



ARAŞTIRMA MAKALESİ

Kobaylarda vitamin C ve vitamin E uygulamalarının yara iyileşmesi, doku mineral madde ve hidroksiprolin düzeyleri üzerine etkileri

Saliha Filiz Pekcici Çuhadar¹, Seyfullah Haliloğlu^{2*}

Özet

Pekcici Çuhadar SF, Haliloğlu S. Kobaylarda vitamin C ve vitamin E uygulamalarının yara iyileşmesi, doku mineral madde ve hidroksiprolin düzeyleri üzerine etkileri. **Eurasian J Vet Sci**, 2012, 28, 2, 87-93

Amaç: Bu çalışmada E ve C vitaminlerinin kobaylarda yara iyileşmesi ve yara dokusu hidroksiprolin, demir (Fe), bakır (Cu) ve çinko (Zn) düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada 84 adet kobay, kontrol (Serum fizyolojik, SC), vitamin C (150 mg/kg, SC), vitamin E (150 mg/kg, SC) ve vitamin E + C grupları olmak üzere dört gruba ayrıldı. Yara oluşturulmadan 4 gün önce ve yara oluşturulduktan sonra 1, 4 ve 7. günler vitamin enjeksiyonları gerçekleştirildi. Anesteziye alınan kobayların lumbal omurlarının lateralinde 4 cm uzunluğunda derinin tüm katlarını içerecek şekilde ensizyon yarası oluşturuldu ve basit ayrı dikiş tekniği ile dikilerek yara bölgesi açık havaya bırakıldı. Gruplara enjeksiyonların yapıldığı 4, 7 ile 10. gün her bir gruptan 7'şer kobay ötenazi edilerek, yara bölgesi ensizyonla alındı. Alınan dokularda histo-patolojik muayeneler, doku Fe, Cu, Zn ve hidroksiprolin analizleri gerçekleştirildi.

Bulgular: Yara dokusu hidroksiprolin düzeylerinin bütün gruplarda iyileşmenin 7. gününde maksimum düzeylerde olduğu ve Cu ile Zn düzeyleri ile negatif ilişki bulunduğu belirlendi. Yapılan histopatolojik değerlendirmeleri sonucunda, 4. günde, E vitamini grubunda reepitelizasyonun en az olduğu belirlenirken, C vitamini grubunda reepitelizasyonun ve fibroblast aktivitesinin tüm gruplardan daha iyi olduğu görüldü. Çalışmanın 7. gününde ise reepitelizasyon kalitesi açısından en iyi grubun C + E vitamin grubunun olduğu gözlemlendi.

Öneriler: Ensizyon yaralarının iyileşmesi üzerine C vitamininin tek başına ya da C + E vitaminlerinin birlikte kullanımının iyileşmeyi hızlandırıcı etkisinden söz edilebileceği kanısına varıldı.

Abstract

Pekcici Çuhadar SF, Haliloğlu S. Effects of vitamin C and vitamin E applications on wound healing and tissue mineral and hydroxyprolin levels in guinea pig. **Eurasian J Vet Sci**, 2012, 28, 2, 87-93

Aim: This study was performed for investigating the effects of vitamin E and vitamin C on guinea pig wound healing and tissue hydroxy-proline, iron (Fe), copper (Cu) and zinc (Zn) levels.

Materials and Methods: A totally of 84 guinea pig were divided into four groups; the control group (saline, SC), vitamin C (150 mg/kg, SC), vitamin E (150 mg/kg, SC) and vitamin C + vitamin E groups. Vitamin and saline injections were applied 4 days before and 1, 4 and 7 days after the wound incision. A four centimeters full thickness skin incision wound was created on the lateral lumbar area. The wound area closed with basic separate sutures and leaved open to air. Seven rats from each group were sacrificed on the days of 4, 7 and 10 after the incisions. Wound tissue histopathologic exam was done and tissues hydroxy-proline, Fe, Cu and Zn levels were measured.

Results: Tissue hydroxy-proline levels were highest at 7th day in all groups and tissue hydroxy-proline level was negative correlated with Cu and Zn levels. In the histopathologic examination at 4th day of incision, while reepithelisation was lowest in the vitamin E group, reepithelisation and fibroblast activity were highest in the vitamin C group. Reepithelisation was highest on vitamin C + E group at the 7th day of the incision.

Conclusion: Vitamin C alone or vitamin C + E administrations may be positively effective on the healing of incisions.

¹Cumhuriyet İlköğretim Okulu, ²Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Geliş: 05.03.2012, Kabul: 12.03.2012

*shaliloglu@selcuk.edu.tr

Anahtar kelimeler: Yara iyileşmesi, vitamin C, vitamin E, hidroksiprolin, mineral

Keywords: Wound healing, vitamin C, vitamin E, hydroxyprolin, mineral

► Giriş

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulması olarak tanımlanırken, yara iyileşmesi travma ile başlatılan muntazam, sıralı hücrel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumu ile sonuçlanmasıdır. Son yıllarda yara iyileşmesinde mikroskopik bulguların yanında iyileşme üzerine etkili diğer biyolojik moleküllerin de belirlenmesinin gerekliliği ve bu değerlerin, yara iyileşmesinin düzeyinin saptanmasında etkili olduğunun anlaşılmasıyla iyileşme için gerekli optimal koşullar berraklaşmaya başlamıştır (Arnold ve ark 1990, Marks ve ark 1993).

Yaranın düzenli ve zamanında iyileşmesi için beslenmenin etkili olduğu yıllardan beri bilinen bir gerçektir. Vitamin E'nin ilk ve en önemli fonksiyonu, serbest radikallerin nötralizasyonu, yani antioksidan etkidir (Havlik 1997, Dünder ve Aslan 1999). Bunun yanında vitamin E, cilt bakımı ve skar oluşumunun önlenmesinde oldukça popüler bir vitamin olmasına karşın yara iyileşmesi konusunda bilgiler oldukça çelişkilidir. Sistemik vitamin E ve glikokortikoidler yangısel yanıtı ve kollajen sentezini inhibe eder ve iyileşmeyi geciktirir. Ancak farklı yara tiplerinde farklı etkilerinin olabileceği gibi kullanılan preparatın lipofilik ya da hidrofilik oluşunun da yara iyileşmesi üzerine etkisinde farklılıklar oluşturabileceği bildirilmiştir (MacKay ve Miller 2003). Greenwald ve ark (1990) tavuklarda flexor tendo yaralarının iyileşmesinde vitamin E verilen hayvanlarda iyileşmenin kontrollere göre %50 daha az olduğunu, Ehrlich ve ark (1972)'da ratlarda yarada kollajen sentezini zayıflatıldığını bildirmektedirler. Araştırmacılar vitamin E'nin negatif etkisinin glikokortikoid benzeri etki göstermesinden kaynaklandığını ve bu etkinin vitamin A tarafından hafifletilebileceğini işaret etmektedirler (Ehrlich ve ark 1973). Bu bilgilerin aksine Galeano ve ark (2001) hidrofilik vitamin E preparatlarının diabetik ratlarda yara iyileşmesini hızlandırdığını ve vitamin E uygulanan grupta yara dokusu kollajen miktarındaki artışların yanında yara dudaklarındaki kopma direncinin de arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu olumlu etkileri lipid peroksidasyonunun inhibisyonuyla ilişkilendirmişlerdir. Ayrıca profilaktik vitamin E uygulamalarının preoperatif irradyasyona maruz bırakılan yaralarda normal iyileşmeyi ve yara dudaklarında kopma direncini arttırdığı (Taren ve ark 1987), hayvanlarda intraperitoneal adhezyonların oluşum oranını düşürdüğü (Kagoma 1985) bildirilmektedir. Vitamin E özellikle ciltteki yanık ve benzeri yaralarda yara iyileşmesini hızlandırdığı için kozmetik amaçlı olarak geniş kullanım alanı bulmuştur, ancak bu konuda da çelişkili bulgular mevcuttur (Mackay ve Miller 2003).

Moleküler oksijen gerektiren karışık fonksiyonlu oksidasyon reaksiyonlarında önemli rol oynayan vitamin C (Askorbik asit), hidroksilasyon yapan enzimlerin aktif bölgelerinde klasik kofaktör benzeri rol oynar. Metal iyonlarının geçişi ile ilişkisi, indirgeyici özelliği ve oksijenin serbest radikal türevleri ile re-

aksiyonu, biyolojik fonksiyonlarının temelini oluşturur (Englard and Seifter 1986). Askorbik asit kollajen, proteoglikanlar ve kemik, deri, kapillar duvar ve diğer bağ dokuların hücre içi matriksinin organik bileşenlerinin sentezinde önemli etkilere sahiptir. Vitamin C, demir ve oksijenle beraber kollajen sentezi sırasında, lizin ve prolinin hidrolizasyonu için gereklidir (Orgill ve Demling 1988, Scholl ve Langkamp-Henken 2001) ve eksikliğinde anormal kollajen ipliklerinin oluşumuna neden olarak derinin gerginliği ve kapiller frajilite azalır (Porto da Rocha ve ark 2002).

Canlılarda hücrelerin proliferasyon, replikasyon ve farklılaşması için aminoasitler, glikoz, yağ asitleri ve vitaminler yanında minerallere de ihtiyaç vardır. Çinko (Zn), organizma için esansiyel olan ve derinin normal fonksiyonunu devam ettirebilmesinde önemli rol oynayan bir elementtir (Prasad 1995, Lansdown 1996). Yaklaşık 300 kadar enzim aktivite için çinkoya gereksinim duyar. Eksiklikle birlikte zayıf yara iyileşmesi, yara dudaklarında kopma direncinde azalmalar gözlenir (Agren ve Franzen 1990, Berg and Shi 1996, Lansdown ve ark 2007). Çinko ihtiyacı en fazla yaranın erken yangısel fazında gözlenir. Ratlarda deri ensizyonu yapılan bir çalışmada cerrahi operasyonlar sonrası ve yaralanmalarda özellikle çinko eksikliği bulunan bireylerde yara iyileşmesi açısından Zn takviyelerinin yapılması gerektiği bildirilmektedir (Lansdown ve ark 1999). Ayrıca çinko eksikliği görülmeyen bireylerde de Zn uygulamalarının yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür (MacKay ve Miller 2003). Ehrlich ve ark (1972) operasyon sonrası oluşabilecek stres, fistül ve diyarenin de çinko kayıplarında önemli olduğunu bildirmektedirler. Demirin (Fe) yara iyileşmesi üzerine etkisi özellikle enzim kofaktörü olmasından kaynaklanır. Demir vitamin C ve oksijenle birlikte kollajen sentezi sırasında, lizin ve prolinin hidrolizasyonu için gerekli bir elementtir (Scholl ve Langkamp-Henken 2001). Bu nedenle Fe eksikliğinde kollajen üretiminde bozukluklarla karşılaşılabilir. Ayrıca demirin oksijen taşıyıcı fonksiyonu da yara iyileşmesinde etkinliğini artırır (Yeoh-Ellerton ve Stacey 2003). Bakır (Cu), lizil oksidaz enziminin aktif grubunda da yer alarak kollajen ve elastin polipeptidleri arasında çapraz bağlanmalar yapmasına katkı yapmaktadır. Bu enzim lizinin ε-karbonundaki amininin oksidasyonunu gerçekleştirir ve aldehid gruplarının şekillenmesini sağlar. Bunlar kohezyondan ve destek doku proteinlerinin (kollajen, elastin) çözünmez özelliklerinden sorumlu bağların kuruluşuna katılır (Goode ve ark 1989).

İnsanlar gibi organizmalarında vitamin C sentezi yapamayan ve eksojen vitamin C'ye gereksinim duyan kobaylar (guinea pig) bu vitaminin etkilerinin gözlenmesinde ve insan hekimliğine ışık tutması açısından ideal bir deney hayvanıdır. Bu çalışma da kozmetik alanında sıkça kullanım alanı bulan vitamin E'nin açık yaraların tedavisindeki etkilerinin ve bu etkiler üzerine vitamin C'nin fonksiyonunun incelenmesi ile doku

Zn, Fe, Cu ve hidroksiprolin düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirildi.

► Gereç ve Yöntem

Araştırmada 84 adet erişkin erkek kobay (Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü Serum Çiftliği, Ankara) özel hazırlanmış kobay yemi (%24 protein + 2650 KCal/kg metabolik enerji) ile beslendi ve su ihtiyaçları lahana verilerek karşılandı. Araştırma prosedürü Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Etik Kurulunca onandı. Kobaylar 45 eşit gruba ayrıldı ve serum fizyolojik (1 mL, SC, Kontrol Grup), vitamin C (150 mg/kg, SC), vitamin E (150 mg/kg, SC) ile vitamin E + C uygulamaları yapıldı. Çalışma ortamına adaptasyonları sağlanan hayvanlara yara oluşturulmadan 4 gün önce, yukarıdaki gruplarda bildirilen dozlarda vitamin enjeksiyonları yapılarak 10. günün sonunda anesteziyeye (ketamin 30 mg/kg + ksilazin 5 mg/kg, IM) alınan kobayların lumbal omurlarının lateralinde 4 cm uzunluğunda derinin tüm katlarını içerecek şekilde ensizyon yarası oluşturuldu. Daha sonra yara bölgesi basit ayrı dikiş tekniği dikilerek, yara bölgesinin üstü açık bırakıldı. Araştırmada gruplara uygulanan işlemler Tablo 1'de sunuldu.

Tablo 1. Çalışmada oluşturulan gruplarda vitamin enjeksiyonu ve doku alım günleri.

Tarih	Kontrol Grubu	Vitamin C	Vitamin E	Vitamin E + C
1. gün	Yara oluşturulması + Serum fizyolojik enj (1 mL, SC)	Yara oluşturulması + Vitamin C (150 mg/kg, SC)	Yara oluşturulması + Vitamin E enj (150 mg/kg, SC)	Yara oluşturulması + Vitamin E + C enj (150 + 150 mg/kg, SC)
4. gün	Doku alımı Serum fizyolojik enj (1 mL, SC)	Doku alımı Vitamin C (150 mg/kg, SC)	Doku alımı Vitamin E enj (150 mg/kg, SC)	Doku alımı Vitamin E + C enj (150 + 150 mg/kg, SC)
7. gün	Doku alımı Serum fizyolojik enj (1 mL, SC)	Doku alımı Vitamin C (150 mg/kg, SC)	Doku alımı Vitamin E enj (150 mg/kg, SC)	Doku alımı Vitamin E + C enj (150 + 150 mg/kg, SC)
10. gün	Doku alımı	Doku alımı	Doku alımı	Doku alımı

Çalışmada yaranın oluşturulduğu gün 1. gün olarak kabul edildi, çalışmanın 4, 7 ve 10. günlerinde her bir gruptan 7'şer kobay sodyum pentotal anestezisiyle ötenazi yapıldıktan sonra yara bölgesi dokusu ensizyonla alındı. Dikiş hattının ayrılması işleminde, ensizyon yeri ortaya gelecek biçimde deri ile beraber 6 x 3 cm ebadında çıkartıldıktan sonra, doku ensizyon hattının kenarlarından geçecek biçimde küçültülüp 4 x 2 cm'ye indirildi. Dikişler alındıktan sonra, ensizyon hattının orta bölgesinden alınan doku örneğinde histo-patolojik incelemeler yapılırken, dikey olarak ortadan ikiye bölünen ensizyon hattının bir yarısı doku Fe, Cu ve Zn düzeylerinin, diğer yarısı ise hidroksiprolin düzeylerinin belirlenmesi amacıyla alüminyum folyolar içinde kodlanıp -85 0C'de derin dondurucuda saklandı.

Hidroksiprolin düzeyleri spektrofotometrik yöntem-

lerle (Woessner JF 1961), Fe, Cu ve Zn düzeyleri ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer-Varian-Vista Model) cihazında okunarak, histopatolojik incelemeler ise S.Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda reepitelizasyon düzeyi, püstül oluşumu, subepitelial yangı ve kanama, dermiste yangı ve kanama, fibroblast ve kollajen oluşumu yönünden incelenerek gerçekleştirildi.

Elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde kullanılan varyans analizleri, Duncan's multiple range testi ve korelasyonlar için SPSS 10.0 paket programından yararlanıldı.

► Bulgular

Grupların çalışma süresince ve 4, 7 ve 10. günlerdeki Fe, Cu, Zn ($\mu\text{g/g}$ doku) ve hidroksiprolin ($\mu\text{g/g}$ doku) düzeyleri Tablo 2'de verildi. Araştırmada incelenen parametreler arasındaki ilişkiler genel ve gruplar halinde Tablo 3'de, günlere göre Tablo 4'de sunuldu. Reepitelizasyon düzeyi, püstül oluşumu, subepitelial yangı ile kanama, dermiste yangı ile kanama, fibroblast ve kollajen oluşumu yönünden incelenen dokulardaki histopatolojik bulgular Tablo 5'de verildi.

► Tartışma

Kobaylar (guinea pig), insanlarda olduğu gibi L-glonolakton oksidaz enzimi bulunmadığından vücutlarında vitamin C sentezi yapamazlar (Bates 1981, Başpınar ve Kurtoğlu 2003). Bu nedenle özellikle vitamin C üzerinde yapılan araştırmalarda insan hekimliğine örnek oluşturması açısından sıklıkla tercih edilen bir deney hayvanıdır (Poyraz 2000). Vitamin C'nin canlı organizmadaki en önemli fonksiyonlarından birisi kollajen biyosentezi üzerine etkisidir. Vitamin C, kollajen biyosentezinde lizin ve prolin örneklerinin hidroksilasyonlarında demir ve oksijenle birlikte kofaktör olarak hizmet eder ve eksikliğinde kollajen ipliklerinin oluşumunda aksamalara neden olur (Pinnel ve ark 1987). Vitamin C'nin bu etkisi özellikle yara dokusunun iyileştirilmesinin hızlandırılmasında deneysel ve klinik olarak kullanılmaktadır. Novikova ve ark (1988) ratlar üzerine yaptıkları araştırmada granü-

Tablo 2. Grupların 4, 7 ve 10. günlerdeki Fe, Cu, Zn (mg/g doku) ve hidroksiprolin (HP, mg/mg doku) düzeyleri (ortalama±sd).

Gruplar	Günler	Fe	Cu	Zn	HP
Kontrol Grup	4. gün (n=7)	38.01 ± 4.17 ^a	3.56 ± 1.18 ^b	16.14 ± 2.46 ^b	1.95 ± 0.21 ^a
	7. gün (n=7)	43.51 ± 8.13 ^b	1.95 ± 0.45 ^{ab}	13.34 ± 1.36 ^a	3.03 ± 0.60 ^b
	10. gün (n=7)	43.19 ± 9.53 ^b	0.82 ± 0.25 ^a	15.13 ± 4.27 ^{ab}	2.85 ± 0.35 ^{ab}
	Total (n=21)	41.57 ± 7.30	2.11 ± 1.35	14.87 ± 3.04	2.61 ± 0.62
Vitamin E	4. gün (n=6)	37.92 ± 3.21 ^{ab}	3.98 ± 2.62 ^b	15.88 ± 3.64 ^b	2.13 ± 0.44 ^a
	7. gün (n=6)	42.59 ± 4.09 ^b	0.91 ± 0.20 ^a	11.52 ± 0.61 ^a	3.35 ± 0.75 ^b
	10. gün (n=7)	22.89 ± 3.79 ^a	1.86 ± 1.09 ^{ab}	12.73 ± 1.37 ^{ab}	2.90 ± 0.62 ^{ab}
	Total (n=19)	34.47 ± 3.72	2.44 ± 2.39	13.70 ± 3.37	2.74 ± 0.86
Vitamin C	4. gün (n=7)	40.98 ± 5.69 ^a	3.07 ± 1.24 ^b	12.00 ± 1.96	2.84 ± 0.38 ^a
	7. gün (n=7)	50.58 ± 8.70 ^b	0.74 ± 0.12 ^a	15.26 ± 1.66	3.51 ± 0.31 ^b
	10. gün (n=7)	45.97 ± 7.45 ^{ab}	0.62 ± 0.27 ^a	12.10 ± 3.76	3.01 ± 0.52 ^{ab}
	Total (n=21)	45.78 ± 7.45	1.48 ± 1.35	13.12 ± 2.94	3.12 ± 0.49
Vitamin E + C	4. gün (n=6)	36.54 ± 5.07 ^b	3.39 ± 1.72 ^b	14.66 ± 6.03	2.61 ± 0.56
	7. gün (n=6)	38.05 ± 3.02 ^b	0.66 ± 0.17 ^a	12.27 ± 1.66	3.28 ± 0.70
	10. gün (n=7)	26.84 ± 4.92 ^a	0.59 ± 0.11 ^a	14.26 ± 3.63	3.13 ± 0.58
	Total (n=19)	35.21 ± 4.05	1.74 ± 1.73	13.62 ± 4.15	2.98 ± 0.66

* Grup içerisinde incelenen parametrelerde farkı harfler istatistikî açıdan birbirinden farklıdır (p<0.05).

lasyon dokusu vitamin C düzeyleri ile doku hidroksiprolin düzeyleri arasında pozitif ilişki olduğunu belirlemişler ve vitaminin kollajen biyosentezi üzerindeki etkisine işaret etmişlerdir. Kaplan ve ark (2004) tavşanlarda vitamin C düzeyleri ile hidroksiprolin düzeylerinin yara oluşumundan sonra 5. güne kadar paralellik gösterdiğini, bu durumun da vitamin C'nin kollajen sentezi üzerine özellikle iyileşmenin ilk günlerindeki etkilerinden dolayı pozitif etkili olduğunu bildirmektedirler. Yapılan araştırmada, yara dokusu hidroksiprolin düzeylerinin bütün gruplarda iyileşmenin 7. gününde maksimum düzeylerde olduğu (Tablo 3), 4 ve 7. günler arasındaki farklılığın vitamin E + C grubu dışındaki grupların tümünde anlamlı (p<0.05) olduğu belirlendi. Gruplar içerisinde en yüksek hidroksiprolin düzeyinin de vitamin C grubunda belirlendiği görüldü (Tablo 3) ve sonuçlar Kaplan ve ark (2004) ile uyumlu bulundu. Ayrıca çalışma süresince hidroksiprolin düzeylerine vitamin C grubundan sonra en yüksek vitamin E + C, vitamin E ve kontrol gruplarında rastlandı ve bu durumun vitamin C'nin kollajen biyosentezinde etkili olduğunun (Peterkofsky 1991) bir göstergesi olabileceği kanısına varıldı.

Vitamin E'nin en iyi bilinen fonksiyonlarından birisi organizmada metabolik reaksiyonlar sırasında meydana gelen ve oldukça zararlı olan serbest radikallerin nötralizasyonu toksik etkilerinin önlenmesidir. Vitamin E'nin bu işlevini yerine getirmesinde vitamin C, Se ve glutasyon da büyük önem taşır. Yağda çözünen bir vitamin olan E vitamininin tokoferol radikali haline gelmiş formu vitamin C tarafından sürekli rejenere edilebilir. Tokoferol radikali en son vitamin C ile reaksiyona girerek vitamin C radikale dönüşür. Meydana gelen vitamin C radikali tokoferol radikali gibi reaktif değildir ve radikal reaksiyonlarının durdurulmasında büyük önem taşır (Niki 1987, Başpınar ve Kurtoğlu 2003). Yukarıda sözü edilen mekanizma-

dan dolayı vitamin E'nin yara iyileşmesi üzerine etkileri ile ilgili sonuçlar oldukça çelişkilidir. Bir kısım araştırmacılar vitamin E'nin yara iyileşmesi ve kollajen biyosentezi üzerine inhibe edici etkisinden söz ederlerken (Ehrlich ve ark 1972, MacKay ve Miller 2003), bir kısmı kollajen biyosentezini artırıcı etkilerinden ve yara iyileşmesi üzerine pozitif etkilerini (Galeano ve ark 2001) dile getirmektedirler. Vitamin E'nin yara iyileşmesi sürecinde olası olumsuz etkilerinin kendisinin radikale dönüşmesinden kaynaklanabileceği ve bu etkinin vitamin C tarafından ortadan kaldırılabil-

Tablo 3. Çalışmada tüm gruplarda ve grup içi incelenen parametreler arasındaki ilişkiler.

Çalışmada tüm gruplarda incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	0.143		
Zn	0.278*	0.473**	
HP	0.075	-0.446**	-0.223
Kontrol grubunda incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	-0.127		
Zn	0.131	0.349	
HP	0.343	-0.530*	-0.147
Vitamin E grubunda incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	-0.004		
Zn	-0.019	0.969**	
HP	0.024	-0.325	-0.335
Vitamin C grubunda incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	0.257		
Zn	0.634**	-0.058	
HP	0.206	-0.221	0.288
Vitamin E + C grubunda incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	0.366		
Zn	0.344	0.570*	
HP	0.132	-0.600*	-0.417

* p ≤ 0.05 ** p ≤ 0.01

Tablo 4. Çalışmada tüm gruplarda günlere göre incelenen parametreler arasındaki ilişkiler.

Çalışmada tüm gruplarda 4. gün incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	0.411*		
Zn	0.571**	0.713**	
HP	0.067	0.041	-0.276
Çalışmada tüm gruplarda 7. gün incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	0.106		
Zn	-0.049	0.145	
HP	-0.123	-0.313	0.019
Çalışmada tüm gruplarda 10. gün incelenen parametreler arasındaki ilişkiler			
	Fe	Cu	Zn
Cu	0.352		
Zn	0.434	0.578	
HP	0.112	-0.410	-0.094

* p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01

leceği düşüncesiyle planlanan çalışmamızda, vitamin E gruplarındaki hidrokspirolin düzeylerinin vitamin C ve vitamin E + C gruplarından daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu durum vitamin C'nin kollajen biosentezinde vitamin E'den daha etkili olduğunun ve aynı zamanda vitamin E'nin etkisini artırdığının bir göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yara iyileşmesi üzerine Zn, Fe, ve Cu gibi mineral maddelerin etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların büyük bir kısmında deneklerin rasyonlarına mineral madde eklenerek yara iyileşme-

si üzerine olan etkileri amaçlanmıştır. Vitaminlerin yara dokusu mineral madde düzeyleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Zn, Cu, Fe, Ca ve Mg gibi metal iyonları ve metalloenzimlerin eksikliklerinin yara iyileşmesinde gecikmelere yol açtığı klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (Lansdown 1995, Lansdown 1996). Ancak bu metal iyonlarının yara dokusu düzeylerindeki değişimlerinin incelendiği çalışma sayısı da oldukça sınırlıdır. Yara iyileşmesinde metal iyonları içerisinde Zn merkezi bir rol oynar. Çinko, yara iyileşmesi ile ilişkilendirilebilecek birçok enzim için kofaktör görevi görür. Bununla birlikte fazla çinkonun iyileşmeyi geciktirdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (Lansdown ve ark 1999). Bu etkinin Zn, Cu ve Ca gibi metallerin taşıyıcı proteinlerine bağlanmada birbirlerini etkilemelerinde bir iyonun fazlalığının diğerinin bağlanmasını inhibe etmesinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Klevay 1975, Heng ve ark 1993). Lansdown ve ark (1999) ratların derilerinde oluşturulan ensizyon yaralarında yara dokusu çinko düzeylerinin ilk günlerde %15-20 daha yüksek olduğunu, epidermal proliferasyon ve granülasyon dokusu olduğu günlerde (yaklaşık 5. gün) düzeyinin daha da arttığını bildirmektedirler. Daha sonra düşen düzeylerin 10. günde normale döndüğünü gözlemişlerdir. Aynı araştırmacılar yara dokusu bakır düzeylerinin de ilk 4 gün içerisinde yüksek seyrettiğini, daha sonra düşüşe geçerek 10.

Tablo 5. Yara iyileşmesinin 4, 7 ve 10. günlerinde kontrol, E vitamini, E+C vitamini ve C vitamini verilen gruplara ait histopatolojik bulgular*.

		4. gün				7. gün				10. gün			
		K (n=7)	E (n=6)	C+E (n=6)	C (n=7)	K (n=7)	E (n=6)	C+E (n=6)	C (n=7)	K (n=7)	E (n=7)	C+E (n=7)	C (n=7)
Reepitelizasyon	+	3	5	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-
	++	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+++	1	-	1	3	-	2	-	1	-	2	-	-
	Tam	2	1	1	3	6	4	6	6	7	5	7	7
Püstül	+	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-
	++	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	+++	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Subepitelyal yangı	+	2	2	1	3	2	4	2	2	-	-	1	-
	++	-	1	-	-	-	2	-	2	-	-	-	-
	+++	-	-	-	1	-	-	1	-	1	1	-	1
Dermiste yangı	+	3	2	2	2	5	5	2	3	5	3	1	2
	++	1	2	1	3	-	-	-	1	-	-	-	1
	+++	1	-	-	2	1	1	1	1	-	-	-	1
Dikiş materyali		2	-	-	1	2	3	2	6	5	3	3	4
Kollagen	+	-	-	-	-	3	4	1	1	-	-	-	-
	++	-	-	-	-	1	2	1	5	-	3	2	-
	+++	-	-	-	-	2	-	4	1	7	4	5	7
Fibroblast	+	4	5	4	6	-	-	3	1	-	-	-	-
	++	1	-	1	1	2	3	3	4	-	2	1	-
	+++	-	-	-	-	5	3	-	2	7	5	6	7
Subepitelyal kanama	+	5	5	5	7	6	3	2	6	3	2	-	1
	++	2	1	1	-	-	3	1	1	1	2	1	-
Dermiste kanama	+	2	3	2	6	4	3	3	1	1	1	1	-
	++	2	3	3	1	2	2	-	2	2	-	-	-

*: Reepitelizasyon için (+: Hafif. ++: Orta. +++: İy). Diğer bulgular için (+: Hafif. ++: Orta. +++: Şiddetli). K; kontrol grup, E; vitamin E grup, C+E; vitamin C+E grup, C; vitamin C grup.

günde normal düzeylerine ulaştığını bildirmektedirler. Yapılan araştırmada da yara dokusu Zn düzeylerinin vitamin C grubu dışındaki tüm gruplarda 4. günde diğer günlere oranla yüksek olduğu saptandı, 7. günde düşen düzeylerin 10. günde tekrar yükselme eğiliminde olduğu görüldü. Bakır düzeyleri ise yine Lansdown ve ark (1999)'nın bulgularına benzer bir seyir göstererek grupların tamamında 4. günde yüksek olduğu, daha sonraki günlerde düşüşe geçtiği belirlendi. Bütün gruplarda hidroksiprolin düzeyleri ile Cu ve Zn düzeyleri arasındaki ilişkiler incelendiğinde her iki mineralin de hidroksiprolin düzeyleri ile negatif ilişki içerisinde olduğu görüldü ve bakır ile hidroksiprolin düzeyleri arasındaki ilişki anlamlı ($p < 0.01$) bulundu. Bu ilişki kollajen biyosentezinde enzim kofaktörü olarak etki eden bu iki metalin sentez süresince tüketildiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Vitamin C'nin mineral metabolizması üzerine etkilerinde birisi de demir emilimi üzerine olan etkisidir. Vitamin C demir emilimini inhibe edici maddelerin etkilerini azaltarak, aynı zamanda düodenumun alkali pH'sında demiri çözünür formda tutarak, ferrik demiri ferro demire indirgeyerek emilimi kolaylaştırır. Emilim sonrası ise vitamin C demir-transferrin kompleksinden ferik demirin serbest kalmasını ve demirin hemoglobin ve diğer demir içeren porfirinlerin yapısına katılmasını sağlar (Cook ve Monsen 1977, Başpınar ve Kurtoğlu 2003). Yapılan araştırmada da yukarıdaki bilgilere paralel olarak en yüksek doku demir düzeylerinin vitamin C grubunda olduğu saptandı.

Çalışmamızda doku mineral madde düzeylerinin günlere göre ilişkileri de araştırıldı. 4. gün mineral madde düzeyleri arasındaki ilişkiler incelendiğinde; Zn, Fe ve Cu düzeylerinin birbirleri ile pozitif ilişkili olduğu ancak bu ilişkinin yara iyileşmesinin takip eden günlerinde rastlanmadığı görüldü. Bu durumun kollajen biyosentezinin başlatılmasında ve devamında bu metallerin etkili olduğunun bir göstergesi olabileceği düşünülmüştür.

Yara iyileşmesinin düzeyinin belirlenmesinde en önemli ölçütlerden birisi de yara dokusu üzerinde yapılan histopatolojik araştırmalardır. Gruplardaki olguların yapılan histopatolojik değerlendirmeleri sonucunda 4 günde en iyi reepitelizasyonun ve fibroblast aktivitesinin vitamin C grubunda olduğu ve diğer gruplarla kıyaslandığında ise E vitamini grubunda reepitelizasyonun en az olduğu dikkati çekti. Subepitelyal ve dermiste yangısal reaksiyonun C vitamini grubunda daha fazla ve gelişen yangının çoğunlukla purulent olduğu, sekonder enfeksiyon ve kontamine dikiş materyali ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Çalışmanın 7. gününde ise reepitelizasyon kalitesi açısından en iyi grubun C + E vitamini verilen grup olduğu, bunu C vitamini grubu, kontrol grubu ve E vitamini grubunun izlediği gözlemlendi. Ayrıca yedinci günde kontrol ve E vitamini grubunda yangının daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir. Epidermiste C + E ve C vitamini gruplarında 1'er olguda püstül şekillendi-

ği, ancak bu olgularda reepitelizasyonun tam olduğu görüldü. Kontrol ve C vitamini grubunda reepitelizasyonun ensizyon hattı boyunca dermise doğru aşırı bir üreme gösterdiği belirlendi. Ayrıca dermiste dikiş materyali tespit edilen olgularda yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu granülasyon dokusu tespit edildi. Fibroblast aktivitesinin kontrol grubunda diğerlerine göre daha belirgin olmasına rağmen, kollajen oluşumunun CE vitamini grubunda daha iyi olduğu görüldü.

Çalışmanın 10. gününde E vitamini grubu dışındaki diğer 3 grupta reepitelizasyonun tam olarak şekillendiği belirlendi. Fibroblast aktivitesi ve kollajen oluşumu açısından C vitamini grubu ile kontrol grubunun benzerlik gösterdiği, C + E vitamini grubuyla kıyaslandığında bu iki grubun da daha iyi olduğu belirlendi. Dikiş materyali tespit edilen olgularda da yabancı cisim dev hücrelerinin de belirgin olduğu yabancı cisim reaksiyonu dikkati çekti.

Yapılan araştırmanın 4 ve 7. gününde elde edilen histopatolojik bulgular ile yaranın tedavisinde E vitamininin tek başına kullanımının uygun olmayacağı, C vitamini takviyelerinin iyileşmeyi hızlandırabileceğini gösterdiği kanısına varıldı. Çalışmanın 10. günüyle birlikte tüm histopatolojik verilerin değerlendirilmesi sonucu ise E vitamininin tek başına kullanımının yeterli olmayacağı, C vitamininin tek başına ya da E vitamini ile birlikte kullanımının iyileşmeyi hızlandırıcı etkisinden söz edilebileceği düşünüldü. Bu bulgular etkili bir antioksidan olan E vitamininin iyileşme sürecinde oluşan serbest radikallerin nötralizasyonunda kendisinin bir radikal haline gelebileceği ve vitamin C gibi bu etkiyi nötralize edecek bir antioksidanın yetersizliği durumunda vitamin E'nin yararından çok zararından söz edilebileceği bilgilerine paraleldir. Mevcut araştırmada da vitamin C uygulamalarıyla E vitamininin olası zararlı etkilerinin önüne geçilmiştir. Ayrıca çalışmada C vitamininin de kollajen biyosentezi üzerine olumlu etkilerinden dolayı tek başına kullanımının da olumlu sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

► Öneriler

Kozmetik sanayinde geniş kullanım alanı bulan vitamin E'nin cerrahi yaraların tedavisi amacıyla kullanımında vitamin C ile birlikte uygulanmasının yara iyileşmesi açısından tavsiye edilebileceği, ayrıca bu konuda uygun dozların belirlenebilmesi için farklı dozlarda benzer çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

► Teşekkür

Yüksek lisans tezi olarak gerçekleştirilen çalışmada mali desteklerinden dolayı S. Ü. BAP Koordinatörlüğü'ne ve Prof. Dr. Nurten Renda, Prof. Dr. Fatih Hatipoğlu ile Opr. Dr. Recep Pekcici'ye teşekkür ederiz.

► **Kaynaklar**

- Agren MS, Franzen L, 1990. Influence of zinc deficiency on breaking strength of 3-week-old skin incisions in the rat. *Acta Chir Scand*, 156, 667-670.
- Arnold HL, Odom RB, James WD, 1990. *Andrews' Diseases of the Skin, Clinical Dermatology*, 8th edition, WB Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Bates CJ, 1981. The function and metabolism of vitamin C in man, in; *Vitamin C (Ascorbic Acid)*, 1st edition, Eds; Counsell JN, Hornig DH, Applied Science, London, UK, pp:1-22.
- Başpınar N, Kurtoğlu F, 2003. *Vitaminler*, S. Ü. Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, Türkiye.
- Berg JM, Shi Y, 1996. The galvanization of biology: A growing appreciation for the roles of zinc. *Science*, 271, 1081-1085.
- Cook JD, Monsen ER, 1977. Vitamin C: The common cold and iron metabolism. *Am J Clin Nutr*, 30, 235-241.
- Dündar Y, Aslan R, 1999. Bir antioksidan olarak vitamin E. *Genel Tıp Derg*, 9, 109-116.
- Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK, 1972. Inhibitory effects of vitamin E on collagen synthesis and wound repair. *Ann Surg*, 175, 235-240.
- Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK, 1973. Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. *Ann Surg*, 177, 222-227.
- Englard S, Seifter S, 1986. The biochemical functions of ascorbic acid. *Annu Rev Nutr*, 6, 365-406.
- Galeano M, Torre V, Deodato B, et al, 2001. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice. *Surgery*, 129, 467-477.
- Goode CA, Dinh CT, Linder MC, 1989. Mechanism of copper transport and delivery in mammals: review and recent findings. *Adv Exp Med Biol*, 258, 131-144.
- Greenwald DP, Sharzer LA, Padawer J, Levenson SM, Seifter E, 1990. Zone II flexor tendon repair: Effects of vitamins A, E, beta-carotene. *J Surg Res*, 49, 98-102.
- Havlik RJ, 1997. Vitamin E and wound healing. *Plastic Surgery Educational Foundation DATA Committee. Plast Reconstr Surg*, 100, 1901-1902.
- Heng MK, Song MK, Heng MC, 1993. Reciprocity between tissue calmodulin and cAMP levels: modulation by excess zinc. *Br J Dermatol*, 129, 280-285.
- Kagoma P, Burger SN, Seifter E, Levenson SM, Demetriou AA, 1985. The effect of vitamin E on experimentally induced peritoneal adhesions in mice. *Arch Surg*, 120, 949-951.
- Kaplan B, Gönül B, Dinçer S, Kaya ND, Babül A, 2004. Relationships between tensile strength, ascorbic acid, hydroxyproline, and zinc levels of rabbit full-thickness incision wound healing. *Surg Today*, 34, 747-751.
- Klevay LM, 1975. Coronary heart disease: the zinc/copper hypothesis. *Am J Clin Nutr*, 28, 764-774.
- Lansdown AB, 1995. Physiological and toxicological changes in the skin resulting from the action and interaction of metal ions. *Crit Rev Toxicol*, 25, 397-462.
- Lansdown AB, 1996. Zinc in the healing wound. *Lancet*, 347, 706-707.
- Lansdown AB, Path FRC, Mirastschijski U, Stubbs N, Scanlon E, Agren MS, 2007. Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Rep Reg*, 14, 2-16.
- Lansdown AB, Sampson B, Rowe A, 1999. Sequential changes in trace metal metallothionein and calmodulin concentrations in healing skin wounds. *J Anat*, 195, 375-386.
- MacKay DJ and Miller AL, 2003. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev*, 8, 359-377.
- Marks R, Dykes P, Motley R, 1993. *Clinical Signs and Procedures in Dermatology*. 1st edition, London, UK.
- Niki E, 1987. Interaction of ascorbate and alpha-tocopherol. *Ann N Y Acad Sci*, 498, 187-198.
- Novikova AN, Mamedov LA, Egorova ND, Shekhter AB, Nikolaev AV, 1988. Ascorbic acid and hydroxyproline levels in the serum and granulation tissue of rats with aseptic and infected wounds. *Biull Eksp Biol Med*, 106, 355-358.
- Orgill D, Demling RH, 1988. Current concepts and approaches to wound healing. *Crit Care Med*, 16, 899-908.
- Peterkofsky B, 1991. Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy. *Am J Clin Nutr*, 54, (6 Suppl), 1135-1140.
- Pinnel SR, Murad S, Darr D, 1987. Induction of collagen synthesis by ascorbic acid. A possible mechanism. *Arch Dermatol*, 123, 1684-1686.
- Porto da Rocha, Lucio DP, Suetz Tde L, 2002. Effects of a vitamin pool (vitamins A, E, and C) on the tissue necrosis process: experimental study on rats. *Aesthetic Plast Surg*, 26, 197-202.
- Poyraz Ö, 2000. *Laboratuvar Hayvanları Bilimi*, Kardelen Ofset, Ankara, Türkiye.
- Prasad AS, 1995. Zinc: An overview. *Nutrition*, 11, 93-99.
- Scholl D, Langkamp-Henken B, 2001. Nutrient recommendations for wound healing. *J Intraven Nurs*, 24, 124-132.
- SPSS 10.0 for Windows. *Statistical Package for the Social Sciences*. Superior Performances Software System Inc, Chicago, IL, USA.
- Taren DL, Chvapil M, Weber CW, 1987. Increasing the breaking strength of wounds exposed to preoperative irradiation using vitamin E supplementation. *Int J Vitam Nutr Res*, 57, 133-137.
- Woessner JF, 1961. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples. *Arch Biochem Biophys*, 93, 440-444.
- Yeoh-Ellerton S, Stacey MC, 2003. Iron and isoprostane levels in acute and chronic wounds. *J Invest Dermatol*, 121, 918-925.