

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
PERİODONTOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**ARGAN YAĞININ TOPIKAL UYGULAMASININ SEKONDER YARA
İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİSİ**

HAZIRLAYAN

MUHAMMED ENES MARAŞ

DOKTORA TEZİ

ANKARA - 2023

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
PERİODONTOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**ARGAN YAĞININ TOPIKAL UYGULAMASININ SEKONDER YARA
İYİLEŞMESİNE OLAN ETKİSİ**

HAZIRLAYAN

MUHAMMED ENES MARAŞ

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. YASEMİN SEZGİN

ANKARA - 2023

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Periodontoloji Anabilim Dalı Periodontoloji Doktora Programı çerçevesinde Muhammed Enes Maraş tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31/07/2023

Tez Adı: Argan Yağının Topikal Uygulamasının Sekonder Yara İyileşmesine Olan Etkisi

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

ONAY

Enstitü Müdürü

Tarih: ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 13/07/2023

Öğrencinin Adı, Soyadı: Muhammed Enes MARAŞ

Öğrencinin Numarası: 21810252

Anabilim Dalı: Periodontoloji

Programı: Periodontoloji

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı: Doç. Dr. Yasemin SEZGİN

Tez Başlığı: Argan Yağının Topikal Uygulamasının Sekonder Yara İyileşmesine Olan Etkisi

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans/Doktora tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 90 sayfalık kısmına ilişkin, 13/07/2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %6'dır. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:

ONAY

Tarih: 13/07/2023

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyadı, İmza:

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasından, uygulanmasına ve tamamlanmasına kadar geçen sürede, her anlamda bana yardımcı olan, desteğini, bilgisini ve sabrını bir an bile esirgemeyen değerli tez danışmanım

Doktora eğitimim süresince akademik ve klinik bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen değerli hocalarım

İyi bir hekim olmanın yanı sıra, iyi bir insan olma yolunda her zaman yol gösteren, en zorlandığım anlarımda yanımda olan kıymetli hocam

Doktora eğitimim süresince bana sorgulamayı öğreten değerli hocam

Doktora sürecinde birlikte gülüp, birlikte öğrendiğimiz, aynı yollardan geçtiğimiz meslektaşlarıma, kıymetli dostlarıma,

Hayatım boyunca maddi ve manevi her anlamda yanımda olan, eğitim hayatımın şekillenmesinde sabır, hoşgörü ve emeklerini bir an bile esirgemeyen, en ufak derdimde bile yanımda olmaya çalışan, bana her daim inanan ve destek olan canım aileme

Bana katkıları ve hayatımda bıraktıkları izleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Muhammed Enes MARAŞ, Argan Yağının Topikal Uygulamasının Sekonder Yara İyileşmesine Olan Etkisi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Doktora Programı, Doktora Tezi, 2023

Amaç: Topikal olarak uygulanan argan yağının sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş eksizyonel yaraların sekonder iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek.

Materyal ve Metod: 63 Sprague-Dawley cinsi albino sıçanının sert damaklarında 5 mm çapında eksizyonel yaralar açılmıştır. Başlangıç sakrifikasyon zamanında yedi sıçan sakrifiye edilmiştir. Kalan 56 sıçan iki eşit gruba rastgele olacak şekilde; 1) 1ml topikal argan yağının günde iki kez uygulandığı bir test grubu ve 2) hiçbir şeyin uygulanmadığı bir kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Her gruptaki yedişer hayvan 3., 7., 14. ve 21.günde sakrifiye edilmiş ve sıçanlardan elde edilen örnekler makroskobik ölçümler için fotoğraflandıktan sonra, %10'luk formaldehit içeren kutulara aktarılmıştır. Histolojik olarak epitelize yara dudakları arasındaki mesafe, ülserasyon, re-epitelizasyon, enflamasyon ve fibrozis hakkında incelemeler yapılırken, immünohistokimyasal incelemeler vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), laminin ve leptin için semi-kantitatif olarak alanında uzman bir patolog tarafından yapılmıştır.

Bulgular: Gruplar arasında herhangi bir parametre için istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ($p>0.0125$). Grup içi incelemelerde ise hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında farklı sakrifikasyon zamanlarında yara yüzey alanları, epitelize yara dudakları arası mesafe, ülserasyon, enflamasyon ve fibrozis skorlarında 0.güne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ($p<0.00625$).

Sonuç: Bu çalışmanın sınırları dahilinde argan yağının 1ml'lik topikal uygulamasının, sıçanların sert damaklarında oluşturulan yaraların sekonder iyileşmesine olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. Deney ve kontrol gruplarında yaraların iyileşme paternlerinin benzer olması argan yağının oral dokulardaki yara iyileşmesine olumsuz bir etkisi olmadığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Argan yağı, bitkisel yağ, sert damak, sıçan, yara iyileşmesi

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmıştır. (Proje no: D-DA 21/03).

ABSTRACT

Muhammed Enes MARAS, The Effect of Topical Application of Argan Oil on Secondary Wound Healing Baskent University Institute of Health Sciences Periodontology Doctorate Program, PhD Thesis, 2023

Objective: To evaluate the effects of topically applied argan oil on the secondary healing of experimentally created excisional wounds in rats.

Material and Method: Excisional wounds with a diameter of 5 mm were created on the palates of 63 Sprague-Dawley albino rats. Seven rats were sacrificed at the beginning of the study. The remaining fifty-six rats were randomly divided into two equal groups; 1) a test group in which 1 ml of topical argan oil was applied twice daily and 2) a control group in which nothing was applied. Seven animals from each group were sacrificed on days 3, 7, 14, and 21, and samples obtained from the rats were photographed for macroscopic measurements and then transferred to boxes containing 10% formaldehyde for histological examination. While histologically examining the wound width, ulceration, re-epithelialization, inflammation, and fibrosis, immunohistochemical examinations for vascular endothelial growth factor (VEGF), laminin, and leptin were performed semi-quantitatively by an experienced.

Results: No statistically significant difference was found between the groups for any parameter ($p>0.0125$). In intra-group examinations, statistically significant differences were detected in macroscopic wound surface areas, wound width, ulceration, inflammation, and fibrosis scores at different sacrifice times in both experimental and control groups compared to day 0 ($p<0.00625$).

Conclusion: Within the limitations of this study, no positive effect of topical application of argan oil at a dose of 1 ml was observed on secondary healing of wounds created on the palates of rats. The similar healing patterns of wounds in experimental and control groups showed that argan oil did not have a negative effect on wound healing in oral tissues.

Keywords: Argan oil, herbal oil, hard palate, rat, wound healing

This thesis study was approved by Başkent University Medical and Health Sciences Research Board. (Project no: D-DA 21/03).

İÇİNDEKİLER TABLOSU

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TABLolar LİSTESİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dişetin Yapısı	3
2.1.1. Dişeti Epiteli.....	3
2.1.2. Epitel – Bağ Doku Birleşimi	5
2.1.3. Dişeti Bağ Dokusu (Lamina Propria).....	5
2.2. Yara İyileşmesi	7
2.2.1. Yara İyileşmesinin Fizyolojisi	7
2.2.2. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler	13
2.2.3. Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Bazı Mediyatörler	15
2.2.4. Yara Onarım Tipleri.....	21
2.3. Periodontal Cerrahide Sekonder Yara İyileşmesi	22
2.3.1. Serbest Dişeti Grefti.....	23
2.3.2. Frenektomi.....	23
2.3.3. Laterale Kaydırılan Flep	24
2.3.4. Gingivektomi/Gingivoplasti	24
2.4. Argan Yağı.....	25
2.4.1. Argan yağı elde etme yöntemleri	26
2.4.2. Argan yağının kimyasal yapısı	27
2.4.3. Argan yağının etkileri üzerine yapılmış araştırmalar	32
3. MATERYAL & METOD	46
3.1. Deneysel Model	46
3.2. Deney Grupları	46
3.3. Kullanılan Malzemeler	52
3.3.1. Punch Biyopsi	52
3.3.2. Argan yağı.....	52
3.3.3. Fotoğraf makinası & Lens & Fotoğraf Düzenegi.....	54

3.4. Cerrahi Protokol	55
3.5. Deney ve Kontrol Gruplarında Örneklerin Hazırlanması	55
3.6. Makroskopik Değerlendirme	55
3.7. Mikroskopik değerlendirme	56
3.7.1 Histolojik değerlendirme	56
3.7.2 İmmunohistokimyasal değerlendirme.....	57
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	58
3.8.1. Örneklem genişliği hesaplama	58
3.8.2. İstatistiksel analiz.....	58
4. BULGULAR	59
4.1. Makroskopik Yara Yüzey Alanları.....	59
4.2. Epitelize Yara Dudaklarının Birbirine Uzaklığı (µm)	61
4.3. Ülserasyon Skorları	65
4.4. Re-epitelizasyon Skorları	66
4.5. Enflamasyon Skorları.....	68
4.6. Fibrozis Skorları	69
4.7. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) Skorları	70
4.8. Laminin skorları	71
4.9. Leptin skorları.....	73
5.TARTIŞMA.....	75
6. SONUÇ	89
KAYNAKLAR.....	91

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1: Argan yağının kimyasal içeriği	27
Tablo 2: Argan yağının yağ asidi profili ve bulunma oranları	28
Tablo 3: Argan yağının sabunlaştırılmayan kısmının içeriği ve bulunma oranları	29
Tablo 4: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre makroskobik yara yüzey alanları.....	59
Tablo 5: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı (µm)	61
Tablo 6: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre ülserasyon skorları.....	65
Tablo 7: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre re-epitelizasyon skorları.....	67
Tablo 8: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre enflamasyon skorları	68
Tablo 9: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre fibrozis skorları.....	69
Tablo 10: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre VEGF skorları	70
Tablo 11: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre laminin skorları.....	72
Tablo 12: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre leptin skorları.....	73

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Deney zaman çizelgesi	47
Şekil 2. Başlangıç grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve başlangıç grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	47
Şekil 3. 3.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 3.gün test grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	48
Şekil 4. 3.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 3.gün kontrol grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	48
Şekil 5. 7.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 7.gün test grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	49
Şekil 6. 7.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 7.gün kontrol grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	49
Şekil 7. 14.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 14.gün test grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	50
Şekil 8. 14.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 14.gün kontrol grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	50
Şekil 9. 21.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 21.gün test grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	51
Şekil 10. 21.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 21.gün kontrol grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı	51
Şekil 11. Kai Medical firmasına ait punch biyopsi aletinin fotoğrafı	52
Şekil 12. Pays d'Argan SARL, Moracco markasına ait yenilebilir argan yağı	53
Şekil 13. Canon EOS 600D fotoğraf makinası & Macro Lens EF 100mm 1:2.8 & Ring Flaş (Canon Macro Ring Lite MR14EX-II)	54
Şekil 14. 3 farklı ölçüm sonucu ve bu sonuçların ortalamalarının hesaplanmasını gösteren görsel	56
Şekil 15. Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre makroskobik yara yüzey alanlarındaki değişim	60
Şekil 16. Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı	62

Şekil 17. 0. gün oluşturulan ülser (→) enflamasyonun eşlik etmediği izlenmektedir (Hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).....	63
Şekil 18. Kontrol grubu 3. gün ülser (→) tabanında yoğun enflamasyonun (*) gelişmiş olduğu görülmektedir & Test grubu 3. gün ülser (→) tabanında yoğun enflamasyonun (*) gelişmiş olduğu görülmektedir (Hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).....	63
Şekil 19. Kontrol grubu 7. gün yara dudaklarının (→) daralmaya başladığı izlenmekte, tabanında enflamasyonun (*) devam ettiği görülmektedir & Test grubu 7. gün yara dudaklarının (→) daralmaya başladığı izlenmekte, tabanında enflamasyonun (*) devam ettiği görülmektedir (Hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).....	64
Şekil 20. Kontrol grubu 14. gün yaranın tümüyle epitelize olduğu, yoğun enflamatuvar infiltratin kaybolduğu, ülser tabanında fibrozis (#) geliştiği görülmektedir & Test grubu 14. gün yaranın tümüyle epitelize olduğu, yoğun enflamatuvar infiltratin kaybolduğu, ülser tabanında fibrozis (#) geliştiği görülmektedir (hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).	64
Şekil 21. Test ve kontrol grupları 21. gün ülser alanında enflamasyonun tamamen ortadan kalktığı, fibrozisin azaldığı, dokunun normale yakın bir histolojik görünüm kazandığı izlenmektedir (hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).....	64
Şekil 22. Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre ülserasyon skorlarının dağılımı	66
Şekil 23. Ülser alanında immünohistokimyasal olarak 2+ olarak değerlendirilen VEGF (*) ekspresyonu (x5 orijinal büyütme)	71
Şekil 24. Ülser alanında immünohistokimyasal olarak 2+ olarak değerlendirilen laminin (*) ekspresyonu (Laminin x10 orijinal büyütme)	72
Şekil 25. Ülser alanında immünohistokimyasal olarak 2+ olarak değerlendirilen leptin (*) ekspresyonu (Leptin x10 orijinal büyütme).....	74

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

2ME2	2-Metoksiöstradiol
ACR	Akrilamid
AKT	Protein Kinaz B
ALT	Alanin Aminotransferaz
AO	argan oil (argan yağı)
AST	Aspartat Transaminaz
BM	Betametazon
BMI	body mass index (vücut kitle indeksi)
CAT	Katalaz
CHX	Klorheksidin Glukonat
DBP	diastolic blood pressure (diyastolik kan basıncı)
EGF	epidermal growth factor (epidermal büyüme faktörü)
ERK	dış sinyale duyarlı kinaz enzimi
ESM	ekstraselüler matriks
FGF	fibroblast growth factor (fibroblast büyüme faktörü)
FO	fish oil (balık yağı)
GAG	Glikozaminoglikan
GAE/kg	Gallik Asit Eşdeğeri/Kg
GC-MS	gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
hBD	Human Beta Defensin (İnsan Beta-Defensin)
HCC	high calorie and cholesterol (yüksek kalorili ve kolesterollü)
HDL	high density lipoprotein (yüksek yoğunluklu lipoprotein)
HFHS	high fat/high sucrose (yüksek yağ/yüksek şeker)
IGF	insulin-like growth factor (insülin benzeri büyüme faktörü)

IL	interlökin ailesi
LDL	low density lipoprotein (düşük yoğunluklu lipoprotein)
LPS	Lipopolisakkarit
L-J	Lowenstein-Jensen Ortamı
MAPK	mitojenle aktive olan protein kinaz
MIC	minimal inhibitör konsantrasyonu
MMP	Matriks Metalloproteinazlar
NF- κ B	Nükleer Faktör Kappa B
OGTT	oral glukoz tolerans testi
PDGF	platelet-derived growth factor (trombosit kaynaklı büyüme faktörü)
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
PON1	Paraoksonaz-1
RNS	reactive nitrogen species (reaktif nitrojen ürünleri)
ROS	reactive oxygen species (reaktif oksijen ürünleri)
SBP	systolic blood pressure (sistolik kan basıncı)
SHR	spontaneous hypertensive rat (spontan hipertansif sıçan)
SOD	Süperoksit Dismutaz
STAT	signal transforming and transcription activator (sinyal dönüştürme ve transkripsiyon aktivatörü)
TAG	Triaçilgliseroller
TGF	transforming growth factor (transforme edici büyüme faktörü)
TNF	tümör nekroz faktör
TIMP	Tissue Inhibitor Metalloproteinases (Doku İnhibitörü Metalloproteinazlar)
VAS	visual analog scale (görsel analog skala)
VEGF	vascular endothelial growth factor (vasküler endotelial büyüme faktörü)
VEGF-R	vascular endothelial growth factor receptor (vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü)

1.GİRİŞ

Yara, bir dokunun anatomik bütünlüğündeki ve fonksiyonlarındaki devamlılığının fiziksel veya kimyasal bir olay ya da bir travma sonucu bozulmasıdır.(1) Yara iyileşmesi ise; bütünlüğünü kaybetmiş dokunun anatomik, fizyolojik ve fonksiyonel özelliklerini yeniden kazanması ile sonuçlanan karmaşık bir süreci ifade etmektedir. Yara iyileşmesi süreci, ayrı fakat birbirleriyle bağlantılı 3 farklı evreden oluşmaktadır. Bu aşamalar sırasıyla; enflamasyon, proliferasyon (çoğalma) ve yeniden şekillenme evreleridir.(2)

Yara iyileşmesi; üç farklı türde gerçekleşmektedir. İyileşme, onarım türüne göre primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üçe ayrılır. Yara onarımının en sağlıklı şekli; bütünlüğünü kaybetmiş olan dokunun, cerrahi olarak kapatılması, temiz olması ve komplikasyonsuz iyileşmesidir. Yaranın dudaklarının tam olarak karşı karşıya gelmesi ile yara kapatılmış olur ve onarım süreci başlar.(3) Bu iyileşme türüne primer iyileşme adı verilmektedir. Yara kenarları doğru şekilde bir araya getirilmemişse veya dokularda doğru şekilde bir araya getirilemeyecek bir kayıp söz konusu ise ya da yaralar spontan iyileşmeye bırakılmış ise sekonder iyileşme gözlenmektedir. Bu iyileşme primer yara iyileşmesinden daha yavaş seyreder.(4) Tersiyer yara iyileşmesi, gecikmiş primer kapama olarak bilinmektedir. Birkaç gün açık bırakılıp drenajı sağlanmış olan yara, sonrasında kenarları yakınlştırılarak primer iyileşmeye yönlendirilir.(1)

Periodontal cerrahide oldukça sık uygulanan operasyon türlerinden olan serbest dişeti greftinde, laterale kaydırılan flepte, frenektomide, gingivektomi/gingivoplasti operasyonlarında, biyopsi alınan bölgelerde, ağızda oluşabilecek ülser ve travmalar sonucunda oral dokularda sekonder yara iyileşmesi süreci başlamaktadır.(5) Periodontal cerrahi uygulamaların akabinde, iyileşmenin hızlı ve komplikasyonsuz olması, esas beklentilerimiz arasında yer almaktadır. Ayrıca, oral kavitenin çok fazla mikroorganizma yüküne sahip olduğu bilinmektedir.(6) Periodontal cerrahi sonrası yaranın bakteriyel kontaminasyonunu önlemek ve plak akümülyasyonunu kontrol edebilmek, yapılan operasyonun başarısını etkileyen faktörlerdendir. Periodontal cerrahi sonrası gözlenen postoperatif ağrı ve doku ödemi hasta konforunu azaltmaktadır. Yaranın enfekte olmasını engellemek amacıyla bakteriyel plak akümülyasyonunu ve bakteriyel kontaminasyonu kontrol altında tutmak da yara iyileşmesi sürecini hızlandırmaktadır. Günümüzde, bu amaçlarla çeşitli ajanların kullanımı yara iyileşmesi sürecinin idamesinde

yaygınlaşmıştır.(7) Son yıllarda, terapötik ajanlara alternatif olarak kullanılabilir bitkisel preparatların antimikrobiyal, anti-enflamatuvar ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çok sayıda da çalışma mevcuttur.(8-10)



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Dişetin Yapısı

Erişkinlerde normal bir dişeti, alveolar kemik ile diş kökünü, mine sement sınırının hemen koronaline kadar örter. Anatomik olarak; marjinal, yapışık (atake) ve interdental olmak üzere üç farklı bölgede, farklı isimlerle anılır. Her dişeti tipi, fonksiyonel taleplerine göre histolojik ve fizyolojik olarak çeşitli farklılaşmalar göstermektedir. Tüm dişeti tipleri mekanik ve mikrobiyal hasara karşı uygun şekilde işlev görecektir. Tümü özel olarak yapılandırılmıştır.(11)

Histolojik açıdan incelendiğinde, dişeti iki ayrı bölümden oluşmaktadır:

- a. Dişeti Epiteli
- b. Dişeti Bağ Dokusu (12)

2.1.1. Dişeti epiteli

Dişetin epitelyal bileşeni, diş ve alveolar kemiğe bağlanmayı sağlayan bölgesel morfolojik çeşitlilikler gösterir.(13) Oral epitel ve sulkular epitel fonksiyon olarak büyük ölçüde koruyucu iken, birleşim epiteli çok daha fazla role hizmet eder ve doku sağlığının düzenlenmesinde oldukça önemlidir.(14) Dişeti dokularında bulunan epitelyal hücreler “pasif seyirci” olmak yerine metabolik olarak aktif görev almaktadırlar ve çeşitli sitokinler, adezyon molekülleri, büyüme faktörleri ve enzimler sentezleyerek dış uyaranlara karşı tepki vermektedirler.(14)

Oral müköz membran epiteli bulunduğu konuma göre farklı keratinizasyonlar göstermektedir. Yapılan araştırmalarda, keratinize, parakeratinize veya nonkeratinize formlarda epitelizasyonlara rastlanılmıştır. Dişeti ve sert damak epiteli (çiğneyici mukoza) keratinizedir. Histolojik incelemelerde keratinize oral epitelin; stratum bazale, stratum spinozum, stratum granulosum ve stratum corneum olmak üzere dört farklı tabakadan oluştuğu tespit edilmiştir.(11)

Epitelin en alt tabakası, tek sıra halinde dizilmiş kübik hücrelerden oluşan '*stratum basale*'dir. Burası mitotik aktivitenin en yoğun olduğu tabakadır. Bazal tabakada mitoz bölünmeler yoluyla çoğalan hücreler yüzeye doğru hareket etmekte, bu esnada yassılaşmakta ve keratinizasyon özellikleri göstermeye başlamaktadır.

'*Stratum spinosum*'da, genel olarak hücre organellerinde azalma görülmekle birlikte serbest ribozom sayısında artış izlenmektedir. Bu da hücrelerin protein yapım işlevinin arttığını göstermektedir. Bu tabakada üretilen protein ise keratindir.

'*Stratum granulosum*' tabakasında da hücreler dişeti yüzeyine paralel olacak şekilde yassılaşma göstermekte ve karakteristik olarak keratohiyalin granülleri içermektedir. Bu granüller keratin yapımını sağlarlar.

En üst tabaka olan '*stratum corneum*' birbirlerine yakın dizilmiş ve iyice yassılaşmış, çekirdeklerini ve diğer birçok organellerini kaybetmiş hücrelerden oluşmaktadır.(11)

Oral (Dış) Epitel, marjinal dişetinin tepesini ve dış yüzeyini ve yapışık dişetinin yüzeyini kaplar. Oral epitelin ortalama kalınlığı 0.2 ile 0,3 mm olarak bildirilmiştir.

Sulkuler epitel, dişeti oluşunu örtmektedir. Rete-peg içermeyen, keratinize olmayan, çok katlı yassı bir epitelidir ve birleşim epitelinin koronal sınırından dişeti kenarının tepesine kadar uzanır.(15, 16) Ayrıca, sulkuler epitel, ağız boşluğuna maruz kaldığında veya sulkusun bakteriyel florası tamamen ortadan kaldırıldığında, keratinizasyon gösterme potansiyeline sahiptir.(17) Sulkuler epitel, zararlı bakteriyel ürünlerin ve dişeti doku sıvısının geçişine izin veren, yarı geçirgen bir zar görevi üstlenmiştir.(18, 19)

Birleşim epiteli, keratinizasyon göstermeyen çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır ve yaka benzeri bir formdadır. Sağlıklı dokularda koronal uçta 10 ila 29 hücre genişliğinde iken, mine-sement birleşiminde bulunan apikal ucunda 1 veya 2 hücre genişliğine kadar incelir. Birleşim epiteli diş yüzeyine (epitelyal ataşman) bir iç bazal lamina vasıtasıyla bağlanır. Dişeti bağ dokusuna, vücudun herhangi bir yerindeki diğer epitelyal-bağ dokusu ekleriyle aynı yapıya sahip bir dış bazal lamina ile bağlanır.(20, 21)

Birleşim epitelinin, patojenik bakteri florasının subgingival diş yüzeyini kolonize etmesini önlemeye katkıda bulunan yapısal ve işlevsel özellikler sergilediği kabul edilir.(22) İlk olarak, birleşim epiteli diş yüzeyine sıkıca tutunur ve böylece dişlere, plak

bakterilerine karşı bir epitel bariyeri oluşturur. İkincisi, dişeti sıvısının, enflamatuvar hücrelerin ve immünolojik konak savunmasının bileşenlerinin dişeti kenarına erişmesine izin verir. Üçüncüsü, birleşim epiteli hücreleri, konakçı-parazit dengesine ve hasarlı dokunun hızlı onarımına katkıda bulunan hızlı dönüşüm sergiler.(23)

2.1.2. Epitel – bağ doku birleşimi

Elektron mikroskopuyla yapılan incelemerde bazal laminanın, lamina lusida ve lamina densa olarak adlandırılan iki ayrı tabakadan oluştuğu görülmüştür. Stratum bazale ile komşu olan kısma lamina lusida, bağ dokusu ile komşu olan kısma ise lamina densa denmektedir. Lamina lusida glikoprotein yapıdaki lamininden oluşmaktayken, lamina densa ise tip IV kolajenden oluşmaktadır.(24)

2.1.3. Dişeti bağ dokusu (Lamina propriya)

Dişeti epiteli altına yerleşmiş gevşek bağ dokusudur. Amorf bir ana madde içinde yer alan kolajen lifler, kan damarları, hücreler ve sinir ağının bir araya gelmesiyle oluşmaktadır.

Lamina propriya'nın ana bileşenleri kolajen lifler ($\approx$ %60), fibroblastlar ($\approx$ %5), damarlar, sinirler ve matrikstir ($\approx$ %35). Lamina propriya iki ayrı katmandan oluşmaktadır:

(1) *papiller tabaka*, epitelyal rete pegler arasını dolduran tabaka

(2) *retiküler tabaka*, periosteum ile bitişik olan tabaka

Bağ dokusunun hücresel ve hücre dışı elemanları (ESM) vardır. Hücre dışı bölümü liflerden ve hücreler arası boşlukları dolduran bir matriksten oluşur. Bu matriksin içinde de bol miktarda su, glikozaminoglukanlar ve fibröz proteinler bulunur.(25) Bu nedenle, dişeti bağ dokusu, büyük ölçüde, doğrudan oral mukozal bağ dokusundan kaynaklanan elementlere ve ayrıca gelişmekte olan diş folikülünden kaynaklanan bazı liflere (dentogingival) sahip olan fibröz bir bağ dokusudur.(14)

Hücre dışı matriks, lifler, damarlar, sinir ağları ve hücreler arasında oluşan tüm boşlukları doldurmaktadır; amorf yapıdadır ve yüksek su içeriğine sahiptir.

Glikoproteinlerden (fibronektin) ve proteoglikanlardan (hyaluronik asit ve kondroitin sülfat) oluşur. Fibronektin, fibroblastları hücreler arası matriksin çeşitli bileşenlerine bağlar. Böylece hücrelerin adezyon ve migrasyonuna katkı sağlamaktadır. Ayrıca, bazal laminada bulunan lamininin, lamina propria ve epitel hücreler arasındaki bağlantıya katkısı olduğu bilinmektedir.

Bağ doku lifleri; kolajen lifler, elastik lifler ve retiküler lifler olmak üzere üçe ayrılmıştır. Tip I kolajen, lamina propriyanın büyük kısmını oluşturmakta ve dişeti dokusunda çekme direnci sağlamaktadır. Tip IV kolajen (argirofilik retikulum lifi), kolajen tip I demetleri arasında dallanmaktadır. Ayrıca bazal membran ve vasküler doku duvarlarının lifleri ile devamlılık göstermektedir.(21, 26)

Gingival Lifler; marjinal dişetinin bağ dokusu yoğun miktarda kolajen life sahiptir ve gingival lifler adı verilen belirgin bir kolajen lif demetleri sistemi içerir. Bu lifler tip I kolajenden oluşur.(27)

Gingival lifler;

1. Marjinal dişetinin diş sıkıca tutunmasını sağlamak
2. Diş yüzeyinden uzaklaşmadan çiğneme kuvvetlerine dayanmak için gerekli sertliği sağlamak
3. Serbest marjinal dişetini kök sementi ve komşu yapışık dişeti ile birleştirme işlevlerine sahiptir

Gingival lifler; dentogingival, dairesel ve transseptal olarak üç grupta incelenir.(14)

Dentogingival lifler; fasiyal, lingual ve interproksimal yüzeylerdeki liflerdir. Dişeti sulkusunun tabanındaki epitelin hemen altında, sementin içine gömülürler. Fasiyal ve lingual yüzeylerde, sementumdan yelpaze benzeri bir formda, epitelin altında kalacak şekilde, marjinal dişetinin tepesine ve dış yüzeyine doğru uzanırlar. Interproksimal olarak, dentogingival lifler interdental gingivanın tepesine doğru uzanır.

Sirküler lifler; marjinal ve interdental dişetinin bağ dokusu boyunca ilerler ve diş halka şeklinde çevreler.

Transseptal lifler; interproksimal alanda bulunur, içine gömüldükleri dişlerin sementleri arasında uzanan yatay demetler oluşturur.

Hücresel Elemanlar

Bağ dokusunda farklı hücre türleri bulunmaktadır. Lamina propriyadaki baskın hücre fibroblasttır. Lif demetleri arasında çok sayıda fibroblast bulunur. Fibroblastlar mezenkimal kökenlidir ve lamina propriyanın gelişimi, bakımı ve onarımında önemli bir rol oynamaktadırlar. Vücudun başka yerlerindeki bağ dokusunda olduğu gibi, fibroblastlar, kolajen ve elastik liflerin yanı sıra ekstraselüler matriks glikoproteinlerini ve glikozaminoglikan (GAG)'larını sentezlemektedirler. Fibroblastlar ayrıca fagositozda ve kolajenazların salgılanmasıyla kolajen yıkımında da görev almaktadırlar.

Mast hücreleri, ağız mukozasının ve dişetin bağ dokusunda çok sayıdadır. Sabit makrofajlar ve histiyositler, dişeti bağ dokusunda mononükleer fagosit sisteminin (retiküloendotelyal sistem) bileşenleri olarak bulunur ve kan monositlerinden türetilir. Adipoz hücreler ve eozinofiller az olmakla birlikte lamina propriyada da bulunurlar.(14)

Klinik olarak sağlıklı dişetinde, sulkus tabanına yakın bağ dokusunda hücreleri ve lenfositlerin izlenmesi normaldir. Nötrofiller ise lamina propriyada ve dişeti sulkusunda nispeten daha yüksek sayılarda görülebilmektedir. Bu enflamatuvar hücreler genellikle klinik olarak sağlıklı kabul edilen dişetinde az miktarda bulunmaktadır.(14)

2.2. Yara İyileşmesi

Günümüzde yara iyileşmesi erken ve geç dönem komplikasyonları olan zorlu bir klinik problem olmaya devam etmektedir.(28) Yara iyileşmesinde amaç, yara yerinin kapatılması ve takip eden süreçte hasta konforunu ve kaybedilen fonksiyonu yerine getirmektir. Aynı zamanda hastanın olası estetik beklentilerinin de karşılanması yerinde olacaktır. Bu amaç doğrultusunda kanamanın kontrolü, enfeksiyon kontrolü ve yara iyileşmesi için uygun koşulların sağlanması gerekmektedir.(1)

2.2.1. Yara iyileşmesinin fizyolojisi

Yara iyileşmesi; hücresel ve biyokimyasal olayların iç içe geçtiği, yapısal ve fonksiyonel doku bütünlüğünü geri kazanmaya yönelik karmaşık bir süreçtir.(28) Doku

bütünlüğünün bozulduğu durumlarda; makrofajlar, trombositler, endotelial hücreler, keratinositler, fibroblastların da aktif olarak dahil olduğu, birçok hücrenin rol aldığı bir süreç başlar. Yara iyileşmesi bu hücrelerin migrasyonu (göçü), infiltrasyonu, proliferasyonu (çoğalması) ve diferansiyasyonu (farklılaşması) ile meydana gelir. Bu süreçte, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), interlökin ailesi (IL) ve tümör nekroz faktör (TNF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi pek çok mediyatör görev almaktadır. Bu biyokimyasal mediyatörler, konak savunmasını, yaranın debridmanı ve iyileşmenin gerçekleşmesi için gerekli olan hücresel faaliyetlerin stimülasyonu veya inhibisyonunda görevlidirler.(29)

Yaralanma sonrasında başlayan olaylar, peşpeşe gerçekleşen ve devamlılık gösteren, iç içe geçmiş üç evreden oluşmaktadır. Bu evreler; enflamatuvar evre, proliferatif evre ve yeniden şekillenme evresi olarak sıralanabilir.(30)

2.2.1.1. Enflamatuvar evre

Enflamasyon, fiziksel yaralanma, iskemik yaralanma (bir dokunun kan ile yetersiz beslenmesinden kaynaklanan), enfeksiyon, toksinlere maruz kalma veya diğer travma türlerinin neden olduğu doku hasarına vücudun tepkisidir.(31)

Enflamatuvar evre, hasarlı dokunun debridmanı için önemlidir; yaralanmadan hemen sonra başlamakta, ilk 72 saatlik dönem içerisinde ve enflamasyon belirtilerinin kaybolması ile sonlanmaktadır.(32) Vasküler yanıt ve hücresel yanıtlar ile karakterize edilmiştir.

Vasküler Yanıt: Yaralanma sonrası vasküler ağın bütünlüğünde görülen bozulmaya bağlı olarak kanama meydana gelir.(33) Vasküler ağdaki hasar sonucunda gözlenen kanamaya ilk yanıt 5-10 dakika süren geçici vazokonstriksiyondur. Yaralanma ile başlayan kanama, kan kaybını durdurmaya yönelik koagülasyon basamaklarının devreye girmesiyle durdurulur. Faktör XII'nin fibrin oluşumunu ve pıhtılaşma kaskadını aktivelemesi sayesinde pıhtılaşma başlamaktadır.(33) Vasküler ağda meydana gelen hasar, kan bileşenlerinin ekstraselüler matrikse sızmasına neden olmaktadır. Vasküler

bütünlüğünün bozulması sonucu subendotelyal yapı ve bağ doku bileşenleri açığa çıkmıştır. Vasküler subendotelyal kolajenin açığa çıkması dolaşımda bulunan trombositlerin hızla yara bölgesinde kümelenmesini (agregasyon) ve yapısal proteinlere bağlanmalarını (adezyon) sağlayarak pıhtılaşma sürecini başlatmaktadır. Açığa çıkan subendotelyal kolajene, serbest trombositler tutunmaktadırlar. Akabinde, trombositlerden kaynaklanan granül içerikler, yeni trombositlerin aktif hale gelmesini sağlamaktadırlar. Aktive olmuş trombositler kümeleşerek geçici pıhtı oluşumunu sağlamaktadırlar. Trombositlerin salgıladığı trombinin, fibrinojenden fibrine proteoliz sürecini başlattığı bildirilmiştir.(33) Stabil hemostatik tıkaç oluşumunda fibrin ağın trombositlerin kümelenmesini güçlendirdiği bilinmektedir.(34) Oluşan hemostatik tıkaç hemostazı sağlamakta ve bölgeye gelecek olan hücreler için yapısal bir iskelet görevi görmektedir.(35) Trombositler, son olarak insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi büyüme faktörlerini salgılamaktadırlar.(29, 32, 35) Bu moleküller; endotelyal hücreleri, fibroblastları nötrofilleri ve makrofajları indükleyerek yara iyileşme evrelerini desteklerler.(3, 32, 36)

Hücreyel Yanıt: Yaralanma akabinde hemostazı sağlayan vazokonstriksiyon; yerini serotonin, histamin ve prostoglandin -E1/ - E2 aracılığı ile şekillenen vazodilatasyon dönemine bırakmaktadır.(28, 32) Bu aşama, hasarlı dokuların debridmanı ve patojenlerin uzaklaştırılması için gereklidir ve bölgeye farklı birçok hücre tipinin infiltrasyonu gerçekleşmektedir. Damar geçirgenliğinde yaşanan artış ile plazma ve polimorfonükleer hücrelerin damar dışına çıkışı meydana gelir. Trombositler ve bakteriler tarafından salgılanan çeşitli kemoatraktan ajanlar, polimorfonükleer hücrelerin yara bölgesine ulaşmasını ve burada toplanmasını sağlarlar. Nötrofiller yara bölgesine gelen ilk hücrelerdir ve yaralanmayı takiben 6 saat sonra bölgede saptanırlar. Yaralanmayı takiben 48 saat içerisinde maksimum sayıya ulaşan nötrofillerin rolü fagositoz ile patojenlerin yok edilmesi ve proteaz salınımı ile ölü dokuların debridmanıdır.(37) Nötrofillerin yara bölgesindeki bakterileri, hasarlı dokuları ve yabancı cisimleri fagositte ettiği bildirilmiştir.(1, 32) Nötrofillerin aktivitesi, ilerleyen süreçte patojenlerin ve ürünlerinin uzaklaştırılmasıyla sonlanmaktadır. Monosit/makrofajların, yaralanmadan sonraki 48-72 saat içinde nötrofillerin yerini aldığı, bölgede baskın hücre haline geldiği bildirilmiştir.(38)

Enflamatuvar evrenin en kritik hücresi makrofajlardır. Makrofajlar, kandaki monositlerin dokuya infiltrasyonu sonrasında oluşurlar. Yaralanmayı takiben 72.saatte

yarada baskın hücre haline geldikleri bildirilmiştir. Makrofajlar, ölü doku ve bakterileri fagosite etmenin yanı sıra pro-enflamatuvar sitokinler (IL -1 / -6) ve büyüme faktörleri (FGF, TGF- β , PDGF ve EGF) salgılayarak enflamatuvar yanıtı güçlendirmekte ve granülasyon dokusunun yapımını başlatmaktadırlar.(30, 32, 34) Ayrıca proteolitik enzimlerle (kolajenaz ve matriks metalloproteinaz) bölgedeki dokunun yeniden oluşumunu düzenledikleri de bildirilmiştir. Fibroblastları, keratinositleri, ve anjiogenezi uyarak yara iyileşmesinin proliferatif evresine geçişe destek sağlamaktadırlar.(37) Makrofajların sayısı ve aktivitesi süreç içerisinde yavaşça azalsa da onarım tamamlanana kadar bölgede kaldıkları ve yara iyileşmesini düzenlemeye devam ettikleri bildirilmiştir.

2.2.1.2. Proliferatif evre

Enflamatuvar evre sırasında salınan sitokinler ve büyüme faktörleri, iyileşmenin ikinci evresi olan proliferasyon evresini stimüle ederler.(33) Proliferatif evre, yaralanmadan sonraki dördüncü günde başlayıp yaranın büyüklüğüne göre üçüncü haftaya kadar devam edebilir. Bu evre; re-epitelizasyon, granülasyon dokusunun oluşumu, anjiogenezi ve yara kontraksiyonu ile karakterizedir.(39, 40) Proliferatif evrede ilk basamak, yenilenen dokuların artan metabolik ihtiyaçlarının karşılanması için, bölgeye besin ve oksijen sağlamak amacıyla lokal bir mikrodolaşımın sağlanmasıdır. Bu amaçla, fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi büyüme faktörlerinin etkisiyle endotelial hücreler yara kenarlarından, merkeze doğru göç etmektedirler. Böylece yeni kapiller damarlardan oluşan mikrovasküler ağ tamamlanır.(1, 39)

Mevcut damarlardan köken alarak yeni kapiller ağın olduğu bu olaya anjiogenezi denilmektedir Anjiogenezi sayesinde yara bölgesinde kan akımı artmaktadır. Bu sayede, enflamatuvar hücrelerin birbirleri ile olan etkileşimleri ve kan damarının endotelial bazal membranından yara bölgesine geçişleri daha kolay olmaktadır. Anjiogenezi, kolajen depozisyonu ve yeni ekstraselüler matriksin (ESM) sentezi için de önemlidir.(41, 42)

Ekstraselüler matriks; çeşitli fibröz proteinlerden, proteoglikanlardan ve değişik glikoproteinlerden oluşan karmaşık bir yapısal ağdır. Bağ dokusu ekstra selüler matriksinin organik bileşenleri; kolajenler, çeşitli proteinler ve proteoglikanlardır. Kolajenler temel yapısal elemanlardır. Ekstraselüler matriks içeriğindeki kolajen ve elastin gibi çeşitli

yapısal proteinler çekme ve gerilme kuvvetlerine karşı direnç oluşturmaktadırlar. ESM'in yapısındaki adeziv glikoproteinler ise matriks elementlerinin adezyonunda görev almaktadırlar. Proteoglikanlar ve hyalüronanlar ise direnç oluşmasında ve dokuların hidrasyonunda görevlidirler.(43)

Yara iyileşmesinin proliferatif evresinde gözlemlenen diğer bir önemli olay ise; granülasyon dokusunun yapımıdır. Granülasyon dokusunun organizasyonu, yaralanmayı takiben yaklaşık dördüncü günde başlamaktadır. Granülasyon dokusu; kolajen, fibronektin ve hyalüronik asit ile oluşan geçici bir matrikstir. Makrofajlardan, fibroblastlardan ve kan damarlarından zengin bir dokudur. Granülasyon dokusunun; mitojenik aktiviteleri, kemoatraktif olayları ve diğer düzenleyici aktiviteleri kontrol eden sitokinler için bir rezervuar görevi gördüğü bildirilmiştir.(44)

Fibroblastlar yara bölgesindeki enflamatuvar hücrelerden (makrofaj ve nötrofil) ve hasarlı dokulardan kaynaklanan sitokin ve büyüme faktörlerine (FGF, PDGF) yanıt olarak yara bölgesine göç etmektedirler.(41) Fibroblastlar, yara iyileşmesinde görevli olan en önemli mezenkimal hücrelerdir. Hem üretimden sorumludurlar hem de mekanik görevleri vardır. Fibroblastlar, geçici matriks ile yer değiştirecek olan kolajen matriksin üretiminden sorumludur. Mekanik görevleri ise, myofibroblastlara farklılaşarak yaranın kontraksiyonunu sağlamalarıdır.(45)

Fibroblastlar yaralanmadan sonraki 72-96.saatlerde yara bölgesinde görülürler. Yedinci günde en yüksek seviyeye ulaşırlar ve 15-21.güne kadar yarada aktif olarak görev alırlar. Yara bölgesine göç eden fibroblastlar yeni ESM'nin ve immatür kolajenin (tip III) sentezine başlarlar.(40) Yeni sentezlenen kolajenin içeriği, kolajen turnover'ı ile belirlenmektedir.(46) Kolajenaz tarafından kontrol edilen kolajen depozisyonu yaranın gerilme direncine katkı sağlamaktadır.(45)

Yara kontraksiyonu yaralanmayı takiben 7-14.günlerde gerçekleşmektedir(15). Yara kontraksiyonu, yara kapanmasının gerçekleşmesi amacıyla yara kenarlarının merkeze doğru kasılması olarak tanımlanmıştır.(36) Fibroblastlar, TGF-1 β 'nin ve PDGF'nin kontrolünde fenotipik olarak miyofibroblastlara farklılaşmaktadırlar.(16, 28, 45) Miyofibroblastlar, fibroblastlardan köken alan, sitoplazmasında düz kas benzeri mikrofilamanlar içeren bir hücredir.(47) Ayrıca, miyofibroblastların yara kontraksiyonu sırasında düz kas hücrelerine benzer davranışları olduğu düşünülmektedir.(48) Miyofibroblastların, yara kapamasını kolaylaştırmak için kontraksiyon esnasında ESM'nin

kenarlarına sıralandığı gözlemlenmiştir.(41) Aktinden zengin miyofibroblastlar yara kenarlarını düz kas hücreleri gibi kasılmakta ve defektin boyutlarını azaltmaktadırlar. Elektron mikroskobu altında yürütülen çalışmalarda, yara dudaklarının tam birleştirilmediği iyileşmelerde, granülasyon dokusunda miyofibroblastların sayıca yüksek olduğu bildirilmiştir. Yara kontraksiyon miktarının, yaranın boyutlarına, derinliğine ve yerine bağlı olduğu, yüzeysel yaralarda daha az kontraksiyon izlenirken derin yaralarda daha çok kontraksiyon izlendiği bildirilmiştir.(33)

TGF- α , EGF ve FGF salımı, epitelyal hücrelerin migrasyon ve proliferasyonunu uyarak re-epitelizasyonu başlatmaktadır.(41) Yara kenarlarından köken alan epitelyal hücreler bazal membran üzerinde yer değiştirerek, yaranın yüzeyini yeniden örtmeye başlamaktadırlar. Re-epitelizasyon süreci, cilt dokusunun farklı olarak oral mukozada daha hızlı gerçekleşmektedir.(45)

2.2.1.3. Yeniden şekillenme evresi

Olgunlaşma ve yeniden şekillenme evresi yara iyileşme sürecinin en uzun süren evresidir. Bu evre, yaralanmayı takiben yedinci günde başlayıp, aylar belki yıllar boyunca devam etmektedir.(49) Bu evrede, granülasyon dokusunun yerini daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusu almaktadır. İyileşen yaranın metabolik ihtiyaçları azaldıkça granülasyon dokusundaki yoğun kapiller ağ gerilemeye başlamaktadır. Tip III kolajen ise, sitokin ve büyüme faktörlerinin etkisi altında tip I kolajene dönüşmekte ve organize olup, moleküler çapraz bağlarla skar dokusunun yapısına katılmaktadır.(33) Biriken Tip III kolajen zamanla, yerini daha dayanıklı olan tip I kolajen'e bırakır. Bu durum yara dokusunun gerilme direncinin giderek artmasına katkıda bulunur. Yara dokusu, maturasyonu sonucunda orijinal gücünün %80'ine ulaşır.(32, 49)

Yara iyileşmesinde yapım olayları kadar yıkım olayları da önemlidir. Yeniden şekillenme evresi boyunca devam eden kolajen turn-over'ı büyük ölçüde matriks metalloproteinazlar (MMP) tarafından yönetilmektedir. MMP aktivitesi ise, doku inhibitörü metalloproteinazlar (TIMP) tarafından kontrol edilmektedir. TIMP'lar ve MMP'ler arasında doğal bir denge mevcuttur ve skar içindeki proteolitik aktivite bu denge ile kontrol edilmektedir. Dengenin herhangi bir şekilde bozulması, matriks oluşumu bozacaktır. Bu durum keloid oluşumu ya da yaranın açık kalması ile sonuçlanabilir.(50)

2.2.2. Yara iyileşmesine etki eden faktörler

Yara iyileşmesinin lokal veya sistemik birçok faktörün etkisi altında olduğu bilinmektedir. Yaranın temizliği, enflamatuvar yükü, büyüklüğü, bulunduğu yer, yaralanma tipi gibi faktörler bunlara örnek verilebilir.

2.2.2.1. Yara iyileşmesine etki eden lokal faktörler

Enfeksiyon varlığı, yara iyileşmesini geciktiren önemli bir lokal faktördür. Enfeksiyon varlığı sebebiyle oluşan enflamatuvar yanıt, enflamasyonun şiddetinin artması ile enflamatuvar evrenin uzamasına ve yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır (3).

Doku iskemisi, doku onarımını engelleyen önemli faktörlerden birisidir. Yeterince kanlanması olmayan bir yarada, nötrofillerin ve diğer enflamatuvar mediyatörlerin bölgeye gelişinin gecikmesi, savunmayı yavaşlatacak ve bakteri proliferasyonuna sebep olacaktır. Ayrıca yara iyileşmesi için gerekli olan besinler ve oksijen yara yerine gerekli miktarlarda ulaşamayacağı için doku nekrozu gözlenebilir.(51)

Yabancı cisimler, enflamatuvar evrenin uzamasına, olası bir enfeksiyona ve sonuçta iyileşmede gecikmeye neden olurlar.

Ödem, yara bölgesindeki dolaşımı etkileyebilir, granülasyon dokusunun proliferasyonunu ve kontraksiyonunu bozabilir.

Yaranın lokalizasyonu, dokunun kanlanmasını ve gereken doku direncini etkilemektedir. Kanlanmanın fazla olduğu bölgelerde oluşan yaralar gerekli besin ve oksijene daha rahat ulaşacaktır. Ayrıca hareketsiz dokular, hareketli dokulara göre daha hızlı iyileşmektedirler.

Radyasyon, yara iyileşmesi sürecinin tüm basamaklarını etkilemektedir. Enflamasyonu, fibroblast proliferasyonunu, ESM üretimini, anjiogenezis ve büyüme faktörü sentezini inhibe ettiği bilinmektedir.(37, 52)

2.2.2.2. Yara iyileşmesine etki eden sistemik faktörler

İrk, Cinsiyet ve Yaş: İrklar arasında, skarlar iyileşme sırasında keloid oluşumu bakımından farklılıklar vardır. Siyah ırkta, diğer ırklara göre daha yüksek keloid oluşumu bildirilmiştir. Hücrelerin rejenerasyon kapasitesindeki azalmaya nedeniyle, genç bireylerde yaşlı bireylere göre daha hızlı yara iyileşmesi görülmektedir. Cinsler arasında ise belirgin bir fark bildirilmemiştir.(14)

Malnütrisyon: Hafif ve orta derecede beslenme eksiklikleri, yara iyileşmesi sürecini etkilemezken, ileri derecedeki beslenme eksikliklerinde yaraların daha geç kapanacağı düşünülmektedir. Karbonhidratlar ve yağlar, hücrelerin temel enerji kaynağı olarak yara iyileşmesinde rol alırlar. Ayrıca yeni hücre sentezinde; özellikle hücre membranı sentezinde yağların büyük rolü olduğu bildirilmiştir. Eksikliklerinin de süreci olumsuz yönde etkileyeceği bildirilmiştir.(53) Protein eksikliği; kolajen ve proteoglikanların sentezini, kapiller ağ oluşumunu ve fibroblast proliferasyonunu etkilemektedir.(37) Protein eksikliğinin, gerekli olan aminoasitlere ulaşımı kısıtlayarak immün sistemi de zayıflatacağı bildirilmiştir. Methionin, sistein ve arjinin gibi aminoasitlerin yara iyileşmesinde önemli rolleri olduğu bildirilmiştir.(54) Minerallerin eksikliği de iyileşme sürecini olumsuz olarak etkileyen faktörler arasındadır. İleri derecedeki demir eksikliği hidroksiprolin sentezini azaltmaktadır. Bu durum gerekli miktarlarda kolajenin sentezlenmesini engellemektedir. Çinko eksikliği ise epitelizasyon hızında ve yara gerilme kuvvetinde azalma ile sonuçlanır. Kolajen sentezi ve direncinde de olumsuz yönde bir etki gerçekleşir.(55)

Vitaminler; vücudun kofaktör öncüleri olarak bütün metabolik fonksiyonlarda rol oynamaktadırlar: A vitamini; immün sistem fonksiyonlarının yanı sıra epitelizasyon ve hücrel diferansiyasyon için de gereklidir. Yara bölgesinde monosit/makrofaj sayısını arttırmakta, epitelial hücre diferansiyasyonunu düzenlemekte ve kolajenaz aktivitesini uyarmaktadır. C vitamini eksikliğinde, kolajen sentezi ve enflamasyon süreçlerinde aksaklıklar gözlemlenmektedir. C vitamininin eksikliği, kolajen sentezinin hidroksilasyon basamağında bozulmaya sebep olur böylece yara gerilme kuvvetinde azalma meydana gelir. E vitamininin ise antioksidan etkileri vardır. Ayrıca lizozomların membran stabilizasyonuna etkileri bildirilmiştir.(56, 57)

İlaçlar: Kortikosteroidler; enflamasyonu, anjiogenezisi, fibroblast proliferasyonu, re-epitelizasyonu, kolajen sentezi ve yıkımını, yara kontraksiyonunu olumsuz şekilde

etkileyerek iyileşme sürecinde aksaklıklara neden olur. Bunun dışında, antineoplastik ve antikoagülan ilaçların da pıhtılaşma ve vaskülarizasyonu engellemesi sebebiyle iyileşme sürecini geciktireceği bildirilmiştir.(37)

Diyabet: Diyabetik hastalarda iyileşmenin geciktiği bilinmektedir. Bu hastalarda nötrofil ve makrofaj fonksiyonlarında bozulmalar söz konusudur. Bu durum bakteri miktarında gözlemlenen artış ile enfeksiyon riskinin artmasına sebep olur. Ayrıca fibroblastların aktivitesinde ve buna bağlı olarak da kolajen sentezinde bozulmalar olur.(58, 59)

2.2.3. Yara iyileşmesinde rol oynayan bazı mediyatörler

2.2.3.1. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü, ağırlıklı olarak endotelyal hücreler üzerinde etki göstermekte ve anjiogenezisin anahtar mediyatörü görevini üstlenmektedir. Güçlü vazodilatasyon etkisiyle kılcal damarların geçirgenliğini artırmaktadır. Trombositler, epitelial hücreler, lökositler ve makrofajların yanı sıra vasküler düz kas hücreleri tarafından da sentezlenerek salgılandıkları bilinmektedir.(60, 61)

VEGF, heparin bağlayıcı bir glikoproteindir.(42) Plasental büyüme faktörü (PLGF) ve VEGF-A, B, C, D VEGF ailesinin üyeleridir. Endotel hücreleri üzerindeki vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGF-R1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGF-R2) ile lenf damarları üzerindeki vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-3 (VEGF-R3) olmak üzere üç VEGF reseptörü bildirilmiştir.(62)

Carmeliet 2003 yılında hipoksik durumların VEGF-R1'i aktifleştirdiğini ve bu durumun VEGF-R2'yi inhibe ettiğini gözlemlemiştir. Ancak 72 saati geçen hipoksik durumlarda yaşanan doku hasarı VEGF-R2 ekspresyonunu artırmış ve anjiogenezisi başlatmıştır.(63)

Endotelyal hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu ve diferansiyasyonu VEGF reseptörlerinin aktivasyonu sayesinde fosforile olan bir dizi hücre içi sinyal iletim proteini aracılığıyla gerçekleşir.(62) Bu aktivasyon endotelyal hücrelerin apoptozisini de inhibe

etmektedir. VEGF'nin yara bölgesinin revaskülarizasyonunu ve permeabilitesini düzenlediği bilinmektedir. Ayrıca, granülasyon dokusunun yapımına da katılmaktadır.(64)

VEGF'nin aşırı üretimi sebebiyle granülasyon depozisyonunun arttığı bildirilmiştir.(65) Ek olarak, VEGF proteinleri ve reseptörleri ailesi, embriyonik vasküler gelişim ve erişkinlerde tümöral büyüme gibi patolojik neovaskülarizasyonlarla da ilişkilendirilmiştir.(66)

Xu ve ark.; 2013 yılında yaptıkları *in vitro* çalışmada VEGF/VEGF-R2 sinyalinin; insan göbekbağı damarı endotelial hücrelerine olan etkisini incelemiş ve anjiogenezi düzenlediğini göstermişlerdir.(67)

Zhu ve ark. 2019 yılında yaptıkları çalışmada diyabetik sıçan modeli kullanarak VEGF/VEGF-R2 sinyalinin indüklenmesinin, anjiogenezi hızlandırdığı ve böylece yara iyileşmesini desteklediğini bildirmişlerdir.(68)

Goswami ve ark. fibroblast hücrelerinde aşırı VEGF ekspresyonunun *in vitro* ve *in vivo* anjiyogenezi arttırdığını göstermişlerdir. VEGF'nin aşırı ekspresyonunun, iyileşme sürecinin erken aşamasında gelişmiş anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumuyla sonuçlandığını ayrıca iyileşme süresinin kısalacağını göstermişlerdir. Bu olumlu etkiler, yara iyileşmesi bozulmuş hastalarda terapötik potansiyel olduğunu düşündürmektedir.(69)

2.2.3.2. Leptin

16 kDa'lık bir sitokin olan ve birden fazla fenotipik özelliği etkileyebilme kapasitesi olan leptinin, yara iyileşme sürecinin önemli bir bileşeni olduğu, eksikliğinde ise yara iyileşmesinin bozulduğu bildirilmiştir. Leptinin, obezite geni ürünü olduğu ve yağ dokularından salgılandığı tespit edilmiştir.(70)

Leptinin, kendi reseptörlerini parakrin veya otokrin tarzda aktive ederek hipotalamus-hipofiz-hedef organ ekseninde bir dizi merkezi mekanizmanın aktivasyonunu sağladığı gözlemlenmiştir. Bu da leptine, immün yanıtta, hematopoezde, enflamasyon da ve vasküler yeniden şekillenme veya neovaskülarizasyonda etki edebilme gücü vermektedir. Aynı zamanda ekspresyonunda glukokortikoidlerin, enflamatuvar sitokinlerin ve insulin gibi çeşitli hormonların da etkisi gözlenmiştir.(70)

Yara iyileşmesinde olan etkileri, iyileşmenin tüm fazlarında gözlenmiştir. Makrofajların kemotaksisinde ve fagositik aktivitesinde artış sağlayarak debrislerin

uzaklaştırılmasını hızlandırmaktadır. Ayrıca CD64'ün ekspresyonunu uyararak, monositlerin yara iyileşmesine olan katkılarını artırmaktadır. Ek olarak, lenfosit ekspresyonunu artırdığı da gözlenmiştir.(71)

Kanda ve Watanabe yaptıkları araştırmada leptinin, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü -1 ve -3 (STAT1 ve STAT3)'ü, mitojenle aktive olan protein kinazlar ailesinden olan p38^{MAPK} veya Janus kinaz ailesinden olan JAK2 genleri aracılığıyla aktive ederek IL-1 kaynaklı hBD-2 üretimini desteklediği sonucuna varmışlardır.(72)

Human beta defensin-2 enflamasyonu baskılamada çok efektif olduğu bilinen endojen mukozal bir peptittir.(73) Koeninger ve ark. hBD-2'nin kemokin reseptörü 2'ye bağlanarak, NF-κB ekspresyonunu azalttığını ve böylece enflamasyonu baskıladığını bildirmiştir.(74)

Enflamasyona olan etkisine ek olarak leptin, p38^{MAPK} ve Akt aktivasyonu sonucu COX-2 ekspresyonu ile angiogeneze destek olmakta, endotel hücrelerinin proliferasyonuna katkı sağlamaktadır. Bu etkisini VEGF-R2 üzerinden gösteren leptinin kapiller proliferasyon üzerindeki etkisinin majör proanjiogenik faktör olan VEGF ile benzer olduğu bildirilmiştir.(75) Bir diğer çalışmada da leptinin anjiogeneze olan katkısının endotel hücrelerden VEGF sekresyonunu artırarak olduğu bildirilmiştir.(76)

Yapılan çalışmalarda aynı zamanda, aşırı leptin varlığında, yara yüzeylerinde kolajen yapısında gözlenen bozulmalar sebebiyle keloid oluşumu bildirilmiştir. Bunun sebebinin ise, sitokin üretiminde yaşanan bozulma sebebiyle iyileşme fazının uzaması olabileceği bildirilmiştir.(77)

Murad ve ark. leptin ekspresyonunun insizyonel ve eksizyonel yaralarda, deri dokusunda hızlı ve istikrarlı bir şekilde artışını göstermiştir. İmmünohistokimyasal olarak yapılan incelemelerde, bazal keratinositlerde, kan damarı duvarlarında ve fibroblastlarda sürekli olarak artan leptin proteini seviyeleri gözlemlenmiştir. Normal iyileşmede leptinin gerekli olup olmadığını belirlemek için eksizyonel yaralar nötralize edici anti-leptin antikorları ile tedavi edilmiş ve bu tedavi, iyileşmenin ilerlemesini önemli ölçüde engellemiştir. Ayrıca yara duvarlarının kapanması ve kasılması da önlenmiştir. Leptin ekspresyonunun akut yaralı deride artış gösterdiği sonucuna varılmış ve bu lokal leptin üretiminin normal yara iyileşmesinin otokrin/parakrin düzenleyicisi olarak enflamatuvar ve proliferatif fazlarda kritik bir role hizmet ettiği gösterilmiştir. Aynı zamanda yaralanmadan

sonraki ilk 24 saat içinde dolaşımdaki leptin seviyelerinde de geçici bir artış tespit edilmiştir.(78)

2.2.3.3. Laminin

Lamininler, α , β ve γ zincirlerinin çapraz şekilli heterotrimerlerinden oluşan ve esas olarak çeşitli dokuların bazal laminalarında lokalize olan hücre dışı matriks proteinlerinin bir ailesini oluşturur. Disülfide bağlı bu üç polipeptidin farklı kombinasyonlarla birleşiminden olan lamininler, büyük molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir. Lamininlerin adlandırılması da bu polipeptid zincirlerinin bileşimine göre yapılmaktadır. Hücre içi ve dışı arasında fiziksel köprüler kuran laminin, kritik bir takım hücrel sinyallerin iletilmesini sağlayan ağlar da oluşturmaktadır. Ayrıca bazal membran yapısına katılan polimerler için yapıtaş görevi gördüğü de gözlenmiştir. İnsan genomunun, bu kombinasyonlar aracılığı ile genetik olarak birbirinden farklı 11 laminin zinciri kodladığı tespit edilmiştir.(79)

İnsan genomunda, 1,3,6,7,9,18 ve 20. kromozomlara dağılmış olan 11 genden 5α , 3β ve 3γ alt birimi kodlanabilmektedir. Tüm bu α , β ve γ zincirleri arasında, teorik olarak 50'den fazla heterotrimerik ilişki olacağı düşünülmektedir. Ancak henüz çok daha az sayıda laminin çeşidi izole edilebilmiştir.(80)

N- ve C- terminal uçları bulunan lamininin C-terminal uçları genel bir kural olarak hücre yüzey reseptörleri ile etkileşimdedir. Adezyon, migrasyon apoptoz sinyali gibi iletilerle ilişkilidir. N-terminal uçlar ise; bazal membranda bulunan diğer hücre dışı matriks molekülleri ile etkileşim halindedir. Bu etkileşimler ile bazal membrana bağlanma ve bazal membranın stabilizasyonunda rol oynamaktadır.(79)

$\alpha 5$ zincirini içeren heterotrimerler, özellikle laminin 511 ve 521, yetişkin organizmasında en yaygın izoformlardır.(81) $\alpha 5$ zinciri içeren izoformların yanı sıra, laminin 211 ve 221, iskelet ve kalp kaslarının bazal membranında bulunur.(82) Laminin 411 ve 421 endotelial bazal zarlarda bol miktarda bulunurken(83), Laminin 332 ise, epitel hücrelerinin altında yatan bazal laminaya özgüdür.(84) Bunlardan $\alpha 3$, $\beta 3$ ve $\gamma 2$ zincirlerinden oluşan laminin 5, $\gamma 2$ zinciri içerdiği için ailede sıra dışı bir protein olarak kabul görmektedir.(85)

İntegrinler, lamininlerin C-Terminal bölgesinde, kovalent olmayan bir şekilde bağlanmış olan α ve β alt birimlerinden oluşan heterodimerik membran proteinleridir.(86) Hücrenin gelen laminini tanımasını ve herhangi bir laminin türüne olan afinitesini belirlemektedir.(87) Bugüne kadar, memelilerde α ve β alt birimlerinin farklı kombinasyonlarından oluşan en az 24 ayrı integrin tanımlanmıştır. Bunlar arasında $\alpha1\beta1$, $\alpha2\beta1$, $\alpha3\beta1$, $\alpha6\beta1$, $\alpha6\beta4$ ve $\alpha7\beta1$ integrinleri laminin reseptörleri olarak işlev görür.(88) $\alpha1\beta1$ ve $\alpha2\beta1$ integrinleri, laminin $\alpha1$ ve $\alpha2$ zincirlerinin N-terminal alanlarını tanımaktadır.(89-91) $\alpha3\beta1$, $\alpha6\beta1$, $\alpha6\beta4$ ve $\alpha7\beta1$ integrinleri ise, lamininlerin C -terminal kısımları ile ilişkili olduğu bulunmuştur.(88)

Colognato ve ark. yaptıkları çalışmada laminin $\gamma2$ integrin $\alpha3\beta4$ için, ameliyattan 1-3 gün sonra yenilenen oral epitelin ön kenarındaki hücre zarlarında çeşitli immünoreaktiviteler gözlemlemiştir. Bu çalışmada yaralanmayı takiben, bazal lamina ve hemidesmozomlar oluşmuş ve hücre polaritesi belirlenmiştir. Gözlemler esnasında, laminin $\gamma2$ integrin $\alpha3\beta4$ ekspresyonu, bazal hücrelerde ve dişe bakan hücrelerde hem eksternal bazal lamina (EBL)'da hem de internal bazal lamina (IBL) 'da belirgin halde saptanmıştır. Bu gözlemlerden, adeziv proteinlerin sekresyonu ile hücre polarite arasında yakın bir ilişki olduğu düşünülmektedir.(85) Kinumatsu ve ark., laminin $\gamma2$ (lanc2) ekspresyonunun IBL'de EBL'den daha yüksek (yaklaşık 12 kat) olduğunu göstermiştir. Ameliyattan 7 gün sonra IBL'nin apikal yarısında laminin $\gamma2$ için pozitif bir reaksiyon gözlemlenmiştir.(92)

Hücre yapışması ve hücre göçü arasındaki ilişki ile ilgili olarak Goldfinger ve ark., epitel yara iyileşmesinde laminin 5, integrin $\alpha3\beta1$ ve integrin $\alpha6\beta4$ 'ün işlevleri için bir model önermişlerdir. Bu modelde, hücre yapışması, laminin 5'in integrin $\alpha6\beta4$ 'e bağlanmasıyla indüklenmiş ve hücre göçü ise, laminin 5'in integrin $\alpha3\beta1$ 'e bağlanmasıyla tetiklenmiştir.(93)

2.2.3.4. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)

Çeşitli izoformlar halinde yara iyileşmesinin farklı evrelerinde görev alan dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) yara kontraksiyonu, fibrozis ve skar oluşumunda rol almaktadır. Aynı zamanda VEGF, Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi yara iyileşmesinde düzenleyici rol üstlenmiş olan çeşitli mediyatörlerin de ekspresyonunda

görev almaktadır. Yaralanmayı takiben, trombositlerde depolanan TGF- β , yaraya verilen akut yanıt sırasında ilk olarak salınan mediyatörlerdendir. Enflamasyon ile bölgeye çağrılan T hücreleri sayesinde daha fazla TGF- β salınır, bu da vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibronektin, kolajen -I ve -III, ve matriks metalloproteinaz (MMP) -1 ve -9 ekspresyonunu indükleyerek anjiyogenezi ve kolajen sentezini destekler.(94)

Yara iyileşmesinde TGF- β , granülasyon dokusunun organizasyonunda görev alarak enflamatuvar faz, proliferatif faz ve yeniden şekillenme fazlarını düzenlemektedir. Üç ayrı izoformu bulunan TGF- β 'nın en yaygın ve biyoaktif olanı TGF- β 1 formudur.(95) Yara iyileşmesinde aşırı skarlaşma ve fibroziste etkili olduğu gözlenmiştir. TGF-1 β , TGF- β 2 ve TGF- β 3'ün, eksprese edilen izoforma bağlı olarak, yaralar üzerinde farklı etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda TGF- β 3'ün cilt dokusunda anti-fibrotik etkileri olduğu gösterilmiştir. Yara iyileşmesinin erken evrelerinde TGF- β 3 konsantrasyonlarının TGF-1 β 'den daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak epitelizasyonun başlamasından sonra TGF-1 β seviyesinde yükselme bildirilmiştir.(96) TGF- β 2'nin, TGF-1 β 'e benzer aktiviteye sahip olduğu ve konsantrasyonunun azalmasının skar oluşumunu azalttığı gösterilmiştir.(97) Yaraları TGF-1 β ve TGF- β 2 antikoru ile tedavi eden araştırmacılar, çalışma sonuçlarında iyileşmiş dokunun yaralanmamış deriye benzer bir duruma geri geldiğini göstermişlerdir. Bu veriler doğrultusunda, TGF-1 β ve TGF- β 2'nin inhibisyonunun veya ekspresyonun azaltılmasının yara izlerini azaltabileceğini bildirmişlerdir.(98, 99)

2.2.3.5. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)

PDGF'nin yara iyileşmesinin her aşamasında görev aldığı bilinmektedir. Yaralanma durumlarında PDGF, degranüle olan trombositlerden salınır ve yara sıvısı içerisinde bulunur (100, 101). Bu, nötrofillerin, makrofajların, fibroblastların ve düz kas hücrelerinin mitojenitesini ve kemotaksisini yara bölgesine doğru olacak şekilde uyarır.(102)

PDGF, PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC ve PDGF-DD dahil olmak üzere bir homo- veya heterodimerik büyüme faktörleri ailesini içerir. PDGF'ler vasküler endotelial hücreler, keratinositler, trombositler, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından üretilir.(103-105)

Yaralanma ile ilgili olarak, PDGF'nin iskemik yaralanmada görüldüğü gibi VEGF ekspresyonunu artırmak için hipoksi ile sinerjistik olarak çalıştığı *in vitro* olarak gösterilmiştir.(106) Bununla birlikte, PDGF'nin anjiyojenik etkisinin FGF ve VEGF'den daha zayıf olduğu ve kan damarlarının ilk oluşumu için gerekli görünmediği belirtilmiştir.(104)

PDGF ayrıca *in vitro* olarak IGF-1 ve trombospodin-1 üretimini artırarak yeniden epitelizasyonda rol oynar.(107) IGF-1'in keratinosit motilitesini arttırdığı ve trombospodin-1'in proteolitik bozulmayı geciktirdiği ve *in vitro* olarak yarada proliferatif bir yanıtı desteklediği gösterilmiştir.(108,109)

PDGF'nin fibroblastlarda proliferasyonu ve dolayısıyla ESM üretimini arttırdığı da gösterilmiştir.(110) Bu esnada da kolajen matrikslerini kasılma için uyararak, bu hücrelerde miyofibroblast fenotipinin indüklenmesine sebep olmaktadır. Doku yeniden şekillenmesi sırasında da aktif görev alan PDGF, matriks metalloproteinazlarını yukarı doğru düzenleyerek, eski, hasarlı kolajenin parçalanmasına da yardımcı olmaktadır.(111)

Brauchle ve ark. 1995 yılında PDGF ekspresyonunun parakrin etki mekanizması sebebiyle yara onarımındaki genler üzerine olan etkilerini değerlendirmiş ve keratinosit büyüme faktörü (KGF), TGF-1 β , -2 β ve kolajen I'in ekspresyonunun baskılandığını göstermişlerdir.(112)

2.2.4. Yara onarım tipleri

Yara iyileşmesinin primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi olmak üzere üçe ayrıldığı bilinmektedir. Primer yara iyileşmesi, cerrahi materyaller sayesinde kenarları birbirine yaklaştırılan temiz, enfekte olmamış cerrahi insizyonların iyileşmesidir. İnsizyon bazal membranın bütünlüğünü noktasal olarak bozmuştur ve az sayıda epitelyal hücrenin ve bağ doku hücresinin hasarı söz konusudur. Bu tarzdaki iyileşmede beklenen epitelyal rejenerasyon, fibrozisten daha fazla olacaktır. Dar insizyon alanı hızla fibrinle pıhtılaşmış kanla dolacak, granülasyon dokusu organizasyonu daha hızlı olacaktır ve yeni epitel örtüsü ile yara kapanması tamamlanacaktır.(3)

Sekonder yara iyileşmesi, cerrahi materyallerle herhangi bir yakınlaştırma yapılmadan spontan iyileşmeye bırakılmış yaralarda gözlenen iyileşme tipidir. Doku

kaybının, onarılacak alanın fazla olduğu bu tip yaralarda iyileşme, yara kenarlarının karşı karşıya getirildiği yaralardan daha yavaştır. Ayrıca daha çok hasarlı doku olduğu için daha şiddetli bir enflamatuvar cevap oluşur. Bu yaraların iyileşme sürelerinin; yaranın derinliğine ve yara kenarlarının birbirine olan uzaklıklarına bağlı olduğu bildirilmiştir.(3, 30)

Tersiyer yara iyileşmesi, gecikmiş primer kapama olarak tanımlanmıştır. Bu iyileşme şekli kontamine dokudaki enfeksiyon riski söz konusu ise tercih edilmektedir. Kontamine yaranın debridmanı sonrasında granülasyon dokusunun oluşması beklenmektedir. Yara yaklaşık 1 hafta gün boyunca sekonder iyileşmeye bırakılır. Ardından yara kenarları birbirine yaklaştırılır. Bir haftalık bekleme süresinde, yaradan eksudanın drene olması ve ödem şiddetinde azalma gibi fizyolojik süreçlerin gerçekleşmesi beklenmektedir.(113)

Sekonder iyileşme primer iyileşmeden çeşitli yönleri ile farklıdır:

- Yapısal bütünlüğün sağlanabilmesi için oluşturulması gereken doku miktarı daha fazladır. Bu nedenle enflamatuvar yanıt ve iyileşme süresi daha fazladır.
- Sekonder iyileşmede daha fazla granülasyon dokusu oluşacaktır. Bu durum genellikle daha büyük skar doku ile sonuçlanır.
- Sekonder iyileşmede daha fazla yara kontraksiyonu söz konusudur. Bu olay fibroblastlardan farklılaşan, birçok niteliği düz kas hücresi ile eşdeğer olan myofibroblastlar tarafından gerçekleştirilmektedir.(3)

2.3. Periodontal Cerrahide Sekonder Yara İyileşmesi

Periodontal tedavi uygulamalarından biri olan periodontal plastik cerrahi, 1993 yılında Miller tarafından (114), dişeti veya alveolar mukozanın anatomik, gelişimsel veya travmatik şekil bozukluklarını düzenlemek veya ortadan kaldırmak için yapılan cerrahi girişimler olarak tanımlanmıştır. 1996 yılında gerçekleştirilen Dünya Klinik Periodontoloji Çalıştayı'nda alınan kararla periodontal-protetik düzeltmeler (kron boyu uzatma, kret genişletme cerrahileri vb.), implant veya diş etrafındaki pembe estetik amacıyla yapılan cerrahi operasyonlar, kök yüzeyi kapama cerrahileri bu tanım içerisine dahil edilmiştir.(115)

Periodontal plastik cerrahi uygulamaları ile; yetersiz olan keratinize dişetini arttırarak oral mukozadan daha dirençli bir yapı oluşturmak, hastanın oral hijyen uygulamalarını kolaylaştırmak, gingival marjine kadar uzanan frenilum ve kas ataşmanlarını ortadan kaldırarak gerilmeleri kısıtlamak ve lokalize dişeti çekilmelerini tedavi ederek estetik ve fonksiyonel sorunları düzeltmek hedeflenir.(116)

2.3.1. Serbest dişeti grefti

Keratinize dişeti; çiğneme sırasında oluşan temaslardan kaynaklanacak yaralanmalara karşı periodonsiyumu ve komşu alveoler mukozanın sebep olduğu çekme hareketinden gingival marjini korur, plağa bağlı dişeti hastalıklarının apikale ilerlemesine karşı doku direnci sağlar.(116) Lang ve Loe, periodontal sağlığın sürdürülebilmesi için diş çevresindeki keratinize dişeti bandı genişliğinin ≥ 2 mm olması gerektiğini bildirmişlerdir.(117) Son yıllarda keratinize dişeti varlığının, keratinize dişeti olmayan bireylere göre oral hijyen sağlanmasında hastanın avantajına olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple; oral hijyen uygulamalarının daha etkin yapılabilmesi, ekspoz olmuş kök yüzeylerinin direkt olarak kapatılması, birden fazla diş içeren dişeti çekilmelerinin tedavisi, ortodontik tedaviler sonrası alveoler kemikte görülen dehisens sonrası keratinize dişeti genişliğinin arttırılması için augmentasyon prosedürleri uygulanmaktadır.(116)

Keratinize dişeti genişliğini arttırmak için farklı birçok cerrahi teknik uygulanmaktadır. Ancak yarım asır önce uygulanmaya başlanan serbest dişeti grefti operasyonu yüksek başarı yüzdesi sebebiyle klinikte sıkça tercih edilmektedir.(118, 119) Bu tekniğin dezavantajı ise, alıcı bölgede görülen renk farkı ve verici bölgede oluşturulan yaranın sekonder iyileşmeye bırakılması sebebiyle hastalarda postoperatif ağrıların yaşanmasıdır.(120, 121)

2.3.2. Frenektomi

Frenilum; kas lifleriyle ilişkili olabilen, dudak ve yanak mukozasına ve/veya dişeti ve periosteuma bağlanan müköz membran katlantısıdır.(115, 122) Frenilum bağlantıları bazen serbest dişetine kadar uzanmaktadır. Bu durumlarda, dudak-yanak hareketleri

serbest dişeti kenarının dişten ayrılmasına sebep olur. Söz konusu ayrılma periodontal hastalık için risk faktörü olarak bildirilmiştir. Bu ayrılma plak akümülayonuna, diş fırçasının etkili kullanımının zorlaşmasına ve serbest dişetinin apikale doğru yer değiştirmesine sebep olmaktadır.(123)

Dişeti çekilmesiyle birlikte de estetik problemler, dentin hassasiyeti ve kök çürüğü riski artmaktadır. Ayrıca, kalın bir frenilum ortodontik kuvvetlere direnir. Bu durumda santral dişler arasında diastema görülmektedir.(124) Frenektomi işlemleri, frenilumun, alttaki kemikle olan bağlantısıyla birlikte çıkarılmasıdır. Uygulayıcılar çok sayıda farklı frenektomi tekniği geliştirilmiştir. Ancak birçoğunda yara yüzeyinin iyileşmesi sekonder iyileşme şeklindedir.(115,125)

2.3.3. Laterale kaydırılan flep

Dişeti çekilmesi, gingival marjinin mine sement sınırının daha apikalinde konumlanmasıdır. Dişeti çekilmelerinin etiolojisinde; hatalı diş fırçalama, yetersiz oral hijyen, frenilum ve kas ataşmanları, kemik dehissensleri, uyumsuz restorasyonlar, diş malpozisyonu, dişetinin viral enfeksiyonları, ortodontik hareketler ve periodontal hastalık yer almaktadır.(126)

Dişeti çekilmeleri; kozmetik problemlere, hipersensitiviteye ve servikal kök çürüğüne neden olmaktadır.(127) Dişeti çekilmesi tedavisinde kullanılan laterale kaydırılan flep tekniğinde (128), tek bölgede yapılan bir operasyon olması, estetik açıdan kabul edilebilir olması, kan desteğinin yeterli olması ve kök yüzeyini örtebilmesi gibi avantajlar bildirilmiştir.(129) Öte yandan, verici sahada oluşan yara bölgesi sekonder iyileşmeye bırakılmaktadır.(130)

2.3.4. Gingivektomi/Gingivoplasti

Dişeti büyümeleri, patolojik ceplerin elimine edilmesi, kron boyu uzatma, depigmentasyon ve nekrotizan periodontal hastalıklar sonrası bozulan gingival dokunun düzeltilmesi amacıyla uygulanan gingivektomi/gingivoplasti operasyonları sonrası açık bağ dokusu yarası oluşturulur. Operasyon sonrası meydana gelen geniş yara yüzeyinin

postoperatif dönemde yara iyileşmesi sekonder iyileşme şeklindedir. Bu nedenle, postoperatif iyileşme primer iyileşmenin beklendiği yara yüzeylerinden daha uzun sürede tamamlanır.(131)

Herhangi bir cerrahi işlemin başarısı, oluşturulan yaranın iyileşme durumuna bağlıdır. Ne kadar hızlı ve kaliteli bir yara iyileşmesi gerçekleşecek olursa, o denli başarılı bir tedavi sağlanmış demektir. Yara iyileşmesini iyi yönde hızlandırmak amacıyla kullanılan tedavi yöntemlerindeki ana hedef; yara iyileşmesinde rol alan faktörleri (enflamatuvar hücreler, trombositler, mediyatörler, hücre dışı matriks v.b.) etkileyerek, yara iyileşmesinin evrelerine ait süreyi kısaltmak ve ideal bir yara iyileşmesini sağlamaktır. Bunun için, pek çok topikal ve sistemik ajan kullanılmış ve yara iyileşmesindeki gecikme ve düzensizliklerin önüne geçilmeye çalışılmıştır. Periodontal cerrahi sonrası da bakteriyel kontaminasyonu önlemek, plak kontrolünü sağlamak ve yara iyileşmesini desteklemek amacıyla antimikrobiyal ajanların kullanıldığı görülmektedir.

2.4. Argan Yağı

Argan yağı, Fas'ın yerli halkı tarafından yüzyıllardır kullanılmaktadır. Bu yağ, Fas'ın güneybatısında endemik olan argan ağaçlarının çekirdeklerinden çıkarılmaktadır.(132) Antioksidanlar, yağ asitleri ve vitaminlerin kombinasyonunu içeren argan yağı, kozmetik endüstrisinde giderek daha popüler hale gelmektedir.(133)

Argan yağı, sadece güneybatı Fas'ta yetişen argan ağacının çekirdeklerinden çıkartılır.(134) Argan yağının yara iyileşmesini desteklemek, iltihaplanmayı azaltmak ve cilt elastikiyetini iyileştirmek gibi çeşitli yararları vardır.(135) Yüksek E vitamini içeriği, doymamış yağ asitleri ve antioksidanlar, onu cilt bakımı için mükemmel bir seçim haline getirir.(136) Ek olarak, yaşlanmayı geciktirici ve kanser önleyici özelliklere sahip olduğu da bulunmuştur.(137) Yapılan araştırmalar, argan yağının, skualen ile birlikte, fenol ve tokoferol bileşikleri aracılığıyla antibakteriyel ve radikal inhibisyon özelliklerine sahip olduğunu göstermiştir.(138)

Argan yağı elde etme süreci, yoğun emek harcanan ve çok zaman alan bir süreçtir. Fas'taki alışlagelmiş uygulama, yerli halkın argan meyvesini toplamasını, kuruması için güneş ışığına maruz bırakmasını, kayaları kullanarak sert kabuğu elle kırmasını ve ardından yağ çıkarmak için çekirdeklerini elle öğütmesini içermektedir. Şu anda, taneleri

ezen ve ayıran mekanik presler veya makineler gibi daha üretken teknikler tasarlansa da bazı zanaatkar kooperatifleri, kültürel önemleri ve sundukları yerel istihdam olanakları nedeniyle geleneksel yöntemleri kullanmayı tercih etmektedir. Argan yağının üretimi sırasında hangi ekstraksiyon yönteminin kullanıldığına bağlı olarak kalite seviyelerinin, lezzet notalarının ve besin değeri bileşiminin değişebileceğine dikkat edilmelidir.(139)

Argan yağı, esas olarak beslenmeye uygun (yemeklik) ve kozmetik kullanıma yönelik olacak şekilde, iki farklı versiyona sahiptir. Yemeklik argan yağı, yağı çıkarmak için preslenen kavrulmuş tanelerden yapılmaktadır. Cevizli bir tada sahiptir ve genellikle Fas mutfağında çiğ olarak tüketilmesine özen gösterilir. Kozmetik argan yağı ise yağı çıkarmak için soğuk pres metodunu, kavrulmamış çekirdeklere uygular.(140) Yüksek E vitamini ve antioksidan içeriği nedeniyle cilt ve saç bakım ürünlerinde sıklıkla kullanılmaktadır.(141) Bazı üreticiler, tortuları ortadan kaldırmak ve raf ömrünü uzatmak için yağı rafine eder ve kokusunu giderir.(142)

2.4.1. Argan yağı elde etme yöntemleri

2.4.1.1. Geleneksel yöntem

Geleneksel yöntemde meyvelerden elde edilen çekirdekler önce kurutulur, ardından kavrulur. Kavrulmuş çekirdekler soğutulur ve öğütülür, kahverengimsi bir hamur elde edilir. Bu hamur, birkaç dakika boyunca su ile karıştırılır. Yağı çıkarmak için, hamur katılaşana kadar elle preslenir ve bu şekilde elde edilen kahverengimsi emülsiyon dökülür, -birkaç dakika sonra- fındık tadıyla berrak bir yağ elde edilir. Bu teknik, %30'dan fazla yağ vermez, ayrıca raf ömrü kısadır. Geleneksel olarak, yağ gerektiğinde çıkarılır ve korunması için tuz eklenir.(143)

2.4.1.2. Soğuk pres yöntemi

Bu yöntemde, argan yağını çıkarmak için mekanik bir pres kullanılmaktadır. Bu teknikte, hamurun su ile karıştırılmasına gerek duyulmadan ve hamur doğrudan

preslenebilir. Diğer tüm adımlar değişmeden kalır, yağ yaklaşık %43 verimle (çekirdeklerden hesaplanır) elde edilir.(143)

2.4.1.3. Solvent ekstraksiyonu

Endüstriyel veya laboratuvar amaçlı olarak, argan yağı, herhangi bir uçucu lipofilik çözücü kullanılarak öğütülmüş çekirdeklerden ekstrakte edilebilir. Lipofilik çözücü ve öğütülmüş çekirdeklerle hazırlanan süspansiyonun buharlaştırma ile yapılan bir veya iki ekstraksiyon döngüsünden sonra, yağ %50 ila 55 verimle elde edilir.(143)

2.4.2. Argan yağının kimyasal yapısı

Argan yağının kimyasal içeriği; yağ asitleri (%99'luk kısım) ve sabunlaşmayan kısım (%1'lik kısım) olarak iki gruba ayrılarak incelenebilir.(144)

Tablo 1: Argan yağının kimyasal içeriği

Yağ asitleri (%99)	Sabunlaştırmamayan kısım (%1)
Oleik asit (C18:1) (%43-49)	Karotenoid bileşikler (%42) [Karoten(%37) - Ksantofil (%5)]
Linoleik asit (C18:2) (%29-36)	Tokoferoller (%8)
Stearik asit (C18:0) (%3,5)	Triterpen alkoller (%20)
Palmitik asit (C16:0) (%12)	Steroller (%9)
Myristik asit (C14:0) (%<0.1)	Fenolik Bileşikler (%20)
Palmitoleik asit (C16:1) (%<0.1)	Skualen (%1)
Araşidik asit (C20:0) (%<0.1)	
Behenik asit (C22:0) (%<0.1)	

2.4.2.1. Yağ asidi profili

Triasilgliseroller (TAG), argan yağının ana bileşenidir. Argan yağının %99'undan fazlası, her biri üç yağ asidi ile esterlenmiş TAG karışımlarından, yani gliserol moleküllerinden oluşur. Argan yağı, çoğunlukla oleik asit (C18:1) ve linoleik asit (C18:2) olmak üzere tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir. Bu iki yağ asidinin argan yağındaki oranları sırasıyla %43-49 ve %29-36 arasındadır. Argan yağı ayrıca stearik asit (C18:0) ve palmitik asit (C16:0) gibi iki önemli doymuş yağ asidi içerir. Bu iki yağ asidinin argan yağındaki oranları sırasıyla %3.14-3.28 ve %11.70-11.75 arasındadır. Argan yağındaki diğer yağ asitleri, myristik asit (C14:0), palmitoleik asit (C16:1), araşidik asit (C20:0) ve behenik asit (C22:0) gibi daha düşük miktarlarda bulunur.(145, 146)

Argan yağındaki ana yağ asitleri oleik, linoleik, stearik ve palmitik asitlerdir. Argan yağı, diğer tohum yağlarına göre yüksek oranda oleik asit içerir ve ayrıca çoklu doymamış yağ asidi olan linoleik asit bakımından da zengindir.(143, 147)

Tablo 2: Argan yağının yağ asidi profili ve bulunma oranları

Yağ Asidi	Argan Yağındaki Oran (%)
Oleik asit (C18:1)	43-49
Linoleik asit (C18:2)	29-36
Stearik asit (C18:0)	3.14-3.28
Palmitik asit (C16:0)	11.70-11.75
Myristik asit (C14:0)	<0.1
Palmitoleik asit (C16:1)	<0.1
Araşidik asit (C20:0)	<0.1
Behenik asit (C22:0)	<0.1

2.4.2.2. Argan yağı'nın mikro bileşenleri

Argan yağının mikro bileşenleri iki geniş gruba ayrılabilir. Birinci grup, gliseritler (mono ve diasilgliseroller), fitosteroller, triterpenler ve alkoller gibi yağ asidi türevlerinden

oluşur. İkinci grup, yağ asitleri ile kimyasal olarak ilişkili olmayan bileşik sınıflarını içerir. Bunlar arasında hidrokarbonlar, alifatik alkoller, tokoferoller (aktif e-vit), pigmentler, fenolikler ve eser metaller bulunur. Argan yağının sabunlaştırılmayan fraksiyonunda bulunan mikro bileşenlerin çoğu fitosteroller, triterpen alkoller, tokoferoller ve ksantofillerdir.(145, 147)

Tablo 3: Argan yağının sabunlaştırılmayan kısmının içeriği ve bulunma oranları

<i>Bileşik</i>	<i>Argan Yağı Sabunlaştırılmayan Kısımındaki Oran (%)</i>
Karotenid Pigmentler	42
Tokoferoller	8
Triterpen alkoller	20
Steroller	29
Fenolik Bileşikler	0,1- 0.2
Skualen	<1

Tablo 3: Argan yağının sabunlaştırılmayan kısmının içeriği ve bulunma oranları

2.4.2.2.1. Triterpen alkoller

Bunlar esas olarak 30 karbon atomlu beş yoğunlaştırılmış sikloheksan halkasından oluşan karmaşık bir bitki bileşen grubudur. Triterpen alkoller, kromatografi ile sterollerden ayrılabilir ve ham argan yağında tespit edilen az miktardaki, lupan, ursan ve oleanan türevlerini içerir. Bunlar majör triterpenik alkoller olarak B-amyrin, butiropemol ve tirucalol içerir ve triterpenik fraksiyonun sırasıyla %27.3, %18.1 ve %27.9'luk kısımlarını oluşturmaktadırlar. Argan yağındaki sabunlaşmayan fraksiyonu ise, yaklaşık %20 oranında triterpen alkol içerir.(143)

2.4.2.2.2. Steroller

Steroller, genellikle 27, 28 veya 29 karbon atomlu tetrasiklik bileşiklerdir. Argan yağında dört tip sterol bulunmuştur. İzole edilen majör yoğunluktaki steroller, spinasterol

ve skhottenol (sırasıyla %44 ve 48) iken, minör yoğunluktaki steroller, [stigmasta-8,22-dien-3 β -ol (22-E, 24-S) ve stigmasta-7,24-28-dien-3 β -ol (24-Z)] %4 verimle izole edilmiştir.(147)

2.4.2.2.3. Tokoferoller

E vitamini, tokoferoller ve tokotrienoller olarak bilinen iki ana homolog dizi bileşiği (tokromanoller) içeren yağda çözünen bir vitamindir. Tokoferoller yapısal olarak kromatin halkası üzerinde doymuş bir yan zincir ile karakterize edilirken, tokotrienoller doymamış bir yan zincire sahiptir. Dört homologun her tipinin de doğada var olduğu bilinmektedir. Ayrıca her biri farklı derecelerde antioksidan ve E vitamini aktivitelerine sahiptir. Bitkisel yağlar, özellikle de tohum yağları, zengin tokoferol kaynaklarıdır. Ham argan yağındaki tokoferol miktarının 629 ila 660 mg/ kg arasında olduğu bildirilmiştir. Argan yağında α -Tokoferol ve β - ve γ -tokoferol tespit edilmiştir. Tespit edilen ana tokoferol ise %75 (500 mg/ kg)'lik oranla γ -analogu olmuştur.(147)

Benzer şekilde, sabunlaştırılmayan fraksiyon ile yapılan çalışmalar, argan yağının tokoferol açısından (620 mg/kg) zengin olduğunu (zeytinyağında 320 mg/kg ve ayçiçek yağında 400 mg/kg), vurgulamıştır.(147,148) Argan yağı, tokoferol açısından zeytinyağından neredeyse iki kat daha zengindir (620 ve 320 mg/kg). Argan yağında α -Tokoferol ve β - ve γ -tokoferol tanımlanmıştır.(145) Bu tokoferollerin (E Vitamini) polifenollerle bir arada bulunmasının, argan yağının kanserden korunmaya karşı etkili olduğunu düşündürmektedir. Argan yağının γ -tokoferol ve antioksidan içeriğini araştırdıkları çalışmalarında toplam tokoferollerin 427.0 ile 654.0 mg/kg arasında değiştiği sonucuna varmışlardır. Sızma argan yağı, diğer yenilebilir bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında daha yüksek bir tokoferol içeriği ve toplam antioksidan aktivite göstermiştir.(149)

Yayınlanan bazı verilerde, sızma argan yağındaki toplam tokoferol içeriğinin sızma zeytinyağı için bildirilen içerikten daha yüksek olduğunu, ancak diğer yenilebilir bitkisel yağlardan daha düşük olduğu gösterilmiştir.(149) Örneğin, Pellegrini ve ark. (2003) sızma zeytinyağındaki α -tokoferol içeriği hakkındaki verilerin 251-369 mg/kg olduğunu bildirmiştir; α -tokoferol, zeytinyağındaki toplam tokoferollerin ana kısmını temsil eder.(150) Tuberoso ve ark. tarafından 2007 yılında yapılan çalışmada, mısır ve soya

fasulyesi yağlarında sırasıyla 1618,4 ve 1797,6 mg/kg toplam tokoferol değerleri tespit edilmiştir.(151) Szydlowska-Czerniak ve ark. (2008) kolza tohumu ve zeytinyağındaki toplam tokoferollerin sırasıyla 555 ve 690 ile 80 ve 190 mg/kg arasında değiştiğini bildirmişlerdir.(152)

2.4.2.2.4. Karotenoid pigmentleri

Doğada bulunan çeşitli pigment sınıflarından olan karotenoid pigmentleri özellikle çeşitli işlevleri nedeniyle en yaygın ve önemli olanlar arasındadır. Bunlar çoğunlukla bitkilerde, meyvelerde, çiçeklerde, alglerde ve fotosentetik bakterilerde bulunan yağda çözünen pigmentlerdir, ancak bazı fotosentetik olmayan bakterilerde, mayalarda ve küflerde de bulunurlar. Ham argan yağının analizleri yapıldığında, sabunlaştırılmayan fraksiyon olarak bilinen kısmın yaklaşık yarısının (%42) karotenoid pigmentlerden oluştuğu bildirilmiştir.(143)

2.4.2.2.5. Skualen

Temel skualen bileşikleri hidrokarbonlardır. Zeytinyağı ve diğer bitkisel yağlara benzer şekilde, argan yağı yüksek miktarda skualen içerir. Bitkisel yağlardaki skualen, genellikle %0,15'ten daha düşük miktarlarda bulunurken istisnai olarak zeytinyağı ve argan yağında %0,3'ten yüksek oranda bulunmaktadır.(147)

2.4.2.2.6. Fenolik bileşikler

Argan yağı fenolik içerik açısından zengindir. Yemeklik ve kozmetik argan yağında GC-MS analizi ile dokuz fenol (3-hidroksipiridin (3-piridinol), 6-metil-3-hidroksipiridin, katekol, resorsinol, 4-hidroksibenzil alkol, vanilil alkol, 4-hidroksi-3-metoksifenetil alkol, epikateşin ve kateşin) belirlenmiştir. Posanın analizi ise 16 fenol bileşiği ortaya çıkarmıştır; ancak bunlardan altısı (vanilin, 4-hidroksifenilasetik asit, 3,4-dihidroksibenzil alkol, metil 3,4-dihidroksibenzoat, hidroksitirosol ve protokatekinik asit) yağlarda bulunmayan yeni fenollerdir. Marfil ve ark. (2011) argan yağındaki toplam polifenolik içeriğin 6.07 ila

152.04 mg GAE/kg arasında değiştiğine dikkat çekmiştir. Sızma argan yağının, diğer herhangi bir yenilebilir yağa kıyasla daha yüksek polifenol içerdiği gözlenmiştir.(149)

Özetle, argan yağı, potansiyel terapötik özelliklerine katkıda bulunduğu düşünölen, yağ asitleri, triterpen alkoller, steroller, tokoferoller, karotenoid pigmentleri, fenolik bileşikler ve skualenden oluşan, zengin bir biyoaktif bileşiktir. Bu zengin içeriği onu ilgi çekici hale getirmiş ve olası iyileştirici etkilerini değerlendirmek amacıyla farklı medikal alanlarda çalışmaların dizayn edilmesine yol açmıştır.

2.4.3. Argan yağının etkileri üzerine yapılmış araştırmalar

2.4.3.1. Dermatoloji alanı ile ilgili yapılmış araştırmalar

Argan yağının anti-sebum aktivitesini değerlendirmek amacıyla planlanan çalışmada, yağlı cildi olan 17-50 yaşındaki 20 katılımcı dört hafta boyunca günde iki kez argan yağı içeren bir kremi uygulamıştır. Çalışma sonucunda argan yağının yağlanmayı azaltan ve yağlı yüz görünümlünü iyileştiren önemli anti-sebum aktivitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır.(153, 154)

Kozmetik argan yağının aynı zamanda ham olarak veya poligliserin-6 ile trans esterifikasyondan sonra şampuanlarda veya sa kremlerinde kullanılabileceği bu sayede, sa derisini besleyeceği ve ayrıca saa doğal yumuşaklığını geri kazandıracağı bildirilmiştir.(133) Argan yağının nemlendirici, yaşlanma önleyici ve onarım gibi cilt koruyucu özelliklerinin yüksek polifenol seviyelerinden kaynaklandığı düşünölmektedir.(154)

Boucetta ve ark., postmenopozal kadınlarda günlük argan yağı tüketimi ve/veya uygulamasının cilt hidrasyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmalarında, oral yolla olacak şekilde, 30 kadına argan yağı (25ml/gün) ve 30 kadına zeytin yağı (25ml/gün) uygulamışlardır. Aynı zamanda her iki grupta da topikal olarak kozmetik argan yağı uygulaması (2 mg/cm²) yapılması istenmiştir. 0., 30. ve 60.gün ölçömlerinde transepidermal su kaybında önemli bir azalma ve epidermisin su içeriğinde önemli bir artış tespit edilmiştir.(155)

Aynı araştırmacının 2015 yılında yaptığı çalışmasında ise, postmenopozal kadınlarda günlük argan yağı tüketiminin ve/veya uygulamasının cilt elastikiyeti üzerindeki etkisi değerlendirilmek istenmiştir. Aynı dizayn ile yapılan çalışmada argan yağı tüketiminin ve/veya uygulaması derinin brüt elastikiyetinde, derinin net elastikiyetinde, biyolojik elastikiyette önemli bir artışa ve rezonans çalışma süresinde önemli bir azalmaya yol açtığı bildirilmiştir.(156)

2.4.3.2. Kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili yapılmış araştırmalar

Tokoferoller, tekli doymamış yağ asidi ve çoklu doymamış yağ asidi açısından zengin argan yağı bileşimi, onu kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri (hiperlipidemi, hiperkolesterolemi ve hipertansiyon) üzerindeki potansiyel etkileri açısından dikkat çekici hale getirmiştir. Daha önce belirtildiği gibi, argan yağının yağ asitleri profilinin %80'ini doymamış yağ asitleri oluştururken; kalan %20'lik kısım doymuş yağ asitlerinden oluşmuştur. Argan yağının doymamış yağ asidi profili ise, oleik ve linoleik asitlerden oluşmaktadır.

Berrougui ve ark. (2003) diyetle alınan argan yağının serum lipid bileşimine olan etkisini araştırmışlardır. Bu amaca yönelik olarak öncelikle, 16 adet sıçanda yüksek kalorili ve kolesterollü (HCC) diyet uygulamasıyla hiperlipidemi indüklenmiştir. Daha sonra test grubunu oluşturan sekiz sıçan, yedi hafta boyunca oral olarak argan yağı (10 ml/1 kg) ile tedavi edilmiştir. Kontrol grubu hayvanları ise yedi hafta boyunca HCC diyeti ile beslenmeye devam etmiştir. Argan yağı ile yapılan 7 haftalık tedaviden sonra, kan lipoproteinlerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda toplam kolesterol %36.67, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)-kolesterol %67.70, trigliseritler %30.67 ve vücut ağırlığı %12.7 oranında azalırken; yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-kolesterol konsantrasyonu ise değişmeden kalmıştır. Bu sonuçlar, argan yağının hiperlipidemi ve hiperkolesteroleminin tedavisinde yararlı etkisini göstermektedir. Bu etkinin, argan yağının bio-aktif içeriği ile alakalı olduğu düşünülmüştür.(157)

Berrougui ve ark. (2004), yedi hafta boyunca diyetle alınan argan yağının (10 ml / kg), spontan hipertansif sıçanların (SHR) ve normotansif sıçanların kan basıncı ve endotel fonksiyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Argan yağı uygulamasının, tedavinin beşinci haftasından sonra SHR grubunun ortalama kan basıncını düşürdüğü ve SHR

grubundaki arterlerin endotel yanıtlarını artırdığı gözlenmiştir. Araştırmacılar hem siklooksijenaz ürünlerine hem de nitrojen okside bağlı olan bu etkinin argan yağı içeriğindeki yüksek konsantrasyondaki linoleik asit ve a-tokoferolün mevcudiyeti ile açıklanabileceği sonucuna varmışlardır.(158)

Drissi ve ark. (2004), düzenli saf argan yağı tüketiminin lipid profili ve antioksidan durum üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarına 62'si düzenli argan yağı tüketen 20 erkek ve 76 kadın dahil etmişlerdir. Argan yağı tüketicilerinin, tüketici olmayanlara kıyasla daha düşük plazma LDL, kolesterol seviyelerine ve daha yüksek plazma antioksidan seviyelerine sahip olduğunu gözlemlenmiştir. Bu sonuçların ışığında argan yağının kardiyovasküler risk faktörlerini azaltabileceğini ve böylece ateroskleroz sürecini geciktirebileceğini öne sürmüşlerdir.(159)

Derouiche ve ark. (2005)'nın yaptığı katı lipit kontrollü çalışmada, temel ölçüm için, 60 erkek başlangıçta iki hafta boyunca lipit kaynağı olarak kızarmış ekmek üzerine 25 gr/gün tereyağı ile beslenmiştir. Daha sonra grubun yarısı için tereyağı 25 ml/ gün saf argan yağı ile değiştirilirken, diğer yarısına ise aynı miktarda sızma zeytinyağı verilmiştir. Üç hafta sonra, vücut kitle indeksi (BMI), sistolik (SBP) ve diyastolik kan basıncı (DBP), serum toplam kolesterol, HDL, LDL, apolipoproteinler A-I ve B ve trigliserit seviyeleri ölçülmüş ve başlangıç değerleri ile karşılaştırılmıştır. Üç haftalık çalışma sırasında BMI, SBP, DBP ve toplam kolesterol seviyeleri değişmezken; argan yağı kullanan grupta HDL kolesterol seviyesinde artış, trigliserit seviyelerinde ise düşüş gözlemlenmiştir.(160)

Argan yağının antiaterojenik aktivitesi Cherki ve ark. (2005) tarafından incelenmiştir. Başlangıçta çalışmaya katılan 60 genç erkeğin diyetine 2 hafta boyunca 25 g tereyağı (tek öğünde, kahvaltıda olacak şekilde) dahil edilmiştir. Daha sonra popülasyon, her biri 3 haftalık iki diyet grubuna randomize edilerek, diyetteki yağ, argan yağı ve zeytinyağı olarak değiştirilmiştir. Argan yağı grubu 25 ml/gün argan yağı alırken, kontrol grubu olan zeytinyağı grubu, aynı miktarda zeytinyağı almaya devam etmiştir. Yapılan çalışmada, plazma paraoksonaz 1 (PON1) aktiviteleri, antioksidan vitaminler ve oksidasyona karşı LDL duyarlılığı incelenmiştir. Sonuçların analizi, PON1 aktivitelerinin her iki grupta da önemli ölçüde arttığını (sırasıyla $p=0.001$ ve $p=0.014$), E vitamini konsantrasyonunun ise sadece argan yağı grubunda anlamlı olarak arttığını göstermiştir ($p=0.007$). Bu çalışma sonucunda argan yağı tüketiminin oksidatif stres plazma belirteçleri ve HDL paraoksonaz 1 (PON1) üzerinde olumlu etkisi olduğu izlenmiştir. Bu çalışma

sonucunda, argan yağının damarlarda plak oluşumunu önleyerek veya yavaşlatarak kalp sağlığını koruyucu bir etki gösterileceği sonucuna varılmıştır.(161)

Yapılan bir diğer çalışmada, argan yağının *in vivo* anti trombotik aktivitesi farelerde deneysel trombozis modelinde incelenmiştir. Fareler, 1 haftalık süre boyunca, damıtılmış su (1 ml/100g/gün), kontrol grubu), argan yağı (1 ml/100g/gün, tedavi edilen grup) veya asetil salisilik asit (asa; 100 mg/kg/gün, pozitif kontrol) ile oral olarak uygulama yapılan üç deney grubuna ayrılmıştır. Çalışma sonuçları, argan yağı uygulanan grubun istatistiksel olarak anlamlı olmasa da olumlu etkilerinin varlığını göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda argan yağının, kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi için ilgi çekici doğal bir diyet kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır.(162)

Haimeur ve ark. 2019'da yaptıkları çalışmada, argan yağının (AO) ve balık yağının (FO) trombosit agregasyonu, dislipidemi ve oksidatif stres gibi kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri olarak açıklanmış çeşitli durumlar üzerindeki etkilerini araştırmak hedeflenmiştir. Çalışmada, standart diyet, yüksek yağlı diyet ve diğer iki grupta da yüksek yağlı diyet ek olarak argan yağı (%5) ve balık yağı (%5) takviyesi uygulanan sıçanlardan, 8.haftada örnekler alınmıştır. AO ve FO ile takviye tedavisi alan sıçanlarda, yüksek yağlı diyetin neden olduğu trombosit hiperaktivitesi benzer şekilde azalmıştır. Oksidatif stresle ilgili sonuçlarda, AO, dokularda ve trombositlerde, FO grubunda gözlenenenden daha büyük bir antioksidan etki göstermiştir. Öte yandan, FO'nun aksine, AO'nun hepatik lipid seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır. Yazarlar, bir besin takviyesi olarak AO alımının, adipozite veya karaciğer lipid seviyelerini etkilemediği, ancak plazma lipid seviyelerini düşürdüğü ve oksidatif durumu ve trombosit aktivitesini iyileştirdiği kanısına varmışlardır.(163)

Aradoini ve ark. 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada, diz osteoartriti ve metabolik sendromlu hastalarda argan yağı tüketiminin potansiyel terapötik faydalarını araştırmışlardır. Bu çalışma popülasyonu diz osteoartritli ve metabolik sendromlu, ortalama yaşları 58.89 ± 7.54 olan 72 hastadan oluşmaktadır. Test grubunda 38, plasebo/kontrol grubunda 34 hastanın bulunduğu çalışmada, denekler 8 hafta boyunca, her sabah (30ml/gün) argan yağı tüketmişlerdir. Bu çalışmada metabolik sendrom parametreleri (bel çevresi, serum trigliseritleri, HDLc, açlık glikozu, kan basıncı) ve plazma aterosjenik oranları incelenmiştir. İstatistiksel veri analizine göre, kontrol ve argan yağı grupları kıyaslandığında klinik parametreler, plazma lipid seviyeleri ve plazma

aterojenik oranları arasında anlamlı fark bulunamasa da yazarlar, argan yağı tüketiminin çeşitli metabolik sendrom parametrelerini iyileştirebileceğini ve bu hastalarda plazma aterojenik oranlarını azaltabileceğini bildirmişlerdir. Yazarlar, argan yağı tüketiminin, diz osteoartritli hastalarda metabolik sendromun temel kardiyovasküler risk faktörlerine karşı terapötik bir koruyucu araç olabileceğini bildirmişlerdir.(164)

Essouiri ve ark. 2017 yılında yaptığı bir çalışmada, diz osteoartriti olan hastalarda Argan yağı tüketiminin klinik semptomlar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Argan yağının diz osteoartrisinde ağrıyı azaltmak ve fiziksel aktiviteyi artırmak için Fas'ta geleneksel olarak kullanılmasına dayanarak, Argan yağının diz osteoartriti semptomlarını iyileştirip iyileştirmediği incelenmiştir. Amerikan Romatoloji Koleji kriterlerine göre diz osteoartriti tanısı alan 100 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar rastgele iki gruba ayrılmıştır:

- i. Her sabah 30 ml Argan yağı tedavisi uygulanan test grubu
- ii. Herhangi bir tedavi uygulanmayan kontrol grubu

İncelenen parametreler arasında ağrı için görsel analog skala (VAS), yürüme mesafesi, Western Ontario ve McMaster Üniversiteleri osteoartrit indeksi (WOMAC) ve Lequesne indeksi bulunmaktadır. Bu parametreler çalışma başında ve 8 hafta sonra değerlendirilmiştir. Bulgulara göre, Argan yağı grubunda VAS ağrısı ($p<0.0001$), WOMAC ağrısı ($p<0.0001$), WOMAC fonksiyonu ($p<0.0001$), yürüme mesafesi ($p=0.002$) ve Lequesne indeksi ($p<0.0001$) istatistiksel yönden anlamlı olarak iyileşmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Yazarlar, argan yağı tüketiminin diz osteoartriti semptomlarını iyileştirmede güvenli ve etkili olduğunu bildirmişlerdir.(165)

2.4.3.3. Sitoprotektif ve antikarsinojenik özellikler ile ilgili yapılmış araştırmalar

El Kamouni ve ark. 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada, argan yağı ve zeytinyağına ait, anti-enflamatuvar ve anti-oksidan bileşiklerin, fare karaciğerlerinde, lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı oluşturulan oksidatif stres ve enflamasyona karşı koruma sağlama potansiyelini araştırmıştır. Bu amaçla 25 gün boyunca rutin yemin yanında argan yağı ve zeytinyağı ile beslenen farelere, ötenaziden önce, intraperitoneal bakteriyel LPS enjeksiyonu yapılmış. Alınan örneklerde oksidatif stres değerlendirmeleri için glutatyon (GSH), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) değerleri incelenmiş ve yağların anti-enflamatuvar aktivitesini değerlendirmek için gen ekspresyon

analizi kullanılmıştır. Yapılan incelemelerde LPS enjeksiyonu sonucunda, oksidatif stres ve enflamatuvar belirteçlerdeki artışa ek olarak, LPS kaynaklı hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve hiperüremi ile birlikte hepatotoksisite gözlemlenmiştir. Bulgulara göre, AO grubunda LPS ile indüklenen oksidatif stres ve enflamasyon belirgin şekilde azalmıştır. AO grubunda plazma parametreleri (glikoz, kolesterol, üre, ALT, AST) ve hücre stres belirteçleri (GSH) normal seviyelerde kalmıştır. Antioksidan enzim aktiviteleri ise artış göstermiştir. Histolojik boyamada AO grubunun karaciğer dokusu normal görünümünü korumuştur. Karaciğer hasarı belirteçleri olan alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) seviyeleri düşük kalmıştır. AO grubunda pro-enflamatuvar sitokinlerin (IL-6 ve TNF- α) gen ekspresyonu baskılanmış, anti-enflamatuvar sitokinlerin (IL-4 ve IL-10) gen ekspresyonu ise artmıştır. Zeytinyağı grubunda da benzer koruyucu etkiler gözlenmiş ancak daha az belirgin olmuştur. Yazarlar, Argan yağı ve zeytinyağının sepsis ile ilişkili karaciğer hasarını önlemede oksidatif stresi ve enflamasyonu azaltarak etkili olduğunu bildirmişlerdir.(166)

Orabi ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışmada, argan yağının (AO) aşırı doz ve uzun süreli betametazon (BM) uygulaması ile sıçanlarda oluşturulan nefrotoksik etkilere karşı olası koruyucu etkisini araştırmayı amaçlamıştır. 3 hafta boyunca süren çalışmada, kontrol grubuna distile su, BM gruplarına BM (1 mg/kg, IM, günde bir), AO/0.5 ve AO/1 gruplarına AO (0.5 mL/kg, 1 mL/kg, oral) verildi. Sonuçlar, BM'nin lenfositopeni, trombositopeni, monositoz, lökositoz, nötrofili ve kırmızı kan hücrelerinin azalması da dahil olmak üzere, bir takım hematolojik değişiklikleri indüklediğini ortaya koymuştur. Ayrıca, BM, böbrekte çeşitli histopatolojik değişikliklere sebep olarak, serum üre ve kreatinin düzeylerinde önemli bir artış ve renal malondialdehit ve nitrik oksit ve glutatyon içeriklerinde azalma ile etkilerini göstermiştir. Argan yağının (0.5, 1 mL/kg) BM ile birlikte uygulanmasının, BM'ye bağlı gelişen patolojik, hematolojik, biyokimyasal ve histokimyasal yan etkileri iyileştirdiği gözlenmiştir.(167)

Er ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışmada, sıçanlarda, Akrilamid (ACR)'in neden olduğu karaciğer ve böbrek hasarına karşı AO'nun koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla sıçanlar, 30 gün boyunca, ACR (haftada üç kez 50 mg/kg/gün), AO (6 ml/kg/gün/) ve AO +ACR gruplarına ayrılmıştır. Araştırmacılar, karaciğer ve böbrekte oksidatif stres durumu ve mitokondriyal fonksiyonları değerlendirmiştir. Çalışma sonuçlarında ACR'nin doğrudan veya dolaylı olarak ROS/RNS üretimini desteklediği ve bunun da daha toksik peroksinitrit oluşumuna ve doku hasarına yol açtığı gösterilmiştir. ACR'nin AO ile birlikte

uygulanması, hemen hemen tüm parametreleri normalleştirmiş ve gözlemlenen hasarları iyileştirmiştir.(168)

Drissi ve ark. Argan yağından elde edilen tokoferoller ve posadan elde edilen saponinlerin, insan prostat kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik ve anti-proliferatif etkilerini değerlendirmeyi amaçladıkları bir çalışma tasarlamışlardır. Hücrelerin tokoferoller ve saponinlerle tedavisinden sonra sitotoksikite ve antiproliferatif etkileri 2-Metoksiöstradiol (2ME2) ile karşılaştırılarak araştırılmıştır. Argan yağının, doza bağlı olarak, pozitif test grubu olarak kullanılan 2-metoksiöstradiol'e benzer şekilde, ilgili hücre hatları üzerinde sitotoksik etki ve antiproliferatif bir eylem gösterdiği bildirilmiştir.(169)

Bennani ve ark. 2007 yılındaki çalışmalarında ise; işlenmemiş argan yağından ekstrakte edilen polifenollerin ve sterollerin insan prostat hücre hatları (DU145, LNCaP ve PC3) üzerindeki antiproliferatif etkisini değerlendirmişlerdir. Yazarlar, saf argan yağından ekstrakte edilen polifenollerin ve sterollerin hücre kültürlerine 24 saatlik uygulamasının antiproliferatif ve pro-apoptotik etkiler gösterdiğini saptamıştır. Pozitif kontrol grubu olarak kullanılan 2-Metoksiöstradiol (2ME2)'ün prostat kanseri hücre dizileri üzerindeki anti-proliferatif ve pro-apoptotik etkileri de doğrulanmıştır.(170)

Samane ve ark., argan ağacı tohumundan elde edilen çeşitli ürünlerin hücresel insülin yanıtlarını etkileme potansiyelleri için HTC hepatoma hücre hattında çeşitli deneyler gerçekleştirmiştir. Uygulanan materyallerin hiçbirinde önemli bir sitotoksik aktivite gözlemlenmemiştir. Ancak argan yağının sabunlaştırılmayan fraksiyonunun ciddi bir ERK1/2 aktivasyonu inhibisyonu ve anti-proliferatif etkisi saptanmıştır. Argan ağacı tohumu ve posa ile yapılan ekstraktların ise doza bağlı olmakla birlikte Akt ve ERK1/2 aktivasyon düzeylerinde değişimlere neden olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlar sebebiyle insan HT-1080 fibrosarkom hücre hattında ve invazif köpek MSV-MDCK-INV hücre hattında da çalışmalar yapmış ve benzer sonuçlar bulmuşlardır.(171)

Cooney ve ark. γ - tokoferolün, reaktif nitrojen oksit (NO) türleri ile etkileşiminde α - tokoferolden daha güçlü olduğunu bildirmişlerdir.(172) Paralel olarak, γ -tokoferolün, α -tokoferolden daha güçlü bir kanser kemo-preventif ajan olabileceği gösterilmiştir.(173, 174)

Helzlsouer ve ark. 2000 yılında yaptıkları çalışmada, α -tokoferol, γ -tokoferol ve selenyumun prostat kanseri üzerindeki etkilerini incelemiş ve yalnızca γ -tokoferol seviyeleri yüksek olduğu durumlarda, yüksek selenyum ve α -tokoferol seviyelerinin,

prostat kanseri açısından istatistiksel olarak önemli koruyucu etkilerini gözlemlemişler.(175)

Gysin ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada, γ -Tokoferolün, kolon kanseri hücre hatlarının proliferasyonunu α -tokoferolden daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve siklin D1 ve siklin E seviyelerinde azalma yoluyla hücre döngüsü ilerlemesini önlediği gözlemlenmiştir. Ayrıca yazarlar tarafından DNA sentezini, α -tokoferolden daha verimli bir şekilde inhibe ettiği de bildirilmiştir.(176)

2.4.3.4. Anti-diyabetik etkiler ile ilgili yapılmış araştırmalar

Argan yağının bölge halkı tarafından diyabet tedavisinde geleneksel bir metod olarak kullanılması tam olarak etki mekanizması bilinmese de içeriğinde bulunan anti-oksidanlar, triterpenler ve çeşitli fenolik bileşiklerle ilişkilendirilmiştir.(177)

Bnouham ve ark. yaptığı bir çalışmada, bölgede antidiyabetik aktivite için kullanılan ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde yararlı bir rol oynayabileceği öne sürülen Argan yağının antidiyabetik aktivitesine daha fazla kanıt aranmıştır. İlk olarak streptozotosinin (60 mg/kg) diyabet oluşturma etkisi OGTT (oral glukoz tolerans testi) ile test edilmiştir. İkinci subkronik çalışmada, streptozotosinle indüklenmiş diyabetik sıçanlara argan yağının tekrarlanan oral uygulamasının (15 gün boyunca 2 ml/kg) etkisi test edilmiştir. Ayrıca, Argan yağının bağırsak glukoz emilimi üzerindeki etkisi, in situ perfüzyon tekniği kullanılarak jejunumda test edilmiştir. Sağlıklı sıçanlarda ve diyabetik sıçanlarda OGTT deneyinde, oral glukoz yüklemesinden (1 g/kg) 30 dakika önce argan yağının intraperitoneal uygulanması (2.5 ml/kg), kontrollere göre glisemiye 60 dakikada anlamlı derecede azaltmış ve gözlemlenen azalma, deneylerin sonuna kadar (180 dk) devam etmiştir. Subkronik tedavide ise, sonuçlar vücut kütlelerinde anlamlı bir iyileşme ve deneyin sonunda tedavi edilmemiş diyabetik sıçanlara göre glisemide anlamlı bir azalma (55%, $p<0.001$) göstermiştir. Ayrıca, argan yağı perfüze edilen jejunum segmentinde emilen glukoz miktarını kontrollere göre anlamlı derecede azalttığı (19.3%, $p<0.05$) saptanmıştır. Yazarlar, argan yağının geleneksel bir gıda olarak tüketiminin hiperglisemiye bağlı patogenezi azaltma potansiyeline sahip olduğunu bildirmiştir.(178)

Bellahcen ve ark. (2011), dizayn ettikleri çalışmalarında saf argan yağının anti-diyabetik etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada tüm sıçanlara 5 gün boyunca alloksan uygulanıp deneysel diyabet oluşturulmuştur. Çalışmayı oluşturan hayvanlar;

- i- Alloksan uygulaması öncesinde intraperitoneal yolla argan yağı (2ml/kg) uygulanan grup,
- ii- Alloksan uygulaması esnasında argan yağı (2ml/kg) uygulanan grup,
- iii- Alloksan uygulaması esnasında sofra yağı uygulanan (2ml/kg),
- iv- Hiçbir yağ uygulaması yapılmamış, alloksanla diyabet indüklenmiş kontrol grubu olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır.

Sıçanların kan glukoz seviyeleri hepatik glikojen seviyeleri, ilaç uygulamasından hemen önce, 30.dk, 1.saat, 2.saat ve 4.saatte alınan örneklerde incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarında, tedavi edilmeyen diyabetik gruba kıyasla, argan yağının vücut kitle kaybını önlediği, kan glikozunda önemli bir düşüş sağladığı ve hepatik glikojen seviyesini arttırdığı bildirilmiştir.(179)

Samane ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada, obeziteye bağlı insülin direnci ile ilgili bir diyet modelinde, balık yağı (FO) veya argan yağı (AO) alımının potansiyel metabolik faydalarını araştırmışlardır. Sıçanlar, standart yem (kontrol), yüksek yağ/yüksek sükroz (HFHS) diyeti veya yağın %6'sının FO veya AO ile değiştirildiği bir HFHS diyeti ile beslenmiştir. Balık yağı alımı, farklı çalışmalarla paralel şekilde, tüm dokularda ve izole hepatositlerde insülin sinyal yanıtlarını iyileştirerek veya tamamen eski haline getirerek insülin direnci gelişimini engellemiştir. FO tüketiminden farklı olarak, AO alımı obeziteyi önlemede başarısız olmuş, ancak, benzer şekilde açlık glisemisini, yemle beslenen kontrol grubuna benzer değerlerine geri getirmiştir. Ayrıca argan yağı alımı, aktivasyon kazanmış transformasyon enzimi (Akt) ve dış sinyale duyarlı kinaz enziminin (Erk) insüline bağımlı fosforilasyonlarını iyileştirmiştir. Bu çalışma verileri ışığında yazarlar, argan yağının HFHS beslemesiyle ilişkili bazı metabolik ve insülin sinyal anormalliklerini iyileştirebilecek etkileri olduğu sonucuna varmıştır.(180)

2.4.3.5. Anti-enflamatuvar etkileri ile ilgili yapılmış araştırmalar

Menni ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışmalarında, argan yağı uygulamasının, sıçanlarda karregen an ve travma ile oluşturulan pati ödeme olası etkilerini

incelemişlerdir. Kontrol grubunun diklofenak (50 mg/kg), argan yağı (5 ve 8gr/kg) ve argan yağının sabunlaştırılmayan fraksiyonu (10 ve 15 gr/kg) ile kıyaslandığı çalışmada 4.saatte ödem hacminde gözlemlenen yüzdesel artışın oral yolla uygulanan 5 gr/kg argan yağında daha az gözlenmiş olduğu bildirilmiştir. 5 ve 6. saat incelemelerinde ise, 5 gr/kg argan yağı uygulanan grup diklofenak grubu ile benzer sonuçlar sergilemiştir.(181)

Kamal ve ark. 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında farklı metodlarla üretilmiş argan yağlarından ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin olası anti-enflamatuvar etkilerini incelemek için tasarladıkları çalışmalarında benzer şekilde karragenan ile indüklenen pati ödemi dizaynından yararlanılmıştır. Araştırmacılar soğuk pres (SP) ve geleneksel yöntem (GY) ile elde edilen argan yağlarından fenolik bileşikleri ekstrakte etmiş ve bunları oral yolla farklı dozlarda (300 ve 500 mg/kg) sıçanlara uygulamıştır. Kontrol grubu olarak indometazin kullanılan çalışmada, GY grubu, 500 mg/kg dozda en yüksek yüzde ile ödemde azalma göstermiştir. 1,5. saat ve 3. saat ölçümlerinde indometazin ile yakın yüzdelere veren GY grubu, 6. saatte yaklaşık %8 oranla daha çok azalma göstermiştir.(182)

2.4.2.6. Anti-mikrobiyal etkileri ile ilgili yapılmış araştırmalar

Ainane ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmalarında Fas'ta geleneksel saç bakım ürünü olarak kullanılan iki bitkisel yağ (argan yağı ve zeytinyağı) ve üç uçucu yağ (Thymus vulgaris, Nigella sativa ve Allium sativum) içeren bir karışımın kimyasal bileşimi ve antibakteriyel aktivitesini incelenmiştir. Çalışmada, bitkisel yağların fizikokimyasal parametreleri, yağ asidi, sterol ve tokoferol bileşimleri belirlenmiş, uçucu yağların bileşenleri ise GC/MS ile tanımlanmıştır. Ayrıca, bitkisel yağların, uçucu yağların ve formülasyonun bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi agar difüzyon yöntemi ile ölçülmüştür. Bu antibakteriyel test sonuçlarında, geleneksel formülasyonun kozmetik ve farmasötik preparatlarda kullanımı için etkili olduğunu göstermiştir. Argan yağı (2mg/ml) kullanılan örneklerde ise, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında inhibisyon gözlemlenmiştir.(183)

Lall ve ark. 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında, argan yağı ve ham saponin özütünün anti-proliferatif ve antibakteriyel aktivitelerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. *Cutibacterium acnes* ve *Prevotella intermedia* suşlarına karşı incelenen argan yağı ve ham

saponin özütünün *Cutibacterium acnes*'e karşı minimal inhibitör konsantrasyonunun (MIC) 500 µg/ml olduğu bulunmuştur. Argan yağı veya ham saponin özütünün *Prevotella intermedia*'ya karşı test edilen en yüksek konsantrasyon olan 12.5 mg/ml'ye kadar antibakteriyel aktivite göstermediği görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, argan yağı ve ham saponin özütünün *Cutibacterium acnes*'in büyümesini ve proliferasyonunu doğrudan inhibe ettiğini göstermiştir.(184)

Al-Saffar ve ark. 2015 yılında yaptıkları çalışmalarında, argan yağı-hidrojen peroksit karışımının *Mycobacterium tuberculosis* üzerindeki etkisi araştırmayı amaçlamışlardır. 29 günlük inkübasyon yapılan çalışmada, farklı oranlarda argan yağı-hidrojen peroksit karışımı içeren Lowenstein-Jensen (L-J) ortamı kullanılarak *Mycobacterium tuberculosis* izolatları kültüre edilmiştir. Bulgular, yüksek argan konsantrasyonlu karışımların (2.5:7.5 ve 3:7) *Mycobacterium tuberculosis* üzerinde tüm inkübasyon süresince mükemmel inhibisyon etkisi gösterdiğini ortaya koymuştur. Yazarlar, argan yağının gözlemlenen anti-mikobakteriyel etkisi sebebiyle tüberkülozda güvenli bir profilaksi ve tedavi ilacı olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.(185)

2.4.2.7. Yara iyileşmesine olan etkileri ile ilgili yapılmış araştırmalar

Argan yağının, sahip olduğu biyoaktif içerik sayesinde, enfeksiyonların veya yaralanmaların neden olduğu enflamasyonu daha hızlı çözerek, yara iyileşmesine yardımcı olduğu daha önce bazı çalışmalarla desteklenmiştir. Bu etkilerin moleküler ve hücresel düzeyde açıklanması için yapılan bu çalışmalarda yazarlar, anti-enflamatuvar etkilerin yara iyileşmesini hızlandırdığı neticesine ulaşmışlardır.

Avşar ve ark. (2016) sıçanlarda cilt üzerinde oluşturulan ikinci derece yanıklarda, argan yağının yara iyileşmesine olan katkısını incelemiştir. Örneklerde, yara alanı, yara dokusunun yüzde kontraksiyonu, TGF-β, TNFα, IL-1β, EGF gen ekspresyonları ve histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Günde iki kez topikal olarak 1ml argan yağı uygulanan grupta, yanık kontrol grubuna kıyasla TGF-1β'in mRNA seviyelerininin önemli miktarlarda arttığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda pozitif kontrol grubundan da daha iyi kontraksiyon oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar, argan yağının sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan ikinci derece yanıkları iyileştirmede etkili olduğunu göstermekte, yazarlar ise, daha fazla çalışmaya gereksinim olduğunu bildirmişlerdir.(186)

Manca ve ark. 2021 yılında nanoformülasyonların ciltteki oksidatif stresi önlemeye ve yara iyileşmesine katkı sağlamaya yönelik olarak geliştirilmesi ve karakterize edilmesini amaçladıkları bir çalışma tasarlamışlardır. Neem yağı yüklü lipozomlar ve hiyalurozomlar argan yağı ile modifiye edilerek argan-lipozomlar ve argan-hiyalurozomlar elde edilmiştir. Nanoformülasyonların fizikokimyasal özellikleri, antioksidan aktiviteleri, reolojik davranışları, in-vitro çalışmalar ile değerlendirilmiştir. Nanoformülasyonların incelemelerinin ve keratinositlerle fibroblastlar üzerindeki oksidatif stresi önleme ve yara iyileşmesini teşvik etme etkilerinin incelendiği çalışmada, Argan-lipozomlar en küçük (~113 nm) nanoformülasyonlar olup argan-hiyalurozomlar daha büyük (~143 nm) ancak daha stabil nanoformülasyonlar olarak değerlendirilmiştir. Nanoformülasyonların hepsinde yüksek antioksidan aktivite saptanmıştır. Ayrıca, hücre kültürü çalışmaları, nanoformülasyonların, özellikle argan-lipozomların ve argan-hiyalurozomların, hidrojen peroksit ile indüklenen oksidatif stresi azalttığı, hücre proliferasyonu ve migrasyonunu arttırdığı ve yaranın daha hızlı ve tam kapanmasını sağladığını göstermiştir. Yazarlar bu sonuçlar karşısında, Neem yağı yüklü fosfolipid veziküllerin argan yağı ile modifiye edilmesiyle oluşturulan nanoformülasyonların, ciltteki oksidatif stresi önlemeye ve yara iyileşmesine katkı sağlamaya yönelik olarak başarılı etkilerinin dikkate alınması gerektiğini belirtmiştir.(187)

Barlas ve ark. yaptıkları hayvan çalışmasında, argan yağının rektal uygulamasının kolorektal anastomozların iyileşmesine olan etkisini araştırılmıştır. Bu çalışmada üç grup vardır:

- i. Grup 1 (sham): Sadece laparotomi ve kolon mobilizasyonu yapılmıştır. Rektal olarak 0.9% NaCl uygulanmıştır.
- ii. Grup 2 (kontrol): Kolon rezeksiyonu ve anastomoz yapılmıştır. Rektal olarak 0.9% NaCl uygulanmıştır.
- iii. Grup 3 (argan yağı): Kolon rezeksiyonu ve anastomoz yapılmıştır. Rektal olarak günde 2 mL argan yağı uygulanmıştır.

Araştırmacılar, deneyde, anastomozların patlama basıncı, dokuların hidroksiprolin ve prolidaz düzeyleri, histopatolojik bulgular, dokuların malondialdehit düzeyleri, floresan oksidasyon ürünü düzeyleri ve total sülfhidril düzeyleri ölçülmüştür. Bu çalışma sonuçlarında argan yağı ve sham gruplarının patlama basınçları kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında doku hidroksiprolin

ve prolidaz düzeyleri açısından da anlamlı fark saptanmıştır. Argan yağı ve sham gruplarında, dokuların malondialdehit düzeyleri ve floresan oksidasyon ürünü düzeyleri daha düşük, total sülfhidril düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Histopatolojik değerlendirmelerde ise, argan yağının kolon yara iyileşmesinde anlamlı faydalı etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir.(132)

Dakiche ve ark., argan yağının anti-enflamatuvar etkisini ve yara iyileşmesine olan etkisini incelemek için farelerde tasarladıkları çalışmalarında, anti-enflamatuvar etki değerlendirmesi için fare kulaklarında deneysel ödem oluşturmuşlardır. Deneyde 15 fareyi üç gruba ayırmış ve indometazin (20ml), argan yağı (20ml) ve salin (20ml) uygulaması yapmışlardır. 4 saatlik deney süresinde, argan yağı grubunda %39.68 ve indometazin grubunda %38.31'lik azalma gözlemlenmiştir. Negatif kontrol grubunda ise azalma %13.3 olarak bildirilmiştir. Yara iyileşmesi için, araştırmacılar sirküler (r=1cm) ve lineer (3cm x 0.5cm) yaralar oluşturmuş, 12gün boyunca günde iki kez 0.5gr Madecassol® (Bayer), 0.5ml argan yağı ve 0,5ml fizyolojik salin uygulaması yapmışlardır. Sirküler yaraların 6. ve 12.günlerde yapılan ölçümlerinde sırasıyla, argan yağı %63.6 ve %90.6, Madecassol® uygulaması %56.2 ve %85.4, salin grubu ise %29.2 ve %58.8 oranında yara kapanması gözlemlenmiştir. Argan yağı ve Madecassol® uygulaması istatistiksel olarak benzer iyileşme göstermiştir. Lineer yaralarda ise yara dudaklarının primer kapatılması sonucunda iyileşmeler arasında anlamlı bir fark bulunmamış ancak, argan yağı ve referans ürünle tedavi edilen grupta, yaraların iyileşme gecikmesi belirtileri negatif kontrol grubuna göre açıkça daha iyi olarak raporlanmıştır.(188)

Kardiyovasküler hastalıklar, sitoprotektif etkiler, diyabet, yara iyileşmesi gibi çeşitli alanlarda yapılan bugüne kadarki çalışmalarda, argan yağının içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde olumlu etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir. Periodontal plastik cerrahi operasyonlarında kullanılan sekonder iyileşme paterninin, klinikte, hastalara ve hekimlere yaşattığı zorluklar göz önüne alındığında yara iyileşmesine olumlu etki edebilecek ideal ajanların araştırılmasına devam edilmektedir. Literatürde argan yağının ağız içerisinde oluşan sekonder yaralara olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Argan yağının bildirilmiş medikal faydaları da göz önüne alınarak, yaşanan bu olumsuzlukları azaltmada fayda sağlayacağı düşünülmüştür. Bu sebeple, deney hayvanları üzerinde yapılan bu çalışmada, argan yağının sıçanların palatal bölgelerinde deneysel olarak oluşturulan eksizyonel yaralarda topikal olarak uygulanmasının sekonder yara iyileşmesine olumlu bir etki etmeyeceği H_0 hipotezinden

yola çıkılarak, topikal olarak uygulanan argan yağının sekonder yara iyileşmesine olan etkilerinin makroskobik, mikroskobik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.



3. MATERYAL & METOD

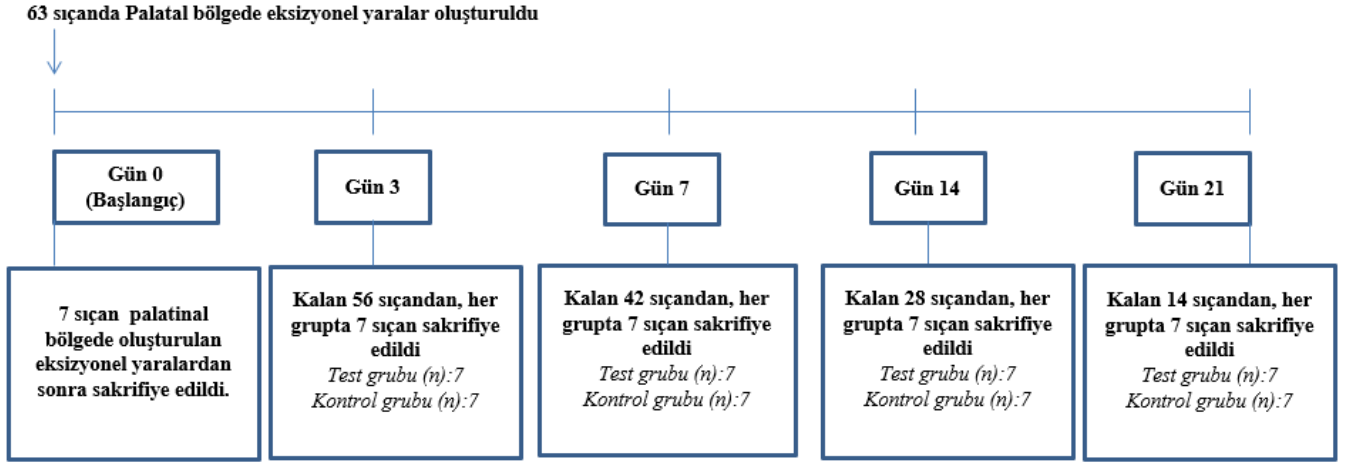
Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından desteklenen D-DA21/03 kodlu bu çalışma Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde ve Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alınmıştır.

3.1. Deneysel Model

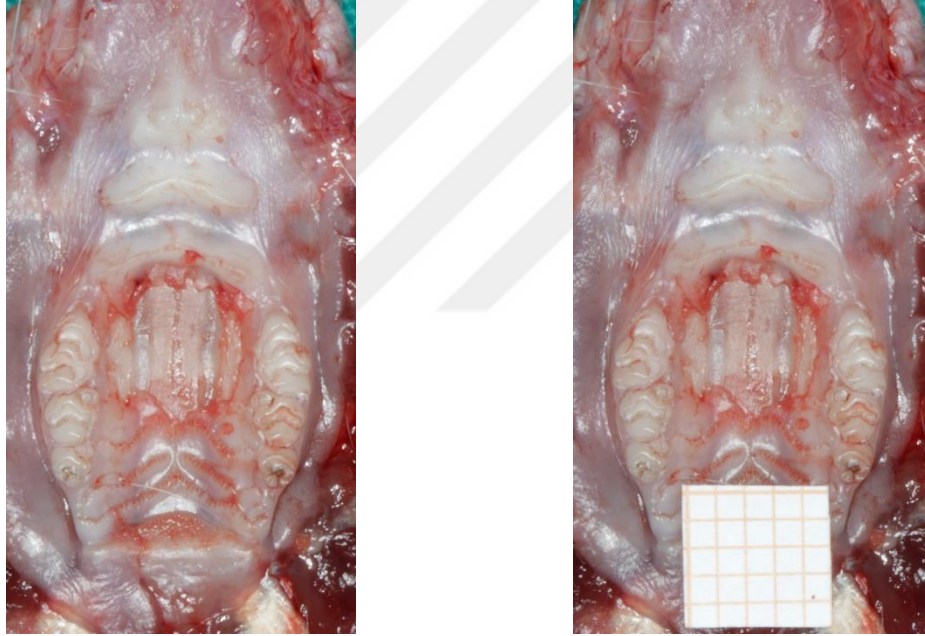
Bu çalışmada Başkent Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden sağlanan, ortalama ağırlıkları 280-380 gr olan 63 adet Sprague-Dawley cinsi erkek albino sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanlarına su ve yiyeceğe serbest erişim imkânı (Ad Libitum) sağlanmış ve oda ısısı $24\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Deneklerin 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu altında yaşamaları sağlanmıştır.

3.2. Deney Grupları

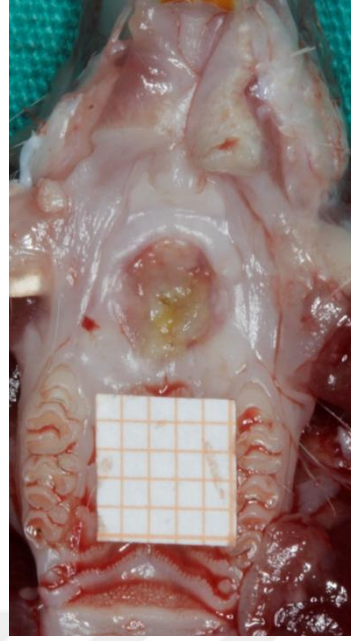
Argan yağının palatinal bölgede oluşturulan eksizyonel yara dokularında iyileşmeye olan katkısının araştırıldığı deney, 21 günlük bir dönem için planlanmıştır. 63 hayvandan rastgele seçilen 7 hayvan başlangıç örneklerinin elde edilmesi için 0.günde eksizyonel yara oluşturulmasını takiben sakrifiye edilmiştir. Kalan 56 hayvan ise, rastgele olacak şekilde (I) topikal argan yağı uygulaması yapılan deney grubu (II) hiçbir ajanın uygulanmadığı kontrol grubu olarak 2 gruba ayrılmıştır. Çalışmanın 3., 7., 14. ve 21.günlerde her gruptan rastgele 7'şer hayvan sakrifiye edilmiştir. Yapılan sakrifikasyonlar sonrasında ise, örnekler sakrifikasyon günlerine göre ayrılarak depolanmıştır.



Şekil 1. Deney zaman çizelgesi



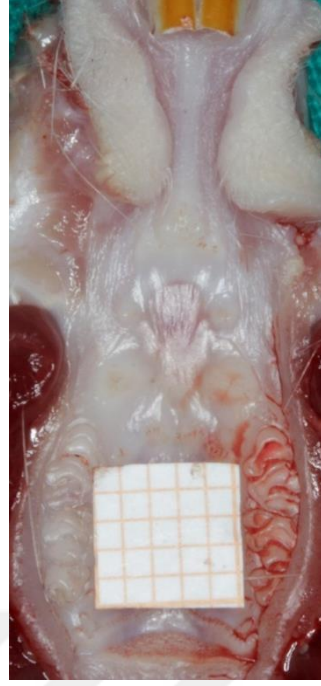
Şekil 2. Başlangıç grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve başlangıç grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



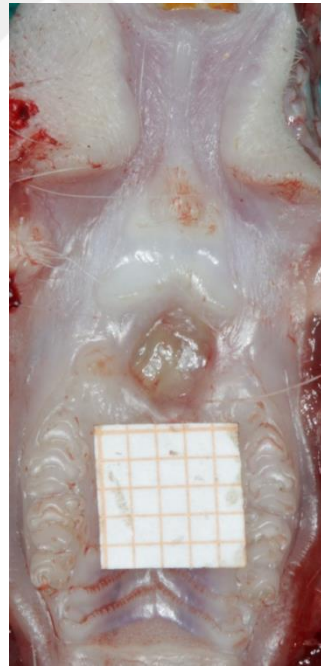
Şekil 3. 3.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 3.gün test grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



Şekil 4. 3.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 3.gün kontrol grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



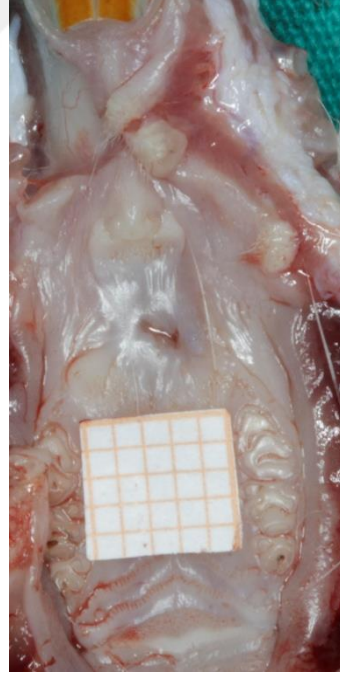
Şekil 5. 7.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 7.gün test grubu, ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



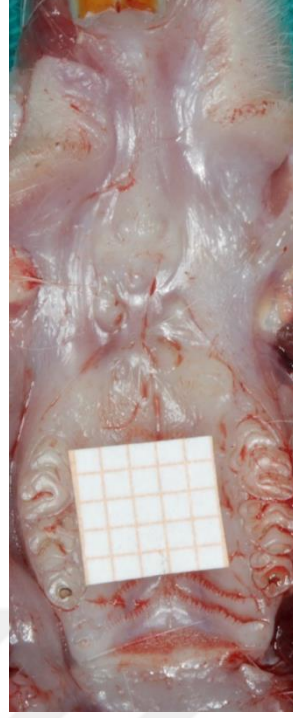
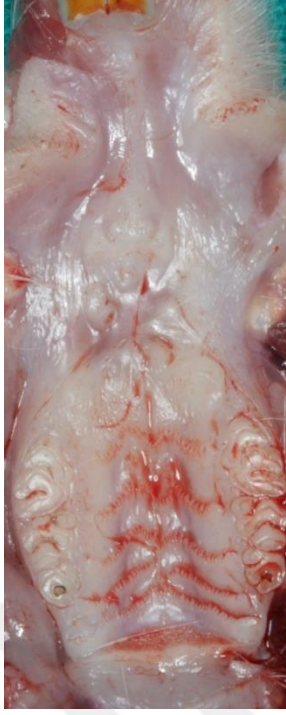
Şekil 6. 7.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 7.gün kontrol grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



Şekil 7. 14.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 14.gün test grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



Şekil 8. 14.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 14.gün kontrol grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



Şekil 9. 21.gün test grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 21.gün test grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı



Şekil 10. 21.gün kontrol grubu, örnek sıçan fotoğrafı ve 21.gün kontrol grubu ölçekli kağıt kullanılarak çekilen örnek sıçan fotoğrafı

3.3. Kullanılan Malzemeler

3.3.1. Punch Biyopsi

Sıçanların palatinal bölgesinde tam kalınlık yara oluşturmak üzere çapı 5 mm olan ‘punch’ biyopsi aleti (KAI Medical, JAPAN) kullanılmıştır.



Şekil 11. Kai Medical firmasına ait punch biyopsi aletinin fotoğrafı

3.3.2. Argan yağı

Fas'ta, kavrulmuş çekirdeklerden, soğuk pres yöntemiyle elde edilmiş, %100 organik, beslenmeye uygun argan yağı (Pays d'Argan SARL, Morocco) kullanılmıştır. Argan yağı defekt bölgesine boğaz spreyi şişesi yardımıyla uygulanmıştır.



Şekil 12. Pays d'Argan SARL, Moracco markasına ait yenilebilir argan yağı

3.3.3. Fotoğraf makinası & lens & fotoğraf düzeneği

Alınan örneklerin standartlaştırılmış şekilde fotoğraflanması için 25cm'lik bir platformda konumlandırılan Canon EOS 600D fotoğraf makinası (CANON Inc., JAPAN), 100mm makro lens (CANON Inc. Macro 100mm 1:2.8) ve ring flaş (CANON Inc., Macro Ring Lite MR-14EX II) kullanılmıştır.



Şekil 13. Canon EOS 600D fotoğraf makinası & Macro Lens EF 100mm 1:2.8 & Ring Flaş (Canon Macro Ring Lite MR14EX-II)

3.4. Cerrahi Protokol

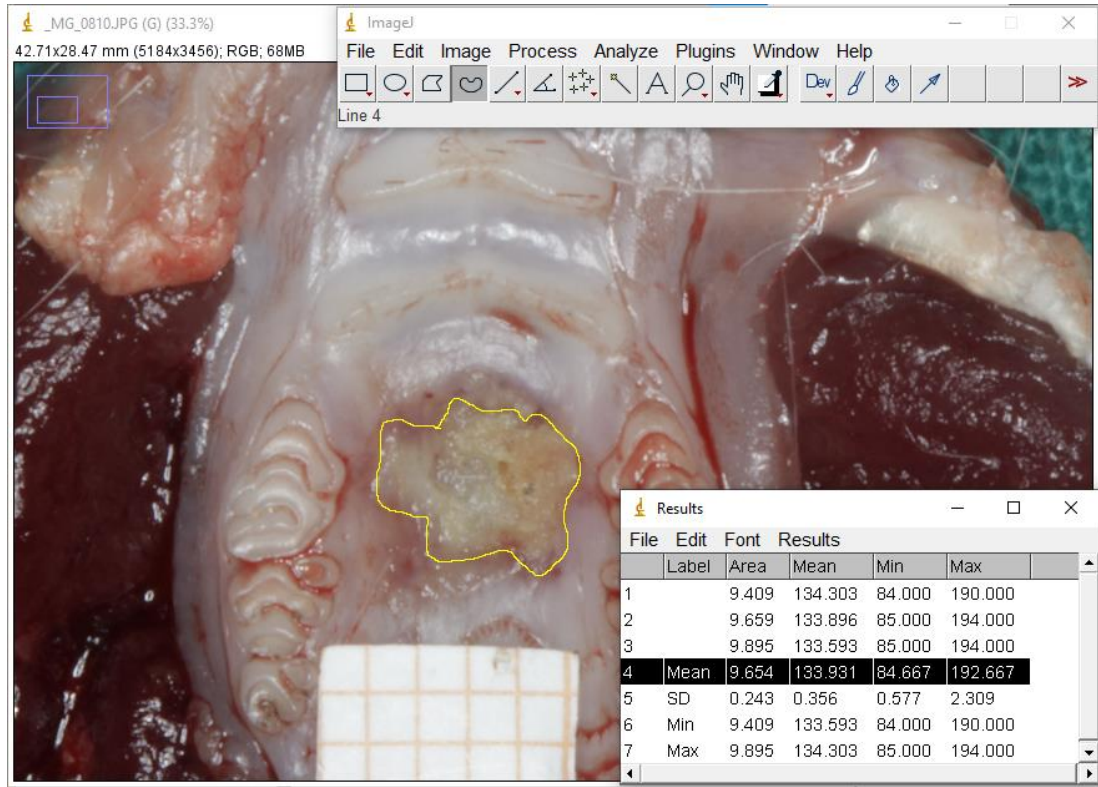
Hayvanlar, cerrahi işlemler uygulanmadan önce intraperitoneal Ketamin HCl (60 mg/kg; Alfamine %10, Alfasan, Woerden, Hollanda) ve Ksilazin HCl (6 mg/kg ; Alfazyne %2, Alfasan, Woerden, Hollanda) ile sağlanan genel anesteziye alındı. Asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak cerrahi işleme hazır hale getirilen sıçanların steril cerrahi aletlerle dil ve yanağı ekarte edildikten sonra sert damak bölgesinde 5 mm'lik 'punch' biyopsi aleti kullanılarak tam kalınlık eksizyonel yara yerleri oluşturuldu. Deney grubunu oluşturan sıçanlara her gün günde 2 defa olacak şekilde 1ml argan yağı topikal olarak uygulandı. Kontrol grubunu oluşturan sıçanlarda ise yara bölgesine herhangi bir ajan uygulanmadı. Hayvanlara yapılan argan yağı uygulamasından sonra 2 saat boyunca yemek/su verilmedi.

3.5. Deney ve Kontrol Gruplarında Örneklerin Hazırlanması

Cerrahi işlemten hemen sonra 7 sıçan; 3., 7., 14. ve 21.günlerde her gruptan 7'şer hayvan intrakardiyak yüksek doz ketamin HCl ile histolojik ve biyokimyasal analizler yapılmak üzere sakrifiye edildi. Sıçanların bir bütün halinde çıkartılan üst çeneleri, öncesinde standardize edilmiş şekilde (tek bir tripod, tek bir odak değeri ile aynı konumdan) fotoğraflandı. Bu örnekler fotoğraflama işlemi arkasından histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler için %10'luk formaldehit içeren kaplara konuldu.

3.6. Makroskobik Değerlendirme

Standardize edilmiş fotoğraflar, Canon EOS 600D fotoğraf makinesi (Canon, Tokyo, Japonya) ve 100mm makro lens kullanılarak 25cm'lik bir platforma kurulan düzenek aracılığıyla çekilmiştir. Milimetrik kağıtların, örnekler üzerine yerleştirilmesi ile alınan görüntülerde kalibre edilmiş fotoğraflar üzerinden hazırlanan düzenekte, ImageJ 1.53k (National Institutes of Health, USA) programı yardımı ile piksel/mm dönüşümü yapılmış yara alanlarının hesaplanması sağlanmıştır. Programda bulunan farklı ölçüm araçları ile her fotoğrafta 3 farklı ölçüm yapılmış ve makroskobik yara alanı olarak bu üç farklı ölçümün ortalaması kaydedilmiştir.



Şekil 14. 3 farklı ölçüm sonucu ve bu sonuçların ortalamalarının hesaplanmasını gösteren görsel

3.7. Mikroskopik değerlendirme

3.7.1 Histolojik değerlendirme

Histokimyasal incelemeler için ülserasyon odağını içeren parafin bloklardan kesitler alındı. Kesitler 70°C'lik etüvde 40 dakika bekletildi ve deparafinizasyon işlemi sonrası Hematoksilen & Eozin boyası ile boyandı. Boyama işlemi tam otomatik (parafinizasyon işlemi de dahil) DAKO Hematoksilen&Eozin Boyama Kapama cihazı ile gerçekleştirildi (Dako, Denmark). Sonuçlar mikroskopik olarak alanında tecrübeli bir patolog tarafından, kör şekilde değerlendirilmiştir. Histolojik olarak yara iyileşmesinin değerlendirilmesi için aşağıdaki parametreler çalışılmıştır:

- Epitelize yara dudaklarının birbirine olan uzaklığı
- Enflamasyonun derecesi
- Ülserasyonun derecesi
- Fibrozisin derecesi

Uzman bir patolog tarafından yapılan semi-kantitatif değerlendirme; yok (0), hafif düzeyde mevcut (1+) ve belirgin olarak mevcut (2+) şeklinde skorlanarak değerlendirilmiştir.

Epitelize yara dudaklarının birbirine olan uzaklığı, bir histolog tarafından kör şekilde mikroskopik kullanıma uyarlanmış bir yazılım sistemi (cellSens Master Software V1.11, Shinjuku-ku, Tokyo, Japonya) kullanılarak mikroskopik olarak ölçüldü.

3.7.2 İmmunohistokimyasal değerlendirme

Her bir olgu için ülserasyon odağını içeren parafin bloklardan adezivli lamlara (Dako) 3µm kalınlığında kesitler alındı.

İmmünohistokimyasal boyama işlemi 'DAKO Omnis' cihazında EnVision Flex IHK boyama kitleri kullanılarak otomatik olarak yapıldı. İlgili bloklardan hazırlanan kesitler 70°C'lik etüvde 40 dakika bekletildi. Deparafinizasyon işlemi, camlara, makinenin içinde "Clearify (Dako)" solüsyonu uygulanarak yapıldı. Ardından antijenlerin geri kazanılması için dokulara 'antigen retrieval' işlemi uygulandı.

Leptin (Ob H-5) antikoru için dokular 97 °C'de 30 dakika EDTA tamponunda (EnVFlex HRS, High pH), VEGF antikoru için 97 °C'de 30 dakika sitrat tamponunda (EnVFlex HRS, Low pH) ve Laminin Antikoru için dokular 97 °C'de 30 dakika EDTA tamponunda (EnVFlex HRS, High pH) kaynatıldı.

Yıkama işleminin ardından; Leptin (Ob H-5) antikoru (Mouse monoklonal, 1:100 dilüsyon, clone H-5, Santa Cruz, ABD), VEGF antikoru (Mouse monoklonal, 1:100 dilüsyon, clone C-1, Santa Cruz, ABD) ve Laminin β-1 antikoru (Mouse monoklonal, clone A-1, dilüsyon 1:100, Santa Cruz, ABD) ile 30 dakika inkübasyon işlemi yapıldı. Daha sonra primer antikorla muamele edilmiş dokulara zemin boyanmanın engellenmesi amacıyla kite ait peroksidaz solüsyonu (EnV FLEX Peroxidase-Blocking Reagent,Dako) uygulandı ve 3 dakika inkübe edildi. Yıkama işleminin ardından EnV Flex/HRP solüsyonu damlatılarak 20 dakika inkübe edildi. Kesitlere kromojen ve enzim substratı içeren çalışma solüsyonu (EnV Flex Substrate Working Solution, Dako) damlatılıp oda ısısında 5 dakika bekletildikten sonra distile su ile yıkandı. En son basamakta hematoksilen ile 5 dakika zıt boyama işlemi yapıp alkol, ksilen aşamalarından geçirilerek kapama işlemi gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal boyanma sonuçları alanında uzman patolog

tarafından değerlendirilerek yok (0), hafif derecede pozitif (1+) ve belirgin derecede pozitif (+2) olacak şekilde semi-kantitatif olarak değerlendirildi.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

3.8.1. Örneklem genişliği hesaplama

Gruplar arasında herhangi bir izlem zamanı içerisinde makroskopik yara yüzey alanı yönünden en az 7.5 mm²'lik bir farkın, %90 güç ve %5 yanılma düzeyinde istatistiksel olarak önemliliğini test edebilmek için grupların her birine en az 7'şer denek alınması öngörülmüştür. Yara yüzey alanı yönünden 7.5 mm²'lik fark bilgisine literatür (Kozlovsky A., 2007) araştırmasından ulaşılmıştır. Örneklem genişliği hesaplamaları NCSS & PASS 2000 paket programında yapılmıştır.

3.8.2. İstatistiksel analiz

Makroskobik ölçümlerin yapılabilmesi için gözlemcinin farklı zamanlarda yapmış olduğu ölçümlerin uyumu sınıf içi kolerasyon katsayısı ve %95 güven aralıkları hesaplanarak incelenmiştir.

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics ver. 25 (IBM Corporation, Armonk, NY, US) paket programında yapıldı. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk testiyle varyansların homojenliği varsayımının sağlanıp sağlanmadığı ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli sayısal ve sıralanabilir değişkenler için medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. Gruplar arasında sürekli sayısal ve sıralanabilir değişkenler yönünden farkların önemliliği bağımsız grup sayısı iki olduğunda Mann Whitney U testi ile ikiden fazla bağımsız grup arasındaki farkların önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle incelendi. Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde Dunn-Bonferroni testi kullanılarak söz konusu farka neden olan durum(lar) tespit edildi. Aksi belirtilmedikçe $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Makroskobik Yara Yüzey Alanları

Makroskobik ölçümlerin yapılabilmesi için gözlemci iç uyum sonuçlarının kabul edilebilir derecede güvenilir olduğu saptanmıştır (Sınıf içi kolerasyon katsayısı = 0.767, %95 Güven Aralığı 0.412-0.950, $p<0.001$).

0.güne göre kontrol grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin makroskobik yara yüzey alanları istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$). 0.güne göre deney grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin de makroskobik yara yüzey alanları istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$; $p<0.001$; $p<0.001$ ve $p=0.003$).

Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin makroskobik yara yüzey alanları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre makroskobik yara yüzey alanları

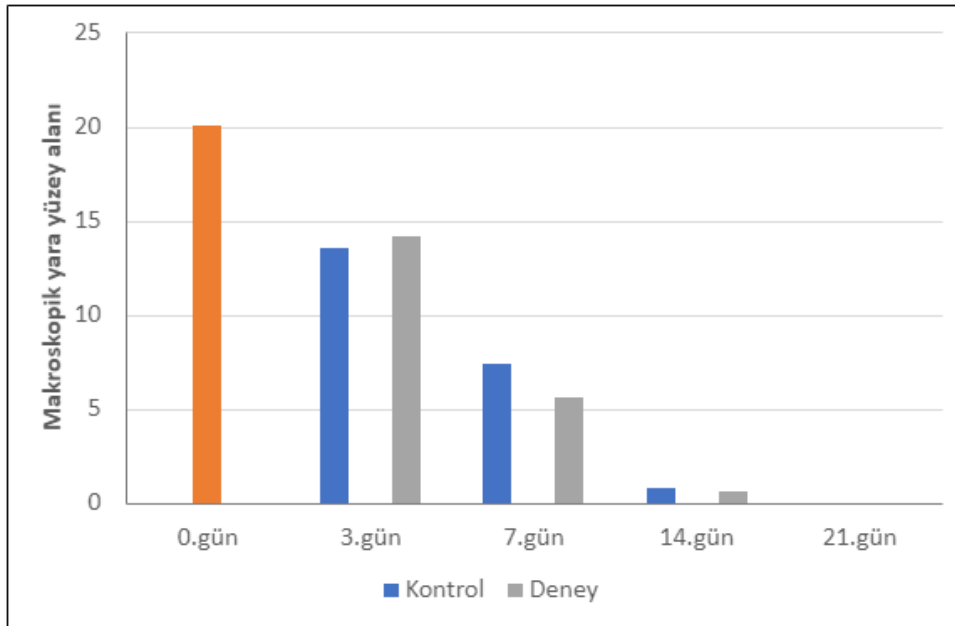
	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	20.08 (19.74-20.70)		
3.Gün	13.59 (11.76-15.47) ^{A,a,b}	14.13 (12.56-15.29) ^{A,a,b}	0.710
7.Gün	7.41 (6.08-10.84) ^A	5.61 (0.83-10.37) ^A	0.383
14.Gün	0.85 (0.00-1.36) ^{A,a}	0.63 (0.00-2.67) ^{A,a}	>0.999
21.Gün	0.0 (0.0-1.89) ^{A,b}	0.0 (0.0-2.03) ^{A,b}	>0.999
p-değeri ‡	<0.001	<0.001	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi. a: 3.Gün ile 14.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$), b: 3.Gün ile 21.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$).

Tablo 4’te gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre makroskopik yara yüzey alanları yönünden yapılan karşılaştırmalar verilmiştir.

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre yara yüzey alanlarında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p<0.001$), farkın nedeni, 3.güne göre 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin makroskopik yara yüzey alanlarının daha düşük olması olarak tespit edilmiştir. ($p<0.001$). Diğer günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).

Deney grubu içerisinde de sakrifikasyon zamanlarına göre yara yüzey alanlarında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p<0.001$), farkın nedeni, 3.güne göre 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin makroskopik yara yüzey alanlarının daha düşük olması olarak tespit edilmiştir ($p=0.002$). Diğer günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).



Şekil 15. Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre makroskopik yara yüzey alanlarındaki değişim

4.2. Epitelize Yara Dudaklarının Birbirine Uzaklığı (µm)

0.güne göre kontrol grubundaki 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.004$; $p=0.002$ ve $p=0.002$). 0.güne göre deney grubundaki 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin de epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.004$; $p=0.002$ ve $p=0.002$).

Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 5: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı (µm)

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	321.30 (294.80-350.54)		
3.Gün	235.14 (176.51-301.79) ^{a,b}	220.85 (158.78-259.94) ^{a,b}	0.805
7.Gün	175.20 (89.72-186.91) ^A	75.99 (33.21-137.85) ^A	0.151
14.Gün	15.03 (0.00-32.48) ^{A,a}	0.0 (0.0-24.68) ^{A,a}	0.485
21.Gün	0.0 (0.0-36.39) ^{A,b}	0.0 (0.0-34.00) ^{A,b}	>0.999
p-değeri ‡	<0.001	<0.001	

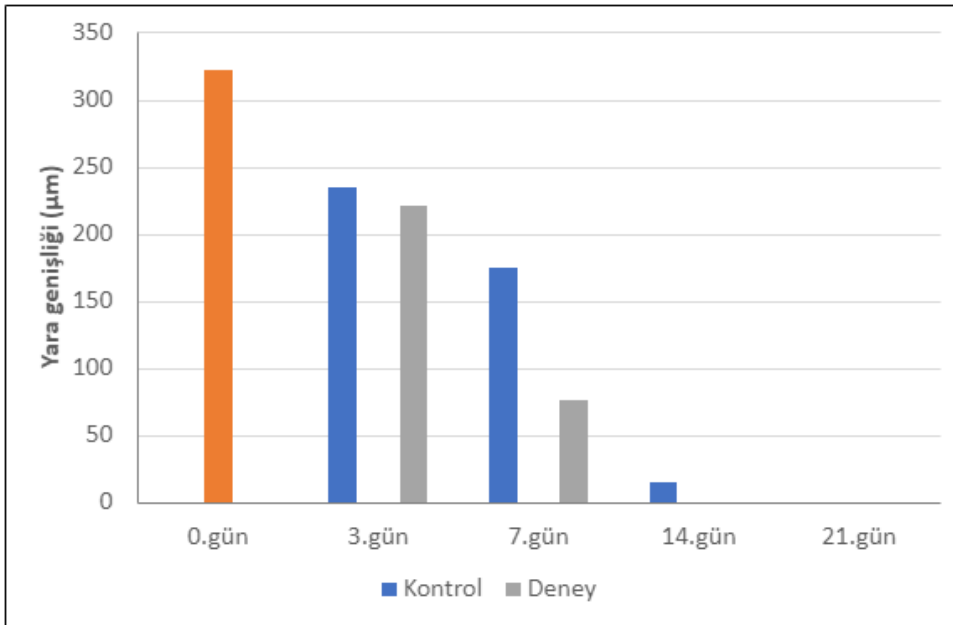
Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi. a: 3.Gün ile 14.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$), b: 3.Gün ile 21.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$).

Tablo 5'te gruplara ve günlere göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı yönünden yapılan karşılaştırmalar yer almaktadır.

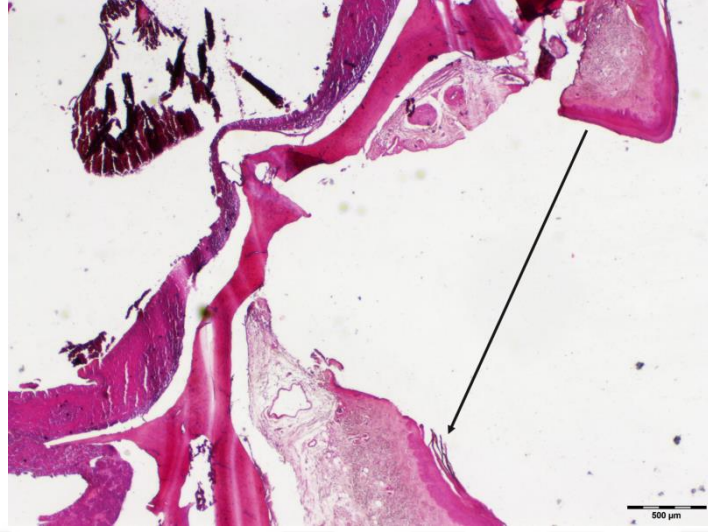
Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p<0.001$), farkın nedeni, 3.güne göre 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığının daha düşük olması olarak bulunmuştur ($p=0.003$ ve $p=0.002$). Diğer

günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).

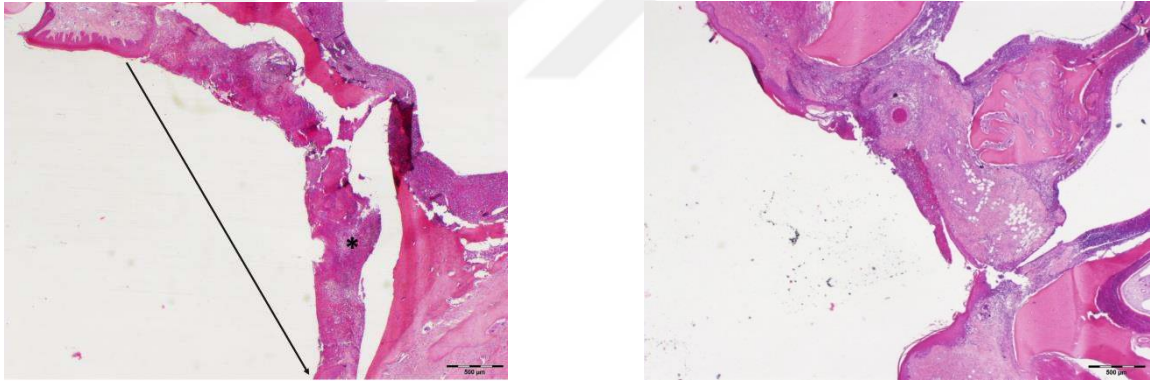
Deney grubu içerisinde de sakrifikasyon zamanlarına göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p<0.001$), farkın nedeni, 3.güne göre 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığının daha düşük olması olarak tespit edilmiştir. ($p=0.002$ ve $p=0.003$). Diğer günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).



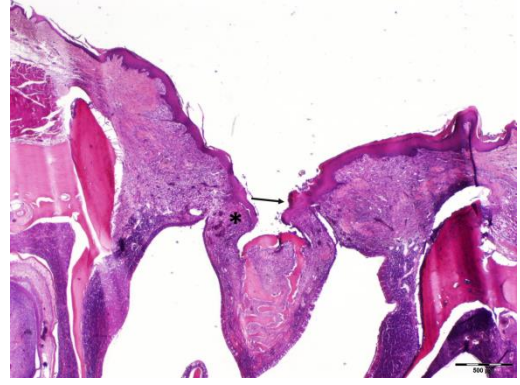
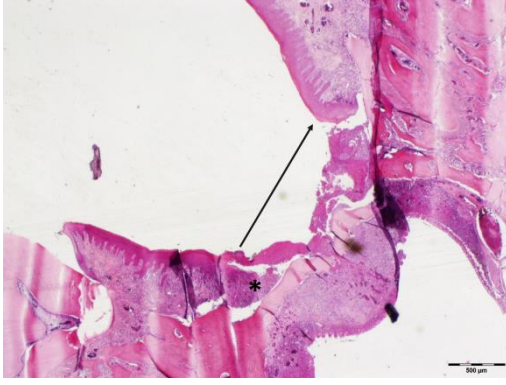
Şekil 16. Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı



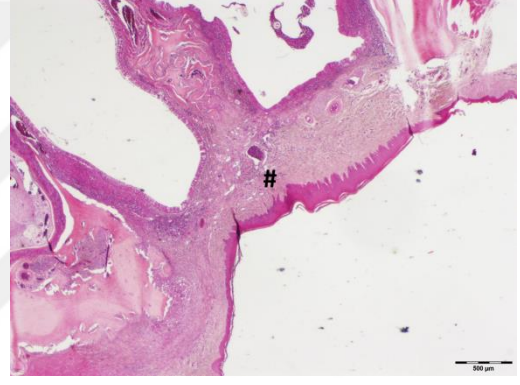
Şekil 17. 0. gün oluşturulan ülsere (→) enflamasyonun eşlik etmediği izlenmektedir (Hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).



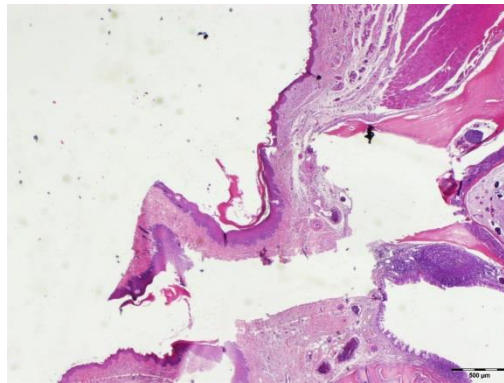
Şekil 18. Kontrol grubu 3. gün ülser (→) tabanında yoğun enflamasyonun (*) gelişmiş olduğu görülmektedir & Test grubu 3. gün ülser (→) tabanında yoğun enflamasyonun (*) gelişmiş olduğu görülmektedir (Hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).



Şekil 19. Kontrol grubu 7. gün yara dudaklarının (→) daralmaya başladığı izlenmekte, tabanında enflamasyonun (*) devam ettiği görülmektedir & Test grubu 7. gün yara dudaklarının (→) daralmaya başladığı izlenmekte, tabanında enflamasyonun (*) devam ettiği görülmektedir (Hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).



Şekil 20. Kontrol grubu 14. gün yaranın tümüyle epitelize olduğu, yoğun enflamatuvar infiltratin kaybolduğu, ülser tabanında fibrozis (#) geliştiği görülmektedir & Test grubu 14. gün yaranın tümüyle epitelize olduğu, yoğun enflamatuvar infiltratin kaybolduğu, ülser tabanında fibrozis (#) geliştiği görülmektedir (hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).



Şekil 21. Test ve kontrol grupları 21. gün ülser alanında enflamasyonun tamamen ortadan kalktığı, fibrozisin azaldığı, dokunun normale yakın bir histolojik görünüm kazandığı izlenmektedir (hematoksilen-eozin x20 orijinal büyütme).

4.3. Ülserasyon Skorları

0.güne göre kontrol grubundaki 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin ülserasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0.001$; $p<0.001$ ve $p=0.002$). 0.güne göre deney grubundaki 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin de ülserasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktür ($p=0.002$).

Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin ülserasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 6: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre ülserasyon skorları

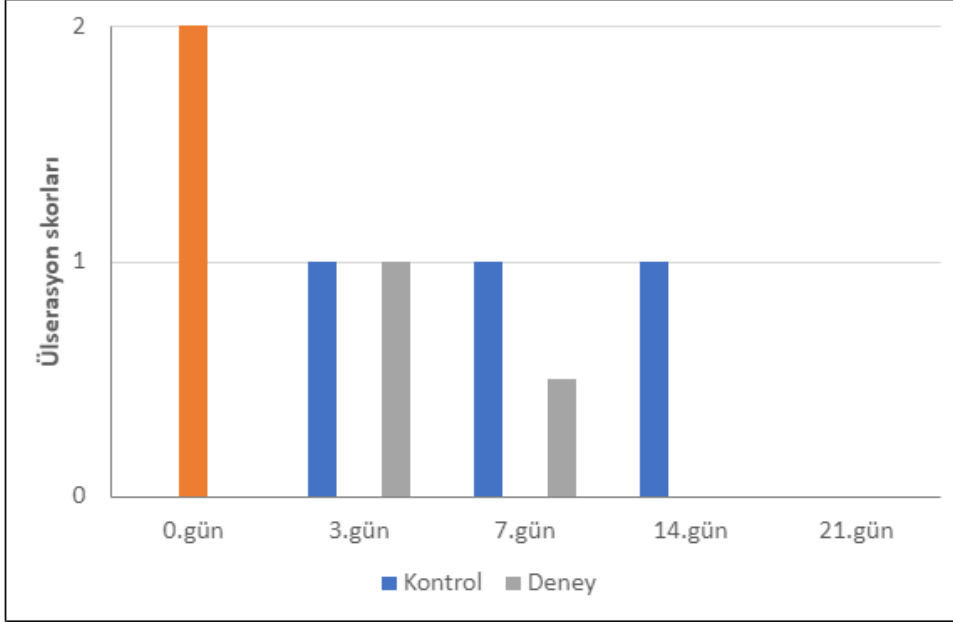
	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	2.0 (2.0-2.0)		
3.Gün	1.0 (1.0-2.0) ^a	1.0 (0.0-1.0)	0.259
7.Gün	1.0 (0.0-1.0) ^A	0.50 (0.0-1.0) ^A	0.534
14.Gün	1.0 (0.0-1.0) ^A	0.0 (0.0-0.25) ^A	0.234
21.Gün	0.0 (0.0-0.25) ^{A,a}	0.0 (0.0-0.25) ^A	>0.999
p-değeri ‡	0.006	0.031	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi. a: 3.Gün ile 21.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.004$).

Tablo 6’da gruplara ve günlere göre ülserasyon skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar bulunmaktadır.

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre ülserasyon skorlarında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p<0.001$), farkın nedeni, 3.güne göre 21.günde sakrifiye edilen deneklerin ülserasyon skorlarının daha düşük olmasıdır ($p=0.004$). Diğer günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).

Deney grubu içerisinde ise sakrifikasyon zamanlarına göre ülserasyon skorlarında Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0.031$).



Şekil 22. Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre ülserasyon skorlarının dağılımı

4.4. Re-epitelizasyon Skorları

0.güne göre kontrol grubundaki 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin re-epitelizasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$; $p<0.001$ ve $p=0.002$). 0.güne göre deney grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin de re-epitelizasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$, $p=0.002$, $p=0.002$ ve $p=0.002$).

Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin re-epitelizasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 7: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre re-epitelizasyon skorları

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	0.0 (0.0-0.0)		
3.Gün	1.0 (1.0-2.0) ^{a,b,c}	2.0 (1.0-2.0) ^A	0,318
7.Gün	2.0 (2.0-2.0) ^{A,a}	2.0 (2.0-2.0) ^A	>0.999
14.Gün	2.0 (2.0-2.0) ^{A,b}	2.0 (2.0-2.0) ^A	>0.999
21.Gün	2.0 (2.0-2.0) ^{A,c}	2.0 (1,75-2.0) ^A	0,699
p-değeri ‡	0.005	0,329	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi. a: 3.Gün ile 7.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.011$), b: 3.Gün ile 14.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.011$), c: 3.Gün ile 21.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.015$).

Tablo 7’de gruplara ve günlere göre re-epitelizasyon skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar yer almaktadır.

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre re-epitelizasyon skorlarında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p=0.005$), farkın nedeni, 3.güne göre sırasıyla; 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin re-epitelizasyon skorlarının daha yüksek olmasıdır ($p=0.011$; $p=0.011$ ve $p=0.015$). Diğer günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).

Deney grubu içerisinde ise sakrifikasyon zamanlarına göre re-epitelizasyon skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,329$).

4.5. Enflamasyon Skorları

0.güne göre kontrol grubundaki 3., 7. ve 14.günlerde sakrifiye edilen deneklerin enflamasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$; $p<0.001$ ve $p=0.005$). 0.güne göre deney grubunda ise sadece 3.günde sakrifiye edilen deneklerin kronik enflamasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin kronik enflamasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 8: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre enflamasyon skorları

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	0.0 (0.0-0.0)		
3.Gün	2.0 (1.0-2.0) ^A	1.0 (1.0-1.0) ^A	0.073
7.Gün	1.0 (1.0-2.0) ^A	1.0 (0,75-1.0)	0,138
14.Gün	1.0 (1.0-2.0) ^A	1.0 (0,75-2.0)	>0.999
21.Gün	1.0 (0.0-1,25)	0.5 (0.0-1,25)	0,699
p-değeri ‡	0,115	0,390	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi.

Tablo 8’de gruplara ve günlere göre enflamasyon skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar gösterilmiştir.

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre enflamasyon skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,115$).

Deney grubu içerisinde de sakrifikasyon zamanlarına göre kronik enflamasyon skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,390$).

4.6. Fibrozis Skorları

0.güne göre kontrol grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin fibrozis skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$; $p<0.001$; $p<0.001$ ve $p=0.002$). 0.güne göre deney grubundaki 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin de fibrozis skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0.002$).

Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin fibrozis skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 9: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre fibrozis skorları

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	0.0 (0.0-0.0)		
3.Gün	1.0 (1.0-2.0) ^A	1.0 (0.0-2.0)	0.535
7.Gün	2.0 (2.0-2.0) ^{A,a}	1,5 (1.0-2.0) ^A	0,138
14.Gün	2.0 (1.0-2.0) ^A	1.0 (1.0-2.0) ^A	0.534
21.Gün	1.0 (1.0-1.0) ^{A,a}	1.0 (1.0-1,25) ^A	0,699
p-değeri ‡	0.003	0.536	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi. a: 7.Gün ile 21.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.002$).

Tablo 9’da gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre fibrozis skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar bulunmaktadır.

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre fibrozis skorlarında istatistiksel olarak anlamlı değişim olup ($p=0.003$), farkın nedeni, 7.güne göre 21.günde sakrifiye edilen deneklerin fibrozis skorlarının daha düşük olması olarak tespit edilmiştir ($p=0.002$). Diğer günler arasında yapılan olası ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.025$).

Deney grubu içerisinde ise sakrifikasyon zamanlarına göre fibrozis skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0.536$).

4.7. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) Skorları

0.güne göre kontrol grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen denekler arasında VEGF skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.00625$). 0.güne göre deney grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen denekler arasında da VEGF skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.00625$).

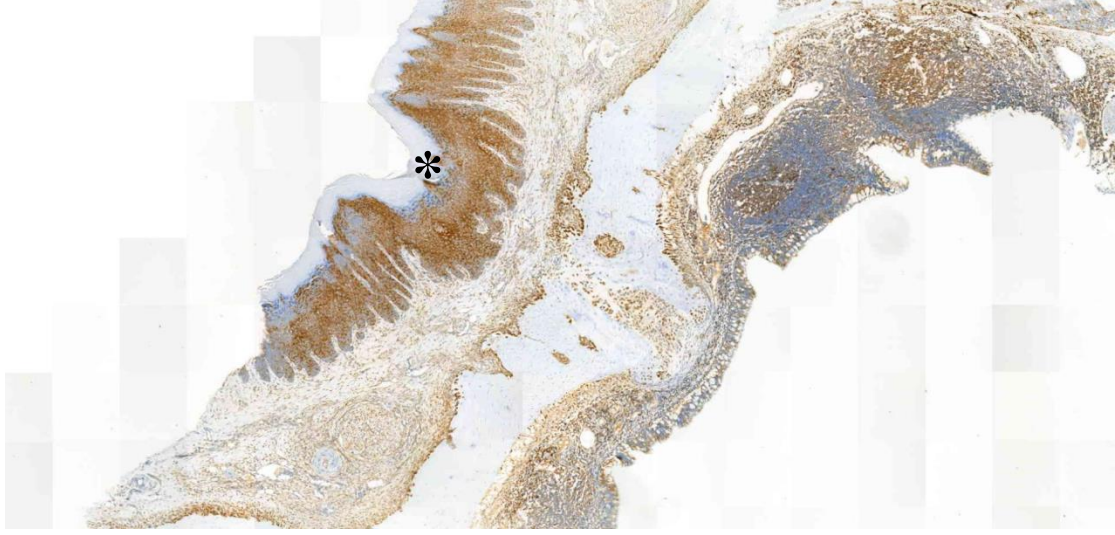
Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin VEGF skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 10: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre VEGF skorları

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	0.0 (0.0-1.0)		
3.Gün	2.0 (1.0-2.0)	2.0 (1.0-2.0)	0.902
7.Gün	1.0 (1.0-2.0)	1,5 (0,75-2.0)	0.945
14.Gün	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-1,25)	>0.999
21.Gün	1.0 (0.0-1.0)	0.5 (0.0-1.0)	0,699
p-değeri ‡	0,143	0.051	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi.

Tablo 10'da gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre VEGF skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar yer almaktadır.



Şekil 23. Ülser alanında immünohistokimyasal olarak 2+ olarak değerlendirilen VEGF (*) ekspresyonu (x5 orijinal büyütme)

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre VEGF skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,143$). Deney grubu içerisinde de sakrifikasyon zamanlarına göre VEGF skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0.051$).

4.8. Laminin skorları

0.güne göre kontrol grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen denekler arasında laminin skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.00625$). 0.güne göre deney grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen denekler arasında da laminin skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.00625$).

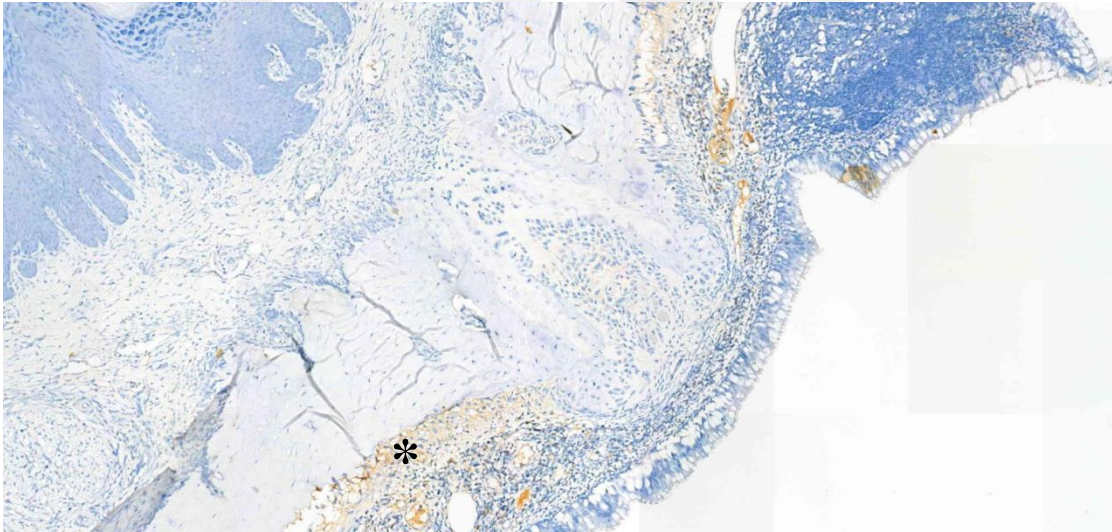
Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin laminin skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 11: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre laminin skorları

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	0.0 (0.0-0.25)		
3.Gün	1.0 (1.0-1.0)	1.0 (1.0-1.0)	0,710
7.Gün	1.0 (0.0-1.0)	0.5 (0.0-1.0)	0.534
14.Gün	0.0 (0.0-1.0)	0.0 (0.0-1.0)	>0.999
21.Gün	0.0 (0.0-1.0)	0.0 (0.0-1.0)	>0.999
p-değeri ‡	0.097	0,139	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. † Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi.

Tablo 11’de gruplara ve günlere göre laminin skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar bulunmaktadır.



Şekil 24. Ülser alanında immünohistokimyasal olarak 2+ olarak değerlendirilen laminin (*) ekspresyonu (Laminin x10 orijinal büyütme)

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre laminin skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0.097$). Deney grubu içerisinde de sakrifikasyon zamanlarına göre laminin skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,139$).

4.9. Leptin skorları

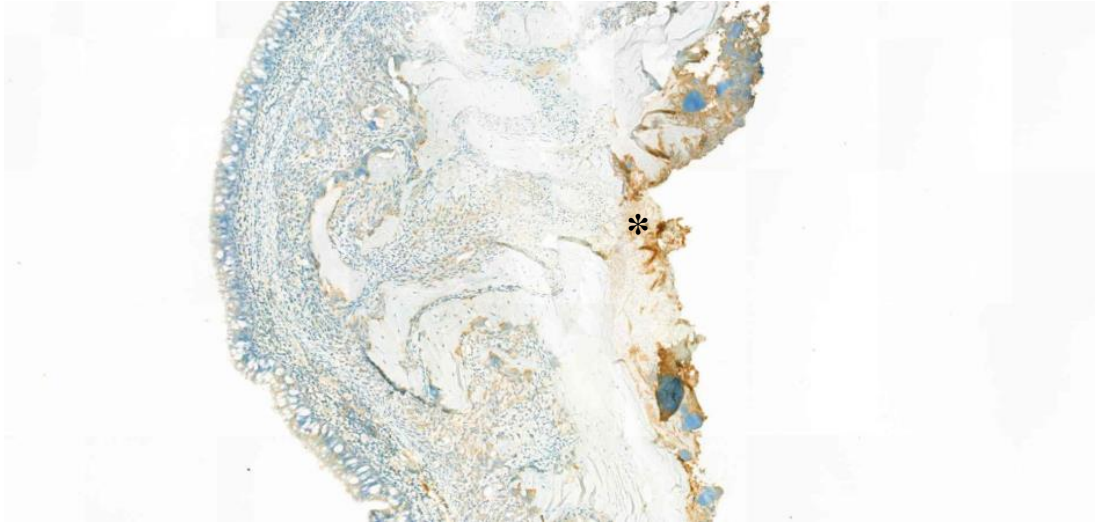
0.güne göre kontrol grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen denekler arasında Leptin skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.00625$). 0.güne göre deney grubundaki 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen denekler arasında da leptin skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.00625$). Kontrol ve deney grupları arasında sırasıyla; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerin leptin skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 12: Gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre leptin skorları

	Kontrol	Deney	p-değeri †
0.Gün	0.0 (0.0-0.0)		
3.Gün	1.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0)	0,805
7.Gün	1.0 (0.0-2.0)	0.5 (0.0-1,5)	0,805
14.Gün	1.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0)	0.945
21.Gün	1.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0)	>0.999
p-değeri ‡	0,850	0,816	

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25.yüzdelik-75.yüzdelik) biçiminde ifade edildi. †: Her bir izlem zamanı içerisinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡: Kontrol ve deney grupları içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. A: 0.gün ile arasındaki fark Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.00625$), Mann Whitney U testi.

Tablo 12’de gruplara ve sakrifikasyon günlerine göre leptin skorları yönünden yapılan karşılaştırmalar yer almaktadır.



Şekil 25. Ülser alanında immünohistokimyasal olarak 2+ olarak değerlendirilen leptin (*) ekspresyonu (Leptin x10 orijinal büyütme)

Kontrol grubu içerisinde sakrifikasyon zamanlarına göre leptin skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,850$). Deney grubu içerisinde de sakrifikasyon zamanlarına göre leptin skorlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,816$).

5.TARTIŞMA

Yara iyileşmesi farklı pek çok hücrel ve kimyasal reaksiyonun iç içe geçtiği, karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, dokunun hasar görmesi ile başlayan bir dizi yanıtın, hasarlı bölgenin komşu dokulardan ayırt edilemeyecek hale gelene kadar olgunlaşması ile sonuçlanır. Yaralanmayı takiben başlayan pıhtı oluşumu, enflamatuvar hücre birikimi, granülasyon dokusu organizasyonu, anjiogenezis, yara tamir dokusunun kontraksiyonu ve oluşan destek dokunun yeniden şekillenmesi basamaklarını içerir.(189)

Ağız boşluğu ise, yara iyileşmesini etkileyecek sistemik faktörlere ek olarak pek çok çevresel faktörün yarayı etkilemesine ortam oluşturur. Periodontal cerrahilerden sonra iyileşmeye bırakılmış yaraların iyileşme sürecinde, beslenme ve oral flora sebebiyle oluşan mikrobiyal yük başlı başına yara iyileşmesini bozmaktadır. Asit atakları, pıhtı stabilizasyonu sağlamada yaşanan zorluklar, gıdaların beslenme esnasında yara bölgesinde yaptığı travmalar gibi etkenler, normal iyileşme sürecini bozmaktadır. Buna ek olarak, operasyon sonrası bütünlüğü bozulmuş dokunun mekanik temizliğin zorlaşması da mikrobiyal yükü artırarak sürecin yavaşlamasına, hatta sekteye uğramasına sebep olmaktadır.(190)

Bakteri ve yara iyileşmesi arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda(191); yazarlar, bakterilerin normal yara iyileşmesi sürecine, oluşan enflamatuvar yanıtın şiddeti, granülasyon dokusunun organizasyonu ve maturasyon aşamasında salgılanan sitokinleri etkileyerek rol oynadığı bildirilmiştir. Öte yandan, yara yüzeyindeki bakteri türü ve bakteri yükü de salgılanan sitokinlerde artışa sebep olarak yara iyileşmesinin gecikmesine neden olmaktadır.(192)

Bakterilerin yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkileri, ürettikleri yıkıcı enzim ve toksinlerin varlığıyla gerçekleşmektedir.(192) Bakterilerden proteinaz salınımı; hücrelerin proliferasyonunda görevli büyüme faktörlerinin yıkımına sebep olur. Üretilen sitotoksik enzim ve serbest radikaller, oluşmakta olan epitelin hasar almasına neden olmaktadır. Ek olarak, epitelyal hücre migrasyonunu engelledikleri de bilinmektedir. Yarada bakteri kolonizasyonunun enflamatuvar evrenin uzamasına neden olduğu görülmüştür.(193)

Periodontal plastik cerrahi, dişetin ve alveoler mukozanın anatomik, gelişimsel ya da travmatik deformitelerini düzeltmek amacıyla uygulanan cerrahi işlemlere verilen addır. Bu cerrahi işlemler esnasında oluşturulan yaralar, bazı durumlarda cerrahi materyaller ile

kapatılamayacak kadar geniş olurlar. Bu durumlarda yara, sekonder iyileşmeye bırakılır. Keratinositlerin migrasyonu ve proliferasyonu ile bahsi geçen geniş yara bölgesinin kapanması beklenmektedir. Bu sebeple, doku kaybının fazla olduğu bu tip yaralanmalarda iyileşme süreci, yara kenarlarının birleştirildiği, primer kapamanın sağlandığı yaralardan uzun sürmektedir. Özellikle, yara kenarlarının birbirinden uzak olduğu, iyileşmenin daha uzun sürmesi beklenen bu yaralarda bakteriyel kontaminasyon riskinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.(194)

Periodontal plastik cerrahi operasyonlarından bazıları yara kenarlarının primer kapamasının mümkün olmadığı operasyonlardır. Serbest dişeti grefti ile yapılan augmentasyonlar, gingivektomi/gingivoplasti, apikale ve laterale pozisyone flap, frenektomi operasyonları periodontal plastik cerrahide sekonder iyileşmenin zorunlu olduğu operasyonlardır.(194)

Uygulayıcılar, bahsi geçen yaraların iyileşme sürecini bozan bakteriyel kontaminasyondan korunmak için hastalarına antimikrobiyal ajanlarla yara bakımı önermektedir. Günümüzde yaygın kullanılan klorheksidin antiplak özelliği ile ‘altın standart’ olmaya devam etmektedir.(106) Buna karşın, güçlü bir antiseptik olan klorheksidin’in yan etkileri olduğu da bildirilmiştir. Kullanılan konsantrasyona ve süreye bağlı farklı yan etkiler gösteren klorheksidine karşı, bakterilerde direnç geliştiği de bildirilmiştir.(195) Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, ağız içi mukozal yaraların klorheksidin solüsyonu ile yıkanmasının ardından yara iyileşmesinde gecikme olduğu bildirilmiştir.(196) Klorheksidin’in birçok hücreyi ve bu hücrelerin fonksiyonunu engellediği(197, 198) ve kolajen yapımında azalmaya sebep olduğu rapor edilen yan etkileri arasındadır.(199) Bu sebeplerle, cerrahi uygulamalardan sonra meydana gelen yaraların tedavisinde farklı ajan arayışları sürmektedir.(200, 201)

Bu açıdan, periodontal yara iyileşmesinde klinik sonuçları geliştirmek, hasta konforunu artırmak, iyileşme sürecini kısaltmak, sağlıklı bir doku oluşmasını sağlamak gibi hasta yararına olan etkileri elde edebilmek için yeni terapötik ajanlar incelenmekte ve etkileri araştırılmaktadır.(202-204) Enflamatuvar hücreler, trombositler, sitokinler ve mediyatörlerin aktif rol aldığı yara iyileşmesinin hem sistemik hem de çevresel pek çok faktörden etkilenmesi, bunlara ek olarak, oral bölgenin hastalar tarafından gün içerisinde gayet aktif olarak kullanılıyor olması, bölgenin mikrobiyal yükünün fazla olması, uygulayıcılar tarafından yara bakımının daha dikkatli yapılması gerektiğinin göstergesidir.

Uygulayıcıların kendi başlarına gösterdiği hassasiyetlerin yeterli gelmediği de klinisyenler tarafından bilinen bir gerçektir.

Tarih boyunca bitkisel ekstraktların hemostatik amaçlarla veya yara bakımında kullanıldığı bilinmektedir. Argan yağının geçmişten günümüze kadar, bölge halkı tarafından çeşitli medikal sorunlarda tedavi metodu olarak kullanılması, hakkında yapılan çalışmalarla kardiyovasküler hastalıklara, diyabete, yara iyileşmesine olan katkıları, etkin bir anti-mikrobiyal ajan olması, argan yağının hakkında yeni araştırmalar yapmaya değer bir ürün olduğunu göstermektedir.

Argan yağının antioksidan, antienflamatuvar, kardiyoprotektif, hipokolesterolemik, nöroprotektif, DNA hasarına karşı koruyucu, antidiyabetik, antimikrobiyal ve sitotoksik etkilerinin olduğu, melanin biyosentezini inhibe edebildiği, saç protein kaybını azalttığı, yara iyileşmesini hızlandırdığı, cilt elastikiyetini arttırdığı, epidermisin su kaybını azalttığı, deri hücrelerini oksidatif stresten koruyabildiği raporlanmıştır.(144)

Argan yağının yara iyileşmesine olan katkısı, Avşar ve ark. (186) 2. derece yanıkların tedavisinde olası etkilerini değerlendirdikleri çalışmada bulunan olumlu sonuçlarla, yağın antioksidan ve anti-enflamatuvar etkilerine dayandırılmıştır. Gümüş sülfadiazin'in pozitif kontrol grubu olarak kullanıldığı çalışmada sıçanların ciltlerinde deneysel olarak oluşturulan yanıklar, argan yağının doza bağlı olmak koşuluyla, pozitif kontrol grubundan daha iyi kasılma ve yara iyileşmesi göstermesi sebebiyle dikkat çekici olmuştur ($p<0.05$).

Barlas ve ark. sham grup olarak laparotomi ve kolon mobilizasyonu uyguladığı, kontrol grubu ve argan yağı gruplarını da içeren çalışmada, histopatolojik olarak, argan yağının kolonik yara iyileşmesi üzerinde önemli yararlı etkileri olduğu görülmüştür. Granülasyon dokusu kalınlığı, anjiyogenez, fibroblast proliferasyonu ve kolajen birikiminin kontrol grubuna göre üstün bulunması, yara iyileşmesine olan katkının ispatı niteliğini taşımaktadır. Yazarlar, rektal olarak uygulanan argan yağının yara iyileşmesi parametrelerini önemli ölçüde iyileştirdiğini ve önemli bir antioksidan etki gösterdiğini bildirmişlerdir.(132)

Manca ve ark. ise, nanoteknoloji ürünü olarak görülen ve medikal alanda kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşan lipozomlar ve hiyalurozomları kullanarak tasarladıkları in-vivo deneyde argan yağı ile modifiye edilmiş olan "argan-lipozomların" ve "argan-hiyalurozomların", hidrojen peroksit ile indüklenen oksidatif stresi azalttığı, hücre

proliferasyonu ve migrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca yaraların daha kısa sürede tam kapanma göstermiş olması da yazarların bildirdiği sonuçlar arasındadır. Yazarlar, bu modifiye edilmiş nanoformülasyonların, ciltteki oksidatif stresi önlemede ve yara iyileşmesinde olumlu etkilerinin dikkat çekici olduğunu vurgulamışlardır. Argan yağının, hücre proliferasyonuna ve migrasyonuna olan katkısı ve yağın sahip olduğu antioksidan özellikler iyileşmeye olan olumlu etkilerin ispatı niteliğinde değerlendirilebilir.(187)

Yapılan literatür taramalarında argan yağının yukarıda bahsedilen farklı alanlardaki olumlu etkilerinin bildirildiği fakat ağız içi mukozal dokulardaki kullanımı ile ilgili bir çalışma bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, argan yağının topikal uygulamasının sekonder yara iyileşmesine bir etkisi olmayacağı H0 hipotezinden yola çıkılarak sıçanların sert damak bölgesinde eksizyonel olarak oluşturulan deneysel yaraların iyileşmelerinin gruplar arasındaki farkının kıyaslanması amaçlanmıştır. Araştırmamız argan yağının topikal uygulamasının deneysel hayvan modelinde oluşturulan palatinal eksizyonel yaranın iyileşmesine olabilecek olası etkilerini makroskobik, histolojik, immünohistokimyasal analizler ile araştıran literatürdeki ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Araştırmamızda kullanılan damak eksizyonel yara modeli daha önce intraoral yara iyileşmesi sürecini veya iyileşmeyi olumlu/olumsuz etkileyebilecek faktörleri araştırmak için kullanılmış bir modeldir. Literatür taraması sonucunda, bu yara modelinin, klinik ve histolojik olarak takip edilebilen, tekrarlanabilir bir yara oluşturmak için kullanıldığı gözlemlenmiştir. Ancak standart bir çap bildirilmemiş, araştırmacılar çalışma tasarımlarına göre farklı yara çapları tercih etmişlerdir. Kahnberg ve Thilander (205) 1982 yılındaki çalışmalarında 3mm, Weinberg ve ark. (206, 207) 4.2mm, Bodner ve ark. (208) 1993 3-5mmlik çaplarda yaralar üzerinde çalışmalarını sürdürmüşlerdir. Bu çalışmada kullanılan deneysel yöntemde ise yara genişliği 5mm olarak belirlenmiştir.

Konu ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada makroskobik yara alanı hesaplamaları, standardizasyon sağlaması amacıyla 5mmlik çapa sahip punch biyopsi aleti kullanılarak oluşturulmuş yaraların, kalibre edilmiş fotoğraflarıyla, bilgisayar programı kullanılarak, pikseller aracılığı ile yapılmıştır. Benzer dizaynli literatürdeki çeşitli çalışmalarda kullanılmış olan bu yöntemin, standardize edilmiş dijital fotoğraflar üzerinden, bilgisayar yazılımları kullanılarak yara sınırlarının belirlenmesine ve yüzey alanı hesaplamasına izin verdiği bildirilmiştir.(209)

Değerlendirme süreleri tespit edilirken daha önce yapılmış çalışmalar da incelenmiş ve bu çalışmalara dayanarak, 3., 7., 14., 21.günlerin sıçanlarda yara iyileşmesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan zaman noktaları olduğu görülmüştür.(132, 186, 190, 202) Bu zaman noktaları, yara iyileşme sürecinin farklı aşamalarını temsil ettikleri için seçilmişlerdir. 3.gün enflamatuvar fazı temsil edebilmesi için, 7.gün proliferatif fazı temsil edebilmesi için ve 14. gün yeniden şekillenme fazını temsil edebilmesi için seçilmiştir. 21.günde ise tüm yaraların kapanmış olması veya kapanmak üzere olması beklenmiştir. Ayrıca 21.gün, uygulanan ajanın uzun süreli kullanımı sonucundaki etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

Literatür taraması sonucunda elde edilen bulgulara göre argan yağının antimikrobiyal, sitotoksik, kardiyoprotektif/hipokolesterolemik etkilerinin doza bağlı olarak değiştiği saptanmıştır. Argan yağının kullanıldığı çalışmalarda çalışma dizaynına göre çok farklı miktarlarda yağ kullanılmış olmakla birlikte, topikal uygulamalarda, Avşar ve ark. (186), 1ml argan yağını günde bir kez ve günde 2 kez olacak şekilde, Barlas ve ark. (132) ise 2ml argan yağını günde 1 kez olacak şekilde yara bölgesine uygulamışlardır. Bizim çalışmamızda da 1 ml argan yağı günde 2 kez olacak şekilde topikal olarak uygulanmıştır.

Çalışmamızda yapılan makroskobik incelemelerde, palatal bölgede, eksizyonel olarak oluşturulan yaralar, benzer dizayna sahip diğer çalışmaların sonuçlarıyla paralellik gözlemlenmiştir. 4. zaman noktası olan 21.günde, sakrifiye edilen örnekler incelendiğinde, çoğu denekte tam yara kapanması gözlemlenmiştir. Deney ve kontrol grupları, sakrifikasyon günlerine göre karşılaştırıldığında, kendi içlerinde istatistiksel anlamlı fark gösterdiği tespit edilmiştir. Gruplar arası değerlendirmede ise deney grubunda 3.gün ile 7.gün arasında oluşan fark kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Deney grubunda oluşan bu fark, argan yağının yara iyileşmesinin erken evreleri üzerinde etkili olabileceği şeklinde yorumlanabilirse de bu etki ile ilgili kesin bir sonuca varmamız mevcut çalışma sonuçları ile mümkün olamamıştır.

Literatür taramamızda bu deneysel çalışma tasarımının ilk olarak 1982 yılında Kahnberg ve Thilander (205) tarafından kullanılmış olduğunu ve 3mm'lik çapta planlanan yaraların, sıçanların palatal bölgelerinde eksizyonel olarak oluşturulmuş olduğunu gördük. Bu çalışmada, fotoğrafik değerlendirmelerde 7.ve 10.günlerde yaralarda yaklaşık %50 oranında yara kapanması bildiren araştırmacılar, histolojik incelemelerinde hem epitel

altında kalan bağ dokuda hem de ekspoz olmuş kemik dokuda belirgin enflamatuvar yanıt gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Yara yüzey alanlarının küçülmesi ve epitelyal hücrelerin migrasyonu sayesinde yara kenarlarının daralması ile devam eden süreçte, 21.gün sakrifikasyon zamanında, araştırmacılar defektte, merkeze doğru epitel rete-peglerin henüz gelişmemiş olduğunu ancak tamamen epitel ile kaplanma olduğunu bildirmişlerdir.

Literatürdeki benzer çalışmalar değerlendirildiğinde, Kozlovsky ve ark. (190), sıçanların sert damak bölgesinde oluşturdıkları 5mm çapındaki yaraların makroskopik yara yüzey alanlarının anti-mikrobiyal ajanlarla muamelesi sonucu yara iyileşmesinin ilerleyişini incelenmiştir. Ağız gargarası olarak kullanılan bir fenolik bileşik solüsyonu, %0,12'lik klorheksidin glukonat (CHX) solüsyonu, %1'lik CHX jel ve amin/kalay florid solüsyonu kullanılan çalışmada yara kapanmasının salin grubuna göre olumsuz bir etkisi gözlemlenmemiştir. Tüm eksizyonel palatal yaraların yara yüzey alanlarının da 0.günden 21.güne kadar, tüm sakrifikasyon zamanlarında kademeli olarak azaldığı saptanmıştır.

Hammad ve ark. (209) da yine topikal uygulamalarla yara iyileşmesine olan faydaları saptanan çeşitli ajanları karşılaştırdığı benzer dizaynli çalışmada 3mm'lik palatal yaralar kullanılmış ve çalışmanın değerlendirilmesi için dijital fotoğraflar ve histolojik incelemelerden yararlanılmıştır. Allantoin (%0.5) jel, Hyaluronan jel ve CHX (%0.2) jel uygulamalarıyla yapılan çalışmada ortalama yara yüzey alanı ve yara kenarları arasındaki ortalama mesafe, tüm deney ve kontrol gruplarında zamanla önemli ölçüde azalma göstermiştir. ($p<0.05$). CHX jel uygulaması yapılan grupta epitelizasyon ve yara yara yüzey alanında istatistiksel anlamlı farklılık gözlenirken, Allantoin uygulamasının ise yara iyileşmesine olumlu ya da olumsuz etkisi olmadığı bildirilmiştir.

Sezgin ve ark. (202) deksantanol, silbiol, undesilenik asit ve lidokain içeriğiyle yara iyileşmesinde kullanıldığı bilinen bir jeli benzer dizaynla test etmişlerdir. 3mm'lik palatal yaralar tercih eden araştırmacılar, çalışma verilerini dijital fotoğraflar ve histolojik incelemelerle yürütmüştür. Yara dudakları arasındaki mesafenin makroskopik ve mikroskopik ölçümlerine ek olarak vaskülarizasyon ve enflamasyon skorlarını da inceleyen araştırmacılar, başlangıca göre her iki grupta da istatistiksel anlamlı farklar ($p<0.001$) bildirse de gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadığını bildirmişlerdir ($p>0.05$).

Yara iyileşmesinin evrelerinden olan proliferatif evre hem enflamatuvar evre ile hem de re-modelling evresiyle iç içe geçmiş bir evredir. Bu evrenin en önemli olaylarından

birisi de re-epitelizasyondur. Ve re-epitelizasyonun gözlemlenebilmesi, trombosit ve makrofajlar aracılığıyla sentezlenen ve salgılanan çeşitli büyüme faktörlerinin (VEGF, TGF- β , FGF) ve sitokinlerin varlığı ile ilişkilidir (210). Yaralanma sonrasında başlayan uyarılar zinciri sonucunda aktiveleşen makrofajlar, süreci, yara kenarlarında bulunan keratinositlerin uyarılması ve yaranın merkezine doğru migrasyonu ile devam ettirir. Keratinositlerin migrasyon ve proliferasyonu eylemine re-epitelizasyon adı verilir. Bu olaylar zinciri yara iyileşmesinin ana unsurlarından, olmazsa olmazlarından birisidir. Bu sayede alt tabakalarda oluşması beklenen bağ dokunun dış ortamdan ayrılması sağlanabilmektedir.(211)

Periodontal plastik cerrahilerde mecburen kullanmak zorunda olduğumuz sekonder yara iyileşmesi paterni epitel örtünün olmaması ve alttaki bağ doku tabakasının, ağız boşluğuna ekspoz olma nedeniyle post-op komplikasyonların yaşanmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda oluşturduğumuz deneysel yara modelinde gözlenen re-epitelizasyon sürecini, epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığının mikroskopik olarak ölçülmesiyle, ülserasyon ve re-epitelizasyon skorlarıyla inceledik.

Epitelize yara dudaklarının birbirine uzaklığı incelendiğinde, çalışmamızda hem test hem de kontrol gruplarında, tüm sakrifikasyon günlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalar gözlemlenmiştir. Bu açıdan çalışma sonuçlarımız, literatürde aynı parametreyi inceleyen Kozlovsky (190) ve Sezgin (202)'in çalışmalarıyla paralellik göstermekte ve kademeli olarak azalma paterni göstermektedir. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar değerlendirildiğinde, hiçbir sakrifikasyon zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmasa da çalışmamızın 3. ve 7.günleri arasında epitelize yara dudaklarının birbirine olan uzaklığındaki azalma, deney grubunda kontrol grubuna kıyasla daha dramatik düzeydedir. Ancak buradaki fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Makroskopik yara ölçümü sonuçları ile benzerlik gösteren bu durum da organ yağının yara iyileşmesinin erken dönemine olumlu etki sağlayabileceğini düşünebilmemize neden olsa da kesin bir sonuca varmak için konu ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Çalışmamızda, yara iyileşmesini değerlendirmek için, deneklerin ülserasyon skorları da incelenmiştir. Ülserasyon skorlarında gözlemlenen azalma, epitel ile örtülen bir bağ dokusu varlığını bize düşündürmektedir. Bu da epiteldeki proliferasyonu ve migrasyonu yansıtan bir parametre olarak kullanılmıştır. Gruplar arası değerlendirmelerde; 3., 7., 14. ve 21.günlerde sakrifiye edilen deneklerde ülserasyon skorları yönünden

istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık görülmemiştir ($p>0.0125$). Grup içi değerlendirmede ise her iki grupta da 0.güne göre 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmişken, kontrol grubunda 3. ve 21.günler arasındaki fark da istatistiksel anlamlı bulunmuştur. Ancak, grup içi ülserasyon skorları değerlendirildiğinde kontrol grubunda 3., 7. ve 14.günlerde benzer skorlar gözlenirken; deney grubunda ülserasyon skoru 0.günden 7.güne kadar kademeli azalma göstermiş; 14.günden itibaren tam kapanma gözlenmeye başlanmıştır. Kontrol grubu da dahil olacak şekilde, deneklerin çoğunda 21.günde tam kapanma gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda 14.gün sakrifikasyon zamanında ülserasyon skorlarına ait medyan değerlerinin deney grubuna göre daha yüksek olması ve epitelize yara dudakları arasındaki mesafe ölçümleri birlikte değerlendirildiğinde, argan yağının epitelizasyona olası olumlu bir katkı sağlamış olabileceği yorumu yapılabilir.

Oluşturulan yaraların sekonder iyileşme paterni ile tam kapanması durumu, epitelin yeniden oluşumundan bağımsız olamaz. Bu sebeple re-epitelizasyon skorlarını incelediğimiz deneklerde, deney grubunda, tüm sakrifikasyon zamanlarında 0.gün ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda ise 7., 14. ve 21.günler 0.güne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklar göstermektedir. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Grup içi epitelizasyon skorları değerlendirildiğinde deney grubunda 3.günden itibaren tüm sakrifikasyon zamanlarındaki medyan değerler 2 olarak tespit edilmişken kontrol grubunda ise durum 7.günden itibaren gözlemlenmiştir. Bu durum argan yağının re-epitelizasyonu hızlandırıcı bir etkisi olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Ülserasyon skorlarının ve epitelize yara dudakları arasındaki mesafe sonuçlarının da re-epitelizasyon skorlarıyla gösterdiği uyumlu sonuçların, argan yağı lehine olan yorumlarımızı desteklediğini düşünmekteyiz.

Hammad ve ark. (209) yaptığı çalışmada da zaman içerisinde epitelde zaman içerisinde artan proliferasyon gözlemlenmiştir. Deney ve kontrol gruplarında gözlemlendiğimiz yüksek re-epitelizasyon skorları, bizlere yara kapanması sürecinin, normal şekilde ilerlediğini ve kullanılan ajanların iyileşme sürecine olumsuz bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Ayrıca, Gül ve ark. (212) yaptığı benzer dizaynli çalışmada, diyabetin yara iyileşmesine olan olumsuz etkileri sebebiyle anti-enflamatuvar ve anti-mikrobiyal

etkinlikleri bilinen Ankaferd Blood Stopper (ABS) ve Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) ajanlarının yara iyileşmesine olası etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, palatal bölge yerine alt keserlerin dişetinde oluşturulan yaralarda, histolojik incelemeler yürütülmüştür. Enflamasyon, epitelizasyon ve vaskülarizasyonun değerlendirildiği çalışmada, ABS ve CAPE'nin olumlu etkileri diyabet indüklenmeyen gruplarda gözlemlenmiştir. ($p<0.05$) Diyabet indüklenen test gruplarında ise CAPE'nin istatistiksel olarak anlamlı şekilde vaskülarizasyonu olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. ($p<0.005$) Bu çalışmada da, bizim çalışmamıza benzer şekilde 7., 14., ve 21.günlerde artmış epitelyal proliferasyon gözlemlenmiştir. Re-epitelizasyon skorları deney ve kontrol gruplarında yalnızca 3.günde farklılık göstermektedir

Shim ve ark. (213) 2007 yılında yaptıkları çalışmada, antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkilere sahip olduğu bilinen iridoid glikozit ürünü Aucubin kullanılmıştır. Bu çalışma, %0.1 aucubinin oral yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Sıçanların bukkal mukozalarının her iki tarafında oluşturulan yaralarda epitelizasyon, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve matriks oluşumunun boyutunu belirlemek için mikroskopik inceleme ve kantitatif histolojik analizler yapılmıştır. Aucubin ile tedavi edilen grubun epitelizasyonu ve matriks oluşumu, kontrol grubundan daha erken gerçekleşmiştir. Ayrıca, araştırmacılar, deney grubunda gözlemlenen enflamatuvar hücre sayısının, kontrol grubuna göre daha az olduğunu göstermiştir. Her iki grupta da 5. günde yara bölgesinin tamamen epitel ile örtülmediğini bildiren araştırmacılar, Aucubin ile tedavi edilen grubun yara alanlarında 1. günde ($p<0.05$) ve 3.günde ($p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı farklar bildirmiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Yara iyileşmesi, enflamatuvar evre ile başlamakta ve iç içe geçmiş diğer evrelerle hasarlı dokunun tamiri tamamlanmaktadır. Enflamatuvar faz ise vasküler ve hücrel yanıtlardan oluşmaktadır. Salgılanan çeşitli hücrel sinyaller ve büyüme faktörleri ile pıhtılaşma, hasarlı dokuların uzaklaştırılması, zararlı mikroorganizmaların imhası bu evrenin majör olaylarıdır. Bu evrenin herhangi bir sebeple etkilenmesi, yara iyileşmesinin etkilenmesi demektir. Yaralanmanın yaklaşık olarak üçüncü gününde makrofajlar bölgede baskın hücre haline gelirler. Makrofajların, hasarlı dokuları ve bakterileri fagosite etmekle kalmadığı, salgıladığı sitokin ve büyüme faktörleriyle de enflamatuvar yanıtı güçlendirerek, granülasyon dokusunun yapımını başlattığı bilinmektedir.(30, 32, 34) Ayrıca proteolitik enzimlerle (kolajenaz ve matriks metalloproteinaz) dokularda yeniden oluşumunu düzenlemektedirler. Fibroblastları, keratinositleri ve anjiogenezisi de uyaran

makrofajlar yara iyileşmesinin proliferatif evreye geçmesinde görevlidirler.(37) Makrofajların sayısının ve aktivitesinin yaralanmayı takiben beşinci güne kadar azaldığı bilinmektedir. Ayrıca, olası bakteriyel yükün yara iyileşmesini bozması da yine makrofaj ve benzeri hücrelerde oluşan yanıtların etkilenmesi sebebiyle görülmektedir.(214) Enflamatuvar hücrelerin ve mediyatörlerin aktivasyonu sonrasında enfeksiyona karşı vücudun yapacağı savunmanın, granülasyon dokusuna ve çevredeki normal dokulara zarar vermesi söz konusudur.(215) Bu duruma ek olarak, bazı bakterilerin ürettiği toksinlerin ve fibrinolitik enzimlerin de iyileşme sürecini bozduğu ve süreyi uzattığı bilinmektedir.(209)

Bu bilgilere dayanarak enflamasyon skorlarını incelediğimiz çalışmamızda, kontrol grubunda 0.güne kıyasla 3. 7. ve 14. Günlerde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken, deney grubunda ise 0.güne kıyasla sadece 3.günde istatistiksel anlamlı farklar tespit edilmiştir. Enflamasyon skorları, kontrol grubuna ait 3.gün ölçümlerinde, Sezgin Y.'nin (202) çalışmasına benzer şekilde en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Deney grubunda ise, durum farklılık göstermiş ve organ yağının anti-enflamatuvar etkinliğini gösterir şekilde daha küçük skorlar kaydedilmiştir. Weinberg E. ve ark.(207) 2022 yılında kortikosteroidlerle yaptığı çalışmasında da 3 haftalık iyileşme periyodunda, diğer çalışmalara benzer şekilde önce artan, sonrasında azalan enflamatuvar skorlar kaydedilmiştir. Diğer çalışmalarla kıyaslandığında, çalışmamızda, yara iyileşmesi esnasında kaydedilen enflamatuvar skorlar, sıçanların ekstra bir enflamatuvar yüküyle karşılaşmadığını düşündürmektedir. Test ve kontrol grupları arasında, hiçbir sakrifikasyon zamanında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmamış olsa da ($p>0.0125$) 3.günde deney grubunun enflamatuvar skorunun kontrol grubuna kıyasla daha düşük olması, bizlere organ yağının anti-enflamatuvar etkinliği sayesinde bu farkın gözlemlendiğini düşündürmüştür.

Fibroblastlar, yara iyileşmesinde görevli olan önemli mezenkimal hücrelerdir. Yaralanmadan sonraki 3-4. günlerde görülürler ve yaklaşık birinci haftada pik seviyeye ulaşarak, üçüncü haftaya kadar yarada aktif olarak görev almaktadırlar. Geçici matriksin yerini alacak yeni matriksin üretiminden ve yara kontraksiyonundan sorumludurlar.(216) Fibroblastlar yaralanmayı takiben makrofajlar tarafından salgılanan mediyatörlerle çevre dokulardan yara bölgesine gelmekte, burada aktive olup ve proliferasyon göstermektedirler. Yara fibroblastları, PDGF stimülasyonuna yanıt olarak immatür kolajen (tip III), fibronektin ve glikozaminoglikanlardan oluşan geçici matriksin sentezinden sorumludurlar.(217) Yara kontraksiyonu, yara kapanmasının sağlanabilmesi amacıyla yara kenarlarının merkeze doğru kasılma hareketidir ve yaralanmadan sonraki ilk iki haftada

gerçekleşir. Fibrozis, skar oluşumuna yol açabilen kolajen lifleri gibi hücre dışı matriks bileşenlerinin birikmesini ifade eden bir parametredir.(15)

Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde, kontrol grupları arasında fibrozis skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir ($p < 0.025$). Deney grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ($p > 0.025$). Deney ve kontrol gruplarının farklı sakrifikasyon zamanlarına göre yapılan kıyaslamalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ($p > 0.0125$). Fibrozis skorlarına ait medyan değerler incelendiğinde ise; literatürle uyumlu şekilde 7.günde en yüksek değerler kaydedilirken, deney grubunda 7. ve 14.günlerde kontrol grubuna göre daha küçük değerler kaydedilmiştir. Deney grubu medyan skorlarında gözlemlenen farklılık argan yağının skar oluşumunu azaltıcı bir etkisi olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Bu yorum doğrultusunda dokunun iyileşmesinin ilk hale daha yakın bir şekilde tamamlanacağı düşünülebilir.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'nin yara iyileşmesinin farklı evrelerinde rol oynadığı ve reseptörlerinin aktivasyonu ile endotelyal hücrelerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve diferansiyasyonunu sağladığı bilinmektedir.(62, 218) Yara bölgesinin revaskülarizasyonunu ve permeabilitesini düzenleyerek granülasyon dokusunun oluşmasında da aktif rol alan VEGF'nin anjiyogenezisi artırdığı literatürde pek çok çalışmada *in vitro* ve *in vivo* olarak gösterilmiştir.(69, 219-221) Araştırmacılar, VEGF ekspresyonunun, iyileşme sürecinin erken aşamasında gelişmiş anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumuyla sonuçlandığını, bu sayede iyileşme süresinin kısaldığını göstermişlerdir. Yara bölgesinde vaskülarizasyona olan katkılarının yanında, epitelizeasyona ve kolajen depozisyonuna katkısı olduğu da bilinmektedir.(222)

Yara iyileşmesi, bölgedeki hasarlı dokunun uzaklaştırılması ve eksik dokunun tamamlanması olarak özetlenecek olursa, bölgeye fagositozdan sorumlu hücrelerin kemotaksisi gerekecektir. Aynı zamanda bölgeye besin ve oksijen taşınması da yara iyileşmesi için olmazsa olmaz gerekliliklerdir. Bu sebeple anjiyogenezisin önemi yadsınamaz düzeydedir. İyileşmenin erken evrelerinde yara kenarlarına yakın bölgelere gerekli hücrelerin, besin ve oksijenin taşınması difüzyon yoluyla olsa da yaranın merkezinde damarlanmanın eksikliği majör bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hipoksi durumu sebebiyle, VEGF ve FGF sekresyonunda gözlenen artış, kapiller ağın

oluşması için yara kenarındaki endotelial hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve olgunlaşmasını desteklemektedir.(1)

Zhang L. ve ark. 2022 yılında yaptıkları çalışmada, nar kabuğu ekstratının, ikinci derece yanıklarda yara iyileşmesine olumlu etkilerinden bahsedilmiştir. İmmunohistokimya ve Western-Blot analizlerinin kullanıldığı çalışmada, VEGF düzeyinin hızlı yükselişi 7.günde gözlemlenmiş ve 21.günde azalmaya başladığı kaydedilmiştir. Bizim çalışmamızda da 3.günde ulaşılan en yüksek değer, deney grubunda 7.günden itibaren azalma göstermiştir. Kontrol grubunda ise azalma 14.günden itibaren kaydedilmiştir.(223)

Keswani ve ark. (218) (2013) benzer çalışma dizaynı ile oluşturdukları 1,5mmlik palatal yaralar üzerine yaptıkları çalışmalarında tükürük içerisinde bulunan VEGF' nin yara iyileşmesine etkileri değerlendirilmiştir. Sialoadenektomi yapılan sıçanlarda, düşük tükürük VEGF seviyeleri, bozulmuş neovaskülarizasyon ve yeniden epitelizeasyon ile korelasyon göstermiş ve bu durum yazarlara VEGF'nin palatal mukozal iyileşmede önemli bir rol oynadığını düşündürmüştür. 3.günde sialadenektomi grubu en yüksek epitelyal gap ile sonuçlanırken, sialadenektomi + oral VEGF muamelesi yapılan grupta epitelyal gap, istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az bulunmuştur ($p<0.001$). Bu iki grup için bakıldığında, kılcal damar yoğunluğu için istatistiksel olarak anlamlı bir fark sialadenektomi + oral VEGF grubu lehine gözlemlenmiştir ($p<0.001$).

Çalışmamızda yara iyileşmesinin farklı birçok evresinde rol oynayan vasküler endotelial büyüme faktörünün immünohistokimyasal analizi yapılmıştır. Hem deney hem de kontrol gruplarında hiçbir sakrifikasyon zamanında grup içi ve gruplar arası herhangi anlamlı bir istatistiksel farka rastlanmamıştır (sırasıyla $p>0.025$ ve $p>0.0125$). VEGF skorlarına ait medyan değerler incelendiğinde istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da her iki grupta da 3.günde en yüksek skorlar kaydedilmiştir. Deney grubunda VEGF seviyesinde 3.günden itibaren gözlenen azalma görece daha yavaş olduğundan bu durum bizlere, argan yağının VEGF düzeyini etkileyerek yara iyileşmesine fayda sağlayabileceğini düşündürmüştür.

Leptinin adipoz dokudan salgılanan bir hormon olduğu, ekspresyonunun glikokortikoidler ve enflamatuvar sitokinler aracılığıyla uyarıldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar leptinin, anjiogenezi (224) enflamasyonda (70), epitelyal hücreler ve fibroblastların migrasyon ve proliferasyonunda (225) aktif rol oynadığı gösterilmiştir. Yara

iyileşmesinin erken aşamasında direkt olarak makrofaj (71) ve lenfositleri (70) etkilemesinin yanı sıra, MAPK ve JAK-2 etkileşimleriyle hBD-2 indüklediği (72) de gösterilmiş ve bu sayede enflamasyonu modüle ettiği bildirilmiştir. JAK/STAT yolağının hücre çoğalmasını, göçünü ve farklılaşmasını düzenleyerek yara iyileşmesine dahil olduğu gösterilmiştir.(226) Kloeck ve ark. (227) JAK-2nin leptinle aktive olan tek JAK olduğunu bildirmesi üzerine, Goren ve ark. (228) JAK2nin STAT3 fosforilasyonu ile birlikte keratinositler üzerindeki etkilerini gözlemlemişlerdir. Bunlara ek olarak leptinin angiogeneze olan etkilerinin VEGF'ye benzer olduğu, endotelial hücrelerinin VEGF sekresyonunu arttırması (76) ve güçlü pro-anjiojenik özelliği sayesinde kılcal damarlarda proliferasyon sağlaması (229) sayesinde söylenebilmektedir. Ribatti ve ark. ise, leptinin, Fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) fonksiyonunu iyileştirerek önemli ölçüde anjiyogenezi indüklediğini bildirmişlerdir.(230)

Çalışmamızda leptin skorlarına ait medyan değerler incelendiğinde hem test hem de kontrol gruplarında leptin skorlarında bir artış gözlemlenmiş olmasına rağmen, hiçbir sakrifikasyon zamanında ne grup içi ne de gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ($p>0.0125$). Önceki çalışmalarda leptinin JAK/p38^{MAPK} üzerinden STAT -1/-3 yolağını etkilediği ve bu sayede angiogenezis, hücre migrasyonu ve proliferasyonuna etki ederek yara iyileşmesine dâhil olduğu bildirilmiştir.(231, 232) Çalışmamızda elde ettiğimiz leptine ait medyan skorların, 7.günde sakrifiye edilen sıçanlarda farklılık göstermiş olması ve 14. ile 21.günlerde sakrifiye edilen sıçanlarda bir denklik göstermiş olması olası bir ipucu olarak kabul edilebilirse de çalışmamızda argan yağının leptin skorlarına olan etkisi hakkında yorum yapılacak bir veri elde edilememiştir.

Hücre büyümesine ve hücre hareketlerine, epitel farklılaşmasına, lökosit fagositozunun arttırılmasına, sinirlerin yeniden bağlanmasına ve hasarlı sinirlerin onarılmasına etki eden laminin, özel olarak hücrelerin çevre dokularla olan etkileşimi ve yapışmasında rol almaktadır. Laminin, çoğu hücre ve organ için protein ağı temeli olan bazal laminanın ana bileşenlerindendir.(233) Lamininler, bazal laminanın önemli ve biyolojik olarak aktif bir parçasıdır ve hücre farklılaşmasını, göçünü ve yapışmasını etkiler.(234) Epitel farklılaşmasında rol alan laminin 5 (integrin 322) keratinositlere ve lökositlere etki ederek, yara iyileşmesinde olmazsa olmaz yüzey proteinlerindendir.(235) Laminin 332'nin keratinosit / ESM re-modelling'i sırasında, yara onarımındaki mekanizmaların düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur.(236) Laminin-111 üzerine 2008 yılında yapılan çalışmada artmış hücre migrasyonu ve re-epitelizasyon

gözlemlenirken, MMP ekspresyonunda azalma saptanmıştır. Bu da yara dokusunun tamirine olan etkisi hakkında bize olumlu yöndeki katkılarını göstermiştir.(237)

Çalışmamızda laminin skorlarına ait medyan değerler incelendiğinde hem test hem de kontrol gruplarında bir artış gözlemlenmiş olsa da hiçbir sakrifikasyon zamanında ne grup içi ne de gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ($p>0.0125$). 3.günde kaydedilen skorların deney grubunda 7.günde gözlemlenen düşüşü, anlamlı bir fark bildirmese de hücre migrasyonunun ve farklılaşmasının yavaşladığı yönünde ipucu vermekte olabilir. Bu sonuçlar, kemotaksisin daha erken zamanda tamamlanarak iyileşmenin hızlandığını akla getirmekle birlikte, kesin bir sonuca varmak bu çalışma sınırları dâhilinde mümkün olmamıştır. Re-epitelizasyon skorları ve ülserasyon skorlarının da bu yorumu destekler nitelikte olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmamız argan yağının topikal uygulamalarının deneysel hayvan modelinde oluşturulan palatinal eksizyonel yaraların iyileşmesine olabilecek olan olası etkilerini makroskobik, histolojik ve immünohistokimyasal analizler ile araştıran literatürdeki ilk çalışma özelliğini taşımakta olsa da yürüttüğümüz bu çalışmanın sonuçları değerlendirilirken, göz önünde bulundurmanız gereken çeşitli limitasyonlar bulunmaktadır.

1. Modelimiz sınırlarında, topikal olarak yaptığımız argan yağı uygulamalarımızın oral sıvılardan korunamamış olması söz konusu olabilir. Bu durumda argan yağı konsantrasyonunda bir değişiklik veya yara yüzeyinde bulunma süreleri tartışmalı hale gelmektedir. Bu durum çalışmamızın bir sınırlaması olabilir. Bu nedenle, gelecekteki çalışmalarda materyali stabilize etmek için hemen bir akrilik stentin yerleştirilmesi ya da argan yağının bölgede kalım süresini arttırmak için bir taşıyıcı kullanımı düşünülebilir.
2. Çalışmamızda semi-kantitatif bir değerlendirme olan immünohistokimyasal değerlendirme metodu kullanılmıştır. Çalışmamızda moleküler düzeyde incelemelerin yapılamamış olması, çalışmamızın bir diğer sınırlaması olarak sayılabilir. Argan yağının oral dokularda yara iyileşmesine olası katkılarının daha kesin sonuçlarla değerlendirilebilmesi için daha ileri test yöntemleri kullanılarak moleküler düzeyde incelemelerin yapılacağı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Araştırmamız kapsamında argan yağının topikal uygulamasının sekonder yara iyileşmesine olası etkilerini değerlendirmek için sıçanların palatal bölgesinde deneysel olarak oluşturulan eksizyonel yaraların, günde 2 defa 1ml topikal argan yağı uygulamasını takiben 3., 7., 14. ve 21.günlerde yapılan makroskopik, mikroskopik ve immünohistokimyasal incelemelerimiz sonucunda;

1. Dijital fotoğraflar üzerinden bilgisayar yazılımı yardımıyla makroskopik olarak yapılan yara alanları ölçümlerinde, her iki grupta da 0.güne kıyasla 3., 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel anlamı farklar bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde makroskopik yara yüzeyi alanları açısından istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır. Gruplar arası değerlendirmede ise deney grubunda 3.gün ile 7.gün arasında oluşan fark kontrol grubuna görece daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır.
2. Mikroskopik olarak yapılan incelemelerde epitelize yara dudakları arasındaki mesafe ölçümlerinde her iki grupta da 0.güne kıyasla 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel anlamı farklar bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde makroskopik yara yüzeyi alanları açısından istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır.
3. Argan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının ülserasyon skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde hem deney hem de kontrol gruplarında 0.güne kıyasla 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde ise istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır.
4. Argan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının re-epitelizasyon skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde 0.güne kıyasla kontrol grubunda 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel anlamı farklar bulunmuştur. Deney grubunda ise 0.güne kıyasla 3., 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel anlamı farklar bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde ise istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır.
5. Argan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının enflamasyon skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde 0.güne kıyasla kontrol grubunda 3., 7., ve 14. Günlerde istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur.

Deney grubunda ise 0.güne kıyasla yalnızca 3.günde istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde ise istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır.

6. Arğan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının fibrozis skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde 0.güne kıyasla kontrol grubunda 3., 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur. Deney grubunda ise 7., 14. ve 21.günlerde istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde ise istatistiksel anlamlı farklar bulunmamıştır.
7. Arğan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının VEGF skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde, gruplar arası veya gruplar içinde herhangi bir zaman noktasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır.
8. Arğan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının Laminin skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde, gruplar arası veya gruplar içinde herhangi bir zaman noktasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır.
9. Arğan yağının sekonder yaralara topikal uygulamasının Leptin skorları üzerine yapılan semi-kantitatif değerlendirmelerinde, gruplar arası veya gruplar içinde herhangi bir zaman noktasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır.
10. Arğan yağının yara iyileşmesi sürecine olumsuz bir etkisi gözlemlenmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37(5):1528-42.
2. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* 2007;25(1):9-18.
3. Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., & Robbins, S.L. (2022). Robbins basic pathology (10th ed.). Philadelphia, PA: Elsevier.
4. Miloro, M., Larsen, P.E., Waite, P.D., & Peterson, L.J. (2012). Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery (3rd ed.). Shelton, CT: People's Medical Publishing House.
5. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. 2007.
6. Duarte CME, Quirino MRS, Patrocínio MC, Anbinder AL. Effects of *Chamomilla recutita*(L.) on oral wound healing in rats. 2011.
7. Zambon JJ, Ciancio SG, Mather ML, Charles CH. The Effect of an Antimicrobial Mouthrinse on Early Healing of Gingival Flap Surgery Wounds. 1989.
8. Davis RH, Leitner MG, Russo JM, Byrne ME. Wound healing. Oral and topical activity of Aloe vera. 1989.
9. Kyakulaga AH, Deogratus O, Nyafuono JF, Omuja F, Ogwang PE. Wound healing potential of the ethanolic extracts of *Bidens pilosa* and *Ocimum suave*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2011;5:132-6.
10. Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. 2009. p. 351-6.
11. Winning TA, Townsend GC. Oral mucosal embryology and histology. 2000.
12. Squier CA. The permeability of oral mucosa. 1991.
13. Schroeder HE, Amstad-Jossi M. Epithelial differentiation at the mucogingival junction: A stereological comparison of the epithelia of the vestibular gingiva and alveolar mucosa. 1979.
14. Fiorellini JP, Stathopoulou PG. Anatomy of the Periodontium. In: MG. N, HH. T, FA. C, PR. K, , editors. 12 ed: W. B. Saunders Company; 2014. p. 9-39.
15. Grinnell F. Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction. 1994.
16. Nauta A, Gurtner GC, Longaker MT. Wound healing and regenerative strategies. 2011.
17. Schultz GS, Mast BA. Molecular analysis of the environment of healing and chronic wounds: Cytokines, proteases, and growth factors. 1998.
18. Müller-Glauser W, Schroeder HE. The Pocket Epithelium: A Light- and Electronmicroscopic Study. 1982.
19. Tolo KJ. A study of permeability of gingival pocket epithelium to albumin in guinea pigs and Norwegian pigs. 1971.
20. Listgarten MA. Electron microscopic study of the gingivo- dental junction of man. 1966.
21. Loe H, Karring T. A Quantitative Analysis of the Epithelium-Connective Tissue Interface in Relation to Assessments of the Mitotic Index. 1969.
22. Pöllänen MT, Salonen JJ, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. 2003.
23. Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: From health to disease. 2005.
24. Junqueira L, Carneiro J. *Temel Histoloji.* 2006:69-70.

25. Seyfeli S, Üstünel İ, Değer N, Demir R. Ekstrasellüler Matriks ve Bazı Kardiovasküler Hastalıklarla İlişkisi. 2001. T Klin Kardiyol 14(6): 359-369.
26. Loe H, Karring T. A Quantitative Analysis of the Epithelium-Connective Tissue Interface in Relation to Assessments of the Mitotic Index. 1969;48.
27. Romanos GE, Bernimoulin JP. Collagen as a basic element of the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. Gingiva and alveolar bone. 1990. p. 363-75.
28. Irvin TT. Wound healing. 1985. p. 3-10.
29. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. 2006;117:1e-S-32e-S.
30. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. 2007.
31. Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. Inflammation and cancer. 2019. p. 121.
32. Hackam DJ, Ford HR. Cellular, biochemical, and clinical aspects of wound healing. 2002. p. S23-35.
33. Wang P-H, Huang B-S, Horng H-C, Yeh C-C, Chen Y-J. Wound healing. 2018. p. 94-101.
34. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. 2020. p. 200223.
35. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. 2008;16:585-601.
36. Peacock EE. Biology of wound repair. 1973. p. I-IX.
37. Guo S, DiPietro LA. Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. 2010.
38. Brancato SK, Albina JE. Wound macrophages as key regulators of repair: origin, phenotype, and function. 2011;178:19-25.
39. Guo P, Du P, Zhao P, Chen X, Liu C, Du Y, et al. Regulating the mechanics of silk fibroin scaffolds promotes wound vascularization. 2021. p. 78-84.
40. van Beurden HE, Snoek PAM, Von den Hoff JW, Torensma R, Kuijpers-Jagtman A-M. Fibroblast subpopulations in intra-oral wound healing. 2003. p. 55-63.
41. Kondo T, Ishida Y. Molecular pathology of wound healing. 2010. p. 93-8.
42. Li J, Zhang Y-P, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. 2003. p. 107-14.
43. Mariotti A. The extracellular matrix of the periodontium: dynamic and interactive tissues. 1993. p. 39-63.
44. DiPietro LA. Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. 2016. p. 979-84.
45. Häkkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. 2000. p. 127-52.
46. van Beurden HE, Kuijpers-Jagtman A. Characterization of fibroblast phenotypes in intra-oral wound healing. 2005.
47. Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. 1999.
48. Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. 2003.
49. Singh S, Young A, McNaught CE. The physiology of wound healing. 2017.
50. Caley MP, Martins VLC, O'Toole EA. Metalloproteinases and Wound Healing. 2015.

51. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: A review of the literature. 2008.
52. Thomas Hess C. Checklist for factors affecting wound healing. 2011. p. 192.
53. Stechmiller JK. Understanding the role of nutrition and wound healing. 2010.
54. Thompson C, Fuhrman MP. Nutrients and wound healing: Still searching for the magic bullet. 2005.
55. Saeg F, Orazi R, Bowers GM, Janis JE. Evidence-Based Nutritional Interventions in Wound Care. Lippincott Williams and Wilkins; 2021. p. 226-38.
56. Campos ACL, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. 2008.
57. MacKay D, Miller AL. Nutritional Support for Wound Healing. 2003.
58. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. 2007. p. 1219-22.
59. Villines Z. How does diabetes affect wound healing. 2019.
60. Gyurkovics M, Lohinai Z, Györfi A, Iványi I, Süveges I, Kónya M, et al. Venodilatory Effect of Vascular Endothelial Growth Factor on Rat Gingiva. 2009.
61. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. 2003.
62. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. 1999.
63. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. 2003.
64. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. 2001.
65. Loyd CM, Diaconu D, Fu W, Adams GN, Brandt E, Knutsen DA, et al. Transgenic overexpression of keratinocyte-specific VEGF and Ang1 in combination promotes wound healing under nondiabetic but not diabetic conditions. 2012.
66. Ribatti D. The crucial role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in angiogenesis: A historical review. 2005.
67. Xu C, Wu X, Zhu J. VEGF promotes proliferation of human glioblastoma multiforme stem-like cells through VEGF receptor 2. 2013.
68. Zhu Y, Wang Y, Jia Y, Xu J, Chai Y. Roxadustat promotes angiogenesis through HIF-1 α /VEGF/VEGFR2 signaling and accelerates cutaneous wound healing in diabetic rats. 2019.
69. Goswami AG, Basu S, Huda F, Pant J, Ghosh Kar A, Banerjee T, et al. An appraisal of vascular endothelial growth factor (VEGF): the dynamic molecule of wound healing and its current clinical applications. 2022. p. 73-88.
70. Santos-Alvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V. Human Leptin Stimulates Proliferation and Activation of Human Circulating Monocytes. 1999. p. 6-11.
71. Mancuso P, Curtis JL, Freeman CM, Peters-Golden M, Weinberg JB, Myers MG. Ablation of the leptin receptor in myeloid cells impairs pulmonary clearance of *Streptococcus pneumoniae* and alveolar macrophage bactericidal function. 2018. p. L78-L86.
72. Kanda N, Watanabe S. Leptin Enhances Human β -Defensin-2 Production in Human Keratinocytes. 2008. p. 5189-98.
73. Ghosh SK, Feng Z, Fujioka H, Lux R, McCormick TS, Weinberg A. Conceptual Perspectives: Bacterial Antimicrobial Peptide Induction as a Novel Strategy for Symbiosis with the Human Host. Front Microbiol. 2018;9:302.
74. Koeninger L, Armbruster NS, Brinch KS, Kjaerulf S, Andersen B, Langnau C, et al. Human β -Defensin 2 Mediated Immune Modulation as Treatment for Experimental Colitis. 2020.

75. Garonna E, Botham KM, Birdsey GM, Randi AM, Gonzalez-Perez RR, Wheeler-Jones CPD. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Couples Cyclo-Oxygenase-2 with Pro-Angiogenic Actions of Leptin on Human Endothelial Cells. 2011. p. e18823.
76. Nwadozi E, Ng A, Stromberg A, Liu HY, Olsson K, Gustafsson T, et al. Leptin is a physiological regulator of skeletal muscle angiogenesis and is locally produced by PDGFRalpha and PDGFRbeta expressing perivascular cells. *Angiogenesis*. 2019;22(1):103-15.
77. Seleit I, Bakry OA, Samaka RM, Tawfik AS. Immunohistochemical Evaluation of Leptin Expression in Wound Healing. 2016. p. 296-306.
78. Murad A, Nath AK, Cha S-T, Demir E, Floras-Riveras J, Sierra-Honigmann MR. Leptin is an autocrine/paracrine regulator of wound healing. 2003. p. 1-15.
79. Aumailley M. The laminin family. 2013;7:48-55.
80. Aumailley M, Brucknertuderman L, Carter W, Deutzmann R, Edgar D, Ekblom P, et al. A simplified laminin nomenclature. 2005. p. 326-32.
81. Miner JH, Patton BL, Lentz SI, Gilbert DJ, Snider WD, Jenkins NA, et al. The laminin alpha chains: expression, developmental transitions, and chromosomal locations of alpha1-5, identification of heterotrimeric laminins 8-11, and cloning of a novel alpha3 isoform. 1997. p. 685-701.
82. Holmberg J, Durbeej M. Laminin-211 in skeletal muscle function. 2013. p. 111-21.
83. Yousif LF, Di Russo J, Sorokin L. Laminin isoforms in endothelial and perivascular basement membranes. 2013. p. 101-10.
84. Rousselle P, Beck K. Laminin 332 processing impacts cellular behavior. 2013. p. 122-34.
85. Colognato H, Yurchenco PD. Form and function: The laminin family of heterotrimers. 2000.
86. Campbell ID, Humphries MJ. Integrin structure, activation, and interactions. 2011.
87. Yamada M, Sekiguchi K. Molecular Basis of Laminin-Integrin Interactions. 2015. p. 197-229.
88. Belkin AM, Stepp MA. Integrins as receptors for laminins. 2000;51:280-301.
89. Calderwood DA, Tuckwell DS, Eble J, Kühn K, Humphries MJ. The Integrin $\alpha 1$ A-domain Is a Ligand Binding Site for Collagens and Laminin. 1997. p. 12311-7.
90. Colognato H, MacCarrick M, O'Rear JJ, Yurchenco PD. The Laminin $\alpha 2$ -Chain Short Arm Mediates Cell Adhesion through Both the $\alpha 1\beta 1$ and $\alpha 2\beta 1$ Integrins. 1997. p. 29330-6.
91. Desban N, Duband JL. Avian neural crest cell migration on laminin: interaction of the $\alpha 1\beta 1$ integrin with distinct laminin-1 domains mediates different adhesive responses. 1997. p. 2729-44.
92. Kinumatsu T, Hashimoto S, Muramatsu T, Sasaki H, Jung H, Yamada S, et al. Involvement of laminin and integrins in adhesion and migration of junctional epithelium cells. 2009. p. 13-20.
93. Goldfinger LE, Hopkinson SB, deHart GW, Collawn S, Couchman JR, Jones JC. The $\alpha 3$ laminin subunit, $\alpha 6\beta 4$ and $\alpha 3\beta 1$ integrin coordinately regulate wound healing in cultured epithelial cells and in the skin. 1999. p. 2615-29.
94. Xiaojie W, Banda J, Qi H, Chang AK, Bwalya C, Chao L, et al. Scarless wound healing: Current insights from the perspectives of TGF- β , KGF-1, and KGF-2. 2022. p. 26-37.
95. Pakyari M, Farrokhi A, Maharlooei MK, Ghahary A. Critical Role of Transforming Growth Factor Beta in Different Phases of Wound Healing. 2013. p. 215-24.
96. Penn JW, Grobbelaar AO, Rolfe KJ. The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. 2012. p. 18-28.

97. Lichtman MK, Otero-Vinas M, Falanga V. Transforming growth factor beta (TGF- β) isoforms in wound healing and fibrosis. 2016. p. 215-22.
98. Denton CP, Merkel PA, Furst DE, Khanna D, Emery P, Hsu VM, et al. Recombinant human anti-transforming growth factor β 1 antibody therapy in systemic sclerosis: A multicenter, randomized, placebo-controlled phase I/II trial of CAT-192. 2007;56:323-33.
99. CAT-152 0102 TSG, Khaw P, Grehn F, Holló G, Overton B, Wilson R, et al. A phase III study of subconjunctival human anti-transforming growth factor beta(2) monoclonal antibody (CAT-152) to prevent scarring after first-time trabeculectomy. 2007. p. 1822-30.
100. Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. 2000. p. 13-25.
101. Vogt PM, Lehnhardt M, Wagner D, Jansen V, Krieg M, Steinau HU. Determination of endogenous growth factors in human wound fluid: temporal presence and profiles of secretion. 1998. p. 117-23.
102. Heldin C-H, Westermark B. Mechanism of Action and In Vivo Role of Platelet-Derived Growth Factor. 1999. p. 1283-316.
103. Bennett SP, Griffiths GD, Schor AM, Leese GP, Schor SL. Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers. 2003;90:133-46.
104. Niessen FB, Andriessen MP, Schalkwijk J, Visser L, Timens W. Keratinocyte-derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars. 2001. p. 207-16.
105. Uutela M, Wirzenius M, Paavonen K, Rajantie I, He Y, Karpanen T, et al. PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis. 2004. p. 3198-204.
106. Paraskevas S, Rosema NA, Versteeg P, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Chlorine dioxide and chlorhexidine mouthrinses compared in a 3-day plaque accumulation model. J Periodontol. 2008;79(8):1395-400.
107. Rabhi-Sabile S, Pidard D, Lawler J, Renesto P, Chignard M, Legrand C. Proteolysis of thrombospondin during cathepsin-G-induced platelet aggregation: functional role of the 165-kDa carboxy-terminal fragment. 1996. p. 82-6.
108. Ando Y, Jensen PJ. Epidermal growth factor and insulin-like growth factor I enhance keratinocyte migration. 1993;100:633-9.
109. Krishnaswami S, Ly QP, Rothman VL, Tuszynski GP. Thrombospondin-1 promotes proliferative healing through stabilization of PDGF. 2002. p. 124-30.
110. Lin H, Chen B, Sun W, Zhao W, Zhao Y, Dai J. The effect of collagen-targeting platelet-derived growth factor on cellularization and vascularization of collagen scaffolds. 2006. p. 5708-14.
111. Jinnin M, Ihn H, Mimura Y, Asano Y, Yamane K, Tamaki K. Regulation of fibrogenic/fibrolytic genes by platelet-derived growth factor C, a novel growth factor, in human dermal fibroblasts. 2005. p. 510-7.
112. Brauchle M, Fässler R, Werner S. Suppression of Keratinocyte Growth Factor Expression by Glucocorticoids In Vitro and During Wound Healing. 1995;105:579-84.
113. Shetty V, Bertolami C. Wound Healing. In: Miloro M, Ghali G, Larsen P, Waite P, editors. 2 ed: BC Decker Inc; 2004. p. 3-15.
114. Miller P. Periodontal plastic surgery. 1993. p. 136-43.
115. Takei H, Scheyer E, Azzi R, Allen E, Han T. Periodontal Plastic and Esthetic Surgery. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, editors. 12 ed: Elsevier Inc.; 2015. p. 628-31.
116. Wennström JL. Mucogingival therapy. 1996. p. 671-701.

117. Lang NP, Löe H. The relationship between the width of keratinized gingiva and gingival health. 1972. p. 623-7.
118. Hall WB. The Current Status of Mucogingival Problems and Their Therapy. 1981. p. 569-75.
119. Hangorsky U, Bissada NF. Clinical assessment of free gingival graft effectiveness on the maintenance of periodontal health. 1980. p. 274-8.
120. Harris RJ. Clinical evaluation of 3 techniques to augment keratinized tissue without root coverage. 2001. p. 932-8.
121. Orsini M, Orsini G, Benlloch D, Aranda JJ, Lázaro P, Sanz M. Esthetic and dimensional evaluation of free connective tissue grafts in prosthetically treated patients: a 1-year clinical study. 2004. p. 470-7.
122. Chaubey KK, Arora VK, Thakur R, Narula IS. Perio-esthetic surgery: Using LPF with frenectomy for prevention of scar. 2011. p. 265-9.
123. Toker H, Ozdemir H. Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a university dental hospital in Turkey. 2009. p. 115-20.
124. Miller P. The frenectomy combined with a laterally positioned pedicle graft. Functional and esthetic considerations. 1985. p. 102-6.
125. Morselli P, Vecchiet F, Marini I. Frenuloplasty by means of a triangular flap. 1999. p. 142-4.
126. Tugnait A, Clerehugh V. Gingival recession-its significance and management. 2001. p. 381-94.
127. Harris RJ. Treatment of a previously placed autogenous masticatory mucosa graft (free gingival graft). A case report. 1998. p. 717-23.
128. Pollack RP. Bilateral creeping attachment using free mucosal grafts. A case report with 4-year follow-up. 1984. p. 670-2.
129. Smukler H, Goldman HM. Laterally repositioned "stimulated" osteoperiosteal pedicle grafts in the treatment of denuded roots. A preliminary report. 1979. p. 379-83.
130. Takei H, Carranza F, Shin K. Gingival Surgical Techniques. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. 12 ed: Elsevier Inc.; 2015. p. 576-86.
131. Force J, Niemiec B. Gingivectomy and gingivoplasty for gingival enlargement. 2009. p. 132-7.
132. Barlas AM, Kuru S, Kismet K, Cavusoglu T, Bag YM, Senes M, et al. Rectal application of argan oil improves healing of colorectal anastomosis in rats. *Acta Cir Bras.* 2018;33(7):565-76.
133. Charrouf Z, Harhar H, Gharby S, Guillaume D. Enhancing the value of argan oil is the best mean to sustain the argan grove economy and biodiversity, so far. 2008.
134. Kirchhoff M, Romes T, Marzloff I, Seeger M, Aït Hssaine A, Ries JB. Spatial distribution of argan tree influence on soil properties in southern Morocco. 2021.
135. Zagorska-Dziok M, Kleczkowska P, Oledzka E, Figat R, Sobczak M. Poly(chitosan-ester-ether-urethane) Hydrogels as Highly Controlled Genistein Release Systems. *Int J Mol Sci.* 2021;22(7).
136. Atalay AB, İnanç AL. The Applications of Green Extraction: Production and Quality Characterization of Seed Oils Extracted From Red Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Waste. 2022.
137. Pichaiyan V, Mariyappan S, Saravanan R, Ramalingam S. Herbal remedy for osteosarcoma - Challenging evolution. 2018.
138. Masre SF, Muzamir MK, Sabarina I, Jehan N, Rosli Y. Combination Effect of Argan Oil and Low Frequency Electromagnetic Field on Open Wound in Mice. 2018.
139. Harhar H, Gharby S, El Idrissi Y, Pioch D, Matthäus B, Charrouf Z, et al. Effect of maturity stage on the chemical composition of argan fruit pulp. 2019.

140. El Oumari FE, Mammate N, Imtara H, Lahrichi A, Elhabbani R, El mouhri G, et al. Chemical Composition, Antioxidant Potentials, and Calcium Oxalate Anticrystallization Activity of Polyphenol and Saponin Fractions from *Argania spinosa* L. Press Cake. 2022.
141. Duz Delsin S, Maia Campos PMBG. Hair care formulations containing argan oil: development, stability and texture profile. Biomedical and Biopharmaceutical Research. 2015;12:233-42.
142. Villareal MO, Kume S, Bourhim T, Bakhtaoui FZ, Kashiwagi K, Han J, et al. Activation of MITF by argan oil leads to the inhibition of the tyrosinase and dopachrome tautomerase expressions in B16 murine melanoma cells. 2013.
143. Charrouf Z, Guillaume D. Ethnoeconomical, ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* (L.) Skeels. J Ethnopharmacol. 1999;67(1):7-14.
144. Yazıcı Bektas N, Gürer Ç. Argan Yağı ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. 2022.
145. Gharby S, Charrouf Z. Argan Oil: Chemical Composition, Extraction Process, and Quality Control. Front Nutr. 2021;8:804587.
146. Miklavcic MB, Taous F, Valencic V, Elghali T, Podgornik M, Strojnik L, et al. Fatty Acid Composition of Cosmetic Argan Oil: Provenience and Authenticity Criteria. Molecules. 2020;25(18).
147. Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z, Spiegelhalter B, et al. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. Eur J Cancer Prev. 2003;12(1):67-75.
148. Jimenez A, Beltran G, Aguilera MP. Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils. J Chromatogr A. 2004;1028(2):321-4.
149. Marfil R, Giménez R, Martínez O, Bouzas PR, Rufián- Henares JA, Mesías M, et al. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). European Journal of Lipid Science and Technology. 2011;113(7):886-93.
150. Pellegrini N, Visioli F, Buratti S, Brighenti F. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. J Agric Food Chem. 2001;49(5):2532-8.
151. Tuberoso CIG, Kowalczyk A, Sarritzu E, Cabras P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. Food Chemistry. 2007;103(4):1494-501.
152. Szydłowska-Czerniak A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta. 2008;76(4):899-905.
153. Dobrev H. Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. J Cosmet Dermatol. 2007;6(2):113-8.
154. Guillaume D, Charrouf Z. Argan oil and other argan products: Use in dermocosmetology. European Journal of Lipid Science and Technology. 2011;113(4):403-8.
155. Boucetta KQ, Charrouf Z, Derouiche A, Rahali Y, Bensouda Y. Skin hydration in postmenopausal women: argan oil benefit with oral and/or topical use. Prz Menopauzalny. 2014;13(5):280-8.
156. Boucetta KQ, Charrouf Z, Aguenau H, Derouiche A, Bensouda Y. The effect of dietary and/or cosmetic argan oil on postmenopausal skin elasticity. Clin Interv Aging. 2015;10:339-49.

157. Berrougui H, Ettaib A, Herrera Gonzalez MD, Alvarez de Sotomayor M, Bennani-Kabchi N, Hmamouchi M. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J Ethnopharmacol.* 2003;89(1):15-8.
158. Berrougui H, Alvarez de Sotomayor M, Perez-Guerrero C, Ettaib A, Hmamouchi M, Marhuenda E, et al. Argan (*Argania spinosa*) oil lowers blood pressure and improves endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr.* 2004;92(6):921-9.
159. Drissi A, Girona J, Cherki M, Godas G, Derouiche A, El Messal M, et al. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin Nutr.* 2004;23(5):1159-66.
160. Derouiche A, Cherki M, Drissi A, Bamou Y, El Messal M, Idrissi-Oudghiri A, et al. Nutritional intervention study with argan oil in man: effects on lipids and apolipoproteins. *Ann Nutr Metab.* 2005;49(3):196-201.
161. Cherki M, Derouiche A, Drissi A, El Messal M, Bamou Y, Idrissi-Oudghiri A, et al. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005;15(5):352-60.
162. Mekhfi H, Belmekki F, Ziyat A, Legssyer A, Bnouham M, Aziz M. Antithrombotic activity of argan oil: an in vivo experimental study. *Nutrition.* 2012;28(9):937-41.
163. Haimeur A, Meskini N, Mimouni V, Ulmann L, Messaouri H, Pineau-Vincent F, et al. A comparative study on the effect of argan oil versus fish oil on risk factors for cardiovascular disease in high-fat-fed rats. *Nutrition.* 2019;57:32-9.
164. Aradoini N, Talbi S, Angala R, Es-Souiri J, Abourazzak FE, Harzy T. Rheumatoid arthritis and tabetic arthropathy: physiopathological link or simple association? *Eur J Rheumatol.* 2016;3(1):41-3.
165. Essouiri J, Harzy T, Benaicha N, Errasfa M, Abourazzak FE. Effectiveness of Argan Oil Consumption on Knee Osteoarthritis Symptoms: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Curr Rheumatol Rev.* 2017;13(3):231-5.
166. El Kamouni S, El Kebhaj R, Andreoletti P, El Ktaibi A, Rharrassi I, Essamadi A, et al. Protective Effect of Argan and Olive Oils against LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Mice Livers. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10).
167. Orabi SH, Allam TS, Shawky SM, Tahoun EAE, Khalifa HK, Almeer R, et al. The Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Proliferative Potency of Argan Oil against Betamethasone-Induced Oxidative Renal Damage in Rats. *Biology (Basel).* 2020;9(11).
168. Er R, Aydin B, Sekeroglu V, Atli Sekeroglu Z. Protective effect of Argan oil on mitochondrial function and oxidative stress against acrylamide-induced liver and kidney injury in rats. *Biomarkers.* 2020;25(6):458-67.
169. Drissi A, Bennani H, Giton F, Charrouf Z, Fiet J, Adlouni A. Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert, an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Invest.* 2006;24(6):588-92.
170. Bennani H, Drissi A, Giton F, Kheuang L, Fiet J, Adlouni A. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect Prev.* 2007;31(1):64-9.
171. Samane S, Noel J, Charrouf Z, Amarouch H, Haddad PS. Insulin-sensitizing and anti-proliferative effects of *Argania spinosa* seed extracts. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2006;3(3):317-27.
172. Cooney RV, Franke AA, Harwood PJ, Hatch-Pigott V, Custer LJ, Mordan LJ. Gamma-tocopherol detoxification of nitrogen dioxide: superiority to alpha-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(5):1771-5.

173. Gao R, Stone WL, Huang T, Papas AM, Qui M. The uptake of tocopherols by RAW 264.7 macrophages. *Nutr J.* 2002;1:2.
174. Huang HY, Alberg AJ, Norkus EP, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Prospective study of antioxidant micronutrients in the blood and the risk of developing prostate cancer. *Am J Epidemiol.* 2003;157(4):335-44.
175. Helzlsouer KJ, Huang HY, Alberg AJ, Hoffman S, Burke A, Norkus EP, et al. Association between alpha-tocopherol, gamma-tocopherol, selenium, and subsequent prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(24):2018-23.
176. Gysin R, Azzi A, Visarius T. Gamma-tocopherol inhibits human cancer cell cycle progression and cell proliferation by down-regulation of cyclins. *FASEB J.* 2002;16(14):1952-4.
177. Kamal R, Kharbach M, Heyden YV, Yu H, Bouklouze A, Cherrah Y, et al. In Vitro & In Vivo Anti-Hyperglycemic Potential of Saponins Cake and Argan Oil from *Argania spinosa*. *Foods.* 2021;10(5).
178. Bnouham M, Bellahcen S, Benalla W, Legssyer A, Ziyyat A, Mekhfi H. Antidiabetic Activity Assessment of *Argania spinosa* Oil. *Journal of Complementary and Integrative Medicine.* 2008;5(1).
179. Bellahcen S, Mekhfi H, Ziyyat A, Legssyer A, Hakkou A, Aziz M, et al. Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin argan oil. *Phytother Res.* 2012;26(2):180-5.
180. Samane S, Christon R, Dombrowski L, Turcotte S, Charrouf Z, Lavigne C, et al. Fish oil and argan oil intake differently modulate insulin resistance and glucose intolerance in a rat model of dietary-induced obesity. *Metabolism.* 2009;58(7):909-19.
181. Menni HB, Belarbi M, Menni DB, Bendiab H, Kherraf Y, Ksouri R, et al. Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components. *Int J Food Sci Nutr.* 2020;71(3):307-14.
182. Kamal R, Kharbach M, Vander Heyden Y, Doukkali Z, Ghchime R, Bouklouze A, et al. In vivo anti-inflammatory response and bioactive compounds' profile of polyphenolic extracts from edible Argan oil (*Argania spinosa* L.), obtained by two extraction methods. *J Food Biochem.* 2019;43(12):e13066.
183. Ainane T, Gharby S, Talbi M, Abdelmjid A. Moroccan Formulation of Oils for the Care of Hair: Chemical Composition and Antibacterial Activity. *SOJ Biochemistry.* 2016;2:1-8.
184. Lall N, Canha MD, Szuman K, Charrouf Z, Davids LM, Rademan S. The Anti-proliferative and Anti-bacterial Activity of Argan oil and Crude Saponin Extract from *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Pharmacognosy Journal.* 2019;11(1):26-31.
185. Al Saffar AK. Effect of Argan Oil-Hydrogen Peroxide Mixture on *Mycobacterium tuberculosis*- In Vitro. *Journal of Medical Microbiology & Diagnosis.* 2015;s3.
186. Avsar U, Halici Z, Akpinar E, Yayla M, Avsar U, Harun U, et al. The Effects of Argan Oil in Second-degree Burn Wound Healing in Rats. *Ostomy Wound Manage.* 2016;62(3):26-34.
187. Manca ML, Manconi M, Meloni MC, Marongiu F, Allaw M, Usach I, et al. Nanotechnology for Natural Medicine: Formulation of Neem Oil Loaded Phospholipid Vesicles Modified with Argan Oil as a Strategy to Protect the Skin from Oxidative Stress and Promote Wound Healing. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(5).
188. Dakiche H, Khali M, Boutoumi H. Phytochemical Characterization and in vivo Anti-inflammatory and Wound-healing Activities of *Argania spinosa* (L.) Skeels Seed Oil. *Records of Natural Products.* 2017;11(2):171-84.
189. Cohen I, Diegelmann B, Lindblad W, Hugo N. Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1992;90:926.

190. Kozlovsky A, Artzi Z, Hirshberg A, Israeli-Tobias C, Reich L. Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: a clinical and histomorphometric study in rats. *J Clin Periodontol.* 2007;34(2):164-71.
191. Newman MG, Sanz M, Nachnani S, Saltini C, Anderson L. Effect of 0.12% chlorhexidine on bacterial recolonization following periodontal surgery. *J Periodontol.* 1989;60(10):577-81.
192. Sanz M, Newman MG, Anderson L, Matoska W, Otomo-Corgel J, Saltini C. Clinical enhancement of post-periodontal surgical therapy by a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse. *J Periodontol.* 1989;60(10):570-6.
193. Jones SG, Edwards R, Thomas DW. Inflammation and wound healing: the role of bacteria in the immuno-regulation of wound healing. *Int J Low Extrem Wounds.* 2004;3(4):201-8.
194. Wennstrom J, Prato G. Mucogingival Therapy - Periodontal Plastic Surgery. In: Lindhe J, Karring T, Lang N, editors. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 4th edition. 4 ed. Copenhagen: Blackwell Publishing Comp.; 2003. p. 576.
195. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *Int Dent J.* 2022;72(3):269-77.
196. Bassetti C, Kallenberger A. Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesions. *J Clin Periodontol.* 1980;7(6):443-56.
197. Brunello G, Becker K, Scotti L, Drescher D, Becker J, John G. The Effects of Three Chlorhexidine-Based Mouthwashes on Human Osteoblast-Like SaOS-2 Cells. An In Vitro Study. *Int J Mol Sci.* 2021;22(18).
198. Kohidai Z, Takacs A, Lajko E, Geczi Z, Pallinger E, Lang O, et al. The effects of mouthwashes in human gingiva epithelial progenitor (HGEPP) cells. *Clin Oral Investig.* 2022;26(6):4559-74.
199. Mariotti AJ, Rumpf DA. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol.* 1999;70(12):1443-8.
200. Chaushu L, Weinreb M, Beitlitum I, Moses O, Nemcovsky CE. Evaluation of a topical herbal patch for soft tissue wound healing: an animal study. *J Clin Periodontol.* 2015;42(3):288-93.
201. Nikam A, Thomas A, Giram P, Nagore D, Chitlange S. Herbal-Based Dressings in Wound Management. *Curr Diabetes Rev.* 2023;19(4):46-58.
202. Sezgin Y, Bilgin Cetin M, Bulut S, Alptekin NO, Borcek P. Evaluating the Effects of a Topical Preparation with Dexpanthenol, Silbiol, Undecylenic Acid, and Lidocaine on Palatal Mucosa Wound Healing in a Rat Model. *Balkan Med J.* 2019;36(2):88-95.
203. Patel AS, Patel SA, Fulzele PR, Mohod SC, Chandak M, Patel SS. Evaluation of the Role of Propolis and a New Herbal Ointment in Promoting Healing of Traumatic Oral Ulcers: An Animal Experimental Study. *Contemp Clin Dent.* 2020;11(2):121-5.
204. Hadzik J, Choromanska A, Karolewicz B, Matkowski A, Dominiak M, Zlocinska A, et al. Oral Wound Healing Potential of Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix Decoction-In Vitro Study. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(2).
205. Kahnberg KE, Thilander H. Healing of experimental excisional wounds in the rat palate. (I) Histological study of the interphase in wound healing after sharp dissection. *Int J Oral Surg.* 1982;11(1):44-51.
206. Weinberg E, Vered M, Atzil S, Chaushu G, Chaushu L. The dynamics of closure following excisional mid-palatal mucoperiosteal wound in a rat model. *Clin Oral Investig.* 2020;24(12):4385-93.
207. Weinberg E, Tagger-Green N, Lusthaus M, Vered M, Mijiritsky E, Chaushu L, et al. The Impact of Corticosteroid Administration at Different Time Points on Mucosal

- Wound Healing in Rats: An Experimental Pilot In Vivo Study. *Biology (Basel)*. 2022;11(9).
208. Bodner L, Dayan D, Pinto Y, Hammel I. Characteristics of palatal wound healing in desalivated rats. *Arch Oral Biol*. 1993;38(1):17-21.
 209. Hammad HM, Hammad MM, Abdelhadi IN, Khalifeh MS. Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: a clinical and histomorphometric study. *Int J Dent Hyg*. 2011;9(1):9-16.
 210. Rumalla VK, Borah GL. Cytokines, growth factors, and plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001;108(3):719-33.
 211. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg*. 2003;30(1):1-12.
 212. Gul M, Dundar S, Artas G, Yigin A, Tanik A, Polat ME, et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester and Ankaferd Blood Stopper on the diabetic and nondiabetic gingival wound healing: an experimental study. *Turk J Med Sci*. 2021;51(2):848-56.
 213. Shim KM, Choi SH, Jeong MJ, Kang SS. Effects of aucubin on the healing of oral wounds. *In Vivo*. 2007;21(6):1037-41.
 214. Sedghi LM, Bacino M, Kapila YL. Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:766944.
 215. Penhallow K. A review of studies that examine the impact of infection on the normal wound-healing process. *J Wound Care*. 2005;14(3):123-6.
 216. Hakkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol 2000*. 2000;24:127-52.
 217. V. S, CN. B. Wound healing. In: M. M, GE. G, PE. L, PD. W, editors. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2 ed. London: BC Decker Inc.; 2004. p. 3-15.
 218. Keswani SG, Balaji S, Le LD, Leung A, Parvadia JK, Frischer J, et al. Role of salivary vascular endothelial growth factor (VEGF) in palatal mucosal wound healing. *Wound Repair Regen*. 2013;21(4):554-62.
 219. Greenhalgh DG. The role of growth factors in wound healing. *J Trauma*. 1996;41(1):159-67.
 220. Steenfos HH. Growth factors and wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1994;28(2):95-105.
 221. Ahmad A, Nawaz MI. Molecular mechanism of VEGF and its role in pathological angiogenesis. *J Cell Biochem*. 2022;123(12):1938-65.
 222. Stojadinovic O, Lee B, Vouthounis C, Vukelic S, Pastar I, Blumenberg M, et al. Novel genomic effects of glucocorticoids in epidermal keratinocytes: inhibition of apoptosis, interferon-gamma pathway, and wound healing along with promotion of terminal differentiation. *J Biol Chem*. 2007;282(6):4021-34.
 223. Zhang L, Yang R, Hu Y, Yang Y, Zhang X, He B, et al. Promoting effect of pomegranate peel extract on second-degree burn wound-healing through VEGF-A and TGF-beta1 regulation. *Burns*. 2022;48(3):639-48.
 224. Sierra-Honigsmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science*. 1998;281(5383):1683-6.
 225. Stallmeyer B, Kampfer H, Podda M, Kaufmann R, Pfeilschifter J, Frank S. A novel keratinocyte mitogen: regulation of leptin and its functional receptor in skin repair. *J Invest Dermatol*. 2001;117(1):98-105.
 226. Jere SW, Abrahamse H, Houreld NN. The JAK/STAT signaling pathway and photobiomodulation in chronic wound healing. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017;38:73-9.

227. Kloeck C, Haq AK, Dunn SL, Lavery HJ, Banks AS, Myers MG, Jr. Regulation of Jak kinases by intracellular leptin receptor sequences. *J Biol Chem.* 2002;277(44):41547-55.
228. Goren I, Pfeilschifter J, Frank S. Determination of leptin signaling pathways in human and murine keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;303(4):1080-5.
229. Artwohl M, Roden M, Holzenbein T, Freudenthaler A, Waldhausl W, Baumgartner-Parzer SM. Modulation by leptin of proliferation and apoptosis in vascular endothelial cells. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26(4):577-80.
230. Ribatti D, Nico B, Belloni AS, Vacca A, Roncali L, Nussdorfer GG. Angiogenic activity of leptin in the chick embryo chorioallantoic membrane is in part mediated by endogenous fibroblast growth factor-2. *Int J Mol Med.* 2001;8(3):265-8.
231. Takahashi M, Umehara Y, Yue H, Trujillo-Paez JV, Peng G, Nguyen HLT, et al. The Antimicrobial Peptide Human beta-Defensin-3 Accelerates Wound Healing by Promoting Angiogenesis, Cell Migration, and Proliferation Through the FGFR/JAK2/STAT3 Signaling Pathway. *Front Immunol.* 2021;12:712781.
232. Yuan C, Liao J, Zheng L, Ding L, Teng X, Lin X, et al. Current knowledge of leptin in wound healing: A collaborative review. *Front Pharmacol.* 2022;13:968142.
233. Timpl R, Rohde H, Robey PG, Rennard SI, Foidart JM, Martin GR. Laminin--a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem.* 1979;254(19):9933-7.
234. Durbecq M. Laminins. 2010. p. 259-68.
235. Mercurio AM, Shaw LM. Laminin binding proteins. *Bioessays.* 1991;13(9):469-73.
236. Michopoulou A, Montmasson M, Garnier C, Lambert E, Dayan G, Rousselle P. A novel mechanism in wound healing: Laminin 332 drives MMP9/14 activity by recruiting syndecan-1 and CD44. *Matrix Biol.* 2020;94:1-17.
237. Malinda KM, Wysocki AB, Koblinski JE, Kleinman HK, Ponce ML. Angiogenic laminin-derived peptides stimulate wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(12):2771-80.