

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI BAŐKANLIĐI

VAKUM YARDIMLI KAPAMA SİSTEMİ KULLANILIMINDA
MAKSİMAL GRANÜLASYON DOKU GELİŞİMİNE İZİN
VEREN OPTİMAL TREPANASYON
DELİK ÇAPININ SAPTANMASI

Tale GASIMOV
Tbp. Bnb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve
Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nın Plastik, Rekonstrüktif ve
Estetik Cerrahi programı için öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Muhitdin Eski

ANKARA
2014

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına

“Vakum yardımcı kapama sistemi kullanımında granölasyon doku gelişimine izin veren optimal trepanasyon delik çapının saptanması” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Muhitdin Eski

İMZA

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye

İMZA

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye

İMZA

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye

İMZA

(Ünvanı, Adı Soyadı)

ONAY:

Tbp. Bnb. Tale GASIMOV’un.....tarihinde savunduğı bu tez, Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

Mustafa BAŞBOZKURT

Profesör Tabip Tuğgeneral

GATF Dek. ve Eğt. Hst. Bştp.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana meslek hayatımı sevdiren, tecrübeleri ile yol gösteren, sadece cerrah değil aynı zamanda bilim adamı olmam için hiç bir fedakarlıktan kaçınmayan GATA Plastik, Rekonstruktif ve Estetik cerrahi A.D. başkanı Prof. Dr. Serdar Öztürk'e teşekkürlerimi arz ederim.

İyi bir plastik cerrah ve iyi bir insan olabilme yolunda hiç bir fedakarlıktan kaçınmadan eğitimime katkı sağlayan değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Muhitdin Eski, Doç.Dr. Fatih Zor, Doç. Dr. Yalçın Bayram, Yrd. Doç. Dr. İsmail Şahin, Yrd. Doç. Dr. Abdülkerim Yapıcı'ya teşekkürlerimi arz ederim. Bana ilkeleri öğreten, tüm ameliyatları elinden geldiğince yaptıran, sevgili abilerim Op. Dr. D.Alhan'a, Op. Dr. Andaç Aykan'a, ayrıca Op. Dr. Muzaffer Durmuş'a, Op. Dr. Ahmet Demirhan Dal'a teşekkürlerimi arz ederim. Plastik cerrahide mesleki birçok bilgiyi bana öğreten, benim yetişmemde çok büyük emeği olan değerli hocalarım sayın Prof.Dr. Mustafa Şengezer'e, Prof.Dr. Selçık Işık'a minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Çalışmam esnasında bana yardımcı olan Sağlık Kd. Bçvş. Enver Kuntay'a, Tbp. Bnb. Mustafa Alparıslan Babayığıt'e, Doç. Dr. Ayhan Özcan'a, Yanık Merkezi personeline ve "Exudex" markalı vakum yardımcı ürünleri bünyemde bulunduran SGA mühendislik danışmanlık eğitimi iş ve dış ticaret anonim şirketine yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım değerli arkadaşlarım Op. Dr.Serbülent Güzey'e, Dr.Sedat Avşar'a ve tüm Plastik Cerrahi Kliniği personeline teşekkür ederim.

Bu zorlu dönemde sevinci, üzüntüyü, başarıyı ve tüm duyguları benimle beraber yaşayan, sevgili eşim Şebnem'e; bu günlere gelmemde sonsuz emeği olan annem ve babama sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr.Tale GASIMOV

ÖZET

Yumuşak doku defektleri, özellikle kemik ekspozе durumların bulunduğu yaraların kapatılması her zaman problem olmuştur. Bu durumu aşmada kullanılabılınеcek önemli yöntemlerden biri Vakum Yardımlı Kapama (V.Y.K.) sistemi uygulaması ve kemikte trepanasyon delikleri oluşturmakla granülasyon dokusu gelişimini hızlandırmaktır.

Bu çalışmanın amacı: V.Y.K. sistemi kullanımında maksimal granülasyon doku gelişimine izin veren optimal delik çapının saptanmasıdır.

Çalışmamız tavşan modeli üzerinde gerçekleştirildi. Toplam 12 tavşan 2 gruba (n=6) ayrıldı. Her iki grupta bulunan 6 adet tavşanın tibia kemiğinde bur yardımıyla kemik medullasına inecek şekilde monokortikal 1.5 mm, 2.5 mm, 3.5 mm ve 4.5 mm çaplarında toplam 4 adet trepanasyon delikleri oluşturuldu. Deney grubu hayvanlarına çalışma süresi boyunca V.Y.K. sistemi uygulanırken kontrol grubu hayvanları konvansiyonel pansumanla takip edildiler. Toplam takip süresi her grubda 1 ay olarak devam etti. Her iki grupta her 5-inci günde trepanasyon deliklerinde gelişmiş granülasyon dokusu makroskopik olarak değerlendirildi. 1 ay sonra her iki grup hayvanlarının tibia kemiğine dijital röntgen çekildi. Radyolojik değerlendirmede her iki grupta trepanasyon deliklerinde reaktif kemik dokusu oluşumu değerlendirildi. Aynı zamanda her iki grupta tüm delik çaplarından örnekler alınmakla histolojik inceleme yapıldı. Histolojik incelemede trepanasyon deliklerinde reaktif kemik ve granülasyon dokusuna bakıldı.

Gruplar içinde her bir trepanasyon deliğinde oluşmuş granülasyon dokusu çapları çalışma süresince (5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günler) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. ($p<0.001$). Gruplar içinde farklı trepanasyon deliklerinin çalışma süresince karşılaştırılmasında deney grubunda 3.5 ve 4.5 mm çaplı trepanasyon deliklerinde 15-inci ve 30-uncu günler, kontrol grubunda ise 20-inci ve 30-uncu günler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmaz iken diğer günler üzere karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Gruplar arasında aynı çaplı trepanasyon delikleri günler üzere

karşılaştırıldı ve 1.5 mm çaplı delikte 10-uncu günde, 2.5 mm çaplı delikte 5-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde, 3.5 mm çaplı delikte 5-inci, 15-inci ve 25-inci günlerde, 4.5 mm çaplı delikte 10-uncu günde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Radyolojik değerlendirmede gruplar arası aynı çaplı deliklerin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Histolojik olarak deney grubunda kontrol grubuna nazaran trepanasyon deliklerinde daha fazla vasküler ağdan zengin granülasyon dokusu izlendi. Deney grubunda trepanasyon deliklerinde reaktif kemik dokusu sadece medullar bölgede yer alırken, kontrol grubunda reaktif kemik dokusu tüm kortikal defekt alanlarını doldurmuş olarak izlendi.

Çalışmada V.Y.K. sistemi kullanılan deney grubunda konvansiyonel pansuman uygulanan kontrol grubuna göre tüm trepanasyon deliklerinde fazla granülasyon dokusu gelişmiştir. Yapılan bu çalışma ile deney modeli üzerinde her iki yöntemle maksimal granülasyon dokusunun 3.5 mm çapında açılan deliklerde geliştiği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Vakum Yardımlı Kapama sistemi, yara iyileşmesi, trepanasyon delikleri, granülasyon dokusu

Yazar adı: Tale GASIMOV

Danışman: Muhitdin ESKİ

SUMMARY

The closure of the soft tissue defects combining with bone exposure is always challenging for reconstructive surgeons. The vacuum assisted closure (V.A.C) and trepanation are well-known methods for induction of granulation tissue from bone which facilitate closure of defect.

The purpose of the study was to determine the optimal hole diameters for maximal granulation tissue development in the process of trepanation with combined usage of V.A.C.

The rabbit tibia model was used in this study. Initially, the animals (n=12) were divided into two groups and diameters of 1.5 mm, 2.5 mm, 3.5 mm and 4.5 mm holes were drilled on each animal's tibia mono-cortically. The experimental group of animals (n=6) was treated by the V.A.C while the control group animals (n=6) was received only dressing during the 1-month follow-up. The development of the granulation tissue from different diameters of holes was evaluated by macroscopically, radiological and histological on 5th, 10th, 15th, 20th, 25th and 30th day.

The significant differences were found in the diameters of granulation tissue for each hole in the same animals of each groups on 5th, 10th, 15th, 20th, 25th and 30th day ($p < 0.001$). The significant differences were not found in the diameters of granulation tissue for different holes of each groups in the same of 3.5 mm and 4.5 mm holes on 15th, 20th, 25th and 30th days in first group and on 20th, 25th and 30th days in second group. But significant differences were found in the diameters of granulation tissue for different holes of each groups other days ($p < 0.05$). The significant differences were found in diameters of granulation tissue in 1.5 mm hole on 5th, 25th and 30th days, in 2.5 mm on 10th day, in 3.5 mm hole on 5th, 15th and 25th days, in 4.5 mm hole on 10th day in the same groups. In terms of reactive bone tissue for each hole, no differences were found between the groups. Compared to the control group, neo-vascularization of the granulation tissue was higher in the V.A.C

therapy applied animals. The development of the granulation tissue for each hole in the V.A.C therapy group was found higher compared to the control group of animals. The study revealed that the ideal hole diameter for maximal granulation tissue development was 3,5 mm in both groups.

Key Words: Vacuum assisted closure, wound healing, trepanation, granulation tissue.

Author: Tale GASIMOV

Mentor: Muhitdin Eski

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TARİHÇE	3
2.2. YARA İYİLEŞMESİ	4
2.2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler	16
2.2.3. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri	18
2.3. KEMİK DOKUSU	20
2.3.1. Kemiğin Histolojik Yapısı	22
2.3.2. Kemiğin Vaskülaritesi	27
2.3.3. Kemik İyileşmesi	28
2.4. TREPANASYON	31
2.5. VAKUM YARDIMLI KAPAMA (V.Y.K.).....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. DENEY MODELİ	33
3.2. CERRAHİ İŞLEM	33
3.3. DENEY GRUPLARI	36
3.4. DENEY PROTOKOLU	37
3.5. DEĞERLENDİRME	38
3.5.1 Makroskopik değerlendirme	38
3.5.2. Radyolojik değerlendirme.....	38
3.5.3. Histolojik değerlendirme.....	39
3.5.4. İstatistiksel değerlendirme	39

4.BULGULAR	40
4.1 MAKROSKOPİK BULGULAR	40
4.2. RADYOLOJİK BULGULAR	49
4.3 HİSTOLOJİK BULGULAR	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	:	Adezinodiaminofosfat
ALP	:	AlkalenFosfotaz
ATP	:	Adenozintrifosfat
ECM	:	Ekstraselüler Matriks
EGF	:	Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	:	Fibroblast Büyüme Faktörü
İL	:	İnterlökin
NGF	:	Sinir Büyüme Faktörü
PDF	:	Platelat Kaynaklı Faktör
PDGF	:	Platelat Kaynaklı Büyüme Faktörü
PL	:	Prostaglandin
PTH	:	Parathormon
TGF	:	Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF-α	:	Tümör Nekroz Faktörü - Alfa
TNF-β	:	Tümör Nekroz Faktörü - Beta
VEGF	:	VaskülerEndotel Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1.	İnflamatuvar Evre. Nötrofillerin yaraya göç etmesi. Yara etrafında damar duvarında endotel hücrelerinin migrasyonu, şeklini değiştirmesi ve diapedezisi.	8
Şekil 2.2.	Proliferatif Evre. Monositlerden köken alan makrofajlar tarafından bakterilerin fagositozu sonrası serbest proteazalar tarafından denature ECM-in yıkılması. Büyüme faktörleri tarafından fibroblastların, epidermal ve endotelial hücrelerin çoğalarak skar oluşturması.....	11
Şekil 2.3.	Maturasyon Evre. İlk dağılık skar dokusunun yerini normal deri ECM- ne benzer matrisle değişmesi	16
Şekil 2.4.	Uzun kemiklerin yapısında yer alan metafiz, diyafiz, epifiz bölgeleri ve histolojik tabakalar.	20
Şekil 2.5.	Osteoklast farklılaşması ve morfolojisi	26
Şekil 3.1.	Deney protokolü şeması	37
Şekil 4.1	Tablo 4.3.'deki değerlerin grafiksel anlatımı	44
Şekil 4.2.	Tablo 4.4.'deki değerlerin grafiksel anlatımı	44
Şekil 4.3.	Deney grubu. Grup içi karşılaştırma. Farklı çaplı trepanasyon deliklerinin çalışma süresince karşılaştırılması.	45
Şekil 4.4.	Kontrol grubu. Grup içi karşılaştırma. Farklı çaplı trepanasyon deliklerinin çalışma süresince karşılaştırılması.	46
Şekil 4.5.	Gruplar arası karşılaştırma. 1.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılması.	47
Şekil 4.6.	Gruplar arası karşılaştırma. 2.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılması.	47
Şekil 4.7.	Gruplar arası karşılaştırma. 3.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılması	48
Şekil 4.8.	Gruplar arası karşılaştırma. 4.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılması.	48
Şekil 4.9.	Tablo 4.7'de yer alan değerlerin grafiksel görünümü.	51
Şekil 4.10.	Deney grubunda farklı delik çaplarının karşılaştırılması..	51
Şekil 4.11.	Kontrol grubunda farklı delik çaplarının karşılaştırılması.	52
Şekil 4.12.	Gruplar arası karşılaştırma.....	52

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Resim 3.1.	A) ve B) Tibia medialinde 4x1 cm çapında eksizyon alanının planlanması.	34
Resim 3.2.	A) ve B) Kemik üzerinde kurşun kalemle işaretleme ve trepanasyon deliklerinin oluşturulması.	34
Resim 3.3.	Vakum Yardımlı Kapama sistemi uygulaması	36
Resim 3.4.	Deney grubunda 5-inci günde Vakum Yardımlı Kapama değişimi sırasında trepanasyon deliklerinde gelişmekte olan granülasyon dokusu çapının hesaplanması için yapılan standart fotoğraflama.	38
Resim 3.5.	Deney grubunda kemikte oluşturulmuş farklı çaplı trepanasyon deliklerinin 1ay sonra çekilmiş dijital röntgen görüntüleri.	39
Resim 4.1.	A) ve B) 10-uncu günde kontrol ve deney grubunda farklı çaplı trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusunun makroskopik görüntüsü.....	40
Resim 4.3.	A) ve B) Deney grubunda 2.5 çaplı delik alanlarının histolojik görünümü.	53
Resim 4.4.	A) ve B) Kontrol grubunda 3.5 mm çaplı delik alanlarının histolojik görünümü	54

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 4.1.	Deney grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre değişimi.....	41
Tablo 4.2.	Kontrol grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre değişimi.....	42
Tablo 4.3.	Deney grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre ortalama, minimum ve maksimum sapmaları.	43
Tablo 4.4.	Kontrol grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre ortalama, minimum ve maksimum sapmaları.	43
Tablo 4.5.	Deney grubunda trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanları	49
Tablo 4.6.	Kontrol grubunda trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanları	50
Tablo 4.7.	Her iki grupta trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanlarının ortalama, maksimum ve minimum sapmaları.	50

1. GİRİŞ

Yara, genellikle “normal deri bütünlüğünün bozulması” olarak tanımlanmaktadır. Vücutta dış bir etki ile oluşan, doku yapı ve bütünlüğünü bozan her türlü lezyona yara adı verilir. Yara tedavisi insanlığın var oluşundan bu yana güncelliğini koruyan ve sürekli üzerinde çalışılan konuların başında gelişmektedir. Yara bakımı birçok disiplini ilgilendiren bir süreçtir. Yara türü ne olursa olsun tüm yaralarda amaç en kısa sürede ve komplikasyon oluşmadan yaralanan dokunun iyileştirilmesidir.

Ciddi yaralanmalar, özellikle kemik ekspozite olan ciddi yumuşak doku defektleri sonrasında ekspozite olan kemik dokuların örtülmesi günümüzde önemli problemlerden biridir. Bu amaçla kemik ekspozite yaraların kapatılmasında sıklıkla lokal ve uzak flep seçenekleri kullanılmaktadır. Ancak bu seçenekler rekonstrüktif basamakların tepesinde olan ileri seviye onarım yöntemleridir ve hasta açısından morbidite yaratmayan daha basit tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde yara iyileşmesinde kullanılan yeni uygulamalardan biri de Vakum Yardımlı Kapama (V.Y.K.) yöntemidir. V.Y.K. sistemi akut ve kronik yaralarda iyileşmeyi hızlandırmak için yara üzerine kontrollü ve lokalize negatif basınç uygulanması esasına dayanan, invaziv olmayan bir yöntemdir (1). V.Y.K. tedavisinin temelleri fiziksel mekanizmalara dayanmaktadır: tedavi sırasında negatif basınç mekanik stres yaratmakla ödemin azalması, anjiogenezin stimülasyonu, yerli kan akımının hızlanması ve granülasyon dokusu oluşumunu sağlamakla sonuç olarak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır.

1950’li yılların ikinci yarısında mekanik etkinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalara karşın, bu esasa dayanan önemli klinik uygulamalar 1990’lı yılların ikinci yarısına kadar karşımıza çıkmamaktadır. Morykwas ve Argenta’nın domuz yara modeli üzerinde yaptığı deneysel çalışmalar ile yaraya kontrollü bir kapalı ortam yaratmak suretiyle uygulanan 125 mmHg’lik subatmosferik basıncın yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (2).

Vakum yardımcı kapama sisteminde yara iyileşme mekanizmasının bu gün fizyolojik ve kimyasal nedenlere bağlı olduğu bilinmektedir (3).

V.Y.K. tekniğinin yumuşak doku üzerine etkileri netleşmiş olmakla birlikte, ciddi yumuşak doku defektleri sonrasında ekspozite olan kemik dokuların örtülmesi klinikte ciddi bir problemdir. Bu amaçla klinikte genel durumu iyi olmayan hastalarda ve flep seçeneklerinin kısıtlı olduğu durumlarda kemiklerin kortekslerine medullar seviyeye kadar delikler açılır. Trepanasyon denilen bu işlem sonrasında kemik medullasındaki vasküler ağdan korteksin dışına uzanan ve kemik yüzeyini örten granülasyon dokusu gelişimi beklenir. Ancak vakum yardımcı kapama sistemi kullanıldığında belli bir büyüklüğün altındaki deliklerin kendiliğinden kapandığını ve granülasyon dokusu oluşmadığı, belirli çapta deliklerden fazla granülasyon dokusunun geliştiği de klinik gözlemlerimiz arasındadır (4).

Bu çalışmada V.Y.K. yönteminin farklı çaplı trepanasyon deliklerden maksimum granülasyon doku gelişimine izin veren optimum delik çapının belirlenmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Yara bakımının tarihi, insanlık tarihi kadar eskidir. Tarih öncesi devirlerde tedavi sanatı ile ilgili bilgilerimiz yazılı belgelere değil, prehistorik resimlere dayanmaktadır. Bu tedavi usulleri hemen daima sihirbaz doktorun yaptığı sihir ya da büyüden ibaretti.

Medeniyetin beşiği olan Mezopotamya'da 2000 yıl önce yaşamış olan ünlü Babil kralı Hamurabi'nin kitabelerinde çeşitli yazılarla beraber bol miktarda deşifre edilen tabletler yazılı fazla sayıda reçeteleri de mevcuttu (5).

Hipokrat yaralarda katran kullanmış ve antisepsiyi ilk olarak uygulamıştır. Hipokrat tarafından ilk defa primer ve sekonder yara iyileşmesi tanımlanmıştır (6).

Eski Roma tıbbına baktığımızda, "De Re Medicina" isimli 8 kitaplık bir eser bırakan Celsus'u görüyoruz. Celsus'un 5. kitabında yara iyileşmesinden söz edilmekte ve bu amaçla kullanılan ilaçlar arasında zambak, güherçile, safran ve susam bulunmakta olup, bunların ilk anestezi ilaçları olduğu tahmin edilmektedir.

Tüm devirlerin en büyük cerrahlarından sayılan Pare Torino'di savaş alanında mevcut birçok yaralıyı yakıcı sıcak mürver yağı ile tedavi etmeye başlamış ve daha sonrasında yumurta, gül suyu ve tereyağından yapılmış merhem kullanılmıştır.

17. yüzyılda tecrübi ilim devresi başlamış, 18. yüzyıl tıpta teorik ve sistematik bir devir olarak gelişmiş. 19. yüzyıl ise yeni tıbbın doğuşu olarak kabul edilmiştir. Bu çağlarda enfeksiyonlara karşı zaferler kazanılmış, kemoterapide ve immünolojide de başarılar elde edilmiştir. Bunu yanında tıpta yeni prensipler

gelişmiş halk sağlığı önem kazanmıştır. Bütün bu gelişmeler yara iyileşmesi tedavisine de yansımıştır.

2.2. YARA İYİLEŞMESİ

Organizmanın iç ve ya dış yüzeyinin ve ya herhangi bir organın travmatik, cerrahi, spontan, idiyopatik ve ya çeşitli hastalıklar sonucu bütünlüğünün bozulmasına yara denir. Doku yaralanması sonrası gelişen bir dizi olay, doku bütünlüğünü yeniden sağlamayı amaçlar (7).

Doku iyileşmesinde yara bölgesinde skar oluşumu ve belli derecede fonksiyon kaybı bulunur. Doku rejenerasyonunda ise yaralanma öncesindeki dokuya yakın fonksiyon kaybı oluşmayan doku oluşur. İdeal yara iyileşmesi bütünlüğünü kayb etmiş dokunun normal anatomik fizyolojik ve histolojik yapısını tekrar kazanmasıdır. Yara iyileşmesi günümüzde akut ve kronik yara iyileşmesi olarak ikiye ayrılmıştır. Yara iyileşmesinde akut-kronik adlandırılması için geçen zamanın süresi tartışmalıdır ve yaranın lokalizasyonu ve nedeni, hastanın yaş ve fiziki durumu gibi değişkenlere bağlıdır.

Yara iyileşmesinin 3 tipi vardır:

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

Primer İyileşme: Bu iyileşme tipinde tüm dokular ve deri ameliyat sonra suture edilerek kapatılır (8). Bu iyileşme tipinin geç primer kapanan formuda vardır. Burada hasara uğramış doku yabancı cisim, bakteriyel kontaminasyona bağlı enfeksiyondan korunmak için bir süre kapatılır. Yara, bu dönemde steril şartlarda günde 2 kez nemli izotonik pansumanla kapatılmalıdır. Peroksit ve yod bileşikleri kullanılmaktan kaçınılmalıdır. Çünkü canlı dokuda en az bakteri kadar hasar yaparlar. Açık bırakılan yarada anjiyogenez ile doku kanlanması ve oksijenizasyonu

artar. Olay yerine gelen lökositler, bakterileri kendilerine çekerler ve tahrip ederek uzaklaştırırlar. Daha sonra yara dudakları yaklaştırılarak kapatılır.

Sekonder İyileşme: Bu iyileşme tipinde dokular açık kalır (8). Yara alanında granülasyon dokusunun gelişmesi, yara alanını doldurması beklenerek, spontan rejenerasyon ve re-epitelizasyonun gelişmesi ile meydana gelen iyileşme sekonder iyileşmedir. Cerrahın katkısı yara bakımı ile sınırlıdır. Sekonder iyileşmede iltihabi reaksiyon yoğun olduğu için dolayısıyla inflamatuvar evre süresi uzamıştır ve buna bağlı olarak yara iyileşmesi süresi uzamıştır.

Tersiyer iyileşme: Bu iyileşme tipinde yara bir süre açık kalır ve uygun olduğunda suture edilerek kapatılır (8).

2.2.1. Yara iyileşmesi evreleri

1929 yılında Howes, Sooy ve Harvey yara iyileşmesinin aşağıdaki evrelerini belirtmiştir:

1. İnflamatuvar Evre 2. Proliferatif Evre 3. Maturasyon Evre

2.2.1.1. İnflamatuvar evre

Yara iyileşmesinin inflamatuvar aşaması doku yaralanmasını takiben derhal başlar. Bu aşamanın fonksiyonel öncelikleri hemostazı sağlanması, ölü ve devitalize olmuş dokuların ortamdaki uzaklaştırılması ile mikrobiyal patojenler, özellikle de bakteriler tarafından oluşturulacak kolonizasyonların ve invaziv enfeksiyonların önlenmesidir (9). Bu evrede kan orijinli hücrelerin ve bunların mediatörlerinin, sitokinlerin salınımı belirgindir. Yaralanma ve doku hasarından hemen sonra başlayan kanama yara iyileşme sürecini başlatır. Yaralanmadan hemen sonra oluşan lokal vazokonstriksiyon meydana gelen ilk olaydır ve hemostaza yardımcı olur. Bu vazokonstriksiyon dolaşımdaki katekolaminler (epinefrin), sempatik sinir sistemi aktivasyonu ve PG - ler ile olur.

Yaralanmadan sonra en önemli mekanizmalardan biri hemostazdır ve bu kanamayı durdurmaya yönelik vücudun cevap reaksiyonudur (8). Hemostaz yaralanmadan saniyeler sonra başlar ve tamamlanması 1 saate yakın süre bilir. Yaralanmadan sonra meydana gelen primer hemostaz (primer tıkaç) trombositlerin yaralı damar subendotelinde bulunan kollajene yapışması ve kümelenmesidir (agregasyon). Bu primer hemostatik tıkaç koagülasyon mekanizmasının bir parçası olmayıp, damar ve trombositler arasındaki fiziksel etkileşimin sonucudur. Sekonder hemostaz ise primer hemostaz sağlayıcı geçici pıhtının olduğu yerde kalıcı fibrin pıhtısının oluşmasını ifade eder.

Yaralanma, kan damarlarının yapısının bozulması ve kırmızı kan hücreleriyle birlikte diğer kan içeriğinin ekstrasvazasyonuna yol açar. Bu ekstrasvazasyon sonucu intrinsik ve ekstrinsik yollardan pıhtı formasyonu başlar ve protrombinden trombinin aktivasyonu sağlanır. Aktive trombin, fibrinojeni daha sonra polimerize olarak kalıcı koagülasyon kaskadlarının son ürünü olan fibrine çevirir (9,10,11).

İntrinsik koagülasyon kaskadı faktör 8, 9 ve 11-den oluşur. Doku faktörünün etkisi ile “trombin patlaması” oluşur ve buda trombinin salındığı süreci oluşturur (8). Ekstrinsik kaskad ise tissue factorun faktör 7- yi bağlaması ile başlar (8). Doku faktörü normalde vasküler endotelde bulunmaz fakat ekstrasvasküler hücre yüzeyinde özellikle adventisyel fibroblastlarda, düz kas hücrelerinde, perisitlerde bol miktarda bulunur (12,13). Fibrin hemostaza ek olarak erken iyileşme periodunda provisional matriksin primer komponentinide oluşturur.

Fibronektinler migratuar hücrelerin fibrin ağına tutunmasını artıran glikoproteinlerdir. Hem matur dermisin hemde erken matriksin çok önemli bir komponentini oluştururlar. Fibronektin fibroblast ve epitel hücrelerde oluşturulur. İyileşmenin erken fazında hücre tutunmasına yardım eder ve çeşitli hücre tiplerinin migrasyonunu module eder. Ek olarak fibrin-fibronektin ağı çeşitli sitokinleri bağlar ve bu faktörlerin rezervuarı olarak görev yapar. Hem trombin hemde fibrin ek olarak yaralanma sonrası artan vasküler permeabilityi stimüle eder ve inflammatuar hücrelerin ekstrasvasküler migrasyonunu stimüle eder. Aynı zamanda epitelizasyon ve anjigenezde rol oynar.

Kan pıhtısı ve trombüs oluşumu platelet aktivasyonuna bağlıdır (8). Plateletler ekstrasvasküler kollajen ile temas edince kollajen ve fibrine yapışır ve ADP salgırlar. ADP kalsiyum iyonlarının varlığında platelet agregasyonunu artırır. Platelet agregasyonunu trombin ve yağ asitleride artırır. Platelet agregasyonu plateletlerdeki integrin yüzey reseptörleri ile olur ve bu olay 4 adeziv glikoprotein ile düzenlenir. Platelet agregasyonu ile alfa granüllerden sitokinler salgılanır ve böylece onarımı başlatacak mekanizmayıda harekete geçirirler.

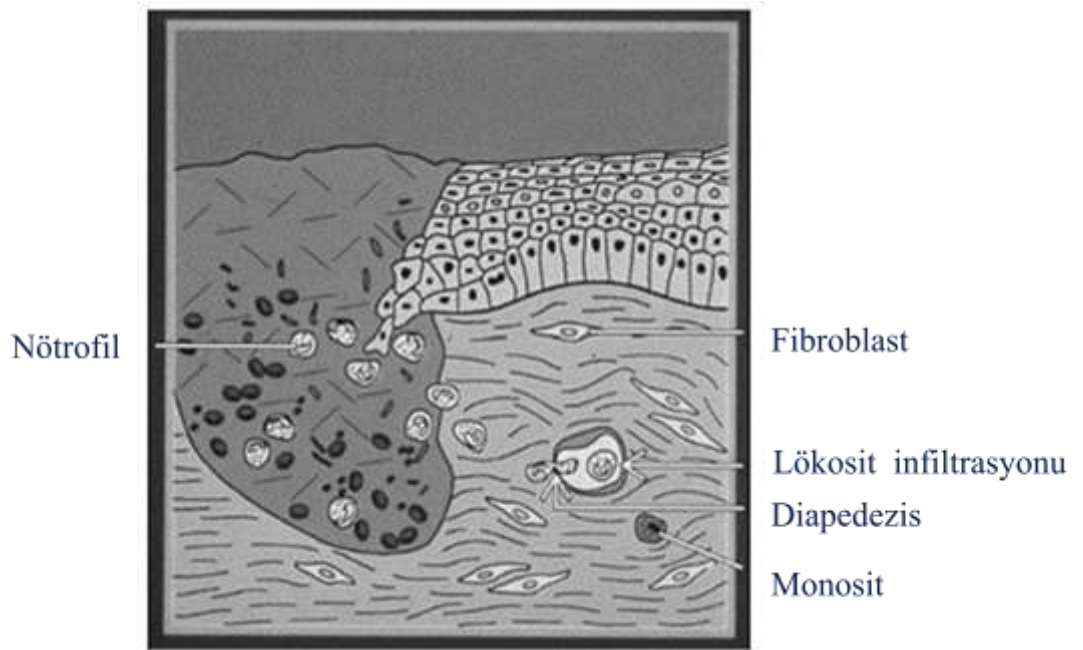
Yaralanma yerindeki doku hasarı inflammatuar cevabı çok hızlı bir şekilde başlatır. İnflammatuar aşamada lokal kimyasal mediatörler sayesinde 1.yüzyıllıkta Cels tarafından tarif edilen makroskopik fizik bulgular (eritem, ödem, ağrı, ısı artışı) ortaya çıkar (8).

Vazokonstriksiyon 10-15 dakika sonra yerini vazodilatasyona bırakır. Vazodilatasyon ile birlikte endotel hücreleri arasında boşluklar oluşur. Vazodilatasyon histamin, kinin ve PG-ler sayesinde olur.

Histaminin direkt ve indirekt vazodilatasyon oluşturur. Primer kaynağı inflammatuar bölgede mast hücrelerdir. Mast hücreler alerjik reaksiyonlarda yer alırken günümüzde immün reaksiyonlardada önemli röle sahip oldukları ortaya konmuştur(14). Yaralanmadan yaklaşık 48 saat sonra yarada mast hücreleri görünmeye başlar ve yara iyileşmesi sürecinde sayı artar (15). Mast hücrelerin yara iyileşmesi sürecine olumsuz etkilerinden başka (16), fibrozis mekanizmasında önemli rol oynadığı ortaya konmuştur (17). Mast hücrelerinden ek olarak heparin, prostaglandin metabolitleri ve TNF-like peptid salınır. Kininler 9 amino asitli peptidlerdir ve kısa etkili vazodilatatör etkiye sahiptirler ve kallikrein tarafından oluştururlar. PG1 ve PG2 vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artışı yaparlar. Fosfolipaz aktivitesi araşidonik asit salınımına yol açar ve bu da prostoglandin sentezini sağlar. Bakteriel toksinler, kompleman faktörleri, histamin, PG 2, PDGF, TNF- α ; FGF fibrin lökositler için kemotaktikdirler. Endotel hücrelerinden ve aktive nötrofilden salınan platelet faktör 4 ise nötrofiller için kemotaktiktir. Bu iki faktör aynı zamanda nötrofil yüzeyindeki CD11 ve CD18 reseptörlerinin ekspresyonunu

artırır ve buda nötrofillerin diapedesisini artırır (8). Nötrofiller ise kemoatraktan stimülasyonuna cevap olarak proteaz elastaz ve kollagenaz üretir.

Yaralanmış dokuda ilk gözlenen lökosit nötrofillerdir. (Şekil 2.1). Nötrofiller hidrolitik ve oksijen radikallerle defansif üniteler olarak görev yaparlar. Nötrofiller hasarlı doku ve bakterileri fagosit ettikten sonra yaralanma sahalarında postkapiller venlerden geçerken apoptozise uğrarlar (8) ve bir kısmı makrofajlar tarafından fagosit edilirler. Nötrofiller fagositoze ek olarak lokal fibroblast ve keratinosit aktivasyonunu sağlayan proinflamatuvar sitokinleri de salgırlar. Nötrofiller yaralanma sonrası 24-48 saat sonra yaralanma bölgesinde artarlar. Eger kontaminasyon yoksa birkaç gün sonra nötrofillerin sayı azalır. Nötrofillerin yara iyileşmesinde ilk evresinde önemli rol oynasa bile yokluğu yara iyileşmesinin bütünsel ilerlemesini etkilememektedir (49). Bununla bile nötrofillerin yara yerinde uzun süre kalmaları akut yaraların iyileşmeyen kronik yaralara dönüşmesinin primer faktörü olduğu iddia edilmektedir (9).



Şekil 2.1. İnflamatuvar Evre. Nötrofillerin yaraya göç etmesi. Yara etrafında damar duvarında endotel hücrelerinin migrasyonu, şeklini değiştirmesi ve diapedezisi. (WOUND HEALING. AnnaF.Falabella, Robert S. Kirsner, page 17-37).

Monositler kapillerlerden diapedez ile ekstravasküler alana geçince serum faktörleri ve fibronektin ile makrofaj olurlar. Makrofajların yaralanma bölgesine gelmesi kemotaksis ile olur. Migrasyondan sorumlu spesifik faktörler arasında kollajen fragmanları, fibronektin fragmanları, elastin, kompleman komponentler, trombin, TGF- β sayılabilir. Provisional matriksde bulunan makrofajlar T lenfositlerden salınan İL-2 ve İNF-sigma ile aktive olurlar. Makrofajlar bakteri ve ölü dokunun fagositozunu sağlarlar, hasarlı matriksi yıkmak için kollajenaz ve elastaz salgılarlar. Aynı zamanda TİMP (tissue inhibitor metalloproteinaz) salgılarlar. Ek olarak bakteriel endotoksin ile stimüle edilince makrofajlar nötrofil aktive edici protein gibi maddeler salgılar bu da ek inflamatuvar hücreleri ortama çeker. Makrofajlar fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi ve diğer iyileşme proseslerini başlatan sitokinlerin primer kaynağıdır. Bunlar arasında TNF- α , PDGF, TGF- β , İLGF-1 ve FGF sayılabilir. Makrofajlar aynı zamanda PG, oksijen metabolitleri ve arginin sentezlerler. Bunlar da yara iyileşmesini regüle ederler. TGF- β otokrin bir etki ile makrofajlardan kendi salgısını regüle eder ve ayrıca FGF, PDGF, VEGF ve İL-1 salınımını sağlar. Makrofajlardan salınan 20 den fazla sitokin ve büyüme faktörleri bilinmektedir. Makrofajların yarada tükenmesi bu gün yara iyileşmesini bozan en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (18,19).

Monositler bütün inflamatuvar faz boyunca kalırlar ve makrofajları üretirler. Belkide inflamatuvar fazın en önemli komponenti yaralanmanın 48-72 saat sonra dominant hale gelen makrofajlardır (20,21). Monositlerin, özellikle makrofajların azlığı fibroblast fonksiyonunda gecikme, yetersiz anjiogenezis, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumu yanında yara iyileşmesinde şiddetli olumsuz değişikliklere yol açar (22).

Lenfositler TGF- β , interferon, interlökin ve TNF- α gibi hücrel ve humoral immunitetden sorumlu faktörler üretirler, bunlarda inflamatuvar süreçte makrofajlarla ilişki kurarak immun yanıt ile yara iyileşmesi arasında bağlantı kurarlar (23). Eozinofiller normalde periferik dolaşımda az miktarda bulunurlar,

yaralanma ile ekstrasvasküler dokuya migrasyon gösterirler ve TGF- β kaynağı olarak çalışırlar. Hemostaz sağlandıktan sonra inflamatuvar hücreler yaraya migrasyon gösterirler.

Sonuç olarak yaraya ilk olarak nötrofiller gelirler. 48-72 saat sonra makrofajlar daha baskın olurlar. 5-7 gün sonra iyileşmekte olan yarada az miktarda inflamatuvar hücre kalır ve fibroblastlar predominant hücre tipi olur. Bu dönemde yabancı madde ve ya bakteri normal iyileşme senaryosunu kronik inflamasyona çevirebilir.

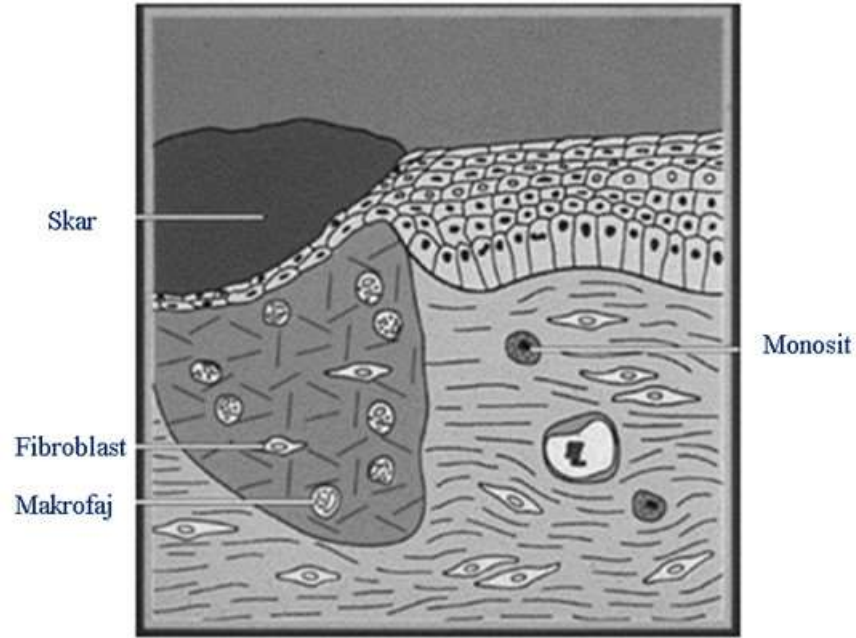
2.2.1.2. Proliferatif Evre

Proliferatif fazın, genellikle yaralanamayı izleyen 4 ile 21. günlerde ortaya çıktığı kabul edilir (9). Bu evre fibroplazi, granülasyon, yara kontraksiyonu ve epitelizasyon ile karakterizedir. Fibroplazi safhası ise kollajen sentezi ve anjigenez ile karakterizedir.

Mezenşimal Hücre Migrasyon ve Proliferasyonu: Fibroblastlar yara iyileşmesinde görev alan en önemli mezenşimal hücrelerdir. Hem üretim hemde mekanik görevleri vardır (24). Medyatörlerin etkisile migrasyon yaparak çoğalırlar (Fibronektin, PDGF, NGF, CTGF ve TGF- β) (25,26). Yaralanmadan sonra erken dönemde yara matriksini fibrin pıhtı ve az miktarda fibronektin, vitronektin ve diğer maddeler oluşturur (8). Bu dönemde primer hücresel elemanlar eritrositler ve inflamatuvar hücrelerdir. Bundan sonra çevre sağlam dokulardan fibroblastlar kemotaktik sitokinlerin etkisiyle bu matriksin içine göç ederler. Daha sonra fibroblastlar kendi kendilerine migrasyonlarını artırıcı sitokinler salgırlar. Hücrelerin yaralı alana doğru hareketi mühtemelen fibronektin başta olmak üzere fibrin ve vitronektine bağlanıp ayrılması ile olmaktadır. Bu bağlanma hücre membran reseptörleri olan ve integrin ailesi ile yapılır (10).

Migrasyon esnasında fibroblastın bir polu sabit kalırken diğer polu tutunacak uygun bir reseptör arar. Uygun reseptör bulunursa başlangıçta sabit olan pol gevşer

ve hücre yeni tutulan reseptöre doğru hareket eder. Hareketin yönü sadece bağlanan reseptör proteinlerinin varlığıyla değil aynı zamanda yara matriksindeki fibrillerin düzeni tarafından belirlenir. Fibroblastların matriks lifine çapraz değil paralel hareket ettikleri gösterilmiştir. Migrasyon hyaluronik asit varlığında daha hızlı olur. Fibroblastların yara yerine göçü düzenli bir şekildedir ve karşıya çıkan hücresel yıkım ürünlerini, matriks fibrillerini çeşitli MMP-lerin sayesinde aşarlar (27). Şimdiye kadar MMP-in 24 tipi belirlenmiştir. Fibroblastların ana fonksiyonu kollajen sentezidir ve bu sentez yaralanmanın 3-5.gününde başlar ve bir çok büyüme faktörleri tarafından stimule edilir (24) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Proliferatif Evre. Monositlerden köken alan makrofajlar tarafından bakterilerin fagositozu sonrası serbest proteazalar tarafından denature ECM- in yıkılması. Büyüme faktörleri tarafından fibroblastların, epidermal ve endotelial hücrelerin çoğalarak skar oluşturması. (WOUND HEALING. Anna F.Falabella, Robert S. Kirsner, page 17-37).

Granülasyon doku oluşumu: Bu evrede granülasyon dokusu üretimi şeklinde oldukça fazla hücre ve hücreler arası madde artışı görülür. Granülasyon

doku makrofajlardan, fibroblastlardan, mast hücrelerinden ve kapiller damarların içini döşeyen endotel hücrelerinden meydana gelirler ve oldukça vasküler bir yapı olup, fibronektin, hyaluronik asitten zengin, proteoglikanlardan ve başlangıçta çoğu tip-3 iken sonra tip-1 e dönüşen kollajen yapılı bir madde içine yerleşmiştir (28). Bu yapı kollajen hyalünorik asit ve fibronektinden oluşan geçici bir gevşek matriks içinde yer alan yoğun kan elemanları, makrofaj ve fibroblast topluluğudur.

Granülasyon dokusunun tek damar tipi kapillerlerdir. Bundan dolayı kesitleri granüler görünümde olduğundan isminide buradan alır. Granülasyon dokusu kemotaktik ve üreme faktörlerini, yapı molekülleri ve bağ dokusu elemanlarını eritebilen proteazlarıda içine alan farklı özelliklere sahiptir. Bu doku aynı zamanda rejenere olan epidermisin yer değiştirerek skar dokusu üzerinde yavaş yavaş karşı tarafa doğru göç etmesini besleyici özelliktedir.

Anjiogeneiz: Proliferatif fazda gerçekleşen diğer bir olayda anjiogeneizdir (11). Anjiogeneiz yaralanma ile hasarlanan dokuların damar yapılarının rekonstrüksiyonunu sağlar ve yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder. Anjiogeneiz olmaz ise oksijen ve beslenme olmayacağından dolayı yara yatağına makrofaj ve fibroblast invazyonu olmayacaktır. Anjiogeneiz yüksek laktat konsantrasyonu, asidik pH ve doku oksijen basıncında azalma ile stimüle olur. Devaskülarize alanın periferinde venüllerden küçük kapillerler tomurcuklanmaya başlar. Bu tomurcuklanmalar tabanda oluşan endotelial proliferasyon ile büyürler. Daha sonra tomurcuklanmadaki hücreler lümen oluşturacak şekilde düzenlenirler. Bu tomurcuklar başka tomurcuklarla karşılaşana kadar büyürler. Daha sonra tomurcuklar vasküler loop oluşturmak üzere birleşirler ve yeni tomurcuklanma başlar ve yeni başlayan vasküler sistem matüre olur. Endotelial hücre migrasyonu ve tüp formasyonu matriksdeki ve kapiller duvardaki değişiklikler ile hızlanır (8). Birçoğu makrofajlardan salınan sitokinler direk ve ya indirek olarak endotel hücre migrasyonu ve proliferasyonu stimüle eder. Bu sitokinler serum laktik asit ve biyojenik aminlerdir. Bazik fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) tesbit edilen en potent anjiogenetik ajandır. Heparine bağlanma kapasitesi vardır ve heparin-FGF nin önemli bir kofaktörüdür. Ayrıca TGF- β ve α , EGF, TNF- α , VEGF, IL-8 ve PG de anjiogenik stimulantlardır (29,8).

Epitelizasyon: Kontraksiyon sonrasında açık yara üzerinde epidermal baryerin oluşması epitelizasyon ve ya re-epitelizasyon adlanır (8). Yaralanmayı takiben bu bariyer fonksiyonunun yeniden oluşturulması önemlidir. İnsiyonel yaralarda epitelizasyon genellikle 24-48 saat içinde tamamlanır.

Epitelizasyon esnasında oluşan hücresel olaylar keratinosit fonksiyonuna bağlı migrasyon, proliferasyon ve diferansiyasyonu içerir (8). Yaralanmadan 48-72 saat sonra yara kenarındaki bazal hücreler bölünmeye başlar ve hücre migrasyonu başlatılır. Epitelial hücreler proliferasyonu, epitelial hücre tabakasına ek hücreler sağlar ve hücreler farklı bir yönden gelen epitelial hücrelerle karşılaşana kadar göç ederler. Bu noktada kontakt inhibisyon olur ve migrasyon durur. Sonrasında tek katlı tabakanın hücreleri bazal hücrelere benzeyen hücreler oluşturmak üzere diferansiye olur. Yara kenarından itibaren yeni bazal membran oluşur. Hücre proliferasyonu yeni bazal hücrelerde devam eder ve çok katlı epidermis yeniden oluşur. Son olarak yeni yüzey hücreleri keratinize olmaya başlar. Epitelial hücre migrasyonunda ve proliferasyonunda sitokinler görev yapar. TGF- α ve EGF her iki olayda stimüle ederken HB-EGF, IGF ve FGF ailesi proiferasyonu stimüle eder. TGF- β ise sadece migrasyonu stimüle eder.

Bütün bunlara rağmen regenere olan epitelyum normal epitelin tüm fonksiyonlarını göstermez (8). Normal epidermis ile kıyaslanınca yeni epidermisde daha az bazal hücre vardır ve epidermis-dermis bileşkesi normal değildir. Re-epitelizasyon için nemli ortam gerekir (30,31) ve bu gereve sahip enzim MMP-1 in rolü özellikle büyüktür (32).

Kollajen sentezi: Fibroblastlar yaraya göç ettikten sonra major fonksiyonları protein sentezidir (Şekil 5). Kollajen normal derinin, granülasyon dokusunun ve matür skarın major komponentidir ve primer olarak fibroblasttan sentezlenir. Yaralanmadan 3-5 gün sonra kollajen sentezinin oranı hızla artar ve yaralanmadan ortalama 3 hafta sonra maksimuma ulaşır (20). 4. Haftadan sonra kollajen sentezi azalır ve yıkım ile yapım arasında denge oluşur.

En az 18 kollajen tipi tarif edilmiştir. Tip 1 en sık karşılaşılan olup hemen hemen tüm dokularda mevcuttur. Normal deride kollajenin %80-90-ı Tip-1

kollajendir, kalan %10-20 lik kısmını Tip-3 kollajen oluşturur. Tip-3 kollajen yara iyileşmesinin erken fazında artar (28). Kollajen 3 polipeptid zincirden oluşur. Bunlar diğer proteinlerde olduğu gibi birbirlerinde ayrı olarak sentezlenirler. Kollajendeki polipeptid zincirlerinin çoğu alfa zincirlerdir. Alfa zincirlerin her 3 aminoasit rezidüsünden birisi glisindir ve bu yapı heliks formasyonunu sağlar. Kollajen sentezinin bir diğer önemli basamağı lizin ve prolinin hidrokasilasyonudur. Bu olayda endoplazmatik retikulumda gerçekleşir. Hidroksilizin kovalent çapraz bağların oluşumu için gerekli iken hidroksiprolin dokulardaki kollajen miktarının belirleyici olarak görev yapar. Kollajen sentezlendikten sonra prokollajen olarak ekstrasellüler alana salınır. Transportta hidroksilizine bağlanan galaktozil-glükoz yardımcı olur. Kollajen moleküllerinin fibriller halinde agregasyonu ECM-deki proteoglikanlar tarafından hızlandırılır.

Proteoglikanlar dışında diğer matriks komponentleri fibronektin ve elastindir. Proteoglikanlar protein kora bağlı bir ve ya daha fazla GAG-dan oluşurlar. Proteoglikanlar fibroblastla sentezlenirler. Fibronektin provisionla matriksin primer komponentidir ve inflamatuvar hücrelerin, fibroblastların migrasyonunu sağlar. Elastin bir diğer komponent olup yaralanmaya cevap olarak sentezlenmez. Normal deri elastik özelliklere sahip iken skar dokusunda bu özellikler azdır ve ya elastin liflerin eksik olması nedeni ile yoktur.

Yara kontraksiyonu: Yara kontraksiyonu yaralanmayı takiben 4.-5.günde başlar (10,11). Yara kontraksiyonu yara kenarlarının yara merkezine doğru hareketi ile olur. Maksimal yara kontraktürü 12-15 gün boyunca sürer ve eğer yara açık kalırsa dahada uzayabilir.Yara kenarları günde ortalama 0.6-0.75 mm birbirine doğru hareket eder. Kontraksiyon oranı doku gevşekliğine bağlıdır ve her dokuda farklıdır. Örneğin dokuların gevşek olduğu gluteal bölgede kontraksiyon skalpten daha fazladır.

Yara kontraksiyonunun mekanizması hakkında bir görüşbirliği yoktur. Yara kontraksiyonu esnasında yara kenarlarında bol miktarda miyofibroblast vardır ve kontraksiyondan sorumlu tutulurlar (8,33). Miyofibroblastlar normal fibroblastlardan sadece elektron mikroskobunda ayrılır. Sitoplazmalarında aktinden zengin

mikroflamanlar, multilobule nükleus, daha fazla granüler endoplazmatik retinekulum vardır ve normal fibroblastlardan köken alırlar. Yaralanmadan sonra ilk olarak 3.günde görülürler ve 21.güne kadar bulunurlar. Başlangıçta miyofibroblast fenotip değişiklik göstermekle protomiyofibroblasta çevrilir, ardından TGF- β 1 rolü ile etraf mekanik etkenlerden hücrelerde α -aktin artar ve bu da daha yüksek kontraksiyon fonksiyonuna malik miyofibroblastlara diferansiye olurlar (34).

Kollajen matriks ile yapılan ek çalışmalara göre mekanik strese maruz kalan fibroblastlar uzarlar ve sitoplazmalarda miyofibroblastlara benzer bir şekilde stres fiberleri oluşur. TGF- β kollajen yapıların kontraksiyonunu ve fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü artırır (34).

2.3.1.3. Maturasyon Evre

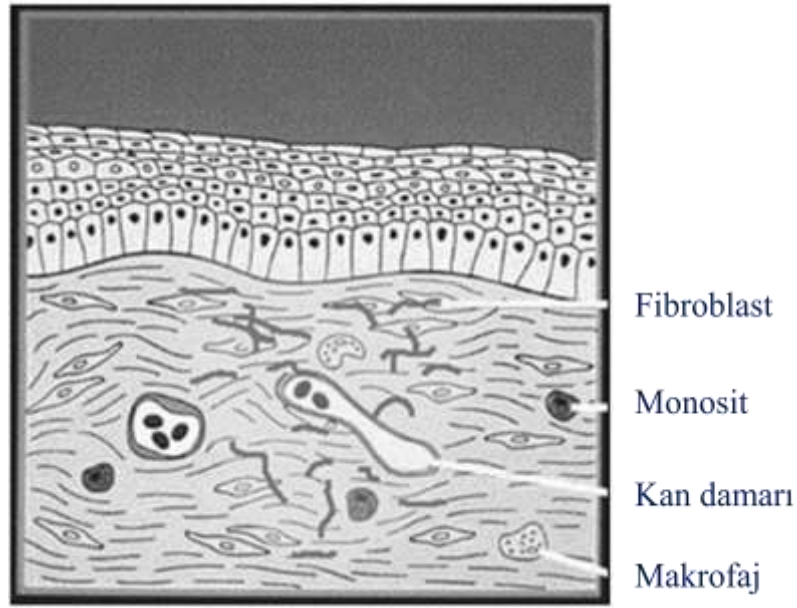
Yara iyileşmesinin sonuç bölümünün belirleyici özelliği skar remodellingidir. Yeniden şekillendirme aşaması bu güne kadar yara iyileşmesinin en az anlaşılmış bölümüdür (9).

Maturasyon fazında yarada kollajen üretimi azalır ve skarda fibroblast sayı azalmış olur (29). İnterferon ve TNF- α kollajen sentezini azaltır. Bu period esnasında yara daha az sellüler olur ve apoptozis gözlenir. Apoptoz ilk olarak endotelial hücrelerde sonra miyofibroblastlarda gözlenir ve bu olaylar 21.günde tamamlanır. Bu durumda kollajen içeriği maksimum iken yaranın "bursting strenght"i normalin sadece %15 idir. Skar remodelling olayı yaranın "bursting strenght"ini dramatik olarak artırır. Bu artış en fazla yaralanmadan sonraki 3-6. haftalarda olur. 6.hafta sonunda yara önceki "bursting strenght"i nin %80-90 ına ulaşır. Bu değer asla yaralanmadan önceki değerine ulaşamaz ve bu maksimum değerdir. Bu faz esnasında kollajen turnoveri olur ve eski kollajen yıkılırken yeni kollajen molekülleri yapılır. Yeni yapılan kollajen molekülleri daha yoğundur ve stres hatlarıyla daha organizedir.

Remodellingde görev yapan diğer bir enzim hyaluronidazdır. Remodelling fazı esnasında kollajen fiberler arasından intra- ve intermoleküller bağlar dramatik

olarak artar. Kollajen matüriteri arttıkça Tip 3 kollajen miktarı azalır ve yerini Tip 1 kollajene bırakır. Matriksdeki su ve GAG-in miktarıda azalır.

Sonuç olarak inflmatuar evreden başlayarak 3-7 gün devam eden ve daha sonrasında 7. günden 2-3 haftaya kadar devam eden proliferativ evre remodelling evreyle devam eder. Son evre yaranın dokusunun, kalınlığının ve renginin değişmesi şeklinde gözlenir ve 1-2 yıla kadar sürer (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Maturasyon Evre. İlk dağınık skar dokusunun yerini normal deri ECM- ne benzer matrisle değişmesi. (WOUND HEALİNG. Anna F.Falabella, Robert S. Kirsner, page 17-37).

2.2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik olmakla 2 gruba ayrılır.

2.2.2.1. Lokal faktörler

Cerrahi teknik: Dokuya kaba davranmak, uygun olmayan cerrahi aletlerin kullanılması, derinin ezilmesi, yara dudaklarının yan yana getirmek için kullanılan süturların çok sıkı olması, doku iskemisine ve enfeksiyona yol açabilir.

Enfeksiyon: En önemli lokal faktördür. Tüm yaralar postoperatif dönemde yerleşik bakteriyel flora ile kontaminedir. Klinik olarak enfeksiyon oluşması için bakteri sayısının kritik sayıya ulaşması gerekmektedir. Bu sayı yara dokusunun gramı başına 100.000 bakteri olarak bulunmuştur. Bakteriler alternatif kompleman yolunu aktive ederek inflamatuvar fazı aşırı miktarda uyarır ve uzatır. Bu olay yara iyileşmesini yavaşlatır. Bakteriler çeşitli toksinler ve proteazlar salgılayarak yaradaki oksijen ve besinleri tüketerek yara iyileşmesini olumsuz etkiler (28,35).

Yabancı cisim reaksiyonu: Yara içerisindeki yabancı cisim tıpkı enfeksiyon gibi alternatif kompleman sistemini aktive ederek inflamatuvar cevabı uzatarak ve arttırarak yara iyileşmesini olumsuz etkiler.

Kuruluk: Yara yüzeyinin nemli olması iyileşmeyi olumlu etkilerken kuru olması olumsuz etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda yara nemli kalırsa özellikle kapalı pansumanlarda hücre migrasyonunun daha düzgün ve etkili olduğu gösterilmiştir (28,36).

Doku iskemisi: Çok sıkı sütürler, yabancı cisim ve enfeksiyon doku iskemisi oluşturarak iyileşmeyi belirgin derecede yavaşlatır.

Yaralanma tipi: Oluşan yaralanmanın tipi yara iyileşmesine direk ve indirek olarak etkilemektedir.

Denervasyon: Denerve deri ülserasyona çok duyarlı olsa da denervasyon ne epitelizeasyona ne de yara kontraksiyonuna etki eder. Denerve dermis yüksek kollajenaz aktivitesine sahiptir. Paraplejik basıdan korunmuş bölgelerde yara iyileşmesi problemidir.

2.2.2.2. Sistemik faktörler

PaO₂: Hunt ve Pai fibroblastların oksijene duyarlı olduğunu göstermiştir (37,38). Parsyel basınç 30-40 mmHg olduğunda fibroblast replikasyonu artar. Fakat PO₂ 40 mmHg in üzerine çıkmadıkça kollajen sentezi yeterli şekilde olmaz.

Hematokrit: Yeterli Hb miktarı, doku oksijenizasyonunun söndürülmesinde kritik bir faktör ola bilir. Anemi iyileşmekte olan yaranın gerilme kuvvetinde azalmaya neden olur. Hb miktarının %30 azalması yara iyileşmesini olumsuz etkiler.

Steroidler: Steroidler yara iyileşmesinin inflamasyon dönemini etkileyerek yara iyileşmesini olumsuz etkilerler. Steroidler yaradaki makrofajları inhibe eder, fibrogenез, anjiogenез ve yara kontraksiyonunu bozar.

Mekanik stresler: Forrester ve arkadaşları mekanik streslerin yaraya iletilme şeklinin, kollajen liflerinin sayısı, agregasyonu ve oryantasyonu üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Beslenme: Temple ve arkadaşları ratlarda yapılan çalışmalarda, kötü beslenen ratlarda özellikle iyileşme periyodunun erken safhasında olan açlıkta, yara iyileşmesinin gerilim kuvvetinin azalması ile sonuçlandığını bulmuşlardır.

Çevre ısısı: Yara iyileşmesi 30 derecelik ortamda hızlanırken soğuk ortamda gerilme kuvveti azalmaktadır. Soğğun yara iyileşmesini inhibe etmesi refleks vazokonstriksiyon yoluyla olur.

2.2.3. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri hücre kitlesi, proliferasyonu ve sentez aktivitesini artırma kabiliyetindeki polipeptidlerdir. Bazı büyüme faktörleri hücre büyümesini arttırmayabilir, ancak hücre hareketi diferansiyasyonu ile ilgili sellüler fonksiyonları başlatırlar. Büyüme faktörlerinin hepsi yara iyileşmesinde önemli röla sahiptirler.

TGF- β : Dönüştürücü büyüme faktörüdür (39). En çok kemik dış matrikside ve trombositlerde bulunur. 3 farklı izoformu bulunmaktadır. Üzerinde en yoğun çalışılan tipi TGF- β_1 dir. Osteoklastlar üzerinde inhibe edici etki gösterirken hücrenin integrin reseptörlerini uyarmak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Yumuşak dokuda ve bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılamakla sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumunu tetikler.

FGF: 9 farklı izoformu mevcut olup fibroblast kaynaklı büyüme faktörüdür. Yara iyileşmesinde aktif rol oynayan tipi FGF-2– dir (8). Fibroblast, endotelial hücreler ve aktive makrofaj gibi birçok hücreden salgılanır ve yara iyileşmesinde görev yapan hemen tüm hücrelere etki eder.

PDF: Trombosit kaynaklı olup başlıca olarak fibroblast çoğalmasını, mezenşimal hücre mitozunu, inflamatuvar reaksiyonların düzenlenmesi, hücresel proliferasyon ve kemotaksis esnasında aktif rol oynar. Dimerik moleküller olup A ve B polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Kemotaksis esnasında hücre proliferasyonunu arttırırken, diferansiasyonu azaltır ve kollajen sentezini stimüle ederken aynı esnada kollajenaz salımını artırarak kollajenin yıkımına pozitif etkide bulunmaktadır (40).

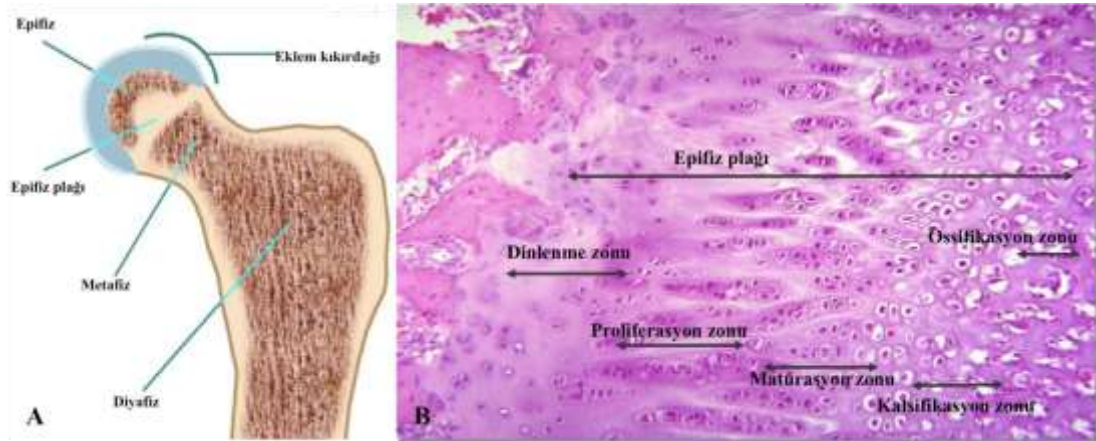
EGF: TGF- β ye çok benzer bir moleküldür. Her ikiside prekürsör olarak sentezlenirler. Aynı reseptöre bağlanırlar, benzer etki gösterirler. EGF makrofajların kemotaksisini ve fagositöz kapasitelerini artırır, keratinizasyonu ve epitelyum hücre proliferasyonunu hızlandırır (8).

VEGF: Vasküler permeabiliteyi artırıp anjiogenezi indüklemeye özelliğine sahip tek büyüme faktörüdür. VEGF–un mRNA seviyelerinin hipoksi esnasında dramatik olarak yükseldiği gözlenmiştir (8). Bu nedenle hipoksik iskemik bölgelerde anjiogenezi stimüle etmek için kullanılabilir. Aktive makrofajlar ve keratinositler tarafından sentezlenir ve yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar (8).

2.3. KEMİK DOKUSU

Kemik genetik, damarsal, endokrin, beslenme ve travmaya bağlı faktörlere göre yapısal değişiklikler gösterebilen, kas ve tendonların tutunmasına imkân tanıyarak destek doku olarak hareketi sağlayan, dinamik, konnektif bir bağ dokusudur (41). Kemik son derece iyi organize olmuş bir doku olup belli bir rejeneratif potansiyele sahiptir ve özellikle mekanik etkiler kemiğin şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır.

Yetişkin bir insan iskeleti 206 kemikten oluşurken yeni doğanda bu sayı 300'e kadardır. Kemikler anatomik şekline ve yerleşimine göre sınıflandırılırlar. Anatomik yerleşimine göre kemikler iskelet sisteminin aksiyel ve appendiküler kısımlarını oluştururlar. Anatomik yerleşimine göre kemikler 3 tipte: uzun, kısa ve yassı kemikler olarak tanımlanmaktadır. Uzun kemikler diyafiz her iki uç kısımda bulunan epifiz ve ikisi arasında yerleşim gösteren metafiz bölümlerinden oluşmaktadır (42). Epifiz bölümü kemiğin boyuna büyümesinde rol oynarken, kemiğin enine büyümesi ise periost içerisinde bulunan hücrelerin aktivite artışı ile gerçekleşmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Uzun kemiklerin yapısında yer alan metafiz, diyafiz, epifiz bölgeleri ve histolojik tabakalar.

Kemiklerin sınıflamasında diğer bir yaklaşım makroskobik ve mikroskobik yapıları doğrultusunda olan sınıflamadır. Mikroskobik olarak kemik 2 şekildedir:

- 1) Örgümsü kemik (primer)
- 2) Lamellar kemik (sekonder)

Örgümsü kemik primitiftir. Embriyoda, yeni doğanda ve büyüme sürecinde kemiğin metafizer bölgesinde bulunur ve ileriki dönemde sekonder kemiğe dönüşüm gösterir. Primer kemik iri tanelidir ve kemik kollajen lifleri düzensiz şekilde bulunur. Kollajen dizilimi dışında lameller kemiğe göre aynı hacimde daha fazla hücre bulunmakla mineralizasyon oranı azdır.

Sekonder kemik ise primer kemiğin olgun formu olup yaklaşık 1 yaş civarında örgümsü kemiğin yerini alır. Yaklaşık 4 yaşında tüm normal kemikler lameller kemiktir. Bu tip kemikte hücre yoğunluğu azalmış, matriks mineralizasyonu tamamlanmıştır ve kollajen lifleri birbirine paralel dizilim gösterir. Bu tip yapı lameller kemiğe anizotrop özellik kazandırır ve mekanik etkiye karşı farklı güç gösterir ve en yüksek mekanik etki güç yönünde uzunlamasına dizilir (43). Kafatası suturaları, alveoler bölgeler ve tendon yapışma noktaları dışında kalan bölgelerde kemik dokusu lameller yapıdadırlar.

Makroskobik yapısına göre ise kemikler yapısal olarak 2 grupta incelenirler:

- 1) Kortikal (kompakt)
- 2) Trabeküler (kansellöz, spongiöz)

Kortikal kemikler homojen ve kompakt bir yapıdadır. Kortikal kemik küboid kemiklerde örtü gibi bulunur, yassı kemiklerin iç ve dış yüzünü ve uzun kemiklerin diafizlerini oluşturur (44). Kortikal kemik dokusu içinde kemiğin uzun eksenini boyunca ve birbirine paralel olarak uzanan kanallar mevcuttur. Bu kanallar içerisinden kemiğin beslenmesinde önemli rol oynayan vasküler yapılar geçer. Bu kanallara **Havers kanalları** denir. Havers kanalları etrafında sayı 4-20 arasında değişen dairesel lameller şeklinde dizilim gösteren kollajen lifleri bulunmaktadır. Kemiğin bu kompleks düzenine **Osteon** adı verilmektedir. Bununla beraber periost

altından başlayarak kompakt doku eksenine dik uzanım gösteren kanallarda mevcuttur. Bunlar ***Volkman kanalları*** adını taşımaktadırlar (Şekil 2). Kortikal kemiğin ana yapısı osteonlardır. Sonuç olarak kortikal kemik kompleks şekilde birçok komşu osteon ve onları çevreleyen kanallardan oluşmaktadır.

Trabeküler kemikler kural olarak uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinde bulunur (Şekil 3). Trabeküler kemiğin iç huzmeleri 3 boyutlu olarak stres yönünde dizilim gösterir ve böylece kemik maruz kaldığı strese karşı yeniden şekillenmiş olur. Bu olaya ***Wolff yasası*** denir. Trabeküler kemik mikroskobik olarak sekonder kemik yapısındadır, Havers ve Volkman kanalları içermezler. Vücut kemik dokusunun %20'lik kısmı trabeküler kemik yapısındadırlar. Bu tip kemikler mekanik etkilere karşı dayanıksız olup travma karşısında kolaylıkla kırılabilir bir yapıya malikdirler (45,46). Kemiğin dış yüzeyi periost ve iç yüzeyi de endost olarak isimlendirilen kemik oluşturan hücreler ve bağ dokusundan oluşan zarla döşenmiştir. Periost başlıca iki tabaka olup kemik iyileşmesinde ve anjiyogenezde önemli rol oynar. Dış katman kollajen lifleri ve fibroblast içermekle ***“Sharpey lifleri”*** denilen uzantılar sayesinde kemiğe tutunurlar (47). Periostun hücresel açıdan zengin olan iç tabakası ise osteoblastlara mitoz yolu ile bölünerek farklılaşma potansiyeli olan hücrelerden oluşmaktadır. Bu osteoprogenitör hücreler bulundukları bölge, şekil ve içerdiği organellerle karakterizedir ve kemik büyümesi ve kırık iyileşmesinde önemli rol üstlenmektedirler.

Kompakt kemiğin tüm iç yüzeyini ve spongios kemiklerin dış yüzeyini kaplayan bağ dokusu endost olarak adlandırılır. Periosta göre daha incedir ve tek kat osteoprogenitör hücreler içerirken kemik şekillenmesi sürecinde aktif rol oynamaktadır (48).

2.3.1. Kemiğin Histolojik Yapısı

Olgun lameller kemiğin % 7'sini su ve % 93 kadarını solid materyal oluşturur. Solid kısmın da % 70'i inorganik madde, kemik hücreleri ve kalan kısmı da organik maddeden oluşmaktadır (49).

İnorganik matriks: İnorganik matriks incelendiğinde başlıca olarak kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonat aktif rol alırken yinede bunlar dışında bir miktar bikarbonat, sodyum, potasyum, magnezyum ve sitrat da yer almaktadır (50).

İnorganik matriksin esas yapısı kalsiyum fosfattır. Kalsiyum fosfat kollajen ile hidroksiapatit kristalleri arasında ilişki sağlar ve kemik dekalsifiye edilirse şekli korunur kolay bükülebilir yapıya sahip olur (51). Kemikte bulunan kollajen ise kemik dayanıklılığında sorumludur.

Kemik Hücreleri: Kemik ana hücreleri osteoklastlar, osteoblastlar ve osteositlerdir. Kemik yapan hücreler osteoblast ve osteositlerdir. Bunun dışında erişkinde kemik yapan hücrelerin ana kaynağı olarak bilinen indüklenene, periost ve kemik iliğinde bulunan osteoprogenitör hücrelerde mevcuttur. Bu hücreler genellikle travma ve ya endokrin etkiler sonucunda aktifleşmekle vaskülarizasyon yeterli olan bölgelerde preosteoblastlara, vaskülarizasyonun yetersiz olduğu bölgelerde ise kondroblastlara farklılaşma gösterirler (41). Özellikle yoğun kemik büyümesinde esas rol almaktadırlar.

Osteoblastlar: Osteoblastlar bazofilik boyanım gösteren yuvarlak kemik hücreleridir (41). Polarize olarak görülürler ve çekirdekleri egzantirik olarak kemik yüzeyinden uzakta yerleşmiştir. Osteoblastlar kemik üretilen bölgelerde epitel hücrelerine benzer şekilde dizilmişlerdir. En farklı özelliği ışık ve elektron mikroskopunda yeni kemiğe görülebilir olmasıdır. Bu hücreler tip 1 kollajen, proteoglikan ve glikoprotein üretiminden sorumludurlar.

Osteoblastların hücre yüzeylerinde parathormon (PTH) denilen reseptörler mevcuttur (52). Osteoblastlar yüzeyinde bulunan PTH reseptörleri uyarı durumunda osteoklast stimulan faktörü salgılamakla kemik rezorbsiyonunu dolaylı yoldan aktifleştirmektedirler.

Osteoblastlara yapıca benzer olan hücreler bazen **preosteoblast** olarak adlandırılır. Önce mezenkimal kök hücrelerin aktivasyonu ile birinci aşamda preosteoblastlar oluşurken daha sonrasında bu hücreler osteoblastlara farklılaşırlar. Preosteoblastlar kemik yüzeyinden uzakta olan hücrelerdir ve kemik üretimi

aşamasında alkalen fosfataz (ALP) sentezlemekle matriks mineralizasyonunda aktif rol oynarlar (41).

Osteoblast farklılaşma kontrolü “Indian hedgehog” ve “*Core-binding factor $\alpha 1$* ” isimli 2 gen tarafından sağlanmaktadır (41).

Osteoblast farklılaşmasının bir sonraki basamağı ise osteosit veya kemik yüzeyini döşeyen hücre oluşumudur.

Osteositler: Kendi oluşturdukları matriks tarafından çevrelenmiş osteoblastların matür, metabolik olarak aktif olmayan formlarına osteosit adı verilmektedir. Osteositler mineralize kemik matriksine gömülü iğsi şekilli hücrelerdir (53,54). Esas fonksiyonları tam belli değil, sitoplazmik uzantılar yardımıyla komşu osteositlerle ve periost ile iletişim kurmaktadır (55). .

Kemik dokusunun içinde osteositler adeta hücresel bir şebeke organizasyonundadırlar ve birçok rola malikdirler. Bunlardan birincisi osteositler kemiğin mekanik yüklere karşı verdiği tepkide önemli bir rol almaktadır. *Wolfe kanunu*” olarak bilinen ve 1892 yılında tanımlanmış kanunda mekanik yük karşısında kemiğin geometrisinin ve hacminin değiştiği belirtilmektedir. Bu kanunda göre kemik içerisinde yer alan sıvının mekanik etkiden kanallar sisteminden kaçışına yol açarken bu kaçış osteositleri uyarmakta ve sonunda osteositler tarafından bazı ikincil ara maddelerin salınımına yol açmaktadır (41). Buda sonucda kemik hacminin değişmesine sebep olmaktadır.

Diger taraftan bu hücreler genellikle kemiğin mekanik ve mikroçevresel değişimlere yanıtı olan remodelizasyonunun düzenlenmesine katkıda bulunurlar. Ayrıca osteositler kemik mineral dengesinin kontrolünde de rol almaktadır. Osteositik osteoliz hipotezine göre osteositlerin özellikle bazı patolojik durumlarda kemik matriksini mobilize ederek metabolizmanın ihtiyacına göre eksiltme ve yerine koyma yeteneği vardır (56).

Osteoklastlar: Çeşitli büyüklük ve sayıda çekirdeklere sahip ve kemik yıkımından sorumlu hücrelere osteoklast denir. Osteoklastlar hem hücreler arası

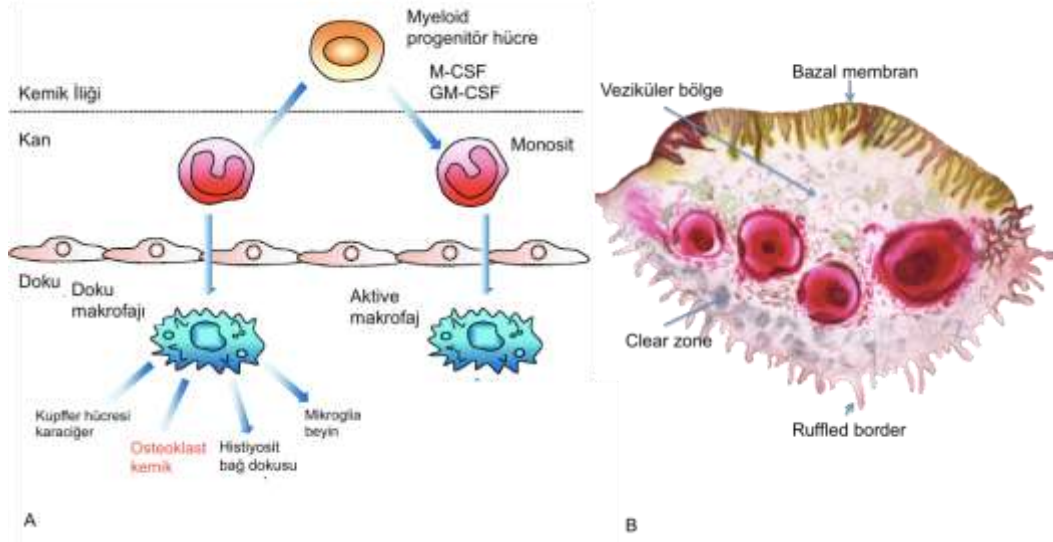
matriksi hem de mineralleri absorbe etmekle birlikte paratiroid hormon tarafından uyarıldığında osteoklast prekürsörlerinden osteoklast farklılaşması artar. Bununla beraber osteoklastlar kalsitonin osteoklast oluşumunu ve aktivasyonunu azaltma rolü sahiptirler (43). Çoğunlukla endosteal ve periosteal yüzeylerde “*Howship lakünaları*” içerisinde bulunurlar. Osteoklastlar hematopoetik mononükleer/fagositik seri hücrelerinden köken alırlar (57). Osteoklast farklılaşmasında başlıca 2 faktörün önemli rol aldığı bilinmektedir. Bunlar “Osteoklast diferansiasyon faktörü” ve “Osteoklastogenez inhibitör faktör”dür.

Osteoklastik aktivitenin önemli sonuçlarından biride kemik rezorbsiyonudur. Rezorbsiyon esnasında aktive olan bir osteoklast başlıca 4 morfolojik bölge içermektedir:

1) Bazal bölge, 2) Ruffled border. Kemik rezorbsiyonunda aktif rol oynayan bölgedir. 3) Clear bölge. Ruffled border çevresindeki sahadır. 4) Veziküler bölge. Bazal bölge ile Ruffled border arasında yer alır (Şekil 2.5).

Kemik rezorbsiyonu sırasında önce osteoklastların ortama göçü gerçekleşirken sırasıyla yapışma, membran polarizasyonu, hidroksiapatit çözülmesi, organik matriks degradasyonu, debrislerin uzaklaştırılması ve hücresel inaktivasyon aşamaları gerçekleşir. Bu süreç içerisinde sitokinlerin bu aşamada önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Osteoklastların etkilerini bifosfonatlar, kalsitonin ve östrojen azaltırken, paratiroid-tiroid hormonları ve D vitamini artırır. Osteoklastların ortalama yaşam süresi 3-4 haftadır. Bu hücrelerin apoptozunu uyaran başlıca faktörler ise östrojen ve TGF- β_2 'dir.



Şekil 2.5. Osteoklast farklılaşması ve morfolojisi

Kemik Yüzeyini Döşeyen Hücreler: Kemik yüzeyini döşeyen hücrelere osteoblastların inaktif bir tipi gibi bakılmaktadır. Her ne kadar aktif osteoblasta dönüşebilecekleri düşünülse de şuana dek bu ispatlanamamıştır.

Kemik ile ekstraselüler sıvı kompartmanı arasında bariyer görevi gördükleri ve yeni kemik oluşumu ya da rezorpsiyonunun hangi bölgede gerçekleşeceğini düzenledikleri tahmin edilmektedir (58).

Organik matriks: Organik matriks yapısal olarak kollajen, fosfoprotein ve proteoglikanlardan oluşur. Kemik organik matriksinin %90'lık kısmını majör olarak osteoblastlardan sentezlenen kollajen oluşturmakta olup bununla beraber tip 5 kollajende yer almaktadır.

Kollajen sentezinin ilk basamağı ribozomlardan başlar ve önce pre-kollajen sentezi oluşur. Pre-kollajen yapısı enzimlerin hidroksilasyonu için askorbik asit, Fe^{+2} ve moleküler oksijene ihtiyaç duyarlar (41). İkinci aşama glikozilasyon aşamasıdır. Glikolizasyon sonrası ekstraselüler alanda ilk aşamada N ve C uçlarındaki spesifik protein yapıları kesilerek tropokollajen oluşur ve takiben kollajen yapısı ortaya çıkar.

Kemiğin organik matriksinin içerisinde kollajen dışında en az 7 farklı nonkollajen fosfoprotein bulunmaktadır. Bu nonkollajenoz fosfoproteinlerin rolü tam olarak bilinmesen de birçok farklı görüş mevcuttur. Bu proteinlerden önemlileri aşağıdakılardır:

- a) Osteonektin glikoprotein olup kalsiyum ve tip 1 kollajen bağlayıcı özelliği mevcuttur. Bu nedenle kalsiyum toplaması, kemik mineralizasyonu ve remodelizasyonunda önemli rola sahip olduğu düşünülmektedir (59).
- b) Osteopontinde osteonektine benzer ve kalsiyum bağlayıcı özelliği vardır. Mineralizasyon görevi olmamakla beraber eksik olduğu durumlarda osteoklast aktivasyonu ve ekstraselüler matriks remodelizasyonunda yetersizlikler görülmüştür (60).
- c) Osteokalsin, olgun osteoblastlardan sentezlenen ve K vitaminine ihtiyaç gösteren bir ekstraselüler matriks proteindir. Bu molekül özellikle kemik “turnover”ında önemli rol alır.

Bunların başka ekstraselüler matriks içerisinde bol miktarda proteoglikan da içermektedir. Bu moleküller matriks organizasyonunda görevlidirler.

2.3.2. Kemiğin Vaskülaritesi

Kemik dokusunun vaskülarizasyonu bir birle ilişkili 3 sistemden beslenmektedir. Medullar sistem nutrient arterden köken alan ve diyafiz bölgesinin, metafizyel sistemden gelen damarlardan metafiz bölgesinin ve periosttan gelen vasküler yapılardan kemiğin dış kortikal dolaşımını sağlayan damarlardır.

2.3.3. Kemik İyileşmesi

Dıştan veya içten gelen zorlanmalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir (61) Kemikteki bozukluk ufak bir çatlaktan başlayarak kemiğin parçalanmasına kadar olabilir. Kırık iyileşmesi mekanizması halen tam olarak açıklanmayan kompleks biyolojik olaylar sonucunda gerçekleşmektedir. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (61).

Kırık iyileşmesi primer (direk) ve sekonder (indirekt) şekilde olabilir (41). Küçük defektlerin iyileşmesinde rijit fiksasyon sağlanmakla direk kemik iyileşmesi izlenirken, diğer tüm kırık iyileşmeleri sekonder formda olmaktadır.

Primer kemik iyileşmesi sıklıkla kraniyofasiyal fraktürlerin onarımı sonrasında izlenir. Bu tip iyileşmede çok az hatta hiç denebilecek boyutta bir hematoma oluşumu izlenirken, inflamasyon ise orta derecededir. Başarılı bir primer kemik iyileşmesi için önemli prensipler anatomik redüksiyon, rijid internal fiksasyon, travmatik cerrahi teknik ve erken, ağrısız, aktif hareket şarttır.

Sekonder kemik iyileşmesine yaklaşımda farklı araştırmacılar tarafından farklı evrelemeler yapılmıştır. Cruess ve Dumont sekonder kemik iyileşmesinin 3 aşamada sınıflandırmıştır (62). Sekonder kemik iyileşmesi 3 faz altında incelenir. Bu üç faz bir birinin içine girmiş şekildedir ve en uzun süren dönem 3. evredir.

1. İnflamatuar evresi
2. Tamir evresi
3. Remodelizasyon evresi

2.3.3.1. İnflamatuar Evre

İnflamatuar evre; kemik travmasını sonrası başlayan ve hematoma oluşumuyla neticelenen kemik iyileşmesinin ilk basamağıdır. Yaklaşık 1-4 gün sürer. Travma

neticesinde periost ve yumuşak dokularda, vasküler bütünlükte bozulma gerçekleşir. Bu nedenle travmaya yanıt olarak Havers sistemleri arasında fazla anastomozun olmaması dolaşımın durmasına ve mevcut osteositlere giden kan akımının durmasıyla osteositlerin piknotik ve lizis hale gelmesiyle boş lakunaların oluşmasına neden olur. Bu boş lakunalar ileride kemik dokuda daha geniş olmak üzere nekroz bölgesi oluşur. Diğer taraftan kırık bölgesinde hematoma oluşur ve hematoma kırık iyileşmesinde önemli bir aşama olup kırık uçlarını bir arada tutar. Kırık bölgesinde hematoma 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Oluşmuş bu fibrin matriksden kemik yapımı için hücre çoğalması başlar (39).

İnflamatuvar evrede kırık bölgesinde oluşmuş kemotaktik faktörler ve sitokinler mühtemelen kemik iyileşmesinden sorunlu faktörlerdir. Bu evrede kırık sahasında elektriksel uyarılmanında büyük rol oynamsı ve bu yolla osteogenezin hızlanması düşünülmektedir (63).

2.3.3.2. Tamir Evresi

Kemik iyileşmesinin önemli basamağıdır. 2-40 gün arasında devam etmektedir. Kırık hattında hücresel aktivitenin başlanmasında kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur.

Bu evrede inflamatuvar aşamasında oluşmuş hematoma organize olmaya başlar. Burada periost ve endostal bölgede yer alan ve fibroblast, osteoblast, kondroblast oluşturmak üzere farklılaşan progenitör hücreler büyük rol almaktadırlar. Hematoma organizasyonu neticesinde oluşmuş granülasyon dokusu bu evrede kırık bölgesinde minimal derecede stabilizasyon sağlamış olur (64).

Tamir evresinin ilk günlerinde başlanan anjiyogenez inflamatuvar hücrelerden salınan TNF- α , VEGF, EGF gibi büyüme faktörlerinin çevredeki endotel hücrelerini uyarmasıyla oluşmaktadır. Kemik iyileşmesinin ilk günlerde periostal damarlar sonraki dönemde ise nutrisyel damarlar kılcal damar tomurcuklanmasına yardımcı olur (39). Anjiyogenez osteojenik hücre çoğalmasına paralel seyretememekte olup

daha yavaş gelişmektedir. Bu nedenle beslenmenin daha fazla olduğu bölgelerde progenitor hücrelerde osteoblast yönünde farklılaşma izlenirken, beslenmenin ve tomurcuklanmanın zayıf olduğu sahalarda kondroblast oluşumu ön plandadır ve kırık dokusu oluşumu izlenir. Bu aşamada orta tabakada kırık dokusu, dış tabakada periost altında osteojenik hücre yoğunluğu, endosteum komşuluğunda ise yine osteojenik aktivite artışı görülür. Zamanla her iki kırık parçası ucunda esas olarak kemik hücrelerinin ve kırık dokudaki interstisiyel büyümeye bağlı oluşan yakalı tarzında kitle birleşerek dış kallüsü oluşturur. Takiben endosteumda gelişen trabeküllerden iç kallüs meydana gelir.

Kırık hatları primer (yumuşak) kallus yapısıyla bağlandıktan sonra ilerleyen zamanda kallus yapısı olgunlaşarak sert kallusa (sekonder kallus) dönüşür. Sekonder kallüs dokusunun oluşumunda kalsiyumun rolü büyük olmakla anjiogenezi desteklemektedir ve anjiogenezin primer kallüsün orta kırık dokusuna devam etmesinde kolaylık sağlar. Sonuç olarak sert kallüs gelişiminde osteoidin mineralizasyonu gerekmektedir.

Osteoidin mineralizasyonu kollajen lifleri üzerine kalsiyum hidroksiapatit kristalleri çökmesiyle gerçekleşir. Mineralizasyon olayında en ortak teori ise osteoid içerisinde yer alan matriks veziküllerine dayanmaktadır. Bu teoriye göre matriks vezikülleri, kalsiyum, fosfat, cAMP, ATP, ATPaz, kalsiyum bağlayıcı protein ve fosforin içermekle vezikül içinde artan iyon konsantrasyonu neticesinde kristalizasyon ortaya çıkmaya başlar ve sonunda vezikül patlar. Vezikülün patlaması sonrası fosfat iyonu serbestleşerek kalsiyumun çökmesini sağlar.

2.3.3.3. Remodelizasyon Evresi

Kemik iyileşmesinde en uzun aşamadır (25-100 gün). Bu evre güçlü ama düzensiz sertkallusun, normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür. Onarımevresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir (39). Klinik olarak ise remodelizasyon döneminde ağrı ortadan kalkar ve normal aktivite izlenebilir.

2.4. TREPANASYON

Trepanasyon, yunanca “*trypanon*” kelimesinden koken alır ve “*delik*”, “*delgi*”, “*burgu*” anlamına gelir (65). Makelelerde antropologlar tarafından sıklıkla “*kafatası delgi operasyonu*” diye geçtiğini görmekteyiz.

5. yüzyıllıkta yazılan eserlerde her çeşit kafa yaralanmalarda trepanasyon, önerirken kullanılan alete de “*trepanon*” demişlerdi.

Trepanasyon tekniğine bakıldığında Lisowskitarafından 4 ana grup altında toplandığını görüyoruz (66,67). Kazıma ve kesme tekniği, olukaçarak aradaki parçayı çıkarma tekniği, küçükdelikleri bir keski ile birleştirerek parçayı çıkarma tekniği ve delme tekniği.

Trepanasyon işlemi günümüzde sık kullanılan ameliyatlardan biri olup ister beyin sinir cerrahisi sahasında isterse de vücudun diğer kafatası hariç kemiklerinde tanı ve tedavi amacıyla güvenle kullanılmaktadır.

2.5. VAKUM YARDIMLI KAPAMA (V.Y.K.)

Morykwas ve Argenta’nın 1990’lı yılların ikinci yarısında tanımladığı V.Y.K., yani “vakum yardımcı kapama” tekniği kronik yaraların tedavisinde son yıllarda yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. V.Y.K. sistemi akut ve kronik yaralarda iyileşmeyi hızlandırmak için yara üzerine kontrollü ve lokalize negatif basınç uygulanması esasına dayanan, invaziv olmayan bir yöntemdir. V.Y.K. tedavisinde temel olarak, yara yatağına negatif basınç uygulanması yoluyla ödem sıvısının yara bölgesinden temizlenmesi, lokal kan desteğinin iyileştirilmesi, hücresel proliferasyonun ve granülasyonun stimüle edilmesi ve bakteriyel kolonizasyonun kontrolü amaçlanmaktadır (1).

1950’li yılların ikinci yarısında negatif basınçın yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalara karşın, bu esasa dayanan önemli klinik uygulamalar 1990’lı yılların ikinci yarısına kadar karşımıza çıkmamaktadır.

Morykwas ve Argenta'nın klinik ve deneysel çalışmaları ile yaraya kontrollü bir kapalı ortam yaratmak suretiyle uygulanan 125 mmHg'lik subatmosferik basıncın yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (2,3).

V.Y.K. sistemi yara üzerine kontrollü negatif basınç uygulanması mekanizmasına dayanan teknik olarak yapışkan örtü ile kaplanmış, steril açık hücreli köpük örtü ve buna bağlanmış olan pompadan ibarettir. Pompa, kollabe olmayan boşaltım tüpü yoluyla, köpük örtüye, aralıklı veya sürekli olarak negatif basınç uygular. Basınç genellikle 50-125 mmHg arasında tutulur ve intermittant ve ya devamlı olarak uygulanabilir (68).

Vakum yardımcı kapama sisteminde yara iyileşme mekanizmasının bu gün fizyolojik ve kimyasal nedenlere bağlı olduğu bilinmektedir (3).

V.Y.K. sisteminin yara üzerine olan etkilerinden ilki yarada ödemi azaltmakla vaskülarizasyonu hızlandırmasıdır (69). V.Y.K. sisteminin yara üzerindeki ikinci etkisi ise yara yüzeyindeki hücrelerde oluşturduğu mekanik streştir. Mekanik strese karşılık olarak dokuda hücresel proliferasyon artmış olur ve hücresel iskeletteki integrin köprülerini bozmakla granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırır (70).

Yara üzerine uygulanan negatif basıncın bir üçüncü etkisi ise enfekte dokudaki bakteri sayısını azaltmasıdır (1).

Yapılan çalışmalarda V.Y.K. yöntemi uygulamakla ekstremitelerdeki kemik ekspozisyonu olan yumuşak doku defektlerinde (68,73,74), açık sternotomi ameliyatları sonrası gelişen defektlerde (75,76), spinal füzyon (77), yüz ve boyun doku defektlerinde (78), diyabetik yaralarda (79), kemik ekspozisyonu mevcut yanık yaralarında (4,80), abdominal duvar ve bası yaralarında (81) başarılı sonuçlar alındığı sunulmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gülhane Askeri Tıp Akademisi Etik Kurulu ve Bilimsel Kurulu onayının alınmasını takiben AR-2013/48 no'lu proje altında yürütüldü. Çalışma 03.03.2014 ve 03.06.2014 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi Araştırma ve Geliştirme Merkezinin olanakları ile yapıldı.

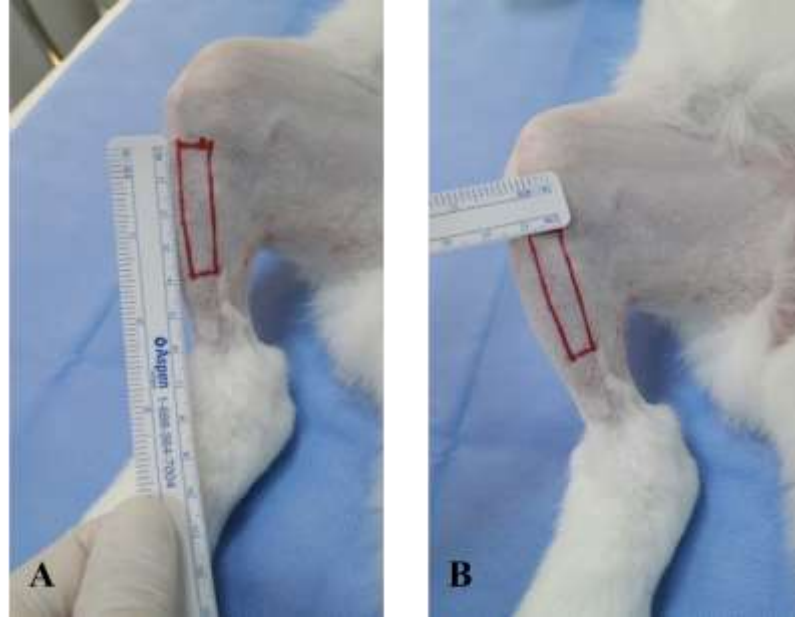
Bu çalışmada deney hayvanı olarak GATA Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından temin edilen 3500-4500 gram ağırlığında 12 adet erkek Yeni-Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar tek olacak şekilde uygun kafeslerde 23 ± 1 °C sıcaklıkta, 12 saat karanlık / 12 saat aydınlık ortam şartlarında barındırıldı.

3.1. DENEY MODELİ

Deney modeli olarak, tavşanda farklı çaplarda, dairesel, tibia kemik defekti kullanıldı.

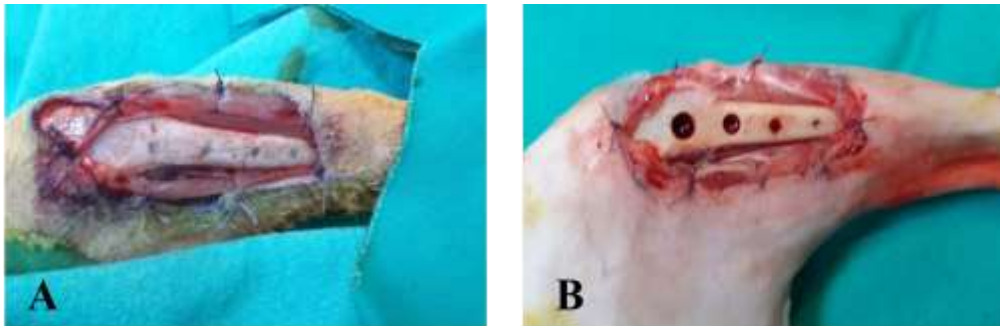
3.2. CERRAHİ İŞLEM

Bu aşamada 12 adet 3500-4500 gram Yeni-Zelanda tavşan kullanıldı. Denekler ameliyat öncesi 12 saat aç bırakıldılar. Cerrahi işlemler genel anestezi ve steril şartlar altında gerçekleştirildi. Hayvanlar ketamin (10 mg/kg im.), xylazin (0.4 mg/kg im.) ile genel anesteziye alındılar. Uygun traş sonrası ameliyat sahası batikonla (%10 povidonyodinpoliyot) dezenfekte edildi ve tibia medialinde diz ekleminin 1 cm alt kısmında inferiora doğru uzanan 4x1 cm çapında eksizyon alanı planlandı (Resim 3.1).



Resim 3.1. A) ve B) Tibia medialinde 4x1 cm çapında eksizyon alanının planlanması.

İnsizyon yapılacak alana lokal anestetik uygulandı. İşaretlenmiş alandan yapılan insizyonla cilt eksize edildi. Yumuşak doku ve kas diseksiyonu sonrasında periosta ulaşıldı ve elevator yardımıyla periost ayrılarak tibia kemiği ortaya kondu. Kas ve yumuşak doku 3/0 vikril yardımıyla suture edilerek kemik üzerinden uzaklaştırıldı. Tibia antero-medialinde ölçüm sonrası kemik eninin yaklaşık en geniş çapı 7 mm ve en dar çapının 2 mm olduğu görüldü. Bu alanda tibia başından 1 cm inferiordan başlayarak 1 cm aralıklarla trepanasyon yapılacak noktalar kurşun kalemle işaretlendi. (Resim 3.2 A).



Resim 3.2. A) ve B) Kemik üzerinde kurşun kalemle işaretleme ve trepanasyon deliklerinin oluşturulması.

İşaretlenen noktalarda 1.5 mm çaplı trepanasyon deliği en altta olacak şekilde yukarı doğru 1.5mm, 2.5mm, 3.5 mm ve 4.5 mm çapında monokortikal, medullaya incek şekilde bur yardımıyla trepanasyon delikleri oluşturuldu (Resim 3.2 B). Bu işlem tüm deneklere uygulandı.

Vakum Yardımlı Kapama sistemi uygulaması: Trepanasyon delikleri oluşturulduktan sonra Vakum Yardımlı Kapama sisteminde kullanılan sünger cilt defektine uygun şekilde kesildi. Sünger defekte yerleştirildi ve şeffaf drape yardımıyla tavşan tibiasına çepeçevre tespit edildi. Ardından Vakum cihazının hortumu sünger üzerine yapıştırıldı ve cihaz çalıştırılarak kaçak olmadığı gözlemlendi. Cihaz basıncı 100 mm Hg - de sabit tutuldu. V.Y.K. pansumanı ilk günden başlayarak her 5-inci günde değiştirildi. Çalışmada SGA mühendislik danışmanlık eğitimi iş ve dış ticaret anonim şirketinin üretmiş olduğu "EXUDEX" markalı Vakum Yardımlı Kapama sistemi cihazı kullanıldı.

Konvansiyonel pansuman uygulaması: Trepanasyon delikleri oluşturulduktan sonra cilt defektine uygun şekilde baktigraz kesilerek yaraya konuldu. Ardından kuru tampon konularak sargı beziyle pansuman tespiti yapıldı.

Granülasyon dokusu çapının hesaplanması: Her iki grupta tibia kemiğinde 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde farklı çaplı trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusunun çapı dijital fotoğraf makinesi ile sabit uzaklıktan çekilen ve “jpeg” resim dosyası formatında kaydedilen fotoğraflar üzerinde resim düzenleyici yazılım (Adobe Photoshop® CS5 Extended) yardımı ile gerçekleştirildi.

Denekler üzerinde fotoğraf çekme sırasında resim karesi içerisine girecek şekilde “cm” cinsinden uzunluk gösteren bir cetvel konuldu. Kullanılan yazılım yardımı ile (*ruler tool*) fotoğraf karesi içerisinde yer alan cetvel üzerindeki 1cm’lik mesafe piksel cinsinden ölçüldü ve 1cm mesafenin karşılık geldiği piksel değeri (P_1) kaydedildi. Daha sonra trepanasyon delikleri içerisinden gelişmiş olan granülasyon dokularının çapları (P_R) sırası ile piksel cinsinden ölçülerek kaydedildi. Piksel cinsinden farklı delik çapları üzerinde ölçülerek elde edilmiş değerler (P_{R1} , P_{R2} , P_{R3} , P_{R4}), P_1 değerine oranlanarak “cm” cinsinden gelişen granülasyon dokusunun gerçek çapları hesaplandı.

$$R \text{ (cm)} = \frac{P_R}{P_1}$$

Daire şeklinde gelişen granülasyon dokularının alanları $A = \pi r^2$ formülü kullanılarak matematiksel olarak hesaplandı ve kaydedildi.

3.3. DENEY GRUPLARI

Çalışmaya dahil edilen tüm tavşanlar 2 gruba - her grupta altışar tavşan olacak şekilde ayrıldı.

1.Grup (Deney): Bu gruptaki hayvanlara cerrahi işlem sonrasında oluşturulmuş defekt üzerine Vakum Yardımlı Kapama sistemi uygulandı.



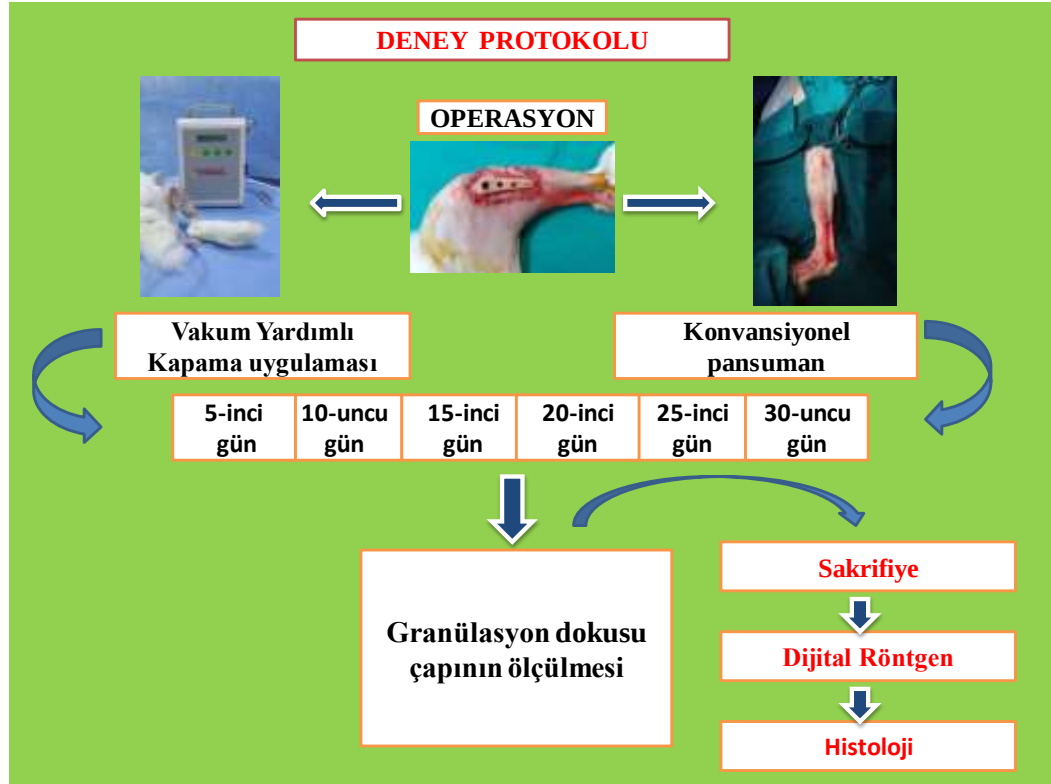
Resim 3.3.Vakum Yardımlı Kapama sistemi uygulaması

2.Grup (Kontrol): Bu gruptaki tavşanlara cerrahi işlem sonrası oluşturulmuş defekt üzerine konvansiyonel pansuman uygulandı

Takiben 1 ay süresince anestezi altında deney grubunda her 5-inci günde değişecek şekilde toplam 6 defa Vakum Yardımlı Kapama sistemi, kontrol grubuna ise aynı şekilde her 5-inci günde değişecek şekilde konvansiyonel pansuman uygulandı.

3.4. DENEY PROTOKOLU

Deney ve kontrol grubunda tavşanların tibia kemiğinde trepanasyon delikleri oluşturuldu. Deney grubunda defekte V.Y.K. sistemi uygulandı. Cerrahi işlem sonrası 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde V.Y.K. sistemi pansumanı değiştirildi. V.Y.K. sistemi pansumanı değişmesi sırasında trepanasyon deliklerinden gelişmiş granülasyon dokusu çapı ölçüldü. Aynı işlemler kontrol grubu tavşanlarına da uygulandı. Tüm denekler 30-uncu gün pansuman açılması ve ölçümler yapılması sonrasında sakrifiye edildi. Tibia kemiği alındı ve dijital röntgen çekildi. Tibia kemiği daha sonra histolojik inceleme için hazırlandı. (Şekil 3.1)



Şekil 3.1. Deney protokolü şeması

3.5. DEĞERLENDİRME

3.5.1 Makroskopik değerlendirme

Değerlendirmeler 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde trepanasyon deliklerine sabit uzaklıktan çekilen fotoğraflama ile yapıldı (Resim 3.4). Fotoğraflama neticesinde elde edilen veriler bilgisayar ortamında kullanılan yazılım yardımı ile (*ruler tool*) hesaplandı ve mm² cinsinden ifade edildi.



Resim 3.4. Deney grubunda 5-inci günde Vakum Yardımlı Kapama değişimi sırasında trepanasyon deliklerinde gelişmekte olan granülasyon dokusu çapının hesaplanması için yapılan standart fotoğraflama.

3.5.2. Radyolojik değerlendirme

GATA Radyoloji AD'da gerçekleştirildi. 30-uncu günde son pansuman yapıldıktan sonra her iki grup tibia kemiklerine dijital röntgen (AGFA CR Mammo) çekildi. Alınmış görüntüler bilgisayar ortamında MediPlus DICOM Görüntüleyici programına aktararak incelendi. Trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanları kullanılan yazılım yardımıyla ölçüldü. Dairesel trepanasyon delikleri içerisinde oluşmuş reaktif kemik dokusunun alanları $A = \pi r^2$ formülü kullanılarak matematiksel olarak hesaplandı ve kaydedildi.



Resim 3.5. Deney grubunda kemikte oluşturulmuş farklı çaplı trepanasyon deliklerinin 1ay sonra çekilmiş dijital röntgen görüntüleri.

3.5.3. Histolojik değerlendirme

GATA Patoloji AD.-da gerçekleştirildi. Dijital röntgen çekildikten sonra tibia kemikleri önce %10-luk fiksatif formalin içine kondu ve 48 saat formik asit içinde tutularak dekalsifiye edildi. Ardından trepanasyon deliklerinin ortasından geçecek şekilde uzun ekseni boyunca kesitler alındı ve parafin içine gömüldü. Parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında horizontal kesitler alındı, Hematoksilin–Eozin ve Masson Trikrom ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu (Nikon Eclipse i80, Japan) yardımıyla 40X büyütme altında incelendi.

3.5.4. İstatistiksel değerlendirme

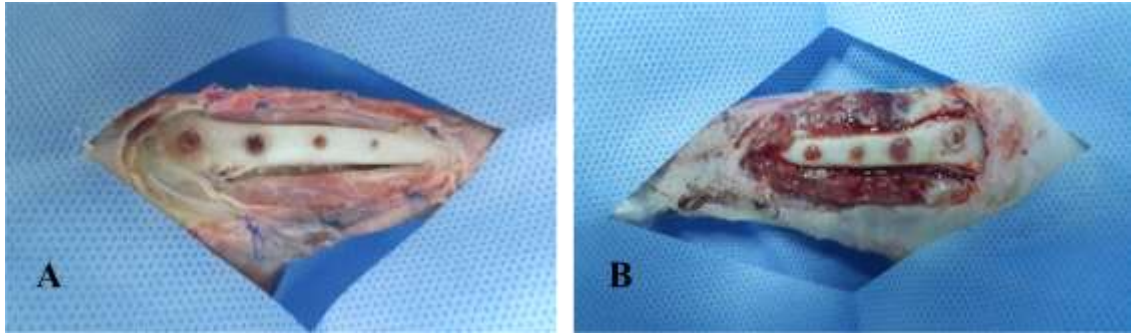
Tüm istatistiksel hesaplama ve analizler için "SPSS 15.0 for Windows" paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortanca, minimum ve maksimum sapmalar kullanıldı. Klinik bulgular ve dijital röntgen sonuçları değerlendirilirken gruplar içi karşılaştırmada Friedman, Wilcoxon ve Kruskal-Wallis (Bonferoni düzeltmeli) testi uygulanırken, gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U testi uygulandı. İstatistiksel kararlarda $p < 0.05$ seviyesi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1 MAKROSKOPİK BULGULAR

Her iki grupta 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde farklı çaplı trepanasyon deliklerinden gelişmiş granülasyon dokusu alanlarının ortanca, minimum ve maksimum sapmaları hesaplandı ve ileri analizlerde kullanıldı (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4).

Gruplar içinde her bir delik çapında ilerleyen günlere göre karşılaştırma Friedman testi ile yapıldı (ortanca değerlerin karşılaştırılması) ve her iki grupta farklı trepanasyon deliklerinde 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p<0.001$) (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Farkın hangi günler arasından kaynaklandığını tespit etmek için ilk günden başlayarak 30-uncu güne kadar alt gruplar üzere karşılaştırmada Wilcoxon testi uygulandı. Yapılan ileri analiz sonuçlarında elde edilen en iyi p değerleri ($p=0.024$), grup sayısına göre yapılan Bonferoni düzeltmesine göre hesaplanan p değeri $p<0.0025$ üzerinde olarak tespit edilmiş olup hiçbir grupta istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi.



KONTROL

DENEY

Resim 4.1. A) ve B) 10-uncu günde kontrol ve deney grubunda farklı çaplı trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusunun makroskopik görüntüsü.

Tablo 4.1. Deney grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre değişimi

DENEK 1	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,27	2,54	3,46	5,31	6,38	8,04
2.5	4.91	5,72	7,07	9,07	10,2	13,2	13,9
3.5	9.62	10,8	15,2	25,1	26,6	26,4	26,9
4.5	15.9	18,1	23,8	24,6	24,6	26,9	27,3
DENEK 2	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,01	2,83	3,8	5,31	6,15	8,55
2.5	4.91	4,91	7,54	8,04	11,3	11,9	15,2
3.5	9.62	10,8	13,9	24,6	25,5	26,4	28,3
4.5	15.9	16,6	22,1	22,9	25,5	27,3	27,3
DENEK 3	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,54	2,54	3,46	5,72	7,07	8,55
2.5	4.91	5,72	9,07	9,62	9,62	11,3	11,3
3.5	9.62	11,3	14,5	24,6	25,9	26,4	26,9
4.5	15.9	16,6	21,2	23,8	25,5	26,4	27,6
DENEK 4	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,01	2,27	2,27	3,8	4,52	6,15
2.5	4.91	5,72	6,6	7,54	11,3	13,9	15,2
3.5	9.62	11,3	13,9	25,5	25,9	26,9	27,3
4.5	15.9	18,1	22,1	23,8	25,5	26,9	27,3
DENEK 5	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,54	2,83	4,15	4,91	5,72	5,72
2.5	4.91	6,15	9,07	10,2	13,9	15,2	15,9
3.5	9.62	11,3	15,9	24,6	25,5	25,5	26,4
4.5	15.9	16,6	20,4	22,1	24,6	27,3	27,3
DENEK 6	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,01	2,54	3,14	4,34	5,31	7,54
2.5	4.91	5,72	8,55	8,55	12,6	13,9	15,2
3.5	9.62	10,8	14,5	21,2	22,9	24,6	25,5
4.5	15.9	16,6	20,4	23,8	26,4	28,3	29,2

Tablo 4.2. Kontrol grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre değişimi

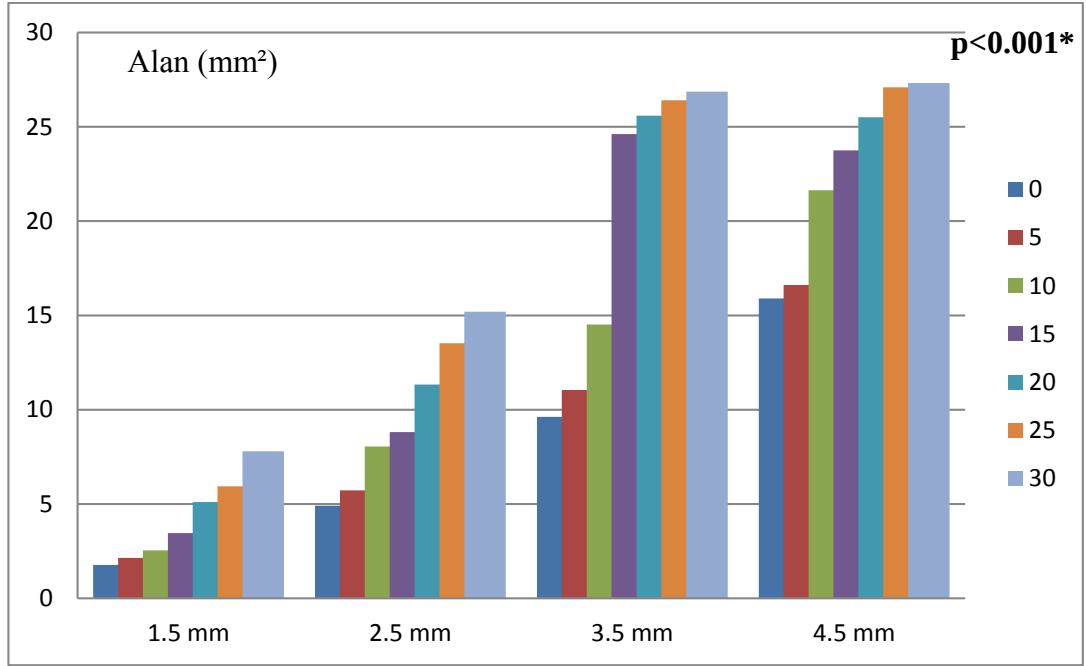
DENEK 1	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	1,77	2,27	3,8	3,97	4,15	4.15
2.5	4.91	5,31	6,15	9,62	11,3	13,2	14,5
3.5	9.62	10,2	13,9	19,6	21,2	22,1	23,3
4.5	15.9	17,3	18,1	22,9	23,3	24,6	25,5
DENEK 2	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	1,77	2,01	3,8	3,8	4,15	4,23
2.5	4.91	5,31	6,65	10,2	10,3	10,2	10,2
3.5	9.62	10,8	12,6	21,2	22,9	23,3	26,4
4.5	15.9	18,1	22,1	26,4	26,9	27,3	27,5
DENEK 3	1GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	1,77	2,54	3,46	4,52	5,72	6,15
2.5	4.91	4,91	8,04	9,07	13,2	13,9	14,2
3.5	9.62	10,8	13,2	17,3	20,4	21,2	22,9
4.5	15.9	16,6	18,5	25,5	25,9	26,4	27,3
DENEK 4	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	2,27	2,98	4,52	4,52	4,71	4,52
2.5	4.9	15,3	5,51	9,07	10,2	10,5	11,3
3.5	9.62	10,8	12,9	18,9	22,9	23,3	24,6
4.5	15.9	16,0	18,1	25,5	25,9	27,3	27,9
DENEK 5	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	1,77	1,77	3,46	3,63	3,8	4,15
2.5	4.91	4,91	5,31	8,55	13,9	13,8	14,2
3.5	9.62	9,62	14,5	21,2	22,8	23,3	25,5
4.5	15.9	15,9	17,3	22,1	23,8	24,6	26,4
DENEK 6	GÜNLERE GÖRE GRANÜLASYON ÇAPI (mm²)						
Delik çapı Mm	0.gün	5.gün	10.gün	15.gün	20.gün	25.gün	30.gün
1.5	1.77	1,77	2,83	5,10	5,31	5,39	5,51
2.5	4.91	5,72	5,31	8,04	8,55	8,55	8,81
3.5	9.62	9,62	16,6	22,1	26,4	29,2	30,2
4.5	15.9	16,6	17,3	20,4	23,3	25,1	25,5

Tablo 4.3. Deney grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre ortalanca, minimum ve maksimum sapmaları.

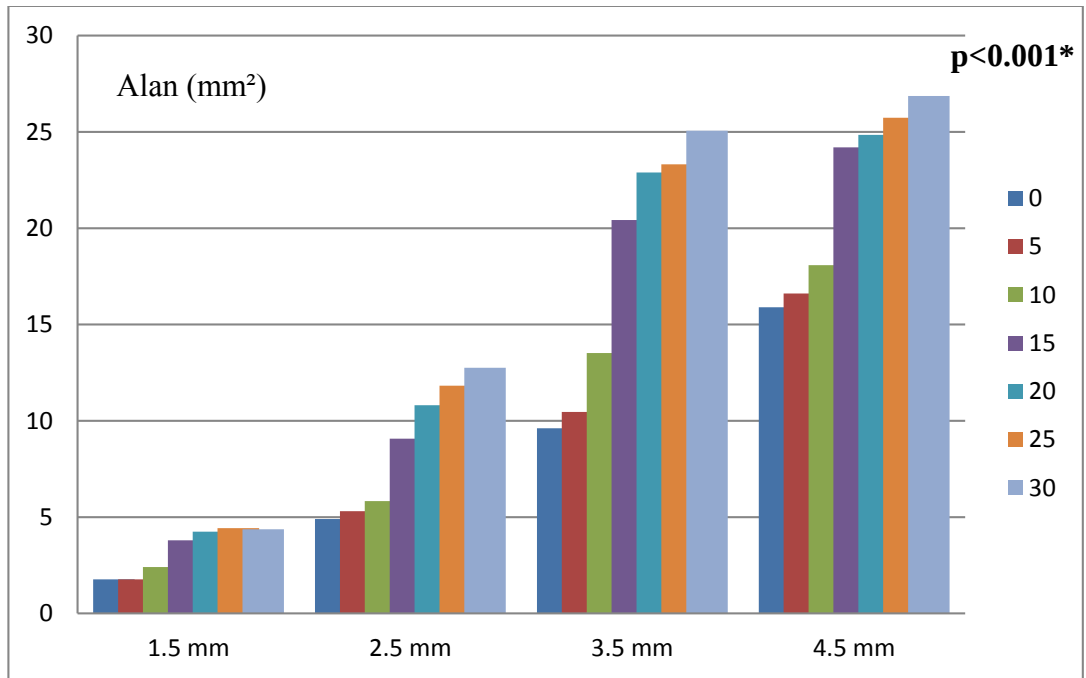
Delikler mm		0.gün mm ²)	5.gün mm ²)	10.gün mm ²)	15.gün mm ²)	20.gün mm ²)	25.gün mm ²)	30.gün mm ²)
1.5	Ortanca	1.76	2.14	2.54	3.46	5.11	5.94	7.79
	Minimum	1.77	2.01	2.27	2.27	3.80	4.52	5.72
	Maksimum	1.77	2.54	2.83	4.15	5.72	7.07	8.55
2.5	Ortanca	4.90	5.72	8.05	8.81	11.34	13.52	15.19
	Minimum	4.91	4.91	6.60	7.54	9.62	11.34	11.34
	Maksimum	4.91	6.15	9.07	10.2	13.85	15.20	15.90
3.5	Ortanca	9.61	11.04	14.51	24.62	25.59	26.41	26.86
	Minimum	9.62	10.75	13.85	21.23	22.89	24.62	25.50
	Maksimum	9.62	11.34	15.90	25.50	26.59	26.86	28.26
4.5	Ortanca	15.89	16.61	21.64	23.75	25.51	27.09	27.33
	Minimum	15.90	16.61	20.42	22.05	24.62	26.41	27.33
	Maksimum	15.90	18.09	23.75	24.62	26.41	28.26	29.21

Tablo 4.4. Kontrol grubunda trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusu çapının günlere göre ortalanca, minimum ve maksimum sapmaları.

Delikler mm		0.gün (mm ²)	5.gün (mm ²)	10.gün (mm ²)	15.gün (mm ²)	20.gün (mm ²)	25.gün (mm ²)	30.gün (mm ²)
1.5	Ortanca	1.76	1.77	2.41	3.79	4.25	4.43	4.37
	Minimum	1.77	1.77	1.77	3.46	3.63	3.80	4.15
	Maksimum	1.77	2.27	2.98	5.10	5.31	5.72	6.15
2.5	Ortanca	4.90	5.31	5.83	9.07	10.81	11.83	12.76
	Minimum	4.91	4.91	5.31	8.04	8.55	8.55	8.81
	Maksimum	4.91	5.72	8.04	10.17	13.85	13.85	14.51
3.5	Ortanca	9.61	10.46	13.52	20.43	20.43	23.32	25.06
	Minimum	9.62	9.62	12.56	17.34	17.34	21.23	22.89
	Maksimum	9.62	10.80	16.61	22.05	22.05	29.21	30.18
4.5	Ortanca	15.89	16.61	18.09	24.19	24.85	25.73	26.87
	Minimum	15.90	15.90	17.34	20.42	23.32	24.62	25.50
	Maksimum	15.90	18.09	22.05	26.41	26.86	27.33	27.88

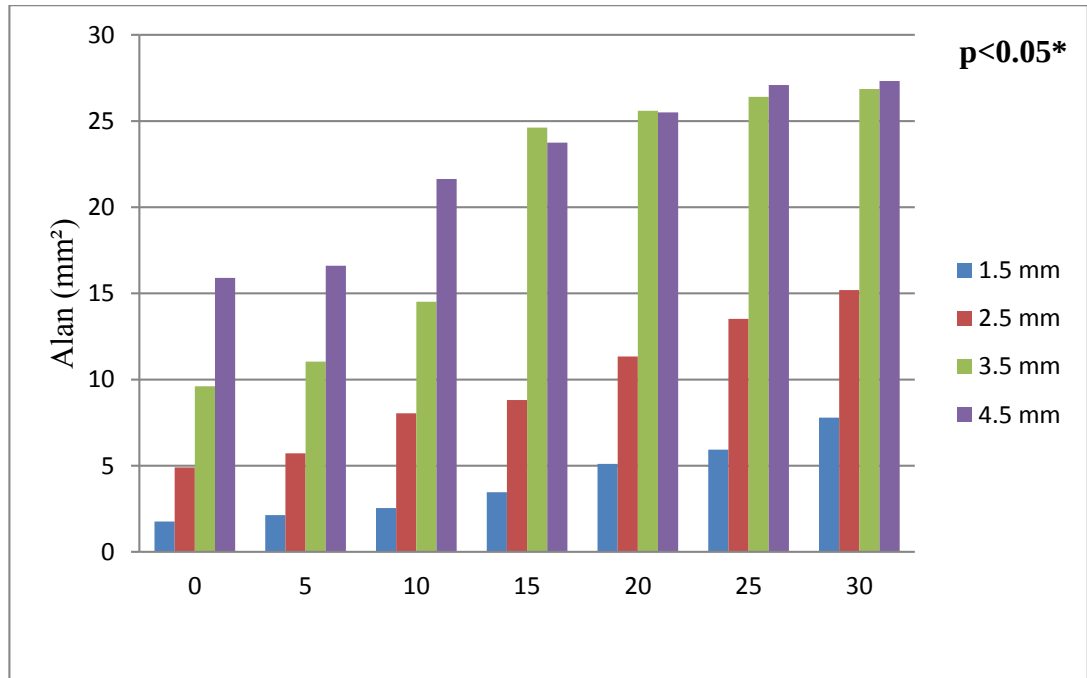


Şekil 4.1 Tablo 4.3.'deki değerlerin grafiksel anlatımı

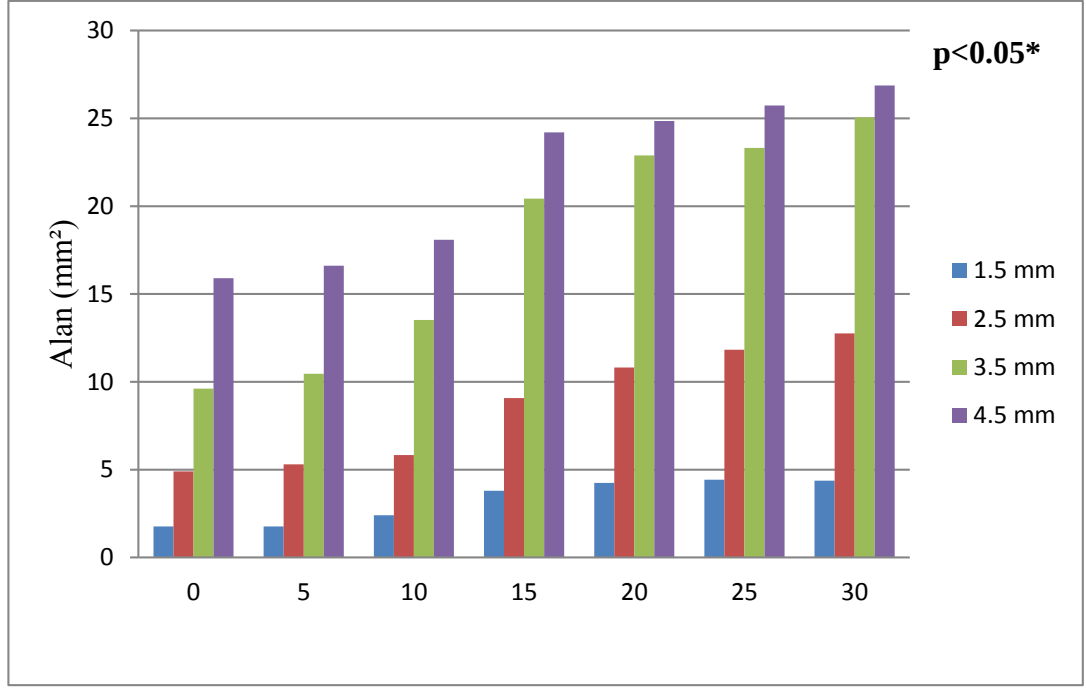


Şekil 4.2. Tablo 4.4.'deki değerlerin grafiksel anlatımı

Gruplar içinde farklı çaplı trepanasyon deliklerinin 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde karşılaştırılmasında ($p<0.05$, Kruskal-Wallis testi) ve yapılan ikili karşılaştırmalarda ($p<0.05$, Bonferoni düzeltmeli Mann-Whitney U testi) deney grubunda 3.5 ve 4.5 mm çaplı trepanasyon deliklerinde 15-inci ve 30-uncu günler arasında, kontrol grubunda ise 20-inci ve 30-uncu günler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmaz iken diğer günlerde farklı çaplı trepanasyon deliklerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$) (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

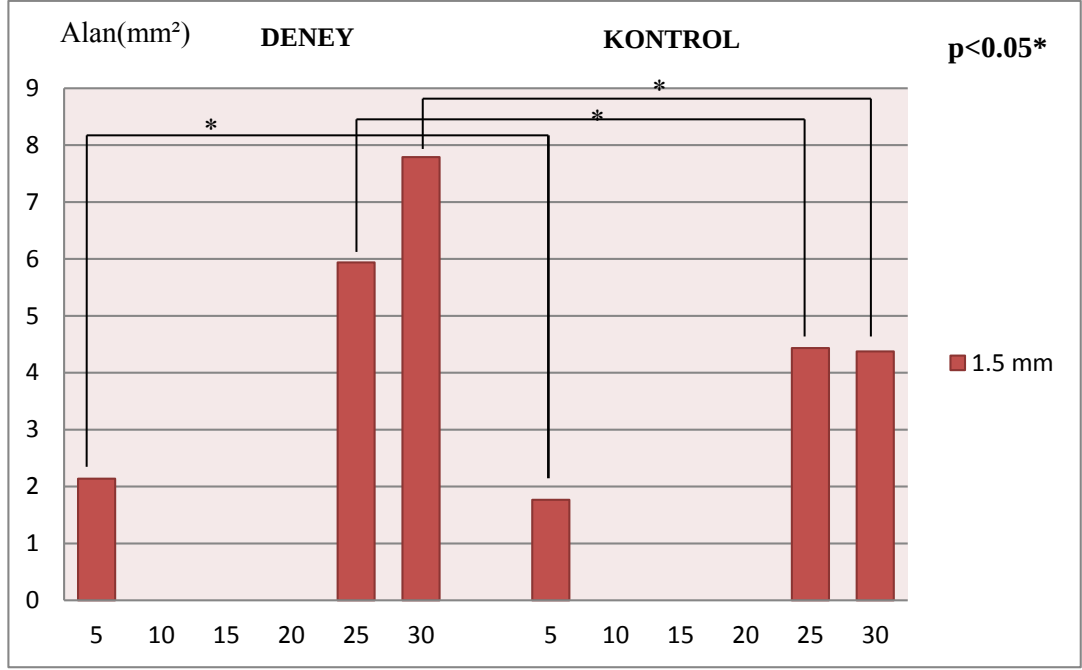


Şekil 4.3. Deney grubunda 3.5 mm ve 4.5 mm çaplı trepanasyon deliklerinde 15-inci ve 30-uncu günler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmaz iken diğer günlerde farklı çaplı trepanasyon deliklerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$, Kruskal-Wallis ve Bonferoni düzeltmeli Mann-Whitney U testi).

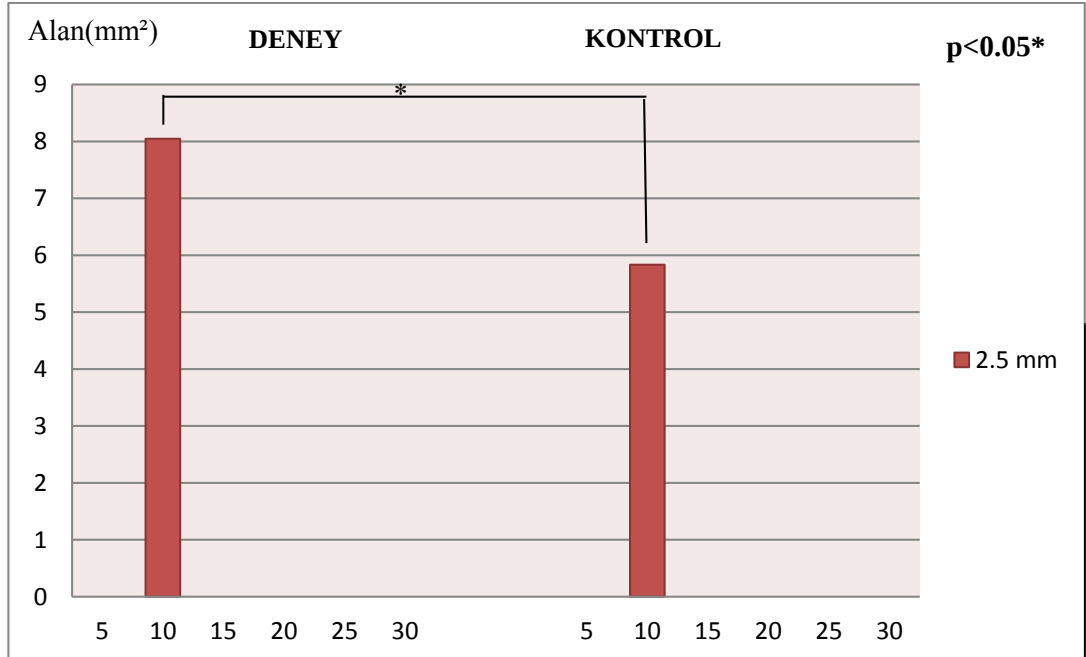


Şekil 4.4. Kontrol grubunda 3.5 mm ve 4.5 mm çaplı trepanasyon deliklerinde 20-inci ve 30-uncu günler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmaz iken diğer günlerde farklı çaplı trepanasyon deliklerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$, Kruskal-Wallis ve Bonferoni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi).

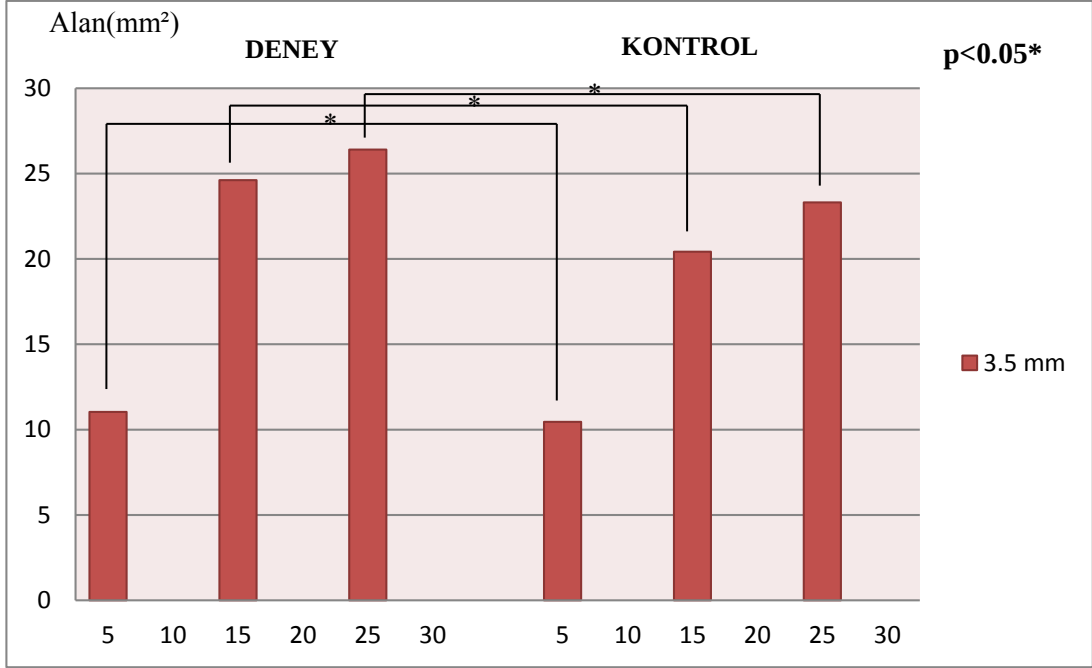
Deney ve kontrol grupları arasında aynı çaplı trepanasyon deliklerinin 5-inci, 10-uncu, 15-inci, 20-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi uygulandı. Yapılan karşılaştırmada 1.5 mm çaplı delikte 5-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde (Şekil 4.5), 2.5 mm çaplı delikte 10-uncu günde (Şekil 4.6), 3.5 mm çaplı delikte 5-inci, 15-inci ve 25-inci günlerde (Şekil 4.7), 4.5 mm çaplı delikte 10-uncu günde (Şekil 4.8) istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$).



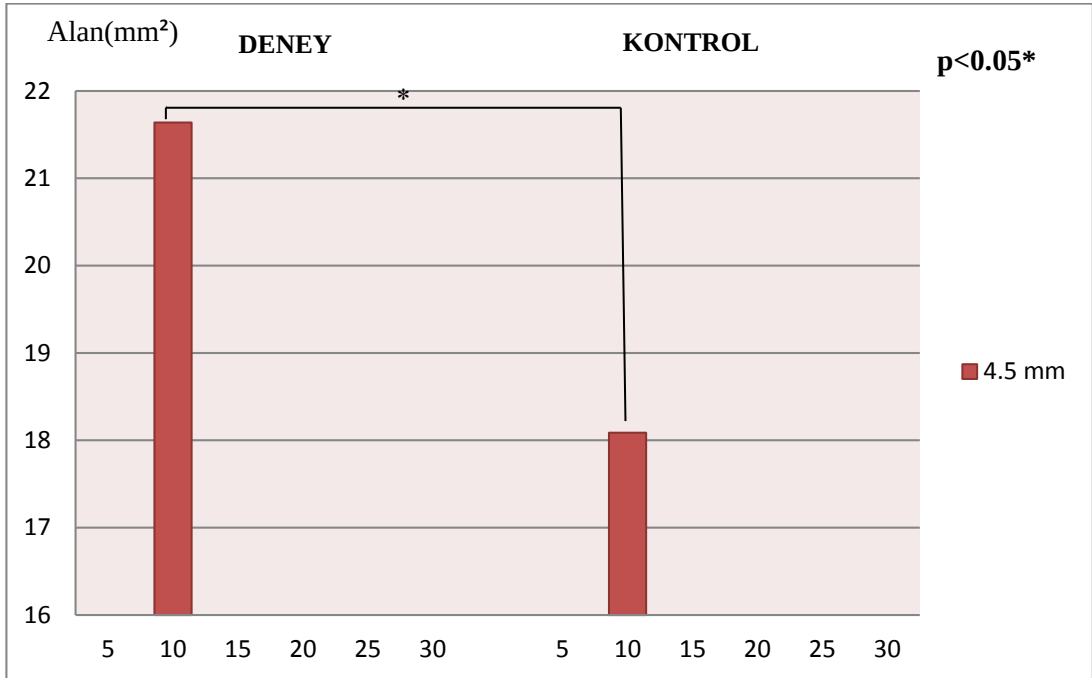
Şekil 4.5. Gruplar arasında 1.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılmasında 5-inci, 25-inci ve 30-uncu günlerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$, Mann-Whitney U testi).



Şekil 4.6. Gruplar arasında 2.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılmasında 10-uncu günde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$, Mann-Whitney U testi).



Şekil 4.7. Gruplar arasında 3.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılmasında 5-inci, 15-inci ve 25-inci günlerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$, Mann-Whitney U testi).



Şekil 4.8. Gruplar arasında 4.5 mm çaplı deliklerin çalışma süresince karşılaştırılmasında 10-uncu günde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$, Mann-Whitney U testi).

4.2. RADYOLOJİK BULGULAR

Her iki grupta tibia kemik örnekleri üzerinde 1 ay sonra yapılan dijital röntgen sonucu yapılan incelemelerde trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanları hesaplandı. (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6). Her iki grupta ortalama, maksimum ve minimum sapmalar belirlendi ve ileri analizlerde kullanıldı (Tablo 4.7).

Her iki grupta farklı çaplı deliklerin karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$) (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8).

Tablo 4.5. Deney grubunda trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanları

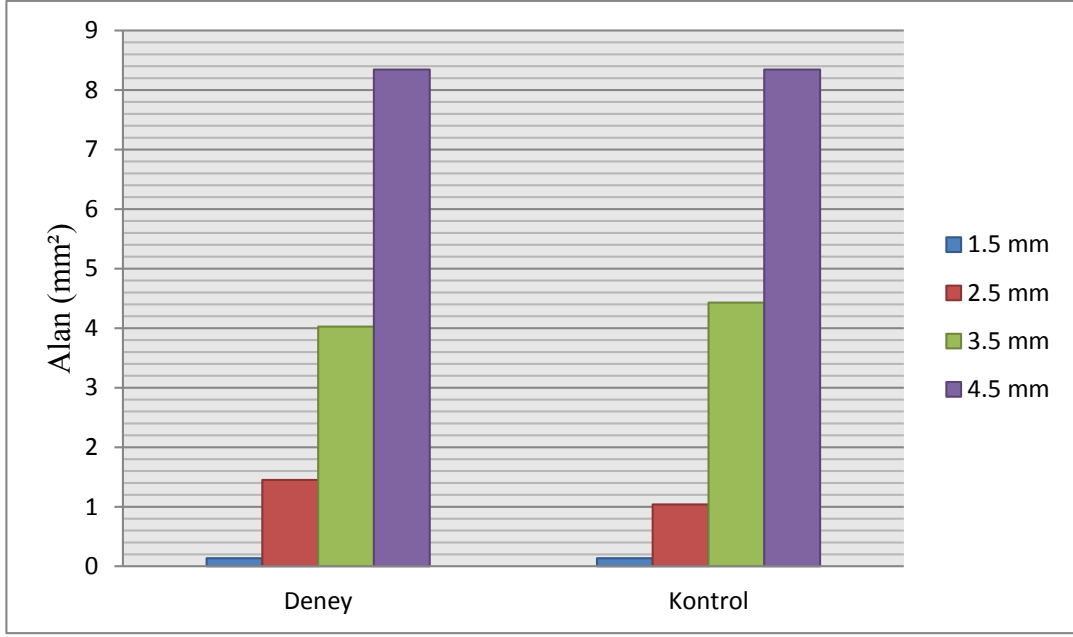
Deney Grubu	1.5 (mm ²)	2.5 (mm ²)	3.5 (mm ²)	4.5 (mm ²)
Denek 1	0.07	2.54	3.14	4.91
Denek 2	0.79	2.54	7.07	9.62
Denek 3	0.03	0.79	7.07	9.62
Denek 4	0.20	0.79	3.14	9.62
Denek 5	0.03	1.77	3.14	4.91
Denek 6	0.20	1.13	4.91	7.07

Tablo 4.6. Kontrol grubunda trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanları

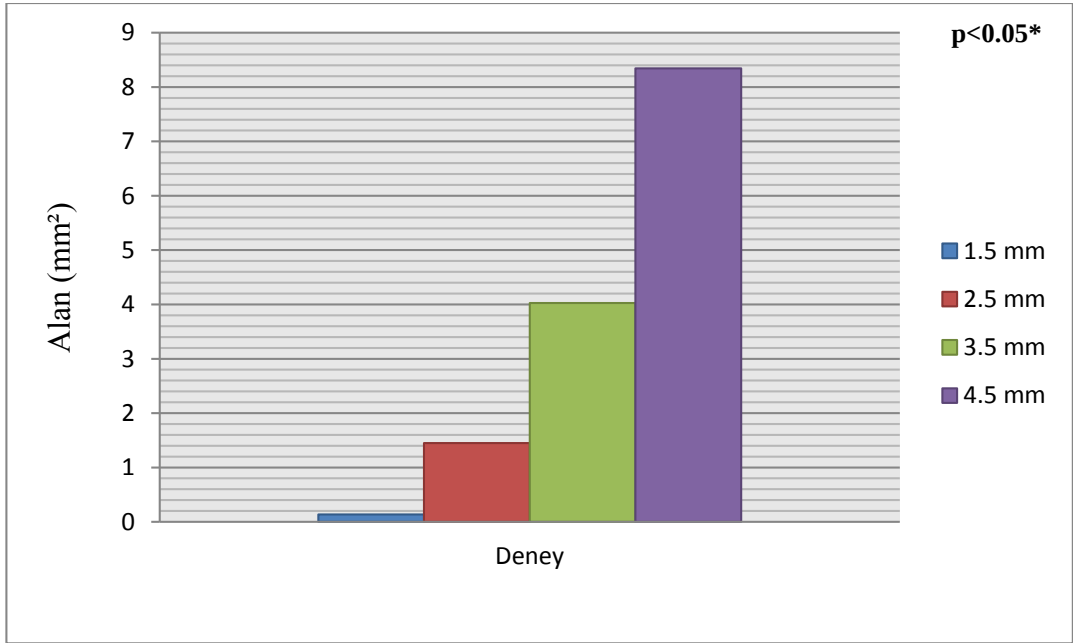
Kontrol Grubu	1.5 (mm ²)	2.5 (mm ²)	3.5 (mm ²)	4.5 (mm ²)
Denek 1	0.03	0.20	3.14	9.62
Denek 2	0.03	0.50	3.14	7.07
Denek 3	0.07	1.13	7.07	3.14
Denek 4	0.20	1.33	5.72	7.07
Denek 5	0.79	0.95	7.07	10.7
Denek 6	0.79	3.14	0.79	9.62

Tablo 4.7. Her iki grupta trepanasyon deliklerinde oluşmuş reaktif kemik dokusu alanlarının ortanca, maksimum ve minimum sapmaları.

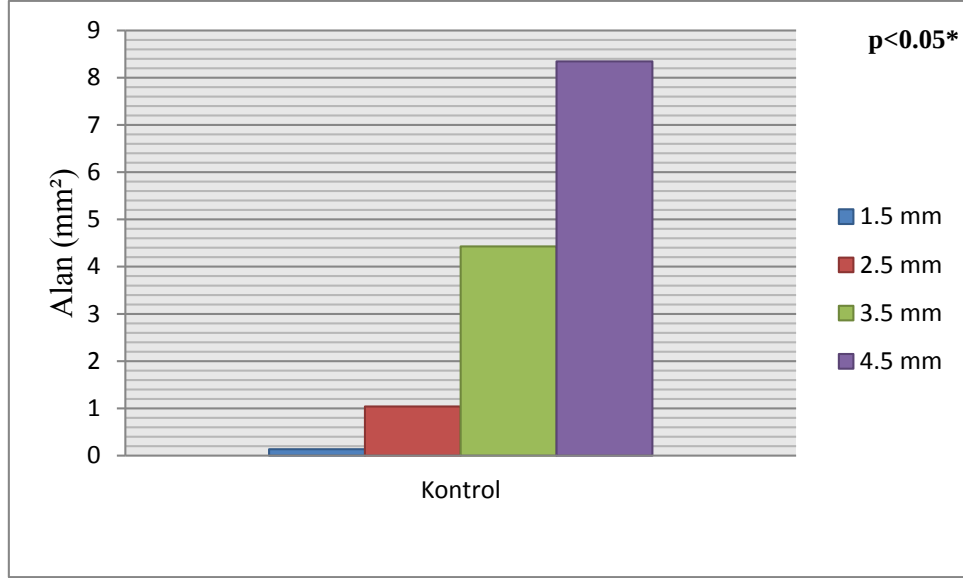
Grup		1.5 (mm ²)	2.5 (mm ²)	3.5 (mm ²)	4.5 (mm ²)
Deney	Ortanca	0.14	1.45	4.03	8.35
	Maks-Min	0.79-0.03	2.54-0.79	7.07-3.14	9.62- 4.91
Kontrol	Ortanca	0.14	1.04	4.43	8.35
	Maks-Min	0.79-0.03	3.14-0.20	7.07-0.79	10.7-3.14



Şekil 4.9. Tablo 4.7’de yer alan değerlerin grafiksel görünümü.

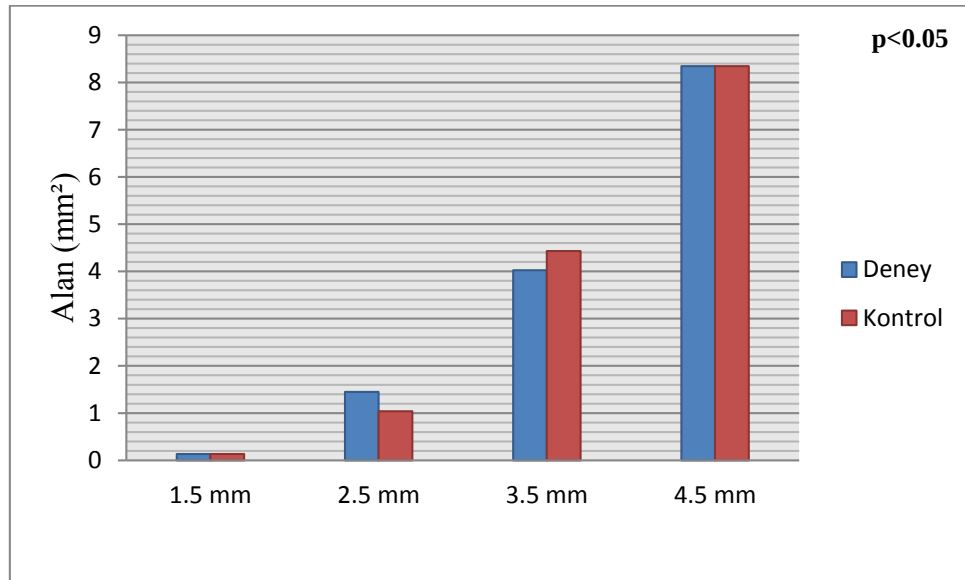


Şekil 4.10. Deney grubunda farklı delik çaplarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis testi).



Şekil 4.11. Kontrol grubunda farklı delik çaplarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$, Kruskal-Wallis testi).

Deney ve kontrol gruplarında aynı çaplı deliklerin karşılaştırılmasında Bonferoni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p<0.05$) (Şekil 4.9).

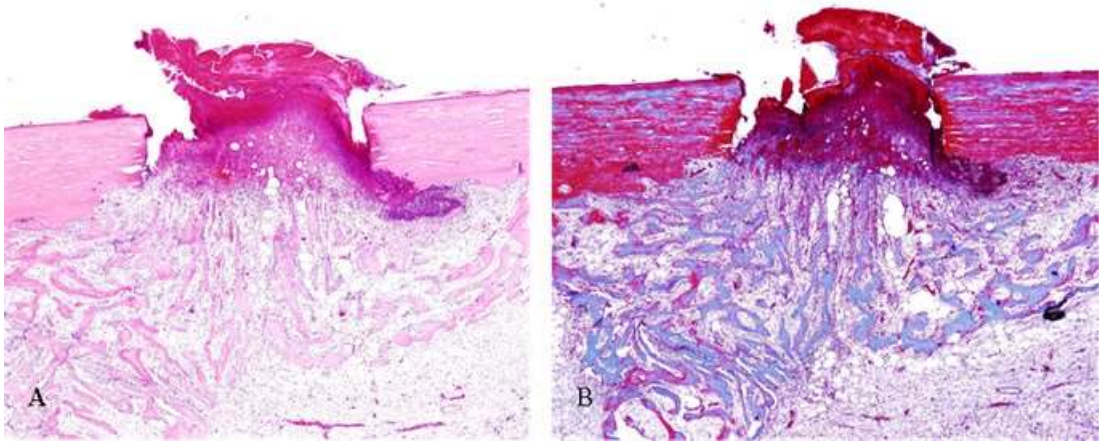


Şekil 4.12. Her iki grupta aynı çaplı deliklerin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p<0.05$, Bonferoni düzeltmeli Mann-Whitney U testi).

4.3 HİSTOLOJİK BULGULAR

Histolojik değerlendirmede tüm örnekler Hematoksilen–Eozin ve Masson Trikrom ile boyanarak ışık mikroskobu (NikonEclipse i80, Japan) yardımıyla incelendi.

V.Y.K. sistemi uygulanan deney grubunda tüm kortikal kemikteki delik alanları granülasyon dokusu ile dolu olup volkan tarzında dışarı kortikal yüzeye doğru taşma gösterir. Reaktif kemik yapımı (trabeküler kemik) sadece medullar bölgede yer almaktadır (Resim 4.3).

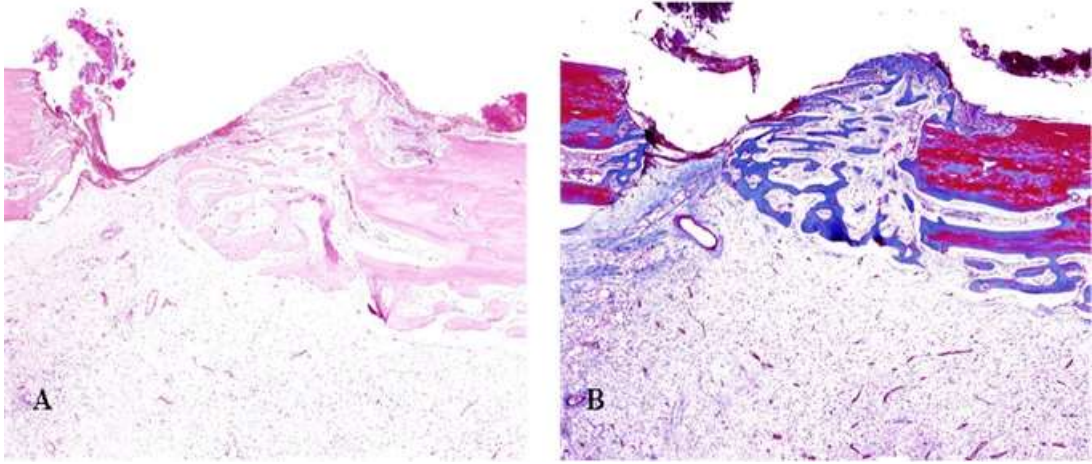


Hematoksilen – Eozin boyaması

Masson Trikrom boyaması

Resim 4.3. A) ve B) Deney grubunda 2.5 çaplı delik alanlarının histolojik görünümü (Hematoksilen–Eozin ve Masson Trikrom boyaması). Kapiller damarlardan zengin granülasyon dokusunun kortikal delik alanlarını doldurması ve volkan tarzında dışarı kortikal yüzeye doğru taşması. Reaktif kemik dokusu medullar bölgede yer almaktadır.

Deney grubundan farklı olarak kontrol grubunda reaktif kemik tüm kortikal kemik defekt alanlarını (delikleri) doldurmuş olup granülasyon dokusu ince bir tabaka halinde bulunmaktadır (Resim 4.4).



Hematoksilen – Eozin boyaması

Masson Trıkrom boyaması

Resim 4.4. A) ve B) Kontrol grubunda 3.5 mm çaplı delik alanlarının histolojik görünümü (Hematoksilen–Eozin ve Masson Trikrom boyaması). Granülasyon dokusu ince tabaka halinde izlenmektedir. Reaktif kemik yapımı medulladan başlayarak kortikal kemikte delik alanları boyunca yayılarak delik çapını kapatmaktadır.

Deney grubu örneklerinin histolojik incelemesinde kontrol grubundan farklı olarak kortikal kemik üzerinden volkan tarzında yüzeye doğru taşan granülasyon dokusu vasküler dokulardan zengin olup geniş ve kalın tabaka halindedir, aynı zamanda kapiler damarlardan daha zengindir.

5. TARTIŞMA

Yara - cerrahi insizyon, fiziksel travma, yanık, donma, kimyasal ajanlar, iskemi gibi başlıca travmatik nedenlerden oluşmakta olup vücudun herhangi bir dokusuna ait yapıların anatomik ve fonksiyonel devamlılığın bozulmasıdır. Yara tipi ne olursa olsun tüm yaralarda amaç en kısa sürede ve komplikasyon oluşmadan yaralanan dokunun iyileştirilmesidir.

Özellikle kemiklerin ekspozе olduğu yumuşak doku defektlerinin bulunduğu yaraların kapatılması her zaman problem olmuştur. Bu tip yaralanmaların kapatılmasında yara bakımı ve serbest doku aktarımı güncel ve standart tedavidir. Serbest doku aktarımının gerçekleştirilemediği ağır yanıklar, diyabet gibi eşlik eden kronik hastalıkların varlığı, mikrocerrahi deneyiminin az olduğu ve ya teknik yetersizlik bulunduğu durumlarda yaranın hızlı ve etkin bir şekilde kapatılması gereklidir. Bu durumlarda Vakum Yardımlı Kapama sistemi uygulanarak yapılan yara bakımı sonucu bu yaraların kapatılması mümkün olabilmektedir. Geniş kemik alanlarının ekspozе olduğu durumlarda granülasyon dokusunun gelişimi ancak çevre dokudan olacak ve yaranın kapatılması için gerekli yatağın hazırlanması çok uzun süre gerektirecektir. Bu sorunu çözmede kullanılabilecek en önemli yöntemlerden birisi kemikte trepanasyon delikleri açarak granülasyon dokusu gelişimini hızlandırmaktır.

Bu çalışmada ekspozе tavşan tibiasında farklı çaplarda trepanasyon delikleri oluşturulduktan sonra yaraya V.Y.K. sistemi ve konvansiyonel pansuman uygulanarak trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon doku çapı ölçülmüş ve bir birle karşılaştırılarak en iyi granülasyon doku gelişimine izin veren delik çapı ve pansuman yöntemi araştırılmıştır. V.Y.K. sistemi kullanılarak yapılan pansumanlar sonucu ilk 15 günlük periyotta granülasyon dokusu gelişiminin daha hızlı ve fazla olduğu saptanmıştır. Farklı delik çapları içindeyse en fazla granülasyon dokusu gelişimine izin veren optimal delik çapının 3.5 mm olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada deney modeli olarak ekspozite tavşan tibia kemiği defekt modeli olarak kullanıldı ve tibia kemiğinde medullaya incek şekilde monokortikal farklı çaplı dairesel trepanasyon delikleri oluşturuldu.

V.Y.K. sistemi kullanımıyla ilgili deneysel çalışmaların çoğu çevre dokudan ve yara tabanından granülasyon dokusu gelişimi ve bunun incelenmesi üzerinde yoğunlaşmaktadır (2,82). Aynı zamanda literatürde kemik dokusunda trepanasyon deliklerinin oluşturulmasıyla ilgili deneysel çalışmalar bulunmamaktadır.

Vakum Yardımlı Kapama sistemi yara bakımında ve yara iyileşmesinde en sık kullanılan tedavi yöntemlerinden biridir. V.Y.K. sistemi 1990'lı yılların ikinci yarısında Morykwas ve Argenta tarafından tanımlanmış olsa da aslında 1841 yılında Junoid tarafından vakum etkisinin kan dolaşımına lokal etkisi olabileceğinden dolayı düşünülerek sunulmuştur (83).

Yara yatağına negatif basınçla ilgili ilk çalışmalar deneysel olarak domuzlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Morykwas ve Argenta'nın yapmış oldukları çalışmada domuz yara modelinde kontrollü bir kapalı ortam sağlamakla 125 mmHg'lik subatmosferik basınçla bu yöntemin yara iyileşmesinde rolünü araştırmışlardır. (2). Bu yapılan çalışma sonrasında yara yatağında ve çevre dokuda kan akımının 4 kat arttığını ve bakteri sayının azaldığını ispatlamışlar. Çalışmada yaraya negatif basınç iki yolla 5 dak. açık/2 dak.kapalı ve sürekli uygulama şeklinde yapılmıştır. 5 dak. açık/2 dak. kapalı negatif basınç uygulamada deney grubunda kontrol grubuna göre granülasyon dokusu gelişiminin 103 ± 35.3 olduğunu göstermişler. Sürekli uygulama yönteminde granülasyon dokusu gelişiminde 63.3 ± 26.1 bir artış sağlanmıştır.

V.Y.K. sistemi uygulanarak yapılan başka bir deneysel çalışma ratlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. İ. Şahin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yara zeminine Acellular Dermal Matriks (A.D.M) uygulanmakla Mezenşimal Kök Hücre (M.K.H) ve V.Y.K. sistemi kullanılımlında anjiogenezin stimule edilmesiyle vaskülarizasyonun artması araştırılmıştır. Dört tedavi grubu planlanan çalışmada M.K.H. ile beraber V.Y.K. sistemi uygulanan grupta yara yatağında anjiogenezin hızlanmasıyla vaskülarizasyonun daha fazla geliştiği ortaya konmuştur (84).

Bu çalışmada kemik dokusundan granülasyon dokusu gelişimini değerlendirmek amacıyla tavşan tibiası kullanılmıştır. Bu durumu klinikte karşılaşılan, tedavisi zahmetli ve güç olan alt ekstremitte yaralanmaları stimule etmektedir. Rat gibi daha küçük hayvan modelleri tibia kemiğinin çok küçük olması nedeniyle bu çalışma için uygun değildir. Yaptığımız ön çalışma, ölçümler ve literatür taraması sonucu tavşan tibiasının 8 mm ve daha fazla çaplı trepanasyon deliği açmaya elverişli olması da tavşan modeli seçiminde etkili olmuştur (85). Koyun, domuz gibi büyük hayvan modellerinin avantaj ve dezavantajları çok iyi bilinmektedir. Bütün bunlar göz önüne alındığında ve çalışmanın teknik olarak problemsiz seyri tavşan tibia modelinin bu amaçla uygun olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada sadece trepanasyon deliklerinden gelişen granülasyon dokusunun kemik üzerindeki ekspozite alanı kapatacak, deri greftlemesine izin verecek yeterli büyüklüğe ve kaliteye ulaştığı gözlemlendi. Her bir pansuman değişiminde deliklerden gelişen granülasyon dokusu mantar misali büyüyerek kemik üzerini örtmeye başladığı gözlemlendi. Bu aşamada ölçümler yapılarak granülasyon dokusu hızını ve kalitesini değerlendirme imkanı bulundu. Granülasyon niteliği histolojik olarak değerlendirildi. V.Y.K. sistemi kullanılan deney grubunda granülasyon dokusunun volkan püskürmesi tarzında kemik medullasından başlayıp delikten taşarak büyüdüğü gözlenirken, konvansiyonel pansumanda bu granülasyonun daha yüzeysel ve patoloji incelemede kesit alınırken deliklerden daha kolay ayrıldığı ve zayıf olduğu gözlemlendi. Bu durum yıllardır V.Y.K. tedavisi yöntemi kullanarak edindiğimiz klinik gözlemlerle de uyumaktadır. Konvansiyonel pansumanla gelişen granülasyon dokusunun V.Y.K. yöntemiyle karşılaştırıldığında daha kırılkan yapıda olduğu ve kolaylıkla yaradan sıyrıldığı çok iyi gözlenmektedir. V.Y.K. sistemiyle elde edilen granülasyon dokusunun fibrotik vasıfta olduğu gözlenmiştir.

V.Y.K. yöntemi ile uygulanan negatif basınç yara iyileşme sürecini birkaç mekanizmayla etki ettiği düşünülmektedir. Bu mekanizmalardan ilki yara ve çevre dokuda ödemin azalmasıyla lokal kan artışını artırmasıdır (69,3). Negatif basınç etkisiyle ilk önce yarada sıvının emilmesi ödemin azalmasına, daha sonrasında mikrosirkülasyonun ve lenfatik dolaşımın normale dönmesiyle lokal kan akışının hızlanmasına neden olmaktadır. Lokal kan akımının artması doku ödemi

azalmasıyla beraber yararlı enzimlerin yaradan uzaklaştırılmasında da önemli rol oynar (2).

V.Y.K. yönteminin diğer etkisi mekanik stres mekanizmasıdır (70). Yara yatağında mekanik strese cevap olarak hücrelerde iyonik kanalların aktive olması ilerleyen dönemde hücre proliferasyonu artışını sağlayan biyokimyasal mediatörlerin salınımına neden olmaktadır. Diğer taraftan mekanik stres hücre proliferasyonu ile beraber anjiogenezide hızlandırmaktadır (86,87,88). Yaradan fazla eksudanın uzaklaştırılması ile fibroblast ve endotelial hücrelerin aktiviteleri uyarılmakta ve granülasyon doku gelişimi hızlanmaktadır (1). V.Y.K. yönteminin yara iyileşmesi üzerine olan diğer bir etkisi yara yatağında bakteri sayısını azaltmaktır. Yaradan fazla eksudanın emilmesi bakteri sayısını azaltmakla yara iyileşmesi aşamalarının normal yönde ilerlemesini sağlar (1).

V.Y.K. sisteminin uygulanmasıyla başarılı sonuçlarının elde edilmesine dair klinik çalışmalarda mevcuttur. Argenta ve arkadaşları akut, subakut ve kronik yaraları bulunan toplam 300 hasta üzerinde yaptıkları klinik çalışmada sonuç olarak negatif basınç uygulamasının yara yatağında lokal kan artışını artırdığını ve granülasyon doku gelişimini hızlandığını ortaya koymuşlar (3).

Benzer çalışmayı Müllner ve arkadaşları sakral bası yarası, alt ekstremitte yumuşak doku yaralanmaları ve kırıkları olan toplam 45 hasta üzerinde yapmışlar. Bunlardan 35 hastada granülasyon dokusunun hızlı artışıyla sekonder kapanma ve diğer hastalarda deri greftile kapandığını sunmuşlar (89).

Meara ve arkadaşları "degloving" yaralanmalı 5 hasta üzerinde negatif basınç tedavisi uygulamakla tekniğin hızlı, etkili ve kolay kullanımlı olduğunu ifade etmişler (90).

Normal nemli pansuman uygulanan yaralarla V.Y.K. sistemi uygulanan yaraların karşılaştırıldığı çalışmalarda negatif basınç uygulanan yaralarda yara iyileşmesi oranı ve süresinin daha yüksek olduğu sunulmuştur (86,90,91).

Yapılan çalışmalarda V.Y.K. yöntemi uygulamakla yüz ve boyun doku defektlerinde (78), diyabetik yaralarda (79), abdominal duvar ve bası yaralarında (81,1), açık sternotomi ameliyatları sonrası gelişen defektlerde (75,76), spinal füzyon (77), rektal rezeksiyonlar (90) sonrası kullanım alanları ile ilgili başarılı sonuçlar alındığı sunulmuştur.

V.Y.K. tedavi yöntemi uygulamakla özellikle alt ekstremitte kemik ve diğer anatomik yapıların ekspoze olduğu yaralarda (68,73,74), yanık sonrası açık kemik alanları eşlik eden doku defektlerinde (80) başarılı sonuçların olduğu sunulmuştur.

De Franzo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada alt ekstremitede kemik ekspozisyonu eşlik eden yumuşak doku defektlerinde toplam 75 hastaya V.Y.K. yöntemi tedavisi uygulanmış. Tedavi süresince negatif basınç 125 mmHg olarak uygulanmış ve iki günde bir pansuman değişimi yapılmıştır. Çevre dokuda ödemin azalması ve granülasyon dokusu artışı sonrası 12 hastada yaranın primer kapanması gözlemlenmiş. 58 hastada yara yeri deri grefti ile, 5 hastada ise lokal muskulokutan ve fasyakutan fleple kapatılmıştır (68). Bu çalışmada 12 hastada yaranın primer kapanması özellikle çevre dokuda ödemin azalması hesabına dokuların kemik üzerine doğru kontrakte olması ve artmış granülasyon dokusunun ekspoze kemik üzerine ilerlemesi hesabına sağlanmıştır.

Bildiğimiz kadarıyla kemikten granülasyon dokusu gelişimiyle ilgili deneysel bir çalışma yoktur. Klinik çalışma olarak Şahin ve arkadaşlarının yanık ünitesinde 4.derece yanık sonrası tibia üzerinde yumuşak doku defekti ve geniş alanda kemik ekspozisyonu olan hastaya ekspoze kemik üzerinde medullaya inecek şekilde farklı çaplı trepanasyon delikleri açılarak V.Y.K. tedavi yöntemi uygulanmıştır. Bu işlem sonrasında trepanasyon deliklerinden granülasyon doku artışı izlenmekle beraber yara sekonder olarak deri grefti ile kapatılarak başarılı şekilde sunulmuştur (4).

Ancak yapılan çalışmalarda kemikte oluşturulmuş farklı çaplı trepanasyon deliklerinden maksimal granülasyon doku gelişimine izin veren optimal delik çapının saptanması ile ilgili bilgiler rastlanmamaktadır. Bu çalışmada tavşan modelinde tam kat yara oluşturmakla beraber kemik medullasına inecek şekilde farklı çaplı

trepanasyon delikleri oluşturuldu ve negatif basınç uygulamakla bu basınçın etkilerinin sadece çevre dokuda değil kemik medullasındaki vasküler ağa iletilmesi ve anjiogenezi hızlandırmakla ilerleyen günlerde çevre yumuşak doku dışında aynı zamanda trepanasyon deliklerinden kemiğin üzerini saracak şekilde daha fazla granülasyon doku gelişimini sağladık. Aynı zamanda bu çalışmayla 3.5 mm çaplı trepanasyon deliğinin maksimal granülasyon doku gelişimine izin verecek olduğunu tespit ettik.

Çalışma süresince V.Y.K. sistemi uygulanan deney grubuyla konvansiyonel pansuman uygulanan grup arasında çalışma süresinin bitiminde yapılan dijital röntgen incelemesinde her iki grupta trepanasyon deliklerinde reaktif kemik dokusu oluşumu arasında belirgin fark saptanmamıştır. Ancak her iki grupta farklı çaplı trepanasyon deliklerinden alınmış örneklerin histoloji incelemesinde V.Y.K. sistemi uygulanan deney grubunda reaktif kemik dokusu oluşumu sadece medullar bölgede yer alırken konvansiyonel pansumanla takip edilen grupta medullar bölgeden başlayarak tüm kemik korteksini dolduran reaktif kemik dokusu izlenmiştir. Çalışma süresince ilerleyen günlerde V.Y.K. sistemi uygulanan grupta konvansiyonel pansuman uygulanan gruba nazaran tüm trepanasyon deliklerinden daha fazla granülasyon dokusu gelişmiştir. Hatta kontrol grubunda bazı trepanasyon deliklerinin histolojik incelemelerinde tüm korteksi dolduran reaktif kemik dokusu üzerinde ince tabaka halinde granülasyon dokusu izlenmiştir. Bu yönden konvansiyonel pansumanla takip edilen grupta deney grubuna nazaran çalışma süresince trepanasyon deliklerinden daha az granülasyon dokusunun gelişmesi, kontrol grubunda trepanasyon deliklerinde reaktif kemik dokusunun sadece medullar bölgede değil aynı zamanda tüm kemik korteksini doldurmasına bağlı granülasyon doku gelişiminin azalmasına neden olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın neticeleri üzerinden yola çıkarak geniş kemik ekspozite olan yumuşak doku defektlerinde açık kemik alanlarında trepanasyon deliklerinin oluşturulması ile V.Y.K. yönteminin uygulanması çevre dokudan ziyade kemik üzerinde de vasküler ağdan zengin granülasyon dokusunun oluşmasına ve böylece kemik dokusunun üzerinin kapanmasının sağlayabileceği düşüncesindeyiz. Yapılan bu çalışma ile deney modeli üzerinde her iki yöntemle maksimal granülasyon dokusunun 3.5 mm çapında açılan deliklerde geliştiği gösterilmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar seçmemiz gereken optimal trepanasyon delik çapını ortaya koyarak klinik uygulamalarda en ideal sonuçları ulaşmak için yol gösterecektir.

Yaptığımız bu çalışmada V.Y.K. sistemi kullanarak başarılı bir şekilde ekspozite olan kemiğin kemikten gelişen granülasyon dokusuyla ile kapandığını gözlemledik. İleri çalışmalarla bu granülasyon dokusunun gelişiminin ayrıntılı incelemesi bu işlemin temellerinin aydınlanması konusunda önemli ip uçları verecektir.

7. KAYNAKLAR

1. Konvansiyonel Tedaviye Dirençli Kalkaneal Bölge Bası Yarasında "Vakum Yardımlı Yara Kapama-VAC" uygulaması – Olgu Sunumu. FTR Bil. Der. J. PMR Sci 2009;12:34-37
2. Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, McGuirt W. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. Ann Plast Surg 1997;38:553-62.
3. Argenta LC, Morykwas MJ. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: clinical experience. Ann Plast Surg 1997;38:563-77.
4. The Role Of Negative Pressure Wound Therapy In The Treatment Of Fourth-Degree Burns. Trends And New Horizons. Annals of Burns and Fire Disasters - vol. XXV - n. 2 - June 2012
5. Uzluk FN: Genel Tıp Tarihi. Ankara Ün. Tıp Fak. Yayınları no:68. Güzel İstanbul matbaası, Ankara, 1958.
6. Aydın HX Yara ve Tedavisi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1990.
7. Dr. Şevket Gökhan BEYHAN. Kollajen Sentezi İnhibitörlerinden 5-Florourasil ve Halofuginon'un Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi.. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği Tıpta Uzmanlık tezi, İstanbul 2008.
8. Neligan Gurthner. Plastik surgery. 3rd edition, volume 1. 2012.
9. Grabb & Smith's Plastik surgery Charles H. Thorne. 6th. edition. 2007.
10. Baum C, Arpey C. Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events; Dermatol Surg 2005; 31 (6):674-86

11. Broughton G, Janis J, Attinger C. Wound Healing: An Overview. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2006;117 (7s):1-32
12. Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27: 1687–1693.
13. Schecter AD, Spirn B, Rossikhina M, et al. Release of active tissue factor by human arterial smooth muscle cells. *Circ Res.* 2000;87:126–132
14. De Vries VC, Noelle RJ. Mast cell mediators intolerance. *Curr Opin Immunol.* 2010;22:643–648.
15. Trautmann A, Toksoy A, Engelhardt E, et al. Mast cell in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 *in vivo*. *J Pathol.* 2000;190:100–106.
16. Pathophysiological role of skin mast cells in wound healing after scald injury: study with mast cell deficient W/W (V) mice. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;151:80–88
17. Gallant-Behm CL, Hildebrand KA, Hart D.A. The mast cell stabilizer ketotifen prevents development of excessive skin wound contraction and fibrosis in red Duroc pigs. *Wound Repair Regen.* 2008;16:226–233.
18. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol.* 2007;127:514–525.
19. Di Pietro LA. Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. *Shock.* 1995;4:233–240

20. Saski GH, Krizek TJ. Biology of tissue injury and repair. In: Giordano NG, et al (eds). *Essentials of plastic maxillofacial and reconstructive surgery*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1967.
21. Diegelmann RF, Cohen IK, Kaplan AM. The role of macrophages in wound repair: a review. *Plast Reconstr Surg* 1981;68:107.
22. Leibovich SI, Ross R. The role of the macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1976;84:501.
23. Herndon DN, Nguyen TT, Gilpin DA. Growth factors: local and systemic. *Arch Surg* 1993;128:1227.
24. Lawrence WT. Physiology of the acute wound. *Clin Plast Surg* 1998;25:321–40
25. Wener S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70
26. Horn DB. Wound healing in relation to scarring. *Fac. Plast Surg Clin North Am* 1998;6 (2):111.
27. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491–4.
28. Goslen JB. Wound Healing for the dermatology surgeon. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988; 14 (a):959.
29. İra. D. Papel. *Facial Plastik and reconstructive surgery*. 3rd edition. 2013
30. Field CK, Kerstein MD. Overview of wound-healing in a moist environment. *Am J Surg*. 1994;167:S2–S6.
31. Svensjo T, Pomahac B, Yao F, et al. Accelerated healing of full-thickness skin wounds in a wet environment. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106:602–612.

32. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, et al. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol.* 1997;137: 1445–1457.
33. Sen CK, Roy S. Oxygenation state as a driver of myofibroblast differentiation and wound contraction: hypoxia impairs wound closure. *J Invest Dermatol.* 2010;130:2701–2703
34. Follonier L, Schaub S, Meister JJ, et al. Myofibroblast communication is controlled by intercellular mechanical coupling. *J Cell Sci.* 2008;121:3305–3316.
35. Carrico TJ, Mehrhof AL, Cohen IK. Normal and pathological wound healing. In: Giordano NG, et al (eds). *Essentials of plastic, maxillofacial and reconstructive surgery*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1987.
36. Hinman CD, Maibach H. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds. *Nature* 1963;200:377.
37. Hunt TK. The physiology of wound healing. *Ann Emerg Med* 1988;17:23.
38. Pai MP, Hunt TK. Effect of varying oxygen tensions on healing of open wounds. *Surg Gynecol Obstet* 1972;135:756.
39. Kılıçoğlu SS. Mikroskopik düzeyde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2, 143-150, 2002
40. Canalis E., McCarthy T., Centrella M. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J Cell Physiol.* 140, 530-537, 1989.
41. Mehrara BJ., McCarthy JG. Repair and Grafting of Bone. In: Mathes SJ, ed. *Plastic Surgery* 2th ed, Vol. 1. Saunders Elsevier, Philadelphia. 2006; 639-718.

42. Jee WSS. Integrated bone tissue physiology, Anatomy and physiology. In Cowin SC (Ed). Bone mechanics handbook. 2. ed., CRC press, Florida, 1-68, 2000.
43. Buckwalter J.A., Glimcher M.M., Cooper R.R., Recker R. Bone biology: II.formation, form, modeling, remodeling and regulation of cell function. JBJS 1995; vol 77A: 1276-1289.
44. Şirin SY. Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2005.
45. Duthie RB. Bone and joint tissues. Scientific foundations of surgery 4.ed., Heinemann medical books, Londra, 150-166, 1989
46. Kabaca G. Diabetik sıçanlarda selenyumun kemik iyileşmesi üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2007.
47. Mehrara BJ, McCarthy M. Repair and grafting of bone. In Mathes SJ (ed). Plastic surgery Vol 1. Second edition. Saunders 2005;639-705.
48. Bowers G., Granet M., Stevens M. Histologic evaluation of new attachment in humans. A preliminary report. J Periodontol.56, 381-396, 1985.
49. Heppenstall RB. Fracture treatment and healing. In Wilson JN (ed). Watson-Jones:Fractures and joint injuries Vol 1. 6th edition. Saundersco,Philadelphia 1980;35-64.
50. Ozan H. Ozan anatomi. Nobel Basımevi, Ankara, 1-56, 2004.
51. Leslie PG, James LH. Color Textbook of Histology. 2th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 129-55, 2001.

52. Aubin J., Liu F. The osteoblast lineage Principles of bone biology. Academic Press, San Diego, 51-67, 1996.
53. Noble BS. The osteocyte lineage. Arch Biochem Biophys 2008;473:106–111.
54. Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. Bone 2008; 42:606–615.
55. Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. Primer on the metabolic bone disease and disorder of mineral metabolism. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Chap. 1, 1999.
56. Teti A, Zallone A. Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis. Osteocytic osteolysis revisited. Bone 2009;44 (1):11-16.
57. Quinn J., McGee J., Athanasou N. Cellular and hormonal factors influencing monocyte differentiation to osteoclastic bone resorbing cells. Endocrinology. 134, 2416-2413, 1994.
58. Frost HM. The biology of fracture healing and over view for clinicians part I. Clin. Orthop Rel Res. 248, 283-293, 1979.
59. Hiltunen A., Hannu TA., Vuorio E. Regulation of extracellular matrix genes during fracture healing. Clin Orthop. 297, 23-27, 1993.
60. Sandberg MM., Aro H., Vuorio EI. Gene expression during bone repair. Clin Orthop. 289, 292-312, 1993
61. Ege R. Kırıkların etyopatolojisi ve biomekaniği. Ege R (ed). Travmatoloji Cilt 1. Beşinci baskı. Bizim Büro Basımevi, Ankara 2001;35-53.
62. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament: Fractures. 2nd ed. Philadelphia: LippincottCo, 1984:1:147-167

63. Lavine L.S., Grodzinsky A.J. Current concepts review: electrical stimulation of repair of bone. JBJS 1987; vol 69A: 626-630
64. Tuskan C. Yaltırık M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan Biyomateryaller. Bölüm I,II, İ.Ü. Diş hekimliği Fakültesi Yayınları, İstanbul, 2002..
65. Anadolu’da, Canlıda Yapılan ilk Trepanasyon Orneği. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 2010, Cilt: 20, Sayı: 2, 70-75
66. 9. Özbek M: Çayönü’nde kafatası delgi operasyonu. HacettepeÜn. Edebiyat Fakültesi Dergisi 75. Yıl özel sayı 109-126, 1999
67. Özbek M: Geçmişten günümüze kafatası delgi ameliyatları. Hacettepe Ün. Edebiyat Fakültesi Dergisi 1 (1): 151-161, 1983
68. DeFranzo A.J, Argenta L.C., Marks M. W. The Use of Vacuum-Assisted Closure Therapy for the Treatment of Lower-Extremity Wounds with Exposed Bone. *Plast Reconstr Surg* 2001;108:1184-91.
69. Venturi ML, Attinger CE, Mesbahi AN, Hess CL, Graw KS. Mechanisms and clinical applications of the vacuum-assisted closure (VAC) device: a review. *Am J Clin Dermatol*. 2005;6:185-94.
70. Saxena V, Hwang CW, Huang S, Eichbaum Q, Ingber D, Orgill DP. Vacuum-assisted closure: microdeformations of wounds and cell proliferation. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1086-98.
71. Vuerstaek JD, Vainas T, Wuite J, Nelemans P, Neumann MH, Veraart JC. State of the art treatment of chronic leg ulcers: A randomized controlled trial comparing vacuum-assisted closure (V.A.C.) with modern wound dressings. *J Vasc Surg* 2006;44:1029-38.

72. Ragnarson Tennvall G, Apelqvist J. Health-economic consequences of diabetic foot lesions. *Clin Infect Dis* 2004;39:132-9.
73. Josty I. C, Ramaswamy R, Laing J. H. E. Vacuum-assisted closure: an alternative strategy in the management of degloving injuries of the foot. *British J Plast Surg* 2001; 54:363-5.
74. Open tibial fractures grade IIIC treated successfully with external fixation, negative pressure.
75. The concept of negative pressure wound therapy (NPWT) after poststernotomy mediastinitis a single center experience with 54 patients *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2009, 4:5
76. Fleck T.M, Fleck M, Moidl R. The vacuum-assisted closure system for the treatment of deep sternal wound infections after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2002;74:1596-600.
77. Mehbod A. A, Ogilvie J. W, Pinto M. R. Postoperative Deep Wound Infections in Adults After Spinal Fusion Management with Vacuum-Assisted Wound Closure. *J Spinal Disord Tech* 2005;18:14-7.
78. Andrews B.T, Smith R.B, Goldstein D.P. Management of complicated head and neck wounds with vacuum-assisted closure system. *Head Neck* 2006;28:974-81.
79. Eginton M.T, Brown K.R, Seabrook G.R. A Prospective Randomized Evaluation of Negative-pressure Wound Dressings for Diabetic Foot Wounds. *Ann Vasc Surg* 2003;17:645-9.
80. Nugent N, Lannon D, O'Donnell M. Case report. Vacuum-assisted closure-a management option for the burns patient with exposed bone. *Burns* 2005;31:390-3.

81. Gupta S. Guidelines for Managing Pressure Ulcers with Negative Pressure Wound Therapy Adv Skin WoundCare 2004;17:1-16.
82. Effects of varying levels of subatmospheric pressure on the rate of granulation tissue formation in experimental wounds in swine. Morykwas MJ, Falder BJ, Pearce DJ, Argenta LC. 2001 Nov;47 (5):547-51.
83. Yara iyileşmesinde Destek Sağlayan Yöntemler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. Cilt Hastalıkları ve Yara Bakımı Sempozyumu 18-19 Ekim 2001, İstanbul, s. 165-17.
84. Experimental assessment of the neo-vascularisation of acellular dermal matrix in the wound bed pretreated with mesenchymal stem cell under subatmospheric pressure. Sahin I, Ozturk S, Deveci M, Ural AU, Onguru O, Isik S. 2014 Jan;67 (1):107-14. doi: 10.1016/j.bjps.2013.08.001. Epub 2013 Sep 19.
85. Unicortical critical size defect of rabbit tibia is larger than 8 mm. Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E. J.Craniofac..Surg.1994 Jul;5 (3):201-3.
86. Lee BY. The Wound Management Manual. Newyork: The McGraw – Hill Companies Inc. 2005.
87. Lambert KV, Hayes P. McCarthy M. Vacuum assisted closure: a review of development and current applications. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery 2005;29 (3):219-226.
88. Kaufman MW, Pahl DW. Vacuum-assisted closure therapy: wound care and nursing implications. Dermatology Nursing 2003;15 (4):317-325.
89. Müllner, T., Mrkonjic, I., Kwasny, O., and Vecsei, V. The use of negative pressure to promote the healing of tissue defects: a clinical trial using the vacuum sealing technique. Br J Plast Surg 1997;50:194-199

90. Joseph E, Hamori CA, Bergman S, Roaf E, Swann NF, Anastasi, GW. New therapeutic approaches in wound care. A prospective randomized trial of TNBT vacuum-assisted closure versus Standard therapy of chronic nonhealing wounds. *Wounds* 2000; 12 (3): 60-67.
91. McCallon SK, Knight CA, Valiulus JP, Cunningham MW, McCulloch JM. Farinas LP (2000). Vacuum assisted closure versus saline moistened gauze in the healing of postoperative diabetic foot wounds. *Ostomy Wound Management* 2000;46 (8):28-34
92. Nagell CF, Holte K. Treatment of anastomotic leakage after rectal resection with transrectal vacuum-assisted drainage (VAC). *Int.J.Colorectal Dis* 21 (7)/65,2006.