

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**LOKAL VE SİSTEMİK GHRELİN UYGULAMASININ
YANIK YARASI İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Tuğrul ÇİÇEK
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Canan CERAN ÖZCAN**

MALATYA-2015

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**LOKAL VE SİSTEMİK GHRELİN UYGULAMASININ
YANIK YARASI İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Tuğrul ÇİÇEK
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Canan CERAN ÖZCAN**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez hazırlama süreci boyunca her zaman ve her konuda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, desteğini ve ilgisini esirgemeyen, sayın Prof. Dr. Canan CERAN ÖZCAN'a,

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, destek ve ilgilerini daima hissettiğim değerli hocam anabilimdalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mehmet DEMİRCAN'a ve kıymetli hocalarım Prof. Dr. Sema UĞURALP ve Prof. Dr. Abdurrahman KARAMAN'a

Tez sürecinin başından itibaren yakın ilgilerini gördüğüm ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum sayın Prof. Dr. Aysun BAY KARABULUT ve ekibi Arş. Gör. Dr. Önder OTLU ve Arş. Gör. Dr. Gül OTLU'ya, çalışmada kullanılan preparatların hazırlanmasında özveri gösteren sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK'a, histolojik incelemelerinde yardımlarını esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Aslı ÇETİN'e, istatistiksel değerlendirmede yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na,

Tez süreci ve uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda desteklerini verene ekip arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Muhammed İkbâl YETİŞ ve tüm Çocuk Cerrahisi araştırma görevlisi, hemşire ve diğer çalışanlarına,

Bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLOLAR, GRAFİKLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DERİ.....	3
2.1.1. Derinin Anatomisi ve Histolojisi	3
2.1.1.1 Epidermis	4
2.1.1.2 Dermis	6
2.1.1.3 Hipodermis.....	8
2.1.1.3 Deri Bezleri	8
2.2. YANIK	10
2.2.1 Tarihçe.....	10
2.2.2 Patofizyoloji.....	13
2.2.3 Yanıkların derecelendirilmesi.....	17
2.2.4 Yanık Zonları	22
2.2.5 Yanık yarasının iyileşmesi.....	23
2.2.6 Yanık Yarası Tedavisi.....	29
2.2.7 Yanıkların cerrahi tedavisi.....	32
2.3 GHRELİN.....	33
2.3.1 Ghrelinin yapısı ve dokulardaki dağılımı.....	34
2.3.2 Ghrelin reseptörleri.....	36
2.3.3 Ghrelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri.....	38
2.4 KİTOSAN.....	42
2.4.1 Kitin ve Kitosanın Kimyasal Yapısı	43
2.4.2 Kitosanın Kullanım Alanları.....	44
3. MATERYAL ve METOD.....	48
3.1 MATERYAL.....	48
3.2 METOD.....	49
3.2.1 Deney grupları.....	49
3.2.2 Deneysel Çalışma.....	49
3.2.3 Deri Hidroksiprolin Tayini.....	52
3.2.4 Histopatolojik İnceleme.....	55

3.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	56
4. BULGULAR.....	57
4.1 BİYOKİMYASAL SONUÇLAR.....	57
4.1.1 Doku Hidroksiprolin Düzeyleri.....	57
4.2 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME.....	59
4.2.1 Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu.....	62
4.2.2 Nekroz.....	63
4.2.3 Hemoraji ve Konjesyon.....	64
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇLAR.....	74
7. ÖZET.....	75
8. SUMMARY.....	77
9. KAYNAKLAR.....	79
10. ETİK KURUL ONAYI.....	83

TABLolar, GRAFİKLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ

Tablo1: Farklı derinlikteki yanıkların klinik özellikleri.....	18
Tablo 2: Lund-Browder diyagramı.....	22
Tablo 3: Deneklerin 0,7 ve 14. günde deri biopsilerinde ölçülen hidroksiprolin miktarı	57
Tablo 4: Deneklerden 0,7 ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde mononükleer hücre infiltrasyonu skorları.....	62
Tablo 5: Deneklerden 0,7 ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde nekroz skorları	63
Tablo 6: Deneklerden 0,7 ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde hemoraji ve konjesyon skorları	64
Grafik 1: Optik dansite-hidroksiprolin miktarı.....	55
Grafik 2: Gruplarda hidroksiprolin miktarının 7 ve 14. gün karşılaştırması	58
Resim 1: Yanık modelinde temas yanığı oluşturmak için kullanılan metal plak.....	50
Resim 2: A- Kitosanın jel formüle hali,B- Ghrelinli ve ghrelinsiz kitosanın eş zamanlı olarak manyetik karıştırıcıda hazırlanması.....	51
Resim 3. A- 7. gün yanık alan 1/4 ve sağlam yara sınırı içerecek şekilde biyopsi alınmasıB-Yanık 14. gün biyopsi alınmadan önceki görüntüsü.....	52
Resim 4: Tüm grupların7. gündeki histopatolojik görünüşleri.....	60
Resim 5: Tüm grupların14. gündeki histopatolojik görünüşleri.....	61
Şekil 1: Normal deri ve derecelerine göre yanıklar.....	18
Şekil 2: Yanık zonları şematik görünüm.....	23
Şekil 3: Kitin ve Kitosanın elde edilmesi.....	43

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SIRS	: Sistemik İnflamatuar Cevap Sendromu
PAF	: Platelet Aktive Edici Faktör
PNL	: Polimorf Nüveli Lökosit
Pgl2	: Prostrasiklin
GİS	: Gastrointestinal Sistem
DİC	: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
ADP	: Adenozin Difosfat
TGF-β:	: Transforming Growth Faktör
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
ECL	: Enterokromaffin Benzeri Hücreler
EC	: Enterokromaffin
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
RIA	: Radyoimmünassay
ARC	: Arkuat Nükleus
VMN	: Venteromedial Nükleus
DMN	: Dorsomedial Nükleus
PVN	: Paraventriküler Nükleus
GHRH	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
GHRH-R	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon Reseptörü
İCV	: İntraserebroventriküler
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
NPY	: Nöropeptid Y
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
LH	: Lüteinize Edici Hormon
TSH	: Tiroit Stimüle Edici Hormon
st.	: Stratum

HP : Hidroksiprolin
MNHI : Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu

1. GİRİŞ

Derinin yüksek derecede ısıya maruz kalması ile yanık hasarı oluşur. Yanık yarasındaki hasarın onarımında inflamasyon başrol oynamakta olup lokal ve sistemik mediatörler birlikte görev almaktadır. Sistemik yanıtın yanık yarası üzerine etkisinin olduğu kadar yanık yarasının da sistem üzerine çok önemli etkileri vardır. Yanık hastalarında en sık ölüm nedeni sistemik problemlerden kaynaklanmaktadır. Dolayısı ile yanık tedavisi planlamasında yanık alanında başlayan ve inflamatuvar süreçte rol oynayan faktörlerin kontrolü ile daha etkin bir yanık tedavisi sağlanabilir.

“Ghrelin” insanlarda ve hayvanlarda beslenmeyi uyaran ve büyüme hormonu salgılatan endokrin ve parakrin bir hormondur. Yanıklı hastalarda yapılan çalışmalarda büyüme geriliği saptanmış ve bunun serum büyüme hormonu seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (1). Ghrelin büyüme hormonunu sentezini artırma yönündeki etkilerinin yanında, prolaktin salınımı artırma, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite, hücre proliferasyonu, termoregulasyon, arteryal basıncı düşürmeden kalp hızını düşürme, kemik mineralizasyonunda artış ve iştah arttırıcı etkileri de mevcut bir anabolizan hormondur. Yanık hastalarında büyüme hormonu tedavisinin yanık yarasında iyileşme üzerine olumlu etkileri de gösterilmiştir (2). Ghrelinin; ratlar üzerinde oluşturulan deneysel yanık modelinde intraperitoneal uygulanması sonrası nötrofil infiltrasyonunun baskılanıp proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ile multiple organ hasarının engellendiği gösterilmiştir(3).

Bu çalışmada deneysel rat yanık modelinde lokal ve sistemik ghrelin uygulamasının yanık yarası iyileşmesine bir etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DERİ

2.1.1. Derinin Anatomisi ve Histolojisi

Deri vücut yüzeyini örterek her türlü mekanik, termik ve kimyasal etkilere karşı vücudumuzun korunmasında önemli rol oynar. Vücudumuzun en büyük organıdır. Yağ tabakası dahil edildiğinde vücut ağırlığının %7 sini oluşturur. Erişkinlerde derinin % 9'u üst ekstremiteler, % 18'i alt ekstremiteler, % 18'i göğüs ve karnın ön ve % 18'i de arka duvarlarında bulunur. Vücudun tüm dış yüzü, dış kulak yolu ve kulak zarının dış yüzünü örter. Deri; dudak kenarları ve anüs ağzında sindirim sistemi mukozasıyla, burun boşluğunda solunum sistemi mukozası ile göz kapakları kenarı punkta lakrimalia da ise konjunktiva ile birleşir.(4)

Deri kalınlığı vücudumuzda bölgesel değişiklik gösterir ve 0,5 – 6 mm arasındadır. Sırt bölgesi en kalın (6 mm), göz kapakları ise en ince (0,5 mm) olduğu yerdir. Deride birçok periferik duyu sinir sonlanmaları bulunur. Bunların sayesinde sıcak, soğuk, ıslaklık ve kuruluk gibi duyuyla, bir cismin sertliği, yüzeyinin şekli gibi vasıfları gözümüzle görmeden de fark edebiliriz. İçerisinde bulunan ter bezleri sayesinde vücut ısısının ayarlanmasında önemli rol oynar. Salgıladığı yağlı madde deriyi, dolayısıyla altındaki yapıları kurumaktan korur. Sınırlı olarak salgı yapma ve emme fonksiyonu da vardır. Damarlardan çok zengin olan deri, aynı zamanda kan deposu görevi yapar. Deri aracılığı ile bir

miktar karbondioksit de dışarı verilir. Bu nedenle derinin solunum fonksiyonlarına az da olsa katkısı vardır. Bazı vitaminler deride oluşturulur. Örneğin yağ bezlerinin barındırdığı kolesterol ve ergosterinden güneş ışığının etkisiyle kemiklerin normal gelişmesinde çok önemli rol oynayan Vit D meydana gelir (4,5).

Derinin esas bölümünü mezenşimal kökenli sıkı bağ dokusundan yapılmış dermis (corium) oluşturur. Bunun üzerini örten ektodermal kökenli epitel tabakasına ise epidermis denilir. Dermisin altında fasya süperfisyalis bulunur ve bu tabakaya tela subcutanea (hipodermis) adı verilir. Dermisin yüzeyinde damar ihtiva eden papillalar bulunur. Burası, sinir sonlanmaları bulunması nedeniyle hassastır. Dermisin içinde veya altında ter bezleri, yağ bezleri ve kıl kökleri gibi özel görevi olan bazı organlar bulunur (5).

2.1.1.1. Epidermis

Ektodermden gelişen epidermis, çok katlı yassı keratinleşmiş epitel hücrelerden yapılmıştır. Epidermisde damar bulunmaz, beslenmesi ve metabolik değişimi difüzyonla olur. Hücrelerin şekilleri ve diğer nitelikleri epidermisin deri ve yüzeysel tabakalarında aynı değildir ve bu bakımdan epidermis önce stratum corneum ve stratum germinativum olmak üzere iki anatomik temel tabakaya ayrılır. Keratinize hücrelerden oluşan yüzeysel katına stratum corneum, doğurgan olan derin katına ise stratum germinativum denilir. Epidermisin alt yüzünde birtakım çukurluklar bulunur. Bu çukurlara dermis tabakasının yüzeyinde bulunan papillalar girer ve temas yüzeyini genişletir (5).

2.1.1.1.1 Epidermis Tabakaları

Epidermis yüzeyden derine doğru stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum basaleden oluşur. Anatomik olarak stratum corneum hariç diğer 4 tabakaya, stratum germinativum da denilmektedir (4,5).

➤ **Stratum Korneum;** çekirdeksiz ve ölü hücrelerden meydana gelmiştir. Stratum germinativumdan dışa doğru göç eden hücreler, corneum tabakasına gelince çekirdeklerini kaybederler ve hücre ortasında büyük bir boşluk meydana gelir. Boşluğun etrafı keratin denilen sert bir madde ile dolar. Hücre dıştan bir membranla sarılmıştır. Bu şekilde sertleşmiş (keratinleşmiş) hücreler mekanik ve kimyasal etkilere karşı çok dayanıklıdır ve örttüğü organların korunması bakımından stratum corneum, derinin diğer tabakaları arasında en önemli rolü oynar. Korneum tabakasının incilmesi ile stratum bazalenin uyarılması sağlanır. Stratum korneumun kalınlığı vücudun değişik yerlerinde farklı olup 30 – 330 mikron arasında değişir.

➤ **Stratum lusidum;** camsı görünümlü olan bu tabaka sadece parmak uçları, ayak tabanı gibi epidermin çok kalın olduğu bölgelerde gözlenir (8). İnce olan bu tabakanın hücreleri elaidin içerir. Elaidin, homojen ve şeffaf bir yapıya sahip olması nedeniyle bu tabakaya stratum lucidum denilmiştir. Bu hücrelerin nükleusları ve hücre sınırları elaidin maddesinden dolayı pek belirgin değildir.

➤ **Stratum Granülozum;** deri yüzeyine paralel iki veya üç kat yassı hücreden oluşmuştur (6,7). Bu hücreler keratohyalin denilen küçük granüller içerirler. Bu nedenle stratum granulosum denilmiştir. Keratohyalin granülleri bu tabakanın yüzeyel hücrelerinde keratin şekline dönüşür ve bu tabakadaki hücreler bölünme yeteneklerini kaybetmişlerdir.

➤ **Stratum Spinozum;** bu tabakadaki çok katlı poligonal hücreler, yüzeyel katlara doğru yassılaşırlar. Bu hücreleri birbirine stoplazmik köprüler bağlar. Hücreler birbirinden ayrıldığında bu bağlar hücrelerin dış yüzünde dikensi çıkıntılar gibi görülürler. Bu nedenle stratum spinosum denilmiştir. Hücreleri birbirine bağlayan sitoplazmik köprüler vasıtasıyla bir hücreden diğerine tonofibril adı verilen iplikler uzanır. Bunlar altında bulunan stratum bazaledaki hücrelerden başlar, önce deri yüzeyine dik olarak uzanır, stratum lusiduma gelince yön değiştirerek yatay bir pozisyonda deri yüzeyine paralel olarak uzanır. Deri üzerine yapılan bir basınçta, tonofibrillerin kavisleri açılır, basınç ortadan kalkınca eski haline döner ve bu mekanizma ile birim alana düşen

basınç, daha fazla alana dağıtılarak basıncın etkisi azaltılmış olur. Basınç neticesi ile yassılaştıran hücrelerin tekrar eski durumlarına dönmesinde bu liflerin önemli etkileri vardır (4,5).

Parmak uçlarında bu liflerin durumu biraz farklıdır. Derinden gelen tonofibriller yön değiştirmeksizin crista cutislere kadar gelir ve bunların konveksliğine uyacak şekilde kıvrılarak tekrar geldiği yönden derine dalar. Bu da parmak uçlarına gelen bir basıncın, tonofibrillerin dik seyretmesi nedeniyle, etrafa dağılmadan sadece temas eden yerin derinindeki Meissner cisimciklerine iletilmesini sağlar. Stratum spinosum, stratum basale ile birlikte Malpighi tabakası adını alır (5).

➤ **Stratum Bazale**; stratum germinativumun en derin tabakasını oluşturan stratum basale, silindirik hücrelerden yapılmıştır. Bu nedenle stratum silindricum da denilmektedir. Bu hücreler bazal membran üzerine oturmuştur. Bu tabakadaki hücrelerin derin yüzeylerinde dışa doğru çıkıntılar bulunur. Bu çıkıntılar dermis tabakasındaki aynı şekilli çukurlara girer. Bu tabakadaki hücreler mitoz yoluyla çoğalarak deri üzerindeki kaybı önler.

Stratum corneum'un en üstündeki cansız hücreler, zaman zaman dökülür ve alttan gelen yeni hücreler bunların yerine geçer. Stratum basaledeki bir hücrenin en yüzeyel tabakaya kadar gelmesi yaklaşık 30 günde olur.

2.1.1.2. Dermis

Mezodermadan köken alan dermis, kollajen ve elastik lifler ile bunlar arasında bulunan yağ ve bağ dokusu hücrelerinden yapılmış olup, sağlam ve elastik bir yapıya sahiptir. Damar ve sinirlerden zengin olan dermis birçok duyuşal sinir sonlanmaları, deri bezleri ve kıl kökü içerir. Dermis vücudun sırt bölgesinde vücudun ön bölgesinden, kol ve bacakların dış yüzünde ise iç yüzünden daha kalındır. Dermisin bulunduğu yere göre kalınlığı 0,3 – 3 mm arasında değişir. Dermis epidermisten kesin bir sınırla ayrılmıştır; ancak bu sınır düz değil girintili çıkıntılıdır. Dermisdeki bu çıkıntılara papilla denir (5).

Dermiste kollajen lifler çeşitli yönlerde ve kıvrıntılı ve birbirlerine paralel bir şekilde uzanır. Elastik lifler ise bunların etrafında düz bir şekilde ağlar oluştururlar. Herhangi bir nedenle deri gerilecek olursa, bu kıvrıntılar düzelinceye kadar deri genişler. Etken ortadan kalkınca gerilmiş olan elastik liflerin çekme etkisiyle deri tekrar eski durumuna döner. Normal olarak deri, elastik ve kollajen liflerin etkisiyle her zaman biraz gergin durumdadır. Dermis tabakasında az miktarda düz kas lifleri de bulunur. Musculus erector pilorusun bir ucu dermisin yüzeyel tabakasına, diğer ucu ise kıl follikülüne tutunur. Bu nedenle kontraksiyon olduğunda kılı dikleştirirler. Yağlı bağ dokusu içinde, vücudun değişik yerlerinde miktarları farklı olan elastik lifler, çok sayıda damar, lenfatik ve sinir bulunur. Bağ dokusu yüzeyden derine doğru iki tabakadan oluşur.

➤ **Stratum papillare;** Dermis'in üst yüzeyine bir lupla bakıldığında koni, yaprak ve ince iplik şeklinde olan birçok çıkıntı görülür ve papillae denilen bu çıkıntılarda, bol miktarda sensitif sinir sonlanmaları ve damar bulunur. Koni şeklinde olan çıkıntıların uçları genellikle iki-üç parçaya ayrılmış ucu künt çıkıntılar şeklindedir. Bu çıkıntılar epidermisin alt yüzeyindeki aynı şekilli çukurlara girdikleri için, dermis epidermis arasındaki kesin sınır, girintili ve çıkıntılı haldedir.

Her bir papillada en az bir tane kapiller damar bulunur. Arteriel ve venöz kapillerler birbirine paralel olarak papillanın tepesine kadar uzanır ve burada birbirleriyle anastomoz yaparlar. Komşu kapillerler anastomoz yapmazlar ve kapiller ağ oluşturmazlar. Papillaların bulunduğu tabaka, dermisi epidermise bağlar ve oldukça yumuşaktır. Papillalar içinde temasa karşı hassas olan Meissner cisimcikleri bulunur ve sayıları çeşitli bölgelerde farklıdır. Parmaklarda 1mm² lik alanda ortalama 180 kadar papilla bulunur ve bunlardan 50 tanesi Meissner cisimciklerini içerirler (5).

➤ **Stratum Reticulare;** Stratum papillarenin altında bulunur ve başlıca fibro elastik liflerden ve bağ dokusu bantlarından oluşur. Kollajen ve elastik liflerden oluşan bu tabaka da, damarlar, sinir liflerinin yaptığı ağlar, kıllar, kılların

çevresindeki m. arrector pili adı verilen düz kas lifleri, gl. sudorifera (ter bezleri) ve gl. sebacea (yağ bezleri) bulunur.

2.1.1.3. Hipodermis (Subcutis = Fascia Subcutanea)

Derinin altında yer alan, gevşek, fibröz bağ dokusundan yapılmış, yağ hücrelerinden zengin bir tabakadır. Dermisten daha kalın olan bu tabakada, derialtı duysal sinirleri, yüzeysel venler ve lenf damarları yer alır. Bu tabaka deri ile fascia profundus (kas) tabakası ya da periost arasında bulunur ve deriyi bu kısımlara bağlar. Dermis ile arasında kesin bir sınır yoktur. Hipodermis yüzeysel (lamina süperfisyalis) ve derin (lamina profundus) olmak üzere iki yapraktan oluşur. Bu iki lamina vücudun büyük bölümünde birbirine yapışıktır ancak bazı bölgelerde, özellikle karında göbeğin altında kalan kısımda iki tabaka birbirinden kolayca ayrılır. İki lamina arasında yüzeysel arter, ven, sinir, lenf nodülleri, meme bezi, mimik kasları, platysma ve birkaç kas bulunur (4,5).

Vücudun birçok yerinde tela subcutanea, fascia profundus üzerinde kolayca hareket edebilir (Örneğin el sırtı derisi). Lamina süperfisiyalise, bol yağ dokusu içermesi nedeniyle panniculus adiposus da denilir. Bu yağ dokusu bazı şişman şahıslarda çok kalın olduğu gibi, çok zayıflarda da bulunmayabilir. Lamina profundus, çok ince bir zar şeklinde olup, yağ dokusu ihtiva etmez, buna karşılık elastik doku içerir (5).

2.1.1.4. Deri Bezleri (Glandulae Cutis)

Deride yağ bezleri ve ter bezleri olmak üzere iki tip bez bulunur. Bu bezlerin bazıları morfolojik olarak tübüler, bazıları alveolar bezlerdir. Salgı yapma şekline göre deri bezleri arasında merokrin (ekrin), apokrin, holokrin bezler vardır. Yaptıkları salgının niteliğine göre derinin bezleri, ter bezi, yağ bezi ve süt bezleri olmak üzere 3 gruba ayrılır (4,5).

2.1.1.4.1. Glandulae Sebaceae Holocrina (Yağ Bezleri)

Bu bezler morfolojik bakımdan alveoler, salgı yapma tarzı bakımından halokrindir. Genellikle derinin dermis tabakası içinde kıl follikülü ile m.errector pili arasında bulunurlar. Boşaltıcı kanalları kılların folliculus pili kısmına açılır. Yağ bezleri, vücudun hemen her tarafında bulunur. Her bezin bir kanalı vardır ve bir kanala 25 kadar alveol açılır. Tek ve genişlemiş kanalları kıl foliküllerine açılır (gl.sebacea pilaris). Dudakların serbest kenarları, ağız köşeleri, meme başı, areola mammae, labium majusun iç yüzü, labium minus pudendi, glans penis, glans clitoridis ve anüs çevresinde olduğu gibi, derinin yüzeyine doğrudan açıldığı alanlar da vardır (gl. sebacea libera). Yağ bezlerinin, özel kokulu salgısı sebum olarak adlandırılır (5).

2.1.1.4.2. Glandulea Sudoriferae (Ter bezleri):

Epidermisden köken alan ter bezleri, intrauterin hayatın 3-4. aylarında oluşmaya başlar. Morfolojik olarak basit tübüler bezler biçimindeki ter bezlerinin kanalı dermisin yüzeyel tabakasında düz, derin yarısında ise kıvrıntılıdır. El ayası ve ayak tabanı gibi epidermisin kalın olduğu yerlerde kanalları spiraldir (6). Ter bezlerinin deriye açılan deliklerine porus sudorifer, kanallarına ductus sudorifer ve yumak kısımlarına portio terminalis denir. Salgı gövdesi dermisin en derin bölümünde veya hipodermiste yer alan ter bezlerinin ekrin ve apokrin olmak üzere iki tipi vardır (5).

➤ **Glandula sudorifer merocrina(eccrina)**Ekrin bezler kulak zarı, dudakların kenarları, tırnak yatağı, meme başı, labium minus pudendi'ler, glans penis, glans clitoridis ve preputium'un iç yüzü hariç vücudun tüm deri bölümlerinde bulunur ve oldukça küçük bezlerdir. Asit içerikli teri salgırlar. İnsan derisinde en çok bu tip bezler bulunur. Tek bir kanaldan oluşan bu bezlerin yumak şeklindeki alt bölümleri (portio terminalis), dermis veya subcutis de bulunur. 1 cm² de 80 – 600 adet ve tüm vücutta da yaklaşık olarak 3 milyon ter bezi bulunur. En fazla ayak tabanında bulunur, el ayası ve yüzde de fazladır. Ekstremiteler de genellikle azdır. Termik uyarı yüzdeki, psişik uyarı ise ayak

tabanı ve el ayasındaki terlemeyi başlatır. Ekrin ter bezleri vücut ısısının düzenlenmesinde rol oynar ve kıla bağımlı değildirler (5).

➤ **Apokrin ter bezleri**Koltuk altı (gl. axillares), areola mammae, vulvanın büyük dudakları, anal ve genital bölge derisinde bol bulunurlar. Apokrin ter bezleri, streslere yanıt olarak salgı yaparlar ve feromen adı verilen karakteristik kokuları vardır. Apokrin bezler ekrin bezlere benzerler, fakat terminal bölümlerinin daha büyük ve kalın olmalarıyla ekrin bezlerden farklıdır. Kıvrımlı bölgesi derin dermise kadar uzanır ama boşaltım kanalı (tübüler kanal) kıl bölgesine açılır. Salgılarını yağ bezleri gibi, kıl foliküllerine boşaltırlar (7,8). Salgı oluşması bakımından da fark vardır. Apokrin bezlerde hücre sitoplazmasının bir kısmı harcanarak salgıyla birlikte atılır (5).

2.2. YANIK

2.2.1. Tarihçe

Ateşin yakılmasının öğrenilmesi ve günlük kullanıma girmesi ile birlikte günlük hayat kolaylaşmıştır, ancak ateşe bağlı yaralanmalar da kaçınılmaz olmuştur. İlk etapta yanığa bağlı yaralanmaların tedavisinde ağrıyı dindirici yöntemler kullanılmıştır.

Yanık ve tedavisi ile ilgili bilinen en eski yazılar (M.Ö.4000) Sümerlilere ait eserlerde bulunur. Bu eserlere, Asurlular tarafından Ninovada kurulmuş olan kütüphanenin kalıntılarında ulaşılmış olup, bu eserler çivi yazısı ile yazılmış kil tabletlerdir. Bu tabletler 9.5x16 cm boyutta olup bilinen en eski medikal el kitabı niteliğindedir. Nepal kalıntıları arasından çıkarılarak Philadelphiaya götürülene kadar 5000 yıl boyunca toprak altında kaldığı tahmin edilmektedir (6).

Yanık tedavisi ile ilgili daha sonraki verilere M.Ö.1500 yılında Ebers papirüslerinde rastlanmıştır. Bu papirüslerde yanık tedavisinde kurbağa, limon, inek dışkısı ve kaz eti kullanıldığından bahsedilmiştir. İlk plastik cerrah olarak tanımlanan Hint tabip Sushruta Samhita (M.Ö. 800) kırmızı aşı boyasıyla ya da

bir incir ağacının kabuğu ile karıştırılmış sadeyağı yanık tedavisinde kullanmıştır. Sushruta Samhita, yanık vakasında oluşan klasik bulguları ilk kez tanımlamış, dehidratasyon ve ateşten bahsetmiştir (6).

Hipokrat (M.Ö. 460-377) Peri Elkeon ('Ülserler Hakkında') adlı kitabında yanık adına bütün bir bölüm yazmıştır ve yanıkları sistematik olarak tanımlamıştır. Peri Himon (humor hakkında) adlı kitabında ise yanık alanında oluşan büllerin oluş mekanizmasından, ekstrasvazasyondan, sıvı kaybından bahsetmiş, tedavide büllerin boşaltılmasını önermiş ve yanık hastalarına bol sıvı ile bal şerbeti içmesini tavsiye etmiştir(6). Dördüncü kitabında ise zamanının ameliyathanesi olan ortamlarda "Kat' litrion" aseptik şartlarda yanık tedavisinin yapılması gerektiğini belirtmiştir. Yara bakımını anlatırken yanık örtülerinin değişiminin mümkün olduğunca hızlı, ağrısız, düzgün ve rahat olacak şekilde yapılmasını belirtmiştir. Yanık sargı malzemesinin yumuşak, temiz ve açık renkli olması gerektiğinden bahsetmiştir. Ayrıca hekimlere mümkün olduğunca temiz koşullarda çalışmasını ve yanık bakımına uygun temiz özel giysiler giymelerini önermiştir (6).

Pliny the Elder (M.S. 23–79) yıllarında yanık tedavisinde keçi gübresi, yapışkan kıllar ve kemik iliği, balmumu ve kemik iliği kullanmıştır. Hayvan dışkısı uygulaması halen günümüzde belli bölgelerde yanık tedavisinde kullanılmaya devam etmektedir(6). Celciusun yanık skarlarına bağlı kontraktürlerin eksizyonu dışında Roma ve Yunan tıbbında yanık tedavisinde cerrahi tedavi yer bulmamıştır. M.Ö. 500'lü yıllarda Çinliler tarafından yanık tedavisinde çay yapraklarından oluşan bir karışım kullanılmıştır. Ancak Çinlilere ait yanık tedavisinde kullanılan yöntemlere dair yazılı kaynakların en eskisi Hong Ge (M.Ö. 281–341) ye aittir(6). Bu kitapta acil reçeteleri (Zhou Hou Fang) kısmında yanık tedavisinde kullanılmak üzere iki farklı yöntemden bahsedilmiştir. Bunlar bitkisel yağlarla harmanlanmış eski sünger veya domuz yağı ile pişirilmiş söğüt kabuğu kullanılmasıdır. Bu yöntemler sonucunda yara yerinde enfeksiyonun azaldığı ilk kez Çin kaynaklarında gösterilmiştir(6).

Elden, MS 69'da kırk beş farklı maddenin yanık tedavisinde kullanılabildiğini bildirmiştir. Yanıklı ekstremitelerdeki amputasyonlardan ilk kez

ortaçağda bahsedildiği bilinmektedir. On altıncı yüzyıla kadar yanığın tedavisinde pek çok yöntem denenmiş ancak sağlıklı bir sınıflama yapılamamıştır.

Yanık sınıflandırması ilk kez 1596'da Clowes tarafından yanan vücut bölgelerine göre yapılmıştır(6). İlk kez yanıkları sınıflayarak yara derinliklerine göre tedavileri hakkında bilgi veren Hildanus (1607) olmuştur. Yanık hakkında 1797'de Kentish tarafından yazılan ilk İngilizce kaynakta yanık tedavisi hakkında buz, iyi beslenme ve şarap önerilmiştir. 1799'da Erle ödemin önlenmesi için buz ve soğuk su önermiştir(6). Boyar ise 19 yy. 'da yanık yaralarının derinliğine göre birinci, ikinci ve üçüncü derece olarak sınıflanmasından bahsetmiştir (7,8). Yanık şokunun sıvı kaybı nedeniyle olduğu ilk kez 1830 yılında açıklanmıştır. Bundan sonra Syme 1833'te yanık tedavisinde basınçlı pansumanları önermiş, Lisfranc ise 1835'te sodyum klorür ve kalsiyum klorür solüsyonları ile ıslatılmış pansumanların tedavide kullanımını önermiştir. 1850 yılında ilk kez bir yanık hastanesi Edinburgh'ta "Burn house" adı ile faaliyete başlamıştır. Fotoğraf teknolojisinin başlaması ile 1852 yılında ilk kez Berlin'de bir yanık hastasının ameliyat öncesi ve sonrası fotoğrafları yayınlanmıştır. Yanık yarasında koagülasyonun temini için tannik asit ilk kez 1858 yılında kullanılmış ardından farklı yağlar bu amaçla kullanılmaya başlanmıştır (8-10).

Derin yanık yaralarında greft uygulaması ilk kez 1870'te Reverdin tarafından gerçekleştirilmiş ve bu sayede yanık tedavisinde çok büyük bir gelişme kaydedilmiştir. Copeland 1887'de yanıkların açık yöntemler ile tedavisi konusunda ilk yayını yapmıştır. The New York Medikal Oral'ın 1906 yılında açtığı bir yarışmada "yanıkları nasıl tedavi edersiniz?" konulu yazısında yanık tedavisinde pikrik asit kullanımından bahseden Oppenheim birinciliği elde etmiştir (7,9). Sneve'in 1906 yılında tekrar gündeme getirdiği deri grefti ile tedavi yöntemi çağdaş tedavi yaklaşımı olarak kabul görmüştür. 1906–1914 yıllarında ise açık tedavi en çok tercih edilen tedavi yöntemi olmuştur. 1914'te Sonofort ilk kez yanık tedavisinde parafin kullanımını bildirmiş, 1923'te ise Underhicc yanıkta ihtiyaç duyulan sıvının yaş, genel durum ve daha da önemlisi yanık

yüzey genişliği ile ilgili olduğu gerçeğini vurgulamıştır (9). 1941'de ilk kez Sulfamid yanık tedavisinde antibiyotik olarak kullanılmıştır.

Sonnenburgh ve Tachmarke 1942'de resmi olarak kabul edilen ilk yanık yarası tarifini yaparak yanık yarasının yara kenarlarından başlayarak iyileştiğini bildirmiştir (8,9). 1940'ların başında Allen ve Koch tekrar kapalı yöntemleri gündeme getirirken, 1949' da Wallace ile açık yöntemler yeniden önerilmiştir. Daha sonraları ise Pulaski, Artz ve Blocker her iki yöntemin de endikasyon ve kontrendikasyonlarını belirlemiştir. ABD'de 1947 yılında yanık yaraları ile ilgili kapsamlı araştırmalar yapılmış ve yine bu yıllarda septiseminin öneminin anlaşılması ile yanık tedavisinin bir ekip çalışması olması gerektiğinin ve tedavide cerrahi bilgisinin gerekliliği vurgulanmıştır. Bundan sonra da yanık tedavisi cerrahinin ilgi alanına girmiştir (7,9).

Evans ve Brooke 1950'lerin başında kendi geliştirdikleri formüller ile yanıklı hastalarda sıvı tedavileri uygulamışlardır. Yugoslav Janzegovich'in 1967'de tanımladığı erken tanjansiyel eksizyon ve greftleme yöntemi kısa sürede çok rağbet görmüş ve daha sonraları Shore'un geliştirdiği yöntemler ile de mortalite oranları giderek azalmıştır.

Günümüzde ise homogreft, heterogreft ve oto-homogreft uygulamaları ile nano teknolojinin, tekstil ve kimya teknolojilerinin de gelişimine paralel olarak üretilen çok çeşitli yara örtüm ürünleri, özellikle pediatrik hasta grubunda son derece başarılı tedavi sonuçları ile yanık tedavisinde rutin uygulamalar haline gelmiştir. Ülkemizde çağdaş anlamda yanık tedavi merkez ilk olarak 1976'da Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde faaliyete geçmiş ve bunu diğerleri takip etmiştir.

2.2.2. Patofizyoloji

Yanık travmasını takiben oluşan hipovolemi ve dolaşıma salınan mediatörlerin etkisi ile ortaya çıkan lokal ve sistemik cevabının anlaşılması, etkili bir yanık tedavisi ve hasta bakımı için son derece önemlidir.

2.2.2.1. Yanıkta Lokal Doku Hasarı ve Histolojik Değişiklikler

Derinin yüksek derecede ısıya maruz kalması ile yanık hasarı oluşur. Yanık sonrası oluşan deri kayıpları, yaranın boyutları, yeri, tipi, olduğu dokunun özellikleri, uygulanan kuvvetin cinsi ve şiddeti, hasarın derecesi, enfeksiyon varlığı, kişinin sağlık durumu ve yaşına bağlı olarak değişmektedir. (11).

Yanık yarasında kronolojik olarak çeşitli değişiklikler izlenir.

- **30 dakika- 4 saat;** dilate küçük damarlarda artmış Polimorf Nüveli Lökosit (PNL) marjinasyonu olur.
- **4-12 saat;** PNL infiltrasyonu, daha az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu (MNHI), ödem, damar endotelinde şişme, küçük yaralarda epidermal bazal tabakada yenilenme izlenir.
- **12-24 saat;** PNL azalması, makrofaj ve mononükleer hücre sayısında artış, nekroze olmuş dokuların uzaklaştırılmaya başlaması ve fibroblastlarda mitoz görülür.
- **24-72 saat;** lökosit infiltrasyonunda belirgin artış ve eş zamanlı fibroblastların doku iyileşmesine katkısı izlenir. Yeni kapiller oluşumu izlenir.
- **3-6 gün;** yabancı cisim veya ölü dokuların çevresinde devhücreler görülür. Kollajen yapımı başlar. Eğer yara yüzeysel iyileşme ve yaranın kapanması oldukça aktiftir.
- **10-15 gün;** küçük yaralarda hücresel reaksiyon azalır, hücre sayısı, özellikle lökositler ve vaskülarite azalır. Fibroblastlar hala aktiftir.
- **İki hafta-aylar;** yara genişliği ve diğer faktörlere bağlı olarak, yara iyileşmeye devam eder. Yara enfekte olmadığı sürece inflamatuvar yanıt söz konusu değildir. Kollajen ve elastin artışı bulunur, nispeten daha avasküler ve yoğun bir alan gelişir. Yara çok geniş ya da düzensiz olmadıkça dermal papillalar ve epitel yeniden şekillenir (12).

Temel olarak yara oluşumunu takiben inflamatuvar, proliferatif ve matürasyon aşamaları olur. Bu dönemlerin kendisine ait spesifik makroskobik ve mikroskobik özelliklerinin yanı sıra bir takım biyolojik ve biyokimyasal özellikleri bulunur (11,12).

Papiller tabaka aşırı biyoaktiftir retiküler tabakanın biyoaktivitesi ise daha azdır. Bu biyoaktivite farkından dolayı yüzeysel kısmi kalınlıktaki yanıklar derin kısmi kalınlıktaki yanıklara göre genellikle daha hızlı iyileşir. Daha derin yanıklarda ise papiller tabaka yoktur.

2.2.2.2. Yanıkta Sistemik Hasar ve İnflamatuvar Değişiklikler

İnhalasyon hasarı olsun ya da olmasın ciddi yanıklar başlangıçtan itibaren sistemik hastalıktır. Yanıkla birlikte hem yanık bölgesinden hem de diğer dokulardan yoğun bir inflamatuvar mediyatör salınımı olur ve bu sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) ile sonuçlanır (13,14). Bu mediyatörler vazokonstriksiyon ve vazodilatasyona, kapiller permeabilitede artışa ve hem yanık bölgesi hem de uzak organlarda ödem gelişimine neden olurlar. Yaygın ödem yanık ve yanık olmayan bölgelerin Starling güçlerindeki değişikliklere bağlı olarak gelişir (15).

Başlangıçta yanık bölgesinde hidrostatik basınç dramatik olarak düşerken yanmamış bölgede interstisyel basınç hafif artar. Artmış kapiller geçirgenlik protein kaybına neden olur ve bu da plazma onkotik basıncında azalma, interstisyel onkotik basınçta artma ile sonuçlanır. Tüm bunların sonucunda, hem yanık hem de yanmamış bölgede ödem gelişir. Ancak, düşük interstisyel basınç nedeniyle yanık bölgede ödem daha fazladır. Hafif yanıklarda maksimum ödem 8-12 saatte gelişirken, geniş yanıklarda maksimum ödem 12-24 saatte gelişir.

Ödemden sorumlu tutulan mediyatörlerin çoğu venül endotel bütünlüğünü etkileyerek yanık sonrası permeabilite artışına yol açarlar. Başlıcaları histamin, kininler, vazoaktif aminler, prostaglandinler, lökotrienler,

aktive komplemanlar, platelet aktive edici faktör (PAF) ve katekolaminlerdir (13,14). Yanık hasarından hemen sonra yanık bölgesi mast hücrelerinden bol miktarda salgılanan histamin, yanık sonrası artmış vasküler permeabilitenin sadece en erken fazından sorumludur . Serum histamin değerlerinin yanık sonrası ilk birkaç saatte pik yaptığı saptanmıştır (16). Antihistaminler yanık ödemi tedavisinde kullanılmış ancak, yeterince başarılı olamamıştır.

Yanıktan hemen sonra yığılaşmış trombositlerden salınan serotonin, hem doğrudan hem de norepinefrin, histamin, anjiyotensin II ve bazı eikozanoidlerin mikrovasküler düzeydeki vazokonstriktör etkisini artırarak dolaylı yoldan pulmoner vasküler dirençte artmaya yol açar (17). Serotonin blokajı yanık sonrası oksijen ihtiyacını azaltır, kardiyak indeksi düzeltir ve pulmoner arter basıncını azaltır (18). Ayrıca, deneysel olarak antiserotonin etkili metiserjid ile yanık yara ödeminin azaldığı gösterilmiştir (19). Araşidonik asid metabolizmasının vazoaaktif ürünleri olan eikozanoidler, yanık bölgeden salınırlar ve yanık ödeminde rol alırlar. Bunlar vasküler permeabiliteyi doğrudan arttırmazlar, PgE2 ve prostasiklin (Pgl2) gibi vazodilatatör prostaglandinlerin seviyesini artırarak yanık dokuda arteryal kan akımını ve hasarlı mikrosirkülasyonun hidrostatik basıncını arttıırırlar ve bu da ödemi belirginleştirir.

Pgl2 ve güçlü vazokonstriktör olan tromboksan A2'nin yanık doku ve sıvılarında artış saptanmıştır (13,14,20). Ayrıca, tromboksan A2'nin vazokonstriktör etkisi mezenterik kan akımını azaltarak gastrointestinal sistem (GİS) mukoza bütünlüğünü bozmakta ve GİS immün fonksiyonlarında azalmaya yol açmaktadır (21). Kininlerden özellikle bradikinin birincil olarak venülleri etkileyerek vasküler permeabiliteyi artırır (22). PAF de yanık hasarına bağlı salınarak vasküler permeabiliteyi artırır (23).

Yanık sonrası erken dönemde sistemik mikrovasküler kaçağa bağlı olarak hiperkoagulabilite ve hiperfibrinolitik durum birbirine eşlik eder. Hemotolojik ölçümler dissemine intravasküler koagülasyonu (DİC) andırır ve bu durumun derecesi organ yetmezliği ve prognoz ile ilişkilidir (24). Mikrovasküler değişiklikler plazma miktarında azalma, periferik vasküler dirençte artma ve sonuçta kardiyak outputta azalmaya neden olur (25). Azalmış kan völümü,

artmış kan viskozitesi ve azalmış kardiyak kontraktilite nedeniyle kardiyak output düşük kalır. Ventriküler disfonksiyonun lenfatik sıvıdaki dolaşan miyokardiyal depresan faktöre bağlı olduğu öne sürülse de böyle spesifik bir faktör izole edilememiştir (26).

Başarılı bir resüsitasyon sonrası kardiyak output 24–72 saatte tamamen normale döner, hatta tedavi ile iyileşme döneminde normalin üzerinde seyreder (27). Tüm bu karmaşık mikrosirkülatuar ve hemodinamik olaylar sonucu gelişen yanık şoku, sadece kanama veya sıvı eksikliğine bağlı gelişen hipovolemik şoktan farklıdır. Ancak, tedavide birincil amaç tüm şok tiplerinde aynıdır ve bu da doku ve organların dolaşımını sağlamaktır (13,14).

2.2.3. Yanıkların derecelendirilmesi

Yanıkta tedavi yanığın derinliği ve kapladığı alanının belirlenmesi ile başlar. Oluşan doku hasarı etkene, temas süresine, ortama ve etkilenen vücut kısmına göre değişebilir.

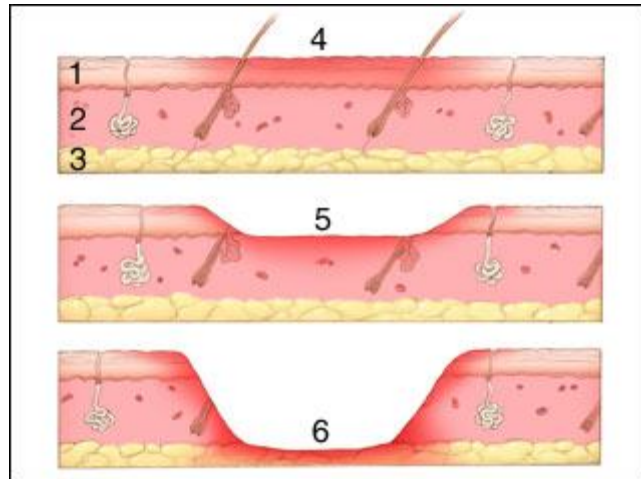
2.2.3.1. Derinliğine Göre Yanık Sınıflaması

Yanığın derinliğini erken dönemde belirlemek her zaman mümkün olamamaktadır. Doku hasarı genellikle 48 ila 72 saat sonra net olarak belirginleşir. Yanık derinliğini belirlemek için seri klinik gözlem, ultrasonografik inceleme, intravenöz floresan verilmesi, termal kamera kullanılması, biyopsi, vital boyalar, lazer dopler flowmetre kullanılabilir. Lazer dopler görüntüleme dünyada pek çok yanık merkezinde kullanılmaktadır. Günümüzde yanık derinliğini belirlemede en çok kabul gören yöntem seri klinik gözlemdir (28)(Tablo 1).

Tablo1: Farklı derinlikteki yanıkların klinik özellikleri (29).

Yanık Derinliği	Görünüm	Bül	Kapiller Dolum	His
Epidermal	Kırmızı, parlak	Yok	Canlı	Ağrılı
Yüzeyel dermal	Açık pembe	Var	Canlı	Ağrılı
Derin dermal	Kuru, yamalı kırmızı renk	Nadir	Yok	Az veya yok
Tam kat	Kuru, beyaz, kahverengi	Yok	Yok	Yok

➤ **Birinci Derece (yüzeyel, epidermal) Yanıklar:** Bu tip yanıklarda yalnızca epidermin dış tabakası ile stratum korneum hasara uğramıştır, dermiste hasara rastlanmaz. (Şekil 1) Yara bölgesi ağrı ve eritem ile karakterizedir. Birinci derece yanıklar, genellikle çok kısa süre direk alev veya ısı teması veya uzun süre şiddetli güneş ışığına maruz kalınması sonucu oluşur. Deri hasarı çok yüzeyseldir ve vücutta minimal sistemik cevaplar görülür. Hafif bir ödemle seyreden yanık bölgesinde 24 saat sonra ödemin azaldığı görülür. Bu safhada deri kurumaya başlar, veziküller yoktur ve enfeksiyon görülmez. Deride kalıcı değişiklikler bırakmadan epidermis pul pul dökülür. Yara bir hafta içinde iyileşir (15,16,30,).



Şekil 1: Normal deri ve derecelerine göre yanıklar 1: Epidermis 2:Dermis 3: Subkutan yağ dokusu 4: Birinci derece yanık 5: İkinci derece yanık 6: Üçüncü derece yanık

➤ **İkinci Derece Yanıklar:** Epidermisde ve dermisin bir kısmında hasar vardır (Şekil 1). Yüzeyel ve derin olmak üzere iki alt gruptan oluşur. Yüzeyel II. derece yanıklarda epidermis ve dermisin 1/3 üst kısmı hasarlı iken, derin II. derece yanıklarda dermisin derinlerine kadar uzanan hasar vardır. Bu tip yanıklar birinci derece yanığa kıyasla daha derindir ve nekroz dermis içine yayılmıştır. Hasar epidermisin tamamını ve dermisin bir kısmını kapsar. Klinik olarak yarada, ağrı, eritem ve bül oluşumu ile karakterizedir. İyileşme hızı, deri yıkımının derinliğine ve enfeksiyon oluşumuna bağlıdır.

Genellikle ikinci derece yanıklar, enfeksiyon eklenmezse kendiliğinden nispeten kısa bir sürede iyileşir. Eğer yarada enfeksiyon meydana gelirse kolayca üçüncü derece yanığa dönüşür. Yanığın sistemik etkileri ve iyileşmenin niteliği doğrudan dermisin yaralanma miktarı ile ilgilidir (15,17,30).

a) Yüzeysel Dermal Yanıklar: Kısa süre alev ya da sıcak sıvılarla temas sonucu oluşurlar. Yanık alanı kirli kırmızı ya da pembe görünümündedir. Yanmış alanda plazmaya benzer sıvı sızıntısı nedeniyle yüzey genellikle nemlidir. Ağrılı seyreden yara hava temasına duyarlıdır. Büller hemen veya ilk gün içinde zamanla oluşabilir. Büller ne kadar erken oluşursa yanığın o kadar derin olduğu anlaşılır. İyileşme, deride kalan bazal hücrelerin, kıl foliküllerinin ve ter bezi epitellerinin yanan bölgeyi örtmesiyle başlar. Genellikle skar derin dermal yanıklara kıyasla az oluşur. Yüzeyel ikinci derece yanıklarda, stratum germinativum'un genellikle üst kısmı hasar görmüştür. Stratum germinativum'un sağlam bölümleri ve deri eklerinden epitelizasyon başlar. İyileşme genellikle 3-4 haftada iz bırakmadan ya da çok hafif bir iz bırakarak meydana gelir(30,31).

b) Derin Dermal Yanıklar: Alev, sıcak sıvılar veya asit gibi kimyasal maddelerle temas veya yüksek elektrik akımına maruz kalma sonucu oluşurlar. Bu tip yanıklarda epidermis tamamen yanarken, hasar st. germinativum'a ve dermisin en alt bölümünün içlerine kadar uzanır. Epitelyal rejenerasyon yalnızca ter bezleri ve kıl foliküllerinde gerçekleşir. Deri yumuşak, yüzeyi parçalı kırmızı ya da pembe görünüşte ve genellikle nemlidir. Yaralanmış sahadan plazma benzeri bir sıvı sızar.

Derin dermal yanıklarda sıvı kaybı ve metabolik etkiler üçüncü derece yanıklarda olduğu gibidir. Yanma sırasında yarada ağrı çok şiddetlidir ve deride yer yer hiperanestezik bölgeler oluşur. Yanık bölgesinde enfeksiyon oluşursa yara üçüncü derece yanığa dönüşür. Re-epitelizasyon için gerekli süre, dermisteki yıkıma, yanan kıl foliküllerinin, ter bezlerinin miktarına ve enfekte alanların genişliğine bağlıdır. Eğer yara uygun şekilde korunursa, deri yüzeyinde izler bırakarak 2 ay içinde kapanır. 2 aydan daha geç iyileşen yerlerde ise skar ve kontraktür oluşur. Bu durumda üçüncü derece yanıklardan yarayı ayırt etmek oldukça güçtür ve bu tip yaraların tedavisi uzun sürer (18,19).

➤ **Üçüncü Derece Yanıklar:** Bu tip yanıklar sıcak su, alev ve elektrik akımı ile uzun süre temas sonucu oluşur. Deri genellikle açık kahverenginde veya esmer, tıkanan derialtı damarlarından dolayı incelmış, soğuk ve serttir. Çoğunlukla derinin elastikiyeti kaybolduğu için gergin ve parlak bir görüntü sergiler ve elastikiyet kaybı derinin anormal bir şekilde büzülmesine sebep olur. Bu etki özellikle kemik çıkıntıları ve eklemler üzerinde çok açıktır. Derideki bütün yapılar hasara uğramıştır (Şekil 1).

Dermis ve deri altı yağ dokusu koagülasyon nekrozu sonucu harap olmuştur. Deri altındaki damarlarda tromboz görülür. Üçüncü derece yanıklarda kapiller permeabilitede artma ve ödem, ikinci derece yanıklarda oluşandan çok daha fazladır. Tüm katmanlarıyla zarar görmüş deri, 2 veya 3. haftada otolizis ve lökositik infiltrasyonla karakterizedir. Bu olay genellikle süpürasyonla birlikte seyreder. Kapiller demetler ve fibroblastlar skarın altında granülasyon dokusu içinde organize olurlar. Eğer yanık, deri altı yağ dokusunu da kapsamışsa iyileşme çok daha uzun sürebilir. Kası da içine alan yanıklar eritrosit yıkımında artışa neden olur. Bu tip derin üçüncü derece yanıklarda fizyolojik yanıt çok yavaş gelişir.

Üçüncü derece yanıkların bakımı, skarın uzaklaştırılmasını ve yaranın greft ile örtülmesini gerektirir. Eğer greftleme yapılmazsa zamanla kalın bir granülasyon tabakası şekillenir ve bunu yanan alanın kontraksiyonu izler. Bu safhada re-epitelizasyon yalnızca yara kenarında meydana gelir ve azdır.

Granülasyon yumuşaktır, enfekte olabilir ve yarada aylar sonra iyileşme görülebilir. Bu tip yaralarda iyileşmeyi takiben deride kalıcı derin izler oluşmaktadır ve derinin normal görünümünü kazanması için genellikle yaraya cerrahi müdahale gerekmektedir (16,20,21,22).

➤ **Dördüncü Derece Yanıklar (Karbonizasyon):** Yanan dokuların kömürleşmesi olayıdır.

2.2.3.2. Genişliklerine Göre Yanık Sınıflaması

Yanıklar genişliklerine göre de sınıflandırılabilirler. Bu sınıflamaya göre;

➤ **Küçük Yanıklar:** İkinci derece %15'ten küçük ve üçüncü derece %2'den küçük yanıklar bu grup altında değerlendirilirler.

➤ **Orta Büyüklükteki Yanıklar:** İkinci derece %15 ila %30 arasındaki ya da üçüncü derece %2 ile %10 arasındaki yanıklar bu gruba girerler.

➤ **Büyük Yanıklar:** İkinci derece %30'dan ve üçüncü derece %10'dan büyük yanıklar, yüz – el – ayak yanıkları, yüzdesine bakılmaksızın solunum sistemi yanıkları, geniş yumuşak doku yanıkları ve kırıkla birlikte olan yanıklarla elektrik yanıkları bu gruba girerler (16).

Yaygınlık derecesinin tahmini de yanığın derinliğinin tahmini kadar değişkendir. Yaygınlık derecesinin kolay hesaplanması için oluşturulmuş şemalar mevcuttur. Bu şemaların yaşa göre hazırlanması çok önemlidir. Örneğin bebeklerde baş vücut yüzeyinin %20'si olarak kabul edilmektedir Lund-Browder diyagramı (tablo 2) gibi yaşa spesifik bir şema ile yanık vücut yüzey alanı (TBSA, Total vücut yüzey alanı) saptanabilir.

Tablo 2: Lund-Browder diyagramı. Yaş ile birlikte baş ve alt ekstremitelerinin oranlarının değiştiği görülmektedir.

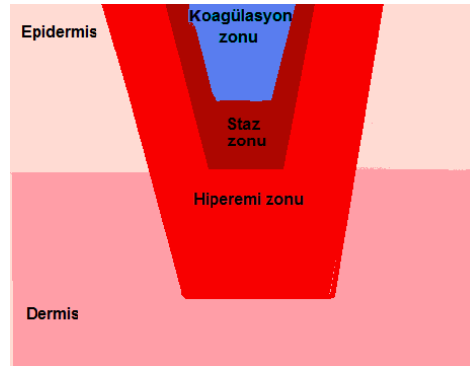
	0-1 yaş	1-4 yaş	5-9 yaş	10-14 yaş	15 yaş	Erişkin
Baş-Boyun	21	19	15	13	11	9
Gövde ön yüz	13	13	13	13	13	13
Sırt	13	13	13	13	13	13
Gluteal bölge	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Genital bölge	1	1	1	1	1	1
Kol	4	4	4	4	4	4
Ön kol	3	3	3	3	3	3
El	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Baldır	5,5	6,5	8	8,5	9	9,5
Bacak	5	5	5,5	6	6,5	7
Ayak	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5

Isının derecesi ve temas süresi doku hasarının esas belirleyicisidir. Ayrıca ısının etkisi vücudun değişik kısımlarında da farklılık gösterir. Derisi kalın olduğu avuç içi ve ayak tabanı gibi bölgeler yanık hasarına daha dirençli iken göz kapağı, el sırtı, ayak sırtı gibi derinin ince olduğu yerler daha hassastır. Çocukların ve yaşlıların derileri erişkinlere göre daha ince olduğu için tam kat yanıklar ve buna bağlı olarak morbidite ve mortalite daha fazladır (32,33).

2.2.4. Yanık Zonları

Yüksek ısı temas noktasından çevreye doğru yayılan bölgesel doku hasarına neden olur. Temas alanında hücre ölümü meydana gelirken çevre dokuda protein denatürasyonu oluşur. Yanık zonları ilk kez 1952 yılında Jackson tarafından tanımlanmış olup bu tanımlama halen geçerliliğini korumaktadır (29).

- **Koagülasyon Zonu (Nekroz zonu):** Isı transferinin en yoğun olduğu alanda görülen,protein denatürasyonu ve koagülasyonla karakterize, tam hücre nekrozunun olduğu alandır.
- **Staz Zonu (Hasar Zonu):** Koagülasyon zonunun derinlerinde ve periferinde yer alan,daha az hasarın olduğu ve çoğu hücrelerin canlı olduğu alandır.
- **Hiperemi Zonu:** Staz zonunun altında ve kenarlarında yer alan zondur. Çevredokuların inflamasyonu sonucu salınan mediatörlerin uyardığı vazodilatasyonlakarakterize alandır. Hücresel hasar azdır ve enfeksiyon veya derin dokuinflamasyonu oluşmadığı sürece tamamen iyileşmesi beklenir (Şekil 2).



Şekil 2:Yanık zonları şematik görünüm.

2.2.5. Yanık yarasının iyileşmesi

Tüm yaralanmalarda olduğu gibi yanık sonrası oluşan doku hasarına karşı, organizmanın verdiği yanıtla, yaralanma anından itibaren iyileşme süreci başlar. İyileşme süreci günler, aylar hatta yıllar sürebilen aktif dinamik bir süreçtir(34). İyileşme evreleri birbirinin içine geçmiş, karmaşık bir takım etkiler ile birbirini izleyen, sınırlarını tam olarak çizmenin mümkün olmadığı bir olaylar zinciridir(6) .

2.2.5.1. Yara İyileşmesinin Evreleri

Yara iyileşmesi birbiriyle bağlantılı üç farklı evreye ayrılır:

- İnflamatuar Evre (Hemostaz ve Enflamasyon)
- Proliferatif Evre
- Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma Evresi(34).

2.2.5.1.1. İnflamatuar Evre

A) Doku Hasarı

Önce yaralanan bölge içine kanama oluşmaya başlar. Hasar meydana gelendamarlarda, kan kaybını azaltabilmek için vasokonstrüksiyon mekanizmasıdevreye girerek pıhtılaşma kaskadı etkinleştirilir(35). Kan subendotelyal tabakayatemas ettiğinde, trombositler bu bölgedeki kollajene yapışarak tıkaç oluşmasınısağlarlar. Saniyeler içerisinde meydana gelen ve hasarın meydana geldiğibölgedeki kanamayı durduran bu olaya “primer hemostaz” denir.

B) Pıhtılaşma

Pıhtılaşma olayı sekonder hemostaz ile sağlanır. Trombositler pıhtılaşma faktörlerini aktive ederken trombin de trombositleri uyarır(35). Hageman Faktörü, kompleman ve kinin sistemlerini uyarır. Ayrıca membran hasarı araşidonikasit yolunu başlatır. Böylece ortama salınan kemotaktik ve vasoaktif düzenleyiciler birkaç dakika süren arteriyoler vazokonstrüksiyona yol açar. Bunu aktif vazodilatasyon izler(36). Pıhtılaşma yollarının son ürünü olan fibrin, oluşan tıkaçı sağlamlaştırarak tam hemostazı sağlar. Pıhtı içerisindeki trombositlerin yoğun olan granüllerinden salgılanan Adenozin Difosfat (ADP), agregasyonu kolaylaştırırken, serotonin, histamin ve bradikinin ile birlikte damar geçirgenliğini artırır(37). Alfa granüllerinden salınan büyüme faktörleri olan transforming growthfaktör ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TGF- β , PDGF) ise inflamasyönhücrelerini kendilerine doğru çekerler(38).

C) Erken İnflamasyon

Kompleman ürünlerinden C5a, ve TGF- β granüositleri yara bölgesine çeker. Yara, 24-48 saat içinde granulositler tarafından işgal edilir. Görevleri, bakterileri ve yabancı debrisı yaradan uzaklaştırmak, böylece enfeksiyonu önlemektir(38).

D) Geç Enflamasyon

Dolaşımdaki monositler yara içine girdikten sonra makrofaja dönüşürler ve 48-72 saat içinde yaradaki çoğunluklu hücre grubu haline gelirler. Kompleman, pıhtılaşma bileşenleri, IgG fragmanları, kollajen, elastinin yıkım ürünleri ve sitokinler makrofajları kendilerine çekerler. Yetmiş iki saatten sonra T lenfositleri yaraya girerler. İnterlökin-1 ise IgG ve kompleman ürünleri tarafından yaraya çekilir(39). T lenfositlerin salgıladıkları lenfokinlerden, interferon gammanın endotel üzerinde bağışıklık düzenleyici etkisi vardır. Çeşitli lenfokinlerin fibroblast birikimi ve kollajen sentezi üzerine hem uyarıcı hem de engelleyici etkiler vardır(40).

2.2.5.1.2. Proliferatif Evre

A) Fibroblast Göçü / Kollajen Sentezi

Fibroblastlar büyüme faktörlerinin etkisi ile ekstrasellüler matriks içinden yaraya doğru göç ederler. Pıhtıdaki fibrin, fibronektin ve kollajen liflerine yapışarak çoğalırlar. Fibronektin boyunca ilerleyerek yarayı çaprazlarlar ve kollajen sentezi için bir ağ oluştururlar. Yedinci günde yara bölgesindeki çoğunluklu hücre grubunu oluştururlar. Kollajen sentezine 5-7. günde başlarlar ve bu sentez 2-3 haftaya kadar artar. Yüksek laktat düzeyi, yeterli oksijen düzeyi, TGF- β kollajen sentezini uyarır(40).

B) Anjiyogenez

Yeni kan damarlarının oluşumudur ve 4. günde belirgin hale gelir. Primer uyarıcısı vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'dür. Erken dönemde trombositlerce salgılanan TGF- β ve PDGF'de dolaylı olarak anjiyogenezi uyarır. Makrofajlar, salgıladıkları tümör nekroz faktör (TNF- α) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi maddelerle anjiyogenezde de anahtar rol oynarlar. Endotel hücreleri bir kez çoğalınca yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluştururlar. Doku plazminojen aktivatörü ve kollajenaz, kapiller tomurcuklardan köken alırlar ve hücrel invazyonun çevredeki kötü vaskülarizasyona sahip dokunun içine ilerlemesini sağlarlar. Bu yapı diğer halkaları birbirine bağlar ve yeni bir kapiller yatak oluşturur. Eritrositler ve plazma, yeni mikro damarlarda dolaşmaya başlar (60,63). VEGF ve diğer anjiyogenik maddelerin üretimi, onarım kaskatlarında, epidermal ve internal yaralarla, kemik kırıklarında önem göstermektedir(37).

C) Epitelizasyon

Epitel hücrelerinin mitozu, yaralanmayı takip eden 48-72. Saatlerde başlar. Epitelizasyonu düzenleyen en güçlü büyüme faktörü endotelyal büyüme faktörü (EGF)'dir. Epitelizasyon hızının artması için, bazal lamina sağlam, yara temiz ve nemli tutulmuş olmalıdır. Kısmi kalınlıktaki yaralarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma olurken, tam kat yaralarda epitel yalnızca yara kenarlarından ilerler.

Epitel Rejenerasyonunun Basamakları;

- Bazal hücrelerin mobilizasyonu
- Hücrelerin zedelenen alana göçü
- Göç eden hücrelerin mitozu
- Yara alanındaki boşluk dolup hücreler birbirlerine temas edince göç vemitozun bitmesi, hücrel farklılaşmanın tamamlanması(37,41).

Epitelial hücrelerin yara üzerindeki hareketi 24 saatte birkaç milimetredir. Yeni oluşan epitel hiçbir zaman normal yapısına dönüşemez(38).

2.2.5.1.3. Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma (Remodelizasyon) Evresi

Kollajen yapım ve yıkımı ekstraselüler matriks remodelizasyonu ile birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit dengeye ulaşır. Kollajen yıkımı fibroblastlar, granüositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu enzimler TGF- β tarafından inhibe edilir. Yaranın gücü, kollajen miktarı, çapraz bağlanma yoğunluğu ve yapım yıkım arasındaki denge tarafından belirlenmektedir. Erken dönem yara iyileşmesinde çoğunlukla embriyonik tip III kollajen bulunurken, normal ciltteki oran (TipI/TipIII=4/1) elde edilene kadar tip I ile tip III kollajen yer değiştirir.

Olgunlaşma fazının süresini hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi, inflamasyon periyodunun süresi ve yoğunluğu gibi birçok değişken belirler. Yeniden şekillenme hiçbir zaman normal olan eski haline benzemez. Deri ve fasya en fazla normal gücünün %80'ine ulaşabilir(37,38).

2.2.5.1.3.1. Kollajen ve Hidroksiprolin

Yara bölgesindeki kollajen miktarı, yara iyileşmesini gösteren önemli bir parametredir. Kollajen, deri, kıkırdak, kemik ve tüm canlı dokuların başlıca yapı proteindir. Vücutta en fazla miktarda bulunan protein olan kollajen total vücut proteininin %30'unu oluşturur ve vücut ısısında proteolitik enzimlerin etkisine dayanıklıdır(34,38).

Kollajen moleküllerinin en belirleyici özelliği, üç polipeptit alt biriminden oluşan üçlü sarmaldır. Polipeptit alt birimler olan α -zincirler, bir ortak eksen etrafında dönerek katı çubuk benzeri bir molekül yapar; bunlar fibrilleri oluştururlar; fibriller de kümelenerek fiberleri oluştururlar. Kollajen moleküllerinin ikinci çarpıcı özelliği, amino asit dizisinin tekrarlayan tripeptit olmasıdır. Birinci aminoasit glisin, ikincisi genelde prolin, üçüncüsü ise hidroksiprolindir (HP) (42). HP ve hidroksilizin kollajenle doğrudan birleşmezler. Bunların ön maddeleri olan prolin ve lizin, protokollajenin peptit zincirlerine bağlanarak hidroksil hale

dönerler. Burada protokollajen prolin hidroksilaz ve protokollajen lizil hidroksilaz enzimleri katalizör olarak rol oynarlar. Bu reaksiyonda, α -ketoglutarat, oksijen, demir ve askorbik asit kofaktör olarak kullanılır (42,43). HP kollajen aminoasidinin %11'ini oluşturur. Hidroksilasyonu tamamlanan bu α zincirler, üçlü helezon meydana getirerek tropokollajen moleküllerini yaparlar (44). Bu moleküller transferaz enzimleri aracılığıyla hücre dışına çıkartıldıktan sonra özel tarzda bir araya gelerek kollajen fibrillerini oluştururlar.

Kollajendeki aldehit grupları arasına lizil oksidaz enzimi ile bağlanan bağlantılarda eklendiğinde sağlam kollajen fibrilleri oluşur. Kollajen fibrilleri arasındaki moleküller içi ve arası bağlar, yaranın gerilim kuvvetine ve sağlamlığına etki eder(42,45). Kollajen ilk sentezlendiğinde çapraz bağları azdır ve nötral çözücülerde çözülebilir, çapraz bağları arttıkça sadece asit çözücülerde çözülebilir hale gelir. Molekül tüm çapraz bağlantılarını tamamlayıp, son halini aldığı anda ise hiçbir çözücüde çözülemez ki bu molekülün en dayanıklı halidir. Dokudaki çözülebilen ve çözilemeyen kollajen düzeyi saptanarak yara iyileşmesi hakkında fikir edinilebilir(42,45).

2.2.5.2. Yara İyileşme Şekilleri

2.2.5.2.1. Primer İyileşme

Doku kaybı olmaksızın yara kenarlarının karşılıklı getirilerek sütür, stapler veya yapışkan bantlarla kapatılması esasına dayanan iyileşmelerdir (17). Primer iyileşmede epidermis önemli rol oynar(17,34,38). Her iki yara kenarındaki epidermis saatler içinde kalınlaşır, kesi yerleri boyunca insizyon aralığının derinliğine doğru ilerler ve 24–48 saat içinde yüzey kurutunun altında orta hatta birleşerek devamlı ancak ince bir tabaka oluşturur. Bakteriyel invazyon için bariyer oluşturur. Kollajenin ve diğer matriks proteinlerinin sentezi, depolanması, kollajen lifleri arasındaki bağların oluşumu dengeli bir şekilde devam eder (16).

2.2.5.2.2. Sekonder İyileşme

İnflamatuvar ülserasyon, abse oluşumu ve geniş doku defektleri olan yüzey yaralanmalarında olduğu gibi aşırı miktarda hücre ve tam kat doku kaybı varlığında, iyileşme süreci daha karışıktır. Kontraksiyon ve kenar epitelizasyonu ile karakterizedir. Primer iyileşmeden farkı, inflamatuvar yanıtın daha şiddetli, granülasyon dokusunun daha fazla miktarda oluşu ve yara kontraksiyonudur (34,38).

2.2.5.2.3. Tersiyer İyileşme (Gecikmiş primer iyileşme)

Başlangıçta çok ileri derecede kontamine olduğundan primer kapatılamayan ancak 4-5 günlük açık bırakmadan sonra iyi kanlanabilen dokularda uygulanır. Bu yöntem, yara yatağındaki inflamatuvar sürece, bakteri konsantrasyonunu en aza indirmek için zaman tanır. Daha sonra genellikle primer kapama uygulanır.

2.2.6. YanıkYarası Tedavisi

Yanık tedavisinin konservatif mi yoksa cerrahi mi olacağını belirlemede temel unsur yanığın derinliğidir. Birinci derece yanıklar ve II. derece yüzeysel yanıklar canlı kalan kıl folikülleri, ter ve yağ bezlerinin epitelinin yüzeye ilerlemesi sonucu kendiliğinden iyileşir. Yanık yarasının iyileşmesi klasik yara iyileşmesine benzemekle beraber bazı önemli farklılıklar arz eder. Hasarlı alana kan akımının azalması, yoğun enflamasyon, epitelizasyonu sağlayacak hücrelerin kaybı ve oluşan skar dokusuyarık yarasını diğer yaralardan daha sorunlu bir hale sokar (46). Yüzeysel ikinci derece yanık yaraların iyileşmesi dermal eklerin korunmasına bağlıdır. Yara temizlenir gevşek cansız doku kaldırılır. Takip sırasında reepitelizasyon oluncaya kadar yıkama ve hafif bir topikal ajanın günde iki kez uygulanması yeterlidir. Bu işlem yüzeysel yanıklarda 5-10 gün, orta derinlikteki yaralarda 10-14 gün sürmektedir. Hasta eğer ayaktan takip ediliyorsa yara en az haftada 1 kez görülmelidir. Epitelizasyon başladıktan sonra günde 4-5 kez nemlendirici bir kremle masaj yapılmalıdır. Hasta 4-6 hafta sonra hipertrofik skar ve pigment değişikliği yönünden kontrol edilmelidir.

Derin ikinci derece yanık yaraların iyileşmesi 3-4 haftayı alır ve hipertrofik skar oluşumu insidansı daha yüksektir. Derinliği indetermine (belirlenememiş) olanlar yüzeysel gibi ele alınır. Epitel adacıkları yoğun ise, fonksiyonel ve kozmetik olarak önemli bir bölgede değilse epitelizeasyon tamamlanıncaya kadar izlenir. Eğer yara 2-5 cm'den büyükse, önemli bir bölgede ise ve 14 günde iyileşmemişse greft uygulanır. Bu protokol sonucunda skar oluşumu azalır, fonksiyonlar erken kazanılır, yüzeysel yaralar iyileşirken, derin yaraların demarkasyonu beklenmiş olur.

İkinci derece derinyanıklarda primer epitelizeasyonu sağlayacak deri eki miktarı daha azdır. Ayrıca ölü dokuların ortamdaki uzaklaştırılması gereklidir. Kendi haline bırakıldığında yara iyileşmesi uzun zaman alır, enfeksiyon riski ve hipertrofik skar gelişme oranı yüksektir. İkinci derece derin yanıklar ve tam kat yanıkların en geçerli tedavi yöntemi erken dönemde ölü dokuların debritlemesi ve deri grefti uygulamasıdır (47). Günlük yanık bakımının hedefleri epitelizeasyonu uyarmak, nekrotik dokuları kaldırmak, bakteriyel kontaminasyonu önlemek, devam eden travmayı önlemek, sistemik komplikasyonlardan korumaktır.

Üçüncü derece derin yanıklarda spontan epitelizeasyon, tüm deri eklerinde hasar olduğu için olanaksızdır. Greft yapılmaz ise bu yaralar kenarlardan epitelial hücre migrasyonu ve kontraksiyon ile iyileşir. Tedavi alanının büyüklüğüne ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişir. Küçük yanıklar (tüm vücut yüzeyinin %35'inden az) da fonksiyonel ve kozmetik kazanç üzerinde yoğunlaşılır. Büyük yanıklarda ise yaranın kapatılması ve hastanın yaşatılması önemlidir. Üçüncü derece derin yanıklar cerrahi girişimden önce temizlenir, debride edilir ve günde iki kez topik antimikrobiyal ajan uygulanır.

2.2.6.1. Yanık yarasında mikrobiyolojik ajanlar:

Yaralanmadan hemen sonra yanık yarası *Staf. aureus* ve *Staf. epidermidis* gibi gr (+) bakterilerle kolonize olur. 5 gün içerisinde ise gr (-) mikroorganizma hâkimiyeti gelişir. *Psödomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* ve *E. coli* bunlardan bazılarıdır. Yanık yaralarının %80'inde hastanın kendi gastrointestinal sisteminden, %20'sinde ise

diğer kaynaklardan kolonizasyon geliştiğı düşünölmektedir. Yanık yaralarında kolonizasyon sistemik antibiyotik kullanımı endikasyonu olarak kabul edilmez.

2.2.6.2. Topikal antimikrobiyal tedavi

Rutin yanık tedavisinde antimikrobiyal ajanlar kullanılır. Tedavinin amacı yarayı sterilize etmek değil bakteri yoğunluğunu kontrol etmek ve yara enfeksiyonunu azaltmaktır. Yanık enfeksiyonunu önlemek için erken antibiyotik verilmesi artık önerilmemektedir. Dirençli mikroorganizma gelişimine neden olur. Mortalite ve morbiditeyi azaltmaz

2.2.6.3. Hidroterapi ve debridman:

Yanık yaralarında geleneksel tedavi gevşek nekrotik dokunun debridmanıdır. Büllerin açılması konusundaki çelişkiler ise halen devam etmektedir. Bu karar bölün lokalizasyonu, boyutu ve hastanın güvenilirliği göz önüne alınarak verilmelidir.

Günlük yara bakımında hidroterapinin rolü oldukça önemlidir. Birçok yanık merkezinde banyo ve duşlar bulunur. Bu uygulamalar nekrotik dokunun uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır. Hidroterapi odasına transportu zor olan hastalara yataklarında pansuman ve yara temizliği yapılmalıdır.

2.2.6.4. Kompartman sendromunun değeriendirilmesi ve tedavisi:

Derin üçüncü ve ikinci derece yanıklarda genellikle doku travmasına eşlik eden artmış kapiller permeabilite ve elastisite yokluğuna bağılı olarak doku basıncı artar. Kapiller dolaşım düzenlenerek, sinir hasarı ve venöz obstrüksiyon önlenmelidir. Kapiller dolmanın gecikmesi, siyanoz ve/veya parestezi, eskarotomi ve/veya fasyotomi endikasyonudur

2.2.6.5. Biyolojik Kapamalar

Yara kapatılmasında son yıllarda uygulanan homogreft, heterogreft ve oto homogreft uygulamaları özellikle çocuk yanıklarında zorunlu tedavi yöntemleri haline gelmiştir (17,46).

Xenograftlar (domuz derisi) ve allogreftler (insan kadavra derisi) ikinci ve üçüncü derece yanıklarda kullanılmaktadır. Bu örtüler temiz ikinci derece yaralar üzerine kapatıldığında (reepitelizasyonun geç safhalarında) rehabilitasyonu kolaylaştırmakta ve yaranın kurumasını önlemektedir. Xenogreftler revaskülarizasyon yapmazlar ve allogreftlerden daha ucuzdurlar. Bu da onları tercih edilir yapmaktadır. Geniş yüzeyli ikinci derece yanıkların ve geniş donör yüzeylerin geçici olarak kapatılması için idealdir.

2.2.7. Yanıkların cerrahi tedavisi

Son 20 yılda yanıklara cerrahi yaklaşım konusunda ilerlemeler kaydedilmiştir. Güvenli ve etkili kan ve deri replasmanı, yoğun bakım, yanık sonrası beslenmenin daha iyi anlaşılması, kullanılan aletlerdeki gelişmeler bunlardan bazılarıdır. 1970'lerde derin dermal yanıklarda tanjansiyel yara eksizyonunu takiben otogreftleme ile hastanede kalma süresinde ve morbiditede azalma olduğu bildirilmiştir. 1980'lerde ise yaranın hemen kapatılmasının iyi sonuçları tartışıldı. Bu konuda gerçek anlamda prospektif, randomize çalışma bulunmamakla birlikte erken yara eksizyonunu takiben yapılan greftleme derin yanıklar için halen tercih edilmektedir. Enzimatik debridman eskarın cerrahi olarak çıkarılmasının yerini almıştır.

Günümüzde tüm vücut yüzeyinin %25'inden yaygın yaralanmalar için yara eksizyonunda yanıktan sonra 3-5. günler tercih edilmektedir. İndetermine derinlikteki yaralar için 10-14 gün kadar beklenmesi daha uygun olur. Ağır yanıklarda eksizyonlar her 2-3 günde bir eskar dokusu tamamen yok edilinceye kadar tekrarlanır. Yara yatağı daha sonra otolog veya allojenik deri grefti veya biyosentetik kapamalar ile kapatılır.

Perioperatif antibiyotik uygulanması ve olabilecek kan kaybının tahmini miktarı önemlidir. Bu işlemler sırasında bakteriyemi riski bulunduğu için sistemik antibiyotik uygulanmalıdır.

Yanık yaralarının eksizyonu yöntemi ile hastanede kalma süresi dramatik olarak azalmış ve kozmetik gelişmeler sağlanmıştır, ancak etkili bir rehabilitasyonun gerekliliği değişmemiştir. Rehabilitasyon yanıklı hastada mümkün olduğu kadar erken başlamalıdır. Fonksiyonun yeniden kazanılması en önemli konudur. Basınçlı sargılar, basınçlı yüz maskeleri kullanılabilir. İyileşen yaraya skar tam olgunlaşınca kadar basınç yaklaşık bir yıl boyunca uygulanmalıdır.

2.3. GHRELİN

Ghrelın gastrointestinal sistem tarafından üretilen, santral etki ile yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan peptid yapıda bir hormondur. Keşfinin ilk yıllarında vücutta büyüme hormonu salınımını artırıcı bir hormon olduğu düşünülmüştür, son yıllarda iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesi üzerine olan etkileri ile dikkat çekmektedir (47).

Ghrelın ilk kez 1999 yılında Japon bilim adamları Kojima ve arkadaşları tarafından farelerin midesinde tanımlanmıştır (48). Mide oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip ghrelın hücreleri (X/A) tarafından üretilmektedir (49, 50). Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince bağırsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immun sistem (51, 52), meme (53,54) ve dişlerde sentezlenmektedir (55).

Ghrelının mRNA'sı hemen hemen bütün dokularda tespit edilmiştir. Çalışılan dokuların ghrelın mRNA miktarının mide fundusunda en fazla olduğu, bunu da sırasıyla jejunum, duodenum, midenin antrumu, akciğer, pankreas dokusu, venöz sistem, safra kesesi, lenf nodu, yemek borusu, sol kolon, yanak, hipofiz, meme, böbrek, overler, prostat, sağ kolon, ileum, karaciğer, dalak, fallop

tüpleri, lenfositler, testisler, yağ dokusu, plasenta, adrenal bez, kas, mesane, kalbin atriumu, tiroid, miyokard ve derinin takip ettiği bildirilmiştir (56).

2.3.1. Ghrelinin yapısı ve dokulardaki dağılımı

Yarılma ömrü 15–20 dakika olan ghrelin; vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır; bunlar “Ghrelin” ve “des-n-oktanil Ghrelin”dir (57). İnsan preproghrelinini kodlayan gen beş ekzon ve dört intron içerir ve 3p25–26 kromozomu üzerinde lokalize olmuştur. Uç uca eklenmiş ghrelin mRNA’sı 117 amino asit içeren prekürsör preproghrelini oluşturur, preproghrelin daha sonra parçalanarak ghrelini oluşturur (58,59). Ghrelin 28 amino asitli bir peptittir. İnsan ghrelini N-terminal ucundaki 3. aminoasit olan serine bağlı oktanil grubu adı verilen sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Bu oktanil grubunun bağlanmasını sağlayan esterleşme reaksiyonu çok özeldir ve benzeri yoktur, henüz ayırtılamamış olan bir açıl transferaz enzimi tarafından yürütülmektedir. Bu esterleşme reaksiyonu ghrelinin GHS-R1a reseptörüne bağlanıp kan-beyin bariyerinden geçişini sağlar (60,61).

Ghrelin, bir yağ asidi tarafından aktivitesi değiştirilen tek peptid hormondur (52,62). Farelere verilen orta zincirli yağ asitleri ve orta zincirli triaçil gliseroller, toplam ghrelin miktarını değiştirmeden midedeki açilli ghrelin miktarını arttırmaktadır. Yani vücuda alınan orta zincirli yağ asitleri ghrelinin açıl modifikasyonunda kullanılmaktadır (17). Oktanil grubu ghrelinin aktif olması için gereklidir. Bünyesinde yağ asidi içermeyen desaçile ghrelin ise inaktiftir (52,62).

Ghrelinin doğal oluşan varyantları des-Gln ghrelin ve desaçile ghrelindir. Des-gln ghrelin serumda çok az miktarda bulunmakta fakat aktivite göstermektedir. Desaçile ghrelin dolaşımdaki toplam ghrelinin %80-90’ını oluşturmaktadır (62). Desaçil ghrelin GHS-R1a reseptörüne bağlanamadığı için etki gösteremez (17, 63). Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda desaçil ghrelinin GHS-R1a haricindeki başka reseptörler üzerinden fizyolojik etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. Örneğin hepatositlerden glikoz salgılanmasının azaltılması, (64) lipolizin inhibisyonu, yağ dokusunun gelişiminin arttırılması, hücre apoptozunun inhibisyonu, vazodilatasyon ve faydalı kardiotropik etkiler,

besin alımının uyarılması ve iris kaslarında gevşeme bu etkilerden bazılarıdır(65).

Obestatin ghrelini kodlayan gen tarafından üretilen bir diğer hormondur. Obestatinin, ghrelinin enerji homeostazı, gastrointestinal fonksiyonlar, anksiyete ve açlık üzerine olan etkilerine aksi etkileri olduğu düşünülmektedir (65). Ghrelin birçok dokuda üretilmektedir (56). Hayvanlar alemi dışında bitkiler aleminde de insan anti ghrelini ile immüno reaksiyona giren ghrelin benzeri bir maddenin bulunduğu rapor edilmiştir (66). Memelilerde ghrelin homologları insan, sıçan, köpek, koyun, domuz, sığır, rhesus maymunu ve farelerde bulunmaktadır (48,62). Memeli ghrelinlerinde NH₂ terminal ucundaki ilk on aminoasit evrimsel süreç içerisinde iyi korunmuştur. Üçüncü sırada yer alan serin aminoasidi açıl modifikasyonuna olanak sağlamaktadır. NH₂ terminal bölgenin ilk on amino asidi peptidin aktivite gösterebilmesi için ana rol üstlenmektedir.

Bütün omurgalı türlerinde ghrelinin ana sentez yeri midedir. Midenin fundus bölgesi, pilor bölgesine göre daha fazla ghrelin sentezlemektedir (67).Doku hibridizasyonu ve immunohistokimyasal analizler, midenin mukozal tabakasının belirli bölgelerinde ghrelin pozitif hücreler olduğunu ortaya koymuştur. Mide endokrin hücrelerinin değişik tipleri vardır. İmmunglobulin A yönünden aktif olan endokrin hücrelerin %20'si ghrelin mRNA'sı içermektedir.

Oksintik mukozada dört çeşit endokrin hücre belirlenmiştir. Bunlar enterokromaffin benzeri (ECL) hücreler, D hücreleri (pankreas langerhans adacıklarında %5'den az olarak bulunan ve somatostatin salınımından sorumlu hücreler), enterokromaffin (EC) ve X/A benzeri hücrelerdir (68,69). ECL hücrelerinde histamin ve üroguanilin (natriüretik peptid hormon), D hücrelerinde somatostatin, EC hücrelerinde serotonin, X/A benzeri hücrelerde ise ghrelin sentezi mevcuttur. X/A benzeri hücreler fonksiyonel oksintik bezlerde endokrin hücre miktarının %20'sini oluşturmaktadır.

Ghrelin immunoreaktif hücreler duodenum, jejunum, ileum, meme ve kolonda da bulunmaktadır. İntestinal sistemin ghrelin derişimi duodenumdan kolona doğru azalmaktadır. Midede olduğu gibi bağırsakta da, N-oktanil ghrelin

ve des-açıl ghrelin formları bulunmaktadır (50,62). Alt gastrointestinal sistemde lümenle bağlantılı olan "açık" hücreler ve lümenle bağlantısı olmayan "kapalı" hücreler olmak üzere iki tip ghrelin hücresi belirlenmiştir (50).

Pankreas da ghrelin sentezleyen bir organdır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) "Radyoimmunassay" (RIA) ile yapılan analizler, hem n-oktanil ghrelin hem de des-açıl ghrelinin sıçan pankreasında bulunduğunu göstermiştir. Pankreasın alfa ve beta hücrelerinde diğer hormonların yanı sıra ghrelin de bulunmaktadır.

Beyinde lateral hipotalamus, arkuat nükleus (ARC), venteromedial nükleus (VMN), dorsomedial nükleus (DMN), paraventriküler nükleus (PVN) ve üçüncü ventrikülün endodermal tabakasındaki çekirdekler arası boşlukta ghrelin ekspresyonu mevcuttur (70). Ayrıca hipotalamus dışında yer alan stria terminalis, amygdala, talamus ve habenulanın nükleusunda da ghrelin ekspresyonu bulunmaktadır (71). Ghrelin mRNA'sının böbrekte özellikle glomerülde bulunduğu açıklanmıştır (72).

İmmünoreaktif ghrelin hücreleri, interstisyel leydig hücreleri ve sertoli hücrelerinde de tanımlanmıştır. Caminos ve ark. İlk kez kondrositlerde ghrelinin sentez ve sekresyonunu göstermişlerdir (53). Tükürük bezinde ve dış dokusunda ghrelinin varlığı immunohistokimyasal ve RIA yöntemleriyle gösterilmiştir (54). Yine meme dokusunun ghrelin sentezlediği bildirilmiş olup anne sütündeki miktarı RIA ile belirlenmiştir (62).

Ghrelin normal insan dokularının yanı sıra hipofiz adenomları, nöroendokrin tümörler, tiroid ve medüller tiroid karsinomları, pankreasendokrin tümörleri ve akciğer tümörlerinde de tanımlanmıştır (62).

2.3.2. Ghrelin reseptörleri

En iyi bilinen ghrelin reseptörü GHS-R1'in iki alt tipi (GHS-R1a, GHSR1b) vardır. Bu varyantlar aynı genin pre-mRNA'sından alternatif yöntemlerle meydana gelmektedir. Her ikisi de geniş olarak eksprese edilmekte

fakat GSH-R1b, GHS-R1a'dan farklı olarak ghrelin veya sentetik ghrelinlere bağlanmamaktadır ve fonksiyonu bilinmemektedir (65). Bununla birlikte son çalışmalarda GSH-R1b'nin GHS-R1a ile birlikte etki ediyor olabileceği ve GSH-R1b'nin biyolojik olarak önemli bir rolü olabileceği öne sürülmüştür (73).

GHS-R1a hipotalamus ve pituiter bezlerde yaygın olarak eksprese edilmektedir. Bu da onun enerji dengesi, gıda alımı ve iştah artışı gibi pituiter bezi üzerinden gözlenen etkileri ile uyum göstermektedir (74). GHS-R1a'nın hipokampus, substansia nigra'nın pars kompaktası, ventral tegmental bölge, dorsal ve medial nükleer raphe, Edinger- Westphal çekirdeği ve piriform korteks gibi santral sinir sisteminin biyolojik ritim, davranış, kavrama, hafıza ve öğrenmeye etkili kısımlarında da eksprese olduğu gösterilmiştir (75). Ayrıca GHS-R1a, ghrelinin etkilerine aracılık eden vagal gangliyon düğümlerinde de eksprese olmaktadır. Bunlara ek olarak mide, bağırsaklar, pankreas, tiroid bezi, gonadlar, adrenal bezler, kalp ve damarları, kemik, çok çeşitli tümörler ve hücre zarları GHS-R1a içermektedir (65). Bu bilgiler ghrelinin gittikçe daha çok açığa çıkartılan etkileri ile paralellik göstermektedir.

GHS-R1a'nın GH salınmasının uyarılması ve etkilerinin ortaya çıkması için gerekli olduğu gösterilmiştir (76). GHS-R1a, G proteinine bağlı bir reseptördür. Ser3' deki oktanil grubu ve N terminal ucundaki 4–5 amino asitler ghrelin tarafından aktiveleştirilebilmesi için gereklidir (63). Ghrelinin GHS-R1a reseptörüne bağlanması hücreye spesifik birçok intrasellüler yolların aktiveleşmesine neden olur. Somatotrofik hücrelerde GHS-R1a'nın uyarılması sonucunda Gq11- fosfotidil inositol- fosfolipaz C sistemi aracılığı ile Ca mobilizasyonu ile gerçekleşmektedir (74).

İn vitro olarak GHS-R1a reseptörünün maksimal kapasitesinin %50'sinin aktif olduğu gösterilmiştir (65). Ghrelin reseptörlerinin temel aktivitelerinde kayba neden olan mutasyonları gösterilmiş, fakat bu durumun reseptörün ghreline olan afinitesinde, güç ve etkilerinde azalmaya neden olmadığı gözlenmiştir. Bu ghrelin reseptörlerindeki sinyal sisteminde meydana gelen kayıplar özellikle puberte sırasında obezite ve boy kısalığı ile karakterize olan bir sendroma neden olabilmektedir (77, 78).

2.3.3. Ghrelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri.

Ghrelinin büyüme hormonu (GH), adenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir (62).

2.3.3.1. Ghrelinin büyüme hormonu üzerine etkileri.

Büyüme hormonu salınımı iki farklı yoldan gerçekleşmektedir. Birincisinde büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) hipofiz içine büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörü (GHRH-R) aracılığı ile girer ve intraselüler cAMP seviyesini yükselterek GH salınımını uyarır. İkincisinde ise büyüme hormonu salgılatıcı (GHS) ya da ghrelin hipofiz membranında bulunan büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) vasıtası ile hipofiz içine girer ve fosfolipaz C'yi aktive eder. Fosfolipaz C aktivasyonu ile intrasellüler Ca iyonu derişimini yükselir ve GH salınımı uyarılır.

Ghrelin büyüme hormonu salınımını hem in vitro hem de in vivo şartlarda doz bağımlı olarak arttırmaktadır (79). İnsan ve köpeklerde ghrelinin intravenöz verilmesinin büyüme hormonu salınımını uyardığı gösterilmiştir (51). Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) salınımını artırırken somatostatin salınımını azaltmaktadır. Ghrelin memelilerin dışındaki canlılarda da büyüme hormonu salınımını arttırmaktadır (9).

Ghrelin ve GHRH'ın birlikte verilmesi sinerjik olarak, tek tek verilmesine nazaran büyüme hormonu salınımını daha fazla arttırmaktadır. Ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı özelliği ile vagus siniri arasında bir ilişki bulunmaktadır. Vagus siniri kesildiğinde ghrelin verilmesine rağmen büyüme hormonu salınımının aşırı derecede düşmekte olduğu gösterilmiştir (80).

2.3.3.3. Ghrelinin ısı üzerine etkisi

Santral ya da periferel yolla uygulanan ghrelin doza bağımlı olarak ısı artışına neden olmakta, uygulama şekline göre ısı artışında farklılık olmaktadır.

Ghrelin intraperitoneal (İP) yoldan verilmesi halinde ısı artışı 5–20 dakika arasında olurken intraserebroventriküler (İCV) olarak verilmesi halinde ise 10–60 dakika arasında gerçekleşmektedir. Bu ısı değişiminin mekanizmasının açıklanamamasına rağmen ghrelinin enerji harcanmasında rolü olduğu kabul edilmektedir (9).

2.3.3.4. Ghrelinin iştah üzerine etkisi.

İştah sinir sisteminin kontrolüne ek olarak hormonal yolla da kontrol edilmektedir. Yemek yeme esnasında kolesistokinin ve obestatin salgılanarak doyumluk hissi vermektedir (62,81). Beslenmeyle mide ve diğer dokulardan ghrelin salınımı artar; tükürük ve kanda ghrelin yoğunluğu %70–80 oranında yükselir (51,62,67). Ghrelin yemek yemeyi başlatırken, obestatin iştahı baskılamakta, kolesistokinin ise yemek yemeyi sonlandırmaktadır (62).

Ghrelinin iştah üzerine üç yolla etki ettiği düşünülmektedir. Birinci yol; mideden sentez edilen ghrelin kan dolaşımı ile arkuat nükleusa (ARC) ve beynin diğer bölümlerine kan-beyin bariyerini aktif transport ile aşarak ulaşmakta ve iştahı etkilemektedir. İkinci yol; Periferik vagal sinir uçlarını uyaran ghrelin, nükleus solitarius yoluyla GHS-R ekspresyonuna neden olarak hipotalamusu uyarmaktadır (52). Üçüncü yolda ise; hipotalamusta lokal olarak sentezlenen ghrelin direkt olarak ARC'deki Nöropeptid Y/Agouti-Related Peptide (NPY/AGRP) ve diğer hücreleri uyarmaktadır (52).

2.3.3.5. Ghrelinin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri

Ghrelin mRNA'sının kalp ve aort da bulunduğu rapor edilmiştir (56,82). Ghrelin verilen gönüllü insanlarda kalp atım hızının arteriyel basınç değişmeden düştüğü bulunmuştur (82). Ratlarda yapılan bir çalışmada ise ghrelinin nükleus traktus solitariye intraserebroventriküler (İCV) enjeksiyonunun kalp hızını ve kan basıncını sempatik aktiviteyi baskılayarak düşürdüğü gösterilmiştir (21). Büyüme hormonu salgılatıcı ve ghrelin verilmesi sol ventrikül atım hacminde yükselmeye neden olmaktadır.

2.3.3.6. Ghrelinin kemik ve diř dokusuna etkileri

Ghrelinin ratlarda osteoblast proliferasyon ve farklılaşmasını uyardığı gösterilmiştir. Diři sıçanlarda 12 hafta süre ile GHPR–6 veya peptid analogu olan ipamorelin verilmesi sonrası in vivo kemik mineralizasyonunun arttığı dansitometrik ölçümlerle gösterilmiştir. Gastrektomi canlılarda kemik kaybına neden olmaktadır. Bunun nedeninin ghrelinin ana sentez yerinin mide fundus bölgesi olması ve gastrektomi sonrası meydana gelen ghrelin havuzunda eksiklik sonucu kemik doku kaybı ortaya çıkması olarak düşünülmüştür. (83-84)Dişlerde bulunan ghrelinin diş dokusunun yenilenmesinde ve dişlerin oluşum sürecinde diş gelişimine katkı yaptığı ileri sürülmüştür (62).

2.3.3.7. Ghrelinin leptin üzerine etkileri

Hematopoetik sitokinlerin yapısına benzeyen leptin, 4 alfa sarmal yapmakta ve Cys 96-Cys 146 arasında bir disülfid bağı içermektedir. Başlangıçta leptinin sadece beyaz yağ dokusundan sentezlendiği düşünülürken, daha sonraki çalışmalarda leptinin kahverengi yağ dokusu, hipotalamus, pituiter bez, mide mukozası, iskelet kası ve sinsisyotrofoblast gibi birçok dokudan sentezlendiği gösterilmiştir.

Ghrelin ve leptin, “Ying-Yang” prensibi ile görev yapmaktadır. Hipotalamusta bulunan Y nöronları aracılığı ile ghrelin/leptin derişimleri “feed back” mekanizma ile kontrol edilmekte, vücut ağırlığı da bu yolla kontrol altında tutulmaktadır. Her iki hormonun düzeyleri açlık, tokluk, glukoz ve diyet, insülin, bağırsak hormonları, leptin, parasempatik aktivite, yaş, gebelik, obezite, cinsiyet, polikistik over sendromu, enerji düzeyi, insülin direnci ve diabetes mellitus, GH eksikliği, akromegali, hipo ve hipertiroidizm, neonatal dönem ve bazı nöroendokrin gastrointestinal tümörler gibi faktörlere bağılı olarak ayarlanmaktadır. İntraserebrovasküler olarak leptin uygulandığında, arteriyel basınçta yükselme (85), ghrelin uygulandığında düşme olduğu gözlenmiştir (82,21).

2.3.3.8. Ghrelinin obestatin üzerine etkileri

Zhang ve arkadaşları tarafından 2005 yılında keşfedilen obestatin anorektik bir peptittir. Ghrelin hormonu ile aynı gen tarafından kodlanmakta ve kilo alımını baskılamaktadır. Obestatinin keşfi yeni olmakla beraber insan ve sıçanların mide, ince bağırsak, hipotalamus ve hipofiz gibi dokularında hormonun sentezlendiği gösterilmiştir. Yapılan araştırmalarda obestatin ile ghrelinin birbirleriyle ilişkili hormonlar olduğu bildirilmiştir. Obestatinin etkilerinin ghreline zıt olduğu, kilo alımını baskıladığı, etkilerini hücrelerde siklik adenozin monofosfat (cAMP) miktarını artırarak gösterdiği belirtilmiştir (21).

2.3.3.9. Ghrelinin gastrointestinal sistem üzerine etkileri.

Ghrelinin gastrointestinal sistemin ekzokrin salgısı, epitel proliferasyonu ve motilitesi de dahil olmak üzere pek çok fonksiyonuna etkisi bulunmaktadır (65).

2.3.3.10. Ghrelinin otonomik sinir sistemi üzerine etkileri

Ghrelin, sempatik aktiviteyi önleyerek ve vazodilatasyona neden olarak kan basıncını düşürmektedir. İntraserebrovasküler (İCV) ghrelin enjeksiyonu, nükleus traktus solitarius yolu ile kan basıncı ve otonom sinir sisteminin düzenlenmesinde görevli vagusun dorsomotor nükleusunda c-fos ekspresyonuna neden olmaktadır. Ghrelinin üçüncü ventriküle 1 nmol enjeksiyonu, kahverengi yağ dokusunda ısı düzenlenmesinde etkili sempatik aktiviteyi azaltmaktadır. Ghrelinin sempatik aktivitedeki kardiyovasküler ve vagal boşalma üzerine durdurucu, gastrointestinal parasempatik aktivite üzerine ise hızlandırıcı etki yaptığı bulunmuştur (62).

2.3.3.11. Ghrelinin vagus sinirine etkileri

Vagus siniri, ghrelinin etkileri açısından oldukça önemli bir sinirdir. Abdominal vagus, afferent dorsal beyin sapının nükleus traktus solitariusunda sonuçlanmaktadır. Bilgi buradan otonomik motor çekirdeğe ve hipotalamus

amigdala ve korteksde dahil olmak üzere beyinin çeşitli bölgelerine dağılmaktadır. Vagal efferent nöronlarda ghrelin sentezlendiği ve afferent uçlara gönderildiği kanıtlanmıştır. Vagal afferentin blokajı halinde periferel ghrelinin indüklediği besleme etkisini kesmekte, nöropeptid Y (NPY) nöronlarının aktivasyonu ile oluşan GH salınımı ise vagotomi ile inhibe edilmektedir (86).

2.3.3.12. Ghrelinin diğer metabolik etkileri

Ghrelin uygulaması sonrası deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda hipofizden salgılanan adrenokortikotropik hormon (ACTH), prolaktin, folikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinize edici hormon (LH), veya tiroid stimüle edici hormon (TSH) üzerine etki yapmazken GH salgısını arttırdığı gösterilmiştir (62).

2.4. KİTOSAN

➤ Kitin ve Kitosan

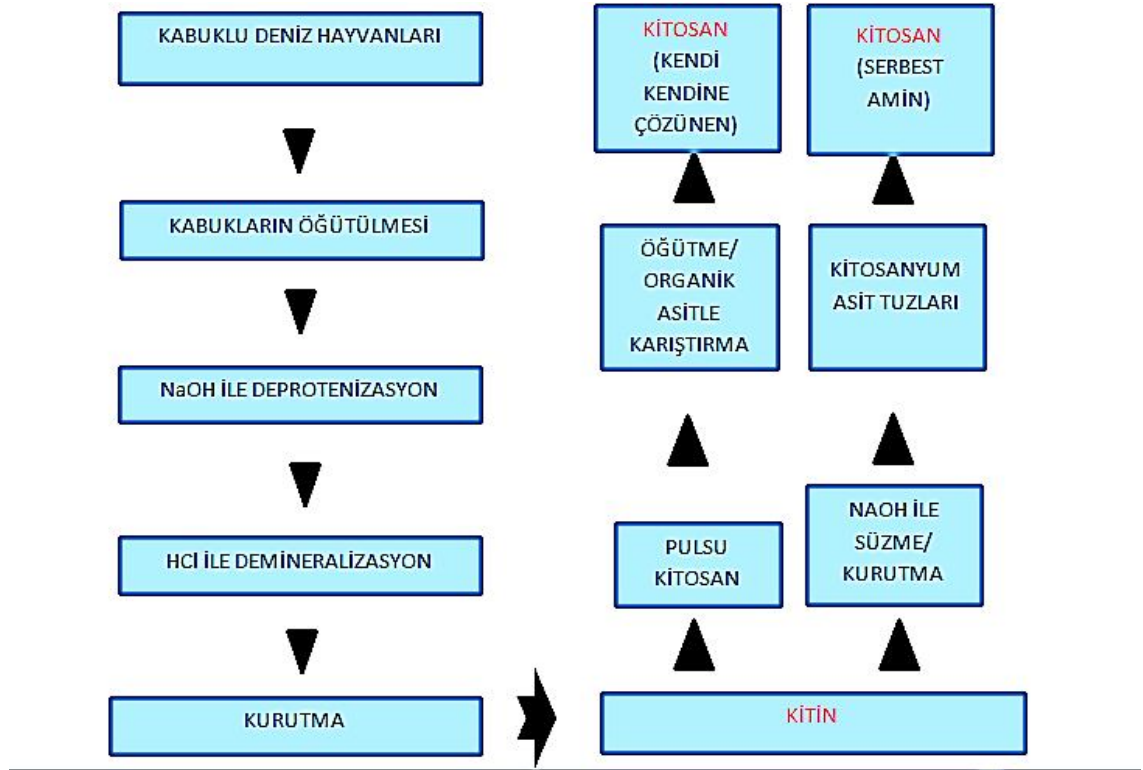
Kitin, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir. Yengeç, karides gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarının yapısında da bulunmaktadır. Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber, bunlar arasında en önemlisi kitosandır.

Kitosan, ilk kez 1811 yılında Henri Bracannot tarafından keşfedilmiştir. Bracannot, mantarlarda bulunan kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış ancak başarılı olamamıştır. 1894’de Hoppe-Seyler, kitini potasyum hidroksit içerisinde 180C’de işleme sokmuş (deasetilasyon) ve asetil içeriği azaltılmış bir ürün olan “kitosan”ı elde etmiştir. 1934 yılında kitosandan film üretimi ve lif eldesi konusunda olmak üzere iki patent alınmıştır. Aynı yıl, Clark ve Smith tarafından çok iyi oryante olmuş kitosan lifi üretimi de başarı ile gerçekleştirilmiştir [88]. Bu çok yönlü polimerlerin yeni uygulama alanlarını bulmaya ve uygulamaya yönelik akademik ve endüstriyel araştırmalar halen kapsamlı ve yoğun bir şekilde devam etmektedir (87-89)

2.4.1. Kitin ve Kitosanın Kimyasal Yapısı

Bir biyopolimer olan kitin, esas olarak poli-[β -(1,4)-2-asetamid-2-deoksi-D-glukopiranoz] yapısında olup çok düşük oranda 2-amino-2-deoksi-glukopiranoz monomerlerini de içermektedir.

Kitosanın kimyasal yapısı, poli-[β -(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz] şeklindedir. Kitin ve kitosan polisakkaridleri, kimyasal olarak selüloza benzemekle birlikte kendi aralarında birtakım farklılıklar göstermektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubu bulunurken, kitinde asetamid (-NHCOCH₃), kitosanda ise amin (-NH₂) grubu bulunmaktadır.



Şekil 3: Kitin ve Kitosanın elde edilmesi

Kabuklu deniz hayvanlarının yapısındaki protein bazı insanlarda alerjiye sebep olabilmektedir. Dolayısıyla, proteinin tamamen uzaklaştırılması özellikle biyomedikal uygulamalarda kullanımı açısından son derece önemlidir. Bu amaçla, kitinin protein kompleksindeki kovalent bağlar deproteinizasyon ile koparılmaktadır.

Deproteinizasyon için çeşitli kimyasal maddeler denenmiştir. Ancak yapılan araştırmalar sonucunda en uygun olan madde NaOH olduğu için deasetilasyon işleminde en çok NaOH çözeltisi kullanılmaktadır. NaOH, kitinin kısmen deasetillenmesine ve biyopolimerin hidrolize olması sonucu molekül ağırlığının azalmasına neden olmaktadır. İşlem herhangi bir sorun olmaksızın yerine getirildiği takdirde kitinin protein içeriği % 1 civarında kalmaktadır. Ayrıca, pepsin, papain, tripsin ve proteaz gibi proteolitik enzimler de protein uzaklaştırma amacıyla kullanılmaktadır. Deproteinizasyon, aynı zamanda kitine belli bir kalite de kazandırmaktadır. Son olarak kitosan % 2'lik asetik asit çözeltisi ile ekstrakte edilip ardından filtre edilmekte, distile suda çöktürülüp kurutulmakta ve depolanmaktadır (90-92).

Kitosan, her tekrarlayan birimdeki primer (C-6), ve sekonder (C-3) hidroksil grupları ile amin (C-2) grubu olmak üzere toplam üç tane reaktif gruba sahiptir. Bu reaktif gruplar kolayca kimyasal modifikasyona uğrayabilmekte ve kitosanın mekanik fiziksel özellikleri ile çözünürlüğünü değiştirmektedir.

2.4.2. Kitosanın Kullanım Alanları

Kitosan günümüzde tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar birçok alanda kullanılabilmektedir. Kitosan çeşitli ülkelerde büyük ölçüde kullanılmasına karşın ülkemizde bu oran düşüktür. Tekstil sanayinde; antimikrobiyal özellik kazandırması, yünlü kumaşlarda çekmezlik sağlaması, reaktif boyamada tuz miktarını azaltması, pamuğun asit boyalarla boyanabilirlik kazanması, antistatik özellik kazandırması, deodorant maddesi olarak kullanılması kullanım alanlarından bazılarıdır. Ayrıca, kitosan ile diğer liflerin karışımından üretilen çeşitli antimikrobiyal lifler de bulunmaktadır.

Kitosan, yara iyileşmesini hızlandırmada da oldukça etkin rol oynamaktadır. Kitin ve kitosan uzun süredir yara iyileştirme özellikleri bakımından araştırılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Kitosan heparin (- yüklü) ile polielektrolit kompleks oluşturma özelliği sayesinde yara tedavisinde etkin rol oynamaktadır. Heparin, kanın pıhtılaşmasını önleyen (antikoagülan) bir

polisakkariddir. Oluşan bu kompleks ve beraberinde hücre büyüme faktörünün de artmasıyla doku gelişimini desteklemektedir. Tavşanlarda yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmada olumlu etkileri gösterilmiştir.(93).

Son yıllarda, kitosandan elde edilen bandajlar önem kazanmıştır. Özellikle Irak savaşı sırasında kullanılan bu bandajlar sayesinde kanamanın durdurulması sağlanarak yaraların hızla iyileştiği ve birçok askerin yaşamını kurtardığı ifade edilmiştir. Bu ürünlerin, kanamayı durdurma hızının yaklaşık 60 ml/dk olduğu ve bandajların, karides yengeç gibi deniz canlılarına karşı alerjik reaksiyon gösteren askerler üzerinde dahi herhangi bir alerjik reaksiyon yaratmadığı literatürde belirtilmiştir (94).

Kitosan, yara iyileşmesinde PMN ve makrofajların aktivasyonu, fibroblast aktivasyonu, sitokin üretimi, dev hücre migrasyonu ve kollajen sentezinin stimülasyonu gibi aşamalarda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, mikroorganizmalara karşı koruyucu etki göstermekte ve doku yapımını stimüle etmektedir. PMN migrasyonu, yara iyileşmesinde önemli adımlardan birisi olup PMN migrasyonunda oluşan sorunlar yara iyileşmesini geciktirmenin yanı sıra birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Kitin ve kitosanın PMN aktivitesini arttırdığı evcil hayvanlarda yapılan denemelerde gösterilmiştir. Kitosanın onarıcı hücrelerin organizasyonunu aktive etmesi nedeniyle hayvanlarda yapılan ön denemelerde büyük açık yaraların iyileştirilmesinde faydalı olduğu bildirilmiştir (95).

Kitosan, hemostatik özellikte bir polimerdir. Hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşmadan bağımsız olup eritrosit hücre membranı ile kitosan arasındaki etkileşmeye bağlıdır. Tavşanların dillerinde yapılan kesiklerde kitosan uygulanan grupta, kitosan içermeyen çözelti uygulanan gruba göre kanama zamanında azalma olduğu gösterilmiştir. Kitosan sülfat ve karboksil grupları eklenmiş kitosan sülfat türevlerinin ise heparine benzer yapı göstermeleri nedeniyle koagülan özellikte olan kitosanın aksine antikoagülant etkisi bulunmaktadır (96-97).

2.4.2.1. Farmasötik Kullanımı

Lokal uygulanan ilaçların kontrollü salınımı, son derece önem taşımaktadır. Biyolojik açıdan uyum gösteren kitosan, çeşitli ilaç formüllerine uygun bir ortam olarak karımıza çıkmaktadır. Çeşitli ilaçlar, kitosan matrisi içerisine (film, mikrokapsül, kaplanmış tablet vb.) yerleştirilebilmektedir. Farklı şekillerde kitosan içerisine hapsedilmiş ilaçlar da bulunmaktadır. Kitosanın serbest amin grubu katyonik özellik kazandırması nedeniyle negatif yüklü ilaçlar, polimerler ve biyoaktif moleküllerle etkileşimini sağlamaktadır. Jel oluşturabilmesi, kopolimer gibi çok çeşitli formlarda bulunması ilaç salım sistemlerinde büyük avantaj sağlamaktadır. Midede tahrişi engelleyen antasit ve antiülser aktivitelere sahip olması da ideal materyal haline getirmektedir (65,98,99).

Kitosan tablet eksipiyantı (seyreltici, doldurucu, dağıtıcı, bağlayıcı, kaydırıcı), ilaç taşıyıcı sistem vezikülü (mikropartiküler sistemler, jel, film) ve absorpsiyon arttırıcı özellikleri ile farmasötik alanda kullanılabilirler.

➤ **Tablet:** Kitosan ve kitosan türevlerinin diğer eksipiyantlarla kombinasyonunu kullanarak kontrollü salınım yapan tablet formülasyonu geliştirilmiştir. İlacın tabletlerden salınım profili sıfırıncı derece kinetiğine uymaktadır. İlacın salınım hızı kullanılan kitosanın miktarına ve tipine bağlıdır.

➤ **Mikropartiküler Sistemler:** Kitosan mikroküreleri implantasyon veya oral taşıyıcı için kontrollü salınım yapan ilaç taşıyıcı sistemleri geniş ölçüde araştırılmıştır. İlaç yükleme etkinliği kitin, kitosan konsantrasyonu arttıkça yükselmiştir.

➤ **Jel:** Jel formülasyonda kullanılan preperatlar ilaç salınımı için pH a duyarlı kitosan/pirolidon kontrollü salınım sistemi ile geliştirilmiştir. İlk olarak asidik ortamda ilaç salınımının artırılması için yapılmış ve bu çalışmalarda, kitosan ve pirolidonun glütaraldehit ile hazırlanması sonucu hidrojeller oluşturulmuştur. Bu hidrojellere salınım çalışması yapılacak preparatlar yüklenerek asidik ortamda (mide) salınımı sağlanmıştır.

Bir ilaç kitosan jel formuna hapsedilerek lokal uygulandığı zaman belli süreler içerisinde dokuda belli miktarlarda serbest ilaç salınımı gerçekleşebilmektedir. Bu da o ilacın gün boyunca defalarca uygulanmasından sadece bir kez uygulanmasını ve gün boyunca etkin miktarlarda ortamda ilaç bulunmasını sağlamaktadır.

Şenel ve ark. yaptıkları çalışmada klorhekzidin glukonat içeren Kitosan-H jellerini seyreltik asetik asitte %1 ve %2 konsantrasyonda hazırlayarak in vitro şartlarda salınımı incelenmiş. Sonucunda konsantrasyonun arttırılarak viskozitesi arttırılan karışımlarda daha yüksek oranda salınım görüldüğü ve topikal uygulamalarda yüksek konsantrasyonlarda kitosan jel kullanılabileceğı gösterilmiştir. Yine Şenel ve ark. yaptığı başka bir çalışmada ise %2 konsantrasyonlarda hazırlanan Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- β) içerikli bileşiklerin oral mukozal membrandan geçişi incelenmiş ve sonucunda mukozal permeabilitenin önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Jel formülasyonu ile hazırlanan preparatların hem salınım kontrolü, hem de permeabilite artışı sayesinde kullanım alanı genişlemiştir.

3- MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik kurulunun 14.08.2014 tarih ve 2014/A-64 sayılı onayı ile İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Çalışmada her biri ortalama 350±30 gr. ağırlığında olan toplam 40 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Sıçanlar, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma merkezinden temin edilmiştir. Hayvanlar sabit oda sıcaklığı ve nem ortamında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık standart laboratuvar şartlarında, uygun kafeslerde barındırılmış ve şehir suyu ve standart yem ile beslenmişlerdir.

Hayvanlara uygulanan cerrahi işlemler steril şartlarda veintramusküler olarak uygulanan 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet, Türkiye) ile genel anestezi altında gerçekleştirildi. Çalışmada GenScript (The Biology CRO) Ghrelin Rat 5mg kullanıldı (Cat. NO: RP10781; Lot NO: P14401312). Kitosan ise SİGMA- ALDRICH düşük ve yüksek molekül ağırlıklı kitosan olarak temin edildi. Sadece kitosan ve ghrelin ilave edilmiş kitosan olmak üzere, 2 grubun jel formu İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı laboratuvarında hazırlandı.

3.2. METOD

Çalışmada kullanılacak denek sayıları yapılan power analiz sonucunda her grupta en az 8 denek olması gerektiği belirlendi.

3.2.1. Deney grupları

- **Grup 1: Yanıklı kontrol grubu (Yanık):** Yanık oluşturularak herhangi bir işlem uygulanmaksızın spontan yara iyileşmesi gözlenen grup.
- **Grup 2: Sistemik Ghrelin grubu (Ghrelin-S) :** Yanık oluşturularak intraperitoneal ghrelin enjeksiyonu yapılan grup.
- **Grup 3: Kitosan Kontrol Grubu (Kitosan):** Yanık oluşturularak yanık alanına sadece kitosan jel uygulanan grup.
- **Grup 4: Lokal ghrelin grubu (Ghrelin-L) :** Yanık oluşturularak yanık alanına, kitosan + ghrelin jel uygulanan grup.

Bu çalışmada sistemik uygulanan Ghrelinin ve lokal uygulanan Ghrelinin yanık yarası iyileşmesine bir etkilerinin olup olmadığını ve varsa etkilerinin birbirinden farkının olup olmadığını saptamayı amaçladık. Sistemik olarak Ghrelin intraperitoneal yolla verildi. Lokal ghrelin uygulaması sağlayabilmek için Ghrelin kitosan jel içine hapsedilerek gün boyu kontrollü salınımı sağlamak amaçlandı. Kitosanın da yara iyileşmesine etkileri olduğunu bildiğimiz için ayrıca bir gruba sadece kitosan jel uygulanarak bir ikinci kontrol grubu oluşturuldu.

3.2.2. Deneysel Çalışma:

Comb'un çoklu yanık modifiye modeli kullanıldı. İşlem öncesi bütün ratlar 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazine kombinasyonunun intramusküler uygulanması ile sedatize edildi. Tüm ratların sırtları tıraşlandı. Yakma işlemine geçilmeden önce bazal değerlerin tespiti için deri örnekleri alındı. Yanık oluşturmak için 325 gr ağırlığında, pirinçten yapılmış, 4 adet 1x 2 cmlik temas

yüzeyi içeren ve temas yüzeylerinin arasında 0,5 cm lik boşlukları bulunan metal plak (Resim 1) kullanıldı.



Resim 1: Yanık modelinde temas yanığı oluşturmak için kullanılan metal plak.

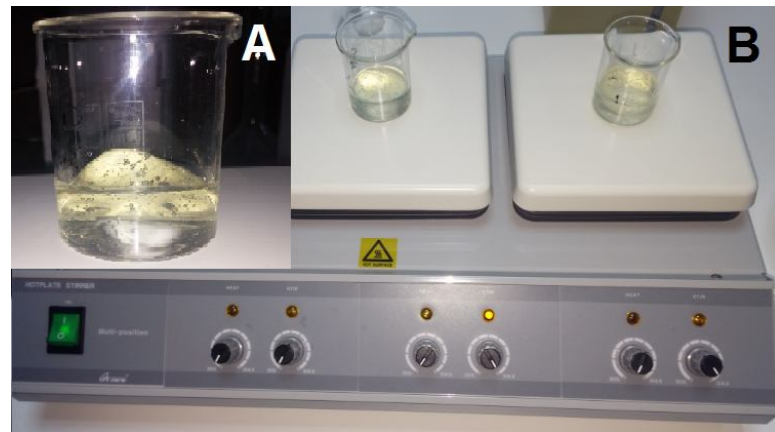
Metal plak kaynamakta olan su içerisinde 5 dk. ısıtıldı. Sırtları tıraşlanmış ratların, sırtlarının bir tarafına metal plak kendi ağırlığı ile 30 saniye temas ettirildi. Yanık oluşturulmadan önce ve yanık oluşturulduktan hemen sonra erken dönem deri örnekleri alındı. Yanık oluşturulan ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Resüsitasyon için 100 ml/kg olacak şekilde subkütan SF enjekte edildi.

Tüm deneklerde yanık yara iyileşmesi 14 gün süresince takip edildi. Gruplara araştırma konusu maddeler dışında herhangi bir ilaç (antibiyotik, analjezik vs.) verilmedi. Tüm deneklerden 7. ve 14. günlerde biyopsi alındı. Biyopsi alımı esnasında tüm deneklere ketamin ve Xylazine anestezisi uygulandı.

➤ **Kontrol grubu:** Yanık oluşturulmadan önce sağlam deriden biyopsi ile örnek alındı.

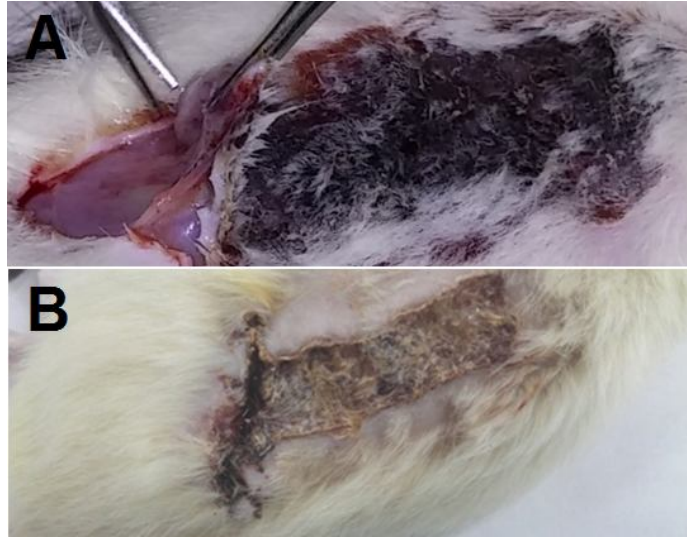
➤ **Grup 1 (Yanık):** Yanık oluşturulduktan sonra herhangi bir tedavi verilmedi. Yanık yarasının spontan iyileşmesi takip edildi. Deneklerden 0, 7. ve 14. günlerde biyopsi alındı.

- **Grup 2 (Ghrelin-S):** Günlük 20 mikrogram/kilogram dozunda ghrelin intraperitoneal yoldan uygulandı. Katı halde +4 derece buzdolabında saklanan ghrelin, günlük olarak serum fizyolojik ile sulandırılarak intraperitoneal enjeksiyona hazır hale getirildi. Bu gruptaki ratların yanık alanları açık bırakılarak yara herhangi bir lokal medikasyon uygulanmadı. Deneklerden 0,7. ve 14. günlerde biyopsi alındı.
- **Grup 3 (Kitosan):** Kitosanın jel %2 konsantrasyonunda günlük olarak hazırlandı (Resim 2A). Kitosan % 1, %1,5 ve %2 oranlarında hazırlanarak ön çalışması yapıldı ve uygulama sonrası yara üzerinde kalması açısından en uygun yoğunluğun %2 jel formu olduğu görüldüğünden, çalışmada %2 oranında hazırlanmış kitosan jel kullanıldı. Yara yerine 1 ml kitosan jel uygulandıktan sonra üzeri açık bırakıldı. Deneklerden 0, 7. ve 14. günlerde biyopsi alındı.
- **Grup 4 (Ghrelin-L):** Ghrelinin lokal etkisini göstermek için 20 µg/kg dozda ghrelin uygulandı. Ghrelinin lokal uygulanabilirliği ve doz kontrolü için kitosan ile jel formu kullanıldı. Kitosan-Ghrelin jel kombinasyonu günlük hazırlandı (Resim 2B). Yara yerinin tamamında ince bir film tabaka oluşturabilecek miktar olan 1 ml jel yara uygulandı. Uygulama sonrası yara açık bırakıldı. Deneklerden 0, 7. ve 14. günlerde biyopsi alındı.



Resim 2: A: Kitosanın jel formüle hali. **B:** Ghrelinli ve ghrelinsiz kitosanın eş zamanlı olarak manyetik karıştırıcıda hazırlanması.

Deneyin 0. ve 7. ve 14.gününde yanık alanının 1/4 lük kısmına denk olacak şekilde yaklaşık 2 cm² lik biyopsi bütün deneklerden alındı. Biyopsi alınan yerler 4/0 vicril ile suture edildi (Resim 3B). 14. Günde ise yanık alanın tamamı cerrahi sınırdaki sağlam deri içerecek şekilde eksize edildi. Alınan örnekler 2 parçaya bölündü. Histolojik incelemeler için dokular %10 formaldehit solüsyonu içinde saklandı. HP ölçümü için alüminyum folyoya sarılarak sıvı nitrojenle donduruldu ve -80 derece derin dondurucuda saklandı.



Resim 3.A 7. gün yanık alanının 1/4 ünü ve sağlam deri sınırı içerecek şekilde biyopsi alınması. **B:** yanık yarasının 14. gün biyopsi alınmadan önceki görüntüsü.

3.2.3. Deri Hidroksiprolin Tayini

Deri dokusunun HP miktarının saptanmasında J.F. Woessner'in modifiye yöntemi kullanıldı (65). Bu yöntemin temel prensibi, doku örneğinin hidroliz işlemi sonucu açığa çıkan HPin, kloramın-T, perklorik asit ve p-dimetilaminobenzaldehit ilavesi ile pH: 6-7'de oluşturduğu rengin optik dansitesinin 557 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçümü ve L-HP kullanılarak hazırlanan solüsyonlardan elde edilen absorban-hidroksiprolin standart eğrisinde HP miktarının saptanmasıdır.

3.2.3.1. Solüsyonların hazırlanması:

Deri örneklerinde HP miktarının Woessner'in modifiyeli yöntemine göre saptanmasında aşağıdaki solüsyonlar kullanılmıştır.

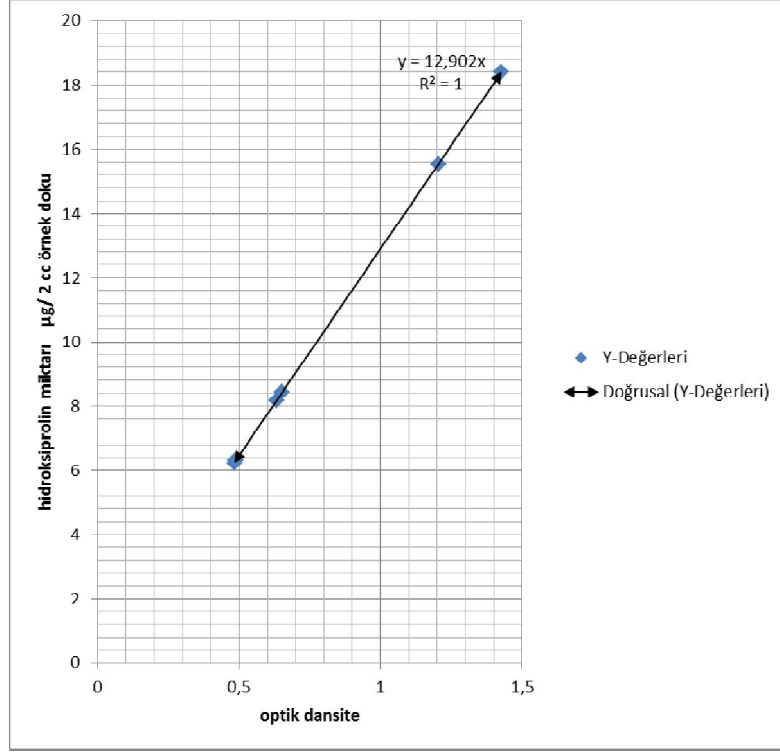
- **Tampon solüsyonu:** Sitrik Asit Monohidrat (50 g), Glasiyal asetik asit (12 ml), Sodyum Asetat Trihidrat (120 g) ve Sodyum Hidroksit (34 g) yaklaşık 800 ml distile suda karıştırılarak çözündürüldü. Önceden kalibre edilmiş pH metre kullanılarak 1 N HCl ve 1 N NaOH ilavesi ile pH: 6.00 'ya ayarlandı. Distile su ile 1000 ml ye tamamlandı. Hazırlanan tampon solüsyonu sıvı tolüen altında, buzdolabında muhafaza edildi.
- **Metil Red İndikatörü:** 2 mg Metil Red, 100 ml distile suda çözündürülerek %0.02 lik solüsyon hazırlandı. Solüsyon ışığa hassas olduğu için alüminyum folyo ile kapatılmış erlen içinde buzdolabında saklandı.
- **Kloramin-T:** Solüsyon günlük hazırlandı. 0.05 M solüsyon hazırlamak için 1.138 g kloramin-T, 20 ml distile su içerisinde çözündürülüp, içerisine 30 ml Metil sellosolve ve 50 ml Tampon solüsyonu ilave edildi.
- **Perklorik asit (PA):** 3.15 M PA solüsyonu hazırlamak için %70'lik perklorik asitten 27 ml alınarak distile su ile 100 ml ye tamamlandı. Ağzı kapaklı cam balon joje içinde oda sıcaklığında saklandı.
- **P-dimetilaminobenzaldehit (p-dAB):** Bu solüsyondan %20 lik hazırlamak için; yaklaşık 80 ml metil sellosolve içinde 20 gr p-dAB çözündürüldü ve solüsyon metil sellosolve ilavesi ile solüsyonun 100 ml tamamlandı. Solüsyon günlük hazırlandı.
- **L-Hidroksiprolin ve standart eğri hazırlanması:** Standart eğriyi oluşturmak amacıyla kullanılacak solüsyonların her birisinde 1,3, ve 5 mikrogram HP olacak şekilde stok solüsyonlar hazırlandı.

3.2.3.2. Hidroksiprolin konsantrasyonlarının belirlenmesi:

Ratlardan alınan deri örnekleri tartılarak vakum kapaklı pyrex tüplere alındı. Dokuların üzerine 2 ml 6 N HCl ilave edilip etüvde 130 °C 'de 3 saat hidrolize edildi. Bu sürenin sonunda tüplerin kapağı açılarak soğutuldu. Tüplerin içerisindeki hidrolizat beherlere alındı. Tüpler distile su ile çalkalanarak beherlerdeki solüsyonlara eklendi. Her behere birkaç damla Metil Red indikatörü ilave edilip karıştırıldı. Solüsyon pembe tonlarında renk aldıktan sonra pH metre ile kontrol edilerek, solüsyon NaOH ve HCl kullanılarak pH'ı 6-7 arasında olacak şekilde ayarlandı.

Solüsyonların pH değerleri 6-7 arasında ayarlandıktan sonra hacimleri ölçüldü. Her solüsyondan 2 ml örnek alınarak içerisine 1 ml Kloramin-T ilave edildi, vorteks ile karıştırılıp 20 dakika bekletildi. Tüplerdeki sıralama korunarak 1 ml perklorik asit ilave edildi, ardından vorteks ile karıştırılıp 5 dakika bekledi. Ardından 1 ml p-dimetilaminobenzaldehit eklenerek vorteks ile karıştırıldı.

Örnekler daha sonra 60 °C sıcak su banyosunda 20 dakika bekletildi. Su banyosunun ardından örneklerde içerdikleri HP miktarına göre sarıdan pembeye doğru renk değişiklikleri tanımlandı. Örnek solüsyonlar 5 dk. musluk suyu ile soğutulduktan sonra PG Instruments Limited T60 U model spektrofotometre cihazında 557 dalga boyunda okunarak optik dansiteleri belirlendi. İlk önce stok solüsyonlarından elde edilen veriler yardımı ile optik dansite-hidroksiprolin miktarı ilişkisini gösteren grafik çizildi. Sonra elde edilen diğer veriler optik dansite-hidroksiprolin miktarı standart eğrisinde (grafik 1) yerine konularak 2 ml örnek içerisindeki HP miktarının karşılık geldiği değerler bulundu. Tüm örnekler için aynı işlemler uygulanarak grupların 0,7. ve 14. gün yanık örnekleri ile sağlam deri örneği için sonuçlar hesaplandı.



Grafik 1: Optik dansite-hidroksiprolin miktarı

3.2.4. Histopatolojik İnceleme:

Histopatolojik incelemeler için alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit edilen dokulara rutin doku takip işlemleri uygulandı ve doku örnekleri parafin bloklar içine gömüldü. Hazırlanan bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen- Eozin boya metodu ile boyandı. Kesitler Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz sistemi kullanılarak incelendi ve fotoğraflandı.

Kesitler; epidermis ve dermis tabakalarında nekroz, MNHI, hemoraji ve vasküler konjesyon yönünden incelendi. Kesitler değişikliklerin histopatolojik ciddiyetine göre; yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Her bir preparatın skorlaması yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızın istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows version 17.0 yazılımı kullanıldı. Nicel değişkenlerin tanımlanmasında Aritmetik Ortalama ($\bar{X}$) $\pm$ Standart Sapma (SD) ve Median (Min-Max) ölçütleri kullanıldı.

Değişkenlere ilişkin verilerin normal dağılım göstermediği Shapiro Wilk testi ile saptandı ($p>0,05$). Grupların zamana göre değişimi Wilcoxon testi ile incelendi. Grupların kendi içinde karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans Analizi, Conover testi ve Mann Whitney U testi kullanıldı. $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL SONUÇLAR

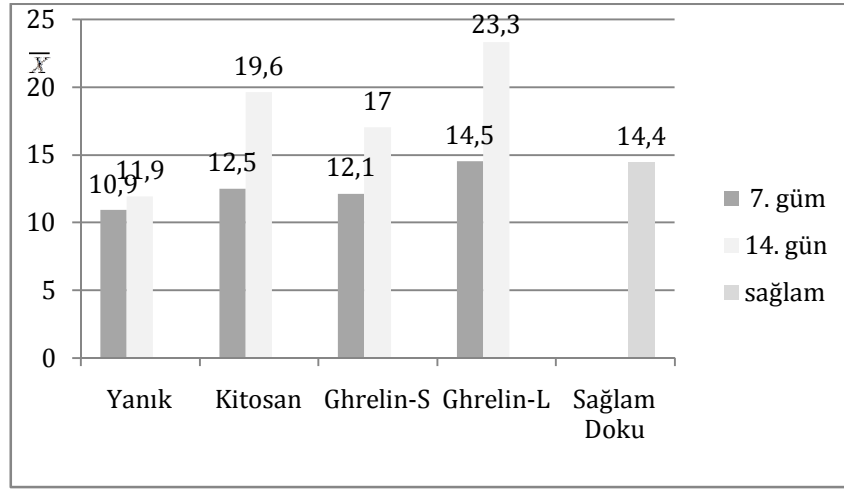
4.1.1. Doku Hidroksiprolin Düzeyleri

Tüm gruplardan 0, 7. ve 14. günlerde alınan deri biyopsilerindeki hidroksiprolin miktarları ölçülerek sonuçları gruplara göre tablo 3 de gösterilmiştir.

Tablo 3: Deneklerin 0, 7 ve 14. günde deri örneklerinde ölçülen hidroksiprolin miktarları. $\bar{X}$:ortalama; SD: standart sapma; P^a her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 7. günde karşılaştırılması; P^b Her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 14. günde karşılaştırılması.

HP (µg/mg)	0. Gün		7. gün			14. gün		
	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	P ^a	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	P ^b
Yanık (n=8)	14,4 ±5,0	13,5 (9,2-25,1)	10,9 ±4,1	9,2 (7,2-17,9)	0,26	11,9 ±2,9	12,6 (7,6-15,2)	0,480
Kitosan (n=8.)	14,4 ±5,0	13,5 (9,2-25,1)	12,5 ±3,5	12,1 (7,7-17,4)	0,09	19,6 ±5,4	18,3 (13,1-26,6)	0,012*
Ghrelin-S (n=8)	14,4 ±5,0	13,5 (9,2-25,1)	12,1 ±5,1	10,7 (7,4-21,8)	0,26	17,0 ±4,0	16,7 (11,5-24,2)	0,200
Ghrelin-L (n=8)	14,4 ±5,0	13,5 (9,2-25,1)	14,5 ±3,0	13,8 (11,4-20,1)	0,26	23,3 ±10,3	25,61 (9,0-38,4)	0,048*

Yanık yarısından 7. günde alınan biopsilerde ölçülen HP düzeylerinin ortalamaları sırasıyla şöyle bulundu: Yanık grubunda $10.9 \pm 4.1 \mu\text{g}/\text{mg}$ < Ghrelin-S grubunda $12.1 \pm 5.1 \mu\text{g}/\text{mg}$ < Kitosan grubunda $12.5 \pm 3.5 \mu\text{g}/\text{mg}$ < Ghrelin-L grubunda $14.5 \pm 3.0 \mu\text{g}/\text{mg}$. Hidroksiprolin düzeyi sağlam deride ise $14.4 \pm 5 \mu\text{g}/\text{mg}$ bulunmuştur. Sağlam deriye kıyasla Yanık, Kitosan ve Ghrelin-S gruplarında ölçülen HP düzeyleri 7. günde azalmış olmakla beraber bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ghrelin-L grubunda ise HP düzeyleri sağlam deri ile benzer değerlerdedi (Tablo 3).



Grafik 2: Gruplarda hidroksiprolin miktarının 7. ve 14. gün karşılaştırılması.

($\bar{X}$ =hidroksiprolin, $\mu\text{g}/\text{mg}$)

Yanıktan sonraki 14. günde alınan deri örneklerinden ölçülen HP düzeyleri ise sırasıyla şu şekildeydi; Yanık grubunda $11.9 \pm 2.9 \mu\text{g}/\text{mg}$ < Ghrelin-S grubunda $17.0 \pm 4.0 \mu\text{g}/\text{mg}$ < Kitosan grubunda $19.6 \pm 5.4 \mu\text{g}/\text{mg}$ < Ghrelin-L grubunda $23.3 \pm 10.0 \mu\text{g}/\text{mg}$. Doku HP düzeylerinin 14 gündeki değerleri sağlam deri ile kıyaslandığında Kitosan ve Ghrelin-L gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğunu saptadık ($p < 0.05$). Bu iki grubu kendi arasında karşılaştırdığımızda ise her ne kadar lokal Ghrelin uygulaması sonrası deride hidroksiprolin düzeyleri, sadece kitosan uygulamasına göre daha yüksek ölçülmüş olsa da aradaki fark anlamlı değildi.

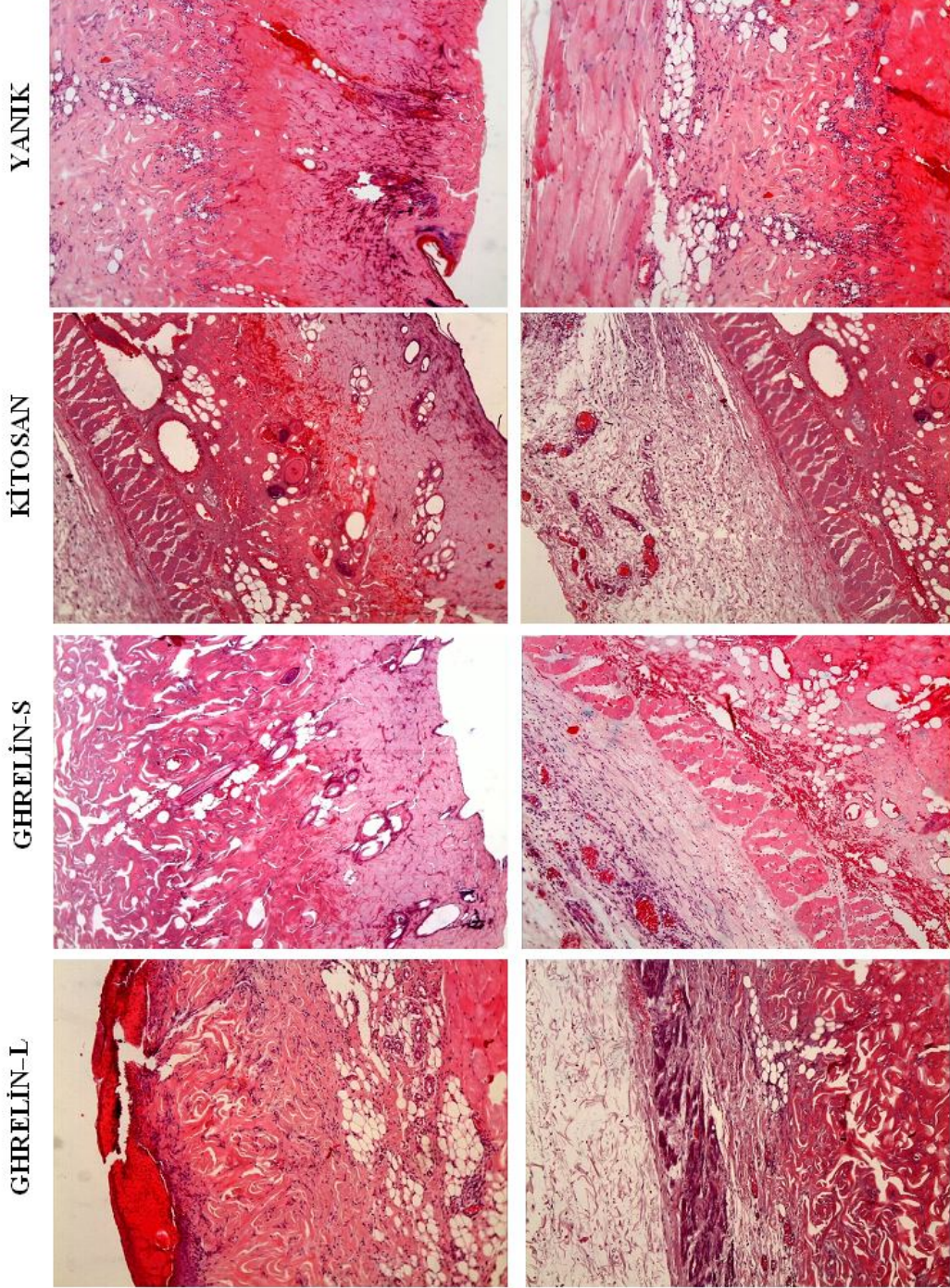
Kitosan, Ghrelin-S ve Ghrelin-L gruplarının HP değerlerini; hiç bir tedavi verilmeksizin doğal iyileşme süreci gerçekleşen yanık grubu ile de karşılaştırdık.

Karşılaştırmada 7. günde hidrokspirolin miktarları açısından doğal iyileşme sürecindeki Yanık grubu ile Ghrelin-L, Ghrelin-S ve Kitosan grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Gruplar 7. günde başlangıç gününde göre kıyaslandığında; gruplarda hidrokspirolin miktarına göre bir değişiklik izlenmedi.

4.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik incelemeler için alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit edilen dokulara rutin doku takip işlemleri uygulandı ve doku örnekleri parafin bloklar içine gömüldü. Hazırlanan bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen- Eozin boya metodu ile boyandı. Kesitler Leica DFC 280 Işık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz sistemi kullanılarak incelendi ve fotoğraflandı Resim 9 ve 10)

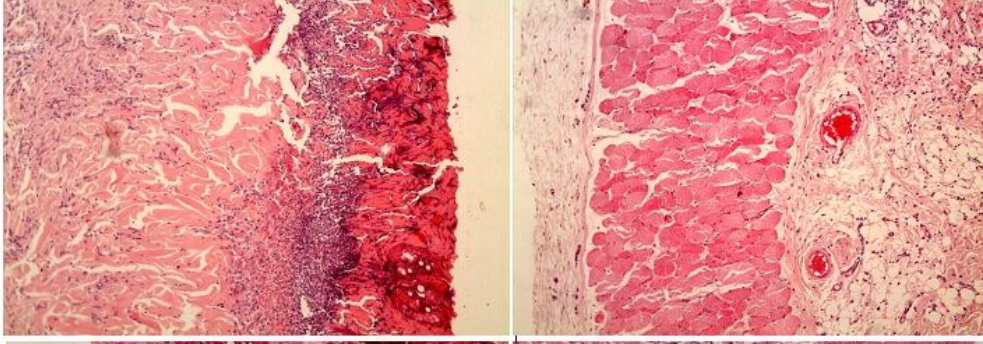
7. GÜN



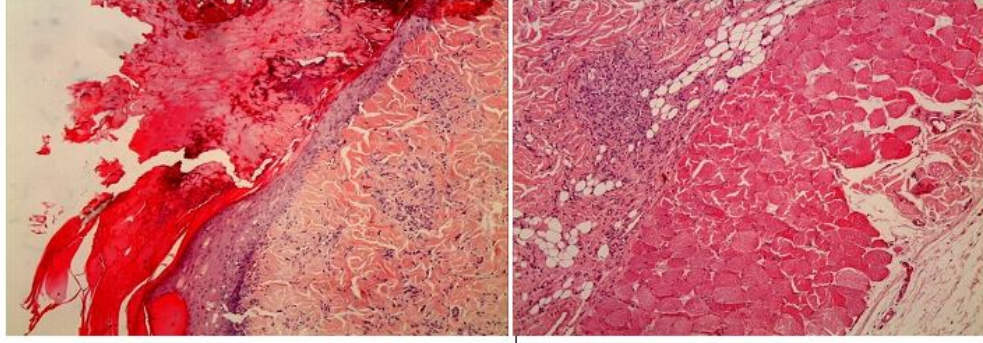
Resim 4: Tüm grupların 7. gündeki histopatolojik görünüşleri. 7. Günde tüm gruplarda epidermis ve dermis tabakalarında nekrotik görünüm olduğu, Ghrelin-L grubunda ise bu görünümün azaldığı tespit edildi. Kitosan ve Ghrelin-S gruplarında yoğun hemoraji olduğu, yanık ve Ghrelin-L gruplarında da yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu gözlemlendi. H-E; X10.

14. GÜN

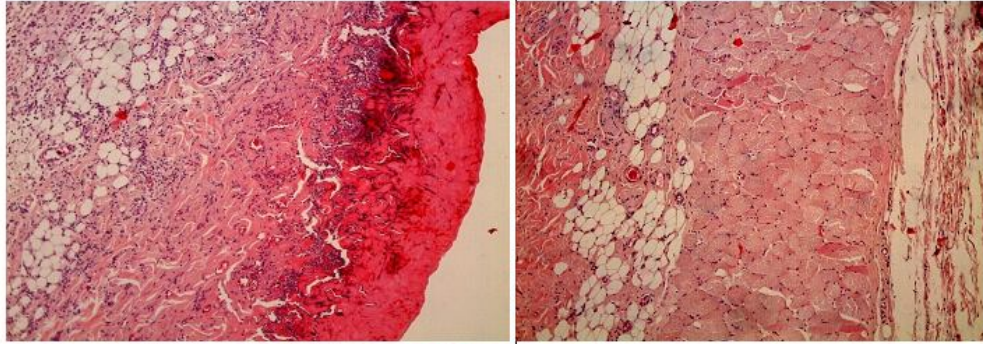
YANIK



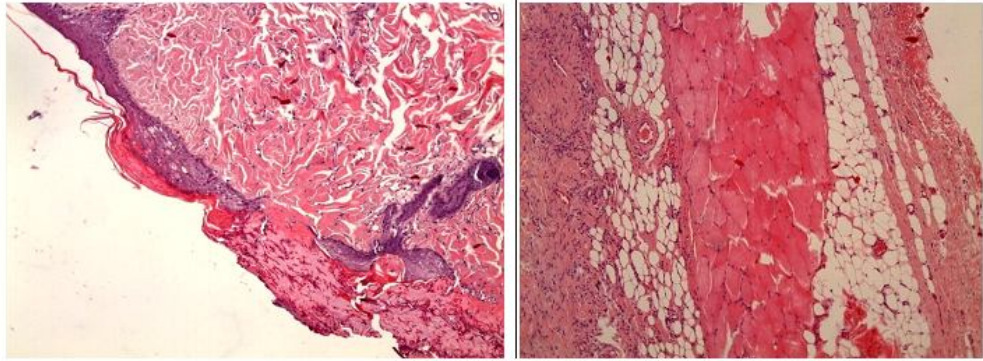
KİTOSAN



GHRELİN S



GHRELİN L



Resim 5: Tüm grupların 14. gündeki histopatolojik görünüşleri.

14. günde tüm gruplarda epidermis ve dermis tabakalarında nekrotik görünümün devam ettiği, Ghrelin-L grubunda ise belirgin derecede azaldığı gözlemlendi, Yanık ve kitosan gruplarında yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu, yanık grubunda vasküler konjesyon görünümü olduğu izlenmektedir. H-E; X10.

4.2.1. Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu:

Deneklerden 7. ve 14. günlerde alınan deri biyopsileri histopatolojik olarak incelendi. Epidermis ve dermis tabakalarında mononükleer hücre infiltrasyon yoğunluğu (MNHİ) skorlandı. Kesitlerde şiddetli MNHİ varsa 3, orta derecede MNHİ varsa 2, hafif derecede MNHİ varsa 1 puan verildi. MNHİ yoksa 0 puan verildi. Elde edilen skorlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Tablo 4: Deneklerin 0,7 ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde MNHİ skorları. ($\bar{X}$: ortalama; SD: standart sapma; P^a her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 7. günde karşılaştırılması; P^b Her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 14. günde karşılaştırılması)

MNHİ Skorları	0. Gün		7. gün			14. gün		
	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	P ^a	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	P ^b
Yanık (n=8)	0±0	0 (0-0)	1,87 ±0,3	2 (1-2)	0,007 *	2,37 ±0,51	2 (2-3)	0,009 *
Kitosan (n=8.)	0±0	0 (0-0)	1,37 ±0,5	1 (1-2)	0,009 *	2,75 ±0,46	3 (2-3)	0,008 *
Ghrelin-S (n=8)	0±0	0 (0-0)	2,12 ±0,35	2 (2-3)	0,009 *	2,37 ±0,51	2 (2-3)	0,009 *
Ghrelin-L (n=8)	0±0	0 (0-0)	1,25 ±0,46	1 (1-2)	0,008 *	0,50 ±0,53	0,5 (0-1)	0,046 *

Gruplar başlangıç değerlerine göre kıyaslandığında hem 7. günde, hem de 14. günde tüm gruplarda MNHİ'unda artış olduğu izlendi. MNHİ'undaki bu artışın Ghrelin-L grubu ile Yanık grubu kıyaslandığında; yanık grubunda daha fazla olduğu görüldü. Yanık grubu ile Kitosan grubu karşılaştırıldığında yine yanık grubunda MNHİ unun daha fazla olduğu görüldü.(Resim 4,5) Ghrelin-S grubunun da MNHİ skorları hem Ghrelin-L hem Kitosan grubunun MNHİ skorlarından yüksekti (p=0,030). Yanık grubu ile Ghrelin-S grubunun skorları benzer bulundu. Kitosan grubu ile Ghrelin-L grubu arasındaki farkda istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4).

Sonuç olarak lokal ghrelin uygulanan Ghrelin-L grubunda ve kitosan grubunda 7. Günde MNHİ skorları daha düşük bulundu. Sistemik Ghrelin uygulamasında ise MNHİ yüksek bulundu.

Gruplar arası MNHİ 14. gündeki skorları değerlendirildiğinde Ghrelin-L grubunda diğer gruplara göre daha düşük düzeyde olduğu izlendi ($p=0,0001$). Yanık, Kitosan ve Ghrelin-S grupları arasında 14. günde fark izlenmedi.

4.2.2. Nekroz

Deri biyopsilerinin nekroz skorları tablo 5 de özetlenmiştir. Nekroz skorlaması şu şekilde yapıldı; Kesitlerde şiddetli nekroz varsa 3, orta derecede nekroz varsa 2, hafif derecede nekroz varsa 1 puan verildi. Nekroz yoksa 0 puan verildi. Elde edilen skorlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Tablo 5: Deneklerden 0,7 ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde nekroz skorları. ($\bar{X}$:ortalama; SD: standart sapma; P^a her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 7. günde karşılaştırılması; P^b Her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 14. günde karşılaştırılması.)

Nekroz Skorları	1. Gün		7. gün			14. gün		
	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	P^a	$\bar{X}$ ± SD	Median (Min-max)	P^b
Yanık (n=8)	3±0	3 (3-3)	2,75 ±0,46	3 (2-3)	0,157	2,87 ±0,35	3 (2-3)	0,317
Kitosan (n=8.)	3±0	3 (3-3)	2,62 ±0,51	3 (2-3)	0,083	2,37 ±0,51	2 (2-3)	0,025 *
Ghrelin-S (n=8)	3±0	3 (3-3)	2,62 ±0,51	3 (2-3)	0,083	2,25 ±0,46	2 (2-3)	0,014 *
Ghrelin-L (n=8)	3±0	3 (3-3)	2,12 ±0,35	2 (2-3)	0,008 *	2,00 ±0,75	2 (1-3)	0,023 *

Yedinci günde sadece Ghrelin-L grubunda nekrozda azalma izlenirken diğer gruplarda nekroz skorları hala yüksek bulundu (Tablo 5).Gruplar 14. gün nekroz açısından incelendiğinde Kitosan, Ghrelin-S ve Ghrelin-L gruplarında 0. Güne göre nekrozda azalma olduğu görüldü (Resim 4,5). Kitosan, Ghrelin-S ve Ghrelin-L gruplarının 14. gündeki nekroz skorları birbirleri ile kıyaslandığında; hepsinde aynı düzeyde bir azalma olduğu izlendi. İstatistiksel olarak gruplar arasında fark izlenmedi.

4.2.3. Hemoraji ve Konjesyon:

Yedinci ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik olarak epidermis ve dermis tabakalarında hemoraji ve konjesyon miktarı açısından incelendi. Kesitlerde şiddetli hemoraji - konjesyon varsa 3, orta derecede hemoraji-konjesyon varsa 2, hafif derecede hemoraji-konjesyon varsa 1 puan verilerek skorlandı. Hemoraji- konjesyon yoksa 0 puan verildi. Elde edilen skorlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 6).

Tablo 6:Deneklerden 0,7 ve 14. günde alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde Hemoraji ve Konjesyon skorları. ($\bar{X}$:ortalama; SD: standart sapma; P^a her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 7. günde karşılaştırılması; P^b Her bir grubun kendi içinde başlangıca göre 14. günde karşılaştırılması.)

Hemoraji ve Konjesyon Skorları	0. Gün		7. gün			14. gün		
	$\bar{X} \pm SD$	Medin (Min-max)	$\bar{X} \pm SD$	Median (Min-max)	P^a	$\bar{X} \pm SD$	Median (Min-max)	P^b
Yanık (n=8)	0,12 $\pm 0,35$	0 (0-1)	1,25 $\pm 0,46$	1 (1-2)	0,014 *	0,62 $\pm 0,74$	0,5 (0-2)	0,157
Kitosan (n=8.)	0,12 $\pm 0,35$	0 (0-1)	2,25 $\pm 0,46$	2 (2-3)	0,010 *	0,75 $\pm 0,8$	0,5 (0-2)	0,129
Ghrelin-S (n=8)	0,12 $\pm 0,35$	0 (0-1)	2,75 $\pm 0,46$	0 (0-1)	0,008 *	1,50 $\pm 0,53$	1,5 (1-2)	0,009*
Ghrelin-L (n=8)	0,12 $\pm 0,35$	0 (0-1)	0,5 $\pm 0,75$	0 (0-2)	0,180	0,25 $\pm 0,46$	0 (0-2)	0,317

Grupların hemoraji ve konjesyon skorları açısından 0 ile 7. gün kıyaslandığında Yanık, Kitosan ve Ghrelin-S gruplarında hemoraji ve konjesyonda artış olurken Ghrelin-L grubunda hemoraji ve konjesyon skorlarının artmadığı saptandı (Tablo 6).

Yanık ve Kitosan grubunda 7. gün artan hemoraji ve konjesyon 14. günde grubunda başlangıç değerlerine dönerken Ghrelin-S grubunda hâla yüksek seyretmekte olduğu görüldü (Resim 4,5).

Yanık, Kitosan ve Ghrelin-S gruplarında 7. günde artan hemoraji ve konjesyonun gruplar arasında kıyaslanması sonucu Yanık grubunda hemoraji ve konjesyonun Kitosan ve Ghrelin-S gruplarına göre daha az olduğu izlendi. 7. günde Kitosan ve Ghrelin-S grupları arasında fark izlenmedi.

5. TARTIŞMA

Yanık insanın hayatında en sık karşılaştığı travmalardan biridir. Yanık yarasının iyileşmesinde inflamatuvar bir süreç rol oynar. Yanığın fizyopatolojisine çok sayıda kimyasal ve mekanik faktör katkıda bulunur. Yara dokusundan salınan sitokinler sistemik bir yanıtı başlatarak yanık alanına MNHI'nu başlatır. Vasküler geçirgenliğin artması ve interstisyel hidrostatik basınçtaki artışlar, vasküler konjesyon ile beraber ödeme yol açar. Tromboz ve hiperkoagülabilite kan akımını daha da bozar. Oksidan stres endotel hücrelerine zarar verir ve doku kanlanması tehlikeye atar. Bu olayların yanı sıra inflamasyonyanık hasarının ilerlemesindeönemlidir (13,14).

Klinik uygulamadayanıkların tedavisinde genel yaklaşım topikal nemlendirici ve antimikrobiyal ajan içeren pansuman şeklindedir. Yanık yarasının bakımında ve tedavisinde, cerrahi müdahalelere ek olarak birçok tedavi metodları ve materyalleri kullanılmakla birlikte bu konuda arayışlar günümüzde halen devam etmektedir. Biz de bu çalışmada büyüme hormonu salgılatıcı etkileri olan ve ayrıca antiinflamatuvar özellik gösteren ghrelinin yanık yara iyileşmesi üzerine bir etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Ghrelin esas olarak mide mukozasından salınan ve birçok dokuya parakrin ve endokrin etki gösteren bir hormondur. Bilinen en güçlü iştah hormonu olması, yapılan çoğu araştırmaların iştah üzerine yoğunlaşmasına yol açmakla birlikte, yapılan farklı çalışmalarla, ghrelinin endokrin, santral sinir sistemi, üreme (reproduktive etki), kardiyovasküler ve immün sistem dahil çok çeşitli etkileri olduğu görülmüştür.

Ghrelinin proinflamatuvar ve antiinflamatuvar etkisi yanık yarasındaki inflamasyona da etki etmesi ihtimali olduğunu düşündürmektedir. İştah açıcı etkisi ve karbonhidrat metabolizmasını düzenlemesi ile yanıklı hastaların katabolik süreçte artmış enerji ihtiyacının karşılanmasında katkısı olabilir. Kardiyovasküler sistem üzerindeki inotropik etkisi nedeniyle yanıkta doku oksijenizasyonun artırılmasını sağlayabilir. Büyüme hormonu sentezinin artırılması ile yara iyileşmesini hızlandırmasını bekleyebiliriz. Tüm bu spekülatif öngörülerimizi test etmeye çalışmak amacıyla bu çalışmayı planladık. Konu ile ilgili yaptığımız literatür çalışmasında Ghrelinin yanık yara iyileşmesi üzerine bir etkisinin olup olmadığını gösteren yeterli veri olmadığını saptadık.

Ghrelini yanık yarasına uygulanabilecek bir forma nasıl getirebiliriz diye araştırdığımız zaman lokal uygulanabilmesine ve aynı zamanda gün boyu belli dozda serbest ilaç salınmasına izin verecek olan kitosan jel içerisinde hapsedilmesi yönteminin bizim amacımıza en uygun bir yöntem olduğuna karar verdik. Kitosan, jel oluşturabilmesi, kopolimer gibi çok çeşitli formlarda bulunması ilaç salım sistemlerinde büyük avantaj sağlamaktadır. Ghrelinin kitosan ile jel formu günlük hazırlanarak beklemekle preparatın bozulmasının önüne geçildi. Kitosanın bizzat yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olması nedeni ile yanık yaralarına sadece kitosanın uygulandığı bir kontrol grubu da çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda yanık oluşturulan ratlar 4 gruba ayrıldı. Gruplar yanık sonrası herhangi bir tedavi verilmeyen kontrol “Yanık” grubu, intraperitoneal ghrelin verilen “Ghrelin-S” grubu, lokal ghrelin verilen “Ghrelin-L” grubu ve yanık alanlarına kitosan uygulanan “Kitosan” grubu olarak belirlendi. Ghrelinin sistemik olarak uygulanmasında intraperitoneal yol kullanıldı. Lokal ghrelin uygulamasında ise kitosan jel içinde hapsedilmiş ghrelin kullanıldı. Yanık yaralarının iyileşmesini değerlendirmek için dokuda HP düzeylerini ölçtük ve histopatolojik olarak yanık yarasında MNHİ, nekroz, hemoraji ve konjesyonu skorladık.

HP, prolin aminoasitinin hidroksillenmiş formudur. Kollajen sentezinde rol alır. Dokulardaki HP miktarı yeni sentezlenen kollajen miktarını doğrudan göstergesidir.

Bu çalışma bize lokal uygulanan Ghrelinin yanık yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. Biyokimyasal olarak ghrelin-L grubunda 7. günde doku HP düzeylerinin yanık sonrası azaldığı, sistemik Ghrelin, kitosan ve lokal ghrelin uygulamalarında ise sırayla artan değerlerde olduğu saptandı. 7. Günde sağlam deri HP değerlerine en yakın değerler Ghrelin-L grubunda ölçülenlerdi. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Doku HP düzeylerinin 14 gündeki değerleri sağlam deri ile kıyaslandığında Kitosan ve Ghrelin-L gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğunu saptadık ($p < 0.05$). Kitosan ve Ghrelin-L gruplarında 14. Gün HP düzeyleri sırasıyla $19,6 \pm 5,4$ ve $23,3 \pm 10,3$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ olarak ölçtük. Bu iki grubu kendi arasında karşılaştırdığımızda ise her ne kadar lokal Ghrelin uygulaması sonrası deride HP düzeyleri, sadece kitosan uygulamasına göre daha yüksek ölçülmüş olsa da aradaki fark anlamlı değildi.

Ghrelinin HP sentezi üzerindeki etkisi ile ilgili literatürde çelişkili veriler mevcuttur. Bazı çalışmalarda HP sentezini arttırdığı gözlenmiş, bazı çalışmalarda ise aksi iddia edimiştir. Yanık yarasının iyileşmesine kavun ağacı (*Carica papaya*) özütünün etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada daha iyi yara iyileşmesi ile HP artışının birlikte olduğunu gözlemişlerdir (101). Benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada Hindistan ve çevresinde geleneksel yara tedavisinde kullanılan ve zakkumgiller ailesinden olan "*Carissa spinarum* Linn" isimli bitkinin yanık yarası iyileşmesi üzerine etkileri araştırılmış ve olumlu etkisinin olduğu gözlenmiş. Yine bu çalışmada da doku HP düzeylerinin artmış olduğu saptanmış (102).

Ghrelinin Tiyoasetamid ile indüklenmiş kronik karaciğer hasarında oluşan karaciğer fibrozisinde antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği ve karaciğerde HP miktarının azaldığı görülmüştür (103). Bir diğer çalışmada sistemik sklerozlu hastalarda sağlıklı kişilere göre serum ghrelin seviyelerinin anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur. Sistemik sklerozlu hastalardan alınan deri biyopsileri ile fibroblast kültürü oluşturulmuş ve bu fibroblast kültürlerinde kollagen üretimini sağlayan genlerin transkripsiyon miktarlarına

ghrelinin etkisi araştırılmıştır. Kollajen sentezinde önemli rol oynayan genlerde, ghrelin verilen grupta kontrol grubuna göre baskılanma izlenirken doz bağımlı olarak ghrelin verilen grupta kontrol grubuna göre kollajen üretiminde 72. Saatte anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar sistemik sklerozlu hastalarda patogeneze sorumlu olan kollajen tip 1 in fibrozise yol açtığı ve ghrelin etkisi ile tip 1 kollajen sentezinin baskılandığı gösterilmiştir (104). Bu iki çalışmada görüldüğü üzere ghrelin fibrozis ve skleroz ile seyreden ve temelinde kollajen sentezinin artışının rol oynadığı patolojilerde yara iyileşmesine kollajen sentezini azaltarak etki etmektedir.

Kollajen sentezinden sorumlu olan hücreler fibroblastlardır. Fibroblastlar büyüme faktörlerinin etkisi ile ekstrasellüler matriks içinden yaraya doğru göç ederler. Kollajen sentezine 5-7. günde başlarlar ve bu sentez 2-3 haftaya kadar artar. Bizim çalışmamızda da bu bilgiyle uyumlu şekilde doku HP düzeyleri 7. günde sağlam deriyle benzer iken 14 günde artmış olduğunu gördük.

Ghrelin, growth hormon salınımını arttıran ve çoğu etkilerini growth hormon üzerinden gösteren bir hormondur. Growth hormonun yara iyileşmesi üzerine etkisini gözlemek için deri grefti alınan donör bölgelerin iyileşmesi takip edilmiş ve +Growth hormonun donör alanda iyileşmeyi hızlandırdığı görülmüştür (105).

Histopatolojik olarak yanık travmasını takiben dokularda MNHİ gerçekleşmektedir. Bizim çalışmamız göstermiştir ki lokal Ghrelin uygulaması yanık yarasına MNHİ'ünü 7. günde azaltmıştır. Kitosanın da 7. günde benzer şekilde MNHİ'ünü azalttığı gözlenmiştir. Sistemik olarak uygulanan Ghrelin sonrası yara yerinde MNHİ'unun hiçbir tedavi yapılmayan yanık grubundaki ile benzer skorlandığı görülmüştür. Yanık yarası oluşturulduktan sonraki 14. güne gelindiğinde ise sadece lokal ghrelin uygulamasının MNHİ'ünü azalttığı saptanmıştır ($p=0,0001$). Yanık, Kitosan ve Ghrelin-S grupları arasında 14. günde fark izlenmedi.

Yara iyileşmesinde geç inflamasyon döneminde primer rol oynayan hücreler lenfositlerdir. Dolaşımdaki monositler yara içine girdikten sonra

makrofaja dönüşürlerve 48-72 saat içinde yaradaki çoğunluklu hücre grubu haline gelirler. Kompleman, pıhtılaşma bileşenleri, IgG fragmanları, kollajen, elastinin yıkımürünleri ve sitokinler makrofajları kendilerine çekerler. Yetmiş iki saatten sonra Tlenfositleri yaraya girerler. İnterlökin-1 ise IgG ve kompleman ürünleri tarafından yaraya çekilir(39). T lenfositlerin salgıladıkları lenfokinlerden, interferon γnın endotel üzerinde immüniteyi düzenleyici etkisi vardır. Çeşitli lenfokinlerin fibroblast birikimi ve kollajen sentezi üzerine hem uyarıcı hem de engelleyici etkileri vardır(40). İkinci haftadan sonra yara dokusunda inflamasyon, hücresel reaksiyon, lökosit sayısı ve vaskülarite azalmaya başlar. Yara iyileşmesini geciktirecek bir durum söz konusu ise bu süre daha uzar (12).

Ghrelin-S grubunda intraperitoneal uygulanan ghrelin etkisi ile 7. Günde dokuda MNHİ yanık grubundakine benzer şekilde artmıştır. Aynı dönemde kitosan grubunda ve ghrelinin lokal uygulandığı Ghrelin-L grubunda ise MNHİ da fazla bir artış olmamıştır. MNHİndaki bu değişiklikler 14. güne gelindiğinde Ghrelin-L grubundaki mononükleer hücre skorunun tüm diğer gruplardan göre daha düşük olduğu izlenmektedir. Bu sonuç bize Ghrelinin lokal uygulanması durumunda antiinflamatuvar ve proinflamatuvar etkilerinin sistemik uygulamaya göre daha belirgin olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda deride oluşturulan yanık modelinde, yanık oluşturulduktan sonra deride ortaya çıkan değişiklikler incelendiğinde epidermiste ve dermisin bir kısmında oluşan nekroz gösterildi. Nekroz skorlarının Ghrelin-L grubunda yanık sonrası 7. ve 14. günlerde daha az olduğu saptandı. Kitosan ve sistemik Ghrelin gruplarında 7. Gün nekroz skorları tedavisiz yanık grubu ile benzer iken 14. Günde bu gruplarda da yanık grubuna kıyasla nekrozda azalma olduğu izlendi. Bu sonuçlara göre lokal uygulanan ghrelinin sistemik uygulanan ghreline göre dermis ve epidermiste rejenerasyonu daha erken sürede başlattığı görülmektedir.

Yanıkla birlikte hem yanık bölgesinden hem de diğer dokulardan yoğun bir inflamatuvar mediyatör salınımı olur ve bu sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) ile sonuçlanır (13,14). Bu mediyatörler vazokonstrüksiyon ve

vazodilatasyona, kapiller permeabilitede artışa neden olur. Bu artış hem yanık bölgesi hem de uzak organlarda ödem gelişimine neden olurlar. Yaygın ödem yanık ve yanık olmayan bölgelerin Starling güçlerindeki değişikliklere bağlı olarak gelişir (15). Gruplar hemoraji ve konjesyon açısından 0 ile 7. gün kıyaslandığında Yanık, Kitosan ve Ghrelin-S gruplarında hemoraji ve konjesyonda artış olurken Ghrelin-L grubunda ödem ve konjesyon olmadığı izlendi. Yanık ve Kitosan grubunda 7. gün artan hemoraji ve konjesyon skorlarının 14. günde başlangıç değerlerine döndüğü gözlemlendi. Ghrelin-S grubunda ise hâlâ yüksek olduğu görüldü.

Çalışmamızda, Ghrelin-L grubunda yanık sonrası ilk andan itibaren lokal olarak uygulanan ghrelinin yara dokusunda bulunan inflamasyondan sorumlu hücreler üzerine antiinflamatuvar etkisi ile ilerleyen günlerde ödeme yol açacak mekanizmaları engellediği ve bu sayede diğer gruplara göre konjesyon ve ödemin düşük düzeylerde kaldığını düşündük. Ödemden sorumlu tutulan mediatörlerin çoğu venül endotel bütünlüğünü etkileyerek yanık sonrası permeabilite artışına yol açarlar. Başlıcaları histamin, kininler, vazoaktif aminler, prostaglandinler, lökotrienler, aktive komplemanlar, platelet aktive edici faktör (PAF) ve katekolaminlerdir. Düşük interstisyel basınç nedeniyle yanık bölgede ödem daha fazladır. Hafif yanıklarda maksimum ödem 8-12 saatte gelişirken, geniş yanıklarda maksimum ödem 12-24 saatte gelişir (13,14).

Ghrelinin proinflamatuvar ve antiinflamatuvar etkilerini göstermek adına yapılan çalışmalarda immun sistemden sorumlu olan nötrofiller, lenfositler ve makrofajlar üzerinde ghrelinin etki ettiği GHRH-R reseptörlerinin olduğu gösterilmiştir (106,107). Ghrelin endotel hücresinden TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir (107-109).

Yanıktan hemen sonra biriken trombositlerden salınan serotonin, hem doğrudan hem de norepinefrin, histamin, anjiyotensin II ve bazı eikozanoidlerin mikrovasküler düzeydeki vazokonstriktör etkisini arttırarak dolaylı yoldan pulmoner vasküler dirençte artmaya yol açar (17). Araşidonik asit metabolizmasının vazoaktif ürünleri olan eikozanoidler, yanık bölgeden salınırlar ve yanık ödeminde rol alırlar. Bunlar vasküler permeabiliteyi doğrudan

arttırmazlar, PgE2 ve prostasiklin (Pgl2) gibi vazodilatatör prostaglandinlerin seviyesini arttırarak yanık dokuda arteryal kan akımını ve hasarlı mikrosirkülasyonun hidrostatik basıncını arttıırırlar ve bu da ödemi belirginleştirir.

Ghrelinin kardiyovaskuler sistem üzerinde GHRH-R reseptörleri bulunduğu ve growth hormon etkisinden bağımsız olarak direk olarak da kardiyovaskuler sistem üzerinde etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Ghrelinin ekzojen olarak uygulanması sonrası periferel damarlarda dilatasyon, koroner arterlerde vazokonstriksiyon, endotel hücrelerinde aktivite artışı ve miyokard hücrelerinde apoptozisin engellenmesi gibi kardiyoprotektif etkileri gösterilmiştir(142). Çalışmamızda Ghrelin-S grubunda sistemik olarak uyguladığımız ghrelinin periferel damarlarda vazodilatasyon etkisi göstermesi sonucu yara dokusunda erken dönemde ödemin ve konjesyonun oluşması beklenen bir durumdur. İyileşme süreci devam edip 14. güne gelindiğinde ghrelinin antiinflamatuvar ve proinflamatuvar etkileri Ghrelin-S grubunda da etkin olmaya başlayıp Yanık grubuna göre anlamlı ifade edilebilecek düzeyde konjesyon ve ödemde azalmaya neden olduğu iddia edilebilir.

Kitosan ve yanık yarası iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda kitosanın yara iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir(110). Yaptığımız çalışmada kitosanın grubunun sonuçlarını yanık grubu ile kıyasladığımızda 7. günde MNHI ve 7. günde hemoraji-konjesyon açısından, 14. günde HP miktarı bakımından farklılıkların olduğu bulundu. Bu parametrelerde 14. günde yanık grubu ile kitosan grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.

Kitosan ve Ghrelin-L grubu kıyaslandığında HP sentezinde 7. ve 14. gündeki etkileri benzer olup her ikisinde de 14. günde HP sentezinde bir artış izlendi. MNHI açısından gruplar kıyaslandığında ise 14. günde lokal ghrelinin kitosana göre daha etkin bir antiinflamatuvar etki gösterdiği izlendi. Ghrelin-L grubunda lokal uygulanan ghrelinin 7. günde epitel yenilenmesini arttırarak yanık ve kitosan kontrol gruplarına göre nekrozu düzelttiği izlenirken kitosan ve sistemik verilen ghrelinin ancak 14. günde epitelizasyonu lokal uygulanan ghrelin grubundaki benzer düzeylere getirdiği görüldü. Ayrıca diğeri 3 grupta 7. günde izlenen hemoraji ve konjesyon lokal uygulanan ghrelin grubunda izlenmedi.

Sonuç olarak Ghrelinin yanık yarası iyileşmesi üzerine etkisini araştırdığımız bu çalışma bize açıkça göstermiştir ki lokal uygulanan ghrelin yanık yarasında HP miktarını arttırmakta, histolojik olarak MNHİ'ünü azaltmakta, nekrozu azaltmakta ve hemoraji ve ödemi azaltmaktadır. Sistemik uygulanan ghreline nazaran yara iyileşmesi üzerinde daha olumlu etkileri olmuştur. Bu etkilerinin bir kısmı ilaç taşıyıcı sistem olarak kullandığımız kitosan jel formuna bağlı olduğunu düşündük. Lokal Ghrelin uygulaması sonucu elde ettiğimiz olumlu etkilerin tek başına kitosan uygulanması veya tek başına ghrelin uygulanmasından elde edilen olumlu etkilerden daha fazla olduğunu saptadık.

6- SONUÇLAR

- 1-** Lokal uygulanan ghrelinin ve kitosanın hidroksiprolin sentezini arttırarak yara iyileşmesini olumlu etkilediğisaptadık.
- 2-** Hidroksiprolin sentezinde lokal uygulanan ghrelinin, intraperitoneal uygulanan ghrelinden daha etkili olduğunu gözledik.
- 3-** Lokal uygulanan ghrelinhem 7. Hem de 14. Günlerde yanık yarasında MNHI'nu azalttı.
- 4-** Lokal ghrelin uygulaması yanık yarasında nekrozu azalttı.
- 5-** İntraperitoneal uygulanan ghrelin hemoraji ve konjesyonda artışa neden oldu.
- 6-** Lokal uygulanan ghrelin yanık yarasında ödem ve hemorajiyi önledi.
- 7.** Tüm parametreler (hidroksiprolin, MNHI, nekroz, hemoraji ve konjesyon) birlikte değerlendirildiğinde lokal uygulanan ghrelinin diğer gruplara göre yara iyileşmesi üzerine daha etkili olduğu izlendi.
- 8-** Lokal Kitosan uygulamasının da yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi oldu.

7. ÖZET

Amaç: Ghrelin gastrointestinal sistem tarafından üretilen, santral etkiile yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan büyüme hormonu (GH), salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkileyen peptid yapıda bir hormondur.

Yanık travmaları tüm zamanlarda mortaliteyi ve morbiditeyi etkileyen önemli bir sorundur. Bu çalışmada ghrelinin deneysel yanık modelinde yara iyileşmesi üzerine sistemik ve lokal etkisini görmeyi ve bu etkileri kıyaslamayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Kırk adet Sprague Dawley sıçan 4 gruba ayrıldı. Yanık grubunda sadece yanık oluşturulan ratlara herhangi bir tedavi verilmedi. Ghrelin-S grubunda yanık oluşturulan ratlara intraperitoneal olarak 20 mg/kg/gün ghrelin verildi. Kitosan grubunda yanık oluşturulan ratlarda yanık yarasına günde bir kez kitosan jel sürüldü. Ghrelin-L grubunda kitosaniçine hapsedilen ghrelin lokal olarak yanık alanına uygulandı. Yanık alanlardan 7. Ve 14. günde biyopsi alındı. 14. gün ratlar sakrifiye edildi. Doku örneklerinde biyokimyasal olarak hidroksprolin düzeyi ölçüldü. Histopatolojik olarak mononükleer hücre infiltrasyonu, epidermal ve dermal nekroz ve hemoraji-konjesyon değerlendirildi.

Bulgular: Ghrelin-L grubunda HP düzeylerinin kontrole göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı. Histopatolojik olarak mononükleer hücre infiltrasyonu, nekroz ve hemoraji-ödem skorlarının daha düşük olduğu saptandı.

Kitosan grubunda da yara iyileşmesi Ghrelin-L grubundaki kadar olmasa da olumlu etkilenmiş bulundu. Sistemik Ghrelinin yara iyileşmesine etkisinin lokal uygulamadan az olduğu saptandı.

Sonuç: Ghrelin yanık yara iyileşmesini olumlu yönde etkilemiştir. Lokal ghrelin uygulaması deneysel yanık modelinde yara iyileşmesi üzerinde sistemik uygulamaya kıyasla daha etkin bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, hidroksiprolin, yanık, kitosan

8. SUMMARY

Purpose: Ghrelin is a peptide hormone which produced by gastrointestinal system has effects on eating behavior and weight regulation; growth hormone (GH) secretion, nutrition, gastric acid secretion, gastric motility and cell proliferation.

Burn injury is a major problem affecting mortality and morbidity. In this study, we aimed to investigate the effects of systemic and locally administered ghrelin on wound healing.

Materials and Methods: Forty Sprague Dawley rats were divided into 4 groups. In Burn group, burned rats did not receive any treatment. In Ghrelin-S group, Ghrelin was administered intraperitoneally 20 mg/kg/day to burned rats. In Chitosan group, chitosan gel was applied once a day to the burn wound on rats. In ghrelin-L group, ghrelin with chitosan (gel form of ghrelin) was applied once a day to the burn wound on rats. Biopsy was taken at the 7th and 14th days. The rats were sacrificed on the 14th day. Hydroxyproline level in tissue samples was measured biochemically. In the histopathological examination, mononuclear cell infiltration, epidermal and dermal necrosis and haemorrhage - congestion was evaluated.

Results: In the Ghrelin-L group, HP levels were found to be significantly higher than the control group and also mononuclear cell infiltration necrosis and hemorrhage-edema scores were found to be lower than the control group. ($p < 0,05$) Chitosan group also found a positive effect on wound healing

but not as effective as the Ghrelin-L group. Systemic ghrelin application has less effect on burn wound healing compared with local application.

Conclusion: Ghrelin has a positive effect on burn wound healing. Local administration of ghrelin have been found to be more effective than systemic administration in experimental burn model.

Key words: Ghrelin, hydroxyproline, burns, chitosan

9- KAYNAKLAR

1. Breederveld RS, Tuinebreijer WE. Recombinant human growth hormone for treating burns and donor sites (Review) , Cochrane Database Syst Rev. (2014) 5;9:CD008990
2. Harrison LE, Port JL, Hochwald S, Blumberg D, Burt M. Perioperative growth hormone improves wound healing and immunologic function in rats receiving adriamycin. J Surg Res (1995); 58: 646-650
3. Şehirli Ö. Ghrelin improves burn-induced multiple organ injury by depressing neutrophil infiltration and the release of pro-inflammatory cytokines peptides
29 (2008)1231–1240
4. Gray H. Anatomy of the human body Philadelphia: Lea & Febiger, (1918), p:1062-1070
5. Ovalle K., Nahirney, P. Netter's Essential Histology (S. Müftüoğlu, F. Kaymaz ve P. Atilla, Çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri (2009).
6. David H. Song, Peter C. Neligan Plastic Surgery: Lower Extremity, Trunk and Burns (2012) Volume Four. Elsevier Health Sciences
7. Koslowski L. Therapy and prognosis of burns and burn disease-yesterday and today. Medical corps. USA, (1990) 5(2), p: 15-19,
8. Pruitt B.A., Mason A.D. Epidemiological, dermographic and outcome characteristics of burn injury. Total Burn Care, W.B Saunders Comp., England, (1996) p:5-15.
9. Selmanpakoğlu N. Yanıklar ve Tedavileri. (1998) GATA yayınları, Ankara
10. Salisbury R.E. Thermal burns plastic surgery. M.C. Carthy Saunders Comp., England, (1990) p:787-90
11. Ohshima T. Forensic wound examination. Forensic Sci Int (2000); 113:153-64
12. Knight B. The pathology of wounds. In Knight B ed. Forensic Pathology. 2nd ed. New York: Oxford University Press; (1996). pp.133-171
13. Holmes J.H., Heimbach D.M. Burns. Schwartz's principles of surgery, In: Brunicardi FC, eds. 8th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc (2005). p.194-16.
14. Wolf S.E., Herndon D.N., Burns In: Townsend CM, ed. Sabiston textbook of surgery, 16th ed. Philadelphia: WB Saunders Company (2001); p.346-7.
15. Kinsky M.P., Guha S.C., Button B.M., et al. The role of interstitial Starling forces in the pathogenesis of burn edema. J Burn Care Rehabil, (1998) 19:1-9.
16. Santos F.X., Arroyo C., Garcia I., et al. Role of mast cells in the pathogenesis of postburn inflammatory response: Reactive oxygen species as mast cell stimulators. Burns, (2000) 26:145.
17. Zhang X.J., Irtun O., Zheng Y., et al. Methysergide reduces nonnutritive blood flow in normal and scalded skin. Am J Physiol Endocrinol Metab (2000), 278:E452
18. Holliman C.J., Meuleman T.R., Larsen K.R., et al. The effect of ketanserin, a specific serotonin antagonist, on burn shock hemodynamic parameters in a porcine burns model. J Traum, (1983) 23:867-71.

19. Ferrara J.J., Westervelt C.L., Kukuy E.L., et al Burn edema reduction by methysergide is not due to control of regional vasodilation. *J Surg Res*, . (1996) 61:11-6
20. Hahn E.L., Gamelli R.L Prostaglandin E2 synthesis and metabolism in burn injury and trauma. *J Trauma*, (2000) 49:1147
21. Ramzy P.I., Wolf S.E., Irtun O., et al. Gut epithelial apoptosis after severe burn: Effects of gut hypoperfusion. *J Am Coll Surg*, . (2000) 190:281-7.
22. Nwariaku F.E., Sikes P.J., Lightfoot E., et al. Effect of a bradykinin antagonist on the local inflammatory response following thermal injury. *Burns*, (1996) 22:324-7
23. Chappell V.L., LaGrone L., Mileski W.J. Inhibition of leukocytemediated tissue destruction by synthetic fibronectin peptide (Trp9-Tyr). *J Burn Care Rehabil*, (1999) 20:505-10
24. Garcia-Avello A., Lorente J.A., Cesar-Perez J., et al. Degree of hypercoagulability and hyperfibrinolysis is related to organ failure and prognosis after burn trauma. *Thromb Res*(1998), 89:59.
25. Yowler C.J., Fratianno R.B. Current status of burn resuscitation. *Clin Plast Surg*, (2000) 27: 1-10.
26. Townsend Jr. C.M. Burns, Chapter 18, Text Book of Surgery, Sixteenth edition, WB Saunders Company, Philadelphia, (2002) 184-94
27. Cioffi W.G., DeMeules J.E., Gamelli R.L. The effects of burn injury and fluid resuscitation on cardiac function in vitro. *J Trauma*, (1986) 26:638-42
28. Kamolz LP, Kitzinger HB, Andel H, Frey M . The surgical treatment of acute burns. *Eur Surg* (2000);38(6):417-423.
29. Janzekovic Z. Early surgical treatment of the burned surface. *Panminerva Med*. (1972);14(7-8):228-32
30. Vindenes H., Bjerknes R. Activation of polymorphonuclear neutrophilic granulocytes following burn injury: alteration of Fc-receptor and complement receptor expression and of opsonophagocytosis. *J Trauma*, (1994) 36:161.
31. Björk J., Arturson G. Effect of cimetidine, hydrocortisone, superoxide dismutase and catalase on the development of oedema after thermal injury. *Burns*, (1983) 9:249.
32. Barrow RE, Herndon DN. History of treatments of burns. In: Herndon DN (ed), *Total Burn Care* (3rd ed), Saunders Elsevier, Texas, (2007), pp.120-124
33. Young DM. Burn and electric injury. In: Mathes SJ (ed). *Plastic Surgery* (2nd ed). Saunders Elsevier, California, (2006), Vol.1, p. 815-816
34. Witte M.B., Barbul A. General principles of wound healing. *Surg. Clin. North Am*. (1997); 77: 50
35. Lavan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg* (1990);17:463-72.
36. Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W, et al. Vascular endothelium growth factor, surgical delay, and skin flap survival. *Ann Surg* (2004);239:866-73; discussion 73-5.
37. Porras-Reyes BH, Mustoe TA. Wound healing. In: Cohen M (ed). *Mastery of Plastic Surgery*. New York: Little Brown and Company; (1994). 3-13.
38. R.W., Thorne C.H.M., eds: *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 5. edition Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers (1997):3-12 9-28

39. Reinisch JF. The pathophysiology of skin flap circulation. The delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* (1974);54:585-98
40. Barbul A. Immune aspects of wound repair. *Clin Plast Surg* (1990);17:433-42.
41. Krizek TJ, Harries RHC, Robson MC. Biology of tissue injury and repair. In: Georgiade GS, Riefkohl R, Levin LS (eds). *Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery*. Baltimore: Williams&Wilkins ;(1997). 3-9.
42. Champe P.C. Biochemistry Lippicott's Illustrated Reviews (Çeviri) Tokullugil A. *Biyokimya Nobel tıp Kitapevleri* (1997);3: 25-38.
43. Champe P.C. Biochemistry Lippicott's Illustrated Reviews (Çeviri) Tokullugil A. *Biyokimya Nobel tıp Kitapevleri* (1997);3: 25-38.
44. Broughton G., Janis J.E., Attinger C.E. Wound healing: An overview *Plast. Recons. Surg.* (2006), 117; 1S-31S
45. Bergmann I., Loxley R. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline *Ann Chem* (1963);35:1961-65
46. Gül Ü, Şahin M, Tekakça E; Kollajen ped, hidrofilik poliüretan sargı, %1 silver sulfadiazin krem ve gazlı bezin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerin karşılaştırılması; *T. Klin. Dermatoloji*; (1994); 4:15-20
47. Uluç Yiş, Yeşim Öztürk, Benal Büyükgebiz. Ghrelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* (2005); 196-201
48. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth- hormone- acylated peptide from stomach. *Nature* (1999); 402: 656-660
49. Curreri P.W. et al. Dietary requirements of patients with major burns. *J Am Diet Assn* (1974); 65: 415
50. Herndon D.N. et al. Increased mortality with intravenous supplemental feeding in severely burned patients. *J Burn Care Rehabil* (1989); 10(4): 309-313.
51. Dupuytren G., *Lecons orales de clinique chirurgicale faites a' l' Hotel-Dieu de Paris.* (1832) Vol. I: pp 413-516. Vol II:1-80 Bailliére, Paris,
52. Curling T.B. On acute ulceration of the duodenum in cases of burn. *Med Chir Trans London* (1842); 25: 260-281
53. Czaja A.J., McAlhany J.C., Pruitt B.A. Acute gastroduodenal disease after thermal injury. An endoscopic evaluation of incidence and natural history. *N Engl J Med* (1974); 291 (18): 925-929.
54. Tompkins R.G. et al. Significant reductions in mortality for children with burn injuries through the use of prompt eschar excision. *Ann Surg* (1988); 208(5); 577-585
55. Jackson D., Topley E., Cason J.S., Lowbury E.J.C. Primary excision and grafting of larger burns. *Ann Surg* (1960); 152: 167-189.
56. Janzekovic Z. A new concept in the early excision and immediate grafting of burns. *J Trauma* (1970); 10: 1103-1108.
57. Burke J.F. et al. Primary burn excision and immediate grafting: a method shortening illness. *J Trauma* (1974); 14: 389-395.
58. Herndon D.J., Barrow R.E., Rutan R.L., Rutan T.C., Desai M.H. A comparison of conservative versus early excision. *Ann Surg* (1989); 209:547-553.

59. Herndon D.J., Gore D.C., Cole M. et al. Determinants of mortality on pediatric burn patients with greater than 70% full-thickness total body surface area thermal injury treated by early total excision and grafting. *J Trauma* (1987); 27: 208-212.
60. Brouhard B.H., Carjaval H.F., Linares H.A. Burn edema and protein leakage in the rat. I. Relationship to time of injury. *Microvasc Res* (1978); 15: 221-8.
61. Demling R.H., Neumann M. Colloid vs crystalloid: a current perspective. *Intens Crit Care Digest* (1990); 9 (1): 3-6
62. Baxter C.R. Fluid volume and electrolyte changes of the early postburn period. *Clin Plast Surg* (1974;) 1 (4): 693-709
63. Touchette N., Fogle S., Apoptosis: it chimes with mitosis, *JNIH. Res.* (1991)3:75,
64. Kerr J. F. R., Wyllie A. H., Currie A. R., Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics, *Br. J. Cancer*, (1972).26: 239-245,
65. Bellamy C. O, Malcomson R. D., Harrison D. J., Wyllie A. H., Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis, *Cancer Biology* (1995).6: 3-16,
66. Majno G., Torisl A., Apoptosis oncosis and necrosis, *Am. J. Pathol.*, (1995)146: 3-15,
67. Raff M., Cell suicide for beginners, *Nature*, (1998). 396: 119-122,
68. Nagata S., Apoptotic DNA fragmentation, *Exp. Cell. Res.*, (2000).256: 12-18,
69. Cohen J. J., Apoptosis, *Immunol. Today*, (1993)14: 126-130,.
70. Saikumar P., Dong Z., Mikhailov V., Denton M., Weinberg J. M., Vetachalam M. A., Apoptosis: definition, mechanisms and relevance to disease, *Am. J. Med.*, (1999)107, 489–506,
71. Ellis R. E., Yuan J., Horvitz H. R., Mechanisms and functions of cell death, *Annu. Rev. Cell Biol.*, (1991) 7, 663-698,.
72. McCarthy N. J., Evan G. I., Methods for detecting and quantifying apoptosis, *Curr. Top. Dev. Biol.* (1998), 36, 259–278,.
73. Gavrieli Y., Sherman Y., Ben-Sasson S. A., Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol.* (1992) 119, 493–501,
74. Frankfurt O. S., Robb J. A., Sugarbaker E. V., Villa, L., Monoclonal antibody to single-stranded DNA is a specific and sensitive cellular marker of apoptosis, *Exp. Cell Res*, (1996) 226, 387–397,
75. Saunders P. A., Cooper J. A., Roodell M. M., Schroeder, D. A., Borchert C. J., Quantification of active caspase 3 in apoptotic cells, *Anal. Biochem.* (2000) 284, 114-124,.
76. Urase K., Momo T., Fujita E., Isahara K., Uchiyama Y., Tokunaga A., Nakayama K., Motoyama N., Bcl-xL is a negative regulator of caspase-3 activation in immature neurons during development, *Brain Res. Dev. Brain Res.*, (1999) 116, 69–78,
77. Brush M. D., Recourse to death. A bevy of new products harnesses the power of flow cytometry for detecting apoptosis, *The Scientist*, (2000). 14, 25–29,

78. Hirsch E.F., Vezina B.S., S. Corbett B.S., LaMorte W., Feldman M. Combined Ionizing Radiation and Thermal Injury in the Rat Evaluation of Early Excision and Closure of the Bun Wound. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 1990; 11 (1) : 42-5
79. Walsh P. C., Retik A. B., Vaughan E. D., Wein A. J., *Campbell's Urology*, Philadelphia, Saunders, Eighth Edition, (2002) 2356-2376,.
80. Blanco-Rodriguez J., Martinez-Garcia C., Induction of apoptotic cell death in the seminiferous tubule of the adult rat testis: assessment of germ cell types that exhibit the ability to enter apoptosis after hormone suppression by oestradiol treatment, *International Journal of Andrology*, (1996).19 237–247,
81. French LE, Tschopp J Protein-based therapeutic approaches targeting death receptors. *Cell Death Differ* (2003) 10(1):117–123
82. Fischer U, Schulze-Osthoff K New approaches and therapeutics targeting apoptosis in disease. *Pharmacol Rev* (2005) 57(2):187–215
83. Sebecić B, Nikolić V, Sikirić P, Seiwerth S, Sosa T, Osteogenic effect of a gastric pentadecapeptide, BPC-157, on the healing of segmental bone defect in rabbits: a comparison with bone marrow and autologous cortical bone implantation; : *Bone* (1999) Mar;24(3):195-202.
84. Zellin G1, Håkanson R, Linde A Scand Gastrectomy has no effect on bone regeneration in rats despite a decrease in bone mass *J Gastroenterol* (2002);37(10):1149-55.
85. Lightfoot E Jr, Horton JW, Maass DL et al Major burn trauma in rats promotes cardiac and gastrointestinal apoptosis. *Shock* (1999) 11(1):29–34
86. Zhang C, Sheng ZY, Hu S et al The influence of apoptosis of mucosal epithelial cells on intestinal barrier integrity after scald in rats. *Burns* (2002) 28(8):731–737
87. Guang W.Y, The Effect of Chitosan and Its Derivatives on the Dyeability of Silk, Ph.D. Thesis, Hong Kong Polytechnic University (2002)
88. W. Guang Liu and K. De Yao, “Chitosan and its derivatives—a promising non-viral vector for gene transfection,” *Journal of Controlled Release*, vol. 83, (2002). no. 1, pp. 1–11,
89. El-Tahlawy K.F., El-bendary M.A., Elhendawy A.G., Hudson S.M., The Antimicrobial Activity of Cotton Fabrics Treated with Different Crosslinking Agents and Chitosan, *Carbohydrate Polymers*, (2005) 60, p. 421-430
90. Lim, S.H., Synthesis Of A Fiber-Reactive Chitosan Derivative And its Application to Cotton Fabric as an Antimicrobial Finish and a Dyeing-Improving Agent. (2002)
91. Khor E., 2001, Chitin, Fulfilling a Biomaterials Promise, Dept. Of Chemistry, National University of Singapore, Rep. Of Singapore.
92. Fouda M. M., , Use of Natural Polysaccharides in Medical Textile Applications, *Doktora Tezi*, Essen University (2005).
93. Shahidi F., Arachchi J.K.V., Jeon Y.J, Food Applications of chitin and chitosans, *Trends in Food Science & Technology* ., (1999) 10, p. 37-51.
94. Muzzarelli R.A.A., Tanfani F., Emanuelli M., Mariotti S.N. (Carboxymethylidene) chitosans and N-(carboxymethyl) chitosans: novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. *Carbohydr. Res.* (1982) 107, p.199 –214

95. Usami Y., Okamoto Y., Takayama T., Shigemasa Y, Minami S., , Chitin and chitosan stimulate canine polymorphonuclear cells to release leukotriene B4 and prostaglandin E2, *J. Biomed. Mat.Res.*, (1998) 42, p. 517-522
96. Duman S.S, Senel S., , Kitosan ve Veteriner Alandaki Uygulamaları, *Veteriner Cerrahi Dergisi*, (2004) 10 (3-4), p. 62-72
97. Wollina U., Heideb M., Müller-Litzb W., Obenauf D. Ashc. J., , Functional Textiles in Prevention of Chronic Wounds, *Wound Healing and Tissue Engineering; Curr Probl Dermatol. Basel, Karger*, (2003) vol 31, p. 82–97
98. Queen H.y A. Electrospinning Chitosan-based Nanofibers for Biomedical Applications –MSc Thesis, (2006)
99. Sahin U.K., Gürsoy N.Ç, *Tekstil endüstrisinde kitin ve kitosan uygulamaları, Tekstil Teknik*, (2005) p.176, 245
100. Senel S, Kremer MJ, Kaş S, Wertz PW, Hincal AA, Squier CA Enhancing effect of chitosan on peptide drug delivery across buccal mucosa. *Biomaterials*. (2000); 21(20):2067-71
101. Shila Gurunga, Natasa Skalko-Basnet Wound healing properties of Carica papaya latex: In vivo evaluation in mice burn model *Journal of Ethnopharmacology* 121 (2009) 338–341
102. Ritu Sanwal, Amrendra Kumar Chaudhary, Wound healing and antimicrobial potential of Carissa spinarum Linn. in albino mice *Journal of Ethnopharmacology* 135 (2011) 792–796
103. Nashwa N. Kabil,, Hanan A. Seddiek, Nadia A. Yassin,, Maha M. Gamal-Eldin; Effect of ghrelin on chronic liver injury and fibrogenesis in male rats: Possible role of nitric oxide *Peptides* 52 (2014) 90–97
104. Yuko Ota, Yasushi Kawaguchi, Kae Takagi, Hisae Ichida, Takahisa Gono, cMasanori Hanaoka, Tomoaki Higuchi, Hisashi Yamanaka, Ghrelin attenuates collagen production in lesional cfbroblasts from patients with systemic sclerosis, *Clinical Immunology* (2013) 147, 71–78
105. Lal S. O. S, Wolf E. and Herndon D. N. Growth hormone, burns and tissue healing; *Growth Hormone & IGF Research* (2000), Supplement B, 39-43
106. Hattori N, Saito T, Yagyu T, Jiang BH, Kitagawa K, Inagaki C. GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* (2001);86:4284-91
107. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology* (2006);130:1707-20
108. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collins GD, Sakthivel SK, Palaniappan R, et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation- induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* (2004);114:57-66.
109. Li WG, Gavrilu D, Liu X, Wang L, Gunnlaugsson S, Stoll L, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation* (2004);109:2221-6
110. Degim Z., Çelebi N., Sayan H., Babül A., Erdogan D. An investigation on skin wound healing in mice with a taurine-chitosan gel formulation *Amino Acids* (2002) 22: 187–198

10. ETİK KURUL ONAY



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 14-08-2014
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2014/A-64
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Sıçan
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : ☒E ☐D ☐Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 40 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : -

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Canan CERAN ÖZCAN'ın yürüttüğü olduğu "LOKAL VE SİSTEMİK GHRELİN UYGULAMASININ YANIK YARASI İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ" isimli 2014/A-64 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	Prof. Dr. Nigar VARDI Üye	Doç. Dr. Yılmaz CİĞREMİŞ Üye
Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	Yrd.Doç.Dr.Mustafa KARAKAPLAN Üye Katılmadı
Salih AVCI Sivil Üye Katılmadı	Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye Katılmadı	