

# Lokal antimikrobiyal ajanların palatinal bölgeden alınan greft alanındaki doku defektinin iyileşmesi üzerine etkilerinin histomorfometrik yöntemle incelenmesi

Sermet Şahin (\*), Işıl Saygun (\*), Bülent Kurt (\*\*), Fatih Cenk Çanakçı (\*\*\*), Mesut Akyol (\*\*\*\*), Hasan Ayberk Altuğ (\*\*\*\*\*), Bülent Kurtiş (\*\*\*\*\*), Metin Şençimen (\*\*\*\*\*)

## ÖZET

Periodontal cerrahi sonrasında yardımcı kemoterapötik ajan kullanımının bakteriyel plak birikimini, postoperatif ağrı ve ödemi azaltarak, yara iyileşmesine katkıda bulunduğu ve klinik sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmada topikal olarak uygulanan antimikrobiyal ajanların, ratlarda deneysel olarak oluşturulan palatinal eksizyonel yara bölgesine etkilerinin kontrol grubuyla karşılaştırılması, makroskopik ve histomorfometrik olarak incelenmesi amaçlandı. Çalışma 84 erkek Wistar ratın damaklarının merkezinde punch biyopsi aletiyle oluşturulan 4 mm çapında eksizyonel yara ile gerçekleştirildi. Deneysel eksizyonel defektlerde klorheksidin diğlukonat (CHX) %1 jel (Corsodyl®), oktenidin (Oc-tenisept®), poliheksanid solüsyon (Prontoral®), hyaluronik asid %0.8 jel (Gengigel®) ve kontrol grubu olarak da serum fizyolojik her gün 1 dakika olarak uygulandı. Defekt çapları histomorfometrik olarak yara oluşturulduktan sonraki 3., 7., 14. ve 21. günlerde sakrifiye edilen gruplarda tespit edildi. Deneysel ve kontrol gruplarında defekt kenarları arasındaki ortalama uzaklık zamanla anlamlı olarak azaldı. Defekt çaplarındaki en büyük azalma istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde poliheksanid solüsyon (Prontoral®) kullanılan grupta görüldü ( $p < 0.001$ ). Çalışmada test edilen oral ajanların eksizyonel bir yara üzerine uygulandıklarında, yara iyileşmesi üzerine herhangi bir negatif etkiye sahip olmadıkları, bunun yanında poliheksanid solüsyon ile en iyi yara iyileşmesi sonucuna ulaşıldığı görüldü. Sonuç olarak antimikrobiyal ajanların topikal uygulamalarının donör bölgedeki iyileşme sürecini bozmadığı ve cerrahi bölgenin iyileşmesine katkıda bulunmak için kullanılabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal ajan, poliheksanid, yara iyileşmesi

## SUMMARY

The histomorphometrical evaluation of the effects of local antimicrobial agents in the healing of the tissue defect in the graft area obtained from the palatinal region. Supportive use of chemotherapeutic agents after periodontal surgery contributes to wound healing and improves the clinical results decreasing the bacterial plaque accumulation, and postoperative pain and edema. In this study it was aimed to evaluate the macroscopic and histomorphometric effects of various antimicrobial agents administered topically on the experimentally excised wounds which were created on the palatine mucosa of rats in comparison to a control group. In the study, 84 Wistar rats were included, and a biopsy instrument that had a diameter of 4 mm was used to create a mucosal wound centrally on the palatine. On the experimentally excised defect sites chlorhexidine digluconate (CHX) 1% gel (Corsodyl®), octenidine (Octenisept®), polyhexanide solution (Prontoral®), hyaluronic acid 0.8% gel (Gengigel®) and isotonic saline solution in the control group each was used for one minute on every day. Defect diameters were detected on the 3rd, 7th, 14th and 21st days of histomorphometrically created wounds of sacrificed rats. The mean distance between defect margins was significantly reduced in both the experiment and control groups in time. The most statistically significant reduction in defect diameters was achieved in the polyhexanide solution (Prontoral®) group ( $p < 0.001$ ). Tested oral agents showed no negative effects on wound healing when administered on the excisional wound site, and a best wound healing was achieved with polyhexanide solution. In conclusion topical applications of antimicrobial agents do not disrupt the healing process in the donor area, and they can be used to contribute to the healing of the surgical site.

**Key words:** Antimicrobial agent, polyhexanide, wound healing

- \* GATF Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi Periodontoloji Anabilim Dalı  
 \*\* GATF Patoloji Anabilim Dalı  
 \*\*\* Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı  
 \*\*\*\* GATF Biyoistatistik Bilim Dalı  
 \*\*\*\*\* Kara Harp Okulu Reviri Diş Hekimliği Servisi  
 \*\*\*\*\* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı  
 \*\*\*\*\* GATF Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

Bu çalışma, Türk Periodontoloji Derneği 38. Bilimsel Kongresinde (22-24 Mayıs 2008, İstanbul) poster bildirisi olarak sunulmuştur

**Ayrı basım isteği:** Yrd.Doç.Dr. Sermet Şahin, GATF Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi Periodontoloji Anabilim Dalı

**E-mail:** sermetsahin@superonline.com

**Makalenin geliş tarihi:** 12.11.2008 • **Kabul tarihi:** 06.03.2009

## Giriş

Günümüze kadar yapılan birçok hayvan ve insan çalışmasında, periodontal cerrahi sonrası kullanılan kemoterapötik ajanların bakteriyel plak birikimini, postoperatif ağrı ve ödemi azaltarak, yara iyileşmesini artırdığı ve klinik sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir (1-3). Kemoterapötik ajanlarla ilgili çalışmalar, genellikle operasyon bölgesinin flep ile örtülerek primer iyileşme ile sonuçlandığı çalışmalar ile sınırlıdır (2,5). Periodontal cerrahide oldukça sık yapılan, verici sahaların epitelyal fleple örtülemediği, sekonder iyileşmeye bırakılan serbest diş eti greftleri ve kaydırılan fleplerin donör sahalarının yara iyileşmesi üzerine kemoterapötik ajanların etkileriyle ilgili çalışmalar oldukça azdır (4,6).

Oral cerrahi sonrası plak kontrolü ve yara iyileşmesini desteklemek amacıyla klorheksidin diğlukonat (CHX) (4), oktenidin (7), hyaluronik asid (8-12), poliheksanid solüsyon (13-15), fenolik bileşenler (4), triklosan (3), "amine/stannous fluorid" solüsyonlarının (4,5) kullanıldığı görülmektedir.

Bu çalışmada topikal olarak uygulanan antimikrobiyal ajanların, ratlarda deneysel olarak oluşturulan palatinal eksizyonel yara bölgesinde, doku defektinin iyileşmesine etkilerinin kontrol grubuyla karşılaştırmalı ve histomorfometrik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmada 84 adet, ortalama ağırlıkları 280 gr olan Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Çalışma protokolü Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışma deney hayvanları kullanım sertifikası olan bir diş hekimi tarafından yürütüldü. Hayvanlar defekt oluşturulurken %2'lik xylazin HCL (5-15 mg/kg; Alfazyne %2, Alfasan, Woerden, Hollanda) ile premedikasyona, ketamine HCL (40-90 mg/kg; Alfamine %10, Alfasan, Woerden, Hollanda) ile anesteziye alındı. Eksizyonel

yara, aynı gün bütün ratların damaklarının merkezinde 4 mm çapındaki "punch" biyopsi aletiyle (Paramount Biopsy Punch, Paramount Surgimed Ltd., New Delhi, India) ile gerçekleştirildi (Şekil 1). Beş hayvan, yara oluşturulduktan sonra 0. gün grubunu oluşturmak üzere hemen sakrifiye edildi. Deneysel eksizyonel defektlerde klorheksidin diğlukonat (CHX) %1 jel (Corsodyl® Gel, GlaxoSmith Kline Consumer Healthcare, Brentford, UK), oktenidin (Octenisept®, Schülke&Mayr GmbH, Norderstedt, Germany), polihexanid solüsyon (ProntOral®, Braun Medical AG, Emmenbrücke, Switzerland), hyaluronik asid %0.8 jel (Gengigel® Prof, Ricerfarma Srl, Milano, Italy) ve kontrol grubu olarak da serum fizyolojik, her gün 1 dakika süreyle uygulandı. Bu günlük uygulamanın yapılabilmesi için, inhalasyon anestezi amacıyla hayvanlara %1-1.5 oksijen+%5'lik izofluran (Isoflurane-USP, Abbott, İstanbul, Türkiye) karışımı 6 dakika süreyle uygulandı. Bütün deney grupları makroskopik görüntü elde etmek için düzenli olarak fotoğraflandı. Her gruptan eşit sayıda hayvan 3., 7., 14., ve 21. günlerde, intrakardiyak yüksek doz ketamine HCL (Alfamine %10, Alfasan, Woerden, Hollanda) ile histomorfometrik inceleme için sakrifiye edildi.

Bu çalışmada hiçbir ticari firmadan maddi destek alınmamıştır.

*Histolojik inceleme:* Örnekler 24 saat %10'luk formaldehid içinde bekletildi. Ardından 2 gün süre ile %10'luk formik asid içine konuldu. Kemik dokuların dekalsifiye olarak kesit alınabilecek yumuşaklığa ulaşmasını müteakip, dokular rutin takibe alınarak para-

fin bloklar elde edildi. Parafin bloklardan standart 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve kesitler hematoxilen eozin ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi (Nikon, E-600, Tokyo, Japan). Doku defektinin çapı histomorfometrik yöntemle yara oluşturulduktan sonraki 3.-7.-14. ve 21. günlerde tespit edildi.

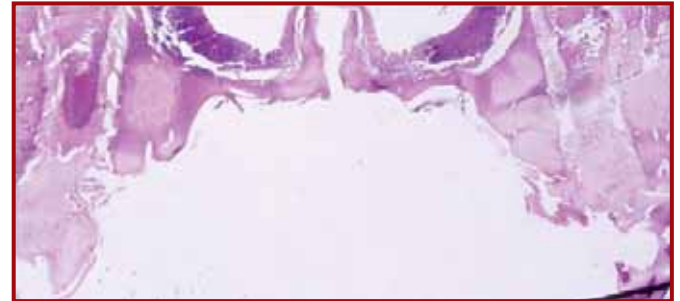
Araştırma kapsamındaki tüm ratlardan elde edilen ölçümler bilgisayar ortamına aktarıldı ve gerekli hata kontrolleri yapıldı. Tüm değişkenler için ölçüm değerleri ortalama±standart sapma olarak gösterildi. Zamana bağlı etken maddelerin etkilerini araştırmak ve zaman, etken madde, zaman/etken madde etkileşimini incelemek amacı ile tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ("repeated measures ANOVA") yöntemi kullanıldı. Günlere göre etken maddeler arasındaki farklılıklar için tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) kullanıldı. Tüm karşılaştırmalarda farklılık bulunduğu, farklılığın kaynağını araştırmak üzere Bonferroni post-hoc testi kullanılarak ikili karşılaştırmalar yapıldı. İstatistiksel analizler için MS-Excel ve "SPSS for Windows Version" 15.0 (SPSS Inc., Chigago, IL, USA) paket programları kullanıldı. Tüm karşılaştırmalarda  $p \leq 0.05$  düzeyi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

## Bulgular

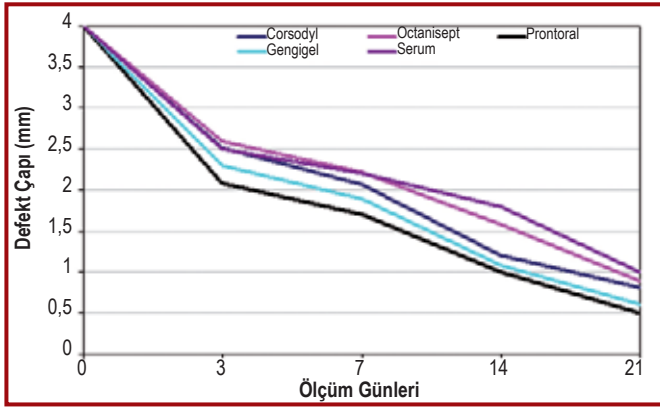
Çalışmada defekt oluşturulan 5 farklı etken madde grubundaki ratların 3. gün, 7. gün, 14. gün ve 21. gün defekt çapları ölçülmüştür. İlk gün sakrifiye edilen 4 rattaki ortalama defekt çapı  $3.995 \pm 0.0129$  mm olarak ölçülmüştür. Sakrifiye edilen 4 rattan elde edilen ölçüm değerleri, eş değer olduğu için tüm deney gruplarının 0. gün defekt çapı ölçüm değeri olarak kabul edildi (Şekil 2). Araştırmada kullanılan tüm ratlar aynı yaşta ve yaklaşık aynı ağırlıkta olduğundan her bir gruptaki ratlardan elde edilen ölçümler, aynı hayvanlardan alınan zamana bağlı tekrarlı ölçüm olarak değerlendirildi. Deney gruplarındaki ratlarda oluşturulan defekt çapları ve bunların zamana göre histomorfometrik ölçüm değerleri Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 1. Rat damagında oluşturulan eksizyonel yara



Şekil 2. 0. gün histolojik kesiti (HEX20)



**Şekil 3.** Ratlarda doku defekt çaplarının histomorfometrik ölçüm değerleri ortalamalarının zamana göre değişimi

Zamana bağlı değişimler ile zaman/etken madde etkileşimine ilişkin elde edilen çok değişkenli analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde varyans analizi kullanıldı. Buna göre zamana göre defekt çap değerleri istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ( $f=3153.286$ ,  $p<0.001$ ).

Zamana göre değişimler arasındaki farklılığın anlamlı bulunması üzerine, farklılık kaynağını belirlemek için Bonferroni post-hoc testi kullanılmıştır. İkili karşılaştırmalar sonucunda elde edilen farklılıklar ve farklılıklara ilişkin %95 güven aralıkları Tablo I'de verilmiştir.

Etken maddelerin zamandan bağımsız ölçüm (genel ortalama) değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $f=109.717$ ,  $p<0.001$ ). Farklılığın nedeni Bonferroni post-hoc testi ile araştırılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo II'de verilmiştir.

Tablo II incelendiğinde; klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel'in ortalama defekt çaplarındaki azalma açısından polihexsanid solüsyon ve hyaluronik asid %0.8 jelden daha kötü, oktenidin ve serumdan ise daha iyi olduğu görülmektedir. Oktenidin, polihexsanid solüsyon ve hyaluronik asid %0.8 jelden, defekt çaplarındaki azalma açısından daha kötü iken, serum ile istatistiksel olarak farklı olmayan etkiye sahiptir. Polihexsanid solüsyon, hyaluronik asid %0.8 jele göre defekt çaplarında daha çok azalma etkisine sahipken, hyaluronik asid %0.8 jel de serumdan daha etkilidir. Tabloda ayrıca ikili karşılaştırmalarda oluşan farklılıkların %95 güven düzeyinde en az ve en çok hangi değerleri alabilecekleri gösterilmiştir.

Zaman/etken madde etkileşimi, tıpkı zamanlar ve etken maddeler arasındaki farklılıklar gibi istatistiksel olarak önemlidir ( $f=9.140$ ,  $p<0.001$ ). Kullanılan etken maddelerin zamana göre defekt çapında gerçekleştirdiği değişimler ve bu değişimlerin %95 güven aralığındaki alt ve üst sınırları Tablo III'de verilmiştir.

**Tablo I.** Günlere göre defekt çapları arasındaki farklılıkların karşılaştırılması

Faktör 1	Faktör 1	Ortalama farkı	p değeri	Ortalama farkı için %95 güven aralığı	
				Alt limit	Üst limit
3. gün	7. gün	0.387	<0.001	0.298	0.475
	14. gün	1.073	<0.001	0.997	1.149
	21. gün	1.645	<0.001	1.562	1.728
7. gün	14. gün	0.686	<0.001	0.623	0.750
	21. gün	1.258	<0.001	1.216	1.301
14. gün	21. gün	0.572	<0.001	0.522	0.622

**Tablo II.** Etken maddelerin Bonferroni karşılaştırmaları

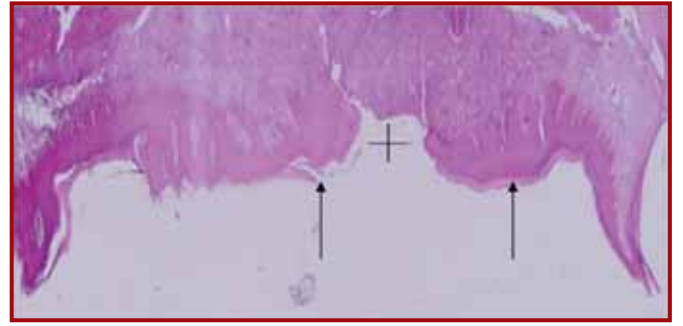
Faktör 1	Faktör 1	Ortalama farkı	p değeri	Ortalama farkı için %95 güven aralığı	
				Alt limit	Üst limit
Klorheksidin	Oktenidin	-0.193	0.001	-0.314	-0.071
	Poliheksanid	0.322	<0.001	0.209	0.436
	Hyaluronik asid	0.172	0.002	0.059	0.286
	Serum	-0.234	<0.001	-0.347	-0.120
Oktenidin	Poliheksanid	0.515	<0.001	0.401	0.628
	Hyaluronik asid	0.365	<0.001	0.251	0.478
	Serum	-0.041	1.000	-0.155	0.072
Poliheksanid	Hyaluronik asid	-0.150	0.003	-0.255	-0.045
	Serum	-0.556	<0.001	-0.661	-0.451
Hyaluronik asid	Serum	-0.406	<0.001	-0.511	-0.301

**Tablo III. Etken madde uygulanan yaraların günlere göre defekt çapı ortalamaları**

Etken madde	Ölçüm zamanı	Ortalama	% 95 güven aralığı	
			Alt limit	Üst limit
Klorheksidin	3. gün	2.487	2.344	2.629
	7. gün	2.077	2.016	2.137
	14. gün	1.197	1.115	1.279
	21. gün	0.807	0.763	0.850
Oktenidin	3. gün	2.647	2.504	2.789
	7. gün	2.223	2.163	2.284
	14. gün	1.580	1.498	1.662
	21. gün	0.887	0.843	0.930
Poliheksanid	3. gün	2.083	1.959	2.206
	7. gün	1.698	1.645	1.750
	14. gün	1.003	0.931	1.074
	21. gün	0.495	0.457	0.533
Hyaluronik asid	3. gün	2.300	2.177	2.423
	7. gün	1.890	1.837	1.943
	14. gün	1.083	1.011	1.154
	21. gün	0.605	0.567	0.643
Serum	3. gün	2.505	2.382	2.628
	7. gün	2.200	2.147	2.253
	14. gün	1.795	1.724	1.866
	21. gün	1.003	0.965	1.040

Tablo III incelendiğinde klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel etken maddesinde 3. gün sonunda ortalama defekt çapı 2.487 mm iken, bu ölçüm değerinin %95 güven aralığı 2.344–2.629 mm olarak belirlenmiştir. Bu bilgilerden defekt çapındaki azalma üzerine en iyi etkiden en kötüye doğru sıralayacak olursak, sırasıyla poliheksanid solüsyon, hyaluronik asid %0.8 jel, oktenidin ve serum olduğu izlenmektedir.

Tablo IV incelendiğinde 21. gün defekt çapındaki azalma miktarı en yüksek poliheksanid solüsyon grubunda görülürken (Şekil 4), hyaluronik asid %0.8 jel



**Şekil 4.** Poliheksanid solüsyon kullanılan deney grubunda 21. gün histolojik kesiti (HEEx20) (+: defekt bölgesi, oklarla gösterilen bölge: epitel)

yine ikinci sırada yer almaktadır. Defekt çapındaki azalma miktarına göre diğer etken maddeler ise sırası ile klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel, oktenidin ve serum olarak gözlenmiştir.

Defekt çapındaki azalma miktarları zamana göre bakıldığında, en fazla azalma 0-3. günler arasında (ortalama  $1.596 \pm 0.207$  mm) olmaktadır. Defekt çapının azalma hızı 3 ile 7. günler arasında azalmakta (ortalama  $0.384 \pm 0.220$  mm), 7-14. günler arasında tekrar hızlanmakta (ortalama  $0.684 \pm 0.341$  mm) ve 14. günden itibaren yeniden yavaşlamaktadır (ortalama  $0.570 \pm 0.209$  mm).

**Histopatolojik bulgular:** Sıfırıncı günde alınan örneklerde, doku kaybı olan bölgede, taze kanama bulguları, konjesyon, ödem ve hafif şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 2). Üçüncü günden itibaren, taze granülasyon dokusu oluşumu, hafif şiddette fibroblastik aktivite artışı ve genç granülasyon dokusu oluşumu izlendi. Bu bulgular 7. ve 14. günlerde artarak devam etmekteydi. Yirmi birinci günde, yara altında aktif fibroblast sayısı azalmış, kollajen miktarı artmıştı. Bütün örneklerde, iyileşme süresi arttıkça epitelle örtülü olmayan defektin tedrici olarak azaldığı dikkati çekmekteydi. Bu azalma poliheksanid solüsyon ve hyaluronik asid %0.8 jel grubunda diğer iki çalışma grubu ve kontrol grubuna göre daha fazlaydı.

## Tartışma

Çalışmamızda; oral bölgede, sekonder iyileşmekte olan, eksizyonel bir yaranın iyileşmesi üzerine değişik

**Tablo IV. 21. gün deney gruplarındaki defekt çapları değişimi farklılıkları**

Etken madde	Oktenidin		Poliheksanid		Hyaluronik asid		Serum	
	Fark	p değeri	Fark	p değeri	Fark	p değeri	Fark	p değeri
Klorheksidin	-0.091	0.046	0.312	<0.001	0.202	<0.001	-0.196	<0.001
Oktenidin			0.403	<0.001	0.293	<0.001	-0.105	0.009
Poliheksanid					-0.110	0.006	-0.508	<0.001
Hyaluronik asid							-0.398	<0.001

antimikrobiyal ajanların etkileri deneysel hayvan modelinde değerlendirilmiştir.

Araştırmamızın histomorfometrik sonuçları zamana göre veya zamandan bağımsız olarak etken maddeler içinde doku defektinin iyileşme hızını artırıcı en iyi maddenin poliheksanid solüsyon olduğunu göstermiştir. Poliheksanid etken maddesini sırası ile hyaluronik asid %0.8 jel, klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel, oktenidin ve serum fizyolojik izlemiştir.

Yara iyileşmesi, inflamatuvar bileşenler ve mikroorganizmaların etkili olduğu kompleks bir olaydır. Üç fazdan oluşur: inflamasyon, re-epitelizasyon-granülasyon doku oluşumu ve matriks oluşumu-doku şekillenmesidir (16).

Oral cerrahide yara bölgesi primer ya da sekonder iyileşme ile rejenere olmaktadır. İki yara dudağı arasındaki yaklaşılamayacak kadar geniş bir aralık mevcut olan yaraların iyileşmesi, sekonder iyileşme ile olur. İlk olarak yara bölgesindeki kanamayı takiben bir pıhtı formasyonu oluşur ve defekt bölgesi granülasyon dokusu ile dolar. Bu aşamada, yara kenarlarında ve yara merkezinde akut inflamatuvar reaksiyon, fibroblastik proliferasyon ve kapiller vaskülarizasyon meydana gelir. Yara yüzeyinde ise epitelyal mitoz ve migrasyon olurken, alttaki granülasyon dokusunda da çoğalma meydana gelir. Bu granülasyon dokusu yüzeye varınca kadar yara kenarlarındaki epitel hücreleri yara yüzeyini tam olarak kapatamazlar. Oluşan bu granülasyon dokusu içindeki fibroblastların kontraksiyonu sonucu, yara kontraksiyonu meydana gelir ve defektin kapanması sağlanır (17). Çalışmamızdaki histolojik bulgular bu verilerle benzerlik göstermekteydi. Yara oluşumunu takiben taze kanama bulguları ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi. Üçüncü günden itibaren oluşmaya başlayan granülasyon dokusu oluşumu, devam eden günlerde artarak izlenmiştir. Yara yüzeyini çevreleyen epitel açıklığının zamana göre azaldığı belirlenmiştir.

Polyhexanide (polyaminopropyl biguanide, polyhexamethylene biguanide, polyhexamethylene guanide) etken maddesi uzun yıllardır değişik formlarıyla tıpta kullanılmaktadır (14,15). Özellikle kronik yaralar, yanık yaraları ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonlarının güncel tedavilerinde tercih edilmektedir (13,21). Hexyl, hydrocarbon zincirleri ile bağlantılı biguanide grubundan bir polimerdir. Çok düşük dozlarda dahi (10 mg/l) bakterisidal ve fungisidal özelliklere sahiptir. Bakteri hücre duvarına yapışmasıyla membran yapısını bozarak, geçirgenliği azaltıp, bakteri ölümünü sağlar. Ayrıca bakterilerin DNA'sına yapışarak ölümcül DNA hasarı oluşturur (22). Hem gram-pozitif, hem de gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu bir etki gösterir. İnsan hücreleri üzerinde çok düşük toksisiteye sahiptir (23). Valenzuela ve Perucho kronik

cilt yaralarında %0.1 poliheksanid jel ile yaptıkları bir çalışmada yara boyutlarında azalma, granülasyon dokusu oluşumunda artış, bakteriyel biyofilm tabakada azalmayı serum fizyolojiğe göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazla gözlemlemişlerdir (14). Başka bir çalışmada Kalteis ve ark. oktenidin, %0.5'lik klorheksidin glukonat ve %0.2'lik poliheksanidin de içinde olduğu farklı maddelerin doku toksisitelelerini incelemişlerdir (24). En yüksek toksisiteyi %0.5'lik klorheksidin glukonat (İrritasyon skoru: 20) gösterirken, oktenidin (İrritasyon skoru: 14) de onu takip etmiştir. Şaşırtıcı olarak %0.2'lik poliheksanidin 0 irritasyon skoru göstermesiyle doku uyumu en yüksek maddelerden biri olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda poliheksanid solüsyonun doku defekti çapındaki azalmaya en iyi etkiyi gösteren madde olmasını, antibakteriyel etkisinin yanı sıra çok yüksek doku uyumuna sahip olmasıyla açıklayabiliriz.

Rosin ve ark. oral gargaraların bakteriler etkileri üzerine yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada poliheksanidin dental plağın tekrar oluşumunu inhibe ettiği, oral bakteri miktarını azalttığı, ancak %0.12'lik CHX ile karşılaştırıldığında, CHX'inin poliheksanide göre daha etkili bir antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir (25). Daha önceki çalışmalarda da yaradaki bakteri sayısının azaltılmasının yara iyileşmesine olumlu etkisi vurgulanmıştır (18,19). Bununla birlikte, bizim çalışmamızda poliheksanid solüsyon uygulanan yaralarda defekt çapındaki azalmanın, klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel uygulanan yaralara göre daha hızlı gerçekleştiği görüldü. Bu durumu açık yarada fibrin-fibronektin tabakası oluşmadan uygulanan klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jelin yara iyileşmesine olumsuz etkisi olarak değerlendirmekteyiz. Kozlovsky ve ark. oral bölgede oluşturulan deneysel bir yarada %1'lik CHX jelin epitelizasyon üzerine etkilerini, kullandıkları diğer deney materyallerine göre daha iyi bulmuşlardır (4). Ancak bizim çalışmamızda poliheksanid solüsyon ile hyaluronik asid %0.8 jelin defekt çapındaki azalmaya etkisi, klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jelden daha yüksek seviyede bulunmuştur.

Klorheksidin plak birikimini engellemesinin yanında PMNL (26), makrofajlar (27), sperm hücreleri (28), epitelyal hücreler, eritrosit (29) ve gingival fibroblastlar (30-32) gibi çeşitli hücre tipleri üzerinde toksik etkileri olduğu ve oral kavitedeki cerrahi yaralar üzerinde iyileşmede gecikme ve değişikliklere (33) neden olabileceği bilinmektedir. Mariotti ve Rumpf, doza ve konsantrasyona bağlı klorheksidin gingival fibroblastların kollajen ve non-kollajen protein üretimini azaltarak hücre proliferasyonunu etkilediğini in vitro bir çalışmada tespit edip, cerrahi yaralarda iyileşmeyi negatif yönde etkileyebileceğini göstermişlerdir (34).

Hyaluronate veya hyaluronan olarak da adlandırılan hyaluronik asid, birçok dokunun ekstraselüler matrisinde bulunan, yüksek molekül ağırlığında (10000-10000000 dalton) bir proteoglikandır (11,12,35). Doku tamiri esnasında hücre göçünü kolaylaştırır (11,36). Pirnazar ve ark. yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asidin, P. gingivalis ve A. actinomycesemcomitans dahil farklı birçok bakteri türü üzerinde bakteriyostatik etkisini göstererek, periodontolojide yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda kombine kullanımının cerrahi yaradaki bakteriyel kontaminasyonu en aza indirerek fayda sağlayabileceğini ortaya koymuşlardır (12). Bizim çalışmamızda da %0.8'lik hyaluronik asid jelin, poliheksanid solüsyondan sonra, bütün günlerdeki ölçümlerde klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel, oktenidin ve serum fizyolojikten daha yüksek oranda defekt çapındaki azalmayı hızlandırarak yara iyileşmesine fayda sağladığı izlendi.

Kramer ve ark.nın yaptığı deneysel bir hayvan çalışmasında poliheksanid ve oktenidin oluşturulan standart cilt yaralarındaki iyileşmeye etkileri incelenmiştir (13). Oktenidin iyileşmenin erken evresi olan 9. günde yara kontraksiyonunu poliheksanid ve plaseboya göre anlamlı derecede geciktirmiş, tam yara kapanma süreleri incelendiğinde poliheksanide göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha geç tam yara rejenerasyonu sağlamıştır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmanın sonuçlarıyla benzer bir şekilde; 21. gün deney gruplarındaki defekt çapları değişimi farklılıkları incelendiğinde (Tablo 4), poliheksanid solüsyon ve oktenidin arasında istatistiksel olarak anlamlı (<0.001) farklılık tespit edilmiştir.

Histolojik ve histomorfometrik çalışmaların sonuçlarına baktığımız zaman, epitelyal hücre proliferasyonunun yaranmadan sonraki 48-72. saatlerde maksimum olduğu görülmektedir (19,20). Bu çalışmada da, literatür bilgisiyle uyumlu olarak, zamana göre bakıldığında en yüksek defekt çapındaki azalma oranlarının 0-3. günler arasında (ortalama  $1.596 \pm 0.207$  mm) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçların ışığında; çalışmamızda kullanılan antibakteriyel ajanlarının tümünün yara yeri iyileşmesi üzerine olumsuz bir etkisinin bulunmadığını düşünmekteyiz.

Bu çalışmanın sonuçları antimikrobiyal ajanların topikal uygulamalarının sekonder iyileşmeye bırakılan donör bölgedeki iyileşme sürecini bozmadığını ortaya koymuştur. Çalışmamızda defekt çapındaki en yüksek azalma oranı, başlangıca göre %87.61 değişim oranıyla poliheksanid solüsyon kullanılan grupta görüldü. Bu sonuçları sırasıyla; %84.66 değişim oranıyla hyaluronik asid %0.8 jel, %79.80 değişim oranıyla klorheksidin diglukonat (CHX) %1 jel ve %77.80 değişim oranıyla oktenidin izledi.

Poliheksanid solüsyonun gerek antibakteriyel etkisi, gerekse de yüksek doku uyumu sayesinde başta periodontal cerrahi uygulamalar olmak üzere yara iyileşmesine faydalı etkileri olduğunu ve sekonder iyileşmeye bırakılan periodontal cerrahilerde doku defekti çaplarındaki azalmayı hızlandırarak, operasyon sonrası semptomların hafifletilmesi ve böylelikle hasta konforunun artırılabilirliğini düşünmekteyiz.

## Kaynaklar

1. Hamp R, Lindhe J. Effect of chlorhexidine on gingival wound healing in the dog. J Clin Periodontol 1975; 2: 143-146.
2. Zambon JJ, Ciancio SG, Mathert ML, Charles CH. The effect of an antimicrobial mouthrinse on early healing of gingival flap surgery wounds. J Periodontol 1989; 60: 31-34.
3. Welk A, Splieth CH, Schimidt G, et al. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlohexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth. J Clin Periodontol 2005; 32: 499-505.
4. Kozlovsky A, Artzi Z, Hirshberg A, Tobias CI, Reich L. Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: a clinical and histomorphometric study in rats. J Clin Periodontol 2007; 34: 164-171.
5. Horwitz J, Machtei EE, Peled M, Laufer D. Amine fluoride/stannous fluoride and chlorhexidine mouthwashes as adjuncts to surgical periodontal therapy: a comparative study. J Periodontol 2000; 71: 1601-1606.
6. Farnoush A. Techniques for the protection and coverage of the donor sites in free soft tissue grafts. J Periodontol 1978; 49: 403-405.
7. Pitten FA, Kramer A. Antimicrobial efficacy of antiseptic mouthrinse solutions. Eur J Clin Pharmacol 1999; 55: 95-100.
8. Nobre AM, Cintra N, Maló P. Peri-implant maintenance of immediate function implants: a pilot study comparing hyaluronic acid and chlorhexidine. Int J Dent Hyg 2007; 5: 87-94.
9. Aslan M, Simsek G, Dayi E. The effect of hyaluronic acid-supplemented bone graft in bone healing: experimental study in rabbits. J Biomater Appl 2006; 20: 209-220.
10. Prato GP, Rotundo R, Magnani C, Soranzo C, Muzzi L, Cairo F. An autologous cell hyaluronic acid graft technique for gingival augmentation: a case series. J Periodontol 2003; 74: 262-267.
11. Engström PE, Shi XQ, Tronje G, et al. The effect of hyaluronan on bone and soft tissue and immune response in wound healing. J Periodontol 2001; 72: 1192-1200.
12. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Piloni A, Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. J Periodontol 1999; 70: 370-374.
13. Kramer A, Roth B, Müller G, Rudolph P, Klöcker N. Influence of the antiseptic agents polyhexanide and octenidine on FL cells and on healing of experimental superficial aseptic wounds in piglets. A double-blind, randomised, stratified, controlled, parallel-group study. Skin Pharmacol Physiol 2004; 17: 141-146.

14. Valenzuela AR, Perucho NS. The effectiveness of a 0.1% polyhexanide gel. *Rev Enferm* 2008; 31: 7-12.
15. Horrocks A. Prontosan wound irrigation and gel: management of chronic wounds. *Br J Nurs* 2007; 10: 1222-1224.
16. Robson MC, Stenberg BD, Hegggers JP. Wound healing alterations caused by infection. *Clin Plast Surg* 1990; 17: 485-492.
17. Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. *Basic Pathology*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1992: 25-60.
18. Laato M, Niinikoski J, Lundberg C. Inflammatory reaction and blood flow in experimental wounds, inoculated with staphylococcus aureus. *Eur Surg Res* 1988; 20: 33-42.
19. Orgil D, Demling RH. Current concepts and approaches to wound healing. *Crit Care Med* 1989; 16: 899-904.
20. Hunt TK. The physiology of wound healing. *Ann Emerg Med* 1988; 17: 899-908.
21. Rietkötter J, Körber A, Grabbe S, Dissemond J. Eradication of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a chronic wound by a new polyhexanide hydrogel. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007; 21: 1416-1417.
22. Allen MJ, White GF, Morby AP. The response of Escherichia coli to exposure to the biocide polyhexamethylene biguanide. *Microbiology* 2006; 152: 989-1000.
23. Rosin M, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A, Kramer A, Pitten FA. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 392-399.
24. Kalteis T, Luring C, Schaumburger J, Perlick L, Bathis H, Grifka J. Tissue toxicity of antiseptics. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2003; 141: 233-238.
25. Rosin M, Welk A, Bernhardt O, et al. Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 1121-1126.
26. Kenny EB, Saxe SR, Bowles RD. Effect of chlorhexidine on human polymorphonuclear leucocytes. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 1633-1636.
27. Knuuttila M, Soederling E. Effect of chlorhexidine on the release of lysosomal enzymes from cultured macrophages. *Acta Odontol Scand* 1981; 39: 285-289.
28. Lois SM, Pearson RM. A comparison of the effects of nonoxynol-9 and chlorhexidine on sperm motility. *Contraception* 1985; 32: 199-205.
29. Helgeland K, Heyden G, Rolla G. Effect of chlorhexidine on animal cells in vitro. *Scand J Dent Res* 1971; 79: 209-215.
30. Alleyn CD, O'Neal RB, Strong SL, Scheidt MJ, Van Dyke TE, McPhearson JC. The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblast in vitro. *J Periodontol* 1992; 62: 434-438.
31. Cline NV, Layman DL. The effects of chlorhexidine on the attachment and growth of cultured human periodontal cells. *J Periodontol* 1992; 63: 598-602.
32. Pulcher JJ, Daniel JC. The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 1992; 63: 526-532.
33. Bassetti C, Kallenberg A. Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesions. *J Clin Periodontol* 1980; 7: 443-456.
34. Mariotti AJ, Rumpf DAH. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol* 1999; 70: 1443-1448.
35. Yi Xu, Höfling K, Fimmers R, Frentzen M, Jervøe-Storm PM. Clinical and microbiological effects of topical subgingival application of hyaluronic acid gel adjunctive to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004; 75: 1114-1118.
36. Stamenkovic I, Aruffo A. Hyaluronic acid receptors. *Meth Enzymol* 1994; 245: 195-216.