



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ETLİK ŞEHİR HASTANESİ**

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON KLİNİĞİ

RATLARDAKİ ENFEKTE YARA İYİLEŞMESİNE TOPİKAL SEVOFLURANIN ETKİSİ

Dr. Reyhan İŞLEK

UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2023



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ETLİK ŞEHİR HASTANESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON KLİNİĞİ

RATLARDAKİ ENFEKTE YARA İYİLEŞMESİNE TOPİKAL SEVOFLURANIN ETKİSİ

Dr. Reyhan İŞLEK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ash DÖNMEZ

UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimleri ile bana mesleğimi öğretene ve sevdiren, hoşgörüsü ve manevi desteği ile hep yanımda olan, çok değerli hocam, Anesteziyoloji ve Reanimasyon klinik şefi ve eğitim sorumlusu Prof. Dr. Jülide ERGİL'e,

Mesleki anlamda her zaman yoluma ışık tutan, sevgisini, şefkatini her zaman üzerimde hissettiğim, enerjisi ve bilgisini örnek aldığım, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum tez danışmanım Prof. Dr. Aslı DÖNMEZ'e,

Asistanlık sürecimde bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, abi şefkatiyle hayata dair verdiği öğütleri ile desteğini her zaman hissettiğim Prof. Dr. Murat SAYIN'a,

Çalışmamın her aşamasında bana fikir veren, desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Reyhan POLAT'a,

Biyokimyasal verilerin değerlendirilmesinde katkıda bulunan Uzm. Dr. Elmas ÖĞÜŞ ve Uzm. Dr. Pınar KOYUNCU'ya,

Patolojik verilerin değerlendirilmesine katkıda bulunan Uzm. Dr. Sehbâl ASLANKOZ'a,

Asistanlık sürecimde olduğu gibi tez çalışmamın da her aşamasında yanımda olan değerli arkadaşım Dr. Erdi ÇELİK'e,

Bilgi ve becerilerinden yararlandığım uzmanlarıma,

Asistanlık sürecimizde her türlü zorluk ve mutluluğu birlikte yaşadığımız, meslektaş olmaktan onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Birlikte çalıştığımız tüm ameliyathane ve yoğun bakım çalışanlarına,

Her koşulda beni destekleyen ve sevgisini esirgemeyen Dr. Görkem ÖZENÇ'e,

Bugünlere gelmemde büyük katkıları olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Dr. Reyhan İŞLEK

Ankara, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SEVOFLURAN.....	3
2.1.1. Fizyokimyasal Özellikleri	4
2.1.2. Farmakokinetik Özellikleri ve Metabolizması	5
2.1.3. Farmakodinamik Özellikleri.....	6
2.1.4. Sevofluranın Antiinflatuar Etkileri	6
2.1.5. Sevofluranın Antibakteriyel Etkileri	7
2.2. DERİ VE YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI.....	7
2.2.1. Etiyoloji ve Epidemiyoloji	8
2.2.1.1. Staphylococcus aureus	8
2.3. YARA İYİLEŞMESİ	9
2.3.1. Hemostaz	9
2.3.2. İnflamasyon	10
2.3.3. Proliferasyon (epitelizasyon ve kontraksiyon)	11
2.3.4. Matürasyon.....	12
3. MATERYAL METOD.....	15
3.1. ETİK KURUL	15

3.2. DENEY HAYVANLARI	15
3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI	15
3.4. SEVOFLURAN'IN HAZIRLANMASI	15
3.5. ENFEKTE YARA MODELİ OLUŞTURULMASI	16
3.6. DENEYSEL ÇALIŞMA MODELİ	16
3.7. DOKU SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ÇALIŞILMASI.....	18
3.7.1. Enzim-linked Immunsorbent Assay (ELISA) Kitlerinin İnceleme Yöntemi	18
3.7.2. Enzim-linked Immunsorbent Assay	18
3.8. HİSTOLOJİK İNCELEME	19
3.8.1. Örneklerin Hazırlanması	19
3.8.2. Kullanılan Malzeme ve Solüsyonlar	19
3.8.2.1. Tamponlu (%10) formalin tespit solüsyonu	19
3.8.2.2. Masson'un trikrom boyası.....	19
3.8.2.3 Hematoksilen-eozin boyası	20
3.8.3. Histopatolojik Değerlendirme	20
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	20
4. BULGULAR	21
4.1. İMMÜNOKİMYASAL BULGULAR.....	21
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	26
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ	39
7. KAYNAKÇA	40
8. EKLER.....	47
EK-1. ETİK KURUL ONAYI	47
9. ÖZGEÇMİŞ.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	: alfa
β	: beta
Cfu	: Colony Forming Uni
CpA	: Compound A
ECM	: Ekstrasellüler matriks
FDA	: Food and Drug Administration
HE	: Hematoksilen Eozin
HFIP	: Heksafloroizopropanol
IL	: İnterlökin
IFN- γ	: İnterferon gama
LPS	: Lipopolisakkarit
MMP	: Matriks metalloproteinaz
P. auriginosa	: Pseudomonas aeruginosa
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
S. aureus	: Staphylococcus aureus
TNF- α	: Tümör Nekrozis Faktör alfa
TGF- β	: Transforming Growth Factor-beta
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.	Volatil anesteziğin 37 °C'deki doku partiyon katsayıları	5
Tablo 2.	Yara iyileşmesinin aşamaları	9
Tablo 3.	Yara iyileşmesinde görev alan önemli sitokinler	14
Tablo 4.	Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-1 β düzeyleri.....	21
Tablo 5.	Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-10 düzeyleri.....	22
Tablo 6.	Gruplara ve izlem zamanlarına göre TNF- α düzeyleri	24
Tablo 7.	İzlem zamanlarına göre biyokimyasal ölçümlerde meydana gelen değişimler	25
Tablo 8.	Histopatolojik bulguların dağılımı ve derecesi.....	26
Tablo 9.	Aktif inflamasyon açısından gruplara göre dağılımları	28
Tablo 10.	Kronik inflamasyon ve granülasyon oluşumu açısından gruplara göre deneklerin dağılımları.....	30
Tablo 11.	Fibrozis açısından gruplara göre deneklerin dağılımları	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Sevofluranın kimyasal formülü	4
Şekil 2.	Cildin povidon iyotla temizlenmesi ve steril kalemle işaretlenmesi	17
Şekil 3.	Cilt, cilt altı dokuyu içeren 3 cm uzunluğunda insizyon açılması.....	17
Şekil 4.	Bakterilerin kesi yerine ekilmesi.....	17
Şekil 5.	Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-1 β düzeyleri	22
Şekil 6.	Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-10 düzeyleri	23
Şekil 7.	Gruplara ve izlem zamanlarına göre TNF- α düzeyleri.....	25
Şekil 8.	Sevofluran grubunda akut inflamasyon.....	27
Şekil 9.	Sham grubunda akut inflamasyon	27
Şekil 10.	Sham grubunda görülen abse formasyonu	27
Şekil 11.	Gruplardaki aktif inflamasyon şiddetinin dağılımı	28
Şekil 12.	Kontrol grubunda kronik inflamasyon	29
Şekil 13.	Kontrol grubunda şiddetli kronik inflamasyon.....	29
Şekil 14.	Sham grubunda granülasyon dokusu.....	29
Şekil 15.	Gruplardaki kronik inflamasyon şiddetinin dağılımı	30
Şekil 16.	Gruplardaki granülasyon şiddetinin dağılımı.....	31
Şekil 17.	Sevofluran grubunda fibrozis dokusunun histopatolojik değerlendirilmesi	31
Şekil 18.	Sham grubunda fibrozis dokusunun histopatolojik değerlendirmesi.....	32
Şekil 19.	Sevofluran grubunda belirgin vasküler proliferasyon ve konjesyon	32
Şekil 20.	Sham grubunda vasküler proliferasyon ve eritrosit ekstrasvazasyonu.....	32
Şekil 21.	Gruplardaki fibrozis şiddetinin dağılımı	33

ÖZET

RATLARDAKİ ENFEKTE YARA İYİLEŞMESİNE TOPİKAL SEVOFLURANIN ETKİSİ

Amaç: Ratlarda oluşturulan enfekte yara modelinde, topikal sevofluran uygulamasının yara iyileşmesi üzerindeki antibakteriyel ve antiinflamatuvar etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, hayvan etik kurulu alındıktan sonra, 250-300 gram ağırlığında, 10-12 haftalık, erkek, Vistar Albino cinsi 18 rat kullanıldı. Ratlar Deney (Grup D), Kontrol (Grup K) ve Sham grubu (Grup S) olarak 3 gruba randomize edildi. Deneklerin sırt bölgesinde 3 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı ve hazırlanan *Staphylococcus aureus* bakteri kolonileri yara yerine inoküle edilerek enfeksiyon oluşumu beklendi. Grup D’de yara alanına 3 ml (1ml/cm) sevofluran, Grup K’ye 3 ml izotonik uygulandı, Grup S’ye ise herhangi bir işlem uygulanmadı. Enfeksiyonun 0. günü, 5. günü ve 10. gününde yara yerinden doku örnekleri alındı ve bu örneklerden interlökin [IL]-1beta [β], IL-10 ve tümör nekroz faktör-alfa [TNF- α] konsantrasyonları Enzim-linked Immunsorbent Assay (ELISA) yöntemi ile analiz edildi. Çalışmanın 15. gününde tüm deneklerden histopatolojik değerlendirme için yara dokusu ve etrafındaki sağlam dokuyu içeren örnekler alındı. Aktif inflamasyon, kronik inflamasyon, granülasyon oluşumu ve fibrozis açısından değerlendirildi.

Bulgular: Histopatolojik değerlendirmede; sevofluran grubunun aktif inflamasyon skoru diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak düşüktü ($p=0,025$). Kronik inflamasyon ve granülasyon şiddetinin anlamlı olmamakla beraber diğer iki gruba göre düşük, fibrozis şiddetinin ise diğer gruplara göre yüksek skorlarda seyrettiği görüldü.

İmmünokimyasal testlerde doku IL-10 düzeyi sevofluran grunda diğer iki gruba göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0,009$). IL-1 β ve TNF- α doku düzeyleri gruplar arasında benzerdi.

Sonuç: Bulgularımız topikal sevofluranın histopatolojik ve immünokimyasal incelemelerde antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkiler gösterdiğini ve yara iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Sevofluran; antibakteriyel, topikal, yara iyileşmesi, sitokin; proinflamatuvar, antiinflamatuvar.

ABSTRACT

THE EFFECT OF TOPICAL SEVOFLURAN ON INFECTED WOUND HEALING IN RATS

Objective: The aim of this study was to investigate the antibacterial and anti-inflammatory effects of topical sevoflurane application on infected wound healing in rats.

Material and Method: After ethics committee approval, 18 Wistar-Albino rats weighing 250-300 grams, aged 10-12 weeks, were used. Rats were randomized into 3 groups: Experiment (Group D), Control (Group K) and Sham group (Group S). A 3 cm long skin incision was made at the back of the rats and pre-prepared *Staphylococcus aureus* colonies were inoculated onto the wound. In group D, 3 ml (1ml/cm) sevoflurane, in Group K 3 ml isotonic saline was applied topically. Group S received no treatments. Tissue samples were taken from the wound site on the 0th, 5th day and 10th day of infection and interleukin [IL]-1 β , IL-10 and tumour necrosis factor alpha (TNF- α) concentrations were analyzed by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. For histopathological evaluation, samples from the scar and surrounding intact tissues were taken from all subjects on the 15th day of the study. Tissue samples were evaluated for active inflammation, chronic inflammation, granulation formation and fibrosis.

Results: In histopathological evaluation, active inflammation severity of the sevoflurane group were significantly lower than the other two groups ($p=0,025$). Although statistically not significant chronic inflammation, and granulation scores were lower and fibrosis scores were higher in the sevoflurane group comparing to the other two groups ($p=0,184$, $p=0,161$, $p=0,068$ respectively). Also, tissue IL-10 levels were significantly higher in the sevoflurane group comparing to the other two groups ($p=0,009$). IL-1 β and TNF- α tissue levels were similar between the groups.

Conclusion: Our findings demonstrate that topical sevoflurane shows anti-inflammatory and antimicrobial effects in histopathological and immunochemical evaluations and has positive effects on wound healing.

Keywords: Sevoflurane; antibacterial, topical, wound healing, cytokine; pro-inflammatory, anti-inflammatory.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sevofluran, genel anestezinin indüksiyonu ve idamesi için kullanılan, yeterli güvenlik profiline sahip, halojenli bir anestezi ajanıdır (1). Günümüzde Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi [FDA] tarafından yalnızca inhalasyon anestezisi olarak kullanımına izin verilmektedir.

Son yıllarda inhalasyon ajanlarının alternatif kullanım yollarının gündeme gelmesi üzerine, sevofluran ve izofluranın antibakteriyel etkinliği araştırılmış ve halojenli anestezi ajanlarının, sıvı halde kullanılmasının güçlü bakterisidal etkilerinin olduğu in-vitro olarak gösterilmiştir (Batai ve ark. (2)). Yakınlarda da sıvı sevofluranın topikal yolla kullanılmasının yara iyileşmesine olumlu katkıları olduğuna dair olgu sunumları bildirilmiştir (1, 4).

Sıvı halde uygulanan sevofluranın, etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve analjezik etkinliğinin olduğu düşünülmektedir (1,2,3). Yine kronik venöz ülseri olan hastalardaki bir çalışmada, topikal sevofluranın sistemik antibiyotik verilmeden kültür negatifliği sağladığı ve yara iyileşmesinde olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (4). Yara iyileşmesindeki olumlu etkisi, proinflamatuvar belirteçleri azaltıp, antiinflamatuvar belirteçleri artırarak yaptığı düşünülmektedir (5).

Normal deri florasının ve deri bütünlüğünün bozulduğu durumlarda patojen bakterilerin kolonizasyonu sonucu deri ve yumuşak doku enfeksiyonları oluşmaktadır. Derin yerleşimli enfeksiyon, cerrahi müdahale gereksinimine ve/veya sistemik enfeksiyon varlığına yol açabilir (6). Bakteriyel kaynaklı yumuşak doku enfeksiyonlarının nedeni çoğunlukla gram pozitif mikroorganizmalardır. En sık etkenler ise streptokoklar ve stafilokoklardır. *Staphylococcus aureus*, yumuşak doku enfeksiyonlarının en sık etkenidir (6).

Yara iyileşmesinin karmaşık yapısı, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenmeyi içeren süreci kapsamaktadır (7). Hücre ve doku hasarına karşı oluşan inflamatuvar yanıt, makrofajlar, nötrofiller gibi aktif fagositler veya aktif epitel hücreleri tarafından salıverilen bir dizi aracıya bağlanmaktadır (8). Bu araçlar kemokinler ve sitokinlerdir. Hücreler arası iletişimi sağlayarak, spesifik reseptörleri ve

inhibitörleri ile uyum içinde hareket ederek immün modülasyona katkı sağlamaktadır. Birçok çalışmada inflamasyondaki fizyolojik ve patolojik rolleri giderek daha iyi anlaşılır hale gelmiştir (9). IL-1 β , TNF- α , IL-18 proinflamatuvar sitokinlerdir; matriks protein sentezini, fibroblast kemotaksisini ve proliferasyonunu arttırdıkları düşünülmektedir. Antiinflamatuvar sitokinler ise proinflamatuvar sitokin yanıtını kontrol eden bir dizi immün düzenleyici moleküldür. Başlıca antiinflamatuvar sitokinler; IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, ve IL-13'ü içerir. Antiinflamatuvar sitokinlerin inflamatuvar yanıtı sınırlandığı, proinflamatuvar sitokin salıverilmesini inhibe ettiği, nötrofil ve makrofajların yaralanma bölgesine infiltrasyonunu azalttığı ve skarsız iyileşmeye neden olduğu düşünülmektedir (10).

Çelik ve ark. (11), topikal sevofluranın ratlardaki yanık yara modelinde yara iyileşmesine olumlu katkılarının olduğunu histopatolojik olarak göstermiştir. Bildiğimiz kadarıyla sıvı sevofluranın enfekte yarada etkisini araştıran randomize kontrollü bir çalışma yoktur. Çalışmamızın amacı; ratlarda *Staphylococcus aureus* ile oluşturulan yumuşak doku enfeksiyonunda, topikal sevofluran uygulamasının yara iyileşmesi üzerindeki etkisini immünokimyasal (doku IL-1 β , IL-10 ve TNF- α düzeyleri) ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SEVOFLURAN

Genel anestezi, anestezik maddelerin neden olduğu koruyucu reflekslerin eşzamanlı kaybıyla birlikte tıbbi olarak indüklenen bir bilinçsizlik halidir. Bilinç kaybı, amnezi, analjezi, iskelet kası gevşemesi ve otonomik sistem reflekslerinin kaybına neden olmaktadır. Bu durumda hasta sözel, dokunsal ve ağrılı uyaranlara karşı duyarsızdır (12).

Genel anestezi sağlamak için kullanılan ajanlar, merkezi sinir sistemini cerrahi veya potansiyel olarak ağrılı işlemlerin yapılmasına izin verecek kadar baskılar. Genel anestezikler, yapılarına ve etki mekanizmalarına göre inhalasyon gazları ve parenteral olarak uygulanan ajanlar olarak ikiye ayrılır (13).

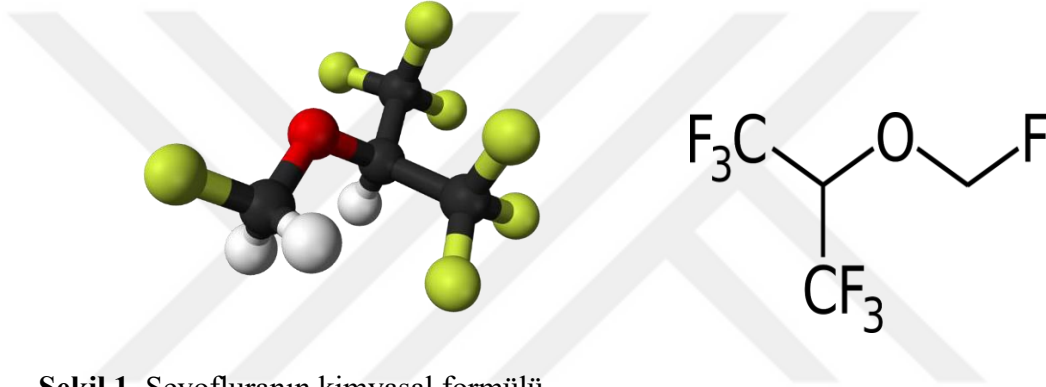
Inhalasyon anesteziklerinin bir kısmı sıvı halinde (kloroform, eterler, trilen, etilklorür, fluroksen, halotan, metoksifluran, enfluran, isofluran, sevofluran ve desfluran), bir kısmı gaz halinde bulunmaktadır (N_2O , siklopropan, etilen, ksenon). Sevofluran, hızlı etki başlangıcı ve hızlı dağılıma ile yaygın olarak kullanılan bir inhalasyon ajanıdır (13). Anesteziyi hem indüklemek hem de sürdürmek için kullanılabilir.

Sevofluran, 1960'ların sonunda sentezlenmiş, ancak 1995 yılında kullanıma girmiştir. Geç kullanıma girmesinin sebebi olarak iki olumsuz özelliği gösterilmiştir. Bu özellikleri, metabolize olduğunda florür açığa çıkması ve sodalime varlığında oluşan baz kararsızlığıdır. Sevofluran ile eş zamanlı olarak geliştirilen ve bu iki ideal olmayan özelliği göstermeyen, izofluran ve desfluran; sevofluran ile ilgili yeterli klinik çalışmanın yapılmasının önüne geçmiştir (14). Fakat 1988'de Japon firması Maruishi Pharmaceuticals (Osaka), sevofluran ile ilgilendiğini duyurmuş ve ilk kez klinik çalışmaları başlatmıştır. Sonrasında Amerika ve Avrupa'da da çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu klinik deneyler endişelerin asılsız, ilacın güvenli ve sorunsuz olduğunu göstermiştir. 1992 yılında da Abbott Laboratories of Chicago, Maruishi'den sevofluran ruhsatını almıştır (15).

2.1.1. Fizyokimyasal Özellikleri

Metil izopropil eterin yüksek florürlü bir türevi olan sevofluran (kimyasal formülü; Florometil-2-2-2-trifloro-1-etil eter), oda sıcaklığında stabil, berrak, alev almayan, renksiz, hoş kokulu bir sıvıdır (15). Sıvı dansitesi 1.505 g/ml, molekül ağırlığı 200.053 gramdır (16).

Sevofluran, metallerle reaksiyona girmez. Lastik ve plastiklerde az çözünür. Böylece anestezi devrelerinde az ekstraksiyona uğrar. Kimyasal olarak 36 aylık stabil bir raf ömrüne sahiptir. 30°C altındaki oda sıcaklığında ağzı kapalı şişelerde saklanmalıdır.



Şekil 1. Sevofluranın kimyasal formülü

Kaynama noktası (760 mmHg’da: 58.5 °C), izofluran, enfluran, halotan ile eşit, desflurandan yüksektir (14,15). Sevofluran klinik olarak anlamlı konsantrasyonlarda patlayıcı değildir. Su buhar basıncı (24/25 °C’de: 197 mmHg) desflurandan düşük, halotan, izofluran, enfluran ile denktir (15,16).

Düşük kan/gaz partisyon katsayısı; alveolar anestezik konsantrasyonun hassas kontrolüne, indüksiyonda alveolar anestezik konsantrasyonun hızlı yükselmesine ve anesteziden hızlı derlenmeye olanak sağlamaktadır (15).

Sevofluran, özel olarak sevofluran için kalibre edilmiş, vaporizatörle uygulanmaktadır. Anestezi sırasında verilen sevofluran konsantrasyonları da bu sayede bilinmektedir.

Tablo 1. Volatil anesteziğin 37 °C’deki doku partiyon katsayıları (15)

Ajan	Kan/Gaz	Beyin/Kan	Kas/Kan	Yağ/Kan
Nitröz oksit	0,47	1,1	1,2	2,3
Halotan	2,4	2,9	3,5	60
Isofluran	1,4	2,6	4,0	45
Desfluran	0,42	1,3	2,0	27
Sevofluran	0,65	1,7	3,1	48

2.1.2. Farmakokinetik Özellikleri ve Metabolizması

İnhalasyon anesteziğin tam etki mekanizması bilinmemektedir. Temel olarak gama aminobütirik asit reseptörleri ve potasyum kanallarına giden sinyalleri artırarak, asetilkolin, glutamat veya N-metil-D-aspartik asit yolları üzerinden merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi üzerinde etkisini gösterir (17,18). Anesteziden derlenme, kullanılan anesteziğin beyin dokusundaki konsantrasyonun azalmasına bağlıdır. İnhaler anesteziğin biyotransformasyon, deri yoluyla kayıp veya akciğere atılımla elimine edilebilirler (15).

Tüm inhalasyon anesteziğinde olduğu gibi sevofluranda da eliminasyonda en önemli yol alveollerdir. Dehalojenizasyon ve oksidehalojenizasyon başlıca reaksiyonlardır. İndüksiyonu hızlandıran faktörlerin çoğu derlenmeye hızlandırır (15). Yüksek taze gaz akımı, düşük anesteziğin devre hacmi, artmış ventilasyon, yüksek serebral kan akımı ile alveoller atılım artmaktadır (15).

Absorbe edilen sevofluranın %5’inden azı biyotransformasyonla elimine olur. Karaciğer mikrozomal enzim P-450 (2E1 izoform) tarafından gerçekleştirilir (15,19). Son ürün olarak inorganik florür, heksafloroizopropanol [HFIP] ve karbondioksit (veya tek karbonlu bir fragman) oluşur (19). HFIP karaciğerde glukronik asit ile hızlıca konjuge edilir ve renal yolla atılır. Bu faz II reaksiyon volatil anesteziğin içinde sevoflurana özeldir (20-23).

Sevofluran, güçlü bazlar içeren (Sodyum Hidroksit, Potasyum Hidroksit gibi) karbondioksit absorbanları (sodalime, baralime) ile karıştırıldığında veya ısıtıldığında, egzotermik reaksiyon sonucu absorbanların içindeki bazlar indirgenmekte ve Compound A [CpA] gibi toksik alkenler oluşmaktadır (15,24). Düşük akışlı gaz akımı,

sıcaklık artışı, absorbanların su içeriğinin azalması, absorban olarak baralime kullanılması ve yüksek sevofluran dozları CpA oluşumunu arttırmaktadır (15). CpA'nın sıçanlarda doza bağlı böbrek hasarına ve ölüme neden olabileceği de bulunmuştur (24,25).

İnhalasyon anestezikleri uygulanırken karbondioksit absorbanları kurumaya bırakılmamalıdır. Kuru karbondioksit absorbanı ile etkileşip önemli miktarlarda metanol, formaldehit ve karbon monoksit solunum devresinde tespit edildiği bildirilmiştir (26).

2.1.3. Farmakodinamik Özellikleri

Sevofluranın diğer inhaler anestezik ajanlara göre düşük kan/gaz partiyon katsayısına sahip olması; indüksiyon sırasında alveoler anestezik konsantrasyonun hızlı yükselmesini ve anesteziden hızlı derlenmeyi sağlar. Meteroja ve ark. (27), 3 ay-15 yaş arasında 120 hasta ile yaptıkları çalışmada, hastaların sevofluran ile çabuk uyandıklarını, derlenme ünitesinden erken gönderildiğini bildirmişlerdir. Hızlı derlenme sayesinde ayaktan anestezi gerektiren işlemlerde de yaygın kullanılmaktadır.

Sevofluranın hoş kokusu sayesinde laringospazm, apne, nefes tutma, öksürük gibi respiratuar komplikasyon riski düşüktür ve bu sayede çocuklarda ve erişkinlerde maske ile indüksiyona izin vermektedir (13,15).

2.1.4. Sevofluranın Antiinflamatuvar Etkileri

Son yıllarda sevofluranın antiinflamatuvar etkinliğini araştıran çalışmalar gündemdedir. Tek akciğer ventilasyonu ile açık akciğer cerrahisi geçiren hastalarda propofol ile sevofluranın antiinflamatuvar etkisinin karşılaştırdığı bir çalışmada, her iki grupta da inflamatuvar mediatörlerin arttığı, propofol grubunda proinflamatuvar (IL-6, IL-8) mediatörlerin, sevofluran grubunda ise antiinflamatuvar mediatör olan IL-10'daki artışın daha fazla olduğu gösterilmiştir (P tocnik ve ark. (5)). Araştırmacılar sevofluranın antiinflamatuvar özelliğinin mekanizmasını tam açıklayamamakla birlikte, bu etkiyi antiinflamatuvar sitokinleri artırıp, proinflamatuvar sitokinleri azaltma yoluyla yapmış olabileceğini savunmuşlardır.

Ratlarda, yara yerinin inhaler sevoflurana maruz kalma süresinin yara iyileşmesi üzerindeki etkisine bakılan deneyde, tam kat deri kesisi yapılan deneklerin

yara yerlerine 1, 4 ve 8 saat süre sevofluran uygulanmıştır. Sevofluran, 8 saat maruz kalan grup da diğer gruplara göre tip 1 kollajen sentezini azaltarak, transforming growth factor-beta ve fibroblastik büyüme faktörü salıverilmesini daha fazla arttırarak yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını etkilediği gösterilmiştir (28). İyileştirici etkilerinin, mikrodolaşımı düzelten, oksijen ve besin alımını arttıran ve inflamatuvar mediatörleri azaltan vazodilatör etkisi ile olduğu düşünülmektedir.

2.1.5. Sevofluranın Antibakteriyel Etkileri

Volatil ajanların antibakteriyel etkinlikleriyle ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur. Martinez-Serrano ve ark. (29), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının bakteriyel süspansiyonlarını, sıvı sevofluran ve izoflurana maruz bıraktığı çalışmada, her iki ajan için de patojenlere karşı in-vitro antibakteriyel etki göstermiştir. Yazarlar, sevofluranın geleneksel antibiyotiklerle benzer yolları kullanmadığını ve bakterilerin direnç mekanizmalarını ortadan kaldırarak bakterisidal etkinlik gösterdiğini öne sürmektedir.

Rueda-Martinez ve ark. (30), karaciğer nakli sonrası ameliyat bölgesinde ağrılı, çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonuna ek olarak *Staphylococcus aureus* süperenfeksiyonu gelişen bir hastada yara yerinin sıvı sevofluran ile irrigasyonu sonrasında yara yerinin iyileştiğini ve kapandığını bildirmiştir. Yazarlar, sevofluranın direkt antimikrobiyal ve lokal analjezik etkisinin bu iyileşmede etkili olduğunu öne sürmektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda, gram pozitif bakterilerdeki peptidoglikan tabakasının anestezik maddenin difüzyonuna engel olabileceğini ve gram negatif bakterilerin inhalasyon ajanlarının antimikrobial etkisine daha duyarlı olduğu savunmaktadır (5,30).

Yine ratlarda *E. Coli'nin* makrofajlar tarafından alınmasında sevofluranın etkisine bakılan başka bir çalışmada, sevofluranın makrofajlardaki nitrik oksit sentaz aktivitesini ve bakteri fagositozunu arttırarak bakterisidal özellik gösterdiğini bulmuşlardır (31).

2.2. DERİ VE YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, epidermis, dermis ve deri altı dokuların mikroorganizmalarla istilasıdır. Enfeksiyona bağlı inflamatuvar yanıtın klasik belirtileri

birinci yüzyılda Celsus tarafından sıcaklık artışı, kızarıklık, şişme ve ağrı olarak tanımlanmıştır (32). Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, impetigo gibi hafif enfeksiyonlardan nekrotizan fasiit gibi ciddi, hayatı tehdit eden enfeksiyonlara kadar geniş bir klinik spektrumla seyredebilir (33).

Deri vücudun en büyük organıdır ve mikroorganizmalara karşı yapısal bir engel görevi görmektedir (34). Sağlıklı deri, stafilokok, korinebakter, propiyonibakter ve maya gibi birçok türden oluşan mikrobiyal flora ile kolonize olmuştur. Normal flora, patojen mikroorganizmalara karşı koruyucudur, ancak yanık, ülser ve travma gibi nedenlerle patojenlerin kolonizasyonuna karşı koyamayabilir.

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu, doğrudan derinin hasar görmesiyle olabileceği gibi vücudun herhangi bir yerindeki enfeksiyondan kaynaklanan toksinlere bağlı veya sistemik hastalığın deri belirtisi şeklinde de karşımıza çıkabilir (35).

2.2.1. Etiyoloji ve Epidemiyoloji

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının dünya üzerinde en sık etkeni *Staphylococcus aureus* [*s.aureus*]’dur. Diğer sık görülen patojenler *Escherihia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* [*P.aeruginosa*] ve *Enterococcus*’dur (36,37).

2.2.1.1. Staphylococcus aureus

Stafilokoklar gram pozitif, küre şeklinde, sporsuz, genellikle kapsülsüz, fakültatif anaerobik bakterilerdir. İdeal üreme sıcaklıkları 30-37 °C’dir.

Doğada yaygın olarak bulunan stafilokoklar, insan deri ve mukozasında normal florada bulunan fırsatçı patojenlerdir. Dünya çapında her yıl ciddi, invaziv enfeksiyonlara sebep olmaktadır (38). *S.aureus* enfeksiyonları genellikle asemptomatik kolonizasyondan veya daha nadir olarak hastane kaynaklı transferden oluşmaktadır (39).

Enfeksiyon oluşumu, epitel bütünlüğünün bozulmasıyla konakçı savunmasından etkili bir şekilde kaçmasına bağlıdır. *S.aureus* bunu hücrel ve humoral bağışıklık sistemini yüksek miktarda uyararak, kapsüllü apseler veya biyofilm oluşturarak sağlar (39). Ayrıca kan dolaşımından dokulara nötrofil geçişini,

nötrofil aktivasyon ve kemotaksisini inhibe ederek konakçı savunmasından korunmaktadır.

S.aureus enfeksiyonları, metisilin direnci ortaya çıkmaya başladığından beri artmış mortalite ve morbidite ile beraberdir (40). Tedavide antibiyotik direnci sorunu, tüm dünyada etkili tedaviler için alternatiflerin aranmasına neden olmaktadır (41).

2.3. YARA İYİLEŞMESİ

Cilt, deri altı yağ ve dermal adiposit tabakası dahil olmak üzere epidermis ve dermisten oluşan karmaşık bir yapıdır. Vücudu dış ortamdan koruyan birincil savunma bariyeri görevi görmektedir. Bu savunma konakçı-mikrobiyota şeklinde kommensal mikroorganizmalarla desteklenmektedir (42). Yara iyileşmesi, tüm yüksek organizmaların hayatta kalması için önemli bir süreçtir. Derideki tam kat yaralar, kan kaybını, alttaki dokuların yabancı partiküllere maruz kalmasını ve patojenlerle kontaminasyonunu önlemek için hızlıca onarılmalıdır. Yara iyileşmesinin altında yatan hücresel ve moleküler mekanizmaların anlaşılması, onarım ve rejenerasyon sürecine etki edilmesine ve hızlandırılmasına izin verecektir. Yara onarımı klasik olarak 4 aşama ile açıklanabilir; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve matürasyon (43).

Tablo 2. Yara iyileşmesinin aşamaları (43)

İyileşme fazları	Hasar sonrası süre	Görevli hücreler	Rolü
Hemostaz	Hemen	Trombositler	Pıhtılaşma
İnflamasyon	1-4 gün	Nötrofiller, makrofajlar	Fagositoz
Proliferasyon	4-21 gün	Makrofaj, keratinosit, fibroblast	Defekti onarma, yeniden fonksiyon kazandırma
Matürasyon	21 gün- 2 yıl	Fibrosit	Gerilim kuvvetini sağlama

2.3.1. Hemostaz

Doku hasarı sonrası ortama hızlıca sitokinler salıverilir. Bölgedeki hemostazı ve iyileşme sürecindeki kompleks olayları yönlendirirler. İlk olarak kan damarları hızlıca kasılır ve vasküler hasardan kaynaklanan kan kaybı önlenmeye çalışılır (44).

Yarayı aşırı kanamadan, dehidratasyondan ve enfeksiyondan korumak amaçlanmaktadır.

Hemostaza ve pıhtılaşmaya katkı yapan esas eleman trombositlerdir. Vasküler subendotelyal tabaka ile karşılaştıklarında aktive olmaktadır. Glikoprotein VI gibi trombosit reseptörleri, hücre dışı matriks proteinleri (fibronektin, kollajen, von Willebrand faktörü) ile etkileşerek damar duvarına yapışırlar. Trombin, trombosit aktivasyonunu tetikleyerek konformasyonel değişiklik sonucu, pıhtılaşmayı güçlendiren granüllerin salıverilmesine neden olur. Fibrin, fibronektin, vitronektin ve trombospondinden oluşan çözünmeyen pıhtı (eskar) oluşur (45). Oluşan eskarın öncelikle amacı aşırı kanamayı önlemektir. Bunu sağlarken dolaşımdaki immün hücreleri de yakalayarak yaralanma bölgesine geçişlerine yardımcı olarak iyileşmenin ilk basamağını oluştururlar.

Erken onarım aşamasında en çok bulunan hücre tipi olan trombositler, fagositoz yetenekleri ile bakteriyel enfeksiyonun erken inhibisyonunda da aktif rol oynar (44). Yeterli pıhtı oluştuğunda, pıhtılaşma süreci sona erer ve tromboz önlenir. Pıhtılaşmayı durduran, trombosit agregasyonunu inhibe eden prostasiklin, trombin inhibisyonu yapan antitrombin III ve pıhtılaşma faktörlerini parçalayan protein C'dir (45).

2.3.2. İnflamasyon

İlk pıhtılaşma sonrası koagülasyon faktörleri aktive olmaktadır. Vazodilatasyonla birlikte vasküler permeabilite artar ve proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salıverilmesi ile nötrofil, monosit ve makrofajlar yaralanma bölgesine gelirler (46).

Yaralanmadan sonra erken dönemde IL-1, TNF- α ve bakterilerden salınan lipopolisakkarit [LPS] endotoksinler gibi kemoatraktanlar, nötrofilleri hasarlı bölgeye çekerler (47). Nötrofiller, fagositoz yetenekleri, reaktif oksijen radikallerini ortama bırakmaları, proteolitik enzimleri ve antimikrobiyal peptitleri ile nekrotik dokuyu ve patojenleri uzaklaştırırlar (48). Enfeksiyon yokluğunda ise birkaç gün içinde sayıları yara yerinde azalmaktadır.

Dolaşımdaki monositler yara dokusuna gelince makrofajlara farklılaşırlar ve LPS, interferon-gama [IFN- γ] gibi proinflamatuvar mediatörler tarafından uyarılırlar. Serbest oksijen radikalleri, inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörlerini serbest bırakarak onarıcı sürecin başlamasını sağlamaktadırlar (49). Makrofajlar, yaralanmadan 72 saat sonra hakim olan hücrelerdir. Bakterilerin, ölü doku ve hücrelerin ve proinflamatuvar hücrelerin temizlenmesini sağlarlar. Çalışmalarda, makrofajların kan damarlarının stabilizasyonu ve yeniden şekillenmesinde de önemli rolü olduğu görülmüştür (50). Anjiyogenetik büyüme faktörü salıverilmesiyle yeni damar oluşumunu başlatmaktadırlar. Granülasyon dokusu gelişimi yeni damar oluşumuna bağlıdır ve yaklaşık 5.günde başlar. Bu aşamanın başlaması için oksijenizasyon ve beslenme şarttır.

Yara yerlerindeki makrofajların ve nötrofillerin baskın varlığı, diğer miyeloid hücrelerin yara onarımındaki önemini azaltmaktadır. Son çalışmalar, lokal T hücrelerinin erken yaralanma tepkisi için kritik olduğunu, dolaşımdaki T hücrelerinin ise inflamasyonu çözmek için toplandığını ortaya koymaktadır (51).

İnflamatuvar yanıt çok sayıda iç ve dış faktörden etkilenir. Boniakowski ve ark. (52), diyabetik farelerde yaptığı çalışmada, kontrolsüz ve aşırı inflamasyonun, doku zedelenmesini teşvik ettiği ve iyileşmeyi geciktirdiğini göstermişlerdir.

2.3.3. Proliferasyon (epitelizasyon ve kontraksiyon)

İyileşmenin proliferatif fazı, makrofajların, fibroblastların, keratinositlerin ve endotel hücrelerinin neden olduğu yara kapanması, matriks birikimi ve anjiyogenez ile karakterizedir. 5-21. günlerde kapsamlı bir aktivasyonları vardır.

Keratinositler, yaralanmadan 12 saat sonra mekanik gerilme ve elektriksel gradiyentteki değişiklikler, hidrojen peroksit, patojenler, büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından aktive edilirler. Sonrasında epidermal tabakayı yeniden oluşturmak için epitelizasyonu başlatırlar (53). Keratinositler, bazal membranı tamamen oluşturunca epidermisi katmanlandırmak ve yenilemek için farklılaşmaya uğrarlar (54).

Fibroblastlar, geçici fibrinden zengin matriksin granülasyon dokusu ile değiştirilmesini sağlamaktadırlar. Trombosit, endotelial hücreler ve makrofajlardan

salınan transforming growth factor-beta [TGF- β] ve platelet derived growth factor [PDGF] molekülleriyle uyarılırlar. Bu moleküller, fibroblastları ya matriks proteinlerini oluşturması için pro-fibrotik olmaya ya da yara yerinde kasılmayı sağlayan miyofibroblastlara dönüşmesine neden olarak dermal onarıma farklı şekillerde yardımcı olmaktadır (55). Fibroblastlar, matriks metalloproteinaz [MMP]'ları üreterek geçici matriksi bozar ve onu fibronektin, olgunlaşmamış kollajenler ve proteoglikanlar açısından zengin bir granülasyon dokusuyla değiştirirler (56). Oluşan granülasyon dokusu hem yeni kan damarlarının oluşumunu hem de ekstrasellüler matriksin birikmesini sağlayan yapı iskelesi görevi görmektedir.

Yara iyileşmesi için kritik olan anjiyogenez, oluşan yeni kılcal damarlar ile besinlerin yara dokusuna iletilmesine ve fibroblastların çoğalmasına katkıda bulunur. Başlangıçta yara, vasküler perfüzyon kaybı nedeniyle hipoksiktir, ancak yeni oluşan vasküler ağ ile perfüzyon sağlanır. Anjiyogenez, hipoksi ile indüklenebilir faktör, siklooksijenaz-2 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü [VEGF] ile başlatılır (57). Mikrovasküler endotelyal hücreler, çoğalır, yara yatağına göç eder ve tübüler ağlar geliştirerek yeni damarlar oluşturmaya başlarlar. Makrofajlar da bu süreçte aktif rol oynar. Yoğun fibrin ağını parçalamak için proteazları üretir ve endotel migrasyonu için kemotaktik faktörleri salgılar. Ayrıca gereksiz oluşan damarları fagosite ederek aşırı vaskülarizasyonu önlemiş olurlar (58).

2.3.4. Matürasyon

Yeniden şekillenme, jelatinöz ve yumuşak yapıdaki tip III kollajenin daha sıkı olan tip I kollajene dönüşmesi ile oluşur. Fibroblastlar bu fazın ana hücreleridir ve fibroblastlardan sentezlenen kollajen bu fazın esas bileşenidir (59).

Fibroblastlar, ilk fazlarda oluşan fibrin pıhtısını hyalüronik asit, fibronektin ve proteoglikanlar ile olgun kollajen fibrillerine dönüştürürler. Proteoglikanlar, çapraz bağlı kollajen fibrillerinin oluşmasını sağlar ve hücre göçü için kanal görevi görür (60). Ayrıca hyaluronik asit ile ekstrasellüler matriks [ECM]'in esnek yapısına katkıda bulunmaktadır. Fibronektin, fibrine bağlanarak yarayı dolduran kan pıhtısının stabilize olmasını sağlar ve kollajen matriksi oluşturmak için çerçeve görevi görmektedir (61).

Normal bir yetişkin cildi %80 tip I kollajen, %10 tip III kollajenden oluşur. Granülasyon dokusunda hakim olan kollajen ise tip III kollajendir (61). İyileşme ilerledikçe granülasyon dokusundaki tip III kollajen tip I kollajene dönüştürülmüş olur. Bu dönüşümle beraber skar dokusunun gerilme kuvveti de artmaya başlar. Yaralı dokudaki kollajen fibrilleri büyük paralel demetler oluşturmaktadır. Normal dokuda ise fibriller sepet dokuması şeklinde organize olmuştur. Bu fark nedeniyle yaranma sonrası skar dokusu, yaranma öncesi gücün yalnızca %80 kadarını sağlar (62). Ayrıca TGF- β ve mekanik gerilme ile miyofibroblastlar uyarılır. Miyofibroblastlar, alfa-düz kas aktini ile lokal yapışma ve kontraksiyon kuvveti sağlar (63). Myofibroblastlar, desmozomlar ile hem birbirlerine hem de matriks fibrillerine bağlanarak oluşan skar dokusunun kontraksiyonundan sorumludurlar. Elastin ise cilt elastikiyetini korumak için elastin liflerini biçimlendirir (64).

Yara dokusundaki bu değişimler ve zamansal sıralı düzen, kollajen yıkımı ve sentezi arasındaki ince bir dengeye bağlıdır. Kollajen yıkımı, makrofajlar, granüositler ve fibroblastlar tarafından salgılanan matriks metalloproteinaz [MMP] enzimi ile olur. Bu enzimlerin aktivitesi, inhibitör faktörleri ile sıkı ilişkilidir. Yara iyileşme yanıtı, fibroblastlar, makrofajlar ve endotelial hücreler apoptoza uğradığında azalmaya başlar. Zamanla kapillerin büyümesi durur, yara bölgesine kan akımı azalır ve metabolik aktivite yavaşlar (56).

Tüm bu evrelerin sonunda tamamıyla olgunlaşmış skar dokusu gelişir ve yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusunun da birikmesi ile yara iyileşmesi tamamlanır.

Yara iyileşme sürecinin fazları incelendiğinde, büyüme faktörleri ve sitokinlerin hücreler arası iletişimi sağladığı görülmüştür. Büyüme faktörleri, hedef hücre reseptörlerine bağlanarak göç, çoğalma, farklılaşma gibi mesajları ileten özelleşmiş polipeptit moleküllerdir (65). Sitokinler ise hücreler arası önemli sinyalleri taşıyan, immün sistem hücreleri tarafından salgılanan, hücresel ve humoral bağışıklık sisteminde immünomodülatör olarak görev alan küçük proteinlerdir.

Tablo 3. Yara iyileşmesinde görev alan önemli sitokinler (66)

Sitokin	Hücre Kaynağı	İşlevi	Yara Tipi	
			Akut	Kronik
Proinflamatuar sitokinler				
TNF- α	PMNL, makrofaj	İnflamasyon, reepitelizasyon	Artmış seviye	Artmış seviye
IL-1	PMNL, monosit, makrofaj, keratinosit	İnflamasyon, fibroblast kemotaksisi, kollajen sentezi	Artmış seviye	Artmış seviye
IL-2	T lenfosit	Artmış fibroblast infiltrasyonu ve metabolizması		
IL-6	PMNL, makrofaj, fibroblast	Inflamasyon, reepitelializasyon, fibroblast proliferasyonu	Artmış seviye	Artmış seviye
IL-8	T lenfosit	Inflamasyon, makrofaj ve PMNL kemotaksisi; reepitelializasyon,	Artmış seviye	Artmış seviye
IFN- γ	T lenfosit, makrofaj	Makrofaj ve PMNI’leri aktive eder, kollajen sentezi ve çapraz bağlanmayı geciktirir, kollajenaz aktivitesini artırır		
Antiinflamatuvar sitokinler				
IL-4	T lenfosit, bazofil, mast hücreleri	TNF- α , IL-1, IL-6 üretimi, fibroblast çoğalması ve kollajen sentezi inhibisyonu		
IL-10	T lenfosit, makrofaj, keratinosit	TNF- α , IL-1, IL-6 üretimi, makrofaj ve PMNL aktivasyon ve inhibisyonu		

PMNL: Polimorfonükleer lökosit; IFN- γ : İnterferon gama.

3. MATERİYAL METOD

3.1. ETİK KURUL

Bu çalışma, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (Tarih: 01.07.2022, Toplantı No: 0071) alındıktan sonra, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nın işbirliği ile gerçekleştirilmiştir. Kullanılacak denekler Saki Yenili Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilmiş, cerrahi işlemler 6343/2 sayılı kanuna, Helsinki Hayvan Hakları Bildirgesine uygun olarak yapılmıştır.

3.2. DENEY HAYVANLARI

Deneyssel çalışmada, 250-300 gram ağırlığında, 10-12 haftalık, erkek, Vistar Albino cinsi 18 adet rat kullanıldı. Hayvanlar her kafeste bir rat olacak şekilde hayvan laboratuvarının standart uygulamalarına göre barındırıldı. Denekler standart laboratuvar besinleri ile beslenilerek, gece gündüz siklusları korunarak, 37°C de sabit sıcaklık kontrolü sağlanarak 15 gün tutuldu. 5-15. günler arasında güneşirı yara pansumanı yapıldı. 15. günde yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi.

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI

Ratlar her grupta 6 rat olacak şekilde rastgele olarak 3 gruba ayrıldı: Deney grubu, sham grubu ve kontrol grubu. Gruplar sham grubu (n=6) Grup S, kontrol grubu (n=6) Grup K, deney grubu (n=6) Grup D olacak şekilde adlandırıldı. Ratların kuyrukları numara ve harf ile etiketlendi.

3.4. SEVOFLURAN'IN HAZIRLANMASI

Sıvı halindeki sevofluran (Sevorane %100 250 ml. inhalasyon çözeltisi, Abbvie Laboratories, Illinois, USA) enjektöre çekildi. Kullanılacak sevofluran dozu daha önceki çalışmalar (4, 67) referans alınarak seçildi: Bu çalışmalarda yara yeri için

önerilen doz 1 ml/ cm² olduğu için 1ml/cm olarak düşünüldü ve çalışmamızdaki 3 cm'lik cilt insizyonu için 3 mililitre likit sevofluran kullanıldı.

3.5. ENFEKTE YARA MODELİ OLUŞTURULMASI

Temmuz 2022 – Ağustos 2022 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında toplanan kan, derin trakeal aspirasyon, püy, ameliyat materyali, boğaz salgısı, yara, bronkoalveolar lavaj, torasentez mayi, balgam, idrar, kateter ve dren mayiyi içeren klinik örneklerden izole edilen ve Phoenix otomatik bakteri tanımlama sistemiyle (BD Diagnostic Instrument Systems, Franklin Lakes, NJ) tanımlanan *S. aureus* bakteri örnekleri çalışmada kullanılmak üzere kanlı agar (Merck 1.10886) besiyerine tek koloni ekimi yapıldı. Gözle yapılan incelemeyle kontaminasyon şüphesi olan petriler ayrıldı. Örnekler gram boyama, katalaz, koagülaz ve DNaz testleriyle teyit edildi. 37 °C de 24 saat inkübasyon süresi beklendi. Bakterilerin miktarının belirlenmesi için 10 kat seri seyreltme yöntemi kullanıldı ve her dilüsyondan 100 uL petri kaplarına ayrıldı. Ekilecek bakteri miktarı yaklaşık 2.0×10^7 cfu/mL olacak şekilde standardize edildi ve 1 ml %0,9 serum fizyolojik (Polifleks %0,9 izotonik sodyum klorür, 100 ml, Polifarma) ile dilüe edilerek oluşturulan kesi yerine enjektörle inoküle edildi (68).

3.6. DENEYSEL ÇALIŞMA MODELİ

Ratlar, ketamin (Ketalar© 500 mg/10 ml enjeksiyonluk çözelti, Pfizer) 50mg/kg ve ksilazin hidroklorid (Alfazyn %2, Alfasan Internationa, Holland) 10 mg/kg intramusküler enjeksiyon yapılarak uyutuldu. Ekstremitte çekme yanıtı ve kornea refleksi kontrol edildikten sonra sırt bölgesi elektrikli tıraş makinası ile tıraş edildi. Cerrahi saha povidon iyot ile silinip 2 dakika beklendi, ardından steril gazlı bez ile kurulandı, steril cerrahi örtülerle örtüldü. Sonrasında deneklerin sırt bölgesinde 3 cm uzunluğunda cilt insizyonu açıldı. Önceden hazırlanmış olan *S. aureus* bakteri kolonileri yara tabanına inoküle edildi. Günlük enfeksiyon oluşum takibi yapıldı. Enfeksiyon durumu değerlendirilirken ödem oluşumuna, kızarıklığa, ısı artışına ve püy gelmesine bakıldı. Enfeksiyon oluşana kadar, tüm gruplarda, yara yerlerine herhangi bir işlem yapılmadı. 5. gün enfeksiyon oluşumu gözlemlendi. Bu aşamadan sonra Grup D'ye 3 ml sıvı sevofluran (1 ml/cm) emdirilmiş spanç ile Grup K'ye 3 ml %0.9'luk

serum fizyolojik emdirilmiş spanç ile pansuman yapıldı. Sevofluran emdirilmiş spançlar sevofluran uçana kadar uygulayıcının eli ile yaranın üzerinde tutuldu. Günaşırı bu pansumanlar tekrarlandı. Grup S'ye ise işlem yapılmadı. Tüm deneklerden 5.,10. ve 15. günlerde dokuda sitokin düzeylerinin çalışılması amacı ile yara çevresinden steril şartlar altında doku örneği alındı.



Şekil 2. Cildin povidon iyotla temizlenmesi ve steril kalemle işaretlenmesi



Şekil 3. Cilt, cilt altı dokuyu içeren 3 cm uzunluğunda insizyon açılması



Şekil 4. Bakterilerin kesi yerine ekilmesi

3.7. DOKU SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ÇALIŞILMASI

3.7.1. Enzim-linked Immunsorbent Assay (ELISA) Kitlerinin İnceleme Yöntemi

Çalışma için alınan deri doku örnekleri steril Eppendorf tüpe alındıktan sonra buz üzerine yerleştirilerek Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'na nakledildi. Doku örnekleri analiz edilinceye kadar -80°C'de saklandı. Deri doku örnekleri önce soğuk ortamda PBS ile yıkandı ve ağırlıkları tartıldıktan sonra 1/10 oranında (ağırlık/volüm) PBS ile homojenize edildi. Homojenat 10.000 g'de 5 dakika santrifüjlendi.

Süpernatant örneklerinde IL-1 β , IL-10 ve TNF- α konsantrasyonları Enzim-linked Immunsorbent Assay (ELISA) yöntemi ile analiz edildi.

3.7.2. Enzim-linked Immunsorbent Assay

Doku örneklerinde IL-1 β (USCN, Wuhan, Hubei, PRC, Product No. SEA563Ra, 1 kutu 96 test), IL-10 (USCN, Wuhan, Hubei, PRC, Product No. SEA056Ra, 1 kutu 96 test) ve TNF- α (USCN, Wuhan, Hubei, PRC, Product No. SEA133Ra, 1 kutu 96 test) düzeyleri ELISA yöntemi ile (Wuhan, USCN Business Co., Ltd. Wuhan, Hubei, PRC) kitleri kullanılarak ölçüldü. Çalışmada Elx50 otomatik strip yıkayıcısı (BioTek Instruments, USA) kullanıldı ve ölçümler ELx800 Marka ELISA okuyucusu (BioTek Instruments, USA) ile yapıldı.

Bu ELISA kitleri metod olarak Sandviç-ELISA'yı kullanmaktadır. Kitle sağlanan mikro ELISA plate'i IL-1 β , IL-10 ve TNF- α 'ye özgül antikorla örtülmüştür. Standart ve örnekler 100 μ L mikroELISA plate kuyucuklarına eklendi ve 37°C'de 60 dakika beklendikten sonra özgül antikorla bağlanır. Sonrasında kuyucuklardan sıvılar boşaltıldı ve biotinli antikor 100 μ L eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Serbest kısımlar 3 kez yıkandı. Avidin-Horseradish peroksidaz konjugatı 100 μ L içine eklendi. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. 5 kez yıkamadan sonra her kuyucuğa 90 μ L substrat solüsyonu eklendi ve 37°C'de 15 dakika inkübe edildikten sonra artık kuyucuklar mavi renkli göründü. Sülfürik asit- Stop solüsyonu 50 μ L eklenerek enzim-substrat reaksiyonu sonlandırıldı ve renk sarıya döndü.

Optik dansite (OD) spektrofotometrik olarak 450 nm $\pm$ 2 nm dalga boyunda ölçülür. OD değeri IL-1 β , IL-10 ve TNF- α konsantrasyonları ile doğru orantılıdır. Standart eğrisiyle örneklerin OD'si kıyaslanarak IL-1 β , IL-10 ve TNF- α konsantrasyonları belirlendi.

Doku örneklerinin total protein konsantrasyonu turbidimetrik yöntem ile Cobas c 501 cihazında (Roche Diagnostics, USA) Roche-Cobas marka kitiyle 505 nm'de yapıldı ve sonuçlar mg/L olarak elde edildi. IL-1 β , IL-10 ve TNF- α konsantrasyonları total protein konsantrasyonuna oranlanarak hesaplandı.

3.8. HİSTOLOJİK İNCELEME

3.8.1. Örneklerin Hazırlanması

Çalışmanın 15. gününde yarayı ve etrafındaki sağlam dokuyu içeren doku örnekleri %10 nötral tamponlu formalin solüsyonuna alınarak oda sıcaklığında doku tespiti yapıldı. %10 tamponlu formalin ile sabitlenen örneklerden rutin doku takibi işlemi uygulanarak parafin bloklar hazırlandı, her birinden 6-8 mikron kalınlığında ikişer kesit alındı. Alınan kesitlerin biri Masson'un Trichrom boyası ile, diğeri Hematoksilen Eozin boyasıyla boyandı.

3.8.2. Kullanılan Malzeme ve Solüsyonlar

3.8.2.1. Tamponlu (%10) formalin tespit solüsyonu

Formalin, formaldehitin sudaki %37'lik çözeltisidir. Dokuyu işlemler sırasında değişikliğe uğramayacak mikroanatomik yapı içerisinde tutarak dokuyu tespit etmek için kullanılır.

3.8.2.2. Masson'un trikrom boyası

Formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş veya donmuş doku bölümlerinin kollajen bağ dokusu liflerinin boyanması ve daha sonrasında mikroskop ile görüntülenmesine olanak sağlar. Bu çalışmada fibrozis bu şekilde değerlendirildi.

3.8.2.3 Hematoksilen-eozin boyası

Hematoksilen-Eozin (HE) kombinasyonu, çekirdek ve sitoplazma ayırımında kullanılan, histopatolojik boyalar içinde en geniş kullanımı olan boyadır (69). Çalışmada akut/kronik inflamasyon, granülasyon dokusu bu boyama ile değerlendirildi.

3.8.3. Histopatolojik Değerlendirme

Yara kesitlerinde yara dokusu ve etrafındaki bağ dokusu alanları; aktif inflamasyon (polimorfonükleer lökosit [PMNL] infiltrasyonu ve ödem şiddetine bakılarak), kronik inflamasyon (lenfosit ve plazmosit infiltrasyonuna bakılarak), granülasyon dokusu (damarlanma artışı, dev hücreler ve fibroplaziye bakılarak) ve fibrozis (fibroblastik aktivite artışı ve kollajenizasyond bakılarak) açısından değerlendirildi. Skorlama yapılırken 0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=şiddetli şeklinde semi kantitatif yöntemle derecelendirildi.

Alınan doku örneklerine ait kesitler, DFC7000T dijital kamera bağlı Leica DM6B (Wetzlar-Germany) mikroskop ile değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapıldı. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk testiyle, varyansların homojenliği varsayımının sağlanıp sağlanmadığı ise Levene testiyle incelendi. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli sayısal değişkenler için medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edilirken ordinal değişkenler denek sayısı ve (%) olarak gösterildi. Gruplar içerisinde izlem zamanlarına göre biyokimyasal ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı değişimin olup olmadığı Friedman testiyle değerlendirildi. Friedman test sonuçlarının önemli bulunması durumunda Dunn-Bonferroni testi kullanılarak farka neden olan izlem zaman(lar)ı tespit edildi. Gruplar arasında biyokimyasal ölçümler ile histopatolojik göstergeler yönünden farkların önemliliği ise Kruskal Wallis testi ile incelendi. Kruskal Wallis test sonuçlarının önemli bulunması durumunda Dunn-Bonferroni testi kullanılarak farka neden olan grup(lar)ı tespit edildi. Aksi belirtilmedikçe $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. İMMÜNOKİMYASAL BULGULAR

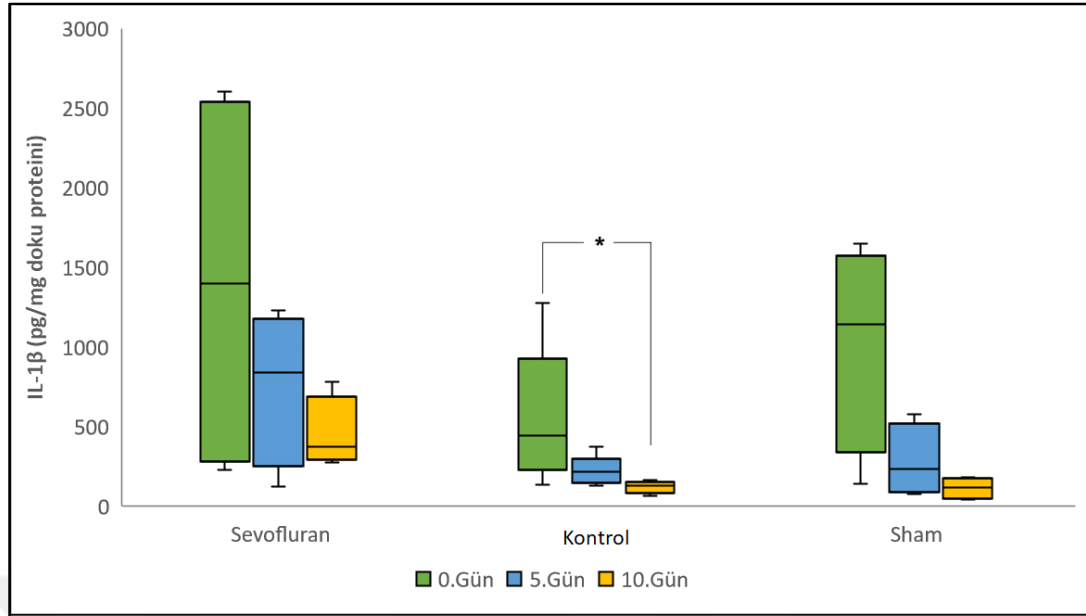
Sevofluran, kontrol ve sham grubundaki deneklerde, deneyin 5. günü enfeksiyon oluştuğu gözlemlendi. Enfeksiyon oluşumunun 0. günü, 5. günü ve 10. günü alınan doku örneklerinden IL-1 β , IL-10 ve TNF- α düzeyleri Şekil 5-7 ve Tablo 4-7’de görülmektedir.

Tablo 4. Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-1 β düzeyleri

	0.gün	5.gün	10.gün	p-değeri †
Sevofluran	1400,6 (284,2-2538,3)	841,4 (254,5-1180,6)	372,1 (292,1-691,4)	0,472
Kontrol	445,7 (229,5-926,7) ^A	219,4 (150,2-297,7)	128,6 (81,6-154,9) ^A	0,016
Sham	1141,5 (338,9-1576,9)	234,5 (86,9-520,7)	116,5 (47,6-178,3)	0,174
p-değeri ‡	0,428	0,224	0,018	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) olarak ifade edildi. † Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. ‡ Her bir izlem zamanı içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. ^A: 0.gün ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,012$).

Gruplar arasında 0.gün IL-1 β düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,428$). Sevofluran grubunun izlem zamanları arasında IL-1 β düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,472$). Kontrol grubunun izlem zamanları arasında IL-1 β düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,016$) 10.gündeki IL-1 β düzeyi 0.güne göre daha düşük idi ($p=0,012$). Sham grubu içerisinde de izlem zamanları arasında IL-1 β düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,174$). Gruplar arası IL-1 β düzeyleri karşılaştırıldığında; Bonferroni düzeltmesine göre 5. ve 10.gün arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,224$ ve $p=0,018$).



Her bir kutunun ortasındaki yatay çizgi ortanca değeri (50.yüzdelik) gösterirken kutuların alt ve üst kenarları sırasıyla; 25. ve 75.yüzdelik değerleri ifade etmektedir.*Kontrol grubu içerisinde 0.gün ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,012$).

Şekil 5. Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-1 β düzeylerine ait kutu-çizgi grafik

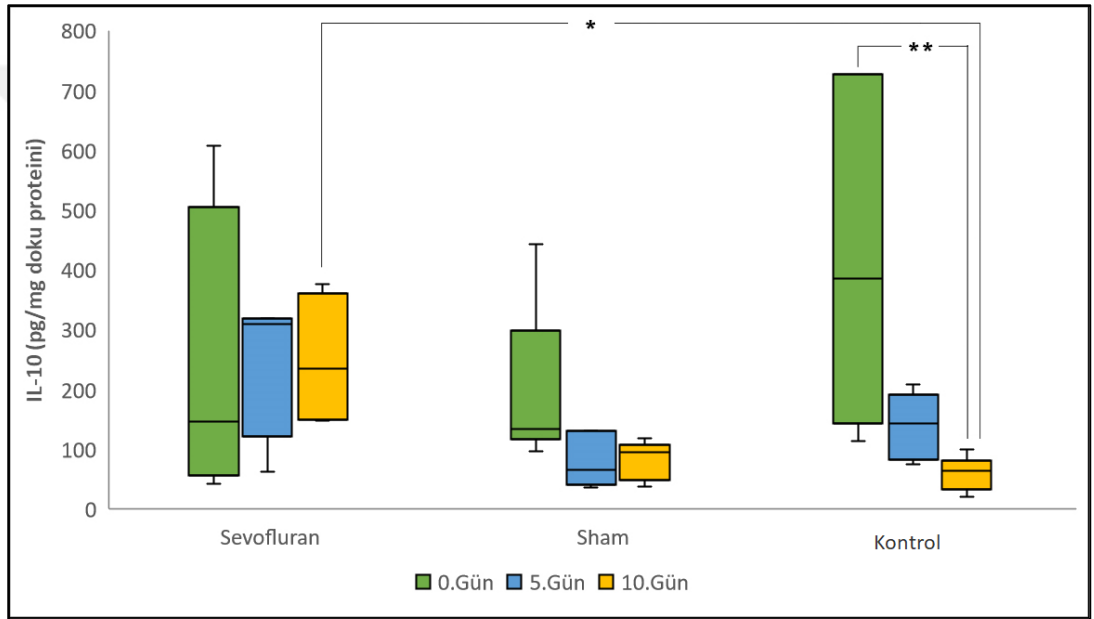
Tablo 5. Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-10 düzeyleri

	0.gün	5.gün	10.gün	p-değeri †
Sevofluran	146,4 (56,6-504,6)	308,9 (121,8-318,8)	235,6 (149,9-360,9) ^a	0,779
Sham	133,5 (116,7-298,4)	66,2 (40,6-130,9)	94,7 (48,1-107,7)	0,135
Kontrol	386,1 (143,2-726,8) ^A	143,6 (83,5-190,9)	64,8 (33,2-80,5) ^{A,a}	0,009
p-değeri ‡	0,368	0,068	0,009	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. ‡ Her bir izlem zamanı içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. ^A: 0.gün ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,012$). ^a: Sevofluran grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,007$).

Gruplar arasında 0.gün IL-10 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,368$). Sevofluran grubu içerisinde izlem zamanları arasında IL-10

düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,779$). Sham grubu içerisinde de izlem zamanları arasında IL-10 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,135$). Kontrol grubu içerisinde ise izlem zamanları arasında IL-10 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,009$) 10.gündeki IL-10 düzeyinin 0.güne göre daha düşük idi ($p=0,012$). Gruplar arasında 5.gün IL-10 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,068$). Öte yandan, gruplar arasında 10.gün IL-10 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,009$) kontrol grubunun 10.gün IL-10 düzeyi sevofluran grubuna göre daha düşük idi ($p=0,007$).



Her bir kutunun ortasındaki yatay çizgi ortanca değeri (50.yüzdelik) gösterirken kutuların alt ve üst kenarları sırasıyla; 25. ve 75.yüzdelik değerleri ifade etmektedir. * 10.günde Sevofluran grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,007$). ** Kontrol grubu içerisinde 0.gün ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,012$).

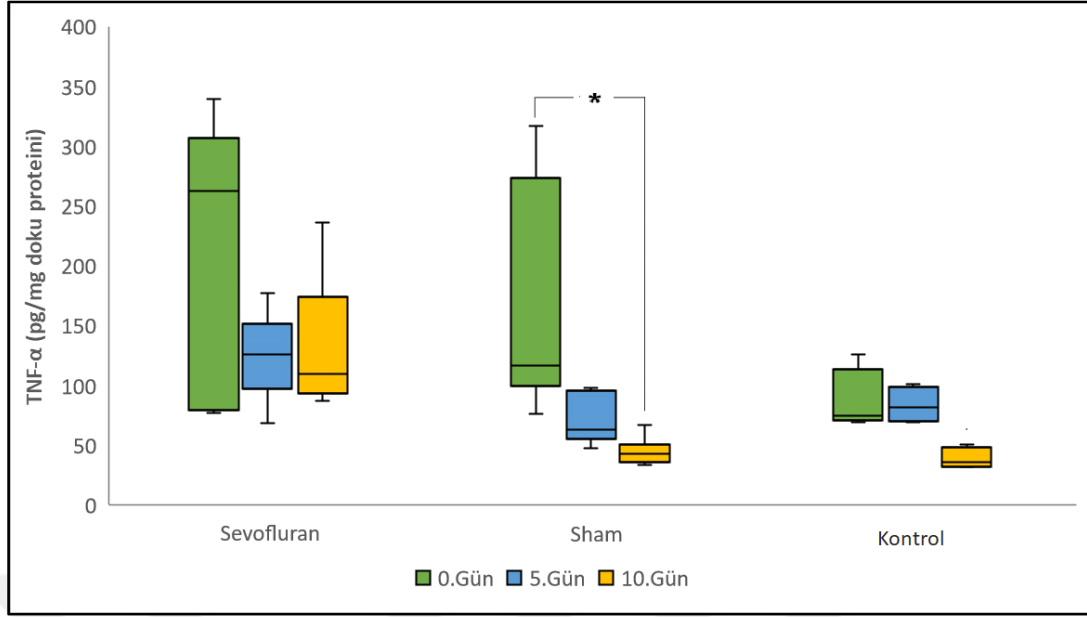
Şekil 6. Gruplara ve izlem zamanlarına göre IL-10 düzeylerine ait kutu-çizgi grafik

Tablo 6. Gruplara ve izlem zamanlarına göre TNF- α düzeyleri

	0.gün	5.gün	10.gün	p-değeri †
Sevofluran	262,6 (79,6-307,0)	125,9 (97,0-151,3)	109,7 (93,5-174,0)	0,311
Sham	116,6 (99,8-273,4) ^A	63,2 (55,2-95,5)	42,9 (36,2-50,7) ^A	0,002
Kontrol	91,0 (73,3-177,3)	70,6 (47,1-93,7)	36,1 (28,7-42,5)	0,034
p-değeri ‡	0,281	0,019	0,0168	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. ‡ Her bir izlem zamanı içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. ^A: 0.gün ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,002$).

Gruplar arasında 0.gün TNF- α düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,281$). Sevofluran grubu içerisinde izlem zamanları arasında TNF- α düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,311$). Sham grubu içerisinde izlem zamanları arasında TNF- α düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,002$) 0.gündeki TNF- α düzeyin 0.güne göre daha düşük idi ($p=0,002$). Kontrol grubu içerisinde de izlem zamanları arasında TNF- α düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,034$). Gruplar arasında 5.gün TNF- α düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,019$).



Her bir kutunun ortasındaki yatay çizgi ortanca değeri (50.yüzdelik) gösterirken kutuların alt ve üst kenarları sırasıyla; 25. ve 75.yüzdelik değerleri ifade etmektedir.* Sham grubu içerisinde 0.gün ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,002$).

Şekil 7. Gruplara ve izlem zamanlarına göre TNF- α düzeylerine ait kutu-çizgi grafik

Tablo 7. İzlem zamanlarına göre biyokimyasal ölçümlerde meydana gelen değişimler

	Sevofluran	Sham	Kontrol	p-değeri †
IL-1β				
5.gün – 0.gün	-585,9 (-2011,5 – 650,7)	-161,6 (-705,1 – -35,2)	-1044,1 (-1284,4 – 113,2)	0,786
10.gün – 0.gün	-969,4 (-2005,3 – 107,2)	-306,9 (-835,7 – -109,6)	-1089,4 (-1437,3 – -188,3)	0,730
10.gün – 5.gün	-383,5 (-574,9 – 37,6)	-108,4 (-173,8 – -36,6)	-127,0 (-342,5 – -30,2)	0,381
IL-10				
5.gün – 0.gün	43,4 (-239,2 – 237,6)	-91,0 (-218,0 – -20,2)	-263,5 (-611,9 – 47,8)	0,449
10.gün – 0.gün	5,2 (-230,5 – 264,0)	-51,6 (-247,4 – -12,1)	-306,6 (-647,8 – -118,1)	0,076
10.gün – 5.gün	36,2 (-123,0 – 83,7)	-8,1 (-34,1 – 47,0)	-58,2 (-165,8 – -15,0)	0,166
TNF-α				
5.gün – 0.gün	-113,5 (-181,2 – 8,6)	-40,5 (-221,6 – -12,3)	-27,1 (-117,9 – 19,1)	0,700
10.gün – 0.gün	-169,7 (-189,6 – 71,7)	-69,3 (-237,4 – -49,9)	-55,1 (-134,5 – -39,0)	0,810
10.gün – 5.gün	17,5 (-62,1 – 63,1)	-18,6 (-36,1 – -15,4)	-30,9 (-61,5 – -14,9)	0,343

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Gruplar arasında sırasıyla; 0.güne göre 5.gün, 0.güne göre 10.gün ve 5.güne göre 10.gün IL-1 β düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları açısından Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı yoktu ($p>0,0167$).

Gruplar arasında sırasıyla; 0.güne göre 5.gün, 0.güne göre 10.gün ve 5.güne göre 10.gün IL-10 düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları açısından da Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı yoktu ($p>0,0167$).

Tüm dönemler için grupların TNF- α düzeylerindeki değişimler karşılaştırıldığında, Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı yoktu ($p>0,0167$).

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

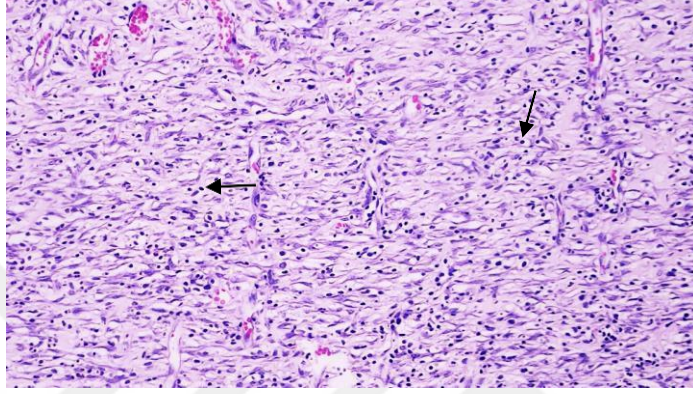
Deney grubu, Kontrol grubu ve Sham grubunda; aktif inflamasyon (PMNL infiltrasyonu, ödem, abse formasyonu), kronik inflamasyon (lenfosit, plazmosit infiltrasyonu), granülasyon dokusu (damarlanma artışı, dev hücreler, fibroplazi) ve fibrozis (fibroblastik aktivite artışı/kollajenizasyon) şiddetinin dağılımı Tablo 8’de özetlenmiştir.

Tablo 8. Histopatolojik bulguların dağılımı ve derecesi

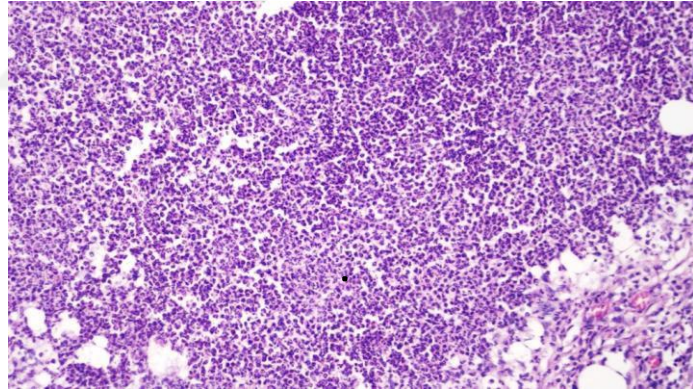
Sevofluran (n=6)	Aktif inflamasyon	Kronik inflamasyon	Granülasyon	Fibrozis
D1	2	1	2	3
D2	1	2	1	3
D3	1	2	2	2
D4	2	1	2	3
D5	2	1	1	3
D6	1	2	1	2
Kontrol (n=6)				
K1	2	2	2	2
K2	2	0	0	1
K3	3	2	2	2
K4	3	2	2	2
K5	3	2	2	3
K6	3	1	2	2
Sham (n=6)				
S1	3	2	2	3
S2	2	2	2	1
S3	2	2	2	1
S4	3	2	2	1
S5	3	2	2	2
S6	3	2	2	2

D: Sevofluran grubu, **K:** Kontrol grubu, **S:** Sham grubu, **Histopatolojik Skorlama:** 0= Yok, 1= Hafif, 2= Orta, 3= Şiddetli

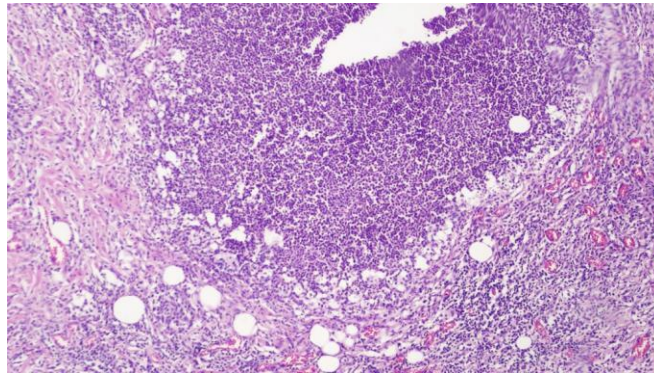
Aktif inflamasyon, mikroskopik değerlendirmede fotoğraflanarak Şekil 8 ve 9’da gösterilmiştir. Akut inflamasyonda gördüğümüz PMNL hücrelerinin sevofluran grubunda daha az olduğu hafif aktif inflamasyon (Şekil 8) görölmektedir. Sham grubunda ise PMNL hücrelerinin sayıca fazla olduğu şiddetli aktif inflamasyon görölmektedir (Şekil 9). Ayrıca şiddetli akut inflamasyonda gördüğümüz abse formasyonu Şekil 10’da görölmektedir.



Şekil 8. Sevofluran grubunda daha az PMNL ’nin göröldüğü hafif akut inflamasyon (H&E boyama X200). Oklar ile gösterilen PMNL hücreleridir



Şekil 9. Sham grubunda daha fazla PMNL ’nin göröldüğü şiddetli akut inflamasyon (H&E boyama X200)



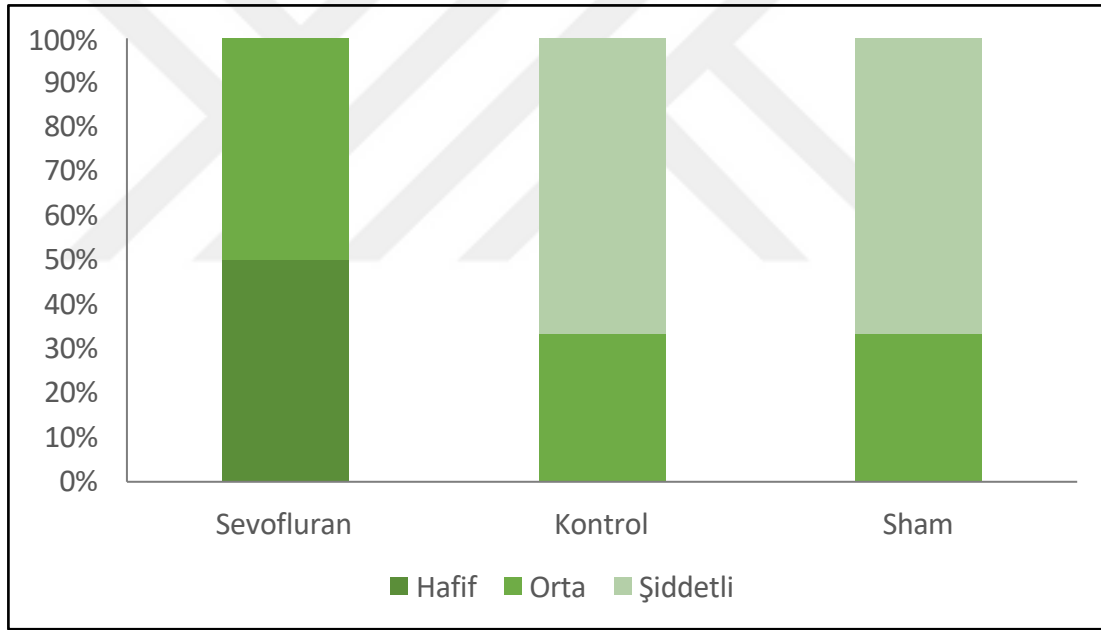
Şekil 10. Sham grubunda görölen abse formasyonu (H&E boyama X200)

Gruplar arasında aktif inflamasyon şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,010$); söz konusu farka neden olan durum, Sevofluran grubundaki aktif inflamasyon şiddetinin Kontrol ve Sham gruplarına göre daha düşük skorlarda seyretmiş olması idi ($p=0,025$) (bkz Şekil 11).

Tablo 9. Aktif inflamasyon açısından gruplara göre dağılımları

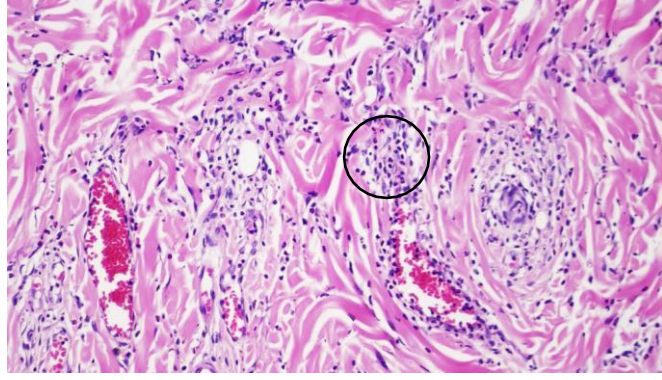
	Sevofluran	Kontrol	Sham	p-değeri †
Akut inflamasyon				0,010
Hafif	3 (%50,0) ^{a,b}	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
Orta	3 (%50,0)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	
Şiddetli	0 (%0,0)	4 (%66,7) ^a	4 (%66,7) ^b	

† Kruskal Wallis testi. ^a: Sevofluran grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,025$), ^b: Sevofluran grubu ile Sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,025$).

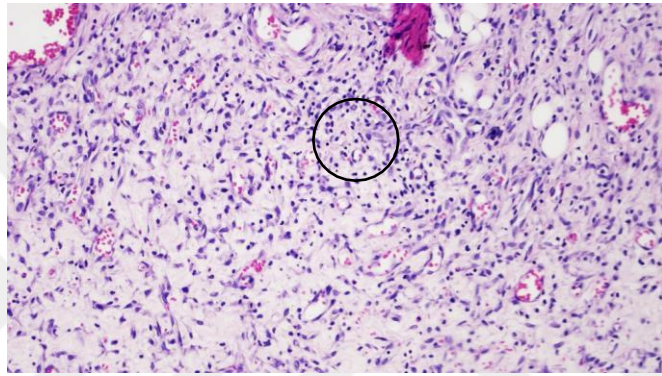


Şekil 11. Gruplardaki aktif inflamasyon şiddetinin dağılımı

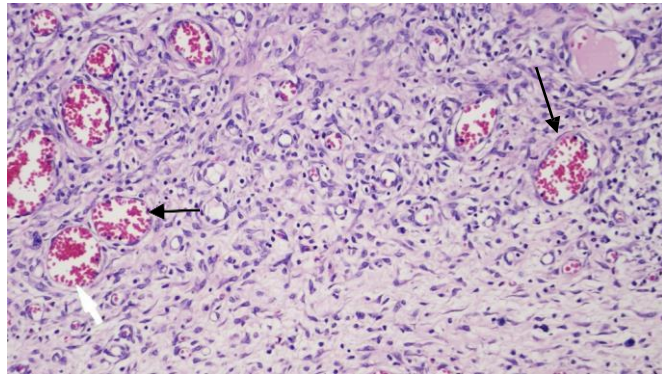
Kronik inflamasyon ve granülasyon oluşumu, mikroskopik değerlendirmede fotoğraflanarak şekil 12-14'te gösterilmektedir. Kronik inflamasyon belirteçlerinden lenfomononükleer (lenfosit) hücrelerin, hafif kronik inflamasyon durumunda daha az (Şekil 12) şiddetli kronik inflamasyonda ise daha fazla sayıda (Şekil 13) olduğu görülmektedir. Granülasyon dokusunda ise yoğun eritrosit bulunduran vasküler yapılar gösterilmektedir (Şekil 14).



Şekil 12. Kontrol grubunda lenfosit sayısının daha az olduğu hafif kronik inflamasyon durumu (H&E boyama X200). Halka içinde lenfosit hücreleri görülmektedir



Şekil 13. Kontrol grubunda lenfosit sayısının daha fazla olduğu şiddetli kronik inflamasyon durumu (H&E boyama X200). Halka içinde lenfosit hücreleri görülmektedir



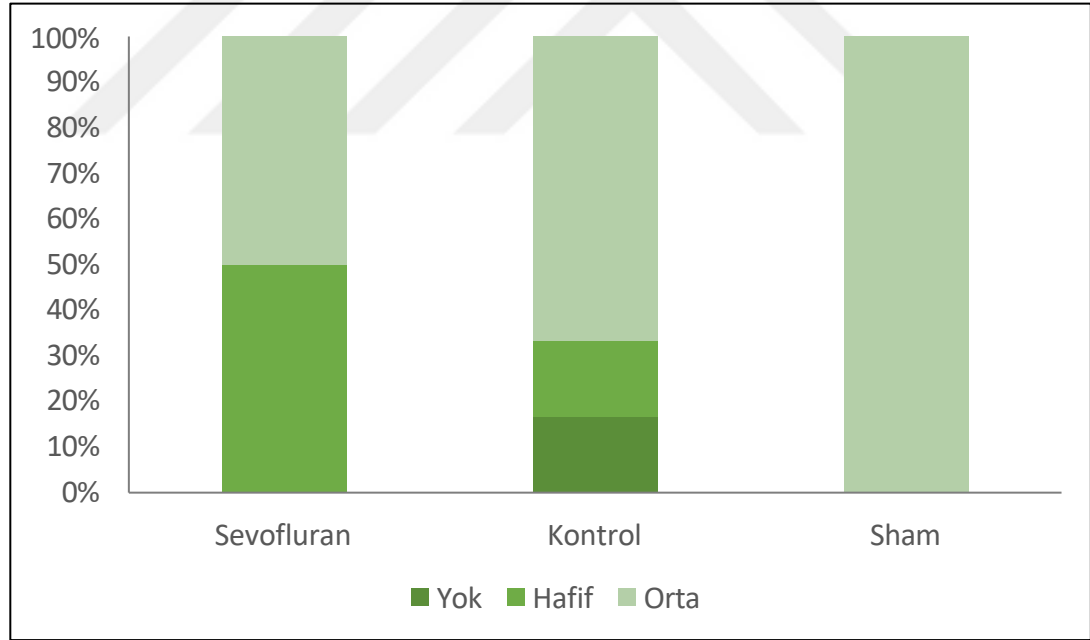
Şekil 14. Sham grubunda granülasyon dokusu (H&E boyama X200). Lümeninde eritrositlerin görüldüğü vasküler yapılar oklar ile gösterilmiştir

Sevofluran grubundaki kronik inflamasyon ve granülasyonun şiddeti Kontrol ve Sham gruplarına göre daha düşük skorlarda seyretmiş olsa da gruplar arasında kronik inflamasyon ve granülasyonun şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (sırasıyla $p=0,184$ ve $p=0,161$) (bkz Şekil 15 ve 16).

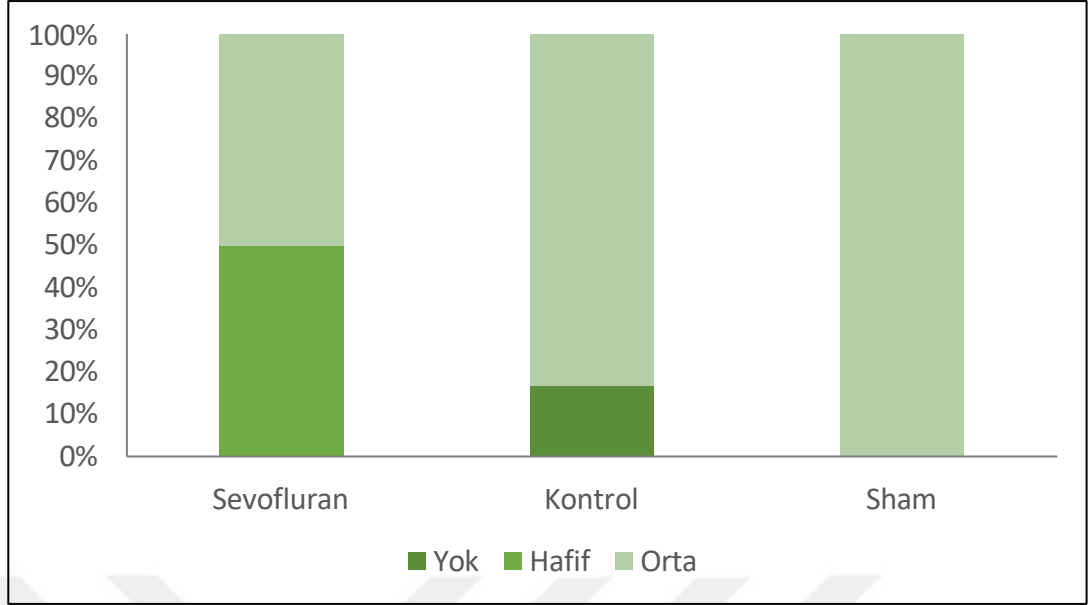
Tablo 10. Kronik inflamasyon ve granülasyon oluşumu açısından gruplara göre deneklerin dağılımları

	Sevofluran	Kontrol	Sham	p-değeri †
Kronik inflamasyon				0,184
Yok	0 (%0)	1 (%16,7)	0 (%0)	
Hafif	3 (%50)	1 (%16,7)	0 (%0)	
Orta	3 (%50)	4 (%66,7)	6 (%100)	
Granülasyon				0,161
Yok	0 (%0)	1 (%16,7)	0 (%0)	
Hafif	3 (%50)	0 (%0)	0 (%0)	
Orta	3 (%50)	5 (%83,3)	6 (%100)	

† Kruskal Wallis testi.

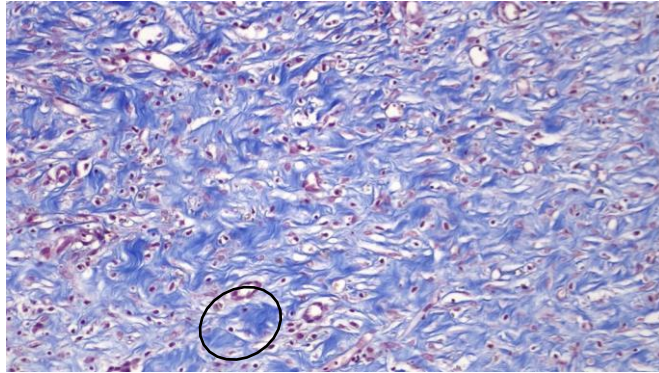


Şekil 15. Gruplardaki kronik inflamasyon şiddetinin dağılımı

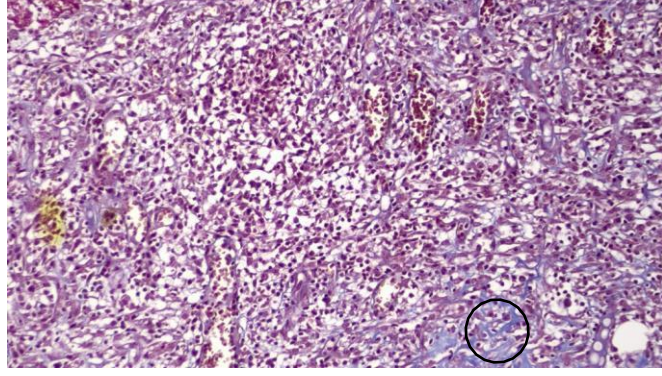


Şekil 16. Gruplardaki granülasyon şiddetinin dağılımı

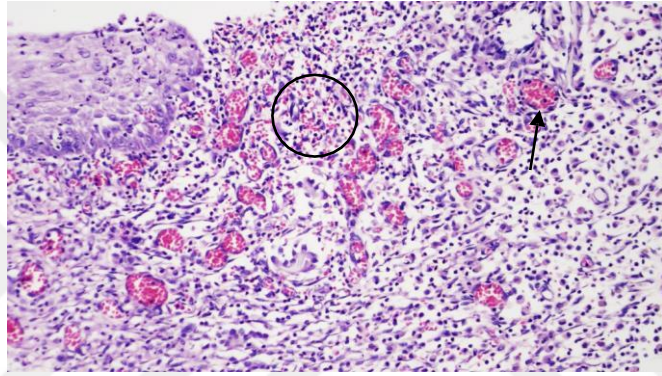
Fibrozis şiddeti, mikroskopik değerlendirmede fotoğraflanarak Şekil 17 ve 18’de gösterilmiştir. Yara altında, dermiste görülen kollajen lifler mavi renkte boyanmış ve sevofluran grubunda diğer gruplara göre daha fazla kollajenin olduğu görülmektedir (Şekil 17). Ayrıca sevofluran grubunda damarlanmanın daha fazla olduğu ve damarların daha dilate, konjesyone ve eritrosit ekstrevasyasyonun fazla olduğu görülmektedir (Şekil 17). Sham grubunda ise daha az vasküler proliferasyon ve eritrosit ekstrevasyasyonun olduğu görülmektedir (Şekil 18).



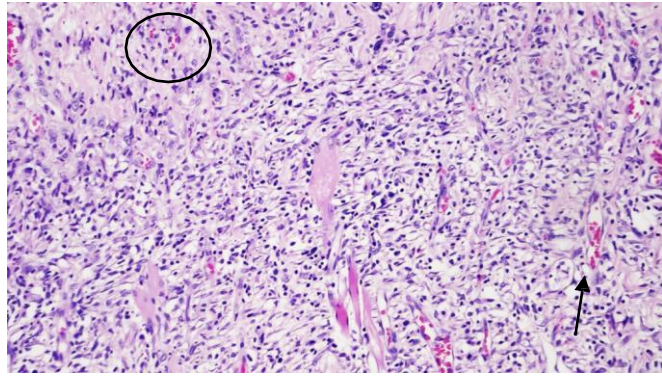
Şekil 17. Sevofluran grubunda fibrozis dokusunun histopatolojik değerlendirilmesi (Masson Trikrom boyama X200). Halka içinde mavi renk ile boyanan kollajen liflerinin daha yoğun olduğu görülmektedir



Şekil 18. Sham grubunda fibrozis dokusunun histopatolojik değerlendirmesi (Masson Trikrom boyama X200). Halka içinde mavi ile boyanan K-kollajen liflerinin daha az olduğu görülmektedir



Şekil 19. Sevofluran grubunda belirgin vasküler proliferasyon ve konjesyon izlenmektedir (H&E boyama X200). Ok ile vasküler yapılar gösterilmiştir. Halka içine alınan bölgede eritrosit ekstrasvazasyonu görülmektedir



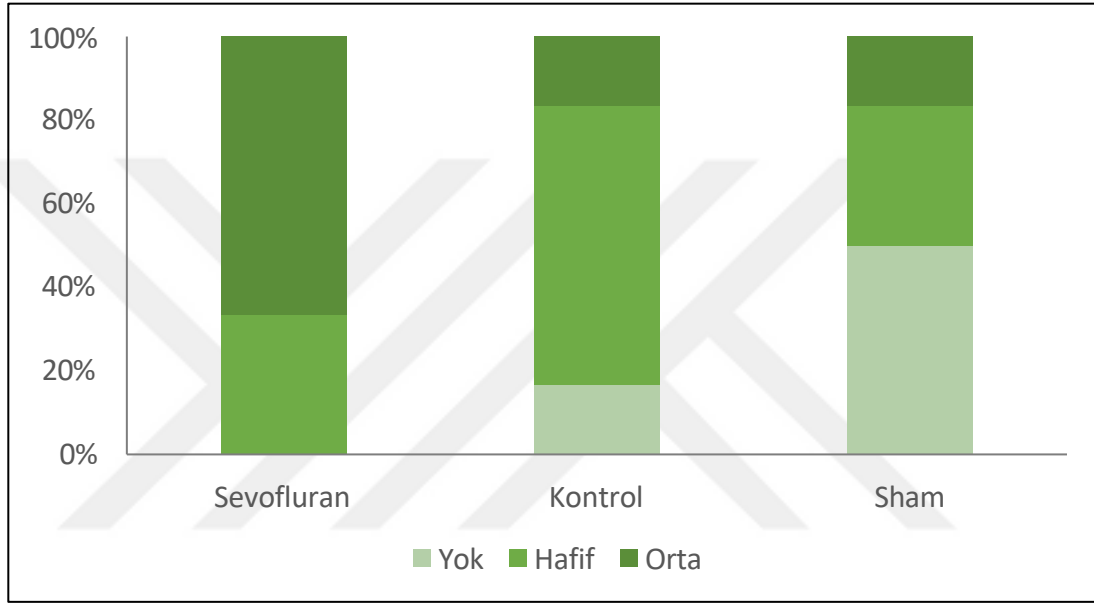
Şekil 20. Sham grubunda vasküler proliferasyon ve eritrosit ekstrasvazasyonu daha düşük olup vasküler yapı ok ile gösterilmiştir (H&E boyama X200). Yuvarlak içinde eritrosit ekstrasvazasyonu görülmektedir

Yine Sevofluran grubundaki fibrozis şiddeti Kontrol ve Sham gruplarına göre daha yüksek skorlarda olmakla beraber gruplar arasında fibrozis şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,068$) (bkz Şekil 21).

Tablo 11. Fibrozis açısından gruplara göre deneklerin dağılımları

	Sevofluran	Kontrol	Sham	p-değeri †
Fibrozis				0,068
Hafif	0 (%0,0)	1 (%16,7)	3 (%50,0)	
Orta	2 (%33,3)	4 (%66,7)	2 (%33,3)	
Şiddetli	4 (%66,7)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	

† Kruskal Wallis testi



Şekil 21. Gruplardaki fibrozis şiddetinin dağılımı

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, ratlarda oluşturulan enfekte yara modelinde topikal sevofluran uygulamasının; histopatolojik olarak kontrol grubuna göre aktif inflamasyon, kronik inflamasyon ve granülasyon şiddetini azalttığını, fibrozis şiddetini arttırdığını gösterdik. İmmünokimyasal olarak çalıştığımız antiinflamatuvar sitokin IL-10'un kontrol grubu içerisinde 10. düzeyinin 0. Güne anlamlı olarak düşük ve sevofluran grubunda kontrol grubuna göre 10. günde daha yüksek olduğunu ve yara iyileşmesini olumlu etkilediğini gözlemledik. Ayrıca kontrol grubu içerisinde 10. gün IL-1 β , sham grubunda ise 10. gün TNF- α düzeyi 0. güne göre anlamlı olarak düşük olmasına rağmen, gruplar arası TNF- α ve IL-1 β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görmedik.

Sevofluran, günümüzde genel anestezinin indüksiyon ve idamesinde yaygın olarak kullanılan bir inhalasyon anestezisidir. Hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde sadece inhalasyon yoluyla kullanım ruhsatı bulunmaktadır. Sevofluran gibi modern volatil anesteziklerin başta kalp, böbrek ve karaciğer olmak üzere çeşitli organları iskemi-reperfüzyon hasarına karşı korumasının dışında son yıllarda bakterisidal etkileri gündeme gelmiştir. Akciğerlerde sepsis kaynaklı inflamatuvar yanıtı azalttığı ve bakterisidal etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (8). Bir rat çalışmasında sevofluranın bu etkisini makrofajlardaki nitrik oksit sentaz aktivitesini ve bakteri fagositozunu arttırarak yaptığı gösterilmiştir (31). Sevofluran ve izofluranın antibakteriyel etkisinin dirençli patojenlerde in-vitro olarak araştırıldığı bir başka çalışmada iki ajanın da konvansiyonel antibiyotiklere dirençli olan patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği ve gram negatif mikroorganizmaların bu ajanlara daha duyarlı olduğu bulunmuştur (29). Sevofluran ve izofluranın antibakteriyel özelliklerinin in-vivo etkileri ise bilinmemektedir.

Son yıllarda topikal sevofluran kullanımının antimikrobiyal ve epitelizan etkisinin olduğunu bildiren vaka serileri mevcuttur (1,4,30,70,71). Topikal olarak yara yerlerine uygulandığında antibakteriyel, antiinflamatuvar ve analjezik etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Periferik nosiseptörlerde ağrı iletimini bloke ettiği, epitelizasyonu hızlandırdığı ve yara iyileşme sürecini kısalttığı bildirilmektedir (70).

Yeterli güvenlik profiline sahip olan ve olgu serilerinde hastalar tarafından iyi tolere edildiği bildirilen topikal sevofluranın antimikrobiyal (4,30), analjezik (3,70), vazodilatasyon (30) ve antiinflamatuvar (4) etkiler ile yara iyileşmesini hızlandırması, yara iyileşmesinde yeni bir alternatif olarak kullanılabileceğini akla getirmektedir.

Literatürde, enfekte yaralara topikal sevofluranın uygulandığı vaka ve vaka serileri mevcutken, bildiğimiz kadarıyla randomize kontrollü çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla enfekte yarada histopatolojik olarak aktif inflamasyon, kronik inflamasyon, granülasyon dokusu ve fibrozis şiddetini incelediğimiz çalışmamızda; aktif inflamasyonu ödem ve PMNL infiltrasyonu ile, kronik inflamasyonu lenfosit ve plazmosit miktarı ile değerlendirdik. Granülasyon şiddetini ise damarlanma artışı, dev hücreler miktarı ve fibrozisi ise fibroblastik aktivite artışı ve kollajenizasyon ile değerlendirdik. Sevofluran grubunda aktif inflamasyonun şiddetini diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak düşük bulduk. İstatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen sevofluran grubunun kronik inflamasyon ve granülasyon şiddetinin görece daha düşük skorlarda, fibrozis şiddetinin ise diğer gruplara göre daha yüksek skorlara sahip olduğu görüldü. Sevofluran grubunda diğer gruplara göre daha az aktif ve kronik inflamasyonun olması, antiinflamatuvar etkisinin olduğunu destekleyen bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Yara iyileşmesinin son fazında yaygın olarak görülen fibroblastlar; granülasyon dokusunun normal dokuya farklılaşmasını sağlar. Bu süreçte; granülasyon dokusundaki tip I kollajenin tip III kollajene dönüşmesi, dokunun kasılması, apoptozis ve skar oluşumu ile doku onarımı tamamlanmış olur (61,62). Levenson ve ark. (72), ratlarda *S.aureus* ile enfekte yara modeli oluşturmuş ve tedavisiz iyileşmenin 28. günde hala devam ettiğini görmüştür. Deneyimizin 15 gün sürdüğü göz önünde tutularak, sevofluran grubunda diğer gruplara göre granülasyon dokusunun azalmış olması ve fibroblastların fazla görülmesi, iyileşmenin maturasyon fazına daha çabuk geçildiğini ve iyileşmeyi hızlandırdığını düşündürmektedir.

Yara iyileşmesinin karmaşık sürecinde, artmış metabolik ihtiyaç anjiyogenez ile desteklenmekte yeni kılcıl damarlar oluşturularak dokunun besin ve oksijen ihtiyacı sağlanmaktadır (57). Sevofluranın omental damarların düz kas hücrelerini gevşeterek vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir (73). Sıvı sevofluran irrigasyonu ile hipereminin görüldüğü vaka raporları da vazodilatasyon etkisini

destekler niteliktedir (1,4,30). Sevofluranın yara yatağında yaptığı bu değişim ile iyileşmeyi olumlu etkilediği düşünülmektedir (30). Biz de histopatolojik bulgularımızda sevofluran grubunda diğer gruplara göre; dilatasyonun, konjesyonun ve eritrosit ekstrevasyasyonun daha belirgin olduğu vasküler yapılanma gördük. Bu bulgular eşliğinde, topikal sevofluranın inflamatuvar yanıtı azaltarak yara yatağında mikrosirkülasyonu iyileştirerek ve epitelizasyonu hızlandırarak iyileşme süresini kısalttığını düşünüyoruz.

Sevofluranın antiinflamatuvar etkinliğini araştıran çalışmalarda mekanizma tam açıklanamamakla birlikte, bu etkiyi antiinflamatuvar sitokinleri (IL-4, IL-10) artırıp, proinflamatuvar sitokinleri (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α) azaltarak yaptığı öne sürülmektedir (5). HJ Lee ve ark. (28), ratlarda oluşturdukları yara modelinde inhaler sevofluranın maruziyet süresinin yara iyileşmesi üzerine etkisini araştırmışlar. Daha uzun süreli maruz kalan grupta tip 1 kollajen miktarının daha az, yara boyutunun daha büyük, biyokimyasal olarak da TGF- β ve fibroblast büyüme faktör [FGF] ekspresyonunun da daha az olduğunu bulmuşlar. Araştırmacılar inhaler sevofluranın maruziyet süresinin sistemik immünsupresan etki ile yara iyileşmesini olumsuz etkilediğini ileri sürmüşlerdir. Biz bu çalışmanın aksine, sıvı sevofluran uygulanan grupta diğer gruplara göre yara yerinde yeni oluşan kollajen miktarının daha fazla olduğunu gördük. Kollajen tiplendirmesi yapmamış olmamıza rağmen sevofluran uygulanan grupta kollajenizasyonun daha fazla olması sevofluranın iyileşmeyi hızlandırdığını göstermektedir. Çalışmamızda, sevofluranı topikal olarak uygulayarak yara yerinde direkt etkisini araştırdık, diğer çalışmada ise inhaler verilerek sistemik etki ile yara yerindeki değişime bakılmıştır. Bu fark sevofluranın kullanım şekliyle alakalı olabilir.

Tek akciğer ventilasyonu sırasında ventile edilmeyen akciğerde sevofluran verilen hastalarda kanda TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeylerinin diğer gruplara göre daha düşük, IL-1 β 'nin ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir (8). Bu çalışma, sevofluranın antiinflamatuvar sitokinleri artırıp, proinflamatuvar sitokinleri azaltarak immünmodülatör rol oynadığını düşündürmektedir. Benzer şekilde, sevofluranın ratlarda serebral iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası proinflamatuvar sitokin olan TNF- α miktarını azaltarak nöral korumayı sağladığı da gösterilmiştir (74). Biz bu çalışmaların aksine proinflamatuvar sitokin olan TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı

bir değişim izlemedik. Bunun nedenleri; sitokin düzeylerinin kan değil doku örneklerinden çalışılmış olması, örnek alım zamanlarımızın farklılığı ve diğer çalışmaların aksine sevofluranı sistemik değil topikal olarak kullanmamız olabilir.

Yara iyileşmesi, otoimmünite ve hemostazda etkili olan antiinflamatuvar sitokin IL-10 konağın patojenlere ve iyileşmeye karşı verdiği aşırı tepkiyi önlemektedir (75). Ratlardaki diyabetik yara modelinde, oral geniposit tedavisi ile IL-10 miktarı artırılıp proinflamatuvar sitokinlerin azaldığı, yara iyileşmesinin hızlandığı gösterilmiştir (76). Benzer şekilde Short ve ark. (77), endojen IL-10'nun yara iyileşmesine katkı sağladığını ve doku onarımını düzenlediğini göstermişler. Çalışmamızda, sevofluran grubunun IL-10 düzeyi diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti. Histopatolojik bulgularımızda da inflamasyon şiddetinin sevofluran grubunda daha az olduğunu görmüştük. IL-10 düzeyinin diğer gruplardan daha yüksek olmasının antiinflamatuvar etki ile immunmodülasyonu sağladığını ve iyileştirici etki gösterdiğini düşünürüz.

Çelik ve ark. (11), sıvı sevofluranı ratlarda yanık yara modelinde uygulamış ve iyileşmeye etkisini değerlendirmişlerdir. Histopatolojik olarak; gruplardaki aktif inflamasyon şiddeti benzerken, sevofluran grubunda kronik inflamasyon şiddeti daha düşük, granülasyon ve fibrozis şiddeti daha yüksek görülmüştür. Kronik inflamasyon ve fibrozis şiddeti açısından benzer sonuçları elde ettiğimiz çalışmamızda, farklı olarak akut inflamasyonun ve granülasyon şiddetinin daha düşük olduğunu gördük. Çalışma süreleri ve uygulama şekli iki çalışma arasında benzer idi. Bu yüzden farka neden olan durumun oluşturulan yara modelinin farkından (enfekte yara) olabilir. Ayrıca çalışmada 0, 7, ve 14. günlerde plazma IL-6, IL-10, TNF- α ve IL-1 β miktarlarına bakılmış ve gruplar arasında anlamlı değişim görülmemiştir. Biz ise IL-10 düzeyinde anlamlı değişim olduğunu gördük. Bu sonucu elde etmemizin sebebi olarak da sitokin düzeyine 5, 10 ve 15. günlerde ve dokuda bakmamız olduğunu düşünürüz. Literatürde ratlarda oluşturulmuş yara modellerinde farklı maddelerin iyileşmeye etkisi doku sitokin miktarına bakılarak değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (78,79). Biz de bu çalışmalardan yola çıkarak sevofluranın topikal kullanıldığında sitokin gen ekspresyonunu üzerindeki etkisini doku düzeyinde bakarak değerlendirdik. Doku düzeyinde bakılan IL-10 miktarının sevofluran grubunda

anlamalı derecede yüksek çıkması sıvı sevofluranın lokal etkinliğinin kanıtsal değerini arttırdığını düşünüyoruz.

Topikal sevofluranın iyileşme üzerindeki analjezik, epitelize edici ve antimikrobiyal etkinliğinin altında yatan mekanizma henüz bilinmemektedir. Sevofluranın yara iyileşmesindeki etki mekanizması açıklanmamış olsa da yukarıda bahsettimiz vaka raporlarında da görüldüğü üzere sinerjik etki ile antibakteriyel, antiinflamatuvar, analjezik ve vazodilatör özelliği ile yara iyileşmesini olumlu yönde etkilemektedir. Nitekim histopatolojik sonuçlarımız da belirgin şekilde inflamatuvar yanıtı azalttığını ve iyileşmeyi hızlandırdığını destekler niteliktedir. Yine immünokimyasal olarak da doku TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmamasına rağmen IL-10 düzeyinin diğer gruplara göre daha yüksek olması da antiinflamatuvar etkisini göstermektedir.

Sevofluran inhalasyonunun sodyum kanal blokajı yoluyla periferik ve merkezi analjezi yaptığı bilinmektedir (80). İnhalasyon yolu haricinde topikal veya subkutan sevofluranın konsantrasyon bağımlı ve geri dönüşümlü lokal ve periferik analjezik etkisinin olduğu da klinik olarak gösterilmiştir (3). Gönüllülerdeki çalışmaların sonuçları topikal sevofluran ile çok hızlı ve kalıcı semptomatik rahatlama olduğu ve yara boyutunun küçüldüğü şeklindedir (81). Hastaların hiçbirinde sistemik yan etki görülmediği ısı artışı ve kaşıntı gibi lokal hafif yan etkiler olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda, ağrı duyusunu ratlarda nesnel sonuçlarla gösterememiş olsak da sevofluran uygulanan gruptaki deneklerin daha hareketli olduğunu, besin alımının daha iyi olduğunu gözlemledik. Bu durumun daha az ağrı hissetmeleriyle ilgili olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmada bu bulguların yanı sıra kısıtlayıcı faktörlerin olduğu da göz ardı edilmemelidir. Ağrı duyusunun değerlendirilmemiş olması, hayvan deneyi etik kurulu gereğince her grup için denek sayısının 6 rat ile sınırlandırılmış olması, deney hayvanlarının bakım sürecindeki teknik sorunlar nedeniyle çalışmanın 15 gün ile sınırlandırılmış olması ve immünokimyasal çalışma kitlerinin yüksek maliyetleri nedeniyle çalışma sürecinde sadece 3 ayrı günde örnek alınabilmiş olması çalışmamızın kısıtlılıkları olarak sayılabilir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak; sevofluranın konvansiyonel kullanımı dışında, topikal olarak kullanılabileceği de literatürde bildirilmektedir. Bununla birlikte sevofluranın topikal yolla kullanımı vaka serileriyle sınırlı olup yüzeysel yaralarda analjezik, antiinflamatuvar ve antibakteriyel etkinliği gözlenmiştir. Bulgularımız, benzer şekilde topikal sevofluranın hem histopatolojik hem de immünokimyasal incelemelerle yara iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda histopatolojik olarak gösterdiğimiz bulgularımız immünokimyasal çalışmalar ve gönüllülerde yapılacak randomize kontrollü çalışmalarla desteklendiğinde sevofluranın gelecekte yara tedavilerinde alternatif ve güvenli bir seçenek olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKÇA

1. Imbernón A, Blázquez C, Puebla A, Churrua M, Lobato A, Martínez M, Aguilar A, Gallego MA. Chronic venous ulcer treatment with topical sevoflurane. *Int Wound J*. 2016 Oct;13(5):1060-2. doi: 10.1111/iwj.12474. Epub 2015 Jul 21. PMID: 26198858; PMCID: PMC7950092.
2. Bátaı I, Kerényi M, Tekeres M. The impact of drugs used in anaesthesia on bacteria. *Eur J Anaesthesiol*. 1999 Jul;16(7):425-40. doi: 10.1046/j.1365-2346.1999.00498.x. PMID: 10457874.
3. Matute E, Rivera-Arconada I, López-García JA. Effects of propofol and sevoflurane on the excitability of rat spinal motoneurons and nociceptive reflexes in vitro. *Br J Anaesth*. 2004 Sep;93(3):422-7. doi: 10.1093/bja/ae217. Epub 2004 Jul 26. PMID: 15277303.
4. Imbernon-Moya A, Ortiz-de Frutos FJ, Sanjuan-Alvarez M, Portero-Sanchez I, Merinero-Palomares R, Alcazar V. Healing of chronic venous ulcer with topical sevoflurane. *Int Wound J*. 2017 Dec;14(6):1323-1326. doi: 10.1111/iwj.12806. Epub 2017 Aug 17. PMID: 28834293; PMCID: PMC7950126.
5. Potočnik I, Novak Janković V, Šostarič M, Jerin A, Štupnik T, Skitek M, Markovič-Božič J, Klokočovnik T. Antiinflammatory effect of sevoflurane in open lung surgery with one-lung ventilation. *Croat Med J*. 2014 Dec;55(6):628-37. doi: 10.3325/cmj.2014.55.628. PMID: 25559834; PMCID: PMC4295075.
6. Dryden MS. Complicated skin and soft tissue infection. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Nov;65 Suppl 3:iii35-44. doi: 10.1093/jac/dkq302. PMID: 20876627.
7. Shaw TJ, Martin P. Wound repair at a glance. *J Cell Sci*. 2009 Sep 15;122(Pt 18):3209-13. doi: 10.1242/jcs.031187. PMID: 19726630; PMCID: PMC2736861.
8. De Conno E, Steurer MP, Wittlinger M, Zalunardo MP, Weder W, Schneiter D, Schimmer RC, Klaghofer R, Neff TA, Schmid ER, Spahn DR, Z'graggen BR, Urner M, Beck-Schimmer B. Anesthetic-induced improvement of the inflammatory response to one-lung ventilation. *Anesthesiology*. 2009 Jun;110(6):1316-26. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181a10731. PMID: 19417610.
9. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000 Apr;117(4):1162-72. doi: 10.1378/chest.117.4.1162. PMID: 10767254.
10. Leong M, Phillips LG. Wound Healing. Townsend MC, Sabiston Textbook of Surgery, 17th Edition, Elsevier U 2004; 183-208. No Title.
11. Çelik, Erdi. Effect of topikal sevofluran use on wound healing in rats. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi*, 2022.
12. Siddiqui BA, Kim PY. Anesthesia Stages. 2022 Mar 9. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 32491528.

13. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012–. Anesthetics, General. 2018 Apr 25. PMID: 31643972.
14. Brown, Burnell Jr., MD, PhD, FRCA sevofluran: Giriş ve Genel Bakış. Anestezi ve Analjezi 81(6S):s 1S-3S, Aralık 1995.
15. Morgan and Mikhail's Clinical Anesthesiology 6th editionpdf by by John F. Butterworth, David C. Mackey JDW.
16. Heijke S and Smith G. Quest for the ideal inhalation anaesthetic agent. BJA: British Journal of Anaesthesia. 1990;64(1):3-6.
17. Deng J, Lei C, Chen Y, Fang Z, Yang Q, Zhang H, Cai M, Shi L, Dong H, Xiong L. Neuroprotective gases--fantasy or reality for clinical use? Prog Neurobiol. 2014 Apr; 115: 210-45. doi: 10.1016/j.pneurobio.2014.01.001. Epub 2014 Jan 15. PMID: 24440817.
18. Miller AL, Theodore D, Widrich J. Inhalational Anesthetic. 2022 Sep 6. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 32119427.
19. Reichle FM, Conzen PF. Halogenated inhalational anaesthetics. Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2003 Mar;17(1):29-46. doi: 10.1053/bean.2002.0265. PMID: 12751547.
20. Kharasch E, Karol M, Lanni C, and Sawchuk R. Clinical sevoflurane metabolism and disposition I: sevoflurane and metabolite pharmacokinetics. Survey of Anesthesiology. 1996;40(2):77.
21. Shiraishi Y & Ikeda K. Uptake and biotransformation of sevo urane in humans: a comparative study of sevo urane with halothane, en ūrane, and iso urane. Journal of Clinical Anesthesiology 1990; 2: 381±386.
22. Hossain D, Fujii K, Yuge O et al. Dose-related sevo urane metabolism to inorganic uoride in rabbits. Hiroshima Journal of Medical Science 1991; 40: 1±7.
23. Sheffels P, Schroeder J L, Altuntas T G, Liggitt H D, and Kharasch E D. Role of Cytochrome P4503A in cysteine s-conjugates sulfoxidation and the nephrotoxicity of the sevoflurane degradation product fluoromethyl-2, 2- difluoro-1-(trifluoromethyl) vinyl ether (compound a) in rats. Chemical Research in Toxicology. 2004;17(9):1177-1189.
24. Ong Sio LCL, Dela Cruz RGC, Bautista AF. Sevoflurane and renal function: a meta-analysis of randomized trials. Med Gas Res. 2017 Oct 17;7(3):186-193. doi: 10.4103/2045-9912.215748. PMID: 29152212; PMCID: PMC5674657.
25. Morio M, Fujii K, Satoh N, Imai M, Kawakami U, Mizuno T, Kawai Y, Ogasawara Y, Tamura T, Negishi A, et al. Reaction of sevoflurane and its degradation products with soda lime. Toxicity of the byproducts. Anesthesiology. 1992 Dec;77(6):1155-64. doi: 10.1097/00000542-199212000-00017. PMID: 1466466.
26. Funk W, Gruber M, Wild K et al. Dry soda lime markedly degrades sevo ūrane during simulated inhalation induction. British Journal of Anaesthesiology 1999;82: 193±198.
27. Meretoja O., Taivainen T., Raiha L., Korpela R., Wirtavuori K: Sevoflurane-Nitrous-oxide or Halothane –Nitrous-oxide for Paediatric Bronchoscopy and Gastroscopy. Br J Anaesth. 1996; 76: 767-771).

28. Lee HJ, Kwon JY, Shin SW, Baek SH, Choi KU, Jeon YH, Kim WS, Bae JH, Choi HJ, Kim HK, Baik SW. Effects of sevoflurane on collagen production and growth factor expression in rats with an excision wound. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010 Aug;54(7):885-93. doi: 10.1111/j.1399-6576.2009.02190.x. Epub 2009 Dec 21. PMID: 20039844.
29. Martínez-Serrano M, Gerónimo-Pardo M, Martínez-Monsalve A, Crespo-Sánchez MD. Antibacterial effect of sevoflurane and isoflurane. *Rev Esp Quimioter*. 2017 Apr;30(2):84-89. Epub 2017 Feb 15. PMID: 28198170.
30. Rueda-Martínez JL, Gerónimo-Pardo M, Martínez-Monsalve A, Martínez-Serrano M. Topical sevoflurane and healing of a post-operative surgical site superinfected by multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and susceptible *Staphylococcus aureus* in an immunocompromised patient. *Surg Infect (Larchmt)*. 2014 Dec;15(6):843-6. doi: 10.1089/sur.2013.079. PMID: 25409329.
31. Gerber TJ, Fehr VCO, Oliveira SDS, Hu G, Dull R, Bonini MG, Beck-Schimmer B, Minshall RD. Sevoflurane Promotes Bactericidal Properties of Macrophages through Enhanced Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Male Mice. *Anesthesiology*. 2019 Dec; 131 (6): 1301-1315. doi: 10.1097/ALN.0000000000002992. PMID: 31658116; PMCID: PMC6856440.
32. Dryden MS. Complicated skin and soft tissue infection. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Nov;65 Suppl 3:iii35-44. doi: 10.1093/jac/dkq302. PMID: 20876627.
33. Moffarah AS, Al Mohajer M, Hurwitz BL, Armstrong DG. Skin and Soft Tissue Infections. *Microbiol Spectr*. 2016 Aug;4(4). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0014-2015. PMID: 27726817.
34. Mims, C., ve ark. "Tıbbi mikrobiyoloji." *Yapı 7.7* (2004).
35. Napolitano LM. Severe soft tissue infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2009 Sep;23(3):571-91. doi: 10.1016/j.idc.2009.04.006. PMID: 19665084.
36. Matthew S. Dryden, Complicated skin and soft tissue infection, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 65, Issue suppl_3, November 2010, Pages iii35–iii44, <https://doi.org/10.1093/jac/dkq302>.
37. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M; SENTRY Participants Group. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis*. 2001 May 15;32 Suppl 2:S114-32. doi: 10.1086/320184. PMID: 11320452.
38. Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2021 Dec;12(1):547-569. doi: 10.1080/21505594.2021.1878688. PMID: 33522395; PMCID: PMC7872022.

39. Desai R, Pannaraj PS, Agopian J, Sugar CA, Liu GY, Miller LG. Survival and transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from fomites. *Am J Infect Control*. 2011 Apr;39(3):219-25. doi: 10.1016/j.ajic.2010.07.005. PMID: 21458684.
40. Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, Holland TL, Fowler VG Jr. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Apr;17(4):203-218. doi: 10.1038/s41579-018-0147-4. PMID: 30737488; PMCID: PMC6939889.
41. Ahmad-Mansour N, Loubet P, Pouget C, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP, Molle V. *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins (Basel)*. 2021 Sep 23;13(10):677. doi: 10.3390/toxins13100677. PMID: 34678970; PMCID: PMC8540901.
42. Takeo M, Lee W, Ito M. Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Jan 5;5(1):a023267. doi: 10.1101/cshperspect.a023267. PMID: 25561722; PMCID: PMC4292081.
43. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Jun;117(7 Suppl):1e-S-32e-S. doi: 10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9. PMID: 16801750.
44. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*. 2009 Sep-Oct;37(5):1528-42. doi: 10.1177/147323000903700531. PMID: 19930861.
45. Zaidi A, Green L. 2019. Hemostaz fiziolojisi . *anestezî. Yoğun Bakım Med*. **20**, 152–158. (10.1016/j.mpaic.2019.01.005).
46. Chen L, Simões A, Chen Z, Zhao Y, Wu X, Dai Y, DiPietro LA, Zhou X. Overexpression of the Oral Mucosa-Specific microRNA-31 Promotes Skin Wound Closure. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 27;20(15):3679. doi: 10.3390/ijms20153679. PMID: 31357577; PMCID: PMC6696114.
47. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013 Mar;13(3):159-75. doi: 10.1038/nri3399. PMID: 23435331.
48. Segel GB, Halterman MW, Lichtman MA. The paradox of the neutrophil's role in tissue injury. *J Leukoc Biol*. 2011 Mar;89(3):359-72. doi: 10.1189/jlb.0910538. Epub 2010 Nov 19. PMID: 21097697; PMCID: PMC6608002.
49. Barman PK, Pang J, Urao N, Koh TJ. Skin Wounding-Induced Monocyte Expansion in Mice Is Not Abrogated by IL-1 Receptor 1 Deficiency. *J Immunol*. 2019 May 1;202(9):2720-2727. doi: 10.4049/jimmunol.1801481. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30910860; PMCID: PMC6478552.
50. Gurevich DB, Severn CE, Twomey C, Greenhough A, Cash J, Toye AM, Mellor H, Martin P. Live imaging of wound angiogenesis reveals macrophage orchestrated vessel sprouting and regression. *EMBO J*. 2018 Jul 2;37(13):e97786. doi: 10.15252/embj.201797786. Epub 2018 Jun 4. PMID: 29866703; PMCID: PMC6028026.
51. Wang Z, Qi F, Luo H, Xu G, Wang D. Inflammatory Microenvironment of Skin Wounds. *Front Immunol*. 2022 Mar 1;13:789274. doi: 10.3389/fimmu.2022.789274. PMID: 35300324; PMCID: PMC8920979.

52. Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, Kunkel SL, Gallagher KA. Macrophage-Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. *J Immunol.* 2017 Jul 1;199(1):17-24. doi: 10.4049/jimmunol.1700223. PMID: 28630109.
53. Bahis LJ, Leavesley DI. 2015. Yeniden epitelizasyon sırasında epitelyal-mezenkimal geçişin MicroRNA düzenlemesi: açık bir yaranın değerlendirilmesi. *Yara Uygulaması. Res.* **23**, 132–142.
54. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg.* 2005 Jun;31(6):674-86; discussion 686. doi: 10.1111/j.1524-4725.2005.31612. PMID: 15996419.
55. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* 2007 Jan-Feb;25(1):9-18. doi: 10.1016/j.clindermatol.2006.09.007. PMID: 17276196.
56. Xue M, Jackson CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015 Mar 1;4(3):119-136. doi: 10.1089/wound.2013.0485. PMID: 25785236; PMCID: PMC4352699.
57. Galamb O, Spisák S, Sipos F, Tóth K, Solymosi N, Wichmann B, Krenács T, Valcz G, Tulassay Z, Molnár B. Reversal of gene expression changes in the colorectal normal-adenoma pathway by NS398 selective COX2 inhibitor. *Br J Cancer.* 2010 Feb 16;102(4):765-73. doi: 10.1038/sj.bjc.6605515. Epub 2010 Jan 19. PMID: 20087348; PMCID: PMC2837560.
58. Stefater JA 3rd, Ren S, Lang RA, Duffield JS. Metchnikoff's policemen: macrophages in development, homeostasis and regeneration. *Trends Mol Med.* 2011 Dec;17(12):743-52. doi: 10.1016/j.molmed.2011.07.009. Epub 2011 Sep 2. PMID: 21890411; PMCID: PMC3225647.
59. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49(1):35-43. doi: 10.1159/000339613. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22797712.
60. Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2009 Mar-Apr;17(2):153-62. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00466.x. PMID: 19320882.
61. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun;77(3):509-28. doi: 10.1016/s0039-6109(05)70566-1. PMID: 9194878.
62. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci.* 2004 Jan 1;9:283-9. doi: 10.2741/1184. PMID: 14766366.
63. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol.* 2020 Sep;10(9):200223. doi: 10.1098/rsob.200223. Epub 2020 Sep 30. PMID: 32993416; PMCID: PMC7536089.
64. Duca L, Floquet N, Alix AJ, Haye B, Debelle L. Elastin as a matrikine. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2004 Mar;49(3):235-44. doi: 10.1016/j.critrevonc.2003.09.007. PMID: 15036263.
65. Krafts KP. Tissue repair: The hidden drama. *Organogenesis.* 2010 Oct-Dec;6(4):225-33. doi: 10.4161/org.6.4.12555. PMID: 21220961; PMCID: PMC3055648.
66. Raziyeve K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of Acute and Chronic Wound Healing. *Biomolecules.* 2021 May 8;11(5):700. doi: 10.3390/biom11050700. PMID: 34066746; PMCID: PMC8150999. Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, Kunkel SL,

- Gallagher KA. Macrophage-Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. *J Immunol*. 2017 Jul 1;199(1):17-24. doi: 10.4049/jimmunol.1700223. PMID: 28630109.
67. Aranke M, Pham CT, Yilmaz M, Wang JK, Orhurhu V, An D, Cornett EM, Kaye AD, Ngo AL, Imani F, Farahmand Rad R, Varrassi G, Viswanath O, Urits I. Topical Sevoflurane: A Novel Treatment for Chronic Pain Caused by Venous Stasis Ulcers. *Anesth Pain Med*. 2021 Feb 24;11(1):e112832. doi: 10.5812/aapm.112832. PMID: 34221949; PMCID: PMC8241821.
 - Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, Kunkel SL, Gallagher KA. Macrophage-Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. *J Immunol*. 2017 Jul 1;199(1):17-24. doi: 10.4049/jimmunol.1700223. PMID: 28630109.
 68. Mendes JJ, Leandro CI, Bonaparte DP, Pinto AL. A rat model of diabetic wound infection for the evaluation of topical antimicrobial therapies. *Comp Med*. 2012 Feb;62(1):37-48. PMID: 22330650; PMCID: PMC3276391
 69. AFIP Laboratory Methods in Histotechnology. Armed Forces Institute of Pathology. American Registry of Pathology; 1992.
 70. Fernández-Ginés FD, Cortiñas-Sáenz M, Agudo-Ponce D, Navajas-Gómez de Aranda A, Morales-Molina JA, Fernández-Sánchez C, Sierra-García F, Mateo-Carrasco H. Pain reduction of topical sevoflurane vs intravenous opioids in pressure ulcers. *Int Wound J*. 2020 Feb;17(1):83-90. doi: 10.1111/iwj.13235. Epub 2019 Nov 25. PMID: 31762163; PMCID: PMC7948686.
 71. Hidalgo-Doniga C, Lopez-Lopez C, Pajero Otero V, Garcia Manzanares ME, Collados-Gomez L, Zaragoza-García I, Aguilar Ortega JM, Del Valle Garzon Delgado M, Perez Garcia S. Use of topical sevoflurane in pressure ulcer treatment in a double-lung transplant patient. *J Tissue Viability*. 2021 Feb;30(1):124-127. doi: 10.1016/j.jtv.2020.07.003. Epub 2020 Aug 22. PMID: 32873458.
 72. Levenson SM, Kan-Gruber D, Gruber C, Molnar J, Seifter E. Wound healing accelerated by *Staphylococcus aureus*. *Arch Surg*. 1983 Mar;118(3):310-20. doi: 10.1001/archsurg.1983.01390030042007. PMID: 6824431.
 73. Thorlacius K, Bodelsson M. Sevoflurane promotes endothelium-dependent smooth muscle relaxation in isolated human omental arteries and veins. *Anesth Analg*. 2004 Aug;99(2):423-8, table of contents. doi: 10.1213/01.ANE.0000121771.78755.F4. PMID: 15271717.
 74. Hwang JW, Jeon YT, Lim YJ, Park HP. Sevoflurane Postconditioning-Induced Anti-Inflammation via Inhibition of the Toll-Like Receptor-4/Nuclear Factor Kappa B Pathway Contributes to Neuroprotection against Transient Global Cerebral Ischemia in Rats. *Int J Mol Sci*. 2017 Nov 6;18(11):2347. doi: 10.3390/ijms18112347. PMID: 29113143; PMCID: PMC5713316.
 75. Saraiva M, Vieira P, O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med*. 2020 Jan 6;217(1):e20190418. doi: 10.1084/jem.20190418. PMID: 31611251; PMCID: PMC7037253.
 76. Chen XY, Jiang WW, Liu YL, Ma ZX, Dai JQ. Anti-inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats. *Pharm Biol*. 2022 Dec;60(1):294-299. doi: 10.1080/13880209.2022.2030760. PMID: 35130118; PMCID: PMC8823683.

77. Short WD, Rae M, Lu T, Padon B, Prajapati TJ, Faruk F, Olutoye OO 2nd, Yu L, Bollyky P, Keswani SG, Balaji S. Endogenous Interleukin-10 Contributes to Wound Healing and Regulates Tissue Repair. *J Surg Res.* 2023 May;285:26-34. doi: 10.1016/j.jss.2022.12.004. Epub 2023 Jan 12. PMID: 36640607; PMCID: PMC9993344.
78. Kim E, Ham S, Jung BK, Park JW, Kim J, Lee JH. Effect of Baicalin on Wound Healing in a Mouse Model of Pressure Ulcers. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 25;24(1):329. doi: 10.3390/ijms24010329. PMID: 36613772; PMCID: PMC9820804.
79. Yin G, Wang Z, Wang Z, Wang X. Topical application of quercetin improves wound healing in pressure ulcer lesions. *Exp Dermatol.* 2018 Jul;27(7):779-786. doi: 10.1111/exd.13679. PMID: 29733461.
80. Duch DS, Rehberg B, Vysotskaya TN. Volatile anesthetics significantly suppress central and peripheral mammalian sodium channels. *Toxicol Lett.* 1998 Nov 23;100-101:255-63. doi: 10.1016/s0378-4274(98)00193-3. PMID: 10049151.
81. Fassoulaki A, Skouteri I, Siafaka I, Sarantopoulos C. Local application of volatile anesthetics attenuates the response to a mechanical stimulus in humans. *Can J Anaesth.* 2005 Nov;52(9):951-7. doi: 10.1007/BF03022057. PMID: 16251561.



