

49978

T. C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANA BİLİM DALI BAŐKANLIĐI

EKSOJEN KOLLAJENİN YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

T 49978

Osman Tan FIRAT
Tbp. Yzb.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MENELZİ

ANKARA — 1996

ÖNSÖZ

Bu tez konusu Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı'nın 24.06.1993 gün ve Pl.Eğt.Öğrt.Şb.: 4033-88-93/272 sayılı yazısıyla verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Yara tıp adamlarının insanlık tarihi boyunca karşılaştıkları ve insanlık var oldukça karşılaşacakları bir olgudur. Özellikle son zamanlarda yara iyileşmesi sürecini olumlu yönde etkileyecek tedavi yaklaşımları artış göstermiştir. Primer kapatılmayıp açık bırakılan yaralarda, bası yaralarında, ülserlerde sekonder iyileşme döneminin hızlandırılması ve şekil, fonksiyon bozukluklarının önlenmesi yönünde eksojen olarak yaraya kimyasal, fiziksel, biyolojik ajanlar uygulanmaktadır.

Bu çalışmada; yaraların iyileşmesinde eksojen olarak uygulanan kollajenin iyileşmeye etkileri, ratlar üzerinde oluşturulan açık yara modelleri üzerinde araştırılıp, sonuçları dökümente edilmiştir.

Çalışmalarımda beni yönlendiren, yetişmemde büyük katkıları olan Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanı ve Askeri Tıp Fakültesi Dekanı, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın hocam Prof.Dr. Fahrettin ALPASLAN başta olmak üzere, her zaman yakın ilgilerini gördüğüm kliniğimizin diğer öğretim üyeleri ; tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ümit SARIKAYALAR, Sayın Prof. Dr. Mesut PEKCAN, Sayın Prof. Dr. İsmail ARSLAN, Sayın Prof. Dr. Köksal ÖNER, Sayın Doç. Dr. Orhan KOZAK, Yrd. Doç Dr. Mehmet Yıldız, Yrd. Doç. Dr. Müjdat BALKAN, Yrd. Doç. Dr. Ali İhsan UZAR, Yrd. Doç. Dr. Cengiz KAYAHAN, Yrd. Doç. Dr. Bülent GÜLEÇ, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalında Görevli Sayın Doç. Dr. Salih ÇETİNKURŞUN ve Op. Dr. Haluk ÖZTÜRK 'e, tüm asistan arkadaşlarıma ve klinik personeline teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Gülhane Askeri Tıp Akademisi Araştırma Merkezi Deneysel Hayvan Laboratuvarı personeline, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa Turan'a, Biyokimya Ana Bilim Dalı çalışanlarına ve tez çalışmam boyunca sabırla beni destekleyen eşime teşekkür ederim.

Dr. Osman Tan FIRAT

ANKARA - 1996

İÇİNDEKİLER

1- GİRİŞ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	2
A- TARİHÇE	2
B- YARA İYİLEŞMESİ.....	3
a. İnflamatuvar faz.....	4
b. Proliferatif faz.....	7
c. Maturasyon fazı.....	10
C- KOLLAJEN BİYOSENTEZİ VE YAPISI	11
D- YARA İYİLEŞMESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	14
E- YARA İYİLEŞMESİNDE EKSOJEN KOLLAJEN.....	15
F- YARA İYİLEŞMESİNDE EKSOJEN KOLLAJENİN ETKİ MEKANİZMASI.....	16
G. YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	19
3- GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
4- BULGULAR.....	24
5- TARTIŞMA ve SONUÇ.....	32
6- ÖZET.....	41
7- İNGİLİZCE ÖZET.....	42
8- KAYNAKLAR.....	43

GİRİŞ

Yara, canlı dokunun cerrahi, spontan, idiyopatik veya çeşitli hastalıklar sonucu anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise yaralanmış dokunun anatomik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden oluşturulmasını sağlamak üzere değişik hücre gruplarının ortaklaşa yürüttükleri işlevlerden oluşan bir onarım sürecidir (37, 45).

Memelilerde onarım rejenerasyondan daha çok primer olarak fibröz doku proliferasyonu ile gerçekleştirilir. Fibröz doku ile iyileşme yaralanmanın yerine bağlı olarak hem olumlu, hemde olumsuz sonuçlar doğurabilir. Kontrol altına alınamayan fibröz doku sentezi ve kontraksiyon sonucu tendon ve intraabdominal yaralar sonrası adhezyonlar, safra yolları ve üreterlerde stenoz, sliyon protez implantasyonu sonucu sert meme gibi durumlarla karşılaşılabilir (37).

Yara iyileşmesi süreci genel patolojinin başlıca bölümlerinden biridir ve tedavisi geleneksel olarak cerrahinin alanına girer. Ancak son zamanlarda, başlıca ampirik yollarla terapötik ajanların yara iyileşmesine pozitif etkileri konusunda büyük miktarda bilgi edinilmiştir. Bu konuda ilerleme o kadar ileri boyutlarda olmuştur ki şimdi "yara iyileşmesinin farmakolojisinden söz etmek" mümkün olabilmektedir. Bu terim biyokimyasal özellikleri ile yara iyileşmesi sürecinin doğal gelişimini değiştiren, dışarıdan verilen tüm maddeleri içerir. Bu değerlendirmenin doğruluğu " yara iyileşmesini hızlandıran" maddeler hakkında giderek artan yayınlar ve klinik uygulamada terapötik ajanlarla kanıtlanmaktadır (29).

Topikal uygulanan maddeler arasında kollajen yara iyileşmesi patolojisinde kullanılabilirliği araştırılan bir ajan olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; yara iyileşmesi sürecine topikal yolla eksojen kollajen uygulamasının iyileşme süreci üzerindeki etkilerini ortaya koyabilmek, yara iyileşme hızı, yaranın gücü ve iyileşme sırasında oluşan olaylara etkisini değerlendirmektir. Böylelikle primer kapatılamayan veya kapatıldığı halde tekrar açık hale gelen yada derin, yaygın ve kronik ülsere yaralarda klinik ortamda uygulanacak tedavi yaklaşımlarına katkıda bulunabilmek hedeflenmiştir.

GENEL BİLGİLER

A. TARİHÇE

Yara iyileşmesinin tarihi milattan önce (m.ö.) 2200 yıllarına kadar uzanmaktadır. Sümerler tarafından yazılan kitabelerde yaraların önce su ve sütle yıkanıp bal ile kapatıldığı bildirilmektedir.

M.Ö. 1700 yıllarında kaleme alınmış olan Smith Papirusunda yer alan 48 olgu raporunun yedisi yaralar ve bakımları ile ilgilidir. Pamuk sütürlerinin kullanımı ve bandajlama teknikleri tanımlanmıştır

Hipokrat kolleksiyonunda (m.ö. 400) primer ve sekonder yara iyileşmesinin tanımları bulunmaktadır.

Celcus (m.ö. 30- milattan sonra 45) üçüncü kitabında hemoraji için ligatür kullanımına değinmiş ve inflamasyonun dört kardinal belirtisi olan rugor, tumor, dolor ve koloru tanımlamıştır.

Mısırlılar, bakır taşından veya Chryscella'dan elde edilen bakır pigmentiyle pansuman yapmışlardır ki bugün bile bu maddelerin antiseptik özellikleri olduğu kabul edilmektedir. 14. yüzyılda ateşli silahların kullanıma girmesiyle yaralanmalardaki artış yara bakımında yeni bir alan açmıştır. Cerrahlar yara bakımında, doğal yara iyileşmesi sürecine güvenmeyip kaynatılmış su ile yıkama ve kaynamış yağ ile dağlama gibi metodlar kullanmış ancak çabalar kötü sonuçlanmıştır. 16. yüzyılın ortalarında Cerrah Ambroise Pare bu uygulamaların yanlış olduğunu bildirmiştir.

Onsekizinci yüzyılın sonlarında iyot ve klorun bulunmasıyla yara bakımında daha ileri gidilmiştir. 1846'da Semmelweiss, lohusalıkta sepsis profilaksisinde hipoklorit solusyonunun kullanılması faydalarını yayınlamıştır.

Joseph Gamgee, 1880'de kendi adıyla anılan, gazlı beze sarılmış çok yumuşak pamuk ve yünden oluşan petleri tanıtmıştır. Bu petler absorban olarak kullanılmıştır.

Tumiere tarafından bulunan peru balzamu ve yumuşak parafinden yapılan Tulle-grass (Tülgre) kullanıma girmiştir.

Açık yaraların üzeri uygun bir materyalle kaplandığı zaman iyileşme sürecinin daha iyi sonuçlanabileceği görüşü araştırılmaya başlanmış, 1896'da Reverdin'in, yanıklarda homograft uygulamaya başlamasıyla bu yöndeki çalışmalar artmıştır. Davis 1910 yılında plasentanın amnion ve korion katmanlarını biyolojik pansuman materyali olarak kullanmışlardır.

Son yüzyılda pansuman materyali olarak heterograflar kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaç için en yaygın domuz derisi kullanılmaktadır.

Doğal biyolojik ajanlar dışında birçok sentetik örtü materyali geliştirilmiştir. Bunların ilki 1961'de bulunan ivolan süngerdir. Sonra plastik sprej, polyoix gibi maddeler bu alana girmiştir.

Topikal yolla yara iyileşmesini etkileyen kimyasal, fiziksel, ve biyolojik ajanlar tanımlanmıştır. Kollajen son zamanlarda yara iyileşmesi sürecinde etkilerinin araştırıldığı bir biyolojik ajan olarak karşımıza çıkmaktadır.

B. YARA İYİLEŞMESİ

Yara iyileşmesi bir çok hücre tiplerini bunların sitokinleri ve ya mediatörleri ve ekstrasellüler matriks arasındaki etkileşmeleri içeren komplike bir süreç ve dinamik bir olaydır. Yara iyileşmesinin başladığı ve bittiği noktaların değerlendirilmesi daha çok mikroskopik izlenimlere dayandırılmıştır. Derinin mikroskobik veya moleküler seviyede yaralanması veya tamiri pek değerlendirilememiştir.

Dokuda yaralanma sonrası ilk yanıt olarak özellikle arteriyelleri içeren hızlı ve geçici vazokonstrüksiyon oluşur. Vazokonstrüksiyon bir iki saniyeden yanık gibi travmalarda birkaç dakikaya kadar varan sürelerde sonlanır. Bu olay çeşitli mediatör maddelerin ortama salınmasına ve inflamatuvar hücrelerin yaralanma bölgesine göç etmesine neden olur. Yaralanma ile mikrosirkülasyonun mekanik olarak hasara uğramasına ek olarak 72 saat kadar süren damar permeabilitesinin artışı gözlenir. Böylece inflamasyonun belirtileri ve nedenleri gözlenebilir. Bunlar; vazokonstriksiyonu takip eden dönemde ortaya çıkan vazodilatasyon nedeniyle

eritem ve ısı, hücre ve plazma artışı nedeniyle ödem, artmış drenaj nedeniyle oluşan basınçtan meydana gelen ağrıdır.

Yara iyileşmesi temel olarak üç fazdan ibarettir (Tablo-I);Ancak yara iyileşmesinde çoğu olay birbirini çok yakın takip eder ve birbirlerinden kesin hatlarla ayıramazlar.

Tablo-I : Yara iyileşmesi fazları

I. İnflamatuvar faz :	Trombosit akümüülasyonu, koagülasyon ve lökosit migrasyonu ile karakterizedir.
II. Proliferatif faz :	Reepitelizasyon, anjiogenezis, fibroplazi ve yara kontraksiyonu ile gerçekleşir.
III: Maturasyon fazı:	

a. İnflamatuvar faz : Yaralanma sonrası ilk beş günü kapsar. Kan orijinli hücrelerin ve bunların sitokin ve mediatörlerinin salınması ile belirgindir. Yaralanma kan damarlarının yaralanmasına ve eritrositlerin ve diğer kan elemanlarının damar dışına çıkmasına neden olur. Yaralanmanın hemen sonrasındaki en önemli hücre trombositlerdir. Yaralanma bölgesinde trombositler lokal olarak oluşan trombin ve ekspozite olan fibriller kollajen tarafından uyarılırlar . Uyarılma sonrası trombositlerde aktivasyon, adhezyon ve agregasyon süreci başlar. Kollajen yapısında bulunan prolin ve hidroksprolin trombosit aktivasyonunu başlatan önemli aminoasitlerdir .

Aktivasyona uğramış trombositlerde şekil değişiklikleride oluşur ve bunu trombosit granül içeriğinin dışarı salınımı takip eder.Trombositlerde alfa granüller, lizozim granülleri ve yoğun korpüsküler granüller olmak üzere üç tip granül bulunur. Aktivasyon ile trombositlerin granüllerinden birçok mediatörler salgılanırlar. (Tablo-II)

Tablo-II : Aktive trombosit granüllerinden salgılanan mediatörler ve etkileri

ADP	:Trombosit agregasyonu
Tromboksan A2	:Trombosit agregasyonu ve vazokonstrüksiyon
Fibrinojen	:Trombosit agregasyonu
Fibronektin	:Trombosit agregasyonu
Serotonin	:Fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi
Trombosit faktör-3	:Faktör X'nun aktivasyonu, İntrensek koagülasyon zincirinin başlatılması
Trombosit faktör-4	:Lökositlerin kemotaksisi
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü	:Fibroblastlar ve düz kas hücreleri için mitojenik, PMN-L ve monositlerin kemotaksisi

Bu mediatörlerin etkisi sonucu agregasyon ve tıkaç oluşur. Trombositopeni ve anormal trombosit fonksiyonu bu süreci bozabilir. Plazma ve diğer kan elemanlarının yaralanma ile birlikte kan damarlarından sızmaları hem intrinsek hemde ekstrinsek yollarla pıhtılaşma olayını uyarır. Her iki yolda trombin oluşumuna gider. Trombin'de fibrinojeni fibrine çevirerek koagülasyonun oluşmasını sağlar. İntrinsek yol damarsal yaralanma olan bölgede kanın subendotelyal dokulara teması ile başlar. Bu yolda dört dizi reaksiyon sonucu Faktör-X aktive olur ki bu faktörde trombin oluşumu için gerekli enzimdir. Ekstresek yol ise Faktör-VII' nin endotel hücrelerinden ve diğer dokulardan salgılanan bir protein olan doku faktörü (tromboplastin) ile etkileşimi sonucu aktive olması ile başlar. Bu yolda trombin oluşumuna gider. Trombin fibrinojeni fibrine dönüştürür. Bu olaylar sonucunda yara kenarlarının arasını dolduran fibrin pıhtısı oluşur. Fibrin pıhtısının oluşumu sadece hemostaz için değil aynı zamanda monositlerin, fibroblastların ve keratonisitlerin yara ortamında kolay hareket edebilecekleri bir matriks oluşturması açısından da önemlidir. Fibrin pıhtısı oluşması esnasında aktive Hageman faktör prekallikreini kallikrein adı verilen aktif proteolitik bir enzime çevirir. Bu enzimde yüksek moleküler ağırlığı olan bir plazma glikoprotein prekürsörünü (HmWK) bradikinine çevirir. Bradikinin vazodilatasyona neden olur. Bradikinin aynı zamanda lokal hücrelerce prostoglandin sentezini artırır. Kallikrein Faktör-XII'nin güçlü bir aktivatörü olması nedeniyle orijinal stimulus devamlı ortamda bulunmaktadır. Kallikrein kemotaktik aktivite de gösterir ve invitro nötrofillerin agregasyonuna neden olur.

Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı, adını, lökositlerin yara bölgesine hareketinden almaktadır. Nötrofiller en erken ulaşan beyaz hücrelerdir. Fibrinojen ve fibrinojen yıkım ürünlerinden salgılanan kallikrein ve fibrinopeptitler nötrofiller için kemotaksik etki yaparlar. Nötrofillerin yüzeyinde bulunan integrinler hücre matriks etkileşimlerini artırmaktadırlar. Bu da nötrofillerin bakterileri ve yaradaki matriks proteinlerini fagosite etme fonksiyonlarına olanak sağlamaktadır. Yara kontaminasyonu normalde bir kaç gün olan yara yerindeki nötrofil varlığının süresini arttırmaktadır. Ancak nötrofillerin yara ortamında bulunması çok kritik değildir. Zaten

nötropenide enfeksiyon olmadığı zaman yara iyileşmesine engel olmadığı bildirilmiştir . Yara ortamına gelen nötrofiller serbest radikaller salgırlar ve böylece endotelin hasara uğratılması, kapiller permeabilitede artış yaprlar. Araşidonik asitin siklooksijenaz ürünlerini salgırlar, trombosit agregasyonuna ve vasküler düz kasların kontraksiyonuna neden olurlar. Yapısal proteinlerin ekstrasellüler parçalanmasının önlenmesini sağlayan antiproteazlar salgırlar Kollejenaz, elastaz gibi proteazlar salgılayarak doku yıkımı, kinin benzeri maddelerin salınması ile kompleman aktivasyonuna katılırlar(24, 25, 39, 42).

Nötrofillerin aksine mononükleer hücrelerin varlığı yara iyileşmesi için şarttır. Monositler ve doku şekilleri olan makrofajlar inflamatuvar fazda beşinci günden sonra dominant olan hücrelerdir. Doku makrofajları büyüme faktörleri oluşturup salgırlar.(Tablo-III)

Tablo-III : Makrofajların salgıladığı büyüme faktörleri.

PDGF	Platelet-derived growth factor
FGF	Fibroblast growth factor
TGF- β	Transforming growth factor- β
TGF- α	Transforming growth factor- α

Bu faktörler inflamatuvar hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu ve hücre matrisi oluşumunda önemlidirler. Monositler, makrofajlar tarafından salınan bu faktörler angiogenesis ve granülasyon doku oluşumunun uyarılmasında çok önemlidir. Monositopenik hale getirilen hayvanlarda fibroplazi ve granülasyon doku şekillenmesi büyük oranda bozulmuş ve iyileşme hızı gecikmiştir (2).

İnflamasyon fazında özetle yaranın debridmanı, bakterilerin eliminasyonu ve onarımın düzenlenmesi için gerekli hücreler sağlanmış olur. Bu fazda, yarada bulunan glikoproteinlerin, mukopolisakkaridlerin veya diğer elementlerin yaranın gerilme gücüne katkıda bulunduğuna dair veri yoktur. Hatta bu fazdaki bir yaranın en büyük koruyucusu; inflamasyon fazının başında oluşan fibrin pıhtısıdır. İlk 24 saat

içerisinde yara epitelizasyon yanında fibrin pıhtısıyla oluşan bir gerilme direncine sahiptir (27).

b. Proliferatif faz : Yara iyileşmesinde vücudun ana hedeflerinden biri derinin fonksiyonel barrier olarak tekrar onarılmasıdır. Epitel günlük yaşamda sürekli fiziksel ve kimyasal travmaya uğramaktadır . Dolayısıyla sürekli dökülür ve yerini derinin bazal tabakasından üretilen hücreler alır. Epidermis yaralanma sonrası ilk 24 saat içinde reaksiyon gösterir ve epidermal hücreler yasılaşıır, psödopotlar oluştururlar. Böylece migrasyon başlar. Migrasyon esnasında epidermal hücreler ile bazal membran ve dermis arasındaki sıkı bağların kaybolmuş olması karakteristiktir (2). Epitel hücrelerinin üzerinde hareket ettiği matriks ve yaranın nemliliği yara iyileşmesinde önemlidir. Migrasyon başladıktan sonra yaranın kapatılması için gerekli hücrelerin sağlanması amacıyla yara kenarındaki epitelde ilk 48- 72 saat içinde maksimal olmak üzere proliferasyonda artış olur. Keratonisitler ; fibronektin, kollajenazlar, plazminojen aktivatörü, nötral proteazlar ve tip-5 kollajen üreterek epitelizasyon sürecine yardım ederler. Fibronektin plazmada bulunan bir glikoproteindir. Karakteristik yapısal özelliği nedeniyle aynı anda fibrin, kollajen ve hücrelere bağlanabilir. Böylece fibrin pıhtısı hücreleri ve belirli matriks komponentlerini bir arada tutarak, keratonistlerin adhezyonuna yardım eder. Fibronektin yaralanmanın ilk 24- 48 saatinde maksimum miktardadır. Protein sentezi ve kronik inflamatuvar değişimler öne çıkmaya başladıkça kaybolurlar (21, 33).

Kollajenaz ve diğer proteazlar, devitalize dokunun debridmanında önemlidir. Plazminojen aktivatör, pıhtının çözülmesine yardımcı olan fibrinolitik mekanizmaları başlatır. Migrasyon epitelyal hücreler ölene kadar veya benzer tipte hücrelerle karşılaşınca kadar sürer. Karşılaşma olunca birbirlerine yapışırlar ve istirahat fazına girerler. Bu fenomene kontakt inhibisyon denir. Ancak hücre migrasyonu sadece yara kenarları ile sınırlı değildir. Suture kenarları boyunca da küçük bir yara şeklinde gelişir. Bu epitelyal kanalcıklar genellikle 10- 15'inci günlerde inflamatuvar infiltrat ile ortadan kaldırılır. Ancak bazen rezidüel keratinize epitelyal kistler kalabilir. Eğer suturlar uzun müddet tutulursa inflamatuvar reaksiyon aşırı olur ve sıklıkla "suture

apsesi" oluştururlar. Bazen epitel yara derinliklerine doğru gelişir. Bylyce inklizyon kistleri oluşur.

Cerrahi olarak kapatılan bir yarada epidermis pıhtı ile dolu olan defektin üzerinden gitmez. Dermanın kesik yüzeyi boyunca hızla derinlere doğru ilerler. Doku devamlılığının sağlandığı noktaya kadar bu g devâm eder ve karşı taraftan inen epidermis ile temas edince onunla birleşir. Bu birleşme hızla kalınlaşıp cilt defektini doldurur. Bu doldurma epidermisin salgıladığı fibrinolitik ve proteolitik enzimler yoluyla olur. Bu kalınlaşma daha sonraki maturasyon ile yavaş yavaş düzeler. Sonuçta oluşan skar epitelinin kıl follikülleri ve ter bezleri gibi deri ekleri yoktur. Karakteristik olarak ince ve frajildir ve alttaki dermise olan daha önceki sıkı bağlantıyı kaybetmiştir. İnfeksiyonun nlenmesi, dış travmalardan yaranın korunması, ilaçlarla ve kimyasal maddelerle epitelin destrksiyonundan kaçınılması epitelizasyonun sağlıklı olmasını sağlar.

Konnektif dokunun proliferede olduğu bu faz, fibroblastların yara dokusuna migrasyonu ve kapiller kan damarlarının oluşumuyla karakterizedir. Bu süreç açık yaralarda daha belirgindir ve aşırı granülasyon dokusu gelişimiyle sonlanır. Granülasyon dokusu; hidrate edilmiş kollajen, glikoprotein ve glikozaminoglikan matriksi içerisindeki inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve yeni damarlardan teşkil edecek şekilde yaranmadan 3- 5 gün sonra oluşmaya başlar ve daha önce başlayan inflamatuvar fazla çakışır. Bu fazın süresi çeşitli dokulara göre değişir ve büyük oranda yaranın cinsine bağlıdır. Fibroplazi insize edilip tekrar sütüre edilen yaralarda 1-2 haftada sonlanabilirken, eksize yaralarda daha da uzun sürebilmektedir.

Granülasyon dokusunun oluşumunda fibroblastlar önemlidir. Fibroblastlar mezanşimal hücrelerden, özellikle kan damarlarının adventisiyasından köken alır. Fibroblastlar kollajen, elastin, fibronektin, glikozaminoglikanlar ve kollajenaz gibi yeniden yapılanma fazında önemli olan proteazları üretirler. İlk bir kaç günde yarada bulunan bu maddelerin kaynağı serum glukoproteinleridir. Yeni polisakkaridlerin yarada üretimi, fibroplazi ve kollajen formasyonu fazı ile ilişkilidir. Bu maddelerin yarada en erken 4-6. günlerde ortaya çıktığı gösterilmiş ve konsantrasyonlarının

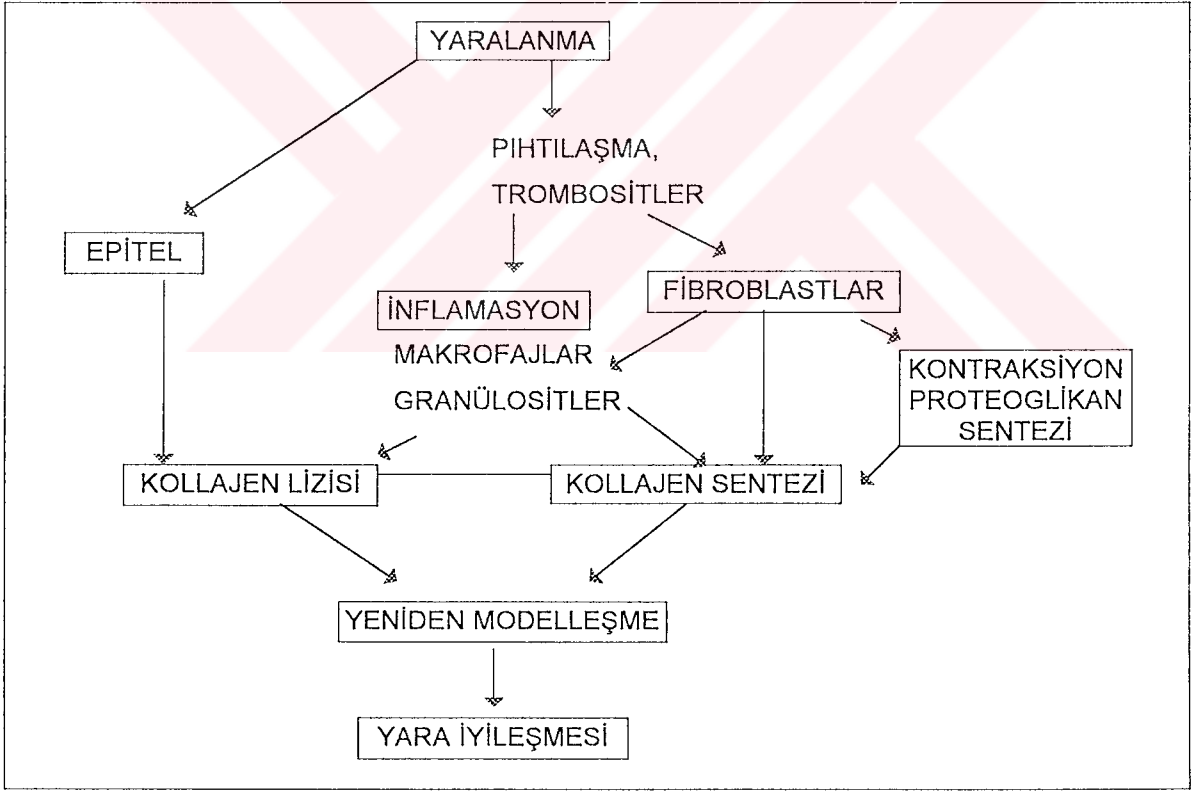
kollajen formasyonlarının progressif eğrisini takip ettiği belirtilmiştir (42). Bu hücreler ilk hemostaz sırasında oluşmuş olan fibrin platformu üzerinden yaraya ilerlemeye başlarlar. Bu nedenle fibrin iskeleti fibroblastların hareketi için önemlidir. Granülasyon dokusundaki hücreler ve liflerin arasını dolduran amorf intersellüler taban madde renksiz ve homojendir. Bu intersellüler taban madde glikozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Glikozaminoglikanların görevi kollajen fibrilleri bir arada tutmaktır. Yapısal glikoproteinler karbonhidratların tutunmuş olduğu bir protein kısmı içeren bileşiklerdir (38).

Proliferatif fazın bir komponenti de neovaskülarizasyondur. Dokunun yaralanma sonrası kan akımı bozulduğu için oksijenizasyonun yapılabilmesi ve dokuların normal beslenebilmesi için yeni damar oluşumuna gerek vardır. Burada endotel hücreleri devreye girer, migrasyon ve proliferasyon gösterirler. Makrofajlardan salınan çözünebilir faktörlerin yeni damar oluşumunu stimülasyonunda etkisi vardır. Ayrıca düşük oksijen basıncı, laktik asit ve biyojenik aminlerde, yeni damar oluşumunu uyarırlar. Sonuçta yeni kapiller tomurcuklar oluşur (26, 37).

Tam kalınlıktaki bir yaranın kenarlarının defektin kapanmasını hızlandırmak üzere, santripedal hareketi yara kontraksiyonu şeklinde tanımlanır. Kontraksiyon yaralanma sonrası 5-7. günlerde başlar 6.- 15. günlerde maksimumdur. 38.- 42.güne kadar devam eder. Açık yaraların kapanmasında % 80 oranında etkilidir ve yaranın spontan kapanmasını sağlar. Genellikle açık yaralarda, yara kenarlarının karşılaşmasından önce çevre dokudaki elastik gerilim, kontraksiyon kuvvetini aştığından, kontraksiyon durmakta ve açık alanda kollajen birikimi devam etmektedir (42). Alt sınıf memelilerde kontraksiyon yüzey yaralarının iyileşmesinde başlıca yoldur. Skar dokusu altındaki yapılara fikse olmadıkça veya bir eklem üzerinden geçmedikçe kontraktür oluşmaz. İnsanlarda ise kontraksiyon küçük yaralar hariç nadiren yarayı kapatır ve belirgin deformite, fonksiyon kaybına neden olur. Alt sınıf memelilerle insandaki farklılık subepidermal dokudaki anatomik yapının değişiklik göstermesidir. Hayvanlarda pannikulus karnosus denilen derinin yüzeyel kas sistemi vardır ve derinin hareket yeteneği fazladır. Bu kas sistemi altındaki yapılara fikse değildir(38).

c. Maturasyon fazı : Yara iyileşmesinin 3. fazı olan bu faz, matriks materyallerinin depolandığı ve zamanla değişime uğradıkları dönemdir. Fibronektin, hiyaluronik asit, proteoglikanlar ve kollajen gibi dermal makromoleküller tamir proçesi esnasında depolanarak, hücrelerin migrasyonuna ve doku güçlülüğüne katkı sağlarlar. Bu faz dinamik bir fazdır. Derinin fonksiyonel bariyeri restore edildikten sonra yaralanma ve tamir ile ilgili olaylar uzun süre devam eder. Kollajenin total miktarı yaralanma sonrası 2-3. haftada maksimumdur. Yaranın gerilme gücü, yaralanma sonrası 1. ayda % 40'tır ve bir yıla kadar artmaya devam eder. Normal düzeyinin % 80'ini hiç bir zaman aşamaz. Yara iyileşmesinde fibroblastlar tarafından sentezlenen major kollajen Tip-3 kollajendir ve bu zamanla adult kollajen olan Tip-1 kollajene dönüşür. Bu olay yeni kollajen oluşumu ve eski kollajenin lizisi arasındaki etkileşime bağlıdır ve skarın oryantasyonunda değişikliğe nedendir (15, 18).Yara iyileşmesi Şekil-1'deki gibi özetlenebilir (15) ;

Şekil-1: Yara iyileşmesi



C- KOLLAJEN BİYOSENTEZİ VE YAPISI: Skar dokusunun major komponenti bir fibröz protein olan kollajendir. Vucudun bütün proteinlerinin 1/3'ünü oluşturur. Tüm kollajenin %90'ı deri ve kemikte bulunur. Başlıca sentez yeri fibroblast, osteoblast ve odontoblasttır. Kollajen sentezi ; intrasellüler sentez ve ekstrasellüler prosesler ile modifikasyon olmak üzere iki ana safhayı içerir. Hücre nükleusunda her α zinciri için DNA kalıbından m-RNA sentezlenerek ribozomlarda polipeptid zincirleri oluşturulur. Sentezlenen propeptidler (α zincirler) hücre içerisinde düzensiz endoplazmik retikulumun sisternalarına girer, amino-terminal uçtaki sinyal zincirleri kopar. Takip eden dönemde prolin ve lizin hidroksilasyonu oluşur. Hidroksilasyon reaksiyonları çeşitli kofaktörleri gerektirir. Bunlar; ferrozasyonlar, moleküler oksijen, askorbik asit ve α -keto gluterattır. Bu faktörlerdeki eksiklik sarmal yapısı olmayan yavaş olarak sekrete edilen protein oluşumuna neden olur. Yeni oluşan α zincirlerdeki lizil rezidüleri hidroksile oldukça, yapıya glukoz ve galaktoz eklenir.

Memeli kollajeninde hidroksiprolinin yeri değişmez ve lizinin hidroksilasyonunun genişliği, yapısı ve daha sonra oluşan glukolizasyon türlerine göre belirgin olarak farklıdır. Glukolizasyon kollajen fibrillerinin en son fiziksel şekline etki eder. Propeptidlerin intrasellüler üretiminde diğer önemli bir aşama da sistein molekülleri arasındaki disülfid bağlarıdır. Zincirler arası bağlar zincirler dışarı salgılanmadan oluşmaktadır. Eğer bu bağların oluşumu inhibe edilirse veya prolinin hidroksilasyonu önlenirse, molekül üçlü heliks yapısını oluşturamaz ve fonksiyon görmeyen bir protein olarak kalır. Sarmal yapı oluştuğunda, prokollajen moleküllerinin amino ve karboksil terminal ucundaki düz globüler zincirlerin prokollajen peptidaz ile enzimatik olarak ayrılması sonucu prokollajen tropokollajene çevrilir. Tropokollajenin moleküller ağırlığı 3 x 100.000 daltondur.

Tropokollajen çubuk şeklindedir ve üç peptidden oluşur. Bu peptid zincirleri ortalama 1000 aminoasitten oluşur. Bunların yapılarındaki farklar farklı kollajen tiplerini oluşturur. Bu peptidlerin herbiri 300 nm. uzunluğunda, 1,5 nm. çapındadır. Bu peptidler birbiri üzerine katlanmış durumdadır ve sağ sarmal üçlü heliks yapısını oluştururlar. 4-5 tropokollajen bir kollajen molekülünü oluşturur. Aralarında hidrojen bağları bulunur. Yüzlerce kollajen molekülü kollajen fibrillerini meydana getirir.

Kollajen fibrilleri birarada tutan bağlar lizin-lizin bağlarıdır. Bunlar kollajene özgü bağlardır. Kollajende % 35 oranında glisin, % 10 alanin ve % 20 hidroksiprolin ve hidroksilizin bulunur. Her 3 aminoasitten biri glisindir ve bu düzenli şekilde tekrar eder. Diğer iki aminoasit kollajenin tipine göre değişir. Bir dokudaki kollajen miktarı hidroksiprolin içeriği ölçülerek belirlenebilir. Kollajen için karakteristik olan iki aminoasit hidroksiprolin ve hidroksilizindir.

Kollajen'in çok sayıda değişik tiplerinin olduğu bildirilmesine karşın sadece 5 tanesinin biyomoleküler yapısı ve özellikleri ortaya konabilmiştir. Doku spesifik bu 5 tip kollajen Tablo-IV'de gösterilmiştir (16, 42)

Tablo-IV : Doku spesifik kollajenler

TİP	LOKALİZASYON	SENTEZ YERİ	ÖZELLİKLERİ	MOLEKÜLER YAPI
1	Deri, Kemik, Tendon, Fasya, Ligament	Fibroblastlar	Hidroksiprolini az iki farklı zincirin hibridi	$[\alpha-1 (1)]_2 \alpha-2$
2	Hiyalin kartilaj humor nükleus Pulpozus notokort	Kondrositler	Hidroksiprolini çok kartilaj proteo - glikanları ile yakın ilişkili	$[\alpha-1 (2)]_3$
3	Deri, damarlar, iç organlar	Fibroblastlar, düz kas hücreleri	Hidroksi-prolini çok, hidroksi-lizini az. Maturasyon sonrası azalır.	$[\alpha-1(3)]_3$
4	Bazal membranlar, böbrek glomerülü lens kapsülü	Epiteliyal hücreler	Hidroksi-lizin'den çok zengin	$[\alpha-1(4)]_3$
5	Düz kasla ilişkili olarak çok yaygın, plasenta	Düz kas hücreleri	Hidroksi-lizin'den zengin, amorfor kollajen parçaları içerebilir	$[\alpha-1 (5)]_2 \alpha-2$

Farklı yapısal genlerle yönetilen mRNA sentezi sonucunda kollajen üretimi gerçekleşir. Bugün immünolojik tekniklerin kullanılması kollajen biyolojisini oldukça aydınlatmış ve yara iyileşmesinde kollajenin oluşum aşamasında 4 temel yapı gösterilmiştir

Primer yapı : Temel yapı 3. aminoasiti glisin ve mevcut aminoasitlerinin yaklaşık 1/3'ünü hidroksprolin-hidroksilizin'in oluşturduğu eşit uzunlukta 3 alfa zincirinden oluşur. Değişik miktarlarda galaktoz ve galaktozil glukoz bir O-galoktozidikbağlayıcı ile hidroksilizin rezidülerine bağlanır. Karbonhidrat içeriğinin rolü kesin olarak bilinmemekle beraber sentez edilen kollajen monomerlerinin hücre membranındaki transportta görevli oldukları düşünülmektedir. Yumuşak doku kollajeni primer olarak disakkarid içerirken (galaktozil glukoz), kemik kollajeni monosakkarid (galaktoz) içerir. Üriner atılımı olan bu sakkaridler kollajen katabolizması hakkında bilgi verir. Tip 3-4 kollajen, Tip 1-2 kollajenden daha fazla hidroksilizin içerir. Ayrıca daha fazla karbonhidrat içeriğine sahiptir. Molekülün N-terminalindeki aminoasitsiz bölgeye telopeptid bölgesi denir ve çapraz bağlanma için proteolitik enzimlerin etkilendiği bölgedir (12, 16).

Sekonder yapı : Molekülü güçlü kılan yapı budur. Bu formasyon öncesinde tropokollajen adı verilen ve uzun polimerleri oluşturan yapı polimerik agregasyonlara uğrar. Daha sonra iki zincir arasında çapraz bağlantılar kurulur. Bu forma beta formu denir. Her üç zincirde çapraz bağlanmışsa gama formu denir. Moleküller arasındaki majör farklılıklar temelde çözünebilir karbonhidrat içeriği, fiber büyüklüğü ve organizasyondan kaynaklanır (12, 16).

Tersiyer yapı : Bu uzaysal konum da sadece kollajene özgüdür. Yapının temeli helikal sarmal yapısı olan her bir peptid zincirinin kendi içinde sağa yönelik olmasıdır. Daha sonra süper heliks yapı için topluca sola yönelirler. Bir sonraki aşamada denatürasyondan sorumlu olan hidrojen köprüleri kurulur (12, 16).

Kuarterner yapı : Skar dokusunun maturasyonunu ve mekaniksel gücünü sağlayan yapıdır. Fibrillerde 640 Å'lük intervallerle tekrarlayan koyu ve açık bölgeler elektron mikroskopunda görülür. Koyu bantlar nonpolar, açık bantlar polar bölgeleri temsil eder. Açık renk bantlar selektif bağlanmada önemlidir. Bu bant paterni simetrik olmayıp sadece spesifik bölgelerde tanımlanabilmiştir (12, 16). Elektron mikroskopisinde 3 farklı kollajen agregatı tanımlanmıştır (Tablo-V) (16) ;

Tablo-V: Kuarternen kollajen yapısındaki kollajen agregatları

1-FLS (fibrous long spacing)	: 2800 A uzunluğunda tekrarlayıcı bantlar içerir.
2-SLS (segment long spacing)	: 2800-3000 A'lük kısa segmentler içerir
3-DOĞAL KOLLAJEN	: 640 A'lük bantlar içerir.

Sonuç olarak kuarternen yapı tropokollajenin stabilizasyonu için agregasyona uğraması ile ortaya çıkar. Başlangıçta soğuk suda çözünebilir olan tropokollajen agregasyonun sonunda sadece nötral tuzlu solusyonlarda çözünebilirliğini korur. İntermoleküler çapraz bağlar kurulunca dilüe solusyonlarda çözünür durumda kalabilir. Kovalent çapraz bağlantı ise sadece asidik hidrolize izin verir.

Kollajen fiberleri elastik değildir ve moleküler konfigürasyonları nedeniyle bir çelikten daha yüksek gerilme direncine sahiptirler. Sonuç olarak kollajen bulunduğu dokuya eşsiz bir fleksibilite ve kuvvetlilik kombinasyonu kazandırır.

Erken dönemde yarada toplanan kollajen fibrilleri ışık mikroskopunda gümüş boyası ile silendir şeklinde, eozin ile pembe, Mallory'nin trikrom boyasıyla mavi, Masson'un trikrom boyasıyla yeşil ve Sirius kırmızısıyla kırmızı boyanırlar (16).

D- YARA İYİLEŞMESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: Yukarıda anlatılan hücresele olayların mikroskopik incelemesiyle (histopatolojik çalışmalar), yara iyileşme süreçlerinin fazları ve niteliği hakkında bilgi edinilebilmektedir. Histolojik çalışma için belli bir büyütmeye birim alana düşen hücre sayısı veya çeşitli puanlama sistemleri kullanılarak inflamatuvar ve hücresele faz değerlendirilir (1,8,19). Cerrahi biyoloji açısından yara iyileşmesinde meydana gelen bütün morfolojik ve kimyasal olayların en önemli sonucu, yara gerilim kuvvetinin normal doku düzeyine gelmesidir. Kollajen fibrillerinin ortaya çıkmasıyla yara gerilim kuvvetinin kazanılma oranı hızlanır. Yara gerilim kuvveti yara kenarlarında cm^2 alana kg. olarak uygulanan kuvvetle ölçülür. Kopma direnci, yarayı ayırmak için uygulanacak maksimal gerekli kuvettir. Kopma direnci ölçümünde pozitif basınçlı insuflatörler ve tensionetreler kullanılmaktadır (1,4,7,17,22,44)

Gerilim kuvvetinin sabit olmasına karşın, yara kenarlarının ayrılmaya direnci (Kopma direnci), aynı uzunlukta deri yaralarında ve vücudun değişik bölgelerinde farklıdır. Bu, deri kalınlıklarındaki değişikliklere bağlıdır. Bu nedenle son yıllarda

invivo kullanılabilen, yaralanmanın ilk günleri dahi uygulanabilen ve çok hassas sonuçlar verebilen , vakum kontrollu yara oda aygıtı kullanıma girmiştir (9). Gerilim kuvveti ve kopma direncinin artmasında en önemli faktör, yaranın içerdiği kollajen miktarından çok kollajenin intramoleküler ve intermoleküler kovalan bağlarının artmasıdır. İyileşme olayı esnasında meydana gelen kollajen, yara dokusunu çevreleyen erişkin kollajene daha sonra bağlanır. Nitekim intestinal anastomozlarda 5. günde yaranın kopma direncini aşan bir kuvvet uygulandığında, açılma insizyon yerinde, buna karşılık 14-21. günlerde ise insizyonun lateralinde olur (15). Peacock ve arkadaşları ; kopma direnci ile gerilme kuvveti arasında pratik açıdan önemli bir farkın olmadığını bildirmiştir (37).

Yaralanmış dokudaki kollajen birikimi sağlam dokudakine kıyasla daha fazla olmaktadır (45). Yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kollajen düzeyi anlamlı sonuç verir. Kollajen için spesifik kabul edilen hidroksiprolin düzeyinin biyokimyasal yöntemlerle saptanması da, yara iyileşmesi düzeyinin niceliğini sayısal olarak bize verebilmektedir (6, 12, 23).

Yara iyileşmesini değerlendirme yöntemleri Tablo-VI'da gösterilmiştir (1,4,7,17,22,32,43) ;

Tablo- VI : Yara iyileşmesini değerlendirme yöntemleri.

1. Biyokimyasal yöntemler	6. Elektron mikroskopisi
2. Histopatolojik yöntemler	7. Scanning elektron mikroskopisi
3. Biyomekanik yöntemler	8. Histokimyasal yöntemler
4. Planimetrik yöntemler	9. Mikroanjiografi
5. Doku kültürü çalışmaları	

E- YARA İYİLEŞMESİNDE EKSOJEN KOLLAJEN: Kollajenin kimyasal yapı, biyosentez, degradasyon gibi biyokimyasal yönleri, kemik ve doku şekillenmesi, trombosit agregasyonu, yara iyileşmesinin son fazı gibi fizyolojik yönleri ve osteoporoz, sklerotik süreç, bağ dokusu hastalıkları gibi patolojik süreçlerdeki rolü konusunda büyüyen bilgi birikimi vardır. Kollajenin klinik uygulamalarına yönelik

çalışmalar günden güne artmaktadır. Kollajenin her biri farklı, özel bir alanda kullanılan fiziksel formları ("post", fibriller yada bant, steril süspansiyon, petler) tarif edilmiştir. Oroparanazal ilişkileri kapatmak için ağız cerrahisiyle ilişkili olarak, kanamanın önlenmesi ve kontrolü için ve mandibulada kemik replasmanı için deneysel modellerde kollajen petler kullanılmıştır. Kollajen, damar cerrahisi için hemostatik ajan olarak etkinliğini göstermiştir. Kollajen pet, tüp greftleri üretra replasmanı için potansiyel implantlar olarak gösterilmektedir ve kollajen süngerler, film yada membran şekliyle, diğer deneysel ürolojik modellerde kullanılmıştır (29).

Deneysel çalışmalar sığır tendon kollajeninden saflaştırılmış liyofilize petlerin, mekanik bir destek ve aynı zamanda fibroblastların göçü için bir uyarı olarak etki edebildiğini, granülasyon dokusunun metabolik aktivitesini ve yoğun olarak bağlanmış fibronektini güçlendirdiğini göstermiştir. Klinik çalışmalar lokal kanamanın kontrolü için kollajenin kullanılabilirliğini ve myomektomi gibi jinekolojik cerrahide ya da diş hekimliğinde boşluğu doldurucu materyal olarak etkinliğini vurgulamışlardır (28).

F- YARA İYİLEŞMESİNDE EKSOJEN KOLLEJENİN ETKİ MEKANİZMASI:

Kollajenin gerçek etki mekanizması hala kesin olarak tanımlanmamıştır ve kollajene dayalı preparatlarla şimdiye kadar çok fazla deneysel hayvan çalışması yapılmamıştır.

Eksojen kollajen uygulanmasının, yaralanan bölgenin yakınında fibronektin miktarını arttırdığını gösteren bildiriler vardır. Fibronektinin kollajene bağlanması yoğun olarak araştırılmıştır ve fibronektinin yara onarımındaki rolüne yönelik çok sayıda yayın vardır (21,24,29). Eksojen uygulanan kollajen materyaller makrofajlar için kemotaktik (özellikle fragmanları aracılığıyla) ve opsonik özelliklere sahiptir. Bu maddeler fibrine bağlanabilir (fibrin stabilizan faktör ya da faktör-12 etkisiyle) ve bu nedenle pıhtı oluşumunda önemlidir. Muhtemelen büyüme faktörlerinin aktiviteleri ve sentezlerinin düzenlenmesinde önemlidir. Aynı zamanda hücre hareketi ve yeni matriksin depolanması için temel veya çatı olarak davranır (29). (Tablo-VII).

Tablo-VII : Yara iyileşmesinde eksojen kollajenin etki mekanizması.

- Hemostatik etki	: Trombositlerle etkileşim (Kollajen, adhezyon, agregasyon ve salgılama reaksiyonlarını güçlendirir)
- Fibronektin ile etkileşim	:Fibronektin kollajen - trombosit yapışmasını sağlar, kemotaktik ve opsonik özelliklere sahiptir, çeşitli hücre tipleri için temel olarak etki eder.
- Enflamatuvar fazın güçlenmesi	* Sıvı eksüdata artış *Hücreyel komponentte, özellikle makrofajlarda artış (Makrofajlar yara debridmanında yer alır, büyüme faktörleri oluşturur ve anjiogenezi uyarır)
- Düzenli bir fibroblast proliferasyonu için destek	

Chavapil ve arkadaşları, kollajen petleri tavşanlarda 2. derece, domuzlarda 3. derece yanıklarda, kobaylarda ve sıçanlarda yüzeysel ve tüm tabaka yaralarda kullanmışlardır. Bu araştırmacılar sonuç olarak kollajen petin onarım dokusu tarafından tanındığını ve bunun sonucunda bağ dokusu oluşumunun güçlendiğini inflamatuvar fagositik hücreleri aktive ettiğini , bakteri sayımlarında belirgin bir azalmaya yol açtığını, neovaskülarizasyonu arttırdığını bildirmektedirler. Aynı araştırmacıların yaptıkları başka bir çalışmada, kullanılan kollajen petlerin belli bir debridman etkisinin olduğunu, yüzeysel yaralarda epitelizasyon alanında artış yaparak iyileşme sürecini belirgin derecede hızlandırdığını yayınlamışlardır (10, 11).

Motta ve arkadaşlarının, sıçanlardaki deneysel gastrik, jejunal ve kolonik cerrahi lezyonlar üzerindeki çalışmaları özellikle ilgi çekicidir. Bu yazarlar kollajenin, uygun biçimde değiştirilmiş kollajen lizisini arttırdığını ve muhtemelen fibroblastlar için "toplayıcı" bir faktör olarak etki ederek ve metabolizmalarında doğrudan yer alarak daha düzenli bir fibroblast proliferasyonu sağladığını öne sürmektedirler (31). Yüceyar ve arkadaşları da yaptıkları deneysel çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir(46).

Danon ve arkadaşları da cilt yaralarına lokal makrofaj injeksiyonunun iyileştirmeyi hızlandırdığını bildirmiştir(13). Mıan ve arkadaşları ratlarda deneysel oluşturulmuş tam kat yaralara kollajen pet uygulamışlardır. Bu araştırmacılara göre,

kollajen pet uygulamasıyla iyileşme sürecinde kesin kısalmanın yanısıra sıvı eksüda oluşumu ve hücre komponentinde bir artışa neden olduğunu bildirmektedirler. Sıvı eksüdadaki bu artış; fagositoz lehine antibakteriyel aktivitesi olan maddelerin ve onarımın ilk fazında önemli olan çeşitli plazma faktörlerinin daha fazla katılımına yol açmaktadır. Bu araştırmacılar, hücre komponentindeki artış ile hem mikroorganizmaların ve doku artıklarının sindirildiğini hem de salgıladıkları proteolitik enzimler aracılığıyla kollajenin kemotaktik aktiviteleri olan fragmanlarına ayrılmasını sağladığını belirtmektedirler. Aynı zamanda makrofajların bölgedeki sayısını artırdıklarını ve bu yolla da etki ettiklerini bildirmektedirler (30). Bu sonuçlar Danon'un yara iyileşmesinde lokal makrofaj injeksiyonunun olumlu etkilerini destekler niteliktedir.

Oliver ratlarda cilt transplantasyonu uygulamış, transplantın altına kollajen pet yerleştirmiştir. İki hafta sonra kollajen uyguladığı alanın üzerindeki kollajen üretiminde artış olduğu ve cilt flebinin başarılı bir biçimde tutmasına yardımcı olan yeni bir kapiller yapılanmanın ortaya çıktığını gözlemlemiştir. Bu araştırmacı kollajenin fibroblastlar ve kapiller büyüme için matriks oluşturma etkisinin olduğunu, geciken cilt yaralarında kollajen pet uygulamasının potansiyel bir klinik uygulama oluşturacağını savunmaktadır (34).

Peacock , iyileşmekte olan yaradaki kollajenin 4-5. günden itibaren 14. günde maksimum düzeye ulaşacak şekilde artmaya başladığını göstermiştir. Birinci haftadan itibaren kollajen miktarının artmasıyla birlikte kopma direnci ölçümlerinin de buna paralellik gösterdiğini fakat 13. haftadan itibaren kopma direncinin artmasına rağmen kollajen düzeyinin sabit kaldığını belirlemiştir (36, 37).

Avtan ve arkadaşları eksojen kollajen uygulanan bir yaranın 7. günündeki kopma direncinin, kollajen uygulanmayan yaralardaki kopma direncine göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Histolojik açıdan her iki grupta kollajenizasyon açısından bir fark saptanamamasına rağmen, bu araştırmacılar kollajen uygulanan grupta belirlenen kopma direncindeki bu artışın nedenini ; ya var olan kollajen liflerinin daha dayanıklı hale gelmesiyle yada sentez edilen yeni kollajen ile var olan kollajenin farklı bir anatomik konfigürasyon oluşturmasıyla açıklamışlardır (3).

Palmieri'de, ratlarda oluşturulan yaralarda uyguladığı kollajen petlerin reepitelizasyon açısından olumlu sonuçlar verdiğini bildirmektedir (35).

Kollajen pet uygulanacak olan yara eğer infekte ise, öncelikle infeksiyonun ortadan kaldırılması ve uygulamanın temiz yarada yapılması da tavsiye edilmektedir(14). Yara iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda, oluşturulan yara modellerindeki infeksiyon oranının %0-6,4 arasında olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalara göre koloni sayısının 10^5 'in üzerinde olduğu yaralar infekte kabul edilmektedir. İnfeksiyon fibroblast proliferasyonunu deprese etmekte, inflamasyon fazını uzatmakta, oluşan kollajenin yıkılmasına ve yara kontraksiyonunun azalmasına ve sonuçta yara iyileşmesinin gecikmesine neden olduğu bildirilmektedir (1,8,20,40,41). Bazı araştırmacılar, E.coli ve P.mirabilis infeksiyonlarında epitelizasyon ve kopma direnci testlerinde yaralarda daha iyi sonuçlar alındığını ileri sürmektedirler (19).

Yaraya yerleştirilen petlerin metabolizmasının hızlı olduğu ve erken degradasyonları nedeniyle hemen yenilenmeleri gerektiği bildirilmektedir (30).

Sonuçta kollajenin etki mekanizmaları oldukça değişken olabilir. Yara alanının yakınında erken dönemde hemostaz için vazokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonu oluşur. Bu alanda trombositler kollajene bağlanır, kollajen trombositlerin agregasyonunu uyarmada önemli rol oynar, bu da muhtemelen trombositlerin plazma membranında fibronektinin varlığından kaynaklanmaktadır. Trombositler hemostatik tıkaç oluşumunu kolaylaştırarak ve proteolitik enzim salgılayarak onarımın ilk fazına önemli bir katkıda bulunur. Bu enzimler ara maddelerin oluşumu ile (kompleman C5 a komponenti ve kollajen fragmanları gibi) lökosit kemotaksisini uyarırlar. Ayrıca trombositler, trombositlerden salınan büyüme faktörü (PDGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) gibi önemli protein faktörleri oluştururlar.Yapıları ne olursa olsun, tüm deneysel verilerin gösterdiği gibi, muhtemelen iyileşmenin oldukça erken bir evresinde etki ederler.

G- YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER: Yara iyileşmesi süreci, endojen ve eksojen bir çok faktörden etkilenir. Bu faktörler Tablo-VIII'de özetlenmiştir(45).

Tablo-VIII: Yara iyileşmesine etki eden faktörler

1- KONJENİTAL FAKTÖRLER

- | | |
|-------------------------------------|--|
| - İmmünolojik bozukluklar | - Histamin yapım bozukluğu |
| - Polipeptid büyüme faktörleri | - Kollajen metabolizmasıyla ilişkili genetik bozukluklar |
| * Büyüme hormonu | * Ehlers-Danlos sendromu |
| * İnsülin | * Marfan sendromu |
| * Epidermal büyüme faktörü | |
| * Trombosit kaynaklı büyüme faktörü | |

- Diabet

2 - EDİNSEL FAKTÖRLER

- | | |
|--------------------------------------|---------------------|
| - Protein - kalori yetmezliği | - Kortikosteroidler |
| - Mineraller (Demir, Çinko, Bakır) | - Radyoterapi |
| - Vitaminler (C, A, E) | - Yaş |
| - Hipoksi | - Enfeksiyon |
| - Isı | - Diğer ilaçlar |
| - Sitotoksik ilaçlar | |
| * Siklofosamid | |
| * Metotreksat | |
-

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma ; Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi Deneysel Hayvan Laboratuvarı Cerrahi Bölümü'nde Mart 1996 - Temmuz 1996 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir (Proje no : AR-96/10)

Çalışma için ağırlıkları 120 - 180 gr arasında değişen, erkek, 3 aylık 64 adet Sprague-Dawley cinsi rat seçilmiştir. Ratlar her biri paslanmaz çelik kafes içinde bir rat olacak şekilde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda bulundurulmuştur. Ratlar standart pelet yemi ve şehir içme suyu ile beslenmişlerdir.

Intramuskuler 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar enjektabl, 500 mg/10 ml Eczacıbaşı) anesteziye takiben ratların sırt derileri tıraşlanarak Povidone - İodine solüsyonu ile temizlenmiştir.

Ratların dorsolateral sağ ve sol taraflarında Povidone- İodine ile boyalı tıraşlanmış derilerinde 1,5 X 1,5 cm. ebadlı cilt, ciltaltı, pannikulus karnosus'u içine alan düzgün standart açık yaralar oluşturulmuştur. Her hayvanda iki adet olmak üzere toplam 128 adet açık yara elde edilmiştir. Açık yaraların oluşturulmasından hemen sonra, 8 gruptaki sol dorsolateral yaralara, aynı ebadlarda hazırlanan heterolog liyofilize tip-1 kollajen pet, yara yüzeyine süngerimsi tarafı gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Diğer taraf olan sağ dorsolateral açık yaralara ise kuru standart pansuman modeli uygulanmış ve doğal iyileşme süreci içinde izlenmiştir. Eksojen heterolog kollajen pet uygulanan tarafta, petin stabilizasyonun sağlamak için steril cerrahi gaz pansuman malzemesiyle pet üzeri kapatılmış ve 6 noktadan yara kenarındaki sağlam cilde 3/0 ipek materyalle sütüre edilmiştir. Kollajen materyal olarak, sığır aşil tendonundan, proteolitik enzimler olmaksızın non-denatüran bir prosedür ile elde edilen, steril liyofilize tip-1 kollajen petler (Gelfix ® - İlsan İltaş) kullanılmıştır. Her iki yara da ilk 10 gün boyunca her gün, takiben her 3 günde bir pansumanların açılması yoluyla gözlemlenmiştir. Heterolog liyofilize tip-1 kollajen pet

uygulanmayan tarafa her gözlem gününde povidone-iodine ve kuru gaz tampon ile standart pansuman yapılmış, heterolog liyofilize tip-1 kollajen pet uygulanan tarafa ise petin degrade olmasına bağlı olarak ortalama 3-4 günde bir petin yenilmesi yoluyla pansuman uygulanmıştır. Her pansumanda yaradan mikrobiyolojik örnekler alınarak incelenmiştir. Kültür sonucu yaraları enfekte olduğu belirlenen ratlar, standartizasyonun bozulmaması için çalışmadan çıkarılmış, yerine yeni ratlar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sırasında ratlardan hiçbirisi ölmüştür.

Toplam 64 rat ; her grupta 8 adet rat olmak üzere 8 gruba ayrılmıştır. Her çalışma gününde 8 ratlık bir grup incelenmiştir. Açık yara oluşturulduktan sonraki 1 , 3 , 5 , 7 , 14 , 21 , 45 , ve 60. günlerde ratlardaki yaralar hem makroskopik incelemeye alınarak gözlem kayıtları tutulmuş, hem de her defasında aynı kalınlıkta eksize edilerek çalışmaya yönelik numuneler alınmıştır. 1. ve 3. günlerde sadece histopatolojik çalışma için numuneler hazırlanmıştır. 3. günden sonraki çalışma günlerinde alınan numunelerde 3'er parçaya ayrılmış, histopatolojik çalışmanın yanısıra kopma direnci ve yara dokusu hidroksiprolin miktarı incelenmiştir. Makroskopik incelemede. yaranın tam olarak kapanması için geçen süre, yara boşluğunun dolma süresi ve yara kontraksiyonunun başlangıç süresi göz önüne alınmıştır.

Ratların dorsal derilerindeki yaralardan, çevresinde tümüyle sağlam doku kalacak şekilde ve yara ortada olacak tarzda, hem heterolog kollajen pet ile kapatılmış, hem de kuru standart pansuman yapılmış her iki yara dokusundan 5 cm uzunluğunda cilt, ciltaltı ve pannikulus karnosusu içeren standart örnekler alınmıştır. Heterolog kollajen pet uygulanan grup yaralarda, hidroksiprolin miktarları ve histopatolojik inceleme sonuçlarının eksojen uygulanan kollajen petlerden etkilenmemesi için, örnek alımı sırasında petler yara yüzeyinden uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan parçaların uzun kenarına paralel ve eni 0,5 cm. olacak şekilde, her numure 3 eşit parçaya bölünmüştür. Bu parçalardan biri kopma direnci çalışması için kullanılırken, diğer iki parça histopatolojik çalışma ve hidroksiprolin miktarı tayinine hazırlanmıştır. Çalışma programı Tablo-IX'da gösterilmiştir.

Histopatolojik inceleme için alınan örnekler % 10 formol solüsyonuna konulmuş ve takiben parafin bloklar hazırlanıp kesitler alınmak suretiyle hemotoksilen-eozin ve masson trikrom ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenmiştir. Patolojik preparatlar yara dokusundaki eksüdasyon, inflamatuvar infiltrasyon, fibroblast aktivasyonu, kollajen yapımı, vaskülarizasyon ve makrofaj agregasyonu açısından değerlendirilmiştir.

Tablo-IX: Çalışma programı

ÇALIŞMA GÜNLERİ	1	3	5	7	14	21	45	60
RAT SAYISI	8	8	8	8	8	8	8	8
MAKROSKOPİK İNCELEME	+	+	+	+	+	+	+	+
HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	+	+	+	+	+	+	+	+
KOPMA DİRENCİ ÇALIŞMASI	-	-	+	+	+	+	+	+
HİDROKSİPROLİN MİKTARI	-	-	+	+	+	+	+	+

+ : Çalışıldı

- : Çalışılmadı

Kopma direnci ölçümleri için alınan örneklere en geç 1 saat içinde instron tensiometre aygıtında çekme testi uygulanmıştır. Sonuçlar kg/cm^2 birimi ile kaydedilmiştir.

Hidroksiprolin miktarı tayini için alınan örnekler aliminyum folyolara konularak derin dondurucuda bekletilmiş, Bergman'ın modifiye Stegman yöntemi ile ve Coleman kalorimetresinde 520 nm dalga boyunda okunarak hidroksiprolin miktarları belirlenmiştir. Defektin granülasyon dokusuyla dolması ve gözle görülebilir bir matrikse ulaşabilmesi için 5 günlük bir süre gerektiğinden, hidroksiprolin düzeyleri çalışma programında gösterilen günlerde çalışılmıştır. Bu örneklere aynı zamanda Lowry yöntemiyle protein tayini de yapılmış ve sonuçlar $\mu\text{.gr}/100 \mu\text{.gr}$ protein birimiyle kaydedilmiştir(6).

Kollajen pet kullanılan ve kullanılmayan yaralarda saptanan hidroksiprolin miktarı ve kopma direnci değerlerinin karşılaştırılmasında, Mann - Whitney U istatistik testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan ratlardan hiçbirisinde çalışma süresince mortalite gözlenmemiştir. Çalışma grubunda mortalite oranı % 0'dır.

Çalışmaya alınan 64 rattan 4'ünde yaralardan alınan mikrobiyolojik kültür numunelerinde üreme saptanmıştır. Kültürde koloni sayıları 10^5 'in üzerinde olan ratlar enfekte kabul edilmiştir. Enfeksiyon gelişen yaralardan 2'si eksojen kollajen pet uygulanan tarafta, 2'si ise kollajen pet uygulanmayan ve kuru standart pansuman yapılan tarafta ortaya çıkmıştır. Aynı ratta hem kollajen pet uygulanan, hem de kuru standart pansuman yapılan yarada aynı anda enfeksiyon gelişmesi saptanamamıştır. Enfeksiyon gelişme oranı serimizde % 6,25 olarak belirlenmiştir. Kollajen pet uygulanan ve uygulanmayan yaralarda enfeksiyon gelişme oranları birbirine eşit olup, %3,12'dir. Kollajen pet uygulan açık yaralar ile, kuru standart pansuman yapılan açık yaralardaki enfeksiyon gelişme oranları istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P > 0.05$)

Makroskopik gözlemlere dayanılarak, yara kontraksiyonunun kollajen pet uygulanan grupta 3 - 4. günlerde, kollajen pet uygulanmayan grupta ise 8 -10. günlerde başladığı saptanmıştır. Açılan yarada yara boşluğunun birinci grupta 14 - 18. günlerde, ikinci grupta 21 - 25. günlerde dolduğu gözlemlenmiştir. Açık duruma getirilen yaranın tam olarak kapanması için geçen sürenin birinci grupta 21 - 24, ikinci grupta ise 28 - 30 gün olduğu belirlenmiştir (Tablo-X).

Tablo-X: Makroskopik gözlem sonuçları

MAKROSKOPİK GÖZLEMLER	K (+) GÜN	Gözlemlenen rat sayısı	K (-) GÜN	Gözlemlenen rat sayısı
Kontraksiyon başlama zamanı	3 - 4	56	5 - 8	48
Granülasyon ile dolma zamanı	14-18	32	21-25	16
yanarının tam kapanma zamanı	21-24	24	28-30	16

K (+) : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

K (-) : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

Hidroksiprolin en yüksek ölçüm değeri kollajen pet uygulanan grupta 2.610 μ .gr/100 μ .gr protein olup 7.gün elde edilmiştir. En düşük düzey ise çalışmanın 60.günü saptanan 0.900 μ .gr/100 μ .gr proteindir. Kollajen pet uygulanan açık yaralarda çalışma günlerine göre belirlenen en düşük ve en yüksek hidroksiprolin miktarları ve çalışma günlerine göre ortalama değerleri Tablo-XI'de gösterilmiştir.

Tablo-XI: Kollajen pet uygulanan grupta hidroksiprolin ölçüm değerleri

GÜNLER	RAT SAYISI	EN DÜŞÜK DEĞER*	EN YÜKSEK DEĞER*	ORTALAMA DEĞER*
5	8	1.160	1.184	1.17 \pm 0.01
7	8	2.110	2.610	2.39 \pm 0.16
14	8	2.120	2.340	2.20 \pm 0.08
21	8	1.500	1.800	1.67 \pm 0.10
45	8	1.210	1.300	1.27 \pm 0.03
60	8	0.900	1.120	1.01 \pm 0.09

* : μ .gr/100 μ .gr protein

Kollajen pet uygulanmayan yara örneklerinde en yüksek hidroksiprolin değeri 2.150 μ .gr/100 μ .gr protein olup 14'cü gün elde edilmiştir. En düşük değer ise 0.700 μ .gr/100 μ .gr protein olup 5.gün elde edilmiştir. Kollajen pet uygulanmayan açık yaralarda çalışma günlerine göre belirlenen en düşük ve en yüksek hidroksiprolin miktarları ve çalışma günlerine göre ortalama değerleri Tablo-XII'de gösterilmiştir.

Tablo-XII: Kollajen pet uygulanmayan grupta hidroksiprolin ölçüm değerleri

GÜNLER	RAT SAYISI	EN DÜŞÜK DEĞER*	EN YÜKSEK DEĞER*	ORTALAMA DEĞER*
5	8	0.700	0.790	0.76 \pm 0.03
7	8	1.100	1.195	1.13 \pm 0.03
14	8	2.010	2.150	2.06 \pm 0.05
21	8	1.300	1.720	1.54 \pm 0.13
45	8	1.255	1.300	1.28 \pm 0.02
60	8	0.800	1.150	0.96 \pm 0.12

* : μ .gr/100 μ .gr protein

Kollajen pet uygulanan açık yaralarda çalışma günlerinde saptanan hidroksiprolin miktarı ile kollajen pet uygulanmayan açık yaralarda saptanan hidroksiprolin miktarlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması Tablo-XIII'de gösterilmiştir.

Tablo-XIII: Saptanan hidroksiprolin değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Hidroksiprolin ölçüm günleri	RAT SAYISI	HİDROKSİPROLİN*		z	p
		I.Grup	II.Grup		
5. gün	8	1.17 ± 0.01	0.76 ± 0.03	-3.36	0.0008
7.gün	8	2.39 ± 0.16	1.13 ± 0.03	-3.36	0.0008
14.gün	8	2.20 ± 0.08	2.06 ± 0.05	-3.05	0.0023
21.gün	8	1.67 ± 0.10	1.54 ± 0.13	-2.05	0.04
45.gün	8	1.27 ± 0.03	1.28 ± 0.02	-0.58	0.56
60.gün	8	1.01 ± 0.09	0.96 ± 0.12	-0.74	0.46

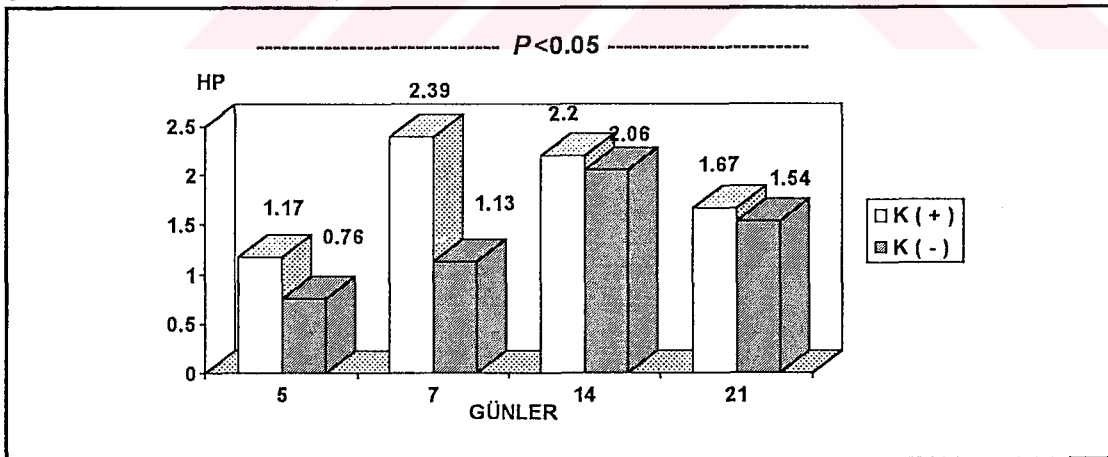
I. GRUP : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

II. GRUP : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

* : μ .gr/100 μ .gr protein

Kollajen pet uygulanan yaralar ile uygulanmayan yaralardaki ölçülen hidroksiprolin miktarları karşılaştırılma sonuçları 5,7,14 ve 21. günlerde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu iki grupta 45 ve 60. günlerde saptanan hidroksiprolin miktarları karşılaştırma sonuçları ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (Şekil-2 ve 3) ($P > 0.05$).

Şekil-2 : İstatistiksel açıdan anlamlı hidroksiprolin değerleri

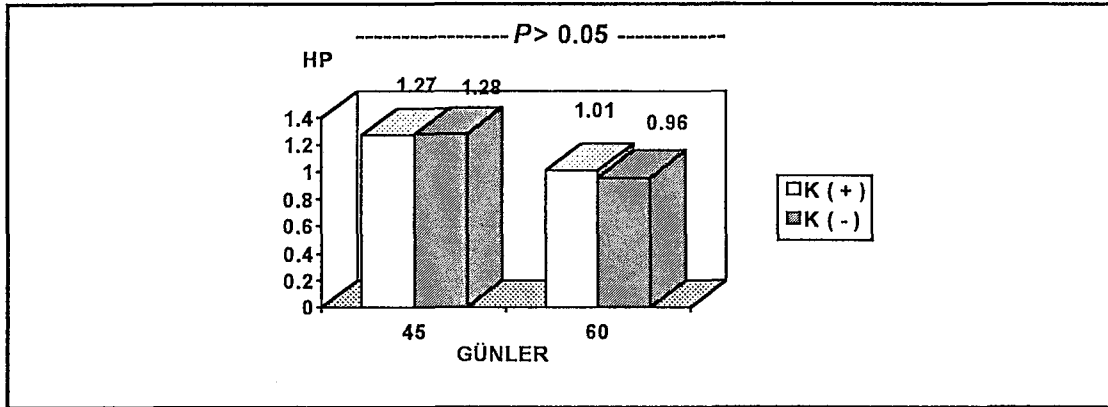


K (+) : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

K (-) : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

HP : Hidroksiprolin (μ .gr/100 μ .gr protein)

Şekil-3: İstatistiksel açıdan anlamlı bulunmayan hidroksiprolin değerleri



K (+) : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

K (-) : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

HP : Hidroksiprolin (μ .gr/100 μ .gr protein)

Kollajen pet uygulanan açık yaralarda çalışmamızda bulunan en yüksek kopma direnci değeri 1850 Kg/cm^2 olup, 60. gün elde edilmiştir. En düşük kopma direnci değeri ise 14 Kg/cm^2 olup 5. günde saptanmıştır (Tablo-XIV)

Tablo-XIV: Kollajen pet uygulanan yaralarda kopma direnci ölçüm değerleri

GÜNLER	RAT SAYISI	EN DÜŞÜK DEĞER*	EN YÜKSEK DEĞER*	ORTALAMA DEĞER*
5	8	14	20	17.13 ± 2.03
7	8	24	33	28.13 ± 3.27
14	8	130	160	146.00 ± 10.16
21	8	335	360	347.38 ± 8.75
45	8	805	885	835.00 ± 24.05
60	8	1750	1850	1807.50 ± 34.23

* : Kg/cm^2

Kollajen pet uygulanmayan açık yaralarda çalışmamızda bulunan en yüksek kopma direnci değeri 1890 Kg/cm^2 olup, 60. gün elde edilmiştir. En düşük kopma direnci değeri ise 8 Kg/cm^2 olup 5. günde saptanmıştır (Tablo-XV)

Tablo-XV: Kollajen pet uygulanmayan yaralarda kopma direnci ölçüm değerleri

GÜNLER	RAT SAYISI	EN DÜŞÜK DEĞER*	EN YÜKSEK DEĞER*	ORTALAMA DEĞER*
5	8	8	14	10.88 ± 2.03
7	8	11	21	16.00 ± 3.63
14	8	80	95	87.88 ± 5.38
21	8	185	210	199.00 ± 8.59
45	8	755	890	796.88 ± 42.51
60	8	1755	1890	1816.25 ± 47.87

* : Kg/cm^2

Kollajen pet uygulanan açık yaralarda saptanan kopma direnci ölçüm değerleri ile kollajen pet uygulanmayan açık yaralardaki kopma direnci ölçüm değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo-XVI'da gösterilmiştir.

Tablo-XVI: Kopma direnci ölçüm değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Kopma direnci ölçüm günleri	KOPMA DİRENCİ*				z	p
	I. Grup		II. Grup			
5. gün	17.13	± 2.03	10.88	± 2.03	- 3.32	0.0009
7.gün	28.13	± 3.27	16.00	± 3.63	- 3.36	0.0008
14.gün	146.00	± 10.16	87.88	± 5.38	- 3.36	0.0008
21.gün	347.38	± 8.75	199.00	± 8.59	- 3.37	0.0008
45.gün	835.00	± 24.05	796.88	± 42.51	- 2.37	0.0180
60.gün	1807.50	± 34.23	1816.25	± 47.87	- 0.26	0.7924

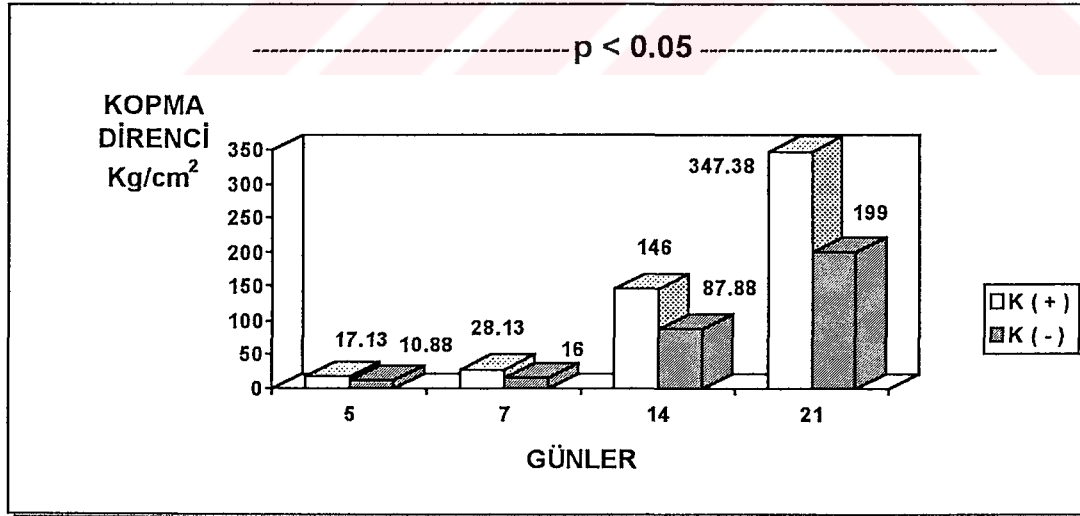
I. Grup : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

II. Grup : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

* : Kg/cm²

Kollajen pet uygulanan açık yaraların kopma direnci değerleri ile, kollajen pet uygulanmayan açık yaralarda saptanan kopma direnci değerleri arasındaki istatistiksel karşılaştırma; 5, 7, 14 ve 21. günlerde anlamlı 45. günde az anlamlı bulunmuştur (P<0.05). Belirtilen günlerde her iki grupta saptanan kopma direnci değerleri Şekil-IV'de gösterilmiştir.

Şekil-IV: İstatistiksel açıdan anlamlı bulunan kopma dirençleri

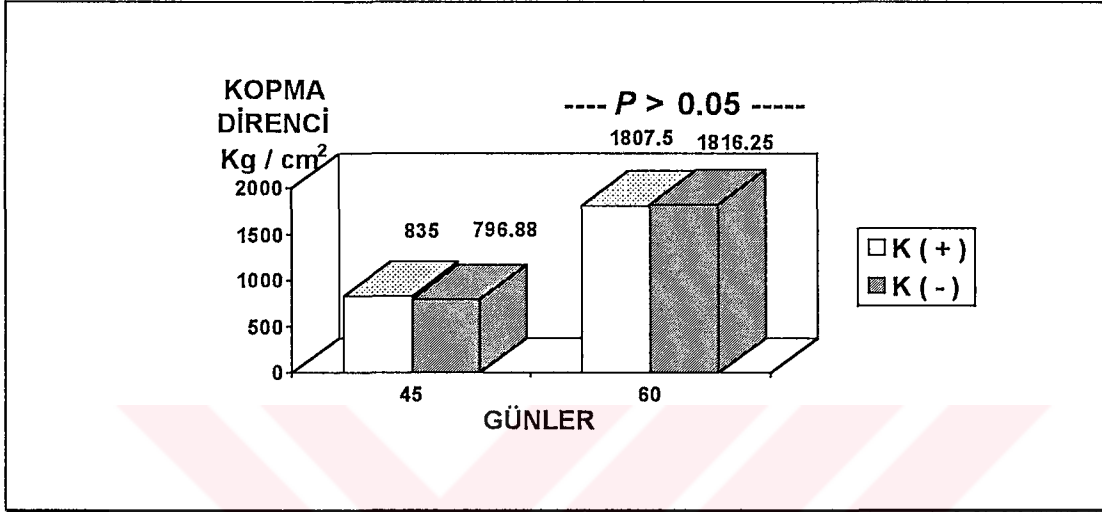


K (+) : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

K (-) : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

Kollajen pet uygulanan açık yaraların kopma direnci değerleri ile, kollajen pet uygulanmayan açık yaralarda saptanan kopma direnci değerleri arasındaki istatistiksel karşılaştırma ; 60. günde anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). Belirtilen günlerde her iki grupta saptanan kopma direnci değerleri Şekil-5'de gösterilmiştir.

Şekil-5: İstatistiksel açıdan anlamlı bulunmayan kopma dirençleri

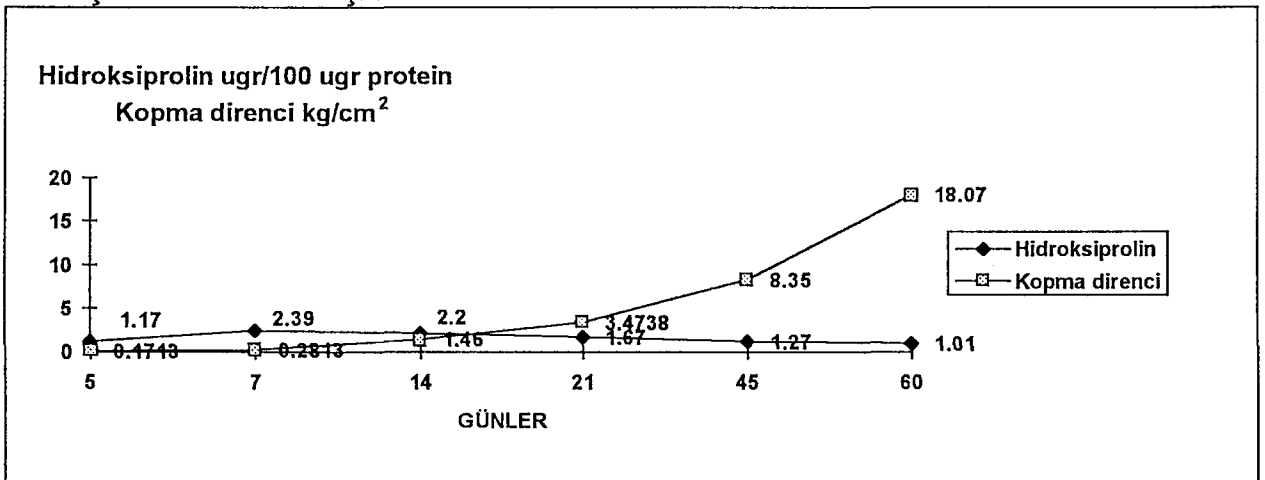


K (+) : Kollajen pet uygulanan açık yaralar

K (-) : Kollajen pet uygulanmayan açık yaralar

Kollajen pet uygulanan açık yaralardaki hidroksiprolin miktarı ile kopma dirençleri arasındaki ilişki Şekil-6'da gösterilmiştir.

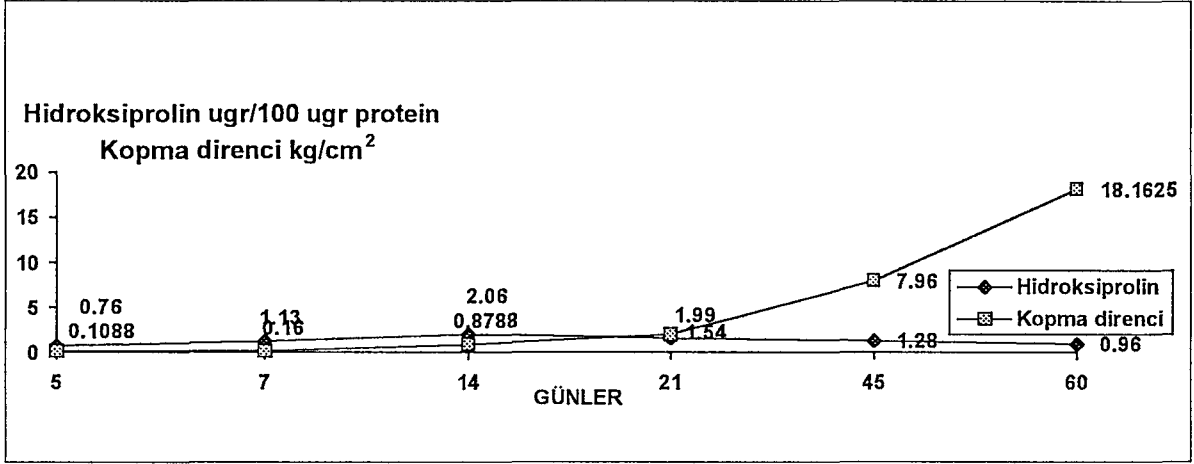
Şekil-6: Kollajen pet uygulanan açık yaralardaki hidroksiprolin miktarı ile kopma dirençleri arasındaki ilişki



Not : Kopma direnci değerleri 1/100 olarak verilmiştir.

Kollajen pet uygulanmayan açık yaralardaki hidroksiprolin miktarı ile kopma dirençleri arasındaki ilişki Şekil-7’de gösterilmiştir.

Şekil-7: Kollajen pet uygulanmayan açık yaralardaki hidroksiprolin miktarı ile kopma dirençleri arasındaki ilişki



Not : Kopma direnci değerleri 1/100 olarak verilmiştir.

Preparatların histopatolojik incelenmesinde, 1. gün kesitlerinde, kollajen pet uygulanan tarafta daha yoğun olmak üzere, her iki grupta eksüdasyon ve PMN-L infiltrasyonu olduğu gözlenmiştir. Piyeslerde sağlam bölgede epidermis ve kıl follikülleri saptanırken, yara oluşturulmuş bölgede bunlar gözlenememiştir. Her iki yara örneğinde de fibroblast ve kollajen artışına yönelik bulgular saptanamamıştır.

3. Gün kesitlerinin histopatolojik incelemesinde ; eksudanın kollajen pet uygulanan yaralarda daha da yoğunlaştığı ve eksuda içerisinde monositer seri hücrelerin daha hakim olacak şekilde hücre komponentinin arttığı gözlenmiştir. Kollajen pet uygulanmayan yaralarda ise, 1. gün bulgularına benzer şekilde, eksudanın devam ettiği ancak anlamlı derecede artış göstermediği belirlenmiştir. Eksüda içerisindeki hücre komponentinde PMN-L 'in hakim olduğu ve monositer seriye doğru geçiş gösterdiği saptanmıştır. Kollajen pet uygulanan grupta, uygulanmayan gruba göre fibroblastlarda artış olduğu, kollajen formasyonunun ve neoanjiogenezisin ortaya çıkmaya başladığı gözlemlenmiştir.

Histopatolojik preparatların 5. günkü incelemesinde, kollajen pet uygulanan ve uygulanmayan her iki grupta da eksüdanın azalmaya başladığı, kollajen pet

uygulanan grupta daha belirgin olmak üzere epidermisin proliferasyonunda, fibroblastik hücrelerde ve kollajen formasyonunda artış olduğu gözlenmiştir. Bu safhada, kollajen pet uygulanmayan yara örneklerinde infiltratif monositer hücrelerin yüzeyde lokalize oldukları, buna karşılık kollajen pet uygulanan grupta monositer hücrelerin azaldığı belirlenmiştir. Kollajen pet uygulanan yaranın kesitlerinde kollajenin daha fazla bulunması yanısıra, yaranın yaklaşık yarısına yakın yüzeyinin bazal tabakayla kaplandığı, buna karşılık ise kollajen pet uygulanmayan yaralarda bazal tabakanın yeni oluşmaya başladığı saptanmıştır.

7. Gün yapılan incelemede, kollajen pet uygulanan grupta fibroblast sayısı ve kollajen miktarının maksimum olduğu ve epitelizasyonda artış olduğu ancak keratinizasyon göstermediği gözlenmiştir. Kollajen pet uygulanmayan grupta kollajen miktarı ve epitelizasyonun daha düşük seviyelerde kaldığı belirlenmiştir. Kollajen pet uygulanan grupta neovaskülarizasyonun, uygulanmayan gruba göre anlamlı derecede fazla olduğu buna karşılık iltihabi hücre infiltrasyonunun 5. güne göre daha da azaldığı ve kaybolmaya başladığı saptanmıştır.

Histopatolojik preparatların 14. günkü incelemesinde her iki yara örneği grubunda da eksüdasyonun tümüyle kaybolduğu, fibroblastik aktivitenin ve neovaskülarizasyonun birbirine yaklaşmasına karşılık, kollajen pet uygulanan grupta kollajen miktarının anlamlı ölçüde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Epitelizasyonun , kollajen pet uygulanan grupta neredeyse tamamlanmakta olduğu belirlenmiştir.

21. gün yapılan incelemede, kollajen pet uygulanan grupta epitelizasyonun tamamlandığı , kollajen ve fibroblast miktarının 14. güne göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Kollajen pet uygulanmayan yaraların histopatolojik incelemesinde ise neovaskülarizasyonun kollajen pet uygulananan grup ile eşitlendiği, epitelizasyonun tamamlanmaya yaklaştığı saptanmıştır.

Patolojik preparatların 45 ve 60. günlerinde yapılan incelemede, her iki grup arasındaki histolojik bulguların birbirine benzediği görülmüştür.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır. Cerrahi, spontan, idiyopatik veya çeşitli hastalıklar sonucu ortaya çıkabilir. Yara iyileşmesi ise yaralanmış dokunun anatomik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden oluşturulmasını sağlamaya yönelik bir onarım sürecidir (37, 45). Yara iyileşmesinin süreçleri inflamasyon, kollajen birikmesi ve kollajen maturasyonu aşamalarını içeren dinamik bir olaydır (15). Yara iyileşmesi bir çok hücre tiplerini bunların sitokinleri ve ya mediatörleri ve ekstrasellüler matriks arasındaki etkileşmeleri içeren komplike bir süreçtir. Yara iyileşmesinin başladığı ve bittiği noktaların değerlendirilmesi daha çok mikroskopik izlenimlere dayandırılmıştır. Derinin mikroskobik veya moleküler seviyede yaralanması veya tamiri pek değerlendirilememiştir.

İyileşme sürecinin komplike, yaygın veya derin yaralarda ya da ülserler gibi kronik özellikler taşıdığı durumlarda yapılan uygulamalar iyileşmeyi hızlandırabilmeli ve yara açısından hastanın durumunu düzeltmeye yönelik olmalıdır. Bu tür yaraların bakımı uzun süre almakta, morbidite ve mortalite riski taşımakta, ekonomik ve ruhsal problemlere neden olabilmektedir. Bu nedenle doğal yara iyileşmesi sürecinin yarayı kapatmada başarılı olmadığı durumlarda en kısa zamanda, en az şekil ve fonksiyon kaybı ile tedavinin yapılması konusu güncelliğini ve önemini korumaktadır. Yara iyileşmesi sürecine olumlu etkiler yapabilecek birçok kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanların araştırılmakta olduğunu görmekteyiz. Son birkaç yıl içinde, gecikmiş yara iyileşmesinin tedavisi için yaralara eksojen kollajen uygulamalarının deneysel ve klinik çalışmalarla araştırıldığı ve kullanıma girdiği yayınlanmaktadır (3, 29). Yara iyileşme sürecinin fazları oldukça dinamik ve komplike olduğundan kollajenin eksojen uygulanmasıyla hangi epizodun etkilendiğini kesin olarak ortaya koymak güçtür. Etki mekanizmasına yönelik bilgilerin çoğu hala hipotez düzeyindedir (5). Çalışmamızda, açık yara oluşturulmuş ratlarda eksojen kollajen pet uygulamasının yara iyileşme sürecine etkileri araştırılmıştır.

Yapılan çalışmalara göre koloni sayısının 10^5 'in üzerinde bulunması halinde yaralar infekte kabul edilmektedir. Yara iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda, oluşturulan yara modellerindeki infeksiyon oranının %0-6,40 arasında olduğu bildirilmiştir . Kollajen pet uygulanacak olan yara eğer infekte ise, öncelikle infeksiyonun ortadan kaldırılması ve uygulamanın temiz yarada yapılmasının daha uygun olduğu bildirilmektedir (1, 8, 14, 20, 40, 41). Bazı araştırmacıların, E.koli ve P. mirabilis infeksiyonlarında epitelizasyon ve kopma direnci testlerinde daha iyi sonuçlar alındığını ileri sürmelerine karşılık, genelde kabul edilen görüş, infeksiyon fibroblast proliferasyonunu deprese etmekte, inflamasyon fazını uzatmakta, oluşan kollajenin yıkılmasına ve yara kontraksiyonunun azalmasına ve sonuçta yara iyileşmesinin gecikmesine neden olduğudur (19, 20, 40, 41). Çalışmamızda oluşturulan yaralarda koloni sayısının 10^5 'in üzerinde bulunma oranı % 6,25 olarak belirlenmiştir. Bu oran literatürlerle uyumludur. Kollajen pet kullanılan ve standart kuru pansuman yapılan yaralarda enfeksiyon gelişme oranları birbirine eşit bulunmuştur (% 3,12). Çalışmamızda eksojen uygulanan kollajen petlerin enfeksiyon gelişimi için bir risk yarattığına dair bulgu belirlenememiştir. Yaralara eksojen kollajen uygulamasının enfeksiyon gelişimini artırmadığını bildiren Mian ve arkadaşlarının sonuçları ile, bulgularımız uyumlu bulunmuştur (30). Çalışmamızda, enfekte ratlar, genel sonuçları etkilememesi ve homojen çalışma grubu yaratılması amacıyla değerlendirme dışına alınmıştır.

Yaraya yerleştirilen petlerin metabolizmasının hızlı olduğu, erken degradasyonları nedeniyle hemen yenilenmelerinin gerektiği bildirilmiştir (30). Çalışmamızda açık yaralara uygulanan eksojen kollajen petlerin de 3-4 günde degrade olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla açık yaralara konan kollajen petlerin degrade olup olmadığının her gün kontrol edilmesinin ve degradasyon saptanması halinde yenilenmelerinin faydalı olacağı sonucuna ulaştık.

Chavapil ve arkadaşları, kollajen petlerin bağ dokusu oluşumunu güçlendirdiğini, inflamatuvar fagositik hücreleri aktive ettiğini , bakteri sayımlarında belirgin bir azalmaya yol açtığını , neovaskülarizasyonu ve epitelizasyonu arttırdığını bildirmektedirler (10, 11).

Mıran ve arkadaşları, Chavapil ve arkadaşlarının bildirdiği gibi, yaralara kollajen uygulamasının sıvı eksüda oluşumu ve hücre komponentinde bir artışa neden olduğunu saptamışlardır. Sıvı eksüdadaki bu artış; fagositoz lehine antibakteriyel aktivitesi olan maddelerin ve onarımın ilk fazında önemli olan çeşitli plazma faktörlerinin daha fazla katılımına yol açmaktadır. Bu araştırmacılar, hücre komponentindeki artış ile hem mikroorganizmaların ve doku artıklarının sindirildiğini hem de salgıladıkları proteolitik enzimler aracılığıyla kollajenin kemotaktik aktiviteleri olan fragmanlarına ayrılmasını sağladığını belirtmektedirler. Aynı zamanda makrofajların bölgedeki sayısını artırdıklarını ve bu yolla da etki ettiklerini bildirmektedirler (10, 11, 30).

Çalışmamızda, Preparatların histopatolojik incelenmesinde, 1. gün kesitlerinde, oluşturulan yaralarda eksüdasyon ve PMN-L infiltrasyonu olduğu gözlenmiştir. Bu yaranın doğal iyileşme sürecinin ilk basamağıdır.(24,25) Ancak ilk gün incelemesinde dahi kollajen pet uygulanan tarafta PMN-L infiltrasyonunun ve eksüdasyonun daha yoğun olduğu göze çarpmaktadır. Artmış eksüdasyon ve bu eksüdasyon içinde, kollajen pet uygulanan yaralarda, kullanılmayanlara göre daha da fazla bulunan PMN-L 'lerin yaradaki fagositik aktiviteyi olumlu yönde etkileyeceği açıktır. Artmış fagositik kapasite, yaralanmış dokuda hem mikroorganizmaların hem de yara iyileşme sürecini olumsuz yönde etkileyen doku artıklarının uzaklaştırılmasındaki rolü nedeniyle, kollajen pet uygulaması yaraların iyileşme sürecini olumlu yönde etkilemektedir. 1. günde her iki yara örneğinde de fibroblast ve kollajen artışına yönelik bulgular saptanamamıştır. Bunun nedenini, fibroblastik aktivite ve kollajen sentezi için gerekli süre için, 1. günün henüz çok erken olmasına bağladık.

3. Gün kesitlerinin histopatolojik incelemesinde ; eksudanın kollajen pet uygulanan yaralarda daha da yoğunlaştığı ve eksüda içerisinde monositer seri hücrelerin daha hakim olacak şekilde hücre komponentinin arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular, Mıran'ın, kollajen pet uygulamasının yaralarda hem eksudayı ve hem de makrofajların bölgedeki sayısını arttırdığı sonuçlarıyla uyumludur (30). Danon ve arkadaşları da cilt yaralarına lokal makrofaj injeksiyonunun iyileşmeyi hızlandırdığını bildirmiştir (13). Kollajen pet uygulanmayan yaralarda ise, 1. gün bulgularına benzer

şekilde, 3. gün eksüdanın devam ettiği, ancak anlamlı derecede artış göstermediği belirlenmiştir. Bu durum, kollajen pet uygulanan grupta, petlerin, eksüdasyonu artırmadaki etkisinin bir sonucudur. 3. Günde eksüda içerisindeki hücre komponentinde PMN-L 'in hakim olduğu ve monositer seriye doğru geçiş gösterdiği saptanmıştır. Kollajen pet uygulanan grupta, uygulanmayan gruba göre fibroblastlarda artış olduğu, kollajen formasyonunun ve neoanjiogenezisin ortaya çıkmaya başladığı gözlemlenmiştir. Yara iyileşmesi sürecinin göstergelerinden olan kollajen formasyonu ve neoanjiogenezis, kollajen pet uygulanmayan grupta bu dönemde görülmediğinden, kollajen petlerin doğal yara iyileşmesi sürecini, histolojik bulguların da destekleyeceği tarzda, belirgin biçimde kısalttığı görülmektedir. 1. ve 3. Gün histopatolojik bulgularımız ; Chavapil, Danon ve Mıan'ın bulgularını desteklemektedir.

Konnektif dokunun proliferere olduğu ve yaranın 3-5. günlerinde görülen proliferatif faz, fibroblastların yara dokusuna migrasyonu ve kapiller kan damarlarının oluşumuyla karakterizedir. Proliferatif fazın önemli bir komponenti olan neovaskülarizasyon, dokunun yaralanma sonrası bozulan kan akımını düzeltmeye ve oksijenizasyonun tekrar sağlanabilmesine ve dokuların normal beslenebilmesine yönelik bir süreçtir. Makrofajlardan salınan çözünebilir faktörlerin yeni damar oluşumunu stimülasyonunda etkisinin olduğu, sonuçta yeni kapiller tomurcuklar oluştuğu bildirilmektedir (26, 37). Çalışmamızda da kollajen pet uygulanan grupta neovaskülarizasyonun daha erken dönemde görülmeye başlaması, kollajen petlerin yara iyileşmesi sürecine olumlu etki yaptığı fikrini desteklemektedir.

Granülasyon dokusunun oluşumunda kollajen, elastin, fibronektin, glikozaminoglikanlar ve kollajenaz gibi proteazları üreten fibroblastlar önem kazanmaktadır. Bu maddeler "yeniden yapılanma" fazında önemlidirler. Bu maddelerin yarada en erken 4-6. günlerde ortaya çıktığını ve konsantrasyonlarının kollajen formasyonu ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir (42). Çalışmamızda, histopatolojik preparatların 5. günkü incelemesinde, kollajen pet uygulanan ve uygulanmayan her iki grupta da eksüdanın azalmaya başladığı, kollajen uygulanan grupta daha belirgin olmak üzere epidermisin proliferasyonunda, fibroblastik

hücrelerde ve kollajen formasyonunda artış olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, kollajen pet uygulanmayan yara örneklerinde infiltratif monositer hücrelerin yüzeyde lokalize oldukları, buna karşılık kollajen pet uygulanan grupta monositer hücrelerin azaldığı belirlenmiştir. Kollajen pet uygulanan yaranın kesitlerinde kollajenin daha fazla bulunması yanısıra, yaranın yaklaşık yarısına yakın yüzeyinin bazal tabakayla kaplandığı, buna karşılık ise kollajen pet uygulanmayan yara kesitlerinde bazal tabakanın yeni oluşmaya başladığı saptanmıştır. Çalışma sonuçlarımız, yeniden yapılanma fazı olan granülasyon dokusu oluşumu sürecine, kollajen petlerin olumlu etkisini bildiren yayınları destekler niteliktedir.

Mononükleer hücrelerin varlığı yara iyileşmesi için şarttır. Monositler ve doku şekilleri olan makrofajlar inflamatuvar fazda normalde beşinci günden sonra dominant olan hücrelerdir. Doku makrofajları çeşitli büyüme faktörleri (PDGF, FGF, TGF- β , TGF- α) oluşturup salgırlar. Bu faktörler inflamatuvar hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu ve hücre matriks oluşumunda önemlidirler. Monositler, makrofajlar tarafından salınan bu faktörler angiogenezis ve granülasyon doku oluşumunun uyarılmasında çok önemlidir. Danon ve arkadaşlarının cilt yaralarına lokal makrofaj injeksiyonu yapması sonucu dokunun iyileşmesinde hızlanma olduğunu göstermeleri, bunun için iyi bir kanıttır (13). Monositopenik hale getirilen hayvanlarda da fibroplazi ve granülasyon doku şekillenmesinin büyük oranda bozulduğu ve iyileşme hızının geciktiği gösterilmiştir (2). Monositer hücrelerin normalde 5. günden sonra çoğalmış bulunması gerektiği halde, kollajen pet uygulanan grupta daha erken (3. günde) görülmesini, eksojen kollajenin monositer hücrelerin yara bölgesindeki toplanmalarını artırıcı etkisine bağladık. Benzer bulgulara incelemenin 7. gününde de rastlanmıştır. 7. Gün yapılan incelemede, kollajen pet uygulanan grupta, kollajen pet uygulanmayan gruba göre, fibroblast sayısı ve kollajen miktarının maksimum olduğu ve epitelizasyonda artış olduğu ancak keratinizasyon göstermediği gözlenmiştir. Kollajen pet uygulanan grupta neovaskülarizasyonun, uygulanmayan gruba göre anlamlı derecede fazla olduğu buna karşılık iltihabi hücre infiltrasyonunun 5. güne göre daha da azaldığı ve kaybolmaya başladığı saptanmıştır.

Oliver ratlarda cilt transplantasyonu sonrası uyguladığı kollajen petlerin iki hafta sonra kollajen uyguladığı alanda neovaskülarizasyonu artırdığı, yara iyileşmesini hızlandırdığını bu nedenle cilt yaralarında kollajen pet uygulamasının potansiyel bir klinik uygulama oluşturacağını savunmaktadır (34). Çalışmamızda kollajen pet uyguladığımız açık yaralarda, kollajen pet uygulanmayan açık yaralardan daha erken dönemde neoanjiogenezisin ve kollajen formasyonun saptanması ve fibroblastik aktivitenin daha erken başladığının belirlenmesi, Oliver'in çalışmalarıyla paralellik göstermektedir. Histopatolojik preparatların 14. günkü incelemesinde her iki yara örneği grubunda da eksüdasyonun tümüyle kaybolduğu, fibroblastik aktivitenin ve neovaskülarizasyonun kollajen pet uygulanan grupta daha fazla görüldüğü, kollajen pet uygulanan yaralarda, doku kollajen miktarının anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır. Epitelizasyonun, kollajen pet uygulanan grupta neredeyse tamamlanmakta olduğu belirlenmiştir. Motta ve arkadaşları da eksojen uygulanan kollajenin fibroblast proliferasyonu sağladığını, Palmieri' de, ratlarda oluşturulan yaralarda uyguladığı kollajen petlerin reepitelizasyon açısından olumlu sonuçlar verdiğini bildirmektedir (31, 35). Bulgularımız, Oliver, Motta ve Palmieri'nin sonuçlarıyla uyumludur.

21. gün yapılan incelemede, kollajen pet uygulanan grupta doku kollajeni ve fibroblast miktarının 14. güne göre daha fazla olduğu, epitelizasyonun tamamlandığı gözlenmiştir. Kollajen pet uygulanmayan yaraların histopatolojik incelemesinde ise neovaskülarizasyonun kollajen pet uygulanan grup ile eşitlendiği, epitelizasyonun henüz tamamlanmadığı saptanmıştır. Patolojik preparatların 45 ve 60. günlerinde yapılan incelemede, her iki grup arasındaki histolojik bulguların birbirine benzemesi ; eksojen kollajen uygulamasının yara iyileşme sürecinin ilk 21 günlük dönemine olumlu etki ettiğini, daha uzun dönemlerde, yara iyileşmesinin, doğal süreç içinde tamamlandığını göstermektedir.

Yara iyileşmesinin derecesinin değerlendirilmesinde kullanılan parametlerden biri kopma direncidir. Kopma direnci, bir yaranın boyutuna bakılmaksızın ayrılabilmesi, kırılabilmesi için gerekli kuvvetin kg/cm^2 veya kg/mm^2 cinsinden belirtilen ölçümüdür (1,4,7,9,17,22). Peacock , iyileşmekte olan yaradaki kollajenin 4-

5. günden itibaren artmaya başladığını ve 14. günde maksimum düzeye ulaştığını birinci haftadan itibaren kollajen miktarının artmasıyla birlikte kopma direnci ölçümlerinin buna paralellik gösterdiğini, 13. haftadan itibaren kopma direncinin artmasına rağmen kollajen düzeyinin sabit kaldığını belirlemiştir (36,37) Avtan ve arkadaşları, Peacock'un bulgularını destekleyecek tarzda, eksojen kollajen uyguladıkları yaralar ile kollajen uygulanmayan yaralarda 7. günde histolojik açıdan kollajenizasyonda bir fark saptayamamalarına rağmen, eksojen kollajen uygulanan yaralarda 7. günündeki kopma direncinin, kollajen uygulanmayan yaralardaki kopma direncine göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Avtan ve arkadaşları, kollajen uygulanan grupta belirlenen kopma direncindeki bu artışın nedenini ; uygulanan eksojen kollajenin yaradaki kollajen liflerini daha dayanıklı hale dönüştürmesiyle yada sentez edilen yeni kollajen ile eksojen uygulanan kollajenin farklı bir anatomik yapı oluşturduğu fikriyle açıklamışlardır (3). Çalışmamızda, 5, 7, 14 ve 21. günlerde eksojen kollajen pet uygulanan yaralarda saptanan hidroksiprolin miktarının, eksojen pet uygulanmayan yaralardaki hidroksiprolin miktarına göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Bu dönemlerde kollajen pet uygulanan yaralardaki kopma direncinin, hidroksiprolin düzeylerine paralellik gösterecek tarzda, eksojen pet uygulanmayan yaralara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Böylece eksojen uygulanan kollajen petlerin, yaralardaki kollajen miktarında belirgin artış yapmak suretiyle yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçlar literatür bilgileriyle uyumludur.

Yaralanmış dokunun devamlılığı, granülasyon dokusuyla sağlanmakta olup, burada rol oynayan esas faktör kollajendir. Yaralanmış dokudaki kollajen birikimi sağlam dokudakine kıyasla daha fazla olmaktadır (16). Yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kollajen düzeyi anlamlı sonuç verir. Hidroksiprolin kollajenin yapısında bulunan bir aminoasit olup, miktarı kollajen miktarının göstergesidir. Kollajen için spesifik kabul edilen hidroksiprolin düzeyinin biyokimyasal yöntemlerle saptanması, yara iyileşmesi düzeyinin niceliğini sayısal olarak bize verir (6, 12 ,23)

Peacock'a göre, oluşan bir yaradaki kollajen miktarı 14. günde pik yapmaktadır (37, 38). Çalışmamızda doku kollajen miktarının bir göstergesi olan hidroksiprolin

düzeinin eksojen kollajen pet uygulanan yaralarda 7. günde maksimum değere ulaştığı, buna karşılık eksojen kollajen pet uygulanmayan yaralarda ise Peacock'un belirttiği gibi, 14. günde maksimum düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Eksojen kollajen petler, doku kollajeninde anlamlı bir yükselişe yol açmaları yanısıra, kollajenin pik yaptığı sürede de belirgin bir kısalmaya yolaçmaktadır. Bu yolla da yara iyileşmesi sürecinde bir hızlanmanın olduğu sonucuna varılmıştır.

Kollajen pet uygulanan yaralarda 45 ve 60. günlerde belirlenen kollajen miktarları ile kollajen pet uygulanmayan yaralarda ki saptanan hidroksprolin miktarları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bunun nedenini kollajen petin yara iyileşme sürecini kısaltmasına rağmen kollajen pet uygulanmayan grupta da yara iyileşme sürecinin 45 ve 60. günler arasında büyük oranda tamamlanmasına bağlayabiliriz.

Makroskopik gözlemlere dayanılarak, yara kontraksiyonunun kollajen pet uygulanan grupta 3 - 4. günlerde, kollajen pet uygulanmayan grupta ise 8 -10. günlerde başladığı saptanmıştır. Eksojen kollajen pet uygulaması yara kontraksiyon süresini anlamlı derecede kısaltmaktadır.

Çalışmamızda, kollajen petlerin açılan yarada yara boşluğunun granülasyon dokusuyla dolma sürelerinin kısalmasında da önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Kollajen pet uygulanmayan yaralarda yaranın granülasyon dokusuyla dolma süresi 21 - 25. gün olarak belirlenirken, bu süre kollajen pet uygulamasıyla 14 - 18. günlere kadar azalmıştır. Açık duruma getirilen yaranın tam olarak kapanması için geçen sürenin kollajen pet uygulamasıyla 28 - 30 günden 21 - 24 güne düşmesi de eksojen kollajen uygulamasının yara iyileşme sürecini hızlandırıcı etkisini göstermektedir.

Peacock , iyileşmekte olan yaradaki kollajenin 4-5. günden itibaren 14. günde maksimum düzeye ulaşacak şekilde artmaya başladığını, birinci haftadan itibaren kollajen miktarının artmasıyla birlikte kopma direnci ölçümlerinin de buna paralellik gösterdiğini fakat 13. haftadan itibaren kopma direncinin artmasına rağmen kollajen düzeyinin sabit kaldığını belirlemiştir (36, 37). Avtan ve arkadaşları da eksojen kollajen uygulanan bir yaranın 7. günündeki kopma direncinin, kollajen uygulanmayan yaralardaki kopma direncine göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda da kollajen pet uygulanan ve uygulanmayan yaralardaki kopma

dirençleri zamanla artış göstermektedir. Ancak, kollajen pet uygulanan gruptaki kopma direnci, yara oluşturulmasından itibaren 45. gün dahil her kontrol gününde kollajen pet uygulanmayan yaralardaki kopma direncine göre yüksek bulunmuştur. Bu değerler 45. günden sonra birbirine yaklaşmaktadır. Kopma dirençlerinin en düşük bulunduğu 5. günde dahi, kollajen pet uygulanan yaralardaki kopma direnci, kollajen pet uygulanmayan yaralardaki kopma direncine göre % 57,1 daha yüksek bulunmaktadır. 5. Günden sonra kopma direnci değerleri birbirine yaklaşmaktadır. 60. günkü kopma direnci ölçümü hariç diğer tüm ölçümlerde, kollajen pet uygulanan ve uygulanmayan yaralardaki kopma dirençleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak, uygulanan kollajen petler, yaralardaki kopma direncini belirgin derecede arttırmaktadır. Avtan ve arkadaşlarına göre kollajen pet uygulanan ve uygulanmayan yaralarda, ilk 7 günden itibaren kollajen uygulanan grupta belirlenen kopma direncindeki bu artışın nedeni ; dokudaki kollajen miktarının artışına bağlıdır (3). Çalışmamızda da, kollajen pet uygulanan grupta daha belirgin olarak saptanan kopma direncindeki artışın nedeni ; uygulanan kollajen petlerin yaradaki hidroksiprolin miktarını artırmasına, dolayısıyla kopma direncinin artmasını sağlayan doku kollajeni miktarındaki belirgin artışa bağlanabilir.

Sonuç olarak, makroskopik, histolojik, biyokimyasal ve biyomekanik yöntemlerle ortaya konulmuştur ki ; eksojen kollajenin açık yaralar üzerindeki uygulamalarında, özellikle ilk 21 günlük erken dönemde iyileşmeyi hızlandırıcı etkisi mevcuttur.

Hidroksiprolin düzeyleri ve kopma direnci testi sonuçları eksojen kollajenin yara iyileşmesindeki etkinliği hakkında net konuşabilmemize olanak tanımaktadır. Gerek makroskopik gözlemlerimiz, gerekse histolojik bulgularımız niteliksel düzeyde de olsa bu görüşü desteklemektedir.

Eksojen kollajen uygulaması ile sağlanan bu hızlı iyileşme sürecinin ; yaygın, derin, komplike yaralarda, yara iyileşmesi sürecini hızlandıracağı, yaranın vafına ve lokalizasyonuna bağlı olarak gelişebilecek fonksiyon ve şekil bozukluklarını en aza indirgeyeceği , ekonomik ve ruhsal problemleri azaltacağı kanaatine ulaştık.

ÖZET

Doğal yara iyileşme sürecinin yarayı kapatmada yetersiz kaldığı durumlarda en kısa zamanda, en az şekil ve fonksiyon kaybı ile tedavinin yapılmasına olanak sağlayacak birçok kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanların araştırılmakta olduğunu görmekteyiz. Son birkaç yıl içinde, gecikmiş yara iyileşmesinin tedavisi için yaralara eksojen kollajen uygulamalarının deneysel ve klinik çalışmalarla araştırıldığı ve kullanıma girdiği yayınlanmaktadır.

Çalışmamızda, ratlar üzerinde oluşturulan açık yara modelleri üzerine uygulanan kollajen petlerin yara iyileşmesine etkileri araştırılmıştır.

Açık yaralarda kullanılan kollajen petler, yara iyileşmesinin doğal süreci içinde yer alan inflamatuvar reaksiyon süresini kısaltmaktadır. Yaralarda PMNL ve monositer seri hücrelerinin infiltrasyonunda artışa yol açmakta, neovaskülarizasyonda, fibroblast miktarında ve kollajen formasyonunda belirgin bir artışa neden olmakta ve epitelizasyonu hızlandırmaktadır.

Uygulanan kollajen petler, yaralarda erken dönemde hidrokisprolin düzeylerinde ve dolayısıyla yara iyileşmesi sürecinin niceliksel göstergesi olan kollajen miktarında bir artışa yol açmakta ve böylece yara iyileşmesi sürecini kısaltmaktadır. Erken dönemde artmış kollajen miktarına paralel olarak yaranın kopma direncinde de belirgin bir artış saptanmaktadır.

Yapılan makroskopik gözlemlerde, doğal iyileşme süreciyle karşılaştırıldığında, kollajen pet uygulanan yaraların granülasyon dokusuyla daha erken sürede dolduğu, kontraksiyonun hızlı ve erken zamanda oluştuğu ve daha erken kapandığı gösterilmiştir.

Bu deneysel çalışmayla, kollajen petlerin ; kolay uygulanabilirliği, ilave enfeksiyon riski oluşturmaması ve yara iyileşmesini hızlandırarak ekonomik kazanım sağlaması özellikleriyle, yara tedavisinde kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

SUMMARY

In the event that natural wound healing process is not sufficient to close the wound, ample amount of chemical, physical and biological agents which can treat the wound with the least distortion and loss of function in a short time have been evaluated. In recent year it has been published that exogenous collagen application to wound have been assessed both in experimental and clinical trials to evaluate wound healing.

In our study, the effects of collagen patches on wound healing applied on open wound models produced on rats have been evaluated.

Collagen patches applied on open wounds makes the interval of inflammatory reaction shorter. This application increases the number of PMN-L and monocytes in wounds, enhances neovascularization and epithelization and causes an increment in number of fibroblast and collagen formation.

Collagen patches waxes hydroxyproline levels in early period which in turn increases collagen levels, a quantitative indicator of wound healing process. Stretching resistance of wound increases in early period in parallel to the increased amount of collagen.

Macroscopic examination has revealed that granulation tissue fills the wound earlier, that wound contracts and more rapidly and that closes earlier than seen in natural healing.

We concluded that collagen patches could be applied in wound healing because of their easy application, no additional risk of infection and cost effect via increment of wounds healing.

KAYNAKLAR

1. Adamsons, R.J., Enquist,I.F.:The Relationship of Collagen Content to Wound Strength in Normal and Scorbutic Animals. Surg.Gynecol.Obstet.,119: 323-329, 1964.
2. Albert,J.,Nemeth,M.D.:The Wound Healing Process.Dermatologic Clinic, (Eds) Albert,J., 4 th Edition,,Volume 11,The C.V.Mosby Co.,1993,629-637 .
3. Avtan, L., Hazar, H., Arıcı, C., Tuzlalı, S., Avcı, C. : Eksperimental Yara İyileşmesinde Eksojen Kaynaklı Kollagenin in Vivo Etkisinin Çift Kör Kontrollü Araştırılması. Ulusal Cerrahi Dergisi, 3 (12) : 175-180, 1996.
4. Barham,R.E., Gerald,W.B., Ansell, J.S. : Comparison of Wound Strength in Normal Radiated and Infected Tissue Closed with Polyglycolic Acid and Chromic Catgut Sutures. Surg.Gynecol.Obstet., 146 : 901-907, 1978.
5. Beghe, F., Menicagli, C., Neggiani, P., Zampieri, A.,Trallori, L., Teta, E., Rosini, S. : Lyophilized Non-denatured Type-1 Collagen Extracted From Bovine Achilles' Tendon and Suitable for Clinical Use. İnt. J. Tiss. Reak., 14 (Suppl.) : 11-19, 1992.
6. Bergman, I., Loxley, R.: Two Improved and Simplified Methods for Spectrophotometric Determination of Hydroxyprolin. Anal. Chem., 35 : 1961-1964, 1963.
7. Brennan,S.S. : The Search for an Ideal Wound Dressing. Bristol Med.Chir.J., 99:77-79, 1984.
8. Bucknall, T.E. : The Effect of Local İnfection Upon Word Healing:An Experimental Study. Br.J.Surg., 67 : 851-855, 1980.
9. Charles,D.,Williams,K.,Perry,L.C.,Fisher,J.,Rees,R.S.:An Improved Method of in Vivo Wound Disruption and Measurement.J.Surg.Res.,52:214-218,1992.

10. Chavapil, M.D., Gaines, J.A., Chavapil, T.A., Benson, D., Tellez, C. : An Optimal Morphometric Method for Quantitating Wound Epithelization. *J.Surg. Res.*, 44:266-276, 1988.
11. Chavapil, M.D., Gaines, J.A., Chavapil, T.A., Owen, J.J. : Reaction of Various Skin Wounds in the Rat to Collagen Sponge Dressing. *J.Surg. Res.*, 41 : 410-414, 1986.
12. Cohen, I.K., Moore, C.D., Diegelmann, R.F. : Onset and Localization of Collagen Synthesis During Wound Healing in Open Rat Skin Wounds. *Proce. of the Socie. for Exp. Biol. Med.*, 160: 458-462, 1979.
13. Danon, D., Kowatch, M.A., Roth, G.S. : Promotion of Wound Repair in Old Mice by Local Injection of Macropages. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88 : 2018-2020, 1989.
14. Di Mauro, C., Ossino, A.M., Trefiletti, M., Polosa, P., Beghe, F.: Lyophilized Collagen in Treatment of Diabetic Ulcers. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, 17 (7) : 371-373, 1991.
15. Engin, A.: Yara İyileşmesi. Temel Cerrahi, (Derleyen) Sayek, İ., Cilt 1, Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 1991, 185-196.
16. Everson, A.G. : Applied Histochemistry of Simple and Glycosylated Proteins. *Histocemistry*, (Ed), Livingstone, C. 4 th Edition, Volume-II, Edinburgh, Longman Group Limited., 1985, 538-602.
17. Fogdestam, I. : A Biomechanical Study of Healing Rat Skin Incisions After Delayed Primary Closure. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 153 : 191-199, 1981.
18. Haukçıro, K., Risteli, L., Risteli, J. : Aminoterminal Propeptide of Type III Procollagen in Healing Wound in Humans. *Ann. Surg.*, 6 : 752-756, 1987.
19. Jhonson, B.W., Scott, P.G., Brunton, J.L., Petrik, P.K., Williams, H.T. : Primary and Secordary Healing in Infected Wounds : An Experimental Study. *Arch. Surg.*, 117 : 1189-1193, 1982.
20. Kenady, D.E. : Menagement of Abdominal Wounds. *Surg. Clin. North Am.*, 64 : 803-807, 1984.

21. Konukoğlu, D., Akçay, T. : Fibronektinin Yapısı ve Patolojik Durumların Değerlendirilmesindeki Önemi. Endokrinolojide Yönelişler., Cilt IV, Sayı II : 31-34, 1991.
22. Larsen. J.S., Ulin, A.W. :Tensile Strength Advantage of the Far-and-near Suture Technique. Surg.Gynecol.Obstet., 131 : 123-124, 1970.
23. Lowry, O.H. : Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265-268, 1951.
24. Madden, J.W. : Wound Healing. Biological an Clinical Features "Davis-Christopher Textbook of Surgery", Ed Sabiston, XI th Edition Philadelphia, W.B. Saunders Co. , 1977, 250-271.
25. Madden, J.W. : Structure , Synthesis and Interaction of Fibrous Protein and Matrix "Davis-Christopher Textbook of Surgery", Ed Sabiston,D.C.Jr. XI th Edition Philadelphia, W.B. Saunders Co. , 1977, 56-101.
26. Madden,J.W., Arem,A.J.:Wound Healing.Textbook of Surgery,(Ed) Sabiston,D.C.Jr.,14 th Edition,Philadelphia,W.B. Saunders Co.,1991,164-177.
27. Matthew, H., Kanzler, M.D., David, C., Gorsulowsky, M.D., Neil, A., Swanson, M.D. : Basic Mechanisms in the Healing Cutaneous Wound. J. Dermatol. Surg. Oncol. , 12: 1156-1163, 1986.
28. Mian, M., Aloisi, R., Bennetti, D., Rossini, S., Fantozzi, R. : Potential Role of Heterologous Collagen in Promoting Cutaneous Wound Repair in Rats. Int. J. Tiss. Reac., 14 (Suppl) : 43-52, 1992.
29. Mian, M., Beghe, F., Mian, E. : Collagen as a Pharmacological Approach in Wound Healing. Int. J. Tiss. Reac., 14 (Suppl) : 1-9, 1992.
30. Mian, E., Martini, P., Beconcini, D., Mian, M. : Healing of Open Skin Surfaces with Collagen Foils. Int. J. Tiss. Reac., 14 (Suppl) : 27-34, 1992.
31. Motta, G.: Can Heterologous Collagen Enhance the Granulation Tissue Growth?: An Experimental Study. Ital.J.Surg.Res., 13 : 101-103, 1983.
32. Myers, M.B., Cherry, G. : Rate of Revascularization in Primary and Disrupted Wounds. Surg. Gynecol. Obstet., 132 : 1003-1008, 1971.

33. Nagelschmidt, M., Fischer, H., Engelhardt, G.H.: Reversal of Gelatin-Impaired Wound Healing in Rats by Exogenous Fibronectin. *J. Surg. Res.*, 53:490-494, 1992.
34. Oliver, R.F., Grant, R.A., Hulme, M.J., Mudie, A.: In Corporation of Stored cell-free Dermacollagen Allografts in to Scin Wounds : A Short Term Study. *Br.J.Plast.Surg.*, 30 : 88, 1977.
35. Palmieri, B. : Heterologous Collagen in Wound healing : A Clinical Study. *Int. J. Reac.*, 14 (Suppl) : 21-25, 1992.
36. Peacock, E.E.Jr. : Inter-intramolecular Bonding in Collagen of Healing Wounds by Insertion of Methylene and a Mide Cross-links in to Scar Tissue, tensile Strength and Thermal Shrinkage in Rats. *Ann. Surg.*, 163 : 1-3, 1966.
37. Peacock, E.E.Jr. : Wound Healing. *Wound Repair*, (Eds) Peacock, E.E.Jr., Winkle, W.V., III rd Edition Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1984, 1-271.
38. Peacock, E.E.Jr., Cohen, I.K.: Wound Healing. General Principles of Plastic Surgery, (Ed) Mc Carthy, J.G., 5 th Edition, Volume 1, Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1990, 161-177.
39. Richard, A.F., Clark, M.D., Denver, C.O. : Cutaneous Tissue Repair : Basic Biologic Considerations. *Journal of American Academy of Dermatology*, 5 (13) : 701-725, 1985.
40. Smith, B., Enquist, I.F. : Quantitative Study of Impaired Healing Resulting from Infection. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 125 : 965-973, 1967.
41. Stenberg, B.D., Phillips, L.G., Hokanson, J.A., Heggors, J.P., Robson, M.C. : Effects of bFGF on the Inhibition of Contraction Caused by Bacteria. *J. Surg. Res.*, 50 : 47-50, 1991.
42. Stephen, J.M. : Wound Healing. *Clinical Surgery*, (Eds) Schaik, T.V., Maming, T.A. Volume I, Missouri, W.B. Mosby Co. , 1987, 461-504.
43. Stewart, R.J., Duley, J.A., Rosman, I., Fraser, R., Allardyce, R.A. : The Wound Fibroblast and macrophage I, Wound Cell Population Changes Observed in the Tissue Culture. *Br.J.Surg.*, 68 : 125-128, 1981.
44. Tenorio, A., Jindrak, K., Weiner, M., Bella, E., Enquist, I.B. : Accelerated Healing in Infected Wounds. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 142 : 537-543, 1976.

45. Turgut, M., Vargel, İ., Özcan, G., Kaynaroğlu, V., Benli, K., Özcan, O.E., Sağlam, S.: Yara İyileşmesi Proçesinin Özellikleri ve Değişik Faktörlerin Bu Proçes Üzerine Olan Etkileri. Yeni Tıp Dergisi., 12(2):142-149, 1995.
46. Yuceyar, S., Ertürk, S., Ersan, Y., Ayan, F., Öz, B., Cengiz, A. : Liyofilize Kollajenin Yara İyileşmesine Olan Etkisinde Heparinin Rolü : Deneysel Çalışma. Cerrahpaşa Tıp Fak. Der. , 25 : 369-376, 1994.



T.C. YENİNELENERGİ KURULU
DOKÜMANTASYON MENKELİ