



**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ
FAKÜLTESİ**

**DİYABETİK SIÇANLARDA ENERJİ İÇECEĞİNİN YUMUŞAK DOKU
YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt.Tuğçe Duygu KORUCUOĞLU

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

**2015
BOLU**



**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ
FAKÜLTESİ**

**DİYABETİK SIÇANLARDA ENERJİ İÇECEĞİNİN YUMUŞAK DOKU
YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt.Tuğçe Duygu KORUCUOĞLU

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI:

Prof.Dr.İsmet DURAN

2015

BOLU

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
Tez Onay Belgesi

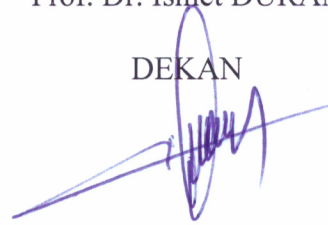
Tezin Başlığı : Diyabetik Sıçanlarda Enerji İhtecinin yunusok
dokü yara iyileşmesi üzerine etkisinin değeriendirile:
Tezin Savunma Tarihi : 25-12-2015
Tezin Danışmanı : Prof.Dr. İsmet Duran
Jüri Başkanı : Prof.Dr. İsmet DURAN
Üye : Doç.Dr. Şahin ENİTOĞ
Üye : Yrd.Doç.Dr. Sadıye COŞKUNER

DEKANLIK ONAYI

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. İsmet DURAN

DEKAN



ÖZET

DİİYABETİK SIÇANLARDA ENERJİ İÇECEĞİNİN YUMUŞAK DOKU YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yara iyileşmesi, yara oluşumundan sonra başlayıp dokunun tekrar sağlıklı halini almasına kadar geçen süredeki mekanizmaları kapsar ve bu süreç sistemik, lokal ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Diyabet ve beslenmenin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinden yola çıkarak, bu çalışmaya 84 adet sıçan ile başlanmış ancak diyabetin komplikasyonlarına bağlı ölümler dolayısıyla 63 adet ile tamamlanmıştır. Yüksek kalorili diyet ve streptozotosin enjeksiyonu ile tip II diyabet oluşturulmuş sıçanların damak bölgesinde 3 mm çapında iki farklı yara yüzeyi (deepitelizasyon ve epitel+bağ dokusunun eksizyonu) meydana getirilmiştir. Sıçanlarda yaralar oluşturulduktan 1 gün sonra başlayarak şekersiz enerji içeceği veya distile su sakrifiye edilene kadar hergün oral gavajla verilmiştir. 3., 7., 14. ve 21. günlerde klinik olarak yara yüzeylerinin çap ölçümleri kaydedilmiş ve enflamasyon parametleri olan ödem ve eritem incelenmiştir. Histolojik olarak reepitelizasyon, granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen organizasyonu değerlendirilmiş ve ayrıca immunohistokimyasal olarak VEGF, FGF-2 ve tünel yöntemiyle apoptotik hücrelere bakılmıştır. Serum örneklerinde ise biyokimyasal olarak MDA, CAT ve FGF-10 bakılmıştır. Klinik değerlendirme sonucu test grubunda 3.gün örneklerinde eritem ve deepitelizasyondaki iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı üstün olduğu bulunmuştur. Biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde, test grubu 3.gün örneklerinde antioksidan CAT miktarının istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. Histolojik değerlendirme sonuçlarına bakıldığında, reepitelizasyonun 7.günde, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumunun ise 3.günde test grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha fazla olduğu görülmektedir. İmmunohistokimyasal değerlendirme sonucu ise VEGF'in 14. ve 21.günlerde ve FGF-2'nin tüm değerlendirme periyodlarında test grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha fazla olduğu görülmektedir.

Çalışmanın limitasyonları dahilinde enerji içeceğinin, klinik, biyokimyasal ve histolojik parametrelerin değerlendirilmesi sonucunda diyabetik sıçanlarda sekonder yara iyileşmesinin erken döneminde faydalı olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, Enerji İçeceği, Sıçan, Yara İyileşmesi

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECT OF ENERGY DRINKS ON SOFT TISSUE WOUND HEALING IN DIABETIC RATS

Wound healing covers the mechanism period of tissue, starting from the formation of injury to become healthy again to get healthy again and this process is affected by systemic, local and enviromental factors. Based on the effects of diabetes and nutrition on wound healing and this study began with 84 samples, due to the deaths related with complications of diabetes, study was completed with 63 samples. 2 wound surfaces (deepithelization and excision of the epithelium+connective tissue) each of be 3 mm diameters was formed on the type II diabetes rat's palate created with high-calorie diet and STZ injection. Energy drink in the test group and distilled water in control group via oral gavage was administered from one day after the surgery until being sacrificed. Clinical inflammation parameters such as edema and erythema and also wound surface diameter was assessed on 3rd, 7th, 14th and 21st days. Additionally, reepithelialization, granulation tissue formation and collagen organization were assessed histologically. The immunohistochemical expression of VEGF, FGF-2 and appoptotic cells with tunnel method was examined. Blood samples taken while sacrificing and MDA, CAT and FGF-10 were examined. In terms of improvoment of erythema and deepitelization results revealed that test groups statistically significant better than control group on the 3rd day. According to histological evaluation, re-epithelization on the 7th day, granulation tissue and collogen formation on the 3rd day in the test group was statistically significantly better. The results of immunohistochemical evaluation showed the level of VEGF in the test group was statistically significant better on the 14th and 21st days and FGF-2 level in the test group was statistically significant better at all the evaluation periods.

Within the limitations of this study energy drinks, clinical, biochemical and histological parameters in the evaluation of diabetic rats has shown to be helpful in early secondary wound healing.

KeyWords: Diabetes, Energy Drink, Rat, Wound Healing

TEŞEKÜRLER

- Tezimi hazırlamamda ve eğitim sürecimde bana yardımcı olan danışman hocam Prof.Dr.Ismet DURAN’a
- Eğitim sürecimde bana yardımcı olan bölüm hocalarım Yrd.Doç.Dr.Şadiye COŞKUNER ve Yrd.Doç.Dr.Muhsin ÖZDEM’e
- Uzmanlık eğitimim boyunca hep yanımda olan bölüm arkadaşlarım Olgu ve Tuğçe’ye
- Tezim ve eğitim süremde her türlü yardımını esirgemeyen ve bana hep destek olan sayın hocam Yrd.Doç.Dr.Yusuf Ziya AKPINAR’a
- Tezimin istatistik kısmında bana yardımcı olan Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.’de öğretim üyesi olan sayın hocam Prof . Dr. Said BODUR’a
- Her anımda acısıyla tatlısıyla yanımda olan ve hiçbir desteğini esirgemeyen canım annem ve babama ve biricik eşim Kemal’e

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKÜRLER	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar	XI
ŞEKİLLER	XIV
GRAFİKLER	XV
FOTOĞRAFLAR	XVII
KISALTMALAR VE SİMGELER	XVIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. YARA	4
2.2. YARA İYİLEŞMESİ	5
2.3. YARA İYİLEŞMESİ TIPLERİ	6
2.3.1. Primer yara iyileşmesi	6
2.3.2. Sekonder iyileşme	6
2.3.3. Tersiyer iyileşme	7
2.3.4. Parsiyel kalınlıktaki yara iyileşmesi	8
2.4. YARA İYİLEŞMESİNİN FAZLARI	8
2.4.1. Hemostatik ve enflamatuvar faz	8
2.4.2. Proliferatif faz	9
2.4.3. Matürasyon (remodeling) fazı	12
2.5. ORAL YUMUŞAK DOKU İLE DERİ YARA İYİLEŞMESİ ARASINDAKİ FARKLILIKLAR	16
2.6. ORAL YUMUŞAK DOKU İYİLEŞMESİ AŞAMALARI	17
2.6.1. Hemostatik faz	17
2.6.2. Enflamatuvar faz	17
2.6.3. Proliferasyon veya fibrotik faz	18
2.6.4. Yeniden şekillenme fazı	18
2.7. YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ BAZI MEDIATÖRLER	18
2.7.1. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi	19
2.7.2. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)	19
2.7.3. Malondialdehit (MDA)	20
2.7.4. Katalaz (CAT)	21
2.7.5. Apoptotik hücre	21
2.8. YARA İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	22
2.8.1. Yaş	23
2.8.2. Sigara kullanımı	23
2.8.3. Oksijenasyon	23

2.8.4. Hemoglobin-hematokrit	24
2.8.5. İlaçlar	24
2.8.6. Stres	25
2.8.7. Enfeksiyon	25
2.8.8. Cinsiyet hormonları	26
2.8.9. Obezite	26
2.8.10. Alkol kullanımı	27
2.8.11. Diyabet	27
2.8.12. Beslenme	31
2.9. ENERJİ İÇECEKLERİ	31
2.9.1. Kafein	32
2.9.2. Taurin	32
2.9.3. Arjinin	33
2.9.4. Sükroz/glukoz veya aspartam/asesülfam potasyum	33
2.9.5. B vitaminleri	33
2.9.6. Guarana	34
2.9.7. Ginseng	35
2.9.8. Ginkgo biloba	35
2.10. PERIODONTOLOJIDE YUMUŞAK DOKU İYİLEŞMESİ	35
2.10.1. Cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben yumuşak doku iyileşmesi	37
2.10.2. Periodontal cerrahi sonrası yumuşak doku yara iyileşmesi	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. DENEKLER VE DEĞERLENDİRME PERİYODLARI	41
3.2. DİYABET OLUŞTURMA MODELİ	42
3.3. DENEKLERİN RANDOMİZASYONU VE GRUPLARA AYRILMASI	43
3.4. CERRAHİ PROSEDÜR	44
3.5. DENEYSSEL PROTOKOL	47
3.6. KLİNİK PARAMETRELERİN ANALİZİ	48
3.7. HISTOMORFOMETRİK ANALİZ	48
3.8. İMMUNOHISTOKİMYASAL ANALİZ	50
3.9. BİYOKİMYASAL ANALİZ	53
3.10. İSTATİKSEL ANALİZ	53
4. BULGULAR	54
4.1. DENEY HAYVANLARININ GENEL BULGULARI	54
4.2. DENEYSSEL DİYABETİN TEYİDİ	54
4.3. CERRAHİ PROSEDÜRLERE BAŞLAMA	55
4.4. KLİNİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	55
4.4.1. Ödem değerlendirmesi	57
4.4.2. Eritem değerlendirmesi	60
4.4.3. Deepitelize alanların çap ölçümlerinin değerlendirilmesi	63
4.4.4. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlarda çap ölçümlerinin değerlendirilmesi	66
4.5. BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	69
4.5.1. Fibroblast büyüme faktörü-10 (FGF-10) ölçümlerinin değerlendirilmesi	69
4.5.2. Katalaz (CAT) ölçümlerinin değerlendirilmesi	74

4.5.3. Malondialdehit (MDA) ölçümlerinin değerlendirilmesi	78
4.6. HISTOMORFOMETRİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	82
4.6.1. Reepitelizasyonun değerlendirilmesi	82
4.6.2. Granülasyon dokusu matürasyonunun değerlendirilmesi	86
4.6.3. Kollajen oluşumunun değerlendirilmesi	89
4.7. İMMUNOHISTOKİMYASAL PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	93
4.7.1. Fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) / temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ölçümlerinin değerlendirilmesi.....	93
4.7.2. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ölçümlerinin değerlendirilmesi.....	97
4.7.3. Tünel yöntemi ile apoptotik hücre sayımının değerlendirilmesi	101
5.TARTIŞMA	105
6. SONUÇ ve ÇIKARIM	116
7. KAYNAKÇA	117
8. ÖZGEÇMİŞ	129

TABLÖLAR

Tablo-2.1. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri.....	15
Tablo-3.1. Yüksek kalorili yemin kimyasal analizi	42
Tablo-3.2. Histolojik değerlendirme skorları.....	50
Tablo-4.1. Ödem skorlarının gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi	58
Tablo-4.2. Kontrol grubu (DS) ödem skorlarının zamana göre değişimi	59
Tablo-4.3. Test grubu (Eİ) ödem skorlarının zamana göre değişimi.....	60
Tablo-4.4. Eritem skorlarının gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi	60
Tablo-4.5. Kontrol grubu (DS) eritem skorlarının zamana göre değişimi.....	62
Tablo-4.6. Test grubu (Eİ) eritem skorlarının zamana göre değişimi	62
Tablo-4.7. Deepitelize alan çap ölçümlerinin gruplar arası	63
(test ve kontrol) değerlendirilmesi	
Tablo-4.8. Kontrol grubu (DS) deepitelize alan çap ölçümlerinin zamana.....	65
göre değişimi	
Tablo-4.9. Test grubu (Eİ) deepitelize alan çap ölçümlerinin zamana.....	66
göre değişimi	
Tablo-4.10. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ölçümlerinin.....	66
gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi	
Tablo-4.11. Kontrol grubu (DS) epitel+bağ dokusu eksize edilen.....	68
alanların çap ölçümlerinin zamana göre değişimi	
Tablo-4.12. Test grubu (Eİ) epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap.....	69
ölçümlerinin zamana göre değişimi	
Tablo-4.13. Fibroblast growth faktör (FGF-10) ölçümlerinin.....	70

gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

Tablo-4.14. Kontrol grubu (DS) FGF-10 değerlerinin zamana göre değişimi 73

Tablo-4.15. Test grubu (Eİ) FGF-10 değerlerinin zamana göre değişimi 73

Tablo-4.16. Katalaz (CAT) ölçümlerinin gruplar arası (test ve kontrol) 74
değerlendirilmesi

Tablo-4.17. Kontrol grubu (DS) CAT değerlerinin zamana göre değişimi 77

Tablo-4.18. Test grubu (Eİ) CAT değerlerinin zamana göre değişimi 77

Tablo-4.19. Malondialdehit (MDA) ölçümlerinin gruplar arası 78
(test ve kontrol) değerlendirilmesi

Tablo-4.20. Kontrol grubu (DS) MDA değerlerinin zamana göre değişimi 81

Tablo-4.21. Test grubu (Eİ) MDA değerlerinin zamana göre değişimi 81

Tablo-4.22. Reepitelizasyonun gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi ...82

Tablo-4.23. Kontrol grubu (DS) reepitelizasyon skorlarının zamana 85
göre değişimi

Tablo-4.24. Test grubu (Eİ) reepitelizasyon skorlarının zamana göre değişimi 85

Tablo-4.25. Granülasyon dokusu matürasyonunun gruplar arası 86
(test ve kontrol) değerlendirilmesi

Tablo-4.26. Kontrol grubu (DS) granülasyon dokusu matürasyonu 88
skorlarının zamana göre değişimi

Tablo-4.27. Test grubu (Eİ) granülasyon dokusu oluşum skorlarının 88
zamana göre değişimi

Tablo-4.28. Kollajen oluşumunun gruplar arası (test ve kontrol) 89
değerlendirilmesi

Tablo-4.29. Kontrol grubu (DS) kollajen oluşumu skorlarının zamana göre değişimi	92
Tablo-4.30. Test grubu (Eİ) kollajen oluşumu skorlarının zamana göre değişimi	92
Tablo-4.31. FGF-2 ölçümünün gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi	93
Tablo-4.32. Kontrol grubu (DS) FGF-2 miktarının zamana göre değişimi	96
Tablo-4.33. Test grubu (Eİ) FGF-2 miktarının zamana göre değişimi	96
Tablo-4.34. VEGF ölçümünün gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi	97
Tablo-4.35. Kontrol grubu (DS) VEGF miktarının zamana göre değişimi	100
Tablo-4.36. Test grubu (Eİ) VEGF miktarının zamana göre değişimi	100
Tablo-4.37. Apoptotik hücre sayımının gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi	101
Tablo-4.38. Kontrol grubu (DS) apoptotik hücre miktarının zamana göre değişimi	104
Tablo-4.39. Test grubu (Eİ) tünel hücre miktarının zamana göre değişimi	104

ŞEKİLLER

Şekil-1.1. Periodontal dokuların şematik gösterimi.....	1
Şekil-2.1. Yara iyileşmesi tipleri.....	7
Şekil-2.2. Yara iyileşmesi fazlarının şematik gösterimi.....	14
Şekil-3.1. Cerrahi prosedür diyagramı.....	44
Şekil-3.2. Çalışma protokolü diyagramı.....	46

GRAFİKLER

Grafik-4.1. Ödem skorlarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme.....	58
zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.2. Eritem skorlarının gruplar arası ve grup içi farklı değerlendirme.....	61
zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.3. Deepitelize alan çap ortalamalarının grup içi ve gruplar arası.....	64
farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.4. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ortalamalarının.....	67
grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.5. FGF-10 ölçümlerinin tüm değerlendirme periyodlarında.....	71
grup içi ve gruplar arası dağılımları	
Grafik-4.6. FGF-10 ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı.....	72
değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.7. CAT ölçümlerinin tüm değerlendirme periyodlarında grup içi.....	75
ve gruplar arası dağılımları	
Grafik-4.8. CAT ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı.....	76
değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.9. MDA ölçümlerinin tüm değerlendirme periyodlarında.....	79
grup içi ve gruplar arası dağılımları	
Grafik-4.10. MDA ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı.....	80
değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.11. Reepitelizasyon ortalamalarının grup içi ve gruplar arası.....	84
farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	

Grafik-4.12. Granülasyon dokusu oluşum ortalamalarının grup içi	87
ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.13. Kollajen oluşumu ortalamalarının grup içi ve gruplar arası.....	91
farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.14. FGF-2 ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı.....	95
değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.15. VEGF ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı.....	99
değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	
Grafik-4.16. Apoptotik hücre sayımının grup içi ve gruplar arası farklı.....	103
değerlendirme zamanlarına göre dağılımı	

FOTOĞRAFLAR

Fotoğraf-3.1. Yüksek kalorili yemin hazırlanması.....	43
Fotoğraf-3.2. Anestezi aşamaları.....	45
Fotoğraf-3.3. Gavaj uygulaması.....	47
Fotoğraf-4.1. Cerrahi işlem sonrası ağız içi görünüm.....	55
Fotoğraf-4.2. Sakrifizasyon sonrası ağız içi görünüm.....	56
Fotoğraf-4.3. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde.....	83
edilen kesitlerde hematoksilin eozin boyaması ile genel görünüm	
Fotoğraf-4.4. Masson trikrom boyaması ile epitel ve bağ dokusu.....	90
görünümü	
Fotoğraf-4.5. FGF-2 Boyaması.....	94
Fotoğraf-4.6. VEGF boyaması.....	98
Fotoğraf-4.7. Tünel yöntemi ile apoptotik hücrelerin boyanması.....	102

KISALTMALAR ve SİMGELER

°C:	Santigrat derece
ADB:	Amerikan diyabet birliği
AGE:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ATP:	Adenozintrifosfat
bFGF:	Temel fibroblast büyüme faktörü
CAL:	Klinik ataşman seviyesi
CAT:	Katalaz
CTGF:	Bağ dokusu büyüme faktörü
Cu:	Bakır
DM:	Diabetes mellitus
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DOS:	Dişeti oluğu sıvısı
DS:	Distile su
DSÖ:	Dünya sağlık örgütü
EGF:	Epidermal büyüme faktörü
Eİ:	Enerji içeceği
ELISA:	Enzim bağlı immunosorbent analizi'
ESM:	Ekstrasellüler matriks
FGF-10:	Fibroblast büyüme faktörü-10
FGF-2:	Fibroblast büyüme faktörü-2
GAG:	Glukozaminoglikan
Gr:	Gram

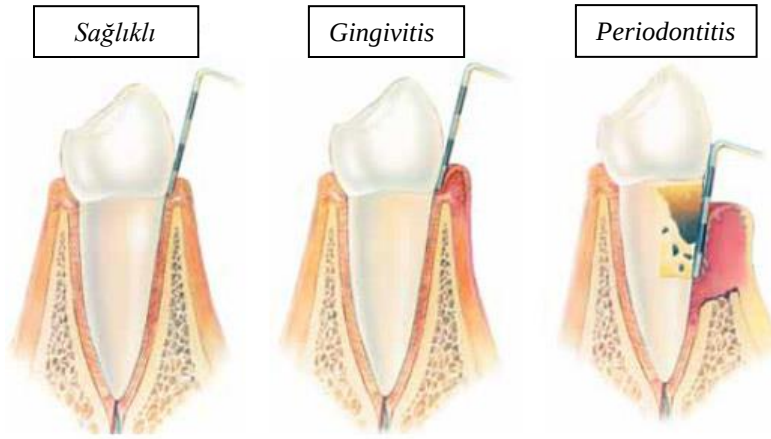
HbA1c:	Hemoglobin A1c
HB-EGF:	Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü
HGH:	İnsan büyüme hormonu
HIV:	İnsan immün yetmezlik virüsü
IFN:	İnterferon
IGF-1:	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IL1-β:	İnterlökin 1-β
KDa:	Kilodalton
kJ/kg:	Kilojoule/kilogram
KGF:	Keratinosit büyüme faktörü
LDGF:	Lökosit kaynaklı büyüme faktörü
MDA:	Malondialdehit
mg/dl:	Miligram/desilite
mg/kg:	Miligram/kilogram
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
MMP:	Matriks metalloproteinaz
NADH:	Nikotinamid adenindinükleotid
NGF:	Nöron büyüme faktörü
OGTT:	Oral glukoz tolerans testi
PDGF:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
pg/ml:	Pikogram/mililitre
PMNL:	Polimorfonüklear lökosit

RNA:	Ribonükleik asit
ROS:	Reaktif oksijen türleri
SPSS:	Statistical package for social sciences
SST:	Serum separator tüpü
STZ:	Sreptozotosin
Tdt:	Terminal nükleotidil transferaz
TGF-α:	Transforme edici büyüme faktörü- α
TGF-β:	Transforme edici büyüme faktörü- β
TIMP:	Matriks metalloproteinaz inhibitörleri
TNF-α:	Tümör nekroz faktörü- α
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
α-SMA :	α -düz kas aktin

1. GİRİŞ

Periodonsiyum, dişleri çevreleyen ve destekleyen dokuların oluşturduğu dinamik bir yapıdır. Bu yapıyı meydana getiren dişeti, periodontal ligament, sement ve alveoler kemik elemanları morfolojik ve fonksiyonel açıdan bir bütünlük sergilerler. Sağlıklı periodonsiyumda doku yapıtaşları biyolojik adaptasyon ve yenilenme süreçlerini bir uyum içerisinde sürdürürler (1).

Periodontal hastalık ise, periodonsiyumu oluşturan dokulardaki bakteriyel kronik iltihabı ifade eder. Bir tür gram negatif oral enfeksiyon olan kronik enflamatuvar periodontal hastalık; gingival enflamasyon, periodontal doku yıkımı, alveolar kemik kaybı ve olası diş kayıpları ile karakterizedir. Dişeti ile sınırlı formu gingivitis, periodontal ligament ve alveolar kemiği de içeren formu ise periodontitis olarak adlandırılır. (2).



Şekil-1.1. Periodontal dokuların şematik gösterimi*

(*: <https://obatgingivitis.wordpress.com/>)

Periodontitis, birincil etkeni mikrobiyal dental plak olan bir çok unsurun etkilediği 'multifaktoriyel' bir hastalıktır (3). Konağa bağlı savunma sistemindeki farklılıklar, sistemik ve genetik etkenler, bölgesel olarak plağın mikrobiyal içeriği

gibi kazanılmış ve çevresel risklerin etkisi altında hastalığın yıkım şiddetinde değişiklikler olur (4).

Periodontal hastalık oluşumunda birincil etken olan çevresel, davranışsal veya biyolojik olarak hastalığın seyrini değiştirebilen durumlar ‘risk faktörleri’ olarak tanımlanır. Hastalığın nedensel ilişkisi uzun süreli takip (longitudinal) çalışmalarıyla açıklanabilir. Tütün kullanımı, diyabet, patojenik bakteriler, mikrobiyal diş depozitleri risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Periodontal hastalık oluşumunda değiştirilemeyen genetik faktörler, yaş, cinsiyet, sosyoekonomik durum, stres gibi etkenler ‘risk determinantı’ olarak tanımlanır. Hastalıkla ilişkili olası veya şüpheli olan faktörler ise ‘risk indikatörleri’ olarak tanımlanır. Osteoporoz, insan immün yetmezlik virüsü (HIV), diş hekimine düzensiz gitme durumları risk indikatörleridir. Hastalığa neden olabilecek faktörün hastalık etkenlerinden birisi olduğu her zaman gösterilemiyorsa ‘risk belirteci veya prediktörü’ olarak tanımlanır. Risk belirteç veya prediktörlerine örnek olarak, önceden geçirilmiş periodontal hastalık hikayesi ve sondlamada kanama gösterilebilir (4). Diyabet gibi endokrin hastalıklar, nötrofil fonksiyonunu etkileyen hastalıkları da içine alan hematolojik problemler, kardiyovasküler hastalıklar, HIV enfeksiyonu, osteoporoz, obezite gibi çeşitli sistemik problemlerin periodontal hastalığın seyrini değiştirebileceği belirtilmektedir (5, 3, 4).

Periodontal hastalık için önemli bir risk faktörü olan diyabet klinikte sıklıkla karşılaştığımız sistemik bir hastalıktır. Diyabet ve periodontal hastalık arasında çift yönlü bir etkileşim söz konusudur. Diyabet, periodontal hastalık için artmış risk faktörü oluşturup periodontitisin ilerleme şiddetini arttırmakta ve ayrıca periodontal enfeksiyon da diyabetli bireylerin glisemik kontrolünü zorlaştırmaktadır (6). Diyabetin periodontal hastalık üzerine etkisi; mikroanjyopati, dişeti oluşu sıvısındaki değişimler, kollajen metabolizmasındaki bozukluklar, konak enflamatuvar cevabı ve subgingival floradaki değişikliklerle açıklanabilir (7). Diyabetin periodonsiyum üzerindeki spesifik etkileri konusunda kesin yargıya varmak güç olsa da yapılan çalışmalarda kontrolsüz diyabete sahip bireylerde; gingival büyümelere, gingival poliplere, polipoid gingival proliferasyonlara, gingival apse formasyonuna, periodontitis ve olası diş kayıplarına sıklıkla rastlanmaktadır (4); öyleki periodontal hastalık diyabetin altıncı komplikasyonu olarak da nitelendirilmektedir (8).

Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda diyabetli bireylerin periodontal tedavisi ve idamesi büyük önem taşımaktadır. Diyabetli bireylerde özellikle kontrolsüz diyabette, gerek cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası gerekse ileri periodontal cerrahiler sonrası birçok mekanizmaya bağlı bozulmuş yara iyileşmesi gözlenmektedir. Ancak olumsuz bu gibi durumları ortadan kaldıracak için son zamanlarda alternatif yöntemler ilgi görmeye başlamıştır. Örneğin, beslenmenin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalar cerrahi veya travma sonrası malnütrisyon veya spesifik besinlerin eksikliği durumunda kronik veya iyileşmeyen yaralar gözlenmesine karşın, spesifik besinlerin yeterli alınmasının ise yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir (9, 10). Son dönemlerde yapılmış çalışmalar antioksidanların (10), amino asitlerin (11) medikal bitki özleri ve vitaminlerin (12) yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu maddelerin tek başına yara iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren çalışmalar olmasına karşın, yapılan literatür taramasında, bu maddelerden bazılarını içeren enerji içeceklerinin diş hekimliğinde periodontal dokularda yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran herhangi bir çalışma olduğu saptanmamıştır. Ayrıca diyabetli bireylerin ağız içerisindeki yara iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Sadece yara iyileşmesi ile ilgili paravertebral yumuşak doku iyileşmesini değerlendiren bir deneysel çalışma mevcuttur (13).

Literatürdeki bu eksiklikten yola çıkılarak, yaygın bir şekilde kullanılmakta olan enerji içeceğinin (RedBull@sugar free), deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yumuşak doku yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirilebileceği düşünülmüştür.

Bu çalışma kapsamında aşağıdaki sonuçlar amaçlanmıştır:

1. Serbest dişeti grefti, gingivektomi gibi sekonder iyileşme alanı olan yaralarda daha hızlı ve iyi bir iyileşme sağlanması için bir alternatif oluşturacaktır.
2. Diyabetik hastalarda cerrahi sonrası komplikasyonların azaltılması için iyi bir seçenek sunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara

Doku bütünlüğünde oluşan bozulmalar yara olarak tanımlanır; mikrovasküler hasar ve kan ekstrevasasyonu ile karakterizedir.

Yara tipleri (14)

A.Yarayı oluşturan etkenlere göre yara tipleri

1. Travmatik yaralar
2. Vasküler nedenli yaralar
 - i. Arteriel yetmezlik yaraları
 - a. Arterioskleroza bağlı yaralar
 - b. Vaskülitisler sonucu oluşan yaralar
 - c. Embolizme bağlı yaralar
 - d. Damar anomalileri sonucu ortaya çıkan yaralar
 - ii. Venöz yetmezlik yaraları
 - iii. Lenfatik yaralar
3. Nörojenik yaralar
4. Basınç yaraları
 - i.Hava
 - ii. Kimyasal maddeler
5. Termal yaralar
 - i.Yanıklar
 - ii. Donuklar
6. Hayvan ısırıkları ile oluşan yaralar
7. Hastalıklar sırasında ortaya çıkan yaralar
 - i. Malign tümörler
 - ii. Metabolik hastalıklar
 - iii. Enfeksiyon hastalıkları

iv. Hematolojik hastalıklar

B.Yaranın derinliğine göre yara tipleri

1. Yüzeyel yaralar
2. Derin yaralar

C.Yaranın oluşma zamanına göre yara tipleri

1. Akut yaralar
2. Kronik yaralar

2.2. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, yara oluşumundan sonra başlayıp bir süre sonra dokunun tekrar eski halini almasına kadar geçen süredeki mekanizmaların tümünü kapsar. Yara iyileşmesi kompleks fakat düzenli bir mekanizmadır. Yara iyileşmesinin temelini hücre büyümesi ve yenilenmesi yani rejenerasyon oluşturur. Onarım ise yaralanan dokularda tamir veya rejenerasyon süreci ile oluşur. Rejenerasyon, zedelenen hücrenin aynı tipte parankimal hücreler tarafından yenilenmesidir. Tamir ise fibroplazi olarak adlandırılan; bağ dokusunun zedelenen dokunun yerini alması durumudur. Fibroplazide özelleşmiş hücre tipleri rol oynamakta ve büyüme faktörleri ve ekstraselüler matriks tarafından düzenlenmektedir. Yaralanma sonrası ilk yanıt kanamanın kontrolü için vazokonstriksiyondur. Bölgeye trombositlerin göçünü takiben fibrin ağ oluşumu ve pıhtı meydana gelir (14)

Yara iyileşmesi:

1. Başlangıç hasar nedeni ile oluşan iltihabi yanıt
2. Parankimal hücrelerin rejenerasyonu
3. Parankimal hücrelerin ve bağ dokusu hücrelerinin migrasyonu ve çoğalması
4. Ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezi
5. Doku fonksiyonlarının restorasyonu için parankimal bileşenlerin yeniden modelasyonu şeklinde gelişir.

2.3. Yara İyileşmesi Tipleri

2.3.1. Primer yara iyileşmesi

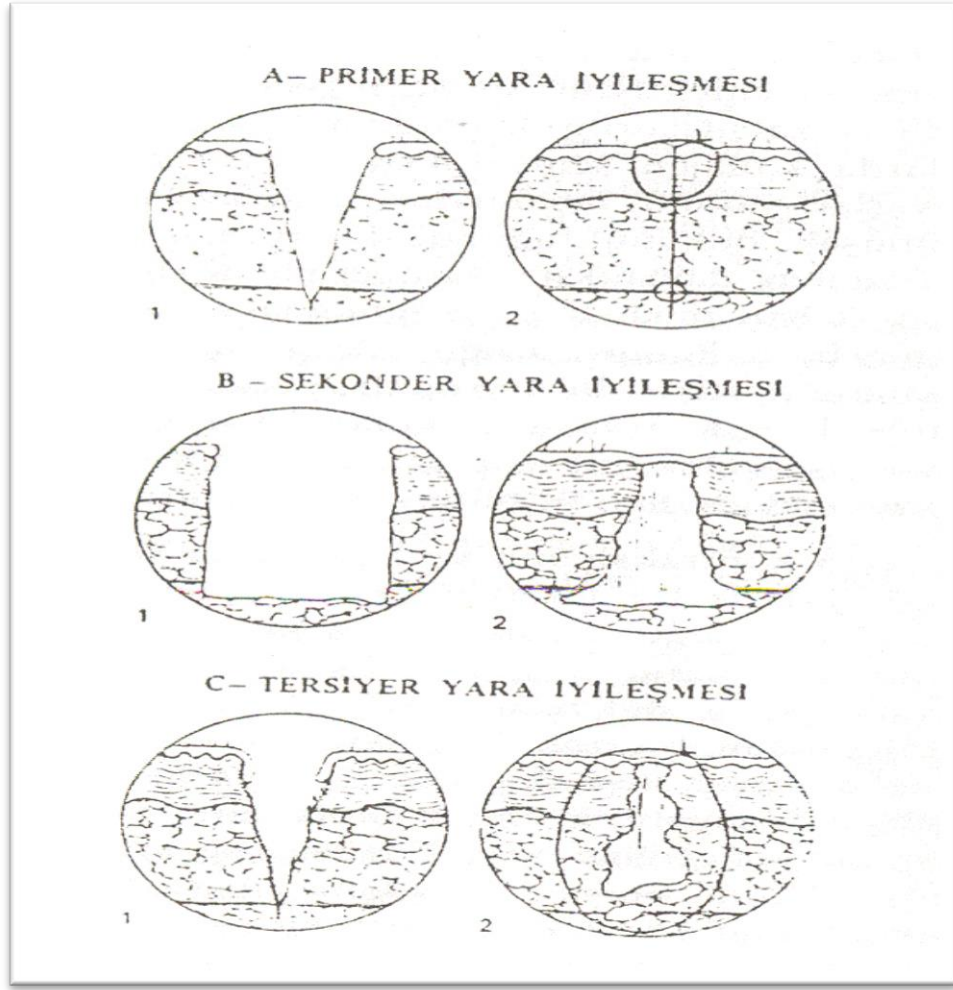
Primer yara iyileşmesi, belirgin bakteriyel kontaminasyon ve doku kaybının olmadığı durumlarda yara kenarlarının direkt yaklaştırılarak kapanması sonucu meydana gelen ve yara kenarlarında doku kaybı olmadan flebin önceki anatomik pozisyonuna adezyonu ile fibrinin yapıştırıcı etkisi ve dikişlerle sağlanan iyileşme tipidir (14). İyileşme minimal ödem ve çok ince bir skar dokusuyla enfeksiyon olmadan tamamlanır. İyileşme sonrası yara, önceki tensil gücünün %85-90'ını geri kazanır (15).

2.3.2. Sekonder iyileşme

Sekonder iyileşmede, özellikle doku kaybı olan vakalarda açık bırakılarak, granülasyon dokusu ve takiben yara kontraksiyonu ve epitelizasyon ile iyileşmesi sağlanır. Sekonder iyileşme yavaş işleyen bir süreçtir ve epitelizasyonun tamamlanması 4-8 haftayı alabilir (15). Sekonder iyileşmede her zaman skar oluşumu vardır ve iyileşme rejenerasyonla değil tamirle gerçekleşir (14).

Sekonder iyileşme ile primer iyileşme arasındaki farklar:

- Sekonder iyileşmede çok fazla debris, eksuda ve fibrin dokusu vardır. Sonuçta iltihabi reaksiyon daha yoğundur. Bunların ortadan kaldırılması daha uzun sürer, dolayısıyla enflamatuvar evrenin süresi uzamıştır.
- Sekonder iyileşmede daha fazla granülasyon dokusu meydana gelir.
- Sekonder iyileşmede daha fazla kontraksiyon olur.



Şekil-2.1. Yara iyileşmesi tipleri*

(*http://www.authorstream.com/Presentation/y yi_-1601983-yara-iyilesmesi/)

2.3.3. Tersiyer iyileşme

Gecikmiş primer iyileşme, tersiyer iyileşme olarak da bilinir. Bu tip iyileşmede kontamine olan veya olabileceği düşünülen yara, enfeksiyonu engellemek için açık bırakılır. Açık bırakılan yarada anjiogenez ile doku kanlanması ve oksijenizasyonu artar. Olay yerine gelen lökositler, bakterileri kendilerine çekerler ve tahrip ederek uzaklaştırırlar. Bu süre zarfında normal yara bakımı ve debridmanı yapılır. Yeterli granülasyon dokusu gelişince yara yüzeyi kapatılır. Bu yaralarda da kollajen metabolizması bozulmaz ve primer iyileşme ile kapanır (15).

2.3.4. Parsiyel kalınlıktaki yara iyileşmesi

Parsiyel kalınlıktaki yaralarda iyileşme epitel ve yüzeyel dermisi içerir ve iyileşme epitelizasyonla olur. Yağ bezleri, saç folikülleri ve deri ekleri çevresindeki epitelin ilerlemesi ile yara kapanır. Bu tip yaralarda kollajen birikimi minimaldir ve kontraksiyon yoktur (15).

2.4. Yara İyileşmesinin Fazları

1929 yılında Howes, Sooy ve Harvey'in çalışmaları sonucunda yara iyileşmesinin üç evresi belirlenmiştir

1. Hemostatik ve Enflamatuvar Evre
2. Proliferatif Evre (Fibroblastik Evre)
3. Maturasyon Evresi (Remodeling Evresi)

Tüm bu fazlar matriks proteinleri, epitel hücreleri, sitokinler ve büyüme faktörleri arasındaki etkileşimler sonucunda düzenlenir (16). Bu süreç sonunda tamir sonucu skar dokusu oluşabileceği gibi rejenerasyon sonucu kayıp dokunun tam olarak geri kazanımı da oluşabilir. Dokular arasında iyileşme farklılıkları gözlenmesine karşın temelde süreç benzerdir. Cilt yarasında meydana gelen olaylar zinciri diğer dokular için de benzer olduğundan dolayı cilt yarasının iyileşme dönemleri aşağıda anlatılmıştır (14).

2.4.1. Hemostatik ve enflamatuvar faz

Enflamasyon fazı, yara iyileşme sürecinin ilk aşamasıdır. Yaralanmayı takiben yara bölgesindeki damarlar hemen daralır. Özellikle subendotel başta olmak üzere hasarlı dokudan tromboplastik doku ürünleri dışarı salınır. Trombositler kümelenerek ilk hemostatik tıkaçı oluşturur. Hemostatik tıkaçın iki görevi vardır: Bunlardan birincisi açığa çıkan dokuların geçici olarak korunmasını sağlamak, diğeri ise hücre göçü için geçici bir matriks oluşturmaktır (14). Oluşan matriks içindeki pıhtılaşma ve kompleman sistemleri harekete geçer. İntrinsik ve ekstrinsik pıhtılaşma

sistemleri protrombinin trombine aktivasyonunu sağlar. Aktive trombin, fibrinojeni daha sonra polimerize olarak kalıcı pıhtıyı oluşturacak olan fibrine çevirir (17).

Trombüsün oluşumunu takiben hemostaz sağlanır. Pıhtı oluşumunu takiben enflamasyonun başlangıç aşaması gelişir (16). Kümelenmiş trombositler degranüle olarak, enflamatuvar hücreleri yara bölgesine çekecek olan kemoaktif maddeleri, fibroblast aktivasyon faktörlerini ve vazokonstriktörleri ortama salarlar.

Hemostazı takiben, damarlar koagülasyon ve kompleman sistemi ürünlerinin etkisiyle dilate olur ve permabiliteleri artar. Bu durum, enflamatuvar hücrelerin yaraya geçişini arttırır. Yara bölgesine ilk gelen enflamatuvar hücreler arasında nötrofiller çoğunluktadır. Nötrofiller, hücrel yıkım maddelerini, yabancı cisimleri ve bakterileri yara bölgesinden uzaklaştırır. Kanda dolaşan ve enflamatuvar hücre olan monositler 2-3 gün içerisinde yara bölgesine göç eder ve makrofajlara dönüşür. Bu makrofajlar doku makrofajlarıyla beraber onarım sürecini yönetir. Makrofajlar doku ve bakteri yıkım ürünlerini fagosit etmekle kalmaz aynı zamanda büyüme faktörlerini salarlar. Bu büyüme faktörleri endotelial hücreleri, fibroblastları ve keratinositleri de aktive ederek onarım sürecindeki görevlerini yerine getirmelerini sağlar. Makrofajlardan salınan 20'den fazla sitokin ve büyüme faktörü olduğu bilinmektedir. Monosit ve makrofajların yaradan uzaklaştırılması yara iyileşmesinde önemli derecede yavaşlamaya, fibroblast proliferasyonunun gecikmesine ve anjiogenezin bozulmasına yol açar (18).

2.4.2. Proliferatif faz

Granülasyon dokusu:

Yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra, geçici ekstrasellüler matriks (ESM) granülasyon dokusuyla yer değiştirmeye başlar. Kapillerin invazyonuyla ilişkilendirilen bu morfolojik değişim aynı zamanda hücrel seviyede dermisin kalıcı elemanlarının bölgede oluşmasıyla kendini gösterir. Bunlar, fibroblastlar ve fibroblastlar tarafından oluşturulan kollajen ve kan damarlarıdır (19). Granülasyon dokusu içerisinde bulunan makrofajlar aynı zamanda, ürettiği büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde enflamasyon fazı ile proliferatif faz arasında köprü görevi görür.

Fibroblastlar yara iyileşmesinde görev alan en önemli mezanşimal hücrelerdir (20). Hem ‘üretim’ hem de ‘mekanik’ görevleri vardır. Fibroblastlar geçici matriksin yerini alacak olan kollajen bazlı matriksin üretiminden sorumludur. Mekanik görevleri ise kontraktıl özellikleri sayesinde yara kontraksiyonunu sağlamalarıdır. Enflamasyon fazından proliferatif faza geçişi sağlayan faktörler, sitokinler ve büyüme faktörleridir. Fibroblast migrasyonu; trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), nöron büyüme faktörü (NGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) tarafından stimüle edilir. Aynı zamanda geçici matriksin içeriğinde yer alan fibronektin de fibroblastları yara bölgesine çeker (21). Yara bölgesine göç eden fibroblastlar, iki farklı hücre kaynağından gelirler. Bunlardan biri, yaraya yakın bölgelerde farklılaşan hücrelerdir. Diğer ise, makrofaj ürünlerinin stimülasyonu ile fibroblastlara farklılaşan yakındaki mezankimal hücrelerdir (20, 17).

Hücre yüzeyinde bulunan integrinler, fibroblastlarla ekstrasellüler matriks arasındaki ilişkiyi kolaylaştırır (17). İntegrinler onarım sırasında hücre fonksiyonu kontrol eden düzenleyicilerdir. İntegrinler hücre dışına, membrana ve hücre içine uzantıları olan transmembranöz reseptörlerdir (22). Heterodimerik yapıdadırlar ve birbirleriyle ilişkiye girerek aktif protein reseptörünü oluşturan α ve β alt ünitelerinden oluşurlar. İntegrin ligandları; büyüme faktörleri, kollajen ve elastin gibi bir ESM bileşenidir. Ligandın bağlanmasını takiben integrin reseptörünün sitoplazmik reseptöründe fosforilasyon meydana gelir. Bu bir dizi sinyal iletimi zincirini harekete geçirerek gen ekspresyonunu değiştirir ve yeni hücre fonksiyonun meydana gelmesini sağlar. Fibroblastların yara bölgesine göçü düzensiz bir şekilde değildir. Fibroblastlar yara bölgesine fibrillere paralel olarak hareket ederler. Fibroblastlar bu göçleri sırasında, hücre yıkım ürünleri ve matriks fibrilleriyle karşılaşır. Bu engelleri çeşitli matriks metalloproteinazları (MMP) yardımıyla aşarlar (23). Bunlardan MMP-1, MMP-2 ve MMP-3, TGF- β tarafından, MMP-13 ise tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) tarafından stimüle edilir. MMP’lerin angiogenez ve fibroblast göçünde önemli rolleri vardır. Aynı zamanda yapılan çalışmalar, MMP’lerin tümör invazyonuyla da ilişkili olduğunu göstermiştir (17). MMP’ler bir grup olarak her türlü içeriğe sahip ESM’yi seçim yapmadan tanıma ve yıkma yeteneğine sahiptirler. Bu durum MMP’lerin çok dikkatli bir şekilde regüle

edilmelerini gerektirir. Bu regülasyon ilk olarak hücre içi üretim aşamasında gen ekspresyonunun düzenlenmesiyle olur. Hücre içinde üretilen MMP'ler proenzimler ve zimojenler halinde hücre dışına salınır. Hücre dışındaki ikinci düzenleme ise, ekstrasellüler aktivasyon sırasında meydana gelir. Üçüncü düzenleme, doku matriks metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) aracılığıyla sağlanır (23, 24). Son yapılan çalışmalar anormal MMP ve TIMP oranlarını aşırı fibrozisin rol oynadığı skleroderma, keloid ve hipertrofik skar gibi durumlarla ilişkilendirmiştir.

Ekstrasellüler matriks (ESM) üretimi ve büyüme faktörleri:

Fibroblastlar, kalıcı ekstrasellüler matriks elemanlarını (kollajen, glukozaminoglikan (GAG) ve proteoglikan) ve büyüme faktörlerini üretmekten sorumludurlar. Kollajen üretimi, doku hasarının yaklaşık 3-5. gününde başlar ve trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), epidermal büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) tarafından stimüle edilirler (20). Kollajen sentezinde ilk aşama bir kollajen prekürsörü olan prokollajenin sentez edilmesidir (17). Bu işlem membrana bağlı ribozomlarda meydana gelir. Prokollajen suda kolaylıkla çözünür ve bu özelliği onun hücre içerisinde rahatça taşınabilmesi için gereklidir. Hücre içi, prokollajen sentezinde en önemli aşama, lizin ve prolinin endoplazmik retikulumda hidroksilasyonudur. Bu aşama, prokollajen moleküllerinin sonradan hücre dışında meydana gelecek agregasyonu ve fibrillerin oluşumu için gereklidir. Prokollajen zincirleri hücre dışına salınmalarını takiben, hücre dışında bir dizi enzimatik işlemle geçerek fibrilleri oluşturmak üzere birleşirler.

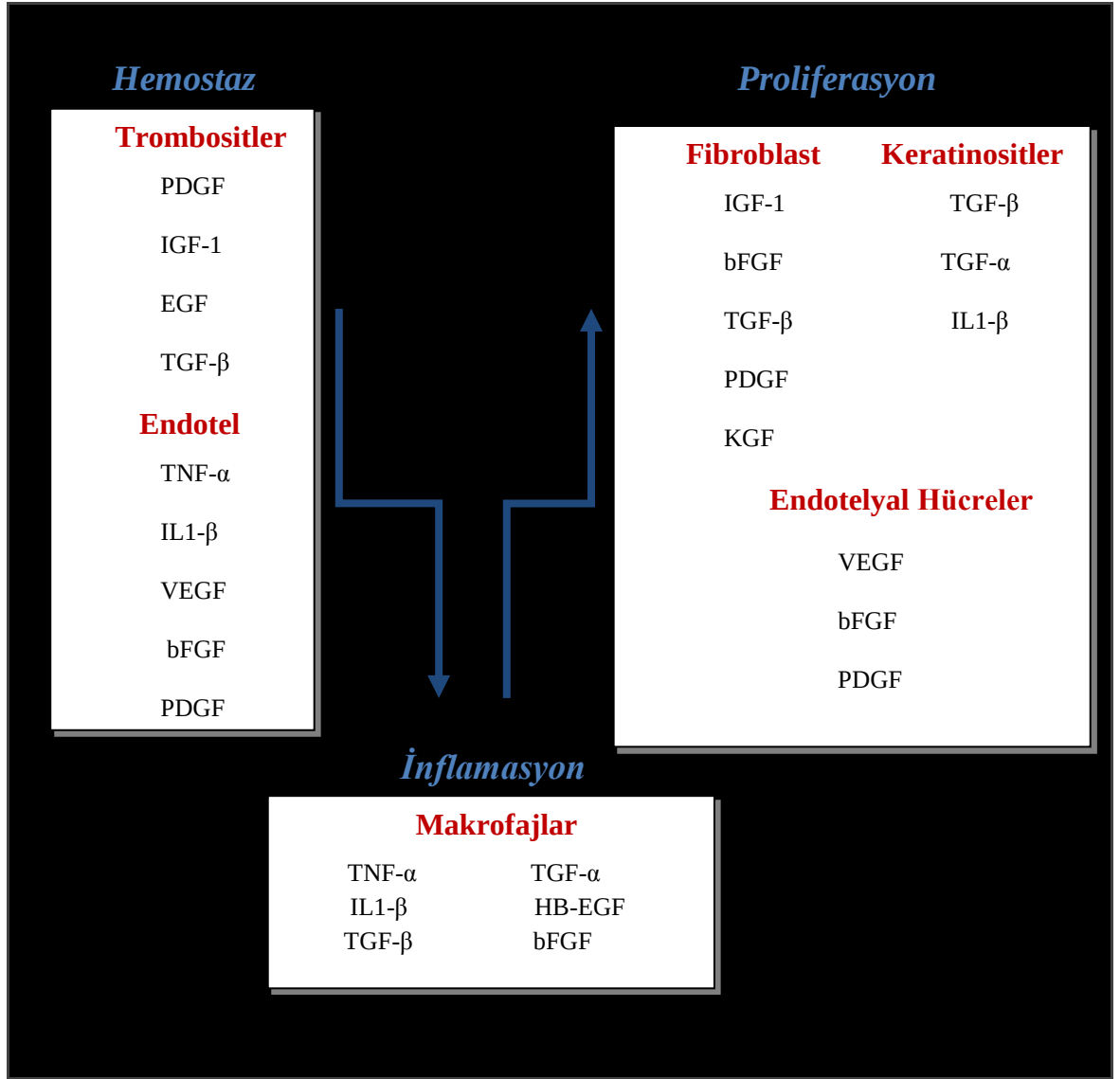
Proliferatif fazda gerçekleşen diğer bir olay da angiogenezdır (14). Doku hasarının 2. gününde endotelial hücreler, geçici ESM üzerinde, fibroblastlara benzer şekilde göç ederler. Endotelial hücrelerin hareketi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörleri (FGF), angiopoietin ve TGF- β tarafından stimüle edilir (17). Ayrıca ESM'nin kendisi de endotelial hücreler için bir stimülandır. Endotelial hücre üzerinde bulunan integrin reseptörler sayesinde ESM tarafından tanınırlar. VEGF, FGF ve TGF- β bu reseptörlerin hücre yüzeyindeki sayısını artırır. MMP'ler angiogenezde önemli görev alırlar (23). MMP'lerin görevi, bazal membranın yıkımı ve ESM'nin endotelial hücrelerin geçişine izin verecek

şekilde yıkımıdır. MMP-1, MMP-2, MMP-9 ve MMP-19 anjiogeneizde rol alan en önemli matriks metalloproteinazlardır (17). MMP-1 Tip I kollajen matriks içine endotelial hücre migrasyonu için gereklidir (25). MMP-2, endotelial hücre yüzeyindeki integrinler sayesinde endotelial hücrelere yapışır ve endotelial hücreler ilerlerken önlerine çıkan geçici ESM'yi parçalayarak ilerlemelerini sağlar (17).

2.4.3. Matürasyon (remodeling) fazı

Matürasyon fazı, yara iyileşmesinin en uzun süren aşamasıdır. Yaranın granülasyon dokusuyla dolup, keratinosit migrasyonu ile reepitelizasyon sağlanmasını takiben başlar. Yara iyileşmesinin her aşamasında olduğu gibi, bu aşama da diğerleriyle iç içedir (14). İnsanlarda yara matürasyonu, klinik olarak, yara kontraksiyonu, kızarıklık ve yara kalınlığında azalma, yara kuvvetinde ise artma ile karakterizedir. Yara kontraksiyonu, yaralanmayı takiben 4-5. günde başlar (17). Yara kontraksiyonu, myofibroblastlar sayesinde sağlanır. Myofibroblastlar, hücre içi aktin filamentleri içeren fibroblastlardır ve kontraksiyon özelliklerine sahiptirler. Myofibroblastlar, üzerlerindeki integrin molekülleri sayesinde ESM'ye tutunurlar. Matürasyon fazında yara kalınlığı azalırken, yaranın tensil (gerilmeye dayanım) kuvveti ters orantılı olarak artar (17). Bu ESM'nin remodelizasyonu ile ilişkilidir. Kollajen üretimi yaralanmadan sonra ortalama 21. güne kadar sürekli bir artış gösterir. Bu aşamadan sonra kollajen sentezinde bir azalma gözlenir (14). ESM'deki artmış kollajen miktarının geri beslenmeyle fibroblastlardaki kollajen sentezini azalttığı düşünülmektedir (26). Bunun yanında interferon- γ ve TNF- α 'nın da fibroblastların kollajen sentezini azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (27). Yara iyileşmesinin 21. gününde maksimum kollajen miktarına ulaşılsa da, yaranın tensil kuvveti normalin ancak % 20'si kadarına ulaşır. 6. haftada yaranın tensil kuvveti, olması gerekenin % 80'ine ulaşır. 21. günle 6. hafta arasında geçen ve yara kuvvetinin arttığı bu dönemde gerçekleşen asıl olay, kollajen yapım/yıkımının yeniden düzenlenmesidir (17). Kollajen yıkımı esas olarak matriks metalloproteinaz (MMP) ve metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) üretimi ile ilişkilendirilmiştir. MMP-2, TIMP-2 ve MMP-7; ESM'nin remodelizasyonunda erken aşamalarında sentezlenir. Buna karşılık, ESM remodelizasyonu aşamasından önce MMP-1, MMP-

9 ve TIMP-1 seviyelerinde bir düşme gözlenir (28). Bu sebeple, MMP'lerin ve TIMP'ların uyumlu bir şekilde üretilmesi sağlıklı yara matürasyonu açısından önemli gibi görünmektedir. Matürasyon fazında ESM niteliğinde belirgin değişiklikler meydana gelir. Zamanla Tip I kollajen miktarı artarken Tip III kollajen, proteoglikan ve su miktarı azalır. Bununla birlikte kollajen fibrillerinin kalınlığı ve interfibriller bağlanma artar. Yara iyileşmesinin erken dönemlerinde kollajen fibrilleri düzensiz şekilde dizilmiş oldukları için fibriller yeniden düzenlenir. Bu durum, iyileşmenin erken döneminde yüksek kollajen miktarına rağmen yara kuvvetindeki zayıflığı açıklar (29). Skar matürasyonu ile beraber klinik olarak gözlemlenen kızarıklıkta azalma yara içindeki kapillerlerin yoğunluğunun değişimi ile açıklanabilir. İyileşmenin bu dönemi dokunun yapısal özelliklerinde değişim ile karakterizedir ve en uzun süren safhasıdır, haftalar hatta aylar sürebilir(19).



Şekil-2.2. Yara iyileşmesi fazlarının şematik gösterimi

PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1. EGF: Epidermal büyüme faktörü, TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü- β , TNF- α : Tümör nekroz faktörü- α , IL1- β : İnterlökin 1- β , VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, bFGF: Temel fibroblast büyüme faktörü, TGF- α : Transforme edici büyüme faktörü- α , HB-EGF: Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü, KGF: Keratinosit büyüme faktörü)

Tablo-2.1. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri

<i>Büyüme Faktörü</i>	<i>Kaynağı</i>	<i>Görevleri</i>
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platalet-derived growth factor, PDGF)	Trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu, nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, anjiogenez
Transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming growth factor β , TGF- β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis, indirekt anjiogenez, diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardım
Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor, EGF)	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması
Transforme edici büyüme faktörü alfa (Transforming growth factor α , TGF- α)	Aktive makrofajlar, trombosit, keratinosit, bazı dokular	EGF'ye benzer
İnterlökinler (Interleukins 1-2, IL-1,2)	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi
Tümör nekroz faktörü (Tümör necrosis factor, TNF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (Leucocyte derived growth factor, LDGF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor, CTGF)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factors, FGF)	Beyin, pitüiter bez, makrofaj, diğer doku ve hücreler	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depolanmasını uyarma, anjiogenez, yara kontraksiyonu
Keratinosit büyüme faktörleri (Keratinocyte growth factors, KGF)	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (İnsülin-like growth factor-1, IGF-1)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Sülfat proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonunu uyarma
İnsan büyüme hormonu (Human growth hormone, HGH)	Pitüiter bez, plazma	Anabolizma, IGF-1 'i uyarır
İnterferonlar (Interferons, IFN)	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

2.5. Oral Yumuşak Doku ile Deri Yara İyileşmesi Arasındaki Farklılıklar

Yumuşak doku iyileşmesi hakkında en çok bilgi deri yara iyileşmesi çalışmalarından elde edilmiştir. Oral mukozadaki yumuşak doku iyileşmesinin hücreyel yönleri hakkında çok daha az bilgi bulunmaktadır. Ancak yara iyileşmesinin korunmuş bir süreci temsil ettiği varsayılmaktadır (30, 31). Bu nedenle, ağız boşluğundaki yumuşak doku yara iyileşmesinin deridekine benzer bir iyileşme seyri izlediği kabul edilmektedir (32). Ancak skar oluşumu deri yaralarına göre ağız boşluğunda daha az olduğundan bu varsayım eleştiriye yol açabilecektir (33). Ayrıca deriden farklı olarak farelerde yapılan deneysel bir çalışmada oral mukoza yara iyileşmesinin cilt yaralarından daha hızlı olduğu gösterilmiştir (34). Ancak, bunun aksine fare modelleri üzerinde punch ile kafa derisi ve damakta yara oluşturulan çalışmada, oral iyileşmenin dermal onarımdan daha yavaş olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmanın ikinci ayağında, eksizyonel yaraların epitelyal ve bağ dokusu köprüleri dermal yaralarla karşılaştırıldığında gecikmeli olduğu ve aynı zamanda nötrofillerin deri yaralarına göre oral dokuda oldukça çok olduğu gösterilmiştir (35). Diğer bir fark ise, enflamatuvar sitokin IL-1'in oral yara iyileşmesinde rol oynamasına karşın dermal yara iyileşmesinde etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bunun olası nedeni ise oral kavite içinde kommensal bakterilere karşı savunma mekanizmasını kontrol etmek için IL-1 in gerekli olması ile açıklanmıştır (36).

Bu sonuçlar birlikte ele alındığında, çalışmaların çoğunluğu oral mukozanın cilt yaralarından daha hızlı ve daha az skar dokusu ile iyileştiğini göstermektedir (34, 33). Altında yatan mekanizmalar spekülasyon konusu olmaya devam etmektedir. Ancak iyi bilinen biyolojik aktiviteleri olan tükürük varlığı ile ağız boşluğuna özgü özellikleri içermesi olası bir açıklamadır (37, 38). Sublingual sialadenektomi yapılmış farelerin mukoza iyileşmesi kontrol grubuna göre daha yavaş olduğunu gösteren bir çalışma (39) ve tavşanlar üzerinde tükürük akışı kesilerek 'desalive' edilmiş örneklerde palatal yara iyileşmesini değerlendiren bir başka çalışma da kontrol grubuna göre desalive grupta gecikmiş yara iyileşmesi gözlenmesi (40) bu görüşü destekler niteliktedir.

2.6. Oral Yumuşak Doku İyileşmesi Aşamaları

2.6.1. Hemostatik faz

Oral mukozada meydana gelen yaralanma sonrası doku hasarı ile başlamaktadır (41). Defekt alanları temel olarak kan koagülasyonundan köken alan kan pıhtısı ile hızla kapatılmaktadır. Ekstravaze trombositler aktive olmaktadır. Kan pıhtısında nötrofil ve kırmızı kan hücreleri gibi diğer kan hücreleri ile bir araya gelmekte ve ‘kan koagülumu’ adını almaktadır. Ekstrasellüler matriksin ana bileşenleri fibrin ağını oluşturur. Fibrin ağı fibronektin ve vitronektin gibi hücre adezyonunda görev alan diğer proteinleri de içermektedir (42, 43). Bu hücre yığını ve fibrin açısından zengin matriks ‘geçici hücre dışı matriksi’ olarak adlandırılır ve sonrasında granülasyon dokusu ile yer değiştirir. Kan pıhtısı oluşumu aynı zamanda defekt bölgesine enflamatuvar hücrelerin alımı için zemin oluşturur.

2.6.2. Enflamatuvar faz

Hemostatik faza paraleldir. Nötrofiller; kemokinler, kompleman sistemi ve fibrinojenin parçalanması sırasında serbest kalan peptidler ile ilişkilidir (44). Ekstravazyon ve çevre dokulardaki hücre göçü endotel hücreleri tarafından kontrol edilmektedir (45, 44). Nötrofiller ve monositler sırasıyla 1 ve 24 saat içinde defekt alanında görünürler. Nötrofiller, işgalci bakterileri öldürüp fagositoz yoluyla uzaklaştırılmadan önce proteazları serbestleyerek yara alanlarını temizlerler. Makrofajlar heterojen bir popülasyondur. Enflamasyona (M1-makrofajlar) dahil olabilirler, ancak aynı zamanda bir antienflamatuvar ‘M2a’ fenotipine de dönüşebilirler (46, 47). Genel olarak, enflamasyonun çözülmesi lipid mediatörlerini içeren kontrollü bir süreçtir (48). Birincil katabolik enflamatuvar süreç geçicidir, ancak anabolik fazın yeni doku oluşumunu takip eden basamakları için çok önemlidir.

2.6.3. Proliferasyon veya fibrotik faz

Yeni doku oluşum fazı granölasyon dokusunun formasyonu ile başlamaktadır. Fibroblastlar ve hücre dışı matriksten oluşan yüksek vaskülarize dokuyu yansıtan morfolojik bir dönemdir. Katabolik fazdan anabolik faza geçiş, 3 hücre türünü (endotelial hücreler, fibroblastlar ve epitelyal hücreler) içeren karmaşık sürecin aktivasyonunu ile gerçekteşmektedir.

- **Endotel hücreleri**, yeni kılcal damarların oluşumu için gereklidir. Orijinal kan damarlarının endotelial hücrelerinden ve aynı zamanda dolaşan endotel öncü hücrelerden de üretilebilmektedir (49) .
- **Fibroblastlar**, monosit türevli fibrositlerden, yara kenarlarındaki baē dokusundan, damar kaynaklı perisitlerden (50) ve muhtemel olarak epitelyal-mezenşimal transisyon (51) olarak adlandırılan süreçten de elde edilebilmektedir.
- **Epitelyal hücreler**, yara kenarlarındaki keratinositlerden orijin almaktadır (52, 53).

2.6.4. Yeniden şekillenme fazı

Skar dokusu ile sonlanan uzun dönem remodeling fazı çözünme fazı ile başlamaktadır. Miyofibroblastlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve makrofajların çoēu sadece birkaç hücreyi içeren kollajen ačíısından zengin hücre-dışı matriksi bırakarak apoptoza uğramaktadır (54).

2.7. Yara İyileşmesinde Etkili Bazı Mediatörler

Yara iyileşmesi aşamalarında birçok oksidan/antioksidan moleküller ve büyüme faktörleri rol oynamaktadır. Doku ve kan örneklerindeki bu mediatörlerin seviyesi yara iyileşmesi hakkında bize bilgi vermektedir. Periodontal cerrahi sonrası yara iyileşmesi aşamalarında rol oynayan bazı mediatörler ve rolleri şunlardır:

2.7.1. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi 23 üyeden oluşmaktadır. Yara iyileşmesi için önemli olan üyeleri ise FGF-2, FGF-7 ve FGF-10'dur. Keratinositler, fibroblastlar, endotelial hücreler, kondroisitler ve mast hücreleri tarafından üretilirler (55).

Yara iyileşmesinin angiogenesis, granülasyon dokusunun oluşumu, reepitelizasyon ve dokunun yeniden şekillenmesi aşamalarında önemli role sahip olan FGF-2 (55, 56) 18 kilodalton (kDa) ağırlığında, tek zincire sahip, glikolize olmayan, endotelial hücrelerde güçlü mitojenik etkiye sahip bir polipeptittir (57).

FGF-2 veya temel FGF (bFGF) seviyesi yaralanmadan sonraki 10-14. günde artar (58). FGF-2; angiogenesis sürecinde endotelial hücre migrasyonu, fibroblast proliferasyonu ve ESM sentezini artırarak yara iyileşmesini hızlandırır (59).

FGF ailesinin yara iyileşmesi ile ilişkili diğer önemli üyeleri ise FGF-7 veya diğer adıyla keratinosit büyüme faktörü-1 (KGF-1) ve bunun homoloğu olan FGF-10 veya diğer adıyla KGF-2'dir. Bu iki fibroblast büyüme faktörü de akut yaralardan salınır. *In vitro* çalışmalarda, FGF-7 ve FGF-10'un reepitelizasyonda önemli rol oynayan keratinosit proliferasyonu ve migrasyonunu stimule ettiği gösterilmiştir (55). Ek olarak, FGF-7 and FGF-10 reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda rol oynayan faktörlerin transkripsiyonunda da artış sağlar. Bu da ROS'un neden olduğu keratinosit apoptozisinde azalma ve böylece reepitelizasyonda artış sağlar (60).

2.7.2. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

Vasküler endotelial büyüme faktörü, biyolojik aktivitesini ağırlıklı olarak endotelial hücreler üzerinde gösteren angiogenesisin anahtar mediatörüdür (61). Mikrovasküler geçirgenliğin artmasına sebep olan bu faktör, aynı zamanda güçlü bir vazodilatördür (62).

VEGF; damarsal düz kas hücreleri, epitelyal hücreler, trombosit, lökosit ve makrofajlar tarafından sentezlenir ve salgılanırlar (63). Yara iyileşmesinin farklı

evrelerinde görev alan VEGF reseptörlerinin aktivasyonu bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotelial hücrelerin proliferasyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu sağlar, apoptozisi inhibe eder (64). Yara bölgesinin revaskülarizasyonunu ve permeabilitesini düzenleyen esas faktör olan VEGF, proliferasyon evresi boyunca granülasyon dokusunun yapımına da katılmaktadır (65).

2.7.3. Malondialdehit (MDA)

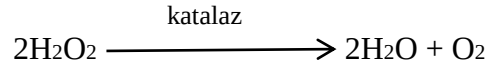
Oksidatif stres, oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönüne bozulması olarak tanımlanır. Enflamasyon, iskemi, radyasyon ve bazı kimyasal ajanlar ise oksidan oluşumunu arttırarak bu dengeyi oksidanlar lehine çevirir ve oksidatif strete artışa neden olur. Ekstraselüler matrikse salgılanan bu radikaller hücreye zarar verir. Radikaller hyaluronik asit ve kollajeni, hücre membranlarını yıkar, organel membranlarını parçalayıp, önemli enzim sistemlerinin işlevini bozarlar. İntraselüler serbest radikallerin artışı, yaşlanma, hiperoksijenasyon sendromu, iskemi reperfüzyon sendromu, kimyasal ajanlarla olan doku yaralanmaları, ilaca bağlı hemolitik anemi ve vitamin A ve E eksikliklerinde görülür (66).

Bu oksidanlardan biri olan MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olup aldehit yapılı bir bileşiktir. Membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi intrensek membran özelliklerini değiştirme yeteneğine sahip olması yanında deoksirübonükleik asitin (DNA) nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir ve amino grupları arasında çapraz bağlanmalara yol açabilir. Oksidatif strete serbest oksijen radikallerinin etkilerini hücre ve organel membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatarak göstermektedir. MDA, oksidatif stresin spesifik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (67).

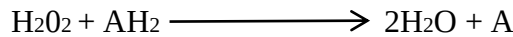
2.7.4. Katalaz (CAT)

Katalaz 60 kDa ağırlığında, tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren hem enzimdir. Katalaz güçlü bir antioksidan olup, serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluşturur. Bağlanan iki serbest radikali birleştirerek nötralize edebilme özelliğine sahip bir enzime (glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz...) taşınana kadar radikalle stabil bir yapı oluşturur (68). Aşağıdaki mekanizmalar ile oksidan birleşikleri kompanse eder.

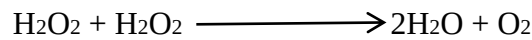
CAT, hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler .



Katalaz, peroksizomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Düşük hızlarda, hidrojen peroksidin olduğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarlarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif reaksiyon ile suya dönüştürülerek ortamdan uzaklaştırılır.



Hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (69).



2.7.5. Apoptotik hücre

Reaktif oksijen moleküllerinin antioksidan kapasitesini aşması durumunda anjiyotensin dönüştürücü enzim (AGE) ve reseptörleri arasında ilişki bozulur. Matriks metalloproteinazları (MMP) glukozilleyen bu enzimin miktarındaki bozulma

ile MMP seviyelerinde dengesizlik sonucunda da fibroblast apoptozisinde artış (70), doku yıkımında artış ve normal tamir sürecinde inhibisyon gözlenir (71, 72). Ayrıca kontrolsüz diyabette artmış TNF- α seviyelerine bağlı da bozulmuş enflamatuvar ve immunité yolağına bağı kronik enflamasyon ve fibroblast apoptozisinde artış görölür (73).

2.8.Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Lokal Faktörler

- Enfeksiyon
- İskemi-Hipoksi
- Hematom
- Cerrahi teknik
- Yabancı cisim reaksiyonu

Sistemik Faktörler

- Yaş
- Kalıtsal Hastalıklar (Pıhtılaşma bozuklukları, Ehler-Danlos, Marfan sendromu)
- Vasküler Hastalıklar (Kronik kalp yetmezliğı, Ateroskleroz, Vaskülit)
- Metabolik Hastalıklar (Diabetes mellitus, Kronik böbrek yetmezliğı, Malnütrisyon, Cushing hastalığı, Hipotiroidi)
- İmmun Yetmezlik
- Malignite, Sigara, Radyoterapi
- Medikasyon (Steroidler, Antikoagülanlar, Antineoplastikler, Vitamin E-A)
- Hidrasyon
- Beslenme durumu
- Oksijenasyon

Yara iyileşmesi sürecine sistemik, lokal ve çevresel faktörler olumlu veya olumsuz yönde etki etmektedir. Bu faktörlerden önemli olanlar ve sıklıkla karşılaşılanları:

2.8.1. Yaş

Yaşın ilerlemesiyle birlikte deri ve mukozalarda hücresel ve moleküler düzeyde çeşitli değişimler meydana gelmektedir. Bununla da ilişkili olarak yara gerilim direnci ve yara kapanma hızlarında düşüş, dolayısıyla yara iyileşmesinde gecikme gözlenmektedir. Bu konuyla ilişkili yapılan çalışmalar, sağlıklı yaşlı bireylerde iyileşmenin gecikmesine rağmen iyileşmenin kalitesinin değişmediğini göstermişlerdir (74, 75). Yaşın ilerlemesiyle birlikte enflamatuvar yanıtta azalma ve yaraya azalmış bir yanıt vardır. Epitelyal hücrelerin ve fibroblastların proliferatif kapasitesinde azalma gözlenir. Gecikmiş tip yara iyileşmesi olmasına karşın sağlıklı yaşlı bireylerde genç bireyler ile benzer sonuçlar gözlenmektedir (74). Ayrıca yaşla birlikte steroid prekürsörleri olan androjen ve östrojen hormonlarının azalması ile de yara iyileşmesinde anlamlı farklılıklar oluşmaktadır (76).

2.8.2. Sigara kullanımı

Nikotin, sempatik sinir sistemine etki ederek vazokonstriksiyon ve kapiller kan akımında azalma ile distal hipoperfüzyon meydana getirir. Parsiyel arteriyel oksijen basıncı düşer. Buna bağlı defans mekanizmasında, yeniden damarlanma ve kollajen yapımında bozukluklar meydana gelir. Ayrıca sigara içen bireylerde periopatojenlerin sayısı ve kompozisyonundaki değişiklikler de iyileşmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (77).

2.8.3. Oksijenasyon

Oksijen hücre metabolizması için önemli bir moleküldür ve iyileşme süresince yaranın normal dokulardan daha fazla oksijene ihtiyacı vardır. Özellikle yara iyileşmesinde enerji metabolizması için kritik rol oynayan adenosin trifosfat (ATP) üretimi için gereklidir (76). ATP molekülü anjiyogenezisi indükler. Keratinosit diferansasyonu, migrasyonu ve reepitelizasyonunu artırır. Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezini artırarak ve yara kontraksiyonunu teşvik eder (78). Düşük oksijen düzeylerinde hidroksilasyonu gerçekleşmeyen kollajen lifleri

nedeniyle, yara iyileşmesi sonrası zayıf skar dokusu meydana gelir. Doku oksijenizasyonunu arttırmak için hiperbarik oksijen uygulaması kullanılabilir. Bu uygulamanın etki mekanizması, hipoksik dokuya çözünmemiş oksijenin dağıtılmasıdır (79). Buna ek olarak oksijen seviyesi, polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından üretilen ve patojenlere karşı savunma mekanizmasında görevli süperoksit türlerinin yapımında da kritik rol oynamaktadır. Bu reaktif oksijen türleri; güçlü oksidan gibi davranan oksijen kaynaklı moleküllerdir. Birçok fizyolojik ve fizyolojik olmayan süreç sonucu oluşabilmektedir (enflamasyon, iskemi, radyasyon ve kimyasal ajanlar) (80). Bakterilere karşı PMNL'lerin oksijen bağımlı savunma mekanizmasında rolleri olmasına rağmen bu moleküller lipidler, proteinler ve DNA'yı içeren biyolojik makromoleküllere saldırabilmekte ve belirgin doku hasarı oluşturabilmektedirler (81). İntrasellüler serbest radikallerin artışı; yaşlanma, hiperoksijenasyon sendromu, iskemi, reperfüzyon sendromu, kimyasal ajanlarla olan doku yaralanmaları, ilaca bağlı hemolitik anemi ve vitamin A ve E eksikliklerinde görülür.

2.8.4. Hemoglobin-hematokrit

Hemoglobin düzeyleri dokuya oksijen taşıma ve doku oksijenizasyonunun sağlanmasında kritik bir faktördür. Anemili hastalarda yapılan yara iyileşmesi çalışmalarında, yara gerilim direncinin düşük olduğu ve zayıf skar formasyonu olduğu gösterilmiştir (82).

2.8.5. İlaçlar

- **Kematörapatikler:** Kemoterapötik ajanları kullanan kişilerde sıklıkla nötrofil fonksiyon bozuklukları gözlenir. Dolaşımda seviyesi düşen nötrofillerin yara yerine ulaşan sayıları azalır. Yara enfeksiyon olasılığı artar ve yara iyileşmesi yavaşlar. Yapılan çalışmalar sonucunda kemoterapötik ajanların kullanımından 2-3 hafta geçtikten sonra oluşan yaralarda iyileşmesinde bir gerileme olmadığı görülmüştür (83).

- **Steroid ajanlar:** İmmunosupresif ve antienflamatuvar etkileri vardır. Antienflamatuvar özellikleri dolayısıyla kısa dönem yara tedavilerinde kullanılabildikleri gösterilmiştir (84). Ancak bu ajanların uzun süreli kullanımı yara iyileşmesini inhibe eder. Steroidler makrofaj migrasyonunu, nötrofil fonksiyonunu ve fibroblastların prokollajen sentezini inhibe eder. Epitelizasyon ve angiogenezi geriletirler. Yara gerilim direncini azaltır, yara kontraksiyonunu engellerler. Kronik steroid kullanan hastaların dermisi incelmış, kollajen düzeyleri azalmış ve yara iyileşme yeteneği büyük oranda azalmıştır. Ayrıca immunsupresif etkilerinden dolayı enfeksiyon riski de artar (85).
- **Nonsteroid antienflamatuvar ajanlar:** Analjezik ve antienflamatuvar özellikleri için kısa dönem kullanımlarının yumuşak doku yara iyileşmesi üzerinde negatif bir etkisi saptanmamışken, uzun süreli doza bağlı etkisi olan ve prostoglandin mekanizması üzerinde etki gösteren bu ilaçların kullanımı sonucunda kollajen sentezinin azaldığı gösterilmiştir (86).

2.8.6. Stres

Kardiyovasiküler hastalık, diyabet ve kanser gibi yara iyileşmesinde bozulmaya yol açan birçok sistemik hastalık stres ile yakın ilişki içerisinde. Ayrıca birçok çalışma stres ile nöroendokrin sistemde de bozulma olduğunu göstermiştir (87). Stres glukokortikoidlerin upregülasyonuna neden olur ve IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokin seviyesinde azalmaya neden olur. Ayrıca immün hücreleri etkileyerek iyileşme yolağında anlamlı değişimlere neden olduğu gösterilmiştir (76). Endokrin ve immün fonksiyonlarda bozulmanın yanı sıra stres, yeme bozuklukları, uyku düzensizlikleri, ilaç kullanımını ve zararlı alışkanlıkları tetiklemesi ile de yara iyileşmesi üzerine negatif etki gösterebilir.

2.8.7. Enfeksiyon

Enflamasyon süreci yara iyileşme fazının normal bir sürecidir ve mikroorganizmaların dekontaminasyonu için gereklidir. Etkin dekontaminasyon

sağlanamadığında enflamasyon süreci uzar. Bakteri ve toksinlerinin varlığı, proenflamatuvar sitokinlerin (IL-1 ve TNF- α) seviyelerinin yükselme süresini uzatır ve yara kronikleşerek iyileşme bozulur. Bu uzayan enflamasyon süreci proteaz ailesinden olan matriks metalloproteinazların (MMP) artışına neden olur. Artmış MMP seviyesi ekstraselüler matrikste bozulmalara neden olur (76). Diğer bir yara iyileşmesini bozan mekanizması ise enfekte yarada oluşan biyofilm tabakasıdır. Matür biyofilm tabakası içerisinde yer alan bazı türler, PMNL'lerin patojenik aktivitelerini ve savunma mekanizmalarını bozarlar. Bu durum da antibiyotikle tedavide başarısızlık ve kronik yara formasyonunun oluşmasına neden olur (88).

2.8.8. Cinsiyet hormonları

Kadınlarda östrojen, erkeklerde androjen hormonları yara iyileşmesinde önemli bir etkiye sahip olan steoidlerin prekürsörleridir. Yapılan çalışmalarda östrojenin yaş ile ilişkili olarak yara iyileşmesi üzerinde önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Östrojenin her iki cinsiyette de yara iyileşmesini pozitif, androjenlerin ise negatif olarak etkilediği bulunmuştur (76).

2.8.9. Obezite

Obezitenin birçok nedene bağlı olarak yara iyileşmesini bozduğu düşünülmektedir. Obezite bir çok sistemik hastalık ve durum ile ilişkilidir. Diyabet, hipertansiyon, dislipidemi gibi metabolik durumların insidansında artışa neden olur. Ayrıca stres, depresyon, anksiyete gibi immum cevapta bozulmaya neden olabilecek durumlar da obez hastalarda daha fazla rastlanmaktadır (76). Bu sistemik durumların haricinde, lokal birçok faktör de yara iyileşmesini etkilemektedir. Subkutanöz yağ dokusunun fazla olması nedeni ile hipoperfüzyon ve iskemi görülebilir. Ayrıca ciltlerinde bulunan katmanlar mikroorganizmaların barınabilmesi için daha uygun bir ortam oluşturur. Artmış doku basıncı yara basıncının da artmasına neden olur. Bunların dışında venöz hipertansiyona bağlı hematoma ve seroma formasyonuna da daha sık rastlanmaktadır (89).

2.8.10. Alkol kullanımı

Yapılan klinik ve hayvan çalışmaları, alkolün akut ya da kronik kullanımının yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu göstermiştir. Akut alkol kullanımı proenflamatuvar sitokinler üzerine etki ederek enflamatuvar cevapta değişikliğe neden olmaktadır. Kronik alkol kullanımında ise enfeksiyona duyarlılık geliştiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (76).

2.8.11. Diyabet

Yara iyileşmesini etkileyen önemli faktörlerden biri diabetes mellitustur (DM). Diyabet insülin eksikliği veya etkisizliği sonucu gelişen, hiperglisemi ile karakterize, yaşam süresini ve kalitesini etkileyen akut ve kronik komplikasyonların eşlik ettiği metabolik bir hastalıktır (90). Diyabette klinik olarak poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı gibi klasik belirtiler ve hiperglisemiye bağlı retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik komplikasyonlar görülmektedir (6).

Bu komplikasyonların yanısıra diyabetin birçok oral komplikasyonları da mevcuttur. Metabolik kontrolleri kötü olan DM'li bireylerde periodontal hastalık için muhtemel bir risk faktörü olduğu tespit edilmiş (91) hatta diyabetin 6. komplikasyonu olarak da nitelendirilmiştir (8). Periodontal hastalıklara ek olarak diyabet primer veya sekonder etkenlere bağlı olarak; diş çürüklerine, tükürük akış fonksiyon bozukluklarına, kandidiazis gibi oral enfeksiyonlara, tat bozukluğuna ve diğer nöral bozukluklara (yanan ağız sendromu, yutkunma zorluğu) sebebiyet verebileceği ileri sürülmüştür (6).

Diabetes mellitus tanı kriterleri

DM tanı kriterleri Amerikan Diyabet Birliği (ADB) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından belirlenmiştir. DM tanısı için venöz kan glukoz seviyesi ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) en yaygın kullanılan tanı testleridir. 1997 yılında ADB'nin ve 1999 yılında DSÖ'nün sunmuş oldukları raporlarda belirttikleri DM tanı kriterlerine göre;

1- Klinik semptomlar ile birlikte gün içinde herhangi bir zamanda, kişiye aç olup olmadığı sorulmaksızın, ölçülen plazma glukoz seviyesinin ≥ 200 miligram/desilite (mg/dl) olması,

2- Açlık plazma glukoz düzeyinin, en az 8 saatlik tam açlık sonrası, ≥ 126 mg/dl olması,

3- 75 gramlık glukoz yüklemesi sonrasında OGTT testinin 2. saat kan glukoz seviyesinin ≥ 200 mg/dl olması seçeneklerinden herhangi birinin iki farklı günde pozitif bulunması DM tanısı için yeterli görülmektedir (92).

Glukoz toleransının sınıflaması aşağıdaki şekilde yapılmıştır (93):

Açlık Plazma Glukozu

- Normal < 110 mg/dl
- Bozulmuş açlık glukozu ≥ 100 mg/dl ve < 126 mg/dl
- DM ≥ 126 mg/d

OGTT sırasında 2.saat plazma glukozu;

- Normal < 140 mg/dl
- Bozulmuş açlık glukozu ≥ 140 mg/dl ve < 200 mg/dl
- DM ≥ 200 mg/dl

DM tanısında bu testlerin yanında son 30-90 gün sürecindeki metabolik kontrolün belirlenmesi amacıyla Hemogloblin A1 (HbA1) seviyesi testi de kullanılabilir. HbA1 testi ile kanda hemogloblin molekülüne geri dönüşümsüz olarak bağlanan glukoz düzeyi ölçülmektedir. HbA1. karbonhidrata bağlanır ve glikolize olur, sonrasında ise glukozillenmiş hemogloblin ismini alır. HbA1' nin pek çok formundan % 60-80 oranıyla en fazla olanı HbA1c' dir. HbA1c seviyesinin tayini zaman içindeki ortalama kan glukoz düzeyini belirlemektedir. Ortalama kan glukoz düzeyinin yükselmesiyle HbA1c düzeyi de yükselir (94). HbA1c düzeyinin belirlenmesi ile geçmiş 1-3 ay sürecindeki ortalama kan glukoz konsantrasyonu hassas bir şekilde tayin edilebilir. HbA1c düzeyinin $< \% 6$ olması durumunda birey sağlıklı olarak kabul edilir. DM'li bireylerde HbA1c düzeyinin $< \% 7$ olması

durumunda metabolik kontrolleri ‘iyi’ olarak kabul görürken DM’ li bireylerde HbA1c düzeyi > % 7 olduğunda ise metabolik kontrolleri ‘kötü’ olarak kabul edilir. HbA1c düzeyinin belirlenmesi neticesinde test yapılmadan önceki 30- 90 günlük süreçteki ortalama kan glukoz düzeyi tahmin edilmekle birlikte HbA1c düzeyi kan glukoz düzeyinin anlık dalgalanmalarını ise yansıtmaz (95).

Diabetes mellitusun sınıflandırılması

Diabetes mellitus etiyolojisi göz önünde bulundurularak ‘Amerikan Diyabet Birliği’ (ADB) tarafından şu şekilde sınıflandırılmıştır:

- Tip I DM
- Tip II DM
- Diğer Spesifik Tipler
- Gestasyonel DM

Tip I diyabet, pankreatik beta hücrelerinin otoimmün hasarı sonucu, mutlak insülin yetersizliği nedeniyle ortaya çıkar. Tüm diyabet popülasyonunun yaklaşık %5-10’unda görülür. Genellikle 35 yaşın altında, en sık 8-14 yaş grubunda (6), ortaya çıkmasına rağmen, otoimmünite tanı testleri Tip I diyabetin her yaşta ortaya çıkabileceğini göstermektedir. Bundan dolayı juvenil diyabet terimi terminolojiden çıkartılmıştır. Organizmanın kendi pankreatik beta hücrelerine karşı başlattığı immün saldırı, sağlam beta hücre oranı % 20’lere ininceye kadar semptomsuz seyreder. Ancak işlev göre beta hücre sayısı bu oranın altına düştüğünde tipik diyabet bulguları görülmeye başlanır (96).

Gestasyonel diyabet, ilk kez hamilelik sırasında ortaya çıkan diyabettir. Özellikle 2. ve 3.trimesterde gözlenen ve glukoz tolerans bozukluğu ile karakterize diyabet tipidir. Gebelikten önce diyabet tanısı konan kadınlar bu tanımlamaya dahil değildir (97).

Diğer spesifik tipler ise, β -hücre fonksiyonunda ve insülinin fonksiyonundaki genetik defektleri, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler gibi durumlarla ilişkilidir.

Tip II diyabet, tüm DM tiplerinin %90-95'ini oluşturur. Önceki sınıflamalarda Tip II DM için erişkin tip DM, insülin bağımsız diyabet terimleri de kullanılmıştır. Genellikle 40 yaş üstü bireylerde görülmesine karşın Tip II DM etkenlerinden biri olan obezitenin yaygınlaşmasından dolayı günümüzde çocuklarda görülme sıklığı artmıştır.(3). Tip II DM insülin üretilmemesi sonucu değil, insülin direnci ve insülin yetersizliğine bağlı olarak gelişir. Tip II diyabet insülin direnciyle birlikte, pankreasın yeterli miktarda insülin salgılayamaması sonucunda gelişir. Pankreas insülin üretmeye devam eder, ancak insüline duyarlı dokuların insüline direnç kazanması sonucu aktivitesi azalır. Tip II DM'nin gelişmesi yavaştır.

Genetik yatkınlığın yanında ilerlemiş yaş, fazla kilo alımı ve hareketsizlik diyabete yakalanma riskini arttırmaktadır (98, 3). Hastalığın başlangıç aşamasında klasik semptomlar çok belirgin olmadığı için, uzun yıllar fark edilmeden ilerleyebilir. Ancak ileri dönemlerde klinik olarak poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı gibi klasik belirtiler ve hiperglisemiye bağlı retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik komplikasyonlar görülmektedir (6).

Ayrıca kontrol altında olmayan diyabetli hastalarda bozulmuş yara iyileşmesi gözlenmektedir (76). Bu durumun birçok kompleks patofizyolojik mekanizması mevcuttur. Bunlardan birincisi diyabette görülen venöz kan dolaşım bozukluğuna bağlı hipoksidir. Uzun hipoksi durumunda başarısız perfüzyon ve vaskülarizasyon gözlenir. Hipoksi durumunda erken enflamatuvar cevapta artış, böylece oksijen radikallerinin seviyelerinde de fazla bir artış gözlenir (71). Ayrıca hiperglisemi de oksidatif stresi artırır. Reaktif oksijen moleküllerinin antioksidan kapasitesini aşması durumunda anjiyotensin dönüştürücü enzim (AGE) ve reseptörleri arasında ilişki bozulur. Matriks metalloproteinazları (MMP) glukozilleyen bu enzimin miktarındaki bozulma ile MMP seviyelerinde dengesizlik sonucunda da fibroblast apoptozisinde artış (70), doku yıkımında artış ve normal tamir sürecinde inhibisyon gözlenir (71, 72). Diyabetik bireylerdeki yaralarda ayrıca hücre fonksiyonlarında çeşitli düzensizlikler gözlenir. Bu durum diyabetik hastalarda bakterilerin eliminasyonunda başarısızlık ve tamir sürecinde bozulmaya neden olmaktadır (99). Ayrıca diyabetik hastalarda görülen nöropati de yara iyileşmesinin bozulmasına neden olabilir. Çünkü birçok nöropeptit; hücre kemotaksisini düzenleme, büyüme faktörlerinin yapımını

indüklenmesi, hücre proliferasyonunu stimüle etmesi dolayısıyla yara iyileşmesi ile ilişkilidir (99).

Özet olarak; enflamatuvar cevap fonksiyonunda bozukluk, artmış fibroblast apoptozisi, granülasyon doku formasyonunda bozulma ve anjiyogenezisteki bozulmalar nedeniyle kontrol altında olmayan diyabette yara iyileşmesi bozulmaktadır (70).

2.8.12. Beslenme

Bir diğer etkili faktör ise beslenmedir. Beslenme, yara iyileşmesi aşamasında kollajen sentezi, anjiyogenezis ve yara kontraksiyonu için gerekli substrat ve enerji sağladığı için önemli bir faktör olduğu uzun zamandır bilinen bir gerçektir (9). Cerrahi veya travma sonrası malnütrisyon veya spesifik besinlerin eksikliği durumunda kronik veya iyileşmeyen yaralar gözlenebilmektedir. Spesifik besinlerin yeterli alınması ise yara iyileşmesini hızlandıran ve düzenleyen bir faktör olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiş ve son dönemlerde ilgi gören bir konu haline gelmiştir. Yapılan birçok laboratuvar ve klinik çalışmada antioksidanların (10) ve Fototerapinin (100) yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmışken (13), medikal bitki özleri, vitaminler (12) ve amino asitler de (11) son zamanlarda ilgi çeken araştırma konuları haline gelmiştir.

Yapılan literatür taramasında enerji içecekleri içinde bulundurduğu maddeler ile metabolizma hızını artırdığı, merkezi sinir sistemini uyardığı gösterilmiştir ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren deneysel bir çalışma da mevcuttur (13)

2.9. Enerji İçecekleri

Günümüzde, enerji içecekleri oldukça yaygın ve kontrolsüz bir şekilde tüketilmektedir. Metabolizmayı hızlandırdığı, vücut direncini artırdığı ve fazla enerji verdiğine inanıldığı için hemen hemen her yaşta kullanılmakla birlikte, özellikle 11-

35 yaş (öğrenciler, sporcular ve yoğun çalışanlar) arası bireyler tarafından daha yaygın olarak kullanılmaktadır (101, 102). Dünyada çok sayıda farklı marka enerji içeceği bulunmaktadır ve her yıl yaklaşık 4 milyar kutu sadece RedBull ® marka enerji içeceği tüketilmektedir (103)

Farklı marka enerji içeceklerinin içeriği benzer olmasına karşın, bazı değişiklikler olabilmektedir (örneğin, içerdiği B vitamini türü). En sık kullanılan maddeler ise aşağıda verilmiştir.

2.9.1. Kafein

Adenozin reseptör antagonistidir. Santral ve periferel sinir sistemini etkileyebilen bir stimulandır (104). Yapılan çalışmalar kafein ve kafein metabolitleri olan teobromin ve ksantin antioksidan etkilerinin olduğunu (105, 106) ve antioksidan maddelerin yara iyileşmesini desteklediği (107, 108) gösterilmiştir. Ayrıca kafein adenozin reseptör antagönistisi olması dolayısıyla yara iyileşmesini geciktirebileceği de düşünülmektedir (109). Çünkü, adenozin, adenozin reseptör agonisti ve purin nükleozit anjiyogenezisi ve ekstraselüler matriks yapımını stimüle ederek yara iyileşmesini destekler (110). Kafeinin yara iyileşmesi üzerine etkinliği değerlendirildiğinde ise doz bağımlı hücre proliferasyonunu azalttığı, hücre migrasyonunda gecikmeye neden olduğu ve topikal olarak uygulandığında epitelizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (109).

2.9.2. Taurin

Vücuttaki en önemli antioksidan maddelerden biri de yarı esansiyel bir amino asit olan taurindir. Taurinin; nörotransmitter ve hormon salımının düzenlenmesi, antimikrobiyal etki, glukoz ve glikojenezin stimülasyonu, antioksidan etki, hücre çoğalması (kemik iyileşmesinde osteoblast çoğalması), gibi birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar kollajen yıkımının antioksidanlarla önlenilebileceği gösterilmiştir. Ayrıca oral epitel yüzeyine gingivektomi sonrası topikal uygulama ile de hızlı reepitelizasyon elde edildiği gösterilmiştir (11).

2.9.3. Arjinin

Arjinin yarı-esansiyel bir aminoasit olup maksimal büyüme, şiddetli stres ve hastalık durumlarında gereklidir. Arjinin; immun cevabın modülasyonu, yara iyileşmesi, hormon sekresyonu, vasküler tonus ve endotelial fonksiyon gibi birçok biyolojik olayda etkilidir (9). Ayrıca prolin prekürsörü olan arjinin immun sistemi iyileştirir ve yara iyileşmesi stimülasyonunu uyarır. Fizyolojik veya patolojik stres durumunda arjinin gereksinimi artar. Kollajen depozisyonu, anjiyogenezis ve yara kontraksiyonu için dışardan alımı arttırılmalıdır (111).

2.9.4. Sükroz/glukoz veya aspartam/asesülfam potasyum

Yara iyileşmesi sürecinde primer enerji kaynağı karbonhidratlardır. Glukoz hücre ATP'nin major kaynağıdır. Hücre ATP anjiyogenezis ve yeni doku depozisyonu için gerekli enerji kaynağıdır (9). Şekersiz formunda ise tat verici olarak aspartam ve asesülfam potasyum(K) bulunmaktadır. Aspartam, kimyasal formülü aspartil-fenilalanin-1-metil ester olan bir tatlandırıcıdır. Asesülfam K, sükraloz ve aspartam gibi diğer düşük kalorili ve kalorisiz tatlandırıcılarla birleştirildiği zaman sinerjistik bir tatlandırma etkisi sağlar.

2.9.5. B vitaminleri

B vitaminleri suda eriyen vitaminlerdir ve özellikle mitokondriyal fonksiyon ve enerji üretimi gibi hücre fonksiyonları için koenzim olarak gereklidirler.

Tiamin (vitamin-B1): Karbonhidrat metabolizmasındaki bazı anahtar enzimlerin koenzim öncüsü olarak çalışır (112) ve kollajen yapımı için gereklidir (9).

Riboflavin (vitamin-B2): Solunum zincirinin flavo enzimleri için gereklidir. Böylece yağlar, karbonhidratlar ve proteinleri içeren enerji metabolizmasını destekler (113) ve kollajen yapımı için gereklidir (9).

Niasin (vitamin-B3): Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) indirilmiş formu bu vitaminden sentezlenir. Bu koenzim hücrelerde enerji üretiminde majör bir rol oynar ve oksidatif fosforilasyon için proton desteği sağlar (114). Ayrıca nörotransmitter ürünleri (L-dopa, dopamin, serotonin ve nörepinefrin) stimule eder.

Pantotenik asit (vitamin-B5): Koenzim A, α -ketoglutarat, piruvat dehidrogenaz oluşumu ve yağ asidi oksidasyonu ve kollajen yapımı için gereklidir (9).

Piridoksin/Pridoksamin (vitamin-B6): Amino asit ve homosistein metabolizması, glukoz ve lipid metabolizması, nörotransmitter ürünler ve deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) sentezine katılan bir koenzimdir (115). Özellikle protein ve kırmızı kan hücresi metabolizmasına katılır ve immun sistem fonksiyonu için önemlidir.

Biyotin (vitamin-B7): Dekarboksilaz koenzimidir. Glikoneogenezis ve yağ asidi oksidasyonu için gereklidir (115).

İnositol (vitamin-B8): Bir vitamin olarak sınıflandırılmaz çünkü insan vücudunda sentezlenir. 9 stereoizomeri bulunur ve en yaygın formu myoinositoldür. Bu, hücre membranının bir parçasıdır. Karaciğer yağ sentezinde yardımcı rol oynar, kas ve sinir fonksiyonlarını destekler (116).

Siyanokobalamin (vitamin-B12): Sinir hücre fonksiyonunu sürdürmeye yardım eder. DNA ürünleri için gereklidir ve kırmızı kan hücresi oluşumunda önemli rolü vardır (115).

2.9.6. Guarana

Güney Amerika kaynaklı '*Paullinia cupana*' bitkisinin tohumundan elde edilen uyarıcı özelliği olan bir maddedir ve yüksek oranda kafein, teobromin, teofilin ve tanin içerir (117). Guarananın bu özellikleri yanında diğer faydalı özellikleri dolayısıyla tıp alanında birçok rahatsızlık için kullanım alanı bulmuştur (118). Ayrıca antibakteriyel ve antioksidan olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (119).

2.9.7. Ginseng

Farklı 4 alt tipi vardır (120). '*Panax ginseng*' bitkisinin tohumlarından elde edilen tipi enerjiyi arttırma, hafızayı geliştirme, strese karşı vücut direncini arttırma ve afrodizyak etkileri dolayısıyla kullanılmaktadır (117). Ayrıca hemostazı restore etme (121), yara iyileşmesini hızlandırma (122); TNF- α , IL-1 β seviyelerinde azalma sağlayarak antienflamatuvar ve antiromatizmal etki sağladığı (122), ayrıca tümör büyümesini inhibe edici (120) etkilerinin olduğu da gösterilmiştir.

2.9.8. Ginkgo biloba

Ginkgo biloba ağacının yaprağından elde edilen (123) ve gümüş Japon kayısı (121) olarak da bilinen bu bitki; vertigo, erektil disfonksiyon, mental aktiviteyi arttırmaya yönelik birçok alanda kullanılmaktadır (121). Bu özelliklerinin yanı sıra antioksidan olduğu da bilinmektedir (123).

2.10. Periodontolojide Yumuşak Doku İyileşmesi

Periodontoloji, diş çevre dokularını inceleyen bilim dalı olarak tanımlanabilir. Diş çevre dokuları da periodonsiyum olarak adlandırılır ve sement, periodontal ligament, alveolar kemik ve gingiva olmak üzere 4 ana komponentten oluşur. Dişin sağlıklı bir şekilde estetik ve fonksiyonel özelliklerini yerine getirebilmesi için bu 4 komponentin bütünlüğünün korunması esastır. Periodonsiyumu oluşturan bu 4 dokunun her biri yapısal ve biyokimyasal içerik olarak kendine özgü olmakla birlikte, periodontal dokuların birinde meydana gelecek patolojik değişiklik diğer dokuların da hücresel aktivitelerinde değişikliğe neden olmaktadır (1).

Periodontal hastalık; etiyolojisindeki lokal etkenlerin, çevresel faktörlerin, genetik yatkınlıkların ve alınan medikal tedavilerin önemli rol oynayıp konak cevabında meydana getirdikleri değişiklikler ile kompleks bir patogeneze sahip olan 'multifaktöriyel' bir hastalıktır (6).

Periodontal hastalığın günümüze kadar pek çok sınıflandırılması yapılmıştır. Şu an ise mevcut kullanılan sınıflandırma 1999 yılında '*American Academy of Periodontology*' tarafından tavsiye edilen sınıflandırmadır. Bu sınıflama temel olarak 8 başlık altında toplanmıştır (124):

- Gingival Hastalıklar
- Kronik Periodontitis
- Agresif Periodontitis
- Sistemik Hastalıkların Bir Bulgusu Olarak Periodontitisler
- Nekrotizan Periodontal Hastalıklar
- Periodonsiyumun Apseleri
- Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
- Gelişimsel veya Edinsel Deformiteler ve Durumlar

Gingivitis, primer etiyolojik etkeni dental plak olan ve periodonsiyumun 4 ana komponentinden sadece gingivayı tutan klinik ve histolojik değişiklikler ile karakterize periodontal hastalığın en sık görülen tipidir. Dişetinde renk, hacim, ısı artışı, dişeti oluşu sıvısında (DOS) artış ve sondalamada kanama gibi doku değişikliklerini gösterir. Başlangıç periodontal tedavi ve oral hijyen eğitimi ile plağa bağlı gingivitisin klinik tablosu geri dönüşümlüdür.

Periodontitis ise; diş çevresinde ve dişeti oluşu içerisinde kolonize olan periopatojen mikroorganizma ve ürünleri, ve bu mikroorganizmalara karşı gelişen, yetersiz veya aşırı konak yanıtı sonucunda, dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemikte meydana gelen enflamatuvar süreç sonucunda yıkım ile karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır (125).

Periodontitislerin başlamasında ve gelişmesinde rol oynayan periopatojenler ve bunların ürettiği toksinler, enzimler ve benzeri maddeler, konak kaynaklı enzimlerle birlikte doğal (nonspesifik) ve kazanılmış (spesifik) konak savunmasını aktive eder. Konak yanıtı, dişeti dokularını bir yandan lokal mikrobiyal saldırıya karşı koruyarak doku içerisinde patojen mikroorganizmaların yayılmasını önlerken

diğer yandan da çevresindeki hücrelere ve bağ dokusu yapılarına zarar vererek periodontal ligament, alveol kemiği ve sement dokusunun yıkımına neden olur (126). Tedavi edilmediği takdirde alveolar kemikte geri dönüşümsüz hasarlar meydana gelir ve ilerleyen dönemlerde diş kaybı ile sonuçlanır.

Periodontal hastalıkların tedavisinin ilk amacı, hastalığın sebep olduğu doku kaybını durdurmak ve periodonsiyumu sağlığına kavuşturmadır. Periodontal tedaviler oral hijyen eğitimi, kalsifiye ve kalsifiye olmayan artıkların uzaklaştırılması ve kök yüzey düzleştirmesini de içeren başlangıç tedavisi, bunu takiben eğer gerekliyse periodontal cerrahi işlemleri ve hastanın kontrollere çağırıldığı destekleyici tedavileri içermektedir (4). Gerek cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası gerekse periodontal cerrahi operasyon sonrası yumuşak ve sert dokularda tamir ve rejenerasyon süreci başlar.

2.10.1. Cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben yumuşak doku iyileşmesi

Cerrahi olmayan periodontal tedavi, diştışı temizliği sonrası kök yüzey düzleştirmesi ve yumuşak doku küretajını içermekte ve sonrasında iyileşme yumuşak dokunun kök yüzeyine tekrar atake olması ile gerçekleşmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar gingival küretaj uygulamasından sonra epitelyal ataşmanın 6 gün sonra yeniden oluştuğu (127) ve küretaj sonrası erken evre akut enflamatuvar infiltrasyonda artış ile karakterize olduğu gösterilmiştir (128). Birleşim epitelindeki iyileşme değerlendirildiğinde subgingival kalkulus ve plağın uzaklaştırılmasını takiben birleşim epitelinin tekrar oluştuğu (129) ancak bağ dokusu ataşmanı olmadan uzun bağlantı epiteli ile olduğu gösterilmiştir (130, 131).

2.10.2. Periodontal cerrahi sonrası yumuşak doku yara iyileşmesi

2.10.2.1. Flep cerrahisi

Flep cerrahisi başlı başına periodontal cerrahi tedavi seçeneği olmakla birlikte, birçok oral cerrahi tedavinin de ilk basamağıdır. Kemik ile ilişkisine göre

tam ve parsiyel kalınlıklı flepler olmak üzere temel olarak ikiye ayrılır ancak iyileşme ikisinde de aynı paterni takip eder ve yumuşak ve sert dokular arasında kan pıhtısı oluşumu ile karakterizedir. Başlangıçta yumuşak ve sert dokular arasında kan pıhtısının aracılık ettiği yapışmanın zayıf olarak izlendiği ve 7. günde hala mekanik travmaya hassas olduğu, 12. günde gingival epitelin keratinize olduğu ve flep, kemik ve dişe de yeniden atake olduğu, 14. günde kök yüzeyi ve mukogingival flep arasındaki yapının olgunlaştığı, 4. haftada ise flebi yoğun ve organize bağ dokusu ile dişe yeniden bağlandığı ve 5. haftada dokunun tamamen rejenere olduğu görülmektedir. (132).

2.10.2.2. Yumuşak doku greft operasyonları

Serbest dişeti grefti ya da bağ dokusu grefti yapışık dişeti genişliğini artırmak, dişeti çekilmesini önlemek ve/veya tedavi etmek için periodontolojide kullanılan greft tipleridir (133). Yumuşak doku greftlerinin alıcı yatak ile arasındaki iyileşme, dokunun revaskülarizasyonu ve matürasyonu ile gerçekleşir. Greftin alıcı yatağa yerleştirilmesini takiben ilk 3 günde greftte dejeneratif değişiklikler ile birlikte iki doku arasında ince bir fibrin tabaka görülür. 4. ve 11. günler arasında greftin revaskülarizasyonu, 11. ve 42. günler arasında da dokuda matürasyon gerçekleştiği gösterilmiştir (133). Ancak 360 günlük takip süresince %25 ile %45 arasında değişen oranlarda büzülmenin devam ettiği de gözlenmiştir (134).

2.10.2.3. İmplant cerrahisi

İmplant cerrahisi tek veya çoklu diş eksikliğinin ve hatta total dişsizliğin rekonstrüksiyonunda başarı ile kullanılan tek aşamalı veya çift aşamalı cerrahi teknik ile gerçekleştirilen bir tedavi seçeneğidir. Tek aşamalı cerrahi ile implant yerleştirilmesi sonrası yara iyileşmesi implantın boyun kısmı etrafına mukoperiosteal flebin kapatılması sonrasında ya da iki aşamalı cerrahide daha önceden yerleştirilen implanta abutment bağlanması için ikinci bir cerrahi müdahaleden sonra oluşmakta ve flep cerrahisi sonrası iyileşmeye benzemektedir (135).

2.10.2.4. Gingivektomi

Gingivektomi, bir kısım dişetin kesilerek çıkarılmasıdır. Genellikle cebin yumuşak doku duvarının çıkarılması şeklinde uygulanır. Gingivoplasti ise dişetin cerrahi yolla yeniden şekillendirilmesidir.

Endikasyonlar

- Dişeti büyümeleri
- Sığ kemiküstü cepler
- Kron boyu uzatma
- Nekrotizan ülseratif gingivitisler.

Kontraendikasyonlar:

- Kemik içi defektlerin bulunduğu durumlar
- Kemik cerrahisi gereken olgular
- Yetersiz yapışık dişeti bulunan bölgeler
- Mukogingival birleşime veya apikale uzanan cepler
- Klinik kron boyundaki artışın estetik sorunlar oluşturacağı durumlar(4)

Dişeti büyümeleri sıklıkla itihabi dişeti büyümeleri, ilaca bağlı dişeti büyümeleri ve herediter gingival fibromatozis şeklinde karşımıza çıkmakta ve bu dişeti büyümeleri estetik ve fonksiyonel rahatsızlıklara neden olabildiği için belli endikasyonlarda cerrahi eksizyonu gerekmektedir. İltihapsal dişeti büyümeleri genellikle kronik irritasyon sonucu oluşur. Ortodontik tedavi sonrası sık karşılaşılan bir komplikasyondur (136). İlaça bağlı dişeti büyümelerinde ve herediter gingival fibromatozisde nüks olasılığının yüksek olduğu unutulmamalıdır (137, 138). Bu dişeti büyümeleri konvansiyonel bisturi cerrahisiyle eksize edilebildiği gibi, lazer, koter gibi alternatif yöntemler ile de eksize edilebilmektedir (136).

Ayrıca dişetlerinde meydana gelen ve kötü estetiğe sebep olabilen melanin pigmentasyonu da gingivektomi endikasyonudur. Melanin pigmentasyonu, siyah ırkta baskın olmak üzere bazı etnik gruplarda daha sık gözlemlendiği bilinmektedir.

Sigara kullanımının da özellikle diş etlerinin anterior kısmında olmak üzere oral melanin pigmentasyonuna yol açtığı bilinir. Bu pigmentasyon epitelin altında bazal tabakada melanin hücrelerinin lokalize olduğu bölgede oluşur (139). Oluşan pigmentasyonların kötü pembe estetiğıe sebep olması durumunda epitel ile birlikte bazal tabakada lokalize olan melanin hücrelerinin de eksizyonu gerekmektedir.

Birçok endikasyonu olan ve klinikte sıklıkla uygulanan gingivektomi operasyonu sonrası yara iyileşmesi süreci aşağıdaki gibi olmaktadır (127):

- Cerrahiden hemen sonra 1.gün hemoraji oluşmaktadır.
- 2.gün, kalın bir pıhtı tüm yarayı kaplamakta ve yaranın apikal marjinde küçük bir epitel migrasyonu gözlenmektedir.
- 4.gün, kan pıhtısı yara yüzeyinin büyük bir kısmını kaplamaya devam etmektedir, ama epitel proliferasyonu oral epitel ve epitelyal ataşman hücrelerinde açıkça görölmektedir.
- 1.haftada, yara yüzeyi genellikle tamamen epitelizedir ve sulkus oluşmuştur ama keratinizasyon ve retepeg oluşumu 16.günde saptanmıştır.
- Tedavi edilen alanlar ve ilk alanlar arasında fark olmadığının tespit edildiğı 38.güne kadar yara maturasyonu saptanabilmektedir.

Literatürdeki bu bilgilerden yola çıkılarak bu çalışmanın hipotezi, diyabetik sıçanlarda enerji içeceği (RedBull®sugar free) oral dokularda sekonder yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olacağı yönündedir.

Bu bilgiler ışığında bu araştırmanın amacı, yaygın bir şeklide kullanılmakta olan enerji içeceği (RedBull®sugar free), deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda gingivektomi sonrası sekonder yara iyileşmesi üzerindeki etkisini; klinik, histomorfometrik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelemektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüş olup, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan deney için 2015/01 protokol numarası ile onay alınmış ve Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2015.06.05.864 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1. Denekler ve Değerlendirme Periyodları

Çalışmaya 84 adet (5-6 aylık civarı) sağlıklı erkek Wistar Albino sıçan ile başlanmış ancak diyabetin komplikasyonlarına bağlı ölümler dolayısıyla 63 örnek ile tamamlanmıştır. Hayvanlar standart koşullarda 12 saat gece, 12 saat gündüz döngüsünde, 25 ± 3 °C'lik ortamda, on ikili gruplar halinde plastik tabanlı tel kafeslerde barındırılmıştır.

Diyabet oluşturulan sıçanlarda ağız içi yara yüzeyleri oluşturulup ertesı gün gavaj uygulamasından sonra 3., 7., 14. ve 21. günlerde sakrifiye edilerek alınan örnekler klinik, histomorfometrik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelenmiştir. Klinik olarak yara yüzeylerinin çap ölçümleri kaydedilmiş ve enflamasyon parametleri olan ödem ve eriteme bakılmıştır. Histolojik olarak reepitelizasyon, granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen organizasyonu değerlendirilmiş ve ayrıca immunohistokimyasal olarak vasküler endotelial büyüme faktörüne (VEGF), fibroblast büyüme faktörü-2'ye (FGF-2) ve tünel yöntemiyle apoptotik hücrelere bakılmıştır. Sakrifiye edilirken alınan kan örneklerinde de biyokimyasal olarak malondialdehit (MDA), katalaza (CAT) ve fibroblast büyüme faktörü-10'a (FGF-10) bakılmıştır.

3.2. Diyabet Oluşturma Modeli

Sıçanlarda çalışmaya başlamadan önce Tip II diyabet oluşturulmuştur. Tip-II diyabetin metabolik sürecini taklit etmek için sıçanlar 4 hafta boyunca yüksek kalorili sıçan yemi (%20 yağ, %48 karbonhidrat ve %22 protein toplam kalori değeri 31.85 kJ/kg) (Tablo-3.1.) beslenerek kilo artışı ve insülin direnci geliştirilmesi planlanmıştır (140). MBD yem firmasından (Kocaeli/Türkiye) temin edilen toz halindeki hazır yem karışımı, yüksek yağ oranından dolayı küflenme ihtimaline karşın 10'luk enjektör yardımıyla sulandırıp pelet haline getirilip kurutularak taze olarak hazırlanmıştır (Fotoğraf-3.1.). Olası kilo değişimini hesaplamak ve gerekli yem miktarını tayin edebilmek (günlük yem miktarı 100 gram (gr) sıçan ağırlığı başına 5 gram yem şeklinde hesaplanmıştır) için sıçanlar çalışmaya başlamadan önce tartılmış ve ağırlıkları 294-420 (ortalama 348) gr aralığında bulunmuştur.

Tablo-3.1. Yüksek kalorili yemin kimyasal analizi

KİMYASAL ANALİZ TABLOLARI		
	Standart Yem	% 20 Yağlı Yem
H. Protein	% 20	% 22
H. Selüloz	% 6	% 2,43
H. Kül	% 5,2	% 5,23
H. Yağ	% 2,7	% 20
Calcium	% 0,9	% 1,1
Fosfor	% 0,6	% 0,58
Lysine	% 0,95	% 1,36
Methionin	% 0,40	% 0,45
Methionin+Cystin	% 0,66	% 0,78
Sodium	% 0,14	% 0,10
Metabolik Enerji	2600 Kcal / Kg	3185 Kcal / Kg



Fotoğraf-3.1. Yüksek kalorili yemin hazırlanması

Bu tartma işleminden sonra deneklerin kafes sayısı 2 katına çıkarılmış ve altılı gruplar halinde barındırılmaya başlanmıştır. Sayıyı azaltmaktaki amaç ise, streptozotosin (STZ) enjeksiyonundan sonra toksik dışkı ve idrarlarından dolayı kafesi daha uzun süre temiz muhafaza edebilmektir.

Streptozotosin enjeksiyonundan 12 saat önce sıçanlar hiperglisemiye karşın aç bırakılmıştır. Bu işlem uygulanmadan önce yüksek kalorili diyetle kilo artışı olabileceğinden dolayı sıçanlar tekrar tartılmış ve her birinin ağırlığına göre çözelti miktarı hesaplanmıştır. 4 hafta yüksek kalorili diyetle besleme yaptıktan sonra periton içi stok STZ çözeltisi (0.1 molar sitrat tamponu (pH 4.5) içinde çözülerek hazırlanır) enjeksiyonu (40 mg/kg olacak şekilde) yapılmıştır. Bu toksik preperat insülin sekresyonu yapan pankreas β hücrelerinde hasara neden olarak etki göstermektedir (141). Enjeksiyondan sonraki 24 saat ise hipoglisemiye engellemek için %10'luk dekstroz verilmiştir. Enjeksiyondan 5 gün sonra sıçanların kuyruklarından kan örneği alınarak plazma glukoz seviyelerine bakılmıştır. Glukoz seviyesinin 300 mg/dl'nin üzerinde olduğu durumlar diyabet olarak kabul edilmiştir (140).

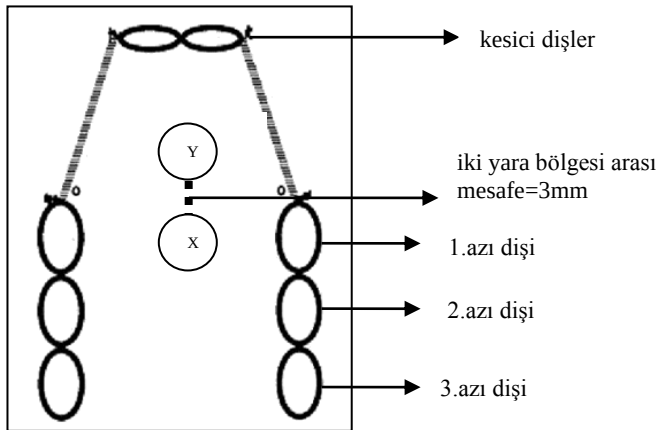
3.3. Deneklerin Randomizasyonu ve Gruplara Ayrılması

Deneyssel diyabet oluşturulmuş sıçanlar enerji içeceği kullanılan test grubu 'Eİ' ve distile su kullanılan kontrol grubu 'DS' olmak üzere rastgele 2 gruba

ayrılmıştır. Çalışmanın 3., 7., 14. ve 21. günlerdeki örneklem sayısı test (n=8) ve kontrol (n=8) grubu olmak üzere her zaman diliminde 16 toplamda 64 Wistar albino sıçan ile tamamlanması planlanmıştır. Ancak diyabetli sıçanların ani ölüm riskine karşılık bu sayı başlangıçta daha yüksek tutulması düşünülmüş ve bu nedenle toplamda 84 sıçan ile çalışmaya başlanmıştır (Şekil-3.2.).

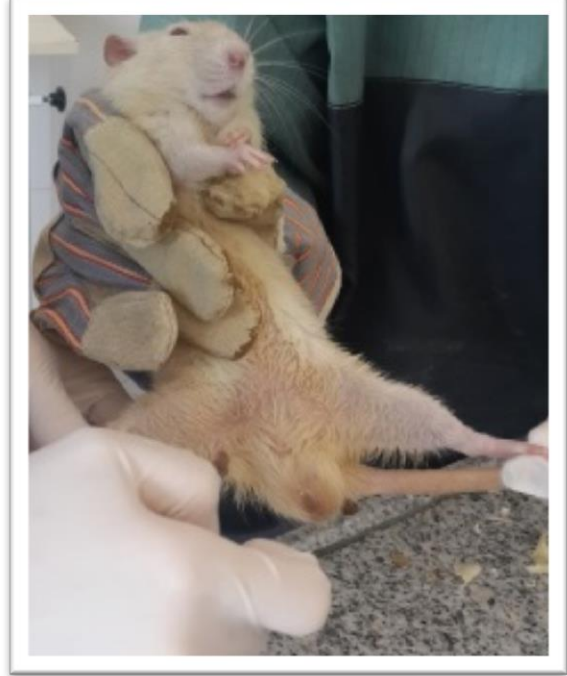
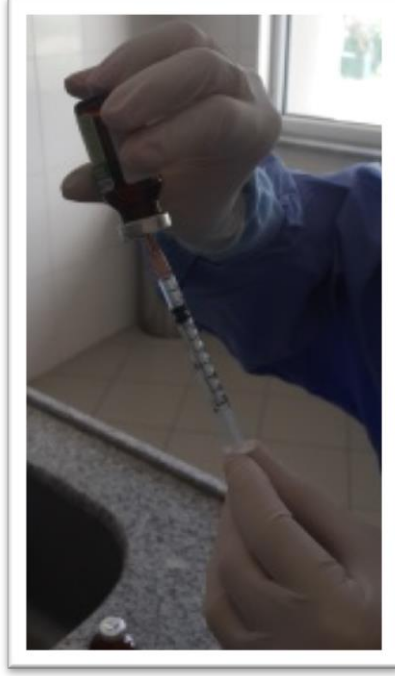
3.4. Cerrahi Prosedür

Deneyssel diyabetin teyidini takiben aynı gün içerisinde 40-50 mg/kg ketamine, 2-5 mg/kg xylazine intramuskuler olarak uygulanarak sıçanlar anestezi altına alınmıştır (Fotoğraf-3.2.). Anestezi derinliğini teyid etmek için, cilt ve parmak kısırmaya karşı refleksleri kontrol edildikten sonra cerrahi yara bölgeleri oluşturulmuştur. Üst damakta orta hatta 1.azı dişinin distal marjinal kenarı arka sınır olmak üzere punch yardımı ile 3 mm çapında işaretleme yapılarak bisturi ile deepitelizasyon yapılmıştır (1. alt grup) (şekil-3.1.). Aynı yöntem ile ilk oluşturulan yaranın anteriorunda ve iki yara yüzeyi arası mesafe 3 mm aralık olacak şekilde 3 mm'lik punch yardımıyla epitel+bağ dokusu çıkarılarak kemik ekspoz edilmiştir (2. alt grup) (şekil-3.1.). Aynı düzlemin devamındaki sağlıklı doku ise karşılaştırma için kullanılmıştır.



X=3mm çapında deepitelizasyon Y=3mm çapında epitel+bağ dokusunun uzaklaştırılması

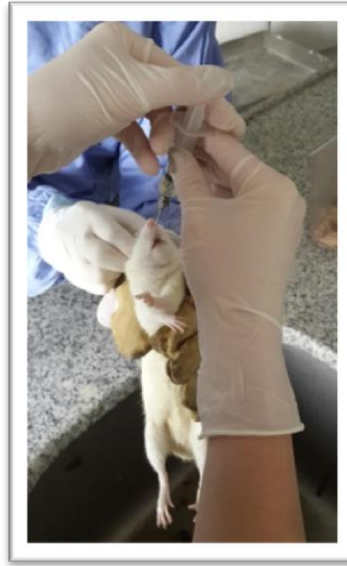
Şekil-3.1. Cerrahi prosedür diagramı



Fotoğraf-3.2. Anestezi aşamaları

3.5. Deneysel Protokol

Test grubuna açken (öğle saatlerinde), cerrahi yaranın oluşturulduğu günün ertesi günü başlamak kaydı ile sakrifiye edilene kadar her gün, günde bir doz olmak üzere oral gavaj yoluyla şekerli enerji içeceği (Eİ) verilmiştir (Fotoğraf-3.3.). Sıçanların enerji içeceğini içerken ağız ile teması göz önüne alındığında olası lokal etkileri de düşünülerek enjektör çekilirken ağız içerisine de bir miktar Eİ verilmiştir. Doz ayarlaması erişkin bir insan (yaklaşık olarak 70 kg) ,günde 1 kutu (RedBull®sugar free, Türkiye) 250 ml enerji içeceği kullandığı varsayılarak yapılmıştır (13). Yüksek kalorili diyet kullanıldığı göz önüne alındığında sıçanlardaki kilo artışı durumu olabileceğinden veya streptozotosin enjeksiyonundan sonra diyabete bağlı kilo kaybı dolayısıyla enerji içeceğinin dozu deneysel diyabetin teyidinden sonra sıçanlar tartılarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuna ise aynı dozda ve aynı şekilde olmak üzere distile su (DS) verilmiştir.



Fotoğraf-3.3. Gavaj uygulaması

Sıçanlar 3., 7., 14. ve 21. günlerde sakrifiye edilerek incelenmek üzere maksillaları alınıp, %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edilmiştir. Ayrıca

sakrifiye edilirken alınan kardiyak kan örneklerinde diyabet tekrar teyit edilmiş ve belirlenen biyokimyasal parametrelere bakılmıştır.

3.6. Klinik Parametrelerin Analizi

Ameliyat sonrası deneklerin ağız içi fotoğrafları alınmıştır. Sakrifizasyon öncesi anestezi altındayken, periodontal sond (Williams sondu) yardımıyla her iki (deepitelize alan ve epitel+bağ dokusunun eksize edildiği alan) yara yüzeylerinin çap ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca eş zamanlı olarak epitel+bağ dokusunun eksize edildiği yarada enflamasyon parametresi olan ödem ve eritem (0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Belirgin, 4:Şiddetli) inspeksiyon ile değerlendirilmiştir (142). Sakrifiye edilip üst çene total olarak eksize edildikten sonra tekrardan yara yüzeylerinin fotoğrafları alınmıştır.

3.7. Histomorfometrik Analiz

Histomorfometrik olarak aşağıda belirtilen protokolleri takiben reepitelizasyon, granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen organizasyonu değerlendirilmiştir. Örnekler %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 24-72 saat fiske edilmiştir. Işık mikroskopuyla inceleme için formik asitli (Merck Formic acid 98-100% for analysis EMSURE® ACS) dekalsifikasyon solüsyonunda kemik dokusu inceleme için uygun yumuşaklığa ulaşmaya dekalsifiye edildikten sonra doku takibi yapılarak parafin blokları içerisine gömülmüştür. Mikrotom (Leica ®RM 2125) yardımıyla 3µm kalınlığında kesitler elde edilerek polilizinli lamlara alınmıştır. Parafin kesitler 60°C'de etüvde bekletildikten sonra hematoksilin eozin boyası ile aşağıdaki protokole göre boyanmıştır.

1. Ksilol I' de 2 dakika bekletilerek
 2. Ksilol II' de 2 dakika bekletilerek
 3. İki defa %100'lük alkolde birer dakika bekletilerek
 4. İki defa %96'luk alkolde birer dakika bekletilerek
 5. Çeşme suyunda altında yıkama
- kesitler deparafinize edildi.
- kesitler dehidrate edildi.

6. Hematoksilen boyasında 3 dakika bekletme
7. Çeşme suyunda yıkama
8. Asit alkole 2 kere daldırılma
9. Çeşme suyunda yıkama
10. Amonyaklı suda 10-15 saniye bekletme
11. Çeşme suyunda yıkama
12. %80'lik alkolde bir dakika bekletme
13. Eozin boyasında bir dakika bekletme
14. 2 defa % 96'lık alkolde ikişer dakika bekletme
15. 2 defa % 100'lük alkolde ikişer dakika bekletme
16. Ksilolde 10 dakika bekletilip çıkarıldıktan sonra lamlara entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Yukarıdaki protokolü takiben elde edilen hematoksilen eozin boyalı kesitlerde yara alanındaki yapısal değişiklikler ışık mikroskopu altında (Nikon ECLİPSE 80i) incelenmiştir.

Bağ dokusundaki değişimlerin incelemesi için Masson Trikom (Biostain - RRSK20) boyaması aşağıda anlatılan protokole göre yapılmıştır.

1. Dokular hematoksilen eozin boyamasında anlatıldığı gibi ksilol, alkol ve suya tabi tutularak deparafinize edildi.
2. Doku kesitine 5 damla A- Weigert demirli hematoksilen ve 5 damla B- Weigert demirli hematoksilen damlatılıp 20 dakika bekletildi.
3. Hızlıca suda yıkanıp, %1 lik asit alkol solüsyonunda boyanın fazlası alındı.
4. Ponceau fuksin solüsyonu damlatılarak 5 dakika bekletildi.
5. Deiyonize suda yıkandı.
6. Fosfotungustik asitte 10 dakika bekletilerek renk sabitlendi.
7. Yıkama yapmadan metilen mavisi solüsyonuna alınarak 8 dakika bekletildi.
8. Distile suda yıkandı.
9. Saf alkolde hızlıca dehidrate edildi.
10. Ksilenle şeffaflandırılıp entellan ve lamelle kesitler kapatıldı.

Yukarıdaki protokolü takiben elde edilen kesitler ışık mikroskopu altında (Nikon ECLİPSE 80i) incelenmiştir. Elde edilen örneklerde histolojik olarak

reepitelizasyon, granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen organizasyonu analiz edilerek skorlanmıştır.

Histolojik değerlendirme skorları Li ve arkadaşlarının kullandığı aşağıda verilen tabloya göre yapılmıştır (143, 13).

Tablo-3.2. Histolojik değerlendirme skorları

Skor	Reepitelizasyon	Granülasyon Doku Formasyonu	Kollajen Organizasyonu
0	Yok	Yok	Yok
1	Hafif	Hiposelüler, az miktarda damar sayısı	İz
2	Parsiyel olarak stratum korneum	Çok sayıda damar, az hücre	Hafif
3	Hipertrofik	Çok sayıda fibroblast, biraz fibril	Orta
4	Tamamlanmış ve normal	Çok sayıda fibril, az hücre	Belirgin

3.8. İmmunohistokimyasal Analiz

İmmunohistokimyasal analizde anjiyogenezis göstergesi olan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü-2'ye (FGF-2) bakılmıştır. Ayrıca diyabette artmış insidansta rastlanan apoptotik hücreleri göstermek için 'Tünel Yöntemi' kullanılmıştır.

FGF tespiti için Anti-FGF-2/basic FGF, clone bFM-2 (Millipore/USA, cat#05-118) ve VEGF tespiti için Anti-VEGF (Millipore/USA, cat#ABS82) üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıda anlatılan protokole göre boyanmıştır.

1. Kesitler minimum 60 dakika 60°C'de etüve edildi.

2. Kesitler ksilol, alkol ve suyla deparafinize edildi.

- Ksilen 4 x 5 dakika
- %100 etanol 2 x 1 dakika
- %70 etanol 2 x 1 dakika
- %30 etanol 2 x 1 dakika

- Distile / deiyonize su 2 x 1 dakika

3. Boyama prosedüründen önce:

- VEGF örnekleri ph:6.0 sitrat tamponda 1 saat bekletildi.
- FGF kesitleri ise +4°C’de sitrat tamponda 1 gece bekletildi.
- Kesitler kurulandıktan sonra doku sınırlayıcı kalem ile örnekler sınırlandı ve 2 dakika kurumaya bırakıldı.
- Her örneğe 2 damla %3’lük hidrojen peroksit damlatılarak 10 dakika inkübe edildi.
- Kitin yıkama solüsyonuyla 2 x 2 dakika olacak şekilde yıkandı.
- Yıklama işleminden sonra kesitlerin kurumaması için yıkama solüsyonu damlatıldı.

4. Kesitler 2 damla bloke edici ajan damlatıp 45 °C’de 5 dakika inkübe edildi ve sonrasında 15 saniye yıkama solüsyonu ile yıkandı.

5. İki damla primer antikor damlatılıp ve 10 dakika beklendikten sonra yıkama solüsyonu ile yıkandı.

6. İki damla sarı substrat solüsyonu damlatıp 10 dakika beklendi ve sonrasında yıkandı.

7. İki damla streptavidin HRP damlatılıp 10 dakika bekletildi ve sonrasında yıkandı.

8. Uygun ölçüde kromojen (A:B -1:25 oranında) damlatılarak 10 dakika beklendi ve tekrar yıkandı.

9. Kontrast boyama için hematoksilen ile 1 dakika boyama yapıldı ve deiyonize suya konuldu.

10. Kesitler kurutulduktan sonra entallen ve lameller ile kapatıldı.

Apoptotik hücrelerin tespitinde ise In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore/USA, ApopTag® Fluorescein cat#S7100) kullanılmıştır. Boyama üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıda anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

1. Ksilen ve alkol ile kesitler deparafinize edildi.

Ksilen 3 x 5 dakika

Absolut ethanol 2 x 5 dakika

%96'lık alkol 1 x 3 dakika

%70'lik alkol 1 x 3 dakika

Fosfat tampon solüsyonu ile 5 dakika yıkandı.

2. Boyama öncesi Proteinaz K (20 mg/ml) ile 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 2 x 2 dakika distile su ile yıkandı.

3. %3'lük hidrojen peroksitte 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 2 x 5 dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı.

4. Kesitler kurutulduktan sonra dengeleme tamponu eklenip 10 saniye oda sıcaklığında bekletildi.

5. Terminal nükleotidil transferaz (Tdt) enzimi konularak 37°C'de 1 saat inkübe edildi.

6. Durdurucu yıkama tamponu konularak oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

7. 3 x 1 dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra fazla su alındı ve anti-digoksinin konjugat eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında kapalı kapta bekletildi.

8. 4 x 2 dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra fazla sıvı alınarak peroksidaz substratı eklendi ve 3-6 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

9. 3 x 1 dakika distile su ile yıkama yapıldıktan sonra, distile su dolu kabın içerisine lamalar alınıp 5 dakika bekletilir.

10. Metilen yeşili dolu kabın içerisine lamalar alınıp 10 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi.

11. 3 x 30 saniye distile su dolu kapta yıkama yapıldı.

12. 3 x 2 dakika ksilene konulduktan sonra entallen damlatılıp lamel ile kapatıldı.

3.9. Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal analiz için, sıçanlar anestezi altındayken açık yöntem ile kardiyak kan örnekleri toplanmış ve ötenaziye hızlandırmak için aort kesilerek sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir. Alınan kan örnekleri sarı kapaklı 5 ml'lik jelli vakumlu serum separator tüpü (SST) içerisine alınarak standart koşullarda santrifüj edilmiştir (4000 rpm, 10 dakika). Oluşan serum örnekleri ependorf tüplerine alınarak biyokimyasal inceleme için -80°C'ye aktarılmıştır. İnceleme yapılacağı gün çözdürülen serum örneklerinde; oksidatif stres parametresi olan malondialdehite (MDA) ve antioksidan katalaza (CAT), anjiyogenezis ve yeni doku oluşumu göstergesi olan fibroblast büyüme faktörü-10'a (FGF-10) bakılmıştır. Bu markırların tespitinde 'Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi' (ELISA) yöntemi kullanılmıştır. Reaktif olarak orjinal Elabscience (Elabscience Biotechnology Co. Ltd; WuHan; P.R.C.) kitleri üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanılmıştır.

3.10. İstatiksel Analiz

Araştırmada elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel yöntemler olarak sayı, yüzde, ortalama, standart sapma kullanılmıştır. İki bağımsız grup arasında incelenen normal dağılım göstermeyen değişkenlerin karşılaştırılmasında *Mann Whitney-U testi*, normal dağılım gösteren verilerin değerlendirilmesinde ise *tek yönlü varyans analizi* kullanılmıştır. İncelenen değişkenin aynı grup içerisinde zamana göre değişimini incelemek için parametrik veriler için *tek yönlü varyans analizi* ve *Tukey testi*, non-parametrik veriler için *Kruskal-Wallis testi* ve *Mann Whitney-U testi* kullanılmıştır. Elde edilen bulgular %95 güven aralığında, %5 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Genel Bulguları

Çalışmanın başlangıcında ortalama 348 gram olan sıçan ağırlığı, 4 hafta süre ile yüksek kalorili yem ile beslenmesi sonucu 366 grama yükselmiştir. Eşleştirilmiş gruplar için yapılan t testi sonucunda bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Yüksek kalorili yem ile beslenme sürecinde sıçanlarda herhangi bir yan etki gözlenmemiştir. Ancak normal yeme göre daha fazla su tüketimi gözlenmiştir.

Başlangıçta 84 sıçan alınmış ancak streptozotosin (STZ) enjeksiyonundan diyabetin teyidini kadar (5 gün) hiperglisemiye bağlı 8 sıçan kaybedilmiştir. Sıçanların hepsinde kontrolsüz diyabetin genel semptomları olan poliüri, polidipsi, polifaji, halsizlik ve kilo kaybı gözlenmiştir

DeneySEL diyabetin teyidini takiben aynı gün içerisinde kalan 76 sıçanın operasyonu tamamlanmıştır. Operasyon sonrası sıçanlar rastgele distile su (DS) ve enerji içeceği (EI) gruplarına eşit sayılarda ayrılmış ve cerrahiden 1 gün sonra oral gavaja başlanmıştır. Çalışma sonuna kadar sakrifikasyon hariç diyabetin komplikasyonlarına bağlı 20, anestezi komplikasyonlarına bağlı 1 olmak üzere toplam 21 sıçan (%25) kaybedilmiş ve 63 sıçan ile çalışma tamamlanmıştır.

4.2. DeneySEL Diyabetin Teyidi

Streptozotosin enjeksiyonunu takiben 5 gün sonra glukometre (Accu-Check Go®Roche/Almanya) ile kuyruk kanlarından kan şekeri ölçümü yapılmıştır. Toplamda 77 sıçanın kan şekeri ölçümü yapılmıştır. Bir sıçan hariç 76 sıçanın kan şekerleri >300 mg/dl'nin üstünde ve 302-542 mg/dl aralığında bulunmuştur. <300 mg/dl'nin altında değere sahip olan sıçanın kan şekeri ise >250 mg/dl'nin (256 mg/dl) üstünde olduğu için ve bazı otörlerin (141, 144) bu değeri de diyabet kabul ettiğinden dolayı streptozotosin enjeksiyonu tekrarlanmamış ve diyabet kabul

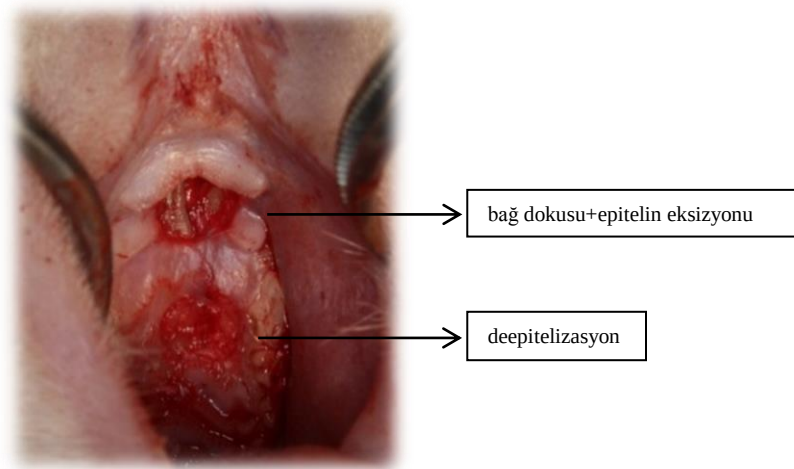
edilmiştir. Diyabetin teyidinden sonra daha fazla hiperglisemiye tetiklememek için yüksek kalorili yem kesilmiş ve sakrifikasyona kadar normal yem ile beslenmiştir.

4.3. Cerrahi Prosedürlere Başlama

Cerrahi esnasında 1 sıçan anestezi komplikasyonlarına bağlı kaybedilmiştir. 1 sıçan standart anestezi dozu ile anesteziye girmemiş ve ek doza rağmen refleksleri tamamen kaybolmadığından cerrahisi o gün içinde yapılmayıp, ertesi gün tekrar anesteziye alınarak yapılmıştır. Bir sıçan da anesteziye bağlı solunum depresyonu göstermiş, bu yüzden ertesi gün tekrar anesteziye alınarak cerrahisi yapılmıştır. Bu 3 sıçan hariç cerrahi işlemler sorunsuz gerçekleşmiştir.

4.4. Klinik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Cerrahi işlem sonrası sıçanların ağız içi fotoğrafları alınmıştır. Sakrifikasyon öncesi anestezi altındayken, periodontal sond (Williams sondu) yardımıyla her iki (deepitelize alan ve epitel+bağ dokusunun eksize edildiği alan) yara yüzeylerinin çap ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca eş zamanlı olarak epitel+bağ dokusunun eksize edildiği yarada enflamasyon parametresi olan ödem ve eritem (0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Belirgin, 4:Şiddetli) inspeksiyon ile değerlendirilmiştir (142). Sakrifiye edilip üst çene total olarak eksize edildikten sonra tekrardan yara yüzeylerinin fotoğrafları alınmıştır.

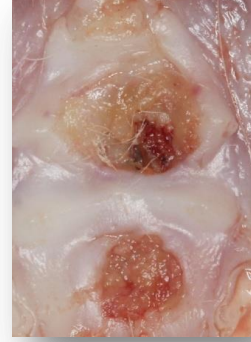


Fotoğraf-4.1. Cerrahi işlem sonrası ağız içi görünüm

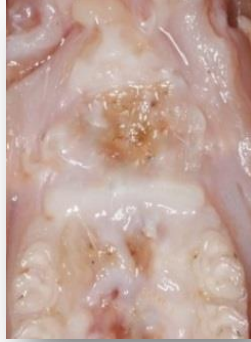
Enerji İeeği (Eİ)

Distile Su (DS)

3.gün



7.gün



14.gün



21.gün



Fotoğraf-4.2. Sakrifizasyon sonrası ağız içi görünüm

4.4.1. Ödem değerlendirmesi

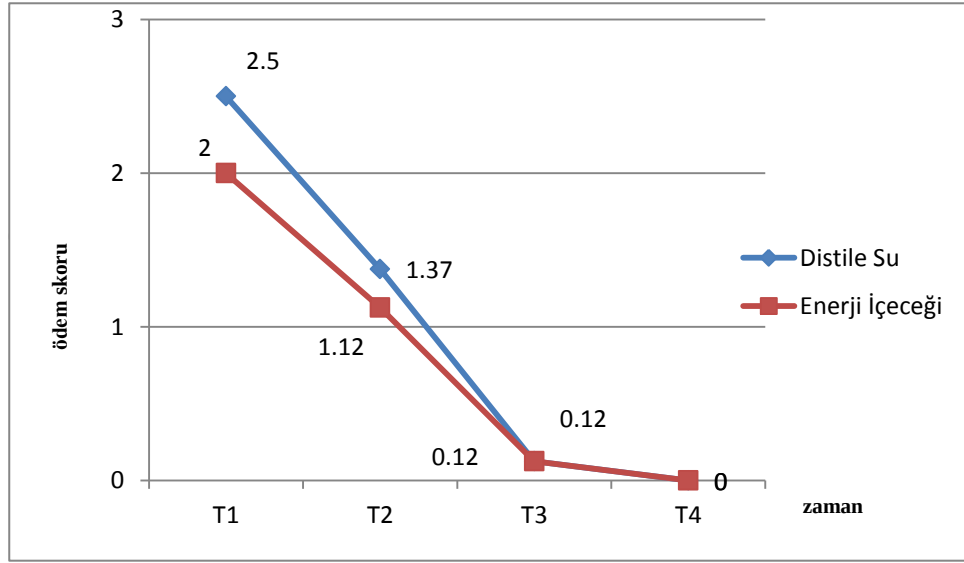
Her zaman diliminde sakrifizasyon öncesi sıçanlar anestezi altındayken, epitel+bağ dokusunun eksize edildiği alanlarda inspeksiyonla ödem skorları (0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Belirgin, 4:Şiddetli) değerlendirilmiştir (142).

Tablo-4.1. Ödem skorlarının gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol grubu (DS)	Test grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	2.50±0.53	2.00±0.53	0.08
T ₂ (7.gün)	1.37±0.74	1.12±0.35	0.48
T ₃ (14.gün)	0.12±0.35	0.12±0.35	1.00
T ₄ (21.gün)	0.00	0.00	-

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma)

Ödem skor ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Mann Whitney U testi ile kullanılmıştır. Test grubundaki enerji içeceği, kontrol grubundaki distile suya göre yara iyileşmesinin erken dönemlerinde (T₁:3.gün ve T₂:7.gün) ödem skorlarının azalmasına katkı sağladığı görülmektedir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). (Tablo-4.1.)



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.1. Ödem skorlarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılım

Grup içi ödem ortalamalarını dört farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Testin sonucunda hem test hem de kontrol grubunda grup içi farklı değerlendirme periyotlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu farklılıkların hangi değerlendirme periyotları arasında olduğunu değerlendirmek için ikili grupların karşılaştırılmasında kullanılan Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kontrol grubu ödem skorlarına bakıldığında, 3.gün ödem ortalaması ($x = 2.50 \pm 0.53$) 7.gün ödem ortalamasından ($x = 1.37 \pm 0.74$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p = 0.04 < 0.05$). 7. ve 14. gün ortalamaları kıyaslandığında ise 7. gün ortalaması ($x = 1.37 \pm 0.74$), 14.gün ortalamasından ($x = 0.12 \pm 0.35$) yüksek olduğu görülmektedir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). 14. gün ($x = 0.12 \pm 0.35$) ile 21. gün ($x = 0$) ortalama ödem skorları karşılaştırıldığında ise ortalamalar arasındaki küçük farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Kontrol grubunda ödem parametresi 3. günden 7.güne hızlı ve istatistiksel olarak

anlamli bir azaliş gstermiş iken 7.gunden 21.gune doğru yavaş bir şekilde azalma gstererek 21.gunde ‘0’ olmuştur. (Tablo-4.2.) (Grafik-4.1.)

Tablo-4.2. Kontrol grubu (DS) odem skorlarının zamana gdeğişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.04*	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.04*	-	0.06	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.06	-	0.31
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.31	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamli fark)

Test grubuna bakıldığında ise 3.gün odem ortalaması ($x=2.00\pm0.53$) 7.gün odem ortalamasından ($x=1.12\pm0.35$) yuķsektir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır ($p>0.05$). 7. ve 14. gúnlerin ortalama odem skorları değerlendirildiğinde ise 7. gún ortalaması ($x=1.12\pm0.35$), 14.gún ortalamasından ($x=0.12\pm0.35$) yuķsektir. Ancak bu fark istatistiksel olarak değildir ($p>0.05$). 14. gún ($x=0.12\pm0.35$) ile 21. gún ($x=0$) ortalama odem skorları karşılaştırıldığında ise aradaki kyuķuk fark istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır ($p>0.05$). Test grubunda odem parametresi 3. gunden 21.gune doğru kademeli şekilde ve istatistiksel olarak anlamli ($p<0.05$) azalma gstererek 21.gunde ‘0’ olmuştur. (Tablo-4.3.) (Grafik-4.1.)

Tablo-4.3. Test grubu (Eİ) ödem skorlarının zamana göre değişimi

T	T ₁ (3.gün)	T ₂ (7.gün)	T ₃ (14.gün)	T ₄ (21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.24	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.24	-	0.06	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.06	-	0.35
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.35	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.4.2 Eritem değerlendirmesi

Her zaman diliminde sakrifikasyon öncesi sıçanlar anestezi altındayken, epitel+bağ dokusunun eksize edildiği alanlarda inspeksiyonla eritem skorları (0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Belirgin, 4:Şiddetli) değerlendirilmiştir (142).

Tablo-4.4. Eritem skorlarının gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

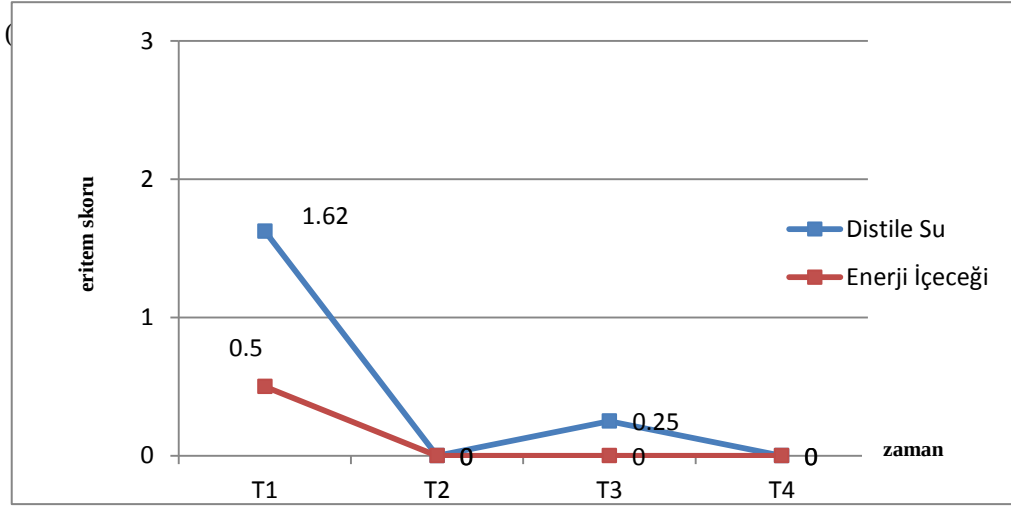
T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	1.62±0.52	0.50±0.53	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.00	0.00	-
T ₃ (14.gün)	0.25±0.71	0.00±0.00	0.31
T ₄ (21.gün)	0.00	0.00	-

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

* = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Eritem skor ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Test grubunda enerji içeceği, kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında, yara iyileşmesinin erken döneminde (T₁:3.gün) eritem skorlarının azalmasına istatistiksel olarak anlamlı katkı

sağladığı görülmektedir. Diğer değerlendirme periyodlarına bakıldığında ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. (Tablo-4.4.)



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.2. Eritem skorlarının gruplar arası ve grup içi farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi eritem ortalamalarını dört farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Testin sonucunda hem test hem de kontrol grubunda grup içi farklı değerlendirme periyodlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu farklılıkların hangi değerlendirme periyodları arasında olduğunu değerlendirmek için ikili grupların karşılaştırılmasında kullanılan Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kontrol grubunda (DS) eritem skorlarına bakıldığında, 3.gün ortalaması ($x=1.62\pm0.52$) eritem 7.gün ortalamasından ($x=0$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p<0.05$). 7. ve 14. günlerin ortalama eritem skorları değerlendirildiğinde 14.gün ortalaması ($x=0.25\pm0.70$) 7. gün ortalamasından ($x=0$) yüksektir, ancak

ortalamlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Kontrol grubunda 14.gündeki eritem skoru ($x=0.25\pm0.70$) 21.gün eritem skorundan ($x=0$) hafif yüksektir ancak iki grup arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). (Tablo-4.5.) (Grafik-4.2.)

Tablo-4.5. Kontrol grubu (DS) eritem skorlarının zamana göre değişimi

T	T ₁ (3.gün)	T ₂ (7.gün)	T ₃ (14.gün)	T ₄ (21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.00*	0.01*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.00*	-	0.31	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.01*	0.31	-	0.31
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.31	-

(T:Zaman dilimleri, * = $p<0.05$ istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna (Eİ) bakıldığında ise, 3.gün eritem ortalaması ($x=0.50\pm0.53$) 7.gün eritem ortalamasından ($x=0$) yüksektir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). 7., 14. ve 21. günlerdeki tüm örneklerin eritem skorları '0' olduğu için diğer zaman dilimleri arasında eritem skoru açısından herhangi bir farklılık mevcut değildir. (Tablo-4.6.) (Grafik-4.2.)

Tablo-4.6. Test grubu (Eİ) eritem skorlarının zamana göre değişimi

T	T ₁ (3.gün)	T ₂ (7.gün)	T ₃ (14.gün)	T ₄ (21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.15	0.15	0.21
T ₂ (7.gün)	0.15	-	1.00	1.00
T ₃ (14.gün)	0.15	1.00	-	1.00
T ₄ (21.gün)	0.21	1.00	1.00	-

(T:Zaman dilimleri)

4.4.3. Deepitelize alanların çap ölçümlerinin değerlendirilmesi

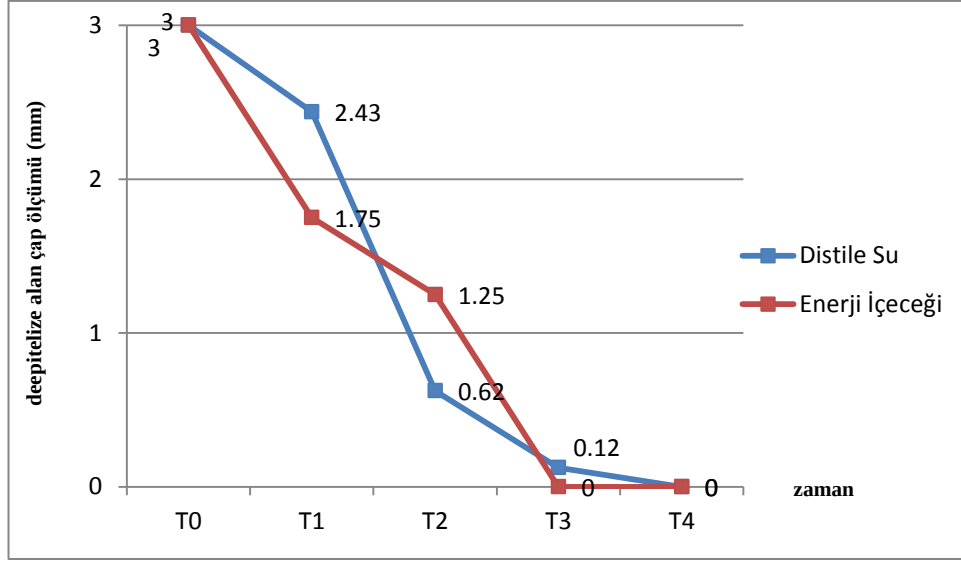
Tablo-4.7. Deepitelize alan çap ölçümlerinin gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	2.43±0.56	1.75±0.46	0.01*
T ₂ (7.gün)	0.62±0.74	1.25±0.70	0.10
T ₃ (14.gün)	0.12±0.35	0.00	0.33
T ₄ (21.gün)	0.00	0.00	-

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

*=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Deepitelize alan çap ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için, tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Test grubu 3.gün örneklerinde deepitelize alan çap ortalaması ($x=1.75\pm0.46$) kontrol grubu örneklerinin ortalamasına ($x=2.43\pm0.56$) göre düşük bulunmuştur. Grup ortalamaları arasındaki bu fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0.05$). Diğer değerlendirme periyodlarında (7., 14. ve 21.günler) iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir fark gözlenmemiştir (Tablo-4.7.). Bu sonuçlara bakıldığında test grubundaki enerji içeceği, kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında, yara iyileşmesinin erken döneminde (T₁:3.gün) deepitelize sıg yaralarda klinik olarak istatistiksel olarak anlamlı şekilde küçülmeye katkı sağladığı görülmektedir.



(T0: 0.gün, T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.3. Deepitelize alan çap ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi deepitelize alan çap ortalamalarının farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi uygulanmıştır. Her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup bu farklılığın hangi değerlendirme zamanlarından kaynaklandığını göstermek için de Tukey testi uygulanmıştır. Başlangıçta (0.gün=T₀) tüm deneklerin deepitelize edilen alanlarının çapları $x=3\text{mm}$ 'dir. Kontrol grubuna bakıldığında başlangıçta $x=3\text{mm}$ olan çap ortalaması 3.gün örneklerinde $x=2.43\pm0.56\text{ mm}$ 'e düşmüştür. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). 7.gün deepitelize alan çap ortalaması ($x=0.62\pm0.74$) aynı gruptaki 3.gün örneklerin çap ortalamasından ($x=2.43\pm0.56$) istatistiksel olarak anlamlı daha düşüktür ($p<0.05$). 7.günden 21.güne doğru yavaş bir azalma söz konusudur. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Tablo-4.8.) (Grafik-4.3.)

Tablo-4.8. Kontrol grubu (DS) deepitelize alan çap ölçümlerinin zamana göre değişimi

T	T₀(0.gün)	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₀ (0.gün)	-	0.10	0.00*	0.00*	0.00*
T ₁ (3.gün)	0.10	-	0.00*	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.00*	0.00*	-	0.18	0.06
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	0.18	-	0.98
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.06	0.98	-

(T:Zaman dilimleri, *= p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubundaki örnekler karşılaştırıldığında ise başlanıta x=3mm olan çap ortalaması 3.gün örneklerinde x=1.75 mm’e düşmüştür. Ortalamalar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Test grubunda T₁ ve T₂ zamanları arasındaki fark değerlendirildiğinde, 3.gün ortalama deepitelize alan çapı (x=1.75±0.46) 7. gün ortalama çapından (x=1.25±0.70) yüksektir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). 7.gün örneklerinin ortalama çapları (x=1.25±0.707 mm iken 14.gün örneklerinde deepitelize alan tamamen kapanmıştır ve ortalaması ‘0’dır. Bu iki farklı zaman dilimi arasındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05). 21.günde de tüm örneklerin deepitelize alanları kapanmış ve ortalaması ‘0’’dır. (Grafik-4.3.) (Tablo-4.9.)

Tablo-4.9. Test grubu (Eİ) deepitelize alan çap ölçümlerinin zamana göre değişimi

T	T₀(0.gün)	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₀ (0.gün)	-	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
T ₁ (3.gün)	0.00*	-	0.09	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.00*	0.09	-	0.00*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	0.00*	-	1.00
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.00*	1.00	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.4.4. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlarda çap ölçümlerinin değerlendirilmesi

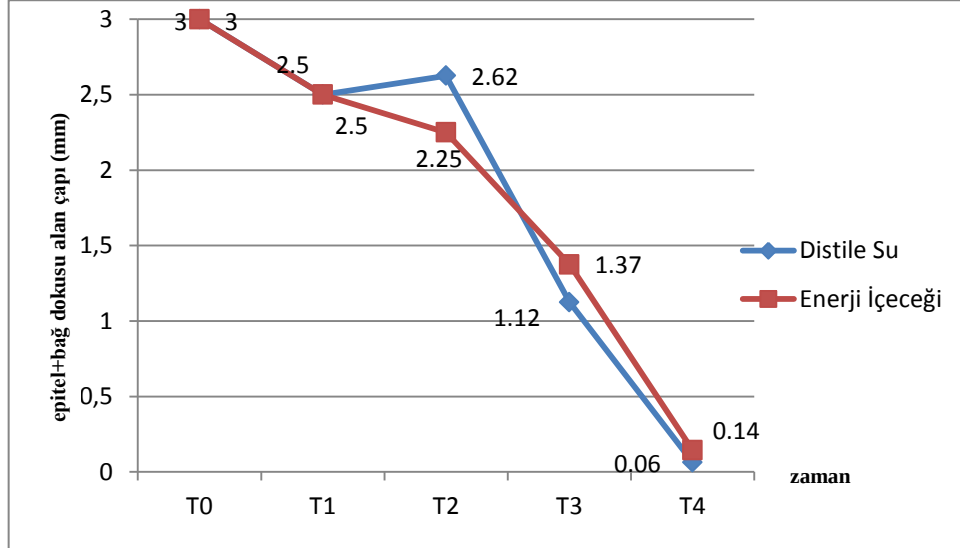
Tablo-4.10. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ölçümlerinin gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	2.50±0.70	2.50±0.37	1.00
T ₂ (7.gün)	2.62±0.51	2.25±0.46	0.15
T ₃ (14.gün)	1.12±0.87	1.37±0.95	0.59
T ₄ (21.gün)	0.06±0.17	0.14±0.37	0.59

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma)

Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için, tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Test grubundaki enerji içeceği kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında, epitel+bağ dokusu eksize edilmiş derin yaraların iyileşmesi esnasında klinik olarak

değerlendirildiğinde (tüm değerlendirme zamanlarında) iyileşmeye istatistiksel olarak anlamlı bir katkı sağlamadığı görülmektedir (Tablo-4.10.).



(T0: 0.gün, T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.4. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ortalamalarını farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup bu farklılığın hangi değerlendirme zamanlarından kaynaklandığını göstermek için de Tukey testi uygulanmıştır. Tüm örneklerin cerrahi sonrası (0.gün=T₀) epitel+bağ dokusu eksize edilen alanları çapları $x=3\text{mm}$ 'dir. Kontrol grubuna bakıldığında 0.günden 7.güne doğru kademeli bir azalış söz konusu olup bu azalma istatistiksel olarak anlamsızdır. 7. ve 14. günlerde alınan örneklerinin ortalama çapları karşılaştırıldığında, 14.gün çap ortalaması ($x=1.12\pm0.87$) 7.gün çap ortalamasından ($x=2.62\pm0.51$) daha düşüktür. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). 14. ve 21. günlerin çap ortalamaları karşılaştırıldığında ise 21.gün çap

ortalaması ($x=0.06\pm0.17$) 14.gün çap ortalamasından ($x=1.12\pm0.87$) düşüktür ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0.05$). (Tablo-4.11.) (Grafik-4.4.)

Tablo-4.11. Kontrol grubu (DS) epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların çap ölçümlerinin zamana göre değişimi

T	T₀(0.gün)	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₀ (0.gün)	-	0.40	0.67	0.00*	0.00*
T ₁ (3.gün)	0.40	-	1.00	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.67	1.00	-	0.00*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	0.00*	-	0.00*
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	-

(T:Zaman dilimleri, * = $p<0.05$ istatistiksel anlamlı fark)

Test grubu değerlendirildiğinde ise, grafik eğirişi kontrol grubuna paralel seyreder ve 0.günden 7.güne doğru azalış gösterir fakat bu azalış istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0.05$). 7. ve 14. günler karşılaştırıldığında ise, 7.günde ortalama çap değeri ($x=2.25\pm0.46$) 14.gündeki ortalama çap değerinden ($x=1.37\pm0.95$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p<0.05$). 21.günde ortalama çap miktarı ($x=0.14\pm0.37$) ise 14. gündeki ortalama çap miktarından ($x=1.37\pm0.95$) istatistiksel olarak anlamlı düşüktür ($p<0.05$). (Tablo-4.12.) (Grafik-4.4.)

**Tablo-4.12. Test grubu (Eİ) epitel+bağ dokusu eksize edilen alanların
çap ölçümlerinin zamana göre değişimi**

T	T₀(0.gün)	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₀ (0.gün)	-	0.35	0.06	0.00*	0.00*
T ₁ (3.gün)	0.35	-	0.88	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.06	0.88	-	0.02*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	0.02*	-	0.00*
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.5. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

4.5.1. Fibroblast büyüme faktörü-10 (FGF-10) ölçümlerinin değerlendirilmesi

Elde edilen serum örneklerinde FGF-10'a 'Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi' (ELISA) yöntemi ile bakılmıştır. Reaktif olarak orjinal Elabscience (Elabscience Biotechnology Co. Ltd; WuHan; P.R.C.) kitleri üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanılmıştır. Bulunan tüm değerlerin birimi pikogram/mililitredir (pg/mL).

Tablo-4.13. Fibroblast growth faktör (FGF-10) ölçümlerinin gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

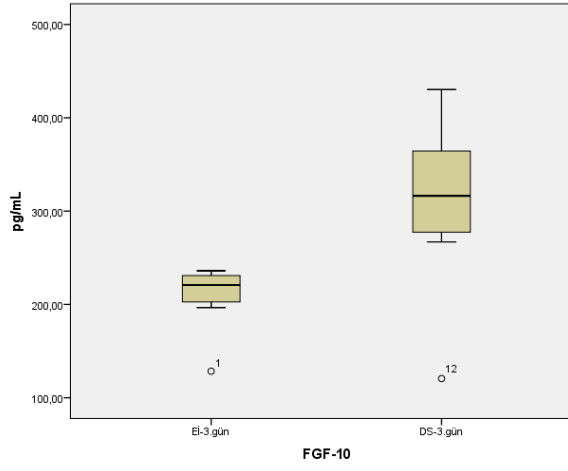
T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	308.39±92.67	209.18±35.25	0.01*
T ₂ (7.gün)	605.75±227.38	645.25±319.16	0.78
T ₃ (14.gün)	586.59±184.92	424.23±185.61	0.10
T ₄ (21.gün)	512.42±117.14	536.06±277.13	0.82

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

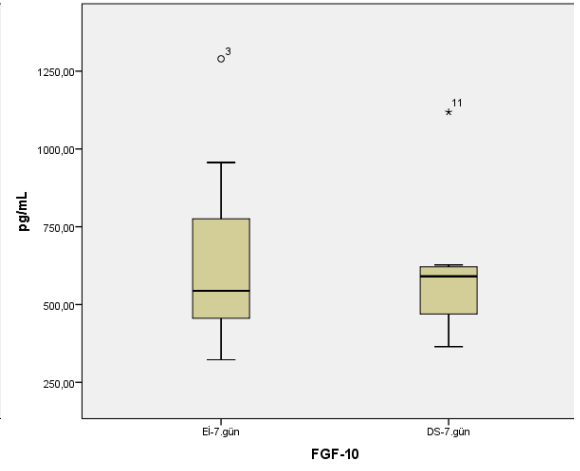
*=p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark)

FGF-10 ölçüm ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. 3.gün ölçümleri değerlendirildiğinde kontrol grubunun FGF-10 ortalaması (x=308.39±92.67) test grubunun ortalamasından (x=209.18±35.25) istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.01<0.05). Diğer zaman periyodlarına bakıldığında ise iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (Tablo-4.13.) (Grafik-4.5.)

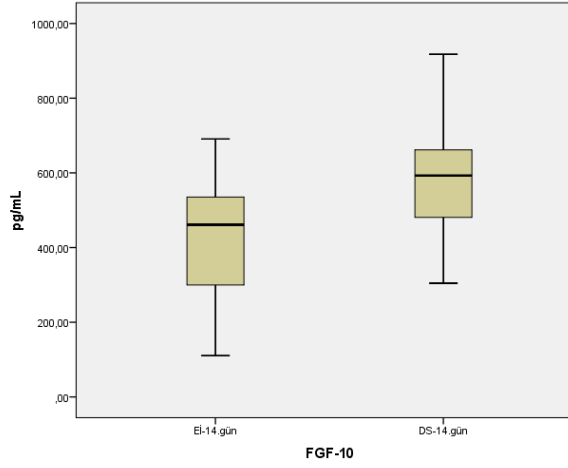
(T₁)



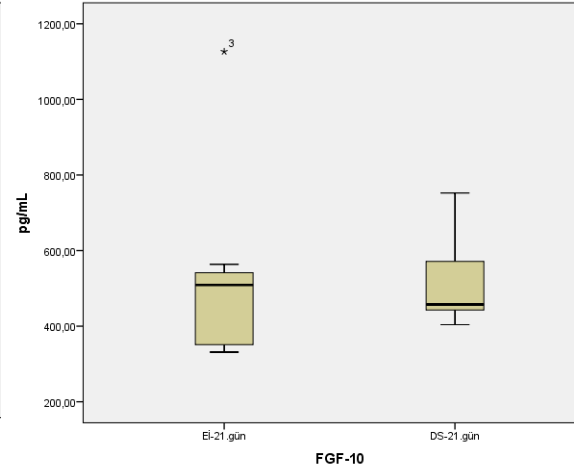
(T₂)



(T₃)

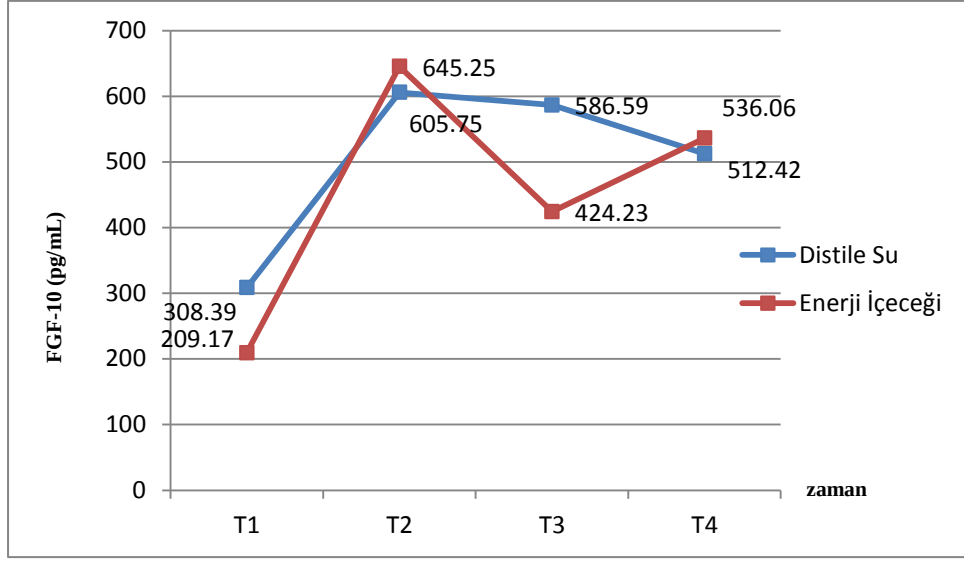


(T₄)



(T₁:3.gün, T₂:7.gün, T₃:14.gün, T₄:21.gün)

Grafik-4.5. FGF-10 ölçümlerinin tüm değerlendirme periyodlarında grup içi ve gruplar arası dağılımları



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.6. FGF-10 ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi FGF-10 değerlerinin farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup bu farklılığın hangi değerlendirme zamanlarından kaynaklandığını göstermek için de Tukey testi uygulanmıştır. Kontrol grubu değerlerine bakıldığında FGF-10 miktarı 7.gün ölçümünde ($x=605.75 \pm 227.38$) pik yapmakta ve bu değer 3.gün ölçüm ortalamasından ($x=308.39 \pm 92.67$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p < 0.05$). 7.günden 21.güne doğru hafif bir düşüş yaşanmakta ancak bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p > 0.05$). (Tablo-4.14.) (Grafik-4.6.)

Tablo-4.14. Kontrol grubu (DS) FGF-10 değerlerinin zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₀ (3.gün)	-	0.02*	0.99	0.04*
T ₁ (7.gün)	0.02*	-	0.99	0.24
T ₂ (14.gün)	0.99	0.99	-	0.95
T ₃ (21.gün)	0.04*	0.24	0.95	-

(T:Zaman dilimleri, *=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubu değerlendirildiğinde ise 7.gün FGF-10 ortalamasında ($x=645.25 \pm 319.16$) kontrol grubunda olduğu gibi bir pik görünmekte ve bu değer 3.gün FGF-10 ortalamasından ($x=209.17 \pm 35.25$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p<0.05$). 7., 14. ve 21. günler arasında FGF-10 değerlerinde dalgalanmalar mevcut olup bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). (Tablo-4.15.) (Grafik-4.6.)

Tablo-4.15. Test grubu (Eİ) FGF-10 değerlerinin zamana göre değişimi

T	T₀(3.gün)	T₁(7.gün)	T₂(14.gün)	T₃(21.gün)
T ₀ (3.gün)	-	0.00*	0.26	0.04*
T ₁ (7.gün)	0.00*	-	0.24	0.80
T ₂ (14.gün)	0.26	0.24	-	0.78
T ₃ (21.gün)	0.04*	0.80	0.78	-

(T:Zaman dilimleri, *=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.5.2. Katalaz (CAT) ölçümlerinin değerlendirilmesi

Antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için, elde edilen serum örneklerinde CAT'a 'Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi' (ELISA) yöntemi ile bakılmıştır. Reaktif olarak orjinal Elabscience (Elabscience Biotechnology Co. Ltd; WuHan; P.R.C.) kitleri üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanılmıştır. Bulunan tüm değerlerin birimi pikogram/mililitredir (pg/mL).

Tablo-4.16. Katalaz (CAT) ölçümlerinin gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

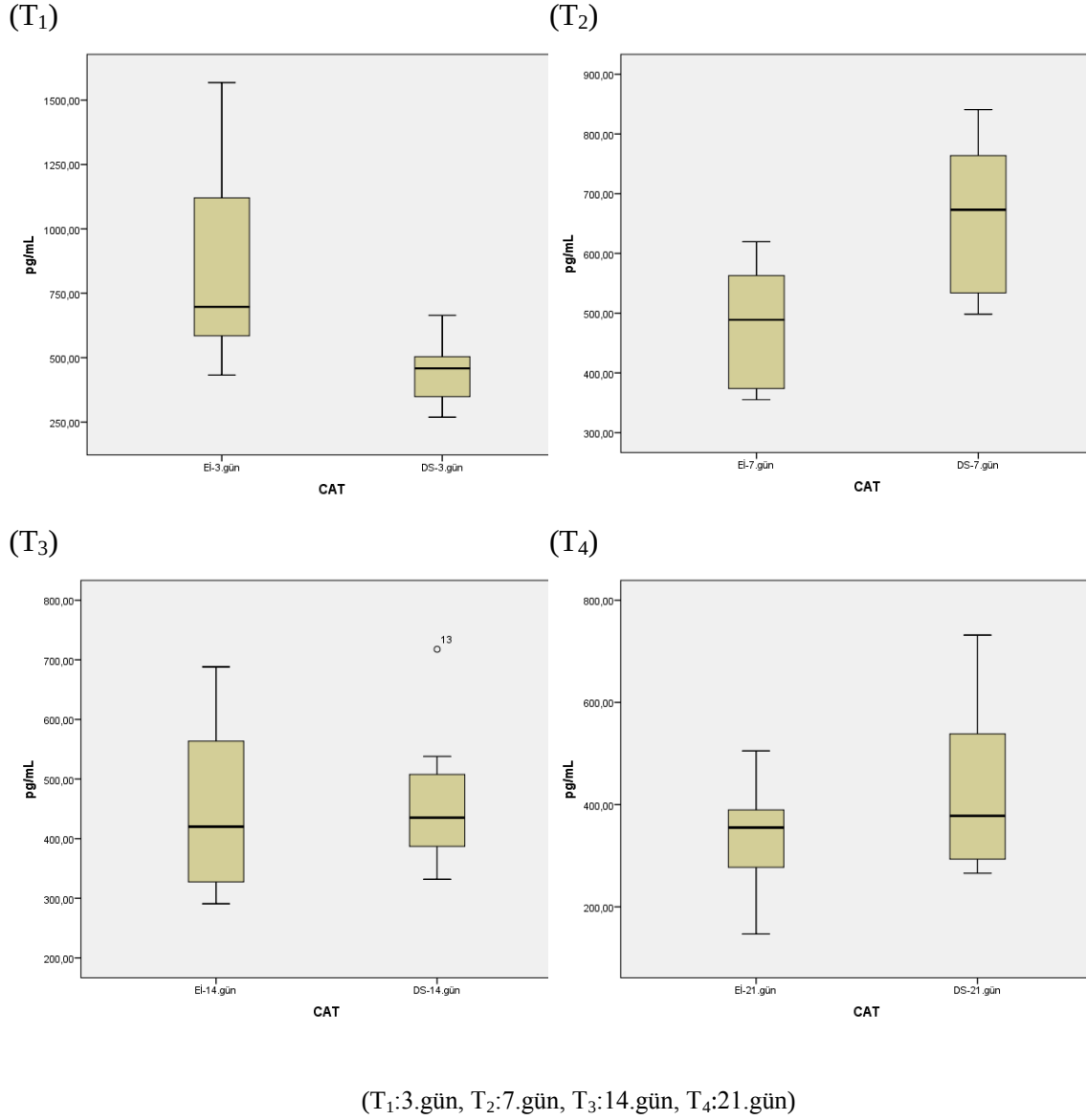
T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	444.40±126.66	850.71±424.74	0.02*
T ₂ (7.gün)	660.11±127.46	478.26±101.82	0.00*
T ₃ (14.gün)	463.68±120.29	450.22±143.88	0.84
T ₄ (21.gün)	427.12±177.37	334.38±115.95	0.26

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

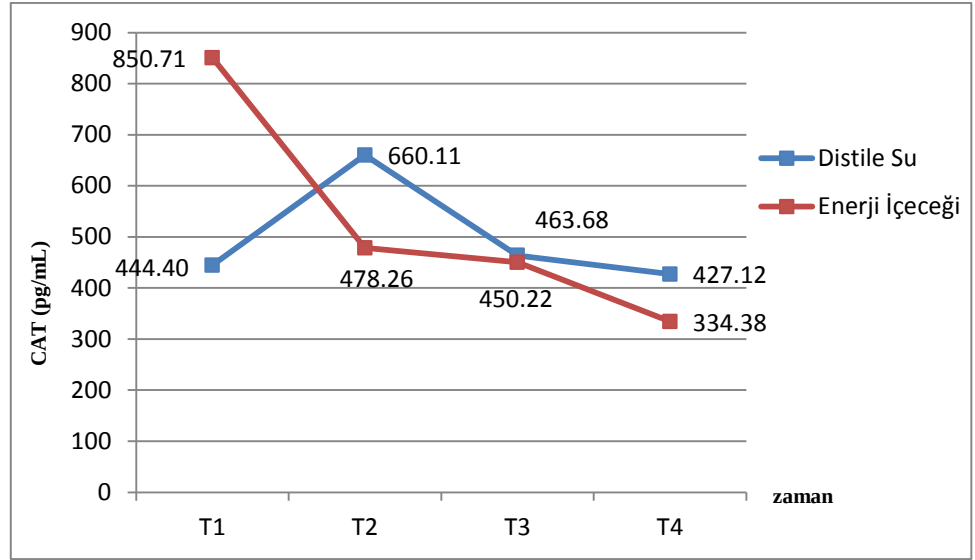
*=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

CAT ölçüm ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. 3.gün CAT ölçümlerinin ortalamaları değerlendirildiğinde, test grubunun ortalaması (x=850.71±424.74) kontrol grubunun ortalamasından (x=444.40±126.66) istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.05). 7.gün CAT ortalamaları değerlendirildiğinde ise, kontrol grubunun ortalaması (x=660.11±127.46) test grubunun ortalamasından (x=478.26±101.82) yüksek bulunmuştur. 7.gün test ve kontrol grubu ortalamaları arasındaki bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0.05). 14. ve 21. gün CAT ortalamalarına bakıldığında, test ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. (Tablo-4.16.) (Grafik-4.7.)

Gruplar arası CAT miktarları değerlendirildiğinde, enerji içeceği yara iyileşmesinin erken döneminde (T₁=3.gün) oksidatif stresi azaltmak için antioksidan kapasiteyi istatistiksel olarak anlamlı arttırdığı görülmektedir.



Grafik-4.7. CAT ölçümlerinin tüm değerlendirme periyotlarında grup içi ve gruplar arası dağılımları



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.8. CAT ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi CAT değerlerinin farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup bu farklılığın hangi değerlendirme zamanlarından kaynaklandığını göstermek için de Tukey testi uygulanmıştır. Kontrol grubunun CAT ortalamaları değerlendirildiğinde, 7.gün ortalamasında ($x=660.11 \pm 127.46$) bir pik yaptığı ve bu değer 3.gün CAT ortalamasından ($x=444.40 \pm 126.66$) istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). 14.günde ise ($x=463.68 \pm 120.29$) 7.gün ortalamasına göre ($x=660.11 \pm 127.46$) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttur ($p < 0.05$). 21.gün ile 14.gün ortalamaları ise birbirine benzerdir. (Grafik-4.8.) (Tablo-4.17.)

Tablo-4.17. Kontrol grubu (DS) CAT değerlerinin zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.02*	0.99	0.99
T ₂ (7.gün)	0.02*	-	0.04*	0.01*
T ₃ (14.gün)	0.99	0.04*	-	0.95
T ₄ (21.gün)	0.99	0.01*	0.95	-

(T:Zaman dilimleri, *=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna baktığımızda ise, CAT'ın 3.günde ($x=850.71\pm424.74$) pik yaptığı ve diğer tüm zaman dilimlerine göre (7., 14. ve 21.günler) istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Diğer zaman dilimlerinde ise ortalamalar birbirine yakın olup istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık mevcut değildir ($p>0.05$). (Grafik-4.8.) (Tablo-4.18.)

Tablo-4.18. Test grubu (Eİ) CAT değerlerinin zamana göre değişimi

T	3.gün	7.gün	14.gün	21.gün
3.gün	-	0.02*	0.01*	0.00*
7.gün	0.02*	-	0.99	0.65
14.gün	0.01*	0.99	-	0.79
21.gün	0.00*	0.65	0.79	-

(T:Zaman dilimleri, *=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.5.3. Malondialdehit (MDA) ölçümlerinin değerlendirilmesi

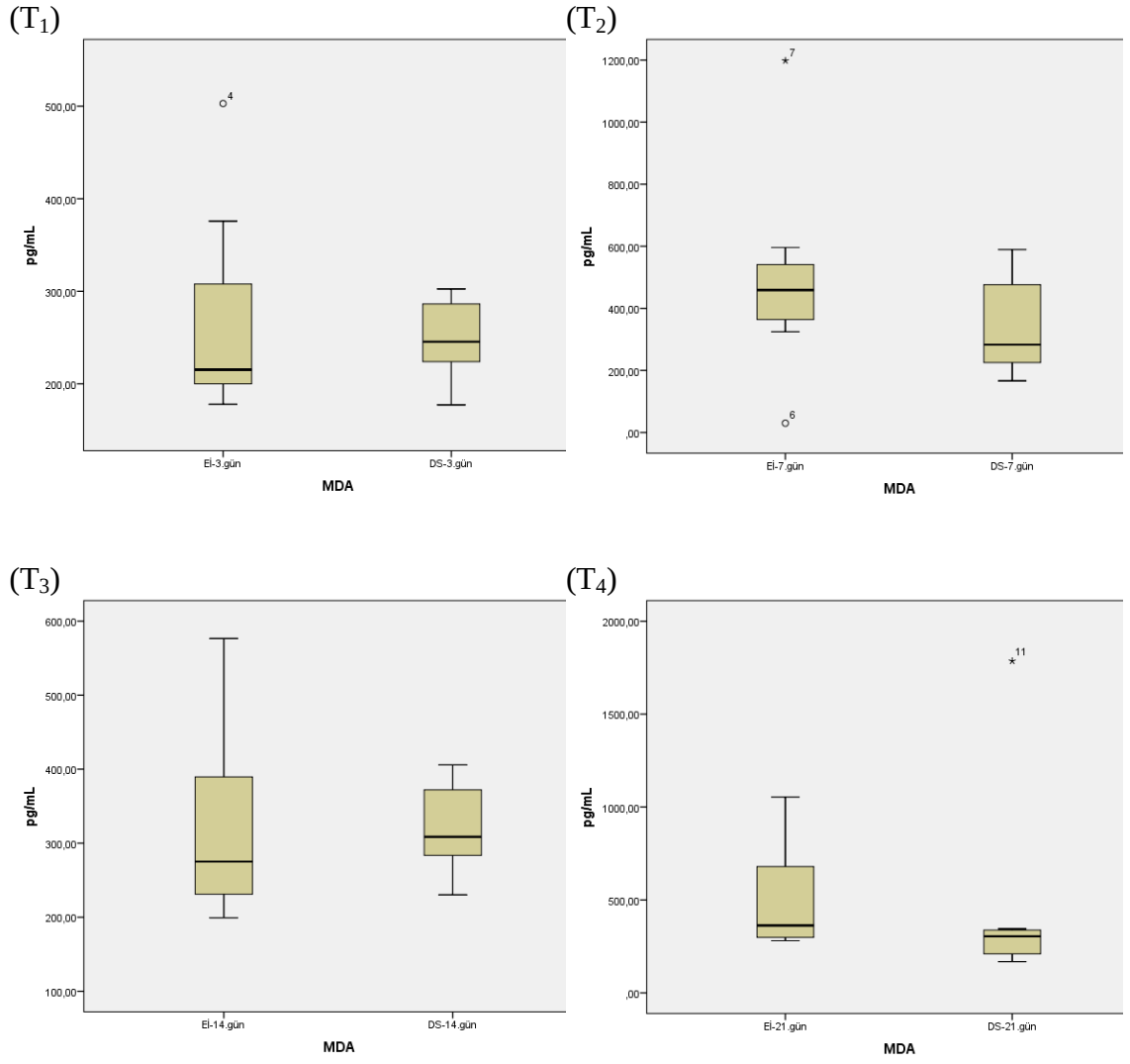
MDA, oksidatif stresin spesifik bir göstergesi olarak kabul edildiğinden dolayı, elde edilen serum örneklerinde MDA'ya 'Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi' (ELISA) yöntemi ile bakılmıştır. Reaktif olarak orjinal Elabscience (Elabscience Biotechnology Co. Ltd; WuHan; P.R.C.) kitleri üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kullanılmıştır. Bulunan tüm değerlerin birimi pikogram/mililitredir (pg/mL).

Tablo-4.19. Malondialdehit (MDA) ölçümlerinin gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	248.90±41.77	265.87±113.88	0.70
T ₂ (7.gün)	340.52±160.74	494.45±329.74	0.25
T ₃ (14.gün)	320.57±58.96	320.94±127.58	0.99
T ₄ (21.gün)	457.39±540.85	521.79±326.44	0.79

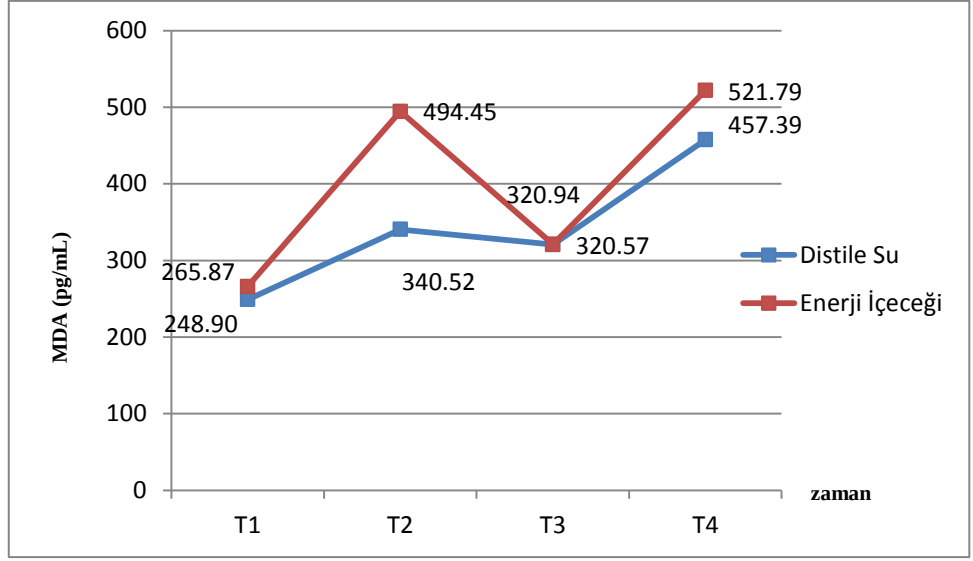
(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma)

MDA ölçüm ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Herhangi bir zaman diliminde (3., 7., 14. ve 21.gün) test ve kontrol grubu arasında MDA miktarı açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir. (Tablo-4.19.) (Grafik-4.9.)



(T₁:3.gün, T₂:7.gün, T₃:14.gün, T₄:21.gün)

Grafik-4.9. MDA ölçümlerinin tüm değerlendirme periyodlarında grup içi ve gruplar arası dağılımları



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.10. MDA ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi MDA değerlerinin farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Daha sonra her iki grubunda kendi içinde tüm değerlendirme zamanlarını birbiriyle kıyaslamak için Tukey testi uygulanmıştır. Kontrol grubuna bakıldığında 3., 7. ve 14.günlerde birbirine benzer değerler gözlenmekte olup bu üç zaman dilimi arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık mevcut değildir ($p>0.05$). 21.günde ise grup içi en yüksek MDA değeri gözlenmesine karşın diğer zaman dilimleri (3., 7. ve 14.gün) ortalamaları ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gösterilememiştir. (Grafik-4.10.) (Tablo-4.20.)

Tablo-4.20. Kontrol grubu (DS) MDA değerlerinin zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.91	0.96	0.47
T ₂ (7.gün)	0.91	-	1.00	0.84
T ₃ (14.gün)	0.96	1.00	-	0.77
T ₄ (21.gün)	0.47	0.84	0.77	-

(T:Zaman dilimleri)

Test grubu MDA ortalamalarına bakıldığında ise 3.günden 7.güne bir yükseliş, 7.günden 14.güne tekrar bir düşüş ve 21.günde tekrardan yükseliş görülmektedir. Ancak tüm zaman dilimleri birbirleriyle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). (Grafik-4.10.) (Tablo-4.21.)

Tablo-4.21. Test grubu (Eİ) MDA değerlerinin zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.62	0.97	0.20
T ₂ (7.gün)	0.62	-	0.50	1.00
T ₃ (14.gün)	0.97	0.50	-	0.40
T ₄ (21.gün)	0.20	1.00	0.40	-

(T:Zaman dilimleri)

4.6. Histomorfometrik Parametrelerin Değerlendirilmesi

4.6.1. Reepitelizasyonun değerlendirilmesi

Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde ışık mikroskopu altında (Nikon ECLIPSE 80i/USA) reepitelizasyon incelenip skorlanmıştır (0=Yok, 1=Hafif, 2=Parsiyel olarak stratum korneum, 3=Hipertrofik, 4=Tamamlanmış ve normal) (143).

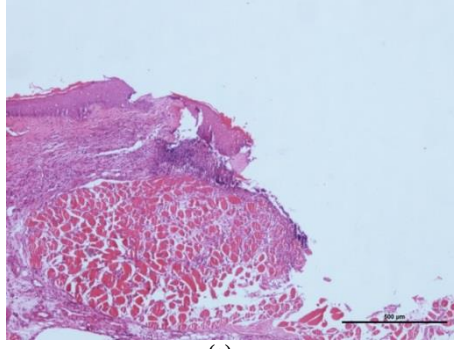
Tablo-4.22. Reepitelizasyonun gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	0.000	0.000	-
T ₂ (7.gün)	0.12±0.35	1.37±1.18	0.01*
T ₃ (14.gün)	3.87±0.35	4.00±0.00	0.33
T ₄ (21.gün)	3.75±0.46	3.85±0.37	0.63

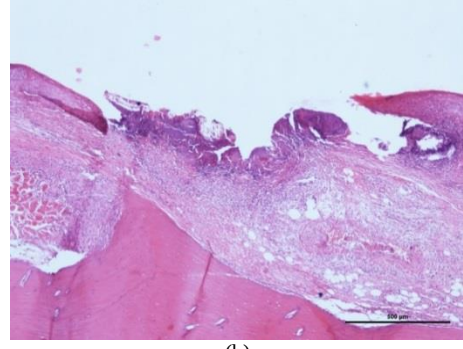
(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

*=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

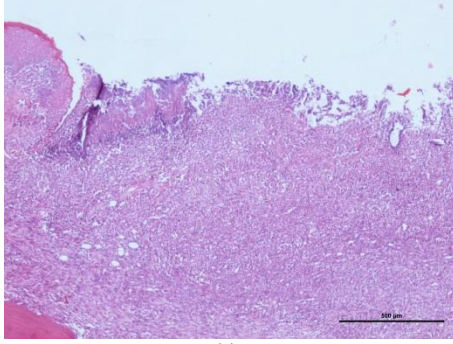
Reepitelizasyon skor ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. 3.günde her 2 grupta da reepitelizasyon histolojik olarak gözlenmemiştir. 7.gün reepitelizasyon skorları değerlendirildiğinde, test grubunun ortalaması ($x=1.37\pm1.18$) kontrol grubunun ortalamasından ($x=0.12\pm0.35$) istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). 14. ve 21.gün reepitelizasyon skor ortalamalarına bakıldığında test ve kontrol grubunun ortalamaları birbirine benzerdir ve istatistiksel açıdan herhangi bir fark mevcut değildir ($p>0.05$). Test grubundaki enerji içeceği kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında yara iyileşmesinin erken döneminde ($T_2=7.gün$) histolojik olarak reepitelizasyonun artışına istatistiksel olarak anlamlı katkıda bulunduğu görülmektedir. (Tablo-4.22.) (Fotoğraf-4.3.)



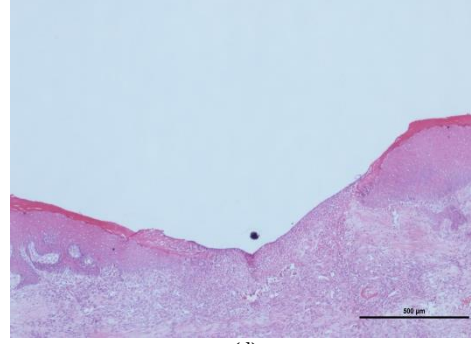
(a)



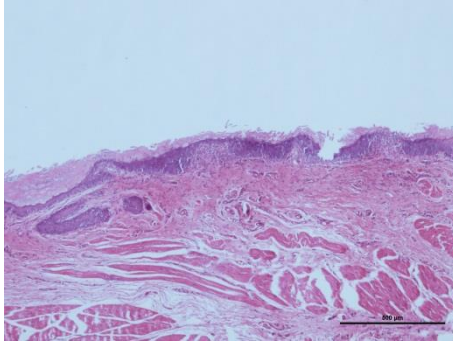
(b)



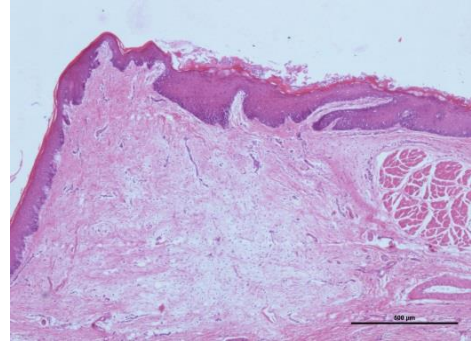
(c)



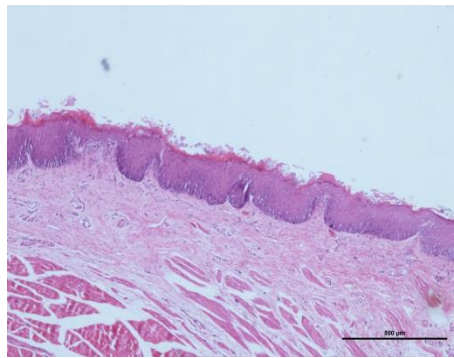
(d)



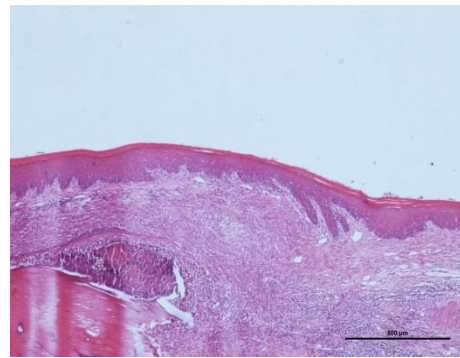
(e)



(f)



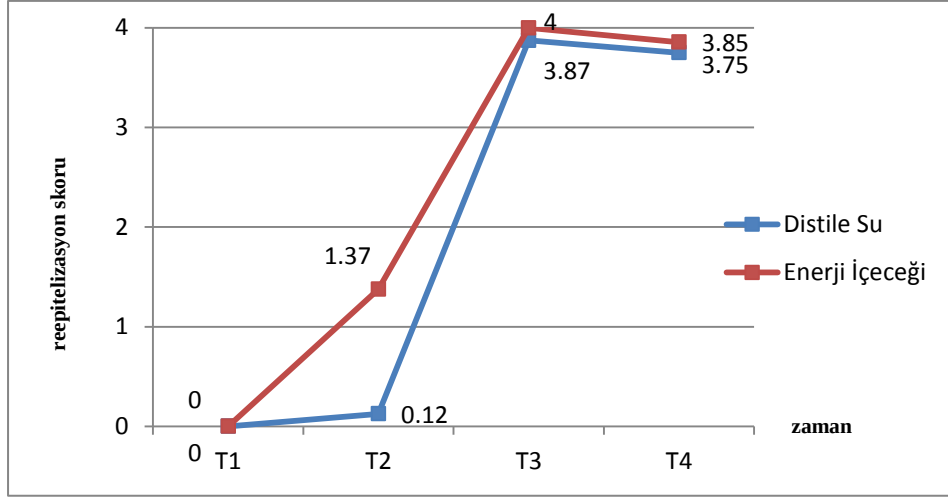
(g)



(h)

(a:DS-3. b:EI-3. c:DS-7, d:EI-7, e:DS-14, f:EI-14, g:DS-21. h:EI-21)

Fotoğraf-4.3. Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde hematoxilen eozin boyaması ile genel görünüm 4X büyütme



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.11. Reepitelizasyon ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi reepitelizasyon ortalamalarını dört farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Testin sonucunda hem test hem de kontrol grubunda grup içi farklı değerlendirme periyotlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu farklılıkların hangi değerlendirme periyotları arasında olduğunu değerlendirmek için ikili grupların karşılaştırılmasında kullanılan Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kontrol grubuna bakıldığında 3.günde reepitelizasyon gözlenmez iken 7.günde ($x = 0.12 \pm 0.35$) bu değer hafif yükselmiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). 14.gün ortalamasına ($x = 3.87 \pm 0.35$) bakıldığında ise 7.gün ortalamasına ($x = 0.12 \pm 0.35$) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). 21. gün ile 14.gün ortalamaları birbirine benzer olup iki zaman dilimi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (Grafik-4.11.) (Tablo-4.23.)

Tablo-4.23. Kontrol grubu (DS) reepitelizasyon skorlarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.37	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.37	-	0.00*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	-	0.53
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.53	-

(T:Zaman dilimleri, *=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna bakıldığında ise, 3.gün örneklerinde reepitelizasyon gözlenmemiştir. 7.gün örneklerinde reepitelizasyon ortalaması ($x=1.37\pm1.18$) 3.güne göre artış göstermekte ancak bu artış istatistiksel açıdan anlamlı değildir. 14.gün örneklerinin ortalaması ise ($x=4.00\pm00$) 7.gün örneklerinin ortalamasından ($x=1.37\pm1.18$) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p<0.05$). 14.gün ortalaması ile 21.gün ortalaması birbirine benzer olup 2 zaman dilimi arasında istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). (Grafik-4.11.) (Tablo-4.24.)

Tablo-4.24. Test grubu (Eİ) reepitelizasyon skorlarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.06	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.06	-	0.00*	0.02*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	-	0.28
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.02*	0.28	-

(T:Zaman dilimleri, *=p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.6.2. Granülasyon dokusu matürasyonunun değerlendirilmesi

Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde ışık mikroskopu (Nikon ECLIPSE 80i/USA) altında granülasyon dokusu matürasyonu incelenmiş ve skorlanmıştır (0=Yok, 1=Hiposellüler, az damar yapısı, 2=Çok sayıda damar, az hücre, 3=Çok sayıda fibroblast, biraz fibril, 4=Çok sayıda fibril, az hücre) (143).

Tablo-4.25. Granülasyon dokusu matürasyonunun gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	2.87±0.35	3.75±0.46	0.00*
T ₂ (7.gün)	3.12±0.35	3.37±0.51	0.26
T ₃ (14.gün)	3.62±0.51	3.75±0.46	0.60
T ₄ (21.gün)	3.62±0.51	3.85±0.37	0.33

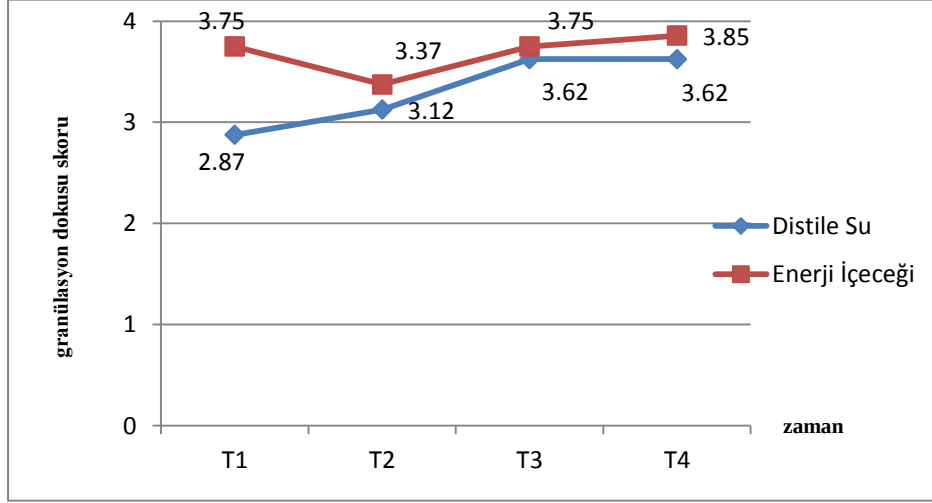
(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

*= $p<0.05$ istatistiksel anlamlı fark)

Granülasyon dokusu matürasyonu ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. 3.gün skor ortalamalarına bakıldığında, test grubunun ortalaması ($x=3.75\pm0.46$) kontrol grubunun ortalamasından ($x=2.87\pm0.35$) istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer zaman dilimlerine bakıldığında ise test ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (Tablo-4.25.)

Test grubundaki enerji içeceği kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında granülasyon dokusu matürasyonu açısından karşılaştırıldığında

sadece yara iyileşmesinin erken döneminde (T₁=3.gün) istatistiksel açıdan anlamlı üstün bulunmuştur.



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.12. Granülasyon dokusu oluşum ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi granülasyon dokusu oluşum ortalamalarını dört farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Daha sonra grup içi ikili karşılaştırmalar için Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kontrol grubuna bakıldığında, 3.günden ($x=2.87\pm0.35$) 14.güne ($x=3.62\pm0.51$) doğru bir artış mevcuttur. Bu artış 3.gün ile 7.gün arasında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 3.günden 14.güne artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). 14. ve 21.gün ortalamaları ise birbirine eşittir. (Grafik-4.12.) (Tablo-4.26.)

Tablo-4.26. Kontrol grubu (DS) granülasyon dokusu matürasyonu skorlarının zamana göre değişimi

T	T ₁ (3.gün)	T ₂ (7.gün)	T ₃ (14.gün)	T ₄ (21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.17	0.04*	0.04*
T ₂ (7.gün)	0.17	-	0.28	0.28
T ₃ (14.gün)	0.04*	0.28	-	1.00
T ₄ (21.gün)	0.04*	0.28	1.00	-

(T:Zaman dilimleri, *= p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna bakıldığında ise, tüm değerlendirme periyodlarında birbirine benzer değerler mevcut olup hiçbir zaman dilimi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (Grafik-4.12.) (Tablo-4.27.)

Tablo-4.27. Test grubu (Eİ) granülasyon dokusu oluşum skorlarının zamana göre değişimi

T	T ₁ (3.gün)	T ₂ (7.gün)	T ₃ (14.gün)	T ₄ (21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.14	1.00	0.68
T ₂ (7.gün)	0.14	-	0.14	0.07
T ₃ (14.gün)	1.00	0.14	-	0.62
T ₄ (21.gün)	0.68	0.07	0.62	-

(T:Zaman dilimleri)

4.6.3. Kollajen oluşumunun değerlendirilmesi

Epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde ışık mikroskopu altında (Nikon ECLIPSE 80i/USA) kollajen oluşumu incelenmiş ve skorlanmıştır (0=Yok, 1=İz, 2=Hafif, 3=Orta, 4=Belirgin) (143).

Tablo-4.28. Kollajen oluşumunun gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

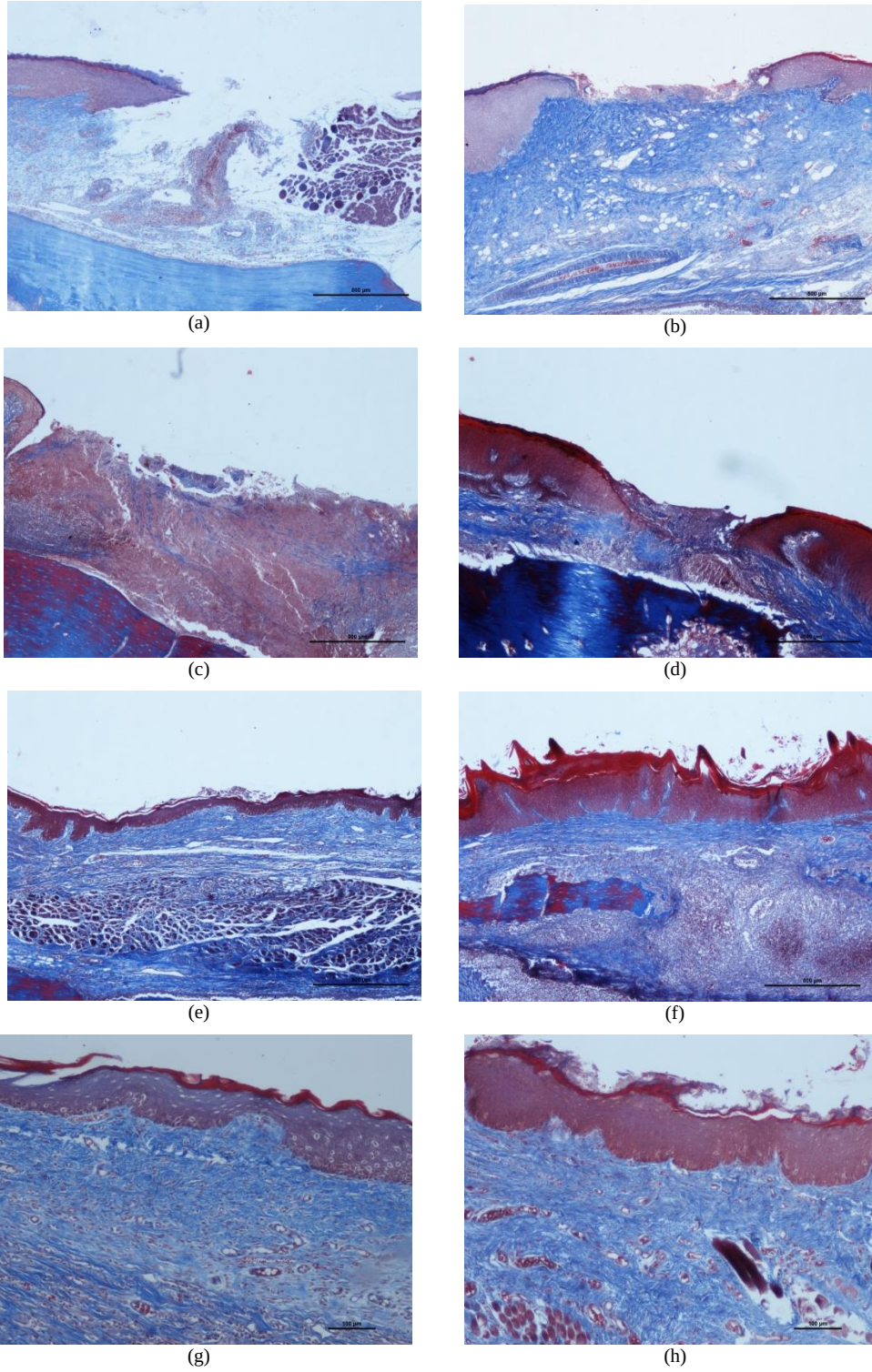
T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	1.75±0.46	3.25±0.70	0.00*
T ₂ (7.gün)	2.25±0.70	3.25±0.70	0.05
T ₃ (14.gün)	3.50±0.53	4.00±0.00	0.15
T ₄ (21.gün)	3.75±0.46	3.85±0.37	0.62

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

* = p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark)

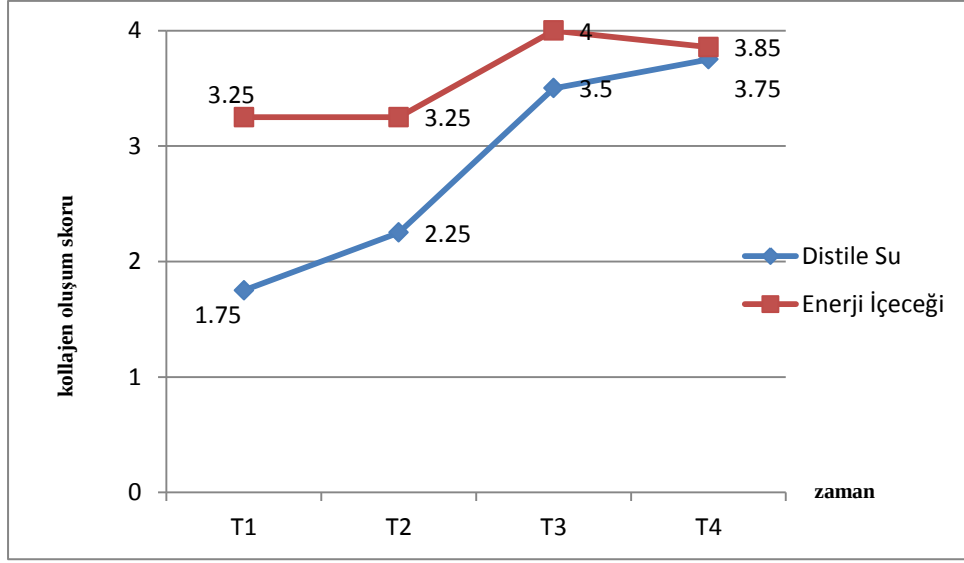
Kollajen oluşum ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. Kollajen oluşumunun 3.gün ortalamalarına bakıldığında test grubunun ortalaması (x=3.25±0.70) kontrol grubunun ortalamasından (x=1.75±0.46) istatistiksel açıdan anlamlı yüksektir (p<0.05). 7.gün ortalamalarına bakıldığında ise, test grubunun ortalaması (x=3.25±0.70) kontrol grubunun ortalamasından (x=2.25±0.70), yüksek bulunmuştur. Ancak p değeri 0.051'e eşit olduğu için bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. 14. ve 21.gün değerleri birbirine benzer olup istatistiksel açıdan anlamlı bir fark mevcut değildir (p>0.05). (Tablo-4.28.) (Fotoğraf-4.4.)

Test grubundaki enerji içeceği kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında, erken yara iyileşmesi (3.gün) döneminde kollajen oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı üstün bulunmuştur.



(a:DS-3. b:EI-3. c:DS-7, d:EI-7, e:DS-14, f:EI-14, g:DS-21. h:EI-21)

**Fotoğraf-4.4. Masson trikrom boyaması ile epitel ve bağ dokusu görünümü–
a, b, c, d, e, f = 4X büyütme, g ve h=10X büyütme**



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.13. Kollajen oluşumu ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi kollajen oluşum ortalamalarını dört farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Daha sonra grup içi ikili karşılaştırmalar için Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kontrol grubuna bakıldığında, 3.günden 21.güne doğru bir artış söz konusudur. 3.günden ($x=1.75\pm0.46$) 7.güne (2.25 ± 0.70) artış istatistiksel olarak anlamlı değilken, 7.günden 14.güne ($x=3.50\pm0.53$) artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). 14.günden 21.güne ($x=3.75\pm0.46$) hafif bir artış söz konusu olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Grafik-4.13.) (Tablo-4.29.)

Tablo-4.29. Kontrol grubu (DS) kollajen oluşumu skorlarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.11	0.00*	0.04*
T ₂ (7.gün)	0.11	-	0.02*	0.13
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.02*	-	0.81
T ₄ (21.gün)	0.04*	0.13	0.81	-

(T:Zaman dilimleri, *= p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna bakıldığında, 3.gün ile 7.gün ortalamalarının aynı olduğu, 14.günde yükseliş gösterdiği 21.günde de 14.güne benzer sonuçlar olduğu görülmektedir. Hiçbir zaman dilimi arasında kollajen oluşum skorları açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (Grafik-4.10.) (Tablo-4.30.)

Tablo-4.30. Test grubu (Eİ) kollajen oluşumu skorlarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	1.00	0.06	0.06
T ₂ (7.gün)	1.00	-	0.06	0.06
T ₃ (14.gün)	0.06	0.06	-	0.28
T ₄ (21.gün)	0.06	0.06	0.28	-

(T:Zaman dilimleri)

4.7. İmmunohistokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

4.7.1. Fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) / temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ölçümlerinin değerlendirilmesi

FGF-2/bFGF yara iyileşmesinin anjiogenezis, granülasyon dokusunun oluşumu, reepitelizasyon ve dokunun yeniden şekillenmesi aşamalarında önemli role sahip olmasından dolayı epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde FGF-2 tespiti için Anti-FGF-2/basic FGF, clone bFM-2 (Millipore/USA, cat#05-118) kullanılmıştır. Işık mikroskopu altında (Nikon ECLİPSE 80i/USA) 40X büyütme ile 10 alandaki yeni anjiyogenezis göstergeleri sayılmış ve veriler adet cinsindendir.

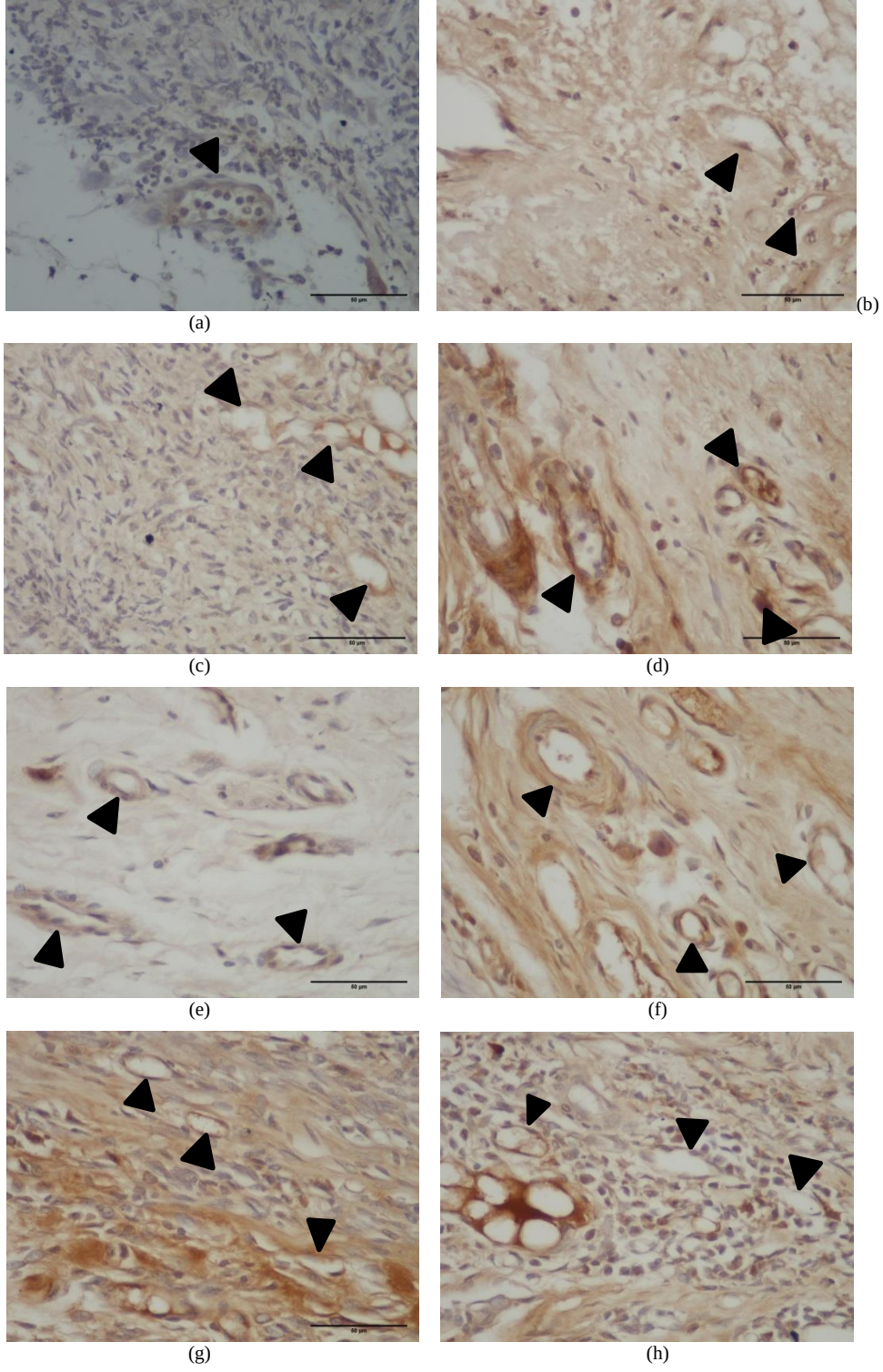
Tablo-4.31. FGF-2 ölçümünün gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	12.25±1.67	20.25±6.49	0.01*
T ₂ (7.gün)	38.75±4.68	62.37±14.32	0.00*
T ₃ (14.gün)	76.87±16.94	137,37±23.52	0.00*
T ₄ (21.gün)	42.00±10.07	65,14±17.37	0.01*

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

* = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

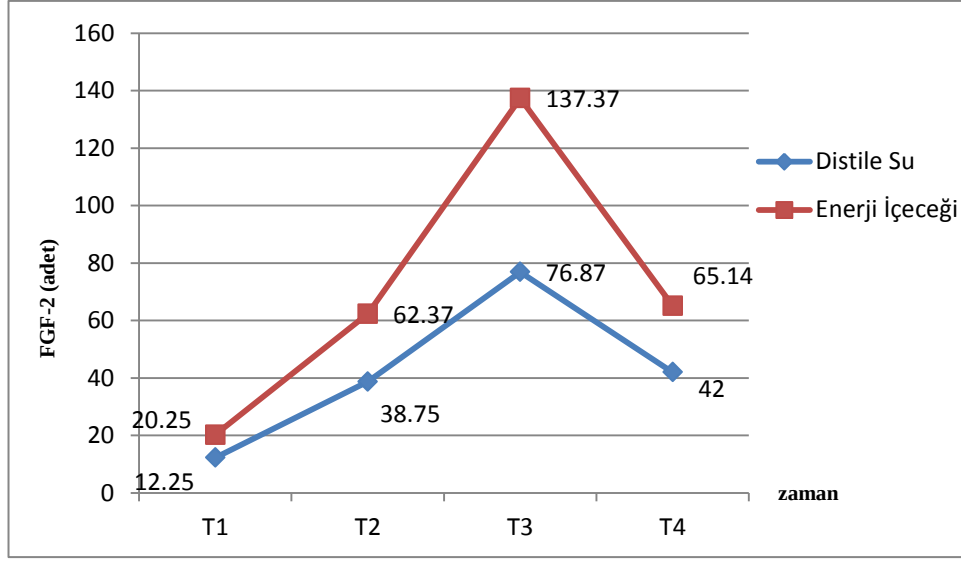
FGF-2 ölçüm ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Test grubundaki enerji içeceği kontrol grubundaki distile su ile karşılaştırıldığında FGF-2 miktarı açısından tüm değerlendirme zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı üstün bulunmuştur. (Tablo-4.31.) (Fotoğraf-4.5.)



(a:DS-3. b:Eİ-3. c:DS-7, d:Eİ-7, e:DS-14, f:Eİ-14, g:DS-21. h:Eİ-21)

(► yeni anjiyogenezis oluşumları)

Fotoğraf-4.5. FGF-2 Boyaması 40X büyütme



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.14. FGF-2 ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi FGF-2 değerlerinin farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Daha sonra her iki grubun da kendi içinde tüm değerlendirme zamanlarını birbiriyle kıyaslamak için Tukey testi uygulanmıştır. Kontrol grubunda FGF-2 ortalamalarına bakıldığında, 3.günden ($x=12.25 \pm 1.67$) 7.güne ($x=38.75 \pm 4.68$), 7.günden 14.güne ($x=76.87 \pm 16.94$) istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş mevcuttur ($p < 0.05$). 14.günde ($x=76.87 \pm 16.94$) pik yapan FGF-2 değeri 21.günde ($x=42.00 \pm 10.07$) düşüş yapmıştır. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). (Grafik-4.14.) (Tablo-4.32.)

Tablo-4.32. Kontrol grubu (DS) FGF-2 miktarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.00*	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.00*	-	0.00*	0.92
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	-	0.00*
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.92	0.00*	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna bakıldığında ise, kontrol grubuna benzer bir eğri görülmektedir. (Grafik-4.14.) FGF-2 ortalamaları, 3.günden ($x=20.25\pm6.49$) 7.güne ($x=62.37\pm14.32$), 7.günden 14.güne ($x=137.37\pm23.52$) istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş göstermektedir ($p<0.05$). 14.günde ($x=137.37\pm23.52$) pik yapan FGF-2 değeri 21.günde ($x=65.14\pm17.37$) 7.güne benzer değerlere düşmüştür. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). (Tablo-4.33.)

Tablo-4.33. Test grubu (Eİ) FGF-2 miktarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.00*	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.00*	-	0.00*	0.99
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	-	0.00*
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.99	0.00*	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.7.2. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ölçümlerinin değerlendirilmesi

VEGF'in anjiyonegeniz göstergesi olmasından dolayı epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde VEGF tespiti için Anti-VEGF (Millipore/USA, cat#ABS82) kullanılmıştır. Işık mikroskopu altında (Nikon ECLİPSE 80i/USA) 40X büyütme ile 10 alanda yeni oluşan damarlar sayılmıştır ve veriler adet cinsindendir.

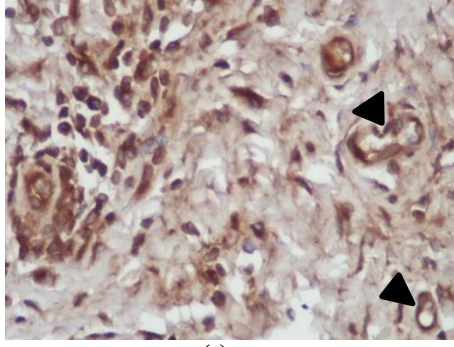
Tablo-4.34. VEGF ölçümünün gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	p
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	70.00±8.55	74.25±9.63	0.37
T ₂ (7.gün)	166.62±48.30	94.25±20.51	0.00*
T ₃ (14.gün)	119.75±16.54	145.87±27.60	0.04*
T ₄ (21.gün)	91.75±19.54	134.71±28.08	0.00*

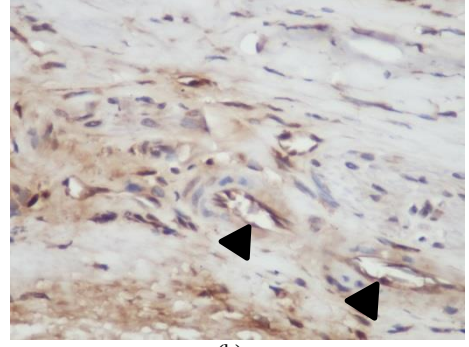
(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

*= p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark)

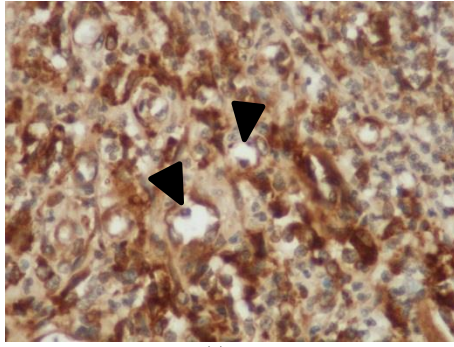
VEGF ölçüm ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. 3.gün VEGF ortalamalarına bakıldığında, test ve kontrol grubunu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). 7.gün VEGF ortalamalarına bakıldığında ise kontrol grubunun ortalaması (x=166.62±48.30) test grubunun ortalamasından (x=94.25±20.51) istatistiksel olarak anlamlı yüksektir (p<0.05). 14. ve 21.günlere bakıldığında ise 7.gün ile zıt olarak test grubunun VEGF ortalamaları kontrol grubunun VEGF ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı yüksektir (p<0.05). (Tablo-4.34.) (Fotoğraf-4.6.)



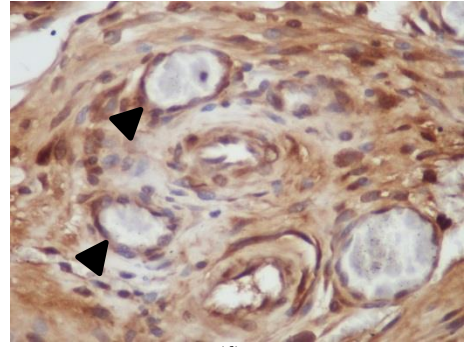
(a)



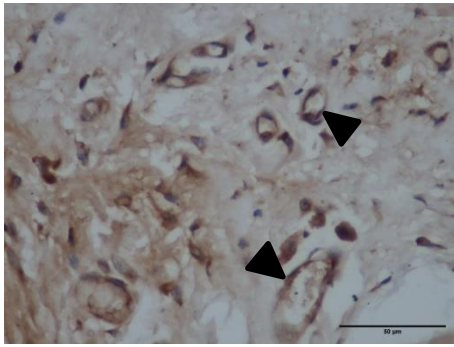
(b)



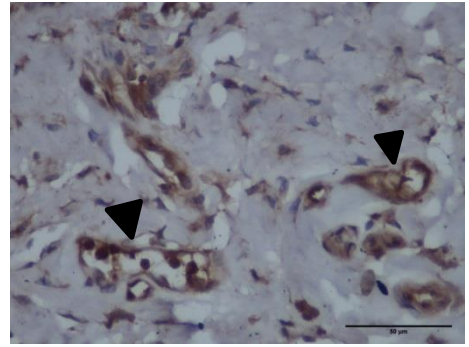
(c)



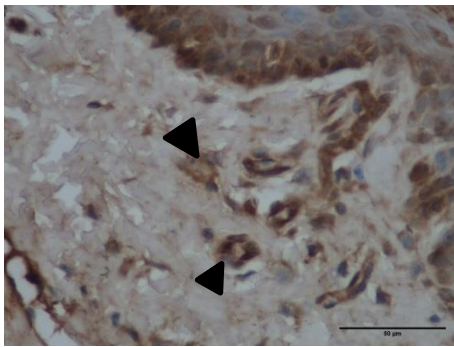
(d)



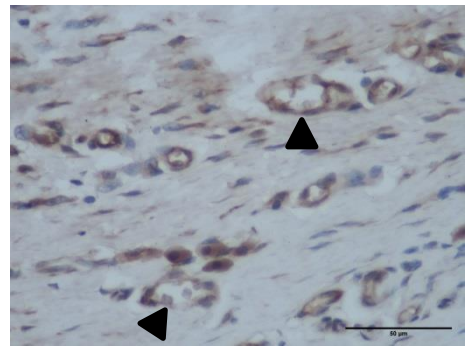
(e)



(f)



(g)

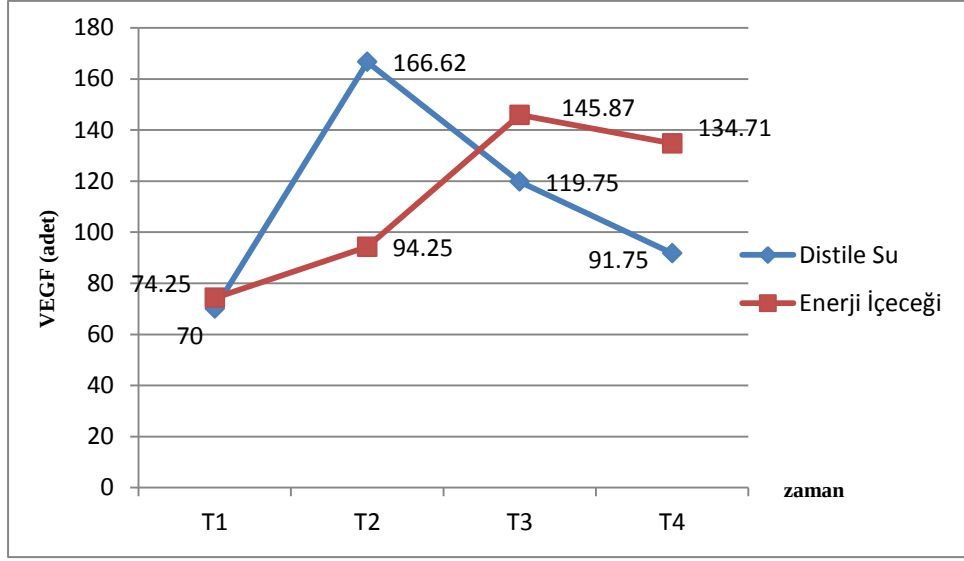


(h)

(a:DS-3. b:Eİ-3. c:DS-7, d:Eİ-7, e:DS-14, f:Eİ-14, g:DS-21. h:Eİ-21)

(► yeni vasküler oluşumlar)

Fotoğraf-4.6. VEGF boyaması 40X büyütme



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.15. VEGF ölçüm ortalamalarının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi VEGF değerlerinin farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Daha sonra her iki grubun da kendi içinde tüm değerlendirme zamanlarını birbiriyle kıyaslamak için Tukey testi uygulanmıştır. Kontrol grubuna bakıldığında 7.günde VEGF ortalaması ($x=166.62 \pm 48.30$) pik yapmakta ve 3.gün VEGF ortalamasına ($x=70.00 \pm 8.55$) göre istatistiksel açıdan anlamlı yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). 14.gün örneklerinin ortalamasına ($x=119.75 \pm 16.54$) bakıldığında 7.gün örneklerinin ortalamasına ($x=166.62 \pm 48.30$) göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). 14.günden 21.güne ($x=91.75 \pm 19.54$) doğru bir miktar daha düşüş görülmektedir. Fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamsızdır ($p > 0.05$). (Grafik-4.15.) (Tablo-4.35.)

Tablo-4.35. Kontrol grubu (DS) VEGF miktarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.00*	0.00*	0.41
T ₂ (7.gün)	0.00*	-	0.01*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.01*	-	0.20
T ₄ (21.gün)	0.41	0.00*	0.20	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubunda VEGF ortalamalarına bakıldığında, 3.günden (x=74.25±9.63) 7.güne (x=94.25±20.51) bir yükseliş mevcuttur. Ancak bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0.05). 14.günde VEGF ortalaması (x=145.87±27.60) pik yapmakta ve 7.güne göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir (p<0.05). Test grubunun 14. ve 21. günlerine bakıldığında ise, 21.gün VEGF ortalaması (x=134.71±28.08) 14.güne benzer olup istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcut değildir (p>0.05).

Tablo-4.36. Test grubu (Eİ) VEGF miktarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.30	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.30	-	0.00*	0.01*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	-	0.77
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.01*	0.77	-

(T:Zaman dilimleri, * = p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

4.7.3. Tünel yöntemi ile apoptotik hücre sayımının değerlendirilmesi

Apoptotik hücrelerin tamir sürecinin gidiş hattını etkilemesinden dolayı, epitel+bağ dokusu eksize edilen alanlardan elde edilen kesitlerde apoptotik hücre sayımı yapılmıştır. Apoptotik hücre tespitinde ise In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore ApopTag® Fluorescein/USA cat#S7100) kullanılmıştır. Işık mikroskopu altında (Nikon ECLIPSE 80i/USA) 40X büyütme ile 10 alanda apoptotik hücreler sayılmış ve veriler adet cinsindendir.

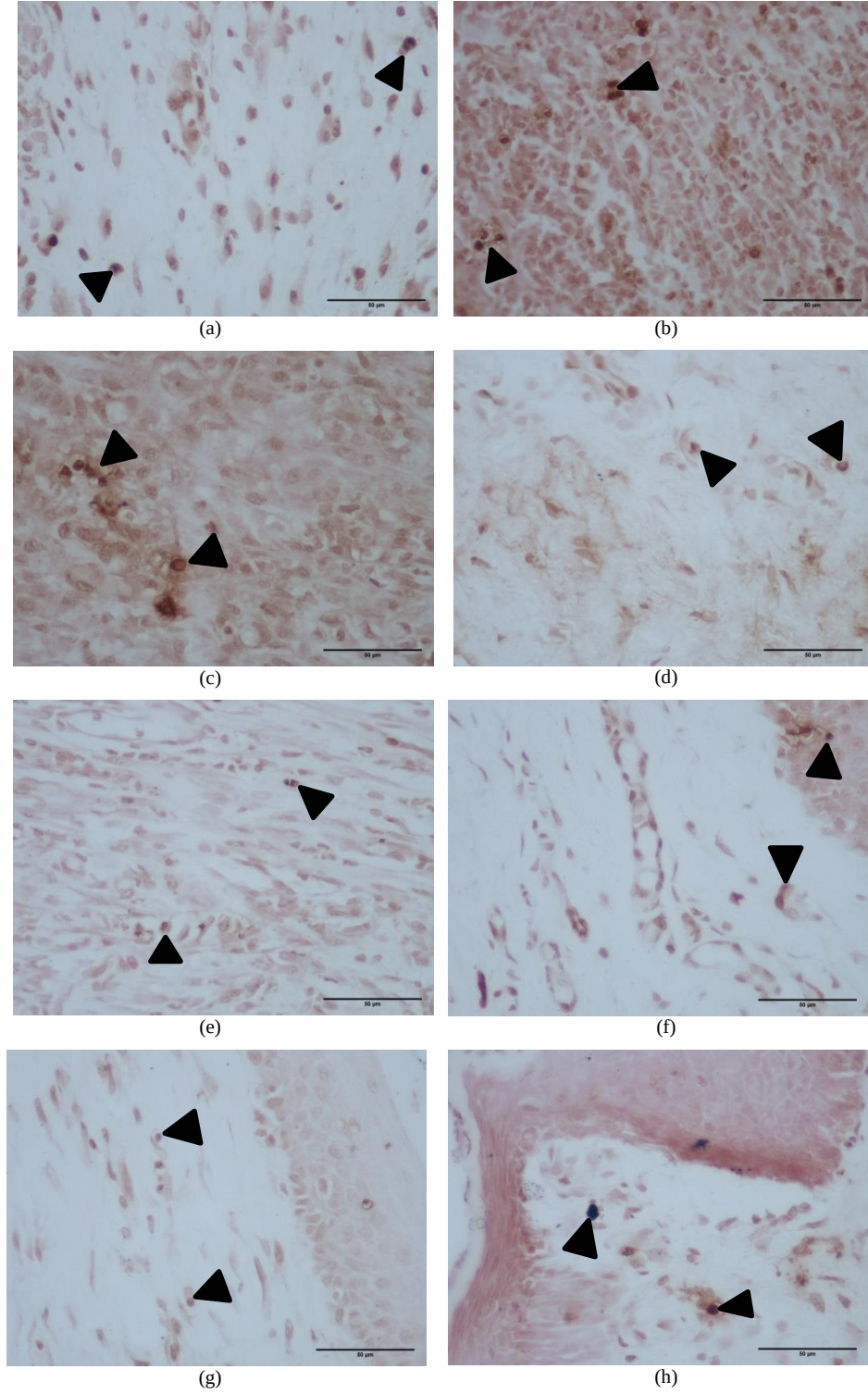
Tablo-4.37. Apoptotik hücre sayımının gruplar arası (test ve kontrol) değerlendirilmesi

T	Kontrol Grubu (DS)	Test Grubu (Eİ)	P
	Ort±Ss	Ort±Ss	
T ₁ (3.gün)	67.50±27.83	104.62±12.71	0.00*
T ₂ (7.gün)	99.62±44.59	92.12±13.03	0.65
T ₃ (14.gün)	52.00±22.55	45.25±19.69	0.53
T ₄ (21.gün)	38.37±18.86	47.71±23.14	0.40

(T:Zaman dilimleri, DS:Distile su, Eİ:Enerji içeceği, Ort:Ortalama, Ss:Standart sapma,

*= $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı fark)

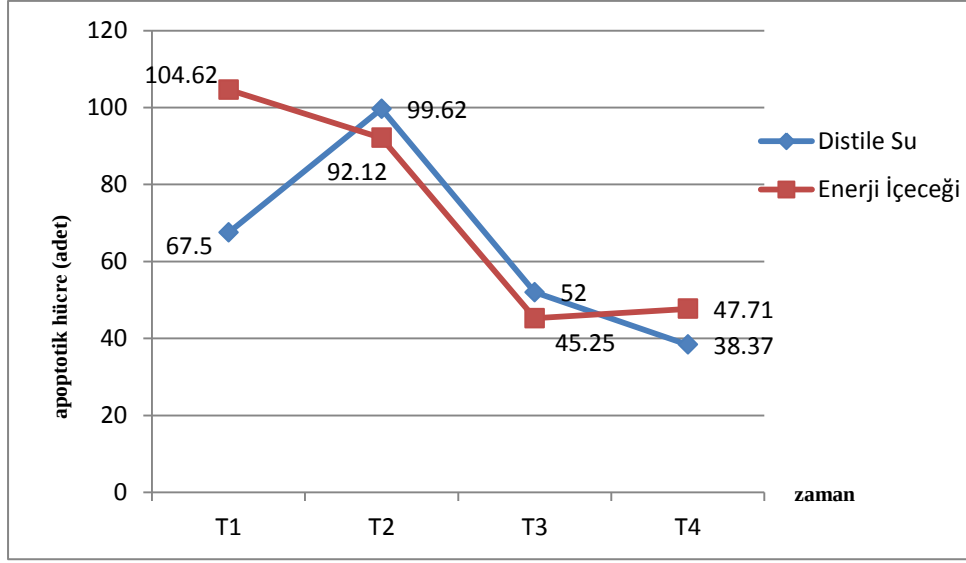
Tünel hücre sayısı ortalamalarının gruplar arası farklılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. 3.gün apoptotik hücre miktarına bakıldığında, test grubunun apoptotik hücre sayısı ortalaması ($x=104.62\pm12.71$) kontrol grubunun ortalamasından ($x=67.50\pm27.83$) yüksek olduğu görülmektedir. 2 grup ortalamaları arasındaki bu fark istatistiksel açıdan da anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Test grubu ile kontrol grubu apoptotik hücre miktarları karşılaştırıldığında 3.gün hariç diğer zaman dilimlerinde istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. (Tablo-4.37.) (Fotoğraf-4.7.)



(a:DS-3. b:Eİ-3. c:DS-7, d:Eİ-7, e:DS-14, f:Eİ-14, g:DS-21. h:Eİ-21)

(► apoptotik hücreler)

Fotoğraf-4.7. Tünel yöntemi ile apoptotik hücrelerin boyanması 40X büyütme



(T1: 3.gün, T2: 7.gün, T3: 14.gün, T4:21. gün)

Grafik-4.16. Apoptotik hücre sayımının grup içi ve gruplar arası farklı değerlendirme zamanlarına göre dağılımı

Grup içi apoptotik hücre ölçüm ortalamalarının farklı zaman dilimlerine göre değişimini değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Daha sonra her iki grubun da kendi içinde tüm değerlendirme zamanlarını birbiriyle kıyaslamak için Tukey testi uygulanmıştır. Kontrol grubuna bakıldığında, 7.gün örneklerinin apoptotik hücre sayısı ortalaması ($x=99.62\pm44.59$) 3.gün örneklerinin ortalamasına ($x=67.50\pm27.83$) artış göstermiştir Ancak artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). 14.gün örneklerine bakıldığında ise apoptotik hücre sayısı ortalamasında ($x=52.00\pm22.55$) 7.gün örneklerinin ortalamasına ($x=99.62\pm44.59$) göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 21.gün örneklerinde ($x=38.37\pm18.86$) 14.gün örneklerine göre bir düşüş olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). (Tablo-4.38.) (Grafik-4.16.)

Tablo-4.38. Kontrol grubu (DS) apoptotik hücre miktarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.17	0.73	0.24
T ₂ (7.gün)	0.17	-	0.02*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.73	0.02*	-	0.80
T ₄ (21.gün)	0.24	0.00*	0.80	-

(T:Zaman dilimleri, *= p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

Test grubuna bakıldığında ise, grup içi en yüksek apoptotik hücre sayısı ortalaması ($x=104.62\pm12.71$) 3.gün örneklerinde olduğu görülmektedir. Bu değer 7.günde ($x=92.12\pm13.03$) biraz düşüş göstermiş olup 3.gün ortalaması ile istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir ($p>0.05$). 14.gün örneklerinin ortalaması ($x=45.25\pm19.69$) ise 7.gün örneklerinin ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p<0.05$). 21.gün örneklerinin ortalaması ($x=47.71\pm23.14$) ise 14.gün örneklerinin ortalamasına benzer olup istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). (Grafik-4.16.) (Tablo-4.39.)

Tablo-4.39. Test grubu (Eİ) tünel hücre miktarının zamana göre değişimi

T	T₁(3.gün)	T₂(7.gün)	T₃(14.gün)	T₄(21.gün)
T ₁ (3.gün)	-	0.50	0.00*	0.00*
T ₂ (7.gün)	0.50	-	0.00*	0.00*
T ₃ (14.gün)	0.00*	0.00*	-	0.99
T ₄ (21.gün)	0.00*	0.00*	0.99	-

(T:Zaman dilimleri, *= p<0.05 istatistiksel anlamlı fark)

5.TARTIŞMA

Bu çalışma enerji içeceğinin (RedBull®sugar free/Türkiye) deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda palatinal yüzeyde hazırlanan deepitelizasyon ve bağ dokusu eksizyonu sonrası yumuşak doku yara iyileşmesi üzerindeki etkisini klinik, histomorfometrik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak değerlendirmiş ve diyabetik sıçanlarda sekonder yara iyileşmesinin erken döneminde faydalı olduğunu göstermiştir.

Diyabet dünya nüfusunun önemli bir kısmını etkileyen, insülin eksikliği veya etkisizliği sonucu gelişen, hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır (90). Kontrolsüz diyabete sahip bireylerde görülen retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik komplikasyonların (6) yanısıra birçok oral komplikasyonlar da gözlenmektedir. Bunlardan biri özellikle periodontologları ilgilendiren bir durum olan, diyabetin periodontal hastalık için artmış risk faktörü oluşturup periodontitisin ilerleme şiddetini arttırmasıdır (6). Diyabette; enflamatuvar cevap fonksiyonunda bozukluk, artmış fibroblast apoptozisi, granülasyon doku formasyonunda değişimler ve anjiyogenezisteki bozulmalar ile yara iyileşmesinde de bozulmalar gözlenmektedir (70). Bu durum gerek cerrahi olmayan periodontal tedavi gerekse ileri periodontal cerrahiler sonrası yara iyileşmesinde aksaklıklara yol açarak periodontal hastalıkların tedavisini güçleştirmektedir.

Literatürde, diyabetin komplikasyonlarını inceleme ve tedavi yöntemlerini değerlendirmek için çok çeşitli deneysel diyabet modelleri olduğu ve bu çalışmalarda sıçan (145-150), tavşan (151, 152), köpek (153, 154) ve koyun (155) gibi deney hayvanları kullanıldığı görülmektedir. Deney hayvanı seçiminde mümkün olan en az kompleks tür ve sayı tercih edilmelidir. Araştırmamızda da, çalışma modeli seçiminde deneysel hayvan çalışmalarının uzun yıllardır diyabet ve yara iyileşmesi ile ilgili araştırmalarda insan dokularına benzer özellikleriyle en çok tercih edilen ve çok iyi bilinen bir model olması dikkate alınmış ve sıçan kullanılmıştır (156). Literatüre bakıldığında diyabet oluşturma yöntemi için streptozotosin ve alloxanın

kullanıldığı tespit edilmiştir. Streptozotosin ve alloxan, Langerhans adacıklarının β hücreleri için özgün toksik etki gösteren bir maddelerdir (157). Yüksek dozda bu kimyasalların enjeksiyonuyla beta hücre yıkımı ile insanlardaki Tip I diyabete benzer şekilde diyabet oluşturulur (140). Ancak diyabet çeşitlerinin insidansına bakıldığında Tip II diyabet tüm diyabet tiplerinin %90-95'ini oluşturmakta ve klinikte en sık karşılaşılan tipi olmaktadır (3). Tip II diyabet gelişiminin doğal sürecine bakıldığında ise yüksek kalori alımı sonucunda obezite ve insülin direnci gelişimi ile ilerlemektedir. Ancak bir çok hayvan modelinde yüksek doz streptozotosin enjeksiyonu ile Tip I diyabet metabolik karakterine uygun diyabet modeli oluşturulmuştur (145-150). Az sayıda deneysel çalışmada (158-161) Tip II diyabet oluşturulmuştur. Bazı çalışmalar yüksek kalorili diyetin insülin direnci geliştirdiğini ancak kendi başına diyabet oluşturmak için yeterli olmadığını göstermiştir (162-164). Zhang ve arkadaşları (140) ise Tip II diyabetin metabolik sürecine uygun bir model oluşturmak için yüksek kalorili diyet ve düşük doz streptozotosin ile diyabet modeli oluşturmuştur. Bu çalışmada, Tip II diyabet modeli için Zhang ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde yüksek kalorili diyet (%20 yağ, %48 karbonhidrat ve %22 protein toplam kalori değeri 31.85 kJ/kg) ve düşük doz streptozotosin (40mg/kg) ile diyabet modeli oluşturulmuştur. Dört hafta yüksek kalorili diyet ile beslenen sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı yaşanmış ve sonrasında uygulanan 40mg/kg STZ dozu ile de tüm sıçanlarda diyabet oluşmuştur. Bu çalışmada kullanılan diyabet modeli, toplumda en sık rastlanan Tip II diyabetin metabolik karakterine uygun olarak oluşturulmuştur. Mümkün olan en düşük doz STZ kullanımıyla yüksek maliyete sahip STZ preparatı tüketimi azaltılmıştır. Ayrıca yüksek dozlarının lethal etki yarattığı STZ kullanımının azaltılmasıyla kullanılan deney hayvanı sayısında azalma sağlamıştır.

Yara iyileşmesinin ağız içi dokularda değerlendirildiği deneysel sıçan çalışmaları yöntem açısından incelendiğinde, sıçan vestibul dokularının ince ve sık olması dolayısıyla eksizyonel yara modelinin sıklıkla palatinal mukozada oluşturulduğu görülmüştür. Deneysel bir çalışma (165), sıçanların palatinal mukozasında 5 mm çapında yumuşak doku defekti oluşturarak çeşitli antimikrobiyal ajanların yara iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendirmiştir. Yine başka bir çalışmada (166), azot içerikli bifosfonat olan zoledronatein çene kemiği ve mukoza

yara iyileşmesi üzerindeki etkinliğini değerlendirmek üzere deneysel yara modeli için sıçan palatinası kullanılmıştır. Benzer bir çalışmada kollajen yapı iskeletinin yara iyileşmesi sırasında meydana getirdiği doku reaksiyonunu değerlendirmek üzere yine sıçan palatinası tercih edilmiştir (167). Benzer çalışmalardan yola çıkarak mevcut çalışmamızda da sekonder iyileşmeye bırakılan eksizyonel yara modeli sıçanların palatinasında oluşturulmuştur.

Ağız içi yumuşak dokularda yara iyileşme süresi genelde kısa olmasına bağlı olarak literatürdeki deneysel yara iyileşmesi çalışmaları (165, 168, 169) iyileşmenin daha erken dönemlerini incelemiştir. Ancak bizim çalışmamızda kullanılan deneklerin diyabet olması ve hipergliseminin yara iyileşmesini geciktirmesi dolayısıyla incelenen zaman periyodu uzatılarak doku ve kan örnekleri en son 21. günde alınmıştır.

Yara iyileşmesi; enflamasyon, anjiyogenezis, granülasyon doku formasyonu, tekrar epitel oluşumu ve yara kontraksiyonunu içeren çoklu moleküler bir süreçtir (13). Yara iyileşmesi bölümünde bahsedildiği gibi bu sürecin diyabetin komplikasyonlarına bağlı bozulmaya uğradığı (70), spesifik besinlerin yeterli alınması ile hızlandığı ve düzenlendiği (9, 10) gösterilmiştir. Antioksidanların (10), amino asitlerin (11); medikal bitki özleri ve vitaminlerin (12) tek başına yara iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren çalışmalar olmasına karşın, yapılan literatür taramasında bu maddelerden bazılarını içeren enerji içeceğinin diş hekimliğinde periodontal dokularda yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca diyabetli bireylerin ağız içerisindeki yara iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışma da tespit edilmemiştir. Literatürdeki bu eksiklikten ve enerji içeceklerinin içeriğindeki zengin besin öğelerinin (kafein, taurin, B-vitami grubu, guarana, ginseng, arjinin, ginko biloba) metabolizma hızını arttırması ve antioksidan kapasitesi olduğundan yola çıkarak bu çalışma, yaygın bir şekilde kullanılmakta olan enerji içeceğinin (RedBull®sugar free), deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda palatinal yüzeyde hazırlanan deepitelizasyon ve bağ dokusu eksizyonu sonrası yumuşak doku yara iyileşmesi üzerindeki etkisini klinik, histomorfometrik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak değerlendirmiştir.

Enerji içeceklerinin temel bileşiği olan ve içeriğinde yüksek oranda bulunan kafeinin yara iyileşmesi üzerindeki etkinliğini değerlendiren çalışmalardan biri olan

Azam ve arkadaşlarının (105) yaptıkları hücre kültürü çalışmasında, kafeinin antioksidan aktivitesi oksidatif DNA degradasyonunu baskılayan hidroksil radikal sistemleri ile, prooksidan aktivitesi ise DNA degradasyonunda rol oynayan bakır (Cu) iyonlarının ölçümü ile yapılmıştır. Kafein ve metabolitlerinin, hem antioksidan ve hem de yüksek doza ve ortamdaki Cu iyonlarına bağımlı prooksidan özellik gösterdiği bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise enerji içeceğinin antioksidan kapasitesi serum CAT, oksidan aktivitesi ise MDA seviyelerinin ölçümü ile değerlendirilmiştir. Yara iyileşmesinin 3.gününde enerji içeceği kullanılan test grubunda antioksidan CAT seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görülmektedir. Yedinci gün örneklerinde ise tam tersi olarak test grubunda CAT seviyesi kontrol grubu örneklerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu ve oksidan MDA seviyesinin test grubu 7.gün örneklerinde ise daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak 7.gün MDA seviyeleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır. Bizim çalışmamızın sonucu, Azam ve arkadaşlarının (105) çalışmasının enerji içeceğinin içeriğinde yüksek oranda bulunan kafeinin düşük dozlarda antioksidan yüksek dozlarda ise prooksidan olduğu sonucunu destekler niteliktedir. Bu durum ilk 3 günde enerji içeceği kullanımı antioksidan seviyeyi arttırırken, 7 gün kullanımıyla kafeinin kümülatif etki gösterip antioksidan kapasiteyi aşarak prooksidan etki göstermesi ile açıklanabilir.

Kafein ile ilgili Ojeh ve arkadaşlarının (109) yaptıkları hücre kültürü çalışmasında, kafeinin adenosin reseptör antagaonisti olması ve dolayısıyla adenosin reseptör agonistinin anjiyogenezisi ve ekstraselüler matriks yapımını stimüle etme özelliğini inhibe ederek, kafeinin doz bağımlı hücre proliferasyonunu azalttığı, hücre migrasyonunda gecikmeye neden olduğu ve epitelizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise 7.günde enerji içeceği kullanılan test grubunda distile su kullanılan kontrol grubuna göre reepitelizasyonun istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucu ile bizim çalışmamızın sonucu birbiriyle uyumsuzdur. Bu durum enerji içeceğinin içeriğindeki diğer bir madde olan taurinin reepitelizasyonu arttırmaya katkısı ile açıklanabilir. Bu konu ile ilgili yapılmış taurinin ağız içi yara iyileşmesi üzerine etkinliğini değerlendiren Gültekin ve arkadaşlarının (11) klinik çalışmasında, fasiyal yüzeylerdeki gingival büyümelere yapılan gingivektomi operasyonu sonrası kollajen

membrana emdirilmiş taurin jel bölgeye yerleştirilip periodontal pat ile kapatılmıştır. Sadece kollajen membran ile kapatılmış kontrol alanlarına göre bölgede reepitelizasyonun daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da enerji içeceği kullanılan test grubunda 7.günde reepitelizasyonun kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha hızlı olduğu görülmektedir. Bu sonuç Gültekin ve arkadaşlarının (11) çalışmasının sonucuyla uyumludur. Enerji içeceğinin içeriğindeki kafeinin hücre migrasyonunu geciktirme etkisinin olabileceğine karşılık taurinin etkisinin daha baskın olması dolayısıyla yara iyileşmesinin erken döneminde histolojik olarak reepitelizasyonu arttırdığı görülmektedir.

Taurinin dermal yara iyileşmesi üzerinde de etkili olduğunu gösteren çalışmalar (170, 171) mevcuttur. Dinçer ve arkadaşlarının (170) farelerin sırtları üzerinde insizyonel yara oluşturarak yaptıkları çalışmada ise, taurin bir gruba intraperitonel olarak sistemik yolla, diğer gruba ise topikal olarak uygulanmıştır. Yara gerilim direncinde artış lokal olarak taurin uygulanan grupta, kontrol ve sistemik taurin uygulanan deneklere göre anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur. Ashkani-Esfahani ve arkadaşlarının (171) leishmania yaraları üzerinde taurinin sistemik ve topikal etkilerini değerlendiren deneysel çalışmada, taurinin hem sistemik hem de topikal olarak uygulandığı grupta kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde daha hızlı yara kapanması olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda enerji içeceği hem sistemik hem de topikal olarak uygulanmıştır. Enerji içeceği kullanılan test grubunda 3.gün klinik değerlendirme sonuçlarına göre sıg yaraların kapanması kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha hızlı gerçekleşmiştir. Ancak aynı sonuç epitel+bağ dokusu eksize edilen derin yaralar için gösterilememiştir. Çalışmaların sonuçları birbiriyle uyumludur. Enerji içeceği içeriğindeki taurinin osmoregülasyon, membran stabilizasyonu, serbest oksijen radikallerinin negatif etkilerinin eliminasyonu, antilipit peroksit ve antiapoptotik özellikleri (172) dolayısıyla yara iyileşmesinin erken döneminde sıg yaraların klinik olarak daha hızlı iyileşmesine katkı sağladığı düşünülmektedir.

Enerji içeceklerinin bileşeninde bulunan bir diğer önemli besin kaynağı ise B vitamini kompleksidir. B vitamininin 8 alt grubu mevcut olup (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 ve B12), bu vitaminlerin tek başına ya da B vitamini kompleksi halinde yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (173-179). Alvarez ve

arkadaşlarının (174) tiamin olarak da bilinen B1 vitamininin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini inceledikleri deneysel çalışmada, sıçanların derisinde yara oluşturup tiaminden eksik diyet ile besleme yapılmıştır. Yara oluşturulmasından 10 gün sonra sakrifiye edilip alınan örneklerde tiaminden tamamen yoksun grup ile ek tiamin verilen gruplar arasında, isometrik olarak yaranın çekme ve gerilim direnci açısından fark bulunmuştur. Aynı çalışmanın ikinci aşaması (173) ise granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen içeriğini gruplar arasında değerlendirmiş ve tiaminin içeren diyetle beslenen grupta granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen oluşumu daha iyi olduğu gözlenmiştir. Lakshmi ve arkadaşlarının (177) riboflavin olarak da bilinen B2 vitamininin yara iyileşmesi üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için yaptıkları deneysel çalışmada, test grubunu riboflavinden yoksun diyetle beslemişlerdir. Riboflavinden yoksun grupta standart beslenen sıçanlara göre yara alanı kollajen içeriğinde ve matürasyonunda farklılıklar ve buna bağlı yara alanında düşük gerilim direnci gözlenmiştir. De Lucia ve arkadaşları (176), diş çekimi sonrası yara iyileşmesinde B6 (piridoksin veya piridoksamin) vitamininin etkinliğini deneysel bir çalışma ile değerlendirmiştir. Çalışmanın histolojik bulguları, granülasyon dokusunun B6 vitamini takviyesi yapılan deney grubunda daha fazla miktarda olduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızın sonucu bu çalışmaların sonuçları (173, 176, 177) ile uyum içerisindedir. Enerji içeceğinin içeriğinde bulunan B1, B2 ve B6 vitaminlerinin, granülasyon dokusunda kan pıhtısı ve fibrin ağının daha hızlı oluşumuna ve ayrıca hücre rejenerasyonuna katkıda bulunarak yara iyileşmesinin erken döneminde granülasyon dokusu matürasyonunu ve kollajen oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir. Yardımcı ve arkadaşlarının (179) B5 vitamini (pantotenik asit) yaptıkları deneysel çalışmada, sıçanlar üzerinde üretral travma oluşturulmuş ve deksapentolün (pantotenik asitin alkol formudur ve vücutta pantotenik asite metabolize olur) iyileşme üzerindeki etkinliğine bakılmıştır. Deney grubunda kontrol grubuna göre üretral travmayı takiben iyileşme süresinde enflamasyon ve sipongiofibrozis daha az görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise, iyileşmenin 3.gününde enflamasyon parametresi olan eritemin klinik olarak enerji içeceği verilen grupta daha fazla azaldığı görülmektedir. Ancak enflamasyon bulgusu olan ödem parametresi için aynı sonuç gösterilememiştir. Bizim çalışmamızın bu sonucu Yardımcı ve arkadaşlarının (179) B5 vitamininin enflamasyonu azaltıcı

etkisinin olduğunu gösterdiği sonuç ile uyumludur. Tekli olarak B vitamini türlerinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren çalışmaların yanı sıra, Neiva ve arkadaşlarının (178) yaptığı klinik çalışmada, B vitamin kompleksinin periodontal flep cerrahisi sonrası periodontal dokular üzerinde iyileştirme etkinliği araştırmıştır. Bu kompleks vitamin, şiddetli kronik periodontitis hastalarına uygulanan flep cerrahisi sonrası 30 gün boyunca günde 1 tane, kontrol grubuna ise placebo haplar olmak üzere oral olarak verilmiştir. Otuz günün sonunda klinik parametreler açısından değerlendirildiğinde, test grubu kontrol grubuna göre klinik ataşman seviyesi kazancı açısından istatistiksel olarak üstün bulunmuştur. Tüm bu çalışmaların sonuçları yara iyileşmesi esnasında B vitamininin daha hızlı ve iyi bir yara iyileşmesi için gerekli olduğunu göstermiştir.

Bazı enerji içeceği içeriğinde olan ginsengin (122, 180), ginkgo bilobanın (181, 182) ve arjininin (183-185) de yara iyileşmesi üzerinde pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda kullandığımız enerji içeceği (RedBull®sugar free/Türkiye) içeriğinde bu maddeler bulunmadığından yara iyileşmesi üzerine etkinliği bu çalışmalarla kıyaslanamamaktadır.

Tüm bu maddeleri birlikte içeren ve enerji içeceği içerisindeki bu maddelerin sinerjik etkisini değerlendiren bu çalışmanın orijin aldığı Tek ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (13), sıçanların sırtında paravertebral yumuşak doku yarası oluşturulmuş ve enerji içeceği (Red Bull®Türkiye) gavaj yoluyla verilmiştir. Kontrol grubuna ise aynı hacimde su verilmiştir. 3., 7. ve 14.günlerde toplanan örneklerde histomorfometrik (reepitelizasyon, granülasyon dokusu matürasyonu, kollajen organizasyonu) ve immunohistokimyasal (VEGF, α -düz kastin aktin (α -SMA)) değerlendirme yapılmıştır. Çalışmanın sonucu, enerji içeceği grubunda 3. ve 7.günlerde kollajen depozisyonunun kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu gösterilmiştir. Yedinci gün örneklerinde reepitelizasyonun da enerji içeceği grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu görülmüştür. İmmunohistokimyasal değerlendirme sonucu, yeni damar oluşumu simgesi olan VEGF'in 7. ve 14.günlerde enerji içeceği grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da kıyaslanabilirlik açısından aynı histomorfometrik parametrelere (reepitelizasyon, granülasyon dokusu matürasyonu ve kollajen depozisyonu) aynı

yöntemle (143) değerlendirilmiştir. Bu çalışmayla uyumlu şekilde bizim çalışmamızda enerji içeceği yara iyileşmesinin erken döneminde reepitelizasyona (7.gün) ve kollajen oluşumuna (3.gün) istatistiksel olarak anlamlı şekilde katkı sağladığı görülmektedir. Bu etkinliğin enerji içeceğinin içeriğinde bulunan taurin ve B vitamininin osmoregülasyon, membran stabilizasyonu, serbest oksijen radikallerinin negatif etkilerinin eliminasyonu, antilipit peroksit, antiapoptotik ve hücre rejenerasyonu özellikleri ile olduğu düşünülmektedir. Granülasyon doku oluşumu için Tek ve arkadaşları gruplar arası farklılık bulamamış iken bizim çalışmamızda yara iyileşmesinin erken evresinde (3.gün) granülasyon doku matürasyonu Eİ grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu çalışmalar arasındaki sonuç farklılığı Tek ve arkadaşlarının çalışmasında primer yara iyileşmesi modeli, bizim çalışmamızda ise sekonder yara iyileşmesi modeli kullanıldığından kaynaklandığı düşünülmektedir. İmmunohistokimyasal olarak değerlendirilen VEGF Tek ve arkadaşlarının çalışmasında 7. ve 14.günlerde Eİ grubu istatistiksel olarak anlamlı üstün bulunmuş iken bizim çalışmamızda yeni damar oluşumu göstergesi olan VEGF 14. ve 21. günlerde Eİ grubunda istatistiksel olarak anlamlı üstün bulunmuştur. Bu farklılığın sebebinin bizim çalışmamızdaki hayvan modelinin diyabet olması ve dolayısıyla yara iyileşmesinin gecikebileceği ile açıklanabilir.

Bizim çalışmamızda alınan doku örneklerinde immunohistokimyasal olarak yara iyileşmesinin anjiogenezis, granülasyon dokusunun oluşumu, reepitelizasyon ve dokunun yeniden şekillenmesi aşamalarında önemli role sahip olan (55, 56) FGF-2'ye bakılmıştır. Her 2 grupta da FGF-2 miktarları 3.günden 14.güne doğru hızlı bir yükseliş göstererek 14.gün örneklerinde pik yapmıştır. Bu sonuç, Kanda ve arkadaşlarının (58) palatinadaki mukoperiosteal iyileşme sırasındaki FGF-2 miktarlarının artış zamanları (10-14.gün) ile uyumludur. Tüm incelenen zaman dilimlerinde FGF-2 ortalaması Eİ grubunda DS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Enerji içeceğinin incelenen tüm zaman dilimlerinde (3., 7., 14. ve 21.gün) anjiyogenezis, reepitelizasyon ve granülasyon dokusu matürasyonu göstergesi olan FGF-2 seviyelerinin artışına istatistiksel olarak anlamlı katkıda bulunduğu görülmektedir.

Bu çalışmada immunohistokimyasal olarak diyabette artmış insidansta bulunan apoptotik hücrelere tünel yöntemi ile bakılmıştır. Kontrolsüz diyabette artmış oksidatif stres ve TNF- α seviyeleri ile ilişkili olarak yara iyileşmesi için önemi hücrelerin apoptozisinde artış ve dolayısıyla normal yara iyileşme sürecinde inhibisyon gözlenir. Siqueira ve arkadaşlarının (73) diyabetin yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran çalışmasında hem Tip I diyabette hem de Tip II diyabette kontrol gruplarına göre yara bölgesinde artmış insidansta apoptotik fibroblast bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda tüm incelenen zaman dilimlerinde her 2 grupta da yüksek seviyelerde apoptotik hücre gözlenmiştir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ise sadece 3.gün örneklerinde gözlenmiştir. 3.gün test grubu örneklerinde 3.gün kontrol grubu örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek sayıda apoptotik hücre gözlenmiştir. Diğer incelenen zaman dilimlerinde (7., 14. ve 21.gün) 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Üçüncü gün örneklerindeki bu farklılığın sebebi, her 2 grup örneklerinin kan şekeri seviyelerinin farklılığı olabilir. Artmış kan şekeri seviyelerinde diyabetin komplikasyonlarında da artış söz konusudur. Bu çalışmada her sakifiye edilen gruptan rasgele 2 örneğin kan şekeri seviyelerine bakılarak diyabet teyit edilmiştir. (2 grubun örneklerinin ortalaması benzer ve 3.gün DS grubunun ortalaması: 462.5 mg/dl, Eİ grubunun ortalaması: 465 mg/dl). Ancak geri kalan 6 örneğin kan şekeri seviyeleri test grubunda kontrol grubuna göre yüksek olabilir. Apoptotik hücre sayısındaki farklılık kan şekeri seviyelerindeki farklılığa bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada reepitelizasyon önemli rol oynayan ve keratinosit proliferasyonu ve migrasyonunu stimule ederek yara iyileşmesine katkı sağlayan (55) FGF-10 seviyelerine ELISA yöntemiyle serum örneklerinde değerlendirilmiştir. FGF-10 serum seviyelerinde 2 grup arasında yalnızca 3.gün örneklerinde farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubu 3.gün FGF-10 ortalaması test grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir. Bu farklılık serum miktarındaki FGF-10'un sadece yara alanına spesifik olmayıp derideki keratinosit, intestinal epitel hücreleri ve keratinositler gibi vücudun farklı bölgelerindeki epitel hücrelerinden (186) de eksprese edilmesinden kaynaklı olabilir.

Oral cerrahi işlemlerden sonra post operatif komplikasyonları azaltmak ve yara iyileşmesini hızlandırmak için birçok yöntem kullanılmaktadır. Kemoterapötik ajanların periodontal cerrahi sonrası kullanımı; bakteriyel plak akümüasyonu, postoperatif ağrı, şişlik ve ödemi azaltarak klinik sonuçların iyileşmesine yardımcı olmsktadır (165). Oral cerrahi işlemler sonrası plak kontrolü ve antimikrobiyal etki ile yara iyileşmesinin düzgün şekilde tamamlanması için klorheksidin kullanımı literatürde altın standarttır (187). Ancak yararlı etkilerinin yanında yan etkileri de mevcuttur. Klorheksidin içeren ağız gargarasının dişlerin ve diğer oral yüzeylerin boyanmasına, tat almada bozukluğa, deskuamasyona ve alerjik reaksiyonlara sebep olabileceği bilinmektedir (188). Periodontal cerrahi işlemlerden sonra özellikle sekonder yara iyileşmesine bırakılan alan olduğu zaman, yara alanı enfeksiyonu, kanama ve ağrı gibi postoperatif komplikasyonları azaltmak ve granülasyon dokusunu koruyarak daha iyi yara iyileşmesi sağlamak için yara alanı periodontal pat ile kapatılmaktadır (189). Ancak yararlı etkilerinin yanı sıra hastada konforsuzluk hissi yaratması ve uzun dönemde yara yerinde enflamasyonda artışa neden olması gibi olumsuz özellikleri de mevcuttur (190). Bu çalışmanın sonucu, klinikte kullanılan post operatif komplikasyonları azaltarak daha iyi bir yara iyileşmesi sağlamak için kullanılan bu standart yöntemlere alternatif olabileceği veya bu yöntemler ile kombine kullanımının yara iyileşmesinin erken döneminde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmanın bazı limitasyonları mevcuttur. Bunlardan birincisi klinik değerlendirmede kullanılan yöntemlerin standardizasyonu ve tekrarlanabilirliğidir. Oberg ve arkadaşlarının (191) kulak anomalilerinin rekonstrüksiyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada ölçüm için kumpas, cetvel, kalliper ve digital morfometri yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemlerin hassaslığını birbirleriyle kıyaslandığında birbirine benzer olduğu görülmüştür. Ancak klinik ölçüm metodlarının bireysel değişiklik göstermesi nedeniyle fotoğraf üstünden digital morfometrinin tekrarlanabilir ve daha standart ölçüm vermesi dolayısıyla daha avantajlı olduğu vurgulanmıştır. Ancak bizim çalışmamızda ölçümler bireysel ölçüm farklılıkları gösterebilecek olan periodontal sond yardımıyla yapılmıştır.

İkinci limitasyonu ise, sakrifiye edilen zaman dilimlerinde diyabeti doğrulamak için sadece 2 sıçanın kan örneklerine bakılması ve bu durum geneli

yansıtmıyor olabileceğidir. Bu durum, daha yüksek kan şekeri değerlerine sahip sıçanlarda değerlendirilen bazı parametelerde gruplar arası açıklanamayan farklılıklara yol açmış olabilir.

6. SONUÇLAR ve ÇIKARIM

Bu çalışmanın limitasyonları dahilinde çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

- Sekonder yara iyileşmesinin erken döneminde enerji içeceğinin klinik olarak, deepitelize edilen sıg yaraların daha hızlı kapanmasına ve epitel+bağ dokusu eksize edilen derin yaralarda ise eritemin azalmasına katkıda bulunduğu gözlenmiştir.
- Yara iyileşmesinin erken döneminde enerji içeceğinin serumda antioksidan CAT seviyesini arttırarak oksidanların yara iyileşmesi üzerindeki negatif etkilerinin azaltabileceği gösterilmiştir.
- Yara iyileşmesinin erken döneminde enerji içeceğinin histolojik olarak reepitelizasyonu, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir.
- Enerji içeceğinin yara iyileşmesinin tüm dönemlerinde FGF-2'nin, geç dönemlerinde ise VEGF'in artışına katkı sağlayarak daha fazla kollajen ve yeniden damar oluşumuna yardımcı olduğu görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar dahilinde bu çalışmanın çıkarımı, sekonder yara iyileşmesinin erken döneminde enerji içeceğinin yara iyileşmesi üzerinde pozitif destekleyici etkisinin bulunduğu yönündedir.

7. KAYNAKÇA

1. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontology* 2000. 2006;40:29-49.
2. Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dental clinics of North America*. 2005;49(3):491-516.
3. Hatipoğlu M. Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş Deneysel Periodontitisli Sıçanlarda İnsülin ve Alfa-Tokoferol Tedavisinin Serum Sitokin Düzeyleri ve Dişeti iNOS VE CD95 Ekspresyonu Üzerine Etkileri [Doktora Tezi]: Selçuk Üniversitesi; 2011.
4. Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. *Clinical Periodontology*. 11th edition ed2012.
5. Khader YS, Bawadi HA, Haroun TF, Alomari M, Tayyem RF. The association between periodontal disease and obesity among adults in Jordan. *Journal of clinical periodontology*. 2009;36(1):18-24.
6. Tunalı M, Erşahan S, Aydınbelge M. Periodontal Hastalık ile Diyabet Arasında Çift Yönlü İlişki. *Erciyes Üni Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2014;23(1):11.
7. Scannapieco FA, Dasanayake AP, Chhun N. "Does periodontal therapy reduce the risk for systemic diseases?". *Dental clinics of North America*. 2010;54(1):163-81.
8. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 1993;16(1):329-34.
9. Thompson C, Fuhrman MP. Nutrients and wound healing: still searching for the magic bullet. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2005;20(3):331-47.
10. Ghaisas MM, Kshirsagar SB, Sahane RS. Evaluation of wound healing activity of ferulic acid in diabetic rats. *Int Wound J*. 2014;11(5):523-32.
11. Gultekin SE, Senguven B, Sofuoglu A, Taner L, Koch M. Effect of the topical use of the antioxidant taurine on the two basement membrane proteins of regenerating oral gingival epithelium. *Journal of periodontology*. 2012;83(1):127-34.
12. Akalin C, Kuru S, Barlas AM, Kismet K, Kaptanoglu B, Demir A, et al. Beneficial effects of Ankaferd Blood Stopper on dermal wound healing: an experimental study. *Int Wound J*. 2014;11(1):64-8.
13. Tek M, Toptas O, Akkas I, Kazancioglu HO, Firat T, Ezirganli S, et al. Effects of energy drinks on soft tissue healing. *The Journal of craniofacial surgery*. 2014;25(6):2084-8.
14. Ergin DN. Farklı dikiş materyallerinin gingivada oluşturduğu doku reaksiyonunun değerlendirilmesi: Başkent Üniversitesi;Doktora Tezi, 2009.
15. Önerci M, Haberal İ. *Temel cerrahi teknikler*2001. 9 p.
16. Şenol M. Yara iyileşmesi. *T Klin J Dermatol*. 1994;5:5.
17. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al]*. 2005;31(6):674-86; discussion 86.
18. Beyhan ŞG. Kollajen sentezi inhibitörlerinden 5-florourasil ve halofuginon'un yara iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi: İstanbul Üniversitesi; 2008.

19. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *The New England journal of medicine*. 1999;341(10):738-46.
20. Lawrence WT. Physiology of the acute wound. *Clinics in plastic surgery*. 1998;25(3):321-40.
21. Kohyama T, Ertl RF, Valenti V, Spurzem J, Kawamoto M, Nakamura Y, et al. Prostaglandin E(2) inhibits fibroblast chemotaxis. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2001;281(5):L1257-63.
22. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in dermatology*. 2007;25(1):9-18.
23. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(31):21491-4.
24. Raza SL, Cornelius LA. Matrix metalloproteinases: pro- and anti-angiogenic activities. *The journal of investigative dermatology Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc [and] European Society for Dermatological Research*. 2000;5(1):47-54.
25. Fisher C, Gilbertson-Beadling S, Powers EA, Petzold G, Poorman R, Mitchell MA. Interstitial collagenase is required for angiogenesis in vitro. *Developmental biology*. 1994;162(2):499-510.
26. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair a study with antineutrophil serum. *The Journal of clinical investigation*. 1972;51(8):2009-23.
27. Buck M, K. H, M. C. Tumor Necrosis Factor- α Inhibits Collagen α (I) Gene Expression and Wound Healing in a Murine Model of Cachexia. *American Journal of Pathology*. 1996;149(1):10.
28. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. *Clinics in plastic surgery*. 2003;30(1):1-12.
29. Soo C, Shaw WW, Zhang X, Longaker MT, Howard EW, Ting K. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair. *Plastic and reconstructive surgery*. 2000;105(2):638-47.
30. Wikesjo UM, Selvig KA. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology 2000*. 1999;19:21-39.
31. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjo UM. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology 2000*. 2006;41:30-47.
32. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *British dental journal*. 1992;172(8):305-12.
33. Wong JW, Gallant-Behm C, Wiebe C, Mak K, Hart DA, Larjava H, et al. Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: evidence from the red Duroc pig model and humans. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2009;17(5):717-29.
34. Szpaderska AM, Zuckerman JD, DiPietro LA. Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. *Journal of dental research*. 2003;82(8):621-6.
35. Nooh N, Graves DT. Healing is delayed in oral compared to dermal excisional wounds. *Journal of periodontology*. 2003;74(2):242-6.
36. Graves DT, Nooh N, Gillen T, Davey M, Patel S, Cottrell D, et al. IL-1 Plays a Critical Role in Oral, But Not Dermal, Wound Healing. *The Journal of Immunology*. 2001;167(9):5316-20.

37. Zelles T, Purushotham KR, Macauley SP, Oxford GE, Humphreys-Beher MG. Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. *Journal of dental research*. 1995;74(12):1826-32.
38. Schapher M, Wendler O, Groschl M. Salivary cytokines in cell proliferation and cancer. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2011;412(19-20):1740-8.
39. Bodner L, Dayan D, Oberman M, Hirshberg A, Tal H. Healing of experimental wounds in sialadenectomized rat. *Journal of clinical periodontology*. 1992;19(5):3.
40. Bodner L, Dayan D, Pinto Y, Hammel I. Characteristics of palatal wound healing in desalivated rats. *Archives of Oral Biology*. 1993;38(1):5.
41. Dickinson DP, Coleman BG, Batrice N, Lee J, Koli K, Pennington C, et al. Events of wound healing/regeneration in the canine supraalveolar periodontal defect model. *Journal of clinical periodontology*. 2013;40(5):527-41.
42. Clark RAF, Lin F, Greiling D, An J, J.R C. Fibroblast Invasive Migration into Fibronectin/Fibrin Gels Requires a Previously Uncharacterized Dermatan Sulfate-CD44 Proteoglycan. *The Journal of Investigative Dermatology*. 2004:12.
43. Reheman A, Gross P, Yang H, Chen P, Allen D, Leytin V, et al. Vitronectin stabilizes thrombi and vessel occlusion but plays a dual role in platelet aggregation. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2005;3(5):875-83.
44. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature reviews Immunology*. 2013;13(3):159-75.
45. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nature reviews Immunology*. 2011;11(11):762-74.
46. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *The Journal of pathology*. 2013;229(2):176-85.
47. Novak ML, Koh TJ. Macrophage phenotypes during tissue repair. *Journal of leukocyte biology*. 2013;93(6):875-81.
48. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(5):349-61.
49. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*. 2011;146(6):873-87.
50. Grieb G, Steffens G, Pallua N, Bernhagen J, Bucala R. Circulating fibrocytes-biology and mechanisms in wound healing and scar formation. *International review of cell and molecular biology*. 2011;291:1-19.
51. Weber CE, Li NY, Wai PY, Kuo PC. Epithelial-mesenchymal transition, TGF-beta, and osteopontin in wound healing and tissue remodeling after injury. *Journal of burn care & research : official publication of the American Burn Association*. 2012;33(3):311-8.
52. Blanpain C, Fuchs E. Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2009;10(3):207-17.
53. Cordeiro JV, Jacinto A. The role of transcription-independent damage signals in the initiation of epithelial wound healing. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2013;14(4):249-62.
54. Hinz B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *The Journal of investigative dermatology*. 2007;127(3):526-37.

55. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society.* 2008;16(5):585-601.
56. Hata Y, Kawanabe H, Hisanaga Y, Taniguchi K, Ishikawa H. Effects of basic fibroblast growth factor administration on vascular changes in wound healing of rat palates. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association.* 2008;45(1):63-72.
57. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microscopy research and technique.* 2003;60(1):107-14.
58. Kanda T, Funato N, Baba Y, Kuroda T. Evidence for fibroblast growth factor receptors in myofibroblasts during palatal mucoperiosteal repair. *Arch Oral Biol.* 2003;48(3):213-21.
59. Okada-Ban M, Thiery JP, Jouanneau J. Fibroblast growth factor-2. *The international journal of biochemistry & cell biology.* 2000;32(3):263-7.
60. Raja, Sivamani K, Garcia MS, Isseroff RR. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library.* 2007;12:2849-68.
61. Gallucci RM, Sloan DK, Heck JM, Murray AR, O'Dell SJ. Interleukin 6 indirectly induces keratinocyte migration. *The Journal of investigative dermatology.* 2004;122(3):764-72.
62. Powers CJ, McLeskey SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocrine-related cancer.* 2000;7(3):165-97.
63. Ornitz DM. FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology.* 2000;22(2):108-12.
64. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *American journal of physiology Cell physiology.* 2001;280(6):C1358-66.
65. Yan X, Chen B, Lin Y, Li Y, Xiao Z, Hou X, et al. Acceleration of diabetic wound healing by collagen-binding vascular endothelial growth factor in diabetic rat model. *Diabetes research and clinical practice.* 2010;90(1):66-72.
66. Bayhan A. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünün Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri [yüksek lisans tezi]: Gazi Üniversitesi; 2013.
67. Kurutas EB. Endosulfanın fare eritrosit antioksidan sistemleri ve malondialdehit düzeyleri üzerine etkisi. 2001;26(1):6.
68. Bergren CT, Bodzin JH, Cortez JA. Improved survival using oxygen free radical scavengers in the presence of ischemic bowel anastomosis. *The American surgeon.* 1988;54(6):333-6.
69. Antunes F, Han D, Cadenas E. Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free radical biology & medicine.* 2002;33(9):1260-7.
70. Desta T, Li J, Chino T, Graves DT. Altered fibroblast proliferation and apoptosis in diabetic gingival wounds. *Journal of dental research.* 2010;89(6):609-14.
71. Woo K, Ayello EA, Sibbald RG. The edge effect: current therapeutic options to advance the wound edge. *Advances in skin & wound care.* 2007;20(2):99-117; quiz 8-9.

72. Huijberts MS, Schaper NC, Schalkwijk CG. Advanced glycation end products and diabetic foot disease. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2008;24 Suppl 1:S19-24.
73. Siqueira MF, Li J, Chehab L, Desta T, Chino T, Krothpali N, et al. Impaired wound healing in mouse models of diabetes is mediated by TNF-alpha dysregulation and associated with enhanced activation of forkhead box O1 (FOXO1). *Diabetologia*. 2010;53(2):378-88.
74. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World journal of surgery*. 2004;28(3):321-6.
75. Keylock KT, Vieira VJ, Wallig MA, DiPietro LA, Schrementi M, Woods JA. Exercise accelerates cutaneous wound healing and decreases wound inflammation in aged mice. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2008;294(1):R179-84.
76. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010;89(3):219-29.
77. Silverstein P. Smoking and wound healing. *The American journal of medicine*. 1992;93(1A):22S-4S.
78. Bishop A. Role of oxygen in wound healing. *Journal of Wound Care*. 2008;17(9):4.
79. Tuk B, Tong M, Fijneman EM, van Neck JW. Hyperbaric oxygen therapy to treat diabetes impaired wound healing in rats. *PloS one*. 2014;9(10):e108533.
80. Halliwell B. Oral inflammation and reactive species: a missed opportunity? *Oral diseases*. 2000;6(3):136-7.
81. Chapple ILC. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of clinical periodontology*. 1997;24:10.
82. Wright JA, Richards T, Srai SKS. The role of iron in the skin and cutaneous wound healing. *Frontiers in Pharmacology*. 2014;5.
83. Bootun R. Effects of immunosuppressive therapy on wound healing. *International wound journal*. 2013.
84. Tiigimae-Saar J, Leibur E, Tamme T. The effect of prednisolone on reduction of complaints after impacted third molar removal. *Stomatologija / issued by public institution "Odontologijos studija" [et al]*. 2010;12(1):17-22.
85. Kayaalp O. *Tibbi Farmakoloji Kitabı* 2000. 28 p.
86. Chen MR, Dragoo JL. The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on tissue healing. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*. 2013;21(3):540-9.
87. Vileikyte L. Stress and wound healing. *Clinics in dermatology*. 2007;25(1):49-55.
88. Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Jensen PO, Madsen KG, Phipps R, Krogfelt K, et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2008;16(1):2-10.
89. Wilson JA, Clark JJ. Obesity: impediment to postsurgical wound healing. *Advances in skin & wound care*. 2004;17(8):426-35.
90. Kumar N, Kar A, Panda S. Pyrroloquinoline quinone ameliorates l-thyroxine-induced hyperthyroidism and associated problems in rats. *Cell biochemistry and function*. 2014;32(6):538-46.

91. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral diseases*. 2008;14(3):191-203.
92. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes care*. 2002;25(9):1551-6.
93. Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, et al. Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*. 2002;55(1):65-85.
94. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes care*. 2002;25(2):275-8.
95. Yavuz MC. Metabolik Kontrolleri İyi ve Kötü Diyabetik Periodontitisli Hastaların ve Nondiyabetik Periodontitisli Hastaların DOS, Tükürük ve Serum Örneklerinde Visfatin Seviyelerinin Araştırılması ve Periodontitisin Klinik ve Biyokimyasal Parametreler ile İlişkisinin Değerlendirilmesi [Doktora Tezi]: Atatürk Üniversitesi; 2013.
96. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*. 2015;6(6):850-67.
97. Coustan DR. Gestational diabetes. *Diabetes care*. 1993;16 Suppl 3:8-15.
98. Mealey BL, Ocampo GL. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2007;44:127-53.
99. Sibbald GR, Woo KY. The biology of chronic foot ulcers in persons with diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2008;24(S1):S25-S30.
100. Watkins F, Pendry B, Sanchez-Medina A, Corcoran O. Antimicrobial assays of three native British plants used in Anglo-Saxon medicine for wound healing formulations in 10th century England. *Journal of ethnopharmacology*. 2012;144(2):408-15.
101. Baum M, Weiss M. The influence of a taurine containing drink on cardiac parameters before and after exercise measured by echocardiography. *Amino acids*. 2001;20(1):75-82.
102. Ballard SL, Wellborn-Kim JJ, Clauson KA. Effects of commercial energy drink consumption on athletic performance and body composition. *The Physician and sportsmedicine*. 2010;38(1):107-17.
103. Ivy JL, Kammer L, Ding Z, Wang B, Bernard JR, Liao YH, et al. Improved cycling time-trial performance after ingestion of a caffeine energy drink. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2009;19(1):61-78.
104. Jones G. Caffeine and other sympathomimetic stimulants: modes of action and effects on sports performance. *Essays in biochemistry*. 2008;44:109-23.
105. Azam S, Hadi N, Khan NU, Hadi SM. Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2003;9(9):BR325-30.
106. Geraets L, Moonen HJ, Wouters EF, Bast A, Hageman GJ. Caffeine metabolites are inhibitors of the nuclear enzyme poly(ADP-ribose)polymerase-1 at physiological concentrations. *Biochemical pharmacology*. 2006;72(7):902-10.
107. Jitvaropas R, Saenthaweesuk S, Somparn N, Thuppia A, Sireeratawong S, Phoolcharoen W. Antioxidant, antimicrobial and wound healing activities of *Boesenbergia rotunda*. *Natural product communications*. 2012;7(7):909-12.

108. Lee YH, Chang JJ, Chien CT, Yang MC, Chien HF. Antioxidant sol-gel improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Experimental diabetes research*. 2012;2012:504693.
109. Ojeh N, Stojadinovic O, Pastar I, Sawaya A, Yin N, Tomic-Canic M. The effects of caffeine on wound healing. *Int Wound J*. 2014.
110. Cronstein BN. Adenosine receptors and fibrosis: a translational review. *F1000 biology reports*. 2011;3:21.
111. Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. Current opinion in clinical nutrition and metabolic care. 2008;11(3):281-8.
112. Ba A. Metabolic and structural role of thiamine in nervous tissues. *Cellular and molecular neurobiology*. 2008;28(7):923-31.
113. Lakshmi AV. Riboflavin metabolism--relevance to human nutrition. *The Indian journal of medical research*. 1998;108:182-90.
114. Sauve AA. NAD⁺ and vitamin B3: from metabolism to therapies. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2008;324(3):883-93.
115. Spinneker A, Sola R, Lemmen V, Castillo MJ, Pietrzik K, Gonzalez-Gross M. Vitamin B6 status, deficiency and its consequences--an overview. *Nutricion hospitalaria*. 2007;22(1):7-24.
116. Balla T. Regulation of Ca²⁺ entry by inositol lipids in mammalian cells by multiple mechanisms. *Cell calcium*. 2009;45(6):527-34.
117. Dikici S, Aydın LY, Kutlucan A, Ercan N. Enerji içecekleri hakkında neler biliyoruz? *Dicle Tıp Dergisi* 2012;39(4):5.
118. Espinola EB, Dias RF, Mattei R, Carlini EA. Pharmacological activity of Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) in laboratory animals. *Journal of ethnopharmacology*. 1997;55(3):223-9.
119. Basile A, Ferrara L, Pezzo MD, Mele G, Sorbo S, Bassi P, et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;102(1):32-6.
120. Sengupta S, Toh SA, Sellers LA, Skepper JN, Koolwijk P, Leung HW, et al. Modulating angiogenesis: the yin and the yang in ginseng. *Circulation*. 2004;110(10):1219-25.
121. David JR, Arden CB. Perioperative Risks and Benefits of Herbal Supplements in Aesthetic Surgery. *Aesthetic Surgery Journal* 2009;29:8.
122. Kim YS, Cho IH, Jeong MJ, Jeong SJ, Nah SY, Cho YS, et al. Therapeutic effect of total ginseng saponin on skin wound healing. *Journal of ginseng research*. 2011;35(3):360-7.
123. Zhang C, Zhu Y, Wan J, Xu H, Shi H, Lu X. Effects of Ginkgo biloba extract on cell proliferation, cytokines and extracellular matrix of hepatic stellate cells. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2006;26(10):1283-90.
124. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*. 1999;4(1):1-6.
125. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Journal of periodontology*. 2008;79(8 Suppl):1560-8.

126. Chung WO, Dommisch H, Yin L, Dale BA. Expression of Defensins in Gingiva and their role in periodontal health and disease. *Curr Pharm Design*. 2007;13(30):3073-83.
127. Novaes AB, Kon S, Ruben MP, Goldman HM. Visualization of the microvascularization of the healing periodontal wound. 3. Gingivectomy. *Journal of periodontology*. 1969;40(6):359-71.
128. Stahl SS, Weiner JM, Benjamin S, Yamada L. Soft tissue healing following curettage and root planing. *Journal of periodontology*. 1971;42(11):678-84.
129. Waerhaug J. Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. I. As observed in human biopsy material. *Journal of periodontology*. 1978;49(1):1-8.
130. Caton JG, Zander HA. The Attachment Between Tooth and Gingival Tissues After Periodic Root Planing and Soft Tissue Curettage. *Journal of periodontology*. 1979;50(9):5.
131. Wilson TG, Jr., Carnio J, Schenk R, Myers G. Absence of histologic signs of chronic inflammation following closed subgingival scaling and root planing using the dental endoscope: human biopsies - a pilot study. *Journal of periodontology*. 2008;79(11):2036-41.
132. Kon S, Novaes AB, Ruben MP, Goldman HM. Visualization of the microvascularization of the healing periodontal wound. IV. Mucogingival surgery: full thickness flap. *Journal of periodontology*. 1969;40(8):441-56.
133. Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *Journal of clinical periodontology*. 2014;41 Suppl 15:S6-22.
134. Orsini M, Orsini G, Benlloch D, Aranda JJ, Lazaro P, Sanz M. Esthetic and dimensional evaluation of free connective tissue grafts in prosthetically treated patients: a 1-year clinical study. *Journal of periodontology*. 2004;75(3):470-7.
135. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical Oral Implants Research*. 1991;2(2):9.
136. Shankar BS, T R, S NM, Reddy PS, Saritha G, Reddy JM. Chronic inflammatory gingival overgrowths: laser gingivectomy & gingivoplasty. *Journal of international oral health : JIOH*. 2013;5(1):83-7.
137. Barak S, Kaplan I. The CO2 laser in the excision of gingival hyperplasia caused by nifedipine. *Journal of clinical periodontology*. 1988;15(10):633-5.
138. Mavrogiannis M, Ellis JS, Seymour RA, Thomason JM. The efficacy of three different surgical techniques in the management of drug-induced gingival overgrowth. *Journal of clinical periodontology*. 2006;33(9):677-82.
139. Thangavelu A, Elavarasu S, Jayapalan P. Pink esthetics in periodontics - Gingival depigmentation: A case series. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 2012;4(Suppl 2):S186-90.
140. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Experimental diabetes research*. 2008;2008:704045.
141. Büyükleblebici O, Karagül H. Streptozotosin İle Deneyisel Olarak Diyabet Oluşturulan Ratlarda Kromun Biyokimyasal Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2012;18(1):6.
142. Aliasl J, Khoshzaban F, Barikbin B, Naseri M, Kamalinejad M, Emadi F, et al. Comparing the Healing Effects of Arnebia euchroma Ointment With Petrolatum

on the Ulcers Caused by Fractional CO₂ Laser: A Single-Blinded Clinical Trial. Iranian Red Crescent medical journal. 2014;16(10):e16239.

143. Li K, Diao Y, Zhang H, Wang S, Zhang Z, Yu B, et al. Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats. BMC complementary and alternative medicine. 2011;11:86.

144. Ponrasu T, Suguna L. Efficacy of *Annona squamosa* L in the synthesis of glycosaminoglycans and collagen during wound repair in streptozotocin induced diabetic rats. BioMed research international. 2014;2014:124352.

145. Witcher D, Sakai N, Williams B, Rahimian R, Anderson L. Gender differences in the effects of streptozotocin-induced diabetes on parasympathetic vasodilatation in the rat submandibular gland. Arch Oral Biol. 2010;55(10):745-53.

146. Naruse K, Sato J, Funakubo M, Hata M, Nakamura N, Kobayashi Y, et al. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells improves mechanical hyperalgesia, cold allodynia and nerve function in diabetic neuropathy. PloS one. 2011;6(11):e27458.

147. Correa MG, Gomes Campos ML, Marques MR, Casati MZ, Nociti FH, Jr., Sallum EA. Histometric analysis of the effect of enamel matrix derivative on the healing of periodontal defects in rats with diabetes. Journal of periodontology. 2013;84(9):1309-18.

148. Fatani AJ, Al-Rejaie SS, Abuohashish HM, Al-Assaf A, Parmar MY, Ahmed MM. Lutein Dietary Supplementation Attenuates Streptozotocin-induced testicular damage and oxidative stress in diabetic rats. BMC complementary and alternative medicine. 2015;15:204.

149. Fortes MA, Pinheiro CH, Guimaraes-Ferreira L, Vitzel KF, Vasconcelos DA, Curi R. Overload-induced skeletal muscle hypertrophy is not impaired in STZ-diabetic rats. Physiological reports. 2015;3(7).

150. Larsen S, Scheede-Bergdahl C, Whitesell T, Boushel R, Bergdahl A. Increased intrinsic mitochondrial respiratory capacity in skeletal muscle from rats with streptozotocin-induced hyperglycemia. Physiological reports. 2015;3(7).

151. Diez-Laiz R, Garcia-Vieitez JJ, Diez-Liebana MJ, Sierra-Vega M, Sahagun-Prieto AM, Calle-Pardo AP, et al. Evaluation of the Association Metformin: *Plantago ovata* Husk in Diabetic Rabbits. Journal of diabetes research. 2015;2015:167526.

152. Saleem Mir M, Maqbool Darzi M, Khalil Baba O, Khan HM, Kamil SA, Sofi AH, et al. Streptozotocin Induced Acute Clinical Effects in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Iranian journal of pathology. 2015;10(3):206-13.

153. Alkharfy KM. Influence of overt diabetes mellitus on cyclosporine pharmacokinetics in a canine model. Experimental diabetes research. 2009;2009:363787.

154. Ogbu SO, Agwu KK, Asuzu IU. *Gongronema latifolium* delays gastric emptying of semi-solid meals in diabetic dogs. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines. 2013;10(5):325-31.

155. Ramanathan T, Shirota K, Morita S, Nishimura T, Huang Y, Zheng X, et al. Left ventricular oxygen utilization efficiency is impaired in chronic streptozotocin-diabetic sheep. Cardiovascular research. 2002;55(4):749-56.

156. Cornelissen AM, Maltha JC, Von den Hoff HW, Kuijpers-Jagtman AM. Palatal mucoperiosteal wound healing in the rat. European journal of oral sciences. 1999;107(5):344-51.

157. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2001;50(6):537-46.
158. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, et al. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism: clinical and experimental*. 2000;49(11):1390-4.
159. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2005;52(4):313-20.
160. Sahin K, Onderci M, Tuzcu M, Ustundag B, Cikim G, Ozercan IH, et al. Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism: clinical and experimental*. 2007;56(9):1233-40.
161. Franconi F, Seghieri G, Canu S, Straface E, Campesi I, Malorni W. Are the available experimental models of type 2 diabetes appropriate for a gender perspective? *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2008;57(1):6-18.
162. Tanaka S, Hayashi T, Toyoda T, Hamada T, Shimizu Y, Hirata M, et al. High-fat diet impairs the effects of a single bout of endurance exercise on glucose transport and insulin sensitivity in rat skeletal muscle. *Metabolism: clinical and experimental*. 2007;56(12):1719-28.
163. Flanagan AM, Brown JL, Santiago CA, Aad PY, Spicer LJ, Spicer MT. High-fat diets promote insulin resistance through cytokine gene expression in growing female rats. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2008;19(8):505-13.
164. Zhao S, Chu Y, Zhang C, Lin Y, Xu K, Yang P, et al. Diet-induced central obesity and insulin resistance in rabbits. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 2008;92(1):105-11.
165. Kozlovsky A, Artzi Z, Hirshberg A, Israeli-Tobias C, Reich L. Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: a clinical and histomorphometric study in rats. *Journal of clinical periodontology*. 2007;34(2):164-71.
166. Yamashita J, Koi K, Yang DY, McCauley LK. Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011;17(6):1405-14.
167. Jansen RG, van Kuppevelt TH, Daamen WF, Kuijpers-Jagtman AM, Von den Hoff JW. Tissue reactions to collagen scaffolds in the oral mucosa and skin of rats: environmental and mechanical factors. *Arch Oral Biol*. 2008;53(4):376-87.
168. Kosger HH, Ozturk M, Sokmen A, Bulut E, Ay S. Wound healing effects of arnebia densiflora root extracts on rat palatal mucosa. *European journal of dentistry*. 2009;3(2):96-9.
169. Hammad HM, Hammad MM, Abdelhadi IN, Khalifeh MS. Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: a clinical and histomorphometric study. *International journal of dental hygiene*. 2011;9(1):9-16.
170. Dincer S, Babul A, Erdogan D, Ozogul C, Dincer SL. Effect of taurine on wound healing. *Amino acids*. 1996;10(1):59-71.
171. Ashkani-Esfahani S, Zarifi F, Asgari Q, Samadnejad AZ, Rafiee S, Noorafshan A. Taurine improves the wound healing process in cutaneous

leishmaniasis in mice model, based on stereological parameters. *Advanced biomedical research*. 2014;3:204.

172. Tian X, Zhang Z, Wang S, Diao Y, Zhao Z, Lv D. Copper-aurine (CT): a potential organic compound to facilitate infected wound healing. *Medical hypotheses*. 2009;73(6):1048-50.

173. Alvarez OM, Gilbreath RL. Thiamine influence on collagen during the granulation of skin wounds. *The Journal of surgical research*. 1982;32(1):24-31.

174. Alvarez OM, Gilbreath RL. Effect of dietary thiamine on intermolecular collagen cross-linking during wound repair: a mechanical and biochemical assessment. *The Journal of trauma*. 1982;22(1):20-4.

175. Aprahamian M, Dentinger A, Stock-Damge C, Kouassi JC, Grenier JF. Effects of supplemental pantothenic acid on wound healing: experimental study in rabbit. *The American journal of clinical nutrition*. 1985;41(3):578-89.

176. de Lucia MB, Martinelli C. [Tooth extraction wound healing after administration of vitamin B6 (pyridoxine). Histological study in rats]. *Arquivos do Centro de Estudos do curso de odontologia*. 1988;25-26(1-2):28-34.

177. Lakshmi R, Lakshmi AV, Bamji MS. Skin wound healing in riboflavin deficiency. *Biochemical medicine and metabolic biology*. 1989;42(3):185-91.

178. Neiva RF, Al-Shammari K, Nociti FH, Jr., Soehren S, Wang HL. Effects of vitamin-B complex supplementation on periodontal wound healing. *Journal of periodontology*. 2005;76(7):1084-91.

179. Yardimci I, Karakan T, Resorlu B, Doluoglu OG, Ozcan S, Aydin A, et al. The effect of intraurethral dexpanthenol on healing and fibrosis in rats with experimentally induced urethral trauma. *Urology*. 2015;85(1):274 e9-13.

180. Yu L, Xie J, Xin N, Wang Z. Panax notoginseng saponins promote wound repair of anterior cruciate ligament through phosphorylation of PI3K, AKT and ERK. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(1):441-9.

181. Kobuchi H, Droy-Lefaix MT, Christen Y, Packer L. Ginkgo biloba extract (EGb 761): inhibitory effect on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7. *Biochemical pharmacology*. 1997;53(6):897-903.

182. Liu CS, Cheng Y, Hu JF, Zhang W, Chen NH, Zhang JT. Comparison of antioxidant activities between salvianolic acid B and Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Acta pharmacologica Sinica*. 2006;27(9):1137-45.

183. Zhang XJ, Chinkes DL, Wolfe RR. The anabolic effect of arginine on proteins in skin wound and muscle is independent of nitric oxide production. *Clinical nutrition*. 2008;27(4):649-56.

184. Alexander JW, Supp DM. Role of Arginine and Omega-3 Fatty Acids in Wound Healing and Infection. *Advances in wound care*. 2014;3(11):682-90.

185. Saka M, Parlak E. Beslenme Destek Ürünleri: Hidroksi Metil Butirat, Glutamin ve Arjinin. *Güncel Gastroenteroloji*. 2015;19(1):4.

186. Braun S, auf dem Keller U, Steiling H, Werner S. Fibroblast growth factors in epithelial repair and cytoprotection. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*. 2004;359(1445):753-7.

187. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontology* 2000. 1997;15:55-62.

188. Matthijs S, Adriaens PA. Chlorhexidine varnishes: a review. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29(1):1-8.

189. Soheilifar S, Bidgoli M, Faradmal J, Soheilifar S. Effect of Periodontal Dressing on Wound Healing and Patient Satisfaction Following Periodontal Flap Surgery. *Journal of dentistry*. 2015;12(2):151-6.
190. Saito CT, Bernabe PF, Okamoto T, Murata SS, Hamata MM, Sundefeld ML. Evaluation of tissue response to periodontal dressings: histological study in tooth sockets of rats. *Journal of applied oral science : revista FOB*. 2008;16(3):219-25.
191. Oberg M, Svensson H, Bjork C, Flodin J, Wikstrom SO. A comparison of digital morphometry and clinical measurements of ears. *Journal of plastic surgery and hand surgery*. 2013;47(4):317-9.

8. ÖZGEÇMİŞ

Tuğçe Duygu KORUCUOĞLU 15.11.1988 tarihinde Van'da doğdu. İlköğretimini Artvin'de, orta ve lise öğretimini ise Ankara'da tamamladı. 2006 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinden 2011 yılında mezun oldu. 2012 yılında Abant izzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitime başladı. O tarihten itibaren aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmakta ve uzmanlık eğitime devam etmektedir.