

Hiperbarik Oksijen Ve Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB'nin İskemik Yaralarda Olumlu Etkileri

POSITIVE EFFECTS OF HYPERBARIC OXYGEN AND PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR-BB ON ISCHEMIC ULCERS

Dr.M.Şehsuvar GÖKGÖZ* , Dr.Mustafa TURAN* ,
Dr.Cihan YILDIRIR* , Dr.Turgut CERAN* , Dr.Reyha EĞİLMEZ**

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, (*) Genel Cerrahi ABD, (**) Patoloji ABD, SİVAS

ÖZET

Amaç: HBO ile TKBF- BB'in iskemik yaralarda birlikte kullanımının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin belirlenmesi.

Durum Değerlendirmesi: Hiperbarik oksijen (HBO) normal ve hipoksik dokularda oksijen düzeyini arttırdığı için kronik iyileşmeyen ve iskemik yaraların tedavisinde yaygın kullanılmaktadır. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB'nin (TKBF-BB) yara iyileşme sürecinde, fibronektin, glikozaminoglikan ve hiyalüranik asit sentezini stimüle ettiği belirlenmiştir.

Yöntem: 32 Yeni Zelanda beyaz tavşanının (3-3.5 kg.) kulaklarında iskemik dermal ülserler oluşturuldu. Tavşanlar 8'erli 4 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki tavşanların (Grup A) kulaklarındaki iskemik yaralara günaşırı TKBF-BB uygulandı. İkinci gruptaki (Grup B) tavşanlar 8 gün süre ile oksijen kafesinde her gün 100 dakika 2 Atmosfer (ATA) basınçta tutuldular. Üçüncü gruptaki (Grup C) tavşanlara hem TKBF-BB hem de HBO uygulandı. Dördüncü grup (Grup D) kontrol grubu olarak ayrıldı.

Çıkarımlar: HBO ve doku büyüme faktörlerinin tek başlarına uygulandıklarında iskemik yaralarda belli düzeylerde iyileşmeler sağladığını belirledik. HBO ile TKBF-BB'in birlikte kullanımının yara yerlerinde kollajenizasyon, fibroblast, vaskülarizasyon ve epitel rejenerasyonu yönünden istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar verdiğini tespit ettik.

Sonuçlar: HBO ile TKBF-BB'in birlikte kullanımı, özellikle de doku büyüme faktörlerinin klinik uygulamaya girmesiyle iskemik ve kronik yaraların iyileştirilmesinde umut vadetmektedir.

Anahtar kelimeler: Yara iyileşmesi, hiperbarik oksijen, Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB, iskemik yara

SUMMARY

Chronic, nonhealing wounds are important causes of morbidity in surgical patients. Since Hyperbaric Oxygen (HBO) has been demonstrated to elevate oxygen tension in both normal and hypoxic tissues, it has been used extensively in the treatment of chronic, nonhealing ischemic wounds. It was determined that Platelet Derived Growth Factor-BB (PDGF-BB) stimulate the synthesis of fibronectin, glycosaminoglycan and hyaluronic acid during wound healing process. In this study we examined the effects of the HBO and PDGF-BB's combined application in wound healing of ischemic wounds. Ischemic dermal ulcers were made in the ears of 32 New Zealand white rabbits (3-3.5kg). The rabbits

were divided into four groups, each including eight rabbits. In Group A, PDGF-BB was applied to the ischemic wounds once every two days. The second group (Group B) was exposed to 100 minutes oxygen at 2 ATA pressure everyday in the oxygen cage for 8 days. In group C both PDGF-BB and HBO were applied to the wounds. In this study we determined either HBO or PDGF-BB when applied alone on ischemic wounds produce healing to a degree. We determined that the combined usage of HBO and PDGF-BB on ischemic wounds gave better results statistically in terms of collagenisation, fibroblast, vascularisation and epithelial tissue. The usage of HBO application with PDGF-BB especially with the entrance of tissue growth factors into clinical usage is promising in the healing of ischemic and chronic wounds.

Key Words: Wound Healing, Hyperbaric Oxygen, Platelet Derived Growth Factor-BB, Ischemic Wound

Kronik iyileşmeyen yaralar cerrahi hastalarda önemli morbidite nedenidir. İyileşmenin gecikmesinden bir çok neden sorumludur, bunlar; diyabet, periferik vasküler yetmezlik, vaskülit, travma, radyasyon hasarı, nöropati ve venöz staz olarak sıralanabilir (1,2). Dokuların yetersiz oksijenizasyonu, yara iyileşmesinin gecikmesinden sorumlu diğer önemli bir nedendir (3,4,5).

Hiperbarik oksijen (HBO) normal ve hipoksik dokularda oksijen düzeyini arttırdığından, kronik iyileşmeyen ve iskemik yaraların tedavisinde yaygın kullanılmaktadır (6,7). Kronik bacak ülserli 16 hastada HBO kullanılarak yapılan çalışmada hastaların yara yerlerinde belirgin iyileşmeler tespit edilmiştir (8).

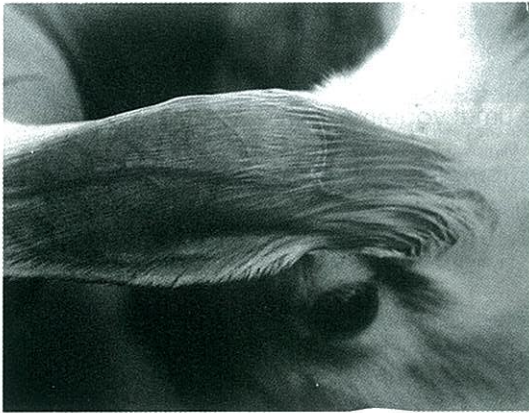
İskemik yaraların tedavisinde başka bir seçenek doku büyüme faktörleridir. Granulosit-Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör, İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1, Transforme Edici Büyüme Faktörü- (TEBF- β 1), Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB (TKBF-BB), Fibroblast Büyüme Faktörü (FBF), Epidermal Büyüme Faktörü-1 gibi büyüme faktörlerinin deneysel çalışmalarda yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri belirlenmiştir (9,10,11,12,13). Faktörlerin büyük bir

kısmı trombosit, makrofaj, endotel hücreleri ve fibroblastlardan salınır (14). TKBF-BB ve TEBF- β 1' in hayvan deneylerinde yumuşak dokudaki iyileşme sürecini ve fibroblastlardaki; fibronektin, glikozaminoglikan ve hyalüranik asit sentezlerini stimüle ettikleri belirlenmiştir (15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26).

Çalışmamızda tavşan kulaklarında oluşturulan iskemik yaraların tedavisinde HBO ile Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB'in ayrı ayrı ve birlikte uygulanmalarının etkilerini araştırmayı amaçladık. Tedaviye yanıtı granülasyon dokusu gelişimi ve epitelyal rejenerasyon ile değerlendirildi.

GEREÇ ve YÖNTEM

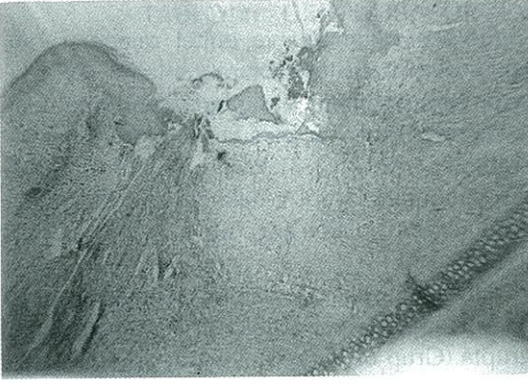
32 Yeni Zelanda beyaz tavşan (3-3.5kg) kulağında Ahn ve ark'ın (27) tariflediği gibi, nonkontraktif iskemik dermal ülserler oluşturuldu. Bu işlem, steril şartlar altında, 5 mg/kg Xylazine (Rhompun®) ve 80 mg/kg Ketamin Hydrochloride (Ketar®) intramuskuler (IM) ile yapılan anestezi sonrası, tavşan kulaklarındaki kaudal arter ve venler korunup, 3 temel arterden



Resim: 1a: Kulaktaki üç temel arterin bloke edilerek oluşturulan iskemik yara modeli



Resim: 1b: İntakt kartilaj alanındaki 6mm'lik ülserler (10x) Carl Zeiss



Resim 2: Kontrol grubunda yüzey epitelinde incelme ve subepitelyal alanda iltihabi granülasyon dokusunda azalma (HEx90)

(Resim 1a) ikisi bloke edilerek yapıldı. Dermis kartilaja kadar çepeçevre kesildi ve çevreden dermise gelen dermal dolaşım durduruldu. Kulakta intak kartilaj bırakıldı (Resim 1b). Tavşanların her iki kulağına 6 mm.lik trephine (Roboz Surgical Instrument Co.) ve mikroskop "(10x) Carl Zeiss" yardımıyla 3 adet 6 mm.lik ülser oluşturuldu. Değerlendirme her grup için 16 yara üzerinde yapıldı.

Tavşanlar 8'erli 4 gruba ayrıldı ve cerrahi girişim sonrasında tedavilerine başlandı. Birinci gruptaki (Grup A) tavşanların kulaklarındaki iskemik yaralara gūnaşırı Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB Faktörü (5µg.) (rPDGF-BB® Amgen Inc.) uygulandı. İkinci gruptaki (Grup B) tavşanlar 8 gün süre ile oksijen kafesinde her gün 100 dakika 2 ATA basınçta tutuldular. Üçüncü gruptaki (Grup C) tavşanların kulaklarındaki iskemik yaralara gūnaşırı TKBF-BB uygulandı ve her gün bu gruptaki tavşanlar oksijen kafesinde 100 dakika HBO 2 ATA basınçta tutuldular. Grup B ve Grup C deki tavşanların pansumanları HBO tedavisi için oksijen kafesine alınmadan önce açıldı. HBO tedavisinden sonra yaralar oksijenli su ve serum fizyolojik ile temizlendi ve steril gazlı bezle kapatıldı. Dördüncü gruptaki iskemik yaralar 8 gün boyunca yalnızca oksijenli su ve serum fizyolojik ile temizlenip, steril gazlı bez ile kapatıldı.

İşlemler sırasında tavşanların kulaklarındaki iskemik yaralar; renk, ısı ve nekroz yönünden günlük değerlendirildi. Isı takiplerinde Sholar TM EL (Model 2200E-1, Criticare Systems Inc.USA) kullanıldı.

Sekizinci gün sonunda tavşan kulaklarındaki yara bölgeleri ekzise edildiler. Örneklerin %10'luk formaldehitte fiksasyonları yapıldı ve



Resim 3: TKBF-BB grubunda, 8.gün sonunda yüzey epitelinde ve subepitelyal alanda iltihabi granülasyon dokusunda artışı (HEx90).

etil alkolde dehidrate edilip parafin kesitleri hazırlandı. Histopatolojik tetkik için Hematoksilin Eosin, kollajenizasyon değerlendirilmesinde Von Giessen boyası kullanıldı. Mikroskopik inceleme ile yara yerlerindeki inflamatuvar hücrelerin; Polimorfonükleer Lökosit (PMNL), lenfosit, histiosit ve fibroblast sayısı, kollajen lif artışı, vaskülarite ve epitel rejenerasyonu araştırılarak sayı ve yoğunluklarına göre (+) işaretiyle belirlenerek gösterildi (Tablo 1).

(+) değerler her grupta, her bir parametre için toplandı ve on altıya bölünerek ortalama değerler bulundu. Örneklerin histopatolojik incelenmesi, ışık mikroskobu ile tek patolog tarafından gerçekleştirildi.

Histopatolojik değerlendirme sonuçları, her parametre için gruplar arasında (A-B-C-D) önce Kruskal-Wallis Varyans analizi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunan parametreler daha sonra gruplar arasında ikili olarak (A-B, A-C, A-D, B-C, B-D, C-D) Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS programı kullanıldı.

TABLO 1: HER PARAMETRE İÇİN DEĞERLENDİRME AŞAĞIDAKİ SKALAYA GÖRE YAPILDI

Yok	(-)
Az miktarda	(+)
Orta düzeyde	(++)
İyi düzeyde	(+++)
Çok iyi düzeyde	(++++)

SONUÇLAR

Denekler ameliyat sonrası (AS) düzenli olarak tartıldılar. AS 3. günde 200-250 gramlık ağırlık azalmaları görüldü. 8. günde ise ameliyat öncesi ağırlıklarına ulaştılar. Tavşanlarda mortalite görülmedi. Deneklerin iskemik yaralarının cilt ısılarında tüm gruplarda AS döneminde belirgin düşmeler tespit edildi ($p < 0.05$). AS 5. günden sonra iyileşme görülen yaralarda kanlanmanın artması ile birlikte ısının normal değere yükseldiği ($38 \pm 1C^\circ$) belirlendi. AS 8.günde yaraların cilt ısı değerlerinin ortalamaları, Grup A'da $37.4 \pm 0.2C^\circ$, Grup B'de $37.6 \pm 0.2C^\circ$, Grup C'de $37.8 \pm 0.2C^\circ$, Grup D'de ise $36.8 \pm 0.2C^\circ$ olarak bulundu. Ancak değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). 8.günde Grup A'da ($n = 16$) 3, Grup B'de 4, Grup C'de 1, Grup D'de ise 7 yarada iskemik sonrası nekrotik değişiklikler saptandı. İskemik yaralara TKBF-BB uygulanmasının olumlu etkilerini gözlemledik. TKBF-BB'nin uygulandığı grupta (Grup A) kontrol grubuna (Grup D) göre iskemik yaralarda kollajenizasyon,



Resim 4: HBO grubunda, 8.gün sonunda, yüzey epitelinde proliferasyon ve subepitelyal alanda iltihabi granülasyon dokusunda ve kapiller doku proliferasyonunda artış (HEx35).

fibroblast yoğunluğu ve epitel rejenerasyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar tespit ettik ($p < 0.05$). Vaskülarizasyon yönünden ise kontrol grubuna göre fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 2, 3, Resim 2, 3). PMNL ve lenfosit aktivitesi yönünden Grup A 'daki değerlerde kontrol grubuna göre anlamlı artış vardı ($p < 0.05$) (Tablo 2, 3).

HBO'nun iskemik yaralara uygulanmasının olumlu etkileri vardı (Tablo 2). HBO uygulanan grupta (Grup B), Grup D'ye göre iskemik yaralarda kollajenizasyon, fibroblast, vaskülarizasyon ve epitel rejenerasyonu yönünden istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 2, 3 Resim 4). Lenfosit, PMNL ve histiosit yoğunluk/sayı yönünden kontrol grubuna göre fark yoktu ($p > 0.05$).

Yaralara HBO ile birlikte TKBF-BB uygulanmasının olumlu etkilerini gözledik (Tablo 2). HBO ve TKBF-BB birlikte uygulanan grupta (Grup C), yaralardaki kollajenizasyon, fibroblast,



Resim 5: TKBF-BB + HBO grubunda, 8.gün sonunda, yüzey epitelinde proliferasyon ve subepitelyal alanda iltihabi granülasyon dokusunda ve kapiller doku proliferasyonunda artış (HEx 35).

TABLO 2: GRUPLARIN ORTANCA DEĞERLERİNİN KRUSKALL-WALLIS VARYANS ANALİZİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

	GRUP A	GRUP B	GRUP C	GRUP D	
PMNL	2	1	2	1	$X^2 = 10.17$ $p < 0.05$
Lenfosit	2	1	2	1	$X^2 = 8.364$ $p < 0.05$
Histiosit	2	1	2	1	$X^2 = 9.91$ $p < 0.05$
Fibroblast	2	3	3	1	$X^2 = 17.048$ $p < 0.05$
Kollajenizasyon	2	2	3	1	$X^2 = 17.048$ $p < 0.05$
Vaskülarite	2	3	3	2	$X^2 = 10.51$ $p < 0.05$
Epitel Dokusu	2	2	3	1	$X^2 = 15.39$ $p < 0.05$

vaskülarizasyon ve epitel rejenerasyonu değerlerinde artış mevcuttu ($p < 0.05$). PMNL, lenfosit ve histiosit yoğunluk/sayı değerleri de kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$) (Tablo 2, 3, Resim 1a). TKBF-BB ile HBO'nin birlikte uygulandığı Grup C'nin sonuçları TKBF-BB'nin tek başına uygulandığı A grubu ile karşılaştırıldığında kollajenizasyon, fibroblast, vaskülarizasyon ve epitel rejenerasyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler mevcuttu. Her iki grup arasında PMNL, lenfosit ve histiosit yoğunluk/sayı yönünden istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 2 ve 3). Grup C'nin sonuçlarında HBO'nin tek başına uygulandığı gruba (Grup B) göre kollajenizasyon, fibroblast, ve epitel rejenerasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler mevcuttu (Tablo 3). Vaskülarizasyon, PMNL, lenfosit ve histiosit yoğunluk/sayı yönünden her iki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0.05$). Grup A'nın değerlerinde Grup B'ye göre vaskülarizasyon, PMNL, lenfosit ve histiosit yoğunluk/sayı yönünden istatistiksel olarak anlamlı gelişmeler mevcuttu ($p < 0.05$) (Tablo 3). Kollajenizasyon, epitel dokusu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz değerler, TKBF-BB ile HBO'nin birlikte kullanımlarının, iskemi nedeni ile bozulan yara iyileşme sürecine olumlu etkilerini göstermektedir.

TARTIŞMA

Hiperbarik oksijen son 20 yıl içinde iskemik yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda ayak ülserlerinde hiperbarik oksijen uygulanmasının olumlu sonuçları belirtilmiştir (6,7). HBO uygulanmasının iskemik yaralardaki

en önemli etkisi, yeni granülasyon dokusu üretimindeki belirgin artışa neden olmasıdır. Uhl ve ark. (28) iskemik yaralarda HBO tedavisinin epitelizasyonunu da hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Kivisiaari ve ark. (29) sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada, aralıklı olarak 2 ATA basınçta oksijen uyguladıkları açık yaralarda, hiperbarik oksijenin yara iyileşmesine olumlu etkilerini görmezlerken, devaskülerize edilmiş açık yaralarda HBO'nin olumlu etkilerini göstermişlerdir.

Zamboni ve ark. (30) yaptıkları deneysel çalışmalarında, HBO uygulanmasının deri fleplerindeki mikrovasküler perfüzyonu arttırdığını saptamışlardır. Başka bir çalışmada iskemik dokulara HBO uygulanmasının lökositlerin mikrobisid özelliğini stimüle ettiğini, fibroblast replikasyonunu, kollajen oluşumunu ve neovaskülarizasyonunu artırdığı belirlenmiştir (6). Deneysel yanıklarda HBO tedavisinin T-helper lenfosit miktarında değişiklik yapmazken, T-supressor lenfosit miktarını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (31). HBO'nun yanık yaralarında, cilt greft ve fleplerinde, crush injury'lerde, radyoterapi sonrası gelişen kemik ve yumuşak doku komplikasyonlarının tedavisinde, diyabetik olmayan kronik yaralarda, enfekte diyabetik ekstremite-lerin tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (6,8,32,33).

Knighton ve ark. (4) doku üzerinde oksijen basıncı yükseltildiğinde; granülasitlerin bakterisidal aktivitelerinin arttığını ve oksijenin bir antibiyotik gibi fonksiyon gördüğünü saptamışlardır. HBO'nun gazlı gangren ve perineal nekrotizan fasciitis (Fournier's gangren) tedavisinde etkin olduğu bildirilmiştir (34,35,36).

İskemik tavşan kulaklarında doku oksijen basıncı 30-40mmHg iken iskemik olmayan modelde doku oksijen basıncı 55-58mmHg'dir (29,30,37). HBO tedavisi sırasında doku oksijen

TABLO 3: SONUÇLARIN MANN-WHITNEY U TESTİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

	PMNL	Lenfosit	Histiosit	Fibroblast	Kollajeni- zasyon	Vaskülarite	Epitel Doku
Grup A ile B	U=9.5 P<0.05	U=15 P>0.05	U=15 P>0.05	U=32 P>0.05	U=32 P>0.05	U=10.5 P<0.05	U=32 P>0.05
Grup A ile C	U=27.5 P>0.05	U=32 P>0.05	U=22 P>0.05	U=6 P<0.05	U=6 P<0.05	U=10.5 P<0.05	U=9 P<0.05
Grup A ile D	U=9.0 P<0.05	U=11 P<0.05	U=14 P>0.05	U=12 P<0.05	U=12 P<0.05	U=32 P>0.05	U=12 P<0.05
Grup B ile C	U=11.0 P>0.05	U=15 P>0.05	U=9.5 P<0.05	U=6 P<0.05	U=6 P<0.05	U=32 P>0.05	U=9 P<0.05
Grup B ile D	U=29.0 P>0.05	U=28.5 P>0.05	U=29 P>0.05	U=12 P<0.05	U=12 P<0.05	U=10.5 P<0.05	U=12 P<0.05
Grup C ile D	U=10.0 P<0.05	U=11 P<0.05	U=9 P<0.05	U=1 P<0.05	U=1 P<0.05	U=10.5 P<0.05	U=1.5 P<0.05

basınç değeri 300mmHg'e kadar çıkabilmektedir. Yüksek oksijen basınç değerine ulaşmış bir doku ortamında, doku büyüme faktörlerinin daha iyi fonksiyon gördükleri bildirilmiştir (38). HBO, endotel hücreleri ve fibroblastların proliferasyonlarını arttırmaktadır. Endotel hücrelerinin proliferasyonu HBO tedavisinden 15 dakika, fibroblastların yanıtı ise 100-120 dakika sonra başlamaktadır. Fibroblastların aktiviteleri 72 saat sürmektedir fakat HBO'nin basıncının 2 ATA'dan, 4 ATA'ya çıkarılması proliferasyon yanıtında değişiklik oluşturmamaktadır (39). Zaho ve ark. (38) yaptıkları çalışmalarında iskemik yara tedavisinde HBO'ü 1, 2 ve 3 ATA basınç değerlerinde, günde iki kez 90dk ve 120dk süreyle toplam beş gün uygulamışlardır. Çalışmamızda HBO kullanımını proliferasyon yanıtı için en uygun basınç değeri olarak bildirilen 2 ATA basıncında, 8 gün boyunca, günde bir kez 100 dk süreyle uyguladık.

Çalışmamızda iskemik yaralara HBO uygulamasının olumlu etkilerini tespit ettik (Tablo 2). HBO uygulanan grupta (Grup B), kontrol grubuna göre iskemik yaralarda kollajenizasyon, fibroblast, vaskülarizasyon ve epitel rejenerasyonu yönünden istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar elde edildi ($p < 0.05$) (Tablo 2, 3, Resim 4). PMNL, lenfosit ve histiosit yoğunluk/sayı yönünden kontrol grubuna oranla fark yoktu ($p > 0.05$). Zaho ve ark. (38) HBO tedavi grubu ile kontrol grubunu epitel rejenerasyonu açısından karşılaştırdıklarında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını bildirmişlerdir.

Yara modellerinde, büyüme faktörlerinin

topikal kullanımlarının yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkileri gösterilmiştir (14,27). Pierce ve ark. (14) yaptıkları bir çalışmada TKBF-BB'nin; 1) yara iyileşmesinin akut inflamatuvar safhasını hızlandırdığını, 2) büyüme faktör aktivitelerini stimüle ettiğini, 3) monosit ve fibroblast kemotoksisi ve aktivasyonunu artırdığını, 4) kollajenaz üretimini stimüle ettiğini ve 5) glikozaminoglikan ve fibronektin yığılmasını artırarak erken yara iyileşmesine neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Zhao ve ark. (38) TKBF-BB ve (TEBF- β 1) 'in hipoksi nedeniyle bozulan yara iyileşmesini düzelttiğini ve her iki faktörün de tek başına HBO kullanılmasından daha etkin olduğunu saptamışlardır. Aynı araştırmacılar yaptıkları deneysel çalışmada doku büyüme faktörlerini iskemik yaralar sadece bir kez uygulamışlardır (38). Çalışmamızda TKBF-BB' sekiz günlük süre içinde 5 μ g dozunda günde bir kez yaralara uyguladığımızda, ilaca bağlı toksik bir etki ile gözlemlenmedi.

Kronik cilt yaralarındaki iyileşme sürecinin bozulma mekanizması açık değildir. Bu yaralarda büyüme faktör düzeyleri de ölçülememektedir ancak yaralara polipeptit büyüme faktörü uygulanması ile yara iyileşmesi hızlanmaktadır (14). TKBF ve Fibroblast Büyüme Faktörleri'nin deneysel duodenal ülserlerin, TKBF-BB'nin kornea ve diyabetik yaraların iyileşmelerine olan olumlu etkileri gösterilmiştir (40,41,42,43).

Çalışmamızda iskemik yaralara TKBF-BB'nin tek başına uygulandığı grupta (Grup A), kontrol grubuna (Grup D) göre kollajenizasyon, fibroblast yoğunluğu, epitel rejenerasyonu, PMNL ve

lenfosit yönünden istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar tespit ettik ($p < 0.05$) (Tablo 2, 3, Resim 2, 3). Yara gelişimini izleme ve değerlendirme açısından Zhao ve ark. (38) yaptıkları deneysel çalışmalardan farklı olarak incelediğimiz PMNL ve lenfosit aktivitesi bakımından ise, kontrol grubuna göre grup A'nın değerlerinde anlamlı artışın olduğunu ancak iki grup arasında histosit aktivitesi yönünden farkın olmadığını belirledik.

HBO ve TKBF-BB birlikte uygulandığı Grup C'deki yaralarda kollajenizasyon, fibroblast, vaskülarizasyon, epitel rejenerasyonu, PMNL, lenfosit ve histiosit yoğunluk/sayı değerlerinde, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış mevcuttu ($p < 0.05$) (Tablo 2, 3, Resim 1a). Grup C'nin sonuçları TKBF-BB'nin tek başına uygulandığı Grup A ile karşılaştırıldığında; kollajenizasyon, fibroblast, vaskülarizasyon ve epitel rejenerasyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler vardı (Tablo 2 ve 3). Grup C'nin sonuçlarında, HBO'nun tek başına uygulandığı gruba (Grup B) göre de kollajenizasyon, fibroblast, ve epitel rejenerasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı artış belirlendi ($p < 0.05$) (Tablo 3).

Sonuç olarak, HBO ve doku büyüme faktörleri, tek başlarına uygulandıklarında iskemik ve kronik yaralarda belli düzeyde iyileşmeler sağlamaktadırlar. Bu tür yaralarda HBO ile TKBF-

BB'in birlikte kullanımları ise daha olumlu gelişmelere yol açmaktadır. HBO + TKBF-BB tedavi protokolü iskemik ve kronik yaraların iyileşmesinde umut vaatmektedir.

KAYNAKLAR

1. Erlichman RJ, Seckel BR; Bryan DJ: Common complications of wound healing; prevention and management. *Surg Clin North Am.* 1991;71: 1323-1351.
2. Falanga V: Chronic wounds; pathophysiological and experimental considerations. *J Invest Dermatol.* 1993, 100: 721-725.
3. Hunt TK, Twomey P, Zederfeldt B: Respiratory gas tensions in healing wounds. *Am J Surg.* 1967; 114: 302-307.
4. Knighton DR, Halliday B, Hunt TK: Oxygen as an antibiotic; the effect of inspired oxygen on infection. *Arch Surg* 1984, 119-204.
5. Cianci P, Hunt TK: Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in treatment of diabetic foot wounds. In: Levin ME, O'Neal LW. Bowker JH, Eds. *The Diabetic foot 5th Ed St Louis, Mo; Mosby - YearBook; 1993, 14: 305-319.*
6. Kindwall EP, Gottlieb LJ, Larson DL: Hyperbaric oxygen therapy in plastic surgery; a review article. *Plast Reconstr Surg* 1991, 88: 898-908.
7. Davis JC: Enhancement of healing. In: Camporesi EM, Barker AC, and Eds. *Hyperbaric Oxygen Therapy.* Bethesda M. Undersea and Hyperbaric Medical Society 1991, 127-140.
8. Hammarlund C, Sundberg T: Hyperbaric oxygen reduced size of chronic leg ulcers. A randomized double-blind study. *J Plast Reconstr Surg* 1994; 93:829-834.
9. Jyung RW, Wu L, Pierce GF, Mustoe TA: GM-CSF and G-CSF: differential action on wound healing. *Surgery* 1995, 66; 776-778.
10. Jyung RW, Mustoe TA, Busby WH: Increased wound-breaking strength induced by insulin-like growth factor-1 in combination with IC-binding protein. *Surgery* 1995, 66; 896-906.
11. Robson MC, Phillips LG, Lawrence WT, et al: The safety and effect of topically applied recombinant basic fibroblast growth factor on the healing of chronic pressure sores. *Ann Surg.* 1992, 216:401-408.
12. Buckley A, Davidson JM, Kamerath CD, Wolt TB, Woodward SC: Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82: 7340-7344.
13. Mustoe TA: Growth factors in wound healing In: Dries DJ; Gamillio RT, Eds. *Trauma 2000: Strategies for the New Millennium.* Austin, Tex: RG Blandas Co; 1992, 151-156.
14. Pierce C, Tarpley J, Donna Y, Mustoe T, Fox G, Thomason A: Platelet-derived Growth Factor (BB Homodimer), Transforming Growth Factor- and Basic Fibroblast Growth Factor in dermal wound healing. *Am J Pathol* 1992, 140:1375-1388
15. Grotdorst GR, Martin GR, Pencev D: Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factors in normal and diabetic rats. *J Clin Invest* 1985, 76: 2323-2329.
16. Lynch SE, Nixon JC, Cloven RBI, Annotates HAN: Role of platelet-derived growth factor in wound healing; synergistic effects with other growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987, 84: 7696-7700
17. Sprugel KH, McPherson JM, Cloews AW: Effects of growth factors in vivo. *Am J Pathol* 1987, 129; 601-613.
18. Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J: Transforming growth factor- β reverses the glucocorticoid-induced wound-healing deficit in rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989, 86:2229- 2233.
19. Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J: Platelet-derived growth factor and transforming growth factor- β induce in vivo and in vitro tissue repair activities by unique mechanisms. *J Cell Biol* 1989, 109: 429-440.
20. Greenhalgh DC, Sprugel KH, Murray MJ: PDGF and FGF stimulate wound healing in genetically diabetic mouse. *Am J Pathol* 1990, 136: 1235-1246.
21. Mustoe TA, Purdy J, Gramates P, Deuel TF: Reversal of impaired wound healing in irradiated rats by

platelet-derived growth factor-BB: Requirement of an active bone marrow *Am J Surg* 1989, 158: 345-350

22. Blatti SP, Foster DN, Ranganathan C, Moses HL: Induction of fibronectin gene transcription and mRNA is a primary response to growth factor stimulation of AKR-2B cells. *Pro Nat Acad Sci USA*. 1988, 85: 1119-1123.

23. Allen BL, Schlosser SJ, Brondyk WH, Fahl WE: Fibronectin levels are enhanced in human fibroblasts overexposing the protooncogene. *J Biol Chem* 1990. 265: 5219-5225

24. Ignatz RA, Massgug J: Transforming growth factor- β stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem* 1986, 4337-4345.

25. Rossi P, Karsenty C, Roberts AB, et al: A nuclear factor 1 binding site mediates the transcriptional activation of type 1 collagen promoter by transforming growth factor- β . *Cell* 1988, 52,405-414.

26. Keska O, J Raghov R, Sawdey M, et al: Regulation of the mRNAs for type 1 plasminogen activator inhibitor, fibronectin, type 1 procollagen by transforming growth factor- β . *J Biol Chem* 1988, 263; 3111- 3115.

27. Ahn ST, Mustoe TA: Effects of ischemia on ulcer wound healing a new model in the rabbit ear. *Ann Plast Surg* 1990;24: 17-23.

28. Uhl E, Sirjo A, Haapaniemi T, Nilsson G Nylander G: Hyperbaric oxygen improves wound healing in normal and ischemic skin tissue. *J Plast Reconstr Surg* 1994, 93; 835- 841.

29. Kivisaari J, Niinikoski J: Effects of hyperbaric oxygenation and prolonged hypoxia on the healing of open wounds. *Acta Chir Scand*. 1975; 141: 14-19.

30. Zamboni WA, Roth AC, Russll RC, Smoot EC: The effect of hyperbaric oxygen on reperfusion of ischemic axial skin flaps: A laser Doppler analysis. *Ann Plast Surg* 1992; 28: 339-341.

31. Hussmann J, Hebebrand D; Erdmann D, Roth A, Kucan JO, Moticka J: Lymphocyte subpopulations in spleen and blood after early wound debridment and acute/chronic treatment with hyperbaric oxygen. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 1996; 28(2): 103-7

32. Ashamalla HL, Thom SR, Goldwein JW: Hyperbaric oxygen therapy for the treatment of radiation-induced sequel in children. *Cancer*. 1996; 77(11): 2407-12

33. Bouachour C, Cronier P, Gouello JP, Toulemonde JL, Talha A, Alquier P: Hyperbaric oxygen therapy in the management of crush injuries: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *J Trauma*, 1996; 41(2): 333-9

34. Sheffield PJ: Tissue oxygen measurements In: Hunt TK, Ed's. *Problem Wounds: The Role of Oxygen*. New York, NY; Elsevier Science Publishing Co Inc; 1988, 17-51.

35. Silver IA: The physiology of wound healing. In: Hunt TK, Ed *Wound healing and Wound Infection: Theory and Surgical Practice*. New York, NY; Appleton Century Crofts; 1980, 11-31.

36. Hirn M: Hyperbaric oxygen in the treatment of gas gangrene and perineal narcotizing fasciitis. *Eur J Surg Suppl*. 1993; (570): 1-36

37. Hirn M, Niinikoski J, Lehtonen OP: Effect of hyperbaric oxygen and surgery on experimental multimicrobial gas gangrene *Eur Surg Res* 1993; 25(5): 265-9

38. Zhao LL, Davidson J, Wee SC, et al: Effect of hyperbaric oxygen and growth factors on rabbit ear ischemic ulcers. *Arch Surg* 1994, 129:1043-9

39. Tompach PC, Lew D, Stoll JL TI: Cell response to hyperbaric oxygen treatment. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1997; 26(2): 82-6

40. Szabo S, Sandor Z: Basic fibroblast growth factor and PDGF in GI diseases. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1996, 10(1): 97-112

41. Iguchi I, Kamiyama K, Wang X, Kita M, Immunity J, Yamaguchi N, Sotozono C, Kinoshita S: Enhancing effect of platelet-derived growth factors on migration of corneal endothelial cells. *Cornea*. 1995; 14(4): 365-71

42. Murali S, Hardten DR, DeMartelaere S, et al: Effect of topically administered platelet-derived growth factor on corneal wound strength. *Curr Eye Res*. 1994, 13(12): 857-62

43. Brown RL, Breeden MP, Greenhalgh DC: PDGF and TGF- α act synergistically to improve wound healing in the genetically diabetic mouse. *J Surg Res* 1994, 56(6): 562-70

YAZIŞMA ADRESİ:
Dr.M.Şehsuvar GÖKGÖZ
PK 19, 58121, SİVAS