

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

DOKTORA TEZİ

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK
SIÇANLARDA PENTOKSİFİLİN'İN ORAL
MUKOZADAKİ YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

MUSTAFA ERDEM YAZICI

**DANIŞMAN
PROF. DR. NEVİN BÜYÜKAKYÜZ**

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

İSTANBUL- 2019

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programında Doktora öğrencisi Mustafa Erdem YAZICI tarafından Prof. Dr. Hatice Nevin BÜYÜKAKYÜZ'ün danışmanlığında hazırlanan "Deneysel Olarak Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Pentoksifilin'in Oral Mukozadaki Yara İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 11 /10/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Danışman

Prof. Dr. Hatice Nevin BÜYÜKAKYÜZ
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Deniz FIRAT
İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Vakur OLGAC
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü
Tümör Patolojisi Bilim Dalı

Jüri

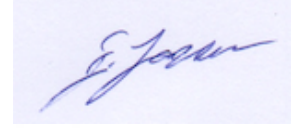
Doç. Dr. Hasan GARİP
Marmara Üniv. Diş Hek. Fak.
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Gühan DERGİN
Marmara Üniv. Diş Hek. Fak.
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

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.



Mustafa Erdem YAZICI

İTHAF



Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca mesleki bilgisini ve hayata dair tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocam sayın Prof. Dr. Nevin BÜYÜKAKYÜZ'e,

Tezimin histopatolojik değerlendirmeleri yapan İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı'nda öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Vakur OLGAÇ'a ve destekleri için labotavuvur teknisyeni sayın Mehmet BOZOĞLUNA'na,

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 yardım ve desteğini esirgemeyen arkadaşım Dt. Reha GÜR'e

Doktora eğitimim süresince klinik bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Dr. Esin İlkem KURU, Dt. Bertan BUYAN, Dt. Akın KAYGUN ve Dt. Osman ÖZER'e

en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
KISALTMALAR	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara İyileşmesi	3
2.2. Yara İyileşmesinin Evreleri	3
2.2.1. Hemostaz	3
2.2.2. İnflamasyon Evresi	4
2.2.3. Proliferasyon Evresi	5
2.2.4. Remodeling	7
2.3. Yara İyileşmesinin Türleri	8
2.3.1. Primer Yara İyileşmesi	8
2.3.2. Sekonder Yara İyileşmesi	9
2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	10
2.4.1. Lokal Faktörler	10
2.4.1.1. Oksijenasyon	10
2.4.1.2. Enfeksiyon	11
2.4.2. Sistemik Faktörler	12
2.4.2.1. Yaş	12
2.4.2.2. Stres	13
2.4.2.3. Diabetes Mellitus	13
2.4.2.4. Medikasyonlar	14
2.4.2.5. Sigara ve Alkol Kullanımı	15
2.4.2.6. Beslenme	16
2.5. Diabetes Mellitus	17
2.5.1. Tarihçe	17

2.5.2.	Diyabetin Etki Mekanizması.....	18
2.5.3.	Diabetes Mellitus Sınıflaması	19
2.5.3.1.	Tip 1 Diabetes Mellitus	19
2.5.3.2.	Tip 2 Diabetes Mellitus	19
2.5.4.	Diyabetin Komplikasyonları	20
2.5.4.1.	Akut Komplikasyonlar	20
2.5.4.2.	Kronik Komplikasyonlar	20
2.6.	Pentoksifilin	23
2.7.	Streptozotosin.....	24
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1.	Gereç.....	26
3.2.	Yöntem	27
3.2.1.	Streptozotosin(STZ) Solüsyonunun Hazırlanması ve Uygulanması	27
3.2.2.	Deney Grupları	28
3.2.3.	Cerrahi Uygulamalar.....	32
3.2.4.	Histopatolojik Yöntem	35
3.2.5.	İstatistiksel Yöntem.....	35
4.	BULGULAR	36
4.1.	Açlık Kan Şekeri Bulguları	36
4.2.	Vücut Ağırlığı Bulguları.....	38
4.3.	Histopatolojik Bulgular	41
4.4.	Işık Mikroskobu Değerlendirmeleri	47
5.	TARTIŞMA	53
6.	SONUÇ.....	63
	KAYNAKLAR.....	64
	ETİK KURUL KARARI	73
	ÖZGEÇMİŞ	74

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2- 1: Yara İyileşmesi Evreleri.....	3
Tablo 2- 2: Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler.....	10
Tablo 4- 1: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün ve 13.gün açlık kan şekeri düzeylerinin değerlendirilmesi	36
Tablo 4- 2: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün ve 20.gün AKŞ düzeylerinin değerlendirilmesi	37
Tablo 4- 3: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün, 13.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi	39
Tablo 4- 4: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün ve 20.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi	40
Tablo 4- 5: Gruplar arasında 3.gün ve 10.gün nekroz varlığı, iltihap şiddeti ve fibrozis şiddetinin değerlendirilmesi	41
Tablo 4- 6: Gruplarda ayrı ayrı 3.gün ve 10.gün arasında nekroz varlığı, fibrozis şiddeti ve iltihap şiddetinin değerlendirilmesi	43
Tablo 4- 7: Gruplar arasında 3.gün ve 10.gün yara açıklığının değerlendirilmesi	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2- 1: Yara İyileşmesinin zaman ile ilişkisi	6
Şekil 2- 2: Primer yara iyileşmesi şematik gösterimi.....	9
Şekil 2- 3: Sekonder yara iyileşmesi şematik gösterimi	9
Şekil 2- 4: Diyabetin Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi.....	14
Şekil 2- 5: Pentoksifilin kimyasal yapısı	23
Şekil 3- 1: 3 mm çapında tek kullanımlık punch biyopsi (Kai industries co. Ltd, Japan)	26
Şekil 3- 2: Pentoksifilin (Trentilin, Santa Farma İlaç Sanayi A.Ş., İstanbul,Türkiye)	27
Şekil 3- 3: Deney hayvanlarına STZ uygulaması.....	28
Şekil 3- 4: Deney Planı	30
Şekil 3- 5: Deney hayvanlarında operasyon bölgesinin ayarlanması	33
Şekil 3- 6: Sıçanların ağızlarının ekartörler yardımıyla açılması ve 3mm çapında yara oluşturulması	34
Şekil 4- 1: Gruplar arasında 0-3-13. gün AKŞ karşılaştırması	37
Şekil 4- 2: Gruplar arasında 0-3-20. gün AKŞ karşılaştırması	38
Şekil 4- 3: Gruplar arası 0-3-13. gün vücut ağırlığı karşılaştırması.....	39
Şekil 4- 4: Gruplar arası 0-3-20. gün vücut ağırlığı karşılaştırması.....	40
Şekil 4- 5: Gruplar arası 3 ve 10. gün yara açıklığı karşılaştırılması.....	45
Şekil 4- 6: Yüzeyi eksuda, debris örtmektedir altında yoğun iltihap hücresi infiltrasyonu içeren bağ dokusu görülmektedir.	47
Şekil 4- 7: Yara yüzeyinin 3. güne oranla daraldığı, epitelin kapatmadığı bölgeleri eksuda ve debris örttüğü izlenmektedir. Bunların altında, damardan zengin lenfosit, plazma hücresi, nötrofil ve eozinofil polimorf infiltrasyonu içeren aktif bağ dokusu dikkati çekmektedir.	48
Şekil 4- 8: Yüzeyde geniş bir alanda çok katlı yassı epitelyum ortadan kalkmıştır. Buraları eksuda ve debris örtmektedir. Bunların altında yoğun nötrofil ve eozinofil polimorf, lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu içeren liften bağ dokusu saptanmaktadır.....	49

- Şekil 4- 9: Yara bölgesinde yüzeyi büyük ölçüde eksuda ve debris örtmektedir. Bunun altında aktif fibröz bağ dokusu içinde yoğun yer yer foliküller oluşturan lenfosit infiltrasyonu vardır 50
- Şekil 4- 10: Yara bölgesinde çok katlı yassı epitelin ortadan kalktığı ve buraları eksuda ve debris örttüğü izlenmektedir. Bunların altında bağ dokusunun yüzeyel bölümlerinde yoğun olmak üzere nötrofil ve eozinofil polimorf, daha az sayıda lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu izlenmektedir 51
- Şekil 4- 11: Çok katlı yassı epitelin iki taraftan proliferasyon olarak yara yüzeyini kapatmaya başladığı görülmektedir. Defektin ortalarında yüzey epiteli yerine eksuda ve reaktif fibröz doku oluşturmaktadır. Diğer alanlarda genç mezenkim hücrelerinden oluşan aktif, damardan zengin fibröz bağ dokusu saptanmaktadır. 52

KISALTMALAR

ESM: Ekstrasellüler Matriks

α : Alfa

β : Beta

TGF- β : Transforming Growth Factor (Dönüştürücü Büyüme Faktörü)

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

MMP: Matriks Metalloproteaz

IFN- γ : İnterferon gama

FGF: Fibroblast Growth Factor(Fibroblast Büyüme Faktörü)

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome(Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu)

VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor(Vasküler Endotel Büyüme Faktörü)

TNF: Tumor Necrosis Factor (Tümör Nekroz Faktör)

GLUT: Glukoz Transporter

ROS: Reactive oxygen species (Reaktif Oksijen Türleri)

IL: İnterlökin

NSAİİ: Non Steroid Anti İnflamatuar İlaç

ATP: Adenosine Triphosphate(Adenozin Trifosfat)

MÖ: Milattan Önce

DM: Diabetes Mellitus

STZ: Streptozotosin

DNA: Deoksiribonükleik Asit

AKŞ: Açlık Kan Şekeri

Mg: Miligram

ml: Mililitre

dl: Desilitre

kg: Kilogram

M: Molar

Hg: Civa

ÖZET

Yazıcı ME. Deneyisel Olarak Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Pentoksifilin'in Oral Mukozadaki Yara İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ABD. Doktora tezi. İstanbul. 2019

Diabetes Mellitus, vücutta ciddi hasarlara yol açan bir endokrin sistem hastalığıdır. Sebep olduğu vasküler komplikasyonlar yara iyileşmesine etki etmektedir. Pentoksifilin, periferik vazodilatör ilaç olarak, diyabetin neden olduğu damarsal komplikasyonların sonucunda, organlarda meydana gelen hasarları gidermek için kullanılmaktadır. Çalışmamızın amacı, diyabetin oral mukozaya olan etkisi ve oral mukozada meydana gelen yaralarda pentoksifilin'in katkısını incelemektir. Çalışmamızda 36 adet Sprague Dawley soyu sıçan kullanılmıştır. Deneklerin 24 tanesine intraperitoneal yolla 55mg/kg dozunda Streptozotosin uygulanarak diyabet indüksiyonu sağlanmıştır. 7 gün beklendikten sonra cerrahi operasyon aşamasına geçilerek, deney hayvanlarının sol yanak içi mukozasında tek kullanımlık biyopsi punch aletiyle 3mm çapında yara oluşturulmuştur. Yara iyileşmesi 3 ve 10. günlerde değerlendirmeye alınmıştır. Histopatolojik incelemelerde nekroz, iltihap, fibrozis ve yara açıklığı parametrelerine bakılmıştır. Diyabet+Pentoksifilin(DP) grubu, kontrol grubu ile kıyaslandığında, 10. gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur($p<0,05$). DP grubunda, grup içi kıyaslamalarda 3.günde orta ve şiddetli düzeyde iltihap görülme oranları, 10. gün ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur($p<0,05$). Yara açıklığı değerlendirmelerinde diyabet grubunun, 10. günde diğer gruplardan daha yüksek bir yara açıklığına sahip olduğu tespit edilmiştir($p<0,05$).

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

ABSTRACT

Yazici ME. Histopathological Investigation of the Effect of Pentoxifylline 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. 2019

Diabetes Mellitus (DM) is an endocrine system disease that causes serious damage to the body. Vascular complications caused by DM may effect wound healing. Pentoxifylline is used as a peripheral vasodilator drug to eliminate damage to organs as a result of vascular complications caused by diabetes. The aim of this study is to investigate the effect of diabetes on oral mucosa and the effect of pentoxifylline on oral mucosa. In our study, 36 Sprague Dawley rats were used. Diabetes induction was achieved by administering 55 mg / kg Streptozotocin intraperitoneally to 24 of the subjects. After waiting for 7 days, surgical operation was started and a 3mm diameter wound was created in the left cheek mucosa of the experimental animals with disposable biopsy punch instruments. Wound healing was evaluated on days 3 and 10. Histopathological examinations revealed necrosis, inflammation, fibrosis and wound opening parameters. Diabetes + Pentoxifylline (DP) group compared to the control group, a statistically significant difference was found in terms of severity of inflammation on the 10th day ($p < 0.05$). In the DP group, moderate and severe inflammation rates on day 3 were found to be statistically higher than day 10 ($p < 0.05$). In the wound opening evaluations, the diabetic group had a higher wound opening on the 10th day than the other groups (< 0.05).

Key Words: Diabetes Mellitus, Pentoxifylline, Wound Healing, Mouth Mucosa, Rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri, mukoza yüzeylerinin bütünlüğünün bozulmasıyla yara meydana gelmektedir. Yaranın oluşmasıyla birçok hücresel ve hücre dışı metabolik yollar aktive olur. Her bir aşaması karmaşık ve birbiriyle ilişkisi olan bu yolların düzenli şekilde çalışmasıyla, yara iyileşmesi süreci tamamlanarak doku bütünlüğü yeniden sağlanır. Yara iyileşmesi temelde dört aşamadan meydana gelmektedir: Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve remodeling. Bu aşamaları etkileyen lokal veya sistemik faktörler yara iyileşmesinin bozulmasına sebep olmaktadır(1).

Diabetes Mellitus, vücudun kan glikoz seviyesini düzenleyemediği bir metabolizma hastalığı olarak dünya çapında sıkça görülür. Kan glikoz seviyesinin dengesizliği vücutta birçok komplikasyona yol açmaktadır. Dolayısıyla vücutta oluşan yaralar da diyabetten etkilenmektedir. Diyabetin meydana getirdiği komplikasyonları düzeltmek amacıyla çalışmalar devam etmektedir (2).

Metil ksantin türevi bir ilaç olan pentoksifilin, periferik damarları genişleterek kan akışını artırır. Pentoksifilin, diğer periferik vazodilatörlerden farklı olarak kan viskozitesine etki ederek kanın daha akışkan olmasına yol açar. Böylece yara bölgesine ulaşan oksijen miktarı artar. Pentoksifilin; daha çok diyabetin sebep olduğu nefropati, nöropati, retinopati gibi ciddi komplikasyonların tedavisinde araştırılmış ve kullanılmıştır. Yara iyileşmesine olan etkilerinin incelenmesi için çoğunlukla deney hayvanları kullanılmış ve bu sebeple yara bölgesi olarak hayvanların sırt derileri tercih edilmiştir (3).

Yara iyileşmesinde mukoza ve kütanöz yaralar temel olarak aynı aşamaları takip ederler. Fakat oral mukozadaki yaralar, derideki yaralarla kıyaslandığında daha hızlı ve en az skar dokusu oluşumu ile iyileşmektedir. Oral mukoza; tükürük, mikroorganizmalar gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (4,5).

Çalışmamızda diyabetik deney hayvanlarında meydana gelen oral mukoza yaralarında pentoksifilinin iyileşmeye olan etkisini incelemeyi amaçladık.

Bu amaçla, sıçanlarda diyabet oluşturmak için sıklıkla başvurulmuş bir yöntem olan STZ kullandık. Diyabetin neden olduğu yüksek kan viskozitesinin yara bölgesine giden kan akışını etkilediği hipotezine dayanarak, pentoksifilin yara iyileşmesine olan etkilerini araştırdık. Mukoza ve deride meydana gelen yaralar arasındaki farkı da göz önünde bulundurarak, literatürde üzerinde fazla çalışma yapılmamış, diyabetik sıçanların oral mukozasında yara meydana getirerek pentoksifilin etkinliğini inceledik.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi; kemotaksis, fagositoz, mitojenez ve göç gibi çeşitli hücrel aktiviteleri içeren bir süreçtir. Oral mukoza ve deride yara iyileşmesi genel hatlarıyla aynı süreçlerden geçer: Hemostazis, inflamasyon evresi, proliferasyon evresi ve yeniden şekillenme(remodeling) evresi (Tablo 2-1) (1).

EVRE	HÜCRESEL VE BİOFİZYOLOJİK OLAYLAR
Hemostaz	1. Vasküler daralma 2. Trombosit agregasyonu, Fibrin oluşumu(Trombus)
İnflamasyon	1. Nötrofil infiltrasyonu 2. Monosit infiltrasyonu ve Makrofaja dönüşüm 3. Lenfosit infiltrasyonu
Proliferasyon	1. Reepitelizasyon 2. Anjiogenezis 3. Kollajen sentezi 4. ESM oluşumu
Yeniden şekillenme	1. Kollajen şekillenmesi 2. Vasküler olgunlaşma

Tablo 2- 1: Yara İyileşmesi Evreleri

2.2. Yara İyileşmesinin Evreleri

2.2.1. Hemostaz

Doku yaralanması; mikrovasküler yaralanma ve kanın yara bölgesinde damar dışına çıkması ile karakterizedir. Yapısal bütünlüğün bozulması koagülasyon sürecini başlatır ve damar duvarları daralır. Trombositlerin agregasyonu ve pıhtı formasyonu ile daha fazla kan kaybının meydana gelmesi

önlenir. Pıhtı içinde hapsolmuş trombosit, hemostaz ve normal inflamatuvar yanıt için gereklidir. Trombositlerin bozulması ile alfa granülleri açığa çıkar ve iyileşme için gerekli olan büyüme faktörleri salgılanır:

- Trombosit Türevi Büyüme Faktörü
- İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü-1
- Epidermal Büyüme Faktörü
- Transforming Büyüme Faktörü- β
- Trombosit Faktör IV

Bu proteinler fibroblast, endotel hücreleri ve makrofajları aktive ederek yara iyileşmesi sürecini başlatır. Fakat iyileşme yara bölgesinde hiç hemoraji olmasa da başlayabilir. Pıhtı (içeriğinde fibrin, fibronektin, vitronektin, von Willabrand faktör, trombospondin bulunan) hücre göçü için geçici bir matriks oluşturur. Trombositlerin yoğun yapısında ayrıca mikrovasküler geçirgenliği arttıran ve ekstrasellüler alana eksudasyon geçişini sağlayan vazoaktif aminler bulunur (6).

Hemostasis, kan kaybını sınırlayan trombosit agregasyonu ve pıhtı formasyonu ile başlar. Trombositlerin yıkımı ile α granülleri salınarak çeşitli büyüme faktörlerini tetikler. Bu proteinler nötrofiller, endotel hücreleri ve makrofajları aktive ederek yara iyileşmesi sürecini başlatır. Trombositlerin degranülasyonu serotonin gibi vazoaktif aminleri de serbestleyerek mikrovasküler geçirgenliği artırır. Bunun sonucunda da doku ödemi oluşuran ekstrasellüler boşluğa sıvı geçişi meydana gelir. Böylece inflamasyon aşaması başlar (7).

2.2.2. İnflamasyon Evresi

İnflamasyon evresi genellikle 3-5 gün arası sürer. Doku travması ve lokal kanama, faktör XII'yi aktive eder. Faktör XII (hageman faktörü) yara iyileşmesinde gerekli olan plazminojen, kinin ve pıhtılaşma sistemi için gerekli olan molekülleri uyarak iyileşmeyi başlatır. Dolaşımdaki trombositler hızlıca yara bölgesinde toplanır. Birbirlerine ve açığa çıkmış vasküler subendotelyal kollajene yapışırlar.

Böylece fibrin matriks içinde bir trombosit tıkaçı oluşur. Oluşan pıhtı, hemostazi sağlar ve yara iyileşmesi sırasında gerekli hücrelerin göç etmesi için geçici matriks görevi görür. Trombositlerin yıkımıyla ortaya çıkan sitokinler, büyüme faktörleri açısından kaynak görevi görür ve TGF- β , Trombosit Türevi Büyüme Faktörü (PDGF), Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) sonraki yara iyileşme basamaklarını düzenler (8).

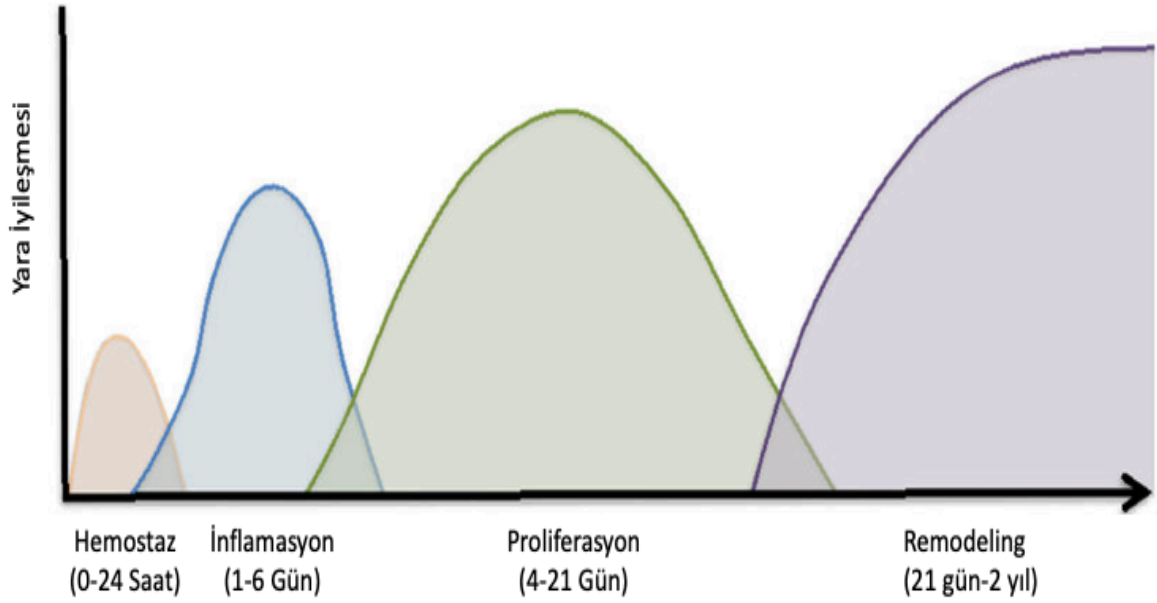
Yaralanmanın olduğu ilk 24 saat içinde polimorfonükleer lökositlerin göçünü uyaran bir dizi ajanlar salınır. Nötrofiller damar içindeki endotel hücrelerine yapışır. Bu olaya marjinyasyon denir. Ardından damar duvarından geçerler. Yaranın olduğu bölgeye geldiklerinde nötrofiller, proteolitik enzimler ve reaktif oksijen ürünleri üreterek bakterileri de içeren eksojen materyalleri fagosite ederler. Böylece nötrofiller enfeksiyonu engellemek için hızlıca bakteri kontaminasyonunu azaltırlar (9).

İnflamasyonun geç evrelerinde (>72 saat) monositler yara bölgesine göç ederler. İnflamasyon evresinde yara ortamında ayrıca immunglobulinler, ekstrasellüler yıkım ürünleri, sitokinler/büyüme faktörler ve diğer inflamatuvar mediatörler bulunur (Trombosit faktör IV, PDGF ve TGF- β). Yara bölgesindeki monositler 48-72 saat aralığında fenotipik bir değişim geçirerek makrofajları oluşturur. Makrofajlar fagositoz özelliklerine ilave olarak anjiogenez için gerekli olan endotel hücrelerinden ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunda görevli büyüme faktörlerinin üretilmesinden sorumludur. Makrofajlar ayrıca yaradaki debridmanı temizleyen Matriks Metalloproteinaz (MMPs) gibi proteolitik enzimleri de üretirler (10).

2.2.3. Proliferasyon Evresi

Proliferasyon evresi yaranın oluşmasını takiben yaklaşık 4. günde başlar (Şekil 2-1). Hastanın genel sağlığına ve yaranın boyutuna göre genelde 21. güne kadar devam eder. Bu evre anjiogenezis, kollajen sentezi, granülasyon dokusu oluşumu, yara kontraksiyonu ve epitelizasyon ile karakterizedir. Yara iyileşmesinde gerekli olan kollajen sentezi, fibronektin ve diğer temel materyaller IFN- γ ve TGF- β gibi sitokinlerin kontrolünde fibroblastlar tarafından salgılanır. Yeni oluşan matriks yapısı yaradaki boşlukları doldurarak yaranın mekanik olarak

güçlenmesini sağlar. Ardından kollajen sentezi bütün yara boyunca yükselirken fibroblast proliferasyonu da azalmaya başlar. Böylece ekstrasellüler matriksin sentezi ve yıkımı arasında denge sağlanır.



Şekil 2- 1: Yara İyileşmesinin zaman ile ilişkisi (11)

Proliferasyon evresinin son basamağı akut granülasyon dokusu oluşumudur. Aynı zamanda remodeling evresinin başlangıcıdır. Fibrin/fibronektin içerikli doku olgunlaşarak skar üretimi oluşabilir. Bu doku yüksek yoğunluklu fibroblast, granülosit, makrofaj, kapiller damarlar ve gevşek biçimde organize olmuş kollajen demetlerinden oluşur. İçerdiği yüksek sayıdaki hücresel içerikten dolayı granülasyon dokusu olarak isimlendirilir. Bu aşamada anjiogenezis henüz tamamlanmamıştır. Granülasyon dokusu yüksek oranda vaskülarizedir. Kırmızı bir görünümü vardır ve kolayca travmaya uğrayabilir. Ekstrasellüler matriks formasyonu başka bir önemli basamağı oluşturur. İçerdiği hücrelerin farklılaşması, büyümesi ve hücre adhezyonu gibi önemli görevlerde bulunur. Proliferasyon evresinin sonunda olgunlaşmış fibroblastların sayısı myofibroblast farklılaşmasıyla azalır ve ardından gelen apoptozis ile son bulur (12).

2.2.4. Remodeling

Ekstrasellüler matriksin sentezi ve şekillenmesi granülasyon dokusunun gelişmesi ile eş zamanlı olarak başlar ve uzayan periyodlarla devam eder. Kollajen sentezinin yapımı ve yıkımı devam ederek ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesi sağlanır. Yaranın oluşumundan yaklaşık 21 gün sonra kollajenin yapım ve yıkımı azalarak daha sabit bir duruma geçer. Fibroblastlar ve onları çevreleyen ekstrasellüler matriks arasındaki etkileşimler boyunca yara kontraksiyonu meydana gelir. Bu değişim, TGF- β , PDGF ve FGF gibi sitokinler tarafından sağlanır.

Kollajenin yıkımı, yara bölgesindeki fibroblastlar, nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilen özel metalloproteinaz enzimleri ile meydana gelir. Metalloproteinazların düzenlenmesi büyüme faktörleri, sitokinler tarafından yönetilir. Metalloproteinazların içeriğinde:

- Fibriler kollajeni tip I,II ve III'e ayıran interstisyel kollajenaz,
- Amorf kollajen ve fibronektin yıkımını sağlayan jelatinaz (tip IV kollajenaz)
- Proteoglikan, laminin, fibronektin ve amorf kollajen içeren ekstrasellüler matriks bileşimlerinin yıkımını sağlayan stromelisinler bulunur.

Metalloproteinazların aktivitesi sıkı bir şekilde ayarlanır. Çünkü onların esansiyel kollajenleri yıkma potansiyeli vardır. Böyle bir durumda da bozuk bir yara iyileşmesi meydana gelir.

Metalloproteinazlar öncelikle inaktif şekilde bulunurlar. Etki gösterebilmeleri için sadece yara bölgesinde meydana gelen plazmin gibi belirli proteazların bulunması gereklidir. Ayrıca aktive olmuş kollajenazlar birçok mezenkimal hücreden üretilen özel doku inhibitörü görevi gören metalloproteinazlar tarafından inhibe olur.

Remodeling evresinin ilerleyen zamanlarında metalloproteinaz aktivitesi azalır ve metalloproteinazların doku inhibitör aktivitesi artar. Makrofaj ve

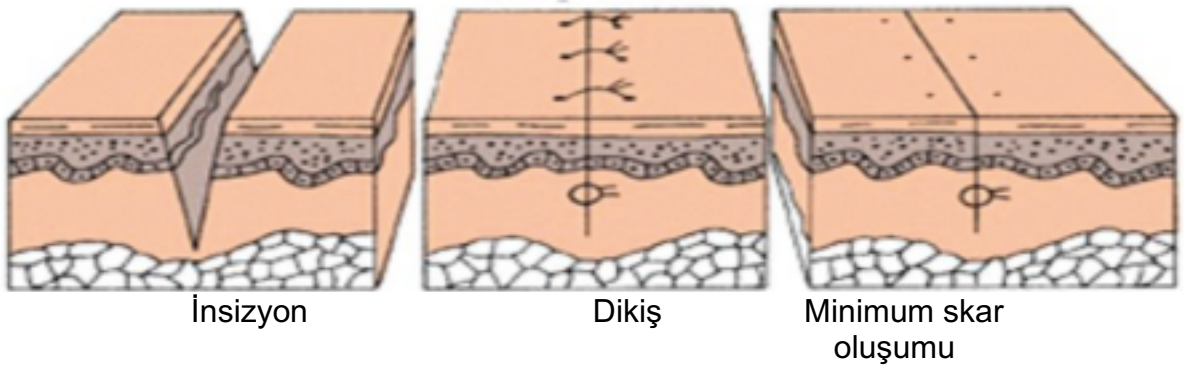
fibroblast yoğunluğu düşer. Damarlanma azalır. Bunun sonucunda da kan akışı ve metabolik aktivite düşer. Bağ dokusunun boyutunda azalma olur. Sonunda granülasyon dokusu değişim geçirerek avasküler bir skar dokusuna dönüşür. İçeriğinde büyük miktarda inaktif fibroblastlar, yoğun kollajen bulunur. Skar dokusu olgunlaştıkça fibronektin ve hyalüronik asit azalır, kollajen demetlerinin çapı artar. Yaranın dayanıklılığı artar. Fakat yara oluşmadan önceki orijinal kuvvetine ulaşamaz. Kollajen demetleri en fazla, yara oluşmadan önceki duruma kıyasla %80 oranında bir çekme gücüne sahip olur (13).

2.3. Yara İyileşmesinin Türleri

2.3.1. Primer Yara İyileşmesi

Primer yara iyileşmesi, yara oluşuktan 12-24 saat içinde kapatılırsa oluşur. Yara kenarları dikişler, doku yapıştırıcıları veya mekanik aletler kullanılarak birbirine yaklaştırılır. İnsizyon, epitelyal bazal membranın devamlılığın bozulmasına ve buna bağlı olarak birkaç epitel ve bağ dokusu hücrelerinin ölümüne sebep olur. Sonuç olarak epitel rejenerasyonu fibrosizi baskın çıkarır. Ayrıca iyileşmenin bütün evreleri arasında uygun bir denge olduğu için yara iyileşmesi hızlı ve güzel bir şekilde ilerler (Şekil 2-2).

Gecikmiş primer iyileşme yaranın kontamine olmasıyla veya bir enfeksiyonu engellemek için belirli bir süre açık bırakılmış yaralarda meydana gelir. Deri ve subkutanöz dokular konak savunmasının yarayı temizlemesine imkan verecek ölçüde bir süre açık bırakılır. Ardından yara kapatılır. 3-4 gün sonra yara bölgesinde lokal olarak bulunan fagositik hücreler ve enflamatuar hücreler kontamine yara bölgesini bakterilerden arındırır (6).

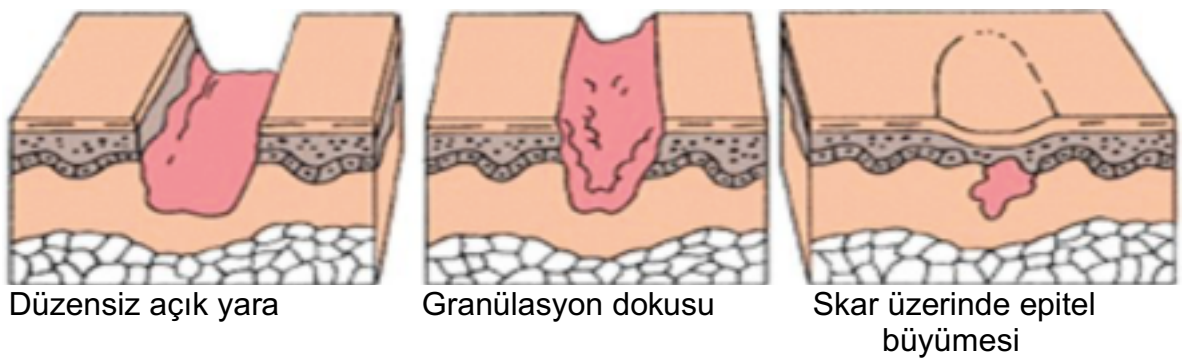


Şekil 2- 2: Primer yara iyileşmesi şematik gösterimi

2.3.2. Sekonder Yara İyileşmesi

Sekonder yara iyileşmesi büyük travmalar, aşırı yanıklar ve bazı cerrahi işlemler sonrası meydana gelen geniş çaplı yumuşak doku kayıplarında oluşur (Şekil 2-3).

Epitel rejenerasyonu yara bölgesini tek başına dolduramaz. Böyle bir durumda yara kenarlarından granülasyon doku büyümesi meydana gelir. Takiben kollajenin altında yatan ekstrasellüler matriks birikimi olur. Bu tarzda açık yaralar, yara kontraksiyonu ve epitalizasyon ile kapanırlar. Örneğin deride oluşan büyük defektler kontraksiyon sonucu 6 hafta içinde orijinal boyutundan %5-10 kaybederek iyileşirler. Sekonder yara iyileşmesinde fibroblastlar ve düz kas hücreleri arasında bulunan miyofibroblast hücreleri anahtar rol oynar. Miyofibroblastlar yara oluşumundan 3 gün sonra ortaya çıkar ve azami sayıya 10-21. gün arasında ulaşır (6).



Şekil 2- 3: Sekonder yara iyileşmesi şematik gösterimi

2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak iki grupta incelenmektedir. Lokal faktörler doğrudan yaraya etki eder. Sistemik faktörler; hastanın genel sağlık durumunu etkileyerek, iyileşme kapasitesini düşürerek etki eder (Tablo 2-2).

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Oksijenasyon Enfeksiyon Yabancı cisim Venöz yeterlilik	Yaş ve cinsiyet Hormonlar Stres İskemi Hastalıklar: Diyabet, keloid, fibrozis, hereditör iyileşme bozuklukları, üremi Obezite Medikasyonlar: Glukokortikosteroidler, NSAİİ, kemoterapi Alkol ve sigara İmmün sistemi baskılayan durumlar: Kanser, radyasyon terapisi, AIDS Beslenme

Tablo 2- 2: Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler

2.4.1. Lokal Faktörler

2.4.1.1. Oksijenasyon

Oksijen, hücre metabolizması için önemlidir ve hemen hemen bütün yara iyileşmesi sürecinde kritik bir role sahiptir. Yarayı enfeksiyondan korur, angiogenezisi indükler, keratinositlerin farklılaşmasını, migrasyonunu ve reepitelizasyonu artırır. Fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırır. Yaranın kontraksiyonunu destekler (14, 15).

Damarsal bozulma ve metabolik olarak aktif olan hücrelerden dolayı oksijen tüketiminin yüksek olması, yara bölgesinin erken dönemde oksijenden mahrum kalmasına ve sonuçta hipoksiye yol açar. İlerlemiş yaş ve diyabet gibi çeşitli sistemik durumlar bozulmuş vasküler akışa sebep olur. Böylece dokuda yeterli oksijen sağlanmamış olur. Azalmış perfüzyon hipoksik bir yara oluşturur. Kronik yaralar belirgin derecede hiposiktir. Kronik yaralardaki doku oksijen basıncı transkütanöz olarak ölçüldüğünde 5-20mm Hg olarak ölçülürken, bu seviye kontrol grubu dokularda 30-50 mm Hg aralığında olmaktadır (16).

Oksijenin yeniden sağlanamadığı yaralarda yara iyileşmesi süreci bozulur. Yaranın oluşmasını takiben geçici olarak hipoksi olması yara iyileşme sürecinin başlangıcını tetikler. Fakat kronik hipoksi durumu veya oksijenin uzun süre yara bölgesine ulaşmaması yara iyileşmesini geciktirir (1). Akut yaralarda hipoksi, yara iyileşmesi sürecinin birçok yönünü stimüle eden bir sinyal gibi davranır. Hipoksi; makrofaj, keratinosit ve fibroblastlardan salgılanan sitokin ve büyüme faktörlerini indükler. Hipoksiye cevap olarak üretilen sitokinler PDGF, TGF- β , VEGF, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), ve endotelin-1'i içerir ve bu sitokinler yara iyileşmesine hücre proliferasyonu, hücre göçü, kemotaksis, angiogenezisde önemli rol oynarlar (15).

Normal yara iyileşmesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit (O_2) gibi Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'nin yara iyileşmesi ile ilgili anahtar faktörleri stimüle eden hücrel mesajcılar olarak rol oynadıkları düşünülmektedir. Hem hipoksi hem de hiperoksi durumlarında ROS ürünlerinin miktarı artar. Fakat artan ROS seviyesi yararlı olan sınırı geçerek ilave doku hasarına sebep olur.

Uygun oksijen seviyesi optimum yara iyileşmesi için elzemdir. Hipoksi yara iyileşmesinde görev alan büyüme faktörleri ve angiogenezisi stimüle ederken, oksijen de yara iyileşmesinin devam etmesi için gereklidir (15).

2.4.1.2. Enfeksiyon

İnflamasyon, yara iyileşmesi sürecinin normal bir adımıdır ve mikroorganizma kontaminasyonunun temizlenmesinde önemlidir. Etkili bir dekontaminasyon eksikliğinde inflamasyon uzayabilir. Bunun sonucunda

mikrobiyal temizlik tamamlanmamış olur. Hem bakteriler hem de endotoksinler interlökin-1(IL-1) ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışı uzun süre devam ettirerek inflamasyon aşamasını uzatırlar. Bu durum devam ederse yara kronikleşir ve iyileşme başarısız olur. Uzayan inflamasyon aşaması matriks metalloproteaz seviyesinin artmasına sebep olur. Artan proteaz içerik ile birlikte doğal olarak oluşan proteaz inhibitörlerinin seviyesi azalır. Diğer enfektif süreçlere benzer şekilde enfekte olmuş yarada bakteriler, kendi ekstrasellüler polisakkarit matrikslerini salgılayıp, bakterilerin toplanmasıyla kompleks bir yapıya sahip biofilm formunda bulunurlar. Olgunlaşmış biofilmler korunmuş bir mikroçevre yaratarak konvansiyonel antibiyotik tedavisine karşı dirençli bir yapıya dönüşür. Staphylococcus aureus (S. Aureus), Pseudomonas aeruginosa (P. Aeruginosa), ve β hemolitik streptokoklar enfekte yaralarda bulunan başlıca mikroorganizmalardır (17).

2.4.2. Sistemik Faktörler

2.4.2.1. Yaş

Yaşlı popülasyon (60 yaş üstü), diğer yaş gruplarına göre daha hızlı büyümektedir ve artan yaş bozulmuş yara iyileşmesi için büyük bir risk faktörüdür. Birçok klinik ve hayvan çalışması, hücresel ve moleküler seviyede yaşa bağlı değişikliklerin, yara iyileşmesi gecikmesindeki rolünü incelemek amacıyla yapılmıştır. Sonuçlara göre sağlıklı yaşlı bireylerde yaşlanmanın yara iyileşmesinde geçici olarak geciktirici bir faktör olmasına karşın yara iyileşmesinin kalitesinde herhangi bir fark bulunmamıştır (18, 19).

Yaşlı ve genç fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yaşlı farelerde gecikmiş reepitelizasyon, kollajen sentezi ve anjiogenezis gözlemlenmiştir (20).

Yaşa bağlı yara iyileşmesinde meydana gelen bozulmasının önüne geçmek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. İlginç bir şekilde, egzersiz yapmanın yaşlı bireylerde ve yaşlı farelerde kutanöz yara iyileşmesine olumlu etki yaptığı görülmüştür. Bu etkinin sebebinin egzersize bağlı olarak indüklenen anti-inflamatuvar yanıt olduğu düşünülmüştür (19, 21).

2.4.2.2. Stres

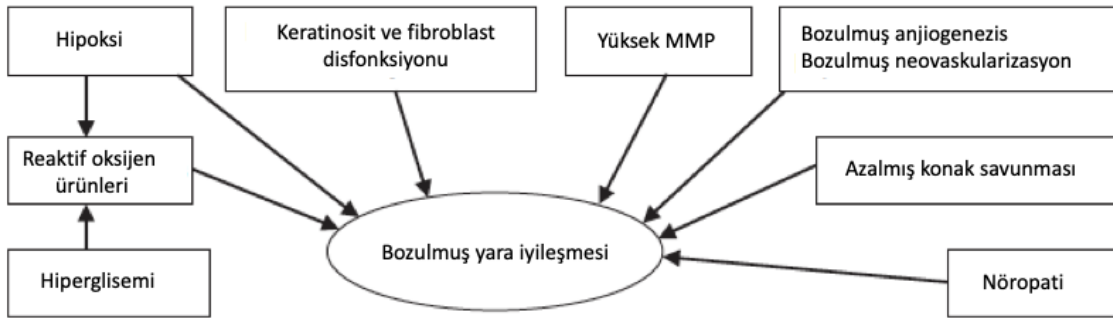
Stres, insan sağlığı ve sosyal davranışlar üzerine büyük bir etkiye sahiptir. Kardiovasküler hastalık, kanser ve diyabet gibi birçok hastalık stres ile ilişkilidir.

Hem insan hem de hayvan çalışmaları, psikolojik stresin yara iyileşmesinde büyük miktarda gecikmeye sebep olduğunu göstermiştir. Stres, yara bölgesinde iyileşmenin başlangıç inflamatuvar fazı için gerekli olan kemoatraktanlardan IL-1 α ve IL-8 ekspresyonunu azaltmaktadır. Ayrıca glukokortikoidler immun hücrelerin farklılaşmasını ve proliferasyonunu baskılar. Bu yüzden psikolojik stres yara bölgesindeki normal hücre aktivasyonunu engeller ve yara iyileşmesinde gecikmeye sebep olur (22, 23).

2.4.2.3. Diabetes Mellitus

Diyabet dünya çapında yaklaşık yüz milyon insanı etkilemektedir. Diyabet hastaları akut yara iyileşmesinde bozulmalarla karşılaşmaktadır. Dahası diyabet hastalarının yaklaşık %15'i kronik, iyileşmeyen diyabetik ayak ülserine yatkındır. Diyabetik ayak ülseri, diyabetin ciddi bir komplikasyonudur ve hastaların yaklaşık %84'ünde bacağın dizden aşağısının amputasyonu ile son bulur. Hem diyabetik ayak ülserinde hem de akut kütanöz yaralarda çoklu karmaşık patofizyolojik mekanizmalar rol alır. Venöz akışta bozulma ve kronik yaralarda hipoksi meydana gelir. Uzayan hipoksi süreci yara iyileşmesinde önemli olan perfüzyon ve angiogenezisde yetersizliğe sebep olur. Hipoksi sonucunda inflamatuvar süreç uzar ve dokudaki oksijen radikallerinin seviyesi artar (2).

Diyabetik yaralarda hücre fonksiyonlarında çeşitli düzensizlikler vardır. T hücrelerde, lökosit kemotaksisi, fagositozda düzensizlikler vardır. Bu düzensizlikler sonucunda bakterilerin yara ortamından uzaklaştırılması yeterli düzeyde gerçekleştirilmez ve diyabet hastalarında bozulmuş bir yara iyileşmesine sebep olur (Şekil 2-4) (24).



Şekil 2- 4: Diyabetin Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi (1)

2.4.2.4. Medikasyonlar

Sistemik glikokortikosteroidler, fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini içeren hücrel yara iyileşmesini baskılayan antiinflamatuvar etkileriyle bilinen ilaçlardır. Sistemik steroidler yara iyileşmesinde tamamlanmamış granülasyon dokusuna ve azaltılmış yara kontraksiyonuna sebep olurlar (25).

İbuprofen gibi Non steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) inflamasyon, romatoid artrit ve ağrı tedavisinde büyük oranda kullanılmaktadır. Kısa dönem NSAİİ'lerin kullanımın yara iyileşmesine olumsuz etkisinin olduğunu gösteren yeterli kanıt bulunmamaktadır. Fakat uzun dönem kullanımının yara iyileşmesine etkisi tartışmaya açıktır. Hayvan modellerinde İbuprofenin sistemik kullanımının yara iyileşmesi üzerinde anti-proliferatif bir etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda fibroblast sayısında azalma, dokunun kuvvet kazanımında azalma, düşük yara kontraksiyonu, gecikmiş epitelizasyon görülmüştür (26-28).

Kemoterapötik ilaçlar hücrel metabolizmayı, hızlı hücre bölünmesini ve anjiogenezisi inhibe etmek üzerine tasarlanmıştır. Dolayısıyla bu mekanizma yara iyileşmesi için kritik olan yolları da etkilemektedir.

Kemoterapi nötropeni, anemi ve trombositopeniyi indükler ve yarayı enfeksiyona karşı savunmasız hale getirir. Ayrıca yara bölgesinde kanın pıhtılaşmasını da zorlaştırır.

Yeni jenerasyon tümör kemoterapötiklerinden olan anjiogenes inhibitörleri- bevacizumab gibi- VEGF'yi nötralize eder. Bu tedaviler tümörü

besleyen kan akışını sınırlamak için geleneksel kemoterapötiklerle birlikte kullanılarak tümörün büyümesinin önüne geçilmeye çalışılır. (29).

2.4.2.5. Sigara ve Alkol Kullanımı

Klinik kanıtlar ve hayvan çalışmaları, açık yaranın alkole maruz kalmasının yara iyileşmesinde bozulmaya sebep olduğu ve enfeksiyona yatkınlığı arttırdığını göstermiştir (30, 31). Enfeksiyona yatkınlığın dışında etanole maruz kalmanın iyileşmenin proliferatif fazını etkilediği görülmektedir. İyileşmede görülen en belirgin bozulma anjiogenesiz üzerinde olmaktadır. Etanolun sebep olduğu vaskularizasyonun azalması, hipoksiye ve oksidatif strese sebep olmaktadır. Etanole akut şekilde maruz kalmak, bağ dokusu restorasyonunu etkileyerek kollejen üretimini ve yara bölgesindeki proteaz dengesini bozar (32)

Sigaranın kalp ve damar hastalıkları, kronik akciğer hastalığı ve birçok kanser türünde risk faktörü olduğu iyi bilinmektedir. Benzer olarak sigaranın yara iyileşmesi üzerine etkisi de uzun süredir bilinmektedir (33-35). Post operatif dönemde sigara içen hastalarda yara iyileşmesinde enfeksiyon, yaranın açılması, yaranın veya flebin nekroz olması ve yara geriliminde azalma gibi komplikasyonlar gözlemlenmektedir (35, 36). Oral cerrahi alanında sigara içen hastalarda yapılan rutin oral cerrahi işlemlerinde veya dental implant cerrahisinde, bozulmuş yara iyileşmesiyle karşılaşmaktadır (37, 38).

Birçok çalışma sigarada bulunan nikotin, karbonmonoksit ve hidrojen siyanid üzerinde yoğunlaşmaktadır. Nikotin muhtelemen hücreye giden oksijeni azaltarak iskemiye sebep olmaktadır. Ayrıca vazokonstrüktif etki ile yaraya giden kan akışını da azaltmaktadır (35, 39). Nikotin sempatik sinir sistemini stimüle eder. Bunun sonucunda epinefrin salgılanır. Epinefrin ise periferik vazokonstriksiyona sebep olur. Bu da dokunun kanlanması azaltır. Nikotin ayrıca fibrinolitik aktiviteyi azaltarak ve trombositlerin agregasyonuna sebep olarak kanın viskozitesini artırır. Nikotinin etkilerine ek olarak karbonmonoksit de dokuda hipoksiye sebep olur. Karbonmonoksit hemoglobine oksijenden 200 kat daha fazla afinite gösterir. Bunun sonucunda ise kan dolaşımında oksijen yetersizliği görülür.

Sigaranın bilinen diğ er bir maddesi hidrojen siyanid h ücresel oksijen metabolizmasında bozulmaya yol açar. Bunun sonucunda da dokuda yeterli oksijen bulunmaz. İyileşmenin inflamatu ar aşamasında, sigara beyaz h ücre migrasyonunda bozulmalara sebep olarak yara bölgesinde daha az sayıda monosit ve makrofaj bulunmasına yol açar. Nötrofillerin bakterisidal aktivitesi düşer. Lenfosit fonksiyonu, doğal katil h ücrelerinin sitotoksitesisi ve IL-1  retimi baskılanır. Bu etkiler sonucunda yara iyileşmesi yeterli olmaz ve yara fırsatçı enfeksiyonlara yatkın olur (35, 40).

2.4.2.6. Beslenme

100 yıldan fazladır beslenme yara iyileşmesinin en önemli faktörlerinden biri olarak tanımlanmaktadır. Travma veya cerrahi operasyon sonrasında malnutrisyon veya beslenme bozuklukları yara iyileşmesini etkilemektedir.

Yağlarla beraber, karbonhidratlar yara iyileşmesi sürecinin birincil enerji kaynağını oluşturmaktadır. Yeni doku oluşumu ve anjiogenezis için gerekli olan h ücresel ATP'nin üretilmesinde kullanılan glikoz, h ücreler için başlıca enerji kaynağıdır. ATP sentezinde kullanılan glikoz diğ er aminoasit ve protein yapıtaşlarının kullanılmasını engellemesi açısından gereklidir (41).

Protein yara iyileşmesini etkileyen en önemli besin kaynağından biridir. Protein eksikliği kapiller yapıda, fibroblast proliferasyonunda, proteoglikan sentezinde, kollajen sentezinde ve yaranın yeniden şekillenmesinde bozukluklara yol açar. Protein eksikliği ayrıca immun sistemi etkileyerek lökosit fagositozunda azalmaya ve enfeksiyona yatkınlıkta artışa neden olur (41).

Kollajen, bağ dokusunun en büyük protein komponentidir. Glisin, prolin ve hidroksiprolinden oluşur. Kollajen sentezi için lizin ve prolinin hidroksilasyonu gereklidir. Bunların yanında kofaktör olarak ferröz demir ve C vitaminine ihtiyaç vardır. Bütün bu kofaktörlerin eksiliği de yara iyileşmesinin bozulmasına yol açmaktadır (41).

Yarı esansiyel aminoasit olan arjinin aşırı stres, yaralanma ve büyüme periodlarında gereklidir. Arjinin vücutta immun fonksiyon, yara iyileşmesi, hormon salgılanması, endotel fonksiyonu gibi alanlarda önemli görevler üstlenmektedir. Arjinin ayrıca prolinin prekürsörüdür ve eksiklik durumunda kollajen sentezi,

anjiojenesis, yara kontraksiyonu etkilenir. Psikolojik stres durumlarında vücudun arjinine olan ihtiyacı artar (42, 43).

Lipidler kritik hastalara enerji desteği sağlamak ve yara iyileşmesi, doku tamirinde gerekli komponentlerin temininde kullanılmaktadır. Çoklu doymuş yağ asitleri başlıca iki türü içerir: Soya fasulyesinde bulunan omega-6 ve balık yağında bulunan omega-3. Omega-3 yağ asidinin yara iyileşmesine etkisi kesinleşmemiştir. Bu yağ asidinin faydası sistemik immun sistemi geliştirerek yaranın enfeksiyona karşı dirençli olmasını sağlamak olarak düşünülmektedir (41).

C vitamini (L- askorbik asit), A vitamini(retinol) ve E vitamini(tokoferol) antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterirler. C vitaminin yara iyileşmesinde birçok rolü vardır. Eksikliğinde yetersiz iyileşme gözlenir. Kollajen sentezinde ve fibroblast proliferasyonda, anjiogeneziste azalma görülür. Kapiller frajilite artar. Ayrıca C vitamini eksikliği immun sistemde bozulmaya sebep olarak yaranın enfeksiyona yatkınlığını artırır (41, 43). Benzer şekilde A vitaminin eksikliği de yara iyileşmesinde bozulmaya yol açar. A vitamini antioksidan özelliğe sahiptir. Fibroblast proliferasyonunu artırır, kollajen ve hyalüronik asit sentezini artırır (44).

E vitamini antioksidan olarak görev alır ve hücre membranının devamlılığını korur. E vitamini ayrıca antiinflamatuvar özelliğe sahip olarak kronik yaralarda meydana gelen aşırı skar oluşumun tedavisinde kullanılmaktadır. E vitamininin topikal kullanımı, anti-skar ajan olarak geniş şekilde kullanılmaktadır (45).

2.5. Diabetes Mellitus

2.5.1. Tarihçe

Diabetes Mellitus eski çağlara kadar uzanan bir tarihe sahiptir. Eski çağlarda anatomi ve patofizyoloji alanında bilgilerin yetersiz olması ve diagnostik araçların eksikliği, o çağlarda yaşamış doktorlar için hastalığı tanımlamada büyük bir engel oluşturmuştur. Fakat bu olumsuzluklara rağmen eski çağlardaki doktorlar, diyabetin ayırt edici özelliklerini gözlemlemiş ve çeşitli tedavi yaklaşımları sunmuşlardır. MÖ 1500 yıllarında Ebers papiruslarında, hastaların

aşırı susama, bol idrara çıkma gibi şikayetlerinin kaydedildiği ve doktorların çeşitli bitki özleriyle tedavi yapmaya çalıştığı bilgilerine rastlanmıştır (46).

MÖ 5. Yüzyılda ünlü Hint cerrah Sushruta, diyabeti madhurneha (bal tadında idrar) terimiyle tanımlamıştır. Sushruta idrarın şekerli bir tada sahip olmasının yanında yapışkan bir yapıda olduğu ve karıncaları kendisine çektiğini de belirtmiştir (47).

8. yüzyılda doktorlar, diyabet hastalarının deri hastalıkları, ülserler ve görme bozuklukları yaşadıklarını gözlemlemişler. 11. yüzyılda İbni Sina(980-1037) El-Kanun isimli kitabında diyabetin gangrene ve cinsel disfonksiyona yol açan komplikasyonlar ortaya çıkardığını belirtmiştir. Yıllar sonra ortaçağ bilim adamı Moises Maimonides (1138-1204) diyabeti tanımlarken asidoz semptomlarına dikkat çekmiştir (48, 49).

Antik Yunanistan'da Galen, diyabetin aşırı susamaya, poliüri ve bazen insanları ölüme götüren kilo kayıplarına sebep olduğundan bahsetmiştir. Poliüri semptomu Galen'e hastalığı tanımlamada bir fikir vermiştir. Diyabeti, diyare ürinoma (ürinin diyaresi) olarak tanımlamıştır. Sonrasında diyabet terimi Aretaeus tarafından bilim dünyasına kazandırılmıştır. Diyabet kelimesi, Yunanca "geçmek" anlamına gelen διαβαίνω (diabaino) fiilinden türemiştir ve poliüride idrarın akışını tarif etmektedir (48).

2.5.2. Diyabetin Etki Mekanizması

Diabetes mellitus, vücudun kan glikoz düzeyini dengeleyemediği bir hastalıktır. Kanda bulunan glikoz, insanın günlük aktivitesini gerçekleştirmek için gerekli olan enerjiyi sağlamada kullanılır. Yiyeceklerle alınan besinler karaciğerden geçerek glikoza dönüşür. Sonra glikoz kan dolaşımına katılır. Sağlıklı insanlarda kandaki glikoz düzeyi insülin gibi hormonlarla düzenlenir. İnsülin, mide ile karaciğer arasında yer alan pankreas adında küçük bir organ tarafından üretilir. Pankreas ayrıca besinlerin sindiriminde rol oynayan bazı enzimleri üreterek bağırsağa salgı yapar. İnsülin, glikozun hücrelere geçerek enerji için kullanılmasını sağlar. Diyabet hastalığı olan kişilerde yeterli insülin üretilemez (Tip 1 diyabet), insülin yeterli miktarda görevini yapamaz (Tip 2 diyabet) veya bu iki durum birlikte meydana gelebilir. Diyabet durumunda kandaki

glikoz hücrelere etkili bir şekilde geçemez ve kan glikoz düzeyi yüksek kalır. Bu durum sadece hücreleri enerji kaynağından mahrum bırakmaz, ayrıca bazı organ ve dokulara da zarar verir (50-54).

2.5.3. Diabetes Mellitus Sınıflaması

2.5.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diyabet bir otoimmün hastalıktır. Pankreastaki β hücreleri yeterli miktarda insülin üretemez. Bunun sonucunda da hücrelere yeterli glikoz girişi olmaz ve kandaki glikoz düzeyi yükselir. Böyle bir durumun yaşamı tehdit eden hipoglisemik ve hiperglisemik etkileri olabilir. Hipoglisemi geliştiğinde hücreler yeterli miktarda glikoz alamaz. Konfuzyon, dikkat dağınıklığı ve koma meydana gelebilir. Eğer beyin glikozdan uzun süre mahrum kalırsa ölüm de gelişebilir. Hiperglisemi ve insülinin uzun süreli yokluğu ketoasidoza yol açar. Glikoz eksikliğinde enerji üretimi yağlardan sağlanır. Bunun sonucunda da keton denilen cisimler meydana gelir. Ketonlar kanı asidik hale getirir ve vücut fonksiyonlarının düşüşüne yol açar. Keton cisimlerinin artışı da ketoasidoza sebep olur. Bu durumun düzelmemesi de komaya ve nihayetinde ölüme sebep olur (55-60).

2.5.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 diyabet kompleks bir endokrin ve metabolik bozukluktur. Genetik faktörler ve çevresel etkilerin birleşimi ile pankreas β hücrelerinde fonksiyon bozuklukları ve çeşitli derecelerde insülin direnci meydana gelir. Aşırı kilo ve obezite insülin direncinin gelişmesinde ve glikoz intoleransında önemli bir faktördür. Pankreas β hücreleri insülin direncini karşılayacak miktarda insülin üretemeyince bozulan glikoz toleransı tip 2 diyabete sebep olur (61-67).

Aşırı kilo ve obezite bazı hormon konsantrasyonlarında (leptin artışı, adiponectin azalması ve artan glukagon gibi) dengesizliğe sebep olarak insülin direncinin meydana gelmesine yol açar. $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 gibi sitokinlerin konsantrasyonları yükselir. İnsülin salgılanması, insülin direncini karşılamaya yetmeyecek seviyeye gelince glikoz intoleransı tip 2 diyabete doğru ilerler. Pankreas β hücrelerinin fonksiyonlarının azalmasıyla kronik hiperglisemi, kronik non-ester yağ asidi birikimi, oksidatif stres, inflamasyon ve amiloid formasyon

meydana gelir (68-70). Tip 2 diyabet hastalarında hiperglisemi varlığında yükselen glukagon sekresyonu ile pankreas α hücrelerinde disfonksiyon da genellikle görülür (71).

2.5.4. Diyabetin Komplikasyonları

2.5.4.1. Akut Komplikasyonlar

Akut komplikasyonlar başlıca diyabetik ketoasidoz ve hiperosmolar hiperglisemik durumdur. Diyabetik ketoasidoz daha çok tip 1 diyabette ortaya çıkarken non-ketoz hiperosmolar durum (hiperosmolar hiperglisemik durum) tip 2 diyabet hastalarında ortaya çıkar. Her iki bozukluk da insülinin yokluğu veya miktarının azaldığı durumlarda oluşur. Diyabetik ketoasidozda insülin eksikliği glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu gibi karşı düzenleyici hormonların fazlalığı ile kombine olarak görülür. İnsülinin glukagona göre oranının düşmesi glukoneogenez, glukojenoliz ve karaciğerde keton cisimciği dönüşümüne yol açar. Ayrıca yağ ve kas hücrelerinden elde edilen serbest yağ asitleri ve aminoasitlerin miktarında artış olur. Diyabetik ketoasidozda çoğunlukla bulantı ve kusma görülür. Durumun ilerlemesinde merkezi sinir sistemi depresyonu ve uyuşukluk görülebilir. Çocuklarda ciddi bir komplikasyon olan serebral ödem gelişebilir.

Non- ketoz hiperosmolar durum çoğunlukla tip 2 diyabet hastalığı olan yetişkin bireylerde görülür. Ortak bulgular poliüri, ortostatik hipotansiyon ve çeşitli nörolojik semptomlardır. Bu semptomlar azalmış mental durum, uyuşukluk, bilinç seviyesinde azalma, felç ve koma olabilir. Non- ketoz hiperosmolar durumun altında yatan neden insülin eksikliği ve yetersiz sıvı alımıdır. İnsülin yetersizliği hiperglisemiye yol açar. Hiperglisemi ise intravaskular hacim kaybına sebep olan osmotik diüresisi meydana getirir.(25,56,61)

2.5.4.2. Kronik Komplikasyonlar

Diabetes Mellitusun kronik komplikasyonları mortalite ve morbiditeye yol açacak derecede birçok organı ve sistemi etkilemektedir. Kronik komplikasyonlar başlıca vaskular ve non-vaskular olarak ikiye ayrılır. Vaskular komplikasyonlar da kendi içinde mikrovaskular (retinopati, nöropati ve nefropati) ve makrovaskular

(koroner arter hastalığı, periferik vasküler bozukluklar ve serebrovasküler hastalıklar) komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır. Non-vasküler komplikasyonlar gastroparezi, cinsel disfonksiyon ve deri değişiklikleri gibi sorunları içerir. Kronik komplikasyonların bir sonucu olarak hastalarda yetişkin körlüğü, hareket kabiliyetini azaltan nöropatiler, serebral ve vasküler sorunlar meydana gelir. Bu komplikasyonları tedavi etmek hastalığı kontrol altına almaktan çok daha zordur.

Diyabetin erken safhalarında intrasellüler hiperglisemi kan akışında bozukluklara yol açar ve vasküler geçirgenliği artırır. Bunun sonucunda nitrik oksit gibi vazodilatörlerin aktivitesi azalır. Anjiyotensin II ve Endotelin-1 gibi vazokonstriktörlerin etkisi artar(72).

Diyabetik Retinopati: Diyabetik retinopati 15 yıldan daha uzun süredir diyabet olan hastaların %75'inde görülmektedir ve çoğunlukla körlüğe sebep olur. Diyabetik retinopati iki faza ayrılır: Non- proliferatif ve proliferatif. Non- proliferatif faz, hastalığın ilk dekadında veya ikinci dekadın erken zamanlarında görülür. Proliferatif fazda, retinal hipoksiye karşı cevap olarak neovaskularizasyon görülür. Oluşan yeni damarlar optik sinirde ve/veya sarı noktada görülebilir. Yeni damar yapıları kolayca yırtılarak kanamaya, fibrozise ve retinal ayrışmalara sebep olabilir (72).

Nöropati: Diyabet hastalarının yaklaşık yarısında çeşitli derecelerde nöropati görülmektedir. Bunlar, polinöropati, mononöropati veya otonomik nöropati şeklinde olmaktadır. Polinöropatide; aksonlarda kalınlaşma, mikrofıamanlarda azama görülür. Küçük miyalinli veya miyalinsiz C liflerini içeren kapiller tüplerde daralma meydana gelir. Bunlar, hiperglisemiye bağlı sinir parankimasında direkt bir zarar ile olabilmekteyken aynı zamanda endotelial hücre aktivasyonu, bazal hücre kalınlaşması ve monosit adezyonuna bağlı mikrodamar anomalilerinin oluşturduğu nöral iskemide nedeniyle de meydana gelmektedir. Mononöropati polinöropatiye göre daha az görülmektedir ve izole kranial veya periferik sinirlerin disfonksiyonunu içerir. Otonomik nöropati kardiyovasküler, gastrointestinal, genitouriner, sudomotor ve metabolik sistemler gibi çoklu sistemleri etkileyebilmektedir (73).

Nefropati: Glomerular hiperfiltrasyonun sonucu olarak glomerular hemodinamik anormallikler görülür. Belli şekilde proteinüri, azalmış glomerular

filtrasyon oranı ve son dönem böbrek hastalığı vardır. Mikroalbuminüri sonucunda glomerolar filtrasyon aygıtında fonksiyon bozukluğu meydana gelir. Glomerulus geçirgenliğinin artışı açıklayan bir diğer muhtemel mekanizma da renal VEGF seviyesinin yükselmesidir. Çünkü VEGF hem anjiogenik hem de geçirgenlik faktörüdür. (74)

Kardiovasküler Morbidite ve Mortalite: Diyabet hastalarında çeşitli kardiovasküler hastalıklarda artış meydana gelir. Bunlar periferik vasküler hastalık, konjestif kalp hastalığı, koroner arter hastalığı ve miyokard enfarktüsüdür. Göğüs ağrısının olmaması dikkati çeker ve diyabet hastalarında ortak olarak görülür. Majör cerrahi prosedürler geçiren hastalarda kardiyak değerlendirme endikedir.

Gelişmiş glisemik kontrol ile mikrovasküler komplikasyonların azaldığını gösteren kanıtlara rağmen, makrovasküler komplikasyonlar değişmemiş şekilde kalabilmektedir, hatta daha da kötüleşebilmektedir. Koroner arter hastalığına ek olarak, diyabet hastalarında serebrovasküler hastalıklar da yüksek olarak görülebilmektedir. DM hastalarında konjestif kalp yetmezliği insidansında artış vardır (diyabetik kardiomyopati). Bu anormalliğin etyolojisi muhtemelen çok faktörlü ve aterosklerozdan kaynaklı miyokardiyal iskemi, hipertansiyon ve kronik hiperglisemiye sekonder olarak eklenmiş miyokardiyal hücre disfonksiyonu gibi faktörleri içermektedir (75).

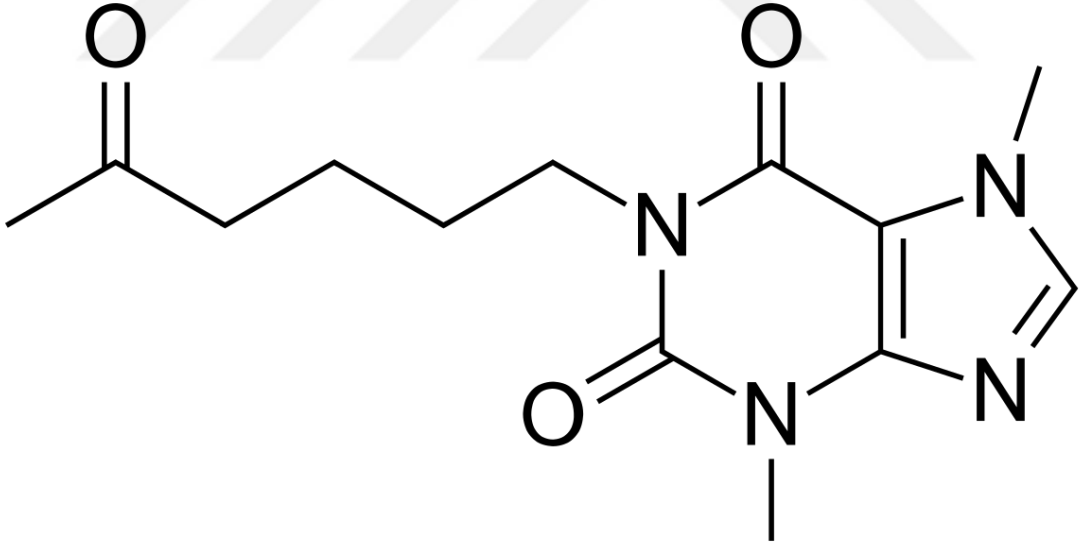
Hipertansiyon: Hipertansiyon Diabetes Mellitus'un özellikle kardiovasküler hastalık ve nefropati gibi komplikasyonların oluşmasını hızlandırır. Antihipertansif ilaçlar; hastanın risk faktörü profili göz önünde bulundurularak avantaj ve dezavantajları belirlenerek uygulanmalıdır. Diabetes Mellitus ile ilişkili göz önünde bulundurulması gereken durumlar:

- 1) α - adrenal blokerleri insülin direncini önemli ölçüde artırmaktadır ve lipid profilini pozitif olarak etkilemektedir. α -blokerler ve tiazid diüretikleri insülin direncini artırıp lipid profilini negatif olarak etkilerler ve belirgin olarak tip 2 diyabet riskini artırır.
- 2) β -blokerler, hipoglisemik semptomları maskeleyen potansiyellerinden dolayı etkili ajanlardır ve kardioselektif β_1 ajanları kullanıldığında hipoglisemik vakalar nadir görülmektedir.

- 3) Merkezi adrenerjik antagonistler ve vazodilatörler lipid ve glikoz üzerine nötr davranış sergiler.
- 4) Sempatik inhibitörler ve α - adrenal blokerler otonomik nöropatili diyabet hastalarında ortostatik hipertansiyonla ilişkilendirilmektedir.
- 5) Kalsiyum kanal blokerleri lipid üzerine nötr etki eder ve tip 2 DM hastalarında özellikle sistolik hipertansiyonu olan yaşlı hastalarda kardiovasküler morbidite ve mortaliteyi düşürebilmektedir (76).

2.6. Pentoksifilin

Pentoksifilin, çeşitli antiinflamatuvar etkileri olan metil ksantin türevi bir ilaçtır. Pentoksifilinin oral kullanımından sonra karaciğerden ilk geçiş etkisine uğrar ve oral alımdan sonra plazmada çeşitli metabolitler ortaya çıkar. Plazmadaki en yüksek seviyesine 2 saatte ulaşır.



Şekil 2- 5: Pentoksifilin kimyasal yapısı (77)

Hücresel ve moleküler etki mekanizması hakkında insan ve hayvan çalışmalarına dayanarak birçok hipotez ortaya konmuştur. Bunlar anti tumor nekroz faktör alfa (TNF- α) etkisi, hemoreolojik etkisi, antifibrinolitik etki, immun sistem düzenlemesi, endotel ve adhezyon molekülleri üzerindeki etkileridir.

İmmun Sistem Düzenlemesi: Pentoksifilin immün sistem üzerine etki eder. Lökositlerin şekil değiştirme kabiliyetlerini ve kemotaksisi artırır. Endotel lökosit adezyonunu, nötrofil degranülasyonu ve süperoksit salınımını azaltır. Monosit türevi TNF üretimini düşürür. Lökositlerin interlökin-1 ve TNF'ye olan yanıtını azaltır. T ve B lenfosit aktivasyonunu inhibe eder ve doğal katil hücre aktivitesini azaltır (77).

Anti TNF- α Etkisi: Pentoksifilin, TNF- α üretimini inhibe eder. Ayrıca üretilmiş TNF üzerinde de aktif bir inhibitördür. Bunun dışında pentoksifilin IL-1 ve IL-6 gibi sitokinleri etkileyebileceği üzerine çalışmalar da mevcuttur (78, 79).

Hemoreolojik Etki: Pentoksifilin kan viskozitesinden sorumlu olan faktörlerin hemen hemen hepsine etki eder. Hemoreolojik etkili ilaçlardan ilki olarak bilinir (80). Pentoksifilin primer hemoreolojik etkisini, kırmızı kan hücrelerinin deformitesini artırarak ve kan viskozitesini düşürerek gösterir. Buna sebep olmasındaki muhtemel mekanizma eritrosit adenozin trifosfat ve diğer siklik nükleotit seviyelerinin yükselmesine bağlanmaktadır (81). Pentoksifilin tromboksan inhibisyonuna ve prostasiklin sentezinin artışına sebep olur. Trombosit agregasyonunun ve adhezyonunun düşmesine bağlı olarak hiperkoagülasyon azalır. Dahası pentoksifilin lökosit deformitesini artırarak polimorfonükleer lökositlerin bütün kan viskozitesindeki büyük rolünü engellemiş olur (82, 83).

Antifibrinolitik Etki: Pentoksifilin fibroblast kollajenazını artırır ve kollajen, fibronektin, glikozaminoglikan üretimini azaltır (84). Bu etkiler anti TNF- α özelliklerine veya çeşitli çalışmalarda belirtilmiş ayrıştırma mekanizmasıyla açıklanmaktadır (85).

2.7. Streptozotosin

Streptozotosin (STZ, 2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüredio)-D-Glukopiranoz), Streptomyces achromogenes tarafından sentezlenir ve hem insülin bağımlı hem de insülin bağımsız diyabetin indüklenmesinde kullanılır. İnsulin bağımlı diyabetin indüklenmesi için yetişkin sıçanlarda sıklıkla tek doz 40-60 mg/kg olarak kullanılır. Fakat daha yüksek dozların kullanıldığı da

görülmektedir. Benzer veya yüksek dozlarda streptozotosinin intraperitoneal yolla uygulanması da etkili olmaktadır. Fakat 40mg/kg'dan aşağı doz kullanılması diyabet indüklenmesinde başarısızlığa yol açmaktadır (86).

Streptozotosinin β hücreleri üzerine etkisi kan insülin seviyesini ve glikoz konsantrasyonu artırmasıyla olmaktadır. Enjeksiyondan 2 saat sonra, kan insülin seviyesin düşmesiyle birlikte hiperglisemi gözlemlenir. Yaklaşık 6 saat sonra, yüksek insülin seviyesiyle hipoglisemi gelişir. Son olarak hiperglisemi meydana gelir ve kan insülin seviyesi düşer (87).

Kan glikoz ve insülin konsantrasyonlarındaki bu değişiklikler β hücre fonksiyonlarında anormalliklere yol açar. STZ glikoz oksidasyonunu bozar ve insülinin biosentezini, salgılanmasını düşürür (88, 89). Streptozotosinin ilk başta β hücrelerinin glikoza yanıtının ortadan kaldırdığı gözlemlenmiştir. Glikoza olan yanıt geçici olarak geri gelse de sonrasında kalıcı yanıt kaybına ve hücre hasarına sebep olmaktadır (87).

STZ pankreas β hücrelerine GLUT2 adında bir glikoz taşıyıcısı ile alınır. Wang ve Gleichmann STZ'nin çoklu dozlarda uygulanmasının GLUT2 ekspresyonunu baskıladığını in vivo ve in vitro olarak göstermişlerdir (90).

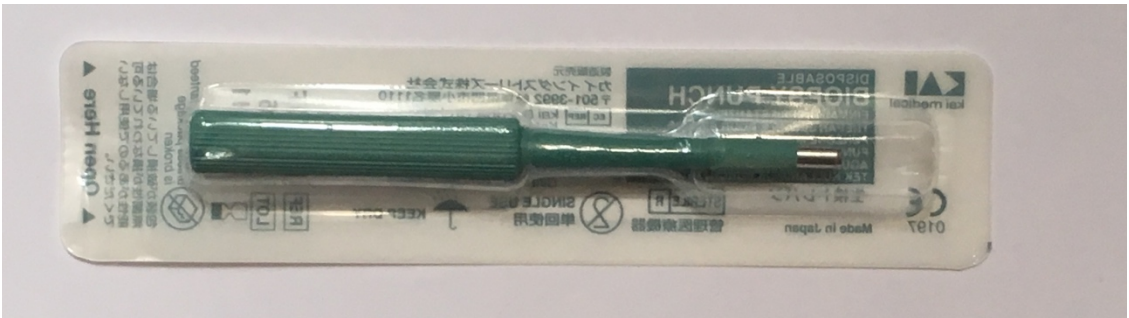
STZ'nin intrasellüler etkisi pankreas β hücrelerinin DNA'sının parçalanmasıyla olur (91, 92). Yapılan çalışmalar STZ'ye bağlı pankreas β hücrelerinin hasarının nedeninin hücre DNA'sının alkilasyonuyla meydana geldiğini göstermiştir (93, 94). Streptozotosinin alkilasyon aktivitesi bileşiğindeki nitrozoüredio parçasıyla bağlantılıdır. STZ'nin potansiyel alkilleyici özelliği toksisitesinin esas sebebidir. Fakat Nitrik Oksit ve reaktif oksijen ürünlerinin sinerjik etkisi de DNA üzerinde hasara sebep olmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamızda 36 adet 300 ± 20 gram ağırlığında 14-16 haftalık Sprague Dawley soyu erkek sıçanlar kullanılmıştır:

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



Şekil 3- 1: 3 mm çapında tek kullanımlık punch biyopsi (Kai industries co. Ltd, Japan)



Şekil 3- 2: Pentoksifilin (Trentilin, Santa Farma İlaç Sanayi A.Ş., İstanbul,Türkiye)

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 Kurul onayı alınmıştır.

Çalışmamızda 36 adet 300 ± 20 gram ağırlığında 14-16 haftalık Sprague Dawley soyu erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları, deney süresi boyunca 22 ± 1 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık periodu olan odada, her metal kafes içinde 1 deney hayvanı olacak şekilde muhafaza edilmişlerdir. Denekler standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir.

3.2.1. Streptozotosin (STZ) Solüsyonunun Hazırlanması ve Uygulanması

Diyabet indüksiyonu için kullanılan Streptozotosin, deney hayvanlarına 12 saat açlığın ardından uygulanmıştır. Bunun için streptozotosin uygulanacak deneklerin her birinin ağırlıkları ölçülerek verilmesi gereken doz hesaplandı. Her denek için hassas terazi kullanılarak 55mg/kg doz ayarlanarak streptozotosin ayrı

ayrı mikrofüj tüplerine koyuldu. Dozları ayarlanmış STZ mikrofüj tüpleri içinde - 20 C' muhafaza edildi. Uygulama  ncesi 0,1M sitrat tampon içinde çözündürülerek deneklere intraperitoneal yolla verildi ( ekil 3-3).



Şekil 3- 3: Deney hayvanlarına STZ uygulaması

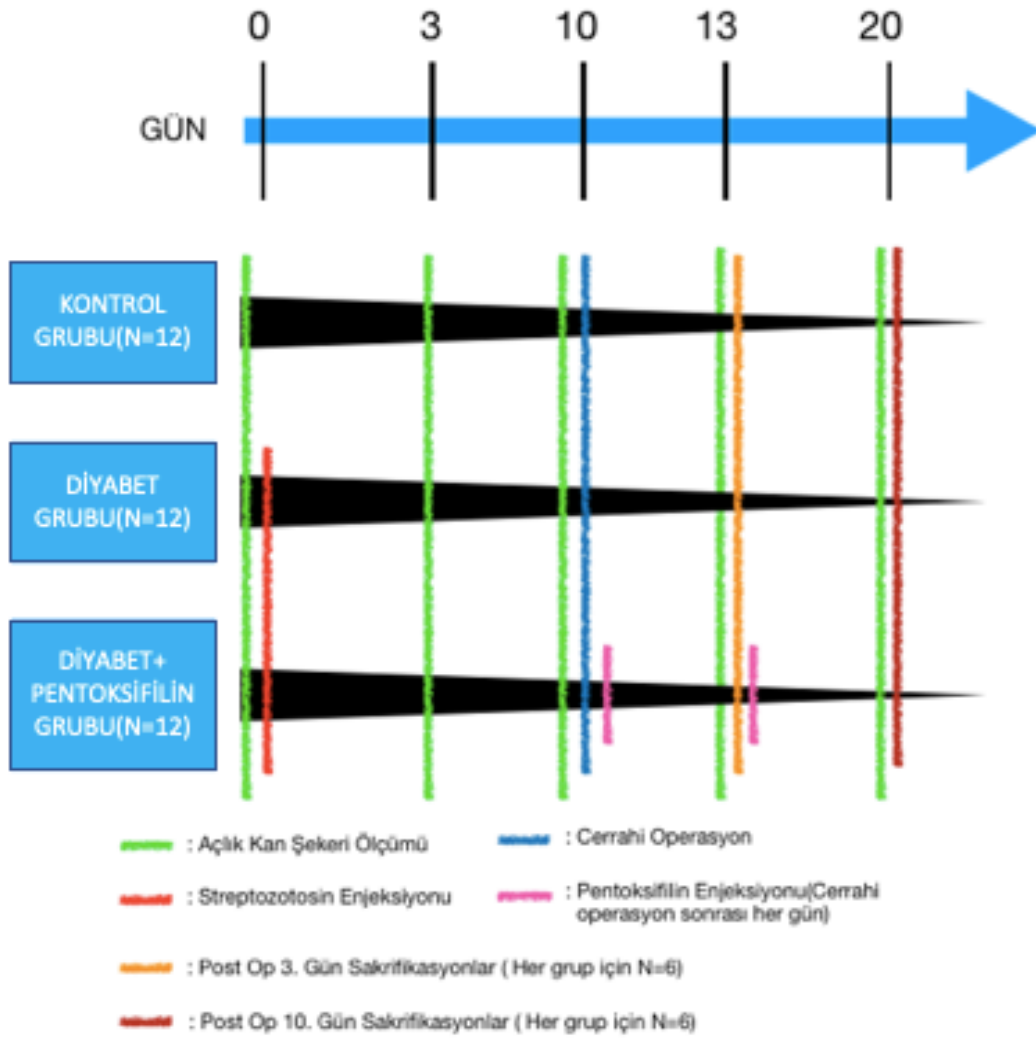
3.2.2. Deney Grupları

Çalışmamızda kullanılan 36 adet Sprague Dawley soyu sıçan 3 ana gruba ve cerrahi girişimi takiben 3. ve 10. günlerde sakrifiye edilecek şekilde 6 alt gruba ayrıldı ( ekil 3-4).

Kontrol Grubu(K): Bu grupta 12 adet deney hayvanı kullanılmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre iki alt gruba ayrılmıştır:

- A) Cerrahi operasyon sonrası 3. günde sakrifiye edilen grup(n=6)
- B) Cerrahi operasyon sonrası 10. günde sakrifiye edilen grup(n=6)

Diyabet(D) ve Diyabet+Pentoksifilin (DP) gruplarındaki hayvanlarla aynı stresi oluşturmak için STZ yerine serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Hayvanların 12 saatlik açlık döneminden sonra kuyruk venlerinden 0,05ml kan alınarak glukometre cihazıyla ölçüm yapıldı. Sıçanların kan şekerleri tespit edildi ve 250mg/dl'nin altında olduğu görüldü. Cerrahi operasyonun yapılacağı güne kadar şeker ve kilo takipleri kaydedildi. Ardından operasyon gününde tek kullanımlık punch biyopsi aleti ile yanak mukozasında yara oluşturuldu. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra herhangi bir materyal kullanılmadan yara sekonder iyileşmeye bırakıldı. 3. günde sakrifiye edilecek 6 adet sıçanın önce açlık kan şekerleri ölçüldü ve sakrifikasyon gerçekleştirildi. Diğer alt grupta yer alan 6 sıçan da 10. günde açlık kan şekerlerinin glukometre ile ölçümü sonrasında sakrifiye edildi. Sıçanların yanak mukozaları eksizyonel olarak çıkartılıp %10'luk formol çözeltisinin içine alındı.



Şekil 3- 4: Deney Planı

Diyabet Grubu(D):

Bu grupta iki alt gruptan oluşan toplam 12 hayvan kullanılmıştır. İki alt gruba ayrılmıştır:

- A) Cerrahi operasyon sonrası 3. günde sakrifiye edilen grup(n=6)
- B) Cerrahi operasyon sonrası 10. günde sakrifiye edilen grup(n=6)

Deney hayvanlarının 12 saatlik açlık sürelerini takiben kuyruk venlerinden 0,05ml kan örneği alınarak diyabet oluşturmada önce normal kan şekerinde oldukları glukometre cihazı ile tespit edildi. Ardından mikrofüj tüplerinde hassas

terazi kullanılarak 55mg/kg streptozotosin dozu ayarlandı. Taze olarak hazırlanan sitrat tampon çözeltisinde streptozotosin homojen olarak çözüldükten sonra sıçanlara intraperitoneal yol ile uygulandı. Deney hayvanlarında gelişecek ani hipoglisemiyi önlemek amacıyla ilk 24 saat içme sularına %5'lik glikoz çözeltisi karıştırıldı. Streptozotosin enjeksiyonundan 3 gün sonra tekrar kuyruk venlerinden kan örneği alınarak glukometrede kan şekeri ölçümü yapıldı. Deney hayvanlarının kan şekerinin 250mg/dl'den yüksek olduğu tespit edilerek diyabet indüksiyonunun sağlandığı teyit edildi. Ardından diyabet etkilerinin gelişmesini beklemek amacıyla 1 hafta boyunca sıçanlar gözlem altında tutuldu. Kilo takibi her gün yapıldı. Diyabet indüksiyonundan 1 hafta sonra cerrahi operasyona geçildi. Operasyondan 3 gün sonra ilk alt grupta yer alan 6 hayvan açlık kan şekerlerinin ölçümleri yapıldıktan sonra sakrifiye edildi. Sol yanak mukozaları eksizyonel olarak çıkarıldı ve %10'luk formol çözeltisine koyuldu. Operasyondan sonra 10. günde, ikinci alt grupta yer alan 6 hayvanın açlık kan şekerleri ölçüldükten sonra sakrifikasyon gerçekleştirildi. Sol yanak mukozaları çıkarıldı ve %10'luk formol çözeltisine koyuldu.

Diyabet+Pentoksifilin Grubu (DP):

İki alt gruptan oluşan bu grupta toplam 12 hayvan kullanılmıştır. Deney hayvanları iki alt gruba ayrılmıştır:

- A) Cerrahi operasyon sonrası 3. günde sakrifiye edilen grup(n=6)
- B) Cerrahi operasyon sonrası 10. günde sakrifiye edilen grup(n=6)

Deney hayvanlarının başlangıç kilo ve kan şekeri ölçümleri kuyruk venlerinden alınan 0,05ml kan örneği ile glukometre cihazı ile ölçüldü. Bütün hayvanların şeker düzeylerinin 250mg/dl'nin altında olduğu tespit edildi. Streptozotosin dozu 55mg/kg olacak şekilde taze hazırlanan sitrat tamponda çözülerek sıçanlara hemen enjeksiyon yapıldı. İlk 24 saatte görülen ani hipoglisemik şoku önlemek amacıyla içme sularına %5'lik glikoz çözeltisi karıştırıldı. Enjeksiyondan 3 gün sonra deney hayvanlarının kan şekerleri kuyruk venlerinden alınan örneklerle tespit edildi. Hayvanların kan şekerinin 250 mg/dl'nin üzerinde olduğu tespit edildikten sonra diyabetik komplikasyonların

gelişmesi için 1 hafta takip edildi. Kilo ölçümü her gün yapıldı. 1 haftalık sürenin sonunda kuyruk venlerinden alınan kan örneği alındı ve glukometre cihazı kullanılarak ölçüm yapıldı. Ardından cerrahi operasyon aşamasına geçildi. Tek kullanımlık punch biyopsi ile yanak mukozasında yara oluşturuldu. Cerrahi operasyonun yapıldığı günden itibaren 50mg/kg/gün dozunda pentoksifilin intraperitoneal olarak verildi. Sakrifikasyon günlerine kadar pentoksifilin enjeksiyonu her gün yapıldı. Operasyondan 3 gün sonra ilk alt grup açlık kan şekeri ölçülerek sakrifiye edildi. Sol yanak mukozaları çıkartılarak %10'luk formol çözeltilisine koyuldu. İkinci alt grupta yer alan deney hayvanları 10. günde açlık kan şekerleri ölçüldükten sonra sakrifikasyon gerçekleştirildi. Toplanan örnekler %10'luk formol çözeltilisine koyuldu.

3.2.3. Cerrahi Uygulamalar

Çalışmamızda kullanılan sıçanların operasyon öncesinde kilo ölçümü yapılarak, verilecek anestezi miktarı hesaplandı. 50 mg/kg Ketamin HCl ve 10mg/kg Xylazin HCl karıştırılarak intraperitoneal yolla enjeksiyon yapıldı ve genel anestezi sağlandı. Sıçanlar sırt üstü pozisyonda sabitlenerek ağızları ekartörlerle açık pozisyona getirildi (Şekil 3-5). 3mm çapında tek kullanımlık punch biyopsi ile sol iç yanak mukozasında 1mm derinliğinde yara oluşturuldu (Şekil 3-6). Kanama kontrolü yapıldı. Herhangi bir dikiş materyali veya kan durdurucu ajan kullanılmadı. Yara sekonder iyileşmeye bırakıldı. Denekler kontrol edildikten sonra kafeslere yerleştirildi.



Şekil 3- 5: Deney hayvanlarında operasyon bölgesinin ayarlanması



Şekil 3- 6: Sıçanların ağızlarının ekartörler yardımıyla açılması ve 3mm çapında yara oluşturulması

3.2.4. Histopatolojik Yöntem

Sakrifikasyon işlemlerinden sonra deney hayvanlarının sol yanakları eksizyonel olarak çıkartıldı. %10'luk formol çözeltisine alındı. Elde edilen numuneler histopatolojik inceleme için İ.Ü Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi Bilim Dalı Laboratuvarı'na gönderildi. Formaldehit çözeltisinde dokular fikse edildikten sonra fazla doku parçaları çıkarıldı. Örnekler parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alınarak lam üzerine yerleştirildi. Hemotoksilen&Eozin boyası ile boyandı. Histolojik kesitlerde nekroz, iltihap, fibrozis ve yara açıklığı incelendi.

3.2.5. İstatistiksel Yöntem

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 göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U 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. Açlık Kan Şekeri Bulguları

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

Kontrol grubunun 3.gün açlık kan şekeri ortalamaları, Diyabet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol grubunun 13.gün açlık kan şekeri ortalamaları, Diyabet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamalarına göre 3.gün AKŞ ortalamasında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı iken ($p<0.05$); başlangıca göre 13.gün AKŞ ortalamalarında anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4-1).

Diyabet grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamalarına göre 3.gün ve 13.gün AKŞ ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Şekil 4-1).

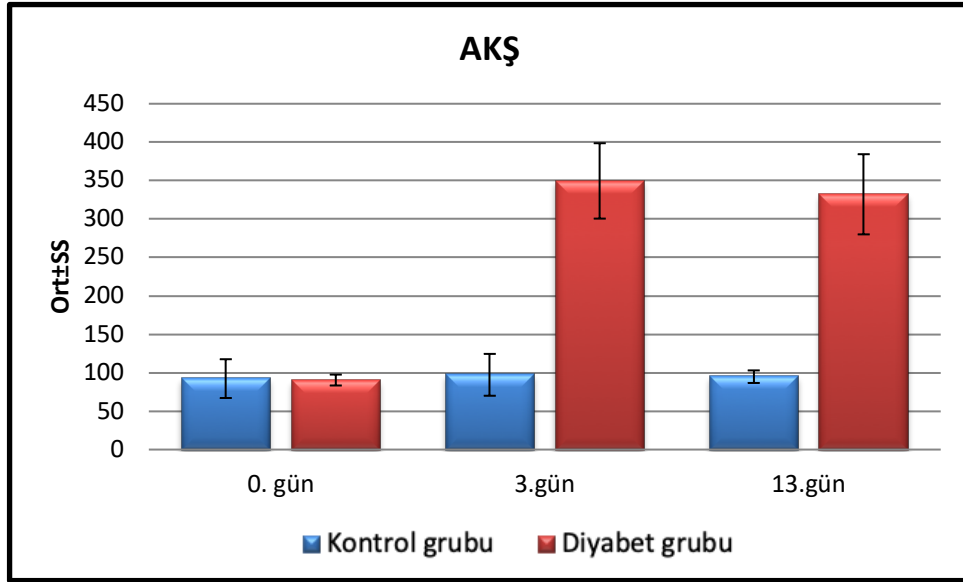
Tablo 4- 1: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün ve 13.gün açlık kan şekeri düzeylerinin değerlendirilmesi

AKŞ	Kontrol grubu (n=12)	Diyabet grubu (n=24)	Total (n=36)	p ¹
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	92,33±25,23	90,46±7,1	91,08±15,3	0,734
3.gün	97,25±27,23	349,58±49,04	265,47±127,93	0,000*
13.gün	94,83±8,18	332,17±52,16	253,06±121,18	0,000*
0.gün-3.gün p ²	0,021*	0,000*		
0.gün-13.gün p ²	0,776	0,000*		

¹Student t test

²Paired Samples t test

*p<0.05



Şekil 4- 1: Gruplar arasında 0-3-13. gün AKŞ karşılaştırması

Diyabet grubunun başlangıç, 3.gün ve 20.gün AKŞ ortalamaları, Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamalarına göre 3.gün AKŞ ortalamasında anlamlı bir değişim görülmezken ($p>0.05$); başlangıca göre 20.gün AKŞ ortalamasında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Tablo 4-2),

Diyabet grubunda; Başlangıçtaki AKŞ ortalamalarına göre, 3.gün ve 20.gün AKŞ ortalamalarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Şekil 4-2).

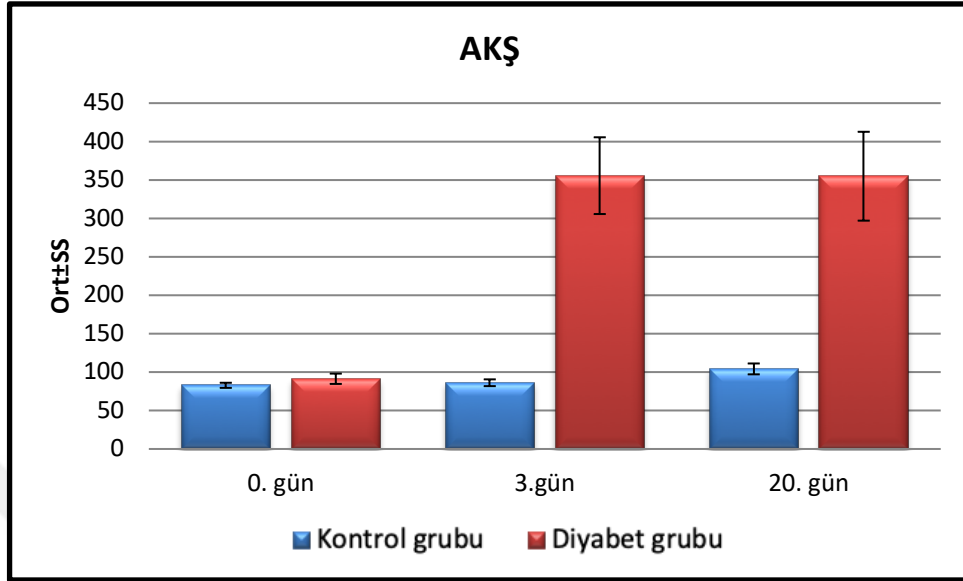
Tablo 4- 2: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün ve 20.gün AKŞ düzeylerinin değerlendirilmesi

AKŞ	Kontrol grubu (n=6)	Diyabet grubu (n=12)	p^1
	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	82,83±3,31	91,36±6,71	0,011*
3.gün	86,17±4,40	355,64±49,93	0,000*
20. gün	104,17±7,08	354,91±57,81	0,000*
0.gün-3.gün p^2	0,077	0,000*	
0.gün-20.gün p^2	0,001*	0,000*	

¹Student t test

²Paired Samples t test

* $p<0.05$



Şekil 4- 2: Gruplar arasında 0-3-20. gün AKŞ karşılaştırması

4.2. Vücut Ağırlığı Bulguları

Kontrol ve Diyabet grupları arasında 0.gün ve 3.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunun 13.gün kilo ortalaması, Diyabet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.002$; $p<0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 3.gün ve 13.gün kilo ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$)(Tablo 4-3).

Diyabet grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 3.gün ve 13.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Şekil 4-3).

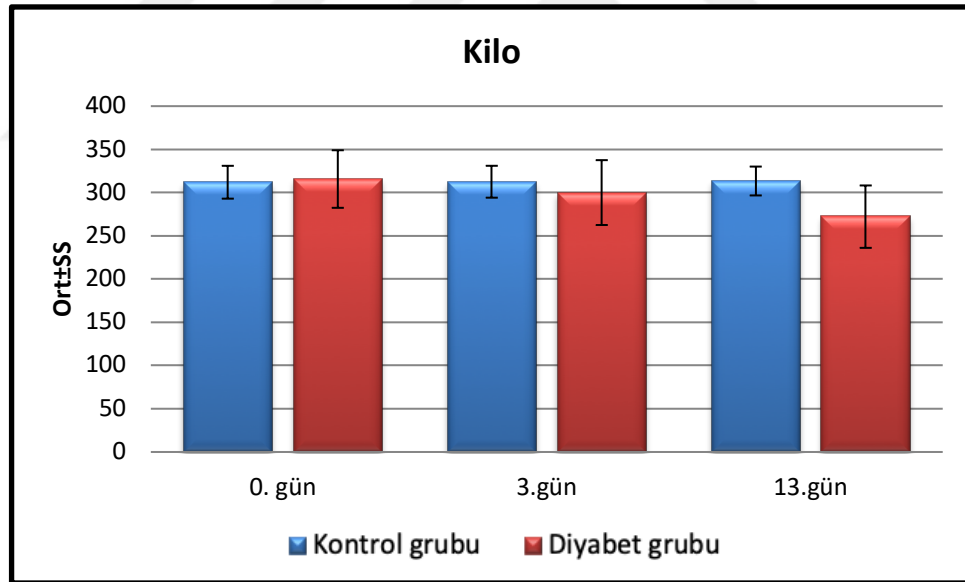
Tablo 4- 3: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün, 13.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi

Kilo	Kontrol grubu (n=12)	Diyabet grubu (n=24)	Total (n=36)	p ¹
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	312±18,99	315,7±33,3	314,43±28,93	0,726
3.gün	312,58±18,44	300,04±37,51	300,04±37,51	0,285
13.gün	313,42±16,69	272,18±36,09	293,7±34,28	0,002*
0.gün-3.gün p²	0,317	0,000*		
0.gün-13.gün p²	0,548	0,000*		

¹Student t test

²Paired Samples t test

*p<0.05



Şekil 4- 3: Gruplar arası 0-3-13. gün vücut ağırlığı karşılaştırması

Kontrol ve Diyabet grupları arasında 0.gün ve 3.gün kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunun 20.gün kilo ortalamaları, Diyabet grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 3.günde anlamlı bir değişim görülmezken ($p>0.05$); 20.gün kilo ortalamasında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Tablo 4-4).

Diyabet grubunda; Başlangıçtaki kilo ortalamasına göre 3.gün ve 20.gün kilo ortalamalarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Şekil 4-4).

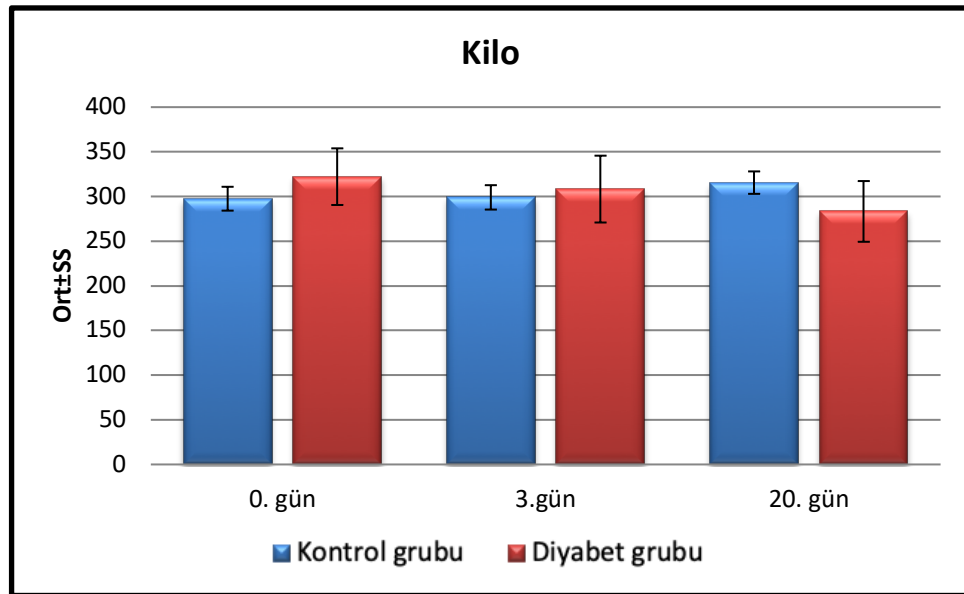
Tablo 4- 4: Grup içi ve gruplar arası 0.gün, 3.gün ve 20.gün kilo düzeylerinin değerlendirilmesi

Kilo	Kontrol grubu (n=6)	Diyabet grubu (n=12)	p^1
	Ort±SS	Ort±SS	
0. gün	297,5±13,35	322,18±31,70	0,092
3.gün	299,0±13,65	308,27±37,41	0,571
20. gün	315,50±12,56	283,27±34,0	0,043*
0.gün-3.gün p^2	0,137	0,016*	
0.gün-20.gün p^2	0,000*	0,001*	

¹Student t test

²Paired Samples t test

* $p<0.05$



Şekil 4- 4: Gruplar arası 0-3-20. gün vücut ağırlığı karşılaştırması

4.3. Histopatolojik Bulgular

Tablo 4- 5: Gruplar arasında 3.gün ve 10.gün nekroz varlığı, iltihap şiddeti ve fibrozis şiddetinin değerlendirilmesi

			Kontrol grubu	Diyabet grubu	Diyabet+ Pentoksifilin grubu	Total	p
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Nekroz	3.gün	Yok	2 (%33,3)	2 (%33,3)	1 (%16,7)	5 (%27,8)	¹1,000
		Var	4 (%66,7)	4 (%66,7)	5 (%83,3)	13 (%72,2)	
	10.gün	Yok	3 (%50)	3 (%50)	5 (%83,3)	11 (%61,1)	¹0,576
		Var	3 (%50)	3 (%50)	1 (%16,7)	7 (%38,9)	
İltihap	3.gün	Orta	2 (%33,3)	1 (%16,7)	4 (%66,7)	7 (%38,9)	¹0,350
		Şiddetli	4 (%66,7)	5 (%83,3)	2 (%33,3)	11 (%61,1)	
	10.gün	Hafif	0 (%0)	3 (%50)	5 (%83,3)	8 (%44,4)	²0,023 *
		Orta	5 (%83,3)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	7 (%38,9)	
		Şiddetli	1 (%16,7)	2 (%33,3)	0 (%0)	3 (%16,7)	
Fibrozis	3.gün	Hafif	5 (%83,3)	2 (%33,3)	5 (%83,3)	12 (%66,7)	¹0,236
		Orta	1 (%16,7)	4 (%66,7)	1 (%16,7)	6 (%33,3)	
	10.gün	Hafif	2 (%33,3)	0 (%0)	2 (%33,3)	4 (%22,2)	²0,150
		Orta	4 (%66,7)	3 (%50)	1 (%16,7)	8 (%44,4)	
		Şiddetli	0 (%0)	3 (%50)	3 (%50)	6 (%33,3)	

¹Fisher Freeman Halton test ²Ki-kare test *p<0.05

Gruplar arasında 3.gün nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). 3.günde Kontrol grubunun %66.7'sinde, Diyabet Grubunun %66.7'sinde ve Diyabet+Pentoksifilin grubunun %83.3'ünde nekroz görülmüştür (Tablo 4-5).

Gruplar arasında 10.gün nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). 10.günde Kontrol grubunun %50'sinde, Diyabet Grubunun %50'sinde ve Diyabet+Pentoksifilin grubunun %16,7'sinde nekroz görülmüştür.

Gruplar arasında 3.gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 10.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 Diyabet+pentoksifilin grubu arasında saptanmıştır ($p:0.015$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında 10.gün iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 4- 6: Gruplarda ayrı ayrı 3.gün ve 10.gün arasında nekroz varlığı, fibrozis şiddeti ve iltihap şiddetinin değerlendirilmesi

			3.gün n (%)	10.gün n (%)	p
Kontrol grubu	Nekroz	Yok	2 (%33,3)	3 (%50)	¹1,000
		Var	4 (%66,7)	3 (%50)	
	İltihap	Orta	2 (%33,3)	5 (%83,3)	¹0,242
		Şiddetli	4 (%66,7)	1 (%16,7)	
	Fibrozis	Hafif	5 (%83,3)	2 (%33,3)	¹0,242
		Orta	1 (%16,7)	4 (%66,7)	
Diyabet grubu	Nekroz	Yok	2 (%33,3)	3 (%50)	¹1,000
		Var	4 (%66,7)	3 (%50)	
	İltihap	Hafif	0 (%0)	3 (%50)	²0,182
		Orta	1 (%16,7)	1 (%16,7)	
		Şiddetli	5 (%83,3)	2 (%33,3)	
	Fibrozis	Hafif	2 (%33,3)	0 (%0)	²0,091
		Orta	4 (%66,7)	3 (%50)	
		Şiddetli	0 (%0)	3 (%50)	
Diyabet+Pentoksifilin grubu	Nekroz	Yok	1 (%16,7)	5 (%83,3)	¹0,080
		Var	5 (%83,3)	1 (%16,7)	
	İltihap	Hafif	0 (%0)	5 (%83,3)	²0,026*
		Orta	4 (%66,7)	1 (%16,7)	
		Şiddetli	2 (%33,3)	0 (%0)	
	Fibrozis	Hafif	5 (%83,3)	2 (%33,3)	²0,182
		Orta	1 (%16,7)	1 (%16,7)	
		Şiddetli	0 (%0)	3 (%50)	

²Fisher's Exact test ¹Fisher Freeman Halton test

*p<0.05

Gruplar arasında 3.gün fibrozis şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Gruplar arasında 10.gün fibrozis şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda;

3.gün ve 10.gün arasında nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

3.gün ve 10.gün arasında iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

3.gün ve 10.gün arasında fibrozis şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$)(Tablo 4-6).

Diyabet grubunda;

3.gün ve 10.gün arasında nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

3.gün ve 10.gün arasında iltihap şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

3.gün ve 10.gün arasında fibrozis şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Diyabet+pentoksifilin grubunda;

3.gün ve 10.gün arasında nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

3.günde orta ve şiddetli düzeyde iltihap görülme oranları, 10.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

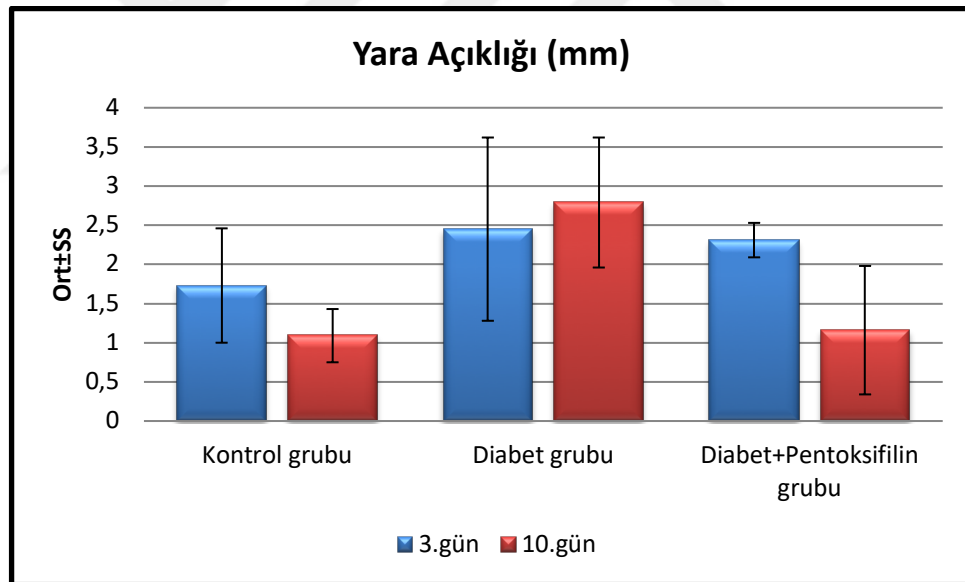
3.gün ve 10.gün arasında fibrozis şiddeti düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 4- 7: Gruplar arasında 3.gün ve 10.gün yara açıklığının değerlendirilmesi

	Yara açıklığı (mm)		² p
	3.gün	10.gün	
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
Kontrol grubu	1,73±0,73 (2,1)	1,09±0,34 (1)	0,109
Diyabet grubu	2,45±1,17 (2,3)	2,79±0,83 (2,8)	0,631
Diyabet+Pentoksifilin grubu	2,31±0,22 (2,2)	1,16±0,82 (0,9)	0,055
Total	2,16±0,82 (2,2)	1,68±1,04 (1,1)	
¹ p	0,420	0,011*	

¹Kruskal Wallis test² Mann Whitney U test

*p<0.05

**Şekil 4- 5:** Gruplar arası 3 ve 10. gün yara açıklığı karşılaştırılması

Gruplar arasında 3.gün yara açıklığı değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 4-7).

Gruplar arasında 10.gün yara açıklığı değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Diyabet

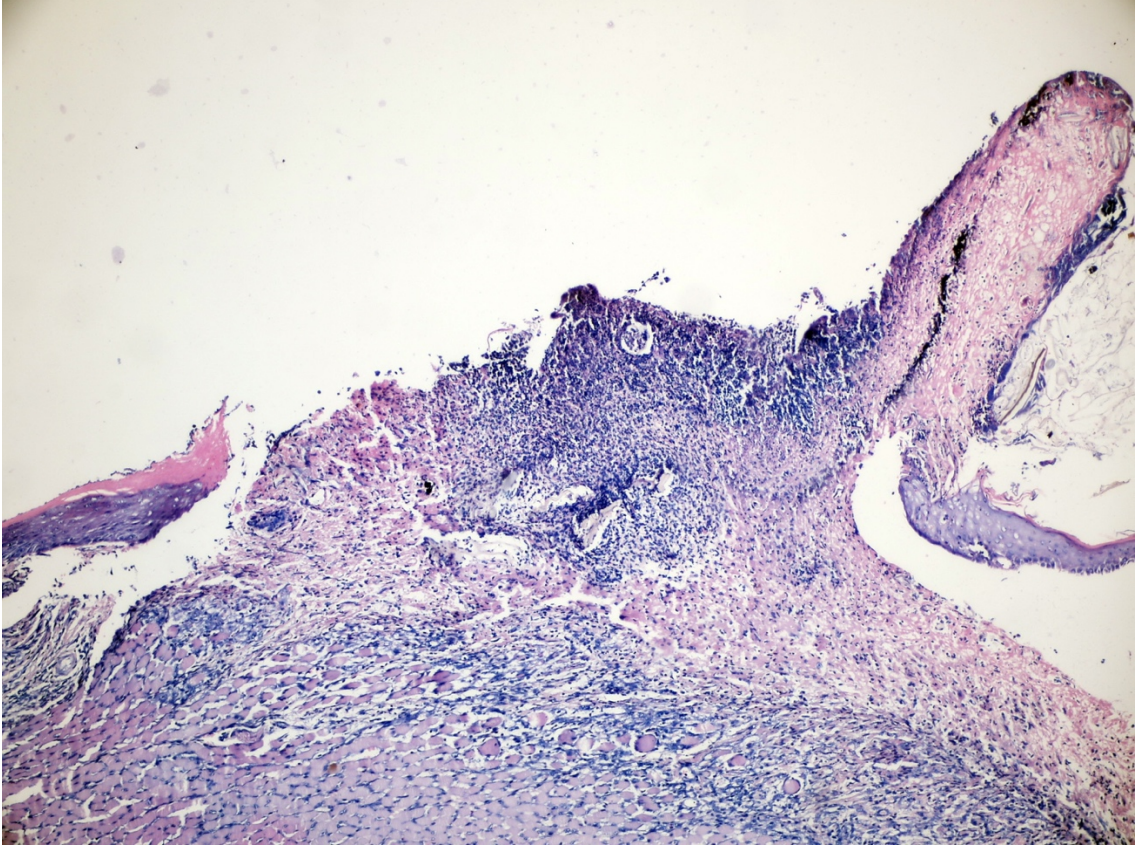
grubunun 10.gün yara açıklığı, Kontrol ve Diyabet+Pentoksifilin gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.006$; $p_2:0.016$; $p<0.05$). Kontrol ve Diyabet+Pentoksifilin grupları arasında 10.gün yara açıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$)(Şekil 4-5).

Kontrol grubunda; 3.gün ve 10.gün arasında yara açıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

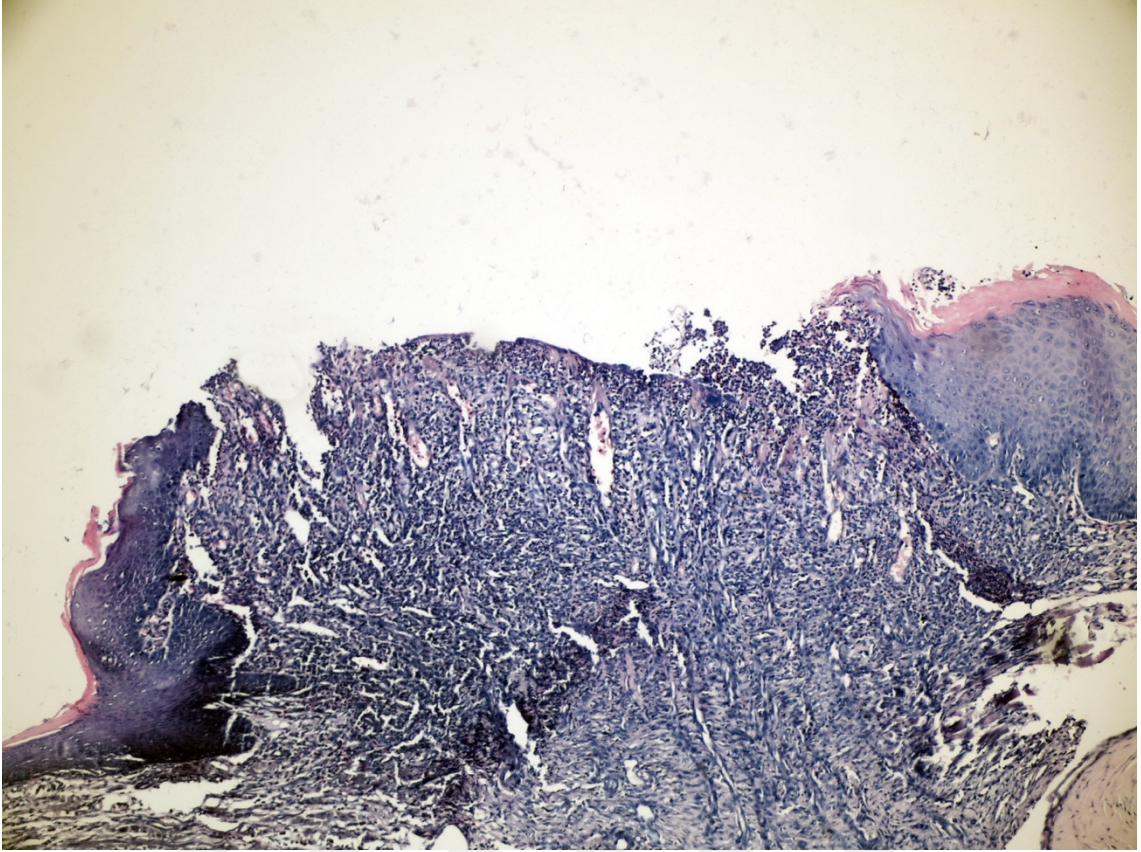
Diyabet grubunda; 3.gün ve 10.gün arasında yara açıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Diyabet+Pentoksifilin grubunda; 3.gün ve 10.gün arasında yara açıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

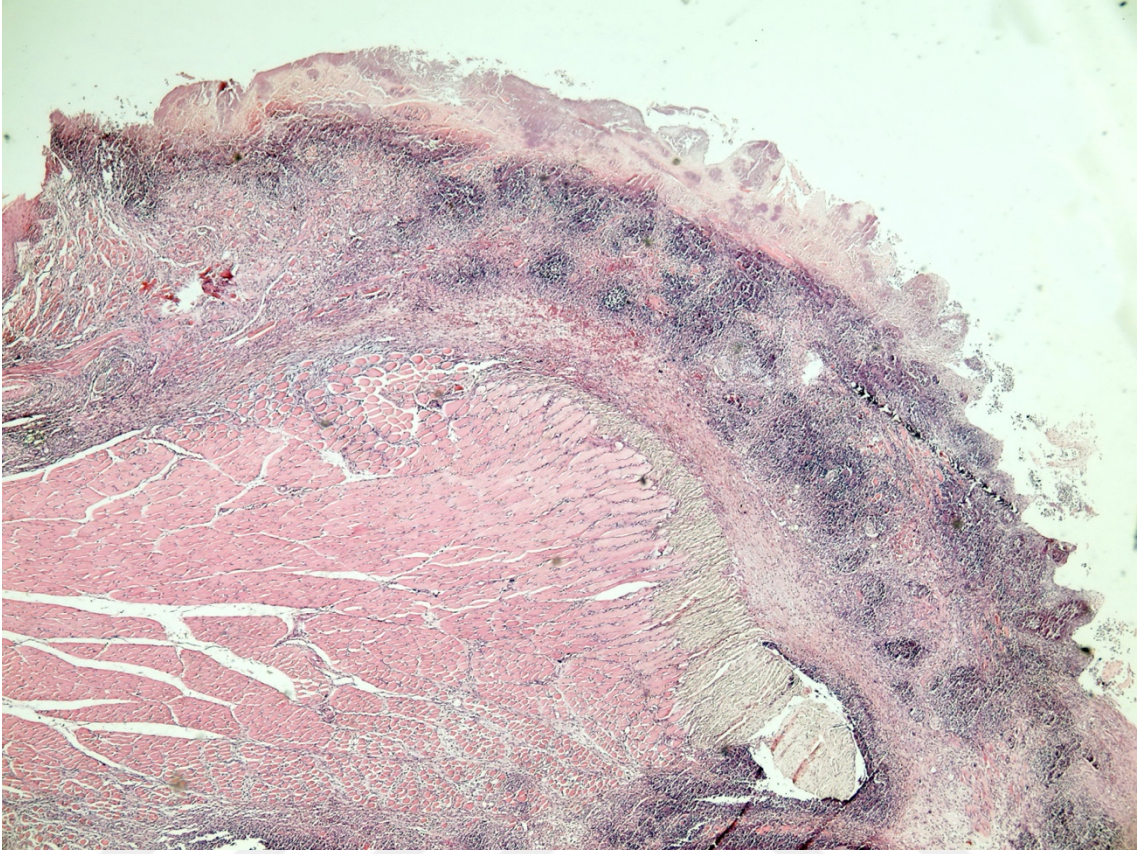
4.4. Işıık Mikroskobu Değerlendirmeleri



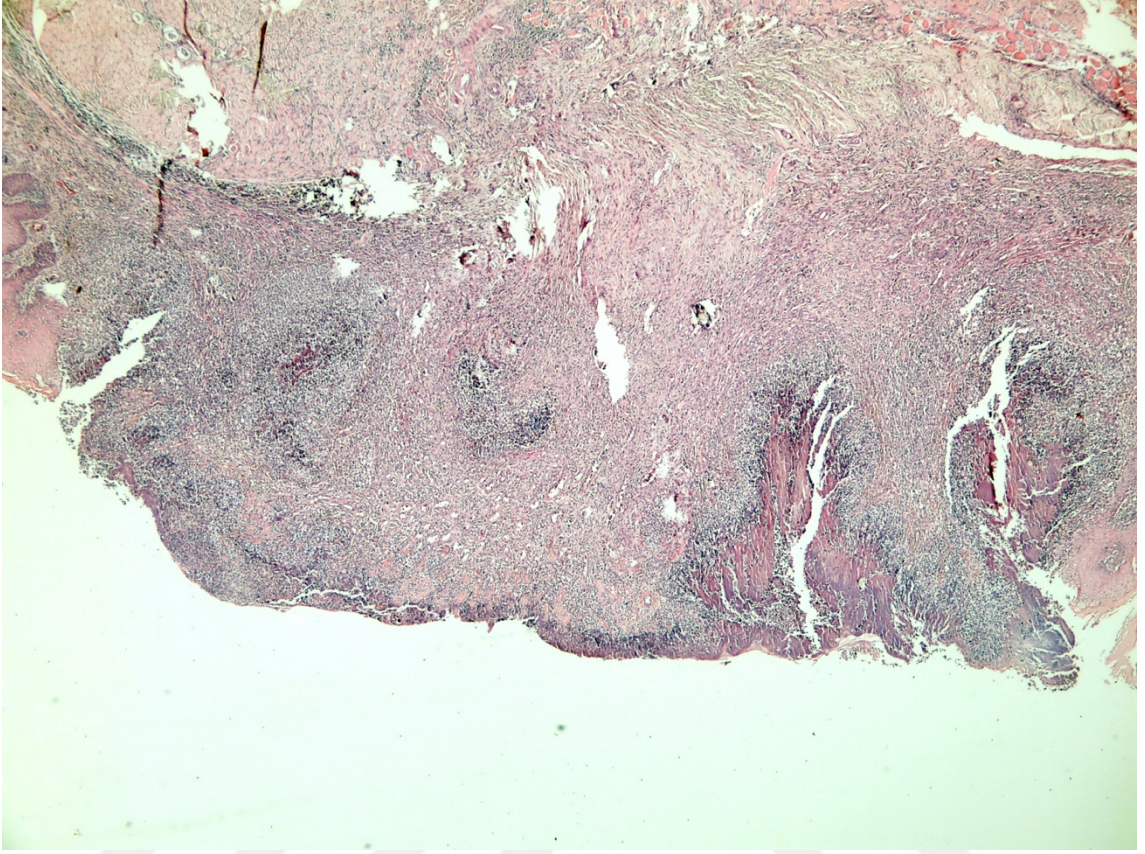
Şekil 4- 6: Yüzeyi eksuda, debris örtmektedir altında yoğun iltihap hücresi infiltrasyonu içeren bağ dokusu görülmektedir (Kontrol Grubu 3. gün, H&E X100).



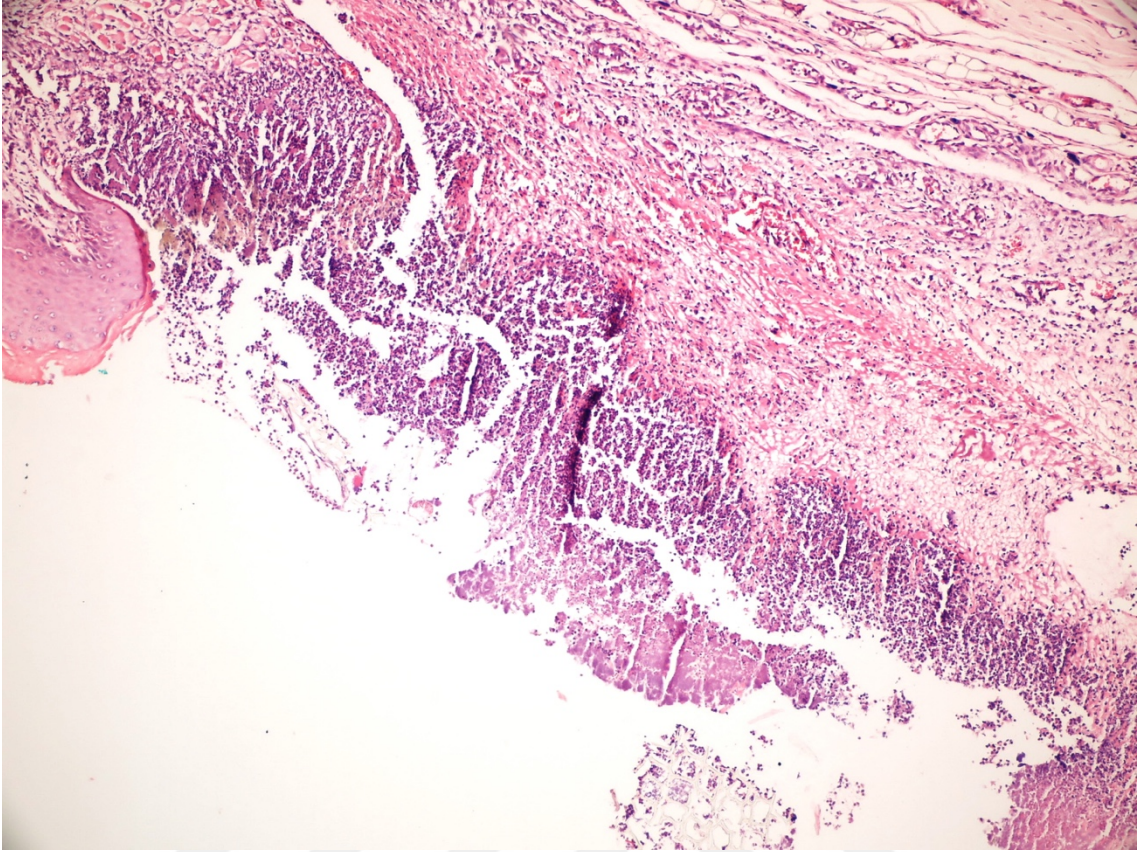
Şekil 4- 7: Yara yüzeyinin 3. güne oranla daraldığı, epitelin kapatmadığı bölgeleri eksuda ve debris örttüğü izlenmektedir. Bunların altında, damardan zengin lenfosit, plazma hücresi, nötrofil ve eozinofil polimorf infiltrasyonu içeren aktif bağ dokusu dikkati çekmektedir (Kontrol Grubu 10. Gün, H&E X100).



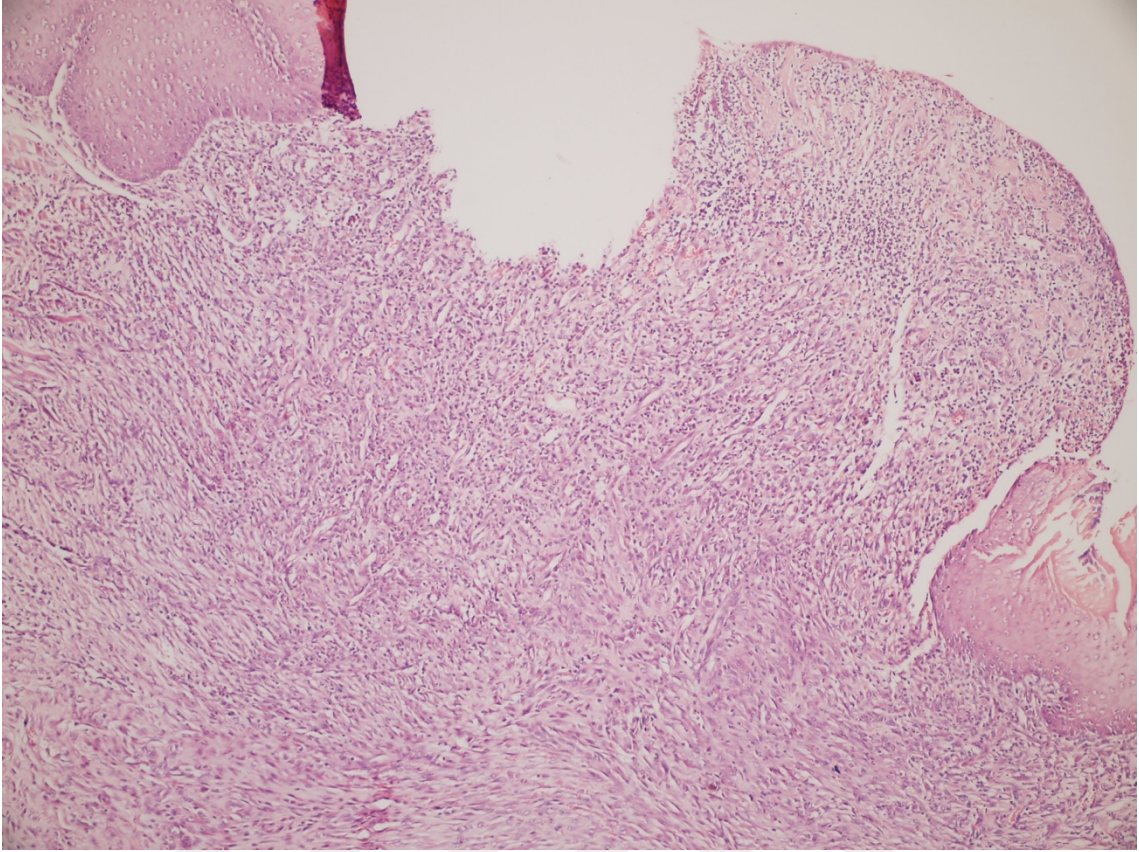
Şekil 4- 8: Yüzeyde geniş bir alanda çok katlı yassı epitelyum ortadan kalkmıştır. Buraları eksuda ve debris örtmektedir. Bunların altında yoğun nötrofil ve eozinofil polimorf, lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu içeren liften bağ dokusu saptanmaktadır (Diyabet Grubu 3. gün H&E X 40).



Şekil 4- 9: Yara bölgesinde yüzeyi büyük ölçüde eksuda ve debris örtmektedir. Bunun altında aktif fibröz bağ dokusu içinde yoğun yer yer foliküller oluşturan lenfosit infiltrasyonu vardır (Diyabet Grubu 10. Gün, H&E X40).



Şekil 4- 10: Yara bölgesinde çok katlı yassı epitelin ortadan kalktığı ve buraları eksuda ve debris örttüğü izlenmektedir. Bunların altında bağ dokusunun yüzeyel bölümlerinde yoğun olmak üzere nötrofil ve eozinofil polimorf, daha az sayıda lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu izlenmektedir (Diyabet+Pentoksifilin Grubu 3. Gün H&E X100).



Şekil 4- 11: Çok katlı yassı epitelin iki taraftan proliferasyon olarak yara yüzeyini kapatmaya başladığı görülmektedir. Defektin ortalarında yüzey epiteli yerine eksuda ve reaktif fibröz doku oluşturmaktadır. Diğer alanlarda genç mezenkimal hücrelerinden oluşan aktif, damardan zengin fibröz bağ dokusu saptanmaktadır. (Diyabet+ Pentoksifilin Grubu 10. Gün, H&E X40).

5. TARTIŞMA

Diyabet; görülme sıklığı dünya çapında artan ve vücutta birçok sisteme hasar veren bir hastalık olarak önemini korumaktadır. Dokularda ve hücrelerde fizyolojik değişikliklere sebep olarak normal yara iyileşmesini bozan bir sürece yol açmaktadır. Diyabet hastalarında oluşan komplikasyonlarda, yara iyileşmesine katkıda bulunacak ilaçlar üzerinde araştırmalar devam etmektedir. Biz de bu amaçla deneysel yolla oluşturduğumuz diyabetik sıçanlarda pentoksifilin oral mukozadaki yara iyileşmesine olan etkilerini inceledik. Sıçanları tercih etmemizde etkili olan faktörler; sıçanların kolay temin edilebilmesi, sıçanlar üzerinde yapılan deney modellerinin tanımlı olması, bakım ve takibinin çalışmacı tarafından kolay kontrol edilebilmesidir. Aynı zamanda sıçanların hızlı ve dayanıklı metabolizmaları birçok deneyin yapılmasına imkân tanımaktadır.

Laboratuvar hayvanları üzerinde deneysel diyabet oluşturmak için çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Bu yöntemlerden bir tanesi pankreasın çıkarılmasıdır. Fakat etkili bir diyabet oluşturmak için pankreasın yaklaşık %90-95'inin çıkarılması gerekir. Ancak bu yöntemde, kalan Langerhans adacıkları hipertrofiye uğrayarak, laboratuvar hayvanlarının metabolizmaları için gerekli olan insülini salgılayabilirler. Dolayısıyla bu yöntem araştırmacılar tarafından tercih edilmemektedir. Hayvanlarda diyabet oluşturmak için tercih edilen diğer bir yöntem ise Alloksan ve Streptozotosin gibi kimyasal ilaçların kullanımıdır. Bu ilaçlar pankreasın Langerhans adacıklarındaki β hücrelerini harap ederek insülin üretimine engel olur (95).

Streptozotosin sıklıkla tek doz olarak, intravenöz veya intraperitoneal yolla uygulanır. Doz aralığı Alloksan kadar dar değildir. Genellikle 40-65mg/kg doz aralığında kullanılmaktadır (86). Biz de çalışmamızda güvenli aralıkta kalmak için 55mg/kg streptozotosin'i tek doz olarak deney hayvanlarına uyguladık.

Streptozotosin'in pankreas β hücreleri üzerine olan etkisi, kan glukoz seviyesi ve kan insülin seviyesindeki ani yükselişler ve alçalışlar ile ilişkilidir. STZ enjeksiyonundan iki saat sonra kan insülin seviyesinin düşmesiyle hiperglisemi meydana gelir. Ardından yaklaşık 6 saat sonra yüksek kan insülin seviyesi ile birlikte hipoglisemi meydana gelir (96). Bu sebeple STZ enjeksiyonundan sonraki

ilk 24 saatte ani hipoglisemik şoku önlemek için deney hayvanlarının içme sularına %5 oranında glikoz çözeltisi ilave edildi.

STZ uygulaması sonrasında, deney hayvanlarının diyabet olup olmadığının doğrulanması için literatürde 48-72 saat geçmesi gerektiğiyle ilgili çalışmalar vardır. Biz de çalışmamızda STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra AKŞ ölçümü yaparak 250mg/dl üzerinde kan şekeri düzeyi bulunan hayvanların diyabet olduklarını doğruladık.

STZ uygulaması ile diyabetik duruma gelen hayvanlarda deneyin başlangıcı ve bitişi arasında kilo kaybı meydana gelmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve literatürle uyum göstermektedir (Tablo 4-3).

Intraoral yaralar genellikle deride oluşan yaralardan daha hızlı iyileşir. Bu yüzden intraoral yaralar bazen fetal yaralara benzetilir (97). İntraoral yara iyileşmesi ayrıca tükürükten ve çok sayıda bakteriden etkilenmektedir (4). Tükürük; epidermal büyüme faktörü gibi çok sayıda büyüme faktörü içerir. Ek olarak, deri ve mukoza fibroblastları arasında fenotipik farklılıklar da görülebilmektedir. Bu durum daha çok palatinal mukozadan farklı bir yapıya sahip olan bukkal mukoza için geçerlidir (5).

Bukkal mukozanın aksine, palatinal mukozada, palatinal kemiğe yapışık şekilde bulunan mukoperosteum bulunur. Bukkal mukoza, palatinal mukozaya göre daha ince epitele sahiptir (98).

Biz de çalışmamızı literatürde daha az araştırılan bukkal mukoza üzerinde yaptık. Deyhimi ve ark. fotodinamik terapi sonrası sıçanların oral mukozadaki yara iyileşmesini inceledikleri çalışmada, sıçanların sol yanak içi bölgesinde 2mm çapında yara modeli oluşturmuşlardır (99).

Fahim ve ark. karbonatlı içeceklerin oral epiteldeki yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, sıçanların sol yanak içi bukkal mukozalarında 3mm çapında yara meydana getirmişlerdir (100).

Literatür taramalarımızda bukkal mukozada yara modeli oluşturmada çoğunlukla 2-5 mm arasında yara büyüklüklerinin tercih edildiğini gördük. Biz de çalışmamızda 3mm çapında tek kullanımlık biyopsi punch ile sıçanların bukkal mukozalarında yara oluşturduk.

Çalışmamızda diyabetik hayvan modeli oluşturarak, yumuşak dokuda yara iyileşmesine etki eden sistemik bir durumu inceledik. Diyabetin yumuşak dokularda meydana getirdiği hasarın tam olarak ne zaman ortaya çıktığı ile ilgili ortak bir görüşe literatürde rastlamadık. Furman; streptozotosin kullanılarak diyabet oluşturduğu fare ve sıçanlar üzerinde yaptığı araştırmasında, deney hayvanlarında diyabet oluşturulduktan sonra, diyabetin erken etkilerini içeren çalışmalar için 7 gün daha beklenmesi gerektiği belirtmiştir (101).

Kant ve ark. STZ ile diyabetik hale getirilmiş sıçanların yumuşak dokularında yara iyileşmesini inceledikleri çalışmalarında, STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra AKŞ ölçümü yapmışlar ve diyabetik indüksiyonu doğrulamışlardır. Ardından 7 gün daha deney hayvanlarını gözlemleyerek deneylere başlamışlardır (102).

Chandran ve ark. diyabetik sıçanlar üzerinde yara iyileşmesini incelemişlerdir. Bu amaçla diyabetik duruma getirdikleri sıçanlarda 3. günde AKŞ ölçümü yapmışlar ve 7 gün deney hayvanlarını gözlem altında tutmuşlardır (103).

Yapmış olduğumuz literatür taramalarına göre biz de diyabetik indüksiyonu 3. günde doğruladık ve cerrahi operasyon öncesi denekleri 7 gün daha gözlem altında tuttuk.

Yara iyileşmesi karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Bu süreç yara bölgesinde hemostazın sağlanmasıyla başlar. Ardından inflamasyon, proliferasyon ve remodeling evreleri gelir. İnflamasyon evresi yara iyileşmesi döneminde genellikle 4. güne kadar sürer. Nötrofiller, yara bölgesine göç ederek debris ve mikroorganizmaları fagosit eder. Sonrasında gelen proliferasyon evresi, yaklaşık 4-21 gün arasında devam eder. Bu aşamada kollajen üretimini ve granülasyon dokusunu görmek mümkündür. Remodeling aşaması ise yaklaşık 21. günden itibaren başlayarak 2 yıla kadar sürebilmektedir. Yara iyileşmesini değerlendiren çalışmalara baktığımızda bu evrelerin sürdüğü günlere göre deney planları ortaya çıkmaktadır (104, 105).

Duarte ve ark. sıçanlarda oral yara iyileşmesini inceledikleri çalışmada, sakrifiye günlerini operasyon sonrasında 3,7 ve 10. günler olarak belirlemişlerdir (106).

Arslantaş ve ark. sıçanlar üzerinde iskemik yara iyileşmesini inceledikleri çalışmalarında, sakrifikasyon günlerini 3,5 ve 10. günler olarak seçmişlerdir (107).

Alzoubi ve ark. diyabetik sıçanlarda, oral mukoza ve dermal dokudaki laserasyonun iyileşmesini değerlendirmek için oluşturdukları deney planında, sakrifikasyon günlerini 1,3,7 ve 10. günler olarak saptamışlardır (108).

Yaptığımız literatür taramalarında, yara iyileşmesi evrelerinden olan inflamasyon evresinin sonuna denk gelen 3. günün ve proliferasyon evresinin yaklaşık ortasına denk gelen 10. günün çalışmalarda sakrifikasyon günü olarak sıklıkla tercih edildiğini gördük. Biz de bu nedenle yumuşak doku yara iyileşmesini incelemek amacıyla sakrifikasyon günlerini 3 ve 10. gün olarak belirledik.

Fibroblastlar doku hasarının onarımı için gerekli olan kollajen birikiminden sorumlu bağ dokusu hücreleridir (95). Kollajen insan vücudundaki proteinlerin %30'unu oluşturur (96). Kollajen sağlıklı dokularda güç, bütünlük ve yapısal destek sağlar. Doku hasarı meydana geldiğinde kollajenin defekti kapatmasına, anatomik yapı ve fonksiyonun sağlanmasına ihtiyaç vardır. Eğer yara bölgesinde gereğinden fazla kollajen birikimi olursa, normal anatomik yapı kaybolur ve fibrosis meydana gelir (104). Fibrosis; dokuda normal yapıdaki unsurların, fonksiyonu bozulmuş ve normalden fazla sentezlenmiş skar dokusu ile yer değiştirmesi olarak tanımlanabilir (109). Pentoksifilin; antifibrotik ilaç olarak periferik vasküler hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Pentoksifilin kan viskozitesini düşürerek ve eritrosit esnekliğini artırarak perifer damarlar üzerine etki eder (110). Aynı zamanda trombositler ve fibroblastlar üzerine etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar vardır (3). Yapılan in vitro çalışmalarda, pentoksifilinin antifibrotik etkisi gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, Fibroblast proliferasyonunun doğrudan inhibe edilmesi, tip I ve tip III kollajen sentezinin düşmesi ve artan kollajenaz aktivitesi; pentoksifilinin moleküler aktivitesi olarak tanımlanmıştır (111, 112).

Pentoksifilinin antifibrotik etkilerini araştıran Isaac ve ark., perioral bölgede yanıkları bulunan ve bundan dolayı ağız açıklığı kısıtlanan hastalar üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada pentoksifilinin hipertrofik skarlar

üzerine olan etkilerini gözlemlemişlerdir. Toplam 18 hasta üzerinde yapılan araştırmada, 10 hastaya pentoksifilini intralezyonel olarak 38 gün boyunca uygulamışlar ve ağız açıklığında belirgin bir artış gözlemlemişlerdir. Pentoksifilinin perioral bölgede bulunan hipertrofik skar dokusunun esnekliğini arttırdığını belirtmişlerdir (113).

Oral submukoz fibroziste pentoksifilin kullanımının incelendiği bir çalışmada, hastalığın etkilerinin bulunduğu 29 hastanın 14 tanesine, 6 ay boyunca oral yoldan pentoksifilin verilmiştir. Araştırmacılar, elde ettikleri sonuçlarda ağız açıklığının arttığını, perioral fibrotik bantların azaldığını, yutkunma ve konuşma güçlüğüne azaldığını belirtmişlerdir (114).

Pentoksifilinin antifibrotik etkilerinin yeterli olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Prabhu ve ark. oral submukoz fibrozisi bulunan 30 hasta ile yaptıkları çalışmada hastaları iki gruba ayırmışlardır. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası olarak topladıkları biyopsi örneklerinde mikrovasküler yoğunluk, bölgedeki kan damarlarının yüzdesi, fibrozis şiddeti ve inflamasyonu incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgularda pentoksifilin uygulanan grup ile kontrol grubu arasında mikrovasküler yoğunluk, ağız açıklığı ve dil protrüzyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır (115).

Babaei ve ark. diyabetik sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada pentoksifilinin kütanöz yara iyileşmesine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla sıçanların sırt derilerinde tam kalınlıkta sekonder yara oluşturmuşlardır. Üçüncü günde yaptıkları ölçümlerde diyabetik grupta fibroblast miktarının istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (116).

Fibrozis düzeyini incelediğimiz çalışmamızda 3 grup arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Gruplar arası kıyaslamalarda 3. günde kontrol grubu ve DP grubu deney hayvanlarının %83,3'ünde hafif düzeyde fibrozis görülürken, diyabet grubunda %33,3 oranında hafif düzeyde fibrozis tespit ettik. Babaei ve ark. yaptıkları çalışmada 3. günde elde ettikleri bulgulara paralel olarak biz de pentoksifilinin, yara iyileşmesinin erken döneminde, fibrozis oluşumuna olumlu etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. 10. gün bulgularımızda ise kontrol grubunda %33,3 hafif ve %66,7 orta düzey fibrozis belirtisi gözlemledik. 10. günde diyabet grubunda %50 orta ve %50 şiddetli düzeyde fibrozis olduğunu gözlemledik. DP

grubunda 10. günde %33,3 hafif, %16,7 orta ve %50 oranında şiddetli fibrozis olduğunu tespit ettik. Grup içi karşılaştırmamızda da 3. ve 10. günler arasında anlamlı bir fark yoktur. Diyabetin 10. günde yara iyileşmesinde fibrozis şiddetini arttırdığını gözlemledik. Diyabet grubunda 10. günde hafif düzeyde fibrozis gözlenmezken, DP grubunda orta düzey fibrozisin hafif düzeye düştüğünü tespit ettik. Bu durum pentoksifilinin diyabetik sıçanlarda fibrozis şiddetini azalttığını düşündürmektedir. Fakat DP grubu, kontrol grubuyla kıyaslandığında fibrozis oranları diyabetin etkisiyle daha yüksektir.

Doku yaralanmasının ardından yara bölgesine nötrofil, monosit/makrofaj ve mast hücrelerinin ulaşmasıyla akut inflamatuvar cevap başlar. Bu hücreler, yaranın tamirini düzenleyecek olan inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri salgılar (117, 118).

TNF- α ve IL-1 β immun cevabın düzenleyicileri olarak sonrasında salgılanacak olan IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlere de öncülük ederler (119).

Pentoksifilinin anti-inflamatuvar ve immunomodülatör etkileri vardır. Makrofaj, monositler ve T lenfositlerinde üretilen TNF- α 'yı inhibe ettiğini gösteren in vitro ve in vivo çalışmalar yapılmıştır (120-122).

Bazı çalışmalarda pentoksifilinin, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe etme kapasitesinden dolayı, diyabetin başlangıcından itibaren kullanılabileceği gösterilmiştir (123). Fakat bu konuyla ilgili bir fikir birliği sağlanamamıştır (124).

Garcia ve ark. pentoksifilinin yara iyileşmesinde inflamasyon evresine olan etkilerini incelemek amacıyla diyabetik sıçanlarda bir deney modeli oluşturmuşlardır. Deneklerin diyabet indüksiyonu sonrasında sağ arka ayaklarına karajenan enjeksiyonu ile ödem meydana getirmişler. Ardından oluşan inflamasyonu 3 ve 48. saatlerde değerlendirmişler. Elde ettikleri bulgularda 3. saatte diyabet ve kontrol gruplarında, pentoksifilinin 50mg/kg ve 100mg/kg dozlarında uygulanmasından sonra benzer şekilde ödem artışı gözlemlenmiştir. 48 saat sonra pentoksifilin uygulanmış gruplarda %50-65 arasında ödemde azalma gözlemlenmişler, fakat genel olarak diyabetik gruplarda ödemin kontrol grubuna oranla daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (125).

Thomas ve ark. streptozotosin ile diyabet oluşturdıkları farelerde, lökosit infiltrasyonunu inceledikleri çalışmada; yara sıvısından 1,3 ve 7. günlerde aspire ettikleri örneklerde, inflamatuvar hücre sayısını, yara oluşturduktan sonraki 1 ve 3. günlerde benzer bulmuşlar, ancak 7. günde, diyabetik hayvanlardan alınan yara sıvısı örneklerinde kontrol grubuna oranla daha az sayıda inflamatuvar hücre bulunduğu sonucuna ulaşmışlardır (126).

Graves ve ark. Tip 1 diyabet oluşturdıkları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada deneklerin kafa derilerine *P.gingivalis* bakterisi enjekte etmişlerdir. Oluşan inflamasyonu 1 ve 3. günlerde incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda 1. günde hafiften şiddetliye doğru inflamasyonu, hem diyabetik hem de kontrol grubunda gözlemlemişlerdir. 3. günde ise inflamatuvar cevabı diyabetik grupta, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır (127).

Diyabetik sıçanların ağız içi dokularında meydana gelen yaralarda pentoksifilin etkisini incelediğimiz çalışmamızda, gruplar arasında iltihap düzeylerini karşılaştırdık. 3. günde gruplarda görülen iltihap düzeylerine baktığımızda kontrol grubunda deney hayvanlarının %33,3'ünde orta; %66,7'sinde şiddetli düzeyde iltihap gözlemledik. Diyabet grubunda, deneklerde, %16,7 orta; %83,3 şiddetli iltihap ve DP grubunda %66,7 orta; %33,3 oranında şiddetli iltihap tespit ettik. Gruplar arasında 3. günde iltihap düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulamadık. Gruplar arası iltihap oranları karşılaştırıldığında, diyabetin iltihap üzerine olumsuz etkisinin olduğu görülmektedir. DP grubunda yara iyileşmesinin ilk 3 gününde şiddetli iltihap oranı, diğer gruplara oranla daha az bulunmuştur. Pentoksifilin yara iyileşmesinin 3. gününde iltihap üzerine olumlu etkisinin olduğu görülmektedir. 10. gün gruplar arası karşılaştırmalarda kontrol ve DP grupları arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır. Kontrol grubunda 10. günde görülen iltihap %83,3 orta; %16,7 şiddetli düzeydeyken, DP grubunda %83,3 hafif; %16,7 oranında orta şiddette iltihap gözlemledik. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla Thomas ve ark. bulguları benzerlik göstermektedir. Thomas ve ark. çalışmalarında, 7. günde diyabetik hayvanlarda inflamatuvar hücre sayısını daha az bulmuşlardır. Biz de elde ettiğimiz bulgularda, yara iyileşmesinin ilerleyen döneminde diyabet grubunda daha hafif bir inflamasyon gözlemledik. Thomas ve ark. çalışmasını destekler nitelikte sonuç bulsak da diyabet grubunda

elde ettiğimiz inflamasyon oranı istatistiksel olarak anlamlı değildir. DP grubunda daha çok sayıda gözlemlediğimiz hafif inflamasyon oranı, pentoksifilin yara iyileşmesine etkisinin olduğunu göstermektedir (126).

Diyabetik sıçanlarda yara açıklığı değerlendirmelerinin yapıldığı çalışmalarda, diyabetin yara iyileşmesinde meydana getirdiği negatif etkileri görmek mümkündür. Cheng ve ark. Streptozotosin kullanarak diyabetik hale getirdikleri sıçanlar üzerinde yara iyileşmesini incelemişlerdir. Oluşturdukları yara modelinde, deney hayvanlarının sırt bölgesini kullanmışlardır ve 21. güne kadar yara açıklığını incelemişlerdir. Tip 1, Tip 2 diyabet grupları benzer hızla ve diyabetik olmayan gruba oranla daha yavaş bir iyileşme göstermiştir (128).

Azevedo ve ark. diyabetik sıçanlar üzerinde yara iyileşmesini inceledikleri çalışmada 10. günde yara kontraksiyonunu kontrol ve diyabetik sıçanlarda birbirine yakın olarak bulmuşlardır (129).

Ebaid ve ark. diyabetik sıçanlarda yaptıkları çalışmada, deneklerin sırtlarında yara oluşturmuşlardır. Yara oluşturduktan sonra 2. günde gruplar arasında yara açıklığı açısından bir fark gözlemlememişlerdir. 3. günde diyabetik sıçanlarda, kontrol grubuna oranla yara açıklığını daha fazla bulmuşlardır. Yara kenarlarının kontraksiyonuna baktıklarında ise kontrol grubunda 5. güne kadar, diyabetik grupta ise 10. güne kadar kontraksiyona rastlamamışlardır (130).

McLennan ve ark. deneysel olarak diyabet oluşturdukları sıçanlar üzerinde yara iyileşmesini inceledikleri çalışmalarında, oluşturdukları yaraları 6 ve 12. günlerde incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgulara diyabetin yara kenarlarındaki epitelyal kapanmayı ve reepitelyasyonu azalttığını fakat yara kontraksiyonuna etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (131).

Yara açıklığını değerlendirdiğimiz çalışmamızda yer alan her 3 grupta 3. günde birbirine yakın değerler elde ettik (Kontrol Grubu: $1,73 \pm 0,73$ mm/Diyabet Grubu: $2,45 \pm 1,17$ mm/Diyabet+Pentoksifilin Grubu: $2,31 \pm 0,22$ mm). Ebaid ve ark. elde ettikleri bulguların aksine bizim bulgularımızda 3. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur. 10. güne gelindiğinde kontrol ve DP grubu birbirine yakın değerlerle diyabet grubuna oranla daha hızlı bir gelişme göstermiştir. 10. günde elde ettiğimiz yara açıklığı değerleri istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur. Azevedo ve ark. yaptıkları çalışmada 10. günde elde ettikleri sonuçlarda diyabet ve kontrol grubu arasında yara açıklığını yakın bulmuşlardır (129). Kıyaslamalarımız sonucunda 10. günde diyabet grubunda belirgin derecede yara açıklığı olduğunu gözlemledik.

Periferik vazodilatör özelliğe sahip pentoksifilin bu özelliği genellikle iskemik deri fleplerinde meydana gelen nekroz ve fleplerin sağ kalımı ile değerlendirilmektedir. Takayanagi ve ark. sıçanlar üzerinde pentoksifilin fleplerin sağ kalımı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, pentoksifilin deri fleplerinde nekroz oluşumunu etkili şekilde önlediğini belirtmişlerdir (132).

Freedman ve ark. pentoksifilin deri flepleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, pentoksifilin iyileşmede herhangi bir etkisinin bulunmadığını gözlemlemişlerdir (133).

Bayat ve ark. sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada pentoksifilin deri flepleri üzerinde meydana gelen nekrozu azalttığını belirtmişlerdir (134).

Yanık yaraları, merkezinde nekroz alan bulunan ve çevresinde iskemik alan tarafından çevrilen yaralardır. Lim ve ark. pentoksifilin kan vizkozitesini düşürmesi ve trombus formasyonunu azaltmasının, yanık yaralarında iskemik alanın tamamen nekrozlaşmasını engelleyeceği yönünde hipotezde bulunmuş ve bununla ilgili sıçanlar üzerinde çalışma yapmışlardır. Sıçanların sırtlarında oluşturdukları yanık yaralarına farklı dozlarda pentoksifilin uygulamışlardır. 7. gün sonunda ilacın yara iyileşmesinde meydana gelen nekroza olan etkilerini gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda 4,8 ve 12mg/kg olarak uyguladıkları pentoksifilin dozlarının gruplar arasında görülen nekroz yüzdeleri açısından anlamlı bir farklılık olmadığını ve nekroz gelişimini azaltmadığını belirtmişlerdir (135).

Çalışmamızda sekonder yara iyileşmesi sürecinde diyabetin ve pentoksifilin nekroz üzerine etkilerini inceledik. 3. günde kontrol grubu (%66,7), diyabet grubu (%66,7) ve DP grubunda (%83,3) birbirine yakın değerlerde nekroz oluşumu tespit ettik. Aradaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulmadık. 10. günde pentoksifilin kullandığımız grupta (DP grubu) kontrol ve diyabetik gruba oranla daha düşük düzeyde nekroza rastladık. 10. günde DP grubunda %16,7 oranında nekroz tespit ederken, kontrol ve diyabetik gruplarda bu oran %50'ye

yükselmektedir. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Fakat aradaki yüzdesel farktan dolayı pentoksifilin yara iyileşmesinde görülen nekroz üzerine olumlu bir katkısının olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamız literatürde pentoksifilin etkilerinin araştırılmadığı bir alan olan diyabetik sıçanlarda oral mukoza yaraları üzerinde yapılmıştır. Dolayısıyla yapmış olduğumuz çalışma bu alanda yapılacak araştırmalar için başlangıç niteliği taşımaktadır. Diyabetik sıçanlar üzerinde meydana gelen oral mukoza yaralarında pentoksifilin etkileriyle ilgili gelecekte yapılacak çalışmalara gereksinim vardır.



6. SONUÇ

1. Sıçanlarda STZ kullanılarak diyabet oluşturma'nın, uygulaması kolay ve tekrarlanabilen bir deney modeli olduğunu gözlemledik.
2. Diyabet oluşturulan sıçanlarda deney süreci boyunca diyabetin etkileri olan polifaji, poliüri ve belirgin derecede kilo kaybı olduğunu gördük.
3. Gruplar arasında 3. günde hafif düzeyde görülen fibrozis, kontrol ve DP gruplarında aynı oranda görülmelerine rağmen, diyabet grubunda bu oran daha düşük tespit edildi. Diyabet grubunda orta ve şiddetli düzeyde fibrozis daha yüksek oranda görüldü.
4. DP grubunda yara iyileşmesinin 10. gününde pentoksifilin'in iltihap oluşumuna olumlu katkı yaptığını gözlemledik.
5. Diyabet grubunda 10. günde yara açıklığının anlamlı derecede fazla olduğunu tespit ettik.
6. Pentoksifilin'in yara iyileşmesinde nekroz oluşumu üzerine olumlu olarak hafif bir etkisinin olduğunu, ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirledik.

KAYNAKLAR

1. Guo, S. A., DiPietro, L. A. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010; 89(3): 219-229.
2. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest*. 2007; 117:1219-1222.
3. Ely H. Pentoxifylline therapy in dermatology. *Derm Clin*. 1988; 6:585– 608.
4. Zelles T, Purushotham KR, Macaulay SP, Oxford GE, Humphreys-Beher MG. Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. *J Dent Res*. 1995; 74:1826–1832.
5. Lepekhn E, Gron B, Berezin V, Bock E, Dabelsteen E. Differences in motility pattern between human buccal fibroblasts and periodontal and skin fibroblasts. *Eur J Oral Sci*. 2002; 110:13–20.
6. Kerstein MD. The scientific basis of healing. *Adv Wound Care*. 1997; 10:30-36.
7. Lazarus G, Cooper D, Knighton D, et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol*. 1994; 130:489-493.
8. Wahl LM, Wahl SM. Inflammation. In: Cohen IK, Diegelman RF, Lindblad WJ (eds). *Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects*. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1992; 40-62.
9. Sussman C, Bates-Jensen BM. Wound healing physiology: Acute and chronic. In: Sussman C, Bates-Jensen BM (eds). *Wound Care: A Collaborative Practice Manual for Health Professionals*, 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams and Wilkins. 2007; 21-51.
10. Daley JM, Reichner JS, Mahoney EJ, Manfield L, Henry WL, Mastrofrancesco B, et al: Modulation of macrophage phenotype by soluble product(s) released from neutrophils. *J Immunol*. 2005; 174: 2265–2272.
11. Velnar, T.; Bailey, T.; Smrkolj, V. The wound healing process An overview of the cellular and molecular mechanisms. *J. Int. Med. Res*. 2009; 37: 1528-1542.
12. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatol*. 2010; 25:19-25.
13. Eming SA, Krieg T, Davidson JM: Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol*. 2007; 127: 514–525.
14. Bishop A. Role of oxygen in wound healing. *J Wound Care*. 2008; 17:399-402.
15. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatol Surg*. 2008; 34:1159-1169.

16. Tandara AA, Mustoe TA. Oxygen in wound healing—more than a nutrient. *World J Surg.* 2004; 28:294-300.
17. Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Jensen P, Kit M, Krogfelt K, Phipps R, et al. Why chronic wounds won't heal: a novel hypothesis. *Wound Repair Regen.* 2008; 1:2-10.
18. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World J Surg.* 2004; 28:321-326.
19. Keylock KT, Vieira VJ, Wallig MA, DiPietro LA, Schrementi M, Woods JA. Exercise accelerates cutaneous wound healing and decreases wound inflammation in aged mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008; 294:179-184.
20. Swift ME, Burns AL, Gray KL, DiPietro LA. Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. *J Invest Dermatol.* 2001; 117:1027-1035.
21. Emery CF, Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Malarkey WB, Frid DJ. Exercise accelerates wound healing among healthy older adults: a preliminary investigation. *J Gerontol Med Sci.* 2005; 60:1432-1436.
22. Godbout JP, Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2006; 1:421-427.
23. Boyapati L, Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol.* 2007; 2000 44:195-210.
24. Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, Bhatt KA, Callaghan M, Bastidas N, et al. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am J Pathol.* 2004; 164:1935-1947.
25. Franz MG, Steed DL, Robson MC. Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *Curr Probl Surg.* 2007; 44:691-763.
26. Dong Y-L, Fleming RYD, Yan TZ, Herndon DN, Waymack JP. Effect of ibuprofen on the inflammatory response to surgical wounds. *J Trauma.* 1993; 35:340-343.
27. Dvivedi S, Tiwari SM, Sharma A (). Effect of ibuprofen and diclofenac sodium on experimental wound healing. *Indian J Exp Biol.* 1997; 35:1243-1245.
28. Krischak GD, Augat P, Claes L, Kinzl L, Beck A (). The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug application on incisional wound healing in rats. *J Wound Care.* 2007; 16:76-78.
29. Lemmens L, Claes V, Uzzell M. Managing patients with metastatic colorectal cancer on bevacizumab. *Br J Nurs.* 2008; 17:944-949.
30. Gentilello LM, Cobean RA, Walker AP, Moore EE, Wertz MJ, Dellinger EP. Acute ethanol intoxication increases the risk of infection following penetrating abdominal trauma. *J Trauma.* 1993; 34:669-674.

31. Szabo G, Mandrekar P. A recent perspective on alcohol, immunity, and host defense. *Alcohol Clin Exp Res*. 2009; 33:220-232.
32. Radek KA, Kovacs EJ, Gallo RL, DiPietro LA. Acute ethanol exposure disrupts VEGF receptor cell signaling in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008; 295:174-184.
33. Siana JE, Rex S, Gottrup F. The effect of cigarette smoking on wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1989; 23:207-209.
34. Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg*. 1991; 126:1131-1134.
35. Ahn C, Mulligan P, Salcido RS. Smoking—the bane of wound healing: biomedical interventions and social influences. *Adv Skin Wound Care*. 2008; 21:227-238.
36. Chan LK, Withey S, Butler PE. Smoking and wound healing problems in reduction mammoplasty: is the introduction of urine nicotine testing justified? *Ann Plast Surg*. 2006; 56:111-115.
37. Levin L, Schwartz-Arad D. The effect of cigarette smoking on dental implants and related surgery. *Implant Dent*. 2005; 14:357-361.
38. Balaji SM. Tobacco smoking and surgical healing of oral tissues: a review. *Indian J Dent Res*. 2008; 19:344-348.
39. S.rensen LT, Jorgensen LN, Zillmer R, Vange J, Hemmingsen U, Gottrup F. Transdermal nicotine patch enhances type I collagen synthesis in abstinent smokers. *Wound Repair Regen*. 2006; 14:247-251.
40. McMaster SK, Paul-Clark MJ, Walters M, Fleet M, Anandarajah J, Sriskandan S, et al. Cigarette smoke inhibits macrophage sensing of Gram-negative bacteria and lipopolysaccharide: relative roles of nicotine and oxidant stress. *Br J Pharmacol*. 2008; 153:536-543.
41. Arnold M, Barbul A. Nutrition and wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117:42-58.
42. Shepherd AA. Nutrition for optimum wound healing. *Nurs Stand*. 2003; 18:55-58.
43. Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008; 11:281-288.
44. Burgess C. Topical vitamins. *J Drugs Dermatol*. 2008; 7: 2-6.
45. Khoosal D, Goldman RD. Vitamin E for treating children's scars. Does it help reduce scarring? *Can Fam Physician*. 2006; 52:855-856.
46. Ghalioungui P. The Ebers papyrus: A new English translation, commentaries and glossaries. Cairo: Academy of Scientific Research and Technology. 1987
47. Peumery JJ. Histoire illustrée du diabète. De l'Antiquité à nos jours. Paris: Les Éditions Roger Dacosta. 1987

48. Laios K, Karamanou M, Saridaki Z, Androutsos G. Aretaeus of Cappadocia and the first description of diabetes. *Hormones (Athens)*. 2012; 11: 109-113
49. Adams F. The extant works of Aretaeus the Cappadocian. London: Sydenham Society. 1856
50. Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, et al. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet* 2009; 41: 703e7
51. Wherrett DK, Daneman D. Prevention of type 1 diabetes. *EndocrinolMetabClin North Am*. 2009; 38: 777e90
52. Colagiuri S, Lee CM, Wong TY, Balkau B, Shaw JE, Borch-Johnsen K. Glycemic thresholds for diabetes-specific retinopathy: implications for diagnostic criteria for diabetes. *Diabetes Care*. 2011; 34: 145–50.
53. Prentki M, Nolan CJ. Islet β cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2006; 116: 1802–12.
54. DeFronzo RA. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. 2009; 58: 773–95.
55. Thivolet C. Beta cells in type-1 diabetes: victims or activators of T cell response. *Diabetes Metab. (Paris)* 2002; 28: 267–269.
56. Gillespie KM. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ*. 2006; 175 (2): 165.
57. Narendran P, Estella E, Furlanos S. Immunology of type 1 diabetes. *Q. J. Med.* 2005; 98: 547–556.
58. Barclay L. Type 1 diabetes. new medical therapy: nmt briefs, 2005. thomson centerwatch, www.centerwatch.com.
59. Weinman EO, Strisower EH, Chaikoff IL. Conversion of fatty acids to carbohydrate: application of isotopes to this problem and role of the Krebs cycle as a synthetic pathway. *Physiol. Rev.* 1957; 37: 252–272.
60. Figueiredo LF, Schuster S, Kaleta C, Fell DA. Can sugars be produced from fatty acids? A test case for pathway analysis tools. *Bioinformatics*. 2009; 25 (1):152–158.
61. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005; 365: 1333–46.
62. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37: 1595–607
63. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006; 444: 840–46.
64. Burcelin R, Knauf C, Cani PD. Pancreatic α -cell dysfunction in diabetes. *Diabetes Metab*. 2008; 34 (suppl 2): 49–55.

65. Mulder H, Nagorny C, Lyssenko V, Groop L. Melatonin receptors in pancreatic islets: good morning to a novel type 2 diabetes gene. *Diabetologia*. 2009; 52: 1240–49.
66. Cooper MS, Stewart PM. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and its role in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, metabolic syndrome, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94: 4645–54.
67. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*. 2006; 368: 1696–705.
68. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucosetoxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 2003; 52: 581–87.
69. Hull RL, Westermarck GT, Westermarck P, Kahn SE. Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 3629–43.
70. Marchetti P, Lupi R, Del Guerra S, Bugliani M, Marselli L, Boggi U. The beta-cell in human type 2 diabetes. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 654: 501–14.
71. Ehses JA, Ellingsgaard H, Boni-Schnetzler M, Donath MY. Pancreatic islet inflammation in type 2 diabetes: from alpha and beta cell compensation to dysfunction. *Arch Physiol Biochem*. 2009; 115: 240–47.
72. Aiello LP, Gardner TW, King GL et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 1998; 21: 143–56.
73. Chen YD, Reaven GM. Insulin resistance and atherosclerosis. *Diabetes Rev*. 1997; 5: 331–43.
74. Ritz E, Orth SR. Nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 1999; 341: 1127–33.
75. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL et al. Diabetes and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999; 100: 1134–46.
76. Barroso I, Gurnell M, Crowley VEF et al. Dominant negative mutations in human PPAR γ associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature*. 1999; 402: 880–83.
77. Samlaska CP, Winfield EA. Pentoxifylline. *J Am Acad Dermatol*. 1994; 30:603-21.
78. Van Furth AM, Verhard-Seijmonsbergen EM, van Furth R, Langermans JA. Effect of lisofylline and pentoxifylline on the bacterial-stimulated production of TNF- α , IL-1 β , IL-10 by human leucocytes. *Immunology*. 1997; 91:193-6.
79. Strieter RM, Remick DG, Ward PA, Spengler RN, Lynch JP 3rd, Larrick J, et al. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor- α production by pentoxifylline. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988; 155:1230-6.

80. Ely H. Pentoxifylline therapy in dermatology. A review of localized hyperviscosity and its effects on the skin. *Dermatol Clin.* 1988; 6:585-608.
81. Porsche E, Stefanovich V. The influence of pentoxifylline on ATPase activity of human erythrocyte membranes. *International Research Communications System J Med Sci.* 1978; 6:285.
82. Nees S, Schonharting M. On the role of different blood cell types in the rheological behavior of whole blood. *Clin Hemorheol.* 1987; 7:417.
83. Ely H. White blood cells as mediators of hyperviscosity-induced tissue damage in neutrophilic vascular reactions: therapy with pentoxifylline. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 1989; 4: 677-680.
84. Berman B, Duncan MR. Pentoxifylline inhibits normal human dermal fibroblast in vitro proliferation, collagen, glycosaminoglycan, and fibronectin production, and increases collagenase activity. *J Invest Dermatol.* 1989; 92:605-10.
85. Berman B, Wietzerbin J, Sanceau J, Merlin G, Duncan MR. Pentoxifylline inhibits certain constitutive and tumor necrosis factor-alpha induced activities of human normal dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 1992; 98:706-12.
86. Ganda OP, Rossi AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes.* 1976; 25: 595-603.
87. West E, Simon OR, Morrison EY. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *West Indian Med J.* 1996; 45: 60-62.
88. Bolaffi JL, Nagamatsu S, Harris J, Grodsky GM. Protection by thymidine, an inhibitor of polyadenosine diphosphate ribosylation, of streptozotocin inhibition of insulin secretion. *Endocrinology.* 1987; 120: 2117-2122.
89. Nukatsuka M, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J. Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. *J Endocrinol.* 1990; 127: 161-165.
90. 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: 50-56.
91. Yamamoto H, Uchigata Y, Okamoto H: Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature.* 1981; 294: 284-286.
92. Morgan NG, Cable HC, Newcombe NR, Williams GT: Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis. *Biosci Rep.* 1994; 14: 243-250.
93. Delaney CA, Dunger A, Di Matteo M, Cunningham JM, Green MH, Green IC: Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O6-alkylating ability. *Biochem Pharmacol.* 1995; 50: 2015-2020.

94. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S: Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*. 2000; 43: 1528-1533.
95. Ross, R., Wound healing, *Sci Am*. 1969; 220: 40.
96. Prockop, D. J., and Kivirikko, K. I., Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy, *Annu Rev Biochem*. 1995; 64: 403.
97. Okazaki M, Yoshimura K, Uchida G, Harii K. Elevated expression of hepatocyte and keratinocyte growth factor in cultured buccal-mucosa-derived fibroblasts compared with normal-skin-derived fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 2002; 30:108–115.
98. Bourke KA, Haase H, Li H, Daley T, Bartold PM. Distribution and synthesis of elastin in porcine gingival and alveolar mucosa. *J Periodont Res*. 2000; 35:361–368.
99. Deyhimi, Parviz, et al. Histological evaluation of wound healing process after photodynamic therapy of rat oral mucosal ulcer. *Journal of dentistry*. 2016; 17.1: 43.
100. Fahim, Ayesha, et al. Effect of carbonated drinks on wound healing of oral epithelium. *Journal of oral biology and craniofacial research*. 2016; 6.1: 50-54.
101. Furman, Brian L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current protocols in pharmacology*. 2015; 70: 47.
102. Kant, Vinay, et al. Antioxidant and anti-inflammatory potential of curcumin accelerated the cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Immunopharmacology*. 2014; 20(2): 322-330.
103. Chandran, Rahul, et al. Syzygium mundagam bark methanol extract restores skin to normal in diabetic wounded rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 94: 781-786.
104. Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Knighton, D. R., Margolis, D. J., Pecoraro, R. E., Rodeheaver, G., and Robson, M. C., Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing, *Arch Dermatol*. 1994; 130: 489.
105. Sussman C, Bates-Jensen BM. Wound healing physiology: Acute and chronic. In: Sussman C, Bates-Jensen BM (eds). *Wound Care: A Collaborative Practice Manual for Health Professionals*, 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams and Wilkins. 2007; 21-51.
106. Duarte CM, Quirino MR, Patrocínio MC, Anbinder AL. Effects of *Charmomilla recutita* (L.) on oral wound healing in rats. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16 (6):716-21.
107. Arslantaş, M. K.; Arslantaş, R.; Tozan, Emine Nur. Effects of systemic erythropoietin on ischemic wound healing in rats. *Ostomy/wound management*. 2015; 61(3): 28-33.

108. Alzoubi, Fawaz; Joseph, Bobby; Andersson, Lars. Healing of soft tissue lacerations in diabetic-induced rats. *Dental Traumatology*. 2017; 33(6): 438-443.
109. Kovacs, E. J., Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue, *Immunol Today*. 1991; 12: 17.
110. Dettelbach HR, Aviado DM. Clinical pharmacology of pentoxifylline with special reference to it's hemorrheologic effect for the treatment of intermittent claudication. *J Clin Pharmacol*. 1985; 25:8.
111. Rawlins JM, Lam WL, Karoo RO, et al. Pentoxifylline inhibits mature burn scar fibroblasts in culture. *Burns*. 2006; 32 (1):42–45.
112. Isaac C, Mathor MB, Bariani G, et al. Pentoxifylline modifies three-dimensional collagen lattice model contraction and expression of collagen types I and III by human fibroblasts derived from post-burn hypertrophic scars and from normal skin. *Burns*. 2009; 35(5):701–706.
113. Isaac, Cesar, et al. Intralesional pentoxifylline as an adjuvant treatment for perioral post-burn hypertrophic scars. *Burns*. 2010; 36(6): 831-835.
114. Rajendran R, Rani V, Shaikh S. Pentoxifylline therapy: a new adjunct in the treatment of oral sub- mucous fibrosis. *Indian J Dent Res*. 2006; 17(4):190–8.
115. Prabhu N, Rao SS, Kotrashetti SM, et al. Pentoxifylline in patients with oral submucous fibrosis-a randomized clinical trial. *J Maxillofac Oral Surg*. 2015; 14(1):81–9.
116. Babaei, Saeed, et al. Pentoxifylline improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *European journal of pharmacology*. 2013; 700: 165-172.
117. Engelhardt, E. et al. Chemokines IL-8, GROalpha, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing. *American Journal of Pathology*. 1998; 153: 1849-1860.
118. Hebda, P.A., Collins, M.A. and Tharp, M.D. Mast cell and myofibroblast in wound healing. *Dermatologic Clinics*. 1993; 11: 685-696.
119. Hildebrand, F., Pape, H.C. and Krettek, C. The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction. 2005; 108(10): 793-4.
120. Hecht M, Müller M, Lohmann-Mathes ML, Emmendorffer A. In vitro and in vivo effects of pentoxifylline on macrophages and lymphocytes derived from autoimmune MRL-lpr/lpr mice. *J Leukoc Biol*. 1995; 57:242–9.
121. Pollice PF, Rosier RN, Looney RJ, Puzas JE, Schwarz EM, O'Keefe RJ. Oral pentoxifylline inhibits release of tumor necrosis factor-alpha from human peripheral blood monocytes: a potential treatment for aseptic loosening of total joint components. *J Bone Joint Surg Am*. 2001; 83:1057–61.
122. Luna T, Santos SB, Nascimento M, Porto MAF, Muniz AL, Carvalho EM, et al. Effect of TNF-alpha production inhibitors on the production of pro

- inflammatory cytokines by peripheral blood mononuclear cells from HTLV-1-infected individuals. *Braz J Med Biol Res.* 2011; 44:1134–40.
123. Cooper A, Mikhail A, Lethbridge MW, Kemeny DM, Macdougall IC. Pentoxifylline improves hemoglobin levels in patients with erythropoietin-resistant anemia in renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:1877–82.
 124. Bilsborough W, O'Driscoll G, Stanton K, Weerasooriya R, Dembo L, Taylor R, et al. Effect of lowering tumour necrosis factor- α on vascular endothelial function in type II diabetes. *Clin Sci.* 2002; 103:163–9.
 125. Garcia et al. *Journal of Inflammation* .2015; 12:33.
 126. Thomas J., et al. Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. *Journal of Surgical Research.* 1991; 50: 308-313.
 127. Graves DT, Naguib G, Lu H, Leone C, Hsue H, Krall E. Inflammation is more persistent in Type 1 diabetic mice. *J Dent Res.* 2005; 84:324-328.
 128. Cheng, Kuang-Yao, et al. Wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats using atmospheric-pressure argon plasma jet. *Scientific reports.* 2018; 8: 12214.
 129. Azevedo, Ítalo Medeiros, et al. Wound healing of diabetic rats treated with *Moringa oleifera* extract. *Acta cirurgica brasileira.* 2018; 33: 799-805.
 130. Ebaid, Hossam, et al. Whey protein enhances normal inflammatory responses during cutaneous wound healing in diabetic rats. *Lipids in health and disease.* 2011; 10: 235.
 131. McLennan, Susan V., et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Repair and Regeneration.* 2008; 16: 706-713.
 132. Takayanagi S, Ogawa Y. Effects of Pentoxifylline on flap survival. *Plast Reconstr Surg.* 1980;65(6):763–767.
 133. Freedman AM, Hyde GL, Luce EA. Failure of pentoxifylline to enhance skin flap survival in the rat. *Ann Plast Surg.* 1989; 23(1):31–34.
 134. Bayat M, Chelcheraghi F, Piryaee A, et al. The effect of 30-day pretreatment with pentoxifylline on the survival of a random skin flap in the rat: an ultrastructural and biomechanical evaluation. *Med Sci Monit.* 2006; 12(6):201–207.
 135. Lim T, Taira BR, Singer AJ, et al. Effect of IV pentoxifylline on burn wound progression. *Ann Emerg Med.* 2009; 54(3): 98.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



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

Başvuru : 20.09.2017

Toplantı Tarihi : 26.10.2017

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, **Doktora Öğrencisi Dt. Mustafa Erdem YAZICI**'ya ait "Deneyisel Olarak Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Pentoksifilin'in 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	44
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	01.11.2017/01.11.2018	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof. Dr. Mustafa Oral ÖNCÜL
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Doç. Dr. Aygül EKİCİ
Üye

Doç. Dr. Uğur AKSU
Üye

Yrd. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Yrd. Doç. Dr. Aydın ÇEVİK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak.Yük. Müh
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mustafa Erdem	Soyadı	YAZICI
Doğ.Yeri	Üsküdar	Doğ.Tar.	01/02/1990
Email	erdemyzc@gmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2019
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Lisans	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Lise	Maltepe Askeri Lisesi	2008

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	YDS Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	-	60

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	85,02	82,64	67,52

Bilgisayar Bilgisi

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

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK SIÇANLARDA PENTOKSİFİLİN'İN ORAL MUKOZADAKİ YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

ORIJİNALLIK RAPORU

%**6**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**3**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**6**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 3
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to Altinbas University Öğrenci Ödevi	<% 1
4	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	Submitted to Kirikkale University Öğrenci Ödevi	<% 1
6	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
8	dspace.trakya.edu.tr:8080	