

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



ENFEKTE YARA OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
***LACTOBACİLLUS RHAMNOSUS* GG VE İNTERLÖKİN 1**
ANTAGONİSTİNİN İYİLEŞME SÜRECİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

MEHTAP AYVACI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. HAYRETTİN AKDENİZ

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi HAYRİYE SOYTÜRK

BOLU, ARALIK - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Mehtap AYVACI tarafından hazırlanan “**Enfekte Yara Oluşturulmuş Sıçanlarda *Lactobacillus rhamnosus* GG ve İnterlökin 1 Antagonistinin İyileşme Sürecine Etkisinin Araştırılması**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 26/12/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Hayrettin AKDENİZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Erol AYZAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Hasan Tahsin GÖZDAŞ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %14' ü geçmemektedir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Araştırmalar Etik Kurulundan 2019/28 sayısı ile etik izin alınmıştır.

.....
MEHTAP AYVACI

ÖZET

ENFEKTE YARA OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA *LACTOBACİLLUS RHAMNOSUS* VE İNTERLÖKİN 1 ANTAGONİSTİNİN İYİLEŞME SÜRECİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

MEHTAP AYVACI

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HASTANE ENFEKSİYONLARINI ÖNLEME BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HAYRETTİN AKDENİZ)

(İKİNCİ DANIŞMAN: DR. ÖĞR. ÜYESİ HAYRİYE SOYTÜRK

BOLU, ARALIK - 2023

XIV + 69

Amaç; Bu çalışmada, enfekte yara oluşturulmuş sıçanlarda *Lactobacillus rhamnosus* ve interlökin 1 reseptör antagonisti uygulanmasının yara iyileşmesine etkilerinin morfolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesini amaçlanmıştır.

Yöntem; Bu çalışmada toplam 90 adet erkek sıçanlar kullanılmıştır. Yara grubu (S) ve enfekte yara grubu (B) olmak üzere 2 ana deney grubu oluşturulmuştur. Her iki grupta da Kontrol, Pozitif kontrol, *Lactobacillus rhamnosus* grubu, interlökin 1 reseptör antagonisti, *Lactobacillus rhamnosus*+interlökin 1 reseptör antagonist alt grupları olmak üzere her iki ana grupta toplam 10 gruptan oluşturulmuştur. Tüm grupların 1., 7., ve 14. günlerinde yara bölgelerinin fotoğrafları çekilmiş ve 3'er hayvan kurban edilerek alınan doku örnekleri morfolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak analiz edilmiştir.

Bulgular; Morfolojik değerlendirmelerde 7. gün enfekte yara ve yara gruplarının yara boyutları B3 ve S3 gruplarında anlamlı olarak diğer gruplardan daha küçüktür. Mikrobiyolojik değerlendirmede hem 1. günde hem de 7. günde B gruplarında bakterilerin çoğalması daha fazla iken, IL1 RA ve *Lactobacillus rhamnosus*' un ayrı ayrı ve birlikte uygulandığı gruplarda S. aureus çoğalmasını engellemiştir. Histopatolojik değerlendirmede 14. günlerde S3 grubunda S grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir. 7. ve 14. günlerde S2 grubunda BG'ye göre kolajen miktarının azalmış, S3 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarı artmıştır, B1 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Yara, Enfekte yara, *Staphylococcus aureus* *Lactobacillus rhamnosus*, İnterlökin 1 reseptör antagonist, Yara iyileşmesi

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* AND INTERLEUKIN 1 ANTAGONIST ON THE HEALING PROCESS IN INFECTED WOUNDED RATS

PHD THESIS

MEHTAP AYVACI

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT INFECTIOUS DISEASES PREVENTION OF
NOSOCOMIAL INFECTIONS PROGRAM

(SUPERVISOR: PROF. DR. HAYRETTİN AKDENİZ)

(CO-SUPERVISOR: DR. ÖĞR. ÜYESİ HAYRİYE SOYTÜRK)

BOLU, DECEMBER 2023

XIV + 69

Aim; This study aimed to evaluate the morphological, microbiological and histopathological effects of *Lactobacillus rhamnosus* and interleukin 1 receptor antagonist application on wound healing in rats with infected wounds.

Method; A total of 90 male rats were used in this study. Two main experimental groups were created: wound group (S) and infected wound group (B). In both groups, a total of 10 groups were created, including Control, Positive control, *Lactobacillus rhamnosus* group, interleukin 1 receptor antagonist, *Lactobacillus rhamnosus* + interleukin 1 receptor antagonist subgroups. Photographs of the wound areas of all groups were taken on the 1st, 7th and 14th days, and three animals from each were sacrificed and tissue samples taken were analyzed morphologically, microbiologically and histopathologically.

Results; In morphological evaluations, wound sizes of infected wounds and wound groups on the 7th day were significantly smaller in groups B3 and S3 than in the other groups. In microbiological evaluation, while the proliferation of bacteria was higher in groups B on both the 1st day and the 7th day, prevented the proliferation of *S. aureus* in the groups where IL1RA and *Lactobacillus rhamnosus* were applied separately and together. In histopathological evaluation, it was observed that the amount of collagen increased in the S3 group compared to the S group on the 14th day. On the 7th and 14th days, it was observed that the amount of collagen decreased in the S2 group compared to the BG, the collagen amount increased in the S3 group compared to the S2 group, and the collagen amount increased in the B1 group compared to the S2 group.

KEYWORDS: Wound, Infected wound, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus rhamnosus*, Interleukin 1 receptor antagonist, Wound healing

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xiii
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xiii
TEŞEKKÜR	xiv
1. GİRİŞ.....	xiv
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Yara ve İyileşme	4
2.2 Yara İyileşme Fazları.....	4
2.2.1 Homeostaz	4
2.2.2 İnflamasyon	6
2.2.3 Proliferasyon ve Onarım.....	7
2.2.4 Neovaskülarizasyon.....	8
2.2.5 Yeniden Epitelizasyon.....	9
2.2.6 Granülasyon.....	10
2.2.7 Yeniden Şekillenme.....	11
2.3 Yara İyileşmesi ve Enfeksiyon Varlığı.....	12
2.4 Yara İyileşmesi ve Lactobacillus rhamnosus	13
2.5 Yara İyileşmesi ve İnterlökin 1 Antagonisti.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	1Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
3.1 Deney Hayvanları Gruplarının Oluşturulması.....	16
3.2 Yara ve Enfekte Yara Modelinin Oluşturulması	17
3.2.1 Yara Modelinin Oluşturulması	17
3.2.2 Enfekte Yara Modelinin Oluşturulması.....	18
3.3 Tedavilerin Uygulanması.....	19
3.3.1 Laktobasil Uygulanması	19
3.3.2 İnterlökin 1 Reseptör Antagonistinin Uygulanması	19
3.4 Antibiyotik uygulanması	19
3.5 Yara Gözlemi ve Yara Bakımı (Metrik ölçüm).....	19
3.6 Analizlerin Gerçekleştirilmesi	20
3.6.1 Mikrobiyolojik Analiz	21
3.6.2 Histopatolojik Analiz.....	23
3.7 Verilerin Değerlendirilmesi	24

4. BULGULAR	25
4.1 Morfolojik Bulgular.....	25
4.1 Mikrobiyolojik Bulgular.....	30
4.1 Histopatolojik Bulgular	37
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
7. KAYNAKLAR.....	61



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Homeostaz fazı (82).....	6
Şekil 2.2. İnflamasyon fazı (82).....	7
Şekil 2.3. Proliferasyon fazı (82).	8
Şekil 3.1. Sıçanlarda yara modelinin oluşturulması	18
Şekil 3.2. Sıçanlarda enfekte yara modelinin oluşturulması.....	19
Şekil 4.1. Tüm grupların 1.günde yara boyutlarının ölçüm değerlerinin grafiği	28
Şekil 4.2. Tüm grupların 7. günde yara alanlarının ölçüm değerlerinin grafiği	28
Şekil 4.3. Tüm grupların 14. günde yara alanlarının ölçüm değerlerinin grafiği	29
Şekil 4.4. Tüm grupların yara alanlarının 1.,7. ve 14. günde ölçüm değerlerinin grafiği	30
Şekil 4.5. Tüm gruplardaki 1. gün koloni sayısının grafiği	31
Şekil 4.6. Tüm gruplardaki 1.gün doku gr başına düşen koloni sayısının grafiği	32
Şekil 4.7. Tüm gruplardaki 7. gün koloni sayısının grafiği	33
Şekil 4.8. Tüm gruplardaki 7. gün doku gr başına düşen koloni sayısının grafiği	34
Şekil 4.9. Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısının grafiği	36
Şekil 4.10. Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerdeki doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)' nın grafiği	37

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Deney Grupları.....	16
Tablo 4.1. Yara modeli oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 1. gün ölçülen yara boyutları (cm ²).....	25
Tablo 4.2. Yara Modeli Oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 7. gün ölçülen yara boyutları (cm ²).....	26
Tablo 4.3. Yara Modeli Oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 14. gün ölçülen yara boyutları (cm ²).....	27
Tablo 4.4. Yara Modeli Oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 1. gün, 7. gün ve 14. gün ölçülen yara boyutlarının Mean±SS değerleri (* p<0.05).30	
Tablo 4.5. Tüm gruplardaki 1. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçları.....	31
Tablo 4.6. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde fibrozis açısından değerlendirme	38
Tablo 4.7. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde fibrozis açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler.....	39
Tablo 4.8. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde akut inflamasyon açısından değerlendirme.....	39
Tablo 4.9. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde akut inflamasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler.....	40
Tablo 4.10. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde akut deri eki açısından değerlendirme.....	40
Tablo 4.11. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde akut deri eki açısından değerlendirmesine ait istatistik analizler	41
Tablo 4.12. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde epitelizasyon açısından değerlendirme.....	41
Tablo 4.13. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde epitelizasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler.....	42
Tablo 4.14. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde granülasyon açısından değerlendirme.....	42
Tablo 4.15. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde granülasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler.....	43
Tablo 4.16. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde kollojen açısından değerlendirme	43
Tablo 4.17. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde kollojen açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler.....	44
Tablo 4.18. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde kronik enflamasyon açısından değerlendirme.....	44
Tablo 4.19. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde kronik enflamasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler.....	45
Tablo 4.20. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde kurut açısından değerlendirme	45
Tablo 4.21. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde kurut açısından değerlendirmesine ait istatistik analizler.....	46
Tablo 4.22. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde nekroz açısından değerlendirme	46

Tablo 4.23. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde nekroz açısından değerlendirilmesine ait istatistiksel analizler	47
Tablo 4.24. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde ödem açısından değerlendirme	47
Tablo 4.25. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde ödem açısından değerlendirilmesine ait istatistiksel analizler	48



FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Ratlarda oluşturulan yara modelleri ve 1. 7., ve 14. Gündeki iyileşme süreçlerinden örnek fotoğraflar.	19
Fotoğraf 3.2. Sıçanlarda Yara Bölgesinin İmage J Programı ile ölçeklendirilmesi.	20
Fotoğraf 3.3. Mikrobiyolojik değerlendirmeler.	21
Fotoğraf 3.4. Koloni sayımları.	22
Fotoğraf 3.5. Laktobasil koloni değerlendirmesi.	22
Fotoğraf 4.1. B grubu 1. gün HE boyama görüntüsü.	49
Fotoğraf 4.2. B grubu 7. gün HE boyama görüntüsü.	49
Fotoğraf 4.3. BG grubu 14. Gün HE boyama görüntüsü.	50

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

B1	: Enfekte yara <i>L. rhamnosus</i> grubu
B2	: Enfekte yara İnterlökin 1 reseptör antagonisti grubu
B3	: Enfekte yara <i>L. rhamnosus</i> ve İnterlökin 1 reseptör antagonisti grubu
B	: Enfekte yara grubu
BG	: Enfekte yara antibiyotik (Gentamisin) grubu
cfu	: Colony forming unit (koloni oluşturan birim)
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
IL-1 ra	: İnterlökin 1 reseptör antagonisti
IL-1	: İnterlökin 1
<i>L. rhamnosus</i>	: <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
S	: Sham grubu (yara grubu)
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
S1	: Yara <i>L. rhamnosus</i> grubu
S2	: Yara İnterlökin 1 reseptör antagonisti grubu
S3	: Yara <i>L. rhamnosus</i> ve İnterlökin 1 reseptör antagonisti grubu
SG	: Yara antibiyotik (Gentamisin) grubu
VEGF	: Vasküler endotelyal hücre büyüme faktörü
gr	: Gram

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardım ve desteğini benden esirgemeyen kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Hayrettin AKDENİZ'e, tez çalışmam boyunca çok büyük bir payı olan, her konuda destek olan ve kendisinden çok şey öğrendiğim ikinci tez danışmanım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK'e, eğitim sürecimde elinden gelen desteği esirgemeyen Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Doç. Dr. Hasan Tahsin GÖZDAŞ teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda yer alan mikrobiyolojik değerlendirmeleri yapan ve her türlü yardımda bulunan Dr. Yusuf AFŞAR'a, çalışmanın histopatolojik değerlendirmeleri yapan ve desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ali Can ÖNAL'a çok teşekkür ederim.

Hayvan deneylerinin gerçekleştirilmesinde her türlü yardım ve destekleri ile yanımda olan değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Yusuf Talha İÇOĞLU, Dr. Ayşegül YILDIZ, Yüksek Lisans Öğrencisi Onur DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak her zaman yanımda olup bana her konuda yardımcı olan sevgili eşim Hasan AYACI ve en değerli varlığım canım kızım Elif AYVACI'ya destekleri sayesinde bu günlere geldiğim sevgili babama, anneme ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma Bolu İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında BAP – 2021.10.03.1511 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Bu araştırma Türkiye Cumhuriyeti Yükseköğretim Kurulu'nun YÖK 100/2000 Doktora Bursu programı kapsamında desteklenmiştir.

1. GİRİŞ

Dünya genelinde yara tedavisi uzun süren, zor ve meşakkatli bir süreçtir. Mikrobiyal flora ve yara iyileşme süreçleri arasındaki ilişkiyi anlamak yoğun çalışma gerektirir. Çoğu yara, kan dolaşımını bozarak yara iyileşim süreçlerini zorlaştırmaktadır. Yara onarım mekanizması ve hücresel cevap karmaşıktır ve yara iyileşme süreçlerine ait mekanizmaların aydınlatılabilmesi için hala çalışmalar yapılmaktadır. Biyofilm koruması altında patojenler bağışıklık sistemi tarafından etkili bir şekilde uzaklaştırılmaz, bu da sürekli kronik inflamatuvar yanıtla birlikte kronik bir enfeksiyona yol açar ve yara iyileşmesinin fizyolojik sürecini geciktirir (70). Bu nedenle kronik yaraların iyileşmesinde biyofilmin ortadan kaldırılması büyük önem taşımaktadır. Ayrıca tedavi amacıyla kullanılan antibiyotikler mikroorganizmaların direnç kazanmasına sebep olmaktadır ve yara tedavisini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle yara tedavisinde yaygın antimikrobiyal ajanların kullanımına alternatif farmakolojik tedavilere daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu amaçla enfekte yara tedavisinde kullanılacak olan *Lactobacillus rhamnosus* GG (*L. rhamnosus* GG), interleukin 1 reseptör antagonisti ve birlikte kullanımları enfekte yara tedavisinde alternatif olabilir.

L. rhamnosus' un atopik dermatit cilt hastalığını iyileştirme özelliği ve anti-inflamatuvar etkisi vardır. İnsan keratinine karşı etkili yapışma sağladığı görülmüştür (1). Ayrıca *L. rhamnosus*' un topical yanık tedavisinde kullanıldığı bir çalışmada yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı, yara bölgesine fibroblastik göç sağlayarak yeniden epitelizasyon hızını artırdığı bulunmuştur (2). Başka bir çalışmada gastrik ülser oluşturulan sıçanlarda gavaj yoluyla *L. rhamnosus* GG kullanılmıştır. *L. rhamnosus*' un apoptozisi azalttığı, ülser kenarındaki ornitin dekarboksilaz, B hücre lenfoma 2 (Bcl-2) protein regülasyonunu önemli ölçüde arttırdığı, vasküler endotelial hücre büyüme faktörü (VEGF) ile anjiyogenez uyardığı, epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGF) fosforilasyonunu artırarak mide ülserinin iyileşmesine olumlu katkı sağladığı bildirilmiştir (3). Bu özellikleri ile *L. rhamnosus*' un yara iyileşme evrelerinde etkili olacağı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda *L. rhamnosus* GG' nin *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)' a karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. *L. rhamnosus* bakteriyel büyüme inhibisyonu yapar ve bakteriyel yapışmanın azalmasında rol oynar (4). Bu bilgiler doğrultusunda *S. aureus* 'un neden olduğu enfekte yarada *L. rhamnosus* bakteriyel

büyümeyi engelleyebilir, bakteriyel yapışmayı azaltabilir böylece enfekte yara tedavisinde yararlı olabileceği muhtemeldir. Ayrıca anjiyogenez uyarıp, epitelizasyonu artırıp yara iyileşmesini hızlandırabilir.

Enfekte yara iyileşimine katkı sağlayabileceği düşünülen diğer bir ajan interlökin 1 reseptör antagonistidir. İnterlökin 1 ailesi (IL-1F) sitokinleri ve reseptörleri doğal inflamatuvar cevaplarda mediyatördürler. Pro- inflamatuvar ve antiinflamatuvar işlev görürler (5). Savunmanın ilk hattı olarak görev yapan IL-1 ailesi, fiziki hasar ve invaziv patojenik mikroorganizmalara karşı inflamasyon ve immün cevaplarda önemli rol oynarlar (6). Klinik ve deneysel kanıtlar şok, artrit, osteoporoz, kolit, lösemi, diyabet ve ateroskleroz gibi durumlara interlökin 1(IL-1)'in aracılık ettiğini göstermiştir (7). Bu sitokinin inhibisyonu, hastalıkların tedavileri için çalışmalara yön vermiş ve yeni ilaç geliştirmek için bir strateji olmuştur. (7). IL-1 Ra, IL-1 α ve IL- 1 β olarak iki ana subuniti olan bir proteinden oluşan IL-1'in reseptör antagonistidir. Güçlü bir anti- inflamatuvar sitokin olan IL-1Ra, periodontitis, vaginitis, non-Hodgkin lenfoma, gastrik kanser, osteoartrit, prekanseröz lezyonlar ve inflamatuvar barsak hastalıkları gibi otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkilidir (8). Eksizyonel cilt yarası yapılmış bir fare çalışmasında IL-1 ra'nın yokluğunun yara iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir. IL-1 ra eksikliğinde yara bölgesinde nötrofil artışı bulunmuştur. Cilt yara bölgelerinde IL-1 ra yokluğu IL-1'leri ve TNF- α (Tümör nekrozis faktör- alfa) üretimini artırabildiği, IL-1 ra'nın yokluğu CXC kemokin gen ekspresyonunu arttırdığı, böylece nötrofil miktarını da arttırdığı bulunmuştur. Yaralanma durumunda IL-1 ra yoksun farelerde NF-KB (Nükleer Faktör Kappa B) aktivasyonunun uzadığı görülmüştür. IL- 1 ra'nın yokluğu histopatolojik olarak incelendiğinde kolajen birikimini azalttığı ve granülasyon doku oluşumunu geciktirdiği gösterilmiştir. IL-1 ra'nın yokluğu SMAD 7'nin ekspresyonunu indükleyerek kısmen TGF- β 1/ SMAD sinyalini negative olarak düzenlediği ve kollojen üretimini azalttığı bulunmuştur. IL-1 ra'nın yoksunluğu cilt yaralarında anjiyogenez azalttığı ve kısmen VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) ekspresyonunu kısmen azalttığı gösterilmiştir (9). Diyabetik farelerde oluşturulan yara çalışmasında lokal olarak yara kenarlarına deri altından IL-1 ra enjekte edilmiş ve akut inflamasyona olumlu katkı sağlayıp kutanöz yara iyileşimini hızlandırdığı bulunmuştur ve sonuç olarak iyileşmeyen yara tedavisinde yararlı olabileceği

belirtilmiştir (10). Korneal alkali yaralanma oluşturulan bir sıçan çalışmasında lokal IL-1 ra kullanılmış, epitelyal kapanma ve iyileşmeyi hızlandırdığı, korneal iltihabı azalttığı ve korneal şeffaflığı arttırdığı bulunmuştur (11). Bu verilere dayanarak IL-1 ra'inflamasyona olumlu katkı sağlayacağı, vasküler endotelyal büyüme faktörünü uyarak anjiyogenez artırabileceği beklenmektedir. Ayrıca *L. rhamnosus* GG ve IL-1 ra'nın birlikte kullanımı iyileşmesi zor ve enfekte yara tedavisine olumlu katkıda bulunabileceği ve iyileşme süresi üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak *L. rhamnosus* ve IL-1 ra'nın hem yara iyileşmesinde hem de enfeksiyonda olumlu etkilerinin görülmesi muhtemeldir. Bahsedilen konu ve kapsamdan anlaşılacağı üzere yara iyileşme süreçleri, tedavi geliştirilmeye açık ve ihtiyaç duyulan, çözüm bekleyen durumlardır. Bu projenin amacı, iyileşme süreçlerini daha karmaşık hale getiren, uzamasına sebebiyet veren yara ve enfekte yara durumlarına karşı literatürde de belirtilen özelliklere sahip *L. rhamnosus* ve IL-1 ra'nın katkılarını araştırmak ve bu alanda uygulanabilirliğini saptamaktır.

Bu amaçlar doğrultusunda şu alt hedeflere ulaşılması planlanmaktadır:

1) Enfekte yara iyileşme evrelerinin histopatolojik olarak ayrıntılı incelenmesi.

L. rhamnosus ve IL-1 ra'nın tek tek ve birlikte kullanımının enfekte yara iyileşme süreçlerine 1., 7. ve 14. günlerde etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi ile literatüre katkı sağlayacaktır.

2) *L. rhamnosus* ve IL-1 ra'nın antimikrobiyal etkisinin gözlemlenmesi.

L. rhamnosus ve IL-1 ra'nın tek tek ve birlikte kullanımının enfeksiyon etkenine karşı antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi.

3) Enfeksiyon etkenine karşı *L. rhamnosus*, IL-1 ra'nın tek tek ve birlikte kullanımının antimikrobiyal ajan (antibiyotik) ile karşılaştırılması sağlanabilecektir

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Yara ve İyileşme

İnsan vücudunun cilt ve mukoza gibi epitelyal yüzeyi, normal mikroflora olarak adlandırılan çok sayıda organizma tarafından kolonizedir. Normal mikroflora esas olarak kommensal bakterilerden oluşur. Bu bakteriler konakçıyla etkileşime girerler ve bu etkileşim konakçının sağlığı için önemlidir (12, 13, 14). İnsan mikroflorası denge halindedir. Herhangi bir sebeple doku hasara uğradığında mikroflora dengesi bozulur. Bu durum mikrobiyal kolonizasyona sebep olabilir ve sonrasında enfeksiyonlar meydana gelebilmektedir (15). Cilt ve mukozayı oluşturan yapıların çeşitli nedenlerle bütünlüğünün bozulması veya bu yapıların kaybı ile fizyolojik özelliklerinin geçici veya kalıcı olarak kısmen ya da tamamen kaybolmasına “yara” adı verilir. İnsizyonlar, laserasyonlar, sıyrıklar, avülsiyonlar, delinme yaraları, delici yaralar, ateşli silah yaralanmaları, yanık yaraları, termal yanıklar, kimyasal yanıklar, elektrik yanıkları ve radyasyon yanıkları gibi yaralar açık yaralardır (16). Yara oluşumundaki etkenlerin farklı olması hasar gören dokunun bu etkene olan cevabını değiştirmektedir. Bu nedenle yara bölgesinin vermiş olduğu farklı cevaplarla ortaya çıkan değişik tabloların tedavilerinde de farklılıklar olmaktadır.

2.2 Yara İyileşme Fazları

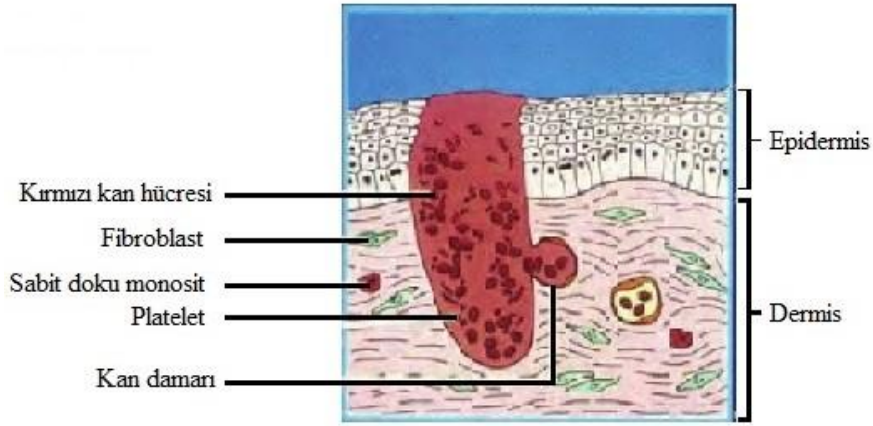
Yaralanmanın başlangıç anından itibaren başlayan iyileşme süreci günler, aylar ve hatta yıllar boyu sürebilir (17, 18).

Yara iyileşmesi, bir dizi ardışık olayları içeren fizyolojik bir süreçtir. İlk aşama, hemostaz yaralanma anında meydana gelir ve genellikle saatler içinde tamamlanır. İkinci aşama, iltihaplanma, hemostazdan kısa bir süre sonra başlar ve genellikle yaralanmadan sonraki ilk 24 ila 72 saat içinde tamamlanır; ancak yaralanmadan 5 ila 7 gün sonraya kadar bile sürebilir. Proliferasyon ve onarım, üçüncü aşama, yaralanmadan 1 ila 3 hafta sonra ortaya çıkar. Dördüncüsü ve son aşama, yeniden şekillenme, yaralanmadan yaklaşık 3 hafta sonra başlar ve fizyolojik tamamlanmanın sağlanması aylar hatta birkaç yıla kadar sürebilir (19).

2.2.1 Homeostaz

Cilt yaralanması olduğunda genellikle kanama meydana gelir. Bu kanama sadece yaradaki mikroorganizmaları veya antijenleri temizlemeye hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda homeostazı aktive eder. Homeostaz çeşitli faktörler

tarafından başlatılır. Yaralanmış deri hücreleri tarafından salınan pıhtılaşma faktörleri, ekstrasik pıhtılaşma kaskadını aktifleştirir. (20,21). Trombosit agregasyonu ve hasarlı deriden kollajenin açığa çıkmasıyla intrinsik pıhtılaşma kaskadı başlar ve trombosit aracılı vazokonstriksiyonu tetikler (21). Vazokonstriksiyon, kan kaybını önlerken, fibrin pıhtısı yaralanma bölgesi üzerinde geçici bir tıkaç oluşturur ve mikroorganizmaların içeri girmesini önler. Homeostaz hem koruyucu role sahiptir hem de yara iyileşmesinde kritik bir role sahiptir (22). Fibrin tıkaçı, fibroblast ve keratinositlerin akışını yönlendiren ve destekleyen geçici bir matriks veya yapı iskelesidir (23). Bu geçici matriks, fibrin ve fibronektinden oluşur. Fibronektin, fibrine afinitesi olan bir yapışma proteindir. Kanda dolaşır ve diğer dokularda da bulunur. Fibronektin, yara iyileşmesine çeşitli şekillerde katılır. Yara onarım hücrelerinin göçü için bir kimyasal çekici ve kollajen liflerinin birikmesi için bir şablon görevi görür. Ayrıca hücre dışı matriks (ECM) artıklarını bozarak ve makrofajların fagositik özelliklerini aktive ederek yara debridmanına katılır (23). Trombosit aktivasyonu sonucunda, doku onarımı sürecini indükleyen ve ek bağışıklık savunmalarını aktive eden degradnülasyon ve çeşitli güçlü sitokinlerin salınması gerçekleşir. Aktif trombositler, yarada açığa çıkan kollajen liflere bağlanarak yeni ECM maddelerinin üretimini de uyarır (23). Bu sitokinlerin aracılık ettiği spesifik mekanizmalar, inflamatuvar hücrelerin yaralanma bölgesinde yeni hücreleri (epitelizasyon) ve kan damarlarını (anjiojenez) içerir. Bu sitokinlerin çok küçük miktarlarına ihtiyaç duyulur (24). Sitokin gruplarından üretilen bir sitokin de trombosit aracılı büyüme faktörleridir. Bu büyüme faktörleri, fibroblastların ve keratinositlerin akışı, kollajen ve diğer ECM proteinlerinin sentezi, hücre regülasyonu gibi moleküler işlemler, yara mikro çevresinde hücrelerin taşınıp düzenlenmesi, yeni kapillerin ve vasküler yatakların doğrudan büyümesi, oluşan bağ dokusunun yeniden şekillenmesi için kullanılan enzimlerin sentezi gibi çeşitli işlemlerden sorumludur (25, 26). Homeostoz fazı Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.

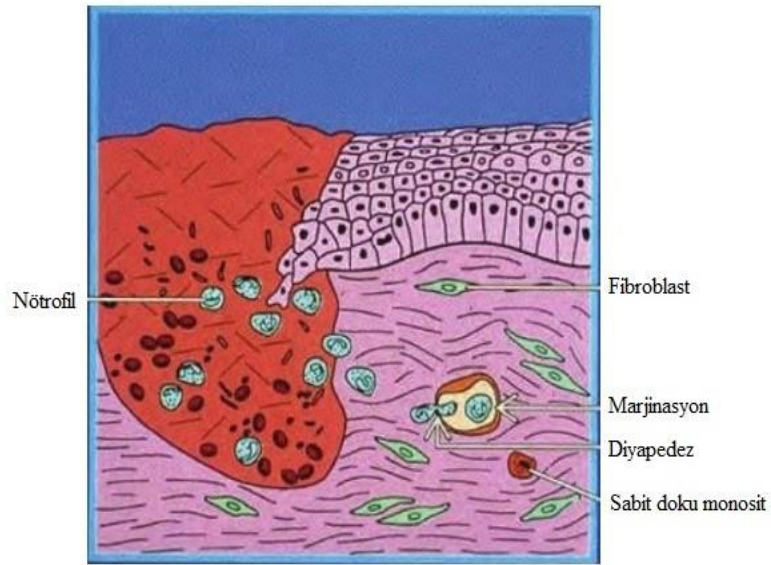


Şekil 0.1. Homeostaz fazı (82).

2.2.2 İnflamasyon

İnflamasyon yara iyileşmesinin ikinci basamağını oluşturur. İnflamatuar yanıt, yaralı doku hücreleri ve kılcal damarlardan salınan çeşitli araçlar, aktive trombositler ve bunların sitokinleri ve hemostazın yan ürünleri tarafından tetiklenir. Yaralanmadan sonra birkaç dakika içinde nötrofiller yara bölgesine gelir (22, 24, 27). Nötrofiller ayrıca lokal fibroblastları ve epitel hücrelerini aktive ederek yara onarımını da başlatır (28). Monositler, lenfositler ve plazma hücreleri de dahil olmak üzere diğer beyaz hücreler de yaralanma bölgesine göç ederler. Nötrofiller ilk birkaç gün baskın bulunur ve yara enfekte olmazsa kaybolurlar (21, 24, 27). Enfeksiyon varlığında enfeksiyon kontrol altına alınana kadar nötrofil infiltrasyonu devam eder. Enfeksiyonun yokluğunda, mevcut monositler makrofajlara farklılaşır ve yaralanma bölgesindeki ana fagositik hücre haline gelir (20). Yara iyileşme sürecinin geri kalan kısmında da makrofaj infiltrasyonu baskındır. Makrofajlar mikroorganizmaları, ölü nötrofilleri, fibrin pıhtısını ve diğer hücre kalıntıları sindirir. Yara onarımını başlatmak için nitrik oksit sentezler ve sitokinleri salgılar (19). Makrofaj, yara iyileşmesindeki temel rolü nedeniyle yara iltihabı ve yara onarımı arasındaki geçiş hücresidir. İmmün savunma gereksinimi azaldıkça makrofajlar yara iyileşme sürecinin düzenlenmesini üstlenir (30). Trombosit gibi makrofaj da yara içindeki yeni bağ dokusu ve vasküler yatakların organizasyonu, göçü, çoğalmasında yer alan büyüme faktörlerini içeren çeşitli sitokinleri sentezler. Makrofaj depolanmış sitokinleri serbest bırakan trombositlerden farklı olarak, doku onarım sürecinin devam etmesini sağlayarak zaman içinde sitokinleri sentezleyip salgılayabilir (24, 25, 26, 27). Makrofajlar matriks metalloproteinazlar ya da metalloproteinazlar (MMP'ler) adı verilen özel enzimler üretirler (20). Yara

debridmanında ve yeni oluşan bağ dokusunun şekillenmesinde çok önemli bir role sahip enzim kollajenazdır. Yara iyileşmesinin inflamatuvar aşamasında önemli bir diğer mekanizma ise serotonin, bradikinin, prostaglandinler ve histamin gibi vazoaaktif maddelerin aktivasyonudur (24, 27,30). Bu maddeler, yaralanma bölgesi içindeki endotelin geçirgenliğini artırır ve bölgeye perfüzyonu artırır. Artan geçirgenlik, bağışıklık ve onarım hücreleri tarafından sızmayı kolaylaştırırken, artan dolaşım oksijen dağıtımını artırır. Sonuç olarak, yaralanma bölgesindeki sıcaklık artar ve yaraya sıvı sızmaya başlar. Bu da ciltte eritem ve ödeme sebep olur. İyileşmenin bir sonraki aşaması için, yara içinde oluşturulan sıcak, nemli mikro ortam gereklidir (24, 27). Yara iyileşmesinin iltihaplanma aşamasının sonunda kanama kontrol edilir. Yara yatağı temizdir. Bu da hücre çoğalması ve onarımının bir sonraki aşaması için uygun ortamı yaratır. İnflamasyon fazı Şekil 2.2.'te gösterilmiştir.

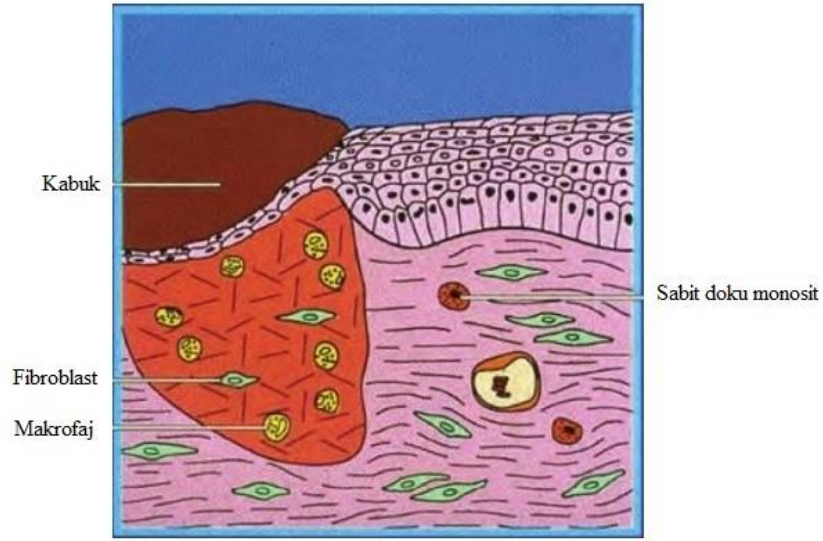


Şekil 0.2. İnflamasyon fazı (82).

2.2.3 Proliferasyon ve Onarım

Proliferasyon ve onarım üç aşamadan gerçekleşmektedir. Yara yüzeyinin yeni deri ile kaplanması (yeniden epitelizasyon), yara bölgesine damar bütünlüğünü geri kazandırma (neovaskülarizasyon) ve hasarlı dokunun yapı bütünlüğünün yeni bağ dokusu ile dolgu yapılarak onarılması (granülasyon)'ndan oluşur (24, 27). Bu aşamalarda fibroblast ve keratinosit anahtar hücrelerdir. Yaranın çevresinin nemli olması da proliferasyonu ve onarımı kolaylaştırmaktadır. Sızan sıvı veya eksüda, sitokinler açısından zengindir ve bu sitokinler yeni doku büyümesini sağlar. Yaralanma meydana geldikten kısa bir süre sonra oksijenin kısmi basıncı 10

mmHg'ye düşer, karbondioksitin kısmi basıncı 80 mmHg'ye yükselir ve pH 6.8 olur. Böylece yara yatağında hipoksi ve asidoz gelişir (31). Hipoksi ve asidoz süreci anjiyogenez (yeni kan damarlarının büyümesi) ve kolajen sentezini uyarmaktadır. Bunun sonucunda laktat veya laktik asitte artışa sebep olur. Laktat, hücre enerji metabolizması ve transkripsiyonunda yer alan çeşitli enzimlerin konsantrasyonunu düzenler. Böylece artan laktat seviyeleri, yara içinde kolajen sentezini uyarır. Kollajen, kısmi olarak ya da yeni gelişen dokuya oksijen iletimini sağlar (19). Proliferasyon ve onarım fazı Şekil 2.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 0.3. Proliferasyon fazı (82).

2.2.4 Neovaskülerizasyon

Vaskülerizasyonu onarma sürecine neovaskülerizasyon ya da anjiyogenez denir. Neovaskülerizasyon, büyüme faktörleri ve doku hipoksisi tarafından uyarılmaktadır. Yaranın iyileşme sürecinin başlangıcında yaranın en canlı kısımları, yara kenarları ve alttaki dermal vasküler yatakla temas halinde olan vasküler beslenme için damara erişimi olan kısımlardır (32). Bu kısım vasküler yara merkezi ile vaskülarize yara sınırları arasında hipoksik bir gradyan oluşturmaktadır (24, 27). Artan endotelial geçirgenlik, besinlerin sağlam vasküler yataktan interstisyuma ve yaranın bölgesine sızmasına izin verir. Bu da neovaskülerizasyon oluşana kadar gelişen onarım sürecini sürdüren, besin açısından zengin bir mikro çevre yaratır. Yara yüzeyinin kapatılması, hipoksik bir yara ortamı oluşturmak için gereklidir. Hemostaz sırasında oluşan fibrin pıhtısı, sonunda yeni epidermal hücrelerle değiştirilen geçici bir örtü sağlar. Böylece anjiyogenezin ilerleyebileceği kapalı bir sistem sağlanmış olur (23). Hipoksi

olduğunda, makrofajlar anjiyojenik büyüme faktörlerini salgılamaktadır. Laktik asidozda anjiyojenezi uyarır (31). Fibroblast büyüme faktörü ve vasküler endotelial büyüme faktörü gibi trombosit ve makrofajdan türeyen büyüme faktörleri, endotel hücreleri tarafından salınır ve yara kenarları boyunca anjiyojenezi uyarır (22). Yeni kan damarları, alttaki dermisteki sağlam damarlardan tomurcuklanır (32). Yeni kılcal tomurcuklar kılcal halkalar oluşturmak üzere birleşir ve böylece yara içinde kan akışını sağlar (23). Yeni tomurcuklar kılcal halkalardan yara ortamına doğru uzanır. Arborizasyon işlemi yara ortamındaki hipoksi tarafından uyarılır ve yara boyunca yeni damarların büyümesi gerçekleşir. Neovaskülarizasyonun diğer bir temel gereksinimi, yeterli oksijen kaynağına sahip uygun bir ECM'nin oluşturulmasıdır. Kollajen birikimi, aortik endotel hücre göçü için kritik öneme sahiptir (23). Oksijen bağımlı olan birkaç anahtar enzim, kollajen sentezini kontrol eder. Bu hız sınırlayıcı enzimler, 100 mL kan başına yaklaşık 1mL oksijen çıkardığından (31) gelişen dokuya oksijen verilmesi, toplam oksijen miktarından daha önemlidir. Bu nedenle, yaralanma bölgesine perfüzyon oksijenasyonun ana belirleyicisidir (23).

2.2.5 Yeniden Epitelizasyon

Keratinositler hasarlı cilt yüzeyini tamamen kapladığında yeniden epitelizasyon meydana gelir. Yara kenarları boyunca keratinositler yoğun mitotik aktivite geçirirler. Büyüme faktörleri tarafından uyarılan keratinositler, yaralanmadan sonraki 12 ila 24 saat içinde çoğalır ve yara yatağında migrasyona başlar (32, 33). Keratinositler, proliferasyon için yaralanma bölgesine göç etmek zorundadır. Göç için akıcı bir ortam olmalıdır. Kemotaktik bir gradyan tarafından göç kontrol edilmektedir. Akışkan bir yüzey yoksa keratinosit akışkan ortamı bulmak için proteolitik enzim salgılar. Böylece proteolitik enzimle aşağı doğru oyulmayı sağlarlar (24, 27, 34). Göçün ilk basamağını, keratinositlerin birbirinden ayrılmasını ve keratinositlerin hücre bazal membranına çapalarını içerir (35). Göç eden keratinosit daha sonra ihtiyaç duyulan büyüme yönünde uzayarak dönüşüm geçirir. Uzatılmış keratinositin ön ucu, yara yatağındaki yeni bir noktaya yapışır. Hücre daha sonra büzülerek yara yüzeyi karşısına kendini ileri doğru çeker. Bu işlem, yaranın karşı taraflarında göç eden hücreler birbirine değene kadar tekrarlanır. Temas noktasında, temas inhibisyonu olarak adlandırılan süreçte göç durur (35). Keratinosit göç için kullanılan diğer bir süreç sıçramadır. Sıçrama, "tek bir hücre yalnızca 2 veya 3 hücre hücre uzunluğunda hareket ettiğinde ve ardından

ardışık hücrelerin ‘üzerine tırmanmasına ‘ izin vererek durduğunda" meydana gelir (24). Keratinositler yara boyunca çoğalıp göç ettikçe, matriks boyunca göçü artıran yüzey belirteçlerini tarafından ECM’nin şekillendirilmesine katılırlar (23). Göç aşamasında destekleyici yapılar, geçici çapalar sağlamak için bozulur ve yeniden sentezlenirler. Migrasyon tamamlandıktan sonra, keratinositler birbirine ve yeni bazal membrana sıkı bağlar oluşturarak kendilerini stabilize ederler (23, 26). Göç yara kenarlarından merkeze doğru ilerler (22, 23). Cilt yüzeyi tamamen yeni epidermal hücrelerle kaplandığında yara kapalı kabul edilmektedir. Canlı epidermisi olan açık yaranın erken kapatılması esastır. Alttaki dokunun yeniden şekillenmesini indüklemektedir. Yara erken kapandığında yaralanan bölgede hipertrofik skar dokusu geliştirme durumu azalmaktadır (32).

2.2.6 Granülasyon

Proliferasyon ve onarımın üçüncü ve son mekanizması granülasyon dokusunun gelişmesidir. Fibrin/ fibronektin matriksinin yerini alan bir geçiş maddesi olan granülasyon dokusu, yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra ortaya çıkmaya başlamaktadır (23, 32). Granülasyon, fibrin pıhtı iskelesinin, hyalüronan (hyalüronik asit), fibronektin ve ECM bileşikleri açısından zengin yeni doku ile değiştirilmesiyle oluşmaktadır. Granülasyon dokusu metabolik olarak çok aktiftir. Çeşitli hücre ve proteinlerin çoğalmasını desteklemektedir. Oldukça damarlı bir yapıya sahiptir (32). Bu yüzden pembemsi- kırmızı görünmektedir. Granülasyon dokusunda fibroblast baskın olarak bulunmaktadır (32). Fibroblastlar, kolajen ve ECM’yi oluşturan çok sayıda madde üreten dermal hücrelerdir. ECM, yapışmayı ve göçü destekleyen maddelerden (fibronektin), doku hidrasyonunu destekleyen glikoaminoglikanlar (hyalüronan); büyüme faktörleri, enzimler ve pıhtılaşma proteinleri (kondroitin sülfat) dahil olmak üzere çeşitli maddelerin düzenlenmesinde, göçünde, depolanmasında yer alan proteoglikanlar, matris proteinleri; güç ve esneklik sağlayan glikoproteinler (kolajenler, elastin)’den oluşmaktadır (23,36). Fibroblast göçü ve proliferasyonu; trombosit kaynaklı büyüme faktörü, dönüştürücü büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü ve inflamatuvar yanıtın aktive edilmiş hücreleri tarafından salınan kompleman C5a’dan gelen sinyallerle tetiklenir (32). Fibroblastların akışı, geçici fibrin / fibronektin matrisinin bozulmasına ve yeni bir matris ile değiştirilmesine neden olmaktadır. Fibroblastlar yaraya göç ettikten sonra, hyalüronan ve fibronektin proteinlerini sentezlemeye başlar (23, 32). Yeni matris hücre göçü ve

organizasyonu için bir iskele sağlayan fibronektin ve kolajen düşük empedanslı bir ortam sağlayarak göçü kolaylaştıran hyalüronan ve temel sitokinleri sağlayan makrofajlardan ve diğer maddelerden oluşur (23). Normal dermal fibroblastlar ve granülasyon dokusunun oluşumunda rol oynayan fibroblastlar hem yapı hem de fonksiyon açısından farklılık gösterir. Yaralanmış fibroblastlar, kolajen sentezinde yer alır (24, 27). Bu fibroblastlar, proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar ve kolajen üretir ve salıverirler (21). Fibroblastlar yara kontraksiyonu sürecinde miyofibroblastlara farklılaştıktan sonra katılırlar (34). Farklılaşmış fibroblastlar, aktin gibi kontraktıl proteinler içermektedir (21). Miyofibroblastlar paketlenmiş gruplar şeklinde düzenlenir. Bu düzenleme, miyofibroblastın, kasılma süreci boyunca yara kenarlarını birlikte çekmesini sağlar (34). Kasılma yaranın boyutunu küçülttüğü ve onarım için gereken ECM miktarını azalttığı için iyileşme süresini kısaltmaktadır (37). Kasılma ayrıca, göç eden keratinositlerin kat etmesi gereken mesafeyi kısaltır ve yeniden epitelizasyonu kolaylaştırır (23).

2.2.7 Yeniden Şekillenme

Yara iyileşmesinin son aşaması, granülasyon dokusunun olgun bağ dokusu ve / veya yara izinin yeniden şekillenmesi veya olgunlaşmasıdır (34). Yeniden şekillenme için en önemli hücreler makrofajlar ve fibroblastlardır. Kolajenleri çapraz bağlayarak ECM'nin yeniden şekillendirilmesi, hücre olgunlaştırılması ve programlı hücre ölümü ya da apoptoz yaranın yeniden şekillenmesinde kullanılan mekanizmalardır (23). Kolajen sentezi yaralanmadan yaklaşık 5 gün sonra en yüksek seviyeye ulaşmasına rağmen haftalar veya aylarca devam eder (20, 24, 27, 38). Yaranın yeniden şekillenmesi farklı bölgelerde farklı zamanlarda başlar. ECM'ye bağlı büyüme faktörleri ve MMP'ler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından aktive edilir, bu da matriksin bozulmasına ve hücrelerin farklılaşmasına neden olur (39). Kolajen ilk önce, öncü formu olan prokolajen adı verilen üçlü sarmal protein olarak salınır. Prokolajen daha sonra paralel biçimde düzenlenir ve daha kalın ve daha güçlü iplikler oluşturmak için çapraz bağlanan lifler halinde oluşturulur (24, 27). Bu işlem gevşek granülasyon dokusu matriksini stabil bir ECM'ye dönüştürür (40). Onarılmış doku ile yaralanmamış cilt arasında önemli farklılıklar vardır. Yeni bağ dokusu, alttaki bağ dokusu matriksine iyi bağlanmamıştır ve normal deriden daha kalındır (32). Bu süre boyunca fibronektin ve hyalüronan değiştirilir, kolajen demetleri boyut ve güç olarak büyür, neovaskülarizasyon durur ve ECM içindeki metabolik aktivite azalır. Tip III kolajen

%30'dan %10'a düşer ve bunun sonucunda çok daha güçlü bir doku oluşur (32). Makrofajlar, keratinositler, fibroblastlar ve miyofibroblastlar gibi hücrelerin yoğunluğu apoptoz ile azalır (23, 32). Programlanmış hücre ölümüne maruz kalan ilk hücreler keratinositlerdir; ikincisi de miyofibroblastlardır (23). Yeniden şekillenme, hücre farklılaşmasını kontrol eden ECM bileşenlerinin ve fibroblastlardan MMP'lerin senteziyle düzenlenir.

2.3 Yara İyileşmesi ve Enfeksiyon Varlığı

Yara iyileşme süreçlerini etkileyen en önemli faktörlerden biri de enfeksiyon varlığıdır. Enfeksiyonlar yaranın iyileşme sürecini uzatmakta ve kronik yara oluşumuna sebep olmaktadır (16). Yara enfeksiyonunda en çok görülen ve en sık görülen mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *B-hemolitik streptococcus*'tur ve ciltte "geçici flora" olarak adlandırılır. Enfekte yaralar daha yavaş iyileşir ve skar sıklığı artar (41). Hem antiseptikler hem de antibiyotikler dahil olmak üzere topikal antimikrobiyal ajanlar şu anda enfeksiyon riskini azaltmaya yardımcı olmaktadır. Antimikrobiyal ilaçların aşırı kullanımı, yanlış kullanımı ve yaygın profilaktik uygulaması, ilaca dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (42). Mikrobiyal direnç oranları dünya çapında eşit dağılmasa da, antibiyotiklere karşı mikrobiyal direnç dünya çapında tıbbi, ekonomik ve halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (42). Bu sebeple farklı tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Direnç geliştiren enfeksiyon etkenlerinin en önemlilerinden biri de *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)'tur. Yara enfeksiyonuna ve yara iyileşmesinin gecikmesine neden olabilir (42). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), cilt ve cilt yapısı enfeksiyonlarından bakteriyemi ve nekrotizan pnömaniye kadar geniş bir enfeksiyon spektrumuna neden olan fırsatçı bir nozokomiyal enfeksiyondur. Çok sayıda virülans faktörü olması tedavisini zorlaştırmaktadır (43). *Staphylococ*'lar tipik olarak mikroorganizmaların yüzeye yapışarak ürettikleri ekzopolisakkarit matriks içine gömülü halde, yüzeye tutunmasını sağlayan biyofilme sahiptir. Bu matriks aynı zamanda biyofilm tabakasına stabiliteyi sağlar ve yapışmaya yardımcı olur. Biyofilm *Staphylococcus* enfeksiyonların patogeneğinde ve mikrobiyal dirençte önemli rol oynar (44). *S. aureus*, deriden sistemik enfeksiyonlara kadar değişen, hafif ila şiddetli enfeksiyonlara neden olan çeşitli virülans faktörleriyle iyi bir şekilde donatılmıştır. Virülans faktörlerine ek olarak, *S. aureus* ayrıca Protein A ve hücre dışı adezyon proteinleri gibi çeşitli

yüzey bileşenlerini içerir, bu da antibiyotiklerin inhibitör etkilerinden kaçmasını ve konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını kolaylaştırır (45, 46).

Staphylococcus aureus enfeksiyon varlığında yara yerinde pürülan akıntı, şişlik, hassasiyet, ağrı, kızarıklık, ısı artışı (47) ve apse görülür (48). *Staphylococcus aureus* ATCC29213 suşu, yara enfeksiyonlarında en sık rastlanan enfeksiyonlardan biridir (49) ve yüzeye kolay yapışma (biyofilm) özelliği bulunmaktadır (50).

Antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkması, tedavi ve tedavi seçeneklerini daha da azalttığından *S. aureus*'un oluşturduğu enfeksiyona karşı alternatif tedavi bileşiklerine ihtiyaç vardır.

2.4 Yara İyileşmesi ve *Lactobacillus rhamnosus*

Son zamanlarda probiyotikler tedavi amacıyla birçok alanda kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), probiyotikleri "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık faydası sağlayan mikroorganizmalar" olarak tanımlamaktadır (51). Probiyotikler hayvan modellerinde konakçı sağlığının iyileştirilmesinde ve farklı bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan patolojilerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca probiyotikler enfeksiyonlara karşı koruma, irritabl bağırsak semptomlarının hafifletilmesi, *Helicobacter pylori* büyümesinin inhibisyonu, kanserin önlenmesi, bağırsak inflamatuvar yanıtında azalma ve alerjilerin önlenmesi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. İnsanlarda yapılan kapsamlı araştırmalarda, probiyotikler insan beslenmesine dahil edildiğinde diyabette, çoklu ilaca dirençli patojenlerin tedavisinde ve farklı anormalliklerin düzenlenmesinde olumlu katkı sağladığı görülmüştür (52). Probiyotiklerin konakçı bağırsak mukozası savunma sistemi üzerindeki çeşitli yararlı etkileri, bakterisidal maddeler üreterek patojenik bakterilerin olumsuz etkilerinin engellenmesi ve patojenler ve toksinler ile rekabet ederek bağırsak epiteline yapışması olarak tanımlanmışlardır (53). Probiyotiklerin özellikle Laktobasil türlerinin birçok alanda potansiyel kullanımları dikkat çekmektedir. *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) (ticari adı *Lactobacillus rhamnosus* GG) bu amaçla kullanılan probiyotiklerdendir. *Lactobacillus rhamnosus* GG ile yapılan bir keratinosit çalışmasında *S. aureus*'a karşı koruyucu etkisi olduğu, bakteriyel büyüme inhibisyonu yaptığı ve bakteriyel yapışmanın azalmasında rol oynadığı ve keratinosit sağ kalımına katkı sağladığı bulunmuştur (4). Ayrıca *L. rhamnosus* GG (*L. rhamnosus* ATCC 7469) standart suşu, topikal olarak yanık tedavisinde kullanıldığı başka bir çalışmada, deneyin 7. gününde *L. rhamnosus* grubunda yara

bölgesine fibroblastik göçü fazla olmuş, deneyin 14. gününde en yüksek granülasyon yine bu grupta olmuş, epitelizasyon hızını artırdığı bulunmuştur (2). Başka bir gastrik ülser oluşturulan sıçanlardaki çalışmada gavaj yoluyla *L. rhamnosus* GG kullanılmış, apoptozisi azaltmış, ülser kenarlarındaki ornitin dekarboksilaz B hücre lenfoma 2 (Blc-2) protein regülasyonunu önemli ölçüde artırmış, vasküler endotelial hücre büyüme faktörü (VEGF) ile anjiyogenez uyarılmış, epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGF) fosforilasyonunu artırmış buna bağlı olarak da mide ülserinin iyileşmesine katkıda bulunmuştur (3).

2.5 Yara İyileşmesi ve İnterlökin 1 Antagonisti

Birçok biyolojik fonksiyonu kontrol eden çeşitli hücreler tarafından belirli uyarılara karşı salgılanan sitokinler, lokal ve hareketli immün hücreler, mezenkimal, epitelyal hücrelerde inflamatuvar süreç içinde görev alırlar. Sitokinler yara iyileşme evrelerinde önemli görevlere sahiptir (55). En önemli sitokinlerden biri de interlökin 1 (IL- 1)'dir. İnterlökin 1 (IL-1) çok çeşitli aktivitelere sahip bir sitokindir. IL- 1a ve IL-1b olmak üzere iki alt gen ürünü vardır (7). Pro-inflamatuvar sitokin olan IL-1, patojenlere ve diğer zararlı ajanlara karşı konakçı yanıtlarında kritik role sahiptir (56). Yaralarda inflamatuvar aracı üretiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar; çoklu sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini uyararak, yara biyolojisinin klinik açıdan önemli yönlerini etkiler (57). Doğal olarak oluşan bir IL-1 inhibitörü (IL- 1 reseptör antagonisti, IL1ra, IL-1 R, IL1 RA), IL-1'in reseptörlerine bağlanmasını bloke eder (7). Deri insizyonu yapılan farelerde oluşan bir çalışmada IL-1 RA (anakinra) deri altından uygulanmış, yaralar içinde keratinosit türevi kemokin ve makrofaj inhibitör protein- 1 dahil olmak üzere çoklu vtuvuar araçların üretimini azaltmıştır. Bu deneyde IL- 1'in, yaralarda inflamasyon üretiminin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu; çoklu sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini uyararak, yara biyolojisinin klinik açıdan önemli etkileri olduğu ve perioperatif dönemde bir IL- 1 reseptör antagonistinin cerrahi sonrası yara ağrısını azaltabileceği gösterilmiştir (57). İnsizyonel cilt yarası oluşturulmuş farelerden oluşturulan başka bir çalışmada, IL-R (anakinra) kullanılmış KO farelerinde makroskobik olarak yarada iyileşme gözlenmiş, yara kenarlarında yükselme azalmıştır. Mikroskobik olarak 14 gün sonra normal epidermis oluşumu gözlenmiştir. Aynı çalışmada derin doku yaralanması yapılan farelere IL-1 reseptör antagonisti (anakinra) uygulanan farelerin fibröz alanı ve derinliğinin daha fazla

azaldığı gözlenmiştir. WT farelerinde ve KO farelerinde IL-R eksikliği olan hayvanlarda yaralar üç kat daha az fibrozise sahip olduğu gözlenmiştir (58).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, 03.07.2019 tarihli, 2019/28 numaralı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Çalışma deneysel olarak Wistar albino cinsi 2-4 aylık erkek sıçanlar (rat) üzerinde yapılmıştır. Çalışmada kullanılan deney hayvanları Bolu Abant İzzet Baysal Deney Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Hayvanlar çalışma başlayana kadar ve çalışma süresince Deney Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezinde, 12 saat aydınlık/ karanlık, nispi nemi % 60- 70 olan ortamda tutulmuştur ve ad libitum beslenmişlerdir.

3.1 Deney Hayvanları Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada yara ve enfekte yara oluşturulan iki ana grup bulunmaktadır. Bu iki ana grubun altında yer alan gruplar ve deneyde uygulanan işlemler Tablo 3.1.'de açıklanmıştır. Çalışmada kullanılan hayvan sayısı Power analizine göre hesaplanmış olup ($\alpha = 0.05$ ve $ss = 2$) her grupta 9 hayvan olmak üzere toplam 90 hayvan kullanılmıştır.

Tablo 0.1. Deney Grupları

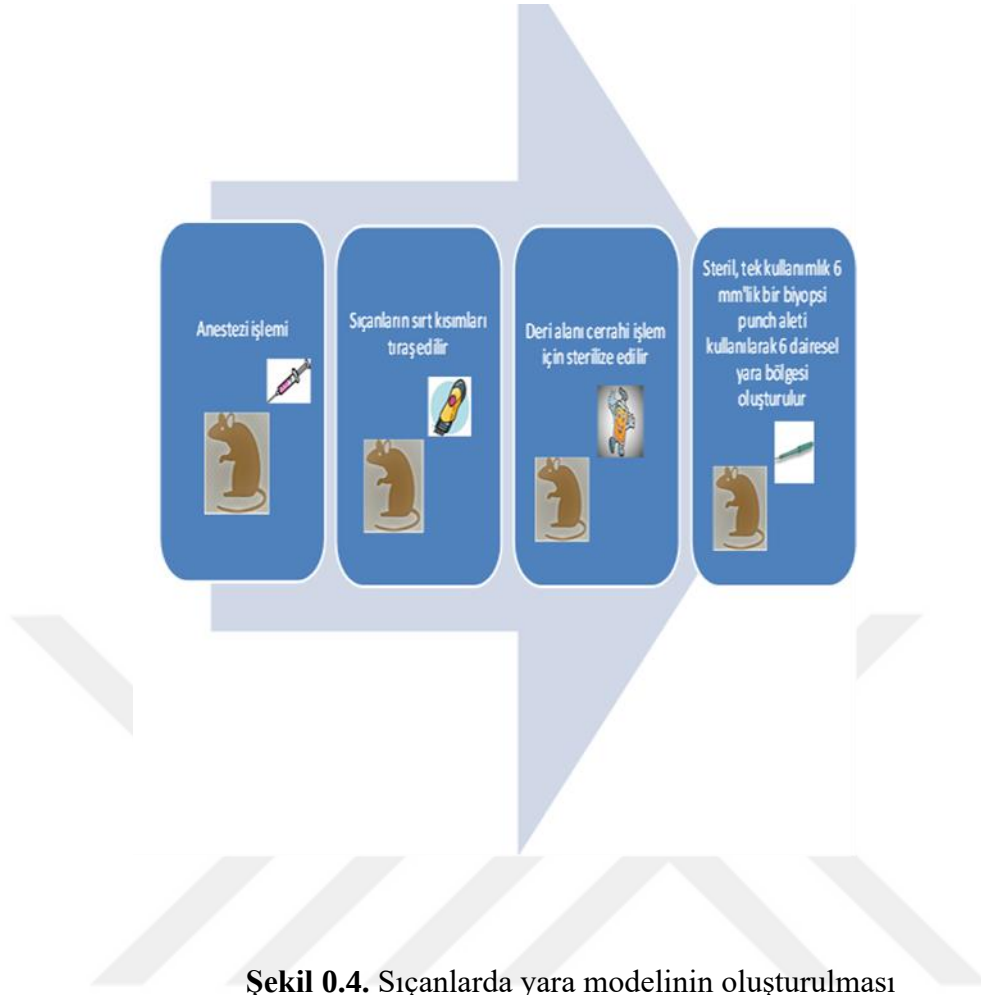
YARA (SHAM: S)	ENFEKTE YARA (BAKTERİ : B)
Kontrol S (S): Bu gruba sadece yara modeli uygulanmıştır.	Kontrol B (B): Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulandıktan sonra yara bölgeleri <i>S. aureus</i> ile enfekte edilmiştir.
Pozitif Kontrol SG (SG): Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulandıktan sonra 14 gün boyunca yara bölgesine topikal gentamisin antibiyotik tedavisi uygulanmıştır.	Pozitif Kontrol BG (BG): Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulandıktan sonra yara bölgeleri <i>S. aureus</i> ile enfekte edilmiş ve 14 gün boyunca yara bölgesine topikal gentamisin antibiyotik tedavisi uygulanmıştır.
S1: Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulanmış ve 14 gün	B1: Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulandıktan sonra yara

boyunca yara bölgesine <i>L. rhamnosus</i> topikal olarak uygulanmıştır.	bölgeleri <i>S. aureus</i> ile enfekte edilmiş ve 14 gün boyunca yara bölgesine topikal <i>L. rhamnosus</i> topikal olarak uygulanmıştır.
S2: Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulanmış ve 14 gün boyunca yara bölgesine IL-ra deri altından uygulanmıştır.	B2: Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulandıktan sonra yara bölgeleri <i>S. aureus</i> ile enfekte edilmiş ve 14 gün boyunca yara bölgesine IL-ra deri altından uygulanmıştır.
S3: Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulanmış ve 14 gün boyunca yara bölgesine <i>L. rhamnosus</i> topikal, IL-ra deri altından uygulanmıştır.	B3: Bu gruptaki hayvanlara yara modeli uygulandıktan sonra yara bölgeleri <i>S. aureus</i> ile enfekte edilmiş ve 14 gün boyunca yara bölgesine <i>L. rhamnosus</i> topikal, IL-ra deri altından uygulanmıştır.

3.2 Yara ve Enfekte Yara Modelinin Oluşturulması

3.2.1 Yara Modelinin Oluşturulması

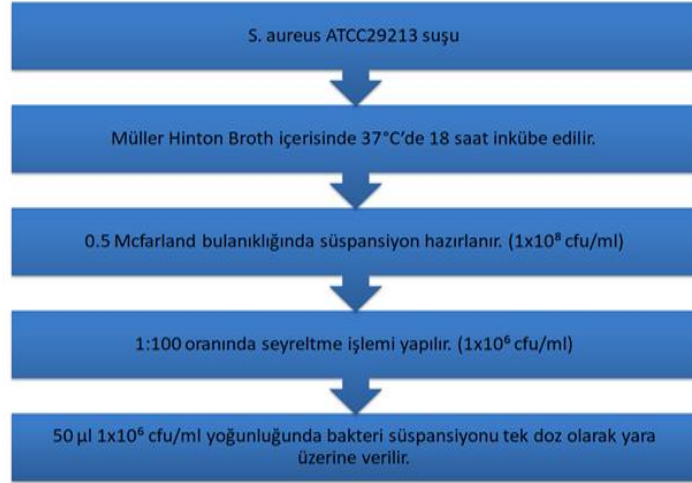
Tedaviye başlamadan 0. gün sıçanlara ketamin / ksilazin (75 mg/ kg ; 10 mg/ kg) anestezi işlemi uygulanmıştır. Anestezi uygulandıktan sonra sıçanlar yüzüstü pozisyona getirilerek boyun kökünden başlayarak aşağı doğru tıraş edilmiştir. Tıraşlanmış sıçan cerrahi alana alınmıştır. Deri yüzeyi cerrahi işlem öncesi sterilize edilmiştir. Steril, tek kullanımlık 6mm'lik bir biyopsi punch aleti kullanılarak 4 dairesel yara bölgesi oluşturulmuştur (59, 60). Şekil 3.1.'de açıklanmıştır.



Şekil 0.4. Sıçanlarda yara modelinin oluşturulması

3.2.2 Enfekte Yara Modelinin Oluşturulması

Yara oluşturulduktan sonra 0. gün, enfekte yara grubuna yara bölgesine 1 ml'de 1×10^6 cfu/ ml *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 standart suşu kullanılarak hazırlanan serum fizyolojik 50µl tek doz olarak inoküle edildi (61). *S. aureus* ATCC29213 suşu müller hinton broth içerisinde 18 saat bekletildi. Süspansiyon 0.5 Mcfarland bulanıklığında hazırlandı (1×10^8 cfu/ ml) 1:100 oranında seyreltme işlemi yapıldıktan sonra *S. aureus* (1×10^6 cfu/ ml olacak şekilde) 50 µl serum fizyolojik çözelti yara üzerine verildi (49). Şekil 3.2.'de şematize edilmiştir.



Şekil 0.5. Sıçanlarda enfekte yara modelinin oluşturulması

3.3 Tedavilerin Uygulanması

3.3.1 Laktobasil Uygulanması

Lactobacillus rhamnosus GG standart suş olarak temin edilmiştir. Yara grubuna yara oluşturulduktan 24 saat sonra 10^{10} ila 10^{11} cfu/ml *Lactobacillus rhamnosus* GG topikal 14 gün boyunca uygulanmıştır. Enfekte yara grubuna enfeksiyon oluşturulduktan 24 saat sonra 10^{10} ila 10^{11} cfu/ml *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 7469) standart suşu kullanılarak serum fizyolojik içerisinde yara bölgesine günlük tek doz olarak 14 gün boyunca topikal uygulanmıştır (2, 62).

3.3.2 İnterlökin 1 Reseptör Antagonistinin Uygulanması

Yara ve enfeksiyonlu yara oluşturulduktan 24 saat sonra yara ve enfekte yara grubundaki sıçanlara interlökin 1 reseptör antagonisti (IL-1 receptor antagonist human) Sigma Aldrich (SRP 3327, rekombinant) (58), 50 ng/ mL (63) serum fizyolojik içerisinde yara bölgesine günlük tek doz 14 gün boyunca derialtıdan uygulanmıştır (64, 57).

3.4 Antibiyotik uygulanması

Staphylococcus aureus ATCC 29213 suşu ile oluşturulan yara enfeksiyonuna antibiyotik olarak gentamicin 50 mg/ml 14 gün boyunca topikal uygulanmıştır.

3.5 Yara Gözlemi ve Yara Bakımı (Metrik ölçüm)

Yara bölgelerine ilk gün pansuman yapılarak uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Yaranın ve enfeksiyonun oluşturulmasından sonraki 1., 7. ve 14. günlerde yara bölgesinin fotoğrafları cetvel eşliğinde belirli bir yükseklikten

deneklerin yara bölgelerinin büyüklüğünü belirtecek şekilde bir cetvel konularak çekilmiştir. Çekilen fotoğraflar image j programı kullanılarak yaraların iyileşme oranları belirlenmiştir. Yara bölgesinin makroskobik olarak yara yüzeyinin rengi, yüzeyin kapanması, fibrozisin belirginleşmesi ve ülser mevcudiyetinin olup olmaması yönünden değerlendirilmiştir (58).

Fotoğraf 0.1. Ratlarda oluşturulan yara modelleri ve 1. 7., ve 14. Gündeki iyileşme süreçlerinden örnek fotoğraflar.



1.Gün

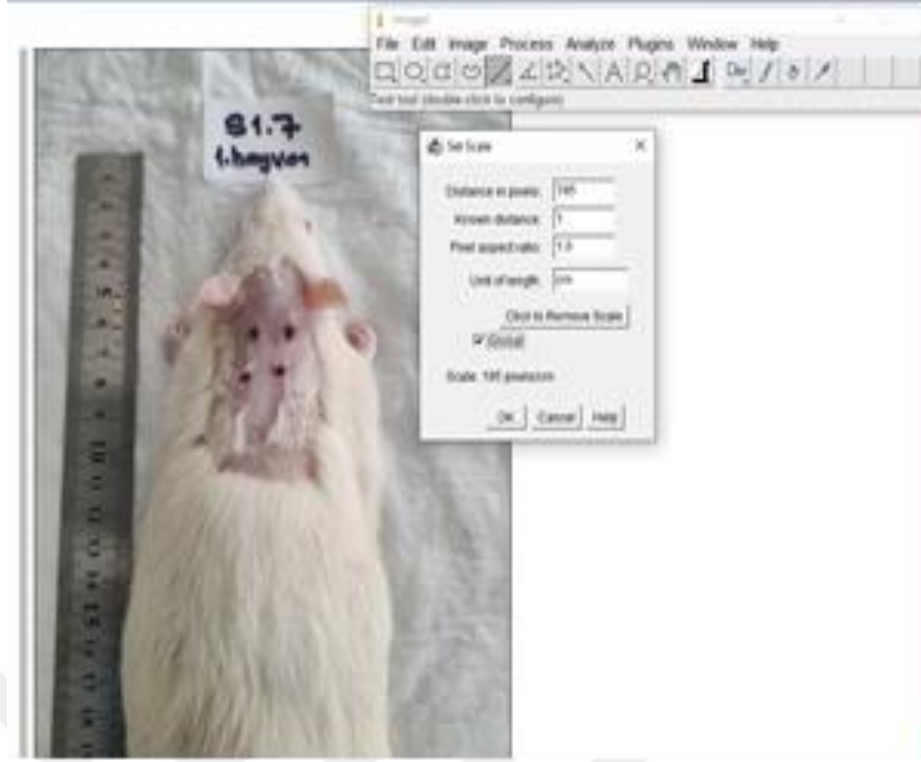
7. Gün

14. Gün

3.6 Analizlerin Gerçekleştirilmesi

Tüm incelemeler 1., 7. ve 14. günlerde, 3'er hayvanın sakrifikasyonu sonrasında doku örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Değerler SPSS v 10 programı ile Oneway Anova analiziyle istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Fotoğraf 0.2. Sıçanlarda Yara Bölgesinin İmage J Programı ile ölçklendirilmesi.



3.6.1 Mikrobiyolojik Analiz

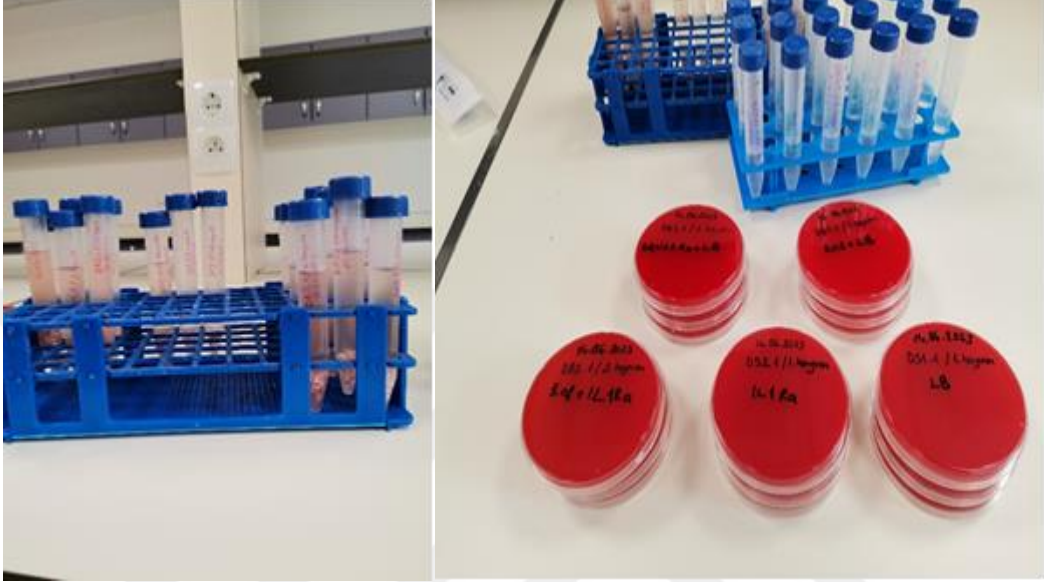
Yaralar oluşturulduktan sonra sadece enfekte yara grubundaki sıçanların yara bölgelerine *S. aureus* ATCC 29213' dan 1 mL'de 10^6 cfu/ mL olacak şekilde hazırlanan serum fizyolojikte enfeksiyon 50 µl tek doz olarak inoküle edilmiştir (61).

Mikrobiyolojik inceleme için sakrifikasyondan (1., 7. ve 14. günlerde) sonra sıçanların yara bölgesinden bistüri ile dikey olarak tüm deri tabakası kesilerek doku örnekleri alınmıştır. Doku örnekleri tartılarak steril şartlarda havan içerisinde kıyma haline getirildikten sonra her numune 1 mL Müller Hinton Broth içerisine alınan numuneler 9 ml steril serum fizyolojik sıvı eklenerek kuvvetlice vortekslenmiştir. Seri halinde 10 kat seyreltiler hazırlanarak koyun kanlı agar besiyerlerine ekim yapılarak 37 °C'de ve 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Gram doku başına üreyen koloni sayıları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (80). Doku gramı başına koloni sayısı (cfu/ gr) = $(N \times D \times 10) / W$ denklemi ile hesaplanmıştır. (N: Plaktaki koloni sayısı, D: İnokulum seyreltme sulandırım değeri, W: Örneğin ağırlığı (gr) (81).

L. rhamnosus durumunun gözlenmesi ve değerlendirilebilmesi için 1., 7. ve 14. günlerde sıçanların derilerinden alınan doku örneklerinde mikrobiyolojik

değerlendirme yapılmıştır. Mikrobiyolojik değerlendirmenin yapılabilmesi için doku örneği aynı yöntemle hazırlanıp MRS agar besiyerine ekim yapılarak aynı şartlarda inkübe edilmiştir. Sonrasında aynı formülasyon ile koloni sayımları gerçekleştirilmiştir.

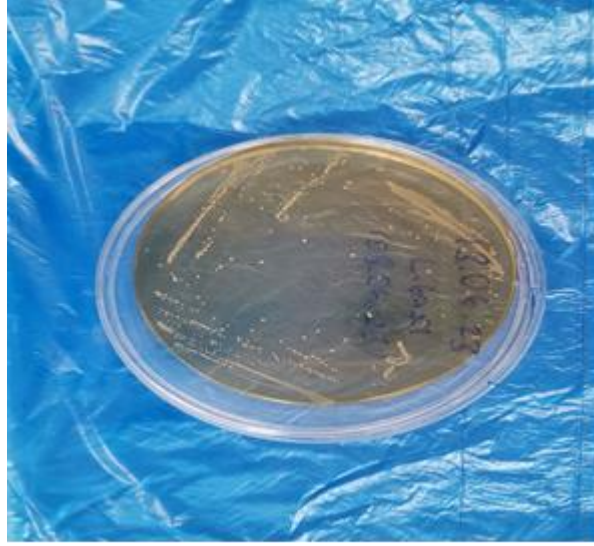
Fotoğraf 0.3. Mikrobiyolojik değerlendirmeler.



Fotoğraf 0.4. Koloni sayımları.



Fotoğraf 0.5. Laktobasil koloni değ erlendirmesi.



3.6.2 Histopatolojik Analiz

Çalışma kapsamında 1., 7. ve 14. günlerde sakrifiye edilen 3'er sıçanın doku örnekleri %10'luk formalinli fiksasyon sıvısında 24 saat bekletilmiştir. Doku örnekleri şerit halinde kesilerek deri katmanları kesit yüzünde görünecek şekilde doku takibine alınmıştır. Hazırlanan deri dokusu ilk olarak doku takibine alınmıştır. Bu aşamada dokunun yapısı, bir önceki fiksasyon aşaması temel etmenlerdir. Doku takibi aşamaları, suyun uzaklaştırılması formaldehit solüsyonu içinde başlar, dehidratasyon (etil alkol), şeffaflandırma (= temizleme) (ksilen), infiltrasyon sertleştirme (parafin) aşamalarından oluşur. Doku takip işlemi yaklaşık 13 saat sürmektedir (65). İçindeki suyu kaybetmiş, yapısı korunmuş doku parçaları parafin dokulara gömülerek kesit alma aşamasına hazır hale getirilir. Sertleştirilmiş dokuların kesilecek yüzleri bir tarafa gelecek şekilde parafin bloklar hazırlanır ve numaralanır. Parafin donması için özel soğutucuda bekletilir. Daha sonra oda sıcaklığına alınabilir. Parafin bloklardan kesit alma işlemi mikrotom ile yapılmıştır, bu çalışmada Leika yarı otomatik mikrotom kullanılmıştır. Kesit kalınlıkları dokunun sertlik ve içeriğine göre ayarlanmıştır. Deri dokusu için kesit kalınlığı 4-5 mikron olacak şekilde kesit alınmıştır. Kesit kalınlığı 3 mikrona kadar inebilir. Alınan kesitler 40 ° C derece sıcaklıktaki su banyosuna alınmıştır. Burada kesitlerin su yüzeyine düzgün yayılması ile su yüzeyinden lam üzerine alınmıştır. Lam  zerine kesitleri tanımlayıcı bilgileri yazılmıştır. Bloklama ve kesit aşamalarından sonra lamlar üzerindeki dokunun parafini 30 ° C derecelik etüvde 30 dakika ve ksilende 60 dakika tutularak uzaklaştırılmıştır. Kurutulan lamlar renksiz olduklarından ışık mikroskobu altında dokuların görünür olması için lamlar boyama

aşamasına alınmıştır. Patoloji laboratuvarında rutin boyama işlemi hematoksilin (mavi) ve eozin (kırmızı) ile yapılan HE boyamasıdır. Bu yöntem ile hücre çekirdeği mavi, sitoplazma pembe- kırmızı boyanır. Çoğu durumda bu boyama tanı için yeterlidir (66). Histokimyasal boyama ile hücre tipleri, doku paterni ve çekirdek detayları seçilebilir hale gelir. HE boyama ksilen ve alkol deparafinizasyon aşamaları ile Harris Hematoksilin ile 6 dakika boyama, suda yıkama, asit alkol, yıkama ve zayıf amonyak solüsyonunda bekleme, suda yıkama, %80 etil alkolde 1-2 dakika bekleme, eozin solüsyonunda 2 dk bekleme sonrası 3'er dakika iki %.95 alkol solüsyonunda bekleme, 3'er dakika iki absolü alkol solüsyonunda bekleme ve 2'ser dakika üç ksilen solüsyonunda bekleme ile tamamlanmıştır. Burada son alkol ve ksilen aşamaları şeffaflaştırma basamaklarıdır. Boyama işlemi sonrası lamalar sentetik reçine balsam kullanılarak lamel ile kapatılmıştır. Böylece doku korunmuş ve 24 saat kurumaya bırakılır, kuruma tamamlandıktan sonra mikroskopta doku incelenme aşamasına gelmiştir. Rutin inceleme esnasında x10 büyütmede dokunun genel taraması yapıldıktan sonra x40'luk büyütmede inceleme yapılmıştır. Değerlendirme ihtiyacına göre farklı büyütme alanları kullanılabilir. Yara iyileşmesi esnasında; inflamasyon (1-7. günler); proliferasyon ve skar gelişimi (7-14. günler); maturasyon (14. gün) aşamalarının ışık mikroskopi bulgularının değerlendirilmiştir.

3.7 Verilerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirmede kullanılacak parametreler, 1., 7. ve 14. günlerde sıçanlardan alınan dokuların analizlerinin gerçekleştirilmesi sonucunda, morfolojik olarak ölçülen yara bölgesi ölçümleri, mikrobiyolojik olarak doku gram koloni sayımları ile histopatolojik değerlendirmelerde karşılaştırmalar yapılmış olup veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu değerler SPSS v 10 programı ile Oneway Anova analiziyle istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Morfolojik Bulgular

Materyal metod kısmında detaylı olarak anlatılan prosedüre uyularak oluşturulan yaralardan imaj j programı ile ölçeklendirilerek alınan alan ölçülerinin boyutları 1. gün., 7. gün ve 14. gün olarak aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Morfolojik ölçümlerden elde edilen veriler SPSS v.10 programı kullanılarak One way Anova ile analiz edilmiştir. Veriler grup içi ve gruplar arası analiz edilerek değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler ölçümlerin gerçekleştirildiği sakrifikasyon günleri olan 1., 7., ve 14. günlerde gerçekleştirilmiştir. Gruplara ait yara boyutlarının ölçümleri Tablo 4.1., 4.2., 4.3. ve 4.4.'te yer almaktadır.

Tablo 0.2. Yara modeli oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 1. gün ölçülen yara boyutları (cm²).

Yara Boyutları				
Deney Grupları	1.Yara	2.Yara	3.Yara	4.Yara
B1.1	0.3	0.4	0.2	0.4
B1.2	0.5	0.4	0.5	0.4
B1.3	0.4	0.6	0.7	0.5
BG1.1	0.6	0.5	0.5	0.6
BG1.2	0.5	0.7	0.6	0.8
BG1.3	0.4	0.4	0.4	0.3
B1.1.1	0.3	0.5	0.3	0.7
B1.1.2	0.3	0.5	0.6	0.6
B1.1.3	0.3	0.5	0.3	0.3
B2.1.1	0.2	0.2	0.3	0.4
B2.1.2	0.2	0.3	0.4	0.3
B2.1.3	0.2	0.1	0.1	0.2
B3.1.1	0.2	0.4	0.5	0.5
B3.1.2	0.8	0.7	0.6	0.7
B3.1.3	0.2	0.2	0.2	0.3
S1.1	0.2	0.1	0.2	0.3
S1.2	0.2	0.2	0.4	0.3
S1.3	0.3	0.2	0.3	0.3
SG1.1	0.5	0.6	0.6	0.9
SG1.2	0.5	0.4	0.6	0.2
SG1.3	0.5	0.5	0.4	0.5
S1.1.1	0.2	0.3	0.3	0.3
S1.1.2	0.4	0.3	0.4	0.4
S1.1.3	0.7	0.5	0.5	0.4

S2.1.1	0.1	0.2	0.5	0.3
S2.1.2	0.3	0.5	0.6	0.6
S2.1.3	0.2	0.3	0.4	0.4
S3.1.1	0.3	0.3	0.5	0.3
S3.1.2	0.6	0.4	0.8	0.3
S3.1.3	0.3	0.5	0.3	0.4

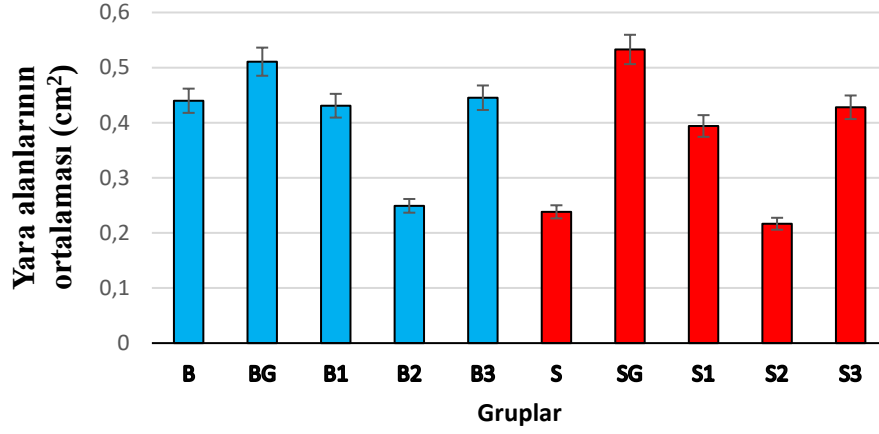
Tablo 0.3. Yara Modeli Oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 7. gün ölçülen yara boyutları (cm²).

Deney Grupları	Yara Boyutları			
	1.Yara	2.Yara	3.Yara	4.Yara
B7.1	0.08	0.05	0.06	0.07
B7.2	0.04	0.02	0.09	0.21
B7.3	0.094	0.02	0.04	0.21
BG7.1	0.04	0.05	0.09	0.04
BG7.2	0.02	0.09	0.21	0.05
BG7.3	0.21	0.04	0.05	0.08
B1.7.1	0.11	0.03	0.09	0.07
B1.7.2	0.04	0.02	0.03	0.04
B1.7.3	0.12	0.06	0.06	0.05
B2.7.1	0.08	0.06	0.08	0.08
B2.7.2	0.06	0.03	0.06	0.19
B2.7.3	0.27	0.11	0.14	0.15
B3.7.1	0.04	0.03	0.03	0.01
B3.7.2	0.005	0.005	0.01	0.008
B3.7.3	0.02	0.01	0.01	0.01
S7.1	0.038	0.05	0.05	0.04
S7.2	0.058	0.09	0.06	0.06
S7.3	0.411	0.151	0.22	0.04
SG7.1	0.096	0.049	0.11	0.05
SG7.2	0.049	0.043	0.012	0.05
SG7.3	0.055	0.012	0.043	0.013
S1.7.1	0.06	0.104	0.042	0.10
S1.7.2	0.053	0.054	0.056	0.063
S1.7.3	0.113	0.11	0.118	0.078
S2.7.1	0.087	0.02	0.08	0.036
S2.7.2	0.11	0.07	0.11	0.101
S2.7.3	0.14	0.05	0.16	0.074
S3.7.1	0.03	0.01	0.03	0.006
S3.7.2	0.02	0.01	0.001	0.021
S3.7.3	0.007	0.003	0.008	0.004

Tablo 0.4. Yara Modeli Oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 14. gün ölçülen yara boyutları (cm²).

Yara Boyutları (cm ²)				
Deney Grupları	1.Yara	2.Yara	3.Yara	4.Yara
B14.1	0.001	0.002	0.013	0.002
B.14.2	0.013	0.01	0.017	0.012
B.14.3	0.012	0.013	0.017	0.01
BG14.1	0.008	0.013	0.037	0.014
BG14.2	0.022	0.008	0.019	0.032
BG.14.3	0.012	0.016	0.019	0.016
B1.14.1	0.009	0.011	0.006	0
B1.14.2	0.013	0.02	0.001	0
B1.14.3	0.017	0.013	0	0
B2.14.1	0.055	0.011	0	0
B2.14.2	0.048	0.009	0.031	0.025
B2.14.3	0.02	0.022	0.014	0.019
B3.14.1	0.03	0	0	0
B3.14.2	0.014	0.018	0.013	0.014
B3.14.3	0.034	0.047	0	0
S.14.1	0.012	0.013	0.017	0.01
S.14.2	0.017	0.002	0.013	0.002
S.14.3	0.013	0.01	0.001	0.012
SG14.1	0.002	0.009	0.008	0.014
SG14.2	0.005	0.007	0.006	0.007
SG14.3	0.04	0.018	0.011	0.012
S1.14.1	0.054	0.039	0	0
S1.14.2	0.028	0.014	0	0
S1.14.3	0.015	0.012	0	0
S2.14.1	0.034	0.012	0.007	0
S2.14.2	0.018	0.007	0.011	0.014
S2.14.3	0.006	0.033	0	0
S3.14.1	0.052	0.055	0.022	0.009
S3.14.2	0.016	0.042	0	0
S3.14.3	0.019	0.054	0	0

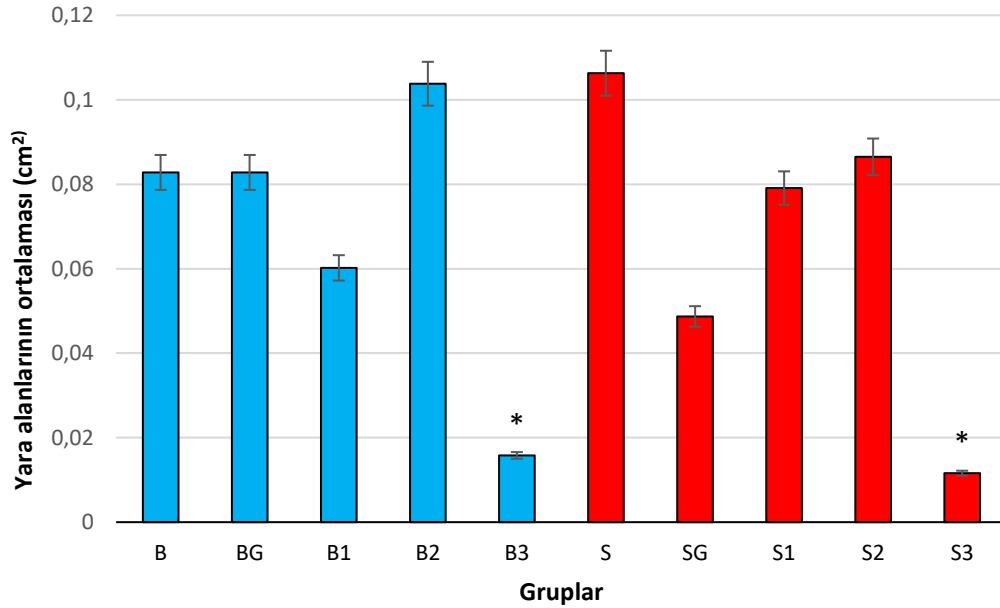
Tüm grupların yara boyutlarının 1. günde ölçüm değerlerinin grafiği Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 0.6. Tüm grupların 1.günde yara boyutlarının ölçüm değerlerinin grafiği

Tüm grupların yara boyutları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 1. gün tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tüm grupların yara boyutlarının 7. günde ölçüm değerlerinin grafiği Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



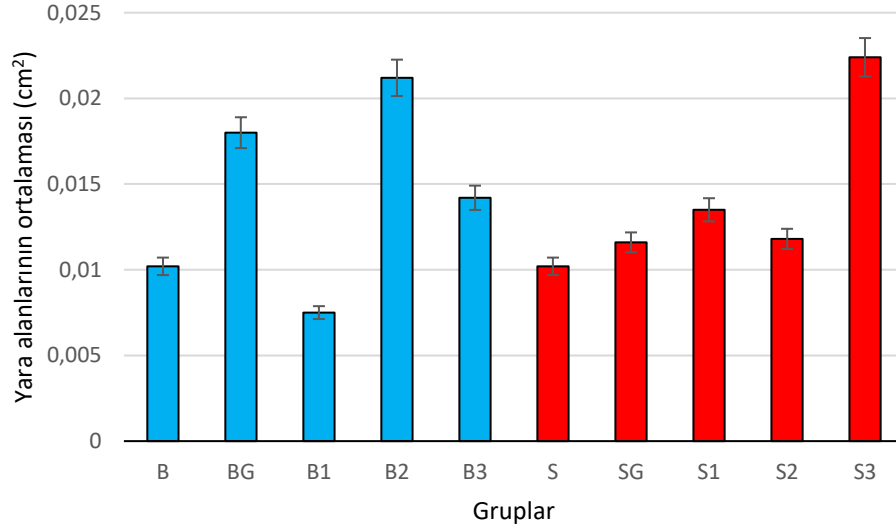
Şekil 0.7. Tüm grupların 7. günde yara alanlarının ölçüm değerlerinin grafiği

Yara boyutları 7. gün tüm gruplarda (yara ve enfekte yara gruplarında) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, B3 ve S3 gruplarındaki yara boyutu istatistiksel olarak anlamlı olarak diğer gruplardan daha küçüktür ($*p<0.05$).

Yara iyileşmesi 7. gün tüm gruplarda (yara ve enfekte yara gruplarında) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, B3 ve S3 gruplarında yara iyileşmesi diğer

gruplara göre anlamlı olarak daha fazladır (* $p<0.05$). B3 ve S3 gruplarında yara boyutu en küçük boyutta olduğu görülmüştür.

Tüm grupların yara alanlarının 14. günde ölçüm değerlerinin grafiği Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.



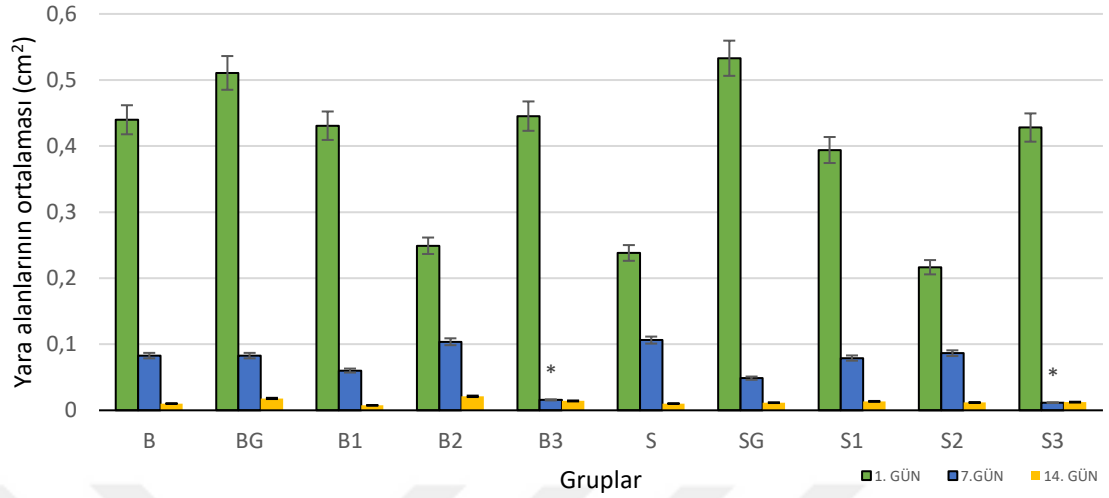
Şekil 0.8. Tüm grupların 14. günde yara alanlarının ölçüm değerlerinin grafiği

Yara boyutları 14. gün istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tablo 0.5. Yara Modeli Oluşturulan sıçanlarda tüm gruplardaki 1. gün, 7. gün ve 14. gün ölçülen yara boyutlarının Mean±SS değerleri (* $p<0.05$)

	Yara Boyutları (cm²)			
	1. GÜN	7.GÜN	14. GÜN	
Deney Grupları	Mean±ss	Mean±ss	Mean±ss	N
B	0.4±0.1	0.08±0.02	0.01±0.005	9
BG	0.5±0.1	0.08±0.02	0.02±0.002	9
B1	0.4±0.06	0.06±0.02	0.008±0.001	9
B2	0.3±0.09	0.10±0.05	0.02±0.006	9
B3	0.4±0.24	0.02±0.009*	0.014±0.006	9
S	0.2±0.04	0.11±0.09	0.010±0.003	9
SG	0.5±0.12	0.05±0.03	0.012±0.008	9
S1	0.4±0.13	0.08±0.02	0.014±0.009	9
S2	0.22±0.15	0.09±0.03	0.012±0.002	9
S3	0.43±0.10	0.012±0.006*	0.012±0.011	9
Toplam	30	30	30	90

Tüm grupların yara alanlarının 1.,7. ve 14. günde ölçüm değerlerinin grafiği Şekil 4.4' te verilmiştir.



Şekil 0.9. Tüm grupların yara alanlarının 1.,7. ve 14. günde ölçüm değerlerinin grafiği

Tüm deney gruplarının yara iyileşme durumunu gösterebilmek için yaraların boyutları 1. gün, 7. gün ve 14. gün istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, B3 ve S3 grubunda yara boyutu 7. günde diğer tüm gruplardan anlamlı derecede daha küçük bulunmuştur (* $p < 0.05$). 14.günlerde yara boyutlarında anlamlı farklılıklar yoktur ($p > 0.05$).

Yedinci gün morfolojik değerlendirmede; B3 (enfeksiyon+IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) ve S3 (yara + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) gruplarında yara boyutları hem diğer günlere göre (1. ve 14. günler) hem de diğer gruplara göre anlamlı olarak küçük bulunmuştur (* $p < 0.05$). Sonuç olarak B3 ve S3 gruplarında 7. gündeki yara iyileşimi, 14. gündeki yara iyileşimine eş olduğu görülmüştür. IL1 RA ve *L. rhamnosus*' un birlikte kullanımı iyileşme sürecini öne çekmiştir. On dördüncü günde ise gruplar arasında anlamlı fark yoktur.

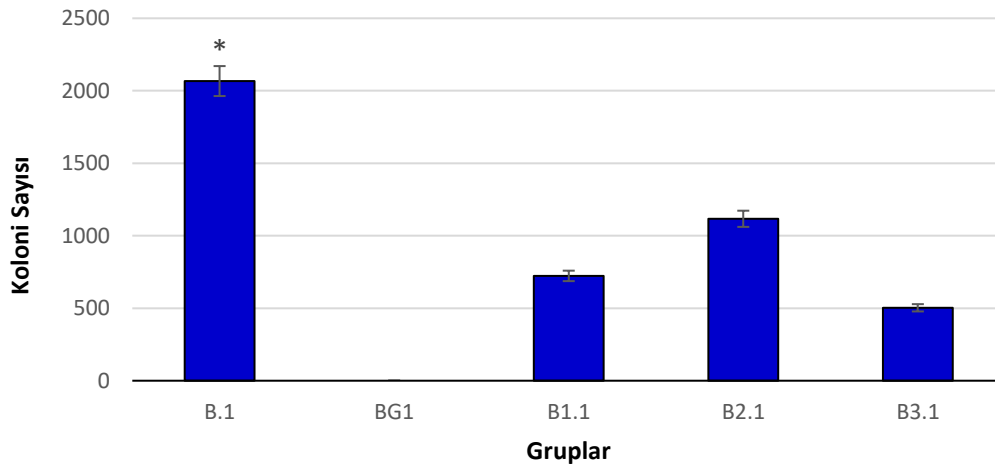
4.1 Mikrobiyolojik Bulgular

Mikrobiyolojik inceleme için 1., 7. ve 14. günlerde 3'er kurban edilen hayvanların deri örneklerinden alınan dokuların ekim sonucunda koloni sayımları yapılmıştır. Gram doku başına üreyen koloni sayıları literatürde belirtilen formülle hesaplanmıştır (80). Doku gramı başına koloni sayısı (cfu/ gr) = $(N \times D \times 10) / W$ denklemi ile hesaplanmıştır. (N: Plaktaki koloni sayısı, D: İnokulum seyreltme sulandırım değeri, W: Örneğin ağırlığı (gr) (81). Koloni sayımları Tablo 4.5.'te gösterilmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak One way Anova ile analiz edilmiştir.

Tablo 0.6. Tüm gruplardaki 1. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçları

1.gün			
Grup / Gün	Gram	Koloni Sayısı	Doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)
B.1	0.27	2067	64346
BG1	0.4	0	0
B1.1	0.41	723	22250
B2.1	1.05	1117	13648
B3.1	0.7	503	6656
S.1	0.2	0	0
SG.1	0.3	0	0
S1.1	0.4	0	0
S2.1	0.90	0	0
S3.1	0.58	0	0

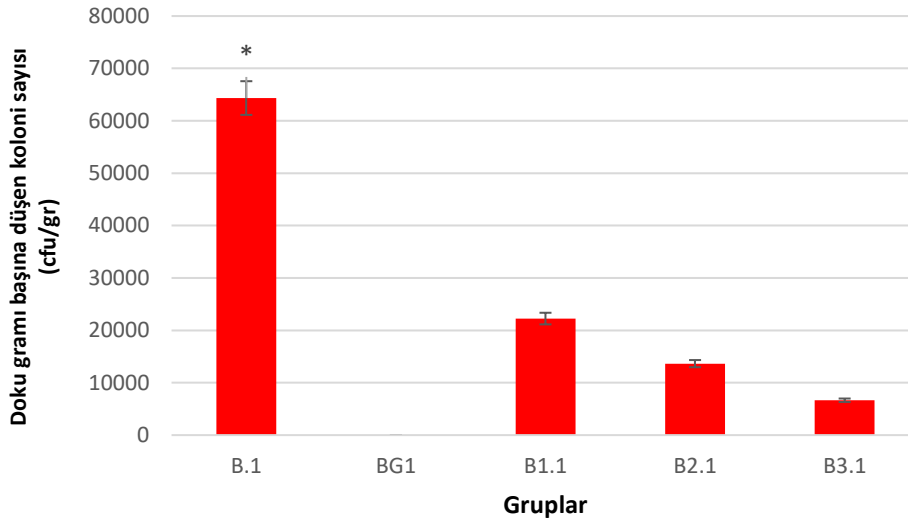
Tüm gruplardaki 1. gün koloni sayısının grafiği Şekil 4.5' te verilmiştir



Şekil 0.10. Tüm gruplardaki 1. gün koloni sayısının grafiği

Birinci gün B grubunda (enfeksiyon+yara grup) koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)' nda koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

Tüm gruplardaki 1.gün doku gr başına düşen koloni sayısının grafiği Şekil 0.6’da verilmiştir.



Şekil 0.11. Tüm gruplardaki 1.gün doku gr başına düşen koloni sayısının grafiği

Birinci gün B grubu (enfeksiyon + yara grubu) doku gr başına düşen koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon + IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) doku gr başına düşen koloni sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

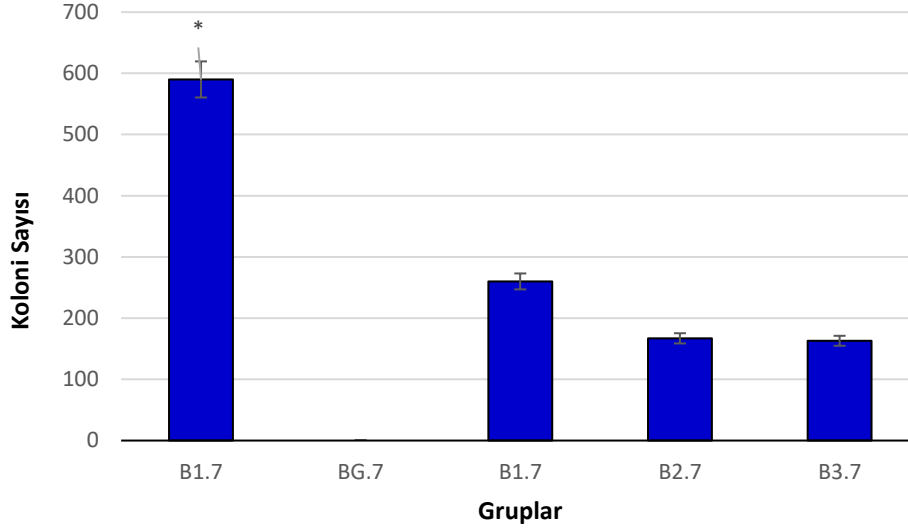
Tüm gruplardaki 7. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçları Tablo 4.6.’ da verilmiştir.

Tablo 4.6. Tüm gruplardaki 7. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçları

7.gün			
Grup/ Gün	Gram	Koloni Sayısı	Doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)
B1.7	0.4	590	111427
BG.7	0.3	0	0
B1.7	0.7	260	3459
B2.7	0.6	167	2233
B3.7	0.4	163	2774
S.7	0.3	0	0
SG.7	0.3	0	0

S1.7	0.	0	0
S2.7	0.6	0	0
S3.7	0.7	0	0

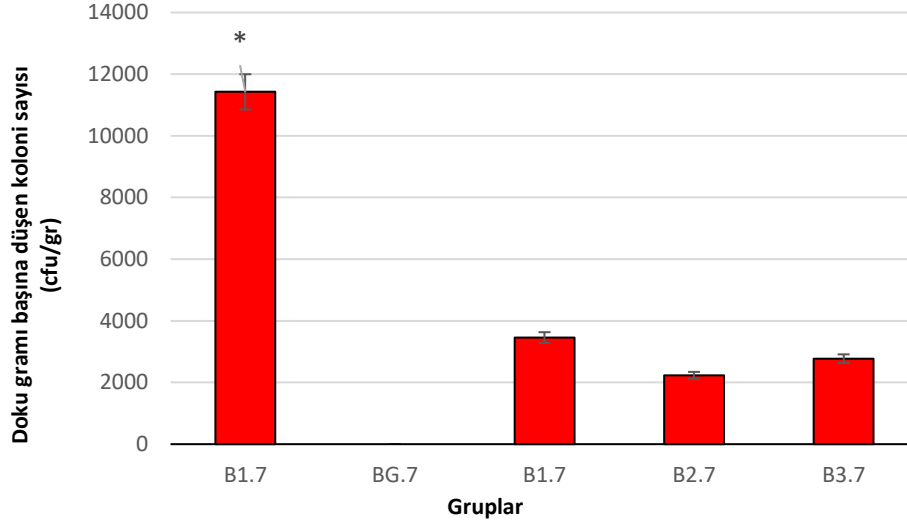
Tüm gruplardaki 7. gün koloni sayısının grafiği Şekil 4.7’ de verilmiştir.



Şekil 0.12. Tüm gruplardaki 7. gün koloni sayısının grafiği

Yedinci gün B grubunda (enfeksiyon+yara grubu) koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +ILRa grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)’nda koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

Tüm gruplardaki 7. gün doku gr başına düşen koloni sayısının grafiği Şekil 4.8’ de verilmiştir.



Şekil 0.13. Tüm gruplardaki 7. gün doku gr başına düşen koloni sayısının grafiği

Yedinci gün B grubu (enfeksiyon + yara grup) doku gr başına düşen koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon + IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) doku gr başına düşen koloni sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

1. günde ve 7. günde sadece *S. aureus* uygulanan grupta bakterilerin çoğalması daha fazla iken, IL1 RA ve *Lactobacillus rhamnosus*' un ayrı ayrı ve birlikte kullanıldığı gruplarda *S. aureus*' un çoğalmasının engellendiği görülmektedir. Tüm gruplardaki 14. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçları Tablo 4.7' de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Tüm gruplardaki 14. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçları

14.Gü				
n				
Grup/ Gün	N	Gram	Koloni Sayısı	Doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)
B.14	3	0.6	0	0
BG.14	3	0.9	0	0
B1.14	3	0.4	0	0
B2.14	3	0.3	0	0
B3.14	3	0.4	0	0
S.14	3	0,3	0	0

SG.14	3	0.3	0	0
S1.14	3	0.5	0	0
S2.14	3	0.6	0	0
S3.14	3	0.7	0	0
Toplam	3 0		0	0

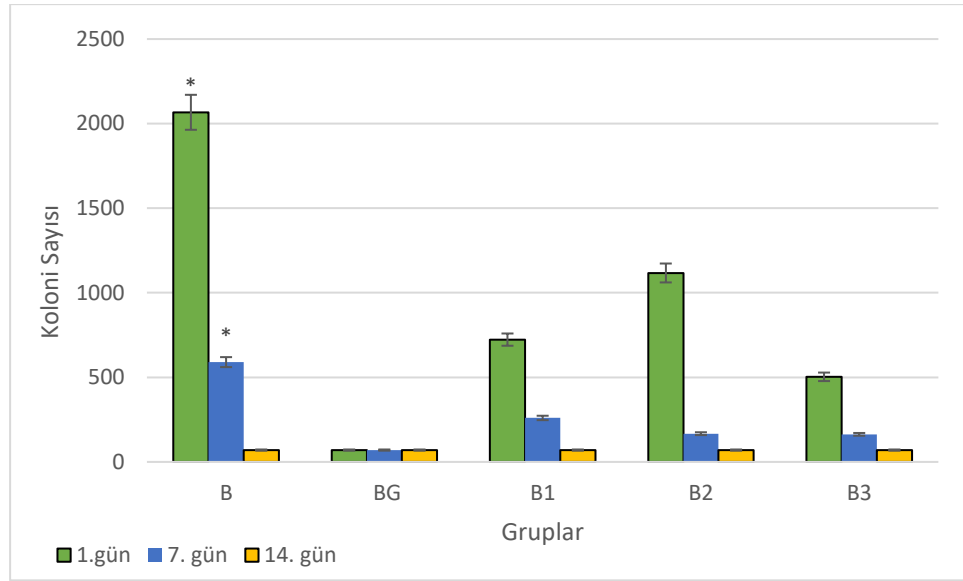
Tüm gruplardaki 14. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçlarına göre, koloni sayısı ve doku gr başına düşen koloni sayısı sıfırdır. *S.aureus* üremesi görülmemiştir.

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısı Tablo 4.8' de gösterilmiştir.

Tablo 0.8. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısı

Koloni Sayısı				
Grup/Gün	1.gün	7. gün	14. gün	N
B	2067*	590*	0	9
BG	0	0	0	9
B1	723	260	0	9
B2	1117	167	0	9
B3	503	163	0	9
Toplam N	15	15	15	45

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısının grafiği Şekil 4.9' da gösterilmiştir.



Şekil 0.14. Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısının grafiği

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 1. gün ve 7. gün B gruplarında (enfeksiyon+yara grupları) koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol gruplarına (1. ve 7. günlerde) göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon + IL1RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)'nda koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (* $p < 0.05$). 14. gün üreme görülmemiştir.

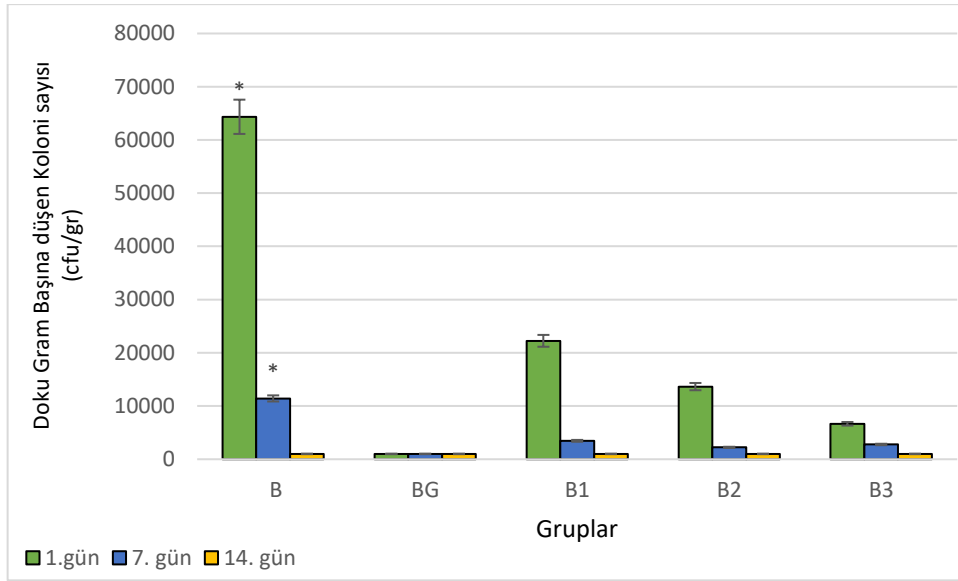
Bu çalışmada *L. rhamnosus* ve IL1 RA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulanması koloni sayısını anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür.

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerdeki doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr) Tablo 4.9' da gösterilmiştir.

Tablo 0.9. Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerdeki doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)

Doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)				
Grup/Gün	1.gün	7. gün	14. gün	Toplam N
B	64346*	11427*	0	9
BG	0	0	0	9
B1	22250	3458	0	9
B2	13648	2233	0	9
B3	6656	2774	0	9
Toplam N	15	15	15	45

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerdeki doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)'nın grafiği Şekil 4.10' da gösterilmiştir.



Şekil 0.15. Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerdeki doku gramı başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)'nın grafiği

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde doku gr başına düşen koloni sayısı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 1. gün ve 7. gün B gruplarında (enfeksiyon+yara grupları) doku gr başına düşen koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol gruplarına (1. ve 7. günlerde) göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon + IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)'nda doku gr başına düşen koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (* $p < 0.05$). 14. gün üreme görülmemiştir.

Bu çalışmada *L. rhamnosus* ve IL1 RA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulanması doku gr başına düşen koloni sayısını anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür.

4.1 Histopatolojik Bulgular

Çalışma kapsamında 1., 7. ve 14. günlerde kurban edilen 3'er sıçanın doku örnekleri, x10 büyütmede dokunun genel taraması yapıldıktan sonra x40'luk büyütme ile mikroskop altında incelenmiştir. İncelemeler 1., 7. ve 14. günler baz alınarak tablolar oluşturulmuştur. Tablo 4.10, 4.11., 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18 ve 4.19'da değerlendirme sonuçları gösterilmiştir.

Histopatolojik analizler için gruplardaki zamana göre değişim tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi ile Two-way ANOVA yöntemi ile istatistiksel değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir.

Tablo 0.7. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde fibrozis açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Fibrozis_1	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Fibrozis_7	S	2.00	1.000
	SG	2.33	.577
	B	1.67	.577
	BG	3.00	1.000
	S1	3.67	.577
	S2	3.33	1.155
	S3	2.67	.577
	B1	3.33	1.155
	B2	3.50	.707
	B3	3.67	.577
Fibrozis_14	S	4.00	.000
	SG	4.00	.000
	B	4.00	.000
	BG	4.00	.000
	S1	4.00	.000
	S2	3.67	.577
	S3	4.00	.000
	B1	3.67	.577
	B2	4.00	.000

	B3	3.67	.577
--	----	------	------

Tablo 0.8. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde fibrozis açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	566.190	.000	.968
Grup	1.056	.435	.334
Zaman * Grup	2.829	.018	.573

Tablo 0.9. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde akut inflamasyon açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Akut Enflamasyon_1	S	1.33	.577
	SG	2.67	.577
	B	2.33	.577
	BG	1.33	.577
	S1	2.00	1.000
	S2	2.00	.000
	S3	1.67	.577
	B1	2.33	.577
	B2	2.67	.577
	B3	2.00	.000
Akut Enflamasyon_7	S	1.00	1.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.33	.577
	S2	.67	.577
	S3	.67	.577

	B1	.33	.577
	B2	1.00	1.000
	B3	1.67	.577
Akut Enflamasyon_14	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.33	.577
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000

Tablo 0.10. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde akut inflamasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	137.905	.000	.873
Grup	1.801	.131	.448
Zaman * Grup	2.455	.009	.525

Tablo 0.11. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde akut deri eki açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Deri Eki_1	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000

	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Deri Eki_7	S	.00	.000
	SG	.67	.577
	B	.00	.000
	BG	.33	.577
	S1	.00	.000
	S2	.33	.577
	S3	1.00	1.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Deri Eki_14	S	.67	.577
	SG	1.00	.000
	B	1.00	.000
	BG	1.00	.000
	S1	2.00	1.732
	S2	1.33	2.309
	S3	1.00	.000
	B1	1.00	.000
	B2	1.00	.000
	B3	1.00	.000

Tablo 0.12. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde akut deri eki açısından değerlendirmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	32.393	.000	.618
Grup	.500	.857	.184
Zaman * Grup	.845	.609	.276

Tablo 0.13. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde epitelizasyon açısından değerlendirme

	GRU P	Ortalama	Standart Sapma
Epitelizasyon_1	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Epitelizasyon_7	S	2.67	1.155
	SG	4.00	.000
	B	3.33	1.155
	BG	3.33	1.155
	S1	2.00	1.732
	S2	3.00	1.000
	S3	2.67	.577
	B1	3.67	.577
	B2	3.00	1.000
	B3	2.33	.577
Epitelizasyon_14	S	4.00	.000
	SG	4.00	.000
	B	4.00	.000
	BG	3.00	1.732
	S1	4.00	.000
	S2	4.00	.000
	S3	3.67	.577
	B1	4.00	.000
	B2	4.00	.000

	B3	4.00	.000
--	----	------	------

Tablo 0.14. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde epitelizasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	336.848	.000	.944
Grup	.708	.695	.242
Zaman * Grup	1.360	.232	.380

Tablo 0.15. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde granülasyon açısından değerlendirme

	GRU P	Ortalama	Standart Sapma
Granülasyon_1	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Granülasyon_7	S	2.33	.577
	SG	2.00	1.000
	B	2.00	1.000
	BG	1.33	.577
	S1	2.33	.577
	S2	1.33	.577
	S3	2.67	.577
	B1	3.00	1.000
	B2	1.00	1.000
	B3	2.00	.000
	S	.00	.000

Granülasyon_1 4	SG	.67	.577
	B	.00	.000
	BG	.33	.577
	S1	.00	.000
	S2	1.00	.000
	S3	1.00	1.000
	B1	.33	.577
	B2	.00	.000
	B3	.67	.577

Tablo 0.16. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde granülasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	123.429	.000	.861
Grup	2.300	.058	.509
Zaman * Grup	2.023	.058	.476

Tablo 0.17. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde kollojen açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Kollajen_1	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Kollajen_7	S	.67	.577
	SG	1.67	.577
	B	1.00	.000

	BG	1.67	1.155
	S1	2.33	1.155
	S2	.33	.577
	S3	2.67	.577
	B1	2.00	1.000
	B2	.00	.000
	B3	1.33	.577
Kollajen_14	S	2.67	.577
	SG	3.33	.577
	B	3.33	.577
	BG	4.00	.000
	S1	1.67	1.155
	S2	2.00	1.732
	S3	4.00	.000
	B1	3.67	.577
	B2	3.33	.577
	B3	3.67	.577

Tablo 0.18. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde kollojen açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	184.081	.000	.902
Grup	5.032	.001	.694
Zaman * Grup	3.000	.006	.574

Tablo 0.19. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde kronik enflamasyon açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Kronik enflamasyon_1	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000

	S2	.33	.577
	S3	.67	1.155
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000
Kronik enflamasyon_7	S	.67	.577
	SG	1.00	.000
	B	.67	.577
	BG	.67	.577
	S1	.33	.577
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.67	.577
	B2	.33	.577
	B3	.33	.577
Kronik enflamasyon_14	S	.00	.000
	SG	.33	.577
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000

Tablo 0.20. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde kronik enflamasyon açısından değerlendirilmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	11.308	.000	.361
Grup	.650	.743	.226
Zaman * Grup	1.393	.188	.385

Tablo 0.21. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde kurut açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Kurut_1	S	1.00	.000
	SG	1.00	.000
	B	1.00	.000
	BG	1.00	.000
	S1	1.00	.000
	S2	1.00	.000
	S3	1.00	.000
	B1	1.00	.000
	B2	1.00	.000
	B3	1.00	.000
Kurut_7	S	1.00	.000
	SG	.33	.577
	B	1.00	.000
	BG	1.00	.000
	S1	1.00	.000
	S2	.33	.577
	S3	.67	.577
	B1	1.00	.000
	B2	1.00	.000
	B3	1.00	.000
Kurut_14	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.33	.577
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000

	B3	.00	.000
--	----	-----	------

Tablo 0.22. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde kurut açısından değerlendirmesine ait istatistik analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	163.083	.000	.896
Grup	2.202	.071	.511
Zaman * Grup	1.793	.100	.459

Tablo 0.23. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde nekroz açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Nekroz_1	S	.00	.000
	SG	1.00	.000
	B	.67	.577
	BG	.33	.577
	S1	1.00	.000
	S2	1.00	.000
	S3	1.00	.000
	B1	1.00	.000
	B2	.33	.577
	B3	1.00	.000
Nekroz_7	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.33	.577
	B1	.00	.000
	B2	.67	.577
	B3	.33	.577
Nekroz_14	S	.00	.000

	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	.000

Tablo 0.24. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde nekroz açısından değerlendirilmesine ait istatistiksel analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	74.909	.000	.789
Grup	2.286	.059	.507
Zaman * Grup	3.394	.001	.604

Tablo 0.25. Tüm gruplarda 1., 7. ve 14. günlerde ödem açısından değerlendirme

	GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Ödem_1	S	1.00	.000
	SG	1.33	.577
	B	.33	.577
	BG	1.00	.000
	S1	1.00	.000
	S2	1.00	.000
	S3	.33	.577
	B1	1.33	.577
	B2	1.33	.577
	B3	1.00	.
Ödem_7	S	1.00	1.000
	SG	.00	.000
	B	.33	.577

	BG	.33	.577
	S1	.33	.577
	S2	1.00	.000
	S3	1.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	1.33	1.155
	B3	1.00	.
Ödem_14	S	.00	.000
	SG	.00	.000
	B	.00	.000
	BG	.00	.000
	S1	.00	.000
	S2	.00	.000
	S3	.00	.000
	B1	.00	.000
	B2	.00	.000
	B3	.00	0.00

Tablo 0.26. Tüm grupların 1., 7. ve 14. günlerde ödem açısından değerlendirilmesine ait istatistiksel analizler

Kaynak	F	p	Partial Eta Squared
Zaman	30.516	.000	.629
Grup	1.890	.120	.486
Zaman * Grup	1.944	.075	.493

Histopatolojik olarak tüm parametrelerde zamana göre bir değişim söz konusu fakat kollajen miktarı hariç diğer parametrelerde zamana göre değişimin gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark yaratmadığı görülmüştür. Bu açıdan değerlendirme yapıldığında;

S ve S3 grupları kolajen miktarı bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S3 grubunda S grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir (*p<0.05). Bu bağlamda; *Lactobacillus rhamnosus* ve ILRA'nın beraber ilgili alanda ortaya çıkardığı olumlu sonuç neticesinde bu maddelerin birlikte kullanımının yara

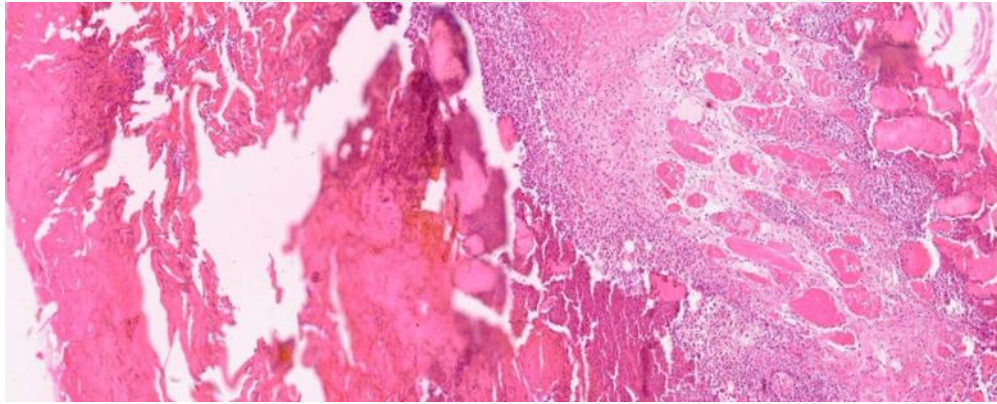
alanında yeni doku oluşumunu desteklediği ve doku rejenerasyonunu hızlandırarak yaranın çabuk kapanmasına yardımcı olduğu söylenebilir.

BG ve S2 grupları aynı parametre bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S2 grubunda BG'ye göre kolajen miktarının azaldığı gözlenmiştir (* $p<0.05$). Bu noktada; iyileşme üzerinde gentamisin'in ILRA' dan daha etkili olduğu söylenebilir.

S3 ve S2 grupları kolajen miktarı bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S3 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir (* $p<0.01$). Bu bağlamda; tek başına verilen ILRA' nın aksine *Lactobacillus rhamnosus* ile birlikte verildiğinde yara iyileşmesi üzerinde daha fazla olumlu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

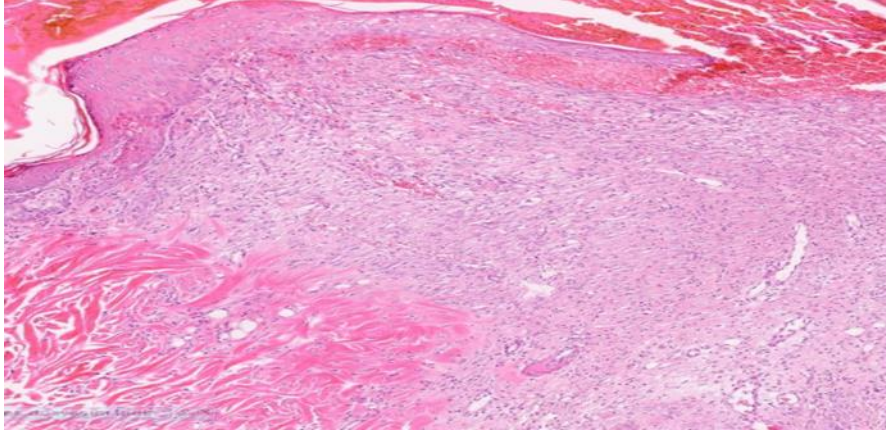
B1 ve S2 grupları aynı parametre bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde B1 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir (* $p<0.05$). Bu noktada; iyileşme üzerinde *Lactobacillus rhamnosus*' un ILRA' dan daha etkili olduğu söylenebilir.

Fotoğraf 0.6. B grubu 1. gün HE boyama görüntüsü.



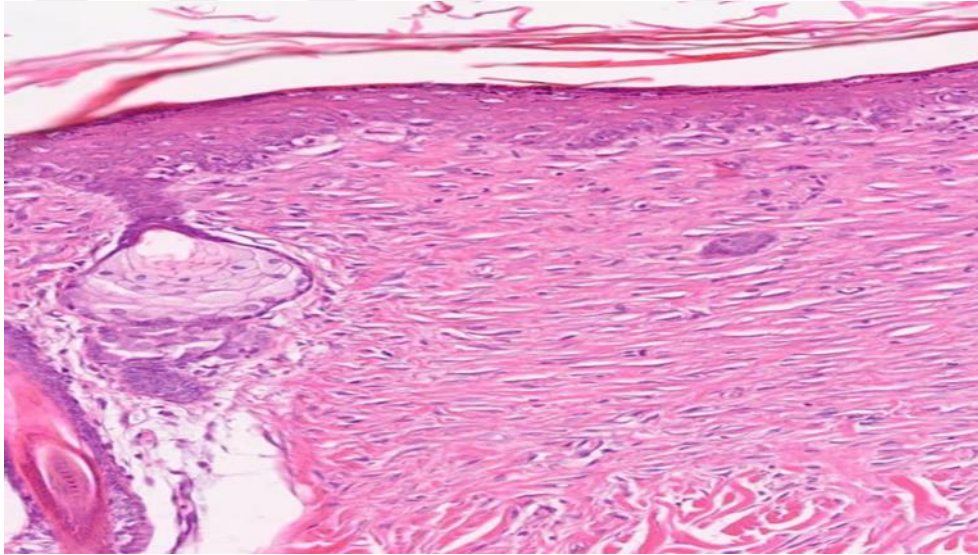
B grubu, ilk gün alınan örneklerde deri dokusunda yara yeri üzerinde kurut oluşumu, nötrofilden zengin enflamasyon, akut enflamasyona bağlı olarak ödem ve hafif nekrotik değişiklikler izlendi. Doku kaybından dolayı yara dudakları arası mesafe fibrin ve eritrositler, enflamatuvar hücrelerden oluşan kurut ile kaplanmıştır.

Fotoğraf 0.7. B grubu 7. gün HE boyama görüntüsü.



B grubu 7. gün HE boyama yapılan doku örneklerinde epitelizasyonun yara dudaklarının kenarından başlayarak ilerlediği, akut enflamasyonun kaybolduğu, fibroblastların belirginleşerek yara boşluğunu doldurduğu ve ince kollajen liflerinin de fibroblastlar arasında dikkat çekmeye başladığı görülmektedir. Vaskülaritenin dokulara göre değişiklik göstermekle azaldığını ve granülasyon dokusunun azalarak bağ dokunun arttığı görülmüştür.

Fotoğraf 0.8. BG grubu 14. Gün HE boyama görüntüsü.



BG grubu 14. gün HE boyama görüntüsünde, yüzeyde epitelizasyonun tamamlandığı, keratin tabakanın oluştuğu, deri eklerinin küçük hücre kümeleri şeklinde belirginleştiği izlenmektedir. Dermiste enflamasyon tama yakın kaybolmuş, kollajen demetleri yüzeye paralel görünüm almış ve vasküler yapılar

sayıca azalarak belirginlikleri kaybolmuştur. Kollajen lifleri daha belirgin ve kalın olarak dikkat çekmektedir.



5. TARTIŞMA

Yara ve enfekte yara tedavisi tüm dünya genelinde hala tam olarak açıklanamamış bir durumdur. Enfeksiyonlu yara iyileşme sürecini engelleyen ve iyileşme süresini uzatan bir faktördür (69). Hem sağlık sistemini hem de insan psikolojisini olumsuz etkilemektedir. Tedavi edilemeyen yaralar can kayıplarına kadar sebep olabilmektedir. Bu nedenle yara özellikle de enfeksiyonlu yaralara yeni ve farklı tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu deneysel çalışmada yara ve enfekte yara modelinde ilk defa *L. rhamnosus* ve IL-1 RA human (Sigma Aldrich SRP 3327, rekombinant) kombine olarak kullanılarak, yara iyileşme üzerine etkinliğin anlaşılması ve yara iyileşme süreçlerinin ilerlemesindeki katkıları ortaya konulmuştur. Bu deneysel modelde yara ve enfeksiyonlu yara karşılaştırılarak *L. rhamnosus* ve IL-1 RA'nın yara iyileşme sürecine katkılarının morfolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik analizler araştırılması amaçlanmıştır.

Probiyotik kullanımı, faydalı bakterilerin büyümesini teşvik ederek ve zararlı bakterilerin büyümesini engelleyerek cilt sağlığının korunmasında olumlu bir etkiye sahiptir. Ayrıca, sıklıkla kronik cilt enfeksiyonlarında rol oynayan *Staphylococcus aureus* gibi patojenler, antibiyotiklere karşı oldukça dirençli biyofilmler oluşturabilir ve bağışıklık tepkilerini baskılayabilir. Probiyotikler bağışıklık sistemini uyarabilir, cilt bariyeri bileşenlerinin üretimini artırabilir ve cilt iltihabını yönetebilir (67). Bir çalışmada gastrik ülser oluşturulan sıçanlarda gavaj yoluyla *L. rhamnosus* GG kullanılmıştır. Mide ülseri nin iyileşmesine olumlu katkı sağladığı bulunmuştur (3).

İsviçre'de yapılan eksizyonel yara oluşturulmuş fare deneyinde, oral olarak *L. rhamnosus* ile tedavi edilen farelerin yaralı derilerinde, inflamasyon ve fibrojenezi azaltmış ve anjiyogenezi iyileştirmiş, derideki yara kapanmasını hızlandırmış ve yara izini azalttığı gösterilmiştir (68).

Barzegari ve ark.' ları; *L. rhamnosus* GG (*L. rhamnosus* ATCC 7469) standart suşu, topikal olarak yanık tedavisinde kullanıldığı başka bir çalışmada, deneyin 7. gününde *L. rhamnosus* grubunda yara bölgesine fibroblastik göç fazla olmuş,

deneyin 14. gününde en yüksek granülasyon yine bu grupta olmuş, epitelizasyon hızını artırdığı bulunmuştur (2).

Perrault ve ark.' ları diyabetik farelerde yara oluşturmuşlar, lokal olarak yara kenarlarına deri altından IL-1 ra enjekte etmişler, akut inflamasyona olumlu katkı sağladığını, kutanöz yara iyileşmesini hızlandırıldığını bulmuşlar ve sonuç olarak iyileşmeyen yara tedavisinde yararlı olabileceği belirtmişlerdir. İnterlökin-1 reseptör antagonisti ile tedavi edilen yaralar, yaralanmadan sonraki 7. ve 14. günde tedavi edilmeyen yaralara göre, önemli ölçüde daha küçük yara alanına sahipti. Tedavi edilen yaralarda ayrıca önemli ölçüde daha az nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu görüldü. Bu bulgular, interlökin-1 reseptör antagonistinin, muhtemelen akut inflamasyonun başarılı bir şekilde çözülmesini teşvik ederek ve dolayısıyla yara kapanmasını hızlandırarak kutanöz yara iyileşmesinde önemli bir role sahip olabileceği hipotezini desteklemektedir. Dolayısıyla IL-1 ra'nın uygulanması iyileşmeyen yaraların tedavisinde faydalı olabilir demişlerdir (10).

Korneal alkali yaralanma oluşturulan bir sıçan çalışmasında lokal IL-1 ra kullanılmış, epitelial kapanma ve iyileşmeyi hızlandığı, korneal iltihabı azalttığı ve korneal şeffaflığı artırdığı bulunmuştur (11).

Barzegari ve ark.' larının yaptığı çalışmada belirtildiği üzere deneyin 7. gününde ve 14. gününde *L. rhamnosus* grubunda yara bölgesine iyileşme anlamlı derecede etkili bulunmuştur (2). Korneal alkali yaralanma oluşturulan bir sıçan çalışmasında lokal IL-1 ra, epitelial kapanma ve iyileşmeyi hızlandığı, korneal iltihabı azalttığı bulunmuştur. Perrault ve ark.' larının yaptığı diyabetik yara çalışmasında IL-1 ra tedavisi 7. ve 14. günlerde yara alanını anlamlı derecede küçültmüştür (10).

Literatürlerde belirtildiği gibi *L. rhamnosus*' un yara iyileşimini hızlandırması, IL-1 ra ' nın korneal yaralanmada epitelial kapanma ve iyileşmeyi hızlandırması, çalışmamızla benzer şekilde etkinliği görülmüştür.

Panagiotou ve ark.' larının sıçanlar üzerinde yaptığı eksizyonel cilt yara çalışmasında *L. rhamnosus*' un topikal uygulanmasının etkisini moleküler düzeyde incelemişlerdir. EGF ve VEGF'nin mRNA ekspresyonuna bakmışlar ve 2. ve 15. günde anlamlı derecede EGF ve VEGF artışı gözlemlemişlerdir (71).

Tüm grupların yara boyutları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 1. gün tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Yara boyutları 7. gün tüm gruplarda (yara ve enfekte yara gruplarında) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, B3 ve S3 gruplarındaki yara boyutu istatistiksel olarak anlamlı olarak diğer gruplardan daha küçüktür ($*p<0.05$).

Yara iyileşmesi 7. gün tüm gruplarda (yara ve enfekte yara gruplarında) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, B3 ve S3 gruplarında yara iyileşmesi diğer gruplara göre anlamlı olarak daha fazladır ($*p<0.05$). B3 ve S3 gruplarında yara boyutu en küçük boyutta olduğu görülmüştür. Yara boyutları 14. gün istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tüm deney gruplarının yara iyileşme durumunu gösterebilmek için yaraların boyutları 1. gün, 7. gün ve 14. gün istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, B3 ve S3 grubunda yara boyutu 7. günde diğer tüm gruplardan anlamlı derecede daha küçük bulunmuştur ($*p<0.05$). Sonuçlara göre kombine gruplarda yara kapanma süreci daha hızlı gerçekleşmiştir. 14.günlerde yara boyutlarında anlamlı farklılıklar yoktur ($p>0.05$).

Yedinci gün morfolojik değerlendirmede; B3 (enfeksiyon+IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) ve S3 (yara + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) gruplarında yara boyutları hem diğer günlere göre (1. ve 14. günler) hem de diğer gruplara göre anlamlı olarak küçük bulunmuştur ($*p<0.05$). Sonuç olarak B3 ve S3 gruplarında 7. gündeki yara iyileşimi, 14. gündeki yara iyileşimine eş olduğu görülmüştür. IL1 RA ve *L. rhamnosus*' un birlikte kullanımı iyileşme sürecini öne çekmiştir. 14. günde ise gruplar arasında anlamlı fark yoktur ($p>0.05$).

Büyük açık yaraların iyileşmesi, yüksek bakteriyel enfeksiyon riski ve yavaş iyileşme oranları nedeniyle kliniklerde büyük bir zorluk olmaya devam ederken, aşırı antibiyotik kullanımı, antibiyotik direncinin artmasına ve biyoyumluluğun azalmasına neden olmaktadır (72). Bu tür yara enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan sefalosporinler, florokinolonlar, kinolonlar, penisilin, sülfonamidler vb. gibi çeşitli antibiyotikler yalnızca enfeksiyonlara karşı koymakla kalmaz, aynı zamanda normal florayı da bozar. Dahası, antibiyotikler uzun süre kullanıldığında yeni kan damarlarının oluşumunu bozabilir, kollajen üretimini geciktirebilir veya yara onarımında rol oynayan bazı hücrelerin göçünü engelleyerek iyileşme

sürecinin bozulmasına neden olabilir. Bu nedenle bu tür enfeksiyonlara karşı alternatif tedavi yaklaşımlarına şiddetle ihtiyaç duyulmaktadır (73).

Günümüzde topikal antibiyotik profilaksisi ve çeşitli ajanlarla tedavi oftalmik, ortopedik, nörolojik, ürolojik ve genel cerrahi dahil olmak üzere birçok cerrahi alanda faydalı olduğu belgelenmiştir (83). Gentamisin, geniş spektrum, düşük maliyetli, farmakokinetik ve farmakodinamik gibi özelliklerinden dolayı topikal uygulamada giderek en çok kullanılan ajan haline gelmiştir (84). Gentamisin, dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bir aminoglikozit antibiyotiktir. Gentamisin gram-negatif türlere yönelik olsa da aynı zamanda birçok gram-pozitif suşa karşı da etkilidir (85). Ayrıca gentamisin beta-laktam antibiyotiklerle, özellikle *Staphylococcus aureus* gibi gram-pozitif türlere karşı da etkilidir (86). Bununla birlikte, intra-venöz veya intramüsküler olarak uygulandığında gentamisin, böbrek korteksinde ve iç kulağın endolenf ve perilenfde birikerek böbrek hasarına ve işitme kaybına neden olur (87). Gentamisinin lokal olarak uygulanmasıyla bu yan etkiler kısmen ortadan kaldırılabılır (88). Antibiyotiklerin topikal uygulanması sistemik komplikasyonları azaltır ve artan ilaç konsantrasyonlarını doğrudan yaraya iletir (89).

Lokal yara enfeksiyonu veya enfeksiyon riski olan hastalarda topikal gentamisin uygulamasının yara enfeksiyonunun profilaksisi ve tedavisi üzerindeki etkilerini değerlendiren sistematik bir meta-analiz yapılan çalışmada, yara iyileşme süresi açısından gentamisin uygulanan grupta, gentamisin uygulanmayan gruba göre daha kısa sürede iyileşme gözlenmiştir (88).

Eksizyonel yara enfeksiyonu oluşturulan domuzlarda, yüksek doz gentamisin topikal uygulanmış ve gentamisin *S. aureus* koloni sayısını anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur (89).

Bir hastanenin dermatoloji kliniğinde 23 hastayı kapsayan gentamisin dirençli *S. aureus* enfeksiyonu salgınının, topikal gentamisin'in geniş kullanımıyla ilişkili olduğu görüldü (90).

Çalışmamızın amacı topikal antibiyotik uygulaması sonucunda ortaya çıkabilecek bakteriyel direnç durumuna karşı alternatif tedavi sunmaktır.

Mikrobiyal biyofilmler, protez kalp kapakçıkları, eklem protezleri ve kateterler gibi organların implantasyon yerlerinde kolonize olabilir ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilir. Şeker hastalığı, yara enfeksiyonları, diş çürükleri ve kanser gelişimi gibi çok sayıda hastalık biyofilm enfeksiyonlarıyla ilişkilidir ve bu nedenle dünya çapındaki hastalık oranlarındaki artışın önemli bir nedenidir. Biyofilmlerin normal rutin tanı testleriyle tespit edilmesi genellikle çok zordur ve bu nedenle biyofilmlerin neden olduğu yara enfeksiyonlarının yönetimi zordur (74). Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Streptococcus* mutantları, *Pseudomonas aeruginosa* ve *S. epidermidis*' in klinik ortamda biyofilmler oluşturur (75). Bu bakteriler yüzeylerin başlıca kolonileştiricileridir ve diğer mikropların tutunabilmesi için biyofilm temeli sağlar (76).

Varma ve ark.' larının insan kolon biyopsi örneklerinden elde edilen Laktobasil türü ile *S. aureus* ve *P. aeruginosa*' nın oluşturduğu biyofilm üzerine etkisini araştırmışlar, MRS agara ekim yapmışlardır ve çalışma sonucunda Laktobasil türünün *S. aureus* ve *P. aeruginosa*' nın oluşturduğu biyofilmi inhibe ettiğini göstermişlerdir (78).

Venosi ve ark.' larının yaptığı araştırmada kritik ekstremite iskemisinden ve sağ bacakta enfekte, tedavi edilmesi zor ülserli kutanöz lezyondan yakınan 83 yaşında bir kadının yarası üzerine probiyotik karışımı lokal uygulanmasıyla tamamlayıcı tedavi gördü. Uygulama öncesi ve sonrası alınan yara sürüntü örneklerinde mikrobiyolojik ve metabolomik analizler yapıldı. Probiyotik tedavisinden önce yara sürüntüsünde *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* ve *E. faecalis* çoğalırken, yalnızca 12. günde *K. pneumoniae* ve *P. mirabilis* büyüme gösterdi ve 21. günde yara sürüntüsünde bakteri üremesi görülmedi. Bakteri üremesinin olmadığı 24. günde de doğrulandı. Tedavi süreci boyunca mikrobiyolojik incelemelerle anlamlı derecede lezyonda ilerleyici bir iyileşme gözlemlendi ve mikrobiyolojik üreme olmadı. (79).

Literatürlerde bahsedildiği üzere Laktobasil türleri enfeksiyona karşı etkilidir.

Bizim çalışmamızda benzer olarak, 1. gün B grubunda (enfeksiyon+yara grup) koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)' nda

koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

Birinci gün B grubu (enfeksiyon + yara grubu) doku gr başına düşen koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) doku gr başına düşen koloni sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

Yedinci gün B grubunda (enfeksiyon+yara grubu) koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)'nda koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

Yedinci gün B grubu (enfeksiyon + yara grup) doku gr başına düşen koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu) doku gr başına düşen koloni sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05).

1. günde ve 7. günde sadece *S. aureus* uygulanan grupta bakterilerin çoğalması daha fazla iken, IL1 RA ve *Lactobacillus rhamnosus*' un ayrı ayrı ve birlikte kullanıldığı gruplarda *S. aureus*' un çoğalmasının engellendiği görülmektedir.

Tüm gruplardaki 14. gün mikrobiyolojik çalışma sonuçlarına göre, koloni sayısı ve doku gr başına düşen koloni sayısı sıfırdır. *S. aureus* üremesi görülmemiştir.

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde koloni sayısı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 1. gün ve 7. gün B gruplarında (enfeksiyon+yara grupları) koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol gruplarına (1. ve 7. günlerde) göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon +IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA + *L. rhamnosus* grubu)' nda koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05). 14. gün üreme görülmemiştir.

Bu çalışmada *L. rhamnosus* ve IL1 RA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulanması koloni sayısını anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür.

Tüm gruplardaki 1., 7. ve 14. günlerde doku gr başına düşen koloni sayısı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 1. gün ve 7. gün B gruplarında (enfeksiyon+yara grupları) doku gr başına düşen koloni sayısı en yüksek değerdedir. Tedavi uygulanan gruplarda kontrol gruplarına (1. ve 7. günlerde) göre; B1 grubu (enfeksiyon + *L. rhamnosus* uygulanan grup), B2 grubu (enfeksiyon + IL1 RA grubu), B3 grubu (enfeksiyon + IL1 RA+ *L. rhamnosus* grubu)'nda doku gr başına düşen koloni sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (*p<0.05). 14. gün üreme görülmemiştir.

Bu çalışmada *L. rhamnosus* ve IL1 RA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulanması doku gr başına düşen koloni sayısını anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür.

Sonuç olarak, mikrobiyolojik değerlendirmede 1. ve 7. günlerde IL1 RA ve *Lactobacillus rhamnosus*' un ayrı ayrı ve birlikte kullanımı, enfeksiyon etkeni olarak verilen *S. aureus* koloni sayısını ve doku gr başına düşen koloni sayısını anlamlı derecede azaltmıştır.

Zahedi ve ark.' larının sıçanlar üzerinde yaptığı eksizyonel yara oluşturdukları çalışmada Laktobasil türlerini topikal kullanmışlardır. Deneyin 1., 3., 7., 14. ve 21. günde kurbanıye edilen sıçanları histolojik olarak yaraları incelemişlerdir. Çalışmanın 21. gününde Laktobasil ile tedavi edilen grubun yarası, kontrol ve negatif kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında yara iyileşmesinde hızlanma ve iltihaplanma yüzdesinde azalma anlamlı derecede etkili görülmüştür (77).

Çalışmamızda histopatolojik olarak tüm parametrelerde zamana göre bir değişim söz konusu fakat kollajen miktarı hariç diğer parametrelerde zamana göre değişimin gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark yaratmadığı görülmüştür. Bu açıdan değerlendirme yapıldığında; S ve S3 grupları kollajen miktarı bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S3 grubunda S grubuna göre kollajen miktarının arttığı gözlenmiştir (*p<0.05). Bu bağlamda; *Lactobacillus rhamnosus* ve ILRA'nın beraber ilgili alanda ortaya çıkardığı olumlu sonuç neticesinde bu maddelerin birlikte kullanımının yara alanında yeni doku oluşumunu desteklediği ve doku rejenerasyonunu hızlandırarak yaranın çabuk kapanmasına yardımcı olduğu söylenebilir.

BG ve S2 grupları aynı parametre bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S2 grubunda BG'ye göre kolajen miktarının azaldığı gözlenmiştir (*p<0.05). Bu noktada; iyileşme üzerinde gentamisin ILRA' dan daha etkili olduğu söylenebilir.

S3 ve S2 grupları kolajen miktarı bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S3 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir (*p<0.01). Bu bağlamda; tek başına verilen ILRA' nın aksine *Lactobacillus rhamnosus* ile birlikte verildiğinde yara iyileşmesi üzerinde daha fazla olumlu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

B1 ve S2 grupları aynı parametre bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde B1 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir (*p<0.05). Bu noktada; iyileşme üzerinde *Lactobacillus rhamnosus*' un ILRA' dan daha etkili olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada enfekte yara modeli oluşturulduktan sonra IL1RA ve *Lactobacillus rhamnosus*' un ayrı ayrı ve birlikte kullanımının yara iyileşme sürecine etkileri 1. gün, 7. gün ve 14. günlerde; morfolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Tüm gruplar 1. gün morfolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark yok iken (p>0.05), Tüm bakteri grupları 1. gün mikrobiyolojik olarak değerlendirildiğinde, koloni sayıları ve gr başına düşen koloni sayıları kontrol grubunda (B grubu) diğer gruplara göre anlamlı derecede fazladır (*p<0.05). Tüm gruplar 7. gün morfolojik olarak değerlendirildiğinde B3 ve S3 grubunda yara boyutu anlamlı derecede küçüktür (*p<0.05). İyileşme en fazla B3 ve S3 grubunda olmuştur(*p<0.05). Kombine tedavi iyileşmeyi erkene çekmiştir. 7. gün mikrobiyolojik olarak değerlendirildiğinde, koloni sayıları ve gr başına düşen koloni sayıları kontrol grubunda (B grubu) diğer gruplara göre anlamlı derecede fazladır (*p<0.05). IL1 RA ve *Lactobacillus rhamnosus*' un ayrı ayrı ve birlikte kullanımı 7. günde bakteri üremesini anlamlı derecede engellemiştir (*p<0.05).

Histolojik, mikrobiyolojik ve morfolojik veriler birbirini desteklemektedir

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan deneysel çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda yara ve enfekte yara modeli oluşturulan sıçanlarda *L. rhamnosus*, IL-1 ra ve birlikte kullanımının etkileri ortaya konulmuştur. Bulgular doğrultusunda ;

1. *L. rhamnosus* ve IL1 RA kullanılan gruplarda morfolojik ölçümlerde yara bölgesinin daha hızlı kapandığı görülmüştür.
2. Morfolojik sonuçlara göre hem sham grubunda hemde enfeksiyon grubundaki yara iyileşmesi 7. gün ile 14. günde istatistiksel olarak fark yoktur. Bu da kombine gruplarında yara iyileşmesini erkene çektiğini göstermektedir.
3. Mikrobiyolojik analizlerde, *L. rhamnosus* GG ve IL1 RA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulanan grupların kontrol gruplarına göre daha az enfeksiyon etkenine sahip olduğu görülmektedir.
4. Histopatolojik incelemelerde; S ve S3 grupları kolajen miktarı bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S3 grubunda S grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir. Bu bağlamda; *L. rhamnosus* GG ve ILRA'nın beraber ilgili alanda ortaya çıkardığı olumlu sonuç neticesinde bu maddelerin birlikte kullanımının yara alanında yeni doku oluşumunu desteklediği ve doku rejenerasyonunu hızlandırarak yaranın çabuk kapanmasına yardımcı olduğu söylenebilir.
5. Histolojik incelemelerde; BG ve S2 grupları aynı parametre bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S2 grubunda BG'ye göre kolajen miktarının azaldığı gözlenmiştir. Bu noktada; iyileşme üzerinde gentamisin ILRA' dan daha etkili olduğu söylenebilir.
6. Histolojik incelemelerde; S3 ve S2 grupları kolajen miktarı bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde S3 grubunda S2 grubuna göre kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir. Tek başına verilen ILRA' nın aksine *L. rhamnosus* ile birlikte verildiğinde yara iyileşmesi üzerinde daha fazla olumlu etkiye sahip olunduğu gözlenmiştir.
7. Histolojik incelemelerde ayrıca; B1 ve S2 grupları aynı parametre bakımından incelendiğinde 7. ve 14. günlerde B1 grubunda S2 grubuna göre

kolajen miktarının arttığı gözlenmiştir. Bu noktada; iyileşme üzerinde *Lactobacillus rhamnosus*' un ILRA' dan daha etkili olduğu söylenebilir.

8. Tüm sonuçlara ve literatür bilgilerine göre *L. rhamnosus* GG ve IL1 RA' nın ayrı ayrı ve birlikte kullanımının VEGF, EGF gibi gen ekspresyonu ile moleküler düzeyde araştırma yapılarak yara ve enfekte yaranın iyileşmesi üzerine daha kapsamlı biçimde yara iyileşme aşamalarına farklı boyutlarda incelenmesine ihtiyaç vardır.
9. Çalışmamızın inflamasyon etkisi merak konusudur. Gen ekspresyonu ile *L. rhamnosus* GG ve IL1 RA' nın ayrı ayrı ve birlikte kullanımının inflamasyona etkisinin araştırılması yara ve enfekte yara tedavisine farklı bakış açısı sunabilir.

Yapılan bu araştırmanın sonuçlarında gösterildiği gibi yara ve enfekte yara tedavisinde farklı ajanların kullanılması yara tedavisinde etkili olabilir. Yara tedavisinde *L. rhamnosus*' un ve IL 1 RA' nın etkili olabileceği araştırmalar kısıtlıdır. Birlikte kullanımlarının etkinliği bilinmemektedir. Bu araştırma literatür bilgileri araştırılarak kullanılan ajanların etkili olabileceği yönünde hesaplamalarla kurgulanmıştır. Moleküler düzeyde araştırma, farklı günlerde yapılan ölçümlerle araştırma açısından kısıtlıdır. Sonraki araştırmalarda farklı Laktobasil türleri eklenerek aynı araştırma yapılabilir. Periferde en çok görülen enfeksiyon etkenleri kullanılarak denenebilir. Periferde enfeksiyonlu yarada farklı bakteri suşları kolonizasyon yapabilmektedir. Birden fazla enfeksiyon etkeniyle aynı deneysel çalışma yapılabilir

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. Roudsari, M.R., Karimi, R., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A.M. 2015." Health Effects of Probiotics on the Skin", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 55:1219–1240.
2. Barzegari, A.A., Hashemzaei, M., Alihemmati, A.R., Soltani, S., Naseri, B. 2018. " Effects of *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 7469) ointment on second-degree burn wound in Wistar rat ", J Bas Res Med Sci, 5(1), 1-9.
3. Lam E.K.Y., Yu, L., Helen P.S. Wong, H.P.S., Wu, W. K.K., Shin,V.Y., Tai, E.K.K., So, W.H.L., Woo, P.C.Y., Cho, C.H. 2007. "Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG enhances gastric ulcer healing in rats", European Journal of Pharmacology 565, 171–179.
4. Walaa, M., McBain, A.J., Cruickshank, S.M., O'Neill, C.A., 2014. "*Lactobacillus rhamnosus* GG Inhibits the Toxic Effects of *Staphylococcus aureus* on Epidermal Keratinocytes", Applied and Environmental Microbiology, 80 (18), 5773–5781.
5. Ballak, D. B., Stienstra, R., Tack, C. J., Dinarello, C. A., van Diepen, J. A. 2015. " IL-1 family members in the pathogenesis and treatment of metabolic disease: Focus on adipose tissue inflammation and insulin resistance", Cytokine; 75(2): 280-290.
6. Yuan, X., Peng, X., Li, Y., Li, M. 2015. "Role of IL-38 and its related cytokines in inflammation", Mediators Inflammation; 807976, 7p.
7. Dinarello, C. A., Thompson, R. C., 1991. "Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist in vivo and in vitro", Immunology Today; 12 (11), 404-410.
8. Yis, Ö. M., Buğdaycı, G. 2019. " IL-1 Ailesi ve İlişkili Hastalıklar", Abant Med J;8(1):37-45.
9. Ishida, Y., Kondo, T., Kimura,A., Matsushima,K., Mukaida, N. 2006. "Absence of IL-1 Receptor Antagonist Impaired Wound Healing along with Aberrant NF-KB Activation and a Reciprocal Suppression of TGF- β Signal Pathway", J Immunol,176, 5598-5606.
10. Perrault, D.P., Bramos, A., Xu, X., Shi, S., Wong, A. K., FACS. 2018." Local Administration of Interleukin-1 Receptor Antagonist Improves Diabetic Wound Healing", Ann Plast Surg, 80, 317–321.
11. Yamadaa, J., Danab, M.R., Sotozonoa, C., Kinoshitaa, S. 2003. " Local suppression of IL-1 by receptor antagonist in the rat model of corneal alkali injury", Experimental Eye Research, 76, 161–167.
12. Tlaskalová-Hogenová, H., Štěpánková, R., Kozáková, H., Hudcovic, T., Vannucci, L., Tučková, L., Rossmann, P., Hrnčíř, T., Kverka, M., Zákostelská, Z., Klimešová, K., Přibyllová, J., Bártová, J., Sanchez, D., Fundová, P., Borovská, D., Šrůtková, D., Zídek, Z., Schwarzer, M., Drastich, P., Funda, D. P. 2011. "The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases" Cellular & molecular immunology, 8(2), 110-120.
13. Patel, R., DuPont, H. L. 2012." New approaches for bacteriotherapy; prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics ", Clinical Infectious Diseases, 60 (supple 2), 108-121.
14. Cogen, A. L., Nizet, V. and Gallo, R. L. 2008. " Skin Microbiota: A Source of Disease or Defence?", British Journal of Dermatology, 158, 442- 455.
15. Singer, A. J., Clark, R. A. F. 1999. "Mechanisms of disease- Cutaneous wound healing", New

England Journal of Medicine, 341 (10), 738- 746.

16. Fu-shin, X. 2020. "Compositions and methods to promote wound healing", US Patent App., 16/ 570, 735.
17. Arnold, H. L., Odom, R. B., James, W. D. 1990. Clinical Dermatology. 8. ed, WB Saunders Company, Philadelphia, p 71-75.
18. Marks, R., Dykes, P., Motley, R. 1993. Clinical Signs and Procedures in Dermatology. 1. ed, London, p 35.
19. Strodbeck, F. 2001."Physiology of wound healing", Newborn and Infant Nursing Reviews, 1(1), 43-52.
20. Cooper, R.A., Molan, P. C., Harding, K. G., 1999."Antibacterial Activity of Honey against Strains of Staphylococcus Aureus from Infected Wounds", 92(6): 283–285.
21. Mast, BA. 1999. The skin, in Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ."Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects", 344-355.
22. Martin, P. 1997. "Wound healing. Aiming for perfect skin regeneration", Science, 276: 75-81.
23. Clark, RAF. 1995."Wound repair: Overview and general considerations, in Clarck RAF. Wound repair: Overview and general considerations", in Clark RAF (ed), The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair, 3-50.
24. Waldrop, J., Doughty, D. 1991. "Wound- healing physiology", 17-39.
25. Steed, D. 1997. "The role of growth factors in wound healing", Surg Clin North Am, 77, 575-586.
26. Garrett., B. 1997. "Cellular communication and the action of growth factors during wound healing ", Journal of wound care, 6: 277-280.
27. St Louis, M. O., Mosby. 1991. "Acute and Cronic Wounds ", Nursing Management, 17-39.
28. Hubner, G., Brauchle, M., Smola, H., et al. 1996. "Differentiation of regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid- treated mice. Cytokines, 8, 548-556.
29. Cooper, D. M., 1999. "Wound healing : New understandings ", Nurse Practitioner Forum, 10: 74-86Nurse Practitioner Forum, 10, 74–86.
30. Haas, A. F., 1995. "Wound healing" Dermatol Nurs 7, 28-34.
31. Hunt, T.K, Hussain, Z.,1999. "Wound microenvironment, in Cohen, I.K., Diegelmann, R.F., Lindblad, W. J., "Wound healing", Biochemical and Clinical Aspects, Philadelphia, P. A, Saunders, 274-281.
32. Iocono, J. A., Ehrlich, H. P., Gottrup, F., 1998. "The biology of healing, in Leaper, D. L., Harding, K. G., "Wounds", Biology and Management, Oxford University Press, 12-22.
33. Rohovsky, S., D'Amore., P., 1997. "Growth factors and angiogenesis in wound healing, in Ziegler, T., Pierce, G., Herndon, D., "Growth factors and wound healing : Basic Science and Clinical Applications. Norwell, M. A., Springer, 234-245.
34. Kerstein, M. D., 1997. "The scientific basis of healing ", Adj Wound Care, 10, 30-36.
35. Garrett, B., 1998. "Re- epithelialization", J Wound Care, 7,358- 359.
36. Eckes, B., Aumailley, M., Krieg, T., 1996. "Collagens and the reestablishment of dermal integrity, in Clark, R. A. F., : The molecular and cellular biology of wound repair", Plenum

press, 493-512.

37. Calvin, M., 1998. Cutaneous wound repair", *Wounds*, 10,12-15.
38. Levenson, S. M., Geever, E. F., Crowley, L. V., 1965. "The healing of rat skin wounds ", *Ann Surg*,161, 293-308.
39. Streuli, C., 1999. "Extracellular matrix remodeling and cellular differentiation", *Curr Opin Cell Biol*, 11, 634-640.
40. Schultz, G.S., 1999. "Molecular regulation of wound healing ", in Bryant, R.A (ed), "Acute and chronic wounds", *Nursing Management* (ed 2), Louis, M. O., p 413-429.
41. Kumar, M. S., Sripriya, R., Raghavan, H. V., Sehgal, P. K., 2006. "Wound Healing Potential of Cassia fistula on Infected Albino Rat Model ", *Journal of Surgical Research*, 131, 283-289.
42. Kumar, M. S., Kirubanandan, S., M. Tech., Sripriya, R., Sehgal, P. K., 2008. "Triphala Promotes Healing of Infected Full- Thickness Dermal Wound", *Journal of Surgical Research*, 144, 94-101.
43. Soni, I., Chakrapani, H., Chopra, S., 2015. "Draft Genome Squence of Methicillin- Sensitive *Staphylococcus aureus* ATCC 29213", *ASM Journals, Genome announcements*, 3(5), e01095-15.
44. Singh, R., Ray, P., Das, A., Sharma, M., 2010."Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms ", *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*, 65(9), 1955-1958.
45. Chavakis, T., Hussain, M., Kanse, S. M., Peter, G., Bretzel, R. G., Flock, J. I., Herrmann, M., Preissner, K. T., 2002. "Staphylcoccus aureus extracellular adherence protein (Eap) serves as anti-inflammatory factor by inhibiting the recruitment of host leukocytes", *Nat Med*, 8, 687–693.
46. Lee, L. Y., Miyamoto, Y. J., McIntyre, B. W., Höök, M., McCrea, K. W., McDevitt, D., Brown, E. L., 2002. "The *Staphylococcus aureus* Map protein is an immunomodulator that interferes with T cell mediated responses", *J Clin Invest*, 110, 1461–1471.
47. Uzun, E., 2013. "Diyabetik Ratlarda Topikal Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) Uygulamasının Yara Dokusundaki Oksidatif Olaylar Üzerine Etkisinin Araştırılması", *Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, 38-44, ANKARA.
48. Loughlin, R., Brady, A., Gilpin, D., Paddy Kearney², Tunney, M., 2006. "In vitro activity of tea-tree oil against clinical skin isolates of meticillin-resistant and -sensitive *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci growing planktonically and as biofilms ", *Journal of Medical Mikrobiology*, 5(10), 1375-1380.
49. Bischoff, M., Beck, A., Frei, P., Bischoff, G. 2010. "Pharmacokinetics of Cefuroxime in TraumaticWound Secretion and Antibacterial Activity UnderVacuum Therapy ", *Journal of Chemotherapy*, 22(2), 92-97.
50. Zimmerli, W., Frei, R., Widmer, A. F., Rajacic, Z., 1994. " Microbiological tests to predict treatment outcome in experimental device-related infections due to *Staphylococcus aureus* ", *J Antimicrob Chemother*, 33(5):959-67.
51. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, 2006. "Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria"a joint FAO/WHO expert consultation. <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf>
52. Galdeano, C. M., Cazorla, S. I., Lemme Dumit, J. M., Vélez, E., Perdigón, G., 2019. "Beneficial Effects of Probiotic Consumption on the Immune System", *Ann Nutr Metab*. 74,

53. Madsen, K., 2006. "Probiotics and the Immune Response", J Clin Gastroenterol, 40, 232–234.
54. Lam, E. K. Y., Yu, L., Helen, P.S., Wong, H. P. S., Wu, W. K. K., Shin, V. Y., Tai, E. K. K., So, W. H. L., Woo, P. C. Y., Cho, C. H., 2007. "Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG enhances gastric ulcer healing in rats", European Journal of Pharmacology, 565, 171–179.
55. Öztöpolan, F. D., Işık, R., Durmuş, A. S., 2017. "Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinlerin Rolü", Dicle Üniv Vet Fak Derg, 10(1), 83-88.
56. Barter, M. J., Cheung, K., Falk, J., Panagiotopoulos, A. C., Cosimini, C., O'Brien, S., Teja-Putri, K., Neill, G., Deehan, D. J., David A. Young, D. A., 2020. "Dynamic chromatin accessibility landscape changes following interleukin-1 stimulation", bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.29.924878>.
57. Hu, Y., Liang, D., Li, X., Liu, H. H., Zhang, X., Zheng, M., Dill, D., Shi, X., Qiao, Y., Yeomans, D., Carvalho, B., Angst, S. M., Clark, D. J., Peltz, G., 2010. "The Role of Interleukin-1 in Wound Biology. Part II: In Vivo and Human Translational Studies", Anest. Analg, 111, 1534-1542.
58. Thomay, A. A., Daley, J. M., Sabo, E., Worth, P. J., Shelton, L. J., Harty, M. W., Reichner, J. S., Albina, J. E., 2009. "Disruption of Interleukin-1 Signaling Improves the Quality of Wound Healing ", The American Journal of Pathology, 174, 6.
59. Tianhong, D., Kharkwal, G. B., Tanaka, M., Huang, Y. Y., Bil de Arce, V. J., Hamblin, M. R., 2011. "Animal models of external traumatic wound infections ", Virulence, 2(4), 296-315.
60. Kim, B. S., Breuer, B., Arnke, K., Ruhl, T., Hofer, T., Simons, D., Knobe, M., Ganse, B., Guidi, M., Beier, J. P., Fuchs, P. C., Pallua, N., Bernhagen, J., Grieb, G., 2020. "The effect of the macrophage migration inhibitory factor (MIF) on excisional wound healing in vivo ", Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery, 54, (3), 137–144.
61. Ong, J. S., Taylor, T. D., Yong, C. C., Khoo, B. Y., Sasidharan, S., Choi S. B., Ohno, H., Liong, M. T., 2019. "*Lactobacillus plantarum* USM8613 Aids in Wound Healing and Suppresses Staphylococcus aureus Infection at Wound Sites ", Probiotics and Antimicrobial Proteins, <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9505-9>.
62. Stanbro, J., Park, J. M., Bond, M., Stockelman, M. G., Simons, M. P., Watters, C., 2019. "Topical Delivery of Lactobacillus Culture Supernatant increases Survival and Wound Resolution in Traumatic Acinetobacter baumannii Infections ", Probiotics & Antimicro. Prot., <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09603-z>.
63. Garcia, J. H., Liu, K. F., Relton, J. K., 1995. "Interleukin-1 receptor antagonist decreases the number of necrotic neurons in rats with middle cerebral artery occlusion ", AmJ Pathol, 147 (5), 1477-1486.
64. Mulcahy, N. J., Ross, J., Rothwell N. J., Loddick, S. A., 2003. "Delayed administration of interleukin-1 receptor antagonist protects against transient cerebral ischaemia in the rat ", British Journal of Pharmacology, 140, 471–476.
65. Çakalağaoğlu, F., 2005. "Tissue processing – Doku takibi", Aegean Pathology Journal, 2, 29-34.
66. Firidin, Ş. 2004. "Histolojik Çalışmalar İçin Doku Örnekleri Alma ve İşleme Proesi", SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni, 4,1.
67. Rawal, S., Azmal Ali, S., 2023. "Probiotics and postbiotics play a role in maintaining dermal health ", Food Funct, 14, 3966-3981.

68. Moreira, C. F., Cassini-Vieira, P., Cecília Campos Canesso, M., Felipetto, M., Ranfley, H., Teixeira, M. M., Robert Nicoli, J., Martins, F. S., Barcelos, L. S., 2021. "*Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724 (LPR) Improves Skin Wound Healing and Reduces Scar Formation in Mice", 13, 709–719.
69. Meenakshi, S., Santhanakumar. R., 2023. " The role of probiotics as wound healers: an overall view " , Journal of Wound Care, 32(5).
70. Wu, Y. K., Cheng, N. C., Cheng, C. M., 2018. " Biofilms in Chronic Wounds: Pathogenesis and Diagnosis " , Trends in biotechnology, 37(5), 505-517.
71. Panagiotou, D., Filidou, E., Gaitanidou, M., Tarapatzi, G., Spathakis, M., Kandilogiannakis, L., Stavrou, G., Arvanitidis, K., Joulia K., Gionga, P., Shrewsbury, A. D., Manolopoulos, V. G., Kapoukranidou, D., Lasithiotakis, K., Kolios, G., Kotzampassi, K., 2023. " Role of *Lactiplantibacillus plantarum* UBLP-40, *Lactobacillus rhamnosus* UBLR-58 and *Bifidobacterium longum* UBBL-64 in the Wound Healing Process of the Excisional Skin " , Nutrients, 15, 1822.
72. Liu, Y., Tan, L., Huang, Y., Chen, M., Li, M., Cai, K., Luo, Z., Hu, Y., 2023. " Multifunctional antibiotics-free hydrogel dressings with self-regulated nitric oxide-releasing kinetics for improving open wound healing " , Journal of Materials Chemistry B, Issue 16.
73. Barman, P., Sharma, C., Joshi, S., Sharma, S., Maan, M., Rishi, P., Singla, N., Saini, A., 2023. " In Vivo Acute Toxicity and Therapeutic Potential of a Synthetic Peptide, DP1 in a *Staphylococcus aureus* Infected Murine Wound Excision Model " , Probiotics and Antimicrobial Proteins.
74. Sharahi, J. Y., Azimi, T., Shariati, A., Safari, H., Tehrani, M. K., Hashemi, A., 2019. " Advanced strategies for combating bacterial biofilms " , J. Cell. Physiol., 234(9), 14689–14708.
75. Mathur, H., Field, Rea, D. M., Cotter, P. D., Hill, C., Ross, R. P., 2018. Fighting biofilms with antibiotics and other groups of bacteriocins, npj Biofilms Microbiomes, 2018, 4(1), 9.
76. Pouget, C., Dunyach-Remy, Magnan, C., Pantel, A., Sotto, A., Lavigne, J. P., " Polymicrobial Biofilm Organization of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in a Chronic Wound Environment " , International Journal of Molecular Science, 23(18), 10761.
77. Zahedi, F., Heydari Nasrabadi, M., Tajabadi Ebrahimi, M., Aboutalebi, H., 2011. " Comparison of the effects of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum* on cutaneous wound healing in rats " , African Journal of Microbiology Research, 5(24), 4226-4233.
78. Varma, P., Nisha, N., Dinesh R. K., Kumar, V.A., Biswas, R., 2011. " Anti-Infective Properties of *Lactobacillus fermentum* against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* " , J Mol Microbiol Biotechnol, 20, 137–143.
79. Venosi, S., Ceccarelli, G., Angelis, M., Laghi, L., Bianchi, L., Martinelli, O., Maruca, D., Cavallari, E. N., Toscanella, F., Vassalini, P., Trinchieri, V., Oliva, A., Ettorre, G., 2019. " Infected chronic ischemic wound topically treated with a multi-strain probiotic formulation: a novel tailored treatment strategy " , Venosi et al. J Transl Med, 17, 364.
80. Ahmadi, M., Adibhesami, M., 2017. " The Effect of Silver Nanoparticles on Wounds Contaminated with *Pseudomonas aeruginosa* in Mice: An Experimental Study " , Spring; 16(2): 661–669.
81. Hashemzaei, M., Mohammadpour, A., Imenshaidi, M., Rezaee, R., Moallem, S. A., 2018. " Does granulocyte colony stimulating factor have protective effects against carbon monoxide-induced apoptosis? " , Biologia, 73, 1153–1157.
82. Schultz, G. S., Chin, G. A., Moldaver, L., Diegelman, R. F., 2011. " Principles of Wound Healing " , Mechanisms of vascular disease: A preference book for vascular specialists, Chapter 23, 423-445.

83. Xiong, L., Pan, Q., Jin, G., Xu, Y., Hirche, C., 2014. " Topical intrawound application of vancomycin powder in addition to intravenous administration of antibiotics: a meta - analysis on the deep infection after spinal surgeries ", *Orthop Traumatol Surg Res*, 100 (7), 785 - 789.
84. Brehant, O., Sabbagh, C., Lehert, P., Dhahri, A., Rebibo, L., Regimbeau J. M., 2013. " The gentamicin-collagen sponge for surgical site infection prophylaxis in colorectal surgery: a prospective case - matched study of 606 cases ", *Int J Colorectal Dis.*, (28), 119 - 125.
85. Rapetto, F., Bruno, V. D., Guida, G., Marsico, R., Chivasso, P., Zebele, C., 2016. " Gentamicin-impregnated collagensponge: effectiveness in preventing sternal wound infection in high - risk cardiac surgery ", *Drug Target Insights*, 10 (1), 9 - 13.
86. Roy, S., Hossain M. A., Paul, S. K., et al., 2016. " Antimicrobial susceptibility pattern of methicillin - resistance staphylococcus aureus from different tertiary care hospitals including mymensingh medical college hospital ", *Mymensingh Med J.*, 25, 450-457.
87. Kent A., Turner, M.A., Sharland, M., Paul, T., 2014. " HeathAminoglycoside toxicity in neonates: something to worry about? ", *Expert Rev Anti Infect Therapy*, 12,319 - 331.
88. Wang, P., Long, Z., Yu, Z., Liu, P., Wei, D., Fang, Q., Ma, D., Wang, j., 2019. " The efficacy of topical gentamycin application on prophylaxis and treatment of wound infection: A systematic review and meta - analysis ", *International Journal of Clinical Practice*, 73 (5), 1-11.
89. Junker, J. P. E., Lee, C. Y.C., Samaan, S., Hackl, F., Kiwanuka, E., Minasian, R. A., Tsai, D. M., Tracy, L. E., Onderdonk, A. B., Eriksson, E., Caterson, E. J., 2015. " Topical Delivery of Ultrahigh Concentrations of Gentamicin Is Highly Effective in Reducing Bacterial Levels in Infected Porcine Full-Thickness Wounds ", *Plastic and Reconstructive Surgery*, 135(1), 151-159.
90. Wyatt, T. D., Ferguson, W. P., Wilson, T. S., Cormick, E., 1977. " Gentamicin resistant *Staphylococcus aureus* associated with the use of topical gentamicin ", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 3 (3), 213-217.