



**SIÇANLARDA İKİNCİ DERECE YANIK
İYİLEŞMESİNDE BORİK ASİT VE ÇİNKO BORAT
KATKILI GRAFEN HİDROJELLERİN
ARAŞTIRILMASI**

Nuh YAYLA

Eczacılık Biyokimya Ana Bilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yasin BAYIR**

Doktora Tezi-2024



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**SIÇANLARDA İKİNCİ DERECE YANIK İYİLEŞMESİNDE
BORİK ASİT VE ÇİNKO BORAT KATKILI GRAFEN
HİDROJELLERİN ARAŞTIRILMASI**

Nuh YAYLA

**Eczacılık Biyokimya Ana Bilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yasin BAYIR**

**ERZURUM
2024**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Yanık Yaralanmaları.....	4
2.2. Yanık İyileşmesinin Fazları	8
2.3. Yanık Tedavisi	10
2.3.1. Bor	15
2.3.2. Borik Asit.....	16
2.3.3. Çinko Borat.....	17
2.3.4. Grafen Hidrojel	17
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Deney Hayvanları	20
3.1.2. Kullanılan Ürünler	21
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	21
3.2. Metot.....	23
3.2.1. Deney Planı.....	23
3.2.2. Araştırma Aşamaları	23

3.2.3. Grafen Hidrojel Sentezi	25
3.2.4. Grafen Hidrojel, Borik Asit ve Çinko Borat Katkılı Grafen Hidrojel Bantların Tasarlanması ve Sterilizasyonu	27
3.2.5. Pirinç tarak ile Oluşturulan Yanık Modeli ve Deneyin Kurgulanması.....	28
3.3. İn Vivo Deneysel Analizler	30
3.3.1. Makroskobik İncelemeler ve İyileşme Yüzdesi Analizleri.....	30
3.3.2. İn-vivo Deneylerden Sonra Elde Edilen Dokularda Gen Ekspresyon Çalışmalarının Yapılması	31
3.3.3. Dokuda RNA İzolasyonu.....	32
3.3.4. Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi	33
3.3.5. Real-Time PCR ile İn Vivo mRNA Ekspresyonunun Kantitatif Olarak Belirlenmesi	33
3.4. Histopatolojik ve Makroskobik Analizler.....	34
3.4.1. Doku Takip işlemleri	34
3.4.2. Hematoksilen ve Eozin Boyaması	34
3.4.3. Masson Trikrom Boyaması.....	35
3.4.4. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü.....	36
3.5. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. İn-vivo Deneysel Analiz Sonuçları.....	37
4.1.1. Makroskobik İncelemeler ve İyileşme Yüzdesi Analizleri.....	37
4.1.1.1. Yanık Yaralarında Enfeksiyon Belirlenmesi (Sürüntü Analizi)	40
4.1.2. PCR Analizleri	41
4.1.2.1. Doku TNF- α Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri	41
4.1.2.2. Doku İnterlökin-6 Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri	42

4.1.2.3. Doku TGF- β 1 Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri	42
4.1.2.4. Doku VEGF Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri.....	43
4.1.2.5. Doku α -SMA Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri	44
4.1.2.6. Doku Coll α 1 Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri	45
4.1.3. Hematoksilen-Eozin ve Triple Boyama Bulguları.....	46
4.1.3.1. Sıçanlarda Oluşturulan 2. Derece Yanık Modelinin Histopatolojik İncelemesi	46
4.1.3.2. Yanık İyileşme Derecesinin Skorlaması.....	53
4.1.3.3. İmmunohistokimyasal Boyama Bulguları	54
5. TARTIşMA.....	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	97
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu.....	97
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	98

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Yasin BAYIR'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 119S510 nolu proje ile desteklenen bu tez çalışmasında proje ekibinde yer alan tüm araştırmacı hocalarıma ve bursiyer arkadaşlarıma, grafen hidrojellerin sentezlenmesinde, katkılanmasında ve deney aşamalarında desteklerini esirgemeyen aynı zamanda proje danışmanı hocamız Doç. Dr. Önder METİN'e, Tıbbi Farmakoloji laboratuvarının tüm imkanlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Elif ÇADIRCI ve Prof. Dr. Zekai HALICI hocalarıma çok teşekkür ederim. Bu tez çalışmasını 119S510 nolu TÜBİTAK 1001 proje numarası ile destekleyen TÜBİTAK'a sonsuz teşekkürlemizi sunarız.

Çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime ve aileme teşekkür ederim.

Nuh YAYLA

ÖZET

Sıçanlarda İkinci Derece Yanık İyileşmesinde Borik Asit ve Çinko Borat Katkılı Grafen Hidrojellerin Araştırılması

Amaç: Yanık yaralanmalarında en sık karşılaşılan durum ikinci derece yanıklardır. Bu araştırmada, yanık yaralarının tedavisi ve komplikasyonlarının önlenmesinde borik asit ve çinko borat içeren grafen hidrojel bazlı yanık bantlarının sıçanlarda ikinci derece yanık iyileşmesinde etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 80 adet Albino Wistar cinsi 240-260 g ağırlığında erkek sıçan kullanıldı. 8 gruptan oluşan deney aşamasında her bir gruba 10 sıçan olacak şekilde sıçanlar kafeslere yerleştirildi ve adaptasyonları için bir hafta beklenildi. Yapısal tanımlamaları yapılan yanık bantlarının 25 kGy gamma radyasyon ile sterilizasyon işlemi tamamlandı. Sıçanlarda pirinç tarak (brass comb) ile oluşturulan 2. derece derin yanık modelinde yanık bantlarının etkinliğinin değerlendirilmesi; 3, 7, 14, 21. günlerde sürüntü analizleri mikrobiyolojik sürüntü analizleri ve alınan biyopsi dokularında Kollajen Tip 1, α -SMA, TGF- β , VEGF, TNF- α ve IL-6 mRNA ekspresyonlarının analizleri ve masson trikrom boyama ile Smad3 ve VEGF'nin immunohistokimyasal analizini içermektedir.

Bulgular: Borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojeller ile oluşturulmuş bantlar ile yapılan 2. derece yanık modelinde kontrol grubuna göre %1,5 GH-BA ve % 9 GH-ÇB gruplarının epidermis ve dermis üzerinde anlamlı bir iyileşme gösterdiği histopatolojik incelemeler sonucu tespit edilmiştir. İn-vivo deneylerin 3, 7, 14, 21. günlerde elde edilen dokulardaki TNF- α , IL-6, TGF- β 1, VEGF, α -SMA ve Coll α 1 rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinde ve VEGFR1 ve Smad3 immünohistokimyasal boyama sonuçlarında %1,5 GH-BA ve %9 GH-ÇB gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

Sonuç: Yeni geliştirilen grafen hidrojele borik asit ve çinko borat katkılanan yara bantlarının 2. derece yanıklarda iyileşmeyi artırdığı tespit edilmiş olup; klinik çalışmalarla desteklenmeye yönelik çalışmaların yapılmasının önü açılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Borik asit, çinko borat, grafen hidrojel, sıçan, yanık

ABSTRACT

Investigation of Boric Acid and Zinc Borate Doped Graphene Hydrogels in Second Degree Burn Healing in Rats

Aim: The most common condition in burn injuries is second degree burns. In this study, it was aimed to investigate the effects of graphene hydrogel-based burn patches containing boric acid and zinc borate in the treatment of burn wounds and prevention of complications in second degree burn healing in rats.

Material and method: In our study, 80 Albino Wistar male rats weighing 240-260 g were used. In the experimental phase consisting of 8 groups, rats were placed in cages with 10 rats in each group and waited for one week for adaptation. Sterilisation of the structurally defined burn bands was completed with 25 kGy gamma radiation. The evaluation of the effectiveness of the burn bands in the 2nd degree deep burn model induced by brass comb in rats included swab analyses on the 3rd, 7th, 14th and 21st days, microbiological swab analyses and analyses of collagen type 1, α -SMA, TGF- β , VEGF, TNF- α and IL-6 mRNA expressions in the biopsy tissues and immunohistochemical analysis of Smad3 and VEGF by masson trichrome staining.

Results: Histopathological examinations revealed that 1,5% GH-BA and 9% GH-CB groups showed a significant improvement on the epidermis and dermis compared to the control group in the 2nd degree burn model made with tapes formed with graphene hydrogels doped with boric acid and zinc borate. Statistically significant differences were observed in TNF- α , IL-6, TGF- β 1, VEGF, α -SMA and Coll α 1 relative mRNA expression levels and VEGFR1 and Smad3 immunohistochemical staining results in the tissues obtained on the 3rd, 7th, 14th and 21st days of in-vivo experiments in 1,5% GH-BA and 9% GH-CB groups compared to the control group.

Conclusion: Newly developed graphene hydrogels doped with boric acid and zinc borate have been found to increase the healing of 2nd degree burns and paved the way for studies to be supported by clinical studies.

Key Words: Boric acid, zinc borate, graphene hydrogel, rat, burn

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BA	:	Borik asit
bFGF	:	Temel fibroblast büyüme faktörü
BNCT	:	Bor nötron yakalama tedavisi
Collα1	:	Kollajen tip 1 alfa 1
cDNA	:	Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit
CTGF	:	Bağ dokusu büyüme faktörü
ÇB	:	Çinko borat
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
ECM	:	Ekstrasellüler matriks
FGF	:	Fibroblast büyüme faktörü
GH	:	Grafen hidrojel
GO	:	Grafen oksit
H₃BO₃	:	Borik asit
IGF-1	:	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IL-1β	:	İnterlökin-1 beta
IL-6	:	İnterlökin-6
LTB₄	:	Lökotrien B ₄
MMP	:	Matriks metalloproteinaz
mRNA	:	Mesajcı ribonükleik asit
MTT	:	3-[4,5-Dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
Na	:	Sodyum
NGF	:	Sinir büyüme faktörü
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	:	Trombosit türevli büyüme faktörü
PF₄	:	Platelet faktör 4

RNA	:	Ribonükleik asit
SIRS	:	Sistemik inflamatuvar cevap sendromu
SIT	:	Epiderm TM Deri İritasyon Testi
Spp.	:	Türleri
α-SMA	:	Alfa-düz kas aktini
TGF-β	:	Transforme edici büyüme faktörü-beta
TGF-βR1	:	Transforme edici büyüme faktörü-beta reseptör 1
TNF-α	:	Tümör nekroz faktörü-alfa
TÜBİTAK	:	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
VEGF	:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR1	:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-1
XPS	:	X-ışını fotoelektron spektrometresi
XRD	:	X-ışını kırınımı
Zn	:	Çinko
Zn₃BO₆	:	Çinko borat
ZnO	:	Çinko oksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 2.1. Kimyasal yolla grafen oksit sentezinin şematik gösterimi	19
Şekil 3.1. Sıçan giysileri	20
Şekil 3.2. Araştırma aşamaları.....	25
Şekil 3.3. Ön deneme sonucu sentezlenen grafen hidrojele ait temsili fotoğraflar	26
Şekil 3.4. Kimyasal yolla grafen oksit sentezinin şematik gösterimi	27
Şekil 3.5. Gruplara göre yanık bantlarının yapımı ve sterilizasyon işlemi.....	27
Şekil 3.6. Pirinç tarak ölçüleri, şekli ve örnek yanık hali	29
Şekil 3.7. Pirinç tarak ile yanık modelinin oluşturulması.....	29
Şekil 3.8. Biyopsi alanları ve yanık iyileşmesinin takip edileceği alan	30
Şekil 4.1. Deney gruplarının günlere göre makroskopik görselleri.....	38
Şekil 4.2. Deneysel grupların iyileşme yüzdeleri	39
Şekil 4.3. Deneysel gruplara göre doku TNF- α gen ekspresyonu	41
Şekil 4.4. Deneysel gruplara göre doku IL-6 gen ekspresyonu.....	42
Şekil 4.5. Deneysel gruplara göre doku TGF- β gen ekspresyonu	43
Şekil 4.6. Deneysel gruplara göre doku VEGF gen ekspresyonu	44
Şekil 4.7. Deneysel gruplara göre doku α -SMA gen ekspresyonu.....	45
Şekil 4.8. Deneysel gruplara göre doku Kollajen tip 1 α gen ekspresyonu.....	46
Şekil 4.9. Hematoksilen ve Eozin boyama sonuçları	51
Şekil 4.10. Masson trikrom üçlü boyama sonuçları	52
Şekil 4.11. 14 ve 21. gün VEGFR1 ve Smad3 immünohistokimyasal boyaması	55
Şekil 4.12. VEGFR1 14. gün immünohistokimyasal boyama skarlama grafiği	56
Şekil 4.13. VEGFR1 21. gün immünohistokimyasal boyama skarlama grafiği	57
Şekil 4.14. Smad3 14. gün immünohistokimyasal boyama skarlama grafiği	57
Şekil 4.15. Smad3 21. gün immünohistokimyasal boyama skarlama grafiği	58

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. İn-vivo deney gruplarının iş paketlerine göre dağılımı	23
Tablo 3.2. Değerlendirilmeye alınacak bor ürünleri	24
Tablo 3.3. Primerlere ait sekanslar	32
Tablo 4.1. Deney grupları	37
Tablo 4.2. Yanık iyileşmesi skorlama bulguları	54



1. GİRİŞ

Yanık, insanoğlunun varoluşundan bu yana baş etmek zorunda kaldığı önemli bir sağlık sorunudur (Monafo, 2002) ve dünyada en çok görülen yaralanma çeşitlerinden biridir (Peck, 2011). Çoğunlukla sıcak sıvılarla haşlanma, aşırı derecede ısı, güneş, sürtünme, radyasyon, elektrik ve kimyasal madde temasına maruz kalma sonucu oluşur ve ciltte ikinci derece yanık hasarı şeklinde yara oluşur (Vaghardoost ve ark., 2019). Yanıklı bireylerde cilt bariyerinin hasar görmesi ve bağışıklık sisteminin lokal olarak tutulumu enfeksiyon prevalansını artırır. Yanık skarlarının tedavisindeki pek çok alternatif ilerlemelere rağmen, enfeksiyonlar hala morbidite ve mortaliteye neden olan başlıca sorundur. Yanık ve diğer yaraların tedavisinde en önemli husus hem deri florasından kaynaklanan hem de dış ortam kaynaklı mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların oluşmasına engel olmak, sıvı kaybını önlemek ve yara iyileşmesine yardımcı olmaktır (Farjah & Farahpour, 2020). Bir yara oluşturan yanıkta da iyileşmenin bütün prensipleri yara iyileşme prensiplerine göre gelişir ve doku yaralanması sonrası gelişen bir dizi olay, doku bütünlüğünü yeniden sağlamayı amaçlar. Bu olaylar dizisi deride skar ve fibrozis oluşumuyla sonlanır. Yara iyileşmesi fazları inflamasyon, proliferasyon ve matürasyon (remodeling) safhalarını içerir (Gurtner, 2007; Kayapınar ve ark., 2015).

Geçmişten günümüze insanlar yanık yaralarının tedavisinde bal macunları, hayvansal yağlar ve bitki lifleri gibi çeşitli yanık örtü materyallerinden faydalanmışlardır (Altındağ, 2022). Yara iyileşmesinde sıvı tutma yetkinliğine ve antimikrobiyal özelliğe sahip, yara iyileşmesinde enfeksiyonları engelleyen, iyileşme sürecine fiziksel ve biyolojik katkıda bulunarak iyileşmeyi hızlandıran ve klasik yara örtülerinin değişiminde yara bölgesindeki epitelizasyonu bozmamasını sağlayan yara bantlarının deneysel hayvan modellerinde potansiyel iyileştirici etkisi üzerine etkinliğinin araştırılması hedeflendi.

Yanık yaralarının tedavisine yönelik olarak günümüzde pek çok yaklaşım sergilenirken her bir ürünün kendine göre avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu kapsamda yanık yaralarının iyileşme sürecinde enfeksiyonlara karşı koruyucu etki gösterecek borik asit (BA), çinko borat (ÇB) ve bu iki maddenin yara üzerinde fiziksel ve biyolojik olarak katkı sağlayacağını düşündüğümüz grafen hidrojeller (GH) seçildi.

Borik asit, (ortoborik asit olarak da adlandırılır) borun zayıf bir asididir. Kimyasal formülü H_3BO_3 şeklinde yazılır ve beyaz toz halinde suda çözünebilir formda bulunur. Çinko borat ise çinko oksit (ZnO) ve borik asitten sentezlenen bileşik olup Zn_3BO_6 şeklinde yazılır, beyaz toz halinde olup suda çözünürlüğü son derece düşüktür (Okkay, 2021). Borik asit ve çinko borat bor cevherinin işlenmesi ile elde edilen önemli bileşiklerdendir. Bilindiği üzere dünyanın bor cevherinin büyük çoğunluğu ülkemizin orta ve batı bölgelerinde Balıkesir, Eskişehir ve Kütahya'da bulunmaktadır. Pek çok özelliği barındıran bor bileşiklerinden borik asitin ve çinko boratın sağlık alanında da yeni özelliklerinin araştırılması ülkemizin hedefleri arasındadır. Borik asitin bilhassa sağlık alanında kullanımı son zamanlarda gittikçe artmaktadır. Araştırmamızın konusu içerisinde yer alan taşıyıcı gibi kullandığımız grafen hidrojel, grafenden sentezlenen yeni nesil bir malzemedir. Grafen, grafen oksitin (GO) kimyasal olarak tabakalarına ayrılması ve takip eden indirgenmesi ile büyük ölçekte ekonomik olarak sentezlenir (Ai ve ark., 2011; Metin ve ark., 2012). Grafen hidrojeller ise yine GO nano tabakalarının sonikasyon yardımı ile birbirinden ayrılması ve hidrotermal yol ile kontrollü bir şekilde indirgenmesi ve örgülü ağ yapısı oluşturma yolu ile büyük ölçekte ekonomik olarak sentezlenir (Xu ve ark., 2010). Bu yolla sentezlenen tamamen karbon atomlarının oluşturduğu üç boyutlu gözenekli ağ yapısına sahip grafen hidrojeller; sahip oldukları gözenekli yapıları sayesinde büyük oranda su tutma kapasitesine sahip, biyouyumlulukları yüksek, toksisitesi olmayan, doğal kaynaklardan üretilen, ekonomik ve en önemlisi diğer

hidrojeller ile karşılaştırıldığında mükemmel termal ve elektriksel iletkenliğe sahip malzemelerdir (Das ve ark., 2013).

Daha önceki çalışmalarımız da grafenle katkılanmış BA ve ÇB'nin in vitro antimikrobiyal aktivite değerlendirmeleri; yara iyileşmesi üzerine L929 hücre hattında proliferasyon, sitotoksikite, migrasyon hücre kültürü testleri; yara bandı olarak kullanılacak grafen hidrojellerin sentezi; borik asit, çinko borat katkılanması; yapısal karakterizasyon çalışmaları (HR-SEM, TEM, XRD, XPS, BET, sıvı tutma kapasitesi ve sıkıştırılabilirlik) ile yapısal tanımlamalar, elde edilen ürünlerin sterilizasyonu, grafen hidrojele katkılanmış borik asit ve çinko borat içeren bantların irritasyon-biyouyumluluk testleri tamamlanmıştır (Bayir ve ark., 2024; Civelek ve ark., 2021; Yurdgülü ve ark., 2021). Literatürde modern tıp uygulamalarında yer alacak şekilde etkinliği konusunda bilimsel normlara uygun olarak bor bileşiklerini içeren karbon esaslı hidrojel taşıyıcı sistemleri bir arada kullanarak yapılan bir çalışmaya ve yanık bandına rastlanılmamıştır. Araştırmamızda kullandığımız bant; yanık yaralarının tedavisinde borik asit ve çinko borat bileşiğini içeren grafen hidrojel bazlı ilk üründür.

Daha önceki çalışmalarımızın devamı niteliğinde olan bu tez çalışması kapsamında in-vitro aşamaları tamamlanmış BA ve ÇB katkılanmış grafen bazlı yanık bantlarının sıçanlarda pirinç tarak ile oluşturulan 2. derece derin yanık modelinde 21 gün boyunca etkinliği araştırılmıştır. 3, 7, 14 ve 21. günlerde alınan deri biyopsi örneklerinde mikrobiyolojik sürüntü analizleri ile yara iyileşmesinde önemli parametreler olan kollajen tip 1, α -düz kas aktini (α -SMA), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlekin-6 (IL-6) mesajcı ribonükleik asit (mRNA) ekspresyonlarının analizi ve masson trikrom boyama ile Smad3 ve VEGF'nin immunohistokimyasal analizlerinin yapılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yanık Yaralanmaları

Yanık organizmanın bölgesel olarak kimyasal maddeler, radyasyon, ısı veya elektrik akımı gibi etkenlere aşırı maruz kalması sonucu gelişen, proteinlerde yapısal bozukluklar ve artmış damar geçirgenliği nedeniyle intravasküler sıvı azalmasına yol açan doku hasarıdır (Özkaya ve ark., 2014). Yanık sonrası erken dönemde enfeksiyon gelişebilir ve enfeksiyona bağlı olarak yanık vakalarında doku ve organ yetmezliğinin yanısıra şok da görülen bir travmadır. Yanık geçmişten günümüze insanoğlunun baş etmek zorunda kaldığı önemli bir sağlık sorunudur (Monafo, 2002). Isı, ateş ve sıcak maddelerden kaynaklanan yanık yaralanmaları, trafik kazaları, düşmeler ve kişiler arası şiddetten sonra dünya çapında en sık görülen dördüncü travma türüdür (WHO, 2014). Yanık yaralanmalarının insidansı, tüm malign neoplazmaların insidansına yaklaşmaktadır ve edinilmiş immün yetmezlik sendromu (AIDS), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ve tüberkülozun toplamından daha fazladır (James ve ark., 2020; Peck, 2011).

Yanık, vücuda temas ederek tahrip eden yoğun ısı teması (termal yanık) sonucu oluşan doku travması olup, orta ve büyük yanıklar tüm organizmayı etkileyen ve sonucunda da hücresel protein denatürasyonu ile sonuçlanan doku harabiyetidir. Bu yüzden multidisipliner tedaviye ihtiyaç duyan bir doku travmasıdır (Park ve ark., 2009; Pertek, 2019).

Günümüzde yanık yaralarının derinliğine göre sınıflandırma yapılırken, 1832 yılında Dupuytren tarafından tanımlanan sınıflamaya başvurulmaktadır (Andersen, 2015). Yanık yaralanmalarının ciddiyetinin belirlenmesi, yanığın deri ve deri altı dokulara verdiği hasara bağlıdır ve yanığın derecesi, uzun vadeli ölüm ve morbidite riskini tahmin etmek ve uygulanması gereken tedaviyi yönlendirme açısından kritik bir

faktördür. Bu yüzden yanık derecesi, sonuçların temel belirleyicisi olarak büyük önem taşımaktadır (Kamolz ve ark., 2006).

Birinci derece yanıklarda sadece epidermis etkilenirken genellikle hiperemi, ödem ve hafif ağrı ile karakterize bir durumdur. Güneş yanığı ve hafif sıcak su yanıkları örnek gösterilebilir. Genellikle pansuman ile iyileşirler (Tiffany & Warren, 2008).

İkinci derece yanıklarda cildin epidermis ve dermis tabakaları etkilenebilir. Ağrı, kızarıklık, büller ve deri soyulması gibi semptomlar görülebilirken birinci derece yanıklara göre daha şiddetli ağrı mevcuttur ve uzun iyileşme süreci gerektirebilir. Derinin dermis tabakasının etkilenen kalınlığına göre yüzeysel olarak veya retiküler dermisin etkilendiği durumlarda derin ikinci derece olarak adlandırılır. Sıcak sıvı veya buhar yanıkları ikinci derece yanıklara örnek verilebilir (O'Brien & Billmire, 2008).

Üçüncü derece yanıklarda epidermis, dermis ve deri altı dokuların tümü etkilenir ve doku hasarı daha ciddidir ve derin dokuları içerir. Sinir uçları zarar gördüğü için ağrı daha azdır. Erken eksizyon ve greft ile yanık yarasının kapatılması tercih edilen tedavi yöntemidir (Ahmad, 2016).

Dördüncü derece yanıklarda epidermis, dermis, deri altı dokular ile birlikte kas, tendon ve kemikleri de içeren yanık yaralanmaları meydana gelir. Cilt siyah renkte yanmış gibi görünür ve ciddi doku hasarı sonucu yaşamsal risklere neden olabilir. Genellikle uzun süreli tedavi ve ciddi bir dizi cerrahi müdahale gerektiren yanık yaralanmaları meydana gelir (Hettiaratchy & Dziewulski, 2004).

Yanık yaralanmalarında doku hasarının derecesi ve ciddiyeti sıcaklığın yüksekliği, temas süresi, temas alanı, yaranın derinliği ve yanık tipine bağlıdır. Sıcak sıvılarla haşlanma ve buna bağlı ikinci derece yanıklar en sık karşılaşılan yanıklardır. İkinci derece yanıklar da kendi içinde yüzeysel ve derin yanıklar olmak üzere ikiye ayrılır. Yüzeysel ikinci derece yanıkta sadece dermisin üst tabakaları hasar görürken yanık

kendiliğinden 7-10 gün içinde iyileşir. Derin ikinci derece yanıkta ise dermisin alt tabakalarına kadar hasar vardır ancak dermisin tamamı hasar görmemiş yanık retiküler dermise kadar inmiştir. Dokunmakla kısmen daha serttir ve ağrılıdır. Burada yanık yüzeyi yüzeysel ikinci derece yanığa oranla daha kurudur. Kıl folikülü ve ter bezlerindeki keratinositlerin re-epitelizasyonu ile 14-35 günde iyileşir. Dermiste kayıp olduğu için sıklıkla ciddi iz bırakarak iyileşirler. Yanık travma ile başlayan ve yeni doku oluşumu ile sonuçlanan hücresel ve biyokimyasal olaylar sürecidir. Yanık bölgesinde ilk cevap olarak gelişen vazodilatasyonla birlikte hem yanık bölgeden hem de diğer dokulardan sistemik yoğun bir inflamatuvar mediyatör salınımı olur. Bu mediyatörler vazokonstrüksiyon, sonrasında vazodilatasyon yapar ve kapiller permeabilite artar, damar dışına çıkan plazma hücreler arası mesafede birikerek ödem oluşturur. Bu permeabilite artışına neden olan mediyatör maddeler vazoaktif aminler, komplemanlar, prostaglandinler, katekolaminler ve lökotrienlerdir. Yanıkla hem yanık olan hem de yanık olmayan dokularda hücre membranında geçirgenlik azalması olur. Yetersiz perfüzyon etkisine bağlı olarak sodyum (Na) pompası bozulur. Hücre içine fazla Na birikimi ile fonksiyonel Na açığı oluşur, hücre içinde Na artışı olur ve hücreler şişer. Hücre membran potansiyeli azalmaya devam eder ve resüsitasyon bu dönemde başlatılmaz ise hücre ölümü gerçekleşir (Cetinkale ve ark., 1999; Cetinkale ve ark., 1993).

Yanıklı hastada inflamasyon ve yaygın immün defektlerle beraber sıvı elektrolit denge bozukluğu, protein kaybına bağlı olarak birçok organda hasara neden olabilir (Abdullahi ve ark., 2014; Domergue ve ark., 2015). Ayrıca yanık yaralanması, deriyi yani vücudun ilk savunma hattını bozar ve mikrobik invazyona yol açar. Hasar görmüş deri ve biriken eksudasyonlar mikroorganizmalar için iyi bir ortamdır. Bu bölgeye sistemik antibiyotikler ulaşamaz. Böylece yaralanmaya maruz kalan canlı hem eksojen hem de endojen enfeksiyona açık hale gelir. İlk günlerdeki kolonizasyondan genellikle gram

pozitif kok morfolojisindeki cilt florasına ait bakteriler sorumludur. İkinci haftadan itibaren ise yarada gram negatif mikroorganizmalar hâkim hale gelir (Aldemir ve ark., 2000; Vural ve ark., 2013). Bilhassa kliniklerde tedavi esnasında uygun hijyenik şartların sağlanamaması, çalışanların tutumları, ortamdaki diğer hastalar, hasta yakınları, steril olmayan araç-gereçlere temas ve yoğun antibiyotik kullanımı gibi nedenler mikroorganizmaların yayılmasına ve çeşitliliğine etki eder (Aldemir ve ark., 2000; Ün ve ark., 2015). Bununla birlikte sistemik enfeksiyon gelişimi de ortaya çıkabilir. Yanık yaralarında kolonize olan mikroorganizmalar ter bezleri ve kıl kökleri vasıtasıyla avasküler eskarı penetre ederek canlı ve cansız doku sınırında çoğalmakta ve süpürasyon oluşturarak eskarın ayrılmasına neden olmaktadır. Mikroorganizmaların yoğunluğu ve invazyonu hastanın bağışıklık sistemi kapasitesini aşarsa eskar alanda çoğalan mikroorganizmaların canlı dokuya yayılması durumu ortaya çıkar. Hareket etme yeteneğine sahip veya dirençli mikroorganizmalar da bu duruma katkıda bulunur. Canlı dokuyu invaze eden mikroorganizmalar sepsise neden olurlar.

Yanıklarda enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar

Gram Pozitif Bakteriler: Yapılan çalışmalar *Staphylococcus aureus*'un yara enfeksiyonlarından sıklıkla izole edildiğini göstermiştir. Ayrıca koagülaz negatif stafilokoklar, streptokoklar ve enterokokların da enfeksiyon etkeni olarak izole edildiği bildirilmiştir (Aygıt ve ark., 2012; Demir & Şenel, 2016; Guggenheim ve ark., 2009).

Gram Negatif Bakteriler: Yanık hastalarında en sık izole edilen etken *Pseudomonas*'tır ve hayatı tehdit edici ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Pek çok çalışmada tüm etkenler içinde *Pseudomonas aeruginosa*'nın ilk sırada geldiği bildirilmiştir (Aldemir ve ark., 2000; Rezaei ve ark., 2011; Vural ve ark., 2013). *Escherichia coli*, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* ve *Proteus* türleri de yanık enfeksiyonlarından izole edilen diğer Gram negatif türler arasında yer almaktadır

(Aldemir ve ark., 2000; Aygıt ve ark., 2012; Guggenheim ve ark., 2009; Rezaei ve ark., 2011; Vural ve ark., 2013).

Mantarlar: Yanık hastalarında yoğun antibiyotik kullanımı sonucu floranın bozulmasına paralel olarak fungal yanık enfeksiyonlarında artış görülmektedir (Pilmis ve ark., 2016; Zerbaliyev, 2013). Candida ve Aspergillus türleri yanık enfeksiyonlarından en sık izole edilen mantarlar arasındadır (Elaldı & Bakır, 2003; Pilmis ve ark., 2016).

2.2. Yanık İyileşmesinin Fazları

Bir yara oluşturan yanıkta da iyileşmenin bütün prensipleri yara iyileşme prensiplerine göre gelişir ve doku yaralanması sonrası gelişen bir dizi olay, doku bütünlüğünü yeniden sağlamayı amaçlar. Bu olaylar dizisi deride skar ve fibrozis oluşumuyla sonlanır. Yara iyileşmesi fazları inflamasyon, proliferasyon ve matürasyon (remodeling) safhalarını içerir (Gurtner, 2007; Kayapınar ve ark., 2015).

Yanık yaralarının iyileşmesinin inflamasyon fazı, yara iyileşmesi sürecinin ilk aşamasıdır ve yaralanmayı takiben yara bölgesindeki yıkıma uğramış damarlar hemen daralır. Özellikle subendotelden olmak üzere hasarlı dokudan tromboplastik doku ürünleri dışarı salınır ve trombositler kümelenerek ilk hemostatik tıkaçı oluşturur. Pıhtılaşma ve kompleman sistemleri harekete geçer. İntrinsik ve ekstrinsik pıhtılaşma sistemleri protrombinin trombine aktivasyonunu sağlar ve bunun sonucunda aktive trombin, fibrinojeni daha sonra polimerize olarak kalıcı pıhtıyı oluşturacak olan fibrine çevirir (Baum & Arpey, 2005; George Broughton ve ark., 2006; Gurtner, 2007).

Proliferatif fazda; yaklaşık 4 gün sonra geçici ekstrasellüler matriks (ECM), granülasyon dokusuyla yer değiştirmeye başlar. Bu morfolojik değişim kapillerlerin invazyonuyla ilişkilendirilir ve hücresel seviyede dermisin kalıcı elemanları olan fibroblastlar, fibroblastlar tarafından oluşturulan kollajen ve kan damarları oluşur (Singer & Clark, 1999). Hem üretim hem de mekanik görevleri olan fibroblastlar yara

iyileşmesinde görev alan en önemli mezenkimal hücrelerdir. Fibroblastlar geçici tripsin yerini alan kollajen bazlı matriksin üretiminden sorumludur ve kontraktıl özellikleri sayesinde yara kontraksiyonunu sağlamaktadır (Lawrence, 1998). İnflamasyon fazından proliferatif faza geçişi sağlayan faktörler arasında sitokinler ve büyüme faktörleri de vardır. Fibroblast migrasyonu, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), NGF, TGF- β , CTGF ve Cyr-61 tarafından stimüle edilir ve geçici matriksin içeriğinde yer alan fibronektin de fibroblastları yara bölgesine çeker (Kohyama ve ark., 2001). Yara bölgesine göç eden fibroblastlar yaraya yakın bölgelerde farklılaşan hücrelerden ve makrofaj ürünlerinin stimülasyonu ile fibroblastlara farklılaşan yakındaki mezenkimal hücrelerden gelirler. Fibroblastlar yara bölgesine fibrillere paralel olarak hareket ederler. Fibroblastlar bu hareketleri sırasında, hücresel yıkım ürünleri ve matriks fibrilleriyle karşılaşır ve bu engelleri çeşitli matriks metalloproteinazları (MMP) yardımıyla aşarlar. MMP-1, MMP-2 ve MMP-3, TGF- β tarafından ve MMP-19, TNF- α tarafından stimüle edilir. MMP'lerin anjiyogenez ve fibroblast göçünde önemli rolleri vardır. Fibroblastlar, kollajen, glikozaminoglikan ve proteoglikan gibi kalıcı ECM elemanlarını ve büyüme faktörlerini üretmekten sorumludurlar. Kollajen üretimi, doku hasarının yaklaşık 3-5. gününde başlar ve ilk aşama bir kollajen prekürsörü olan prokollajenin sentez edilmesidir (Baum & Arpey, 2005; Lawrence, 1998). Doku hasarının 2. gününde endotelial hücreler, geçici ECM üzerinde, fibroblastlara benzer şekilde hareket etmeleri proliferatif fazda gerçekleşen anjiyogenez olayıdır. Endotelial hücrelerin hareketi, VEGF, FGF, anjiopoetin ve TGF- β tarafından stimüle edilir (Baum & Arpey, 2005; George Broughton ve ark., 2006).

Matürasyon fazı, yara iyileşmesinin en uzun süren fazı olup, yaranın granülasyon dokusuyla dolup, keratinosit migrasyonu ile reepitelizasyon sağlanmasını takiben başlar. Yara kontraksiyonu hücre içi aktin filamentleri içeren fibroblastlar olan myofibroblastlar

sayesinde sağlanır. Matürasyon fazında yara kalınlığı azalırken, yaranın kuvveti ters orantılı olarak artar (Gurtner, 2007). Kollajen üretimi yaralanmadan sonra ortalama 21. güne kadar sürekli bir artış gösterir ve 21. günden sonra kollajen sentezinde bir azalma gözlenir (Baum & Arpey, 2005). ECM'deki artmış kollajen miktarının geri beslemeyle fibroblastlardaki kollajen sentezini azalttığı düşünölmektedir (Fisher ve ark., 1994). Ayrıca interferon-gama ve TNF- α fibroblastların kollajen sentezini azaltmada etkilidir (Simpson & Ross, 1972). Matürasyon fazında ECM niteliğinde belirgin değişiklikler meydana gelir ve zamanla Tip I kollajen miktarı artarken, Tip III kollajen, proteoglikan ve su miktarı azalır. Kollajen fibrillerinin kalınlığı, interfibriller bağlanma atar ve fibriller yeniden düzenlenir. Yara iyileşmesinin erken dönemlerine kollajen fibrilleri düzensiz şekilde dizilmişlerdir. Bu, iyileşmenin erken döneminde, yüksek kollajen miktarına rağmen, yara kuvvetindeki zayıflığı açıklar (Monaco & Lawrence, 2003; Soo, 2000). Skar matürasyonu ile beraber, klinik olarak gözlemlenen kızarıklık azalışı yara içindeki kapillerlerin yoğunluğunun değiştini gösterir. Matür skar, granölasyon dokusuna oranla daha az kapiller içermektedir (Singer & Clark, 1999).

2.3. Yanık Tedavisi

Yanıkların tanınması, sınıflara ayrılması ve tedavisi binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Çin'de çaydan elde edilen tentürler, Mısır'da M.Ö. 1500 yılında reçine ve bal karışımı kullanılmıştır (Liu ve ark., 2017; Wu & Wang, 2019). Hipokrat, reçine kaplı bandaj ile sıcak sirke banyo uygulamalarını yanık tedavisinde önermiştir. Ambroise Pare soğanlarla yanıkları tedavi ederken, Rhazes ise yanıklarda soğuk suyu tavsiye etmiştir (Wallner ve ark., 2020).

Ciddi yanık yaşayan kişilere tıbbi müdahale yapılmazsa hipotermi ve dehidrasyon gelişebilir (Schoenbrunner ve ark., 2017). Yanık yaralanmalarında erken eksizyon ve greftleme öneminden bahsedilmiştir (Janžekovic, 1970). Erken skar eksizyonunun

çocuklarda mortaliteye anlamlı katkısı gösterilmiştir (Tompkins ve ark., 1988). Yanık tedavisinde topikal tedavi yöntemi zamanla önem kazanmış ve tedavinin temel parçası haline gelmiştir (Monafo & West, 1990). Yanık yaralarının yaklaşık 20 dakika soğutulması önemli fayda sağlamaktadır. Yanıklar hidrojel battaniye veya oda sıcaklığında suya batırılmış tıbbi gaz ile sarılarak soğutulabilir (Nguyen ve ark., 2002). Yanık hastalarında ciddi sorunlara yol açan en önemli etmen enfeksiyonlardır. Yanık hastalarında topikal antimikrobiyal tedavi büyük önem taşımaktadır ve gümüş sülfadiazin, yaygın olarak kullanılan bir topikal ajan olup çoğu yanık etkenine karşı etkilidir (Monafo & West, 1990).

Topikal antimikrobiyallerin kullanılması eskar içi mikroorganizma proliferasyonunu ve canlı dokularda mikroorganizma invazyonunu azaltır (Aldemir ve ark., 2000; Zerbaliyev, 2013). Aynı mantıkla düşünülecek olursa yara bölgesinde enfeksiyon riskini azaltacak örtülerin kullanılmasının da tedaviye olumlu katkılar sağlayabileceğinden bahsedebiliriz. Son yapılan araştırmalarda ve yeni ürün geliştirme çalışmalarına baktığımızda ise yanık sonrası oluşan iki önemli problemi bir arada çözecek yeni çalışmalar bulunmaktadır. Bu konuda ise en önemli molekül bor'dur. Borun hem antibakteriyel hem de hücre yenilenmesi konusunda oldukça önemli çalışmalar bulunmaktadır (Demirci ve ark., 2015). Rutinde kullanılan yara iyileşmesini artıran çocuk pişiklerinde bile rahatlıkla kullanılabilen diğer bir madde ise çinkodur (Gupta ve ark., 2014). Çinko ve Bor'un bir arada kullanılmasının yanık iyileşmesi üzerine olan etkilerini inceleyen henüz bir çalışma yoktur. Bu iki önemli molekülün bir arada yanık iyileşmesi konusunda incelenmesi oldukça önem arz etmektedir.

Yara iyileşmesi yaralanmaya karşı oluşan doğal bir yenilenme ve tamir cevabıdır. Eğer tedavi sırasında bu hasarlar yerine koyulamaz ise hasta enfeksiyonla mücadele edemez ve enfeksiyon ölümle sonuçlanabilir (Hoff-Lenczewska ve ark., 2013).

Günümüzde yoğun bakım ünitelerinin teknolojik olarak gelişmesi ve çok daha etkili antibiyotiklerin bulunmasına rağmen yanık, halen morbiditesi ve mortalitesi çok yüksek olan bir klinik antitedir (Szabo ve ark., 2016). Temelde bu yüksek oranların ana sorumlusu çevre ile organizmamız arasında bariyer görevi gören derinin bütünlüğünün bozulmasıdır. Yara iyileşmesi prosedüründe, kollajen sentez ve depolanmasında ve fibroblastların farklılaşmasında α -SMA (Sidhu ve ark., 1999), potent bir anjiyojenik büyüme faktörü olan VEGF (Tonnesen ve ark., 2000), fibroblast aktivitesinin stimülasyonu, kollajen üretimi ve re-epitelizasyondan sorumlu TGF- β ve bunların yanısıra inflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği, kompleman faktörler, IL-6, TNF- α , Smad-3 ve VEGF gibi kemotaktik maddeler, nötrofil kemotaksisini uyaran (George Broughton ve ark., 2006) endojen maddeler in vivo çalışmalarda yara iyileşme yollarının aydınlatılması için dikkate alınan parametrelerdir. İnsanlar için esansiyel bir mikronutrient olan çinko lipid, protein ve nükleik asit metabolizması ile gen transkripsiyonunun regülasyonunda önemlidir.

Çinko oksit, çinko pritiyon, kalaminin topikal preparatları güneş koruyucu, yatıştırıcı ajan veya kepek önleyici şampuanlarda aktif madde olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda enfeksiyonlar (siğil, leishmania), inflamatuvar dermatozlar (akne vulgaris, rosacea), pigmentar hastalıklar (melasma) ve neoplaziler (bazal hücre karsinomaları) gibi birkaç dermatolojik durumda kullanılmaktadır. Topikal çinko oksit antioksidan ve antibakteriyel etkisi nedeniyle atopik dermatitin tedavisinde de kullanılmaktadır. Çinko oksit emdirilmiş tekstiller atopik dermatitin tedavisinde in vivo değerlendirilmiş ve etkili olduğu gözlenmiştir. Arteriyel ve venöz ayak ülserlerinde diyabetik ayak yaralarında da çinko oksit içeren ürünler kullanılmıştır (Gupta ve ark., 2014). Çinko oksit yaraya çinko takviyesi sağlayarak yaranın iyileşme kabiliyetini artırır. Buna ek olarak, ZnO nekrotik dokularda kollajen degradasyonunu da artırır. Üstelik son zamanlarda ilaç taşıyıcı

teknolojilerle nanopartikül çinko oksit hücre epitelizasyonu ve proliferasyonu, immünomodülasyon ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı yara tedavisinde dikkat çekmektedir (Lin ve ark., 2017). Bagahie ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da nano çinko oksit yüklenmiş PVA/nişasta/kitozan hidrojel membranların antibakteriyel yara örtü materyali olarak etkisi incelenmiş ve yara iyileşmesinin erken dönemlerinde yara örtüleri kadar etkili olduğu ve jelin topikal uygulamalarda örneğin bandaj olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Baghaie ve ark., 2017).

Toksisite testleri kimyasalların, farmasötiklerin ve kişisel bakım ürünlerinin tehlike ve güvenlik değerlendirmesi için yapılır. Günümüzde kullanılan toksisite yöntemlerinin çoğunda özellikle kemiriciler olmak üzere deney hayvanları kullanılmakla birlikte 3R prensibi ile son yıllarda daha az hayvan kullanımı, hayvan deneylerini iyileştirme ve hayvan kullanımı yerine alternatif yöntemlerin kullanılmasına eğilim bulunmaktadır. Hücre kültürleri, doku/organ yöntemleri gibi in vitro yöntemler alternatif yöntemler olarak sunulmaktadır. Yönetmeliklere göre hayvan deneylerine alternatif olarak sunulan kullanılabilecek olan test metodlarının ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods) veya ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) gibi uluslararası kuruluşlarca valide edilmiş olması ve bu kuruluşlar tarafından onaylanmış olması önemlidir. Hayvan deneylerine alternatif ve ürünlerin irritasyon potansiyelini test etmek için geliştirilmiş ve ECVAM tarafından valide edilmiş deri irritasyon testlerinden biri de Değiştirilmiş Epiderm TM Deri İritasyon Testi (SIT) [OECD 439]'dir. Bu test üç boyutlu insan epidermis modeli üzerine uygulama ve hücre canlılığının MTT testi [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difenil-tetrazolyum bromür kolorimetrik testi] ile ölçülmesi esasına dayanan testtir (Erkekoglu ve ark., 2011).

Yanık yaralanması ve ilişkili sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) hakkında bilinenlerin çoğu, başta fareler, sıçanlar ve domuzlar olmak üzere hayvan modelleri ile yapılan çalışmalardan öğrenilmiştir (Dahiya, 2009). Hayvan modelleri, sistemik organ hasarı araçlarının ve bu durum için potansiyel terapötik hedeflerin keşfedilmesinde çok önemli bir rol oynamakta ve böylece biyomedikal ilerlemeleri ilerletmektedir. Herhangi bir araştırma girişiminin başarısı büyük ölçüde bu çalışmalar için uygun hayvan modeli seçimine bağlıdır. Yeni nesil geliştirilen yara yanık bant vb. gibi malzemelerin geliştirilmesinde insan deneylerinde önce in-vitro deneylerde sonra en çok deneysel hayvanlarda oluşturulan yanık modelleri tercih edilmektedir. Deneysel hayvan modellerinde temin edilmesinin kolay olması ve yanık modelinin kolay oluşturulması nedeniyle en çok sıçanlar tercih edilmektedir. Sıçanlarda deneysel yanık model oluşturulmasına yönelik çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında kaynar su ile haşlama yanıkları (Liang ve ark., 2014; Walker & Mason Jr, 1968), çeşitli metallerle ile oluşturulan termal yanıklar (pirinç tarak gibi) (Eski ve ark., 2012; Fırat ve ark., 2013; Guo ve ark., 2015; Loo ve ark., 2014; Shalom ve ark., 2011; Singer ve ark., 2008; Singer ve ark., 2010), insizyon ile oluşturulan yara yanık modelleri (Carney ve ark., 1992; Lin ve ark., 2014; Sun ve ark., 2011), soğuk ve asidik-bazik çözeltiler oluşturulan (Eray ve ark., 2006; Haisma ve ark., 2013) modeller bulunmaktadır. Bu yöntemlerden hangisinin seçileceği amaca göre değişiklik göstermektedir. Bizim amacımıza yönelik olarak 2. derece yanıklarda en uygun ve en çok tercih edilen model ise pirinç tarak ile oluşturulan deneysel yanık modelidir. Sıçanların sırtında yanık oluşturulması Regas ve Erhlich tarafından tanımlanan bu model de yanık staz zonu için kullanılan comb (tarak) modeli ile temas yanığı şeklinde gerçekleştirilmiştir (Regas & Ehrlich, 1992).

2.3.1. Bor

Bor, doğada elementel halde bulunmayan ve periyodik cetvelde 3A grubunda ilk sırada yer alan, “B” simgesiyle gösterilen ve atom numarası 5 olan bir elementtir (Nielsen, 1988). Elementel bor ilk olarak 1808 yılında Thenard, Gay-Lussac ve Davy tarafından eş zamanlı olarak keşfedilmiş olmasına rağmen bor bileşiklerinin kullanımı 4000 yıl önceye kadar uzanmaktadır (Yünlü, 2016). Türkiye’nin dünya bor rezervlerinin %73,5’ine sahip olması ve bor bileşiklerinin kullanım alanlarının çok çeşitli olması açısından bor ülkemizin stratejik önemini arttırmaktadır (Kuru & Yarat, 2017). 1865 yılında kalsiyum borat pandemitinin çıkarılmasıyla ülkemizde başlayan borat endüstrisi, bugün borik asit ihracatıyla dünyanın en büyüğüdür (Uluisik ve ark., 2018). Bor bileşiklerinin kullanım alanları içine cam, seramik, temizlik, beyazlatma, kozmetik, metalurji, nükleer, bilgisayar ve uçak sanayi, enerji sektörü, tarım ve sağlık alanı girmektedir (Kuru & Yarat, 2017). Bor molekülü antimikrobiyal etkinliği olan hidrofobik bir elementtir (Nzietchueng ve ark., 2002). Sağlık alanında, bor bileşiklerinin osteoporoz ve romatoid artrit tedavilerinde, Bor Nötron Yakalama Tedavisi (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT) ile beyin tümörlerinin iyileştirilmesinde, yanık tedavilerinde, yara iyileşmesinde, antiseptik olarak lens solüsyonlarında, merhemlerde, gargaralarda ve göz damlalarında kullanıldığı görülmektedir (Kuru & Yarat, 2017). Bor ile ilgili yapılan çalışmaların odak noktasında borun, toksik etkisi ve diyet önerilerinden daha çok borun vücuttaki biyokimyasal mekanizmaları üzerine olmuştur (Nielsen, 2008). Bor bileşikleri endüstriyel sektörde ve ilaçların hazırlanmasında kullanılmaktadır (Ince ve ark., 2010). Bor bileşiklerinin hücre ve canlı organizmalar üzerinde kanserojenik aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür (Aysel ve ark., 2019).

2.3.2. Borik Asit

Havada, toprakta ve sularda 250'den fazla bor bileşiminin mevcut olduğu belirtilmektedir ve borun oksijene afinitesinin fazla olması nedeniyle borat olarak adlandırılan çok çeşitli bor-oksijen bileşikler mevcuttur (Yenmez, 2009). En basit yapılı olan bor bileşikler bor oksit (B_2O_3) ve borik asit (H_3BO_3) bileşikleridir (Uçkun, 2013). Doğada sassolit olarak bulunan borik asit, borun en önemli bileşimidir ve $B(OH)_3$ veya H_3BO_3 olarak formülize edilir (Kot, 2009; Uluisik ve ark., 2018). Borik asit renksiz ve kokusuzdur. Şeffaf kristal, beyaz granül veya toz halinde bulunur (Demirel ve ark., 2015).

Bor ve türevlerinin mikroorganizmalar üstünde hem fizyolojik hem de toksik etkileri vardır. Borik asit ve tuzları olan boratlar, 1860'lardan beri tıpta bakterisit, fungusit ve antiseptik olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda borik asitin uzun yıllardan beri *Brucella abortus*, *Salmonella pullorum*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter* ve *Citrobacter spp.*, *Morganella*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* türü bakteriler ve *Candida* mantarları gibi mikroorganizmaların proliferasyonlarının engellenmesi amacıyla kullanıldığını göstermektedir (Quarles, 2001). Yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda borik asidin deoksiribonükleik asit (DNA) çift sarmal kırılmalarını azalttığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (Tepedelen ve ark., 2016). Sıçanlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada topikal uygulamada aşil tendonunda iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir (Kaymaz ve ark., 2016). Borik asidin ciltte hücre proliferasyonunu uyardığı, hücre migrasyonunu artırdığı, büyüme faktörü ve cilt hücrelerinde DNA ekspresyonunu artırdığı da gösterilmiştir (Demirci ve ark., 2016). Borik asidin yara iyileşmesinin uyarılması, büyüme faktörlerini ve hücre dışı matriks döngüsünün artması gibi biyolojik etkilerinden dolayı yara iyileşmesini gerçekleştirdiği saptanmıştır (Hakki ve ark., 2010). Yüzde üçlük borik asit çözeltisinin derin yaralara uygulanmasının yoğun bakım

 nitelerinde iyileşme ve hastanede kalış s resinin azalmasına katkı sağladığı bildirilmiştir (Borrelly ve ark., 1991; Nzietchueng ve ark., 2002).

Borik asitin cilt uygulamalarında cilt üzerindeki alerjik tepkisinin çok az olduğu görülmüştür ve cildin bütünlüğü bozulmadığı sürece deri yoluyla emilimi ihmal edilebilir düzeydedir (Demirer ve ark., 2012; Sağlam ve ark., 2013).

2.3.3. Çinko Borat

Çinko, çok çeşitli metabolik mekanizmalarda görev alan bir metal olup, çok sayıda enzim aktivitesi için hayati önem arz etmektedir (Oancea ve ark., 2018). Çinko borat, esas olarak çeşitli polimer türlerinde alev geciktirici katkı maddesi olarak kullanılan çok i levli bor içerikli inorganik bir bileşiktir ve en yaygın kullanılanı $2ZnO.3B_2O_3.3H_2O$ bileşiğidir (Baltaci ve ark., 2013). Son yıllarda çinkonun bor ile yaptığı bileşiklerin çeşitli hastalık ve yara iyileşme sürecindeki terapötik etkisi büyük ilgi uyandırmıştır (Tombuloglu ve ark., 2020). Çinko borat mantar ve böcek öldürücü olarak da kullanılmaktadır (Giudice & Benitez, 2001).

2.3.4. Grafen Hidrojel

Yara örtüsünün en önemli özelliklerinden biri hemostazın teşvik edilmesi ve yara yatağı pH'ının kontrol edilebilmesidir. Hidrojeller, maksimum  i me derecesi ile biyolojik olarak parçalanabilir ve pH'a duyarlı olma özelliğine sahiptirler. Rasool ve ark. kitosan bazlı hidrojellerin yanık yarası yönetimi için potansiyel yapı iskeleleri olduğunu kanıtlamışlardır (Rasool ve ark., 2019). Yara iyileşmesi üzerine yapılan başka bir çalışmada yapışkan nanokompozit hidrojellerin in vivo olarak E. coli ve S. aureus ile enfekte yara üzerinde olağanüstü antibakteriyel aktivite sergilediği bildirilmiştir. Aynı zamanda moksifloksasin etkin maddeli antibiyotik ile yüklenen hidrojeller yüklendikten sonra pH'a duyarlı bir ilaç salım mekanizması ve iyi bir antimikrobiyal etkinlik sergilemiştir (He ve ark., 2020). Hamdi ve ark. hazırlamış oldukları kompozit

hidrojellerle yaptıkları bir çalışmada, hidrojellerin pH'a duyarlı akıllı ilaç verme sistemleri olduğunu, yaranın iyileşmesinin hızlandığını ve yarada tam iyileşme sağladığını göstermişlerdir (Hamdi ve ark., 2020).

İngiltere'de 2004 yılında, laboratuvar ortamında grafitin izole edilmesi ile sp^2 hibritleşmesine sahip düzlemsel tek tabaka halinde grafen elde edilmiştir (Tiyek ve ark., 2016). Grafen esnek yapısının yanı sıra güçlü mekanik özellikler de sergilemektedir (Choi ve ark., 2010; Pierson, 1993). Kimyasal yöntem ile düşük maliyetli ve büyük miktarlarda grafen elde etmek mümkündür. Kimyasal yöntemde, grafitte oksidasyon işlemi uygulanarak tabakalar arası açılır bu şekilde ilk olarak grafen elde edilir, ardından açılan bu tabakalar sonikasyon işlemine tabi tutularak hidrofilik özellikte grafen oksit (GO) elde edilir (Karimi & Wan Daud, 2017; Othman ve ark., 2015). GO sahip olduğu oksijen atomları ile karbon atomlarına kovalent olarak bağlanarak grafeni sp^2 hibritlenmiş halden sp^3 hibritlenmiş hale dönüştürebilen 2 boyutlu bir nano tabakadır. Bu durum GO'nun grafenden termal, iletkenlik ve mekaniksel açıdan farklı olmasına neden olmaktadır (Akin ve ark., 2014; Sattler, 2016).

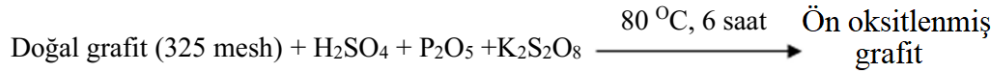
Son yıllarda non-toksik yapısı, biyouyumlu olması ve esnek yapısı ile biyomedikal implantlarda, doku iskelelerinde ve ilaç taşıma sistemleri gibi sağlık alanında farklı çalışmalarda sıkça tercih edilmektedir (Chung ve ark., 2013; Lee ve ark., 2016).

Grafen bazlı malzemelerin hazırlanmasında özellikle de grafen hidrojellerin hazırlanması için yaygın olarak grafen oksit kullanılır (Zhao ve ark., 2014). Hidrojel yara örtülerinin hava geçirgenliğine sahip olmaları ve nemli ortam sağlamaları açısından yara tedavisinde sıkça tercih edilmektedir. Ayrıca cilt tutuculuğu ve istenilen boyutlarda uygulanabilirliği özelliklerinden dolayı da yara örtüsü olarak kullanımda avantaj sağlar. Bu örtüler sahip oldukları sıkı ağ yapısı ile enfeksiyon oluşumuna neden olan mikroorganizmalara karşı yara bölgesini korur. Hidrojel yapılar biyoaktif molekülleri

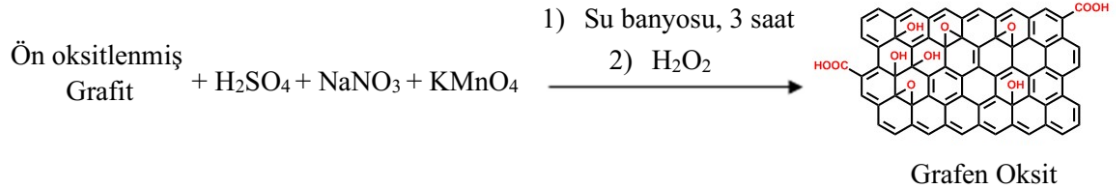
hapsederek yara merkezinde bu moleküllerin kontrollü olarak salınımına izin vermektedir (Kamoun ve ark., 2017). Hidrojel sargıların yüksek su içeriği bu sargıları kuru ve nekrotik yaraların tedavisi için uygun hale getirir ve nemli ortam hücrel yara çözme sürecini geliştirmektedir (Koehler ve ark., 2018).

Kimyasal Yolla Grafen Oksit Sentezi

1. Basamak: Doğal grafit tabakalarının ön oksidasyonu



2. Basamak: Modifiye Hummers Yöntemi ile grafit oksit sentezi



Şekil 2.1. Kimyasal yolla grafen oksit sentezinin şematik gösterimi

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Bu doktora tezi Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 119S510 nolu proje kapsamında in-vitro ve in-vivo olmak üzere 6 aşamada planlanan çalışmaların in-vivo aşamasını içermektedir.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) 22.02.2018 yılı 40 nolu karar onayı alınarak yapılmıştır. Çalışmada 80 adet Albino Wistar cinsi 240-260 g ağırlığında erkek sıçan kullanıldı. Her bir gruba 10 sıçan olacak şekilde hayvanlar tek tek kafeslere yerleştirildi ve adaptasyonları için bir hafta beklenildi. Yanık modeli sonrasında hayvanların birbirlerinin yaralarını kemirme riskini ortadan kaldırmak için tek başlarına bölme ile ayrılarak tutuldu. Aynı zamanda hayvanların kendilerinin yaralarını yalamaması için sıçan giysileri kullanıldı. (Şekil 3.1.)



Şekil 3.1. Sıçan giysileri

3.1.2. Kullanılan Ürünler

- Silverdin (Gümüş Sulfadiazin)
- Grafen hidrojel yara bandı
- Grafen hidrojele %1,5 Borik Asit katkılanmış yara bandı
- Grafen hidrojele %3 Borik Asit katkılanmış yara bandı
- Grafen hidrojele %4,5 Çinko Borat katkılanmış yara bandı
- Grafen hidrojele %9 Çinko Borat katkılanmış yara bandı
- Tiypental sodyum: Çalışmada i.p. olarak ötenazi için 50 mg/kg Tiypental sodyum (İE ULAGAY) verildi.
- Metamizol sodyum: Hayvanlarda post operatif olarak analjezik amaçlı 50 mg/kg metamizol sodyum (antiinflamatuvar etkisi olmayan yara iyileşmesini bozmayan) içme sularına katılarak kullanıldı.
- Pirinç tarak (Brass comb)

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihazlar	Modeli ve Firması
Eliza Okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, USA
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Doku Homojenizatörü	Ika-Werke
Hassas Terazi	Shimadzu ATX224, USA
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany

Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic, USA
Buzdolabı (-86 °C)	Nuaire NU-9483E, USA
Otomatik Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300µ)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus
Mikroskop	Nikon Eclipse E600
Homojenizasyon Cihazı	RLT Buffer ile Tissue Lyser II
RNA İzolasyon Cihazı	Qiagen, Hilden, Germany
Spektrofotometri	EPOCH Take3 Plate, Biotek
İmmünohistokimya Boyama Cihazı	Ventana BENCHMARK GX
Termal Dengeleyici	Veriti Thermal Cycler
PCR Analizi	Step One Plus Real-Time PCR System technology

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, 7 deney grubu ve bir sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 8 grup oluşturuldu. Her bir grupta 10 adet olmak üzere toplam 80 adet sıçan kullanıldı. Deney planı, Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. İn-vivo deney gruplarının iş paketlerine göre dağılımı

Gruplar	0. gün	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Sağlıklı Kontrol Grubu					
Yanık Kontrol Grubu	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi
Yanık + Silverdin Kontrol	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi
Yanık + Grafen Hidrojel (GH)	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi
Yanık + GH + Borik Asit % 1,5	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi
Yanık + GH + Borik Asit % 3	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi
Yanık + GH + Çinko Borat % 4,5	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi
Yanık + GH + Çinko Borat % 9	Yanık	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi	Biyopsi+ Ötenazi

3.2.2. Araştırma Aşamaları

Bu doktora tezi TÜBİTAK 119S510 nolu proje kapsamında in-vitro ve in-vivo olmak üzere 6 aşamada planlanan çalışmaların in-vivo aşamasını içermektedir. Daha önceki in-vitro çalışmalar ile mevcut çalışma bir araya getirildiğinde TÜBİTAK 199S510 nolu proje aşamaları özetle aşağıda verilmiştir.

Birinci aşamada; Ülkemizde Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü tarafından üretilen ve temin edilen rafineri bor bileşiklerinden borik asit ve çinko boratın yanık enfeksiyonlarında en çok karşılaşılan mikroorganizmalara yönelik olarak in-vitro antimikrobiyal özelliklerinin ve yara iyileşmesi üzerine hücre kültürü testleri yapıldı.

Böylece literatürdeki borik asit ve çinko boratın (Tablo 3.2.) antimikrobiyal bilgisinin teyit edilmesiyle birlikte test edilmemiş diğer mikroorganizmalar üzerine etkisi belirlendi ve aynı zamanda borik asit ve çinko boratın yara iyileşmesi üzerine hücre kültürü testleri; hücre canlılık ve proliferasyon testi ve migrasyon ölçümü yapıldı (Bayir ve ark., 2024; Civelek ve ark., 2021; Yurdgülü ve ark., 2021).

Tablo 3.2. Değerlendirilmeye alınacak bor ürünleri

Ürün adı	Temin Yeri
Borik Asit (H_3BO_3) Technical. Grade, Ultra Low	ETİ BOR
Çinko Borat (Zn_3BO_6)	ETİ BOR

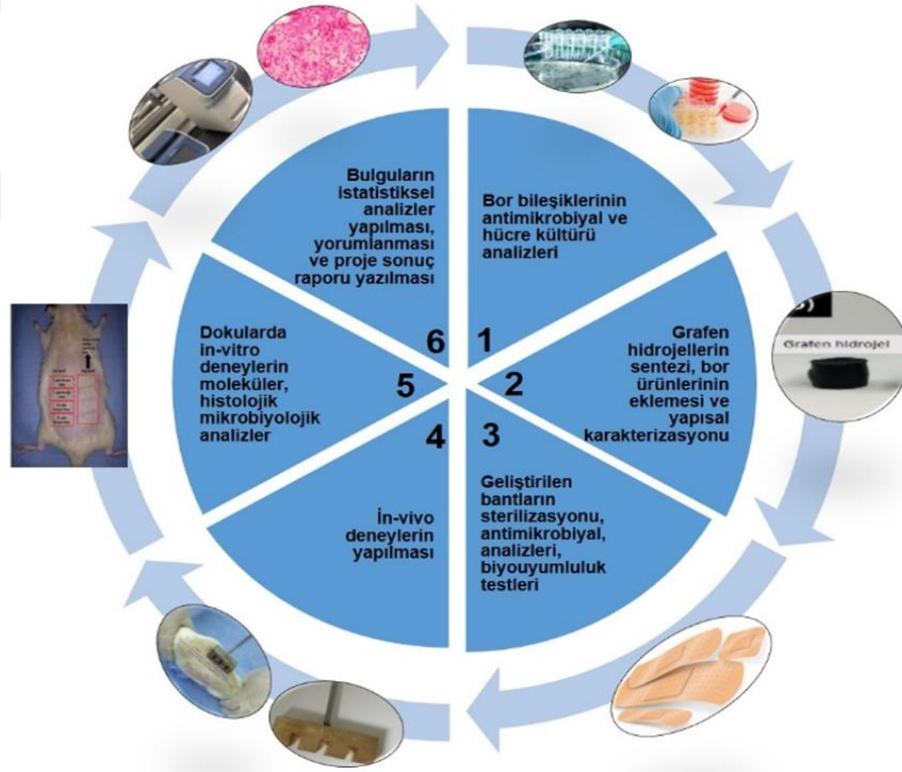
İkinci aşamada; Çalışmada borik asitin dozu %1,5 ve %3 olarak belirlendi. En yüksek doz olarak borik asitin %3 seçilmesinin nedeni Avrupa Komisyonunun 76/768/EEC direktiflerine göre izin verilen limitlerin talklarda en yüksek %5, oral hijyen ürünlerinde %0,5 ve diğer ürünlerde ise %3 borik asit olmasıdır (Roy ve ark., 2010). Çinko boratın %45 ZnO ve %34 borik anhidrit (B_2O_3) ve %20 sulu kısımdan oluştuğundan borik asite yıkılacağı göz önünde bulundurularak %4,5 ve %9'luk dozlarının grafen bazlı hidrojellere katkılanması sonucu yanık bantları geliştirildi. Borik anhidrit ve çinko oksitten oluşan çinko boratı seçmemizin sebebi ise çinko bileşiklerinin cilde olan koruyucu etkileri, cilt enfeksiyonlarını, inflamasyonları, neoplazileri içeren birçok cilt hastalığında kullanılması ve bor ile oluşturduğu Eti Maden Bor İşletmeleri tarafından da sentezlenen yeni bir bileşik olmasıdır. Grafen hidrojellere katkılanarak elde edilecek olan malzemelerin yapısal tanımlanması ve sterilizasyonu 25 kGy gamma radyasyon uygulanarak yapıldı.

Üçüncü aşamada; Borik asit ve çinko borat katkılı grafen hidrojel­leri içeren 4 adet bantın sterilizasyonunu takiben bu ürünlerin mikrobiyolojik analizleri ve hücre kültüründe iritasyon-biyouyumluluk testleri yapıldı.

Dördüncü aşamada; Doktora tezimin konusu olan borik asit ve çinko borat katkılı grafen hidrojellerin sıçanlarda pirinç tarak ile oluşturduğumuz 2. derece yanık modeli üzerine etkinliği kontrol grupları ile kıyaslanarak araştırıldı.

Beşinci aşamada; İn vivo deneyler sonucu elde edilen doku örneklerinde moleküler, histopatolojik, biyokimyasal ve antimikrobiyal analizler yapıldı.

Altıncı aşamada; Moleküler, histopatolojik, biyokimyasal ve antimikrobiyal analizlerden elde edilen bulguların istatistiksel analizleri yapıldı. (Şekil 3.2.)

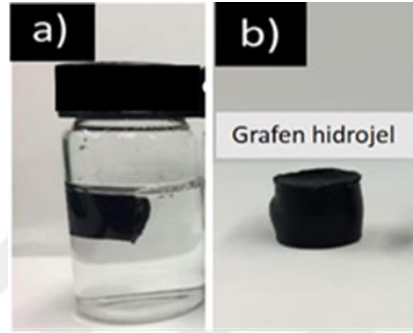


Şekil 3.2. Araştırma aşamaları

3.2.3. Grafen Hidrojel Sentezi

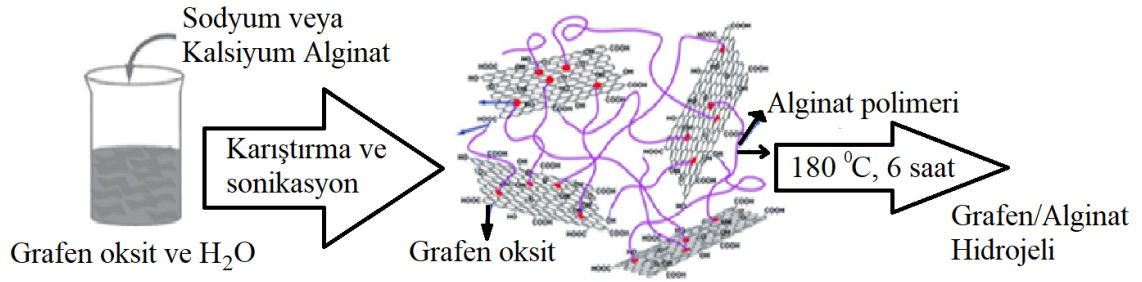
Yöntem 1: Grafen hidrojel­ler literatürde bilinen grafen oksitin hidrotermal indirgeme yöntemi ile sentezlendi (Xu ve ark., 2010). Tipik bir grafen hidrojel sentezinde,

grafen oksitin sulu çözeltisi (3 mg/ml) teflon astarlı paslanmaz çelik bir reaktör (500 ml) içerisinde 180 °C’de 12 saat hidrotermal işleme tabii tutulur. İşlem sonrası oda sıcaklığına soğutulan reaktör içerisinde grafen hidrojelleri bir pens yardımıyla alınır ve filtre kâğıdı üzerinde kurutulur. Şekil 3.3.’te yaptığımız ön deneme sonucu elde ettiğimiz grafen hidrojeline ait bir fotoğraf sunulmuştur.



Şekil 3.3. Ön deneme sonucu sentezlenen grafen hidrojele ait temsili fotoğraflar

Yöntem 2: Yukarıda detayları verilen ilk sentez yöntemiyle elde edilen grafen hidrojellerinin elastik ve şekillendirilebilme özelliklerinin tez kapsamında geliştirmeyi hedeflediğimiz yara bandını geliştirme sürecinde sorun teşkil etmesi durumunda, biyolojik uyumluluğu yüksek suda çözünür aljinat polimerini grafen hidrojel yapısına katkılayarak grafen/aljinat hidrojellerinin sentezlenmesi yapıldı. Bu yöntemde yine aynı reaktör içerisinde grafen oksitin sulu çözeltisi içerisine sodyum/kalsiyum aljinat eklendi ve oda sıcaklığında belirli süre karıştırıldı. Daha sonra yine aynı hidrotermal indirgeme yolu ile grafen/aljinat hidrojellerinin sentezi gerçekleştirildi (Zhuang ve ark., 2017). Bu sentez yöntemine ait temsili şematik gösterim Şekil 3.4.’te sunulmuştur.



Şekil 3.4. Kimyasal yolla grafen oksit sentezinin şematik gösterimi

3.2.4. Grafen Hidrojel, Borik Asit ve Çinko Borat Katkılı Grafen Hidrojel

Bantların Tasarlanması ve Sterilizasyonu

Yapısal tanımlamaları yapılan grafen hidrojel, borik asit katkılı grafen hidrojeller (%1,5 ve %3) ve çinko borat katkılı grafen hidrojeller (%4,5 ve %9) boş flaster bantlara belirlenen grupların dozlarına göre 50 mg'lık hidrojeller 3x7cm'lik bant kısmına 2.5x6cm'lik alana 1 ml saf su ile emdirildi. Grafen hidrojel, borik asit (%1,5 ve %3) ve çinko borat (%4,5 ve %9) içeren her bir gruptaki (5 grup, her bir grupta ihtiyaç duyulan 80 bant olacak şekilde toplam 400 bant) bantlar sterilizasyon poşetleri içine özenle konularak ısı ile kapatıldı. Daha sonra 25 kGy gamma radyasyon uygulanması yapılmak üzere Tekirdağ-Çerkezköy'de faaliyet gösteren Gammapak Sterilizasyon San. ve Tic. A.Ş şirketine gönderilerek sterilizasyon işlemi tamamlandı.

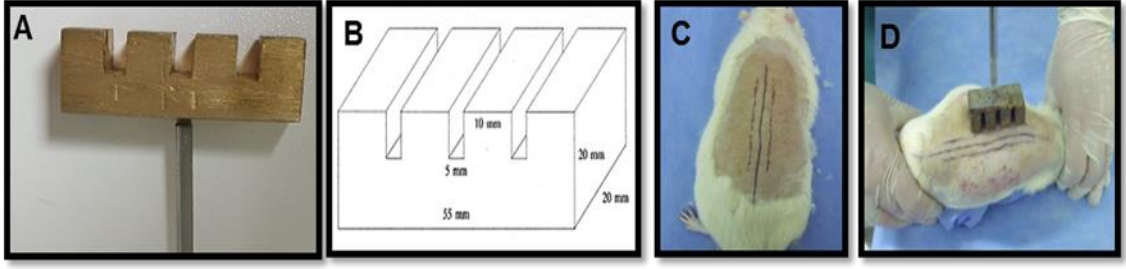


Şekil 3.5. Gruplara göre yanık bantlarının yapımı ve sterilizasyon işlemi

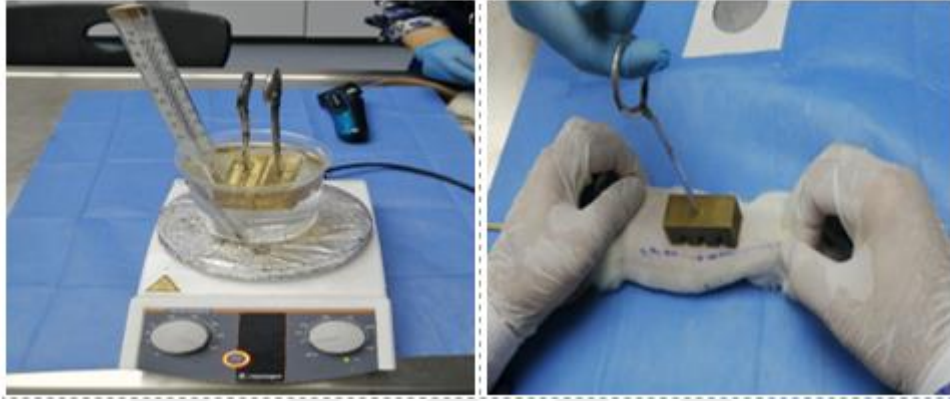
3.2.5. Pirinç tarak ile Oluşturulan Yanık Modeli ve Deneyin Kurgulanması

2. derece yanıklarda en uygun ve en çok tercih edilen model olan pirinç tarak ile oluşturulan deneysel yanık modeli kullanıldı. Sıçanların sırtında yanık oluşturulması Regas ve Erhlich tarafından tanımlanan bu model de yanık staz zonu için kullanılan tarak modeli ile temas yanığı şeklinde gerçekleştirildi (Regas & Ehrlich, 1992). Pirinç metalinden yapılmış pirinç tarak 5.5 cm uzunluğunda, 2 cm yüksekliğinde ve 2 cm genişliğinde üzerinde 3 tane 0.5 cm'lik boşluğu içeren dikdörtgenler prizmasının tarak şekline dönüştürülmesiyle elde bir metal alaşımıdır. (Şekil 3.6.-A ve Şekil 3.6.-B) 1x2 cm'lik koagülasyon zonu oluşturacak 4 adet kolon ile bu kolonlar arasında 0.5x2 cm lik staz zonu oluşturacak 3 adet boşluktan oluşacak şekilde hazırlandı. Bu modele göre sıçanlar anestezi altında önce sıfır numara tıraş makinesi daha sonra daha ince sıfır cilt tıraş makinesi ile tamamen tüyleri ortadan kaldırıldı ve 2. Derece yanık modeli işlemine geçildi. (Şekil 3.6.-C) Genel anestezi altına alınmış (%10 (90 mg/kg) ketamine ve %2 xylocaine (10 mg/kg)) sıçanların tıraşlanmış sırt bölgesi orta hattına (columna vertebralis) 0.5 cm lateralinde ve orta hatta paralel olacak şekilde her iki yanına sınır çizgiler çizildi. (Şekil 3.6.-C) Ardından kaynayan su içerisinde 15 dakika bekletilen comb model 20 saniye süresince kendi ağırlığınca hiçbir baskı uygulamadan sınır çizgilerin lateraline gelecek şekilde sıçan sırtında tutuldu. (Şekil 3.7.) Yanık oluşturma işlemi sırasında sıçan sırtının düzleştirilmesi ve comb modelin tam temasının sağlanması için sıçanların ventral yüzüne destek verildi. Daha önce yapılan çalışmalarda bu sıcaklık ve sürede derin 2.derece yanık elde edildiği histolojik olarak görülmüştür (Gozubuyuk ve ark., 2014).

Sıçan sırtının önce sağ tarafında daha sonra sol tarafında yanık işlemi oluşturuldu. Böylece sıçan sırtında sağda ve solda her iki alanda dörder adet 2 cm² toplamda 16 cm² yanık alan oluşturuldu. (Şekil 3.6.-D)



Şekil 3.6. Pirinç tarak ölçüleri, şekli ve örnek yanık hali

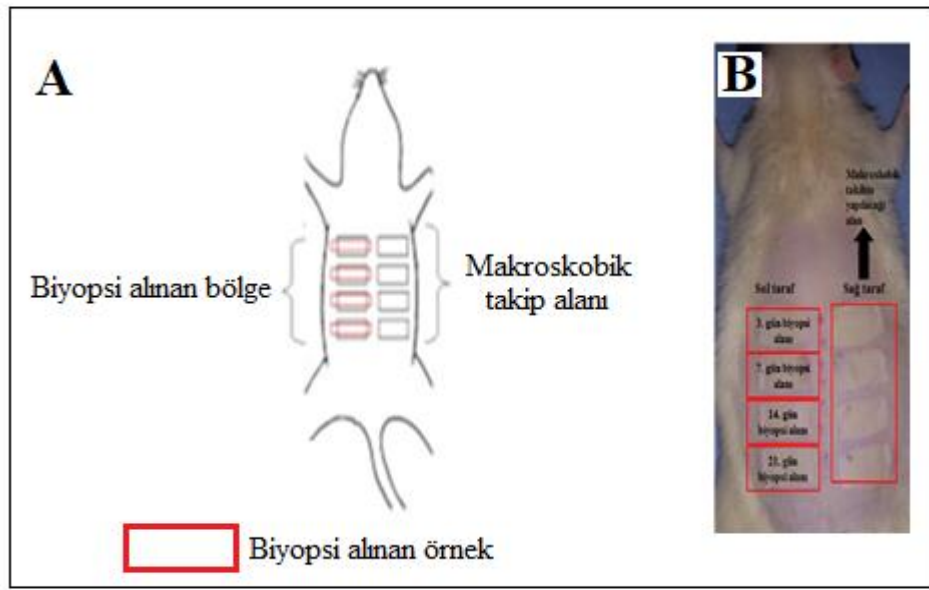


Şekil 3.7. Pirinç tarak ile yanık modelinin oluşturulması

Tedavi Uygulaması: Yanık oluşturulduktan 30 dk sonra tedavi grubu olarak rastgele seçilen 10 sıçana aşağıda gösterilen gruplara (Tablo 3.1.) göre elde ettiğimiz ürünlerin yara iyileşmesi üzerine etkinliği belirlenmeye çalışıldı. Aynı zamanda kontrol grubu olarak rastgele seçilen 10 sıçana ise sadece bandaj yapıldı. Hayvanlar her gün mutlaka kontrole tabi tutuldu. Sıçan giysilerini ve bandajlarını çıkaran hayvanlar giydirildi. En az 3 günde bir tüm grupların bantları değiştirildi. Ayrıca hayvanlarda post operatif olarak analjezik amaçlı 50 mg/kg metamizol sodyum (antiinflamatuvar etkisi olmayan yara iyileşmesini bozmayan) içme sularına katılarak kullanıldı.

Doku Örneklerinin Alınması: Sıçanların sağ taraftaki yanık alanlarından anestezi altında 3, 7, 14 ve 21. günlerde yara iyileşme bölgesinin hemen yanından 5 mm boyutunda insizyonel biyopsiler alındı. (Şekil 3.8.A-B) İnsizyon alanları 3/0 ipek ile sütüre edildi. Aynı zamanda mikrobiyal sürüntü analizleri de aynı günlerde yapıldı.

Alınan doku örneklerinin yarısı %10'luk formol solüsyonuna yarısı ise sıvı azot ile flaş dondurma yapılarak -80 °C buzdolabına konuldu. Tedavi alan ve almayan her iki tarafında yanık alanları makroskobik değerlendirmede kullanılmak üzere biyopsi günlerinde ayrı ayrı grupların fotoğraf çekilerek makroskobik analizi yapıldı ve ayrıca 3 günde bir yara bantları ve bandajları değiştirildi. 21. gün sonunda sıçanlar yüksek doz anestezi ile ötenazi edildi ve bu sıçanların dokuları alınarak moleküler ve histopatolojik analizler için saklandı.



Şekil 3.8. Biyopsi alanları ve yanık iyileşmesinin takip edileceği alan

3.3. İn Vivo Deneysel Analizler

3.3.1. Makroskobik İncelemeler ve İyileşme Yüzdesi Analizleri

Yanık oluşturulan hayvanların yanık oluşturulan deri kısımları deney sürelerinden belirtilen zamanlarda aynı şartlarda ve uygun ışık altında özel bir tripod aracılığıyla fotoğraflandı. Çekilen her bir fotoğrafta gerçek ölçüyü belirten cetvel vb. ölçü aletleri kullanıldı. Çekilen fotoğraflar bilgisayar ortamına kaydedilip java temelli Image J 1.49V programı (Rasband, W.S., Image J, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>) kullanılarak yanık yarasının oluşturmuş olduğu

alanlar ölçüldü. Her bir hayvanda yanık tedavi alan ölçüleri yanığın yapıldığı ilk güne oranlanarak iyileşme yüzdesi belirlendi. Bu yöntemle re-epitelizasyon ve granülasyon dokusunun boyutları gruplar arasındaki muhtemel iyileşmesi belirlendi.

Deneylerin özellikle başlangıç günü ve diğer 3, 7, 14 ve 21. günleri bursiyer ve gönüllü arkadaşlarımızın katılımıyla yapılmıştır. 3, 7, 14 ve 21. biyopsi günlerinin yanı sıra bursiyer ve gönüllü arkadaşlarla birlikte sıçanların her gün kontrolleri ve takipleri yapıldı. Kontroller esnasında sıçan giysisini çıkaran ya da bandajında sorunlu olan sıçanlara gerekli müdahaleler yapıldı. Deneysel süreçler ve sosyal içerikli görsellerimiz sırasıyla Şekil 3.1.'de sunulmuştur. Resimlerde deneysel süreçler sıralı şekilde yerleştirilmiştir.

3.3.2. İn-vivo Deneylerden Sonra Elde Edilen Dokularda Gen Ekspresyon Çalışmalarının Yapılması

Sıçanların sağ taraftaki yanık alanlarından anestezi altında 3, 7, 14 ve 21. günlerde yara iyileşme bölgesinin hemen yanından 5 mm boyutunda insizyonel biyopsiler alındı. Sıvı azot ile flaş dondurma yapılarak -80 °C buzdolabına saklandı. Gen ekspresyon analizleri için yanık yara iyileşme sürecinde rölatif Kollajen Tip 1, α -SMA, TGF- β , VEGF, TNF- α ve IL-6 mRNA ekspresyonları Qiacube (Qiagen), Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystem), Step One Plus Real-Time PCR System technology (Applied Biosystem) cihazları kullanılarak tabloda verilen primer dizilerine göre gerçekleştirildi (Tablo 3.3.). TaqMan bazlı ilgili genlerin primer problemleri kontrol grubuna göre rölatif-kat olarak değerlendirildi. Endojen kontrol gen olarak β -actin kullanıldı. Dokular sıvı azot ile homojenize edildikten sonra 30 mg doku Qiagen Tissulyser II aracılığıyla 1 ml RLT tamponu ile sıvı ortamında iyice parçalanarak homojenize edildi. Soğutmalı santrifüjde 12000 RPM'de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar başka bir tüpe alındı. Homojenize edilmiş numunelerin Qiagen, Qiacube tam otomatik mRNA izolasyon cihazı

ile Qiagen RNA easy mini kit protokolüne uygun olarak Qia-cube tam otomatik cihazında mRNA izolasyonu yapıldı. İzolasyon sonrası her bir numunedeki ribonükleik asit (RNA) içeriğine göre alınacak numune miktarı belirlendi ve cDNA sentezine geçildi. Her bir mRNA'dan cDNA sentezi Thermal Cycler cihazı ile Roche high capacity cDNA reverse transcription kit protokolüne göre yapıldı. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) analizlerinden her bir cDNA örneği için Real-Time PCR reaksiyonu 96 kuyucuklu playtlerde ölçüldü. Tüm veriler kontrol grubuyla karşılaştırmalı şekilde $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metoduna göre hesaplandı (Livak & Schmittgen, 2001).

Tablo 3.3. Primerlere ait sekanslar

Genler	Primer sekans dizisi
TNF- α	F-CAAATGGGCTCCCTCTCATC R-GCTACGGGCTTGTCACCTC
IL-6	F-CTGATTGTATGAACAGCGATGATG R-CCAGAAGACCAGAGCAGATTT
TGF- β	CGGACTACTACGCCAAAGAAG CTTCCCGAATGTCTGACGTATT
VEGF	F-CAATGATGAAGCCCTGGAGT R-TCTCCTATGTGCTGGCTTTG
α -SMA	F-AGCATCCGACCTTGCTAAC R-TGGCCTGAATAGCCACATAC
Kollajen tip 1 α	GCCAAGAAGACATCCCTGAA GGCAGATACAGATCAAGCATACA
B-aktin	TGACGGTCAGGTCATCACTA TCATGGATGCCACAGGATTC

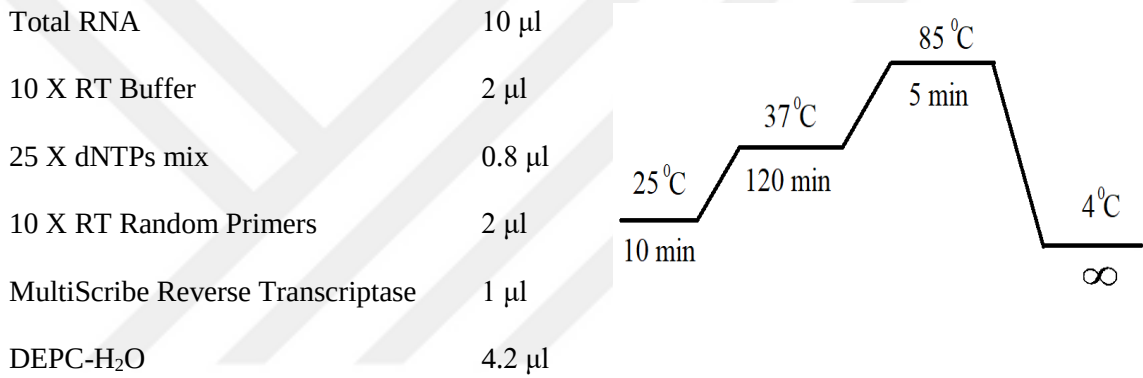
3.3.3. Dokuda RNA İzolasyonu

İn-vivo deneylerden elde edilen yanık dokuları sıvı azot ile öğütülüp ardından RLT Buffer ile Tissue Lyser II homojenizasyon cihazı ile 30 Hz'de 20 saniye homojenize edildi, 12000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Elde edilen süpernatantlar Qiacube cihazına yüklenip cihaz protokolü başlatıldı. Homojenat örnekleri RNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılarak Qiacube RNA izolasyon cihazında (Qiagen) total RNA izolasyonu aşamaları üreticinin tavsiye ettiği şekilde yapıldı.

3.3.4. Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi

High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanımı ile total RNA'dan cDNA sentezi yapıldı. Her reaksiyon 10 µl RNA ile cDNA sentezi aşağıdaki sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile ölçüm belirlendi ve cDNA'lar bir sonraki Real-Time PCR analizleri için -20°C'de saklandı.

cDNA sentez reaksiyonu:



3.3.5. Real-Time PCR ile İn Vivo mRNA Ekspresyonunun Kantitatif Olarak Belirlenmesi

Gen ekspresyon analizleri için yanık yara iyileşme süreci aşağıdaki gibi yapılmıştır. TaqMan bazlı ilgili genlerin primer problemleri Primer Design Ltd. firmasında dizayn ettirilip temin edildi. Sonuçlar kontrol grubuna göre rölatif-kat olarak değerlendirildi. Endojen kontrol gen olarak β -actin kullanıldı ve her bir cDNA örneği için üç tekrar olarak uygulandı. Real-Time PCR reaksiyonu 96 kuyucuklu pleytlerde 2.5 µl cDNA (100 ng), 1 µl Primer Probe, 6.5 µl PCR grade su ve 10 µl PCR Master miks (Qiagen, Hilden, Germany) olacak şekilde toplam reaksiyon volümü her bir kuyucukta 20 µl'ye tamamlandı. Hazırlanan reaksiyon plağı 10 dk 95 °C'de bir siklüs, 30 sn 95 °C'de bir siklüs, 60 sn 60 °C'de 1 siklüs ve toplam 45 siklüs olacak şekilde yürütüldü.

Tüm veriler kontrol grubuyla karşılaştırmalı şekilde $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metoduna göre hesaplandı (Livak & Schmittgen, 2001).

3.4. Histopatolojik ve Makroskopik Analizler

Sıçanların sağ taraftaki yanık alanlarından anestezi altında 3, 7, 14 ve 21. günlerde yara iyileşme bölgesinin hemen yanından alınan 5 mm boyutunda insizyonel biyopsiler %10'luk formalinde bekletildi ve bu örnekler doku takibi yapıldı.

3.4.1. Doku Takip işlemleri

Cerrahi işlem sonunda formalin çözeltisine alınan deri doku örnekleri, 48 saat fiksasyonu takiben plastik doku takip kasetleri içine alınarak etiketleme yapıldı. 2 saat boyunca akan su altında yıkandıktan sonra doku örnekleri, sırasıyla %50'lik (2 saat), %70'lik (1 saat), % 80'lik (1 saat), % 96'lık (1 saat), % 99'luk alkol (1 saat) serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi uygulandı. Ardından üç seri ksilenden (3x15 dakika) geçirilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Son olarak dokular yumuşak ve sert parafin serilerinden (46-48 derecelik -1 saat ve 56-58 °C -1 saat) geçirilerek takip işlemi tamamlandı. Takip protokolü sonunda plastik kasetler açıldı ve doku örnekleri metal bloklama kalıbı içine kesit düzlemine uygun olarak sabitlendi. Son olarak, kalıplar erimiş parafin ile doldurularak oda sıcaklığında donmaya bırakıldı ve bloklama işlemi tamamlandı.

Elde edilen bloklar mikrotom cihazına yerleştirildi ve her bir bloktan 5'er mikrometre kalınlığında ardışık seri kesitler alındı. Mikrotomdan çıkan kesitler, sıcak su havuzu yardımıyla histopatolojik inceleme için polilizin lamlara alındı ve boyandı.

3.4.2. Hematoksilen ve Eozin Boyaması

Polilizin kaplı lam üzerine alınan doku örnekleri parafinin uzaklaştırılması ve dokunun lam üzerine iyice sabitlenmesi amacıyla 20 dakika boyunca 60 °C'deki etüvde tutuldu. Akabinde ise üç kez, beşer dakika ksilen serisinden geçirilerek parafin iyice

uzaklaştırıldı. Ksileni dokudan uzaklaştırarak suya yaklaştırmak için lamalar azalan alkol serilerinde (%99, %96, %80, %70, %50) ikişer dakika tutuldu. Alkolün uzaklaştırılması amacıyla 5 dakika akan suda yıkama işlemi yapıldı. Ardından üç dakika Harris hematoksilin boyası ile nükleus boyama işlemi yapıldı. Akabinde fazla boyanın giderilmesi için beş dakika akan suda yıkama yapıldı. Örnekler, zıt boyama amacıyla Eozin Y solüsyonunda 2 dakika bekletildi. Fazla boyanın giderilmesi için lamalar % 96'lık alkole beş kez yavaşça daldırıp çıkarıldıktan sonra % 100'lük alkolde iki dakika ve üç seri ksilolde iki dakika bekletildi. Entellan yapıştırma balzamu kullanarak doku yüzeyleri lamel ile kapatıldı.

3.4.3. Masson Trikrom Boyaması

Alınan seri kesitlerden bir diğeri Masson trikrom boyaması ile bağ doku alanı daha ayrıntılı olarak gösterildi. Masson trikrom boyaması şu şekilde yapılmıştır. Slaytlar, weigert'in demirli hematoksilin çalışma solüsyonunda 10 dakika boyunca nükleus boyaması yapıldı. Fazla boyanın giderilmesi için akan ılık musluk suyunda 5 dakika yıkandı. Ardından, Biebrich kırmızı asitli fuksin solüsyonunda 10 dakika boyama işlemine tabi tutuldu ve boyadan çıkınca distile suda yıkanarak fazla boya giderildi. Daha sonra, fosfomolibdik-fosfotungstik asit solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Akabinde slaytlar doğrudan (yıkama yapılmadan) anilin mavisi solüsyonuna yerleştirilir ve 5 dakika bekletildi. Ardından, slaytlar distile su ile hızlıca yıkanıp ve %1'lik asetik asit solüsyonunda 2 dakika tutuldu. Bu işlemin ardından tekrar, distile suda yıkama işlemi yapıldı. Son olarak standart kapatma protokolü takip edilerek (%95 etil alkol, %99 etil alkol ve ksilen içinde bekletme ve kapatma) reçineli yapıştırma maddesi ile lam yüzeyleri lamel ile kapatıldı. Mikroskopik incelemeye kadar iyice kurutulup saklandı.

3.4.4. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü

İmmünohistokimyasal analizler için alınan slaytlardan 2 tanesi kesitler Ventana BENCHMARK GX otomatik immünohistokimya boyama cihazına yerleştirildi ve rutin olarak Smad3 ve VEGFR1 antijenleri ile boyandı. Boyama işlemi sırasında antijen yüzeye yapışan antikorlar sekonder antikor ile işaretlendi ardından DAB reaksiyonu ile boyanarak kahverengi renk ile antikor pozitif alanlar görünür hale getirildi. Cihazdan çıkarılan lamalar, sabunlu solüsyonda birkaç kez daldırılıp çıkarılarak yağlı yüzeyden arındırıldı. Akabinde %100'lük alkolde bir dakika ve üç seri ksilolde ikişer dakika tutulduktan sonra entellan yapıştırma medyumunu kullanarak doku yüzeyleri lamel ile kapatıldı.

3.4.5. Kesitlerin İncelenmesi

Kesitler Nikon Eclipse E600 marka mikroskop ile incelenerek fotoğraflandı. Çekilen mikrograflar karşılaştırmalı incelemenin kolay olması amacıyla, Adobe Photoshop CS6 programı ile bir araya getirildi. Tüm kesitlerde ödem, infiltrasyon, fibroblast hücre atışı kollajen lif artışı, bağ doku artışı gösterildi ve yorumlanarak ortaya konuldu. Ayrıca bu bulgular gruplar arasında değerlendirme yapmak için skorlandı.

Ayrıca immünohistokimyasal olarak yanıktta önemli belirteçlerden olan VEGFR1 ve Smad3 boyaması sonuçları ile gösterilerek 5 farklı alandaki pozitif hücre sayısı toplamı elde edilerek istatistiki olarak farklılıklar ortaya konuldu (One way Anova Tukey test).

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm analiz sonuçları one-way varyans (ANOVA), Duncan veya Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapıldı. Her bir grupta standart sapmalar hesaplandı ve $\pm$ SD olarak belirtildi. Tüm istatistiksel analiz IBM SPSS Statistich 20.0 kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak önemi ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. İn-vivo Deneysel Analiz Sonuçları

4.1.1. Makroskobik İncelemeler ve İyileşme Yüzdesi Analizleri

Daha önce aşağıda belirlenen gruplarda (Tablo 4.1.) deney belirlenen metoda göre uygulandı. 3, 7, 14 ve 21. günlere ait resimler çekildi, iyileşme yüzde oranları Şekil 4.1.'de verildi.

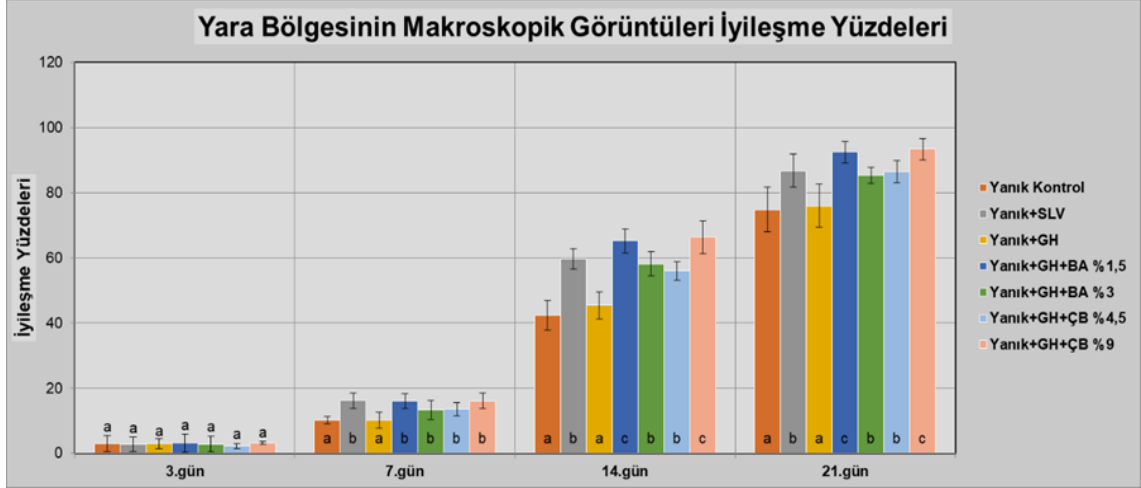
Tablo 4.1. Deney grupları

Gruplar			
1. Grup	Sağlıklı Kontrol Grubu		
2. Grup	Yanık Kontrol Grubu		
3. Grup	Yanık	+ Silverdin Kontrol	
4. Grup	Yanık	+ Grafen Hidrojel	
5. Grup	Yanık	+ Grafen Hidrojel	+ Borik Asit % 1,5
6. Grup	Yanık	+ Grafen Hidrojel	+ Borik Asit % 3
7. Grup	Yanık	+ Grafen Hidrojel	+ Çinko Borat % 4,5
8. Grup	Yanık	+ Grafen Hidrojel	+ Çinko Borat % 9

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Sağlıklı				
Yanık				
Yanık + Silverdin				
Yanık + Grafen Hidrojel (GH)				
Yanık + %1,5 Borik Asit + GH				
Yanık + % 3 Borik Asit + GH				
Yanık + %4,5 Çinko Borat + GH				
Yanık + % 9 Çinko Borat + GH				

Şekil 4.1. Deney gruplarının günlere göre makroskobik görselleri

Deneyler tamamlandıktan sonra her bir grubun iyileşme ortalamasına göre grubu yansıtan resimleri seçilerek Şekil 4.2.'de gösterildi. Aynı zamanda tüm sıçanların iyileşme yüzdeleri İmage J programı ile belirlenerek 3, 7, 14 ve 21. günlere göre tüm iyileşme yüzdeleri Şekil 4.2.'de gösterildi.



Şekil 4.2. Deneysel grupların iyileşme yüzdeleri

Şekil 4.2.'deki resimlerden görüldüğü gibi 3. gün itibariyle tüm gruplarda makroskopik olarak bir değişiklik gözükmemektedir. İyileşme yüzdesi bakımından da istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme gözükmemektedir. 7. gün itibariyle grupları birbirleri arasında makroskopik olarak kıyasladığımızda kontrol grubu ile tedavi grupları arasında belirgin bir fark gözükmemektedir. İyileşme yüzdesi bakımından değerlendirildiğinde Yanık kontrol grubu ile Yanık+GH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuyor ($p>0.05$) iken Yanık Kontrol grubu ile kalan diğer tedavi grupları (Yanık+GH-BA %1,5, Yanık+GH-BA %3, Yanık+GH-ÇB %4,5 ve Yanık+GH-ÇB %9) kıyaslandığında tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme olduğu gözükmemektedir. ($p<0.05$). 7. gün itibariyle iyileşme olan tedavi grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise istatistiksel olarak bir fark bulunmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). 14. gün itibariyle grupları birbirleri arasında makroskopik olarak kıyasladığımızda kontrol grubu ile tedavi grupları arasında iyileşme seviyelerinde

belirgin farklar gözükmemektedir. 14. gün itibariyle makroskobik olarak tedavi gruplarında yanık bölgesi üzerindeki kurut artık çıkmaya başlayarak iyileşme sürecinin önemli ölçüde kontrol grubuna göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. İyileşme yüzdesi bakımından değerlendirildiğinde Yanık kontrol grubu ile Yanık+GH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuyor ($p>0.05$) iken Yanık kontrol grubu ile kalan diğer tedavi grupları (Yanık+GH-BA %1,5, Yanık+GH-BA %3, Yanık+GH-ÇB %4,5 ve Yanık+GH-ÇB %9) kıyaslandığında tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme olduğu gözükmemektedir ($p<0.05$). 14. gün itibariyle iyileşme olan tedavi grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise Yanık+GH-BA %1,5 ve Yanık+GH-ÇB %9'luk grubun Yanık+GH-BA %3 ve Yanık+GH-ÇB %4,5'luk gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). 21. gün itibariyle grupları birbirleri arasında makroskobik olarak kıyasladığımızda yine kontrol grubu ile tedavi grupları arasında iyileşme seviyelerinde belirgin farklar gözükmemektedir. 21. gün itibariyle makroskobik olarak tedavi gruplarında yanık bölgesi üzerindeki iyileşme önemli ölçüde kontrol grubuna göre farklılık göstermektedir. İyileşme yüzdesi bakımından değerlendirildiğinde Yanık kontrol grubu ile Yanık+GH grubu arasında yine istatistiksel anlamlı bir fark bulunmuyor ($p>0.05$) iken Yanık kontrol grubu ile kalan diğer tedavi grupları (Yanık+GH-BA %1,5, Yanık+GH-BA %3, Yanık+GH-ÇB %4,5 ve Yanık+GH-ÇB %9) kıyaslandığında tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme olduğu gözükmemektedir ($p<0.05$). 21. gün itibariyle iyileşme olan tedavi grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise Yanık+GH-BA %1,5 ve Yanık+GH-ÇB %9'luk grubun Yanık+GH-BA %3 ve Yanık+GH-ÇB %4,5'luk gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$).

4.1.1.1. Yanık Yaralarında Enfeksiyon Belirlenmesi (Sürüntü Analizi)

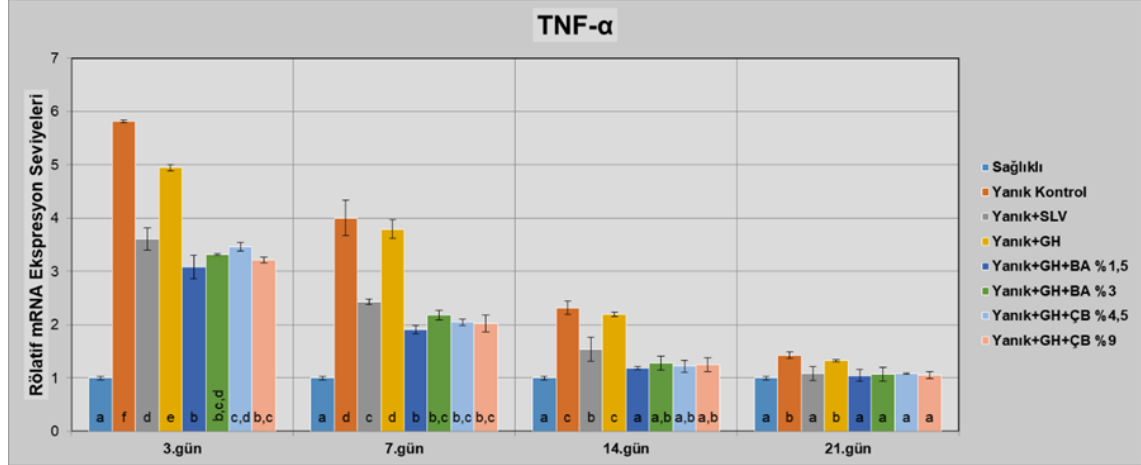
Sürüntü analizleri sonuçlarına göre Yanık kontrol grubunda ve Yanık+GH grubunda ikişer sıçanda enfeksiyon belirtisi gözlemlendi ve alınan örneklerde gram negatif

bir bakteri türü olan Escherichia coli üremesi saptandı. Bu sıçanlar çalışmadan çıkarıldı. Çalışmamızda, deney gruplarının hiçbirinde enfeksiyon belirtisi gözlenmedi ve enfeksiyon etkeni olabilecek mikroorganizma üremesi saptanmadı.

4.1.2. PCR Analizleri

4.1.2.1. Doku TNF- α Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri

İn-vivo deneylerin 3, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen dokulardaki TNF- α rölatif mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.3.'te verilmiştir. Sağlıklı gruba göre kıyaslandığında 3 ve 7. günlerde TNF- α rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde artmış olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Tüm deney gruplarında en yüksek ekspresyon seviyesi 3. günde görülmüştür. 3. günden itibaren 21. güne kadar tüm gruplarda kademeli bir düşüş gözlenmiştir. 21. günde Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları haricindeki diğer tedavi gruplarının tamamında sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmemiştir ($p<0.05$).

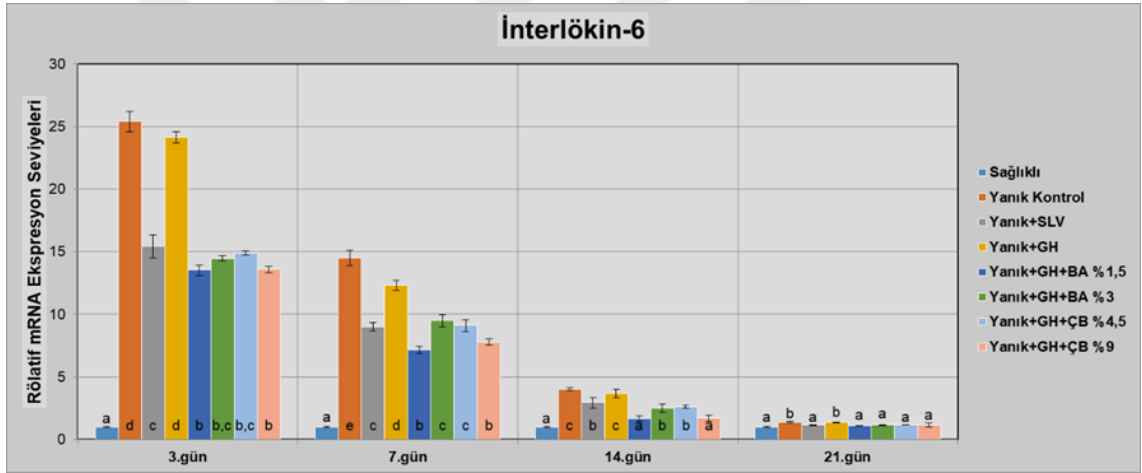


Şekil 4.3. Deney gruplarına göre doku TNF- α gen ekspresyonu

(SLV: Silverdin (Gümüş Sülfadiazin), GH: Grafen Hidrojel, BA: Borik Asit, ÇB: Çinko Borat. mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi kullanılarak tespit edildi. Referans gen olarak β -aktin kullanıldı. Sonuçlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla rölatif kat değişikliği olarak ifade edilir. Rölatif ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı. Her çubuk, ortalama değer $\pm$ SD olarak ifade edilir. One-Way ANOVA Tukey testine göre grafik çubuklarının tabanlarında bulunan farklı harf ve harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p<0.05$); aynı harf ve harfler ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gösterir ($p>0.05$)).

4.1.2.2. Doku İnterlökin-6 Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri

İn-vivo deneylerin 3, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen dokulardaki İnterlökin-6 rölatif mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.4.'te verilmiştir. Sağlıklı gruba göre kıyaslandığında 3 ve 7. günlerde İnterlökin-6 rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde artmış olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Tüm deney gruplarında en yüksek ekspresyon seviyesi 3. günde görülmüştür. 3. günden itibaren 21. güne kadar tüm gruplarda kademeli bir düşüş gözlenmiştir. 21. günde Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları haricindeki diğer tedavi gruplarının tamamında sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmemiştir ($p<0.05$).



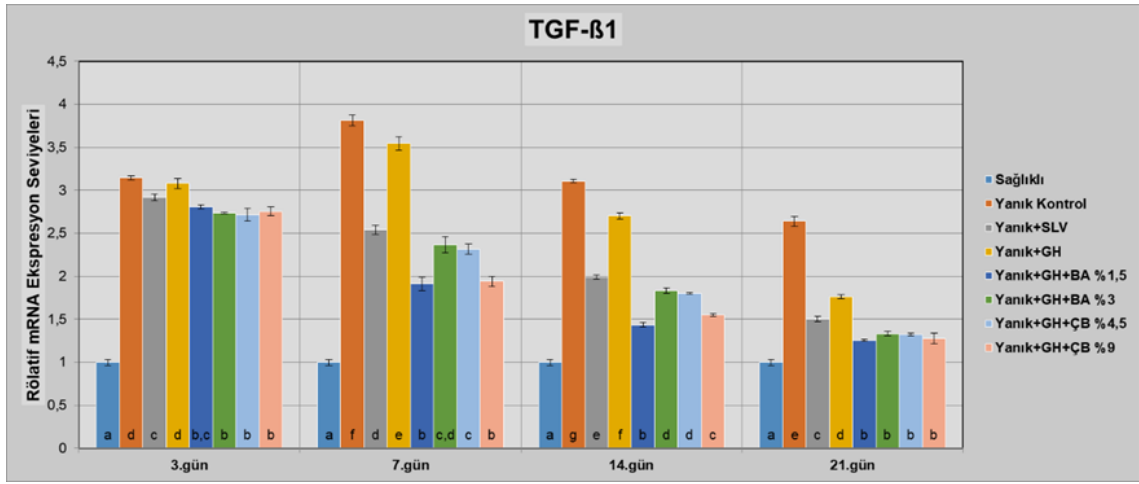
Şekil 4.4. Deneysel gruplara göre doku IL-6 gen ekspresyonu

(SLV: Silverdin (Gümüş Sülfadiazin), GH: Grafen Hidrojel, BA: Borik Asit, ÇB: Çinko Borat. mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi kullanılarak tespit edildi. Referans gen olarak β -aktin kullanıldı. Sonuçlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla rölatif kat değişikliği olarak ifade edilir. Rölatif ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı. Her çubuk, ortalama değer $\pm$ SD olarak ifade edilir. One-Way ANOVA Tukey testine göre grafik çubuklarının tabanlarında bulunan farklı harf ve harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p<0.05$); aynı harf ve harfler ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gösterir ($p>0.05$)).

4.1.2.3. Doku TGF- β 1 Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri

İn-vivo deneylerin 3, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen dokulardaki TGF- β 1 rölatif mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.5'te verilmiştir. Sağlıklı grubuna

göre kıyaslandığında 3, 7, 14 ve 21. günlerde TGF- β 1 rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde artmış olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları hariç diğer tüm tedavi gruplarının en yüksek ekspresyon seviyesi 3. günde görülmüştür ve 21. güne kadar kademeli bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarında en yüksek ekspresyon seviyesi ise 7. günde görülmüş olup, aynı şekilde 21. güne kadar kademeli düşüş gözlenmiştir. Tüm günlerde, en yüksek gen ekspresyon seviyeleri, Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarında görülmüştür.



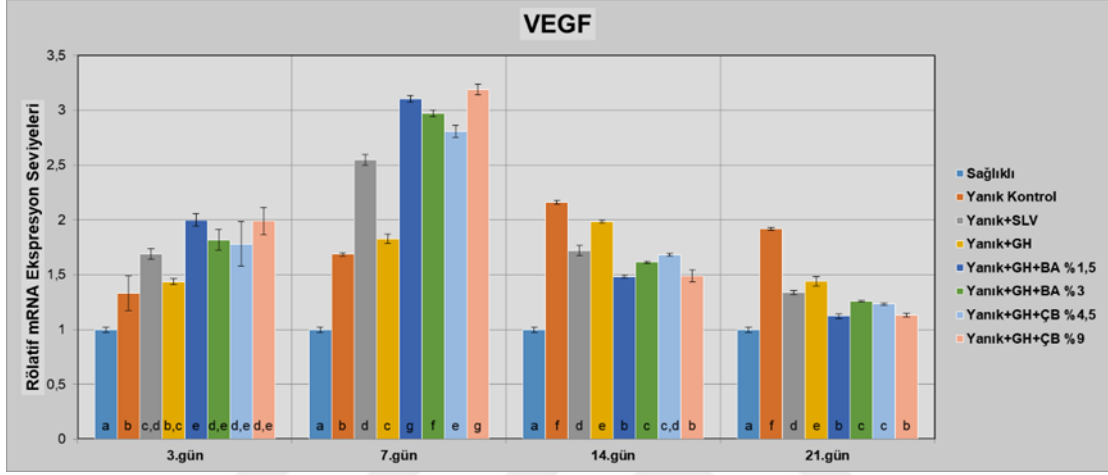
Şekil 4.5. Deneyisel gruplara göre doku TGF- β gen ekspresyonu

(SLV: Silverdin (Gümüş Sülfadiazin), GH: Grafen Hidrojel, BA: Borik Asit, ÇB: Çinko Borat. mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi kullanılarak tespit edildi. Referans gen olarak β -aktin kullanıldı. Sonuçlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla rölatif kat değişikliği olarak ifade edilir. Rölatif ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı. Her çubuk, ortalama değer $\pm$ SD olarak ifade edilir. One-Way ANOVA Tukey testine göre grafik çubuklarının tabanlarında bulunan farklı harf ve harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p<0.05$); aynı harf ve harfler ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gösterir ($p>0.05$)).

4.1.2.4. Doku VEGF Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri

İn-vivo deneylerin 3, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen dokulardaki VEGF rölatif mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.6'da verilmiştir. Sağlıklı grubuna göre kıyaslandığında 3, 7, 14 ve 21. günlerde VEGF rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde artmış olduğu

belirlenmiştir ($p<0.05$). Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları hariç diğer tüm tedavi gruplarının en yüksek ekspresyon seviyesi 7. günde görülmüştür. 3 ve 7. günlerde istatistiksel olarak anlamlı en yüksek seviyeler Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+ÇB %9 gruplarında belirlenmiştir ($p<0.05$). Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarında en yüksek ekspresyon seviyesi ise 14. günde görülmüştür.



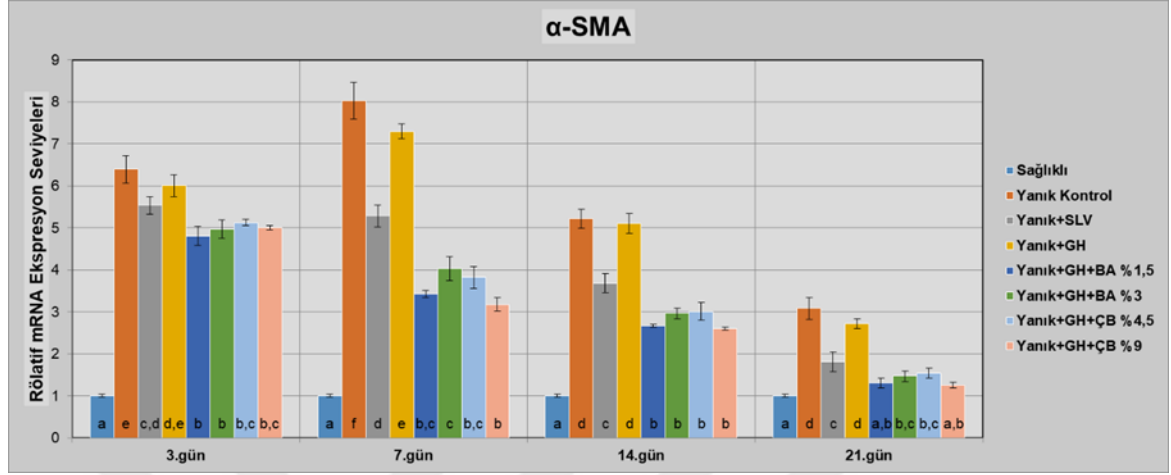
Şekil 4.6. Deneyisel gruplara göre doku VEGF gen ekspresyonu

(SLV: Silverdin (Gümüş Sülfadiazin), GH: Grafen Hidrojel, BA: Borik Asit, ÇB: Çinko Borat. mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi kullanılarak tespit edildi. Referans gen olarak β -aktin kullanıldı. Sonuçlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla rölatif kat değişikliği olarak ifade edilir. Rölatif ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı. Her çubuk, ortalama değer $\pm$ SD olarak ifade edilir. One-Way ANOVA Tukey testine göre grafik çubuklarının tabanlarında bulunan farklı harf ve harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p<0.05$); aynı harf ve harfler ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gösterir ($p>0.05$)).

4.1.2.5. Doku α -SMA Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri

İn-vivo deneylerin 3, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen dokulardaki α -SMA rölatif mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.7.'de verilmiştir. Sağlıklı grubuna göre kıyaslandığında 3 ve 7. günlerde α -SMA rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde artmış olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları hariç diğer tüm tedavi gruplarının en yüksek ekspresyon seviyesi 3. günde görülmüştür ve 21. güne kadar kademeli bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarının en

yüksek seviyesi ise 7. günde görülmüş olup, aynı şekilde 21. güne kadar kademeli düşüş gözlenmiştir. Tüm günlerde, en yüksek gen ekspresyon seviyeleri, Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarında görülmüştür.

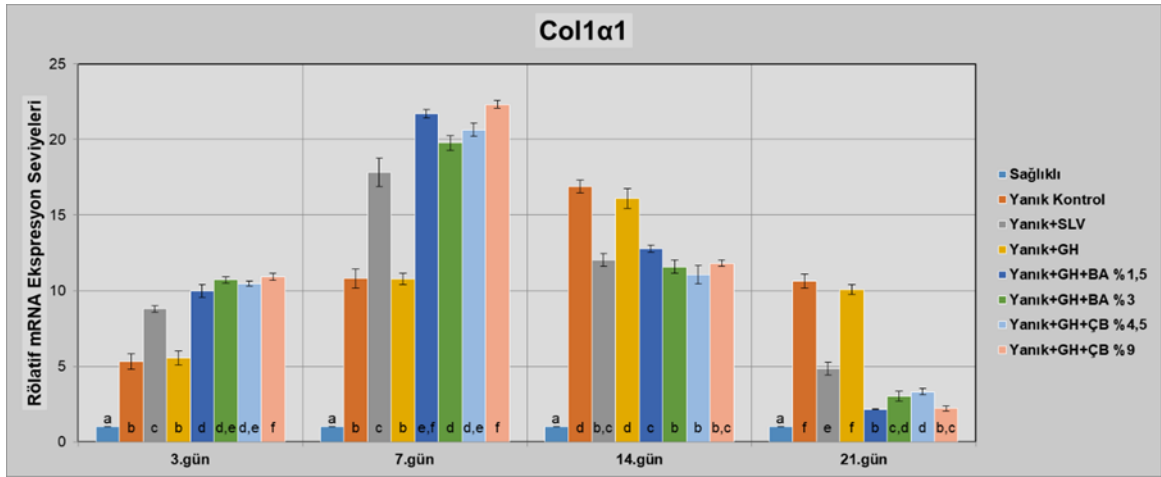


Şekil 4.7. Deneysel gruplara göre doku α -SMA gen ekspresyonu

(SLV: Silverdin (Gümüş Sülfadiazin), GH: Grafen Hidrojel, BA: Borik Asit, ÇB: Çinko Borat. mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi kullanılarak tespit edildi. Referans gen olarak β -aktin kullanıldı. Sonuçlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla rölatif kat değişikliği olarak ifade edilir. Rölatif ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı. Her çubuk, ortalama değer $\pm$ SD olarak ifade edilir. One-Way ANOVA Tukey testine göre grafik çubuklarının tabanlarında bulunan farklı harf ve harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$); aynı harf ve harfler ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gösterir ($p > 0.05$)).

4.1.2.6. Doku Coll α 1 Rölatif mRNA Ekspresyon Seviyeleri

İn-vivo deneylerin 3, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen dokulardaki kollajen tip I alfa 1 (Coll α 1) rölatif mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler Şekil 4.8'de verilmiştir. Sağlıklı grubuna göre kıyaslandığında 3, 7, 14 ve 21. günlerde Coll α 1 rölatif mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde artmış olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları hariç diğer tüm tedavi gruplarının en yüksek ekspresyon seviyesi 7. günde görülmüştür. 7. günde istatistiksel olarak anlamlı en yüksek seviye Yanık+GH+ÇB %9 grubunda belirlenmiştir ($p < 0.05$). Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarında en yüksek ekspresyon seviyesi ise 14. günde görülmüştür.



Şekil 4.8. Deneysel gruplara göre doku Kollajen tip 1α gen ekspresyonu

(SLV: Silverdin (Gümüş Sülfadiazin), GH: Grafen Hidrojel, BA: Borik Asit, ÇB: Çinko Borat. mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi kullanılarak tespit edildi. Referans gen olarak β-aktin kullanıldı. Sonuçlar, sağlıklı hayvanlara kıyasla rölatif kat değişikliği olarak ifade edilir. Rölatif ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı. Her çubuk, ortalama değer $\pm$ SD olarak ifade edilir. One-Way ANOVA Tukey testine göre grafik çubuklarının tabanlarında bulunan farklı harf ve harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$); aynı harf ve harfler ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gösterir ($p > 0.05$)).

4.1.3. Hematoksilen-Eozin ve Triple Boyama Bulguları

4.1.3.1. Sıçanlarda Oluşturulan 2. Derece Yanık Modelinin Histopatolojik

İncelemesi

Deney sonrası elde edilen 3, 7, 14 ve 21. günlerde alınan doku örneklerinin H&E ve Triple boyama bulguları aşağıda gruplar halinde teker teker (Şekil 4.9.-10.) ve Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Sağlıklı kontrol grubunda; sıçan deri dokusunun epidermis, dermis ve hipodermis tabakaları iyi bir şekilde ayırt edilmekteydi. Epidermis tabakasının ince 2-3 hücre katmanında oluştuğu ve yer yer yüzeyinde döküntü halinde ölü keratin yapılar izlenmekteydi. Dermis tabakasında çok sayıda kıl folikülü ile yağ bezleri görülmüştür. Hipodermiste bir şekilde sıralanmış düzgün altıgen yağ hücrelerinin oluşturduğu subkütanoz yağ doku izlenmekteydi (Şekil 4.9.-10.).

Yanık kontrol grubunda;

3. gün: Epidermis tabakası ile birlikte dermisen neredeyse tamamının yanıktan etkilendiği ve bu alanda epidermis ve dermisten meydana gelen nekrotik ölü bir kabuk yapısı gözlemlendi. Yine dermis içinde kıl foliküllerinin ter ve yağ bezlerinin bozulduğu izlendi.

7. gün: Epidermis ve dermiste ayrılma ve kopmalar oluşmaya başladığı görüldü yer yer inflamatuvar hücrelerine de dermiste rastlandı.

14. gün: Epidermisen tamamen dermisten ayrıldığı üstü açık bir yara görünümü izlendi. Dermiste çok sayıda inflamatuvar hücre ile karakterize granülasyon dokusu izlendi. Granülasyon hücreleri arasında yer yer fibrositlere ve kollajenlere rastlansa da baskın olan hücre tipinin inflamatuvar hücreler olduğu söylenebilir.

21. gün: İnflamatuvar hücreler gözüktürken oransal olarak 14. güne göre azaldığı söylenebilir. Bununla birlikte hipodermise yakın alanda kollajen lif yapılarının belirgin bir şekilde gözlenmeye başladığı izlendi. Epitelizasyon durumuna bakıldığında ise yaranın kenar bölgelerinde kısmi bir epitelizasyon görünmesine rağmen tüm yara yüzeyi henüz bir epitelizasyona uğramadığı görülmüştür (Şekil 4.9.-10.).

Yanık+Silverdin grubunda;

3. gün dermis ve epidermis tabakalarının tamamına yakını yanıktan etkilendiği ve dermis içinde kıl folikülü, ter ve yağ bezi yapılarının bozulduğu görüldü. Tüm alanda epidermis ve dermisten içeren gelen nekrotik kabuk yapısı tespit edildi.

7. gün: Nekrotik kabuk tabakası yer yer ayrılmalar gösterdiği izlenirken derin dermiste kollajen lif artışı ile birlikte inflamatuvar hücre artışı göze çarpıyordu.

14. gün: Kabuk yapısının tamamen ortadan kalktığı inflamatuvar hücrelerin oranının kollajen lif oranına göre azaldığı tespit edildi. Dermisen en üst kısmında epitelizasyon başladığı görüldü.

21. gün: Dermiste birbiri ile sıkıca bir araya gelmiş kollajen lifler görüldü. İnflamatuar hücreler neredeyse yok gibiydi. Epidermis yapısının oluştuğu yer yer dermal papillaların şekillendiği görüldü. Ayrıca epidermis üzerinde bazı alanlarda keratinizasyonun başladığı da dikkatten kaçmadı (Şekil 4.9.-10.).

Yanık+GH grubunda;

3. gün: Dermis ve epidermis tabakalarını içeren nekrotik kabuk yapısı görülmekteydi. Bu alan içerisindeki kıl folikülü, ter ve yağ bezi yapılarının bozulduğu görüldü.

7. gün: Nekrotik kabuğun yüzeyden ayrılmadığı izlenirken hipodermis tabakasını oluşturan yağ hücre kümeleri ve hipodermisin üzerindeki dermis alanında inflamatuvar hücreler ve kollajen lifleri görülmekteydi.

14. gün: Yoğun inflamatuvar hücrelerinin oluşturduğu granülasyon dokusunun epidermisin oluşacağı üst bölgeye doğru itildiği görülürken derin dermiste çok sayıda bağ doku lifleri bir araya gelerek fibrotik bir bağ doku meydana getirdiği izlendi.

21. gün: İnflamatuar hücreler dağınık olarak yalnızca epidermisin alt tabakalarında gözlemlendi. Dermiste birbiri ile sıkıca bir araya gelmiş kollajen lifleri ile karakterize iyi gelişmiş fibrotik dokunun oluştuğu görüldü (Şekil 4.9.-10.).

Yanık+BA %1,5 grubunda;

3. gün: Dermis ve hipodermisten oluşan nekrotik kabuk yapısı hipodermise kadar etkileyen ikinci derece yanık görüntüsü gözlemlendi.

7. gün: Kabuk yapısının yer yer ayrılmalar ile birlikte devamını sürdürdüğü görülürken hipodermisin bulunduğu bağ doku alanında yağ hücreleri arasında yoğun inflamatuvar hücre artışı izlenmekteydi.

14. gün: Nekrotik kabuğun büyük bir miktarının ortadan kalktığı çok az ince bir kabuk görüntüsü kaldığı izlendi. Yüzeyel dermiste inflamatuvar hücreleri içeren

granülasyon dokusu izlenirken derin dermiste yeni sentezleniş düzensiz sıralı kollajen lifleri görülmekteydi.

21. gün: İnflamatuar hücrelerin varlığını yitirdiği granülasyon dokusunun yerini iyi organize olmuş fibrotik dokunun aldığı görüldü. Yüzeyde epitelizasyonun tamamlandığı ve epidermisin stratum korneum tabakasının da şekillendiği izlendi (Şekil 4.9.-10.).

Yanık+BA %3 grubunda;

3. gün: Dermis ve hipodermisin yanık kalıntılarından oluşan nekrotik kabuk yapısı izlenirken, genel yanık derecesinin 2. dereceden olduğu anlaşılmaktaydı.

7. gün: Kabuk yapısında kısmi ayrılmalar ile birlikte hipodermisin üstünde büyük miktarda durmaktaydı. Hipodermisin bulunduğu alanda yağ hücreleri arasında yoğun inflammatuar hücre artışı izlenmekteydi.

14. gün: Nekrotik kabuğun büyük ortadan kalktığı izlenirken hipodermis tabakasının altından gelişen granülasyon dokusunun etkisi ile dışa doğru itildiği görülmekteydi. Yer yer granülasyon dokusu içinde kollajen lif birikimlerde dikkat çekmekteydi.

21. gün: Kabuk tabakasının tamamen ortadan kalktığı görülürken inflamasyonun tamamen dermiste bittiği ve dermiste yoğun fibrotik doku görüldü. Epidermisin bütün olarak meydana geldiği görüldü. En üst epidermis tabakası geliştiği ancak stratum korneum tabakasının henüz şekillenmediği görüldü (Şekil 4.9.-10.).

Yanık+ÇB %4,5 grubunda;

3. gün: Dermis ve epidermis tabakalarının yanıktan etkilendiği 2. derece yanık izlendi. Dermis içinde kıl folikülü, ter ve yağ bezi yapılarının bozulduğu görüldü. Tüm alanda epidermis ve dermisten içeren gelen nekrotik kabuk yapısı göze çarptı.

7. gün: Nekrotik kabuk tabakasının kısmi ayrılmalar gösterdiği derin dermiste kollajen lif artışı ile birlikte inflamatuvar hücre artışı göze çarpmaktaydı.

14. gün: Kabuk yapısının inceldiği görülürken kabuğun alt kısmında yoğun granülasyon dokusu derin dermiste ise fibrotik kollajen dokusu görülmekteydi.

21. gün: Kabuk tabakasının tamamen ortadan kalktığı görülürken inflamasyonun tamamen dermiste bittiği ve dermiste yoğun fibrotik doku görüldü. Epidermisin bütün olarak meydana geldiği görüldü (Şekil 4.9.-10.).

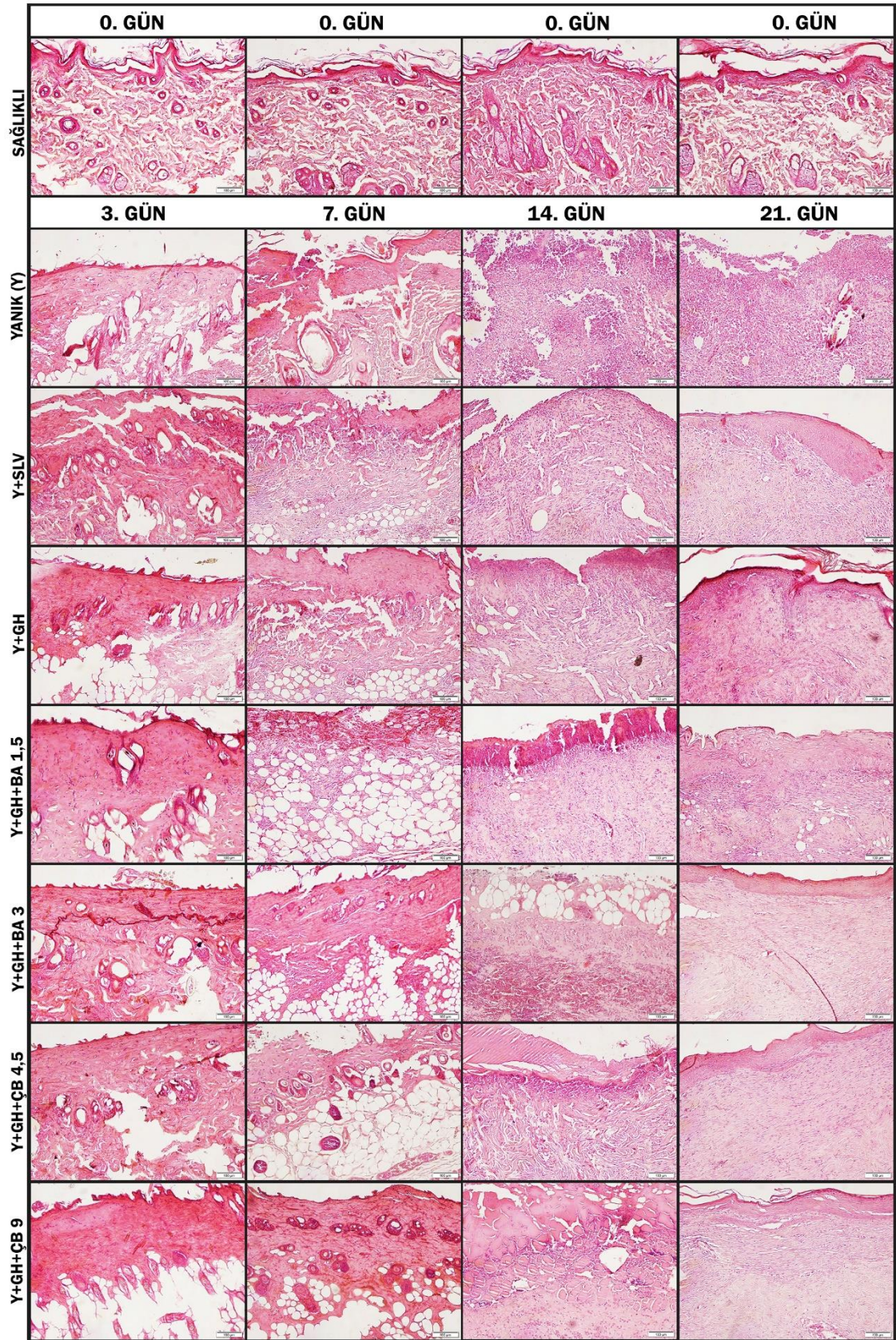
Yanık+ÇB %9 grubunda;

3. gün: Dermis ve hipodermisin yanık kalıntılarından oluşan nekrotik kabuk yapısı görülürken deri bölgesini etkileyen yanık alanında ikinci derece yanık görüntüsü gözlemlendi.

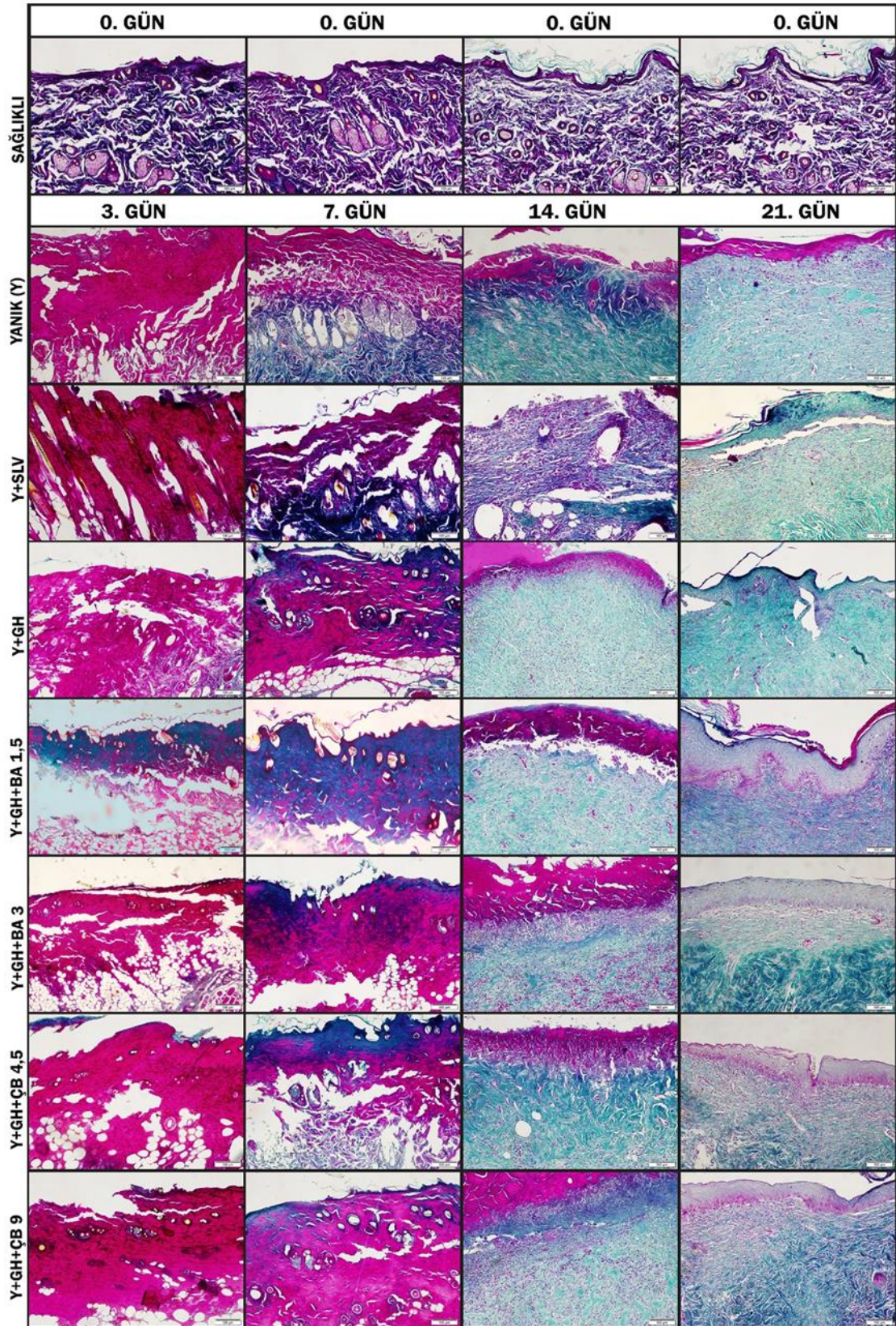
7. gün: Kabuk yapısının yer yer ayrılmalar ile birlikte devamını sürdürdüğü görülürken hipodermisin bulunduğu bağ doku alanında yağ hücreleri arasında yer yer inflamatuvar hücreler izlenmekteydi.

14. gün: Hipodermisi de içine alan alanda kollajen artışı ile karakterize fibrotik doku izlendi. Yüzeyde hala kabuk dokusu görülmekteydi.

21. gün: Kabuk yapısının tamamen ortadan kalktığı görülürken dermiste birbiri ile sıkıca bir araya gelmiş kollajen liflerin bulunduğu organize fibrotik doku göze çarptı. İnflamatuvar hücreler izlenmezken epidermis yapısının olduğu yer yer dermal papillaların şekillendiği görüldü. Ayrıca epidermis üzerinde keratinizasyonun başladığı da görülmekteydi. (Şekil 4.9.-10.)



Şekil 4.9. Hematoksilen ve Eozin boyama sonuçları



Şekil 4.10. Masson trikrom üçlü boyama sonuçları

4.1.3.2. Yanık İyileşme Derecesinin Skorlaması

Deri yanık iyileşme düzeyinin daha iyi anlaşılması amacıyla skarlama sistemi kullanılmıştır. Literatürle uyumlu olması amacıyla referans bir skarlama sistemi tercih edilmiştir. Bunun ile ilgili skarlama esasları aşağıdaki gibidir:

Deri yanık iyileşmesinin değerlendirilmesinde epidermin epitelizasyonu ve dermis tabakasının iyileşme dereceleri referans alınarak skarlama esasına göre değerlendirildi. Bu skarlama esası Guo ve arkadaşlarının derin yanık yarası iyileşme süreci için geliştirdiği histolojik skarlama çalışmasına dayanmaktadır (Guo ve ark., 2020). Değerlendirmede ilk olarak epidermise daha sonra da dermise bakıldı. Epidermin iyileşmesi düzeyi, yara yüzeyindeki kabuğun durumuna, epitelizasyon derecesine ve dermal girintilerin oluşumuna bağlı olarak 0 ile 7 arasında değişen skorlarla değerlendirildi. Buna göre 0: Epidermin tamamen yok olması durumunda 0; yara kabuğunun ayrılmadan kenar kısımlarından yaranın merkezine doğru oluşan epitelizasyon sırasıyla minimal, hafif ve orta düzeyde epitelizasyon için sırasıyla 1, 2, 3; yara kabuğunu ayrılması ve yaranın merkezine doğru devam eden orta ve şiddetli epitelizasyon için sırasıyla 4 ve 5; Yara yüzeyinin epidermis ile tamamen kaplanması durumu için 6 olarak puanlandı; dermal papillaların görülmeye başlanması ise epidermal iyileşmenin son aşaması olan 7 olarak puanlandı.

Dermisin yanık iyileşmesi düzeyinde ise yağ hücrelerinin, inflamatuvar hücrelerin, fibroblastların oranı, kollajen birikimi durumu ve kıl foliküllerinin oluşumuna göre 0 ile 7 arasında değişen puanlarla değerlendirildi. Bu skarlama esas kriterler şöyledir: Dermiste baskın olarak yağ hücreleri ve az sayıda inflamatuvar gözlenmesi durumunda 0; orta düzeyde inflamatuvar hücrelerin varlığı ile yağ hücrelerinin oranın azalması durumunda 1; inflamatuvar hücrelerin oranı hala belirgin olarak yüksek ve sadece birkaç yağ hücresi bulunması durumunda 2; inflamatuvar hücrelerin oranı yüksek düzeyde

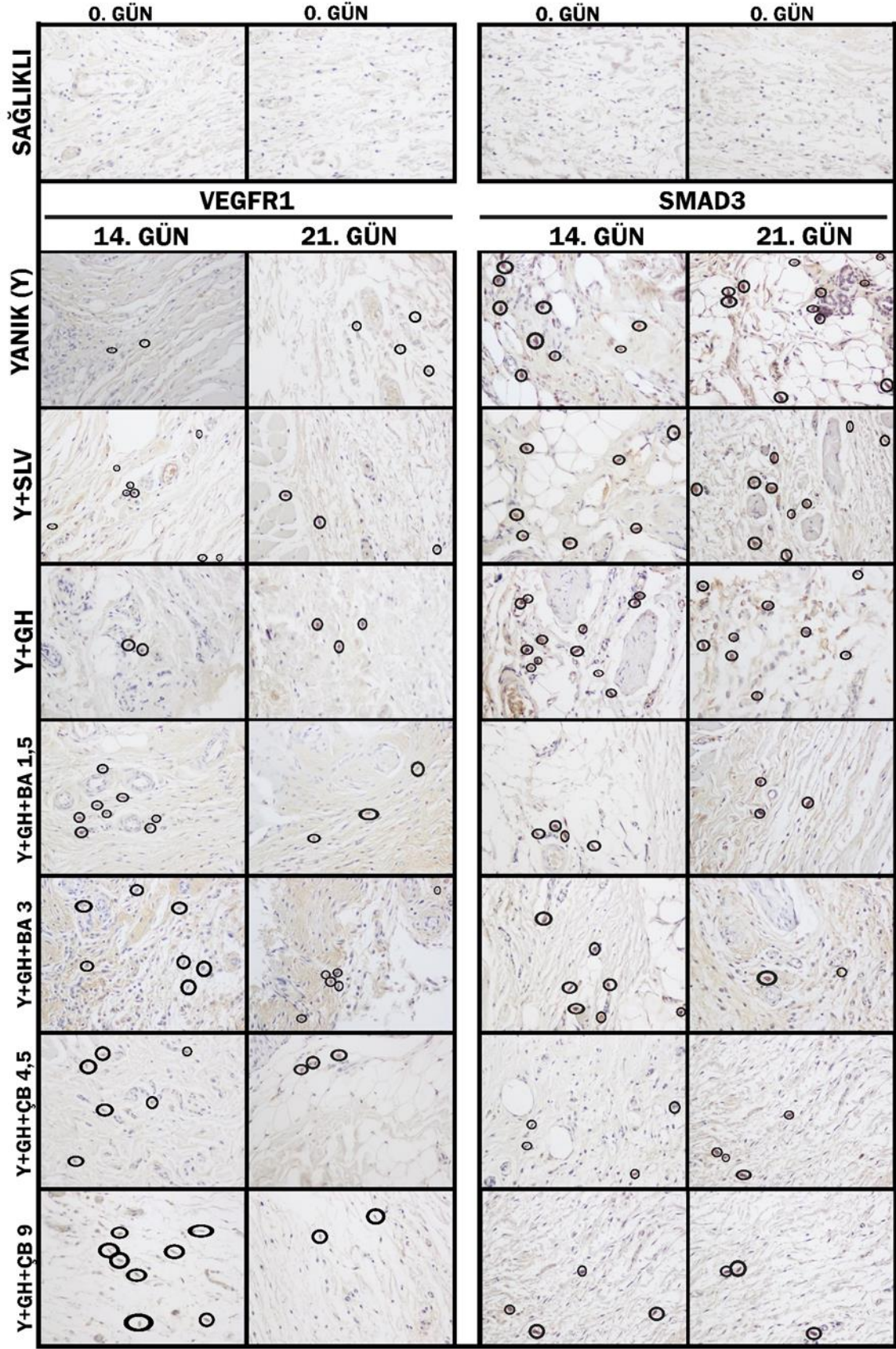
artması durumunda 3; inflamatuvar hücrelerin oranında artış ile birlikte dermiste kollajen liflerin görülmesi durumunda 4; yağ hücrelerinin yok olması ve orta düzey inflamatuvar hücre birikimler ile fibroblast hücre sayısında artış ile kollajen birikimlerinin görülmesi durumunda 5; dermiste az sayıda inflamatuvar hücrelerin gözlenmesi ve çok sayıda fibroblast hücrelerin gözlenmesi durumunda 6; son olarak olgunlaşmamış kıl köklerinin ortaya çıkması ve kollajen birikimi yüksek düzeyde artması durumunda 7 ile puanlandırılır (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Yanık iyileşmesi skorum bulguları

Gruplar	Epidermis İyileşmesi				Dermis İyileşmesi			
	3.gün	7.gün	14.gün	21.gün	3.gün	7.gün	14.gün	21.gün
Sağlıklı	7	7	7	7	7	7	7	7
Yanık	0	1	4	5	0	1	3	4
Yanık+Silverdin	0	2	5	6	0	2	5	6
Yanık+GH	0	1	4	5	0	2	3	4
Y+GH+BA % 1,5	0	3	5	6	0	2	4	6
Y+GH+BA % 3	0	1	4	6	0	1	3	6
Y+GH+ÇB % 4,5	0	3	4	6	0	1	3	4
Y+GH+ÇB % 9	0	3	4	6	0	1	4	6

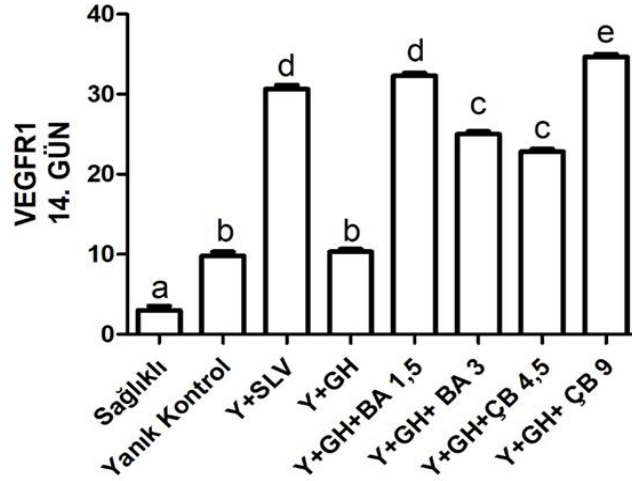
4.1.3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

Çalışmada immünohistokimyasal değerlendirilmesinde Monoklonal antikor VEGF1 ve Smad3 düzeylerinin hücresel pozitiflik düzeyi incelenmiştir. 3 ve 7. günlerde inflamasyon ve yanık kabuk dökülmesi gözüktüğü için ve yeni bağ doku şekillenmesinin henüz tam olarak meydana gelmediği için bu günlerde immün pozitiflik incelenememiştir. Bu boyamalar ile analiz sadece 14 ve 21. günlerde yapılabilmektedir. 5 farklı alanda yapılan pozitif hücre sayısı toplanmıştır ve total değer gruplar arasında karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. VEGFR1 ve Smad3 immünohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 4.11.'deki gibidir.



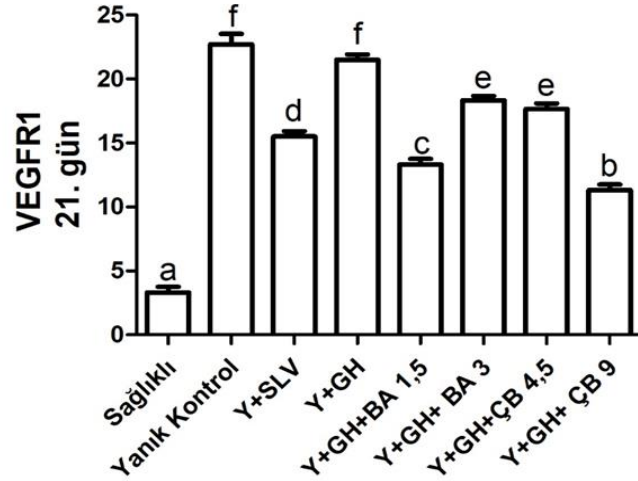
Şekil 4.11. 14 ve 21. gün VEGFR1 ve Smad3 immünohistokimyasal boyaması

VEGFR1 immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te verilmiştir. Buna göre; 14. gün boyama sonuçlarında sağlıklı gruba göre tüm gruplarda anlamlı bir farklılık görülürken Yanık kontrol grubu ile Yanık+GH grupları arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Öte yandan Yanık kontrol grubuna göre Yanık+SLV, Yanık+GH+BA %1,5, Yanık+GH+BA %3, Yanık+GH+ÇB %4,5 ve Yanık+GH+ÇB %9 gruplarında anlamlı farklılık görülmüştür. Yanık+SLV ve Yanık+GH+BA %1,5 grupları arasında ve Yanık+GH+BA %3 ve Yanık+GH+ÇB %4,5 grupları arasında anlamlı farklılık görülmezken Yanık+GH+ÇB %9 grubu en yüksek anlamlı düzeyde görülmüştür.



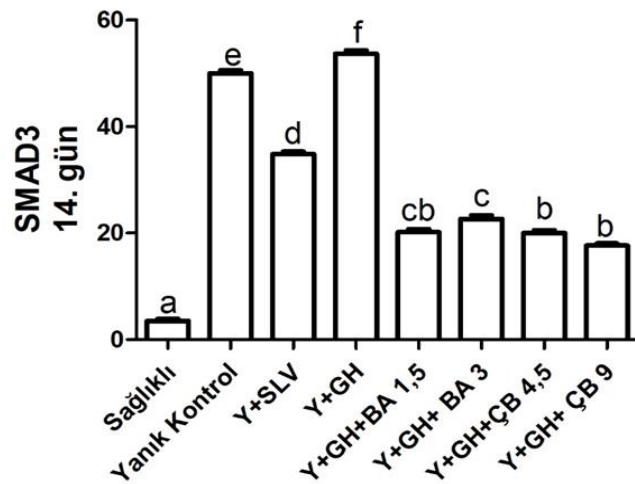
Şekil 4.12. VEGFR1 14. gün immünohistokimyasal boyama skora grafiği

21. gün boyama sonuçlarına bakıldığında ise, Yanık kontrol grubuna göre tüm gruplarda anlamlı düzeyde pozitif hücre sayısında azalma yönünde farklılık izlenmiştir. Sağlıklı gruba göre ise artış yönünde tüm gruplarda pozitif hücre sayısının anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür. Yanık kontrol ve Yanık+GH grupları arasında, Yanık+GH+BA %3 ve Yanık+GH+ÇB %4,5 grupları arasında ise anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bunun yanında Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+ÇB %9 grupları arasında ise pozitif hücre sayısı yönünden anlamlı bir farklılık görülmüştür (Şekil 4.13).



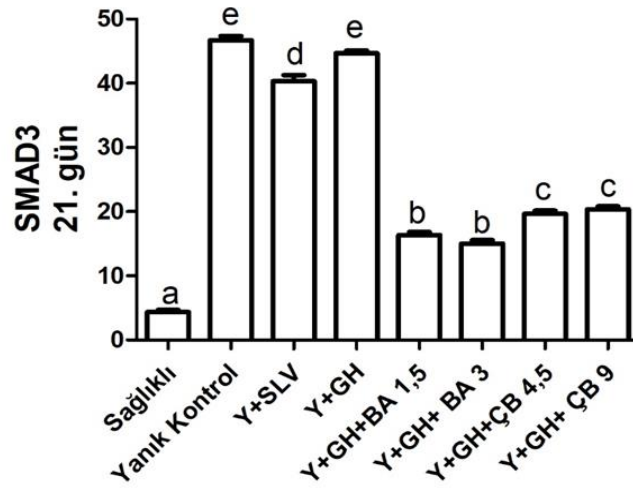
Şekil 4.13. VEGFR1 21. gün immünohistokimyasal boyama skarlama grafiği

Smad3 immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'te verilmiştir. Buna göre; 14. gün boyama sonuçlarında sağlıklı gruba göre tüm gruplarda anlamlı bir pozitif hücre artışı görülürken Yanık kontrol, Yanık+SLV ve Yanık+GH gruplarına göre BA ve ÇB gruplarında anlamlı bir azalış izlenmiştir. Öte yandan Yanık+GH+BA %9 grubuna göre Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+ÇB %4,5 arasında ve Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+BA %3 grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 4.14. Smad3 14. gün immünohistokimyasal boyama skarlama grafiği

21. gün boyama sonuçlarında ise sağlıklı gruba göre tüm gruplarda anlamlı bir artış ve Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarına göre BA ve ÇB tedavi gruplarında anlamlı bir pozitif hücre azalışı görülmüştür. Öte yandan Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+BA %3 grupları arasında ve Yanık+GH+ÇB %4,5 ve Yanık+GH+ÇB %9 grupları arasında anlamlı farklılıklar izlenmezken Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+BA %3 gruplarına göre Yanık+GH+ÇB %4,5 ve Yanık+GH+ÇB %9 gruplarında anlamlı düzeyde bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Smad3 21. gün immünohistokimyasal boyama skora grafiği

5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütünün son raporlarına göre her yıl 11 milyon insan trajik kazalar sonucu yanık yaralanmalarına maruz kalmaktadır ve bu yaralanmalar ciddi tıbbi bakım gerektirmektedir (Hughes ve ark., 2021). Yanık tedavisindeki en güncel yaklaşımlardan biri de deri bütünlüğünün yeniden sağlanmasına kadar geçen sürede yaranın temiz ve mikroorganizmalardan uzak tutulmasını sağlayacak, deriden enfeksiyon kaynaklarının organizmaya geçmemesini, sıvı ve elektrolit kaybının önlenmesini sağlayacak deri yerini tutabilecek örtülerin geliştirilmesidir. Lokal antibakteriyel uygulamalar yeterince olumlu sonuçlar ortaya çıkaramamıştır. Çünkü bu maddelerin iyileşmekte olan dokulara özellikle de hassas olan deride iz bırakma gibi yan etkileri bulunmaktadır. Ayrıca sistemik antibiyotik kullanılması ise deride yeterli etkinlik gösterememektedir.

Günümüzde yara örtüleri ile ilgili yaklaşımlardaki temel ilke ise deri iyileşmesini bozmayacak, azaltmayacak ve yanık tedavisindeki yanık pansumanlarında dokulara zarar vermeyecek yeni sistemlerin geliştirilmesidir (Altay & Başal, 2010). Grafen hidrojel antimitrobiyal özelliğe sahip değildir. Bu nedenle grafen hidrojellerin yanık yaralarında doğrudan yara örtüsü olarak kullanılması yara iyileşmesi sürecinde oluşabilecek enfeksiyon riski nedeniyle pek uygun değildir. Bu sorun grafen hidrojel yapılarına antimitrobiyal özelliğe sahip bileşikler veya ajanlar eklenmesi yolu ile aşılabılır. Bu bağlamda antimitrobiyal özellik gösterdiği belirlenen bileşikler arasında yer alan bor bileşiklerinin grafen hidrojel yapısına katkılanması ve oluşan yeni hibrit yapının yara örtüsü olarak kullanılması avantajlı olacaktır. Grafen hidrojellerin ilaç salınımı, biyosensör uygulamaları, süperkapasitörler ve katalizör destek malzemeleri olarak kullanımı literatürde mevcut olsa da bor içerikli grafen hidrojellerin yara örtüsü olarak kullanımı literatürde mevcut değildir. Bu bağlamda bu araştırma bor içerikli grafen

hidrojellerin sentezi ve yanık yaralarının iyileşmesinde bant olarak kullanılması yönünden literatürde bir ildir. Bu araştırmada; borik asit ve çinko borat katkılı grafen hidrojel bazlı yara örtülerinin avantajlarını kullanarak yara iyileşmesi sürecinde iyileşmeyi hızlandıran, enfeksiyonları engelleyen, yaralarda iz bırakmayı en aza indiren ve böylece hastalara maksimum konforu sağlayan bor bileşiklerini içeren yeni yanık bandı geliştirilmesi ve grafen hidrojel yara örtülerine katkılanan borik asit ve çinko boratın yara iyileşmesinde önemli biyokimyasal parametrelere olan etkileri in vivo deneysel analizlerle araştırılmıştır.

Bor iyi bir yara iyileşme materyalidir ve %3'lük borik asit solüsyonunun derin yaraları tedavi ettiğı bildirilmiştir (Blech ve ark., 1990). Günümüzde boratlar yara tedavisinde düşük konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Borun yara iyileşmesi üzerine etki mekanizması kesin olarak bilinmemekte ancak bazı deneyler borun yara iyileşmesi üzerine etki mekanizmasının protein, kollajen ve proteogliklan sentezi ile ilişkili olduğunu açığa çıkarmıştır (Benderdour ve ark., 1998; Nzietchueng ve ark., 2002). Borun yara iyileşmesinde protein, kollajen ve proteoglikanların ortama verilmesinde önemli rolü olan ekstraselüler matriksin üretimini regüle ettiğı anlaşılmıştır. Borun, keratinosit göçünü arttırarak yara iyileşmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Borik asitin de DNA çift zincir formasyonunu etkileyerek yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir. Yanıkların iyileşmesinde de bor hidrojel formülasyonun başarılı sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur ve bu formülasyonun hücre göçünün uyarılması, immun yanıt, vaskülarizasyon ve büyüme faktörü ekspresyonlarının artması gibi karmaşık mekanizmalar aracılığı ile yanık yaralarının iyileşmesini olumlu etkilediğı düşünülmektedir (Demirci ve ark., 2015). Yaralanma vakalarında borik asit uygulamasının gözle görülür şekilde iyileşme kaskadını teşvik ettiğı ve yoğun bakım ünitelerindeki hastaların hastanede kalış süresini kısalttığı bildirilmektedir (Nzietchueng ve ark., 2002). Daha önce bazı bor bileşikleriyle yapılmış

çalışmada hidrofilik non-iyonik bir surfaktan olan poloksamer ile sodyum boratın fare embriyonik fibroblast hücrelerinde hücre canlılığını, kapiller dansiteyi ve fibroblastik aktiviteyi artırdığını ve bunu bazı genler ve proteinler (Akt, Bax, Bcl-2, VEGF, TGF- β 1 ve α -SMA,) aracılığıyla gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Demirci ve ark., 2015).

Literatürde bildirilen birçok grafen hidrojel sentezi olmasına rağmen çinko borat ve borik asit katkılı grafen hidrojel sentezi henüz bildirilmemiştir. Önceki araştırmalarımızda grafen hidrojellerin sıkıştırılabilirliği ve sıvı tutma kapasitesi belirlenerek farklı dozlarda borik asit ve çinko borat içeren çözeltilerin grafen hidrojellere katkılama yapıldı. Bu çalışmada ise daha önce sentezlenen ve biyouyumlulukları ilk kez kanıtlanan çinko borat ve borik asit katkılı süper hafif grafen hidrojellerin 2. derece termal yanıklardaki iyileşme mekanizması ilk kez biyokimyasal olarak ortaya çıkarılmıştır.

Literatürde pek çok yanık yaralanması modeli tanımlanmıştır, ancak her model nihai olarak bir tedavinin bir insan yanık yaralanmasında (klinik koşullar altında) nasıl davranacağını tahmin etme kabiliyetine göre değerlendirilir. İyi bir yanık modeli, basit, güvenli, tekrarlanabilir ve güvenilir olan modeldir. Kapsamı ve derinliği tutarlı olan yanıklar oluşturmalıdır. Deneysel bir yanık modelinin onaylanması ve karşılaştırılabilir olarak kabul edilmesi için, diğer araştırmacılar tarafından tekrarlanabilir, sonuçları tutarlı, performansı basit ve mümkünse maliyeti düşük olmalıdır. Bir hayvan modelinin herhangi bir tanımı, yanıkları oluşturmak için kullanılan aletleri, maruz kalmanın sıcaklığını ve süresini ve termal yaralanma uygulama yöntemini içermelidir (Singer ve ark., 2000). Araştırmacıların yanıklara yönelik çeşitli yeni tedavileri karşılaştırması için, ajanların benzer yaralanma türleri ve derecelerinde kullanıldığından emin olmak önemlidir. Deney hayvanlarında yanık yaralanması modelleri, yanık yaralanmasının alanını ve derinliğini ayarlayarak doku hasarının boyutunu kontrol etmeyi mümkün kılar (Civil & Schwab, 1988). Bu temel kriterler kullanılarak, literatürde hem kemirgenlerde hem de büyük

hayvanlarda çeşitli yanık yaranması ve ilişkili sistemi inflamatuvar cevap modelleri tanımlanmıştır (Dahiya, 2009). Bu modellerden en çok tercih edilenlerinden biri de bizim 2. derece yanık modelinde kullandığımız pirinç tarak ile oluşturulan yanık modelidir (Regas & Ehrlich, 1992).

Deri, vücudu dış etkenlere ve patojenik mikroorganizmalara karşı koruyan en hayati organlardan biridir. Değişik yanık etmenlerine bağlı olarak cilt yaranmasından hemen sonra, karmaşık bir dinamik yara iyileşme mekanizması, sinyal kaskadı ile karmaşık bir hücresel, moleküler ve biyokimyasal süreçler dizisi başlatılır (Basu & Shukla, 2013; Bilal & Iqbal, 2019). Yanıkların iyileşmesindeki doku onarım süreci, her aşamanın bir sonraki aşamanın başlangıcını düzenlediği hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve olgunlaşma aşamalarına ayrılabilir (Ehrlich, 2013; Gurtner ve ark., 2008).

Hemostaz fazında, yara oluşumu ile vazokonstriksiyonu takiben plateletler agrega olarak PDGF, TGF- β , EGF ve IGF salgılayarak yara bölgesine nötrofil ve sonrasında makrofaj, endotelial hücre ve fibroblastları çeker. İnflamasyon fazı iki aşama olup, granülasyon dokusu oluşumunu ve kollajen birikimini (hücre dışı matrisin oluşumu), fibroblast proliferasyonunu ve epitelizasyonu içerir. İnflamasyon fazında önce nötrofiller tarafından IL'ler ve TNF- α salgılanır ve bunlar takip eden dönemlerde makrofaj, keratinosit ve fibroblastlardan salgılanacak olan büyüme faktörlerinin aktivatörleridir. İnflamasyon fazının ikinci aşamasında ise PDGF, TGF- β , LTB₄ ve PF₄ ile monositler dokuda aktif makrofaj halini alırlar. Proliferasyon aşamasında fibroblastlar çoğalır ve yara iyileşmesinde ya komşu fibroblastlar aktive olarak kollajen salgılar ya da büyüme faktörleri aracılığı ile fibroblastlar yara ortamına gelir, kollajen lifleri ve ara maddeyi salgılar. Anjiyogenez ile granülasyon dokusu oluşur. Olgunlaşma ve yeniden şekillenmede artık inflamatuvar süreç bitmek üzeredir yerini kollajen-1 sentezi, çapraz bağ oluşumu ile

mevcut dokunun kalınlaşması ve sağlamlaşması durumu alır (Öztaş, 2021).

Bu araştırmada, sıçan yara modellerinde yara iyileşmesi ile ilgili immünohistokimyasal olarak Smad3 ve VEGF genlerinin yanısıra rölatif kollajen tip 1, α -SMA, TGF- β , VEGF, TNF- α ve IL-6 mRNA moleküler gen ekspresyon paternlerinin ölçülmesine dayalı olarak borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojel bazlı bantların topikal uygulamasının kutanöz yara ve yanık iyileşme süreci üzerindeki olumlu etkisi doğrulandı. Tedavi gruplarımızdan özellikle GH+BA %1,5 ve GH+ÇB %9 gruplarının 2. derece yanık üzerine olan etkileri makroskobik olarak incelendiğinde kontrol grubuna göre hızlı bir iyileşme gösterdikleri tespit edilmiştir. Spesifik olarak, yanık alanının ortalama boyutu, 14. günden itibaren GH+BA %1,5 ve GH+ÇB %9 gruplarında sağlıklı gruba çok yaklaşmıştır.

Yanık sonrası yara iyileşmesinde proinflamatuvar sitokinlerden interlökin-1 beta (IL-1 β), IL-6, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve anti-inflamatuvar sitokin IL-10 ilk salınan sitokinlerdendir (Gauglitz ve ark., 2008; Kubo ve ark., 2014). Bununla birlikte hayvan yanık modellerinde, yanıktan 3 gün sonra TNF- α ve IL'lerin pik ekspresyonu ve bu sitokinlerin en az 60 gün boyunca tespit edildiği bildirilmiştir (Finnerty ve ark., 2008). Bizim çalışmamızda da kontrol gruplarında proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-6 mRNA ekspresyonun yanı sıra takip ettiğimiz 3. gün daha fazla olmak kaydıyla 7. günde de sağlıklı kontrol grubuna göre artmış olduğunu belirledik. Takip eden günlerde yanık iyileşmesinin proliferasyon fazına denk gelen 7. günde ise proinflamatuvar sitokin seviyelerinin düştüğü belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarımız cilt yanıklarıyla ilgili diğer çalışmalarla uyumludur (Barrientos ve ark., 2008; Kubo ve ark., 2014; Souza ve ark., 2017). Tedavi gruplarında ise özellikle GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9 gruplarında yanık kontrol gruplarına göre anlamlı bir değişim olduğu belirlendi. Sonuçlarımızı incelediğimizde TNF- α ve IL-6 seviyelerinin 7. günde yanık kontrol grubunda yüksek

kalmış olmasına rağmen GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9 gruplarında bu sitokin seviyelerinin anlamlı bir şekilde düştüğü tespit edilmiştir.

14. gün sonuçlarımızı incelediğimizde ise bu sitokin seviyelerinin tedavi gruplarında sağlıklı kontrole yakın seviyeye geldiği yalnız yanık kontrol gruplarında bu sitokin seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek kaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçları bütün olarak incelediğimizde özellikle TNF- α ve IL-6 seviyelerinin yanık sonrasında akut inflamatuvar fazda arttığı görülmüştür. Bu bulgular normal iyileşmesinin seyri esnasında beklenen artışlardır. Bu sitokinlerin akut fazda artması o bölgede iyileşmesinin temellerini oluşturmaktadır. Bu artışın proliferatif fazda azalması gerekmektedir. İyileşme ile artan sitokinlerin neden olduğu inflamasyon azalarak epitelizeasyon başlamaktadır. Bu artışın yüksek kalması iyileşmenin gecikmesini ifade etmektedir (Reyes ve ark., 2009). Çalışmamızda özellikle GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9 gruplarında 7. günde söz konusu sitokinlerin azalmış olması iyileşmesinin çok hızlı başladığının belirtisidir.

İnflamatuvar yanıtın erken aşamalarında, TNF- α ve IL-6, nekrotik dokuları ve patojenleri uzaklaştırmak için inflamatuvar hücrelerin kemotaksisini teşvik ettikten sonra VEGF, TGF- β gibi ve IL-18 dahil olmak üzere çeşitli hücre büyüme faktörlerinin üretimini ve salgılanmasını destekler. Yaralanmaların pek çoğunda olduğu gibi termal yaralanmalarda da yara iyileşmesi, yara bölgesinde bu sitokinlerin büyüme faktörlerini salgılatmalarıyla devam eder (Werner & Grose, 2003). Bununla uyumlu olarak yanık sonrası granüle mast hücrelerinde azalmaya bağlı olarak histamin, TNF- α , IL'lerin salınımı ve keratinosit büyüme faktörü ve VEGF'nin sentezi yoluyla inflamasyona, yeniden epitelizeasyona ve anjiyogeneze katkıda bulunur. Makrofajlardan salgılanan ve antienflamatuvar özelliklere sahip büyüme faktörleri arasında VEGF ve TGF- β 'nin cilt onarımında anahtar role sahip olduğuna inanılmaktadır (Barrientos ve ark., 2014;

Ridiandries ve ark., 2018; Savari ve ark., 2019). VEGF, endotel migrasyonu, kemotaktik ajanların üretimi, proliferasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve anjiyogeneze yol açan iskemi ve inflamasyonun bir sonucu olarak farklı hücrelerden salınır (Bao ve ark., 2009). TGF- β , anjiyogeneze, inflamasyon, fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezi yoluyla yara iyileşmesinde önemli bir faktördür (Nall ve ark., 1996). TGF- β iyileşme sürecinin başlarında etkilenen bölgeye inflamatuvar hücrelerin serbest bırakılması sağlar ve mobilizasyonunu teşvik eder (Barrientos ve ark., 2008).

Bizim çalışmamızda da yukarıdaki çalışmalara paralel olarak kontrol grubunda yanığın 3. gününde başlayan VEGF mRNA ekspresyonu 7. günden itibaren yükselmeye devam etmiş olup 14. günde maksimum pik seviyesine ulaşmış takip eden 21. günde ise artık olağan iyileşmeye bağlı olarak düşmeye başlamıştır. Tedavi gruplarında ise yine 3. günde başlayan VEGF mRNA ekspresyonu 7. günde maksimum pik seviyesine ulaşmış ve artık 14. günden sonra proliferatif fazın bitişini gösterir bir biçimde düşmeye başlamıştır. Elde edilen sonuçlara göre tedavi gruplarının özellikle GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9 gruplarında kontrol grubuna göre VEGF ekspresyon maksimum pik seviyesi 14. günden 7. güne kaydığı belirlenmiştir. Bu ise inflamatuvar fazın çok önce bitip iyileşmesinin hızlı başladığını ifade etmektedir. TGF- β mRNA gen ekspresyon seviyesi benzer şekilde incelendiğinde kontrol grubunda yanığın 3. gününde başlayan TGF- β mRNA ekspresyonu 7. günde maksimum pik seviyesine ulaşmış takip eden 14 ve 21. günde ise düşmeye başlamıştır. Tedavi gruplarında ise yine 3. günde pik seviyede TGF- β mRNA ekspresyonu 7. günden itibaren takip eden günlerde proliferatif fazın bitişini gösterir bir biçimde düşmeye devam etmiş hatta 14 ve 21. günlerde neredeyse stabil kalmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tedavi gruplarının özellikle GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9 gruplarında kontrol grubuna göre TGF- β ekspresyon maksimum pik seviyesi 7. günden 3. güne kaymış hatta tedavi gruplarında 14 ve 21. günlerde stabilleştiği

belirlenmiştir. Bu çalışma ile özellikle G-BA %1,5 ve G-ÇB %9 gruplarının 2. derece sıçan yanık modelinde inflamatuvar fazın erken bittiğini proliferatif fazda oluşan TGF- β ve VEGF ekspresyonunu arttırdığını, vasküler endotel hücrelerinin ve fibroblastların proliferasyonunu ve farklılaşmasını indüklediğini ve neovaskülarizasyon sürecini düzenlediğini göstermiştir. Yanık kontrol gruplarında ise iyileşmenin geciktiği ve inflamatuvar fazın uzun süre devam ettiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar daha önce yayımlanan çalışmalar ile de uyum içerisinde (Chen ve ark., 2019).

Yara iyileşmesi sırasında fibroblast hücreleri aktive olur ve α -SMA ekspresyonu miyofibroblastlara farklılaşır. α -SMA ekspresyonu ile spesifik bir miyofibroblast farklılaşması ölçülmüş olur ve TGF- β fibroblast farklılaşmasını destekler (Wynn, 2008). Bu hücreler, yara iyileşmesinin proliferatif fazında önemli bir rol oynar. α -SMA, cilt homeostazını korumada ve doku onarımını düzenlemede kilit oyuncular olan miyofibroblastlar için en önemli belirteçler (Yen ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara paralel şekilde yanık kontrol grubunda α -SMA 3. günde yükselmeye başlamış, 7. günde pik noktaya ulaşmış ve diğer tedavi gruplarına göre yüksek seviyede kalmıştır. Artan bu yükseklik ise 21. günde de devam etmiştir. Bu sonuçlar bize özellikle yanık kontrol gruplarında iyileşmesinin devam ettiğini, inflamatuvar fazın uzadığını göstermektedir (Sebe ve ark., 2008). Tedavi gruplarında ise kontrol grubuna göre özellikle GH-BA %1,5 ve G-ÇB %9 gruplarında α -SMA'nın çok yükselmediği ve ayrıca bu yükselmenin 14. günde çok azaldığı, 21. günde ise normal seviyelere ulaştığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlarda bize özellikle GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9 gruplarında yara iyileşmesinin çok hızlı olduğu ve 14. günden sonra moleküler açıdan düzeldiği tespit edilmiştir. Literatürde de benzer şekilde yanıklarda tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre daha az seviyede eksprese edildiğini görüyoruz (Bi ve ark., 2020; Elbially ve ark., 2021). Elde edilen sonuçlar literatür ile uyum içerisinde olduğunu göstermektedir.

Ayrıca elde edilen bulgular sıçanlarda pirinç tarak modelinde miyofibroblast sayılarının yanıktan sonraki 7. günde zirveye ulaştığını göstermektedir, ancak insan yanık dokularıyla daha fazla doğrulama ve karşılaştırma yapılması gerekmektedir.

TGF- β yara iyileşmesinde anjiyogenez, inflamasyon, fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezi yoluyla önemli bir faktördür. Yaranın iyileşme sürecinin başlarında TGF- β 'nın salınması, etkilenen bölgeye inflamatuvar hücreler mobilizasyonunu teşvik eder (Nall ve ark., 1996). TGF- β , ECM'den protein sentezini arttırmak için hücreleri uyarır ve aynı zamanda kollajen proteazları azaltır (El Gzaerly ve ark., 2013). Kollajenler, ECM'de en fazla bulunan proteinlerdir. Özellikle en yaygın fibril oluşturan kollajen, tip I kollajenlerdir. İyileşme ile, miyofibroblastlar ya apoptoza uğrayacaktır veya kollajenin aşırı üretimi ve hiper proliferasyonu gibi profibrotik özelliklerini kaybederek yaşlanmaya devam edecektir (Kim ve ark., 2012). Yara iyileşmesinin önemli bir göstergesi olduğundan dolayı Kollajen tip 1 α çalışmamızda incelenmiştir. TGF- β salınmasına paralel olarak yanık kontrol grubunda 7. günde pik yapmış kollajen tip 1 α mRNA ekspresyonunun TGF- β salınmasının azalmasına ve iyileşmeye paralel 14. günden itibaren azaldığı 21. günde ise devam ettiği görülmektedir. Oysa tedavi gruplarında yanık kontrol gruplarına kıyasla 7. günde paralel iken hatta daha fazla eksprese olmuş iken 21. güne yaklaştığımızda TGF- β ekspresyonunun neredeyse tamamen bitmesi ve iyileşmeye bağlı olarak büyük ölçüde Kollajen tip 1 α mRNA ekspresyonunun inhibe olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar artık iyileşmenin tamamlanarak kollajen tip 1 α mRNA ekspresyonunun normal hücre fizyolojisinde dönüşüme girdiğinin en önemli ispatlarındandır. Elde edilen veriler literatür ile kıyaslandığında yanık iyileşme fizyolojisine uygun bir şekilde kollajen liflerinin oluşumuna paralellik göstermektedir. Tedavi gruplarının özellikle de GH-BA %1,5 ve GH-ÇB %9'un olağan iyileşmeyi hızlandırmak suretiyle etki göstermiştir ve yanık sürecinin kısılmasına ve yanık yarasının

daha iyi kapanmasına etki etmiştir. Sonuçlarımızın hemen hemen tamamının iyileşme yüzdeleriyle de uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Genel olarak moleküler ve makroskobik veriler değerlendirildiğinde, grafen hidrojellerin 2. derece yanık iyileşme süreçleri üzerinde koruyucu etkisi belirlendi. Yara alanının makroskobik iyileşme yüzdeleri verileri de yara boyutunda hızlı bir küçülmenin olduğunu göstermiştir. Ayrıca borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin, yanık kontrol grubuna kıyasla dermal doku genişliğinde belirgin bir azalma ve artan epitelizasyon hızı ve artan kollajen üretimi ve ardından kollajen birikimi ile yanık iyileşmesini hızlandırabildiğini tespit ettik. Borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin uygulaması yanık kontrole kıyasla VEGF'nin mRNA gen ekspresyon seviyelerini 3, 7, 14 ve 21. günlerde belirgin şekilde yükseltmiştir. Borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin granülasyon dokusunda neovaskülarizasyonu desteklediği görülmektedir. Tedavi gruplarından GH-BA %1,5 ve GH-ÇB % 9'un TNF- α , IL-6, TGF- β , α -SMA ve kollajen tip 1 α yanık kontrol grubuna göre daha erken zaman diliminde ekspresyonunun azaldığı, VEGF ekspresyonunun ise daha erken zaman eksprese olduğu ve iyileşmenin hemen ardından daha düşük seviyelerde kaldığı belirlenmiştir. Borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin, TGF- β 1'in ekspresyon ifadesini ve müteakip α -SMA ifadesini yanık kontrol grubuna göre çok daha erken ekprese edip iyileşme ile paralel olarak ekspresyonu azalttığı belirlenmiş bu şekilde iyileşmeyi desteklediği belirlenmiştir. Ayrıca, sinerjistik etkiye sahip çeşitli ilişkili mekanizmalar, borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin tedavisinin antienflamatuvar etkisi, aktive edici fibroblast proliferasyonu ve dokuların yeniden şekillenmesi, TGF- β 'ye bağlı yol toplu olarak borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin yara iyileşmesini hızlandırma üzerindeki potansiyel etkilerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Histolojik bulgular değerlendirildiğinde; dokuda yanık oluşumundan hemen sonra hasarlı bölgede trombosit kaynaklı bazı sitokinler vazokonstrüksiyona neden olarak pıhtılaşma reaksiyonu başlatırlar (George Broughton ve ark., 2006) ve açığa çıkan pıhtılaşma faktörleri bir seri reaksiyonun oluşumuna başlangıç verir. Pıhtılaşma faktörlerinin etkisiyle başlıca trombositlerden olmak kaydıyla alandaki hasarlı hücrelerden PDGF, TGF- β , vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi bir dizi büyüme faktörü salgılanır (Arslan, 2003; Chin ve ark., 2005; Karasu & Bakır, 2008).

Yanık bölgesine doğru yoğun hücre kemotaksisi, açığa çıkan sitokin ve büyüme faktörleri dokuda inflamasyon sürecini başlatır. İlk 24 saat içinde yarada nötrofillerin hâkim olduğu inflamasyonda, hasardan 24-48 saat sonra hasar tamirinde esas inflamatuvar hücre tipi olan makrofajlar çoğunluk oluşturur. Makrofajlar iyileşme sürecinde salgıladıkları birçok sitokin ve büyüme faktörü ile hücrel mekanizmaları etkilediklerinden oldukça büyük öneme sahiptirler. Makrofaj kaynaklı sitokinlerin en önemlilerinden bazıları TGF- β , PDGF, FGF-2, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) olup, yeniden damarlanma, hücre göçü ve çoğalması, kollajen üretimi ve yara kontraksiyonunda etkilidirler (Alves ve ark., 2010). Ayrıca bu süreçte açığa çıkan pıhtılaşma mekanizmasında etkili olan sitokinler ve doku hasarı sonrası gelişen nekrozdan kaynaklanan bazı faktörler yara alanında damar dışına plazma geçişini etkiler ve ödeme sebep olurlar (Monaco & Lawrence, 2003). Bahsedilen süreçlere benzer şekilde biz de çalışmamızda, yanık oluşumunun 3. gününden itibaren yara alanında özellikle Yanık kontrol grubunda olmak üzere, Yanık+Silverdin grubunda, Yanık+GH grubunda, Yanık+BA ve Yanık+ÇB gruplarında nötrofil göçünü görürken, yanık oluşumunun 7. gününde yoğun makrofaj miktarını tespit ettik. Ayrıca Masson Trikrom üçlü boyama değerlendirmesi yapılırken, yanık oluşumunun 3. gününde yanık kontrol grubu başta

olmak üzere tüm yanık artı tedavi uygulanan gruplarda dermiste yoğun ödem tespit ettik.

İnflamasyon oluşumunun sonunda hasarlı doku içerisinde kollajen sentezi, anjiyogenezis ve epitelizasyon süreçlerini de içine alan proliferasyon evresi başlar. Proliferasyon evresinin en önemli olayı hücrel aktivitelerin ön planda olmasıdır ve fibroblastlardaki değişimler bunlar arasında en dikkat çekicidir. Trombosit ve makrofajlar tarafından salınan büyüme faktörleri ile sitokinler fibroblastların proliferasyonunu tetikler. Fibroblastlar temel olarak yara onarımına katkı sağlamak için bağ dokusunun ECM bileşenlerinden olan kollajen, elastin, retikülin liflerini sentezlerler (Kurt, 2003). Bunun yanı sıra, fibroblastlar iyileşmenin 2. haftasından itibaren yara kontraksiyonunda görev alan miyofibroblastlara dönüşürler ve bu olaylara eş zamanlı olarak granülasyon dokusunun gelişimi gözlenir (Townsend ve ark., 2016). Bu sırada anjiyogenik büyüme faktörü etkisiyle dokuda yeni damar oluşumları başlar ve oluşan granülasyon dokusu yeni damar oluşumu ile direkt bağlantılıdır. Yeni damar oluşumu arttıkça yara bölgesinde hipoksi durumu azalır ve hücrel metabolik olaylar hızlanır. Fibroblastlar kollajen üretimine başlar. Biz de çalışmamızın yanık grubunda ve yanık artı tedavi uygulanan gruplarında 7. günden itibaren belli sayıda inflamatuvar hücre ile karakterize granülasyon dokusunu tespit ettik ve inflamatuvar hücre sayısının azalması önemli bulgulardandı. Yanık+GH grubunda, Yanık+BA %1,5 grubunda, Yanık+BA %3 grubunda, özellikle Yanık+ÇB %4,5 ve Yanık+ÇB %9 gruplarında derin dermiste kollajen lif artışı ile birlikte az sayıda inflamatuvar hücre görüldü. Hasar bölgesinde bağ doku elemanlarının artışı benzer şekilde üçlü boyama sonuçları ile de doğrulandı. 5-14. günler arasında devam eden proliferasyon evresinde fibroblastlar tarafından kollajen liflerinin üretimi devam eder. Yeni sentezlenmiş kollajen lifleri daha düzenli ve epitele paralel şekilde dizilir. Kollajen lifleri arasında çapraz bağların oluşumu olgun kollajeni meydana getirir. 14. günde alınan doku örneklerinde Yanık kontrol grubuyla kıyasladığımız zaman Yanık+Silverdin

grubunda, Yanık+GH grubunda, Yanık+BA %1,5 grubunda, Yanık+BA %3 grubunda, özellikle Yanık+ÇB %4,5 ve Yanık+ÇB %9 gruplarında yüzeyel dermiste az miktarda inflamatuvar hücreler ve granülasyon dokusu izlenirken, derin dermiste yeni sentezlenmiş sıralı kollajen liflerini tespit ettik. Masson Trikrom üçlü boyama sonuçları da benzer şekilde tedavi uygulanan gruplarda kollajen artışını doğruladı.

Hasar oluşumunun 3. haftasından itibaren dokuda yeniden şekillenme ve maturasyon olayları başlar. Bu olaylar sırasında hasarlı bölgede inflamatuvar hücreler azalmaya başlar ve gittikçe iyileşen dokuda kollajen içeriği en üst düzeye ulaşır. Benzer şekilde biz de çalışma gruplarımızda, özellikle yanık sonrası tedavi uygulanan gruplarında dermiste sıkıca paketlenen kollajen lifleri tespit ettik. İnflamatuvar hücreler dağınık olarak az sayıda ve yalnızca epidermisin alt tabakalarında gözlendi. Granülasyon dokusunun yerini iyi organize olmuş fibrotik doku almaktaydı ve Yanık+BA %3 grubunda, Yanık+ÇB %4,5 grubunda ve Yanık+ÇB %9 grubunda bu bulgular daha bariz şekilde öne çıktı. Yanık+BA %3, Yanık+ÇB %4,5 ve Yanık+ÇB %9 gruplarında dikkat çeken diğer önemli bulgu ise skar dokusunun daha küçük olması ve yaranın komplikasyonsuz iyileşmesi idi.

Büyüme faktörlerinin yara iyileşmesi evrelerindeki etkinliği şimdiye kadar çok sayıda araştırma çalışmalarında büyük ölçüde tartışılmıştır. Yara iyileşmesi sürecinin hemen tüm evrelerinde etkinliği oldukça geniş araştırılan bir büyüme faktörü de transforme edici büyüme faktörü- $\beta 1$ 'dir (TGF- $\beta 1$). TGF- β ailesi vücutta farklı biyolojik süreçlerde rol alan ve farklı alt gruplardan oluşan büyük bir ailedir. Dokuların gelişimi, onarımı, homeostazisi gibi önemli olaylarda görev alır, içerdiği çok sayıda polipeptit büyüme faktörleri ile hücre proliferasyonu, diferansiyasyon, adhezyonu ve apoptoz gibi hücresel süreçleri düzenler. TGF- β ligandları Smad proteinleri olarak bilinirler ve hücre içi sinyalleme trafiğine önemli derecede aracılık etmektedirler. Reseptör ilişkili

RSmadlar, ortak mediatör Co-Smadlar ve inhibitör özellikli I-Smadlar olmak üzere Smad proteinleri 3 gruba ayrılır. Smad2 ve Smad3' ü içeren reseptörle aktive olan Smad grubu TGF- β R1 ile etkileşir. TGF- β 1 sinyal yolağı Smad2 ve Smad3 proteinlerinin TGF- β R1 tarafından fosforilasyonunu ve aktivasyonunu içeren çok iyi bilinen klasik bir yoldur. Smad'lar, hücre çekirdeğine sinyal taşıyan ve DNA'ya bağlanma sayesinde transkripsiyon olaylarında yer alan özel bir protein ailesidir (Liu, 2006). TGF- β 1 yara onarımında fibroblast ve makrofajlar proliferasyonunu artırarak kollajen üretimini stimüle eder ve yara iyileşmesini hızlandırır. Yapılan birçok araştırmada TGF- β 1 ekspresyonu, dokuda moleküler düzeyde iyileşme belirteci olarak gösterilmiştir (Tsubone ve ark., 2006). Biz de bu bağlamda çalışmamızda yara iyileşmesini ultrastrüktürel düzeyde göstermek için Smad3 immünohistokimyasal boyamayı tercih ettik. Yanık oluşumunun 3 ve 7. günlerde inflamasyon yoğun olduğu ve yeni bağ doku şekillenmesi henüz tam olarak olgunlaşmadığı için bu çalışmanın belirtilen günlerinde immün pozitiflik incelemesi değerlendirilmedi. İmmünohistokimyasal boyamalar ile değerlendirme sadece 14 ve 21. günlerde yapıldı. Smad3 immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre 14. gün yapılan boyamada sağlıklı gruba göre tüm gruplarda anlamlı bir pozitif hücre artışı görüldü. Ayrıca bu süreçte ECM bileşenlerinin oluşumu da arttığı için yanık sonrası tedavi uygulanan gruplarda, özellikle Yanık+SLV ve Yanık+GH gruplarına göre Yanık+BA ve Yanık+ÇB gruplarında immün pozitiflik anlamlı olarak ifade edildi. Önemli olan diğer bulgu Yanık+GH+BA %1,5 ve Yanık+GH+BA %3 grupları arasında, benzer şekilde Yanık+GH+ÇB %4,5 ve Yanık+GH+ÇB %9 grupları arasında anlamlı farklılıklar izlenmedi. 21. gün yapılan incelemede yara iyileşmesi ve yeniden şekillenme olayları azaldığı ve artık hasar alanında fibrotik skar dokusu geliştiği için Yanık kontrol ve Yanık+GH gruplarına göre Yanık+GH+BA ve Yanık+GH+ÇB gruplarında immün pozitif hücre sayısında anlamlı bir azalma görülmüştür. Çalışmamızın bulgularına benzer

şekilde, Mori ve ark yaptığı çalışmada; büyüme faktörlerini farelere eksojen uygulayarak deri fibrözünü oluşturmuşlardır. Tek doz uygulanan TGF- β enjeksiyonu sonrası uygulama bölgesinde geçici granülasyon dokusu oluşumu izlenirken, TGF- β enjeksiyonu uzun süren uygulamasında daha geniş fibrotik doku oluşumu gösterilmiştir (Mori ve ark., 1999). Diyabetik nefropati oluşturulan sıçan modelinde ise, sıçan böbreklerinde TGF- β 1/Smad3 sinyal yolağı inhibe edilerek renal interstisyel fibrozisin azaldığı gösterilmiştir (Song ve ark., 2011).

Yara iyileşmesinde ve yeniden şekillenme süreçlerinde ECM bileşenlerinin önemli rol oynadığı çalışmalarda araştırılmıştır. Büyüme faktörleri bu süreçte etkilerini hücre bölünmesi, farklılaşması, anjiyogenezi (yeniden damarlanma) uyarmak yoluyla gösterirler. Yara oluşumundan 48-96 saat sonra bölgeye ulaşan makrofajlar, iyileşme sürecinde hücresel mekanizmaları etkileyen çok sayıda büyüme faktörünü ve sitokini salgıladıkları için oldukça fazla öneme sahiptirler. Salgıladıkları sitokinler anjiyogenezi, fibroblast göçünü, kollajen üretimini ve yara kontraksiyonunu uyarak onarımı hızlandırır. Bu sürecin önemli olaylarından biri de anjiyogenezdır. Proliferatif evrenin önemli olaylarından biri de iyileşmekte olan dokuların artan metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için yeni bir mikro dolaşım sağlamasıdır. İlk olarak endotel hücreler büyüme faktörlerinin etkisiyle yara kenarlarından yara merkezine doğru göç etmeye başlar ve olayların sonunda yeni mikrovasküler ağ gelişir (Erdem & Gündoğdu, 2005; Velnar ve ark., 2009). Yeni kan damarlarının oluşumunu ifade eden anjiyogenez süreci birçok anjiyogenik faktörün etkisi altındadır. FGF, VEGF, PDGF, anjiyogenin, TNF- α , TGF- β gibi birçok anjiyogenik faktör endotel hücrelerini uyarak yara iyileşmesini hızlandırır. Endotel hücreleri üzerinde etkili önemli büyüme faktörlerinden biri de VEGF'dir (Dorsett-Martin, 2004). VEGF endotel hücrelerinin çoğalmasını ve anjiyogenezi uyarak damarlanmayı düzenler. Glikoprotein yapısında bir molekül olan VEGF

reseptörleri 3 gruba ayrılır: VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3. Damar oluşumunda VEGFR-1 ve VEGFR-2 etkiliyken, VEGFR-3 daha çok lenfatik damarların çoğalmasıyla ilişkilidir (Ferrara & Gerber, 1999; Veikkola ve ark., 2000). Bu bağlamda biz de çalışmamızda yara iyileşmesinin proliferasyon ve yeniden şekillenme evrelerinin önemli olaylarından biri olan anjiyogenez sürecini değerlendirmek için VEGFR-1 immünohistokimyasal boyamayı yaptık. Yanık oluşumundan sonra yaklaşık 2 hafta süren proliferasyon evresine denk gelen 14. gün yapılan boyamanın sonuçlarında sağlıklı gruba göre tüm gruplarda anlamlı farklılık görüldü. Yanık kontrol grubu ile Yanık+GH grupları arasında anlamlı farklılık izlenmezken, yanık kontrol grubuna göre yanıktan sonra tedavi uygulanan tüm gruplarda immün pozitif hücre sayısında anlamlı farklılık görüldü. Ayrıca Yanık+GH+ÇB %9 grubu en yüksek immün pozitif hücre sayısına sahipti. Anjiyogenez olaylarının azaldığı yeniden şekillenme evresine denk gelen 21. gün immün boyama sonuçları yanık kontrol grubuna göre tüm gruplarda immün pozitif hücre sayısında anlamlı düzeyde azalma olduğunu gösterdi. Yapılan birçok araştırma VEGF'nin yara iyileşmesinde pozitif terapötik etkilerini ortaya koymuştur. Nie ve ark diyabetik sıçanlarda uygulanan VEGF'nin yara iyileşmesini hızlandırdığını gösterirken, VEGF proteini ekspresyonu ELISA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (Nie ve ark., 2020). Çalışmanın sonuçları VEGFR-1 kantitatif değerlerinin iyileşme hızı ile orantılı olduğunu göstermiştir (Loyd ve ark., 2012). Bizim bulgularımıza benzer şekilde, transgenik fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise endotel hücreleri tarafından VEGFR-1 ekspresyonunun artırılmasının yara iyileşmesine paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Mould ve ark., 2005).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu araştırma borik asit ve çinko borat katkılanmış grafen hidrojellerin sentezlenmesi yönünden literatürde bir ilk olmuştur.

- Borik asit ve çinko borat katkılanan grafen hidrojellerin pirinç tarak ile 2. derece yanık modelinde etkisi gösterilmiştir. Bunun mekanizması ilk defa moleküler, histolojik ve mikrobiyolojik olarak ortaya çıkarılmıştır. 2. derece termal yanıklardaki iyileşme mekanizması biyokimyasal olarak ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen sonuçlar grafen hidrojele katkılanmış borik asitin %1,5 dozunda ve grafen hidrojele katkılanmış çinko boratın %9 dozunda hali hazırda piyasada kullanılan silverdin adlı gümüş sülfadiazin içeren ilaca kıyasla 2. derece yanıkta daha iyi oranda iyileşme sağladığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak ele alındığında araştırmamızın;

Her geçen gün hastalıkların tedavisine yönelik pek çok yeni yöntem ve ürün geliştirilmektedir. Bu yeni yaklaşımlarda bor bileşikleri de yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bilim ve teknolojideki gelişmelere bağlı olarak farklı amaçlara yönelik farklı bor bileşikleri sentezlenmekte olup sağlık alanındaki kullanımı da yaygınlaşmaktadır. Ülkemizin bor rezervi bakımından dünyada ilk sırada olması nedeniyle gerek ülkemizin geleceğe yönelik hedefleri gerekse TÜBİTAK tarafından yeni nesil bor ürünlerinin ortaya çıkarılması ülkemizin ileriye yönelik hedefleri açısından son derece önemlidir. Bütün bunları göz önünde bulundurarak önemli bir sağlık sorunu olan yanık yaralarının tedavisi üzerine geliştirilen bor bileşiği içerikli bu ürün bu alanda bir ilktir. Daha önce az da olsa borik asitin yanık iyileşmesinde kullanılıyor olması ve mekanizmasının bilinmemesi ayrıca çinko borat molekülünün de bu konuda etkili olabileceği değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdullahi, A., Amini-Nik, S., & Jeschke, M. (2014). Animal models in burn research. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71, 3241-3255.
- Ahmad, J. (Ed.). (2016). *Michigan manual of plastic surgery*. In: Oxford University Press.
- Ai, K., Liu, Y., Lu, L., Cheng, X., & Huo, L. (2011). A novel strategy for making soluble reduced graphene oxide sheets cheaply by adopting an endogenous reducing agent. *Journal of Materials Chemistry*, 21(10), 3365-3370.
- Akin, I., Zor, E., Bingol, H., & Ersoz, M. (2014). Green synthesis of reduced graphene oxide/polyaniline composite and its application for salt rejection by polysulfone-based composite membranes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(21), 5707-5716.
- Aldemir, M., Geyik, M. F., Yılmaz, G., Uçmak, H., Taçyıldız, İ., & Hoşoğlu, S. (2000). Yanık Ünitesinin Hastane Enfeksiyonları (İki Yıllık Çalışma). *Ulusal Travma Dergisi* 6, 138-141.
- Altay, P., & Başal, G. (2010). Yara örtüleri. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(1), 109-121.
- Altındağ, S. (2022). *Antimikrobiyal etkiye sahip nanofiber tasarımı yara yanık örtü materyali üretimi* (754368). [Doktora Tezi, Aksaray Üniversitesi].
- Alves, C. C., Torrinhas, R. S., Giorgi, R., Brentani, M. M., Logullo, A. F., Arias, V.,... Waitzberg, D. L. (2010). Short-term specialized enteral diet fails to attenuate malnutrition impairment of experimental open wound acute healing. *Nutrition*, 26(9), 873-879.
- Andersen, D. K. (2015). *Schwartz's principles of surgery*. McGraw-Hill New York.

- Arslan, M. (2003). Yara İyileşmesi ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler. *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, 9-33.
- Aygıt, A. C., Pilanci, Ö., & Mercan, E. Ş. (2012). Yanık ünitesinde yatarak tedavi olan 0-12 yaş arası çocuk hastalarda yanık yara enfeksiyonunun retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Journal of Academic Research in Medicine*, 2(2), 55-58.
- Aysel, U., Ceylan, O., Boran, R., Ayrikcil, S., Saraç, N., & Yilmaz, D. (2019). A new approach for prevention the oxidations and mutations: Zinc borate. *Journal of Boron*, 4(4), 196-202.
- Baghaie, S., Khorasani, M. T., Zarrabi, A., & Moshtaghian, J. (2017). Wound healing properties of PVA/starch/chitosan hydrogel membranes with nano Zinc oxide as antibacterial wound dressing material. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 28(18), 2220-2241.
- Baltaci, B., Çakal, G. Ö., Bayram, G., Eroglu, I., & Özkar, S. (2013). Surfactant modified zinc borate synthesis and its effect on the properties of PET. *Powder technology*, 244, 38-44.
- Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M. S., Ehrlich, H. P., & Brem, H. (2009). The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Journal of Surgical Research*, 153(2), 347-358.
- Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., & Tomic-Canic, M. (2014). Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*, 22(5), 569-578.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*, 16(5), 585-601.

- Basu, S., & Shukla, V. (2013). Complications of wound healing. *Measurements in Wound Healing: Science and Practice*, 109-144.
- Baum, C. L., & Arpey, C. J. (2005). Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery*, 31(6), 674-686.
- Bayir, Y., Erkayman, B., Albayrak, M., Yücelik, Ş. S., Can, S., Hanci, H., Tunç, F., Halıcı, H., Civelek, M. S., Yurdgülü, E. E., & Metin, Ö. (2024). Boric acid and Zinc borate doped graphene hydrogels designed for burn treatment: in-vitro viability biocompatibility tests and microbiological analysis. *Journal of Biomaterials Applications, Kabul makale* (5 Temmuz 2004), DOI:10.1177/08853282241268673.
- Benderdour, M., Hess, K., Dzondo-Gadet, M., Nabet, P., Belleville, F., & Dousset, B. (1998). Boron modulates extracellular matrix and TNF α synthesis in human fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*, 246(3), 746-751.
- Bi, Q., Liu, J., Wang, X., & Sun, F. (2020). Downregulation of miR-27b promotes skin wound healing in a rat model of scald burn by promoting fibroblast proliferation. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20(5), 1-1.
- Bilal, M., & Iqbal, H. M. (2019). Marine seaweed polysaccharides-based engineered cues for the modern biomedical sector. *Marine drugs*, 18(1), 7.
- Blech, M., Martin, C., Borrelly, J., & Hartemann, P. (1990). Treatment of deep wounds with loss of tissue. Value of a 3 percent boric acid solution. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 19(22), 1050-1052.
- Borrelly, J., Blech, M. F., Grosdidier, G., Martin-Thomas, C., & Hartemann, P. (1991). Contribution of a 3% solution of boric acid in the treatment of deep wounds with

- loss of substance. In *Annales de chirurgie plastique et esthetique* (Vol. 36, No. 1, pp. 65-69).
- Carney, D., Mann, R., Redin, W., Pernia, S., Berry, D., Heggers, J., Hayward, P. G., Robson, M. C., Christie, J., & Annable, C. (1992). Enhancement of incisional wound healing and neovascularization in normal rats by thrombin and synthetic thrombin receptor-activating peptides. *The Journal of clinical investigation*, 89(5), 1469-1477.
- Cetinkale, O., Konukoğlu, D., Şenel, O., Kemerli, G. D., & Yazar, S. (1999). Modulating the functions of neutrophils and lipid peroxidation by FK506 in a rat model of thermal injury. *Burns*, 25(2), 105-112.
- Cetinkale, O., Senyuva, C., Ayan, F., Cokneseli, B., & Pusane, A. (1993). An alternative treatment of massive burns: skin allografts and cyclosporin immunosuppression without severe additional depression of cellmediated immunity in an animal model. *Burns*, 19(3), 215-219.
- Chen, L., Zheng, Q., Chen, X., Wang, J., & Wang, L. (2019). Low-frequency ultrasound enhances vascular endothelial growth factor expression, thereby promoting the wound healing in diabetic rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(5), 4040-4048.
- Chin, G. A., Diegelmann, R. F., & Schultz, G. S. (2005). Cellular and molecular regulation of wound healing. *Basic and Clinical Dermatology*, 33, 17.
- Choi, W., Lahiri, I., Seelaboyina, R., & Kang, Y. S. (2010). Synthesis of graphene and its applications: a review. *Critical reviews in solid state and materials sciences*, 35(1), 52-71.

- Chung, C., Kim, Y.-K., Shin, D., Ryoo, S.-R., Hong, B. H., & Min, D.-H. (2013). Biomedical applications of graphene and graphene oxide. *Accounts of chemical research*, 46(10), 2211-2224.
- Civelek, M. S., Albayrak, A., Erkayman, B., Yücelik, Ş. S., Yurdgülü, E. E., & Bayır, Y. (2021). Investigation of the effects of boric acid and zinc borate in 1929 mouse fibroblast cell line *International Biochemistry Congress 2021 -*, 46, 46.
- Civil, I. D., & Schwab, C. W. (1988). The Abbreviated Injury Scale, 1985 revision: a condensed chart for clinical use. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 28(1), 87-90.
- Dahiya, P. (2009). Burns as a model of SIRS. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 1(14), 4962-4967.
- Das, S., Irin, F., Ma, L., Bhattacharia, S. K., Hedden, R. C., & Green, M. J. (2013). Rheology and morphology of pristine graphene/polyacrylamide gels. *ACS applied materials & interfaces*, 5(17), 8633-8640.
- Demir, S., & Şenel, E. (2016). The microorganisms isolated from patients' cultures in a child burn center and its impact to mortality. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory*, 7(1), 10-18.
- Demirci, S., Doğan, A., Aydın, S., Dülger, E. Ç., & Şahin, F. (2016). Boron promotes streptozotocin-induced diabetic wound healing: roles in cell proliferation and migration, growth factor expression, and inflammation. *Molecular and cellular biochemistry*, 417, 119-133.
- Demirci, S., Doğan, A., Karakuş, E., Halıcı, Z., Topçu, A., Demirci, E., & Şahin, F. (2015). Boron and poloxamer (F68 and F127) containing hydrogel formulation for burn wound healing. *Biological trace element research*, 168, 169-180.

- Demirel, H., İnce, T., Uysal, D., & Uysal, B. (2015). Boric Acid Production From Sodium Metaborate With Sulfuric Acid. *Celal Bayar University Journal of Science*, 11(3).
- Demirer, S., Kara, M. I., Erciyas, K., Ozdemir, H., Ozer, H., & Ay, S. (2012). Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Archives of oral biology*, 57(1), 60-65.
- Domergue, S., Jorgensen, C., & Noël, D. (2015). Advances in research in animal models of burn-related hypertrophic scarring. *Journal of Burn Care & Research*, 36(5), e259-e266.
- Dorsett-Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: a review. *Wound repair and regeneration*, 12(6), 591-599.
- Ehrlich, H. P. (2013). A snapshot of direct cell–cell communications in wound healing and scarring. *Advances in wound care*, 2(4), 113-121.
- El Gzaerly, H., Elbardisey, D. M., Eltokhy, H. M., & Teaama, D. (2013). Effect of transforming growth factor Beta 1 on wound healing in induced diabetic rats. *International journal of health sciences*, 7(2), 160.
- Elaldı, N., & Bakır, M. (2003). Yanık Enfeksiyonları: Son Durum. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 25(2), 79-88.
- Elbially, Z. I., Assar, D. H., Abdelnaby, A., Asa, S. A., Abdelhiee, E. Y., Ibrahim, S. S.,...Atiba, A. (2021). Healing potential of *Spirulina platensis* for skin wounds by modulating bFGF, VEGF, TGF- β 1 and α -SMA genes expression targeting angiogenesis and scar tissue formation in the rat model. *Biomed Pharmacother*, 137(111349), 10.1016.
- Eray, O., Eken, C., Oktay, C., Gelen, T., & Avcı, A. B. (2006). Comparison of systemic and local effects of nitric acid and hydrochloric acid: an experimental study in a rat model. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 12(3), 184-188.

- Erdem, F., & Gündoğdu, M. (2005). Anjiojenesis ve anti-anjiojenik tedavi. *AÜTD*, 37(1), 1-6.
- Erkekoglu, P., Giray, B. K., & Basaran, N. (2011). 3R principle and alternative toxicity testing methods. *Fabad J Pharm Sci*, 36(1), 101-117.
- Eski, M., Ozer, F., Firat, C., Alhan, D., Arslan, N., Senturk, T., & Işık, S. (2012). Cerium nitrate treatment prevents progressive tissue necrosis in the zone of stasis following burn. *Burns*, 38(2), 283-289.
- Farjah, M. H., & Farahpour, M. R. (2020). Efficacy of topical platelet-rich plasma and chitosan co-administration on Candida albicans-infected partial thickness burn wound healing. *Burns*, 46(8), 1889-1895.
- Ferrara, N., & Gerber, H. P. (1999). Vascular endothelial growth factor molecular and biological aspects. *Advances in organ biology*, 7, 25-57.
- Finnerty, C. C., Jeschke, M. G., Herndon, D. N., Gamelli, R., Gibran, N., Klein, M., Silver, G., Arnoldo, B., Remick, D., & Tompkins, R. G. (2008). Temporal cytokine profiles in severely burned patients: a comparison of adults and children. *Molecular medicine*, 14, 553-560.
- Firat, C., Samdancı, E., Erbatur, S., Aytekin, A. H., Ak, M., Turtay, M. G., & Coban, Y. K. (2013). β -Glucan treatment prevents progressive burn ischaemia in the zone of stasis and improves burn healing: an experimental study in rats. *Burns*, 39(1), 105-112.
- Fisher, C., Gilbertson-Beadling, S., Powers, E., Petzold, G., Poorman, R., & Mitchell, M. (1994). Interstitial collagenase is required for angiogenesis in vitro. *Developmental biology*, 162(2), 499-510.

- Gauglitz, G. G., Song, J., Herndon, D. N., Finnerty, C. C., Boehning, D., Barral, J. M., & Jeschke, M. G. (2008). Characterization of the inflammatory response during acute and post-acute phases after severe burn. *Shock*, 30(5), 503-507.
- George Broughton, I., Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). Wound healing: an overview. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7S), 1e-S-32e-S.
- Giudice, C. A., & Benítez, J. (2001). Zinc borates as flame-retardant pigments in chlorine-containing coatings. *Progress in organic coatings*, 42(1-2), 82-88.
- Gozubuyuk, G., Aktas, E., & Yigit, N. (2014). An ancient plant Lawsonia inermis (henna): Determination of in vitro antifungal activity against dermatophytes species. *Journal de mycologie médicale*, 24(4), 313-318.
- Guggenheim, M., Zbinden, R., Handschin, A. E., Gohritz, A., Altintas, M. A., & Giovanoli, P. (2009). Changes in bacterial isolates from burn wounds and their antibiograms: a 20-year study (1986–2005). *Burns*, 35(4), 553-560.
- Guo, H. F., Mohd Ali, R., Abd Hamid, R., Chang, S. K., Zainal, Z., & Khaza'ai, H. (2020). A new histological score grade for deep partial-thickness burn wound healing process. *International journal of burns and trauma*, 10(5), 218-224.
- Guo, S. X., Jin, Y. Y., Fang, Q., You, C. G., Wang, X. G., Hu, X. L., & Han, C.-M. (2015). Beneficial effects of hydrogen-rich saline on early burn-wound progression in rats. *PLoS One*, 10(4), e0124897.
- Gupta, M., Mahajan, V. K., Mehta, K. S., & Chauhan, P. S. (2014). Zinc therapy in dermatology: a review. *Dermatology research and practice*, 2014(1), 709152.
- Gurtner, G. C. (2007). Woundhealing: Normal and abnormal; Grabb and Smith's Plastic Surgery. In: Lippincott-RavenPublishers, Philadelphia.
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321.

- Haisma, E. M., Rietveld, M. H., de Breij, A., van Dissel, J. T., El Ghalbzouri, A., & Nibbering, P. H. (2013). Inflammatory and antimicrobial responses to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an in vitro wound infection model. *PLoS One*, 8(12), e82800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082800>
- Hakki, S. S., Bozkurt, B. S., & Hakki, E. E. (2010). Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(4), 243-250.
- Hamdi, M., Feki, A., Bardaa, S., Li, S., Nagarajan, S., Mellouli, M.,...Nasri, R. (2020). A novel blue crab chitosan/protein composite hydrogel enriched with carotenoids endowed with distinguished wound healing capability: In vitro characterization and in vivo assessment. *Materials Science and Engineering: C*, 113, 110978.
- He, J., Shi, M., Liang, Y., & Guo, B. (2020). Conductive adhesive self-healing nanocomposite hydrogel wound dressing for photothermal therapy of infected full-thickness skin wounds. *Chemical Engineering Journal*, 394, 124888.
- Hettiaratchy, S., & Dziewulski, P. (2004). Pathophysiology and types of burns. *Bmj*, 328(7453), 1427-1429.
- Hoff-Lenczewska, D., Kawecki, M., Glik, J., Klama-Baryła, A., & Nowak, M. (2013). The potential of bacteriophages in the treatment of burn wounds. *Polish Journal of Surgery*, 85(10), 615-618.
- Hughes, A., Almeland, S. K., Leclerc, T., Ogura, T., Hayashi, M., Mills, J.-A.,...Potokar, T. (2021). Recommendations for burns care in mass casualty incidents: WHO Emergency Medical Teams Technical Working Group on Burns (WHO TWGB) 2017-2020. *Burns*, 47(2), 349-370.
- Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F., & Eryavuz, A. (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant

- activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(3), 161-164.
- James, S. L., Lucchesi, L. R., Bisignano, C., Castle, C. D., Dingels, Z. V., Fox, J. T.,...Roberts, N. L. (2020). Epidemiology of injuries from fire, heat and hot substances: global, regional and national morbidity and mortality estimates from the Global Burden of Disease 2017 study. *Injury prevention*, 26(Suppl 2), i36-i45.
- Janžekovic, Z. (1970). A new concept in the early excision and immediate grafting of burns. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 10(12), 1103-1108.
- Kamoliz, L. P., Kitzinger, H., Andel, H., & Frey, M. (2006). The surgical treatment of acute burns. *European Surgery*, 38(6), 417-423.
- Kamoun, E. A., Kenawy, E.-R. S., & Chen, X. (2017). A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of advanced research*, 8(3), 217-233.
- Karasu, A., & Bakır, B. (2008). Yara ve yara iyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14(1), 36-43.
- Karimi, A., & Wan Daud, W. M. A. (2017). Harmless hydrogels based on PVA/Na⁺-MMT nanocomposites for biomedical applications: fabrication and characterization. *Polymer Composites*, 38(6), 1135-1143.
- Kayapınar, M., Seyhan, N., Avunduk, M. C., & Savacı, N. (2015). Yanık staz zonunun melatonin kullanımıyla kurtarılması: Sıçanlarda deneysel çalışma. *Ulus Travma Acil Cerrahi Dergisi*, 21(6), 419-424.
- Kaymaz, B., Gölge, U. H., Ozyalvacı, G., Kömürcü, E., Goksel, F., Mermerkaya, M. U., & Doral, M. N. (2016). Effects of boric acid on the healing of Achilles tendons of rats. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 24, 3738-3744.

- Kim, S. H., Shin, C., Min, S. K., Jung, S.-M., & Shin, H. S. (2012). In vitro evaluation of the effects of electrospun PCL nanofiber mats containing the microalgae *Spirulina* (*Arthrospira*) extract on primary astrocytes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 90, 113-118.
- Koehler, J., Brandl, F. P., & Goepferich, A. M. (2018). Hydrogel wound dressings for bioactive treatment of acute and chronic wounds. *European Polymer Journal*, 100, 1-11.
- Kohyama, T., Ertl, R. F., Valenti, V., Spurzem, J., Kawamoto, M., Nakamura, Y., Veys, T., Allegra, L., Romberger, D., & Rennard, S. I. (2001). Prostaglandin E2 inhibits fibroblast chemotaxis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 281(5), L1257-L1263.
- Kot, F. S. (2009). Boron sources, speciation and its potential impact on health. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 8, 3-28.
- Kubo, H., Hayashi, T., Ago, K., Ago, M., Kanekura, T., & Ogata, M. (2014). Temporal expression of wound healing-related genes in skin burn injury. *Legal medicine*, 16(1), 8-13.
- Kurt, N. (2003). Akut ve kronik yara bakımı. *Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul*, 34-35.
- Kuru, R., & Yarat, A. (2017). Bor ve Sağlığımıza Olan Etkilerine Güncel Bir Bakış/Boron and a Current Overview of its Effects on Health. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 7(3), 107-115.
- Lawrence, W. T. (1998). Physiology of the acute wound. *Clinics in Plastic Surgery*, 25(3), 321-340.
- Lee, J., Kim, J., Kim, S., & Min, D.-H. (2016). Biosensors based on graphene oxide and its biomedical application. *Advanced drug delivery reviews*, 105, 275-287.

- Liang, H., Song, X.-M., Wu, X.-J., Li, J.-G., Han, Y., Wang, Y.-L.,...Xu, Y. (2014). Muramyl Dipeptide Enhances Thermal Injury–Induced Inflammatory Cytokine Production and Organ Function Injury in Rats. *Shock*, 42(2), 161-167.
- Lin, H., Yang, Y., Wang, Y., Wang, L., Zhou, X., Liu, J., & Peng, D. (2014). Effect of mixed transplantation of autologous and allogeneic microskin grafts on wound healing in a rat model of acute skin defect. *PLoS One*, 9(1), e85672.
- Lin, P.-H., Sermersheim, M., Li, H., Lee, P. H., Steinberg, S. M., & Ma, J. (2017). Zinc in wound healing modulation. *Nutrients*, 10(1), 16.
- Liu, F. (2006). Smad3 phosphorylation by cyclin-dependent kinases. *Cytokine & growth factor reviews*, 17(1-2), 9-17.
- Liu, H.-F., Zhang, F., & Lineaweaver, W. C. (2017). History and advancement of burn treatments. *Annals of plastic surgery*, 78(2), S2-S8.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Loo, Y., Wong, Y.-C., Cai, E. Z., Ang, C.-H., Raju, A., Lakshmanan, A.,...Moochhala, S. M. (2014). Ultrashort peptide nanofibrous hydrogels for the acceleration of healing of burn wounds. *Biomaterials*, 35(17), 4805-4814.
- Loyd, C. M., Diaconu, D., Fu, W., Adams, G. N., Brandt, E., Knutsen, D. A.,...Ward, N. L. (2012). Transgenic overexpression of keratinocyte-specific VEGF and Ang1 in combination promotes wound healing under nondiabetic but not diabetic conditions. *International journal of clinical and experimental pathology*, 5(1), 1.
- Metin, Ö., Kayhan, E., Özkar, S., & Schneider, J. J. (2012). Palladium nanoparticles supported on chemically derived graphene: An efficient and reusable catalyst for the dehydrogenation of ammonia borane. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(10), 8161-8169.

- Monaco, J. L., & Lawrence, W. T. (2003). Acute wound healing: an overview. *Clinics in plastic surgery*, 30(1), 1-12.
- Monafo, W. W. (2002). Total Burn Care. London, United Kingdom: WB Saunders.
- Monafo, W. W., & West, M. A. (1990). Current treatment recommendations for topical burn therapy. *Drugs*, 40, 364-373.
- Mori, T., Kawara, S., Shinozaki, M., Hayashi, N., Kakinuma, T., Igarashi, A.,... Takehara, K. (1999). Role and interaction of connective tissue growth factor with transforming growth factor- β in persistent fibrosis: A mouse fibrosis model. *Journal of cellular physiology*, 181(1), 153-159.
- Mould, A. W., Greco, S. A., Cahill, M. M., Tonks, I. D., Bellomo, D., Patterson, C.,... Hayward, N. K. (2005). Transgenic overexpression of vascular endothelial growth factor-B isoforms by endothelial cells potentiates postnatal vessel growth in vivo and in vitro. *Circulation research*, 97(6), e60-e70.
- Nall, A. V., Brownlee, R. E., Colvin, C. P., Schultz, G., Fein, D., Cassisi, N. J.,... Kalra, A. (1996). Transforming growth factor β 1 improves wound healing and random flap survival in normal and irradiated rats. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 122(2), 171-177.
- Nguyen, N. L., Gun, R. T., Sparnon, A. L., & Ryan, P. (2002). The importance of immediate cooling—a case series of childhood burns in Vietnam. *Burns*, 28(2), 173-176.
- Nie, C., Yu, H., Wang, X., Li, X., Wei, Z., & Shi, X. (2020). Pro-inflammatory effect of obesity on rats with burn wounds. *PeerJ*, 8, e10499.
- Nielsen, F. H. (1988). Boron—an overlooked element of potential nutritional importance. *Nutrition Today*, 23(1), 4-7.
- Nielsen, F. H. (2008). Is boron nutritionally relevant? *Nutrition reviews*, 66(4), 183-191.

- Nzietchueng, R. M., Dousset, B., Franck, P., Benderdour, M., Nabet, P., & Hess, K. (2002). Mechanisms implicated in the effects of boron on wound healing. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 16(4), 239-244.
- O'Brien, S. P., & Billmire, D. A. (2008). Prevention and management of outpatient pediatric burns. *Journal of craniofacial surgery*, 19(4), 1034-1039.
- Oancea, C. N., Cîmpean, A., Ion, R., Neamțu, J., Biță, A., Scorei, I.,... Birkenmeier, G. (2018). In vitro cytotoxicity of zinc fructoborate, a novel zinc-boron active natural complex. *Current Health Sciences Journal*, 44(2), 113.
- Okay, H. (2021). Mikrodalga Destekli Çinko Borat Sentezi ve Karakterizasyonu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*(21), 31-36.
- Othman, N., Mohammad, R., & Kamaruddin, S. A. (2015). Prediction of electronic waste disposals from residential areas in Malaysia. *Jurnal Teknologi*, 74(10).
- Özkaya, N. K., Alğan, S., & Akkaya, H. (2014). Yanıklı hastanın değerlendirilmesi ve tedavi yaklaşımının belirlenmesi. *Ankara Medical Journal*, 14(4).
- Öztaş, P. (2021). Yara iyileşmesi, bakımı ve tedavisi. *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 54(2), 341-351.
- Park, J. O., Do Shin, S., Kim, J., Song, K. J., & Peck, M. D. (2009). Association between socioeconomic status and burn injury severity. *Burns*, 35(4), 482-490.
- Peck, M. D. (2011). Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors. *Burns*, 37(7), 1087-1100.
- Pertek, S. (2019). *Deneyisel olarak yanık oluşturulmuş sıçanlarda elektromanyetik alan ve piknogenol® uygulamalarının yanık iyileşmesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi* (603463) [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü].

- Pierson, H. O. (1993). Graphite structure and Properties In: Handbook of Carbon, Graphite, Diamond and Fullerenes, Notes Publications.
- Pilmis, B., Puel, A., Lortholary, O., & Lanternier, F. (2016). New clinical phenotypes of fungal infections in special hosts. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(8), 681-687.
- Quarles, W. (2001). Boric acid, borates and household pests. *IPM Practitioner*, 23(3), 1-12.
- Rasool, A., Ata, S., & Islam, A. (2019). Stimuli responsive biopolymer (chitosan) based blend hydrogels for wound healing application. *Carbohydrate polymers*, 203, 423-429.
- Regas, F. C., & Ehrlich, H. P. (1992). Elucidating the vascular response to burns with a new rat model. *J Trauma*, 32(5), 557-563. <https://doi.org/10.1097/00005373-199205000-00004>
- Reyes, R., Guo, M., Swann, K., Shetgeri, S. U., Sprague, S. M., Jimenez, D. F.,...Ding, Y. (2009). Role of tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase-9 in blood-brain barrier disruption after peripheral thermal injury in rats. *Journal of neurosurgery*, 110(6), 1218-1226.
- Rezaei, E., Safari, H., Naderinasab, M., & Aliakbarian, H. (2011). Common pathogens in burn wound and changes in their drug sensitivity. *Burns*, 37(5), 805-807.
- Ridiandries, A., Tan, J. T., & Bursill, C. A. (2018). The role of chemokines in wound healing. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3217.
- Roy, N., Saha, N., Kitano, T., & Saha, P. (2010). Development and characterization of novel medicated hydrogels for wound dressing. *Soft Materials*, 8(2), 130-148.
- Sağlam, M., Arslan, U., Buket Bozkurt, Ş., & Hakki, S. S. (2013). Boric acid irrigation as an adjunct to mechanical periodontal therapy in patients with chronic

- periodontitis: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology*, 84(9), 1297-1308.
- Sattler, K. D. (2016). *Carbon nanomaterials sourcebook* (Vol. 1). CRC Press Boca Raton, FL, USA.
- Savari, R., Shafiei, M., Galehdari, H., & Kesmati, M. (2019). Expression of VEGF and TGF- β genes in skin wound healing process induced using phenytoin in male rats. *Jundishapur Journal of Health Sciences*, 11(1).
- Schoenbrunner, A., Banda, W., & Gosman, A. A. (2017). Global Burn Care: Education and Research. *Clinics in Plastic Surgery*, 44(3), 485-493.
- Sebe, A., Leivonen, S.-K., Fintha, A., Masszi, A., Rosivall, L., Kähäri, V.-M., & Mucsi, I. (2008). Transforming growth factor- β -induced alpha-smooth muscle cell actin expression in renal proximal tubular cells is regulated by p38 β mitogen-activated protein kinase, extracellular signal-regulated protein kinase1, 2 and the Smad signalling during epithelial–myofibroblast transdifferentiation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23(5), 1537-1545.
- Shalom, A., Kramer, E., & Westreich, M. (2011). Protective effect of human recombinant copper–zinc superoxide dismutase on zone of stasis survival in burns in rats. *Annals of plastic surgery*, 66(6), 607-609.
- Sidhu, G. S., Mani, H., Gaddipati, J. P., Singh, A. K., Seth, P., Banaudha, K. K.,...Maheshwari, R. K. (1999). Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice. *Wound repair and regeneration*, 7(5), 362-374.
- Simpson, D. M., & Ross, R. (1972). The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *The Journal of clinical investigation*, 51(8), 2009-2023.

- Singer, A. J., Berruti, L., Thode Jr, H. C., & McClain, S. A. (2000). Standardized burn model using a multiparametric histologic analysis of burn depth. *Academic Emergency Medicine*, 7(1), 1-6.
- Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*, 341(10), 738-746.
- Singer, A. J., McClain, S. A., Taira, B. R., Guerriero, J. L., & Zong, W. (2008). Apoptosis and necrosis in the ischemic zone adjacent to third degree burns. *Academic Emergency Medicine*, 15(6), 549-554.
- Singer, A. J., McClain, S. A., Taira, B. R., Rooney, J., Steinhauff, N., & Rosenberg, L. (2010). Rapid and selective enzymatic debridement of porcine comb burns with bromelain-derived Debrase®: Acute-phase preservation of noninjured tissue and zone of stasis. *Journal of Burn Care & Research*, 31(2), 304-309.
- Song, C.-J., Fu, X.-M., Li, J., & Chen, Z.-H. (2011). Effects of sericine on TGF-beta1/Smad3 signal pathway of diabetic nephropathy rats kidney. *Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi= Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi= Chinese Journal of Applied Physiology*, 27(1), 102-105.
- Soo, C. (2000). Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair—a correction. *Plastic and reconstructive surgery*, 106(1), 236.
- Souza, H. R., De Azevedo, L. R., Possebon, L., Costa, S. d. S., Iyomasa-Pilon, M. M., Oliani, S. M., & Girol, A. P. (2017). Heterogeneity of mast cells and expression of Annexin A1 protein in a second degree burn model with silver sulfadiazine treatment. *PLoS One*, 12(3), e0173417.
- Sun, G., Zhang, X., Shen, Y.-I., Sebastian, R., Dickinson, L. E., Fox-Talbot, K.,...Gerecht, S. (2011). Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic

- responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(52), 20976-20981.
- Szabo, M. M., Urich, M. A., Duncan, C. L., & Aballay, A. M. (2016). Patient adherence to burn care: a systematic review of the literature. *Burns*, 42(3), 484-491.
- Tepedelen, B. E., Soya, E., & Korkmaz, M. (2016). Boric acid reduces the formation of DNA double strand breaks and accelerates wound healing process. *Biological trace element research*, 174, 309-318.
- Tiffany, B., & Warren, L. (2008). Acute burns. *Plast Reconst Surg*, 121, 311-319.
- Tiyek, İ., Ersoy, M. S., Alma, M. H., Dönmez, U., Yıldırım, B., Salan, T.,...Yıldız, K. (2016). Modifiye hummers yöntemiyle grafen oksit (GO) sentezi ve karakterizasyonu. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology*, 4(2), 41-48.
- Tombuloglu, A., Copoglu, H., Aydın-Son, Y., & Guray, N. T. (2020). In vitro effects of boric acid on human liver hepatoma cell line (HepG2) at the half-maximal inhibitory concentration. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126573.
- Tompkins, R. G., Remensnyder, J. P., Burke, J. F., Tompkins, D. M., Hilton, J. F., Schoenfeld, D. A.,...Quinby Jr, W. (1988). Significant reductions in mortality for children with burn injuries through the use of prompt eschar excision. *Annals of surgery*, 208(5), 577.
- Tonnesen, M. G., Feng, X., & Clark, R. A. (2000). Angiogenesis in wound healing. In *Journal of investigative dermatology symposium proceedings* 5(1) 40-46.
- Townsend, C. M., Beauchamp, R. D., Evers, B. M., & Mattox, K. L. (2016). *Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice*. Elsevier Health Sciences.

- Tsubone, T., Moran, S. L., Subramaniam, M., Amadio, P., Spelsberg, T., & An, K. (2006). Effect of TGF- β inducible early gene deficiency on flexor tendon healing. *Journal of Orthopaedic Research*, 24(3), 569-575.
- Uçkun, Z. (2013). Esansiyel bir komponent: bor-borun günlük alımı ve fizyolojik etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*(2), 119-123.
- Ulusik, I., Karakaya, H. C., & Koc, A. (2018). The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 45, 156-162.
- Ün, S., Yılmaz, Y., Yıldırım, M., Akdeniz, F., Türk, H., & Koca, O. (2015). Ciddi yanık travması olan hastalarda hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonu sıklığı ve risk faktörlerinin araştırılması. *Ulusal Travma Acil Cerrahi Dergisi*, 21(1), 57-62.
- Vaghardoost, R., Ghavami, Y., & Sobouti, B. (2019). The effect of Mentha pulegium on healing of burn wound injuries in rat. *World journal of plastic surgery*, 8(1), 43.
- Veikkola, T., Karkkainen, M., Claesson-Welsh, L., & Alitalo, K. (2000). Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer research*, 60(2), 203-212.
- Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of international medical research*, 37(5), 1528-1542.
- Vural, M. K., Altoparlak, U., Celebi, D., & Akcay, M. N. (2013). Comparison of surface swab and quantitative biopsy cultures dependent on isolated microorganisms from burn wounds. *The Eurasian Journal of Medicine*, 45(1), 34.
- Walker, H. L., & Mason Jr, A. D. (1968). A standard animal burn. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 8(6), 1049-1051.
- Wallner, C., Moormann, E., Lulof, P., Drysch, M., Lehnhardt, M., & Behr, B. (2020). Burn care in the Greek and Roman antiquity. *Medicina*, 56(12), 657.

- Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews*, 83(3), 835-870.
- WHO-2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/>. Erişim tarihi: 01/05/2024.
- Wu, J., & Wang, Y. (2019). A brief history of burn rehabilitation medicine in China. *Zhonghua Shaoshang Zazhi, Chinese Journal of Burns*, 35(2), 81-85.
- Wynn, T. (2008). Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 214(2), 199-210.
- Xu, Y., Sheng, K., Li, C., & Shi, G. (2010). Self-assembled graphene hydrogel via a one-step hydrothermal process. *ACS nano*, 4(7), 4324-4330.
- Yen, Y. H., Pu, C. M., Liu, C. W., Chen, Y. C., Chen, Y. C., Liang, C. J.,...Chen, Y. L. (2018). Curcumin accelerates cutaneous wound healing via multiple biological actions: the involvement of TNF- α , MMP-9, α -SMA, and collagen. *International wound journal*, 15(4), 605-617.
- Yenmez, N. (2009). Stratejik bir maden olarak bor minerallerin Türkiye için nemi. *Coğrafya Dergisi*(19), 59-94.
- Yurdgülü, E. E., Albayrak, A., ErKayman, B., Yücelik, ř. S., Civelek, M. S., & Bayır, Y. (2021). Investigation Of The Effects Of Boric Acid And Zinc Borate On Migration In L929 Mouse Fibroblast Cell Line *International Biochemistry Congress 2021 - zel sayı*, 46, 46.
- Ynl, K. (2016). Bor. 1. baskı. Ankara: Değişim Yayınları.
- Zerbaliyev, E. (2013). *Kuruluşundan bugüne hacettepe niversitesi tıp fakültesi genel cerrahi anabilim dalı yanık nitesi'nde yatarak izlenen hastalarda tedavi*

etkinliğinin retrospektif değerlendirilmesi (360224) [Tıpta Uzmanlık, Hacettepe Üniversitesi].

Zhao, Z., Wang, X., Qiu, J., Lin, J., Xu, D., Zhang, C. a.,...Yang, X. (2014). Three-dimensional graphene-based hydrogel/aerogel materials. *Reviews on Advanced Materials Science*, 36(2), 137-151.

Zhuang, Y., Kong, Y., Han, K., Hao, H., & Shi, B. (2017). A physically cross-linked self-healable double-network polymer hydrogel as a framework for nanomaterial. *New Journal of Chemistry*, 41(24), 15127-15135.



EKLER

EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı		
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Biyokimya	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program	Doktora	
Türü		
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%11	% 15
II. Genel Bilgiler	%28	% 35
III. Materyal ve Metod	%30	% 35
IV. Bulgular	% 8	% 15
V. Tartışma	% 5	% 20
Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.		

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1800069803
Konu : HADYEK Kararı.

23.02.2018

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 22.02.2018 tarihli ve 93722986-000-E.1800066949 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 22.02.2018 tarih ve 2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 40 no'lu kararı ile sözkonusu proje çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 22.02.2018

Toplantı Sayısı : 2

KARAR NO 40: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **"Sıçanlarda İkinci Derece Yanık İyileşmesinde Borik Asit ve Çinko Borat Katkılı Grafen Hidrojellerin Araştırılması"** isimli proje çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 22.02.2018 tarih ve 93722986-000-E.1800066949 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen proje çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.