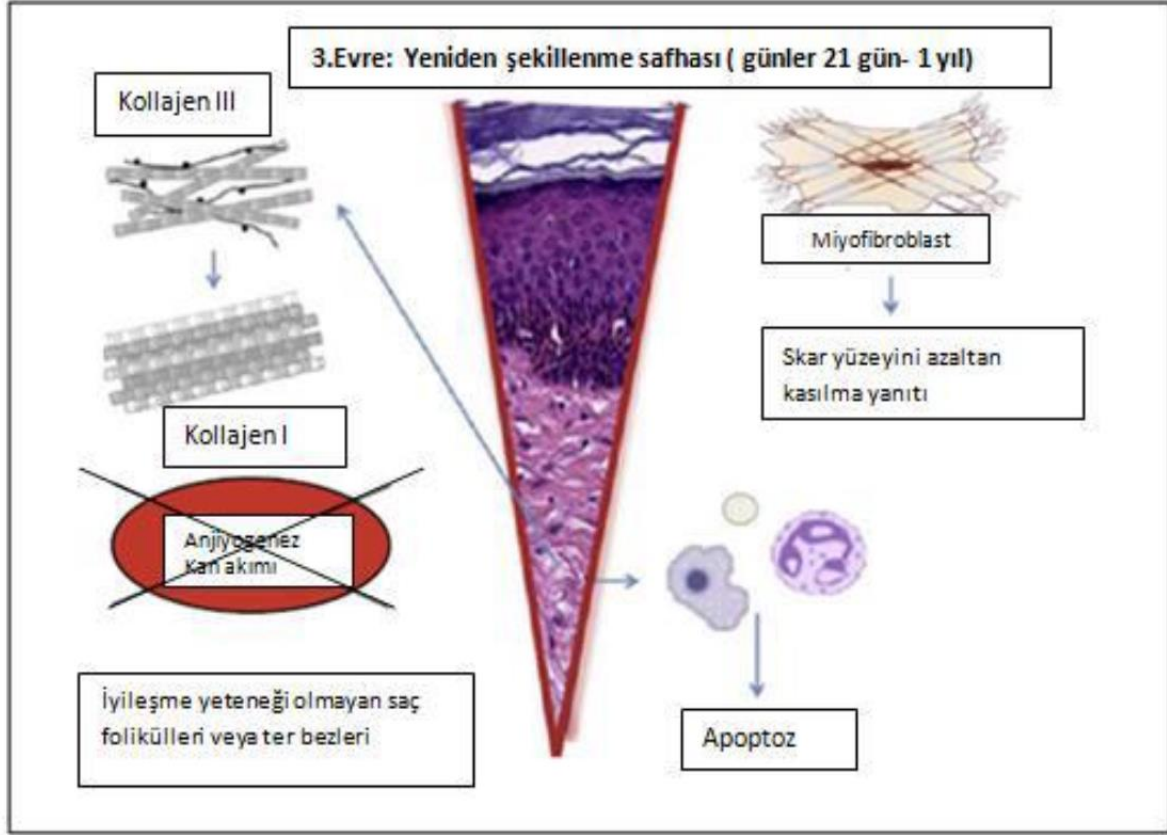


Şekil 4. Proliferatif Evre: Tıkaç organizasyonu, kollajen III sentezi, büyüme faktörlerinin salınımı ile anjiyogenezin başlaması (9)

2.2.1.3. Maturasyon ve Remodelling Evresi

Skar dokunun maturasyonu ile yeniden şekillenmesi fibroblastik fazda başlar ve daha evvel üretilen kollajenin reorganizasyonu ile karakterizedir. Kollajen MMP'lerce kırılır ve ECM'nin yeniden yapılanması, nispeten aselüler kollajen açısından zengin bir skardan oluşur. Bu aşamanın ana özelliği, yara bölgesinde kollajen birikmesidir. Bu süreç, kollajen birikiminin miktarı, oranı ve kalitesinin yara gerilme mukavemeti üzerindeki etkisinden dolayı klinik olarak en önemli aşamadır. Yara yatağında matriks birikimi karakteristik bir düzeni izler. Öncelikle tip 3 kollajen ile fibronektin erken matriks iskeletini meydana getirir. Daha sonra proteoglikanlar ile glikozaminoglikanlar matriks bileşenlerini oluşturur. Tip 1 kollajen son matrikstir. Kollajen sentezi ve birikimine ek olarak, oluşan bağ dokusunun anatomik ve fonksiyonel optimal şeklinde önemli rol oynayan diğer faktörler kollajenazlar ve bazı proteazlardır. Epitel hücreleri, aktive makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılanan kollajenaz, yara bölgesinde depo edilen kollajeni parçalayıp tekrar şekillendirerek yara izlerinin oluşumuna yol açar. Yara iyileşmesi sırasında meydana gelen tüm hücrel ve biyokimyasal olayların en önemli sonucu maksimum yara gerilimidir. Yaralanmanın birkaç hafta ardından, yarada bulunan kollajen düzeyi bir plato seviyeye ulaşır, fakat gerilim kuvveti birkaç ay boyunca yükselmeye devam eder (12). Yara maksimum gerilim kuvvetine 12. haftada ulaşır (13). Salgılanması fibroblastlardan olan fibrillin, bağ dokuda var olan elastik liflerin oluşumu açısından esansiyeldir. Yaralanmanın ardından skarın yeniden şekillenmesi uzun zaman (6 ila

12 ay) devam eder, kademeli biçimde matür, avasküler ile aselüler skar oluşur. Skarın sahip olduğu mekanik kuvvet hiçbir zaman yaralanmamış dokunun kuvvetine ulaşamaz (10, 11). Son yara izi, normal derinin gerilme mukavemetinin sadece %80'ini sergileyecektir (Şekil 5) (13, 14, 15).



Şekil 5. Maturasyon Evresi: Tamir süreci sona erer ve bağ dokusunun remodellingi ve yara kontraksiyonu (9)

2.2.2. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler

Pek çok faktör yara iyileşmesini etkilenmektedir. Bu faktörlerin başlıcaları şunlardır;

2.2.2.1. Yaş, Cinsiyet ve Irk

Yara iyileşmesi, çocuklarda yetişkinlere nazaran daha hızlıdır. Yaşlılarda travma bölgesine olan makrofaj ve lenfosit göçü yavaştır. Yine yaşlılarda yara iyileşmesinin inflamasyon ve proliferasyon aşamalarında gecikmeler olur (16).

Yara iyileşmesinde cinsiyetler arasında gözle görülür bir fark olmamaktadır. Siyahi ırkta diğer ırklara nazaran daha fazla keloid oluşumu gözlemlenmektedir (16).

2.2.2.2. Beslenme

Yara iyileşme sürecinde yeterli ve dengeli beslenme çok elzemdir. Malnütrisyonu olan kişilerde yara iyileşmesinde gecikmeler oluşur ve tamamlanamaz. Aynı zamanda bu kişilerde yara bölgesinde enfeksiyon gelişme riski yüksektir (17).

2.2.2.3. Kemoterapi-Radyoterapi

Kemoterapötik ajanlar; hem yara bölgesine göç eden mononükleer fagositik hücre sayısını azaltarak hem de enfeksiyon gelişmesine yatkınlık oluşturarak yara iyileşmesini geciktirirler. Ayrıca yaranın sağlamlığını da bozarlar. Bu etkileri kullanımlarından 2-3 hafta sonra ortadan kalkar (18).

Radyoterapi; yara iyileşmesinin granülasyon dokusunun olduğu aşamada hem fibroblastik proliferasyonda hem de kapiller oluşumunda azalma ile sonuçlanmasına ve yara iyileşmesinin gecikmesine neden olur. Bu etkiler radyoterapiden 3 haftaya kadar devam eder (18).

2.2.2.4. Hipoksi

Oksijen yara iyileşmesinin tüm aşamalarında endikedir. İyileşen dokulardaki oksijen gereksinimi diğer dokulardan daha fazladır (19). Travma sahasındaki kılcal damarların da hasarlanması nedeniyle, yara bölgesi sağlam dokuya kıyasla daha hipoksiktir (20).

Yara alanındaki kollajen sentezi hipoksi durumunda aksar. Bu da skar dokusunun yetersiz gelişmesiyle sonuçlanır. Bundan dolayı hiperbarik oksijen yaranın oksijenizasyonunu artırarak yara iyileşmesinde olumlu katkıda bulunur (21).

2.2.2.5. Fiziksel etmenler

Yara iyileşmesinde yara bölgesinin nemi ve sıcaklığı önemlidir. Yara iyileşmesinde ideal sıcaklık 30°C derecedir ve 30°C üstündeki sıcaklıklar yaranın gerilim direncini de azaltır. Belirli bir düzeye kadar olan mekanik stres yara iyileşmesine olumlu katkı sağlar. Çok yüksek düzeydeki mekanik stres yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (10).

2.2.2.6. Sigara

Sigarada bulunan nikotin sempatik sinir sistemini uyarır. Bu da kapiller damar yatağında vazokonstriksiyon oluşturarak yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Sigara parsiyel oksijen basıncını azalttığı için relatif hipoksi oluşturur. Sigarada bulunan karbonmonoksit nedeniyle karboksihemoglobin meydana gelir, oksijen hemoglobin dissosiasyon eğrisini sola kaydırarak

oksijenin hemoglobine zor bağlanmasına neden olur. Böylece hemoglobin yara yerine yeterli düzeyde oksijen taşıyamaz ve yara iyileşmesi olumsuz etkilenir (22).

2.2.2.7. Enfeksiyon

Yara yerindeki her gram dokuda bakteri miktarı 100.000 'nin üzerinde olduğunda yarada enfeksiyonun varlığından bahsedilebilir. Enfeksiyon, yara iyileşmesini olumsuz etkiler, doku oksijenizasyonunu da bozar. İnflamatuvar fazı uzatır ve kollajen üretimini baskılar (23).

Bakterilerden salınan metabolit ve toksinler epitelyum oluşumuna etki eder. Enfekte olan yaralarda granülasyon dokusu enfekte olmayanlara göre daha ödemli, kanamalı ve kırılgan bir yapıdadır. Enfekte olan yaralarda kollajen yıkımında artma ve yara kontraksiyonunda azalma meydana gelir (24).

2.2.3. Yaranın İyileşme Sürecinde Sitokin Aktivitesi ve Büyüme Faktörleri

Büyüme ile gelişme evresinde kemotaksis, hücre büyümesi, hücre proliferasyonu ve hücre farklılaşması gibi hücresel olaylar düzenlenerek vücudun ihtiyaçlarına göre büyümeyle alakalı kimyasal ileti molekülleri üretilir. Bu moleküllerinden polipeptit biçimdeki büyüme faktörleri; hücre bölünmesini aktive ya da inaktive eden, özelleşmiş hücrelere farklılaşmayı başlatan, çok az düzeyleri bile etki gösterebilen proteinlerdir (25).

Sitokinler, hücreler arasında mediatör şeklinde hareket eden, antikor olmayan çeşitli proteinlerin meydana getirdiği bir grup moleküldür. Sitokinler; hücre büyümesi, hücre iyileşmesi, inflamasyon ve yaralanmaya karşı sistemik cevabın da olduğu bağışıklık ile inflamatuvar olayları düzenler (26).

Proinflamatuvar sitokinlerin (TNF, IL-6, IL-1 vb.) yara iyileşmesinde rolleri önemlidir. Bu sitokinler travma bölgesinde; keratinositlerin uyarılması ve fibroblastların proliferasyonu, ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretilmesi ve parçalanması, immün cevabın düzenlenmesi ve fibroblast kemotaksisi gibi çeşitli etkileri vardır. Bu sitokinlerin temel olarak PMNL ve makrofajlar tarafından sentezlenir, fakat bazı yara bölgesine yerleşik hücreler tarafından da sentezlenebilmektedir (28).

Anti-inflamatuvar sitokinlerin de yara iyileşmesinde önemli rolleri vardır. Özellikle, IL-10'un, inflamatuvar yanıtların sınırlandırılmasında önemli bir rol oynadığı tahmin edilmektedir. IL-10; birkaç kemokin ve proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu sağlamanın yanında,

nötrofillerin ve makrofajların, travma alanına infiltrasyonunu inhibe ettiği, matriks birikiminin azalmasına ve skarsız iyileşmeye olanak tanıdığı gösterilmiştir (Tablo 1) (27).

Sitokinler ile büyüme faktörlerinin yara iyileşmesinde mühim görevleri bulunmaktadır (Tablo 2) (27). Büyüme faktörleri hücrelerin farklılaşması, hücrelerin migrasyonu, hücrelerin bölünmesi, protein ve enzim sentezinde görevlidir. Büyüme faktörleri, anjiyogenez ile hücrelerel çoğalmayı uyararak yara iyileştirici özelliklerini gösterir. Bu sebeple büyüme faktörleri yara iyileşmesinin bütün evrelerinde mühim bir konumdadır. Sitokinlerin uygun zamanda ve kontrollü şekilde salıverilmesi ise, iyileşme işleminin aynı biçimde tekrarlanabilmesini sağlar (27).

2.2.3.1. Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

Travma sonrasında endotel hücrelerinden, makrofajlardan, monositlerden, düz kas hücrelerinden ve plateletlerin alfa granüllerinden PDGF salgılanmaktadır. PDGF, yara iyileşmesinin başlatılıp devam edilmesinde ve bağ dokusunun meydana gelmesinde oldukça etkilidir. PDGF; polimorfnükleer lökositleri (PMNL), makrofajların ve fibroblastların mitotik aktivitelerini onları travma alanına çekerek güçlü bir biçimde artırır. PDGF, glikozaminoglikan ve glikoproteinlerin üretimini artırmak suretiyle nonkollajen ekstraselüler matriksin meydana gelmesini hızlandırır. Yara dokusundaki kollajenaz düzeyini de artırarak remodelling aşamasına katkıda bulunur. PDGF'nin en önemli görevi iyileşme yeteneğine sahip olan kök hücreler ile mitoz öncesi bir miktar farklılaşmış olan öncü hücrelerin çoğalmasını aktive etmektir. PDGF endotel hücrelerinin miktarını yükselterek, vaskülüler endotelial büyüme faktörüne (VEGF) benzer etki ile anjiyogenezise katkıda bulunan bir büyüme faktörüdür (29).

2.2.3.2. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

VEGF, vasküler permeabiliteyi artıran, endotel hücreleri üzerinde mitojenik ile anti-apoptotik etkileri olan, hücre göçünü uyaran önemli bir büyüme faktörüdür. VEGF yaptığı bu etkiler ile normal ve patolojik anjiyogenik süreçlerin düzenlenmesine aktif rol oynar. VEGF, tirozin kinaz hücre reseptörlerine (VEGFR) bağlanır. VEGF ve VEGFR'ler hem endotelial hücreleri hem de endotelial olmayan hücrelerden de salgılanabilir (30).

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

Travmanın ardından makrofaj, T-lenfosit, trombosit ve PMNL'den TGF- β salgılanır. TGF- β endotelyal hücrelerin farklılaşması ve fibroblast hücrelerin bölünmesini artırır, yara onarımının ilerleyen dönemlerinde fibroblastların sayısını azaltır. TGF- β kollajenin sentezi ve olgunlaşmasında etkilidir. Aynı zamanda diğer büyüme faktörlerinin yapmış olduğu mitotik aktivitede olan artışı düzenler, endotel hücrelerinin göç etmesini ve yeni damar oluşumunu da artırır (31).

2.2.3.4. Epidermal büyüme faktörü (EGF)

EGF trombositler, makrofajlar ve monositlerden salgılanır. Reepitelizasyon aşamasında yara kenarından bol miktarda üretilir. EGF tüm epitel hücrelerinin çoğalması ve göç etmesini uyarır. Aynı zamanda anjiogenezi uyarır ve kollajen sentezini de düzenler. EGF hücre farklılaşmasından da sorumlu olan bir büyüme faktörüdür (29).

2.2.3.5. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF; platelet, makrofaj, fibroblastlar ve mekanik şekilde hasarlı olan endotel hücrelerinden salgılanır. FGF anjiogenezi uyarır. Damar geçirgenliğini ve endotel hücrelerinin mitoz aktivitesini artırır (32).

Tablo 1. Yara iyileşmesinde büyüme sitokinlerin kaynakları ve görevleri (27)

Sitokin Hücre Kaynağı		Biyolojik Aktivite
Anti-inflamatuvar Sitokinler		
IL-4	Mast hücreleri	IL-1, IL-6 ve TNF sentezinin, fibroblast sentezinin, kollajen üretiminin inhibisyonu
	Bazofiller	
	T lenfositler	
IL-10	Keratinositler	IL-1, IL-6, TNF sentezinin, makrofaj ile PMNL aktivasyonunun inhibisyonu
	Makrofajlar	
	T lenfositler	
Pro-inflamatuvar Sitokinler		
TNF- α	Makrofajlar	PMN marjinasyonu ve sitotoksiste ya da kollajen sentezi; metabolik substrat sağlar
IL-1	Keratinositler	Keratinosit ve fibroblast kemotaksisi, kollajen üretimi
	Makrofajlar	
IL-2	T lenfositler	Fibroblast infiltrasyonu ile metabolizmayı artırır
IL-6	Fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu, hepatik akut faz protein üretimi
	PMNL'ler	
	Makrofajlar	
IL-8	Makrofajlar	Makrofaj ve PMNL kemotaksisi, keratinosit maturasyonu
	Fibroblastlar	

Tablo 2. Yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin kaynakları ve görevleri (27)

Büyüme Faktörleri		
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü	Fibroblastlar ve Keratinosit açısından mitojeniktir. Keratinosit migrasyonu ve granülasyon doku formasyonunu uyarır.
PDGF	Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü	Fibroblastlar, makrofajlar, PMNL ve düz kas hücreleri açısından kemotaktiktir. PMNL, makrofaj ile fibroblastları aktive eder. Fibroblast, düz kas hücreleri ve endotel hücreleri açısından mitojeniktir. Matriks metalloproteinaz, fibronektin ve HA sentezini uyarır. Anjiogenez ile yara kontraksiyonunu uyarır. Remodelingde etkilidir. Trombosit agregasyonunu dir stimüle eder. Integrin ekspresyonunu düzenler.
TGF- β	Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta	Fibroblast, makrofaj, lenfosit, PMNL ve düz kas hücreleri açısından kemotaktiktir. TIMP üretimini, keratinosit migrasyonunu, anjiogenezi uyarır.
TGF- α	Transforme Edici Büyüme Faktörü-Alfa	EGF benzeri etki eder
FGF 1-2	Fibroblast Büyüme Faktörü 1-2	Fibroblastlar için kemotaktiktir. Keratinositler ve Fibroblastlar açısından mitojeniktir. Keratinosit migrasyonunu, yara kontraksiyonunu, matriks depolanmasını ve anjiogenezi uyarır.
KGF	Keratinosit Büyüme Faktörü	Keratinosit proliferasyonu, migrasyonu ve farklılaşmasını uyarır.

TNF- α , IL-1 ve IL-6 dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinler, yara onarımında önemli bir rol oynamaktadır. Bu sitokinlerin; keratinositlerin uyarılması ve fibroblastların proliferasyonu, ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretilmesi ve parçalanması, immün cevabın düzenlenmesi ve fibroblast kemotaksisi gibi çeşitli etkileri vardır. Yara onarımında proinflamatuvar sitokinlerin rolünün desteklenmesinde, TNF- α , IL-1 ve IL-6'nın ekspresyonunun, iyileşmenin inflamatuvar fazı sırasında kuvvetli şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu sitokinlerin ana kaynağı PMNL ve makrofajlar olmakla birlikte bazı yerleşik hücrelerce de sentezlenebilmektedir (4).

Proinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra, antiinflamatuvar sitokinler de yara onarımının önemli düzenleyicisidir. Özellikle, IL-10'un, inflamatuvar yanıtların sınırlandırılmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. IL-10; birkaç kemokin ve proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun yanı sıra, nötrofillerin ve makrofajların, yaralanma bölgesine infiltrasyonunu inhibe ettiği, matriks birikiminin azalmasına ve skarsız iyileşmeye yol açtığı gösterilmiştir. Aynı zamanda IL-10; çeşitli bağışıklık hücrelerinin büyümesini veya farklılaşmasını, aynı zamanda keratinositleri ve endotelial hücreleri de düzenler (5, 26).

2.3. Lokal Anestezi

Lokal anestezi vücudun belli bir bölgesine farmakolojik ajanlar uygulanarak sinir iletiminin geçici olarak engellenmesi anlamına gelmektedir. Santral sinir sisteminde bilinç fonksiyonlarını etkilemeden, uygulandığı sinirlerde analjezi ve motor nöron aktivitesini geçici olarak engellemesi lokal anestezinin önemli bir avantajıdır (33). Lokal anestezinin klinik uygulamaları perioperatif tıpta köklü değişikliklere neden olmuştur (34).

2.3.1. Lokal Anestezikler

2.3.1.1. Lokal Anesteziklerin Tanımı ile Etki Mekanizmaları

Lokal anestezikler vücutta bulunan bütün sinir liflerinde ve öteki uyarılabilir yapılarda depolarizasyon dalgasının meydana gelmesini ve yayılımını geçici olarak önleyerek bu dokularda motor, duyu ve otonomik fonksiyon kaybına neden olan farmakolojik ajanlardır (35).

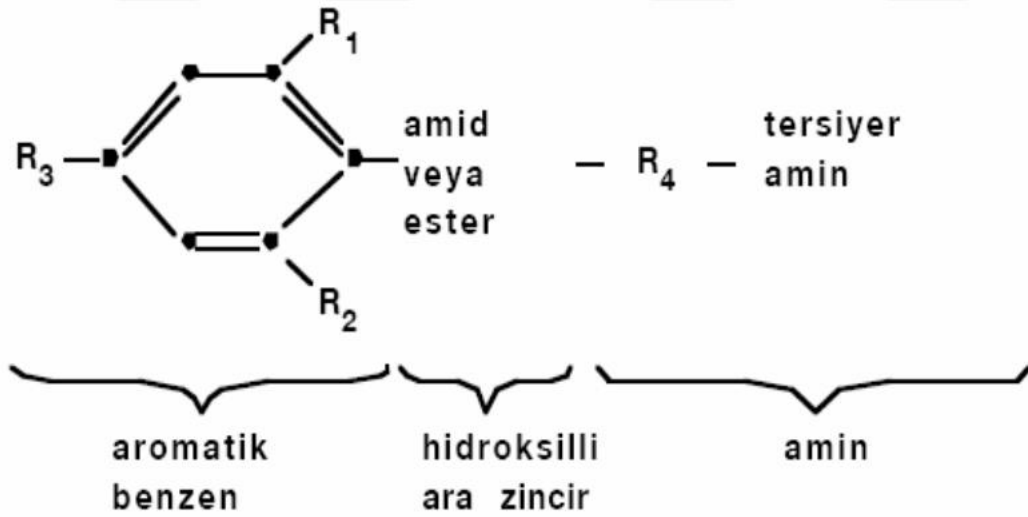
Lokal anestezikler zayıf bazlardır. Tersiyer formlarındaki terminal amin grup lipid çözünür yapıdadır. Ancak bu yapı bir hidrojen yakalayarak konjuge asit formu oluşturup suda çözünür hale gelebilir. Bu nedenle enjeksiyon formlarında lokal anestezikler suda çözünebilir

formdadırlar, ancak vücutta, fizyolojik pH'da lipid çözünebilir ve suda çözünebilir formların bir dengesi söz konusudur (36).

Lokal anestezinin amacı belirli bir vücut bölgesindeki ağrı duyusunun geçici olarak yok edilmesidir. Lokal anestezi bu voltaj kapılı sodyum (Na) kanallarına bağlanıp hücre içine Na akışını inhibe ederek yaparlar. İyonize olmayan lokal anestezi molekülü akson membranını diffüzyon ile geçer ve daha asidik olan intrasellüler ortamda protonlanıp iyonize forma dönüşür. İyonize form voltaj kapılı sodyum kanalının (VGSC) intrasellüler kısmına bağlanır ve iletimi bloke eder. Lokal anestezi istirahat membran potansiyelini etkilemezler ancak VGSC'nin bloklanması ve sodyum içeri geçişinin inhibe edilmesi aksiyon potansiyeline ulaşmayı dolayısıyla sinir iletimini engeller. VGSC depolarizasyon ve repolarizasyon siklusları sırasında 3 farklı konfigürasyonda bulunabilir; dinlenme (resting), açık ve inaktif formlar. Lokal anestezi kanalı inaktif ve açık formlarına dinlenme halinden daha yüksek afinite ile bağlanırlar. Bu durum lokal anesteziye nöronal sensitivitenin frekans bağımlı olmasını açıklar. Nöronal sensitivite ayrıca sinir lifinin çapı ile ilişkilidir. Ağrı transmisyonunda görevli Aδ ve C sinir lifleri küçük çaplı ve yüksek frekanslı iletimleri nedeniyle kolayca bloklanabilirler. Motor iletimden sorumlu büyük çaplı Aα lifleri lokal anesteziye çok daha dirençlidirler (37, 38).

2.3.1.2. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapıları ve Farmakolojik Özellikleri

Tüm lokal anestezi 3 bileşenden oluşur: aromatik benzen halkası, tersiyer amin ve bunları bağlayan hidrokarbon bağ (Şekil 6). Kimyasal bağa göre 2 gruba ayrılırlar; esterler ve amidler. Sıklıkla kullanılan esterler; benzokain, kokain, prokain, tetrakaindir. Ester bağlar kolaylıkla yıkıldıklarından bu ilaçlar solüsyonda görece olarak anstabil dirler. Sıklıkla kullanılan amid lokal anestezi; bupivakain, levobupivakain, mepivakain, lidokain, prilokain ve ropivakaindir. Amid solüsyonlar çok stabildir ve sterilizasyon ya da pH değışikliklerinden etkilenmezler (36, 38).



Şekil 6. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapısı

Lokal anesteziklerin amino grupları pK_a 'yı ve dolayısıyla suda çözünürlüğü belirler. Bu lokal anesteziklerin sodyum kanallarına bağlanmasında önemlidir. pK_a ilacın yarısının iyonize (katyon) ve yarısının aniyonize (baz) yapıda olduğu pH seviyesidir. pK_a Henderson-Hasselbach eşitliğinden elde edilir : $pH = pK_a + \log ([\text{aniyonize}] / [\text{iyonize}])$. Bu eşitlikten anlaşıldığı gibi daha düşük pK_a lokal anestezinin aniyonize formunun miktarını artırır. Bu form sinir membranını geçen formdur. Dolayısıyla daha düşük pK_a 'lı lokal anestezik daha hızlı etki başlangıcına sahiptir. Ayrıca bu eşitlikten doku pH'sının lokal anesteziklerin etki başlangıç süresine etkisi olduğu anlaşılmaktadır. İskemik ya da enfekte dokulardaki düşük pH lokal anesteziklerin etki başlangıcının gecikmesinin nedenidir (35, 39).

Aromatik halka lipid çözünürlüğünü (hidrofobisite) belirler. Daha yüksek lipid çözünürlük lipid membrana daha yüksek afinite ve dolayısıyla etki bölgesinde daha uzun süre varlık göstermesi ile sonuçlanır. Böylece lipid çözünürlük artışı ile potens ve etki süresi artar. Fakat yüksek lipid çözünürlüğü aynı zamanda toksisiteyi de artırır ve teröpatik indeksi daraltır (36).

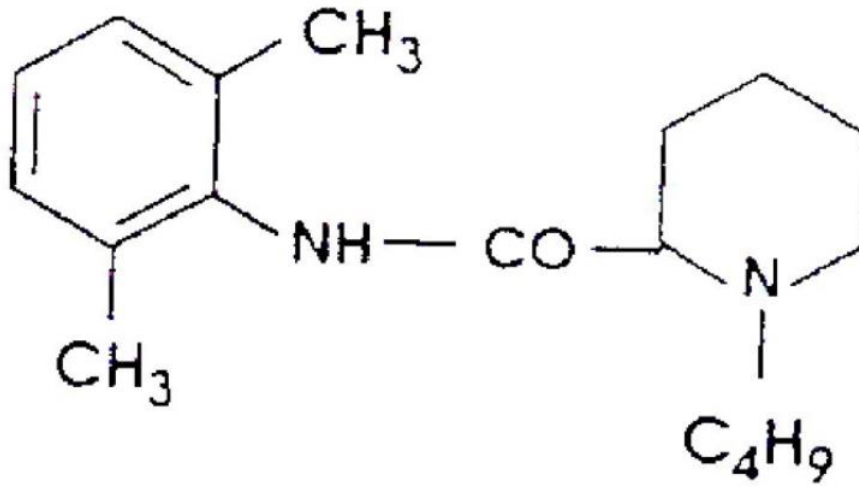
Genel olarak moleküler ağırlığı yüksek olan lokal anesteziklerin daha lipofilik olduğu, daha fazla proteine bağlandığı ve etki süresinin daha uzun olduğu, dolayısıyla daha toksik olduğunu söylenebilir. Ancak etki başlangıcı daha yavaştır (39).

Lokal anesteziklerin etki süresi genellikle proteine bağlanma tarafından belirlenir. Proteine yüksek afinite ile bağlanan lokal anestezikler sodyum kanallarına daha uzun zaman bağlı kalırlar. Etki süresi aynı zamanda lokal anesteziğin enjekte edildiği bölgedeki vasküler alım hızına da bağlıdır (36, 39).

2.4. Araştırmada Kullanılan Farmakolojik Ajanlar

2.4.1. Bupivakain

AF Ekenstun ile arkadaşları tarafından 1963 senesinde elde edilmiştir. Bupivakain amid yapılı lokal bir anesteziktir. Piperidin halkası üzerinde butil grubu vardır. pKa değeri 8.1 olup ticari preparatın pH değeri 4.5-5.5 aralığındadır. Kimyasal ismi “*L-n Butyl-DL-Piperidin 2-Carbonsaure 2-6 dimethylanilid*” olarak bilinir (Şekil 7) (40).



Şekil 7. Bupivakain'in moleküler yapısı (40)

Lokal anesteziklerin yara infiltrasyonu, yara yeri analjezisi amacıyla yapılan en basit metotlardan bir tanesidir. Lokal anesteziklerin yara yerine enjekte edilmesiyle yara iyileşmesini geciktirebileceğinden korkulduğu için çoğu zaman ihmal edilir. İnfiltrasyon için en sık tercih gören anestezik % 0.25 bupivakaindir (41).

Yavaş etki başlangıçlı, uzun etki süreli (5-16 saat kadar), ancak yüksek toksik potansiyele sahip bir ajandır. Toksik dozu 3 mg/kg'dır. Bupivakainin plazma klirensi 0.58 litre/dakika iken, eliminasyon yarılanma ömrü 2.7 saattir ancak yenidoğanlarda bu süre 8.1 saate kadar uzayabilir. Plazma proteinlerine, en başta alfa-1-asit glikoproteine %95 düzeyinde

bağlanır. Plasentayı rahatlıkla geçebilen bu ajanın plazma proteinlerine bağlanma düzeyi fetüste anneye kıyasla düşüktür. Karaciğerde glukronid konjugasyonu ile metabolize olup, idrarla atılır. Bupivakain, lidokain ile mepivakainden 3-4 kat daha potent iken, prokainden 8 kat fazla potenttir (42).

Bupivakain %0.25, %0.5, %0.75 konsantrasyonlarda kullanılır. Konsantrasyon azaldıkça analjezi sağlanabilirken motor fonksiyonlar korunabilir. Özellikle %0.1'in altındaki konsantrasyonlarda motor blok görülmez. Bupivakaine blok sırasında özellikle etki başlangıç hızını arttırmak amacıyla diğer lokal anestetikler eklenebilmektedir. Bu ajanlar genellikle etki süresini değiştirmezler. Epinefrin bupivakain ile olan bloğun süresini uzatmaz ancak ilacın plazmaya emilimini azaltır, böylelikle olası yanlış intravasküler enjeksiyon durumu için uyarıcı bir ajan olabilir. Deksmetomidin ve klonidin gibi α -2 adrenerjik reseptör agonistlerinin eklenmesinin bloğun süresini uzatabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (42, 43).

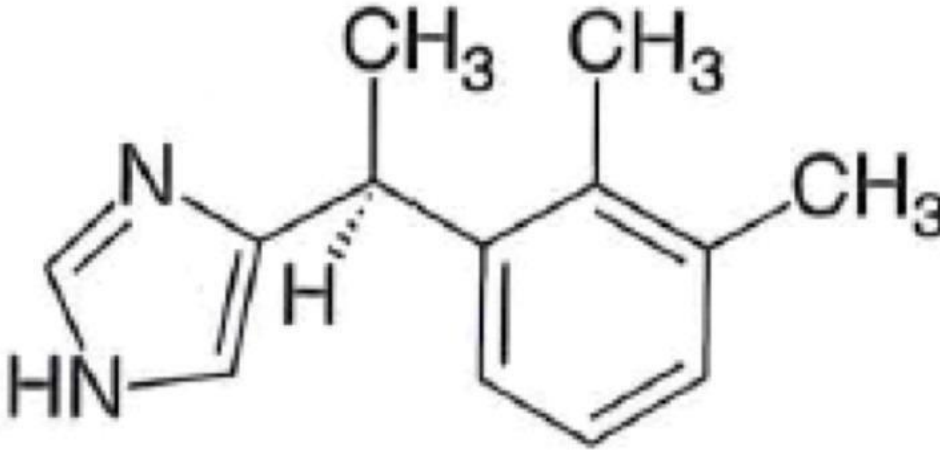
Yüksek lipofilik özelliği sebebiyle miyelinli motor liflere daha çok penetre olur bu yönüyle güçlü bir anestezi oluşturur ancak daha fazla santral sinir sistemi toksisitesine sebep olabilir. Miyokard Na^+ kanallarına karşı yüksek afinitesi kardiyotoksik etkisinden sorumludur. Ventriküler aritmiler, taşikardi ve ventriküler fibrilasyon da dahil tedaviye çok dirençlidir (43).

Bupivakain, miyotoksik etkisi en yüksek lokal anestetik olup bu etkisini sarkoplazmik retikulumdan (SR) Ca^{++} salınmasının yanı sıra sarkoplazmik retikuluma Ca^{++} geri alınımını inhibe ederek gösterir. Miyoplazma içinde çabucak birikerek kas liflerinde Ca^{++} 'un hücre içi konsantrasyonu artırır böylece akut miyosit hasarı ile apoptozis meydana gelir (43).

Bupivakain hemen hemen %95 proteine bağlanır ve asıl olarak karaciğerde glukuronik asitle konjugasyon şeklinde metabolize olur. Karaciğer hastalığı bulunan kişiler, bilhassa şiddetli bir karaciğer hastalığı bulunanlar, amid yapılı lokal anestetiklerin muhtemel toksisiteleri açısından daha duyarlı olabilir. Bupivakainin ana metaboliti pipekoloksilidin'dir. Birçok lokal anestetik ile metabolitleri böbrekler yardımıyla vücuttan uzaklaştırılır. Bupivakainin yalnızca %6'sı hiç değişim göstermeden idrar yoluyla uzaklaştırılır. Hamilelerde fetustaki ilaç konsantrasyon düzeyi fazla artmadığından doğum analjezisinde uygulanır. Aynı zamanda daha düşük seviyelerde, motor blok meydana gelmeksizin analjezi oluşturur ve postoperatif analjezi için uygulanabilir. Rejyonel IV anestezi bloğunda turnikenin hatalı bir şekilde açılması sonucu sistemik sirkülasyona karışan bupivakain akut sistemik toksik

reaksiyonlara sebep olabilir, bu nedenle tercih görmemektedir. Yanlış IV enjeksiyonu durumunda toksisite 1 ila 3 dakikada oluşurken, damar içine yapılmayan doz aşımındaysa daha geç oluşur. Hücre membranından Na⁺ iyonlarının geçmesini önler ve sinir lifleri boyunca impuls iletiminin geri dönüşümlü inhibasyonuna neden olur. Na⁺ kanallarına öteki lokal anesteziyelere kıyasla çok daha güçlü bağlanır. Çoğunlukla öteki lokal anesteziyelere aksine nöbetler meydana gelmeden kardiyak toksisite görülür. Diyastolde Na⁺ kanallarından oldukça yavaş biçimde ayrılır, bu sayede Na⁺ kanalları eski şekline dönemez, böylece ileti bloke olur. Kardiyak outputta düşüş, negatif inotropik etki, kalp kası kontraksiyonunda azalma, ventriküler aritmi, aritmojenik etki ve ventriküler fibrilasyon meydana gelebilir. İntralipid %20'lik solüsyonu, bupivakainle ilişkili kardiyak arrest geçiren kişilerde yaşam kurtarıcıdır. Bupivakainin yan etkileri arasında hipotansiyon, bradikardi, alerji, titreme ve konvülsiyon vardır (40).

2.4.2. Deksmetomidin



Şekil 8. Deksmetomidin'in moleküler şekli (45)

Deksmetomidin, 1999 yılının sonlarında, kritik hastalığı bulunan erişkin vakalarda sedatif ajan amacıyla kısa süreli (<24 saat) infüzyon için FDA tarafından onay aldı. Deksmetomidin, veterinerlikte sık uygulanan bir anestetik olarak bilinen medetomidinin dekstro-izomeri ile aktif bileşenidir. Sempatik aktivitenin inhibe olması, hemodinamik cevapta düşüş ile beraber minimal respiratuar depresyon ile sedasyon, analjezi ve anksiyolizis meydana getirmesi aynı zamanda orta seviyede antisialog etkisi sebebiyle ilgi görmüştür. Kendine has

özellikleri sebebiyle bütün perioperatif zamanda analjezi ve sedasyon amacıyla ideal bir ajan olmuştur. a2-agonistleri ayrıca imidazol reseptörleri üstünde etki etmelerine karşın, deksmedetomidin, a2 reseptörüne klonidinden 8 kat fazla afiniteye sahip olan çok fazla seçici bir a2-agonistidir. Deksmetomidin a2 agonist etkisi a1 agonist etkisine kıyasla 1620 kat fazla güçlüdür. Aynı zamanda klonidinden daha kısa etkilidir. Bu özellik IV infüzyonlarının titrasyonuna izin verir (46).

2.4.2.1. Farmakolojik Özellikleri

Deksmetomidinin, moleküler formülü C₁₃ H₁₈ N₂ HCL biçiminde, moleküler ağırlığı 236.7, pK_A'sı 7.1 ve pH'sı 4.5 ila 7 ve renksiz, berrak, izotonik bir solüsyondur. Erişkinlerde hemen hemen 6 dakikalık bir dağılım yarı ömrü gibi hızlı bir dağılım fazı bulunmaktadır. Eliminasyon yarı ömrü 2 ila 2,5 saattir. IV enjeksiyonun ardından ortalama 15 dakika içinde etki göstermeye başlar ve IV infüzyonun sonrasında tepe konsantrasyonuna bir saatin ardında gelir. Yüksek düzeyde proteine bağlı olan ilacın %6 serbest fraksiyonu vardır ve ortalama 118 L'lik sabit durum dağılım hacmi vardır. Karaciğer hastalığı bulunan kişilerde, sağlıklı kişilere göre plazma proteinine bağlı deksmedetomidin fraksiyonu mühim düzeyde düşmüştür (47).

Deksmetomidin aynı zamanda transdermal (48), bukkal ya da intramüsküler(49) biçimde sistemik olarak emilir ve son iki yoldan sırasıyla %82 ile %104'lük bir ortalama biyoyararlanımı vardır. Deksmetomidin yüksek düzeyde karaciğerde glukuronid konjugasyonu ile sitokrom P450 enzim biyotransformasyonu şeklinde metabolize olur. Aktif ya da toksik metabolitleri bulunmamaktadır. Ayrıca, şiddetli karaciğer hastalığı varlığında karaciğer klirensi normalin yarısı kadar düşebilir. Şiddetli böbrek yetmezliği bulunan vakalarda eliminasyon mühim düzeyde değişiklik göstermez, fakat hastalar daha uzun zaman sedasyonda olur, bu da olasılıkla üremik ensefalopati varlığından ötürü farmakodinamik etkinin arttığını akla getirir (50). Bu sebeple, hepatik ya da renal hastalık durumlarında dozajlar düşürülmelidir. Deksmetomidin doza bağlı biçimde kardiyak debiyi düşürür, fakat bunun klirens üstündeki etkisi klinik açıdan anlamlı olmamaktadır (51). Farmakodinamik etkileri elde etmek amacıyla, 10 dakikalık sürede 1 mg/kg dozunda yükleme dozu, sonrasında 0,2 ila 0,7 mg/kg/saat'lik sürekli IV infüzyon doz rejimi FDA tarafından onay aldı. Deksmetomidin (192 mg yükleme dozu, 2-30 mg/kg/saat) yanlılıkla büyük doz aşımı olgu raporları, tek kayda değer belirti olarak tedavinin kesilmesinin ardından 1 saat içinde ortadan kalkan aşırı sedasyondan bahsetmiştir (52).

FDA 2008 yılının Ekim ayında cerrahi prosedürler açısından deksmedetomidin dozunun 1,5 mg/kg/saate değin artırılmasına onay verdi.

2.4.2.2. Santral Sinir Sistemine Etkileri

α_2 adreno reseptörlerin aktivasyonu serebral vasküler yatakta spesifik bir vazokonstriktif cevaba sebep olur. Kortikal kan damarlarında presinaptik α_2 adreno reseptörlerin aktive olması norepinefrin salınımını düşürürken, postsinaptik α_2 adreno reseptörler vasküler düz kastaki tonusun artmasına neden olabilir. Bu sayede, deksmedetomidin infüzyonu hem doğrudan (α_2 -agonistlerle bağlantılı kalsiyum akışında yükselme) vasküler düz kas konstrüksiyonunu tetikler, hem de dolaylı biçimde santral sempatik aktivitede değişiklikler meydana getirir ve serebral metabolik hızı düşürerek serebral kan akımına (SKA) etki edebilir (53).

2.4.2.3. Sedasyon, Anksiyoliz, Hipnozis ile Amnezi

Sedasyon kalitesi, propofol ya da midazolam gibi GABA_Aerjik ajanlarla kıyaslandığında benzersiz olmaktadır. Yapıldıkları kişilerin uyanıklık testlerinde iyi bir performansları vardır. Bu durum; uyanık fiberoptik entübasyon ile tümör diseksiyonu ya da stereotaktik implantasyonlar için kraniyotomiler sırasında nörolojik testlere cevap verebilmeleri açısından ‘‘kooperatif sedasyon’’ şeklinde isimlendirilmiştir (53).

Yoğun bakımda yatan kişilerde, spontan solunumun korumasını ve infüzyon sürerken sakin bir ekstübasyon sağlar.

Deksmedetomidin, spinal kod ile beyinde bulunan α_2 adrenerjik reseptörleri üstüne etkil gösterir ve etkisi esas olarak beyindeki uyku merkezlerini harekete geçiren locus coeruleus’tadır. Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme araştırmaları, deksmedetomidin tarafından indüklenmiş olan sedasyonun GABA_Aerjik ajanlardan ayrı biçimde, doğal uyku gibi bir serebral kan akışını koruduğunu, doğal uykuyla uyumlu solunuma ve EEG değişikliklerine sebep olduğunu ortaya koymaktadır (54, 55).

Bu ilacın anterograd amnestik etkileri, benzodiazepinlere kıyasla çok daha azdır. Bu ilaçla amnezi, retrograd amnezi meydana gelmeden yalnızca yüksek plazma düzeylerinde (>1.9 ng/mL) oluşur (56).

2.4.2.4. Analjezi

Supraspinal bölgelerde ve omurilik düzeyinde olasılıkla α -2a reseptör aktivasyonu ile analjezik etki meydana getirmektedir. Aynı zamanda spinal olmayan mekanizmalar aracılığıyla analjezi elde edilebilir. Diz cerrahisi sırasında eklem içi uygulanması IV uygulamayla kıyaslandığında, daha az sedasyona sebep olarak muhtemelen, α -2a reseptörlerinin aktivasyonu, C ile A δ lifleri yoluyla sinir sinyallerinin iletiminin inhibisyonu ve ensefalin'in lokal salınımıyla operasyonun ardından analjeziyi artırmıştır (57, 58).

2.4.2.5. Solunum sistemi üstüne etkileri

Deksmedetomidin'in solunum sistemi üstüne etkileri çok azdır. Sedasyon meydana getiren konsantrasyonlarda bir dakikadaki solunum hızını düşürür ve karbondioksit yükselmesine sebep olur (54). Deksmedetomidin, normal düzeyinden 15 kat fazla düzeyde yapılsa bile opioidlerden ayrı şekilde, anlamlı bir solunum depresyonuna sebep olmadan hipnotik, analjezik ve sedatif etkilerini gösterebilir (56). Sevofluran ya da desfluranla spontan ventilasyon anestezisi esnasında deksmedetomidinin yapılması, endtidal karbondioksit üstünde hiçbir etkiye sebep olmadığı görülmüştür (59).

2.4.2.6. Kardiyovasküler sistem üstüne etkileri

α 2 agonist etkisinden kaynaklı bradikardi ile hipotansiyon olması, deksmedetomidin'in kardiyovasküler sistem üstüne etkisidir. Plaseboyla kıyaslandığında, deksmedetomidin kalp atım sayısında dakikada 1-8 vuru ve sistolik kan basıncında yaklaşık 7mmHg azalmaya sebep olur (60). Hipertansif ile taşikardik vakalarda perioperatif evrede hemodinamik stabiliteyi iyileştirmeye yardımcı olur. Fakat, iletim bozukluğu olan konjestif kalp yetmezliği vakalarında ya da kalp debisi hıza bağlı olan kişilerde negatif sonuçlara neden olabilir. Yüksek doz boluslar, periferik alfa-2B vasküler reseptörlerin birinci stimülasyonunun neticesinde hipertansiyon ile bradikardi, sonrasında merkezi sempatolizis ile kan basıncında azalma ile bifazik bir cevapla neticelenebilir (56).

2.4.2.7. Metabolik etkiler

Alfa-2 agonistleri, olasılıkla beynin hipotalamik termoregülatör merkezindeki alfa-2B reseptörlerindeki aktiviteleri sayesinde titremeyi düşürürler (61). Deksmedetomidin, kişinin postoperatif titremenin neden olduğu rahatsızlığını azaltmada, akut inme ya da hipoksik

iskemik ensefalopati için terapötik hipotermiyi erteleyebilecek titremeyi kontrol etmede yararlı olabilir. Ayrıca, çocuklarda terapötik hipotermi esnasında deksmedetomidin, remifentanile eklendiğinde kalp hızında azalma meydana geldiği görülmüştür (62).

2.4.2.8. Diğer Sistemlere Etkileri

Gastrointestinal sıvıların sekresyonu, intestinal motilite ve salivasyon kısmen α -2 adrenoseptörler aracılığıyla düzenlenmektedir (63).

Deksmedetomidin, salivasyonu ve sekresyonları azalttığı için ağız kuruluğuna neden olmaktadır. Ayrıca bağırsak motilitesinde azalmaya, atriyal natriüretik faktör salınımının uyarılmasına, renin ve antidiüretik hormon salınımının inhibisyonuna, glomerüler filtrasyonun artmasına ve böbreklerden su ve tuz atılımının artışına sebep olmaktadır (64).

Kaslar üzerinde nöromusküler kavşakta etkisi olamamasına karşın, benzodiyazepinler gibi santral etkisi bulunmaktadır. Opioidlerin yüksek doz kullanımına bağlı oluşan kas rijiditesini azaltırlar (65).

Yapılan son çalışmalarda sepsis gelişmiş hastalarda inflamatuvar cevabı baskılayarak mortaliteyi azalttığı yönünde veriler bulunmaktadır (66).

Deksmedetomidin ve diğer α 2 agonistleri, muhtemelen beynin hipotalamik termoregülatör merkezinde α 2B reseptörlerini aktive etmeleriyle titremeyi bastırırlar (67)

Meperidin ve düşük doz deksmedetomidinin birlikte kullanımı titreme eşiğinin düşürülmesinde additif etki göstermektedir (68).

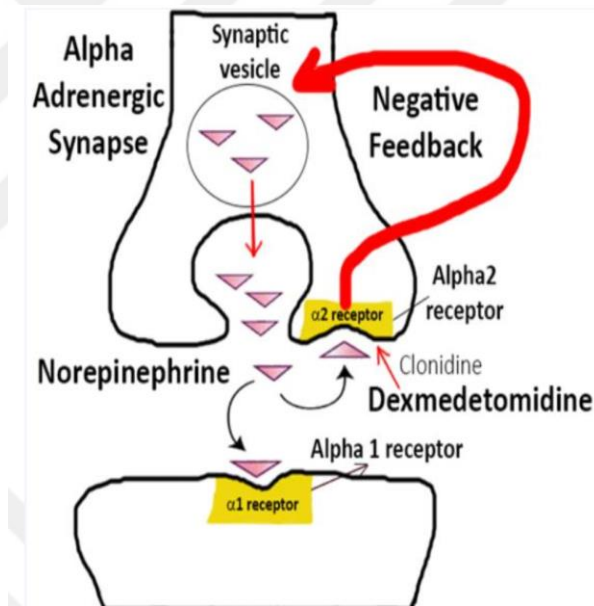
2.4.2.9. Deksmedetomidinin Koruyucu Etkileri

Yan ve ark.'ları deksmedetomidinin, akciğer hasarı meydana getirilmiş ratlarda antioksidan mekanizmalarda görev alan gen bölgelerine etki ederek bazı hücresel sinyal yolları vasıtasıyla inflamatuvar cevabı ve oksidatif stresi baskıladığını belirtmişlerdir (69). İnsan mikrogliya hücreleri üzerinde yapılan bir başka deneysel çalışmada, deksmedetomidinin NLRP3 gibi gen bölgelerine etki ederek hücre içi sinyal yolları vasıtasıyla inflamasyonu engellediğini belirtilmiştir (70). Wang ve ark., spinal kord hasarı oluşturulan ratlarda 50 μ g/kg dozda uygulanan deksmedetomidinin, Bcl-2 ekspresyonunu arttırıp TNF-alfa ve IL-1 β ekspresyonunu azaltarak spinal kord dokusunda ödem oluşumunu önlediğini belirtmişlerdir ve

spinal kord hasarında terapötik amaçlı deksmedetomidin kullanmasının faydalı olacağını vurgulamışlar (71).

Yine ratlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, sepsis ile akut böbrek hasarı meydana getirildikten sonra ratlara verilen deksmedetomidinin proinflatuar sitokinlerin üretilmesini kısıtlayarak böbrek dokusunda hasarı azalttığı rapor edilmiştir (72).

Benzer başka bir çalışmada, travmatik beyin hasarı meydana getirilen ratlarda intravenöz 15 µg/kg deksmedetomidinin beyinde Bcl-2 ve HSP-70 ekspresyonunu uyararak nöronal apoptoz oluşumunu önleyerek nöroprotektif etki meydana getirdiğini vurgulanmıştır (64). α_2 adrenerjik reseptör antagonisti olan atipamezol ile deksmedetomidinin tüm etkileri kolay bir şekilde geri döndürülebilmektedir. (Şekil 9) (74).



Şekil 9. α_2 -adrenoseptör agonist reseptörünün deksmedetomidin ilişkisi. (74)

2.4.2.10. Yan Etkileri

Deksmedetomidin uygulaması esnasında sıklıkla meydana gelen yan etkiler; bradikardi, hipertansiyon, hipotansiyon, hipoksi, ağız kuruluğu ve bulantıdır (64).

2.4.2.11. Kullanım Endikasyonları ve Doz

Deksmedetomidin anestezi indüksiyonunda tek başına kullanılmaz iken anestezi idamesinde ve postoperatif sedasyonda adjuvan ajan olarak kullanımı mümkündür (70).

Alfa-2 adrenoseptör agonistlerinin analjezik, sedatif ve anksiyolitik özelliklerinden dolayı premedikasyon için kullanılmaktadır. Klonidin ve deksmedetomidin bunlar içinde en çok tercih edilenlerdir (76).

Hatta deksmedetomidin infüzyonunun düşük dozlarda kullanılması bu özelliklere ek olarak amnezik etki gösterdiği de bilinmektedir.

Deksmedetomidin, endotrakeal entübasyon esnasında meydana gelen hemodinamik değişiklikleri azaltır, intraoperatif dönem boyunca hemodinamik stabilite sağlar, anestezi ve analjezi ajanların kullanım miktarını azaltır (77).

Sevofluran ile kullanımında MAK gereksinimini büyük oranda düşürdüğü gösterilmiştir (78).

Operasyon başlamadan 15 dakika evvel 0,33 ila 0,67 µg/kg deksmedetomidin iv yolla uygulandığında etkili bir sedasyon meydana getirir ve endotrakeal entübasyon esnasında oluşacak hemodinamik değişiklikleri azaltır. Ancak ani gelişecek hemodinamik değişikliklerin önüne geçmek için iv bolus dozlar verilemez. İntravenöz yolla verildiğinde enjeksiyon en az 10-15 dakikada yapılmalı, infüzyona devam edilecek ise bu zaman dilimindeki yükleme dozu uygulanmasının ardından devam edilmelidir. İnfüzyonlar 24 saat ile sınırlandırılmalıdır. Daha uzun süreli infüzyon uygulamaları için yeterli çalışma bulunmadığından dolayı önerilmemektedir. Yapılan pek çok çalışmada postoperatif mekanik ventilasyon uygulama gereksinimi olan hastalarda sedasyon sağlamak amacı ile verilen propofole alternatif olarak deksmedetomidin önerilmiştir. Aynı zamanda birçok çalışmada sedasyon için deksmedetomidin uygulandığında ventilatörden ayrılma (weaning) esnasında hemodinamik verilerin daha stabil olduğu gözlemlenmiştir (79).

Yükleme dozunun 1 µg/kg olarak intraoperatif sedasyon için 10-15 dakikada uygulanması uygundur. Yükleme dozunun peşinden 0,2-0,7 µg/kg/saat idame dozu uygulanabilir (56). Alfa-2 adrenoseptör agonistlerinin analjezik, sedatif ve anksiyolitik özelliklerinden dolayı premedikasyon için kullanılmaktadır. Klonidin ve deksmedetomidin bunlar içinde en çok tercih edilenlerdir (76). Hatta deksmedetomidin infüzyonunun düşük dozlarda kullanılması bu özelliklere ek olarak amnezik etki gösterdiği de bilinmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı ve Bilimsel Araştırma Proje Desteği

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi (TOGÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın 21.12.2022 tarih, 51879863-70 No'lu kararı ile onay alındıktan sonra TOGÜ Deney Hayvanları Laboratuvarı, Biyoteknoloji Bölümü Hücre Kültürü labotuvarı, Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Tez projesi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonun'nca desteklendi.

3.2. Deney Hayvanları

Çalışmaya 6 – 8 haftalık 250-350 gr ağırlığındaki, 28 adet Wistar albino cinsi erkek ratlar dahil edildi. Ratlar araştırma başlangıcına kadar oda sıcaklığında (22-24°C), ortalama % 35 nisbi nemde, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutulup, standart pellet yem ve su ile beslenerek izlendi. Herhangi bir yem ve su kısıtlamasına gidilmedi. Ratlar, her grupta 7' şer adet olmak üzere toplamda dört gruba ayrıldı.

3.3. Deney Grupları ve Deneysel Yöntem

Grup K (Kontrol Grubu) (n=7); İnsizyon yeri oluşturulup, insizyon kenarlarına 3 ml izotonik infiltre edilip sonrasında 3/0 prolent ip ile suture edildi.

Grup B (Bupivakain Grubu) (n=7); İnsizyon yeri oluşturulup, insizyon kenarlarına 2mg/kg 3 ml olacak şekilde bupivakain infiltre edilip 3/0 prolent ip ile suture edildi.

Grup D (Deksmedetomidin Grubu) (n=7); İnsizyon yeri oluşturulup, insizyon kenarlarına 10 µg/kg deksmedetomidin 3 ml olacak şekilde insizyon kenarına infiltre edilip 3/0 prolent ip ile suture edildi.

Grup B+D (Bupivakain + Deksmedetomidin Grubu) (n=7); İnsizyon yeri oluşturulup, insizyon kenarlarına 2mg/kg 1,5ml bupivakain ve 10 µg/kg 1,5 ml deksmedetomidin toplamda 3 ml olacak şekilde infiltre edilip 3/0 prolent ip ile suture edildi.

Gruplardaki tüm ratların anestezisi intraperitoneal (ip) 50 mg/kg ketamin ile sağlandı. Gerektiğinde ratların anestezisi derinliğini sabit tutmak için idame ketamin (yarı dozda, 25 mg/kg) refleks yanıtla (Çene ya da iskelet kası tonusu izlenmesi) bakılarak tekrarlandı. Ratlar anestezisi uygulamasından sonra prone pozisyonunda operasyon masasına sabitlendi. Sırt bölgesi tüyleri elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edilerek temizlendi. İnsizyon yapılacak saha povidon

iyot ile silinip 2 dk beklendikten sonra steril gazlı bez ile kurulandı. Her grup için belirlenmiş olan solüsyonlar insizyon bölgesine infiltre edildikten 2 dk sonra sonra steril şartlar altında delikli kompres konularak sırt bölgesinden orta hatta boyunca bistüri ile 4 cm'lik cilt ve cilt altı bağ dokusunu içeren longitudinal cerrahi kesi yapıldı ve sonrasında 3/0 prolene iplik ile cilt ve cilt altı dokular karşılıklı olarak birleştirildi. İşlem sonrasında ağrı kesici olarak içme suyu yoluyla 30 mg/kg, 1-2 ml dozunda asetaminofen verildi. İşlemin herhangi bir aşamasında ve işlem sonrasında antibiyotik verilmedi. Ratlar optimum yaşam şartlarında aynı ortamda aynı tür yiyecek ve su ihtiyaçları karşılanarak barınaklarda 8 gün tutuldu. Günlük bir kez yara bakımları yapıldı. İşlem sonrası 8. günde intraperitoneal ketamin ile anestezi altında hayvanlar sakrifiye edildi.



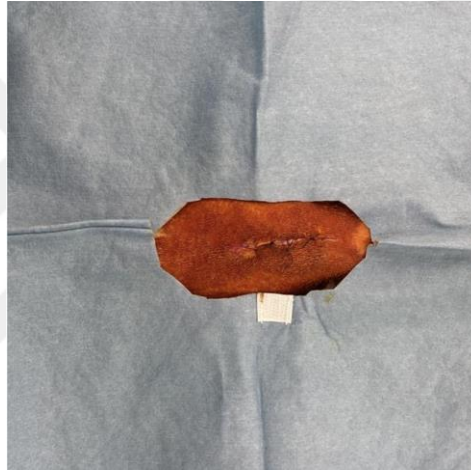
Şekil 10. Anestezi sonrası sırt bölgesinin tıraşlanması ve cildin povidon iyot ile boyanması



Şekil 11. Deneğin steril örtünmesi



Şekil 12. Deneğin sırt bölgesine longitudinal yönde 4 cm'lik cilt ve cilt altı bağ dokusunu içeren insizyon yapılması

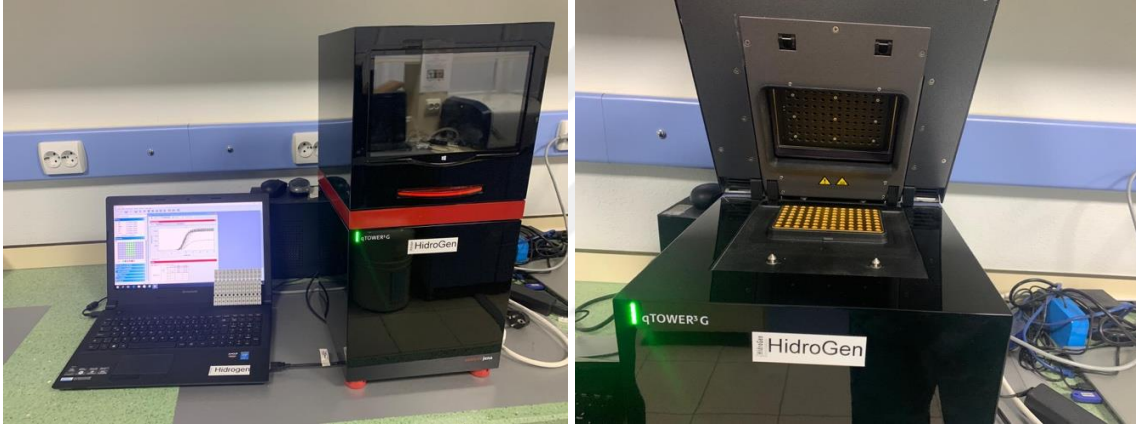


Şekil 13. Kesi sonrası cilt altı dokular karşılıklı olarak birleştirildikten sonraki görünüm

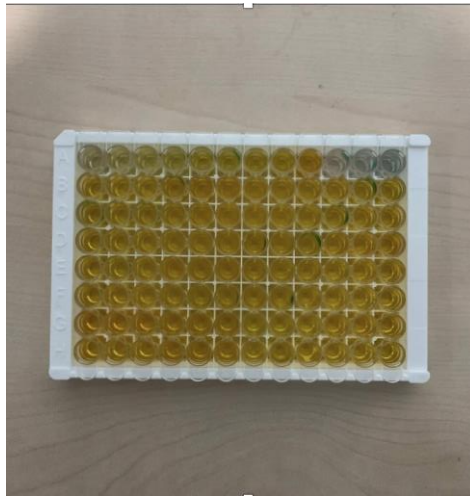
Bütün ratlar 8. günün sonunda sakrifiye edilip sırt kısmında insizyon yapılan sahadan steril şartlarda 6*4 cm cilt, cilt altı dokusu şerit şeklinde çıkarıldı. Materyalin 2 cm'lik kısmı ile histolojik inceleme, 1 cm'lik kısmı ile dokuda hidroksiprolin, geriye kalan materyalle (1x1 cm²) tensiyometri cihazı ile yara yerinin gerilim kuvveti hesaplandı. 0. Saatte alınan intrakardiyak kan ile Tnf-alfa, interlokin 6 ve interlokin 10 düzeyleri RT-PCR yöntemi ile çalışıldı. Ek olarak dokulardaki hidroksiprolin seviyesinin analizi için ELİSA yöntemi kullanıldı.



Şekil 14. Tensiyometri Cihazı (USC SUTURES)



Şekil 15. Real Time Pcr Cihazı (Analytic Jena qTower)



Şekil 16. Elisa sonuçlarını gösteren preparat

3.4. Ratlardan RNA eldesi

Ratlar sakrifiye edildikten sonra 0. Saatte intrakardiyak olarak kanı alınıp ettalı tüpe koyulduktan sonra RNA ile ilgili işlemlerin yapılması için soğuk zincirle Gaziosmanpaşa Üniversite Hastanesi Biyoteknoloji Bölümü Hücre Kültürü labotuvvarına getirildi. Kandan RNA ekstraksiyonu işlemi için Spin kolon Favorgen RNA ekstraksiyon kiti kullanıldı. Kite göre yapılan işlemler aşağıda adımlar halinde açıklanmış olup şekil 10'da iş akışı şematize edildi.

1-2,0 ml'lik santrifüj tüpüne 300 µl kan örneği konulduktan sonra RL tampondan 1500 µl eklenerek vortekslendi.

2- Karışım 10 dakika boyunca buz üzerinde inkübe edildi. Kuluçka sırasında 2 kez kısaca vortekslendi.

3-İnkübasyon sonrasında, beyaz kan hücrelerinin pelleti oluşturmak için 2.800 g' de 1 dakika boyunca santrifüjlendi ve supernatant ortamdan uzaklaştırıldı.

4-Hücre peletinin üzerine tekrardan RL tampondan 600 µl eklenerek vortekslendi.

5- Tekrardan, beyaz kan hücrelerinin pelleti oluşturmak için 2.800 g' de 1 dakika boyunca santrifüjlendi ve supernatant ortamdan uzaklaştırıldı.

6- Hücre pelletine 350 µl FARB Tamponu ve 3,5 µl β-Mercaptoetanol eklenerek, 1 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde vortekslendi.

7-Lizat Filtre Kolonuna aktarıldı ve 2 dakika boyunca tam hızda (~18.000 xg) santrifüjlendi.

8-Santrifüj sonrası elde edilen berrak lizattan 350 µl alınarak steril bir ependorf tüpünden 350 µl %70'lik etanol ile vortekslenerek karıştırıldı.

9-Elde edilen karışım bir FARB Mini Kolon yerleştirildi ve 18.000 g'de santrifüjlendi.

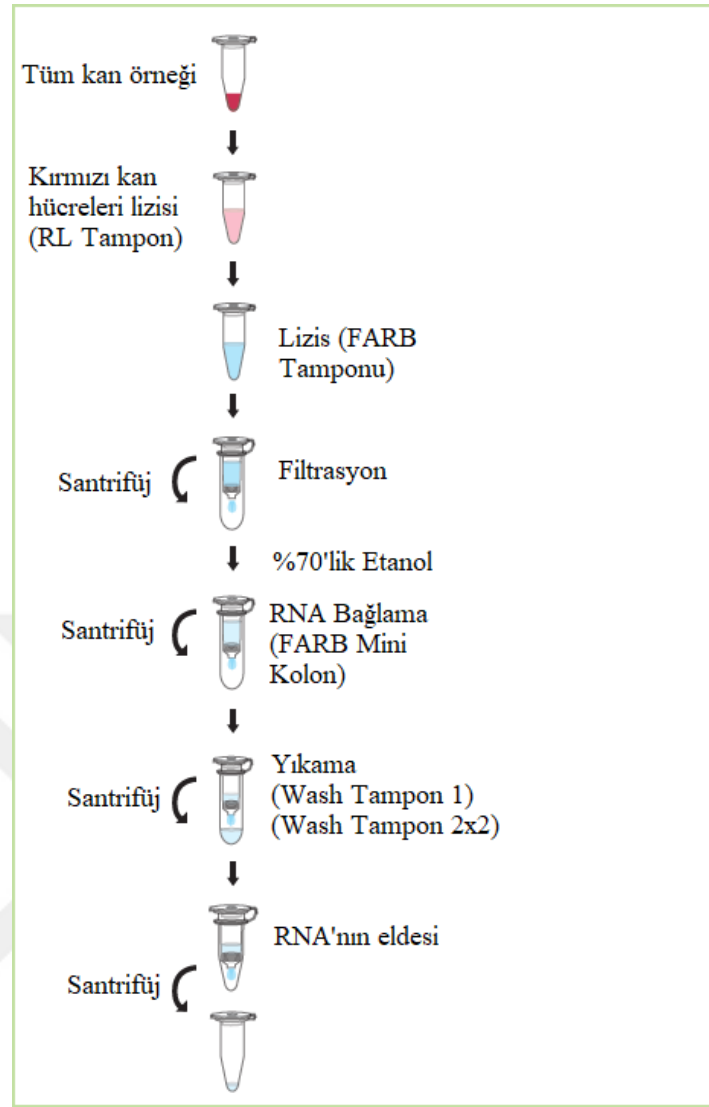
10- Kolon altındaki toplama tüpü yenilendikten sonra kolona 500 µl Yıkama Tamponu 1 eklendi ve 18.000 g'de santrifüjlendi.

11- Kolon altındaki toplama tüpü yenilendikten sonra kolona 750 µl Yıkama Tamponu 2 eklendi ve 18.000 g'de santrifüjlendi.

12- 11. Adım tekrarlandı.

13- Kolon altındaki toplama tüpü yenilendikten sonra kolon tam hızda 3 dakika daha santrifüjlendi.

14- Son olarak, kolona 40 µl Rnase free su eklenerek 1 dakika inkübasyon sonrası santrifüj işlemi yapıldı. Elde edilen RNA çalışmalar için -80°C'de muhafaza edildi.



Şekil 17. RNA eldesindeki yapılan işlemlerin adım adım şematize olarak gösterimi

3.4.1. Total RNA'dan Revers Transkripsiyon ile Komplementer DNA (cDNA)

Sentezi

Her bir örnekten izole edilen total RNA'dan tek zincirli cDNA, Iscript Revers Transkriptaz Supermix ile yapıldı.

Revers transkripsiyonun yapıldığı reaksiyon koşulları Tablo 3'te verildi.

Tablo 3. Revers transkripsiyonun yapıldığı reaksiyon koşulları

Reaksiyon bileşeni	Hacmi
Iscrip RT Supermix	5 ul
RNA örneği	4 ul
Rnase-free su	19 ul

Revers transkripsiyonun yapıldığı termal koşullar Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4. Revers transkripsiyonun yapıldığı termal koşullar

İşlem adı	Sıcaklık	Süre
Priming	25° C	5 dakika
RT	46° C	20 dakika
İnaktivasyon	95° C	1 dakika

RNA’nın cDNA’ya dönüştürüldüğü bu işlem Biorad 100 T PCR cihazı yardımı ile yapılmıştır.

3.4.2. Gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time–PCR, RT-qPCR)

Gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu, qTOWER3G Real-Time PCR Thermocycler’da gerçekleştirildi. Bu yöntem gen ekspresyonu analizlerinin yapılabildiği hızlı ve hassas bir yöntemdir. Bu çalışmada, RT-qPCR analizlerinde çift iplikli DNA’ya bağlanarak ışıma yapan EvaGreen boyası kullanıldı. EvaGreen, PCR için daha az inhibe edici ve SYBR Green ile kıyaslandığında daha az toksik olan, çift sarmallı DNA bağlayıcı bir boyadır. Serbest halde sulu çözelti içerisinde zayıf bir floresan olan bu boya çift sarmallı DNA ile bağlandığında oldukça floresan hale gelmektedir. Araştırma amaçlı yapılan çalışmalarda kullanılır. Bu çalışmada, miktar tayini için göreceli kantifikasyon (relative quantification) yapıldı. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR), gen ekspresyon seviyesini ölçmek için göreceli bir miktar tayini olarak kullanılır. Primer olarak tablo 5’te verilen proinflamatuvar(TNF- α ve IL-6) ve antiinflamatuvar (IL10) ve referans (housekeeping) gen olarak β -Aktin kullanıldı (80, 81).

Tablo 5. Real time PCR için kullanılan primer diziler (80, 81)

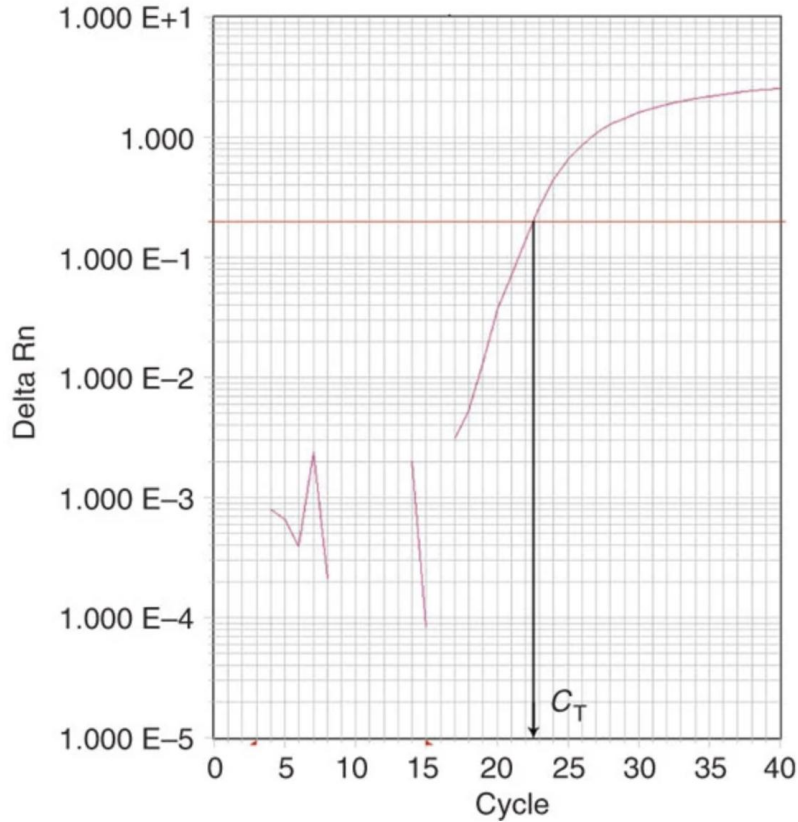
Primer Adı	Primer Dizisi (5'-----3')
R-IL6-F	TCCTACCCCAACTTCCAATGCTC
R-IL6-R	TTGGATGGTCTTGGTCCTTAGCC
R-IL10-F	CACTGCTGTCCGTTCTCC
R-IL10-R	GCTCTTCCTTCTTACCCTCA
R-TNFa-F	AAATGGGCTCCCTCTCATCAGTTC
R-TNFa-R	TCTGCTTGGTGGTTTGCTACGAC
R-Beta Actin-F	CATTGCTGACAGGATGCAGA-AGG
R-Beta Actin-R	TGCTGGAAGGTGGACAGTGAGG

PCR reaksiyonu için Tablo 6'da belirtilen bileşenler Real-Time PCR cihazında kullanılan özel şeffaf düz kapaklı PCR tüpleri içerisinde kabarcık olmamasına dikkat edilerek karıştırılıp ve cihaza yerleştirildi. Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 3 dakika ve bunu takiben toplam 40 döngü; 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 56 °C'de 30 saniye bağlanma ve 72 °C'de 1 dakika zincir uzaması gerçekleşecek şekilde PCR programı qTOWER3G Real-Time PCR cihazında oluşturuldu. Ek olarak, reaksiyon sonrasında C_t hesaplanması qTOWER3G Real-Time PCR cihazının programında bulunan otomatik eşik değeri ile yapıldı.

Tablo 6. PCR reaksiyonu için gerekli bileşenler

Reaksiyon bileşeni	Hacmi
Primer F	2 ul
Primer R	2 ul
10X Taq DNA polimeraz tamponu	2 ul
dNTP	0,4 ul
25 mM MgCl ₂	1,6 ul
Evagreen(20 X)	1
Taq DNA polimeraz	0,25 ul
Su	4,75 ul
cDNA	6 ul
Toplam Hacim	20 ul

Real time PCR (RT-PCR), gen ifadesini ölçmek için güçlü bir araçtır. Gerçek zamanlı PCR için kantitatif son nokta eşik döngüsüdür (CT). CT, raportör boyanın floresan sinyalinin keyfi olarak yerleştirilmiş bir eşiği geçtiği PCR döngüsü olarak tanımlanır. Verilerin CT olarak sunulmasıyla PCR'nin amplifikasyonun üstel aşamasında olması sağlanır. CT'nin sayısal değeri, reaksiyondaki amplikon miktarıyla ters ilişkilidir (yani CT ne kadar düşükse amplikon miktarı o kadar fazla olur) (Şekil 18). (82).



Veriler tipik bir gerçek zamanlı PCR çıkışıdır. PCR 40 döngü boyunca çalıştırıldı. Eğrinin eşiği (yatay kırmızı çizgi) kesiştiği nokta CT'dir. Bu örnekteki CT 22.5'tir.

Şekil 18. Real Time Pcr Cihazı çıktısı ve CT hesaplanması'nın şematik gösterimi (82)

3.4.3. mRNA Ekspresyon Düzeylerinin 2- $\Delta\Delta$ CT Analiz Yöntemine Göre Hesaplanması

Real-time PCR ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin kantifikasyonu için “Komperatif $\Delta\Delta$ CT” yöntemi kullanıldı. $\Delta\Delta$ CT değeri; PCR ürünlerinin miktarındaki önemli artışın olduğu ilk döngüyü ifade etmektedir. Kalibratör olarak referans genden ve karşılaştırma yapabilmek için kontrol grubundan yararlanıldı. Hedef genin bir control gene (β -Aktin) göre relatif ekspresyonuna bakıldı. Bu yöntem düşük yoğunlukta sentezlenen genlerin ekspresyon çalışmaları için çok uygun bir yöntemdir. Hesaplama yaparken aşağıdaki denklemler kullanıldı:

Kontrol ΔC_T = Kontrol $C_T(\text{gen})$ – Kontrol $C_T(\text{Beta Actin})$

Örnek ΔC_T = Örnek $C_T(\text{gen})$ – Örnek $C_T(\text{Beta Actin})$

$\Delta\Delta C_T$ = [(Örnek ΔC_T)_{ort.} – (Kontrol ΔC_T)_{ort.}]

Hedef gen mRNA miktarı = $2^{-\Delta\Delta C_T}$

PCR eksponansiyel bir süreç olduğundan değişim 2'nin üstel fonksiyonu şeklinde ifade edilmektedir. Kontrol için elde edilen $\Delta\Delta C_T$ değerleri yaklaşık olarak "0" olduğu $2^{-\Delta\Delta C_T}$ için değerleri "1" dir. Elde ettiğimiz sonuç ilgilendiğimiz hedef genin örnek grubundaki ekspresyonunun kontrole göre relatif miktarıdır. Bir orantı ifadesi olduğundan birim içermez. Kontrole göre örnekteki hedef genin ekspresyonunun kaç kat arttığını veya azaldığını göstermektedir (82).

Tablo 7. ELISA ve RT-PCR için kullanılan kimyasal malzemeler

	Katalog No	Marka	Malzeme Adı
ELISA	ELK8687	ELK Biotechnology	Hidroksiprolin ELISA Kiti (sıçan)
	W09-01-50	A.B.T. Laboratory Industry	BCA Protein Assay Kit
	HY-K0011	MCE-MedChemExpress	Protease İnhibitor Cocktail
RT-PCR	FABRK 001-2	Favorgen	Kandan RNA İzolasyon Kiti
	170-8840	Biorad- iScript	Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR
	EP0401	Thermo	Taq DNA polymerase
	R0193	Sigma-ThermoFisher Scientific	dNTP mix
	31000	Biotum	EvaGreen Dye

Hidroksiprolin ELISA testi, A.B.T Laboratory Industry firmasının Rat Hyp(Hydroxyproline) ELISA Kitlerinde firmanın belirttiği protokol ile yapıldı.

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Histolojik değerlendirme, TOGÜ Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Dokular histokimyasal teknikler uygulamak için öncelikle %10'luk formaldehit çözeltisinde tespit edildikten sonra dokudan formaldehiti uzaklaştırabilmek için akar su altında 6-8 saat yıkandı. Yıkama işleminden sonra dereceli yükselen alkol serilerinde %70'lik alkolde 24 saat, %80 ve %90'lık alkolde ise 6-12 saat bekletildi. Takiben %100'lük

alkolde 1 saat bekletilen dokular, takiben üçlü ksilen serilerinin her birinde 10 dakika ksilenle muamele edilip şeffaflaştırıldı. Dokudaki ksileni uzaklaştırabilmek için ise dokular son olarak üçlü parafin serisinde birer saat bekletilip temiz parafine gömme uygulandı. Parafin içerisine gömülü olan dokulardan mikrotom ile alınan 5 mikronluk kesitler lamlara toplandı ve bir gece 56°C’ da inkübe edildi.

Dokuların genel morfolojik yapısını incelemek, akut inflamasyonu, kronik inflamasyonu ve dokuda görülen ödemi histokimyasal skorlama yöntemi ile değerlendirebilmek amacı ile teknik olarak Hematoksilen Eozin (H&E) boyama yöntemi kullanıldı. Kesitlerin üzerine alındığı lamalar, lam üzerindeki kesitlerin içerisinde ve çevresinde yer alan parafinin uzaklaştırılabilmesi için üç kez her biri 10 dakika olmak üzere ksilende bekletildi. Daha sonra ksileni uzaklaştırabilmek için dereceli yükselen alkol serilerinde (%70, %80, %90, %100) 5’er dakika bekletilerek dehidrate edildi. Suya indirilen dokular üzerine çekirdek boyaması için 6 dakika hematoksilen uygulandı. Distile suda yıkanan preparatlar 3 dakika sitoplazmik boyanma için eozin içerisinde bekletildikten sonra fazla boyanın uzaklaştırılabilmesi için distile suda yıkandı. Boyanmış preparatları dehidrate etmek için %70 ve %80’lik alkollerde 1’er dakika, %90 ve %100’lük alkollerde ise 2’şer dakika bekletildikten sonra şeffaflaştırmak için 3 kez 5’er dakika ksilende bekletildi. Son olarak ksilenden çıkarılan preparatlar entellan ve lamel ile kapatıldı. Takiben preparatlar akut inflamasyonu, kronik inflamasyonu ve de ödemi değerlendirebilmek için Nikon microscope (Nikon Eclipse 200) ile incelendi. Akut inflamasyon, kronik inflamasyon ve ödemi değerlendirmek için 0 (yok), +1 (hafif), +2 (orta), +3(şiddetli) olmak üzere skorlama yapıldı.

Dokularda gruplar arasındaki vaskülarizasyon derecesinin farklılığını saptayabilmek için skar bölgesinde var olan vasküler yapıların sayımını yapmak, herbir grupta skar bölgesinde var olan fibroblast hücrelerinin sayımını yapmak, dokularda oluşan fibröz skar bölgenin alanını belirleyebilmek, skar bölgesinde ve de periferinde yer alan epitel kalınlığını ölçebilmek için ise teknik olarak Modifiye Masson Trikrom boyama yöntemi kullanıldı. Kesitlerin üzerine alındığı lamalar, lam üzerindeki kesitlerin içerisinde ve çevresinde yer alan parafinin uzaklaştırılabilmesi için üç kez her biri 10 dakika olmak üzere ksilende bekletildi. Daha sonra ksileni uzaklaştırabilmek için dereceli yükselen alkol serilerinde (%70, %80, %90, %100) 5’er dakika bekletilerek dehidrate edildi. Suya indirilen dokular üzerine çekirdek boyaması için Weighert’s Demirli Hematoksilende 20 dakika bekletildi. Takiben distile suda hızlıca yıkandı ve de fazla çekirdek boyanmasını elemine edebilmek için %1’lik asit-alkol içerisinde diferansiye edildi. Distile suda yıkanan preparatlar sitoplazmik ve kas boyanması için 5 dakika Ponceu Fuchsin içerisinde 5 dakika boyandı. Distile suda yıkanan preparatlar bağ doku komponentlerinin,

özellikle kolajenlerin boyanabilmesi için öncelikle fosfotungustik asit içerisinde 30 dakika diferansiye edildi. Kolajen liflerin tamamen beyazlaştığı mikroskop altında gözlemlendikten sonra preparatlar Metil Blue boyası ile 5 dakika muamele edildi ve distile suda yıkandı. Boyanmış preparatları dehidrate etmek için %70 ve %80'lik alkollerde 1'er dakika, %90 ve %100'lük alkollerde ise 2'şer dakika bekletildikten sonra şeffaflaştırmak için 3 kez 5'er dakika ksilende bekletildi. Son olarak ksilenden çıkarılan preparatlar entellan ve lamel ile kapatıldı. Takiben preparatlar vaskülarizasyon, kolejenizasyon, epitelizasyon ve fibrötik skar dokusunu değerlendirebilmek için Nikon mikroskop (Nikon Eclipse 200) ile incelendi. Ayrıca ölçümleri yapabilmek için ise The Nikon NIS-Elements yazılımı kullanıldı.

Vaskülarizasyonun gruplar arasındaki farkını değerlendirebilmek için skar bölgesinde var olan vasküler yapıların sayımı yapıldı. Fibrötik skar dokusunun gruplar arasındaki farklılığını kantitatif olarak ortaya koyabilmek için ise her dokudaki fibröz skar dokunun alanı The Nikon NIS-Elements yardımı ile ölçüldü. Bu bölgelerdeki tüm fibroblast hücreleri ve yine skar doku hattında birim alana düşen fibroblast sayısı The Nikon NIS-Elements ile sayıldı. Skar dokusunda ve hemen yakın periferinde yer alan dokulara ait epitel kalınlığı farklı bölgelerden ölçümler yapılarak ortalamaları alındı.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen veriler değerlendirilirken, istatistiksel analizler için "Statistical Package for Social Sciences for Windows 26.0" (SPSS) programı kullanıldı.

Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi, basıklık-çarpıklık (skewness- kurtosis) ve grafiksel yöntemler (histogram, Q-Q Plot, Stem and Leaf, Boxplot) ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygun olmadığı saptandı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için frekans, yüzde, medyan, min-max şeklinde verildi. Grupların karşılaştırılması için Mann Whitney U Testi ve Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Fark bulunan durumlarda farklılığın kaynağını bulmak için Bofferroni düzeltmesi uygulandı ve ikili karşılaştırmalarda $p < 0,01$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bulgular %95 güven aralığında değerlendirildi. İkili karşılaştırmalar dışındaki tüm analizler için anlamlılık düzeyi, $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İmmünokimyasal Bulgular

Araştırmaya 6 – 8 haftalık 250-350 gr ağırlığındaki, 28 adet Wistar albina cinsi erkek ratlar dahil edildi. Her grupta 7 rat olacak şekilde 4 grup oluşturuldu (Tablo 8). Araştırmadaki 4 gruptaki (Kontrol Grubu, Bupivakain Grubu, Deksmetomidin Grubu, Bupivakain + Deksmetomidin Grubu) ratlardan alınan doku örnekleri, Real Time-Pcr cihazı kullanılarak TNF- α , Beta-actin, IL-6 ve IL-10 düzeyleri açısından incelendi.

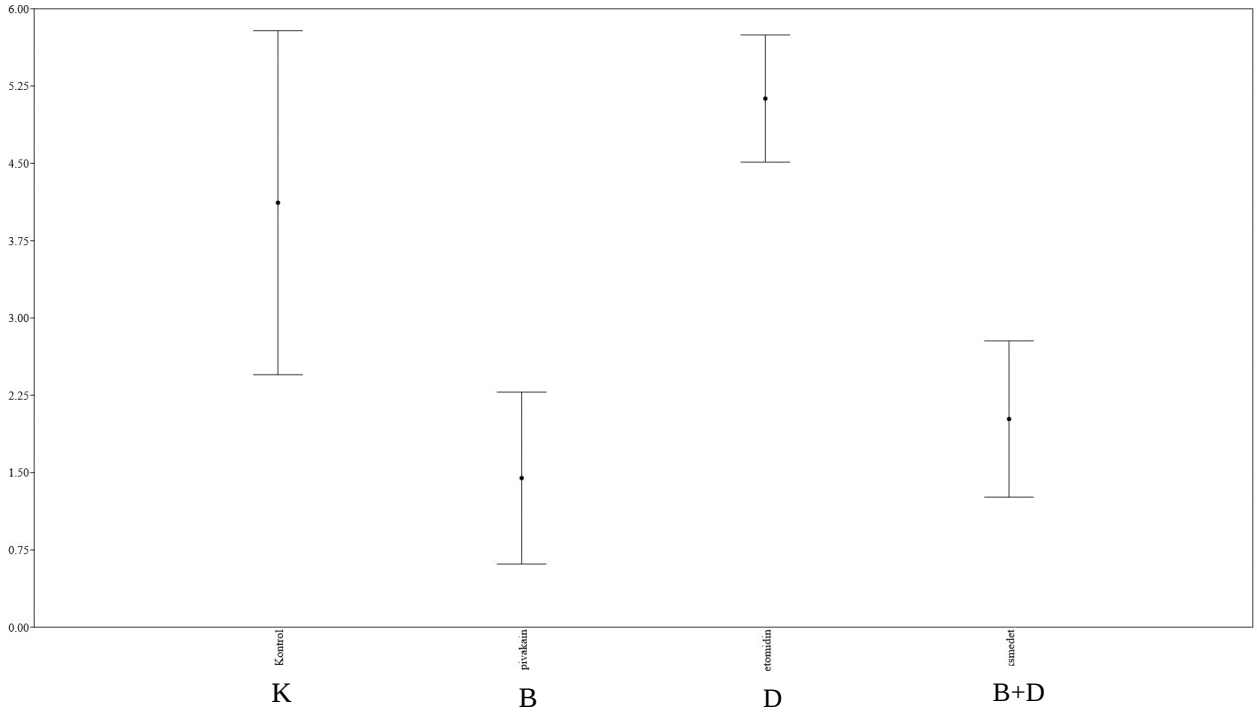
Tablo 8. Ratların gruplara göre dağılımı

Grup	n=28	%
Kontrol (K)	7	25,0
Bupivakain (B)	7	25,0
Deksmetomidin (D)	7	25,0
Bupivakain + Deksmetomidin (B + D)	7	25,0

Tablo 9. Real Time Pcr Cihazı ile edilen dokulardaki TNF- α , IL-6, ve IL-10 C_T değerleri

	TNF- α			
Örnek No	K	B	D	B+D
1	20,39	24,85	23,4	21,07
2	16,65	25,92	21,54	21,88
3	30,06	26,8	19,82	25,34
4	19,33	22,23	20,6	24,03
5	24,51	23,11	22,71	21,05
6	22,67	25,9	18,86	18,6
7	17,47	19,38	18,28	22,43
	IL-6			
Örnek No	K	B	D	B+D
1	17,98	22,03	19,98	17,44
2	15,97	19,31	16,18	17,07
3	28,14	26,96	15,24	20,28
4	16,26	20,24	17,65	24,43
5	18,44	20,54	19,25	19,74
6	18,58	22,43	16,75	16,85
7	16,7	17,6	15,55	20,51
	IL-10			
Örnek No	K	B	D	B+D
1	19,63	21,64	21,33	18,98
2	18,95	19,87	18,13	19,81
3	23,04	24,59	16,51	20,55
4	19,13	21,21	17,97	21,48
5	19,92	21,09	18,76	20,12
6	19,86	22,08	17,92	17,13
7	19,26	19,32	16,1	19,76
	Beta-Actin			
Örnek No	K	B	D	B+D
1	17,69	18,2	19,43	17,87
2	17,96	18,06	17,47	17,44
3	20,96	22,04	17,39	18,41
4	18,42	17,85	17,1	20,14
5	18,63	19,21	18,08	17,85
6	17,64	18,58	17,64	17,03
7	17,85	17,37	17,23	17,72

Nicel gerçek zamanlı PCR verilerini sunmanın bir başka yöntemi de karşılaştırmalı CT yöntemidir. Karşılaştırmalı CT yöntemi, PCR'nin verimliliğinin 1'e yakın olması ve hedef genin PCR verimliliğinin iç kontrol genine benzer olması da dahil olmak üzere çeşitli varsayımlar yapar. Karşılaştırmalı CT yönteminin avantajları arasında kullanım kolaylığı ve verileri ifadede “**kat değişimi**” olarak sunma yeteneği yer alır. Bu şekilde veriler, “**tedavi edilmeyen kontrol ile karşılaştırıldığında, tedavi edilen numunedeki iç kontrole göre ilgilenilen genin ifadesi**” olarak yorumlanabilir



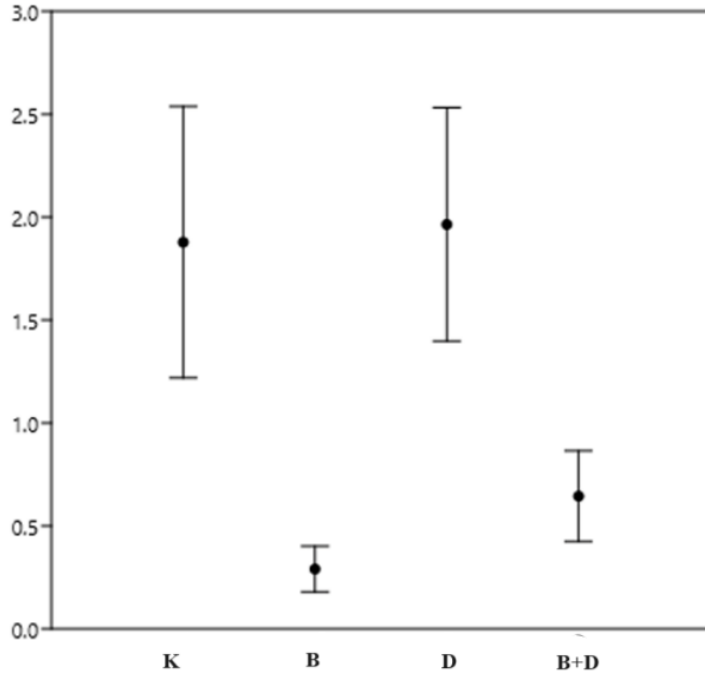
Şekil 19. Gruplara göre TNF- α geninin $2^{-\Delta CT}$ düzeylerinin grafiksel gösterimi.

Kruskal Wallis Analizi, $p = 0,2645^*$

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; TNF- α gen ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (Tablo 10).

Tablo 10. TNF- α gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta \Delta CT}$) verileri

B	D	B+D
0,15697116	2,0139111	0,233489337



Şekil 20. Gruplara göre IL-6 geninin 2^{-ΔCT} düzeylerinin grafiksel gösterimi

Kruskal Wallis Analizi, p =0,02964*

IL-6 gen ekspresyonu değerleri ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, Deksmetomidin grubu ile Bupivakain grubu ile arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır (p=0.01) (Tablo 11).

Tablo 11. IL-6 gen ekspresyonunun (2^{-ΔΔCT}) ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,05528	1	0,2502
B	0,05528		0,007226*	0,3067
D	1	0,007226*		0,05502
B+D	0,2502	0,3067	0,05502	

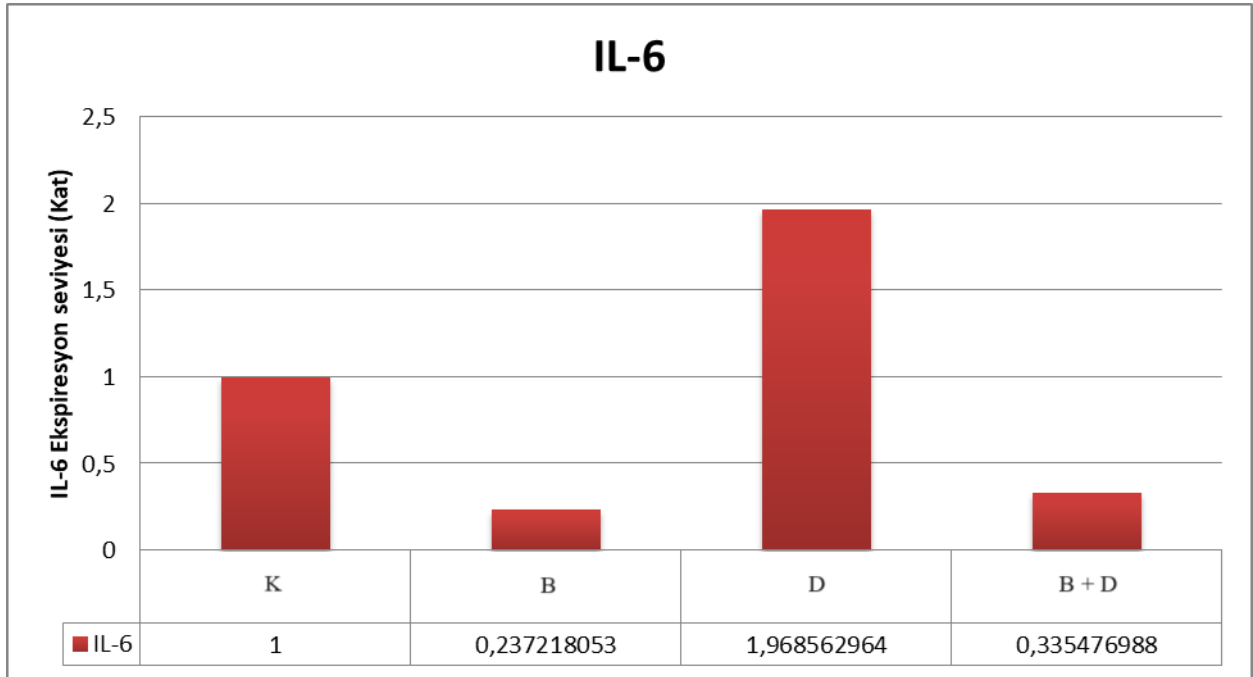
Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması.

Bonferroni Düzeltmesi, p<0,01

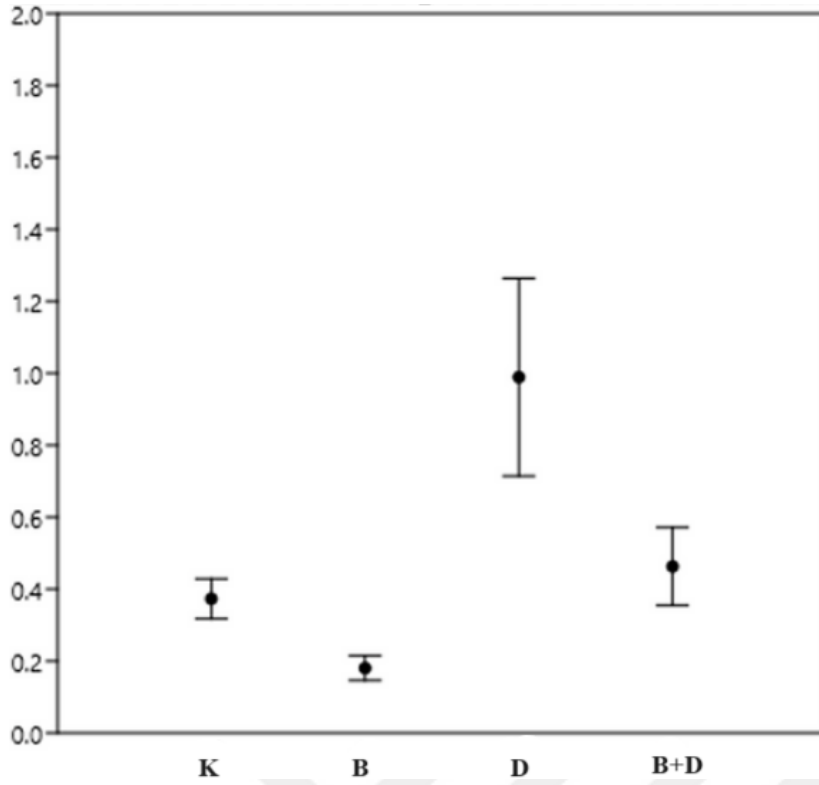
*İstatistiksel olarak anlamlılık

Tablo 12. IL-6 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) verileri

B	D	B+D
0,237218053	1,968562964	0,335476988



Şekil 21. Gruplardaki IL-6 gen ekspresyonu kat değişiminin ($2^{-\Delta\Delta CT}$) şematik gösterimi



Şekil 22. Gruplara göre IL-10 geninin $2^{-\Delta CT}$ düzeylerinin grafiksel gösterimi

Kruskal Wallis Analizi, $p = 0,0001^*$

IL-10 gen ekspresyonu değerleri ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, tüm grupların birbiriyle anlamlı bir fark oluşturduğu saptanmıştır ($p=0,01$) (Tablo 13).

Tablo 13. IL-10 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta CT}$) ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,0015*	0,0011*	0,0028*
B	0,0015*		0,0003*	0,0011*
D	0,0011*	0,0003*		0,0016*
B+D	0,0028*	0,0011*	0,0016*	

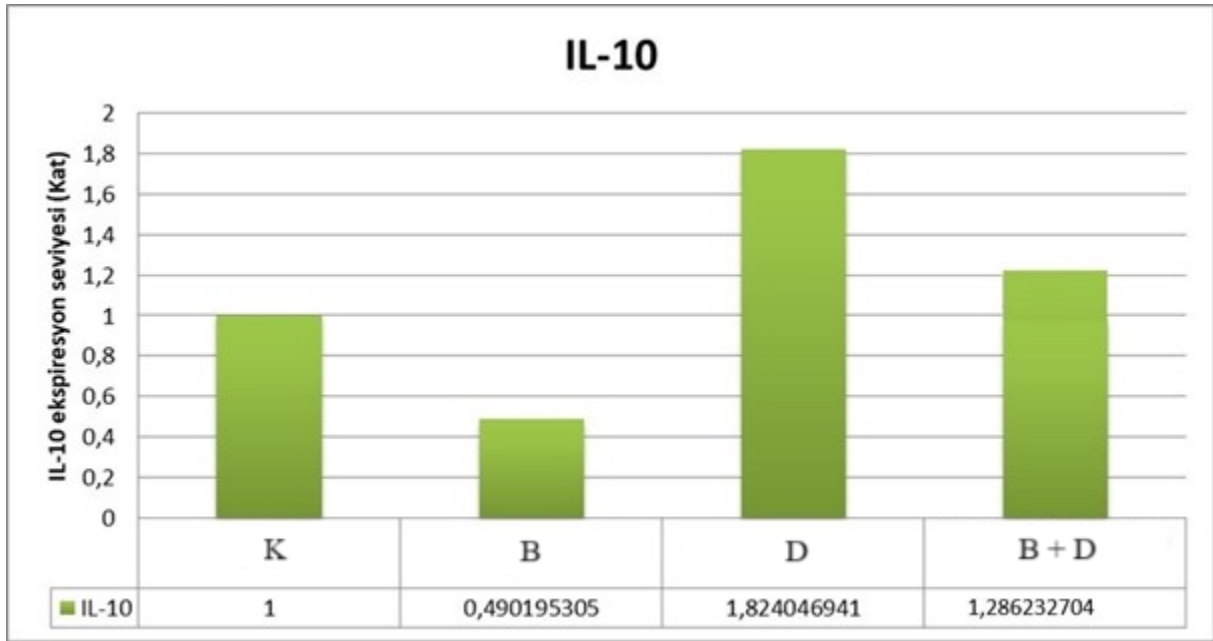
Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması.

Bonferroni Düzeltmesi, $p < 0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Tablo 14. IL-10 gen ekspresyonunun ($2^{-\Delta\Delta CT}$) verileri

B	D	B+D
0,490195503	1,824046941	1,286232704



Şekil 23. Gruplardaki IL-10 gen ekspresyonu kat değişiminin ($2^{-\Delta\Delta CT}$) şematik gösterimi

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; tensiyometri sonuçları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p=0,0001$) (Tablo 15).

Tablo 15. Grupların Tensiyometri Sonuçlarına Göre Karşılaştırılması (kg/cm^2)

K(n=7)	B(n=7)	D (n=7)	B+D(n=7)	P değeri
Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	
1,48 (1,29-1,70)	0,98 (0,84-1,07)	2,34 (2,96-2,04)	1,96 (1,79-2,11)	<0,0001*

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Tensiyometri sonuçları ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, 4 grubun da birbiriyle anlamlı bir fark oluşturduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 16).

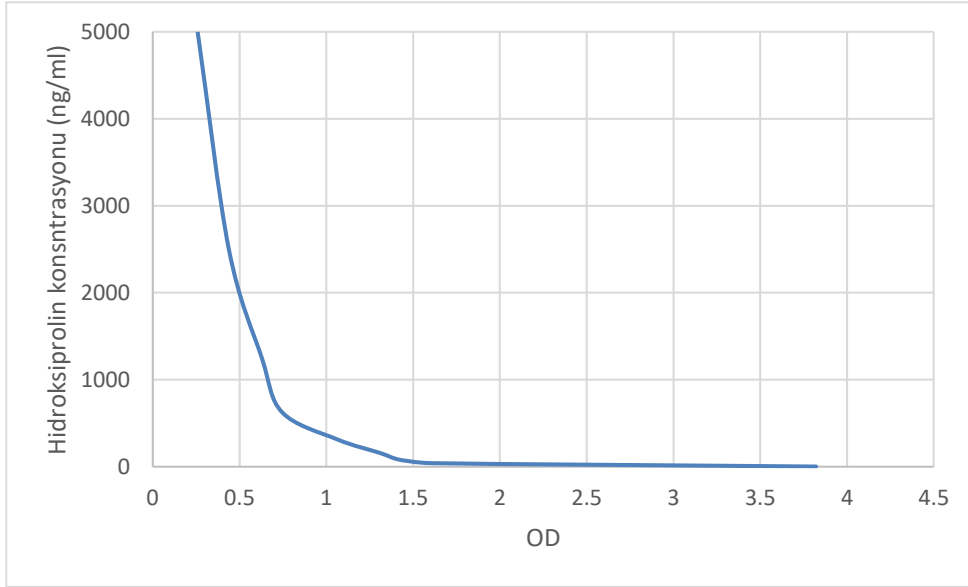
Tablo 16. Tensiyometri sonuçlarının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,002*	0,002*	0,002*
B	0,002*		0,002*	0,002*
D	0,002*	0,002*		0,005*
B+D	0,002*	0,002*	0,005*	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması.

Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık



Şekil 24. Rat Hyp (Hidroksiprolin) ELISA Kit prosedürüne göre çizilen grafik

Rat Hyp (Hydroxyproline) ELISA Kit prosedürüne göre yukarıdaki standart grafik çizildi. Sıçanlardan alınan deri örneklerinden yapılan ELISA testinde elde edilen OD değerleri kullanılarak bu standart grafiğe göre konsantrasyon hesaplamaları yapıldı. Veriler aşağıdaki tabloya işlendi.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; hidroksiprolin konsantrasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,0001$) (Tablo 17).

Tablo 17. Grupların Hidroksiprolin Konsantrasyonlarına Göre Karşılaştırılması (ng/ml)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
1,374	0,127	3,271	1,371	<0,0001*
(0,006-6,969)	(0,022-1,373)	(0,612-14,704)	(0,033-10,751)	

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

ELISA testinde elde edilen hidroksiprolin konsantrasyonları ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, 4 grubun da birbiriyle anlamlı bir fark oluşturduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 18).

Tablo 18. Hidroksiprolin konsantrasyonunun ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,002*	0,002*	0,002*
B	0,002*		0,002*	0,002*
D	0,002*	0,002*		0,005*
B+D	0,002*	0,002*	0,005*	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması.

Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

* İstatistiksel olarak anlamlılık

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; fibroblast sayısı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,0001$). (Tablo 19).

Tablo 19. Grupların fibroblast sayılarına göre karşılaştırılması (adet)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
1024	614	1529	861	
(827-1185)	(567-917)	(1249-1917)	(785-903)	<0,0001*

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede fibroblast sayıları ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, deksmedetomidin grubu tüm gruplarla, kontrol grubu ise bupivakain grubu ile aralarında anlamlı farklılık saptanmıştır. ($p<0,01$) (Tablo 20).

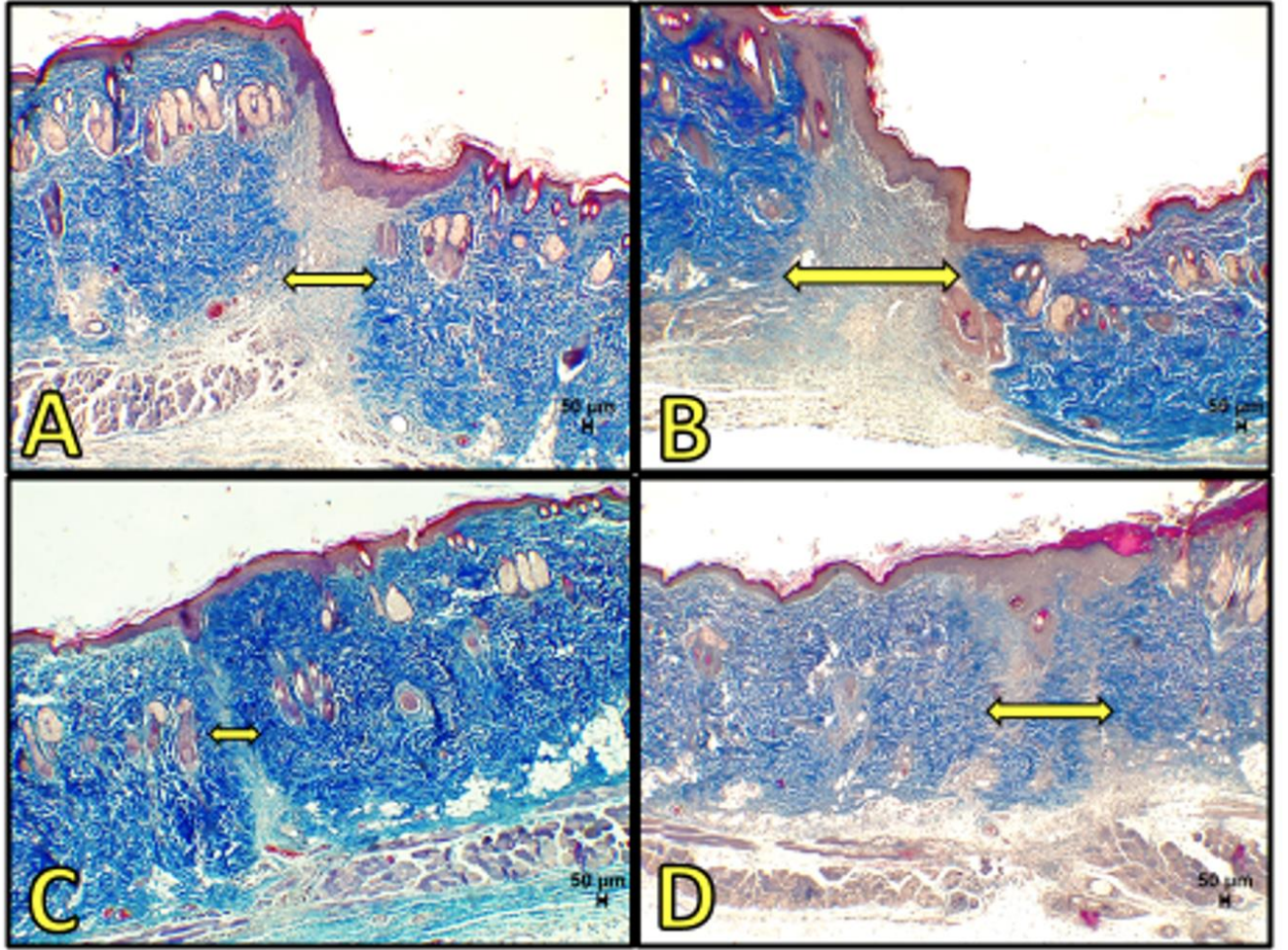
Tablo 20. Fibroblast sayılarının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,009*	0,002*	0,035
B	0,009*		0,002*	0,180
D	0,002*	0,002*		0,002*
B+D	0,035	0,180	0,002*	

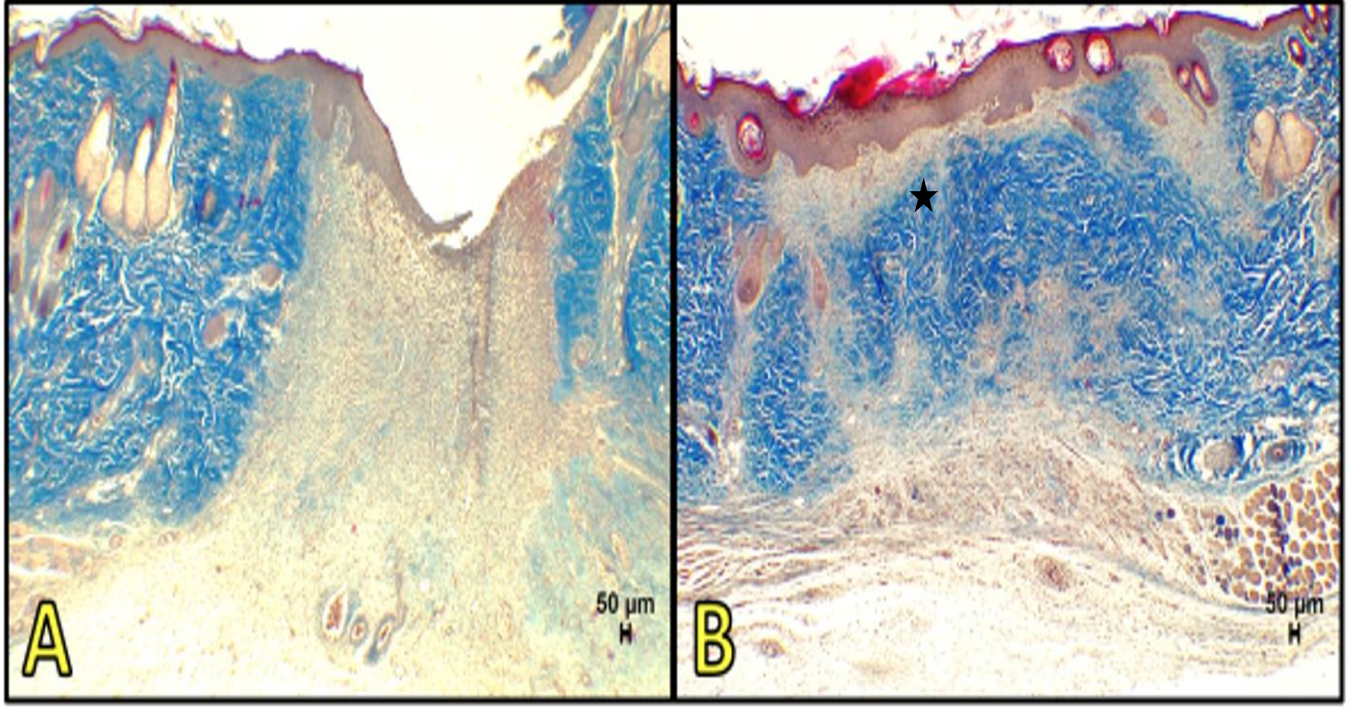
Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması, Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Yara iyileşmesi sürecinde kolajen üretiminin sorumlu hücreler olan fibroblastların kontrol grubunda ve de ilaç verilen gruplarda rejenerasyon durumunu değerlendirmek amacı ile hematoksilen eozin ile boyanan preparatlar mikroskobun 40x büyütmesi ile fibroblastlar tek tek sayılarak hesaplandı. Daha sonra fibroblastların da içinde bulunduğu granülasyon dokusunu temsil eden fibrotik skar alan hesaplaması mikroskobun 4X büyütmesi ile mikrometre kare cinsinden alan hesabı yapılarak yapıldı. Bu veriler sonucunda 1 mikrometre kare başına düşen fibroblast miktarı hesaplanıp karşılaştırma yapıldı (Şekil 25, 26).



Şekil 25. Gruplar arasında fibröz skar doku alanının değerlendirilmesi değerlendirilmesi:
A: Kontrol B: Bupivakain C: Deksmetomidin D: Bupivakain+Deksmetomidin Bar: 50µm



Şekil 26. Gruplar arasında fibröz skar doku alanının değerlendirilmesi:

A:Bupivakain **B:**Bupivakain+Deksmedetomidin: Bupivakaine maruz kalan yara bölgesinde oluşan fibröz skar dokusunun alanının dikkat çekici bir şekilde arttığı gözlenmektedir (A). Bupivakain+Deksmedetomidin verilen grupta ise fibrötik skar alanının geniş olmasına rağmen bu alan içerisinde sık sık rejenere olan epitel ve altındaki bağ dokunun varlığı dikkat çekmektedir (B). Fibrötik alan içerisinde iyileşme alanları olarak değerlendirdiğimiz kolajen liflerin hakim olduğu alanlarda kolajen lif demetlerinin periferde yer alan kolajen lif demetlerine göre daha yoğun ve kalın olması da bu alanların iyileşmekte olan alanları temsil ettiğini göstermektedir (yıldız) **Bar: 50µm**

Fibröz skar alanı için, hematoksilin eozin ile boyanan preparatlar mikroskopun 4x büyütmesi ile alan ölçümü yapıldı. Yapılan alan ölçümü mikrometre kare biriminden hesaplandı.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; fibröz skar alanı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,0001$) (Tablo 21).

Tablo 21. Grupların Fibröz skar Alanına Göre karşılaştırılması (μm^2)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	
188585,0 (110815- 310573)	863690,0 (702628- 1347804)	177507,0 (133710- 294872)	393373,0 (261346- 737934)	<0,0001*

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur
Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede fibröz skar alanı ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, kontrol ve deksmedetomidin grupları arasındaki ikili gruplar karşılaştırılması hariç diğer gruplar aralarında anlamlı bir fark oluşturduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 22).

Tablo 22. Fibröz skar alanının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,002*	0,565	0,004*
B	0,002*		0,002*	0,004*
D	0,565	0,002*		0,003*
B+D	0,004*	0,004*	0,003*	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması,
Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; fibroblast sayısı / fibröz skar alanı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,0001) (Tablo 23).

Tablo 23. Grupların fibroblast sayısı / fibröz skar alanına göre karşılaştırılması (adet/ μm^2)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
0,005	0,0008	0,009	0,002	
(0,002-0,009)	(0,0004-0,001)	(0,004-0,01)	(0,001-0,003)	<0,0001*

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede fibroblast sayısı / fibröz skar alanı ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, 4 grubun da birbiriyle anlamlı bir fark oluşturduğu saptanmıştır (p<0,01) (Tablo 24).

Tablo 24. Fibroblast sayısı / fibröz skar alanı ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

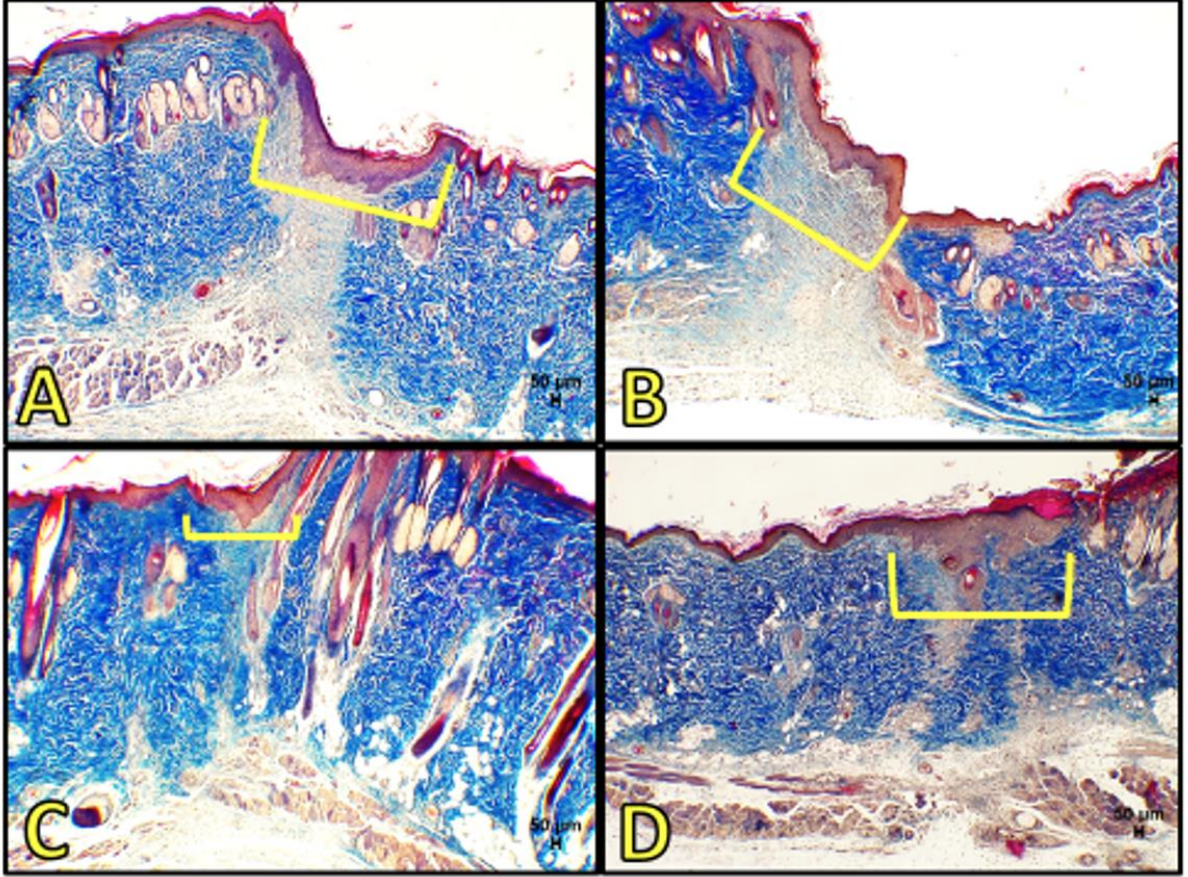
p değeri	K	B	D	B+D
K		0,001*	0,003*	0,003*
B	0,001*		0,001*	0,003*
D	0,003*	0,001*		0,002*
B+D	0,003*	0,003*	0,002*	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması

Bonferroni Düzeltmesi, p<0,01

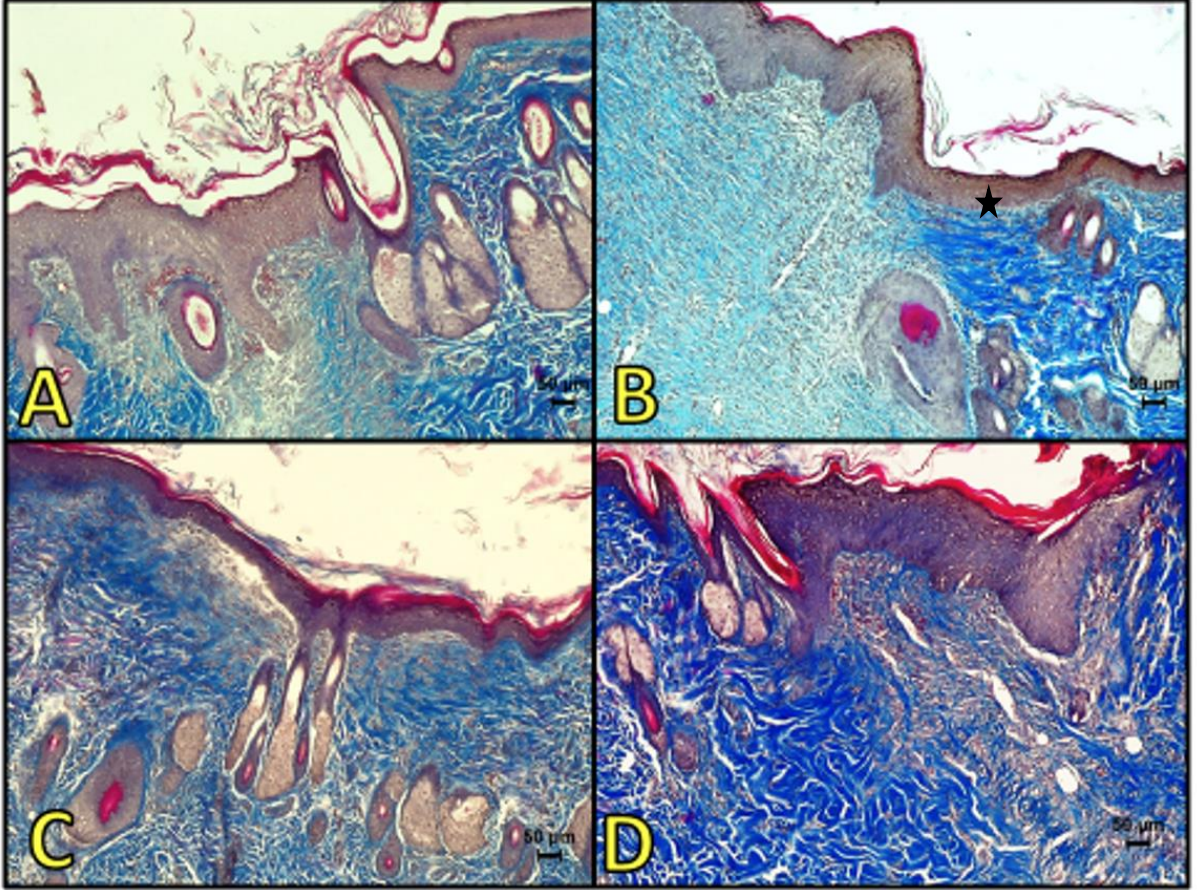
*İstatistiksel olarak anlamlılık

Epitel kalınlığının değeriendirilmesinde, üçlü boyama ile boyanan preparatlarda 10x büyütme yapılarak bakıldı. Üçlü boyama ile boyanan preparatlar mikroskopun 10x büyütmesi ile mikrometre cinsinden uzunluk hesabı yapılarak bulundu (Şekil 27, 28).



Şekil 27. Gruplar arasında epitel doku kalınlık farklılıklarının değeriendirilmesi:

A: Kontrol **B:** Bupivakain **C:** Deksmedetomidin **D:** Bupivakain+Deksmedetomidin **Bar:** 50µm



Şekil 28. Gruplar arasında epitel doku kalınlık farklılıklarının değerlendirilmesi:

A: Kontrol **B:** Bupivakain **C:** Deksmetomidin **D:** Bupivakain+Deksmetomidin: Kontrol grubunda epitel kalınlığının skar bölgesi ile sınırlı kaldığı gözlenirken (A) Bupivakain grubunda epitel kalınlığının skar bölgesinin yakın periferinde de arttığı dikkat çekmektedir (yıldız). Deksmetomidin grubunda ise diğer gruplara göre minimal derecede artan epitel kalınlığının sadece skar bölgesinde olduğu gözlenmiştir. Bupivakain ve deksmedetomidinin birlikte verildiği grupta ise epitel kalınlığının deksmedetomidin grubunda fibrötik skar dokusunun azalmasına rağmen anlamlı bir şekilde arttığı dikkati çekmektedir (yıldız). **Bar:** 50µm

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; epitel kalınlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,0031) (Tablo 25).

Tablo 25. Grupların epitel kalınlığına göre karşılaştırılması (μm)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
113,5	153,2	91,5	128,4	0,0031*
(64,9-141,6)	(84,8-213,3)	(66,9-123,1)	(121,2-161,7)	

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

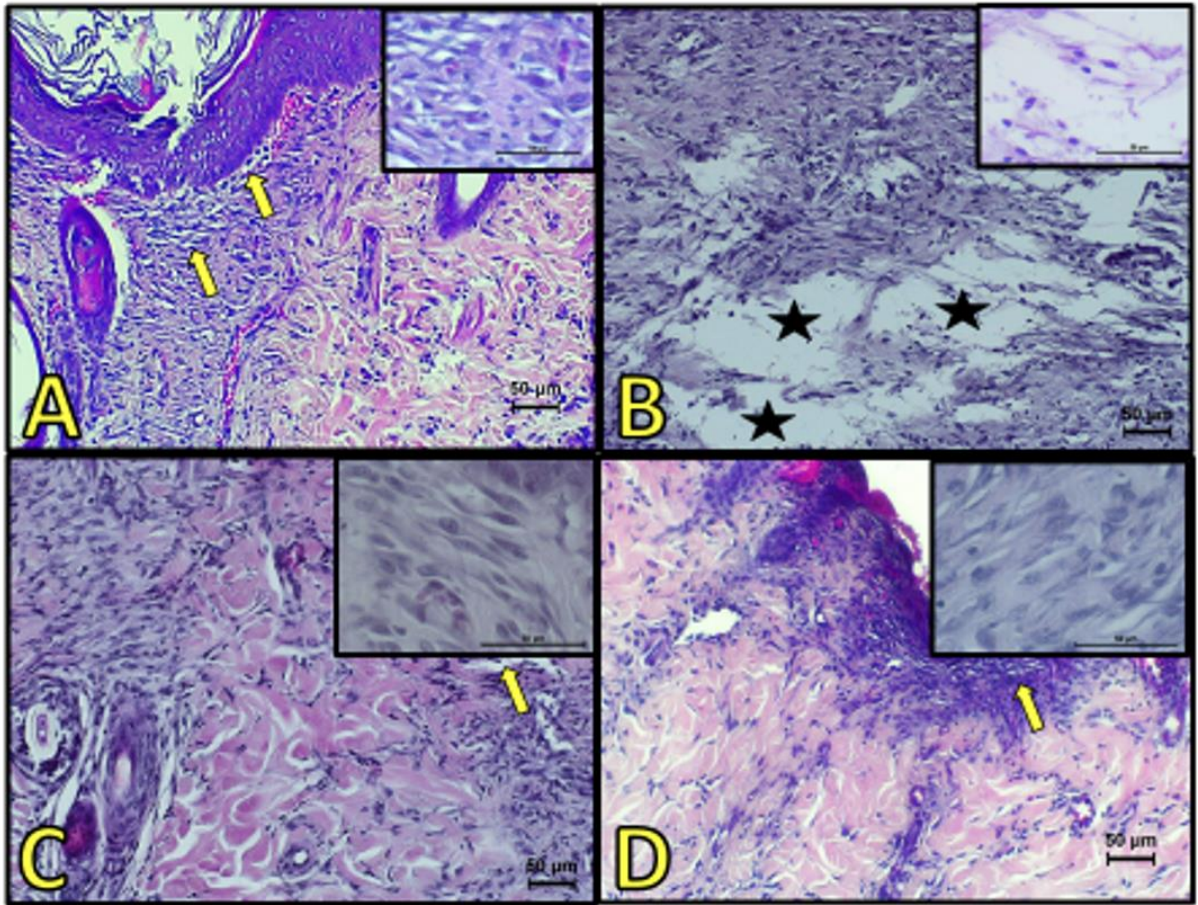
Hematoksilen eozin ile boyanan preparatlar 10x büyütmeyle ödemi, 100x büyütmeyle kronik ve akut inflamasyonu aşağıda verilen parametrelerle semi kantitatif yöntemle skorladık. 0: yok, 1:hafif, 2:orta, 3:şiddetli (Tablo 26).

Tablo 26. Gruplardaki ratların hücre ödemi, kronik inflamasyon ve akut inflamasyon puanlarının dağılımı

	Ödem	Kronik inflamasyon	Akut inflamasyon
K1	1	3	1
K2	2	3	1
K3	1	1	1
K4	0	1	1
K5	1	1	1
K6	1	2	1
K7	1	2	1
B1	3	2	1
B2	3	3	3
B3	3	3	1
B4	2	3	2
B5	2	2	1
B6	3	3	3
B7	2	3	3
D1	0	1	0
D2	2	2	1
D3	2	1	0
D4	1	1	1
D5	1	1	1
D6	1	1	1
D7	1	1	0
B+D 1	1	2	1
B+D 2	1	1	0
B+D 3	2	2	1
B+D 4	2	3	2
B+D 5	2	1	0
B+D 6	1	2	1
B+D 7	2	1	1

Tablo 27. Gruplardaki hücre ödemi puanlarının yüzde dağılımı

	0	1	2	3
K	14%	72%	14%	0%
B	0%	14%	43%	43%
D	14%	58%	28%	0%
B+D	0%	72%	28%	0%



Şekil 29. Gruplar arasında dokularda oluşan ödemin değerlendirilmesi:

A: Kontrol: Kontrol grubunda genel olarak sadece papiller dermiste, vaskülarizasyonun olduğu bölgelerde hafif ödem oluşumu görüldü **B: Bupivakain:** Bu grupta ise ödem granülasyon dokusu çevresinde yaygın ödem oluşumu görüldü **C: Deksmetomidin:** Bu grupta da papiller dermiste, vaskülarizasyonun olduğu bölgelerde hafif ödem oluşumu görüldü **D: Bupivakain+Deksmetomidin:** Bu grupta sadece granülasyon dokusu çevresinde ödem görüldü. **Bar: 50µm**

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; hücre ödemi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,002$) (Tablo 28).

Tablo 28. Grupların hücre ödeme göre karşılaştırılması

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
1,0	3,0	1,0	1,0	0,002*
(0-2)	(2-3)	(0-2)	(1-2)	

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

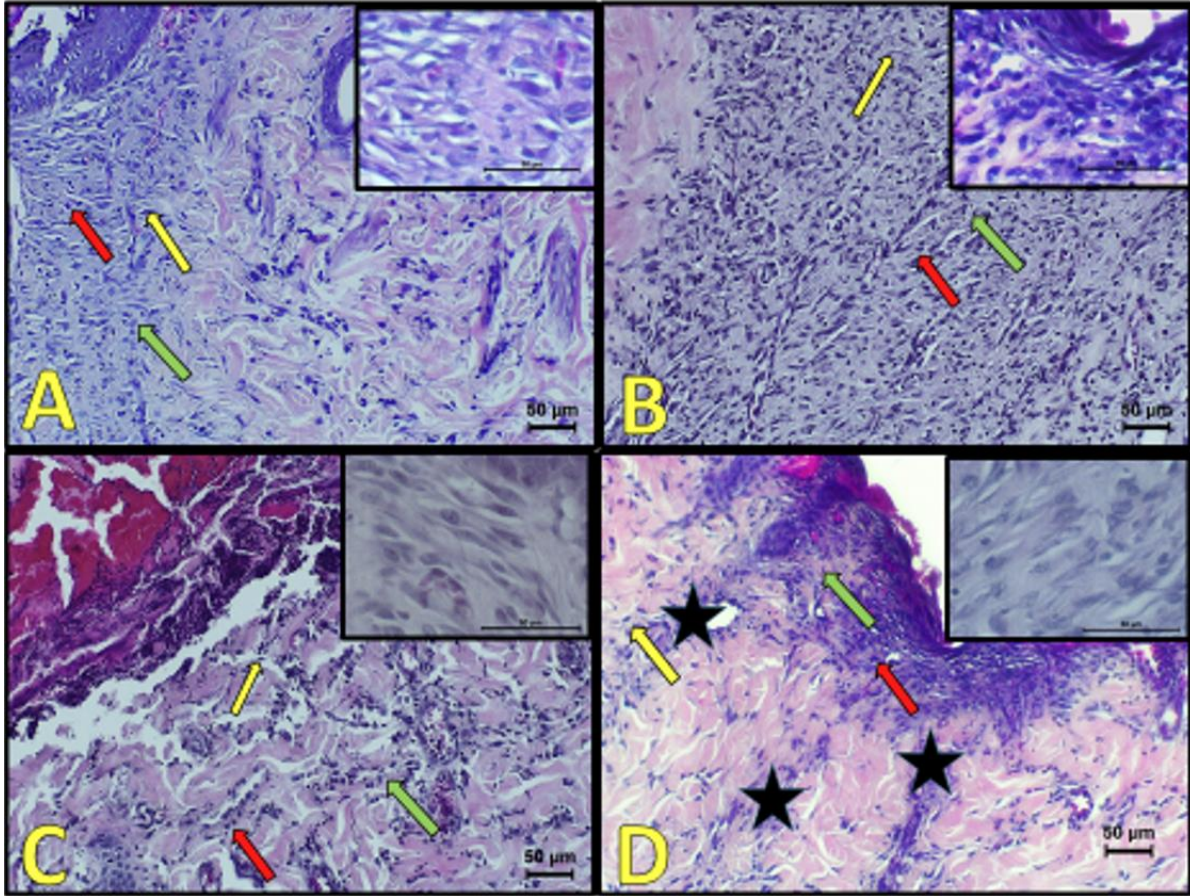
Histopatolojik incelemede hücre ödemi, ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, bupivakain grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 29).

Tablo 29. Hücre ödeminin ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,002*	0,653	0,174
B	0,002*		0,004*	0,006*
D	0,653	0,004*		0,424
B+D	0,174	0,006*	0,424	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması, Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık



Şekil 30. Gruplar arasında akut inflamasyon, kronik inflamasyon ve fibroblast yoğunluk farklılıklarının değerlendirilmesi:

A: Kontrol: Kontrol grubunda fibroblastların birim alanda en fazla yer alan hücre olduğu, buna bağlı olarak kolejen demetlerinin yoğun ve kalın bir yapı gösterdiği, inflamatuvar hücrelerin birim alanda fibroblastlara göre daha az yoğunlukta olduğu ve de kronik inflamatuvar hücrelerin akut inflamatuvar hücrelerden daha fazla olduğu görülmektedir. **B: Bupivakain:** Bupivakain grubunda ise fibroblast hücre yoğunluğunun dikkat çekici bir şekilde düştüğü, buna bağlı olarak daha az ve daha ince yapıda kolajen demetlerinin varlığı görülmektedir. Bupivakain grubunda özellikle akut ve kronik inflamatuvar hücrelerin çok yoğun bir şekilde tüm granülasyon dokusu boyunca yer aldıkları görülmektedir. **C: Deksmetomidin:** Bu grupta ise yara kabuğunun hemen altında, insizyon hattı boyunca oluşan granülasyon dokusu içerisinde dahi fibroblast sayısının oldukça artmış olduğu buna bağlı olarakta kolejenizasyonun çok yoğun bir şekilde artmış olduğu görülmektedir. İnsizyon hattı boyunca deksmedetomidin verilen bu grupta kontrol grubuna göre dahi oldukça artmış kalın kolajen demetlerinin varlığı, akut ve kronik inflamatur hücrelerin sayıca azaldığı, inflamasyonun önemli bir ölçüde baskılandığı dikkat çekmektedir. **D: Bupivakain+Deksmedetomidin:** Bu grupta insizyon hattı boyunca ve

periferinde geniş bir hat boyunca granülasyon dokusu olduğu fakat granülasyon dokusu içerisinde yer yer kolejenizasyonun artmaya başladığı ve granülasyon dokusunun bu kolajen demetleri arasında daha az yoğun bölgeler olarak sınırlandığı (**yıldız**) görülmektedir. Bupivakaine bağlı olarak gelişen yoğun granülasyon dokusu içerisinde deksmedetomidine bağlı olarak inflamatuvar hücrelerin azaldığı, fibroblast ve kolajen demetlerinin yoğun bir şekilde arttığı alanlar oldukça dikkat çekici bir bulgudur. (**Sarı ok : Fibroblast Kırmızı ok: Akut inflamatuvar hücre Yeşil ok: Kronik inflamatuvar hücre**) Bar: 50µm

Tablo 30. Gruplardaki kronik inflamasyon puan dağılımı

	0	1	2	3
K	0%	44%	28%	28%
B	0%	44%	28%	28%
D	0%	86%	14%	0%
B+D	0%	43%	43%	14%

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; kronik inflamasyon açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,006) (Tablo 31).

Tablo 31. Grupların kronik inflamasyona göre karşılaştırılması

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
2,0	3,0	1,0	2,0	0,006*
(1-3)	(2-3)	(1-2)	(1-3)	

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur
Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede kronik inflamasyon, ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, bupivakain grubu ile deksmedetomidin grubu arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 32).

Tablo 32. Kronik inflamasyonun ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,061	0,084	0,784
B	0,061		0,001*	0,020
D	0,084	0,001*		0,096
B+D	0,784	0,020	0,096	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması, Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Tablo 33. Gruplardaki akut inflamasyon puan dağılımı

	0	1	2	3
K	0%	100%	0%	0%
B	0%	43%	14%	43%
D	42%	58%	0%	0%
B+D	28%	58%	14%	0%

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; akut inflamasyon açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0.015$) (Tablo 34).

Tablo 34. Grupların akut inflamasyona göre karşılaştırılması

K(n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median	Median	Median	Median	
(min-max)	(min-max)	(min-max)	(min-max)	
1,0	2,0	1,0	1,0	0,015*
1(1-1)	2(1-3)	1(0-1)	1(0-2)	

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede akut inflamasyon, ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında, bupivakain grubu ile deksmedetomidin grubu arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 35).

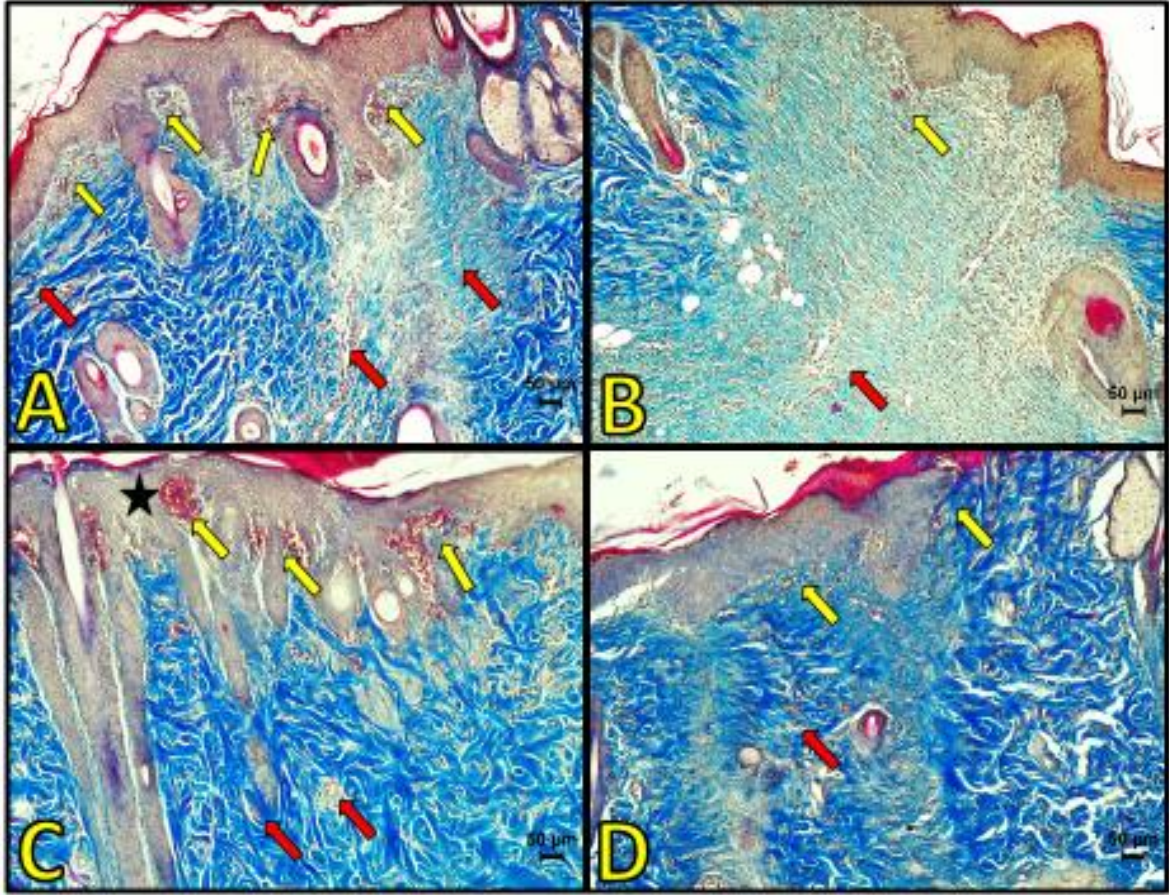
Tablo 35. Akut inflamasyonun ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,024	0,060	0,533
B	0,024		0,001*	0,039
D	0,060	0,001*		0,424
B+D	0,533	0,039	0,424	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması, Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Vaskülarite için üçlü boyama ile boyanan preparatlar 40x büyütmeyle tek tek sayılarak hesaplandı. Bu preparatlar mikroskobun 4x büyütmesi ile mikrometre kare cinsinden alan hesabı yapılarak fibro skar alanları hesaplandı. Bu veriler sonucunda 1 mikrometre kare başına düşen damar sayısı (vaskülarite) miktarı hesaplanıp karşılaştırma yapıldı (Şekil 31).



Şekil 31. Gruplar arasında vaskülarizasyon farklılıklarının değerlendirilmesi:

A: Kontrol: Kontrol grubunda epitelin hemen altında, papillar dermal içerisinde görülen fibrötik skar alanlar içerisindeki vaskülarizasyon dikkati çekmektedir (sarı ok). Yine retiküler dermis içerisinde de vaskülarizasyonun arttığı görülmektedir (kırmızı ok) **B: Bupivakain:** Bupivakain grubunda ise hem papillar dermis içerisinde ki fibrötik alanlarda (sarı ok) hem de hipodermise doğru retiküler dermis içerisinde (kırmızı ok) vaskülarizasyonun granülasyon dokusu boyunca azaldığı görülmektedir. **C: Deksmetomidin:** Oldukça azalmış olan fibrötik doku içerisinde yara iyileşmesinin önemli bir belirteci olan yoğun kolejenizasyon gösteren alanlarda vaskülarizasyonun kontrol ve bupivakain grubuna göre önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Bu grupta özellikle büyük vasküler odakların oluşumu (yıldız) görülmektedir. Bu alanlarda kıl foliküllerinin ve yağ bezlerinin varlığını sürdürmesi de önemli bir bulgu olarak görülmektedir. **D: Bupivakain+Deksmetomidin:** Bu grupta ise yine papillar dermal alanlarda (sarı ok) ve retiküler dermal alanlarda (kırmızı ok) vaskülarizasyonun bupivakain grubuna göre arttığı görülmektedir. **Bar: 50µm**

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; vaskülarite açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,004$) (Tablo 36).

Tablo 36. Grupların vaskülariteye göre karşılaştırılması (adet)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri*
Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	
28 (23-39)	19 (14-29)	38 (26-49)	23 (18-33)	0,004

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede vaskülarite, ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldığında deksmedetomidin verilen grup ile bupivakain verilen grup ve deksmedetomidin verilen grup ile bupivakain+dexmedetomidin verilen gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,01$) (Tablo 37).

Tablo 37. Vaskülaritenin ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,025	0,141	0,124
B	0,025		0,004*	0,200
D	0,141	0,004*		0,010
B+D	0,124	0,200	0,010	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması,

Bonferroni Düzeltmesi, $p<0,01$

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; vaskülarite / fibröz skar alanı oranı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,0001) (Tablo 38).

Tablo 38. Vaskülarite / fibröz skar alanı oranına göre karşılaştırılması (adet/ μm^2)

K (n=7)	B (n=7)	D (n=7)	B+D (n=7)	P değeri
Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	Median (min-max)	
0,00015 (0,00007- 0,0002	0,00002 (0,00001- 0,00003)	0,00021 (0,00018- 0,00027)	0,00005 (0,000028- 0,000087)	<0,0001*

Veriler median (min- max) olarak sunulmuştur

Kruskal Wallis Analizi

*İstatistiksel olarak anlamlılık

Histopatolojik incelemede ikili gruplar karşılaştırıldığında, vaskülarite / fibröz skar alanı için bupivakain verilen grup ile tüm gruplar arasında ve bupivakain+deksmedetomidin verilen grup ile tüm gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0,01) (Tablo 39).

Tablo 39. Vaskülarite / fibröz skar alanı oranının ikili gruplar şeklinde karşılaştırılması

p değeri	K	B	D	B+D
K		0,002*	0,225	0,006*
B	0,002*		0,002*	0,003*
D	0,225	0,002*		0,002*
B+D	0,006*	0,003*	0,002*	

Mann-Whitney U analizi ile grupların ikili karşılaştırması,

Bonferroni Düzeltmesi, p<0,01

*İstatistiksel olarak anlamlılık

5. TARTIŞMA

Bozulmuş yara iyileşmesi; enfeksiyon riski, hastanede kalış süresi ve maliyette artış, hasta konforunda azalma gibi çeşitli olumsuz sonuçlar ortaya çıkarmaktadır (10,85). Yara iyileşme sürecini anlamak için pek çok sayıda çalışma yapılmaktadır (85). Patofizyolojiyi ortaya koymak için her ne kadar insan fizyolojisini taklit edemese de hayvan modelleri kullanılmaktadır (111). Bu çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan modeller ratlar ile oluşturulmuştur (112). Biz de çalışmamızda, insan fizyolojisine en yakın olan, düşük maliyetli rat yara modelini kullanmayı tercih ettik.

Yara yeri iyileşmesi; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, olgunlaşma ve yeniden şekillenme fazı gibi pek çok basamağı iç içe girmiş karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşme sürecini ısı, beslenme, yaş ve ilaçlar gibi çeşitli faktörler etkilemektedir. Lokal anestezipler, cerrahi işlemlerin gerçekleştirilmesi için hem anestezi hem de analjezik amaçlı infiltrasyon yöntemiyle yaygın olarak kullanılan ilaçlardan biridir. Ancak literatürdeki çalışmalar lokal anesteziplerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini henüz net bir şekilde ortaya koyamamışlardır. Bupivakain, infiltrasyon anestezisi için sıklıkla kullanılan yavaş etki başlangıçlı, uzun etki süreli (5-16 saat kadar), ancak yüksek toksik potansiyele sahip lokal anesteziplerden biridir (41,42). Bupivakain, hücre membranından Na⁺ iyonlarının geçmesini önler ve sinir lifleri boyunca impuls iletiminin geri dönüşümlü inhibisyonuna neden olur (40). Yapılan çalışmalar ile bupivakainin yara yerindeki hücreleri ve gerilme kuvvetini olumsuz etkilediği gösterilmiştir (92). Ratlarda insizyon hattı oluşturarak yapılan bir yara iyileşmesi çalışmasında, bupivakain infiltre edilen grupta kollajen üretiminin daha düşük olduğu, kırılma mukavemetinin azaldığı, ödem ve inflamasyon skorlarının arttığı, yara iyileşmesinin olumsuz etkilendiği gösterilmiştir (113). Ancak başka bir çalışmada, bupivakain ve salinin yara iyileşmesi üzerine benzer sonuçlara yol açtığı bulunmuştur (116). Bizde çalışmamızda yara yeri iyileşmesinde bupivakainin etkisini ortaya koymayı amaçladık.

Cerrahi insizyon hattında ağrıyı azaltmak amacıyla sedatif, analjezik, sempatolitik, kardiyovasküler stabilize edici özelliklere sahip alfa-2 agonist olan deksmedetomidin klinikte kullanılmaktadır (83,84). Ancak anestezi pratiğine yeni girmiş olan bu ilacın yara yeri iyileşmesi üzerine etkisi tam olarak ortaya konmamıştır. Az sayıda yapılmış çalışmaların sonuçları; deksmedetomidinin yara yeri iyileşmesi üzerinde olumlu etki sağlayabileceğini göstermektedir. Biz de çalışmamızda deksmedetomidinin yara yeri üzerine etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

Proinflamatuvar sitokinler, keratinositlerin uyarılması ve fibroblastların proliferasyonu, ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretilmesi ve parçalanması gibi yara onarımında önemli bir rol oynarlar. Bu sitokinlerin, yara onarımının inflamatuvar fazı sırasında kuvvetli şekilde arttığı gösterilmiştir (4). Proinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra, antiinflamatuvar sitokinler de yara onarımının önemli bir düzenleyicisidir. Özellikle IL-10; birkaç kemokin ve proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu değiştirerek, nötrofil ve makrofajların yaralanma bölgesine infiltrasyonunu inhibe etmekte ve böylece matriks birikimini azaltarak skarsız bir iyileşme sağlamaktadır. (5, 26,96,97). Postoperatif lokal inflamatuvar cevabı azaltan stratejiler, hastanın yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Bupivakain'in pro-inflamatuvar faktör düzeylerini yara iyileşmesinin ilk günlerinde arttırıp anti-inflamatuvar faktör düzeylerini azaltarak, pro-inflamatuvar etkilere yol açıp, yüksek ödem ve inflamasyona sebep olduğunu ve kollajen üretimini de düşürdüğünü gösteren pek çok klinik ve deneysel çalışma mevcuttur. Özgergin ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, bupivakain, ropivakain ve levobupivakainin TNF- α , IL-1 ve IL-6 ekspresyon düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (103). Abdominal histerektomi yapılan hastalara inhalasyon anestezisi, TIVA anestezisi (propofol) ve epidural anestezi (bupivakain) uygulanan bir çalışmada, ameliyat öncesi, postop 2. ve 24.saatlerde IL-6 ve TNF- α düzeylerine bakılmış. Mevcut çalışmada IL-6, tüm gruplarda ameliyattan 2. ve 24. saatten sonra anlamlı bir şekilde artmıştır. TNF- α düzeyi, ameliyat öncesi değerle karşılaştırıldığında tüm gruplarda 2. saatte anlamlı bir şekilde artmış iken ameliyat sonrası 24. saatte TNF- α düzeyinin tüm gruplarda ameliyat öncesi değerlerine geri döndüğü saptanmıştır (93). Abdominal histerektomi yapılan hastalar üzerinde gerçekleştirilen yara yerine bupivakain infiltrasyonu ile birlikte intervenöz deksmedetomidin veya ketamin uygulanmasının sitokinler üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, deksmedetomidin eklenmiş grupta kontrol (yalnız bupivakain) grubuna göre IL-6 ve TNF- α nın azaldığı, IL-10' nın ise arttığı saptanmıştır. (94). Sıçanların sırt bölgelerinde sağ taraf kontrol, sol taraf; salin, bupivakain, levobupivakain ve ropivakain yara yerine infiltre edilerek gerçekleştirilen bir başka çalışmada, 7. günde inflamatuvar alanın en fazla buivakain de olmak üzere tüm lokal anestezikler ile kontrol gruplarına göre anlamlı derecede daha büyük olduğu saptanmıştır. (116).

Deksmedetomidinin pro-inflamatuvar faktör düzeylerini azaltıp anti-inflamatuvar faktör düzeylerini arttırarak, anti-inflamatuvar etkilere sahip olduğunu gösteren birçok deneysel ve klinik çalışma mevcuttur. Yapılan bir meta analiz çalışmasında, çeşitli ameliyatlarda perioperatif deksmedetomidin uygulanan hastalarda ameliyat sonrası TNF- α , IL-6, IL-8 ve IL-

10 düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen verilere göre TNF- α ve IL-6 düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır (89). Benzer klinik çalışmalarda, deksmedetomidin tedavisi ile TNF- α , IL-6 ekspresyon seviyesinde azalma olduğu ve deksmedetomidinin anti-inflamatuar etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (86,87,88,90). Can ve ark.'ları ratlarda omurilik yaralanması oluşturdukları çalışmada, TNF- α ve IL-6 düzeylerini deksmedetomidin ve metilprednizolon grubu kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmış olarak saptamışlardır (91). Deksmetomidin etkilerinin incelendiği 15 randomize kontrollü çalışmanın dahil edildiği bir meta analiz çalışmasında, perioperatif dönemde genel anesteziye deksmedetomidin eklenmesinin hastaların postoperatif TNF- α , IL-6 ve IL-8 serum düzeylerini kontrol grubuna göre azaldığını, IL-10 düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını gösterilmiştir (95).

Bizim çalışmamızda IL-10 gen ekspresyonu tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde farklı saptandı. IL-10 gen ekspresyonu bupivakain verilen grupta azaldığı deksmedetomidin verilen grupta ise arttı. Bupivakain + deksmedetomidin verilen grupta deksmedetomidin grubuna yakın bir artış gözlemlendi. Bizim çalışmamızdaki bu veriler; bupivakain ve deksmedetomidin ile ilgili literatür bilgilerini desteklemektedir. Dahası sonuçlarımız deksmedetomidinin, bupivakainin IL-10 üzerindeki olumsuz etkileri düzelttiğini göstermektedir. IL-6 gen ekspresyonu hiçbir grupta kontrol grubundan farklı bulunmaz iken TNF- α gen ekspresyonu da gruplar arasında benzerdi. TNF- α ve IL-6 düzeylerinin intraoperatif deksmedetomidin infüzyonu verilerek ölçülen 2 farklı çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde TNF- α ve IL-6 düzeylerinin değişmediği görülmüştür (100,101). Taniguchi ve ark.'nın çalışmasında, deksmedetomidinin doz bağımlı olarak TNF- α ve IL-6 düzeylerini değiştirdiği ortaya konmuştur (102). Biz de çalışmamızda deksmedetomidinin TNF- α ve IL-6 üzerindeki etkilerini net bir şekilde ortaya koyamamış olmamızın doz kaynaklı olabileceği kanaatindeyiz. Dahası insizyonun hemen sonrasındaki dönemde bu interlokinlerin ekspresyonlarını incelemedik. Değişim üzerine etkisinin tekrarlayan ölçümlerle incelenmesinin çok daha farklı sonuçlar ortaya koyacağını düşünmekteyiz.

Akut inflamasyon ani gelişir ve birkaç saat ya da birkaç gün sürebilir, inflamasyona bağlı vazodilatasyon görülür ve sonucunda inflamasyon alanında postkapiller venüllerden sıvı ve plazma proteinlerinde eksüdasyon meydana gelir. Bunun sonrasında ödem gelişir ve hasar bölgesine lökositler göç etmeye başlar. İlk gelen lökositler polimorfonüklear (lökosit, eozinofil ve bazofildir) lökositler ve nötrofil ile makrofaj hakimiyeti vardır. Kronik inflamasyon ise daha uzun süreli ve yıllarca sürebilir. Çoğunlukla akut inflamasyonu takip eder ama akut

inflamasyon oluşmadan da kronik olarak başlayabilir. Kronik inflamasyon da histolojik olarak gördüğümüz en yoğun hücreler ise lenfositlerdir. Hancı ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, yara yerine salin, lidokain, bupivakain ve tramadol infiltre etmiş. Ödem ve inflamasyon skorlarını, bupivakain ve lidokain gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (109). Sıçanların siyatik sinirlerine bupivakain, bupivakain + deksmedetomidin, deksmedetomidin ve salin enjeksiyonu sonrası perinöral inflamasyonun değerlendirildiği bir başka çalışmada, 24. saatteteki perinöral inflamasyonun bupivakain grubunda salin grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, deksmedetomidin grubunun ise salin ile benzer olduğu saptanmıştır. Dahası bupivakaine, deksmedetomidin eklendiği grupta perinöral inflamasyon salin grubuna benzer bulunmuştur (118). Bizim çalışmamızda da hücre ödemi, bupivakain grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede artmıştı. Akut ve kronik inflamasyonu değerlendirdiğimizde ise her ikisinin de bupivakain grubunda, salin grubu ile benzer ancak deksmedetomidin grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu.

Yara iyileşmesi üzerindeki etkiyi belirleyen diğer bir kritik faktör de , yara gerilim kuvvetidir. Yara gerilim kuvvetindeki bir azalma, dikişlerin geç alınmasına yol açabilir. Yara gerilim mukavemeti, sentezlenen kolajenin miktarı ve kalitesine göre belirlenir. Kolajenin destek ve güç sağlayan yara iyileşme sürecinin önemli bir biyobelirteci olduğu saptanmıştır (105). Kolajen sentezi ise hidroksiprolin konsantrasyonu ile değerlendirebilmektedir. Hidroksiprolin; kolajen sentezinde ve dokuların üçlü sarmal yapısının termodinamik stabilitesinde çok önemli bir rol oynayan esansiyel olmayan bir amino asittir (117). Doku hidroksiprolin miktarı ve kalitesi, yara gerilim kuvvetini belirleyen faktörlerdir (105). Sıçanların sırtında açılan yaralara prolin verilip 4. ve 8. günlerde yara iyileşmesinin takibi sonrasında yaraların çok hızlı iyileştiği görülmüştür (119). Bu nedenle, daha yüksek hidroksiprolin konsantrasyonu artan kolajen döngüsünü yansıtır ve daha hızlı yara iyileşme oranını gösterir. Ayrıca uyarılmış kolajen sentezi, vaskülarizasyonun artışı sağlar (104). Lokal anesteziik infiltrasyonları ile yapılan bir yara yeri çalışmasında, kolajen maturasyonunun 21. günde bupivakain ve levobupivakain grubunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde bozulduğu saptanmıştır. Aynı zamanda 21. gündeki yara gerilme kuvvetinin de bu gruplarda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını bulmuşlardır (106). Hancı ve ark.'nın yaptığı çalışmada, yara yerine salin, lidokain, bupivakain ve tramadol infiltre edilip 8. günde aldıkları numunelerde kolajen üretimi ve kırılma mukavemeti bupivakain ve lidokain gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (109). Bizim çalışmamızda da bupivakain literatür bulgularına benzer şekilde hidroksiprolin düzeylerini düşürdü.

Deksmedetomidinin tek yada bupivakain ile birlikte uygulandığı gruplarda hidroksiprolin düzeyleri yüksek bulundu. Literatürde deksmedetomidinin hidroksiprolin üzerine etkilerini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Aynı zamanda yara gerilim kuvveti de deksmedetomidin grubunda anlamlı ölçüde artmış iken bupivakain grubunda en düşüktü. Bupivakain ile birlikte deksmedetomidin uygulandığında ise kontrol grubuna göre daha yüksek yara gerilim kuvveti ve hidroksiprolin düzeyi saptanmıştır. Deksmedetomidinin yara gerilim kuvveti ve kolajen sentezi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu hatta birlikte verildiğinde bupivakainin olumsuz etkilerini geri döndürebildiğini düşünmekteyiz.

Fibroblastlar, normal yara iyileşmesinin desteklenmesinde kritik öneme sahiptir; fibrin pıhtısının parçalanması, yeni hücre dışı matriks (ECM) ve etkili yara iyileşmesi ile ilişkili diğer hücreleri desteklemek için kolajen yapılarının oluşturulması gibi temel süreçlerde yer alır (119). İnsan fibroblastlarının lidokain, bupivakain ve ropivakaine 2 gün boyunca maruz bırakıldığı in vitro bir çalışmada, canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesinde ve çoğalma hızında konsantrasyona bağlı bir azalma olduğu görülmüştür. Analiz edilen lokal anestezikler arasında bupivakain en ciddi sitotoksik etkiyi göstermiştir (107). Deksmedetomidin kullanılan bir başka çalışmada insan akciğer fibroblastlarında deksmedetomidin doz bağımlı olarak apaptozu anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (110). Bizim çalışmamızda da fibroblast sayılarını bupivakain literatüre benzer bir şekilde azaltırken deksmedetomidin arttırdı. Birlikte kullanıldığında ise fibroblast sayısı üzerinde olumlu etkiler saptandı. Fibröz skar alanı ise kontrol ve deksmedetomidin gruplarında benzer iken bupivakainin tek yada deksmedetomidin birlikte kullanıldığı gruplarda ise daha fazla idi. Fibröz skar birim alan başına düşen fibroblast sayısına bakıldığında ise deksmedetomidinin grubunun kontrol grubundan daha da iyi olduğu, bupivakain + deksmedetomidin grubunun ise kontrole benzer ve bupivakain verilen gruptan daha iyi olduğu görüldü. Bupivakain + deksmedetomidin verilen grupta fibrotik skar alanının geniş olduğu ancak bu alan içerisinde yoğun rejenere epitel ve bağ dokusu gözlenmiştir. Kolejen liflerinin hakim olduğu alanlardaki lif demetlerinin periferdekilere göre daha yoğun ve kalın olması bu alanların iyileşmekte olduğunu göstermektedir. Bu da bize deksmedetomidinin, bupivakainin skar dokusu oluşturuca etkisini azalttığını göstermektedir.

Vaskülarite, yara iyileşmesinin kritik bir bileşenidir (113). Gelişmekte olan kılcal filizler, endotel hücrelerindeki vasküler bazal membrana nüfus ederek ekstrasellüler matriks stromasını istila eder. Endotel hücre proliferasyonu ile itilerek genişleyen, dallanan tüp benzeri yapılar oluşur (115). Düzgün bir vaskülaritenin oluşması sonrasında granülasyon dokusu

oluşur. Hızlandırılmış yara onarımının anahtarlarından birisi yaranın granülasyon dokusu tarafından zamanında örtülmesi ve çevredeki epitel hücrelerinin göçüne daha elverişli hale gelmesidir (108). Hancı ve ark.'nın yaptığı yara yeri çalışmasında, bupivakain uyguladıkları grupların 8. Günündeki vaskülarite değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede azalmıştır (109). Biz de çalışmamızda, bupivakain grubunun damar sayısını deksmedetomidin grubuna göre daha az olduğunu saptadık. Fibröz skar alanındaki vaskülarite oranına bakıldığında bupivakainin tüm diğer gruplardan anlamlı bir şekilde vaskülariteyi azalttığı görülmüştür. Ancak deksmedetomidinin kontrol grubuna göre vaskülariteye anlamlı bir pozitif etkisi bulunmadı.

Yara iyileşmesinde epitelizasyon kritik bir süreçtir çünkü epitelize olmayan bir yara ne kadar mükemmel onarılmış olsa da iyileşmiş sayılmaz (114). Sıçanlarda levobupivakainin yara yeri infiltrasyon etkisini araştıran bir çalışmada, sıçanların sırtında kesi oluşturup yara yerine adrenalin, adrenalin + levobupivakain, levobupivakain ve salin verilen hayvanlardan 8. günde doku alınıp epitel kalınlığına bakılmış. Yapılan analize göre adrenalin ve lokal anestezi + adrenalin uygulanan grupta salin verilen gruba göre önemli farklılık saptanmıştır. Lokal anestezi + adrenalin verilen grupta, tüm gruplara göre epitel kalınlığı azalmıştır (120). Epitel kalınlığı epitelizasyonun bir göstergesi olmamakla birlikte çalışmamızda epitel kalınlığını araştırdık. Bizim çalışmamızda gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu. Histopatolojik incelemede epitel kalınlığı kontrol grubunda skar bölgesi ile sınırlı iken bupivakain grubunda skar bölgesinin yakın periferinde de arttığı gözlemlendi. Deksmetomidin grubunda ise sadece skar bölgesindeki epitelin diğer alanlara göre daha ince olduğu görüldü. Bununda deksmedetomidinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin bir başka histopatolojik kanıt olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bir takım kısıtlayıcı faktörler bulunmaktadır. Deneyimizi etik nedenlerden dolayı rat modeli ile az sayıda denekle gerçekleştirdik. Sadece erken dönem yara iyileşmesi ile ilgili tek bir gündeki verileri araştırdık. Çalışmamızın ileride yapılacak olan klinik çalışmalara ışık tutacağı inancındayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda yara infiltrasyonu ile bupivakain, deksmedetomidin ve bunların birlikte kullanımının yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında, tek başına bupivakainin yara yeri iyileşmesini olumsuz etkilediğini, deksmedetomidinin ise genel olarak yara yeri iyileşmesine olumlu etkilerinin olduğu düşüncesindeyiz. Bu iki ilaç beraber kullanıldığında ise bupivakainin olumsuz etkisini az da olsa azalttığı kanaatindeyiz. Bu etkinin tam olarak ortaya konması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.



7. KAYNAKLAR

1. Dorai, A. A. (2012). Wound care with traditional, complementary and alternative medicine. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*, 45(2),418.
2. Ekizce, E. (2019). Deneysel olarak tip II diyabet oluşturulmuş ratlardaki yara modelinde kudret narı(momordica charantia) meyvesi yağının yara iyileşmesi üzerine etkileri (Master's thesis, Kırıkkale Üniversitesi).
3. Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528-1542.
4. Leong M, Phillips LG. Wound Healing. Townsend MC, Sabiston Textbook of Surgery, 17th Edition, Elsevier U 2004; 183-208. No Title.
5. Robbins SL, Kumar B, Cotran R. Tissue repair: Cellular growth fibrosis and wound healing. *IRSP basic of disease*. PWS 1994: 89-111. No Title.
6. Irwin W, Fontaine E, Agnolucci L, Penzo D, Betto R, Bortolotto S, et al. Bupivacaine myotoxicity is mediated by mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*. 2002 Apr 5;277(14):12221-7.
7. Afonso J, Reis F. Dexmedetomidine: Current Role in Anesthesia and Intensive Care. Vol. 62, *Revista Brasileira de Anestesiologia*.
8. Kolarsick, P. A., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C. (2011). Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203-213.
9. Kılınç Ö. (2015). Deneysel Diyabetik Sıçan Yara Modelinde Lucıha Sericata Larva Salgılarının Yara İyileşme Süreci İle İlişkilendirilmiş Mikrorna'ların Ekspresyon Seviyeleri Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
10. Brunicardi FC, Anderson DK, Billiar TR, et al. Schwartz Cerrahinin İlkeleri. Barbul A, Efron TD, Kavalukas LS, ed;Yara İyileşmesi (içinde), 10. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2017.
11. Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, et al. Sabiston textbook of Surgery, The biological basis of modern surgical practice. In: Leong M, Murphy DK, Phillips GL, eds. Wound Healing, 20 th ed. Amsterdam: Elsevier, 2017: 130-162.
12. Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, et al. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg*. 1965;161(2):293-308.
13. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341(10):738-746.

14. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med*. 2008;359(9):938-949.
15. Redd MJ, Cooper L, Wood W, et al. Wound healing and inflammation: embryos reveal the way to perfect repair. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2004;359(1445):777-784.
16. Parsak, C. K., Sakman, G., & Çelik, Ü. (2007). Yara iyileşmesi, yara bakımı ve komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(2), 145-159.
17. Kurumlu Z, Çelebi CR. Yara iyileşmesi ve beslenme. In: Erdem C, Çelebi C, eds. *Tüm yönleriyle yara iyileşmesi*. Ankara: Ayrıntı Matbaacılık, 1996. p.61
18. Rosenberg PH, Renkonen OV. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine. *Anesthesiology*. 1985 Feb;62(2):178-9.
19. Hodson M, Gajraj R, Scott NB. A comparison of the antibacterial activity of levobupivacaine vs. bupivacaine: an in vitro study with bacteria implicated in epidural infection. *Anaesthesia*. 1999 Jul;54(7):699-702.
20. Guillier M, Boselli E, Bouvet L, Freney J, Renaud FN, Chassard D, Allaouchiche B. Levobupivacaine hydrochloride and sufentanil have no antimicrobial effect at 25 degrees C in vitro. *Eur J Anaesthesiol*. 2007 Jul;24(7):634-9.
21. Zink, W., Seif, C., Bohl, J. R., Hacke, N., Braun, P. M., Sinner, B., ... & Graf, B. M. (2003). The acute myotoxic effects of bupivacaine and ropivacaine after continuous peripheral nerve blockades. *Anesthesia & Analgesia*, 97(4), 1173-117
22. Sakuragi, T., Ishino, H., & Dan, K. (1997). Bactericidal activity of 0.5% bupivacaine with preservatives on microorganisms in the human skin flora. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 22(2), 178-184.
23. Bisla, K., & Tanelian, D. L. (1992). Concentration-dependent effects of lidocaine on corneal epithelial wound healing. *Investigative ophthalmology & visual science*, 33(11), 3029-3033
24. Gurbet A., Bekar A., Bilgin H., Korfali G., Yilmazlar S., Tercan M. Pre-emptive infiltration of levobupivacaine is superior to at-closure administration in lumbar laminectomy patients. *Eur. Spine J*. 2008;17:1237–1241.
25. Enoch David John Leaper S. Basic science surgery 26:2 31 Basic science of wound healing. 2008;26(2):37–42
26. Güner İ, Özmen D, Oya B. Sitokinlerin işlevleri ve sınıflandırılması. *T Klin J Med Sci* 1997,. 1997;17:65–74.
27. Cohen IK, Diegelmann RF, Yager DR, et al. Wound care and wound healing. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC eds. *Principles of surgery* 7th ed. New York, MC Graw Hill, 1999:263-295

28. Leong M, Phillips LG. (2004) Wound Healing. Townsend MC, Sabiston Textbook of Surgery, 17th Edition, Elsevier, USA 2004; 183-208.
29. Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81.
30. Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., ... & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol*, 59(2), 455-467.
31. Lieberman, J. R., Daluiski, A., & Einhorn, T. A. (2002). The role of growth factors in the repair of bone: biology and clinical applications. *JBJS*, 84(6), 1032-1044.
32. Kandel, J., Bossy-Wetzel, E., Radvanyi, F., Klagsbrun, M., Folkman, J., & Hanahan, D. (1991). Neovascularization is associated with a switch to the export of bFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell*, 66(6), 1095-1104.
33. Tobe M, Suto T, Saito S. The history and progress of local anesthesia: multiple approaches to elongate the action. Vol. 32, *Journal of Anesthesia*. Springer Tokyo; 2018. p. 632–6.
34. Lirk P, Hollmann MW, Strichartz G. The science of local anesthesia: Basic research, clinical application, and future directions. Vol. 126, *Anesthesia and Analgesia*. Lippincott Williams and Wilkins; 2017. p. 1381–92.
35. Kayhan Z. Lokal Anestezikler. In: *Klinik Anestezi*. 3. Baskı. İstanbul: Logos Yayıncılık; 2004. p. 503–23.
36. Freeman BS. Anesthesiology Core Review: Part One Basic Exam Chapter 57: Local Anesthetics.
37. Perrin SL, Bull C, Rowe R, Black S. Local anaesthetic drugs Learning objectives.
38. Wallace A. Clinical Pharmacology for Anesthesiology Chapter 12: Local Anesthetics.
39. Garip L, Lapre R, Soetens F, van Herrevege I. Local Anesthetics: Clinical Pharmacology and Selection. In: Hadzic A, Lopez A, editors. *Hadzic's Peripheral Nerve Blocks and Anatomy for Ultrasound Guided Regional Anesthesia*. 3rd ed. McGraw-Hill Education ; 2021. p. 32–42.
40. Öz Gergin Ö, Yıldız K, Bayram A, Sencar L, Coşkun G, Yay A, et al. Comparison of the myotoxic effects of levobupivacaine, bupivacaine, and ropivacaine: An electron microscopic study. *Ultrastruct Pathol*. 2015 May 1;39(3):169–76.
41. Erdine S. Postoperatif ağrı tedavisi. Genişletilmiş 2. Baskı Nobel Tıp Kitapevi 2002:118-135.

42. Horiguchi T, Shibata MA, Ito Y, Eid NAS, Abe M, Otsuki Y. Macrophage apoptosis in rat skeletal muscle treated with bupivacaine hydrochloride: Possible role of MCP-1. *Muscle Nerve*. 2002 Jul;26(1):79–86.
43. Nouette-Gaulain K, Bringuier S, Canal-Raffin M, Bernard N, Lopez S, Dadure C, et al. Time course of mitochondrial metabolism alterations to repeated injections of bupivacaine in rat muscle. *Canadian Journal of Anesthesia*. 2010;57(9):836–42.
44. Fda, Cder. Precedex (dexmedetomidine hydrochloride) injection label [Internet]. Available from: www.fda.gov/medwatch.
45. Chrysostomou C, Schmitt CG. Dexmedetomidine: Sedation, analgesia and beyond. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4(5):619–27.
46. Coursin DB, Coursin DB, Maccioli GA. Dexmedetomidine. *Curr Opin Crit Care*. 2001;7(4):221–6.
47. Afonso J, Reis F. Dexmedetomidina: Papel Atual em Anestesia e Cuidados Intensivos. *Rev Bras Anesthesiol*. 2012;62(1):118–33.
48. Kivistö KT, Kallio A, Neuvonen PJ. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of transdermal dexmedetomidine. *Eur J Clin Pharmacol*. 1994;46(4):345–9.
49. Anttila M, Penttilä J, Helminen A, Vuorilehto L, Scheinin H. Bioavailability of dexmedetomidine after extravascular doses in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2003;56(6):691–3.
50. Song JC, Gao H, Qiu HB, Chen QB, Cai MH, Zhang MZ, et al. The pharmacokinetics of dexmedetomidine in patients with obstructive jaundice: A clinical trial. *PLoS One*. 2018;13(11):1–9.
51. Dutta S, Lal R, Karol MD, Cohen T, Ebert T. Influence of cardiac output on Dexmedetomidine pharmacokinetics. *J Pharm Sci*. 2000;89(4):519–27.
52. Jorden VSB, Pousman RM, Sanford MM, Thorborg PAJ, Hutchens MP. Dexmedetomidine Overdose in the Perioperative Setting. *Ann Pharmacother*. 2004;38(5):803–7.
53. Bekker A, Sturaitis MK. Dexmedetomidine for neurological surgery. *Neurosurgery*. 2005;57(1 SUPPL.):1–10.
54. Hsu Y, Cortinez LI, Robertson KM, Keifer JC, Sum-Ping ST, Moretti EW, et al. Dexmedetomidine pharmacodynamics: part I: crossover comparison of the respiratory effects of dexmedetomidine and remifentanyl in healthy volunteers. *Anesthesiology*. 2004;101(5):1066–76.

55. Coull JT, Jones MEP, Egan TD, Frith CD, Maze M. Attentional effects of noradrenaline vary with arousal level: Selective activation of thalamic pulvinar in humans. *Neuroimage*. 2004;22(1):315–22.
56. Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colino MD. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology*. 2000;93(2):382–94.
57. Yoshitomi T, Kohjitani A, Maeda S, Higuchi H, Shimada M, Miyawaki T. Dexmedetomidine enhances the local anesthetic action of lidocaine via an α -2a adrenoceptor. *Anesth Analg*. 2008;107(1):96–101.
58. Al-Metwalli RR, Mowafi HA, Ismail SA, Siddiqui AK, Al-Ghamdi AM, Shafi MA, et al. Effect of intra-articular dexmedetomidine on postoperative analgesia after arthroscopic knee surgery. *Br J Anaesth*. 2008;101(3):395–9.
59. Deutsch E, Tobias JD. Hemodynamic and respiratory changes following dexmedetomidine administration during general anesthesia: Sevoflurane vs desflurane. *Paediatr Anaesth*. 2007;17(5):438–44.
60. Hoy SM, Keating GM. Dexmedetomidine: A review of its use for sedation in mechanically ventilated patients in an intensive care setting and for procedural sedation. *Drugs*. 2011;71(11):1481–501.
61. Takada K, Clark DJ, Davies MF, Tonner PH, Krause TKW, Bertaccini E, et al. Meperidine exerts agonist activity at the α 2B-adrenoceptor subtype. *Anesthesiology*. 2002;96(6):1420–6.
62. Elvan EG, Öç B, Uzun Ş, Karabulut E, Coşkun F, Aypar Ü. Dexmedetomidine and postoperative shivering in patients undergoing elective abdominal hysterectomy. *Eur J Anaesthesiol*. 2008;25(5):357–64.
63. Venn, R. M., Hell, J., & Michael Grounds, R. (2000). Respiratory effects of dexmedetomidine in the surgical patient requiring intensive care. *Critical Care*, 4(5), 1-7.
64. Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Farmacología básica y clínica*. McGraw Hill Educación.
65. Weinger, M. B., Segal, I. S., & Maze, M. (1989). Dexmedetomidine, acting through central alpha-2 adrenoceptors, prevents opiate-induced muscle rigidity in the rat. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 71(2), 242-249.
66. Li, Y., He, R., Chen, S., & Qu, Y. (2015). Effect of dexmedetomidine on early postoperative cognitive dysfunction and peri-operative inflammation in elderly patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Experimental and therapeutic medicine*, 10(5), 1635-1642.

67. Takada, K., Clark, D. J., Davies, M. F., Tonner, P. H., Krause, T. K., Bertaccini, E., & Maze, M. (2002). Meperidine exerts agonist activity at the α 2B-adrenoceptor subtype. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 96(6), 1420-1426.
68. Doufas, A. G., Lin, C. M., Suleman, M. I., Liem, E. B., Lenhardt, R., Morioka, N., & Sessler, D. I. (2003). Dexmedetomidine and meperidine additively reduce the shivering threshold in humans. *Stroke*, 34(5), 1218-1223.
69. Yan, X., Cheng, X., Zhou, L., He, X., Zheng, W., & Chen, H. (2017). Dexmedetomidine alleviates lipopolysaccharide-induced lung injury in Wistar rats. *Oncotarget*, 8(27), 44410.
70. Li, H., Zhang, X., Chen, M., Chen, J., Gao, T., & Yao, S. (2018). Dexmedetomidine inhibits inflammation in microglia cells under stimulation of LPS and ATP by c-Fos/NLRP3/caspase-1 cascades. *EXCLI journal*, 17, 302.
71. Wang, Y., Wu, S., Yu, X., Zhou, S., Ge, M., Chi, X., & Cai, J. (2016). Dexmedetomidine protects rat liver against ischemia-reperfusion injury partly by the α 2A-adrenoceptor subtype and the mechanism is associated with the TLR4/NF- κ B pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 995.
72. Qiu, R., Yao, W., Ji, H., Yuan, D., Gao, X., Sha, W., ... & Hei, Z. (2018). Dexmedetomidine restores septic renal function via promoting inflammation resolution in a rat sepsis model. *Life sciences*, 204, 1-8.
73. Zhang, M. H., Zhou, X. M., Cui, J. Z., Wang, K. J., Feng, Y., & Zhang, H. A. (2018). Neuroprotective effects of dexmedetomidine on traumatic brain injury: Involvement of neuronal apoptosis and HSP70 expression. *Molecular Medicine Reports*, 17(6), 8079-8086.
74. Eugenio, D. M. H., & Míriam, S. M. (2017). Proposal for a Protocol for Awake Fiberoptic Intubation in Adult with Dexmedetomidine. 4 (2): 1-7.
75. Gertler, R., Brown, H. C., Mitchell, D. H., & Silvius, E. N. (2001, January). Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. In *Baylor University Medical Center Proceedings* (Vol. 14, No. 1, pp. 13-21). Taylor & Francis.
76. Scholz, J., & Tonner, P. H. (2000). α 2-Adrenoceptor agonists in anaesthesia: a new paradigm. *Current Opinion in Anesthesiology*, 13(4), 437-442.
77. Hall, J. E., Uhrich, T. D., Barney, J. A., Arain, S. R., & Ebert, T. J. (2000). Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesthesia & Analgesia*, 90(3), 699-705.
78. Fragen, R. J., & Fitzgerald, P. C. (1999). Effect of dexmedetomidine on the minimum alveolar concentration (MAC) of sevoflurane in adults age 55 to 70 years. *Journal of clinical anesthesia*, 11(6), 466-470.

79. Triltsch, A. E., Welte, M., von Homeyer, P., Groe, J., Genähr, A., Moshirzadeh, M., ... & Spies, C. D. (2002). Bispectral index-guided sedation with dexmedetomidine in intensive care: a prospective, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study. *Critical care medicine*, 30(5), 1007-1014.
80. Peinnequin A, Mouret C, Birot O, Alonso A, Mathieu J, Clarençon D, Agay D, Chancerelle Y, Multon E. Rat pro-inflammatory cytokine and cytokine related mRNA quantification by real-time polymerase chain reaction using SYBR green. *BMC Immunol.* 2004 Feb 5;5:3. doi: 10.1186/1471-2172-5-3.
81. Bai, Xue, et al. "Interleukin 10 plays an important role in neonatal rats with hypoxic-ischemia associated with B-cell lymphoma 2 and endoplasmic reticulum protein 29." *Analytical Cellular Pathology* 2021 (2021): 1-12.
82. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008;3(6):1101-8.
83. David BG. The autonomic nervous system. *Miller's Anesthesia*. 8th ed. United States, Churchill Livingstone Elsevier: 2015:346-386.
84. Cheung CW, Jacobus Ng KF, Choi WS, et.al. Evaluation of the analgesic efficacy of local dexmedetomidine application. *Clin J Pain.* 2011; 27:377–82.
85. Fujita I, Okumura T, Sakakibara A, et.al. Involvement of inflammation in severe post-operative pain demonstrated by pre-surgical and post-surgical treatment with piroxicam and ketorolac. *J Pharm Pharmacol.* 2012; 64:747-55.
86. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y, Yamamoto K. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin- induced shock in rats. *Crit Care Med.* 2004; 32:1322-26.
87. Shen J, Fu G, Jiang L, Xu J, Li L, Fu G. Effect of dexmedetomidine pretreatment on lung injury following intestinal ischemia-reperfusion. *Exp Ther Med.* 2013; 6:1359-64.
88. Sukegawa S, Higuchi H, Inoue M, Nagatsuka H, Maeda S, Miyawaki T. Locally Injected Dexmedetomidine Inhibits Carrageenin-Induced Inflammatory Responses in the Injected Region. *Anesth Analg.* 2014; 118:473-480.
89. Li, Bo et al. Anti-Inflammation Effects of Perioperative Dexmedetomidine Administered as an Adjunct to General Anesthesia: A Meta-Analysis. *Scientific Reports* 5 (2015): 12342. PMC. Web. 14 Aug. 2017.
90. Koca U. et al. The effects of dexmedetomidine on secondary acute lung and kidney injuries in the rat model of intra-abdominal sepsis. *Sci World J.* 2013, 292687 (2013).

91. Can M, Gul S, Bektas S, Hanci V, Acikgoz S. Effects of dexmedetomidine or methylprednisolone on inflammatory responses in spinal cord injury. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009; 53: 1068–72
92. Kesici, S., Kesici, U., Ulusoy, H., Erturkuner, P., Turkmen, A., & Arda, O. (2018). Efeitos dos anestésicos locais na cicatrização de feridas. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 68, 375-382.
93. Shabaan, A. A. (2019). A randomized trial comparing three different anesthetic techniques on immune response for patients undergoing abdominal hysterectomy operation. *Research and Opinion in Anesthesia and Intensive Care*, 6(4), 446.
94. El Sherif, F. A., Tohamy, M., Mostafa, M. A., de la Adlan, S., Mohamed, S. A. B., Mansour, S., ... & Abd El-Rahman, A. M. (2022). Effect of local wound infiltration with ketamine versus dexmedetomidine added to bupivacaine on inflammatory cytokines, a randomized clinical trial. *Open Journal of Anesthesiology*, 12(8), 261-277.
95. Li B, Li Y, Tian S, Wang H, Wu H, Zhang A, et.al. Anti-inflammatory Effects of Perioperative Dexmedetomidine Administered as an Adjunct to General Anesthesia: A Meta-analysis. *Sci Rep*. 2015; 5:12342.
96. Suga H, Sato S. IL -10-producing regulatory B cells in skin diseases . *J Cutan Immunol Allergy*. 2019;2(3):68–74.
97. Liechty KW, Kim HB, Adzick NS, Crombleholme TM. Fetal wound repair results in scar formation in interleukin-10-deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair. *J Pediatr Surg*. 2000 Jun;35(6):863–6.
98. Memis D, Hekimoglu S, Vatan I, Yandim T, Yüksel M, Süt N. Effects of midazolam and dexmedetomidine on inflammatory responses and gastric intramucosal pH to sepsis in critically ill patients. *Br J Anaesth*. 2007;98:550–552.
99. Kawasaki T, Kawasaki C, Ueki M et al. Dexmedetomidine supresses proinflammatory mediator production in human whole blood in vitro. *J Trauma Acute Care Surg*. 2013; 74(5): 1370-5.
100. Lee J, Hwang HW, Jeong JY, Kim YM, Park C, Kim JY. The Effect of Low-Dose Dexmedetomidine on Pain and Inflammation in Patients Undergoing Laparoscopic Hysterectomy. *J Clin Med*. 2022 May 16;11(10):2802
101. Bekker A, Haile M, Kline R, Didehvar S, Babu R, Martiniuk F, Urban M. The effect of intraoperative infusion of dexmedetomidine on the quality of recovery after major spinal surgery. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2013 Jan;25(1):16-24.

102. Taniguchi, T., Kurita, A., Kobayashi, K., Yamamoto, K., & Inaba, H. (2008). Dose-and time-related effects of dexmedetomidine on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Journal of anesthesia*, 22, 221-22.
103. Bayram A., Gergin İ.Ş., Aksu R., Yay A.H., Balcıoğlu E., Polat S., Coşkun G., Soyer Sarıca Z., Yıldız K. Comparison of myotoxic effects of levobupivacaine, bupivacaine and ropivacaine: apoptotic activity and acute effect on pro-inflammatory cytokines. *Biotechnic&histochemistry: official publication of the Biological Stain Commission*, vol.94, pp.252-260, 2019
104. Rashed AN, Afifi FU, Disi AM. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *J Ethnopharmacol.* 2003 Oct;88(2-3):131-6.
105. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *J Ethnopharmacol.* 1998 Jan;59(3):179-86
106. Zeren S, Kesici S, Kesici U, Isbilir S, Turkmen UA, Ulusoy H, Karpuz V, Ozcan O, Polat E, Ipcioglu OM, Sari MK. Levobupivacainin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri. *Anesth Analg.* 2013 Şubat;116(2):495-9.
107. Fedder C, Beck-Schimmer B, Aguirre J, Hasler M, Roth-Z'graggen B, Urner M, Kalberer S, Schlicker A, Votta-Velis G, Bonvini JM, Graetz K, Borgeat A. In vitro exposure of human fibroblasts to local anaesthetics impairs cell growth. *Clin Exp Immunol.* 2010 Nov;162(2):280-8. Liu, Chenyang, et al. "Mesenchymal stromal cells pretreated with proinflammatory cytokines enhance skin wound healing via IL-6-dependent M2 polarization." *Stem Cell Research & Therapy* 13.1 (2022): 414.
108. Liu, Chenyang, et al. "Mesenchymal stromal cells pretreated with proinflammatory cytokines enhance skin wound healing via IL-6-dependent M2 polarization." *Stem Cell Research & Therapy* 13.1 (2022): 414.
109. Hancı, Volkan, et al. "Comparison of the effects of bupivacaine, lidocaine, and tramadol infiltration on wound healing in rats." *Revista brasileira de anestesiologia* 62 (2012): 804-810.
110. Zhang, Y., Tan, X., & Xue, L. (2018). The alpha2-adrenoreceptor agonist dexmedetomidine protects against lipopolysaccharide-induced apoptosis via inhibition of gap junctions in lung fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1), 92-97.
111. Vidinský, B., Gál, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, L., Bobrov, N., & Sabo, J. (2006). Histological study of the first seven days of skin wound healing in rats. *Acta Veterinaria Brno*, 75(2), 197-202.

112. Dorsett-Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: a review. *Wound repair and regeneration*, 12(6), 591-599.
113. Martin, D. C., Semple, J. L., & Sefton, M. V. (2010). Poly (methacrylic acid-co-methyl methacrylate) beads promote vascularization and wound repair in diabetic mice. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 93(2), 484-492.
114. Raja, K. S., Garcia, M. S., & Isseroff, R. R. (2007). Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Frontiers in bioscience-landmark*, 12(8), 2849-2868.
115. Keck, P. J., Hauser, S. D., Krivi, G., Sanzo, K., Warren, T., Feder, J., & Connolly, D. T. (1989). Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*, 246(4935), 1309-1312.
116. CALÇADO, M. S., Almeida, É., SILVEIRA, L. A., OLIVEIRA, G. C., GONÇALVES, A. N. A., MATTAR, B. J., & Etchebehere, R. (2022). Infiltration of local anesthetics into the surgical wound: effect on inflammation and fibrous scar in rats. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, 36, 431-436.
117. Kumar Srivastava, A., Khare, P., Kumar Nagar, H., Raghuwanshi, N., & Srivastava, R. (2016). Hydroxyproline: a potential biochemical marker and its role in the pathogenesis of different diseases. *Current Protein and Peptide Science*, 17(6), 596-602.
118. Brummett, C. M., Norat, M. A., Palmisano, J. M., & Lydic, R. (2008). Perineural administration of dexmedetomidine in combination with bupivacaine enhances sensory and motor blockade in sciatic nerve block without inducing neurotoxicity in rat. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 109(3), 502-511.
119. Ponrasu T, Jamuna S, Mathew A, Madhukumar KN, Ganeshkumar M, Iyappan K, Suguna L. Efficacy of L-proline administration on the early responses during cutaneous wound healing in rats. *Amino Acids*. 2013 Jul;45(1):179-89.
120. Ergenoğlu, Özge. Sıçanlarda Yara İyileşmesinde Levobupivakain İnfiltrasyonunun Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi*, 2013.