

DERİ İYİLEŞMESİNİN MEKANİK OLARAK İNCELEMESİ

Aylin BEKEM^{*1}, Ahmet ÜNAL¹, Hüsnü AYDIN², İshak Sefa TÜZÜN², Tamer KARŞIDAĞ²

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İstanbul

²T.C. Sağlık Bakanlığı, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul

Anahtar Kelimeler	Özet
Deri Prolin Aminoasit Lokal Sistemik Çekme	Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise travma sonrasında başlayan düzenli ve sıralı hücrel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumu ile sonuçlanmasıdır. Kollajenler yara iyileşmesinin başarılı olarak tamamlanmasında çok önemli rol oynamaktadır. Vücutta en fazla miktarda bulunan protein olan kollajenin yapısında bulunan temel aminoasitler prolin ve hidroksiprolindir. Bu çalışmada dişi sıçanların sırtında açılan yaralara 30 gün boyunca prolin aminoasidi lokal ve sistemik olarak uygulanmış ve yara iyileşmesi izlenmiştir. Bu sürenin sonunda sırt bölgelerinden numuneler alınarak çekme testine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak prolin aminoasidinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu mekanik açıdan doğrulanmış ve sistemik uygulamasının daha başarılı olduğunu göstermiştir.

MECHANICAL INVESTIGATION OF SKIN HEALING

Keywords	Abstract
Skin Proline Amino Acid Local Systemic Tensile	The wound is the deterioration of anatomical and functional integrity of the living tissue. Wound healing is initiation of regular and sequent cellular and biochemical events after trauma and resulting with formation of new tissues. Collagens play a very important role on successful completion of wound healing. The basic amino acids in the form of collagen, which is the maximum amount of protein in body, are proline and hydroxyproline. In this study, proline amino acid was applied as local and systemic to wounds made on the dorsal of female rats for 30 days and healing was observed. At the end of this period, samples were taken from the dorsal areas and subjected to tensile test. In conclusion, it was mechanically confirmed that proline amino acids had a positive effect on wound healing and systemic application was more successful.

1. Giriş

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasıdır. Bu bozulma neticesinde başlayan; düzenli ve sıralı, hücrel ve biyokimyasal olayların sonucunda yeni doku oluşması ise yara iyileşmesi olarak tanımlanmaktadır (Townsend, 2004, Hunt, 2004). Tam kat deri defekti, dermis ve epidermisi kapsayan defektlerdir. Bu tür yaralar anjiogenez ve kontraksiyon ile iyileşmektedir. İyileşme olayı, inflamasyon, kollajen birikmesi ve kollajen matürasyonu aşamalarından meydana gelmektedir (Karşıdağ, 2010). Kollajen yara iyileşmesinin başarılı olarak tamamlanmasında önemli rol oynayan bir proteindir (Chojkler, 1989).

Vücutta en fazla miktarda bulunan protein olan kollajenin yapısında bulunan temel aminoasitler prolin ve hidroksiprolindir (Hu, 2008). Prolin ve hidroksiprolin, vücuttaki proteinlerin yaklaşık % 30'

unu, kollajende bulunan amino asitlerin 1/3' ünü oluşturmaktadır. Kollajende bulunan prolinin hidroksilasyonu kollajenin helikal yapısının stabilitesini belirlemektedir (Wu, 2011).

Yapılan çalışmalarda prolin aminoasidinin yara iyileşmesini hızlandırdığı ve topikal olarak kullanımın oral kullanıma göre daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Ponrasu, 2003). Protein enerji malnutrisyonu olan hastalarda ise prolin ve hidroksiprolin miktarının azaldığı ve yara iyileşmesinin geciktiği gözlenmiştir (Baker, 2009, Barbul, 2008).

Doku mühendisliğinde gelişen teknolojiler, biyolojik numunelerin özellikleri hakkında objektif olarak veri sağlayabilmektedir. Çalışmalar çekme, eğme, basma ve burulma deneyleriyle malzeme olarak kullanılan dokunun belli bir kuvvet uygulandığında bu kuvvete nasıl tepki vereceği ölçülebilmektedir. Biyomekanik

*İlgili yazar: aylinaltinbay@gmail.com

çalışmaların amacı malzemelerin kuvvet, uzama, dayanım ve elastisite modülü gibi mekanik özelliklerini belirlemektir. Hazırlanan dokular ömür boyu çekme, eğme ve basma kuvvetlerine maruz kalmaktadır. Biyomekanik çalışmaların sonuçları tedavi edilen dokunun performansını öngörmek için yol gösterici olabilmektedir.

Bu çalışmada prolin aminoasidinin, lokal ve sistemik olarak kullanımının yara iyileşmesi üzerine etkileri biyomekanik olarak incelenmiştir. Deri dokusu başlıca çekme kuvvetlerine maruz bir yapıya sahip olmasından ötürü bu çalışmada fare derilerinden alınan numunelerine çekme testi uygulanmıştır. Farklı koşullarda iyileşen yaralı deri bölgelerinden numuneler test edilerek sonuçlar incelenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma deri iyileşmesi fareler üzerine incelendi. Çalışmanın bu kısmı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onamı alındıktan sonra, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Ağırlıkları, 250- 300 gram arasında değişen Sprague- Dawley tipi 24 adet dişi fare kullanıldı. Tüm denekler, standart laboratuvar koşullarında takip edildi. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda tutuldu. 17- 25°C sıcaklık, %30 nem oranı sağlanarak, yeterli miktarda besin ve su ile beslendi. Denekler; 50 mg/ kg, intramuskuler ketamin hidroklorid (Ketalar, Pfizer, 50 mg/ml'lik solüsyon) ve 10 mg/kg, intramuskuler ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, %2'lik solüsyon) enjeksiyonu ile anestezi altına alındı. Anestezi derinliği ekstremite çekme yanıtı ile değerlendirildi. Ardından elektrikli traş aleti ile sırtları traş edildi. Povidon iyodür ile antisepsi sağlandıktan sonra deneklerin sırt bölgesine 15x 15 mm (2 cm²) boyutlarında tam kat deri defekti oluşturuldu (Şekil 1).



a)



b)

Şekil 1. (a) Antisepsi uygulanması ve (b) tam kat deri defekti oluşturulması.

Steril gazlı bez ile bası yapılarak hemostaz sağlandı. Anestezik olarak Buprenorfin kullanıldı. Oluşturulan yaralar 30 gün sürecek sekonder iyileşmeye bırakıldı. Denekler her biri 8 denekten oluşan 3 gruba ayrıldı:

1. Grup (Kontrol grubu; K): Deneklerin sırt bölgesinde oluşturulan defekt sekonder iyileşmeye bırakıldı.
2. Grup (Lokal grubu; L): Bu gruptaki deneklerin sırt bölgesindeki defekte, 30 gün boyunca, topikal olarak günlük 200 µl prolin aminoasidi (L-proline, C₅H₉NO₂, Merck Millipore) uygulandı (Şekil 2).
3. Grup (Sistemik grubu; S): Bu gruptaki deneklere 30 gün boyunca, günlük 200 µl prolin aminoasidi (L-proline, C₅H₉NO₂, Merck Millipore) intraperitoneal olarak uygulandı.



a)



b)

Şekil 2. Prolin aminoasidinin (a) lokal ve (b) sistemik uygulanması.

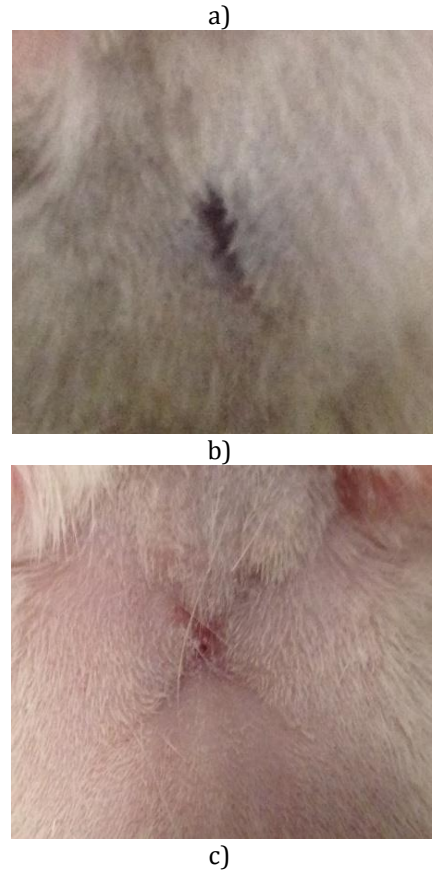
Deri dokusu başlıca çekme kuvvetlerine maruz bir yapıya sahip olmasından ötürü bu çalışmada fare derilerinden alınan numunelerine çekme testi uygulanmıştır. Çekme testleri, Yıldız Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Kompozit Malzemeler Laboratuvarında yapılmıştır. 20 kN kapasiteli Mares marka universal çekme makarası 500 N yük hücresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Numune alımı post operatif 30. günde, deneklerin sakrifiye edilmesini takiben, yaralı bölge dokusu merkezde kalacak şekilde, 30x 5 mm boyutunda şerit şeklinde deri eksizyonu yapıldı. Alınan doku örnekleri serum fizyolojik içerisinde muhafaza edildi. Numunelerin alınmasını takiben 6 saat içinde çekme testine tabi tutulmuştur.

Kalınlık, genişlik ve uzunluk ölçüleri alınan dokular çapraz başlıklar arasına bağlanarak test edilmiştir. Alt çenenin sabit tutulup, üst çenenin yukarı doğru hareketi ile numuneye yük uygulanmıştır. Bu esnada numunede oluşan kuvvet ve uzama değerleri kaydedilmiştir. Fakat bu değerler numunenin kesitine bağlı değerlerdir. Kesitten bağımsız değerler elde edilebilmesi için kuvvet numunenin kesit alanına bölünmesi ile gerilme, uzamanın ise numunenin ilk boyuna bölünüp yüzdesinin alınması sonucu gerinim yani % uzama değerleri elde edilerek mühendislik olarak anlamlı gerilme-gerinim eğrileri elde edilmiştir. Eğrilerde maksimum gerilme değerleri numunenin dayanımı olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca gerilme-gerinim eğrisinin eğimi alınarak elastisite modülü olarak bilinen değerler elde edilmiştir.

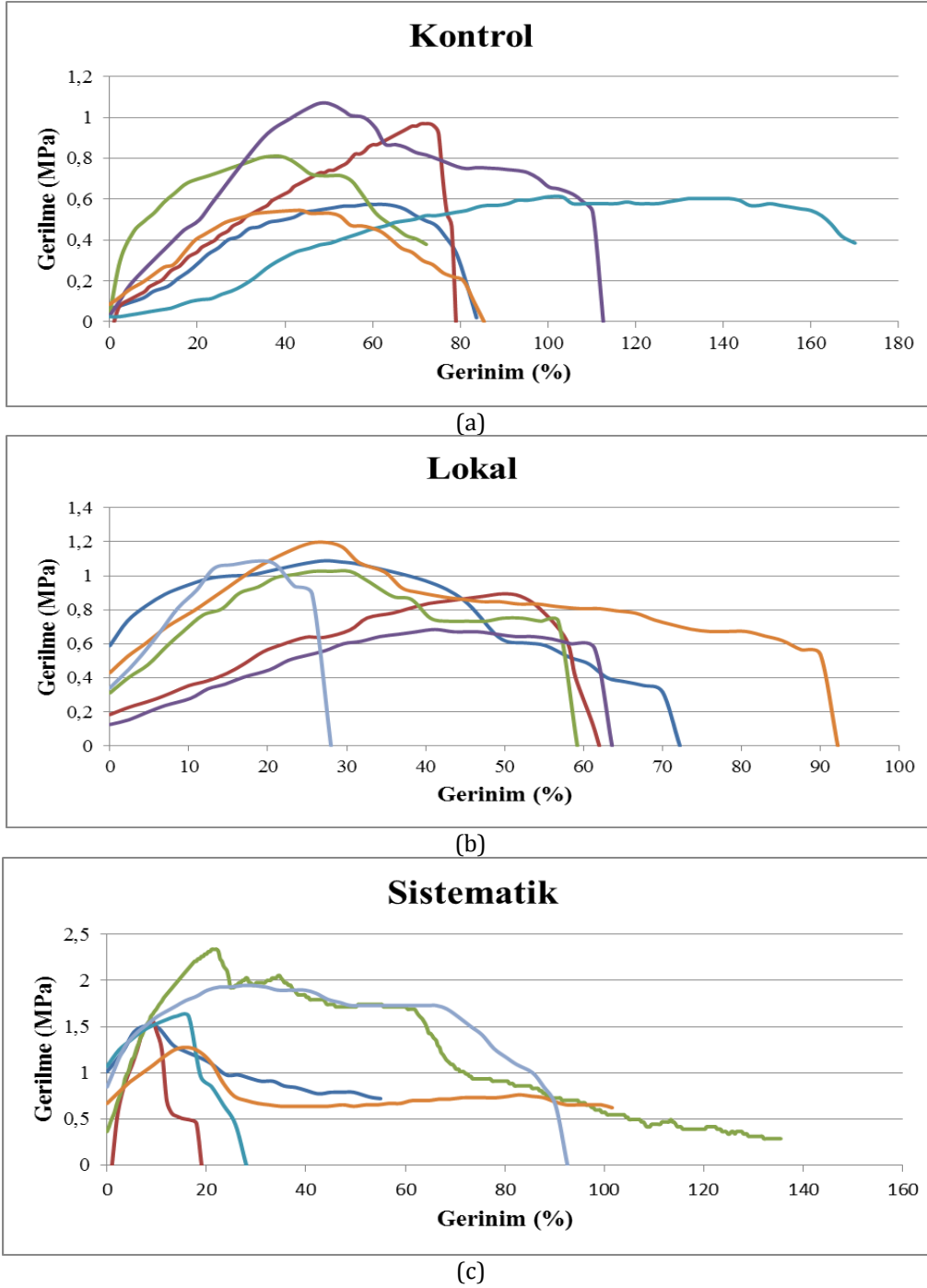
3. Araştırma Bulguları

30. günde yapılan incelemede, kontrol (K), lokal (L) ve sistemik (S) gruplarında iyileşmenin ve tüylenmenin benzer şekilde büyük oranda tamamlandığı görüldü (Şekil 3). Sırt bölgesindeki tıraşı takiben insizyon skarlarının özellikle S grubunda güçlükle farkedildiği görüldü (Şekil 3).



Şekil 3. 30. Günde sırt bölgesini tıraşın ardından yaralı dokunun makroskopik görünümü: (a) K grubu, (b) L grubu ve (c) S grubu.

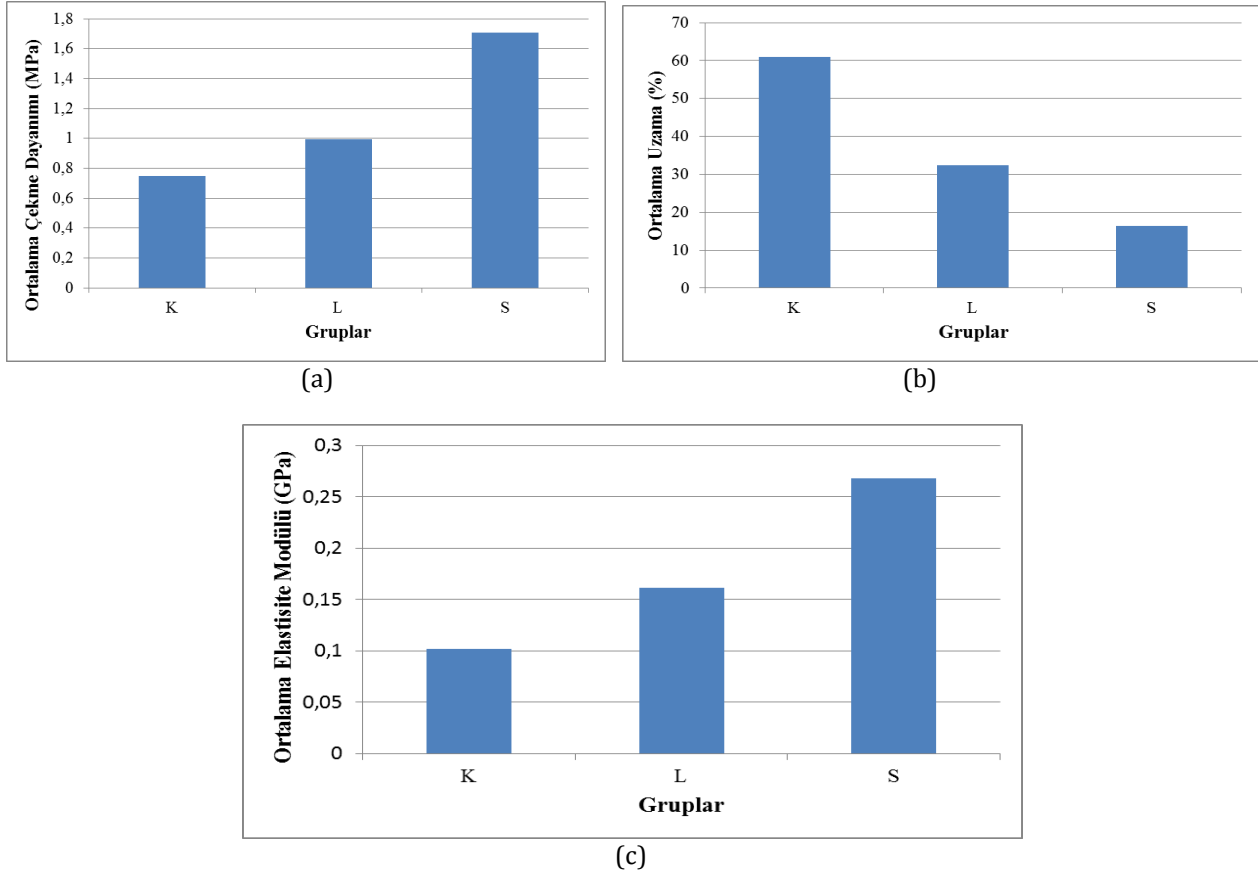
Çekme testleri sonucunda maksimum çekme gerilmesi (MPa), gerinim (%) ve elastisite modülü (GPa) değerleri elde edilmiş. Gerilme, birim kesitin taşıyabileceği maksimum kuvvettir. Maksimum gerilmesi malzemenin çekme dayanım değeri olarak tanımlanmaktadır. Uzamanın numunenin ilk boyuna oranı ise gerinim olarak bilinmektedir. Elastisite modülü de uygulanan kuvvete deforme olmadan dayanma gücüdür. Sert materyallerde yüksek elastisite modülü yüksek olup, deforme olması daha güçtür. Uzama dokunun fleksibilitesi (esnekliği) ile ilgilidir.



Şekil 4. Çekme deneylerinden elde edilen (a) kontrol, (b) lokal ve (c) sistemik grupları ait örnek gerilme-gerinim eğrileri.

Şekil 4' te kontrol, lokal ve sistemik gruplarına ait numunelere uygulanan çekme test grafikleri görülmektedir. Şekil 5' te ise bu grupların ortalama çekme dayanım, % uzama ve elastisite modülü değerleri karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Bu

sonuçlara göre kontrol grubu en düşük değerlere sahipken lokal ve sistemik tedavi sonuçları daha yüksek değerler göstermiştir. Bunlardan sistemik tedavi yönteminin daha başarılı olmuştur.



Şekil 5. Çekme deneylerinden elde edilen ortalama, dayanım, uzama ve elastisite modülü değerleri.

4. Tartışma ve Sonuç

Fare derilerinde açılan yaraların 30 gün boyunca lokal ve sistemik olarak tedavisinden sonra yapılan görsel muayene ve mekanik testler sonucunda prolin aminoasidinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu doğrulanmıştır. Bununla birlikte sistemik olarak prolin uygulamasının lokal uygulamaya oranla daha etkin olduğunu ortaya koymuştur.

Conflict Of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Kaynaklar

Baker, D.H., 2009. Advances in Protein-Amino Acid Nutrition of Poultry. *Amino Acids*, 37, 29–41.

Barbul, A., 2008. Proline Precursors to Sustain Mammalian Collagen Synthesis. *J. Nutr.*, 138(10), 2021S–2024S.

Chojkier, M., Houglum, K., Herruzo, J.S., Brenner, D.A., 1989. Stimulation of Collagen Gene Expression by Ascorbic Acid in Cultures Human Fibroblasts: a Role for Lipid Peroxidation. *J Biol Chem* 264, 16957–16962.

Hu, C.A., Khalil, S., Zhaorigetu, S., Liu, Z., Tyler, M., Wan, G., Velle, D., 2008. Human D1-Pyrroline-5- Carboxylate

Synthase: Function and Regulation. *Amino Acids* 35, 665–672.

Hunt, T., 2004. Wound Healing. *Current Surgical Diagnosis & Treatment*'de. Ed: Way LW, Doherty GM. United States of America : McGraw Hill, 75-88.

Karsıdag, T., Assensio, J.A., Kabukcuoglu, F., Tuzun, S., 2010. Preliminary Study Somparing the Effects of Locally and Systemically Applied L-carnitine on the Healing of Full-Tthickness Skin Defects. *Scand J Surg.*, 99(3), 147-152.

Ponrasu, T., Jamuna, S., Mathew, A., et al., 2013. Efficacy of L-Proline Administration on the Early Responses during Cutaneous Wound Healing in Rats. *Amino Acids*, 45(1), 179-898) Williams JZ, Barbul A: Nutrition and wound healing. *Surg Clin North Am* 83:571, 2003.

Townsend, C.M., Beauchamp, D.R., Evers, M.B., Mattox, K.L., 2004. *Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*. 17th ed. Philadelphia, Elsevier Saunders.

Wu, G., Bazer, F.W., Burghardt, R.C. et al., 2011. Proline and Hydroxyproline Metabolism: Implications For Animal And Human Nutrition. *Amino Acids*, 40, 1053–1063.