

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK
SIÇANLARDA KİTOSAN'IN ORAL
MUKOZADAKİ YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

REHA GÜR

**DANIŞMAN
PROF. DR. HATİCE NEVİN BÜYÜKAKYÜZ**

**AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Reha GÜR

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecimde deneyimlerinden faydalandığım, mesleki bilgisini ve hayata dair tecrübelerini benimle paylaşan, öğrencisi olmaktan ve birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum çok değerli doktora danışman hocam sayın Prof. Dr. Hatice Nevin BÜYÜKAKYÜZ'e,

İhtisas sürem boyunca mesleki beceri ve bilgimi geliştirmemde tecrübesini ve bilgisini asla esirgemeyen ve öğrencisi olmanın gururunu yaşadığım değerli hocam sayın Prof. Dr. Mustafa Sami Yıldırım'a,

Tezimin histopatolojik değerlendirmelerini yapan ve bu süreçte özveri ile bilgilerini benimle paylaşan İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Vakur OLGAÇ'a,

Deneylerde kullandığım kimyasal preparatların hazırlanmasında yardımcı olan İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Biyokimya Bilim Dalı'ndan sayın Araş. Gör. Şule BATU'ya,

Çalışmamın deney aşamasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Dt. Erdem YAZICI ve Dt. Osman KÜÇÜKÇAKIR'a,

Doktora eğitimim boyunca her zaman desteklerini gördüğüm sevgili arkadaşlarım Dt. Edip ÖZDEN, Dt. Uğur AGA, Dt. Berfin Lara IŞIK ve Dt. Öykü Kardelen TANIR'a

Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda beraber çalıştığım tüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara İyileşmesi	3
2.2. Yara İyileşmesinin Evreleri	4
2.2.1. Hemostaz.....	4
2.2.2. İnflamasyon Evresi	6
2.2.3. Proliferasyon Evresi.....	7
2.2.4. Yeniden Şekillenme (remodeling)	9
2.3. Yara İyileşmesinin Türleri	10
2.3.1. Primer Yara İyileşmesi.....	10
2.3.2. Sekonder Yara İyileşmesi	11
2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	12
2.4.1. Lokal Faktörler.....	13
2.4.2. Sistemik Faktörler	15
2.5. Diabetes Mellitus	19
2.5.1. Diabetes Mellitus ile İlgili Genel Bilgiler.....	19
2.5.2. Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri	21
2.5.3. Diabetes Mellitus Sınıflaması	21
2.5.4. Diyabetin Komplikasyonları	24

2.6. Kitosan	29
2.6.1. Kitosanın Özellikleri	31
2.6.2. Kitosanın Kullanım Alanları	32
2.6.3. Kitosanın Uygulama Şekilleri	35
2.7. Streptozotosin	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Kullanılan Gereçler	39
3.2. Yöntem	40
3.2.1. Deney Hayvanlarının Seçilmesi	40
3.2.2. Deneysel Olarak Streptozotosin (STZ) ile Diyabet Oluşturulması	40
3.2.3. Kitosan Jel Hazırlanması	41
3.2.4. Cerrahi Yöntem	42
3.2.5. Deney Gruplarının Oluşturulması	42
3.3. Histopatolojik İnceleme	45
3.4. İstatistiksel İncelemeler	46
4. BULGULAR	47
4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları	47
4.2. Açlık Kan Şekeri Bulguları	50
4.3. Histopatolojik Bulgular	54
4.4. Işık Mikroskobu Değerlendirmeleri	58
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ	76
ETİK KURUL KARARI	91
ÖZGEÇMİŞ	92
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	93

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Yara İyileşmesinin Evreleri	4
Tablo 2-2: İyileşmeyi Etkileyen Lokal ve Sistemik Faktörler.....	13
Tablo 2-3: Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri	18
Tablo 2-4: Diyabetes Mellitus tanı kriterleri	21
Tablo 2-5: DM Sınıflaması	22
Tablo 2-6: Kitin ve türevlerinin kullanım alanları.....	34
Tablo 2-7: Streptozotosinin Kimyasal Özellikleri ve Etki Mekanizması	36
Tablo 3-1: Deneklerin Gruplara Göre Dağılımı	43
Tablo 3-2: Histopatolojik Kriterler	46
Tablo 4-1: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi	47
Tablo 4-2: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi	49
Tablo 4-3: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 2.gün, 7.gün ve 9.gün açlık kan şekeri düzeylerinin değerlendirilmesi	51
Tablo 4-4: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün açlık kan şekeri düzeylerinin değerlendirilmesi	53
Tablo 4-5: Gruplar arasında 2.gün ve 5.gün nekroz varlığı, iltihap şiddeti, fibrozis düzeyleri, epitel rejenerasyon düzeyleri ve yabancı cisim varlığının değerlendirilmesi	55
Tablo 4-6: Gruplarda ayrı ayrı 2.gün ve 5.gün arasında nekroz varlığı, iltihap şiddeti, fibrozis düzeyleri, epitel rejenerasyon düzeyleri ve yabancı cisim varlığının değerlendirilmesi	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Hemostaz mekanizması.....	5
Şekil 2-2: Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı	7
Şekil 2-3: Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı	8
Şekil 2-4: İyileşme sürecinde yara bölgesindeki hücrelerin zamana bağlı görülme sıklığı	10
Şekil 2-5: Primer yara iyileşmesi.....	11
Şekil 2-6: Sekonder yara iyileşmesi.....	12
Şekil 2-7: Primer ve sekonder yara iyileşmesinin karşılaştırılması	12
Şekil 2-8: Pankreasın histolojik yapısı.....	20
Şekil 2-9: Selüloz, kitin ve kitosanın kimyasal yapıları	30
Şekil 2-10: Kitin ve kitosan molekülleri	31
Şekil 2-11: Kitosanın özellikleri	32
Şekil 2-12: Streptozotosinin etki mekanizması	37
Şekil 3-1: Kitosan toz formu.....	41
Şekil 3-2: Kitosan jel formu.....	41
Şekil 3-3: Punch biyopsi aleti ile yara oluşturulması	42
Şekil 3-4: Yara bölgesine kitosan jel uygulanması.....	45
Şekil 4-1: Gruplar arası 0-2-7-9. gün vücut ağırlığı karşılaştırması	48
Şekil 4-2: Gruplar arası 0-2-7-9-12. gün vücut ağırlığı karşılaştırması.....	49
Şekil 4-3: Gruplar arasında 0-2-7-9 gün AKŞ karşılaştırması.....	51
Şekil 4-4: Gruplar arasında 0-2-7-9-12. gün AKŞ karşılaştırması	53

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

α : Alfa

β : Beta

TGF – α : Transforming Growth Factor (Dönüştürücü Büyüme Faktörü)

PDGF: Platelet Derived Growth Factor (Trombosit Türevi Büyüme Faktörü)

TNF: Tumor Necrosis Factor (Tümör Nekroz Faktörü)

LT: Lökotrien

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)

MMP: Matriks Metalloproteaz

DM: Diabetes Mellitus

PP: Pankreatik Polipeptid

AKŞ: Açlık Kan Şekeri

APG: Açlık Plazma Glikoz

OGTT: Oral Glikoz Tolerans Testi

GDM: Gestasyonel Diabetes Mellitus

T1DM: Tip 1 Diabetes Mellitus

T2DM: Tip 2 Diabetes Mellitus

STZ: Streptozotosin

DKA: Diyabetik Ketoasidoz

HHD: Hiperglisemik Durum

LA: Laktik Asidoz

GAG: Glikozaminoglikan

MG: Miligram

ÖZET

GÜR R. Deneyisel Olarak Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Kitosan'ın Oral Mukozadaki Yara İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ABD. Doktora tezi. İstanbul. 2020.

Çalışmamızda deneyisel olarak diyabet oluşturulmuş ratlarda, kitosanın jel formu uygulanarak, ağız mukozasındaki yara iyileşmesine olan etkilerinin histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda 42 adet 340 ± 20 gram ağırlığında, 14-16 haftalık Sprague Dawley soyuna ait erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deneklerin 32 tanesine intraperitoneal (i.p.) yolla 55 mg/kg dozunda streptozotosin uygulanarak diyabet indüksiyonu sağlanmıştır. 2. ve 7. günün sonunda yapılan ölçümlerde kan glikoz seviyesi 250 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Sonrasında deney hayvanlarının yanak içi mukozasında tek kullanımlık biyopsi punch aletiyle 5 mm çapında, 1 mm derinliğinde yara oluşturulmuştur. Yara iyileşmesi, cerrahi operasyon ardından 2. ve 5. günlerde değerlendirilmiştir. Alınan örnekler iltihap, fibrozis, epitel rejenerasyonu, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu açısından histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, gruplar arasında 2. ve 5. günlerde iltihap düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$). Grup içi değerlendirmelerde diyabet+kitosan grubunda, 2. günde şiddetli düzeyde iltihap görülme oranı, 5. günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplar arasında 2. gün fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p > 0.05$), 5.gün fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$). Kitosanın 2. ve 5. günlerde grupların hiç birinde yabancı cisim reaksiyonu oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kitosan, Diabetes Mellitus, Yara İyileşmesi, Ağız Mukozası, Sıçan

ABSTRACT

GÜR, R. (2020). Histopathological Investigation of the Effect of Chitosan on Wound Healing in Oral Mucosa in Experimentally Generated Diabetic Rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Oral and Maxillofacial Surgery Ph.D. Thesis. İstanbul 2020.

In our study, we aimed to investigate histopathologically the effects of chitosan gel on wound healing in oral mucosa of diabetic rats. 42 Sprague Dawley rats at 14-16 weeks of age and 340 ± 20 grams of weight were used. Diabetes induction was achieved by administering 55 mg / kg Streptozotocin intraperitoneally to 32 of the subjects. Rats with a blood glucose level above 250 mg / dl were considered diabetic at the end of the 2nd and 7th day and included in the study. After waiting for 7 days, a 5 mm diameter and 1 mm deep wound was created in the buccal mucosa of experimental animals with a disposable biopsy punch tools. Wound healing was evaluated on days 2 and 5. Histopathological examinations revealed inflammation, fibrosis, epithelial regeneration, necrosis and foreign body reaction. As a result of the statistical analysis, a significant difference was found between the groups in terms of inflammation levels on the 2nd and 5th days ($p < 0.05$). In the intergroup evaluations, the rate of severe inflammation on the 2nd day was found to be statistically significantly higher than the 5th day in the diabetes + chitosan group ($p < 0.05$). While there was no statistically significant difference between the groups in terms of fibrosis levels on the 2nd day ($p > 0.05$), a statistically significant difference was found in terms of fibrosis levels on the 5th day ($p < 0.05$). It was observed that chitosan did not cause foreign body reaction in any of the groups on days 2 and 5.

Key Words: Chitosan, Diabetes Mellitus, Wound Healing, Oral Mucosa, Rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara; canlı doku veya organların, fiziksel, kimyasal ya da biyolojik bir travma sonrası, yapısal ve işlevsel özelliklerinin bozulması olarak tanımlanır ¹. Vücut, yaralanmanın ardından karmaşık bir yapılanma sürecine girmektedir. Yara iyileşmesi olarak adlandırılan bu süreçte cerrahi, travmatik veya çeşitli hastalıklar nedeniyle oluşan doku hasarına yanıt olarak ortaya çıkan epitelyal, endotelyal, inflamatuvar hücreler, trombosit ve fibroblastlar bir araya gelip, normal işlevlerini belirli bir sıra ve düzen içerisinde yerine getirirler^{2,3}. Yara iyileşmesi sürecinin uzaması ya da olumsuz etkilenmesi, canlı için ciddi problemler yaratabilecek bir durumdur. Temelde hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme evrelerinden oluşan yara iyileşmesi sürecini, olumsuz şekilde etkileyebilecek birçok lokal veya sistemik faktör bulunmaktadır ^{4,5}.

Bu sistemik faktörlerden biri olarak gösterilen Diabetes Mellitus, yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri olan kronik metabolik bir hastalıktır. Diabetes mellitus (DM), pankreastaki langerhans adacıklarında β hücreleri tarafından üretilen insülinin kesin ya da kısmi eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasındaki bozuklukla birlikte hiperglisemi ile karakterize bir endokrin sistem hastalığıdır. Diyabette; insülin üretiminde ya da salınımında yetersizlik veya insülin reseptör yetersizliği sonucunda kan glikoz seviyesi yükselir. Yara iyileşmesinin diyabetli bireylerde sekteye uğramasından hiperglisemi sorumlu tutulmaktadır. Diyabetli bireylerde meydana gelen hiperglisemi; yara iyileşmesinde rol oynayan etkenlerden fibroblast oluşumunu azaltması, hücre proliferasyonunu ve kollagen dokunun yapımını engellenmesi, granülasyon dokusu oluşumunu azaltması ve enfeksiyon riskini artırması ile iyileşme süreci üzerine olumsuz etki göstermektedir ⁶. Diyabet hastalarının yara tedavisinde uygulanan güncel yöntemlerin yanında, tedavi sürecine katkı sağlaması amacıyla yeni çalışmaların yapılması günümüzde büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda diyabetli hastaların yara iyileşmesine etkisinin araştırılması amacıyla biyopolimerlerle ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Kitin, selülozdan sonra doğa ortamında en çok bulunan ikinci biyopolimerdir. Karides, yengeç gibi kabuklu deniz ürünlerinin ana maddelerinden biri olup, eklem bacaklıların iskeletinde ve mantarların hücre duvar yapısında da bulunmaktadır. Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber, bunlar arasında en önemlisi kitosandır⁷⁻⁹. Kitosanın;

doğada bulunan kaynaklardan rahat bir şekilde elde edilebilmesi, atık kabul edilen kabukların temel yapıtaşlarından olması, herhangi bir toksik özelliğinin olmaması, biyolojik olarak parçalanabilir ve biyouyumlu olması, kitosanı diğer biyopolimerlere göre daha üstün ve önemli kılmaktadır¹⁰. Yapılan çalışmalarda kitosanın yara iyileşmesini ve kemik oluşumunu hızlandırdığı, post-operatif süreçte adezyonu engellediği ayrıca antibakteriyel ve hemostatik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir ¹¹⁻¹³. Ayrıca deneysel hayvan modellerinde kitosanın, yara iyileşmesinin tüm evrelerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Kitosanın inflamasyon fazında hemostatik aktivitesi gösterilmiş, makrofaj ve nötrofillerin migrasyonunu düzenlediği, granülasyon dokusu oluşumuna da etki ettiği ifade edilmiştir ^{14,15}.

Biz çalışmamızda, yara iyileşmesine olumlu etkisi olduğunu bildiğimiz kitosanın, deri üzerinde yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak oral mukozadaki etkinliğini incelemeyi amaçladık. Deneysel olarak diyabet oluşturduğumuz sıçanların oral mukozalarında yara oluşturarak yara iyileşmesine etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara; çeşitli nedenlerle normal anatomik bütünlüğün ve fonksiyonun sekteye uğraması olarak tanımlanır ¹⁶. Yara iyileşmesi; yaralanan dokunun yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesi hedeflenen kompleks ve dinamik bir süreçtir ⁴. Yara iyileşmesinin esas amacı doku hasarını en aza indirmek, yeterli doku perfüzyonu ve oksijenasyonunu ve epitelizasyonunu sağlamaktır ¹⁷.

Ağız boşluğundaki yara iyileşmesi; ortamın daha sıcak ve nemli olması, çok sayıda bakteri bulunması sebebiyle biraz daha farklıdır ¹⁸. Konuşma, çiğneme ve yutma gibi fizyolojik fonksiyonlar yumuşak dokularda gerilmelere sebep olabilir. Bu durum yara kenarlarının birbirinden uzaklaşmasına neden olabilir ve iyileşmeyi olumsuz etkileyebilir ¹⁹.

Yara iyileşmesi; fibroblastlar, endotelyal hücreler, keratinositler, makrofajlar ve plateletler gibi birçok hücreyi içeren, ciltte ve mukozada bariyer oluşmasını amaçlayan karmaşık bir süreçtir ve birbiriyle bağlantılı 4 evreden oluşur ⁴:

- Hemostaz
- İnflamasyon evresi
- Proliferasyon evresi
- Yeniden şekillenme (remodeling) evresi

Tablo 2-1: Yara İyileşmesinin Evreleri

EVRE	GEÇEN SÜRE	GÖREVLİ HÜCRE	FONKSİYON
Hemostaz	Hemen	Plateletler	Pıhtılaşma
İnflamasyon	1-4. gün	Nötrofiller Makrofajlar	Fagositoz
Proliferasyon	4-21. gün	Makrofajlar Lenfositler Fibroblastlar Keratinositler	Boşlukların kapatılması Yeniden oluşum Deri fonksiyonu
Yeniden şekillenme	21.gün-2 yıl	Fibrositler	Gerilme direncinin oluşması

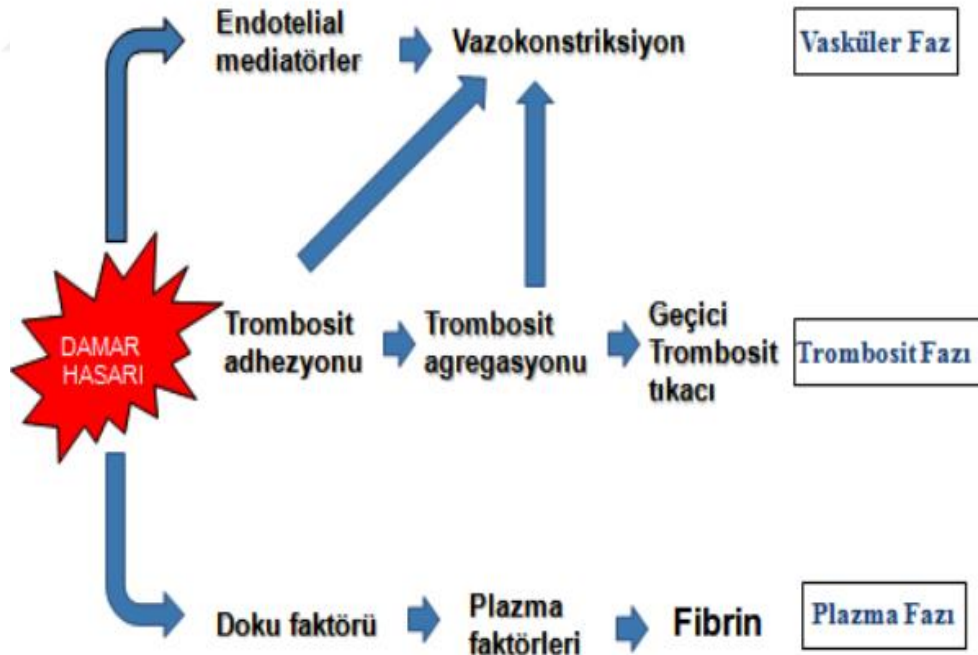
2.2. Yara İyileşmesinin Evreleri

2.2.1. Hemostaz

Doku yaralanmasını takiben kan damarlarının bütünlüğünün bozulması sonucu kanın ilgili bölgede damar dışına çıkmasıyla kanama meydana gelir. Yara iyileşmesinin ilk basamağını hemostaz oluşturmaktadır. Hemostaz; fibrin pıhtısı ve koagülasyon gelişimi olmak üzere 2 basamakla gerçekleşir ²⁰.

Yapısal bütünlüğün bozulmasıyla koagülasyon basamağı başlar ve damar duvarları daralır. Trombositler, yaralanmada görev alan ilk hücrelerdir. Damar yapısında meydana gelen hasarla, trombositler damar duvarındaki ekstraselüler matriks tarafından aktive edilirler. Aktivasyonun ardından trombosit adhezyonu ve agregasyonu oluşur. Bu sırada tromboksan A2 gibi kimyasal mediatörler ve fibrinojen, fibronektin, Von Willebrand faktörü gibi proteinler açığa çıkar. Bu mediatörlerle birlikte lokal olarak üretilen trombin; trombosit agregasyonu ve sekresyonunu uyarır, trombosit tıkaçı meydana gelir. Trombosit agregasyonu sırasında fibrinojen, trombin aracılığıyla fibrine dönüştürülür. Fibrin pıhtı oluşturarak kanamanın durdurulmasında görev alır.

Bu sırada koagülasyon intrinsek ve ekstrinsek yollar aracılığıyla aktive edilir. Trombosit agregasyonu, Hageman faktörü olarak bilinen kandaki spesifik enzimi tetikler. İntrensek yolla gerçekleşecek olan koagülasyon süreci başlar ve protrombin trombine dönüşür. Sonrasında fibrinojen fibrine dönüştürülür. Hasar gören doku, ekstrinsek koagülasyon yolunu aktive eden ve doku faktörü olarak bilinen bir lipoprotein açığa çıkarır. Bu doku faktörünü ifade eden aktive olmuş monositler ve endotelial hücreler koagülasyona katılır. Trombositler hemostaz mekanizmasında önemli rol oynarken; inflamasyon, reepitelizasyon, fibroplazi ve anjiyogenezis gibi yara iyileşmesinin diğer aşamalarına da katkıda bulunurlar. Ayrıca trombositler, kemotaktik faktörleri salgılayıp lökosit infiltrasyonuna neden olur ve yara iyileşmesini etkiler. Bu işlevlerinin yanı sıra trombositler, transforming growth factor-alfa (TGF-alfa), TGF-beta ve platelet-derived growth factor (PDGF) gibi yara iyileşmesinde önemli rol oynayan birçok büyüme faktörünü serbest bırakarak yeni doku oluşumunu teşvik ederler (Şekil 2:1) ²¹.



Şekil 2-1: Hemostaz mekanizması

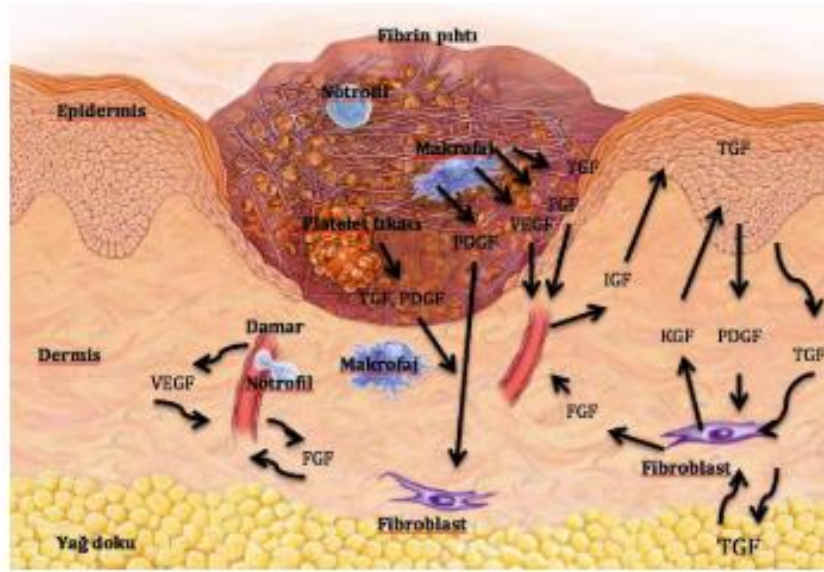
2.2.2. İnflamasyon Evresi

Yaralanmanın 2. evresi olan inflamasyon klinik olarak; enfeksiyonun klasik belirtileri olan kızarıklık, şişlik, sıcaklık ve ağrıyla kendini gösterir. Genellikle yaralanmadan hemen sonra başlayıp 4. güne kadar devam eder ⁴.

İnflamasyona hücrel yanıt, yaralı bölgeye lökositlerin göçü ile başlar. İnflamasyonun erken döneminde, nötrofiller ve monositler yara bölgesinde çoğunluğu oluşturan hücrelerdir. Yaralanmadan kısa süre sonra, nötrofiller ve monositler yaralı dokuya doğru göçe başlar. Nötrofiller ilgili bölgeye ulaşan ilk hücrelerdir. İnflamasyonun geç döneminde ise nötrofillerin sayısı düşmeye başlar; makrofajlar alandaki baskın hücreler haline gelir.

Nötrofiller ve monositler, mast hücreleri tarafından salınan kemotaktik ajanların açığa çıkması ile yara bölgesine gelirler. Koagülasyon boyunca kallikrein, fibrinopeptidler gibi kemotaktik faktörler oluşur. Tümör nekroz faktörü (TNF), histamin, proteazlar, lökotrienlerin (LT) ve sitokinler (interlökinler) gibi mast hücreleri tarafından salınan maddeler, lökositler için kemotaktik sinyallere ek olarak bir kaynak oluşturur ²².

Monositler doku boşluklarına doğru göç eder ve fagositik özellik gösteren makrofajlar haline dönüşür. İnflamasyonun geç döneminde bu hücreler çoğunluğu oluşturur. Makrofajların inflamatuvar reaksiyon sırasında önemli derecede düzenleyici bir görevi olduğu düşünülmektedir. Makrofajların fagositoz, sindirim ve patojenik organizmaların öldürülmesi, doku fazlalıklarının temizlenmesi ve kalan nötrofillerin yok edilmesi gibi önemli görevleri vardır. Monosit / makrofajların yaptığı bu görevler sayesinde anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması sağlanır ²³. Makrofajlar yara bölgesine fibroblastların gelmesini sağlayan fibronektin gibi kemotaktik ajanların serbest bırakılmasını sağlar. Ayrıca anjiogenez için gerekli olan endotel hücrelerinden ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunda görevli büyüme faktörlerinin üretilmesinden sorumludur. PDGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), TGF- beta ve TGF-alfa gibi büyüme faktörleri için üretim yeri olarak kabul edilirler ²⁴.



Şekil 2-2: Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı

2.2.3. Proliferasyon Evresi

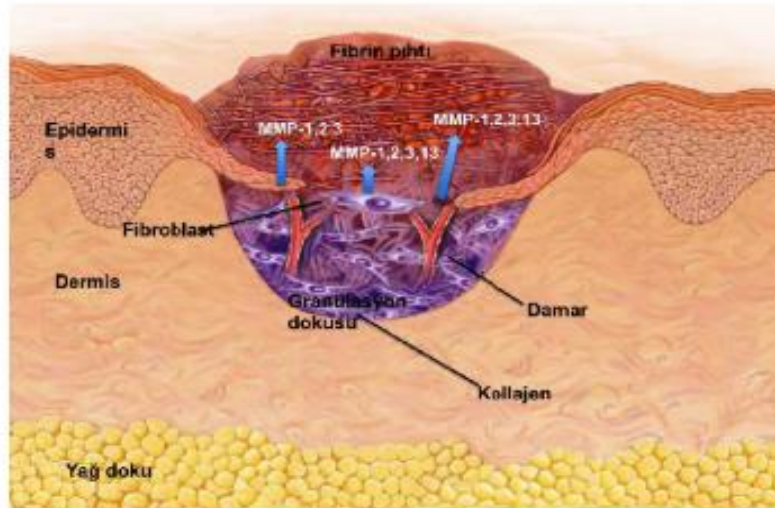
Proliferasyon evresi, yara oluşumundan yaklaşık 4-7 gün kadar sonra başlayıp yaranın büyüklüğüne ve hastanın sağlığına bağlı olarak 21 güne kadar devam eder. Bu evrede gerçekleşen olaylar şu şekilde sıralanabilir;

- Anjiogenezis
- Kollajen sentezi
- Granülasyon dokusu oluşumu
- Yara kontraksiyonu
- Epitelizasyon ⁴.

Bu fazda fibroblastlarla birlikte epitel ve endotel hücreleri baskın olarak bulunmaktadır. Yara gerilmesinde ciddi bir artış meydana gelir. Normalde dermis içerisinde bulunan fibroblastlar, yara iyileşmesinde yer alan öncelikli hücrelerdir. Fibroblastların bölgede çoğalması, komşu dokulardan fibroblast göçüyle ve yara bölgesindeki hücrelerin fibroblastlara proliferasyonu ile gerçekleşir. Ayrıca yara ortamındaki sitokinlerin etkisiyle yara çevresindeki diferansiye olmamış hücreler de

fibroblastlara dönüşür ¹⁶. PGDF ve EGF isimli büyüme faktörleri fibroblastların proliferasyon sürecinde görev olan önemli faktörlerdir ²⁴. Bu hücreler yara tamiri yaparlar ve bağ dokusunun ana maddeleri arasında olan kollajen, proteoglikan, retikülin ve elastin üretiminden sorumludurlar. Yara alanında 48–72 saat sonra görülmeye başlarlar. Özellikle 5. ve 7. günler kollajen sentezinin en yoğun olduğu günlerdir. Yeni kan damarlarının oluşumu bu sırada meydana gelir. Anjiogeneze olarak bilinen bu olay endotel hücrelerinin organize olmasıyla meydana gelir. Endotel hücrelerin göçü ve proliferasyonu ile yeni damar oluşumu sağlanır. Endotel hücrelerin migrasyonu da fibroblastlarda olduğu gibi integrinler aracılığıyla sağlanır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü anjiogenezi uyaran en önemli büyüme faktörüdür ²⁵.

Yara bölgesinde damar dallarını, fibroblastları, makrofajları, lökositleri ve plazma hücrelerini içeren ince kırmızı nodüllerin birleşmesiyle granülasyon dokusu oluşur. Kollajen göçüyle kan damarlarının densitesi azalır ve granülasyon dokusu skar dokusunu oluşturmak için giderek olgunlaşır. Bu süreçten sonra yara kenarları kasılmaya başlar ve hasarlı bölgenin boyutu küçülür ²⁶. Yara kenarlarının yaranın merkezine doğru hareket etmesi olarak bilinen yara kontraksiyonu, yaralanmadan genellikle 4-5 gün sonra başlar ve 2. haftasında en üst seviyeye ulaşır ²⁷.

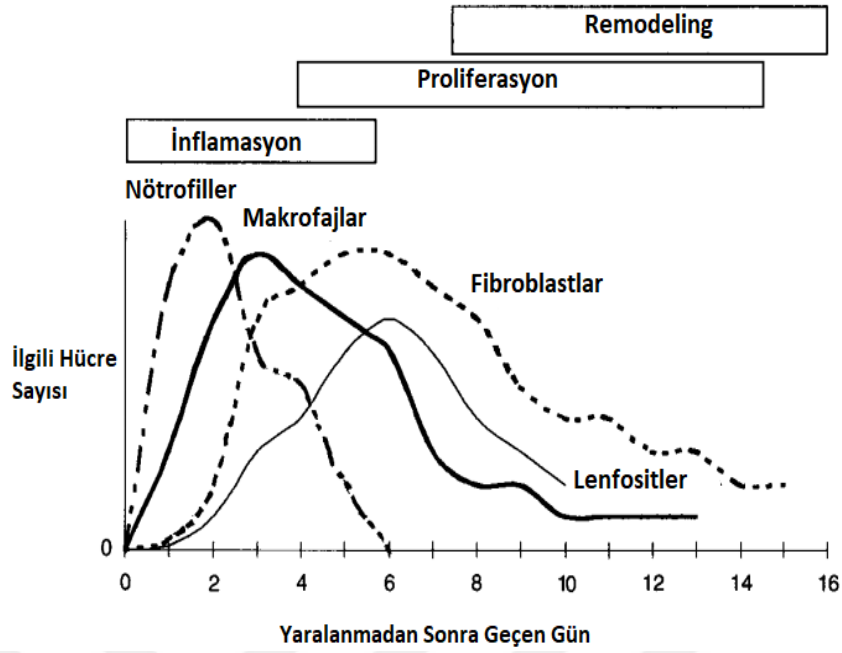


Şekil 2-3: Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı

Proliferasyon evresinin bir diğer bölümü olan epitelizasyonda, keratinositlerin proliferasyonu ve göçüyle birlikte granülasyon dokusu örtülür. Yaralanmanın ardından yara kenarındaki komşu hücrelerle olan bağlantı kesilir. Sabit halde bulunan epitel hücreleri ortamdaki büyüme faktörlerinin etkisiyle göç edebilecek özellik kazanır. Yara kenarı ve deri eklerinde bulunan epidermal hücrelerin göçü ile epitel oluşumu başlar ²⁶.

2.2.4. Yeniden Şekillenme (remodeling)

Yeniden şekillenme evresi, yara iyileşmesinin en az bilinen ve en uzun safhasıdır ve oldukça yavaş gelişir. Sürecin tamamlanması ayları hatta 1-2 yılı bulabilir¹⁶. Kollajen organizasyonu ve iyi bir ağ yapının oluşturulması bu evrede görülür. Fibroblast ve makrofajlar görevlerini tamamlarlar ve apoptozis yoluyla ortadan kaldırılırlar. Yoğun olarak hücreye ve vaskülariteye sahip olan doku yerini daha az hücre ve damarlardan oluşan skar dokusuna bırakır. Bu evrede iyileşmenin erken döneminde salgılanan organize olmamış ve jel benzeri yapıda olan tip III kollajen, tip I kollajenle yer değiştirir. Tip I kollajen içeren kalıcı matriks oldukça sağlam yapıda ve dirençlidir. Skar dokusundaki kollajen fibriller, normal dokuyla karşılaştırıldığı zaman daha küçük ve karışık bir düzene sahiptir ²⁸ Granulasyon dokusundan skar oluşurken, kollajen sentezi ve yıkımı arasındaki denge kollajenin yeniden yapılanmasında etkili olur. Kollajen yıkımı fibroblastlar, granüositler ve makrofajlar tarafından salgılanan matriks metalloproteinazları (MMP) aracılığıyla gerçekleştirilir. Yara etrafında oluşan yeni kollajen lifler, önce kendi aralarında sonrasında yara çevresindeki eski kollajen liflerle bağlantı kurar. Yara gerginliği ve sağlamlığı kollajenin miktarı ve niteliğiyle paralellik gösterir. Yaranın gerilim kuvveti hiçbir zaman normal derinin % 80'ini geçmez ²⁹.



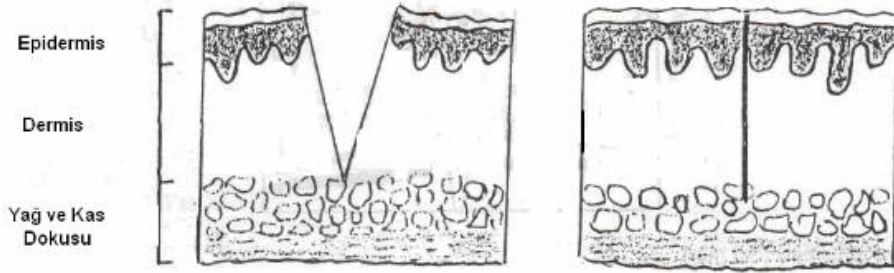
Şekil 2-4: İyileşme sürecinde yara bölgesindeki hücrelerin zamana bağlı görülme sıklığı ³

2.3. Yara İyileşmesinin Türleri

2.3.1. Primer Yara İyileşmesi

Bakteriyel kontaminasyonun olmadığı ve doku kaybının yaşanmadığı durumlarda; yara kenarlarının sutur, stapler, strip tape gibi materyaller ile direk yaklaştırılması sonucu meydana gelen iyileşme şeklidir. Yapılan insizyon, epitel bazal membranının devamlılığında yalnızca fokal bir bozulma yapar ve göreceli olarak daha az sayıda epitel ve bağ dokusu hücresinin ölmesine sebep olur. Bu iyileşme şeklinde kollajen maddesi ve ayrıca başlıca matriks proteinlerinin üretimi devam eder. Daha sonra depolanır, böylelikle kollajen liflerindeki bağlar oluşur (Şekil 3) ³⁰.

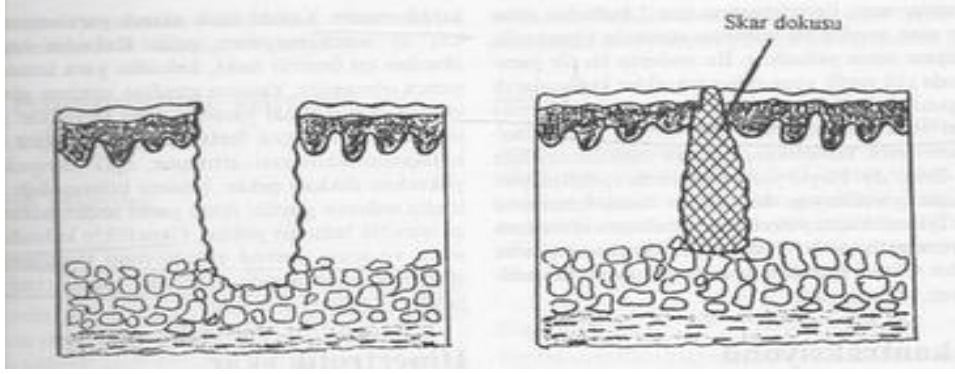
Dokunun büyük miktarda yaralandığı durumlarda, yaralarda bakteri kontaminasyonu ve yabancı cisim reaksiyonuna maruz kaldığında, enfeksiyonun önlenmesi adına kısa süre içerisinde yara kapatılır. Bu tarz gecikmiş primer yara iyileşmelerinde yara açık bırakılır ve enfeksiyon riski azaltılmış olur. Gecikmiş primer kapama durumlarında iyileşmenin sonunda primer kapamada ulaşılan gerilme kuvvetine eşit sonuçlar elde edilir ³.



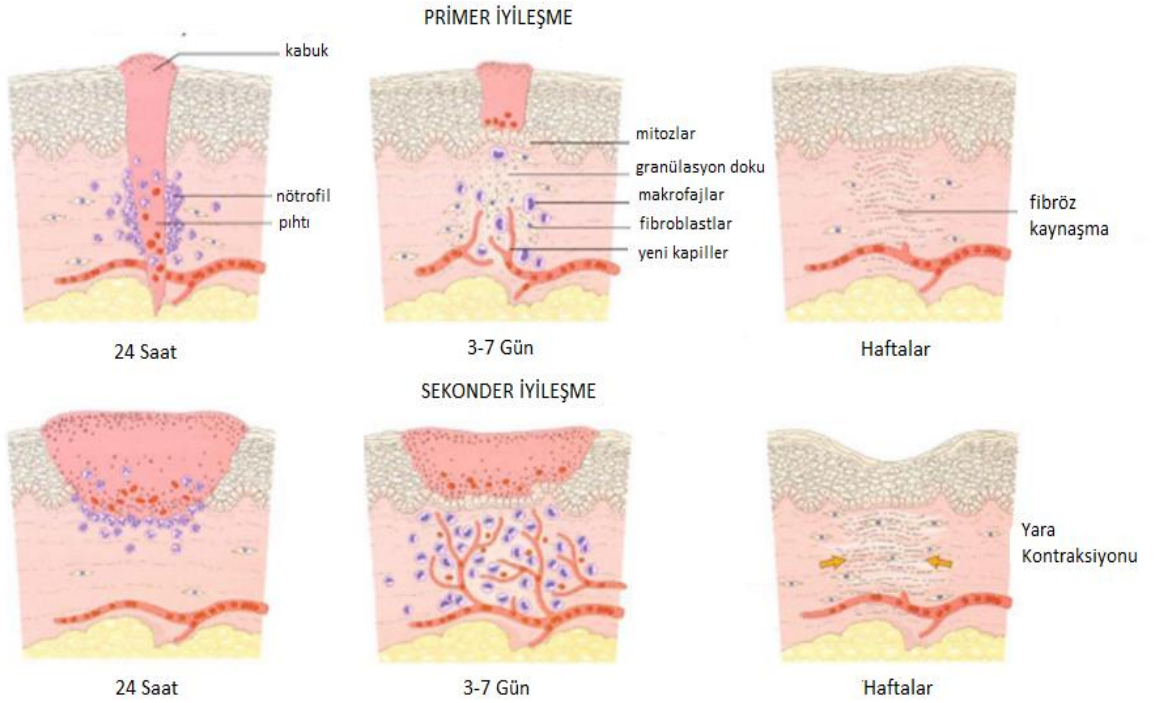
Şekil 2-5: Primer yara iyileşmesi

2.3.2. Sekonder Yara İyileşmesi

Açık bırakılan yara kenarlarının kontraksiyon ve granülasyon dokusu ile iyileşmesi sonucu gerçekleşir. (Şekil 2-4) Sekonder yara iyileşmesi büyük travmalar, ciddi yanıklar sonrası meydana gelen büyük boyutlardaki yumuşak doku kayıplarında oluşur. Primer iyileşmede olduğu gibi bu süreçte de inflamasyon, matriks doku oluşumu, epitelizasyon gelişimi ve skar dokusu görülür fakat bazı önemli detaylarda farklılıklar vardır. Granülasyon yapısı içerisinde kapiller, yeni çoğalmış fibroblastlar, kollajen maddeleri, fibronektin ayrıca laminin bulunur. Normal durumlarda kollajen sentezi yara iyileşmesinin ilk aşamalarında gerilme kuvvetini sağlayarak daha sonraki aşamalarda kollajenin matürasyonu ile gerilim kuvvetinin daha da artmasını sağlar. Sekonder iyileşmede esas nokta epitelizasyon aşamasının sonuna kadar tamamlanmasıdır. Çünkü epitelizasyon oluşumunun gerilme kuvvetine yaptığı katkı, skar dokusunun yaptığından daha önemlidir ²⁹.



Şekil 2-6: Sekonder yara iyileşmesi



Şekil 2-7: Primer ve sekonder yara iyileşmesinin karşılaştırılması

2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik olmak üzere iki grupta incelenmektedir (Tablo 2-2).

Tablo 2-2: İyileşmeyi Etkileyen Lokal ve Sistemik Faktörler

Lokal Faktörler	Sistemik Faktörler
• Uygun olmayan cerrahi teknik • Oksijen seviyesi • Vasküler bozukluklar • Yabancı cisimle kontaminasyon • Yara lokalizasyonu ve kanlanması • Enfeksiyon	• Beslenme • Yaş ve cinsiyet • Stres • İlaçlar • Büyüme faktörleri • Diyabet

2.4.1. Lokal Faktörler

2.4.1.1. Uygun Olmayan Cerrahi Teknik

Ameliyat yaralarının iyileşmesinde cerrahi teknik en önemli faktörlerden birisidir. Ektörlerin fazla gerdirilerek tutulması, açık yara yerinin kurutulması, gereğinden fazla elektrokoter kullanılması vb. durumlar yara iyileşmesini geciktirir. Yara gergin olarak kapatıldığında, yaranın vaskülerizasyonunda bozukluk oluşur. Bu yüzden gergin kapatmak yerine deri greftleri ya da flepler uygulanmalıdır. Yetersiz yara bakımı da yara iyileşmesini bozan bir diğer faktördür.

2.4.1.2. Oksijen Seviyesi

Oksijen normal hücre fonksiyonu ve proliferasyonu için gereklidir. Yara iyileşmesinde görülen gecikme çoğunlukla dokudaki oksijen eksikliğine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Oksijen, yara iyileşme evlerinin neredeyse hepsinde önemli bir yere sahiptir. Yara bölgesini enfeksiyondan korur, fibroblast proliferasyonunun ve kollajen sentezinin artmasını sağlar ³¹.

Önemli olan dokunun yara yüzeyinde bulunan oksijen değil, sistemik dolaşımdan sağlanan oksijen miktarıdır. Doku hipoksisi kollajen sentezini bozar,

bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmayı engeller ve yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Uygun oksijen seviyesinin sağlanması optimum yara iyileşmesi için mutlaka gereklidir.³²

2.4.1.3. Yara Lokalizasyonu ve Kanlanması

Doku geriliminin az olduğu yaralar daha çabuk iyileşme gösterirler. Doku geriliminin fazla olduğu bölgelerde ise iskemiye bağlı olarak geç iyileşme görülür. Kollajen sentezinde görev yapan lizin ve prolinin hidroksilasyonu için oksijen gereklidir. Bilindiği gibi reaktif oksijen türleri hücre ve dokular üzerindeki etkilerinden dolayı yaralara da zarar verirler. Reaktif oksijen türlerinin aktivasyonunu bozan ve uzaklaştıran serbest radikalleri yok eden enzimler yara iyileşmesi sürecinin düzenlenmesinde görev alırlar. Akut cevabın bir parçası olan inflamasyonda nötrofiller yara bölgesine hızlıca göç etmektedirler. Ancak bu hücrelerde solunum patlaması olayı meydana geldiğinde serbest radikaller açığa çıkmaktadır. Böylece yara bölgesi hem oksijen hem de nitrojen içeren reaktif türler ve onların türleri ile zengin hale gelmiş olur. Bu radikallerin varlığı oksidatif strese ve dolayısıyla bazı enzimlerin inaktivasyonuna neden olarak yaranın daha geç iyileşmesine sebep olur³³.

2.4.1.4. Enfeksiyon

Bakteriyel kontaminasyon, bozulmuş yara iyileşmesinin en önemli sebebi olarak gösterilebilir. Yarada oluşan enfeksiyon aşırı enflamatuvar yanıt ve eksudaya neden olur ve yara kenarları birbirinden uzaklaşır. Enfeksiyon, hem hipoksiye hem de inflamasyon fazının uzamasına ve şiddetinin artmasına neden olur³⁴.

İnflamasyon aşamasının uzaması matriks metalloproteaz seviyesinin artmasına neden olur. Artan proteaz içerik ile birlikte doğal yolla oluşan proteaz inhibitörlerinin seviyesinde azalma meydana gelir. Enfekte olmuş yarada bakteriler, kendi ekstrasellüler polisakkarit matrikslerini salgılayıp, bakterilerin toplanmasıyla kompleks bir yapıya sahip olacak biofilm formunda bulunurlar. Olgunlaşmış biofilmler ise korunmuş bir

mikroçevre oluşturarak konvansiyonel antibiyotik tedavisine karşı dirençli bir yapıya bürünerek yara iyileşmesini geciktirirler³⁵.

2.4.2. Sistemik Faktörler

2.4.2.1. Beslenme

Yara iyileşmesi için vücudun bazı besin maddelerine ihtiyacı vardır. Beslenme bozukluğu olan hastalarda yara iyileşmesi gecikir ve bu kişilerin enfeksiyona karşı savunma mekanizmaları yeterli olmadığından dolayı yara yerinde enfeksiyon gelişme riski daha yüksektir.

Protein eksikliği, yara iyileşmesinin gecikmesinde önemli bir rol oynar. Protein eksikliğinde hastanın hücresel ve humoral bağışıklık sistemleri de bozulur. Ayrıca enflamatuvar faz uzar ve fibroplaziyi bozar. Serum protein düzeyi 2 g/dl'nin altına düştüğü zaman yara iyileşmesinde önemli derecede bozulmalar meydana gelir³⁶.

Karbonhidratlar ve yağlar, hücrenin enerji kaynağı olarak yara iyileşmesinde görev alırlar. Karbonhidrat ve yağ metabolizmasındaki bozukluklar, yara iyileşmesini direk veya indirek yolla etkileyebilir. Bu besin kaynaklarının hücre sentezinde rolü büyüktür.

Vitamin ve mineral eksikliği de yara iyileşmesinde bozukluklara yol açabilir³⁶. Yara iyileşmesinde sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, çinko ve magnezyum gibi minerallerin önemli rolü vardır. Örnek olarak çinko, yara geriliminin sağlanmasında ve kollajen sentezi sırasında lizin oksidaz aktivitesinde görev alarak katkıda bulunur.

Vitaminlerde; A vitamini eksikliğinde yara epitelizasyonu ve yara geriliminin sağlanması gecikir.^{33,36}.

C vitamini, demir ve oksijenle beraber kollajen sentezi için gereklidir. C vitamini eksikliğinde kollajen demetleri stabil olmadıklarından dolayı derinin gerginliği azalır.

K vitamini, pıhtılaşma faktörlerinin üretiminde rol alır dolayısıyla eksikliğinde hemostazın sağlanmasında yaşanacak sıkıntıdan dolayı hematoma oluşumu kaçınılmazdır.

B kompleks vitaminleri ise farklı metabolik yollarda kofaktör olarak görev alırlar ³⁶.

2.4.2.2. Yaş ve Cinsiyet

İleri yaşlarda yara iyileşmesi daha yavaştır ve daha az skar dokusu oluşur. Cinsiyet ve pre-post menopozal dönemlerin yara iyileşmesinde etkisi olabilir. Skar oluşumu gençlerde ve kadınlarda daha sık görülmektedir ³⁰.

2.4.2.3. İlaçlar

Steroidler, aspirin, antikoagülanlar, antineoplastikler, penisilamin, fenilbutazon gibi ilaçlar yara iyileşmesini etkiler. Yaralanma esnasında ya da sonrası 3 gün içinde verilen kortikosteroidler yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler, gerilme kuvveti oluşumunun aksamasına sebep olur. Topikal steroidler de yara iyileşmesini inhibe eder. İmmüsupresifler ve antineoplastikler enflamatuvar hücre fonksiyonlarını inhibe eder ve yara iyileşmesini geciktirir. Lökopeniye sebebiyet vererek enfeksiyona eğilimi artırır ³³.

2.4.2.4. Diabetes Mellitus

Diyabetik hastalarda, yara iyileşmesinin bazı aşamalarında bozulmalar meydana gelmektedir. Diyabetin önemli komplikasyonları arasında olan ateroskleroza neden olan makrovasküler bozukluk, lokal kan dolaşımının azalmasına neden olan mikrovasküler bozukluk, ciltte his kaybına yol açan nöropati ve enfeksiyona karşı direnç gösterebilme özelliğinin azalması diyabette yara iyileşmesini geciktiren ana faktörler arasında gösterilebilir ³⁷.

Yara iyileşmesinin ilk fazı olan inflamasyon evresinin temel özellikleri, diyabetli hastaların yaralarında farklı olarak kendini gösterir. Bu safhada oluşan

bozukluklar ciddi iyileşme sorunlarına yol açmaktadır ³⁸. Yaralanmadan sonra erken dönemde ilgili yara bölgesinde akut inflamasyon özellikleri hakimken, 48. saatten sonra yavaş yavaş kronik inflamasyon hücreleri çoğunluğu oluşturur. Normal yara iyileşmesinde görülen bu mekanizma, diyabetik hastalarda daha farklı şekilde kendini göstermektedir. Diyabetiklerde kemotaksis ve diapedez fonksiyonlarında görülen aksaklıklar, tüm bağışıklık fonksiyonlarında genel baskılanmaya neden olmaktadır. Bu bozukluklar yara iyileşmesinin inflamasyon fazında yetersizlikle sonuçlanmaktadır (Grotendorst, 1985).

Diyabetik hastalarda kapiller endotelin bazal membranında fonksiyon bozukluğu olması sebebiyle vazodilatasyon istenildiği gibi gerçekleşmez. Zarar görmüş endotel hücresi tamir edilirken hücre içinde bulunan yüksek glikoz endotel hücreleri tarafından bazal membran sentezini uyarır. Yeni oluşan bazal membran fazla miktarda protein birikimi sebebiyle kalınlaşır ve kapiller geçirgenlik azalır. Bu durum lökosit ve eritrosit migrasyonunun azalmasına neden olur ³⁹. Lökositler fagositoz yapamaz dolayısıyla yara yerine gelen enflamatuar hücrelerin yara bölgesini terk etmeleri gecikir ve kronik enflamasyon meydana gelir ^{40,41}. Lökosit aktivitesinin bozulmasıyla fibroblast çoğalması ve kollajen sentezi de sekteye uğrar ⁴². Normal olmayan granülasyon dokusu oluşur

Diyabette yara iyileşmesinin bozulmasının bir sebebi de yüksek kan şeker düzeyinin kollajen yapımını engellemesidir. Kollajenin çapraz bağlanma oranını karbohidrat metabolizması belirler. Kollajen sentezindeki problemten dolayı diyabette yaranın kopma kuvvetinde azalma meydana gelir ⁴³.

2.4.2.5. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, hücresel fonksiyonlarını çeşitli mekanizmalarla sağlar. Bunlar arasında endokrin, parakrin, otokrin ayrıca intrakrin yollar bulunur. Endokrin yolun işleyişinde mevcut faktörler hedef hücreye kan aracılığıyla ulaşır ve bu şekilde uzaktaki hücrelerin etkilenmesini sağlar. Parakrin yollardaki faktörler endokrin yoldakinin aksine salgılandıkları alanda işlevlerini sağlar. Otokrin faktörler, direk olarak salgılandıkları hücrelerde etkili olurlar. Değişmiş haldeki birtakım fibroblastlar,

hücresinin yine kendisinde, hiç oluşmamış faktörlere intrakrin yolu kullanarak cevap verirler. Bir hücrede büyüme faktörlerinin etkili olabilmesi için o hücrede spesifik reseptörlerin bulunması zorunludur. Büyüme faktörlerinin hedef hücreye reseptör aracılığı ile bağlanması sonucunda sinyaller bütünü oluşur.

Yara iyileşmesinde rol oynayan bazı büyüme faktörleri aşağıda verilmiştir:

Tablo 2-3: Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü	Trombositler, makrofajlar, endotel ve düz kas hücreleri,	Fibroblast proliferasyonu nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, angiogenez
Transforme edici büyüme faktörü beta	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis indirekt angiogenez
Epidermal büyüme faktörü	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması
Transforme edici büyüme faktörü alfa	Aktive makrofajlar , trombosit, keratinosit, bazı dokular	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu
Interlökinler	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi
Tümör nekroz faktörü	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü	Makrofaj, mast hücresi T lenfositleri	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Bağ dokusu büyüme faktörü	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Fibroblast büyüme faktörleri	Beyin, pitüiter bez	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, angiogenez, yara kontraksiyonu

Keratinosit büyüme faktörleri	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
İnterferonlar	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

2.5. Diabetes Mellitus

2.5.1. Diabetes Mellitus ile İlgili Genel Bilgiler

Diabetes mellitus (DM), vücudun hiç insülin üretmemesi, yeterli seviyede insülin üretememesi ya da insülini tam olarak kullanamamasından kaynaklanan, hiperglisemiye neden olan; glikoz, yağ ve protein metabolizmasındaki bozuklukla karakterize olan kronik metabolik bir hastalıktır ^{44,45}.

Patojenik birçok süreç diyabet hastalığının oluşumunda etkilidir. Pankreasta bulunan mevcut β -hücrelerinin otoimmün olarak yıkımı, insülin eksikliği ve insülin hormonunun etkisine direnç gösteren bozukluklar diyabet gelişiminde etkili süreçler arasındadır. Diyabette karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozuklukların ana sebebi, dokularda insülin etkisinin bozulmasıdır. İnsülinin etkisinin azalmasının sebebi ise insülin salgısında oluşan yetersizlik, hormon yolaklarındaki bozukluk ve çok sayıda belirli noktalarda insüline karşı azalan duyarlılıktır. İnsülin hormonu salgılanmasında meydana gelen bozulma ve bunların etkisindeki değişiklikler hastalarda çoğu zaman bir arada bulunur ve çoğunlukla hangi bozukluğun birincil düzeyde etki ettiği belirsizdir ^{45,46}.

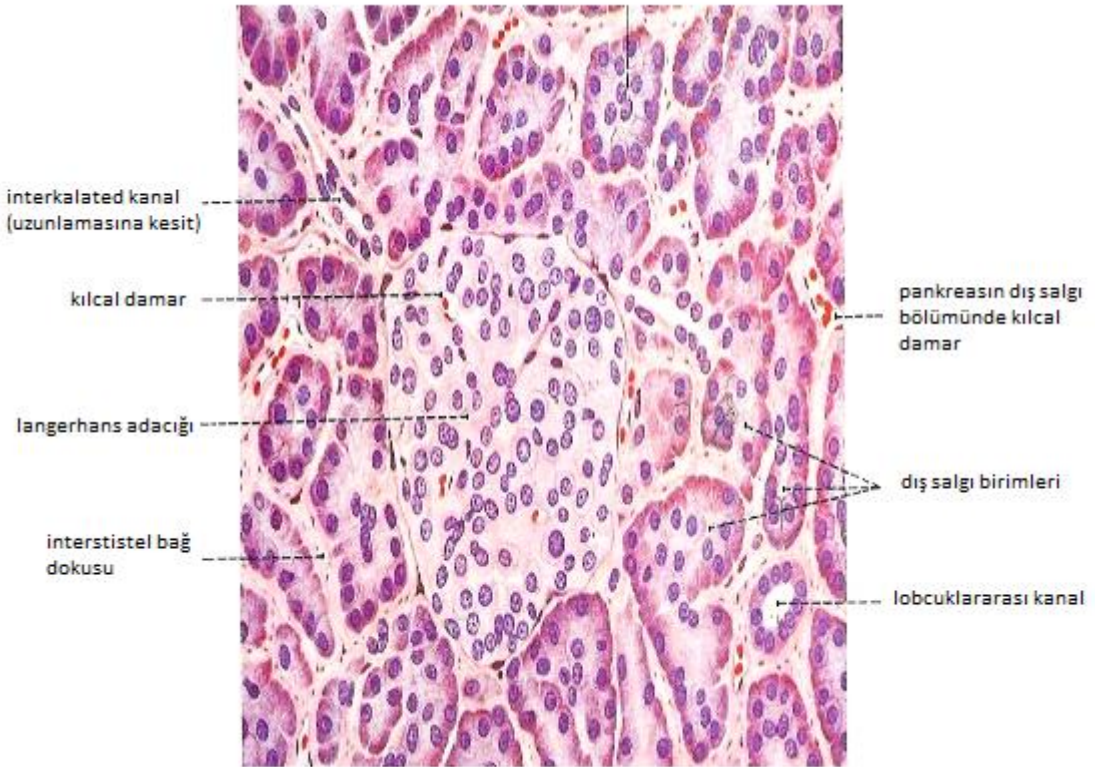
İnsülin salınımı veya insülin fonksiyonlarında bozulma veya azalma ile karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında bozulmalar ile karakterize olan hastalıkta bu bozulmalar ile akut (yorgunluk, poliüri, polidispia vb.) veya kronik (retinopati, nöropati, nefropati, periferik damar hastalıkları vb.) hastalıklarda artmalar meydana gelmektedir ⁴⁷.

Bu hastalıkta kandaki glukozun karaciğer, çizgili kas ve diğer bazı hücreler tarafından kullanımı ciddi derecede azalmıştır. Glukozun hücre içine girişindeki azalmasının yanında glukozdan glikojen yapımı olarak adlandırılan glikojenezis gibi

metabolik işlevlerde de bir miktar azalma söz konusudur. Endokrin pankreas (β -hücreleri) dan insülin salgılanmasının yeterli düzeyde olmaması veya salgının hiç olmaması ve/veya karaciğer, çizgili kas hücreleri gibi hedef hücrelerin insülin duyarlılığının azalması, kan şekerindeki bu yükselmenin sebebi olarak düşünülmektedir.

48

Diyabet mekanizmasında önemli yere sahip olan pankreasta yaklaşık bir milyona yakın Langerhans adacığı bulunmaktadır (Şekil 2-6). Her biri yüz mikron çapında olan adacıklar, hormonlarını salgılayacakları küçük kapillerin etrafında yerleşmiş bulunmaktadır. Adacıklarda başlıca üç tip hücre bulunur. Morfoloji ve boya alma özellikleriyle birbirinden ayırt edilen bu hücreler alfa, beta ve delta hücreleridir. Bu hücrelerin % 60 kadarını oluşturan beta hücreleri insülin salgılar. Toplam miktarın % 25 kadarını oluşturan alfa hücreleri ise glukagon salgılar. Delta hücreleri toplam miktarın % 10'u kadardır ve somatostatin hormonu salgılar. Ayrıca adacıklarda az sayıda bulunan Pankreatik Polipeptid (PP) hücreleri ise; pankreatik polipeptid hormonu salgırlar.



Şekil 2-8: Pankreasın histolojik yapısı

Diyabet, son yıllarda dünyada ve ülkemizde yüksek oranda görülme sıklığına sahip olan ve yaşam kalitesini olumsuz şekilde etkileyen komplikasyonları olması nedeniyle yüksek mortaliteye sahip bir hastalıktır. Diyabetin mikro ve makrovasküler etkileri sonucu buna bağlı oluşan komplikasyonları uzun bir süre sonunda ortaya çıkmaktadır. Bu durum diyabetin metabolik hafızası olarak tanımlanmaktadır. İnsülin kullanımıyla bu etkiler yavaşlamaktadır ⁴⁹.

2.5.2. Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri

Diyabetes Mellitus (DM) tanısında dünyada ve ülkemizde yaygın bir şekilde kabul görmekte olan ADA tanı kriterleri kullanılmaktadır ⁴⁵. Diyabet tanısı için aşağıda yer alan tablodaki durumlardan birinin saptanması yeterlidir (Tablo 2-4).

Tablo 2-4: Diyabetes Mellitus tanı kriterleri

Ölçütler	Diyabet Tanısı
Açlık Plazma Glukozu (APG) (8 saat ya da daha uzun açlıktan sonra)	≥126 mg/dL (7.0 mmol/L)
Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) 2. Saat Plazma glukozu (75 gr Glukoz ile)	≥200 mg/dL (11.1 mmol/L)
Rastlantısal Plazma glukozu (Hiperglisemi ve hiperglisemik kriz semptomları ile birlikte)	≥200 mg/dL (11.1 mmol/L)
HbA1c	≥%6.5 (48 mmol/mol)

2.5.3. Diabetes Mellitus Sınıflaması

Diabetes Mellitus (DM) sınıflandırması ADA tarafından 1997 yılında yayınlanmış, sonrasında 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization- WHO) tarafından düzenlenmiştir ⁵⁰. ADA tarafından en son olarak 2018 yılında yayınlanan sınıflandırmada herhangi bir değişiklik yapılmamış ve sınıflandırma aynı

şekilde devam etmiştir ⁴⁵. Diyabetin bütün tipleri ya dolaşımdaki insülin konsantrasyonunun azalmasından ötürü ya da hedef dokuların insüline yanıt verme oranının azalmasından dolayı kaynaklanmaktadır. DM bu sınıflandırmaya göre; Tip 1 Diabetes Mellitus, Tip 2 Diabetes Mellitus, Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) ve diğer spesifik tipler olmak üzere 4 başlık altında toplanmıştır (Tablo 2-5).

Tablo 2-5: DM Sınıflaması

I. Tip I Diabetes Mellitus
A. İmmün nedenli
B. idiyopatik
II. Tip II Diabetes Mellitus (nispeten insülin yetersizliği ile birlikte olan ağırlıklı insülin rezistansından, insülin rezistansı ile birlikte olan ağırlıklı insülin sekresyon kusuruna kadar değişebilir.)
III. Diğer spesifik tipler
A. β hücre fonksiyonu genetik defektleri
B. İnsülin etkisinde genetik defektler
C. Ekzokrin pankreas hastalıkları
D. Endokrinopatiler
E. İlaç ve kimyasal maddelere bağlı formlar
F. Enfeksiyonlar
G. Diyabetin immün aracılıklı nadir formları
H. Diğer genetik sendromlar
IV. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)

2.5.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM)

Önceleri “insüline bağımlı diyabet” veya “genç başlangıçlı diyabet” olarak adlandırılan bu tip, tüm diyabet olgularının % 5-10'unu oluşturmaktadır ve pankreatik β hücrelerinin otoimmün yıkımı yada toksisitesine bağlı ortaya çıkmaktadır ^{51,52}.

Tip 1 diyabet, çoğunlukla çocuk yaşlarda görülen ve klinik tablosu oldukça ciddi seyreden bir hastalıktır. Bu hastaların pankreaslarından neredeyse hiç insülin salgılanmamaktadır. Bu yüzden bu hastaların tedavisinde oral antidiyabetik ilaçlar tamamen etkisiz kalmaktadır ve tedavileri için insülin kullanılması zorunlu hale gelmektedir ^{51,53}.

Tip 1 diyabet tam olarak bilinmeyen nedenlerle vücudun bağışıklık sistemi tarafından insülin üreten pankreas beta hücrelerinin yabancı hücre olarak algılanıp yok edilmesiyle meydana gelir. Böylece vücutta insülin üretebilen tek hücre olan beta hücreleri tükenmeye başlar ve karbonhidrat metabolizması için mutlak gereklilikte bir hormon olan insülin üretilemez ⁴⁹.

2.5.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)

Önceleri “insüline bağımlı olmayan diyabet” ya da “erişkin başlangıçlı diyabet” olarak adlandırılan T2DM, tüm diyabetli hastaların % 90-95'ini oluşturur. Bu tipinde, kısmi insülin eksikliği olan ve periferik insülin direncine sahip hastalar yer alır. Bu bireyler yaşamları boyunca ya da en azından başlangıç aşamasında hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaç duymayabilirler ^{45,53}.

Tip 2 diyabetin patogenezi hakkında çok fazla bir bilgi bulunmamaktadır. Otoimmün mekanizmaların bir rolü olduğuna dair bulguya rastlanmamıştır. Genetik faktörler ise Tip 1 diyabete kıyasla daha fazla önem taşımaktadır. T2DM’de, β hücrelerinin otoimmün olarak yıkımı gerçekleşmez ve hastalar diyabetin diğer bilinen sebeplerinden hiçbirine sahip değildir. T2DM’li hastaların büyük bir çoğunluğu aşırı kilolu veya obezdir. Aşırı kilo varlığı, belirli bir miktarda insülin direncine sebebiyet vermektedir ^{44,45,53}.

T2DM genellikle uzun yıllar boyunca teşhis edilemez çünkü hiperglisemi yavaş bir şekilde gelişir ve erken evrelerde, hastanın klasik diyabet semptomlarını göstermesi için hiperglisemi yeteri kadar şiddetli değildir. Bunun yanı sıra tanı konmamış hastalar, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişmesi riskini taşımaktadırlar ^{45,51,53}.

Tip 2 diyabetin başlangıç yaşı sıklıkla 30 yaş sonrasıdır. Genellikle ileri yaşlarda kendini gösteren bir hastalık olan diyabetin bu tipinde klinik tablo, Tip 1 diyabet’e göre daha hafif olarak seyretmektedir ⁵⁴.

2.5.3.3. Diğer Spesifik Diabetes Mellitus Tipleri

Diğer diyabet tipleri aşağıdaki gibidir ⁴⁵ :

- β -hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)
- İnsülinin etkisindeki genetik defektler
- Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları
- Endokrinopatilerde görülen diyabet
- İmmun aracılıklı nadir diyabet formlar
- İlaç veya kimyasal ajanlarla oluşan diyabet
- Enfeksiyonlara bağlı görülen diyabet
- Diyabetle ilişkili genetik sendromlar

2.5.3.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

Gestasyonel Diyabetes Mellitus, uzun yıllar boyunca gebeliğin başlarında gelişen glikoz intoleransı gebelik ile ilişkili normal bir tablo olarak görülmüştür ve hastalık olarak düşünülmemiştir. Gebelik sırasında, büyüme hormonu ve kortizol seviyesindeki artış, plasentadan insülinaz salınımı olması ve artmış östrojen ve progesteron hormon düzeyleri nedeniyle insülin direnci görülme olasılığı artmaktadır. Annenin artmış yağ dokusu depoları, egzersiz anlamında kısıtlanması ve artmış glikoz alımının glikoz intoleransı oluşmasına etkisi olmaktadır. Annede mevcut olan DM ve obezitenin tanımlanmaması sonucunda ise gebelik ile saptanan T2DM, GDM ile karıştırılabilmektedir ⁵⁵⁻⁵⁷.

2.5.4. Diyabetin Komplikasyonları

Diyabette komplikasyonlar gelişme sürecine göre akut ve kronik olmak üzere iki ana başlık altında incelenmektedir. Akut komplikasyonlar; hipoglisemi, laktik asidoz

(LA), diyabetik ketoasidoz (DKA) ve hiperozmolar hiperglisemik durum (HHD)'dan oluşmaktadır. Bu komplikasyonlar çok kısa sürede yaşamı tehdit edebilecek ciddiyette olan komplikasyonlardır. Kronik komplikasyonlar ise mikrovasküler ve makrovasküler olmak üzere ikiye ana başlıkta toplanır. Plazma glukoz düzeyinin ve diyabet süreci ile ilişkili kapiller bazal membran kalınlığının artmış olması, kapiller geçirgenlikte ve vizkozitede oluşan artış ve trombosit fonksiyonlarının bozulması mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar ve periferik damar hastalıkları makrovasküler komplikasyonları oluşturmaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar ise retinopati, nefropati ve nöropatiden oluşmaktadır. Diyabetik ayak bazı durumlarda tek başına ayrı bir komplikasyon olarak değerlendirilirken bazen de nöropati ve periferik vasküler yetmezlik sonucu olarak bu başlıkların altında ele alınmaktadır ^{45,58,59}.

2.5.4.1. Akut Komplikasyonlar

Diyabetin akut komplikasyonları erken dönemde teşhis edilmez ve etkili tedavisi yapılmaz ise ciddi sonuçlar doğurabilen önemli komplikasyonlardır. Bu komplikasyonları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz ⁴⁵ :

- Hiperozmolar hiperglisemik durum (HHD)
- Diyabetik ketoasidoz (DKA)
- Laktik asidoz (LA)
- Hipoglisemi

Hiperozmolar hiperglisemik durum ve diyabetik ketoasidoz hiperglisemiye bağlı iki ciddi komplikasyondur. Her iki komplikasyon da hem tip 1 hem tip 2 diyabette görülür fakat DKA tip 1 diyabette, HHD ise tip 2 diyabette daha sık görülmektedir ^{60,61}.

Hiperozmolar hiperglisemik durum: Ani ve ciddi bir hiperglisemi ve buna bağlı oluşan ozmolarite artışı ile karakterize klinik tablodur. HHD'da esas durum mutlak ya da kısmi insülin yetmezliği ve karşı düzenleyici hormonların normalden daha fazla salgılanmasıdır. Bu olaylara bağlı olarak glukoneogenesis ve glikojenoliz artar ve periferik glukoz kullanımında azalma görülür. Sonucunda hiperglisemi meydana gelir

ve ozmotik diürece neden olmaktadır. Hiperozmolar durum sonucunda ekstraselüler aralıkta sıvı miktarında azalma olur ve renal perfüzyon basıncında düşme meydana gelir. Bu dönemde ilk başlarda, hiperglisemi bulguları olan poliüri, polidipsi ve halsizlik gözlemlenmektedir. Zamanla dehidratasyon bulguları ortaya çıkar ve mevcut tablo şiddetlenir. Dehidratasyon başladıktan sonra cilt ve mukozalarda kuruluk, deri turgorunda azalma, ortostatik hipotansiyon, taşikardi gözlemlenmektedir. Tablo kontrol altına alınamazsa zamanla şok belirtileri de ortaya çıkabilmektedir ^{45,62-64}.

Diyabetik ketoasidoz: Çoğunlukla tip 1 diyabete sahip hastalarda görülmesine karşın tip 2 diyabetli hastalarda da mutlak insülin yokluğuna bağlı olarak ortaya çıkabilir. Diyabetik ketoasidoz (DKA) dolaşımda var olan insülinin azlığı ya da mutlak noksanlığı ve karışık düzenleyici hormonların (büyüme hormonu, adrenalin ve glukagon) dahil olmasıyla ortaya çıkan ve yaşamı tehdit eden akut metabolik bir bozukluktur. İnsülin eksikliği durumunda, karışık düzenleyici hormonlarda da artış meydana gelmektedir. Bu duruma ek olarak hiperglisemi, lipoliz ve keton cisimcikleri oluşumu gözlenir. İnsülin yokluğu ve asidoza bağlı olarak potasyum ve fosfat miktarında azalma görülür. DKA kendini sırasıyla hiperglisemi, ketonemi ve asidoz şeklinde gösterir. Klinik tablonun şiddeti insülinin eksiklik derecesine bağlı olarak değişkenlik gösterir ^{45,60,62}.

Laktik asidoz: Laktik asidoz (LA) kanda laktat seviyesinin arttığı durumlarda gözlenen anyon açıklığının olduğu bir asidoz tablosudur. Çoğunlukla altta yatan ciddi bir hastalığı bulunan bireylerde görülür ve dokuların oksijen ihtiyacının karşılanmasındaki yetersizliğe bağlı olarak gerçekleşir ^{45,65}.

Hipoglisemi: Diyabete ve tedavisine bağlı oluşan akut bir tablodur. Plazma glukoz düzeyinin 70 mg/dL altına düştüğü tablo hipoglisemi olarak nitelendirilmektedir. Çoğunlukla insülin tedavisi gören bireylerde gözlenir. Fakat pankreastan insülin salınımını arttırmak için kullanılan ilaçlar da (oral sülfonilüreler, fenilalanin analogları vb.) bazen hipoglisemiye neden olmaktadır. Hipoglisemi hem diyabetik hem de diyabetik olmayan bireylerde sıklıkla gözlemlenen bir tablodur. Klinik belirtileri arasında ajitasyon, terleme, sempatik sinir sisteminin uyarılmasına bağlı olarak korku, anksiyete gibi durumlar yer alır ^{45,46,66}.

Diyabetli hastaların insülin kullanımındaki hatalar, egzersiz zamanlaması ve yoğunluğunda hatalar ve yeterince besin alınmaması nedeniyle de hipoglisemi ortaya çıkabilmektedir ^{46,66}.

Normal bireylerde glukoz düzeyindeki azalmaya karşılık insülin salgılanması azalır, glukagon salgılanması artar, adrenalın salgılanır ve plazma glukoz düzeyi yükseltilmeye çalışılır. Ancak insülin üretiminin olmadığı tip 1 diyabetli hastalarda vücutta insülin üretimi azaltılamaz ve glukoz karşıt düzenleme metabolizması bozulduğu için plazma glukoz düzeyinin dengelenmesi yetersiz kalabilmektedir ^{45,67}.

2.5.4.2. Kronik Komplikasyonlar

Kronik komplikasyonlar makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır:

A. Makrovasküler Komplikasyonlar

Koroner arter hastalığı, periferik vasküler bozukluklar ve serebrovasküler hastalıklar olarak nitelendirilir. Diyabete sahip bireylerde kardiyovasküler hastalık (KVH) primer morbidite ve mortalite sebebidir. Koroner arter hastalığı (KAH) riskinin de tip 2 diyabetli bireylerde, normal bireylere oranla daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Diyabetli bireylerde ateroskleroz daha erken yaşlarda ortaya çıkmaktadır ve daha yaygındır ^{45,58}.

B. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Retinopati: Gözün retina katmanındaki küçük damarların hasar görmesi ile meydana gelir. Retinopatinin oluşmasında başlıca etkenlerden biri kronik hiperglisemidir. Bir diğer etken ise hipertansiyon varlığıdır. Diyabetik retinopati gelişiminde ayrıca kapiller permabilite ve viskozitede artış, trombosit agregasyonunda yükselme oldukça önemli faktörlerdir. T1DM'ta daha çok ciddi proliferatif retinopati, vitreusta hemoraji ve retinal ayrılmalar körlük nedeniyle, T2DM'ta ise maküladada oluşan ödem ve retinal iskemi, görüşte azalma ve körlük nedenleri arasındadır ^{68,69}.

Nefropati: Diyabet hastalığı nedeniyle oluşan nefropati tip 1 ve tip 2 diyabetin her ikisinde de görülen en sık komplikasyonlar arasında yer almaktadır. 300 mg ve

üzeri albuminüri veya 500 mg ve üzerinde proteinürinin 3 ile 6 ay arasında en az 2 idrar tahlilinde teşhis edilmesi diyabete sahip hastalarda nefropati tanısı konmasında ayıricıdır. Bu hastalar başarılı ve düzgün bir şekilde tedavi edilmez ve kontrol altında tutulmazlarsa protein sıklıkla nefrotik düzeye doğru ilerler ve böbrek fonksiyonları bozulma meydana gelir. Ayrıca hipertansiyonun çoğunlukla sendroma eşlik ettiği belirtilmiştir⁷⁰.

Nefropatinin erken dönem teşhisi ciddi önem taşır ve diyabetli bir birey için önemli bir avantajdır. Erken dönem nefropati teşhisini sağlayacak en önemli laboratuvar bulgusu mikroalbuminüridir. Mikroalbuminüri; klinik proteinüri olmaksızın üriner albumin atılım hızında artma olarak açıklanmaktadır. Başlangıçta mikroalbuminüri ile seyir eden tablo; proteinüri, hipertansiyon ve glomerüler filtrasyon hızı azalması ile devam etmektedir. Diyabetli bireylerde genetik yatkınlık, hipertansiyon, kötü glisemik kontrol, sigara ve dislipidemi gibi faktörler nefropati riskini artırmaktadır⁷¹⁻⁷³.

Nöropati: Diyabetik nöropatiler; periferik sinirlerin aksonal yıkımıyla ortaya çıkarlar. En sık olarak ise periferik polinöropati şeklinde gözlemlenmektedir. Nöropati gelişiminde lipotoksosite ve yüksek plazma glukoz toksisitesinin ana etkenler olduğu düşünülmektedir^{45,74,75}.

Polinöropatiden farklı olarak mononöropati ya da otonomik nöropati şeklinde de diyabetli hastalarda nöropati izlenebilir. Mononöropati polinöropatiye oranla daha az görülmektedir ve izole kranial ya da periferik sinirlerin disfonksiyonunu içermektedir. Otonomik nöropati ise kardiovasküler, genitoüriner, gastrointestinal gibi çoklu sistemleri etkileyebilmektedir^{74,75}.

Diyabetik ayak: Diyabetik ayak; periferik nöropatiye vasküler periferik yetmezlik eşlik ettiğinde ayak dokusunda oluşan ülserasyon ile sonuçlanan bir komplikasyondur. Yüksek mortalite ve morbiditeye yol açabilir. Bireyi; fiziksel, ruhsal, sosyal yönlerden etkileyen önemli bir diyabet komplikasyonudur⁷⁶.

Diyabetli bireylerde alt ekstremitte amputasyon sıklığının, diyabetik olmayan bireylere göre yaklaşık 15 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Diyabetik ayak meydana gelen bireylerin yine yaklaşık %50'sine amputasyon uygulanmaktadır. Dünyada her 20 saniyede bir, diyabetik ayak ile ilişkili alt ekstremitte amputasyonu

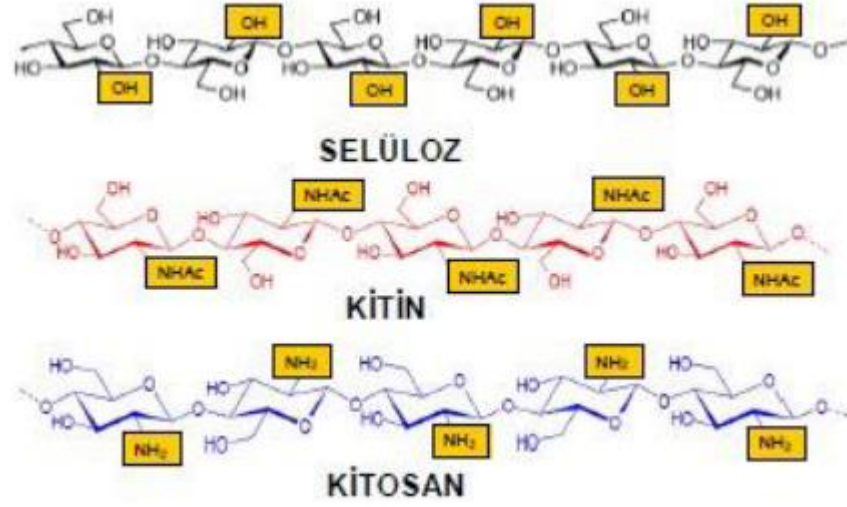
yapılmaktadır. Travma dışı amputasyonların ise yaklaşık %85'i diyabetik ayak sebebi ile oluşmaktadır ⁷⁶⁻⁷⁸.

Diyabetik ayak gelişiminde birçok faktör rol oynamaktadır. Diyabetin kronik komplikasyonlarından olan periferik nöropati, periferik vasküler yetmezlik ve ayak travmaları diyabetik ayak ülserlerine sebep olan ana sebeplerdir. Nöropatiye bağlı oluşan his kayıpları travmaya bağlı doku bütünlüğünde bozulmalara sebep olmaktadır. Farklı bir etken olarak intrensek kaslardaki atrofiye bağlı ayakta yük taşıyan bölgelerin değişmesi ile diyabetik ayak gelişebilir ^{76,79,80}.

2.6. Kitosan

Kitin, selülozdan sonra doğa ortamında en çok bulunan ikinci biyopolimerdir ⁸¹. Kitin; karides, yengeç, ıstakoz gibi bazı deniz kabukluları ve böceklerde doğal olarak bulunan, β -(1 $\rightarrow$ 4) bağlı D-glukozamin ünitelerinden oluşan lineer bir amino polisakkarittir. Kitinin sıcak sodyum hidroksit formları ile parsiyel deasetilasyonu sonucunda çözünürlüğü daha fazla ve polikasyonik bir biyopolimer olan kitosan oluşur ^{13,82}.

Kitinin birçok türevi bulunmasına karşın, en önemlisi kitosandır. Kitosanın ilk keşfi, 1811 yılında, Fransa' daki bir botanik bahçesinin müdürü olan Profesör Henri Braconnot'un mantar hücre duvarlarından kitini elde etmesine dayanmaktadır. Selülozun izole edilmesinden yaklaşık 30 yıl önce, Odier adlı araştırmacının 1823 yılında böcekler üzerinde yaptığı bir çalışmada aynı yapının bitkilerin yapılarında olduğu gibi böceklerin yapılarında da olduğu görülmüştür ^{9,83}.



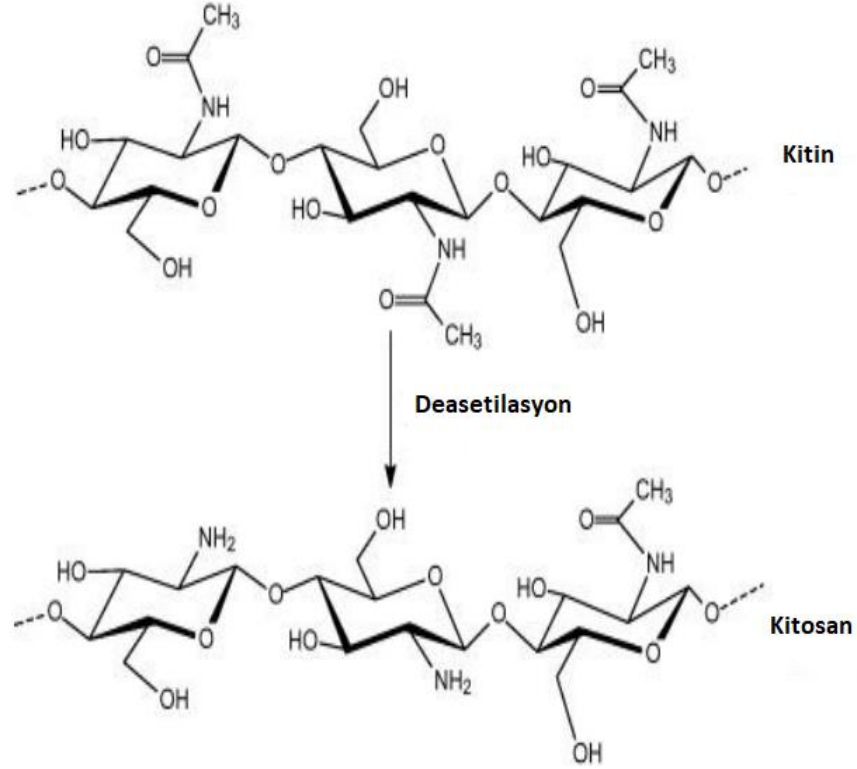
Şekil 2-9: Selüloz, kitin ve kitosanın kimyasal yapıları

Kitinin var olan alfa, beta ve gama formları, kitin mikrofibrillerinin farklı yapılarıdır. En sık rastlanan formu α -kitindir ve antiparalel zincir yapısına sahiptir⁸⁴. α -kitin, karideslerin kabuklarında, mantar ve maya hücre duvarlarında, böceklerin kütikula tabakasında bulunur⁸⁵. Doğada β -kitin, α -kitine göre daha nadir olarak bulunmaktadır. Paralel zincir yapısına sahip β -kitin, bazı solucanların yapısında, mürekkep balığının kollarında, bazı deniz yosunlarının ya da protozoaların dış kabuğunda bulunmaktadır^{86,87}. γ -kitin ise paralel ve antiparalel yapıların karışımı olan böceklerin kozalarında görülmektedir. γ -kitin ise paralel ve antiparalel yapıların karışımı olan böceklerin kozalarında bulunmaktadır⁸⁴.

Kitin ile kitosan arasındaki esas fark deasetilasyon derecesinden kaynaklanmaktadır. Asetil gruplarının uzaklaştırılmasıyla kitosanın yapısında reaktif amin ($-NH_2$) grupları ortaya çıkar. Bu serbest amin grupları kitosanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesini sağlamaktadır^{8,85}.

Kitinin deasetilasyonun ilk basamağında, hammadde olan kabukların seyreltilmiş sodyum hidroksit çözeltisinde deproteinizasyonu yapılır. Kitosan ikinci karbon pozisyonunda bulunan $-NH_2$ gruplarının protonlanması sonucunda çözünür ve asidik ortamlarda polielektrolite dönüşür. Kitosan; sitrik ve asetik asitin seyreltik çözeltilerinde iyi çözünür ve genellikle asetik asit çözeltisi dekalsifikasyon için

kullanılır. Dekalsifikasyonun devamında saflaştırma işlemine girer ve kitosan elde edilir⁸⁸.



Şekil 2-10: Kitin ve kitosan molekülleri⁸⁹.

2.6.1. Kitosanın Özellikleri

Kitosan, elde edildiği materyal olan kitine göre daha reaktiftir ve toz ve lif gibi birçok değişik formda üretilabilmektedir. Biyoyumumluluğu, bulunduğu dokuya göre dokunun mekanik özellikleri artırması sayesinde; ince film tabaka, çözelti ve jel haline getirilerek günümüzde kozmetik, gıda ve ziraat gibi birçok alanda kullanılabilmektedir⁸².

Kitosan; lipid, protein ve pek çok biyoaktif madde ile bağlanabilir ve negatif yüke sahip polimerlerle (aljinat vb.) ağ veya matris oluşumu gerçekleştirebilir. Ayrıca yağ ve su bağlama kapasitesi fazla olup oldukça iyi derecede film oluşturma kapasitesine de sahiptir^{13,90}.

Kitosan; kitosanaz, lizozim, kitinaz gibi enzimlerle hidroliz edilebilmektedir. Kitosanaz yaygın olarak bakteri ve fungus gibi mikroorganizmalar ve bazı bitkiler tarafından üretilir. Kitosan bu enzimler aracılığıyla degradasyona uğrar ve oligosakkaritlere ayrılır. Lizozomal enzimlerin etkisi ile parçalanabilmesi, bu polimerin farmasötik alanda kullanımı açısından önemli bir özelliktir ^{8,91}.

Kitosan ayrıca; yenilenebilir özelliğe sahiptir, çok miktarda bulunmaktadır ve çözünmesi için zararlı organik çözücülere gerek duyulmaz ¹².



Şekil 2-11: Kitosanın özellikleri ¹².

2.6.2. Kitosanın Kullanım Alanları

Kitosanın farklı molekül ağırlığına sahip ve değişik deasetilasyon derecesindeki preparatları, yine farklı biyolojik ve kimyasal özelliklerle, farklı etkiler göstermektedir. Kitosanın değişik türevlerinin hemostatik, antibakteriyel, antifungal etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir ^{11,92}.

Antimikrobiyal etkisi: pH<6,3'te kitosanın glikozamin monomerlerinin pozitif yüklü amin gruplarıyla elektronegatif yüklü mikrobiyal hücre duvarının etkileşiminden

dolayı hücre duvarının geçirgenliğinin değişmesi ve bunun sonucunda da hücre içi içeriğin hücre dışına sızması yoluyla antimikrobiyal etki göstermesidir ^{11,93,94}.

Hemostatik etkisi: Eritrosit ve trombositlerin dış membranları negatif, kitosanın ise pozitif yüklüdür ve bunların karşılıklı etkileşimleri, trombosit aktivasyonunu ve trombus oluşumunu aktive eder böylelikle pıhtı oluşur. Kitosanın kanamalı dokularda kullanımıyla pozitif yüklü olan kitosan, dolaşım sistemindeki plazma proteinlerini kendine yaklaştırır ve temas etmesini sağlar. Sonuç olarak trombosit adezyonu ile materyal yüzeyinin aktivasyonunu sağlamış olur. Kitosan bu etkisiyle tedavi amaçlı olarak kanama kontrolü sağlamada da kullanılmaktadır ⁹⁵.

Kitosan ayrıca trombositlerin hücre içi kalsiyum seviyesini artırır. Kalsiyumda meydana gelen artışla, trombositlerin aktif hale gelmesini sağlayan önemli bir mekanizma da uyarılmış olur ⁹⁶.

Yara iyileşmesine etkisi: Kitosan sert ve yumuşak dokularda yara iyileşmesine olumlu etki etmektedir. Yara iyileşmesi sürecinde polimorfonükleer hücrelerin (PMN), makrofajların ve fibroblastların aktivasyonunda, sitokin üretimi ve tip IV kollajen sentezinin uyarılmasında önemli rolleri vardır. Ayrıca deride sinir ve kan damarı rejenerasyonunu hızlandıracak şekilde etki gösterir ¹².

Yara iyileşmesini etkiyebilecekleri diğer bir mekanizma da makrofajlarla ilişkilidir. Kitosan türevleri in vivo koşullarda oligomerlere hidroliz olurlar ve bu oligomerler makrofajların interferon, tümör nekrozis faktör ve interlekin-1 oluşturmalarını aktive ederler ^{12,13,90}.

Muzzarelli ve ark.[⁹⁷] yaptıkları çalışmada, kitosanın bağ dokusu yapısına katılan glukozaminoglikan (GAG) benzeri yapısıyla, yara iyileşmesi esnasında dokunun stabilitesini ve yapısını destekler özellikte olduğunu, üç boyutlu bir iskele yapısı oluşturduğunu ve kitosanın temas ettiği bakterilerde fark edilir miktarda morfolojik değişikliklerin gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Lahiji ve ark.[⁹⁸] tarafından yapılan çalışmada ise kitosan kaplı plastik yüzeylerde osteoblast hücrelerinin canlılıklarını neredeyse %90 oranında korudukları, osteoblastik hücre morfolojilerini ve aynı zamanda fonksiyonlarını devam ettirdikleri gösterilmiştir.

Tablo 2-6: Kitin ve türevlerinin kullanım alanları

Uygulama alanı	Kullanımları
Tarım	- Tohum kaplama - Kontrollü toprak kimyasalı salınım - Böcek, parazit öldürücüler - Bitki katkı maddesi - Antimikrobiyal madde
Gıda Endüstrisi	- Besleyici ilaçlar - Koku ve tat, besin, renk dengesi - Yiyecek katkısı, koruyucusu - Doğal kıvamlaştırıcı - Zayıflama maddesi
Biyoteknoloji	- Enzimin immobilizasyonu - Protein ayrılması - Hücre geri kazanımı - Hücre immobilizasyonu
Membran	- Geçirgenlik kontrolü - Ters osmoz
Biyomedikal	- Yara, yanık tedavisi - Antikanser tedavi uygulamaları - Kemik iyileştirici - Cerrahi dikişler - Diş uygulamaları - İlaç salım sistemleri - Göziçi ve kontakt lensler - Pıhtılaşma etkeni - Sargı bezi, yara bandı yapımı - Hidrojel yapımı

Kitosanın medikal tekstiller alanında kullanımı oldukça önemlidir. 1960'ların ortalarından beri Japonya başta olmak üzere birçok Asya ülkesinde bu konu ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle yara tedavisinde dokunun yeniden oluşturulması için kitosan oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca kitosan; medikal yapay deri, cerrahi dikiş iplikleri, yapay kan damarları, yara bandı ve sargı bezi yapımında da sıklıkla kullanılmaktadır ^{85,99}.

Biyomedikal uygulamalarda kitosan hidrojellerinin kullanılabilirliği konusunda yapılan araştırmalarda, hidrojel yapımında en fazla kullanılan çapraz bağlayıcılar, glioksal ve gluteraldehit olarak belirtilmiştir. Gluteraldehit, kitosanın amin gruplarına

imin grubu üzerinden bağlanmaktadır. Ayrıca, çapraz bağlayıcı olarak; dietil squarat, oksalik asit veya genipin de kullanılan materyaller arasındadır. Kovalent bağlı hidrojel; implantlar ya da bandaj yapımında kullanılabilirken, iyonik bağlı hidrojel özellikte ilaç salınım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kitosanın toksik özellikte olmaması, çevreye zarar vermeden biyolojik olarak parçalanabilir özellikte olması ve vücut içerisinde, tamamen zararsız ürünlerin parçalanmasından dolayı herhangi bir yan etkisi de bulunmamaktadır ^{8,95,100}.

2.6.3. Kitosanın Uygulama Şekilleri

Jel: Jeller, su ve biyolojik sıvıların olduğu ortamda şişebilen, fazla miktarlarda sıvı tutabilen hidrofilik yapıdaki polimerlerdir (126, 127). Kitosan hidrojellerin hazırlanması; iyonik, kovalent ve kovalent olmayan çeşitli çapraz bağlanma yöntemleriyle oluşturulmaktadır (128, 129). Hidrojin geçirgenliği, mekanik ile yüzey özellikleri ve biyoyumluluğu hidrojellerdeki su içeriği miktarından etkilenmektedir (126, 127).

Film: Kitosan filmler kitosan çözeltisinden yola çıkılarak çoğunlukla çözücü maddeyi uçurma yöntemiyle hazırlanır. Kurutma yöntemiyle, etüv yardımıyla, infrared kullanarak yapılmakta ayrıca da oda sıcaklığında 30-36 saat süreyle bekletilerek elde edilir (131). Kitosan filmler, çözeltinin birkaç dakika süreyle çapraz bağlayıcı çözeltide bekletilmesi ile çapraz bağlanmaktadır (130, 132).

Sünger: Süngerler, polimer dispersiyonları veya çözeltilerinin poröz yapının oluşması ve korunması için uygun şartlar altında kurutulması (liyofilizasyon) ile oluşan kserojeller (kuru jeller) olarak tanımlanabilir. Kitosan ile hazırlanan süngerler düşük toksisite, önemli mekanik özellikleri (135) ve içerdiği maddelerin biyorezorpsiyon kapasiteleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (135–137).

Tablet: Kitosan, tablet imalatında yardımcı madde olarak dolgu maddesi, dağıtıcı, bağlayıcı, kaydırıcı olarak ve kontrollü salım amacıyla kullanılmaktadır (139).

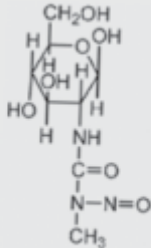
Mikropartiküllü Sistemler: Bu sistemlerin dozaj şekilleri, , farklı yapıdaki matrikslerin hazırlanması ile elde edilir ve boyutları birkaç nanometre ile birkaç yüz mikrometre arasında değişmektedir. Mikropartiküler sistemlerin yapılmasında kitosan

sıkça kullanılmaktadır. Kitosan mikrokürelerden etkin madde salınımını etkileyen parametreler arasında kitosanın molekül ağırlığı, yoğunluğu, mikrokürelerin herbirine yüklenen etkin madde miktarı, çapraz bağlanma oranı, kullanılan çapraz bağlayıcı ve ilaç- kitosan oranı olduğu bildirilmiştir (138).

2.7. Streptozotosin

Streptozotosin (STZ, 2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüredio)-D-Glukopiranoz), karsinojenik, antitümoral ve aynı zamanda geniş spektrumlu antibakteriyel etkiye sahiptir ve streptomyces achromogenes tarafından sentezlenir ¹⁰¹. Deneysel olarak kalıcı diyabetes mellitus oluşturmak için kullanılan farmakolojik preparatlardan biridir ¹⁰². Nötral pH'da hızla dekompanse olur ve pH:4-4.5'da stabildir. Çözeltisi, uygulamadan önce pH'sı 4 olan sitrat tamponu içinde hazırlanıp ışık görmeyecek şekilde hemen kullanılmalıdır. STZ, -20°C'de yine ışıktan korunarak saklanmalıdır ^{101,102}. (Tablo 2-6)

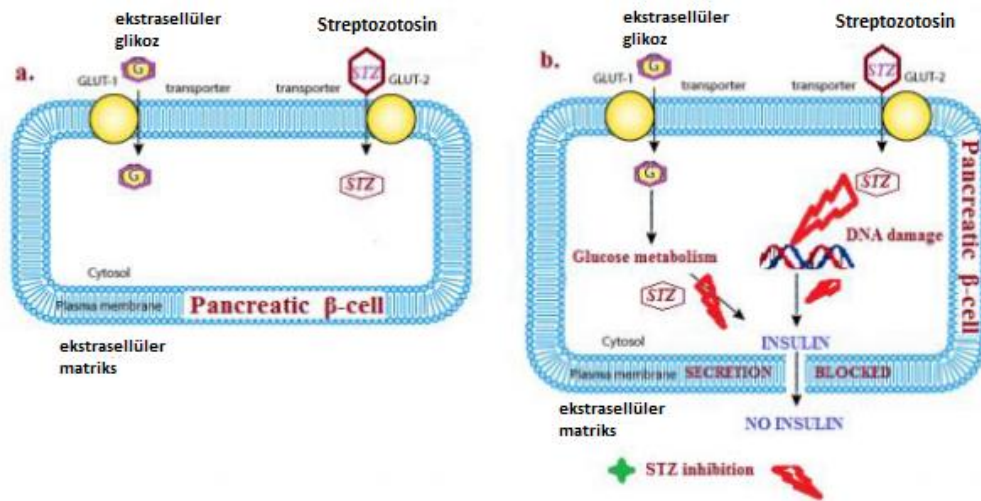
Tablo 2-7: Streptozotosinin Kimyasal Özellikleri ve Etki Mekanizması

	Streptozotosin
Kimyasal ad	2-Deoxy-2- ([(methylnitrosoamino)carbonyl]amino)-D-glucopyranose
Kimyasal formülü	 C ₈ H ₁₅ N ₃ O ₇
Stabil olduğu pH	4- 4,5
Saklanma koşulu	-20° C
Etki mekanizması	STZ'in hücre içinde nitrozüre gruplarının dekompozisyonu ile oluşan reaktif karbonyum iyonları DNA bazlarında alkilasyona neden olur

STZ, içerisinde çok miktarda glukoz molekülü içerir ve beta hücrelerinin içine girmesi GLUT2 sayesinde olur ¹⁰³. GLUT2 üretiminin azaldığı zamanlarda STZ'nin diyabetojenik etkisinin de doğru orantılı bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir ^{104,105}.

Pankreatik beta hücrelerinin glikoza olan ilişkisinin ortadan kaldırılması streptozotosinin başlıca etki mekanizmaları arasındadır ^{102,104}. Bu olayı kalıcı olarak beta hücrelerinin hasar görmesi ve kaybı takip eder. Bundan dolayı STZ uygulanmış sıçanlarda kan glukoz seviyesi 2 saat içerisinde artış yaşamakta ve 6 saatlik sürenin sonrasında da insülin seviyesi yükseldiği için hipoglisemi beklenmektedir. İlerleyen sürelerde ise insülin düzeyi düştüğü için sıçanlarda hiperglisemi görülür ve STZ'den kaynaklı diyabetojenik etkiler görülmeye başlanır ^{101,103}.

STZ'nin etkilemek istediği hücreler beta hücrelerindeki DNA molekülüdür. STZ'in hücrelerdeki nitrozüre grupları ile dekompozisyon oluşturması sonucunda reaktif halde bulunan karbonyum iyonları DNA'larda alkilasyon mekanizmasının harekete geçmesine sebebiyet vermektedir ^{106,107}. Böylelikle DNA molekülünün tamiri gerçekleşir ve bu süreçte görevli poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) hücrelerdeki önemli miktarlarda bulunan nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) kullanmaktadır. Sonrasında NAD depoları bitirilir ve ATP sayısının düşmesi sağlanmaktadır. Pankreas beta hücrelerinde gerçekleşen nekroz, hücresel halde bulunan enerji depolarının tüketimi ile oluşmaktadır ¹⁰³ (Şekil2-9).



Şekil 2-12: Streptozotosinin etki mekanizması ¹⁰⁸.

STZ, insülin kaynaklı tip I diyabet olarak adlandırılan ve insülininden bağımsız olmayan tip II diyabet modelleri oluşturulması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Tip I diyabet oluşturmak için genellikle yetişkin sıçanlarda i.v. yolla 40-60 mg/kg aralığındaki bir değerin tek doz kullanımı tercih edilmektedir ¹⁰¹.

Streptozotosinin i.p. ve s.c. kullanımı için de yine i.v. olarak kullanımına benzer doz aralıklarının kullanıldığı belirtilmiştir ^{101,109,110}. Ancak STZ'nin 40 mg/kg'ın altında kullanılan dozlarının i.p. uygulamalarda diyabetojenik bir etki yaratmadığı söylenmiştir ¹¹¹.

Yenidoğan hayvanlara doğumu takiben 1. Ve 2. günlerde uygulanan streptozotosin ile Tip II diyabet modeli oluşturulur. Böylelikle STZ bazlı β hücrelerinde meydana gelen ölüm ile hücrelerin rejenere olmasından dolayı tip II diyabet oluşumuna benzer bir tablo görüldüğü bulunmuştur. Portha ve ark. yenidoğan sıçanlara 100 mg/kg STZ uygulayarak bu yöntemin keşfedilmesini sağlamışlardır ¹¹².

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

Çalışmamızda 42 adet 340 ± 20 gram ağırlığında 14-16 haftalık Sprague Dawley soyu erkek sıçanlar kullanılmıştır:

- o Ketalar flakon (Ketamin HCl, Pfizer İlaçları Limited Şirketi, Türkiye)
- o Rompun flakon (Xylazin hidroklorid, Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Şirketi, Türkiye)
- o Steril ameliyat takımı
- o Povidon İyodin Çözeltisi (%10) (Kimpa İlaç Lab. Ve Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye)
- o Steril İnsulin Enjektörleri (BD Plastipak, Becton Dickinson S.A., Spain)
- o Steril enjektörler (5ml ve 10ml)
- o Serum Fizyolojik Solüsyonu %9
- o Formaldehid Çözeltisi (%10)
- o Hassas elektronik terazi (Shimadzu AX200, Shimadzu Corporation, Japan)
- o 5 mm çapında tek kullanımlık punch biyopsi (Kai Industries Co. Ltd, Japan)
- o Streptozotosin (U-9889) (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA)
- o Sodyum Sitrat Dihidrat (Sodium Citrate Dihydrate, Fisher Chemical, USA)
- o Kitosan (Chitosan, Adaga Gıda ve Danışmanlık Sanayi A.Ş.,Antalya, Türkiye)
- o Kan şekeri ölçüm cihazı (Glucodr Super Sensor Meter, All Medicus Co., Germany)
- o Mikrofüj tüpleri (Eppendorf Safe Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Germany)

3.2. Yöntem

Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının ameliyatları İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırmaları Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda, elde edilen kesitlerin histopatolojik incelemeleri İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı'nda yapılmıştır. Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri için, İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

3.2.1. Deney Hayvanlarının Seçilmesi

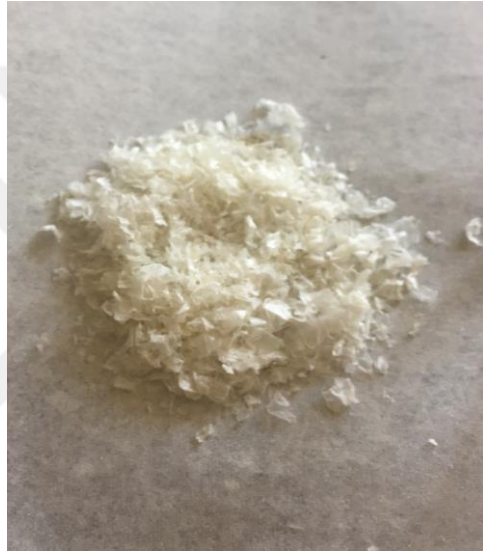
Çalışmamızda 42 adet 340 ± 20 gram ağırlığında 14-16 haftalık Sprague Dawley soyuna ait erkek sıçanlar kullanılmıştır. Dişi ratların menstural sikluslarına bağlı hormonal değişikliklerinin çalışma sonuçlarını etkilememesi adına erkek ratlar tercih edilmiştir. Deney hayvanları, deney boyunca 22 ± 1 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık periodu olan odada, bir metal kafes içinde 1 deney hayvanı olacak şekilde muhafaza edilmişlerdir. Denekler standart sıçan yemiyle ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir.

3.2.2. Deneysel Olarak Streptozotosin (STZ) ile Diyabet Oluşturulması

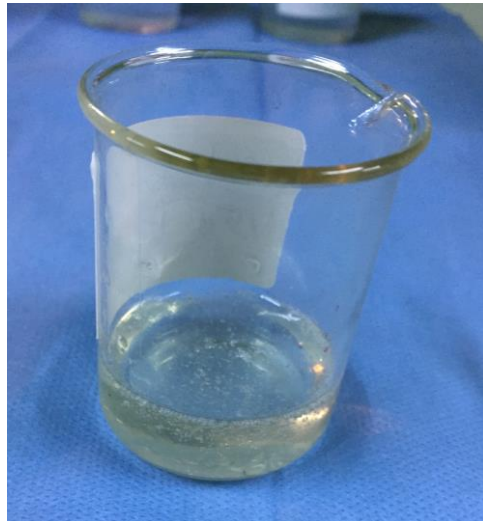
Deney hayvanlarına, diyabet oluşmasını sağlamak amacıyla 12 saat aç bırakıldıktan sonra streptozotosin uygulanmıştır. Deneysel olarak diyabet oluşturmak için kullanılan streptozotosin (STZ) (Sigma S0130-100 MG) soğuk zincir şartlarında temin edilip -20 °C' de muhafaza edilmiştir. Deneklerin her birinin ağırlıkları ölçülerek verilecek olan streptozotosin dozu hesaplanmıştır. 12 saat açlık sonrası sitrat tamponu (pH 4,5 de 0.1M) içerisinde eritilen streptozotosinden (STZ), diyabet oluşturulacak her hayvana 55 mg/kg olacak şekilde ayarlanarak intraperitoneal (i.p) olarak uygulanmıştır.

3.2.3. Kitosan Jel Hazırlanması

1 gram kitosan, % 1' lik 50 ml asetik asit çözeltisi içine eklendi. Hazırlanan karışım, kitosan parçacıkları tamamen çözününceye kadar yaklaşık bir saat boyunca karıştırıldı ve kitosan çözeltisi elde edildi. Çözeltinin ph'sı 4'e ayarlandı. Çözelti, içindeki hava kabarcıklarının giderilmesi ve sterilizasyonu için 1 gece UV ışık altında bırakıldı. Çözelti jel formunu aldıktan sonra ağzı kapalı olacak şekilde cam kavanozlara alınıp kullanıma uygun hale getirildi.



Şekil 3-1: Kitosan toz formu



Şekil 3-2: Kitosan jel formu

3.2.4. Cerrahi Yöntem

Çalışmada kullanılacak deney hayvanlarının operasyon öncesinde kilo ölçümü yapıldı ve verilecek anestezi miktarı belirlendi. 50 mg/kg Ketamin HCl ve 10mg/kg Xylazin HCl karışımının periton içine uygulanması ile genel anestezi sağlandı. Sıçanlar sırt üstü pozisyona getirilerek ağızları ekartörlerle açık hale getirildi. Tek seferlik kullanılan punch biyopsi ile hayvanların yanak mukozasında 5 mm çapında ve 1 mm derinliğinde yara oluşturuldu ve sonrasında sekonder iyileşmeye bırakıldı. Sıçanlar kontrol edildikten sonra tekrar kafeslere yerleştirildi.



Şekil 3-3: Punch biyopsi aleti ile yara oluşturulması

3.2.5. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada kullanılan 42 adet Sprague Dawley soyu erkek sıçan 3 ana grup ve cerrahi operasyonu takiben 2. ve 5. günlerde gerçekleştirilen sakrifikasyonlara göre düzenlenmiş toplam 6 alt gruba ayrıldı.

Tablo 3-1: Deneklerin Gruplara Göre Dağılımı

GRUPLAR	Sakrifikasyon Günü	
	2. Gün	5. Gün
Grup 1: Kontrol Grubu(K) n=10	n=5	n=5
Grup 2: Diyabet Grubu(D) n=16	n=8	n=8
Grup 3: Diyabet+Kitosan Grubu(DK) n=16	n=8	n=8

Grup 1: Kontrol Grubu(K). Bu grupta 10 adet deney hayvanı kullanıldı. Cerrahi operasyon sonrasında 2. günde sakrifikasyon 5 adet ve yine cerrahi operasyon sonrası 5. günde sakrifikasyon 5 adet hayvan olacak şekilde iki alt grup oluşturuldu.

Bu grupta bulunan hayvanlara, Diyabet(D) ve Diyabet+Kitosan (DK) gruplarında bulunan deney hayvanlarıyla aynı stresi oluşturmak için STZ yerine serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Hayvanların 12 saatlik açlık sürecinden sonra kuyruk venlerinden 0,05 ml kan alındı ve glukometre cihazıyla ölçüm gerçekleştirildi. Sıçanların kan şekerleri ölçüldükten sonra 250 mg/dl'nin altında olduğu görüldü. Cerrahi operasyonun yapılacağı güne kadar şeker ve kilo takipleri düzenli olarak yapıldı. Operasyon gününde punch biyopsi aleti, tek seferlik olacak şekilde kullanılarak yanak mukozasında yara oluşturuldu ve yara sekonder iyileşmeye bırakıldı. 2. günde sakrifiye edilecek 5 adet sıçanın ilk önce açlık kan şekerleri glukometre ile ölçüldü ve sonrasında sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi. Diğer alt grupta yer alan 5 sıçan ise 5. günde açlık kan şekerleri ölçüldükten sonra sakrifiye edildi. Sıçanların yanak mukozaları eksizyonel olarak çıkartılıp %10'luk formol çözeltisinin içine konuldu.

Grup 2: Diyabet Grubu(D). Cerrahi operasyondan 2 gün sonra 8 adet deney hayvanı, cerrahi operasyondan 5 gün sonra yine 8 adet deney hayvanı sakrifiye edilecek şekilde toplam 16 adet deney hayvanı kullanıldı.

Deney hayvanları 12 saat aç bırakıldıktan sonra kuyruk venlerinden 0,05 ml kan örneği alınarak diyabet oluşturmada önce normal kan şekerinde oldukları glukometre cihazıyla belirlendi. Sonrasında mikrofij tüplerinde hassas terazi ile 55mg/kg streptozotosin dozu ayarlandı. Her seferinde taze olarak hazırlanan sitrat tampon çözeltisinde streptozotosin homojen olacak şekilde çözüldükten sonra sıçanlara intraperitoneal olarak uygulandı. Sonrasında sıçanlarda oluşması beklenen ani hipoglisemi önlemek amacıyla ilk 24 saat içme sularına %5'lik glikoz çözeltisi ilave edildi. Streptozotosin enjekte edildikten 2 gün sonra aynı şekilde kuyruk venlerinden kan örneği alınarak kan şekeri ölçümü yapıldı. Sıçanların kan şekerinin 250mg/dl'den yüksek olduğu belirlenerek diyabet indüksiyonunun başarılı olduğu belirlendi. Ardından diyabet etkilerinin gelişmesi için sıçanlar 5 gün süreyle gözlem altında bekletildi. Her gün hayvanların kilo takibi gerçekleştirildi. Diyabet indüksiyonundan 1 hafta sonra cerrahi operasyon aşamasına geçildi ve yanak mukozasında yara oluşturuldu. Operasyondan 2 gün sonra ilk alt grupta yer alan 8 hayvan, glukometre ile açlık kan şekerlerinin ölçümleri yapıldıktan sonra sakrifiye edildi. Yanak mukozaları eksizyonel olarak çıkarıldıktan sonra %10'luk formol çözeltisi içine yerleştirildi. Operasyondan sonra 5. günde, ikinci alt gruptaki 8 hayvanın açlık kan şekerleri ölçüldü ve hayvanlar sakrifiye edildi. Sıçanların aynı şekilde yanak mukozaları çıkarıldı ve %10'luk formol çözeltisine koyuldu.

Grup 3: Diyabet+Kitosan Grubu (DK). Bu grupta iki alt gruptan oluşan toplam 16 deney hayvanı kullanıldı. Diğer ana gruplarda olduğu gibi sakrifikasyon zamanları cerrahi operasyon sonrası 2. ve 5. günler olup her iki alt grupta 8 deney hayvanı kullanıldı.

Deney hayvanlarının kan şekeri ölçümleri kuyruk venlerinden alınan 0,05ml kan örneği gerçekleştirildi. Bütün hayvanların kan şekeri düzeylerinin 250mg/dl'nin altında olduğu belirlendi. Her seferinde dozu 55 mg/kg olacak şekilde sitrat tamponda çözülerek taze hazırlanan streptozotosin sıçanlara enjekte edildi. İlk 24 saatte oluşması öngörülen ani hipoglisemik şokun engellenmesi için içme sularına %5'lik glikoz

çözültisi ilave edildi. Enjeksiyondan 2 gün sonra sıçanların kan şekeri düzeyleri yine kuyruk venlerinden alınan örneklerle belirlendi. Deney hayvanlarının kan şekerlerinin 250 mg/dl'nin üzerinde olduğu tespit edildi. Sonrasında diyabetik etkilerin gelişmesi için 5 gün süre ile takip edildi. Kilo takibine her gün devam edildi. 1 haftalık sürenin sonunda kuyruk venlerinden kan örneği alındı ve glukometre cihazı kullanılarak kan şekeri ölçümü yapıldı. Süreci takiben cerrahi operasyon aşamasına geçildi. Tek kullanımlık punch biyopsi aracı ile yanak mukozasında yara oluşturuldu. Uygun kıvamda hazırlanan kitosan jel kanama kontrolü yapıldıktan sonra ilgili yara bölgesine sürüldü. Operasyondan 2 gün sonra ilk alt grup açlık kan şekeri glukometre cihazı ile ölçülerek sakrifiye edildi. Sıçanların yanak mukozaları çıkartılıp %10'luk formol çözültisi içine yerleştirildi. İkinci alt grupta yer alan sıçanlar 5. günde açlık kan şekerleri ölçüldükten sonra sakrifiye edildi. Çıkarılan yanak mukozası örnekleri %10'luk formol çözültisine koyuldu.



Şekil 3-4: Yara bölgesine kitosan jel uygulanması

3.3. Histopatolojik İnceleme

Sakrifikasyonlar gerçekleştirildikten sonra deney hayvanlarının yanakları eksizyonel olarak çıkarıldı ve 1 hafta süreyle %10 luk tamponlanmış formalin solusyonunda fiksede edildi. Fiksasyondan sonra, ülser alanın en geniş çapından geçen kesitler alınarak rutin doku takibinden geçirildi ve parafin bloklar hazırlandı. Bu

bloklardan elde edilen 3 mikron kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eozin ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi. % hesaplamaları çekilen dijital fotoğraflar üzerinde “Olympus analySIS 5” (Tokyo-Japan) görüntü analiz sistemi kullanılarak yapıldı. İncelenen histopatolojik kriterler aşağıdaki tabloda verilmiştir;

Tablo 3-2: Histopatolojik Kriterler

HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME KRİTERLERİ				
	0	1	2	3
İltihap	Yok	Hafif	Orta	Ağır
Fibrosiz (ülser alanının)	Yok	% 1- 20 si	% 20- 60 ı	% 60 tan fazlası
Epitelizasyon (ülser alanının)	Yok	% 1- 20 si	% 20- 60 ı	% 60 tan fazlası
Nekroz	Yok	Var	----	----
Yabancı cisim reaksiyonu	Yok	Var	----	----

3.4. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Tukey HDS testi ve Tamhane’s T2 testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t test kullanıldı. Normal dağılım gösteren niceliksel verilerin grup içi karşılaştırmalarında Paired Sample t test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi, Fisher’s Exact test ve Fisher Freeman Halton test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları

Gruplar arasında 0.gün, 2.gün ve 7.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 9.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.027$; $p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun 9.gün kilo ortalaması, Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan Gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.040$; $p_2:0.039$; $p<0.05$). Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan grupları arasında 9.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 7.gün ve 9.gün kilo ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Diabet grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Diabet+Kitosan grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 4-1: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi

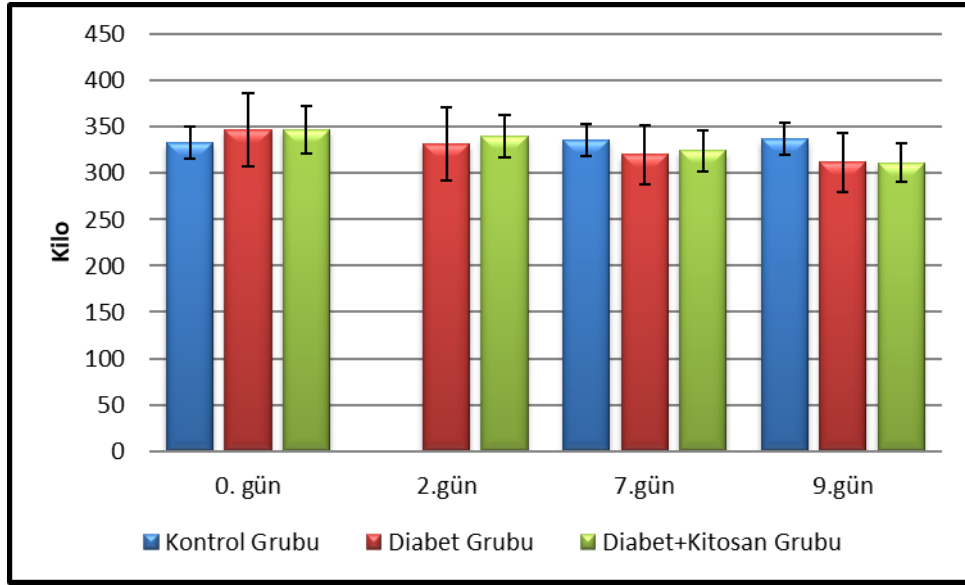
Kilo	Kontrol (n=10)	Grubu	Diabet Grubu (n=16)	Diabet+Kitosan Grubu (n=16)	Total (n=32)	p
	Ort±SS		Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	332,60±17,54		346,88±39,09	347,19±25,64	347,03±32,52	¹ 0,427
2.gün	-		331,75±39,15	339,94±22,5	335,84±31,68	² 0,474
7.gün	336,30±17,22		319,94±31,96	324,31±22,45	322,13±27,26	¹ 0,288
9.gün	337,0±17,13		311,56±31,75	311,44±20,75	311,5±26,38	¹ 0,027*
0.gün-2.gün p^3	-		0,033*	0,000*		
0.gün-7.gün p^3	0,000*		0,000*	0,000*		
0.gün-9.gün p^3	0,000*		0,000*	0,000*		

¹Oneway ANOVA Test

²Student t Test

³Paired Samples t test

* $p<0.05$



Şekil 4-1: Gruplar arası 0-2-7-9. gün vücut ağırlığı karşılaştırması

Gruplar arasında 0.gün, 2.gün ve 7.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 9.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.027$; $p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun 9.gün kilo ortalaması, Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan Gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.040$; $p_2:0.039$; $p<0.05$). Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan grupları arasında 9.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 7.gün ve 9.gün kilo ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

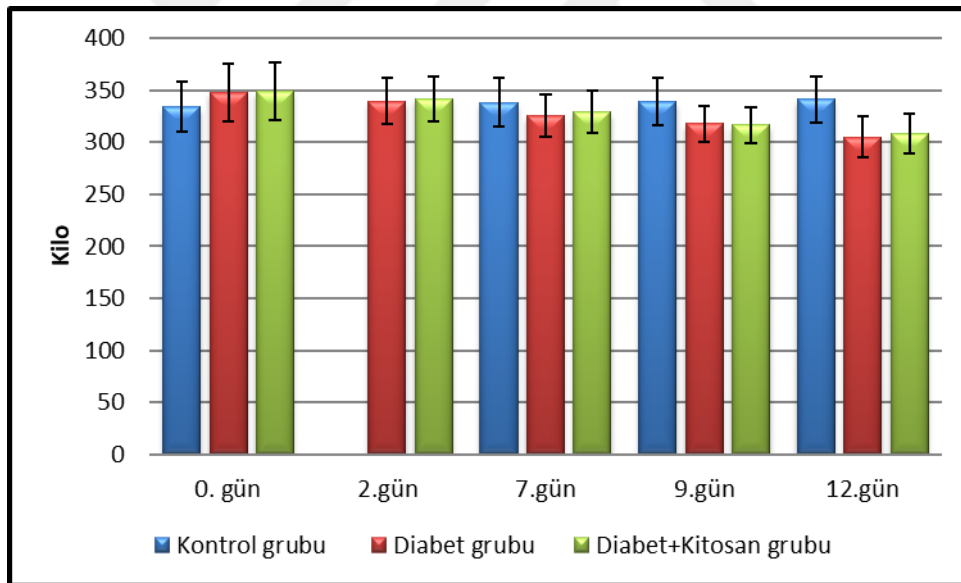
Diabet grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Diabet+Kitosan grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 4-2: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi

Kilo	Kontrol grubu (n=5)	Diabet grubu (n=8)	Diabet+Kitosan grubu (n=8)	Total (n=21)	p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	334±23,89	348,38±27,74	348,5±23,42	345±24,8	¹ 0,548
2.gün	-	339,50±21,88	341,75±18,83	340,62±19,75	² 0,829
7.gün	338,4±23,06	325,38±20	329,13±19,75	329,9±20,23	¹ 0,548
9.gün	339±23,01	317,75±17,33	316,38±16,34	322,29±19,92	¹ 0,093
12.gün	341,2±22,52	304,88±19,48	308,13±14,42	314,76±23,21	¹ 0,006*
0.gün-2.gün p ³	-	0,005*	0,030*		
0.gün-7.gün p ³	0,007*	0,001*	0,003*		
0.gün-9.gün p ³	0,007*	0,001*	0,003*		
0.gün-12.gün p ³	0,003*	0,005*	0,002*		

¹Oneway ANOVA Test ²Student t Test ³Paired Samples t test *p<0.05



Şekil 4-2: Gruplar arası 0-2-7-9-12. gün vücut ağırlığı karşılaştırması

Gruplar arasında 0.gün, 2.gün, 7.gün ve 9.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 12.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.006$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun kilo ortalamaları, Diabet ve

Diabet+Kitosan gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.008$; $p_2:0.015$; $p<0.05$). Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında 12.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 7.gün, 9.gün ve 12.gün kilo ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Diabet grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 2.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Diabet+Kitosan grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 2.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.2. Açlık Kan Şekeri Bulguları

Gruplar arasında 0.gün ve 2.gün açlık kan şekeri(AKŞ) ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 7.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun 7.gün açlık kan şekeri ortalaması, Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan Gruplarından anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p_1:0.000$; $p_2:0.000$; $p<0.05$). Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan grupları arasında 7.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 9.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun 9.gün açlık kan şekeri ortalaması, Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan Gruplarından anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p_1:0.000$; $p_2:0.000$; $p<0.05$). Diabet Grubu ve Diabet+Kitosan grupları arasında 9.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 4-3: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 2.gün, 7.gün ve 9.gün açlık kan şekeri düzeylerinin değerlendirilmesi

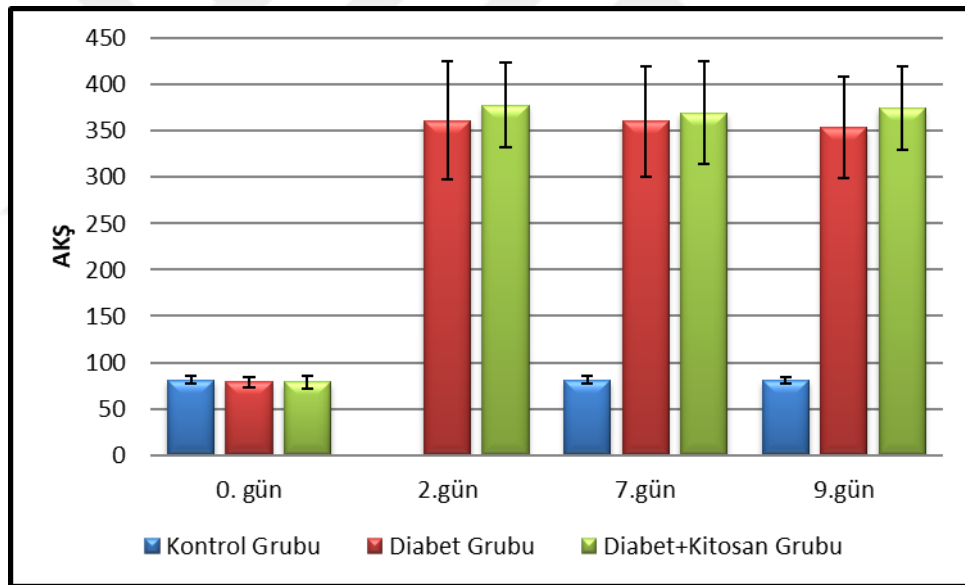
AKŞ	Kontrol Grubu (n=10)	Diabet Grubu (n=16)	Diabet+Kitosan Grubu (n=16)	Total (n=32)	p ¹
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	81,20±4,24	78,75±5,25	78,88±7,1	78,81±6,14	¹ 0,534
2.gün	-	361,19±63,73	377,88±45,97	369,53±55,32	² 0,402
7.gün	81,10±3,72	360,31±59,32	369,25±55,61	364,78±56,74	¹ 0,000*
9.gün	80,70±2,91	353,5±54,45	374,63±44,68	364,06±50,16	¹ 0,000*
0.gün-2.gün p ³	-	0,000*	0,000*		
0.gün-7.gün p ³	0,876	0,000*	0,000*		
0.gün-9.gün p ³	0,551	0,000*	0,000*		

¹Oneway ANOVA Test

²Student t Test

³Paired Samples t test

*p<0.05



Şekil 4-3: Gruplar arasında 0-2-7-9 gün AKŞ karşılaştırması

Gruplar arasında 0.gün ve 2.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 7.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun açlık kan şekeri ortalamaları, Diabet ve Diabet+Kitosan gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur

($p:0.000$; $p<0.05$). Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında 7.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 9.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun açlık kan şekeri ortalamaları, Diabet ve Diabet+Kitosan gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p:0.000$; $p<0.05$). Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında 9.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 12.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun açlık kan şekeri ortalamaları, Diabet ve Diabet+Kitosan gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p:0.000$; $p<0.05$). Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında 12.gün açlık kan şekeri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamasına göre 7.gün, 9.gün ve 12.gün AKŞ ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$).

Diabet grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamasına göre 2.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün açlık kan şekeri ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Diabet+Kitosan grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamasına göre 2.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün açlık kan şekeri ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 4-4: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 7.gün, 9.gün ve 12.gün açlık kan şekeri düzeylerinin değerlendirilmesi

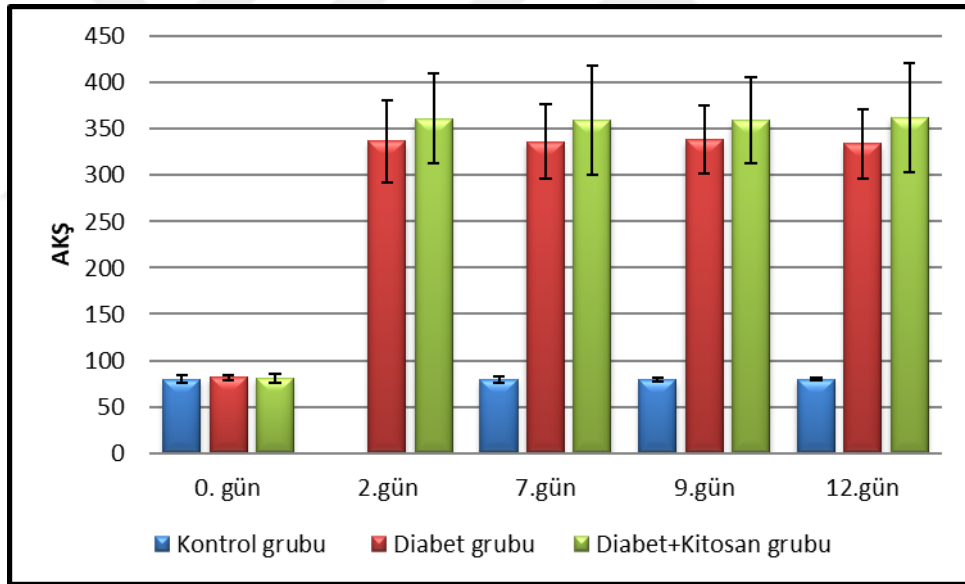
AKŞ	Kontrol grubu (n=5)	Diabet grubu (n=8)	Diabet+Kitosan grubu (n=8)	Total (n=21)	p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	79,4±4,28	81,63±3,07	81,25±4,83	80,95±3,99	¹ 0,622
2.gün	-	336,88±44,59	361,38±48,18	349,12±46,60	² 0,309
7.gün	78,8±3,42	336,38±39,67	359,63±59,26	283,9±125,27	² 0,000*
9.gün	79±1,87	338,13±36,52	359±46,76	284,38±123,13	² 0,000*
12.gün	79,6±1,67	333,88±37,49	362,13±59,52	284,1±124,96	² 0,000*
0.gün-2.gün p^3	-	0,000*	0,000*		
0.gün-7.gün p^2	0,529	0,000*	0,000*		
0.gün-9.gün p^2	0,772	0,000*	0,000*		
0.gün-12.gün p^2	0,906	0,000*	0,000*		

¹Oneway ANOVA Test

²Student t Test

³Paired Samples t test

* $p < 0.05$



Şekil 4-4: Gruplar arasında 0-2-7-9-12. gün AKŞ karşılaştırması

4.3. Histopatolojik Bulgular

Gruplar arasında 2. gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Farklılık Kontrol ve Diabet grubu arasında saptanmıştır ($p:0.001$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında 2. gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 5.gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubu ile Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında farklılık saptanmıştır ($p:0.001$; $p<0.05$). Diabet grubu ile Diabet+Kitosan grubu arasında farklılık saptanmıştır ($p:0.001$; $p<0.05$).

Gruplar arasında 2.gün nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). 2.günde Kontrol grubunun %80'inde, Diabet Grubunun %100'ünde ve Diabet+Kitosan grubunun %100'ünde nekroz görülmüştür.

Gruplar arasında 5.gün nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). 5.günde Kontrol grubunun %80'inde, Diabet Grubunun %87.5'inde ve Diabet+Kitosan grubunun %100'ünde nekroz görülmüştür.

Gruplar arasında 2.gün fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 5.gün fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Farklılık Kontrol ve Diabet+Kitosan grubu arasında saptanmıştır ($p:0.007$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında 5.gün fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 2.gün epitel rejenerasyonu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubu ile Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında farklılık saptanmıştır ($p:0.007$; $p<0.05$). Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında 2.gün epitel rejenerasyonu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 5.gün epitel rejenerasyonu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubu ile Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında farklılık saptanmıştır ($p_1:0.032$; $p_2:0.007$; $p<0.05$). Diabet ve Diabet+Kitosan grupları arasında 5.gün epitel rejenerasyonu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 4-5: Gruplar arasında 2.gün ve 5.gün nekroz varlığı, iltihap şiddeti, fibrozis düzeyleri, epitel rejenerasyon düzeyleri ve yabancı cisim varlığının değerlendirilmesi

			Kontrol grubu	Diabet grubu	Diabet+Kitosan grubu	Total	p
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
İltihap	2.gün	Hafif	1 (%20)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%4,8)	¹ 0,007*
		Orta	4 (%80)	0 (%0)	3 (%37,5)	7 (%33,3)	
		Şiddetli	0 (%0)	8 (%100)	5 (%62,5)	13 (%61,9)	
	5.gün	Hafif	5 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	5 (%23,8)	¹ 0,000*
		Orta	0 (%0)	1 (%12,5)	8 (%100)	9 (%42,9)	
		Şiddetli	0 (%0)	7 (%87,5)	0 (%0)	7 (%33,3)	
Nekroz	2.gün	Yok	1 (%20)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%4,8)	² 0,238
		Var	4 (%80)	8 (%100)	8 (%100)	20 (%95,2)	
	5.gün	Yok	1 (%20)	1 (%12,5)	0 (%0)	2 (%9,5)	² 0,695
		Var	4 (%80)	7 (%87,5)	8 (%100)	19 (%90,5)	
Fibrozis	2.gün	Yok	1 (%20)	7 (%87,5)	6 (%75)	14 (%66,7)	² 0,055
		Ülser alanının %1-%20si	4 (%80)	1 (%12,5)	2 (%25)	7 (%33,3)	
	5.gün	Ülser alanının %1-%20si	1 (%20)	4 (%50)	8 (%100)	13 (%61,9)	² 0,010*
		Ülser alanının %20-%60ı	4 (%80)	4 (%50)	0 (%0)	8 (%38,1)	
Epitel rejenerasyonu	2.gün	Yok	1 (%20)	8 (%100)	8 (%100)	17 (%81)	² 0,001*
		Ülser alanının %1-%20si	4 (%80)	0 (%0)	0 (%0)	4 (%19)	
	5.gün	Yok	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	1 (%4,8)	¹ 0,011*
		Ülser alanının %1-%20si	1 (%20)	7 (%87,5)	7 (%87,5)	15 (%71,4)	
		Ülser alanının %20-%60ı	4 (%80)	1 (%12,5)	0 (%0)	5 (%23,8)	
	2.gün	Yok	5 (%100)	8 (%100)	8 (%100)	21 (%100)	-
Yabancı cisim reaksiyonu		Var	-	-	-	-	
	5.gün	Yok	5 (%100)	8 (%100)	8 (%100)	21 (%100)	-
		Var	-	-	-	-	

¹Ki-Kare Test

²Fisher Freeman Halton Test * $p<0.05$

Kontrol grubunda;

2.günde orta düzeyde iltihap görülme oranı, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

2.gün ve 5.gün arasında nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

2.günde fibrozisi ülser alanının %1-%20si olma oranı, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

2.günde epitel rejenerasyonu ülser alanının %1-%20si olma oranı, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Diabet grubunda;

2.gün ve 5.gün arasında iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

2.gün ve 5.gün arasında nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

2.günde fibrozisi ülser alanının %1-%20'sisi ve ülser alanının %20-%60'ı olma oranları, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

2.günde epitel rejenerasyonu ülser alanının %1-%20'sisi ve ülser alanının %20-%60'ı olma oranları, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Diabet+Kitosan grubunda;

2.günde şiddetli düzeyde iltihap görülme oranı, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

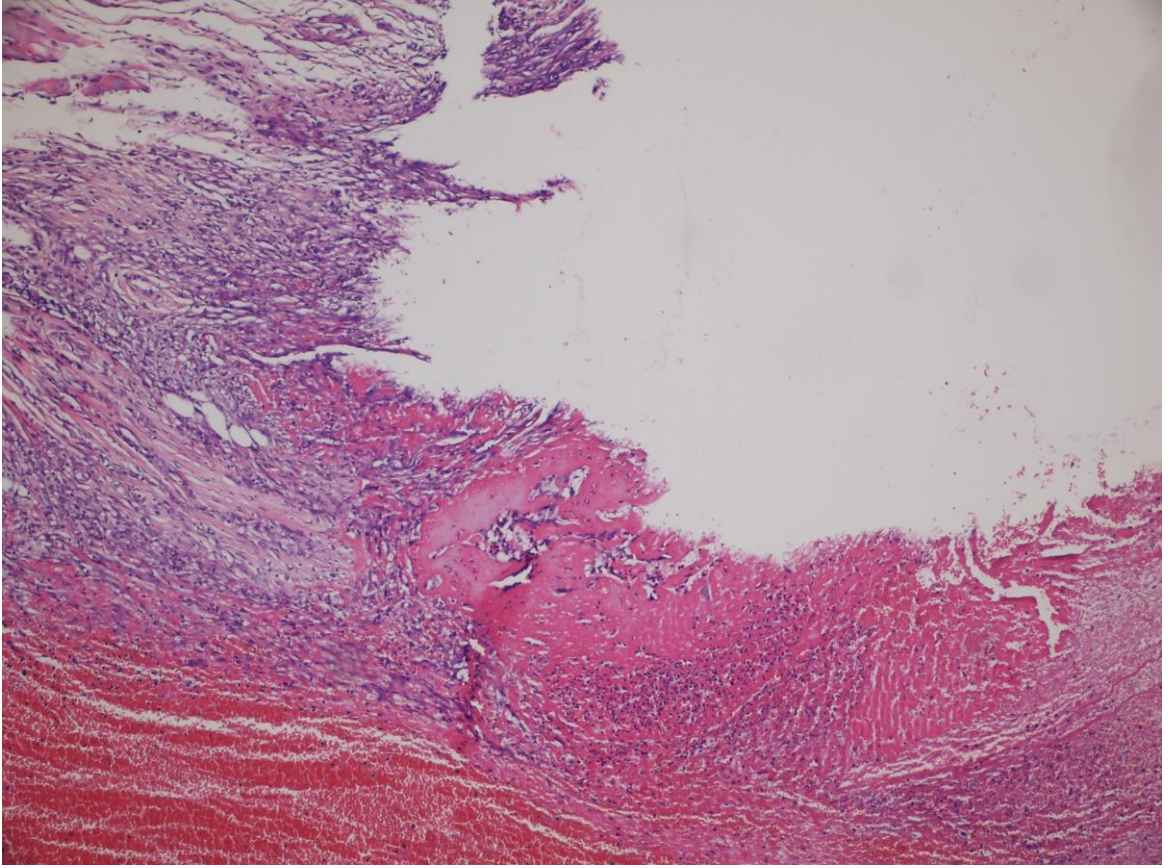
2.günde fibrozisi ülser alanının %1-%20si olma oranı, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

2.günde epitel rejenerasyonu ülser alanının %1-%20si olma oranı, 5.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

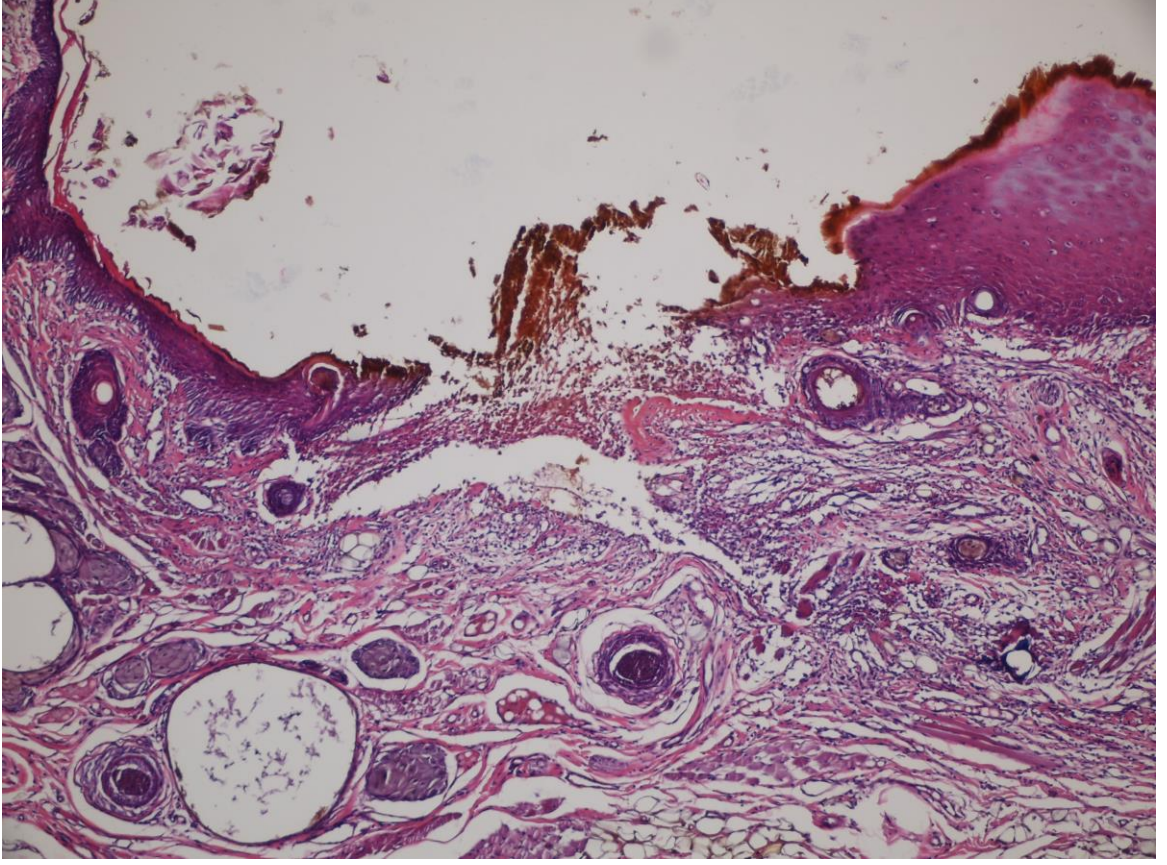
Tablo 4-6: Gruplarda ayrı ayrı 2.gün ve 5.gün arasında nekroz varlığı, iltihap şiddeti, fibrozis düzeyleri, epitel rejenerasyon düzeyleri ve yabancı cisim varlığının değerlendirilmesi

			2.gün n (%)	5.gün n (%)	p
Kontrol grubu	İltihap	Hafif	1 (%20)	5 (%100)	¹ 0,048*
		Orta	4 (%80)	0 (%0)	
	Nekroz	Yok	1 (%20)	1 (%20)	¹ 1,000
		Var	4 (%80)	4 (%80)	
	Fibrozis	Yok	1 (%20)	0 (%0)	² 0,048*
		Ülser alanının %1-%20si	4 (%80)	1 (%20)	
		Ülser alanının %20-%60ı	0 (%0)	4 (%80)	
	Epitel rejenerasyonu	Yok	1 (%20)	0 (%0)	² 0,048*
		Ülser alanının %1-%20si	4 (%80)	1 (%20)	
		Ülser alanının %20-%60ı	0 (%0)	4 (%80)	
	Yabancı cisim reaksiyonu	Yok	5 (%100)	5 (%100)	—
		Var	-	-	
Diabet grubu	İltihap	Orta	0 (%0)	1 (%12,5)	¹ 1,000
		Şiddetli	8 (%100)	7 (%87,5)	
	Nekroz	Yok	0 (%0)	1 (%12,5)	¹ 1,000
		Var	8 (%100)	7 (%87,5)	
	Fibrozis	Yok	7 (%87,5)	0 (%0)	² 0,001*
		Ülser alanının %1-%20si	1 (%12,5)	4 (%50)	
		Ülser alanının %20-%60ı	0 (%0)	4 (%50)	
	Epitel rejenerasyonu	Yok	8 (%100)	0 (%0)	² 0,000*
		Ülser alanının %1-%20si	0 (%0)	7 (%87,5)	
		Ülser alanının %20-%60ı	0 (%0)	1 (%12,5)	
	Yabancı cisim reaksiyonu	Yok	8 (%100)	8 (%100)	—
		Var	-	-	
Diabet+Kitosan grubu	İltihap	Orta	3 (%37,5)	8 (%100)	¹ 0,026*
		Şiddetli	5 (%62,5)	0 (%0)	
	Nekroz	Yok	-	-	—
		Var	8 (%100)	8 (%100)	
	Fibrozis	Yok	6 (%75)	0 (%0)	¹ 0,007*
		Ülser alanının %1-%20si	2 (%25)	8 (%100)	
	Epitel rejenerasyonu	Yok	8 (%100)	1 (%12,5)	² 0,001*
		Ülser alanının %1-%20si	0 (%0)	7 (%87,5)	
	Yabancı cisim reaksiyonu	Yok	8 (%100)	8 (%100)	—
		Var	-	-	

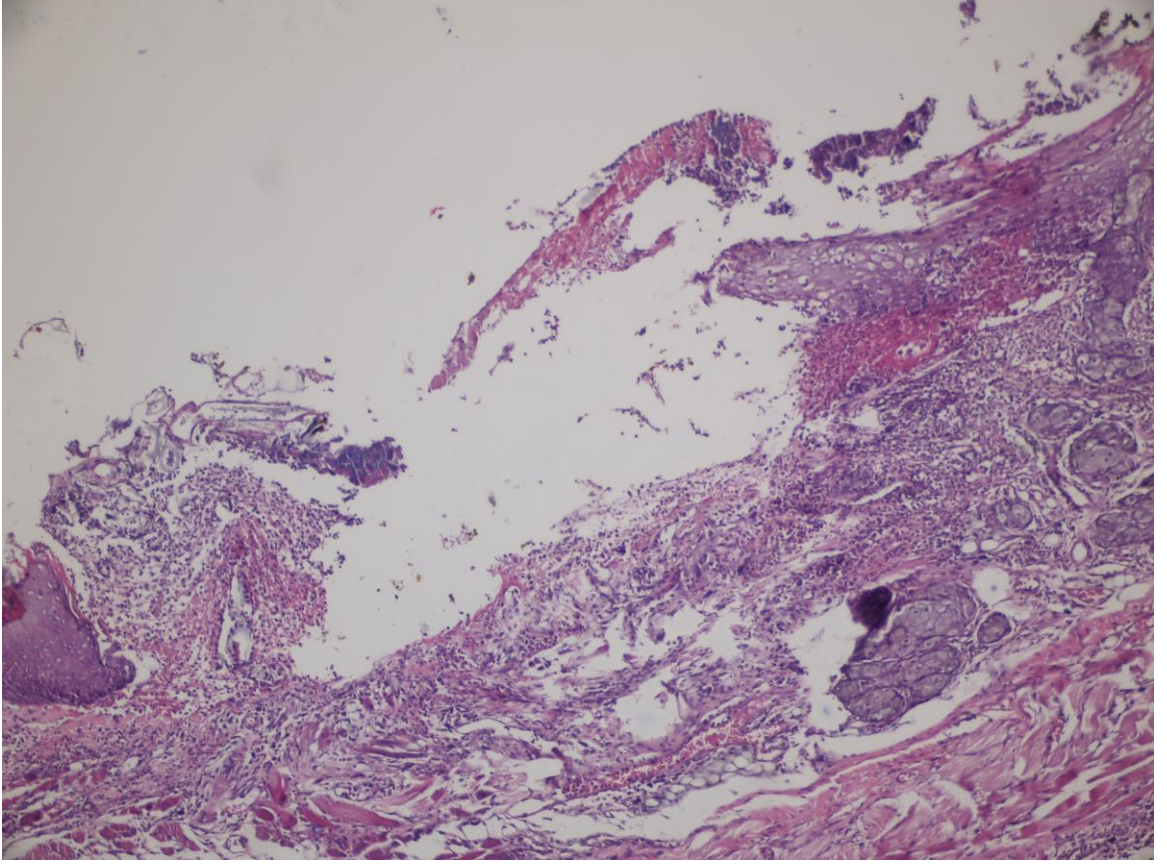
4.4. Işık Mikroskobu Değerlendirmeleri



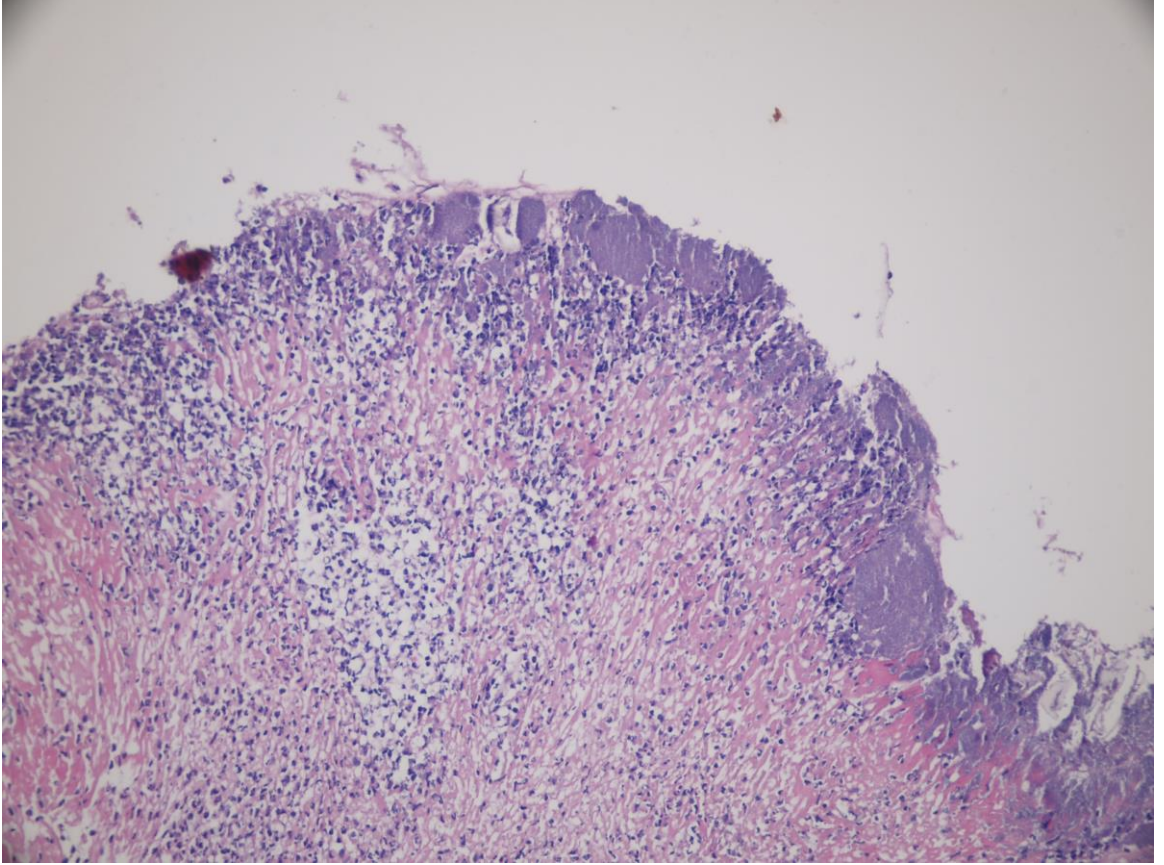
Şekil 4-5: 2. gün Kontrol grubunda, yüzeyi örten çok katlı yassı epitelyum geniş alanlarda ortadan kalkmıştır. Bu alanları eksuda ve debris örtmektedir. Bunların altında, kanama alanları ile nötrofil polimorf, lenfosit ve az sayıda plazma hücresi infiltrasyonu içeren liften zengin bağ dokusu vardır (H&E X100).



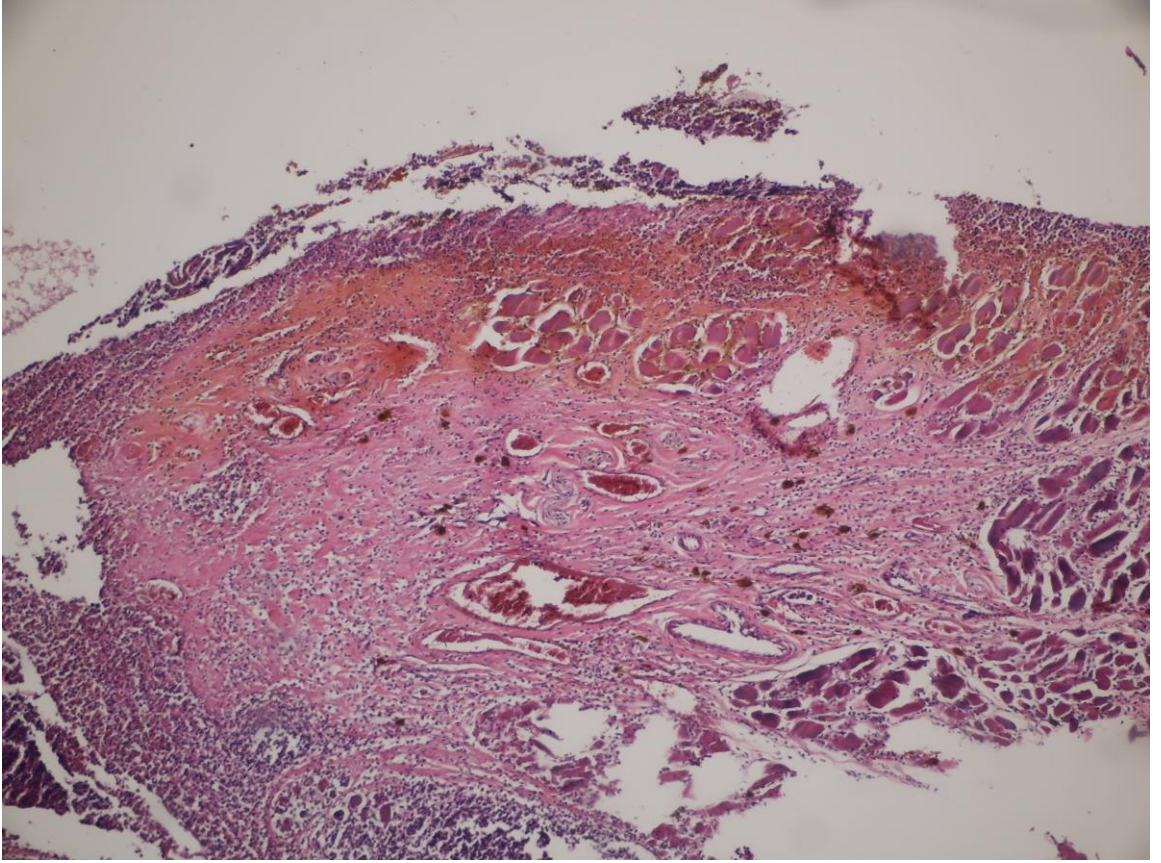
Şekil 4-6: 5. gün Kontrol grubunda, yüzey epitelinin yara kenarlarından rejenere olarak ülser alanını daralttığı izlenmektedir. İkinci gün grubuna göre daha az iltihapsal hücre infiltrasyonu görülmektedir (H&E X100).



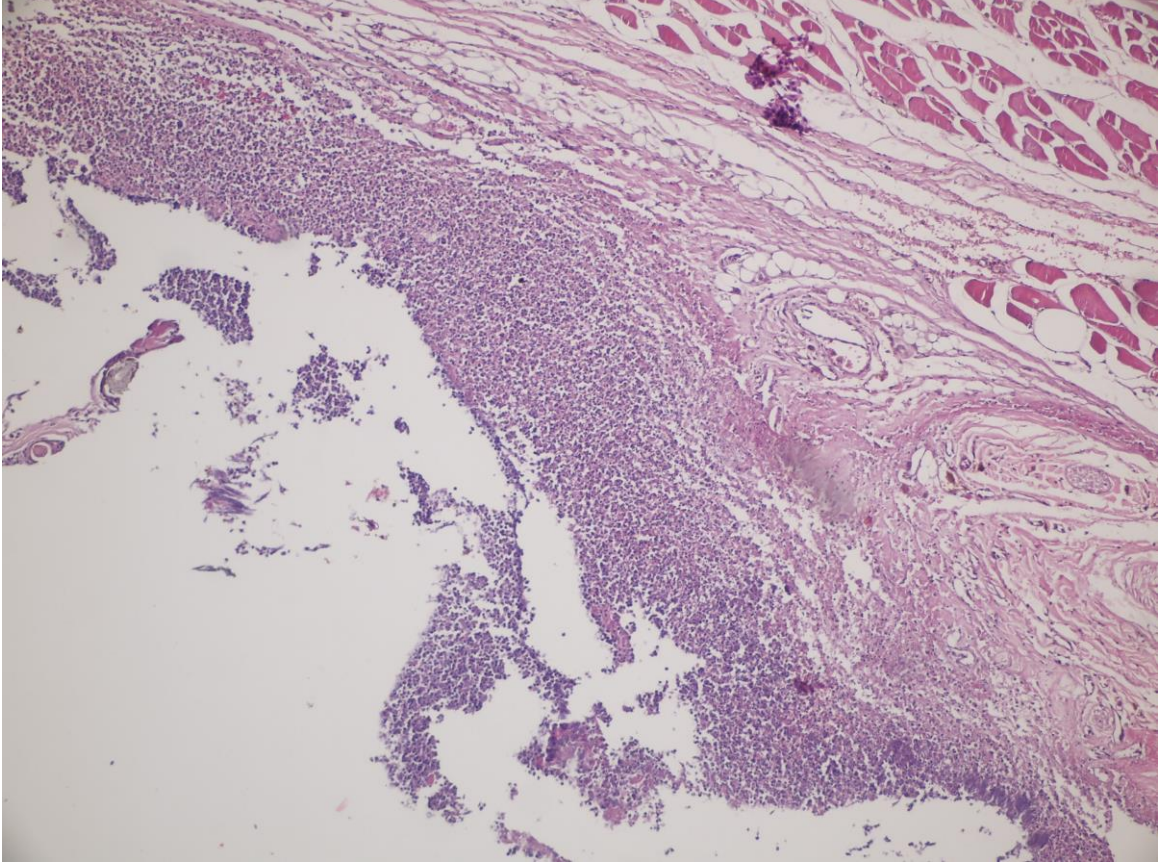
Şekil 4-7: 2. gün Diabet grubunda yüzey epiteli geniş bir alanda izlenememektedir. Bu bölgeler eksuda, debris, fibrin toplulukları ile örtülüdür. Altındaki bağ dokusunda yoğun iltihap hücresi infiltrasyonu saptanmaktadır (H&E X100).



Şekil 4-8: 5. gün Diabet grubunda yüzeydeki ülser alanının 2. gün diabet grubuna oranla minimal daralma gösterdiği ancak yine geniş bir alan halinde eksuda ve debris ile örtülü olduğu saptanmaktadır. Derinde yoğun iltihap hücresi infiltrasyonu ve kanama alanları içeren bağ dokusu vardır (H&E X 100).



Şekil 4-9: 2. gün Diabet + Kitosan Grubunda yüzeyi örten çok katlı yassı epitel geniş alanlarda ortadan kalkmıştır ve buraları eksuda, debris ve yer yer mikroorganizma kolonileri örtmektedir. Bunların altında yoğun iltiap hücresi infiltrasyonu içeren gevşek yapıda bağ dokusu vardır (H&E X 200).



Şekil 4-10: 5. gün Diabet + Kitosan Grubunda ülser alan genişliği 2 gün diabet + kitosan grubundan minimal olarak daha küçük görülmektedir. Altında yoğun iltihap hücresi infiltrasyonu vardır (H&E X100).

5. TARTIŞMA

Diyabet dünya nüfusunun önemli sayılabilecek bir kısmını etkileyen kronik metabolik bir rahatsızlıktır. Vücudun hiç insülin üretmemesi, yeterli miktarda insülin üretememesi ya da insülini tam olarak kullanamamasından kaynaklanan, hiperglisemiye neden olan; glikoz, yağ ve protein metabolizmasındaki bozuklukla karakterize bir hastalıktır ^{46,51,75}. Bu hastalık yaşam boyu sürececek bir gözlem ve tedavi gerektirir. Ayrıca akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini azaltır ^{57,65}. Diyabetin sebep olduğu önemli klinik tablolardan biri de yara iyileşmesini olumsuz şekilde etkilemesidir. Diyabet, hiperglisemi ve vasküler yetmezlik, nefropati ve nöropati gibi uzun dönem komplikasyonlarından dolayı yara iyileşme sürecinin bozulmasına neden olmaktadır ^{35,39,51,73}.

Yara iyileşmesi; fibroblastlar, endotelial hücreler, makrofajlar ve plateletler gibi çok sayıda hücreyi içeren, ciltte ve mukozada bariyer oluşmasını amaçlayan karmaşık bir süreçtir ve esas olarak birbiriyle ilişkili 4 evreden oluşur ⁴. Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olarak adlandırılan bu 4 evrede olaylar, belli bir düzen içinde olmaksızın sınırları kesin olarak birbirinden ayıramayacak şekilde gerçekleşir. Yara iyileşmesi, hemostaz ile başlar ve polimorfonükleer hücreler ve makrofajlar gibi çeşitli inflamatuvar hücreler bu erken yara iyileşmesi döneminde kilit rol oynarlar ^{4,5,30,113}. İnflamasyon evresi yaralanmadan 48 saat sonraya kadar sürebilir ve bu süreçte yara, hipoksi yani iskemi durumu ile karakterizedir. Bakteriler, nötrofil ve trombositlerin sayısı yarada oldukça fazladır ^{3,17}. Daha sonraki basamaklarda keratinositler epitelizasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunu sağlamak için yara kenarına doğru göç ederler. Yara iyileşmesindeki bir diğer önemli basamaksa dokulara kan akımı ve oksijenin sağlanması için gerekli olan angiogenezdır ¹¹⁴.

Ağız boşluğundaki yara iyileşmesi ise, ortamın sıcak ve nemli olması ayrıca ortamda bol miktarda bakteri bulunması nedeniyle biraz daha farklıdır ¹⁸. Bakteriler ürettikleri enzim ve toksinler yoluyla yara iyileşmesine olumsuz etki ederler ve alınan yiyeceklerle birleşerek biyofilm oluşturabilirler. Oluşan bu durum süperenfeksiyon riskini de artırabilir. Ayrıca konuşma, çiğneme gibi fizyolojik fonksiyonlar, ağız içindeki yumuşak dokularda gerilme ve baskı kuvvetleri oluşmasına sebep olur. Bu kuvvetler yara kenarlarının birbirinden uzaklaşmasına sebep olarak iyileşmeyi olumsuz

yönde etkileyebilirler¹⁹. Ayrıca ağız boşluğunda yara iyileşmesinin farklı olmasının bir sebebi de deri ve mukoza fibroblastları arasında fenotipik farklılıkların görülebilmesidir. Bu durum genellikle palatinal mukozadan daha farklı bir yapıya sahip olan bukkal mukoza için geçerlidir. Bukkal mukoza palatinala kıyasla daha ince bir epitel tabakasına sahiptir¹¹⁵.

Biz de bu amaçla deneysel olarak oluşturduğumuz diyabetik sıçanlarda kitosanın oral mukozadaki yara iyileşmesine olan etkilerini inceledik. Ratların bukkal mukozası üzerinde oluşturulan yara defektinin boyutu hakkında görüş birliği bulunmamaktadır. Zhu ve ark., ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada 3 mm çapında defekt oluşturmuşlardır¹¹⁶.

Fahim ve ark. karbonatlı içeceklerin oral epiteldeki yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, sıçanların sol yanak içi bukkal mukozalarında 3mm çapında yara meydana getirmişlerdir¹¹⁷.

Kozlovosky ve ark.¹¹⁸, Maeda ve ark.¹¹⁹ ise ratlarda 5 mm çapında defekt oluşturmayı uygun bulmuşlardır.

Logan ve ark.¹²⁰ yaptıkları çalışmalarında ise, histopatolojik açıdan doğru sonuçların alınabilmesi için oral mukozada yeterli büyüklükte dokuların alınması gerektiğini vurgulamışlardır. Biz de çalışmamızda 5 mm çapında tek kullanımlık biyopsi punch ile sıçanların bukkal mukozalarında yara oluşturmayı uygun bulduk.

Deneysel hayvan modelleri oluşturulurken rat, tavşan, fare gibi sıklıkla kemirgen hayvanlar tercih edilmektedir. Yapılan literatür incelemelerinde de yara iyileşmesinin incelendiği çalışmalarda genellikle kemirgen hayvanların, daha sık olarak da sıçanların tercih edildiği görülmektedir. Bir çok araştırmada da, deney modeli olarak ratların oral dokularının kullanıldığı görülmüştür¹²¹⁻¹²⁴. Çalışmamızda, dişi ratların menstural sikluslarına bağlı olarak oluşan hormonal değişimlerinin araştırmada yara iyileşmesini etkileyebileceği düşünülerek erkek ratlar tercih sebebi olmuştur. Ratların, yeterli sayıda temin edilebilmesi ve bakımının kolay olması, maliyetinin daha az olması diğer deney hayvanları yerine tercih edilmesindeki sebeplerdir. Ayrıca cerrahi müdahalenin ve doku örneklerinin hazırlanmasının daha kolay olması gibi nedenlerle de ratlar tercih edilmiştir^{121,122,124}.

Çalışmamızda biyomateryal olarak kullandığımız kitosan, kitin türevidir ama kitine göre daha reaktif bir materyaldir. Kitosanın toz, film, lif ve jel gibi birçok formu bulunmakta ve piyasada kullanılmaktadır. Kitosanın yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin yanında ayrıca hemostatik, analjezik ve antimikrobiyal etkileri de mevcuttur ¹²⁵⁻¹²⁸. Biz de çalışmamızda kitosanın bu özelliklerini göz önünde bulundurarak ayrıca kullanım kolaylığı sağlaması açısından jel formunu tercih ettik.

Diyabetik yaraların tedavisindeki zorlukların üstesinden gelebilmek, diyabetin patofizyolojisini anlamak amacıyla, tedavi olanaklarını değerlendirmek için deney hayvan modelleri oluşturulmuştur ve çok çeşitli deneysel diyabet modelleri günümüzde mevcuttur. En çok tercih edilen streptozotosin veya alloxan gibi ilaçların kullanıldığı yöntemlerdir ¹²⁹. Alloxan çoğunlukla insüline bağımlı olan tip I diyabet modelinde tercih edilmektedir. Alloxan sayesinde gerçekleştirilen diyabette, ketozis sıklığı ve mortalite seviyesi oldukça yüksektir ve pankreas rejenerasyonunun bir sonucu olarak hiperglisemi tekrar oluşabilir ^{104,129}. STZ, insüline bağımlı olan tip I ve insüline bağımlı olmayan tip II diyabet modelleri elde etmek için sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır ¹⁰³. STZ'nin diyabet oluşturmak için uygulanan doz aralığı alloxaninkine kadar dar değildir. Tip I diyabetin deneysel olarak sağlanması için sıçanlarda i.v. olarak tek doz için 40-60 mg/kg arasındaki bir değer uygulanması tercih edilebildiği gibi daha geniş aralıktaki dozlar da (35-80 mg/kg) tercih edilmektedir ^{101-103,106}. STZ'nin i.p. ve s.c. olarak kullanımı için de i.v. kullanımıyla benzer doz aralıklarından söz edilir. Biz de çalışmamızda literatürlerle uyumlu olacak şekilde pH=4.5, 0.1 M sitrat tamponda çözünmüş 55mg/kg streptozotosini tek doz intraperitoneal olarak deney hayvanlarına uyguladık. STZ enjekte edilen hayvanlardaki diyabet oluşumunu belirlemek için uygulamadan 48 saat sonra, kuyruk veninden alınan kan ile kan-glukoz düzeylerini saptadık. Mevcut araştırmalarda deneysel diyabet modeli için STZ kullanımı konusunda fikir birliği olmasına karşılık STZ'nin uygulama dozunda olduğu gibi kan şeker seviyesi konusunda da farklı görüşler bulunmaktadır. Çalışmamızda, kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl 'nin üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi. Bu kan glukoz düzeyi ve STZ dozu diyabetle ilgili yapılmış diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir ^{129,130}.

Wang ve ark. ¹³¹, on adet tavşan ile yaptıkları çalışmada anestezi protokolü olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 5 mg/kg xylazine hidroklorür kullandıklarını belirtmektedirler. Biz de literatür ile uyumlu olacak şekilde çalışmamızda 50 mg/kg

Ketamin HCl ve 10mg/kg Xylazin HCl karışımını periton içine uygulayarak genel anestezi sağlamış olduk.

Çalışma sürecinde diyabetik sıçanlarda kilo kaybı gözlemlenmiştir. Diyabette kilo kaybı olmasının nedenleri arasında hipergliseminin artmasıyla oluşan ozmotik diürez ve katabolizma hızındaki artış gösterilmiştir. Çalışmada diyabetik gruplardaki deney hayvanlarında oluşan kilo kaybının literatür ile uyumlu olduğu gözlemlenmektedir ¹³⁰ (Tablo 4-2).

Günümüzde diabetik yaralarda iyileşmeye yardımcı birçok biyomateriyal kullanılmaktadır. Bunlardan birisi kitosandır ve oldukça önemli biyoaktif özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir ¹³². Biz de çalışmamızda diyabetik hayvan modeli oluşturarak, kitosanın yumuşak dokudaki yara iyileşmesine olan etkisini inceledik. Diyabetin, yumuşak dokularda oluşturduğu hasarın tam olarak ne zaman ortaya çıktığı ile ilgili ortak bir görüşe literatürlerde rastlamadık. Yara iyileşmesinin ilk aşaması hemostaz ve inflamasyon evreleridir. Hemostaz, birbirini takip eden, karmaşık bir süreçten oluşmaktadır. Yaralanmadan 1-2 saniye sonra zedelenen damarda vazokonstriksiyon ile kan akımı yavaşlamaya başlar. Dolaşımdaki trombositler, endotelde oluşan hasarı, reseptörleri aracılığıyla fark eder ve damar endoteline yapışır. Trombositlerin granüllerinden ortama salınan faktörlerle şekil değişimi meydana gelir ve küme oluşturup bir araya gelmeye başlarlar. Bundan sonra inaktif halde bulunan pıhtılaşma proteinleri aktif hale gelir ve bir dizi olayın başlamasına ön ayak olur. Fibrinojen fibrine dönüşerek pıhtı meydana gelir. Oluşan pıhtı daha sonra trombositlerin ve endotel hücrelerinin yardımıyla ortadan kaldırılır ¹³³. Diyabette endotel hücrelerinde, makrofajlarda, trombositlerde, bu hücrelerden salınan büyüme faktörlerinde, fibrin yapıda, lipid ve glikoz metabolizmasında oluşan bozukluklar, yara iyileşmesinin ilk aşamasını etkilemektedir. Damarlardan yeterli kanlanma sağlanamadığı için yeterince trombosit yara alanına ulaşamamaktadır. Yapısında meydana gelen anormallikler nedeniyle trombositler yara alanında toplanamaz ve böylece fibrin tıkaç meydana gelememektedir. Trombositlerin yara iyileşmesinin ilk adımında önemli rol oynadığı bilinmektedir ¹³⁴. Trombositler aktive edildiğinde PDGF, FGF, IL-1, IL-8 gibi birçok büyüme faktörü ortama salgılanır. Bu faktörler fibroblastları aktive ederek kollajen, glikozaminoglikanlar ve proteoglikan gibi maddelerin üretimini artırır ve böylece yara iyileşmesi sürecinin uyarılması sağlanır ¹³⁵. Kitosanın, yara iyileşmesindeki rolünün

yanında güçlü hemostatik etkisinin olduğu bildirilmektedir ¹³⁶. Hussein ve ark. yaptıkları çalışmada kitosanın, trombositleri normal koagülasyon sürecinden farklı olarak daha fazla aktive ettiğini ve bu durumun yarada artan oranda doğal hyaluronik asit sentezini stimüle ettiğini bildirmişlerdir ¹³⁷. Biz de kitosanın bu özelliklerinden yola çıkarak yara iyileşmesindeki erken dönem etkilerini incelemek amacıyla sakrifiye günlerini operasyon sonrasında 2. ve 5. günler olarak belirledik.

Yara iyileşmesinin inflamasyon aşamasında, yara oluşumunu takiben, trombositlerden salınan kemotaktik moleküllere yanıt olarak yara dokusuna PMNL göçü olur. Nötrofiller yara alanında ilk 2 gün hakim hücre olarak bulunur. Bu hücreler, yabancı cisimlerin ve bakterilerin ortamdan uzaklaştırılması ve fagosit edilmesini sağlarlar. Ueno ve ark.¹² kitosanın yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, yara yerinde makrofajların göç etmesinde meydana gelen artışla birlikte PMNL infiltrasyonunun da arttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar bu bulguların, kitosanın iyileşmenin erken dönemlerinde büyüme faktörlerinin ve proinflamatuvar mediatörlerin salgısını yapan hücrelerin migrasyonunu stimüle etmesiyle ilişkilendirildiğini belirtmektedirler.

Usami ve ark.⁹² yaptıkları çalışmada, PMNL artışında kitosanın bir kemoatraktan gibi davranmasının önemini belirtmişlerdir. Usami ve ark. yine aynı çalışmada kitosanın in vitro olarak köpektaki PMNL hücrelerini aktive ettiğini, in vivo olarak direkt ya da kompleman aktivasyonu yoluyla köpek PMNL hücrelerinin sitokin üretimini arttırdığını göstermişlerdir.

Liu ve ark.¹³⁸ kitosanın, hidrojel yara örtücü olarak ve ilaç taşıma sistemlerinde yara iyileşmesine olan etkilerini incelemek için yaptıkları çalışmada, kitosan bazlı hidrojellerin yara iyileşmesinin her fazında etkili olduğunu belirtmişlerdir. Kitosanın tromboz oluşumunu uyardığını ve trombositlerin aktivasyonunu tetikleyerek in vivo olarak kan pıhtılaşmasını hızlandığını dolayısıyla da inflamatuvar fazın daha kısa sürede başladığını belirtişlerdir. Kitosan bazlı hidrojellerin ilgili hücreleri ve faktör salınımını düzenleyerek iyileşme için elverişli bir ortam oluşumuna zemin hazırladıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada kitosanın, polimorfonükleer lökositlerin, makrofajların ve nötrofillerin inflamatuvar özelliklerini çoğalttıklarını ve uygun bir inflamatuvar cevap oluşmasını sağladıklarını vurgulamışlardır.

Yara alanına nötrofil, monosit/makrofaj ve mast hücrelerinin gelmesiyle akut inflamatuvar yanıtın başladığı evrede bu hücreler, yara iyileşmesinde önemli rollere sahip olan inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörlerini salgırlar. Okamoto ve ark.¹³⁶ yaptıkları çalışmalarında kitosanın, yara iyileşmesinde önemli rol oynayan trombosit kaynaklı büyüme faktörü- AB (PDGF-AB) ve TGF- β 1'in salınımını artırdığını vurgulamışlardır.

Judith ve ark.¹³⁹ eksizyon yaralarında kollajen-kitosan matriks sistemlerinin sıçanlarda etkilerini inceledikleri çalışmalarında kitosanın, trombosit kaynaklı büyüme faktörü(PDGF) oluşumunu artırdığını vurgulamışlardır. Çalışmada kitosanın PDGF oluşumunu arttırmasından dolayı granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırdığı belirtilmiştir. Ayrıca in vivo sonuçlarda eksizyonun 10. gününde çok sayıda oluşan kapillerlere yeni epidermis dokusunun eşlik ettiğini belirtmişlerdir.

Kitosarla tedavi edilmiş yaraların histolojik bulgularında, deney grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, kitosan kullanılan grupta lökositlerin ve makrofajların iyileşme alanına daha çabuk geldiği bildirilmiştir. Bu bulgular, kitosanın yara iyileşmesinin erken döneminde inflamatuvar hücreleri ve bu hücrelerden salınan büyüme faktörlerini yara alanına çektiğini göstermektedir. Kitosanın yara iyileşmesinin erken döneminde görevli olan hücrelerden salgılan büyüme faktörlerinden biri olan VEGF'yi de iyileşme alanına çektiği belirtilmiştir^{12,140}.

Diyabetlilerde yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinlerin sentezi ve bu maddelerin dışarıdan ortama verilerek iyileşme üzerinde ne gibi etkiler gösterdiklerinin incelendiği birçok çalışma vardır. Kojima ve ark.¹⁴¹ yaptıkları çalışmalarında diyabetli yara iyileşmesinde işlev gören makrofajların ürettikleri sitokin miktarı incelenmiş ve kontrol grubuna göre sitokin miktarının az olduğunu bildirmişlerdir.

Grotendorst ve ark.⁴⁷ ise trombosit kaynaklı büyüme faktörünün (PDGF) normal iyileşme ve diyabetlilerdeki bozulan iyileşme üzerine uyarıcı etkisini karşılaştırmışlar ve diyabetli sıçanlarda PDGF uygulaması ile DNA sentezinde artış meydana geldiğini ayrıca hücre göçü ve kollajen birikiminin arttığını bildirmişlerdir.

Yara iyileşmesi sırasında anjiogenik büyüme faktörleri de önemli bir yere sahiptir. Anjiogenik büyüme faktörlerinden bazıları; VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü), PGF (plasental büyüme faktörü), IL-8 (interlökin 8), TNF- α (tümör

nekroz faktör α)'dır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), özellikle endotel hücreleri için spesifik etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörüdür. Yapılan çalışmalarda diyabetiklerde fibroblastlardan ve keratinositlerden VEGF salgılanmasının belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir ^{142,143}.

Komesu ve ark. ¹⁴⁴ da alloxan kullanılarak diyabet gelişen farelerde yaptıkları çalışmalarında, 1., 3. ve 7. günlerde aldıkları histopatolojik örneklerde inflamatuvar hücre sayarak inflamasyon oluşma derecesini değerlendirmişler ve diyabetik farelerde inflamasyon evresinin daha geç başladığını ve kronik inflamasyon özelliklerinin uzun sürmeye daha yatkın olduğunu belirtmişlerdir.

Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda diyabetik sıçanların ağız içi dokularında meydana gelen yaralarda kitosanın etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadığımız için bu çalışmamızda gruplar arasında iltihap düzeylerini karşılaştırdık. Tüm gruplar arasında 2. gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğunu tespit ettik. Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda ise; farklılığın Kontrol ve Diyabet grubu arasında saptandığı sonucuna vardık. 2. günde gruplarda görülen iltihap düzeylerine baktığımızda kontrol grubunda deney hayvanlarının %20'sinde hafif; %80'ninde orta düzeyde iltihap gözlemledik. Diyabet grubunda, deneklerde, %100 şiddetli iltihap ve Diyabet + Kitosan grubunda %37,5 orta; %62,5 oranında şiddetli iltihap tespit ettik. 2. Günde gruplar arası iltihap oranları karşılaştırıldığında, diyabetin iltihap üzerine olumsuz etkisinin olduğunu gözlemledik. Ayrıca kitosanın yara iyileşmesinin 2. gününde iltihap üzerine olumlu etkisinin olduğu görüldü. 5. günde gruplarda görülen iltihap düzeylerine baktığımızda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğunu tespit ettik. Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubu ile Diyabet grupları arasında ve Diyabet grubu ile Diyabet + Kitosan grubu arasında farklılık olduğunu saptadık. Kontrol grubunda 5. günde görülen iltihap %100 hafif düzeydeyken, Diyabet grubunda %12,5 orta; %87,5 oranında şiddetli, Diyabet + Kitosan grubunda ise %100 orta şiddette iltihap gözlemledik. 5. Günde gruplar arası iltihap oranları karşılaştırıldığında, diyabetin iltihap üzerine olumsuz etkisinin olduğu saptandı. Ayrıca elde ettiğimiz bulgulara Diyabet + Kitosan grubunda iltihap şiddetinin azalması,

kitosanın yara iyileşmesinin 5. gününde iltihap üzerine olumlu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Yara oluşumunun 3. gününde nötrofiller yerlerini, dokuya geçen monositlerin farklılaşmasıyla oluşan makrofajlara bırakmaya başlar. Yara iyileşmesi sürecinin en önemli düzenleyicilerinden biri olan makrofajlar; salgıladıkları ürünlerle epitelizasyonu, anjiogenezi, fibroblast proliferasyonunu uyararak bir sonraki evre olan proliferasyon evresine geçişte bir basamak oluştururlar. Yara iyileşmesinin proliferasyon evresi, fibrin ve fibrinojen matriksinin birikimi sonrası fibroblastların aktifleşmesiyle başlar. Çeşitli büyüme faktörlerinin etkisiyle fibroblastların yaraya geçişi sağlanır^{30,32}. Fibroblastların ana fonksiyonu, kollajen sentezidir, yaralanmanın 2. günü başlar ve maksimum aktivitesine 5-7. günlerde ulaşır^{35,79,145}.

Mori ve ark.¹⁴⁶ kitosanın ana maddesi olan kitin ve türevlerinin in vitro olarak fibroblast proliferasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, fibroblast kültürlerinde proliferasyonun artmasına yönelik olumlu bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Hamilton ve ark. ise¹²⁸ kitosan filmlerle temas eden hücrelerde, fibroblast migrasyonu ve proliferasyonunda değişen derecelerde artış meydana geldiğini saptamışlardır.

Kojima ve ark.¹⁴⁷ lifsiz polyester materyale emdirilmiş kitosan ile yaptıkları yara iyileşmesi modelinde kollajen sentezinin ve kollajenin ana maddelerinden biri olan prolil hidroksilaz aktivitesinin arttığını saptamışlardır.

Muzzarelli ve ark.⁹⁷ kediler üzerinde yaptıkları çalışmalarında, kedilerin kafatasında oluşturdukları defektlerde bir grupta çıkardıkları duramater parçası yerine kitosan membranı yerleştirmişlerdir. Diğer grupta duramater üzerine kitosan jel uygulayarak her iki grubun iyileşme sürecini incelemişlerdir. Deney hayvanlarını 60. Günde sakrifiye ettikten sonra yaptıkları histolojik incelemeler sonucunda her iki grupta da kontrol grubuna oranla belirgin bir iyileşme gözlemlemişlerdir. Yapı olarak da glikozaminoglikanlara benzer olan kitosanın bağ dokusu oluşumunu uyaran indüktif bir materyal olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Miguel ve ark.¹⁴⁸, kitosan bazlı asimetrik membranların yara iyileşmesine olan etkilerini inceledikleri çalışmalarında, fibroblastların proliferasyonunu ve kollajen deposiyonunu stimule ettiklerini belirterek kitosanın yara iyileşme sürecine olan olumlu etkisini vurgulamışlardır.

Obara ve ark.¹⁴⁹ diyabetik sıçanlarda kitosan hidrojenlerinin yara iyileşmesine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, hem kontrol hem deney grubunda fibroblast büyüme faktörünün aracılığıyla fibroblastların uyarılarak kollajen oluşumunun hızlandığı ve uygun granülasyon dokusu oluşumunun gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Diyabette yara iyileşmesinin erken evrelerinde lökosit aktivitesinin bozulması daha sonraki evrelerin de etkilenmesine neden olur ^{2,75} ve neticesinde fibroblastların çoğalmasını ve kollajen sentezini de önler ^{2,4,150}. Böylece diyabetli hastaların yaralarında granülasyon dokusu bozuk bir şekilde oluşur ve bozuk granülasyon dokusu içinde kollajen sentezi azdır. Kollajenlerde anormal çapraz bağlar görülür ve yara gerilim kuvveti azalır ^{53,143}. Kollajen sentezindeki bozulma, fibroblastların çoğalma yeteneklerinde meydana gelen yetersizliğe, hücre sentezinde yaşanan bozukluğa ve yeni sentezlenen kollajenin katabolizmasında oluşan artışa bağlanabilir ^{143,144}.

Lerman ve ark.¹⁴³ diyabetik farelerde yaptığı in vitro çalışmada, diyabetik fibroblastların hücresel göç yeteneklerinin normal fibroblastlarla karşılaştırıldığında daha zayıf olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda gruplar fibrozis düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında yara iyileşmesinin 2. gününde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını saptadık. Gruplar arası değerlendirmede 2. günde kontrol grubu deney hayvanlarının %20'sinde hiç fibrozis olmazken %80'inde ülser alanının %1-20'lik bölümünde fibrozis görülmüştür. Diyabet grubunda %87,5'inde hiç fibrozis olmazken %20'sinde ülser alanının %1-20'lik bölümünde fibrozis görülmüştür. Diyabet + Kitosan grubunda ise %75'inde hiç fibrozis olmazken %25'inde ülser alanının %1-20'lik bölümünde fibrozis görülmüştür. Gruplar arasında 5. günde ise fibrozis düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğunu tespit ettik. 5. gün bulgularımızda kontrol grubunda deney hayvanlarının %20'sinde ülser alanının %1-20'lik bölümünde fibrozis görülürken %80'sinde ülser alanının %20-60'lık bölümünde fibrozis görülmüştür. Diyabet grubunun %50'sinde ülser alanının %1-20'lik bölümünde fibrozis görülürken, grubun diğer %50'sinde ülser alanının %20-60'lık bölümünde fibrozis görülmüştür. Diyabet + Kitosan grubunda ise deney hayvanlarının %100'ünde ülser alanının %1-20'lik bölümünde fibrozis görülmüştür. Kitosan uyguladığımız deney grubunda fibrozis oluşumunda azalma olduğunu fakat bunun diyabet grubu ile anlamlı bir farklılık yaratmadığını gördük. Yaptığımız çalışmada diyabet grubu içinde anlamlı

bir farklılık bulunmasa da 2. ve 5. günlerde görülen fibrozis düzeyindeki azalmalar, diyabetin fibrozisi azalttığı yönünde yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Epitelizasyon; epidermis hücrelerinin yara alanına gelerek mitoz bölünmesi ile başlayan ve yara yüzeyinin tamamen kaplanması ile gerçekleşen süreçtir (88). Köpeklerde açık yaraların iyileşmesi için yapılan çalışmalarda, kitosan uygulanan grupta kontrol grubuna oranla yaralarda reepitelizasyonun miktarının çok daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (okamoto 1995 in dogs).

Hemostatik özellikteki kitosanın, nötrofil ve makrofajların infiltrasyonunu ve migrasyonunu uyarmasıyla yara, yabancı maddelerden temizlenir. Böylece fibröz doku formasyonunun ve reepitelizasyonun oluşmasını sağlayan granülasyon dokusu oluşumu tetiklenir. Remodeling fazında anormal miktarda kollajen oluşumuyla meydana gelebilen hipertrofik skar oluşumu, kitosanın iyi bir reepitelizasyon sağlama yeteneği sayesinde engellenebilir ¹⁵¹.

McLennan ve ark. deneysel olarak diyabet oluşturdıkları sıçanlar üzerinde yara iyileşmesini inceledikleri çalışmalarında, oluşturdıkları yaraları 6 ve 12. günlerde incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgularda diyabetin yara kenarlarındaki epitelyal kapanmayı ve reepitelizasyonu azalttığını belirtmişlerdir ¹⁵².

Alemdaroğlu ve ark. ¹⁵³ kitosan jel ile 2. derecedeki yanık yaralarında yaptıkları araştırmalarında kontrol grubu ve deney grubunda benzer epitel rejenerasyonu oranlarıyla karşılaşmışlardır.

Çalışmamızda 2.gün epitel rejenerasyonu düzeyleri açısından gruplar arası kıyaslandırmada kontrol grubunda, diyabet oluşturulan diğer gruplara göre daha fazla epitel rejenerasyonu gözlenmiştir. Diyabet grubu ve diyabet + kitosan grubu epitelizasyon düzeyleri birbirine yakın görülmüştür. 5. gün gruplar arası yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile diyabet oluşturulan gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuş ve kontrol grubunda epitel rejenerasyonunun daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Diyabet grubu ve diyabet + kitosan grubu epitelizasyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Kontrol grubunda 2. ve 5. günlerde oluşan bu farklılığın, diyabetin yara iyileşmesinin tüm evrelerinde olumsuz etkisinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Kitosanın ise doku rejenerasyonuna etkisinin olduğu bilinmekle birlikte yara iyileşmesine epitel rejenerasyonu üzerinden etki göstermediği düşünülmektedir.

Nekroz; rastgele gelişen, genler tarafından kontrol edilemeyen canlı dokunun ya da dokudaki hücrelerin ölümüyle sonuçlanan düzensiz bir süreçtir. En yaygın nedeni hipoksi olarak gösterilmektedir. Dışarıdan gelen ısı, yanma, toksik madde gibi fiziksel ve kimyasal uyarılar hücrenin iyon dengesinde bozulmaya neden olur. Oluşan ATP yokluğuyla iyon pompası yetersiz hale gelir. Akabinde hücre içi sıvı madde ile dolar, organeller büyür. Plazma membran bütünlüğü bozulmasıyla osmotik basınç oluşur ve hücre patlar. Hücre ölümüyle birlikte hücrede bulunan maddelerin hücreler arası boşluğa yayılması sonucu enflamasyon ve iltihaplanma gerçekleşir ^{154,155}. Biyouyumlu bir materyal olduğu belirtilen kitosanın, irritan ve toksik olmayan özellikte olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ^{156,157}.

Rao ve ark.¹⁵⁷ yaptıkları çalışmalarında kitosanın pirojenik etkilerinin olmadığını ve farelerde neredeyse hiçbir toksik özellik göstermediğini belirtmişlerdir.

Patruela ve ark.¹⁵¹ çalışmalarında kitosanın minimal toksik etkilere sahip güvenilir bir materyal olduğunu vurgulamışlar ve parenteral yolla kullanılabilecek güvenli farmasotik bir materyal olduğunu ifade etmişlerdir.

Maruyama ve ark.¹⁵⁸ oluşturdukları kendiliğinden sertleşen kitosan-hidroksiapatit kemik dolgu materyalinin özelliklerini in vitro inceledikleri çalışmalarında, materyalin sertleşirken çok düşük miktarda ısı açığa çıkardığını, ancak bu durumun deney hayvanlarında herhangi bir nekroza sebep olmadığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda gruplarda bulunan deney hayvanları, nekroz görülme açısından değerlendirildiğinde, iyileşmenin 2. ve 5. gününde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulamadık. Kontrol, diyabet ve diyabet + kitosan grubunun yüzdesel olarak birbirine yakın bulduğumuz değerleri neticesinde, kitosanın toksik özellikte olmadığı ve bunun nekroz üzerine bir etki yaratmadığı kanısındayız.

Bbb ve ark.¹⁵⁹ kitinin deasetilasyonu ile elde ettikleri kitosanı kullanarak oluşturdukları kitosan jellerini, sıçanlarda oluşturulmuş deneysel kemik defektlerine uyguladıkları çalışmaları sonucunda bu maddenin yabancı cisim reaksiyonuna neden olmadığını bildirmişlerdir.

Wang ve ark.¹⁶⁰ iki ayrı tip kalsiyum fosfat simana ilave ettikleri kitosanın, tavşan modellerinde biyouyumluluğunu araştırdıkları çalışmalarında hiçbir yabancı cisim reaksiyonuyla karşılaşmamışlardır.

Hekim ve ark.¹⁶¹ glikozaminoglikan türevlerinden kitosan ve hyaluronanın diyabetik yaraların iyileşmesindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında deney hayvanlarının hiçbirinde yabancı cisim reaksiyonu ile karşılaşmamışlardır.

Diyabetik sıçanların ağız içi dokularında meydana gelen yaralarda kitosanın yara iyileşmesine olan etkilerini incelediğimiz çalışmamızda, kitosan uyguladığımız grupta yabancı cisim reaksiyonuna rastlamadık. Bunun nedeninin kitosanın non-toksik ve biyouyumlu özellikte olmasının bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz.

Diyabetik sıçanların ağız içi dokularında meydana gelen yaralarda kitosanın yara iyileşmesine etkisini incelediğimiz çalışmamızda, oluşturulan yaraların iyileşme süreçlerinin olumlu yönde etkilendiği gösterilmiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz bulguların, klinikte diyabetik hastalarda kitosanın kullanımı konusunda literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız. Fakat çalışmamız, üzerine fazla literatür çalışmasının bulunmadığı oral mukoza üzerinde yapılmıştır. Dolayısıyla diyabetik sıçanlar üzerinde meydana gelen oral mukoza yaralarında kitosan kullanımı ile ilgili yapılacak başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Deneyssel olarak diabetes mellitus oluşturduğumuz bu çalışma modelinde;

1. Yara iyileşmesinin 2. ve 5. gününde gruplar arasında iltihap düzeyleri açısından karşılaştırıldıklarında anlamlı farklılık bulunmuştur. Kitosan uygulanan grupta iltihap düzeylerindeki azalma sonucu, kitosanın yara iyileşmesine olumlu katkı yaptığını gördük.
2. Yara iyileşmesinin 2. gününde gruplar arasında fibrozis düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmadığını belirledik.
3. Yara iyileşmesinin 5. gününde fibrozis düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalarında; diyabet grubunda diyabet+kitosan grubuna göre ülserli alanda daha yüksek oranda fibrozis görüntüledik.
4. Kitosanın epitel rejenerasyonu açısından olumlu hafif bir etkisinin olduğunu, ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirledik.
5. Kitosanın deney gruplarının hiçbirinde yabancı cisim reaksiyonu oluşturmadığını dolayısıyla biyouyumlu ve non-toksik bir materyal olduğunu belirledik.
6. Çalışmamızda yalnızca histopatolojik değerlendirmeler yaptık. Gelecekte histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerin birlikte yapılacağı daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla daha etkin sonuçlara ulaşılabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Halim AS, Khoo TL, Mat Saad AZ. Wound bed preparation from a clinical perspective. *Indian J Plast Surg.* 2012;45(2):193-202. doi:10.4103/0970-0358.101277
2. Mustoe TA, O'Shaughnessy K, Kloeters O. Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: A unifying hypothesis. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7 SUPPL.):35-41. doi:10.1097/01.prs.0000225431.63010.1b
3. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997;77(3):509-528. doi:10.1016/S0039-6109(05)70566-1
4. Puhaindran ME. Principles of wound healing. *Diabet Foot Probl.* 2008;9(2):395-402. doi:10.1142/9789812791535_0028
5. Healing W. Yara İyileşmesi. 2017:143-144. doi:10.4274/turkderm.36528
6. Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med.* 2006;23(6):594-608. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.01773.x
7. Yasuda K. Histochemical Staining of Hyaluronic Acid with Chitosan. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 1953;25(2):55-60. doi:10.2535/ofaj1936.25.2_55
8. Somashekar D, Joseph R. Chitosanases - Properties and applications: A review. *Bioresour Technol.* 1996;55(1):35-45. doi:10.1016/0960-8524(95)00144-1
9. KNORR D. Functional Properties of Chitin and Chitosan. *J Food Sci.* 1982;47(2):593-595. doi:10.1111/j.1365-2621.1982.tb10131.x
10. Ravi Kumar MNV. A review of chitin and chitosan applications. *React Funct Polym.* 2000. doi:10.1016/S1381-5148(00)00038-9
11. Andres Y, Giraud L, Gerente C, Le Cloirec P. Antibacterial effects of Chitosan powder: Mechanisms of action. *Environ Technol.* 2007;28(12):1357-1363. doi:10.1080/09593332808618893
12. Ueno H. Topical formulations and wound healing applications of chitosan 2 . Topical findings of healing with chitosan at early phase of experimental open skin wound. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;52:105-115. www.elsevier.com/locate/drugdeliv.
13. Zhao D, Yu S, Sun B, Gao S, Guo S, Zhao K. Biomedical applications of chitosan and its derivative nanoparticles. *Polymers (Basel).* 2018;10(4).

doi:10.3390/polym10040462

14. Ishihara M, Nakanishi K, Ono K, et al. Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials*. 2002;23(3):833-840. doi:10.1016/S0142-9612(01)00189-2
15. Kubo M, Matsuda H, Tanaka M, Kimura Y, Okuda H, Higashino M, Tani T N k and AS. NII-Electronic Library Service. *Chem Pharm Bull*. 1986;34(1):430-433.
16. 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):1528-1542. doi:10.1177/147323000903700531
17. Rajpaul K. Biofilm in wound care. *Br J Community Nurs*. 2015;20(December):S6-S11. doi:10.12968/bjcn.2015.20.Sup3.S6
18. WM E. The PDF version of this paper is currently unavailable. *Br Dent J*. 1992;172:305-312.
19. Stroedter L. *Suturing Techniques*.; 2009. doi:10.1007/978-3-540-78387-9_5
20. kirsner1993.pdf.
21. 1981 Grinnell Distribution of fibronectin during wound. 2004:1-10. papers3://publication/uuid/4606CF00-7238-4EDF-98CE-5B9EF6EAC240.
22. Noli C, Miolo A. The mast cell in wound healing. *Vet Dermatol*. 2001;12(6):303-313. doi:10.1046/j.0959-4493.2001.00272.x
23. Lewis JS, Lee JA, Underwood JCE, Harris AL, Lewis CE. Macrophage responses to hypoxia: Relevance to disease mechanisms. *J Leukoc Biol*. 1999;66(6):889-900. doi:10.1002/jlb.66.6.889
24. falanga1993.pdf.
25. Brown LF, Detmar M, Claffey K, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS*. 1997;79:233-269. doi:10.1007/978-3-0348-9006-9_10
26. Singer AJ, Clark RAF. Epstein1999_Woundhealing. *N Engl J Med*. 1999.
27. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol*. 2007;25(1):9-18. doi:10.1016/j.clindermatol.2006.09.007
28. Diegelmann RF, Evans MC. Departments of Biochemistry, Anatomy, Emergency Medicine and Virginia Commonwealth University, Richmond Virginia. *Front Biosci*. 2004;(4):283-289.
29. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of

- chronic cutaneous wounds. *Am J Surg.* 1998;176(2 A):26S-38S. doi:10.1016/S0002-9610(98)00183-4
30. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatol.* 2007;25(1):19-25. doi:10.1016/j.clindermatol.2006.12.005
 31. Bishop A. Role of oxygen in wound healing. *J Wound Care.* 2008;17(9):399-402. doi:10.12968/jowc.2008.17.9.30937
 32. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: A review of the literature. *Dermatologic Surg.* 2008;34(9):1159-1169. doi:10.1111/j.1524-4725.2008.34254.x
 33. Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing-Exploring medicinal plants of India. *J Ethnopharmacol.* 2007;114(2):103-113. doi:10.1016/j.jep.2007.08.010
 34. Guo S, DiPietro LA. Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2010;89(3):219-229. doi:10.1177/0022034509359125
 35. Bjarnsholt T, Kirketerp-Møller K, Jensen PØ, et al. Why chronic wounds will not heal: A novel hypothesis. *Wound Repair Regen.* 2008;16(1):2-10. doi:10.1111/j.1524-475X.2007.00283.x
 36. Barbul A, Purtill WA. Nutrition in wound healing. *Clin Dermatol.* 1994;12(1):133-140. doi:10.1016/0738-081X(94)90264-X
 37. Greenhalgh DG. Wound healing and diabetes mellitus. *Clin Plast Surg.* 2003;30(1):37-45. doi:10.1016/S0094-1298(02)00066-4
 38. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg.* 2004;187(5 SUPPL. 1):S11-S16. doi:10.1016/S0002-9610(03)00296-4
 39. Standard N. focus Impaired wound healing in patients with diabetes. 2015;15(2001):39-45.
 40. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest.* 1972;51(8):2009-2023. doi:10.1172/JCI107007
 41. Ahmed N. Advanced glycation endproducts - Role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;67(1):3-21.

- doi:10.1016/j.diabres.2004.09.004
42. Spanheimer RG. further examine the role of factor(s) in diabetic serum. 1988;37(5):479-485.
 43. seifter1981.pdf.
 44. Vernillo AT. Diabetes mellitus: Relevance to dental treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91(3):263-270. doi:10.1067/moe.2001.114002
 45. Diabetes DOF. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2009;32(SUPPL. 1). doi:10.2337/dc09-S062
 46. Banarer S, Cryer PE. Hypoglycemia in type 2 diabetes. *Med Clin North Am.* 2004;88(4):1107-1116. doi:10.1016/j.mcna.2004.04.003
 47. Grotendorst GR, Martin GR, Pencev D, Sodek J, Harvey AK. Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats. *J Clin Invest.* 1985;76(6):2323-2329. doi:10.1172/JCI112243
 48. Barrett-Connor E. Is insulin-dependent diabetes mellitus caused by coxsackievirus b infection? a review of the epidemiologic evidence. *Rev Infect Dis.* 1985;7(2):207-215. doi:10.1093/clinids/7.2.207
 49. LeRoith D, Fonseca V, Vinik A. Metabolic memory in diabetes - Focus on insulin. *Diabetes Metab Res Rev.* 2005;21(2):85-90. doi:10.1002/dmrr.530
 50. WHO_NCD_NCS_99.2.pdf.
 51. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet.* 2014;383(9911):69-82. doi:10.1016/S0140-6736(13)60591-7
 52. Riordan BJ. The mathematics of O'Brien's principle: An invitation to quantification. *Intell Natl Secur.* 2003;18(3):168-173. doi:10.1080/02684520412331306970
 53. Gottschalk WK, Jarett L. Intracellular mediators of insulin action. *Diabetes Metab Rev.* 1985;1(3):229-259. doi:10.1002/dmr.5610010302
 54. Hutton JC. The insulin secretory granule. *Diabetologia.* 1989;32(5):271-281. doi:10.1007/BF00265542
 55. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2009;373(9677):1773-1779. doi:10.1016/S0140-6736(09)60731-5
 56. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes.

- Am J Obstet Gynecol.* 1982;144(7):768-773. doi:10.1016/0002-9378(82)90349-0
57. Bertoni AG, Burke GL, Owusu J a, et al. Inflammation and the Incidence of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2010;33(4):804-810. doi:10.2337/dc09-1679
 58. Eppens MC, Craig ME, Cusumano J, et al. Prevalence of diabetes complications in adolescents with type 2 compared with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(6):1300-1306. doi:10.2337/dc05-2470
 59. Porte D, Schwartz MW. Diabetes complications: Why is glucose potentially toxic? *Science* (80-). 1996;272(5262):699-700. doi:10.1126/science.272.5262.699
 60. Yared Z, Chiasson JL. Ketoacidosis and the hyperosmolar hyperglycemic state in adult diabetic patients: Diagnosis and treatment. *Minerva Med.* 2003;94(6):409-418.
 61. Ichai C, Quintard H, Orban JC. *Metabolic Disorders and Critically Ill Patients: From Pathophysiology to Treatment.*; 2017. doi:10.1007/978-3-319-64010-5
 62. Pasquel FJ, Umpierrez GE. Hyperosmolar hyperglycemic state: A historic review of the clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Diabetes Care.* 2014;37(11):3124-3131. doi:10.2337/dc14-0984
 63. Nugent BW. Hyperosmolar hyperglycemic state. *Emerg Med Clin North Am.* 2005;23(3 SPEC. ISS.):629-648. doi:10.1016/j.emc.2005.03.006
 64. Stoner GD. Hyperosmolar hyperglycemic state. *Am Fam Physician.* 2005;71(9):1723-1730.
 65. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(7):1335-1343. doi:10.2337/dc09-9032
 66. Cryer PE. Hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(3):641-654. doi:10.1016/j.ecl.2010.05.003
 67. Cryer PE. Glycemic goals in diabetes: Trade-off between glycemic control and iatrogenic hypoglycemia. *Diabetes.* 2014;63(7):2188-2195. doi:10.2337/db14-0059
 68. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, et al. Retinopathy in Diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27(SUPPL. 1). doi:10.2337/diacare.27.2007.s84
 69. Ateş O, Kiki I, Bilen H, et al. Association of mean platelet volume with the degree of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eur J Gen Med.*

- 2009;6(2):46-49. doi:10.29333/ejgm/82648
70. Bloomgarden ZT. Diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2008;31(4):823-827. doi:10.2337/dc08-zb04
 71. Gross JL, De Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: Diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*. 2005;28(1):164-176. doi:10.2337/diacare.28.1.164
 72. Of NH, Nephropathy D. Nephropathy in Diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(SUPPL. 1).
 73. Tervaert TWC, Mooyaart AL, Amann K, et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(4):556-563. doi:10.1681/ASN.2010010010
 74. Feldman EL. Oxidative stress and diabetic neuropathy: A new understanding of an old problem. *J Clin Invest*. 2003;111(4):431-433. doi:10.1172/JCI200317863
 75. Russell JW, Berent-spillson A, Vincent AM, Freimann CL, Sullivan KA, Feldman EL. NIH Public Access. 2009;30(3):420-429.
 76. Bowering CK. Diabetic foot ulcers: Pathophysiology, assessment, and therapy. *Can Fam Physician*. 2001;47(MAY):1007-1016.
 77. Aumiller WD, Dollahite HA. Pathogenesis and management of diabetic foot ulcers. *J Am Acad Physician Assist*. 2015;28(5):28-34. doi:10.1097/01.JAA.0000464276.44117.b1
 78. Shukla V, Mani R. Editorial: Emerging trends in diabetic foot ulcer management in India. *Int J Low Extrem Wounds*. 2010;9(3):111-112. doi:10.1177/1534734610380030
 79. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet*. 2005;366(9498):1736-1743. doi:10.1016/S0140-6736(05)67700-8
 80. Alavi A, Sibbald RG, Mayer D, et al. Diabetic foot ulcers: Part I. Pathophysiology and prevention. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(1):1.e1-1.e18. doi:10.1016/j.jaad.2013.06.055
 81. Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ. Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci Technol*. 1999;10(2):37-51. doi:10.1016/S0924-2244(99)00017-5
 82. Chakraborty M, Ghosh A, Ghosh UU, DasGupta S. Enhanced cooling by an oscillating droplet on DMF platform. *Eng Sci Fundam 2015 - Core Program*

- Area 2015 AIChE Annu Meet.* 2015;1:162-169.
83. Kumirska J, Czerwicka M, Kaczyński Z, et al. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Mar Drugs*. 2010;8(5):1567-1636. doi:10.3390/md8051567
 84. Zhang M, Haga A, Sekiguchi H, Hirano S. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. *Int J Biol Macromol*. 2000;27(1):99-105. doi:10.1016/S0141-8130(99)00123-3
 85. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polym Sci*. 2006;31(7):603-632. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
 86. Gaill F, Persson J, Sugiyama J, Vuong R, Chanzy H. The chitin system in the tubes of deep sea hydrothermal vent worms. *J Struct Biol*. 1992;109(2):116-128. doi:10.1016/1047-8477(92)90043-A
 87. Blackwell J, Parker KD, Rudall KM. Chitin in pogonophore tubes. *J Mar Biol Assoc United Kingdom*. 1965;45(3):659-661. doi:10.1017/S0025315400016489
 88. López-León T, Carvalho ELS, Seijo B, Ortega-Vinuesa JL, Bastos-González D. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: Electrokinetic and stability behavior. *J Colloid Interface Sci*. 2005;283(2):344-351. doi:10.1016/j.jcis.2004.08.186
 89. Francis Suh JK, Matthew HWT. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials*. 2000;21(24):2589-2598. doi:10.1016/S0142-9612(00)00126-5
 90. Janes KA, Calvo P, Alonso MJ. Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;47(1):83-97. doi:10.1016/S0169-409X(00)00123-X
 91. Kurita K. Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polym Degrad Stab*. 1998;59(1-3):117-120. doi:10.1016/S0141-3910(97)00160-2
 92. Usami Y, Okamoto Y, Takayama T, Shigemasa Y, Minami S. Chitin and chitosan stimulate canine polymorphonuclear cells to release leukotriene B4 and prostaglandin E2. *J Biomed Mater Res*. 1998;42(4):517-522. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(19981215)42:4<517::AID-JBM6>3.0.CO;2-U
 93. Chen CS, Liao WY, Tsai GJ. Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *J Food Prot*. 1998;61(9):1124-1128. doi:10.4315/0362-028X-61.9.1124

94. Helander IM, Nurmiäho-Lassila EL, Ahvenainen R, Rhoades J, Roller S. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Int J Food Microbiol.* 2001;71(2-3):235-244. doi:10.1016/S0168-1605(01)00609-2
95. Sagnella S, Mai-Ngam K. Chitosan based surfactant polymers designed to improve blood compatibility on biomaterials. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2005;42(2):147-155. doi:10.1016/j.colsurfb.2004.07.001
96. Chou TC, Fu E, Wu CJ, Yeh JH. Chitosan enhances platelet adhesion and aggregation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;302(3):480-483. doi:10.1016/S0006-291X(03)00173-6
97. Muzzarelli R, Baldassarre V, Conto F, et al. Biological activity of chitosan: ultrastructural study. *Biomaterials.* 1988;9(3):247-252. doi:10.1016/0142-9612(88)90092-0
98. Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford DS, Frondoza CG. Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. *J Biomed Mater Res.* 2000;51(4):586-595. doi:10.1002/1097-4636(20000915)51:4<586::AID-JBM6>3.0.CO;2-S
99. No HK, Young Park N, Ho Lee S, Meyers SP. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol.* 2002;74(1-2):65-72. doi:10.1016/S0168-1605(01)00717-6
100. Samuels RJ. Solid State Characterization of the Structure of Chitosan Films. *J Polym Sci Part A-2, Polym Phys.* 1981;19(7):1081-1105. doi:10.1002/pol.1981.180190706
101. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):537-546.
102. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes.* 1976;25(7):595-603. doi:10.2337/diab.25.7.595
103. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(2):216-226. doi:10.1007/s00125-007-0886-7
104. Schnedl WJ, Ferber S, Johnson JH, Newgard CB. STZ transport and cytotoxicity: Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes.* 1994;43(11):1326-1333. doi:10.2337/diabetes.43.11.1326
105. Wang Z, Gleichmann H. GLUT2 in pancreatic islets: Crucial target molecule in

- diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes*. 1998;47(1):50-56. doi:10.2337/diab.47.1.50
106. Yamamoto H, Uchigata Y, Okamoto H. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature*. 1981;294(5838):284-286. doi:10.1038/294284a0
 107. Uchigata Y, Yamamoto H, Kawamura A, Okamoto H. Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly(ADP-ribose) synthetase inhibitors against alloxan- and streptozotocin-induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. *J Biol Chem*. 1982;257(11):6084-6088.
 108. Streptozotocin K. Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. 2015;(1).
 109. Kurcer Z, Parlakpınar H, Vardi N, et al. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal ischemia/reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007;115(6):365-371. doi:10.1055/s-2007-971056
 110. Ishizaki E, Fukumoto M, Puro DG. Functional KATP channels in the rat retinal microvasculature: Topographical distribution, redox regulation, spermine modulation and diabetic alteration. *J Physiol*. 2009;587(10):2233-2253. doi:10.1113/jphysiol.2009.169003
 111. Katsumata K, Katsumata K, Katsumata Y. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm Metab Res*. 1992;24(11):508-510. doi:10.1055/s-2007-1003376
 112. Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes*. 1974;23(11):889-895. doi:10.2337/diab.23.11.889
 113. Aksoy H, Özakpınar ÖB. Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharm J*. 2014;18(3):153-158. doi:10.12991/mpj.2014187243
 114. Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. 2001:139-148.
 115. Von Den Hoff JW, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Palatal wound healing: The effects of scarring on growth. *Cleft Lip Palate Diagnosis Manag*. 2013:309-324. doi:10.1007/978-3-642-30770-6_14
 116. Zhu T, Park HC, Son KM, Yang HC. Effects of dimethyloxalylglycine on wound healing of palatal mucosa in a rat model. *BMC Oral Health*. 2015;15(1):1-8.

doi:10.1186/s12903-015-0047-1

117. Fahim A, Ilyas MS, Jafari FH, Farzana F. Effect of carbonated drinks on wound healing of oral epithelium. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2016;6(1):50-54. doi:10.1016/j.jobcr.2015.08.005
118. 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):164-171. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.01033.x
119. Maeda T, Masaki C, Kanao M, et al. Low-intensity pulsed ultrasound enhances palatal mucosa wound healing in rats. *J Prosthodont Res.* 2013;57(2):93-98. doi:10.1016/j.jpor.2012.11.001
120. Logan RM, Goss AN. Biopsy of the oral mucosa and use of histopathology services. *Aust Dent J.* 2010;55 Suppl 1:9-13. doi:10.1111/j.1834-7819.2010.01194.x
121. Carew JF, Ward RF, Labruna A, Torzilli PA, Schley WS. Effects of Scalpel , Electrocautery , and CO₂ and KTP Lasers on Wound Healing in Rat Tongues. 1998;(March):373-380.
122. Chinpairoj S, Feldman MD, Saunders JC, Thaler ER. A Comparison of Monopolar Electrosurgery to a New Multipolar Electrosurgical System in a Rat Model. 2001;(February):213-217.
123. Ziya DÖNMEZ Y. *RATLARDA OLUŞTURULAN MUKOZAL DEFECTLERDE LOKAL HÜMİK ASİT UYGULAMASININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.*
124. Arcangelo CD, Nardo D, Maio D, Prosperi GD, Conte E, Baldi M. A preliminary study of healing of diode laser versus scalpel incisions in rat oral tissue : a comparison of clinical , histological , and immunohistochemical results. :4-8. doi:10.1016/j.tripleo.2006.08.002
125. Shen EC, Chou TC, Gau CH, Tu HP, Chen YT, Fu E. Releasing growth factors from activated human platelets after chitosan stimulation: A possible bio-material for platelet-rich plasma preparation. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(5):572-578. doi:10.1111/j.1600-0501.2004.01241.x
126. Busscher HJ, Engels E, Dijkstra RJB, Van Der Mei HC. Influence of a chitosan on oral bacterial adhesion and growth in vitro. *Eur J Oral Sci.* 2008;116(5):493-

495. doi:10.1111/j.1600-0722.2008.00568.x
127. Liu H, Du Y, Wang X, Sun L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *Int J Food Microbiol.* 2004;95(2):147-155. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.022
 128. Hamilton V, Yuan Y, Rigney DA, et al. Characterization of chitosan films and effects on fibroblast cell attachment and proliferation. *J Mater Sci Mater Med.* 2006;17(12):1373-1381. doi:10.1007/s10856-006-0613-9
 129. Kurşun Z, Karaoğlu D. Deneyisel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullanımı. *Turkish J Endocrinol Metab.* 2012;16(2):34-40.
 130. Oviedo Socarrás T, Vasconcelos AC, Campos PP, Pereira NB, Souza JPC, Andrade SP. Foreign body response to subcutaneous implants in diabetic rats. *PLoS One.* 2014;9(11). doi:10.1371/journal.pone.0110945
 131. Delivery I, Atp OF, Healing E, In P, Wounds FS, Diabetic IN. Intracellular Delivery of Atp Enhanced Healing Process in Full-Thickness Skin Wounds in Diabetic. 2011;199(6):823-832. doi:10.1016/j.amjsurg.2009.05.040.INTRACELLULAR
 132. Inan ZDS. Investigation of The Wound Healing Effects of Chitosan on FGFR3 and VEGF Immunolocalization in Experimentally Diabetic Rats. *Int J Biomed Mater Res.* 2013;1(1):1. doi:10.11648/j.ijbmr.20130101.11
 133. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001;85(6):958-965. doi:10.1055/s-0037-1615947
 134. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic Surg.* 2005;31(6):674-686. doi:10.1097/00042728-200506000-00011
 135. Bauer EA, Cooper TW, Huang JS, Altman J, Deuel TF. Stimulation of in vitro human skin collagenase expression by platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(12):4132-4136. doi:10.1073/pnas.82.12.4132
 136. Okamoto Y, Yano R, Miyatake K, Tomohiro I, Shigemasa Y, Minami S. Effects of chitin and chitosan on blood coagulation. *Carbohydr Polym.* 2003;53(3):337-342. doi:10.1016/S0144-8617(03)00076-6
 137. Engineering O. 1, 2 , 1 , 2. *Engineering.* 2004;31(2):196-203.

138. Liu H, Wang C, Li C, et al. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC Adv.* 2018;8(14):7533-7549. doi:10.1039/c7ra13510f
139. Judith R, Nithya M, Rose C, Mandal AB. Application of a PDGF-containing novel gel for cutaneous wound healing. *Life Sci.* 2010;87(1-2):1-8. doi:10.1016/j.lfs.2010.05.003
140. Ueno H, Yamada H, Tanaka I, et al. Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. *Biomaterials.* 1999;20(15):1407-1414. doi:10.1016/S0142-9612(99)00046-0
141. Kojima K, Okamoto Y, Miyatake K, Kitamura Y, Minami S. Collagen typing of granulation tissue induced by chitin and chitosan. *Carbohydr Polym.* 1998;37(2):109-113. doi:10.1016/S0144-8617(98)00055-1
142. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin M V., Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol.* 1998;152(6):1445-1452.
143. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, Levine JP, Gurtner GC. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: Impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia. *Am J Pathol.* 2003;162(1):303-312. doi:10.1016/S0002-9440(10)63821-7
144. Komesu MC, Tanga MB, Buttrots KR, Nakao C. Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. *Pathophysiology.* 2004;11(2):63-67. doi:10.1016/j.pathophys.2004.02.002
145. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16(5):585-601. doi:10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x
146. Mori T, Okumura M, Matsuura M, et al. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro. *Biomaterials.* 1997;18(13):947-951. doi:10.1016/S0142-9612(97)00017-3
147. Kojima K, Okamoto Y, Kojima K, et al. Effects of chitin and chitosan on collagen synthesis in wound healing. *J Vet Med Sci.* 2004;66(12):1595-1598. doi:10.1292/jvms.66.1595
148. Miguel SP, Moreira AF, Correia IJ. Chitosan based-asymmetric membranes for wound healing: A review. *Int J Biol Macromol.* 2019;127:460-475.

doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.072

149. Obara K, Ishihara M, Ishizuka T, et al. Photocrosslinkable chitosan hydrogel containing fibroblast growth factor-2 stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice. *Biomaterials*. 2003;24(20):3437-3444. doi:10.1016/S0142-9612(03)00220-5
150. Alsahli M, Gerich JE. Hypoglycemia in diabetes mellitus. *Princ Diabetes Mellit*. 2010;297-312. doi:10.1007/978-0-387-09841-8-19
151. Patrulea V, Ostafe V, Borchard G, Jordan O. Chitosan as a starting material for wound healing applications. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;97:417-426. doi:10.1016/j.ejpb.2015.08.004
152. McLennan S V., Bonner J, Milne S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Repair Regen*. 2008;16(5):706-713. doi:10.1111/j.1524-475X.2008.00421.x
153. Alemdaroğlu C, Değim Z, Çelebi N, Zor F, Öztürk S, Erdoğan D. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns*. 2006;32(3):319-327. doi:10.1016/j.burns.2005.10.015
154. Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci*. 2007;32(1):37-43. doi:10.1016/j.tibs.2006.11.001
155. Nicotera P, Melino G. Regulation of the apoptosis-necrosis switch. *Oncogene*. 2004;23(16 REV. ISS. 2):2757-2765. doi:10.1038/sj.onc.1207559
156. Onishi H, Machida Y. Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. *Biomaterials*. 1999;20(2):175-182. doi:10.1016/S0142-9612(98)00159-8
157. Rao SB, Sharma CP. Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential. *J Biomed Mater Res*. 1997;34(1):21-28. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(199701)34:1<21::AID-JBM4>3.0.CO;2-P
158. Maruyama M, Ito M. In vitro properties of a chitosan-bonded self-hardening paste with hydroxyapatite granules. *J Biomed Mater Res*. 1996;32(4):527-532. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(199612)32:4<527::AID-JBM5>3.0.CO;2-T
159. kitosan jel tez marmara.pdf.
160. Wang X, Ma J, Wang Y, He B. Bone repair in radii and tibias of rabbits with phosphorylated chitosan reinforced calcium phosphate cements. *Biomaterials*. 2002;23(21):4167-4176. doi:10.1016/S0142-9612(02)00153-9

161. Hekim V, Tuygun F, Programi NER, Tez S, Prof MAN, Atasoy N. DİYABETİK YARALARIN İYİLEŞMESİNDE BAZI GLİKOZAMİNOGLİKAN MADDELERİN (KİTOSAN VE HYALURONAN) ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI DİYABETİK YARALARIN İYİLEŞMESİNDE BAZI GLİKOZAMİNOGLİKAN MADDELERİN (KİTOSAN VE HYALURONAN) ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI. 2014.



ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayın Prof. Dr. Hatice Nevin BÜYÜKAKYÜZ
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No:2018/ 49
Başvuru : 25.05.2018

Toplantı Tarihi : 31.05.2018

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Doktora Öğrencisi Dt. Reha GÜR'e** ait "Deneysel Olarak Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Kitosanın Oral Mukozadaki Yara İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	42
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	01.07.2018/01.12.2019	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof. Dr. Mustafa Oral ÖNCÜL
Üye

Prof. Dr. Alper OKYAR
Üye

Doç. Dr. Aygül EKİCİ
Üye

Doç. Dr. Uğur AKSU
Üye

Dr. Öğretim Üyesi Altan ARMUTAK
Üye

Dr. Öğretim Üyesi Aydın ÇEVİK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak.Yük. Müh
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlık katı A 221 nolu
Oda Avcılar –İSTANBUL TEL : (0 212) 4737070/ 17031 E mail: hadyek@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Reha	Soyadı	GÜR
Doğ.Yeri	Isparta	Doğ.Tar.	28/07/1990
Email	reha_gur@hotmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2020
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lisans	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lise	Özel Amerikan Robert Lisesi	2010

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	YDS Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	İyi		70

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	80,80	80,06	68,74

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Word	İyi
Microsoft Excel	İyi
Microsoft Powerpoint	İyi

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK SIÇANLARDA KİTOSAN'IN ORAL MUKOZADAKİ YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 19	% 16	% 6	% 10
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 4
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
3	www.turkjem.org İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to Altinbas University Öğrenci Ödevi	% 1
5	pharmacy.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	www.dergipark.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	Submitted to Fatih University	