

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**KIRMIZI VE KIZILÖTESİ IŞIĞIN HİPOKLORÖZ ASİT KOMBİNE
UYGULAMALARININ İLE KERATİNOSİT (HACAT) VE FİBROBLAST HÜCRE HATTI
(HUMAN DERMAL FİBROBLAST HDFA) ÜZERİNDE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BETÜL ŞAHİN

DENİZLİ, ARALIK - 2021

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



**KIRMIZI VE KIZILÖTESİ IŞIĞIN HİPOKLORÖZ ASİT KOMBİNE UYGULAMALARININ İLE
KERATİNOSİT (HACAT) VE FİBROBLAST HÜCRE HATTI (HUMAN DERMAL FİBROBLAST
HDFA) ÜZERİNDE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BETÜL ŞAHİN

DENİZLİ, ARALIK - 2021

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

BETÜL ŞAHİN

ÖZET

KIRMIZI VE KIZILÖTESİ IŞIĞIN HİPOKLORÖZ ASİT KOMBİNE UYGULAMALARININ İLE KERATİNOSİT (HACAT) VE FİBROBLAST HÜCRE HATTI (HUMAN DERMAL FİBROBLAST HDFA) ÜZERİNDE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BETÜL ŞAHİN

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. AHMET KOLUMAN)

DENİZLİ, ARALIK - 2021

Bu çalışmanın amacı kırmızı LED ışık, infrared LED ışık ve hipokloröz asidin iki farklı hücre tipi üzerindeki in vitro etkilerini araştırmaktır. Çalışmada uygulama için düşük maliyetli ve taşınabilir optik düzenek hazırlanmıştır. Keratinosit hücre hattına (HaCaT) ve fibroblast hücre hattına (BJ) kırmızı ışık, infrared ışık, hipokloröz asit ve bu ışıkların hipokloröz asit ile kombinasyonu uygulanmıştır. Deneyin sonunda keratinosit ve fibroblast hücreleri uygulamalara farklı tepki gösterdi. Keratinosit hücrelerinde 48 ve 72 saat sonra artış gözlemlenirken fibroblast hücrelerinin üremelerinde azalma gerçekleşti.

Fotobiyomodülasyonun yara iyileşmesini destekleme kabiliyeti, hücrelerin üremesindeki artışa bağlıdır. Elde ettiğimiz veriler ile sağlık alanlarında yara iyileşmesine katkı yapabileceğini düşünmekteyiz.

ANAHTAR KELİMELELER: Yara iyileşmesi, hipokloröz asit, fototerapi, LED

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF RED AND INFRARED LIGHT ON KERATINOCYTE (HACAT) AND FIBROBLAST CELL LINE (HUMAN DERMAL FIBROBLAST HDFA) COMBINED WITH HYPOCHLOROUS ACID APPLICATION

**MSC THESIS
BETÜL ŞAHİN**

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
BIOMEDICAL ENGINEERING DEPARTMENT**

(SUPERVISOR:PROF. DR. AHMET KOLUMAN)

DENİZLİ, DECEMBER 2021

The aim of this study is to investigate the in vitro effects of red LED light, infrared LED light and hypochlorous acid on two different cell types. In the study, a low-cost and portable optical device was prepared for irradiation. Red light, infrared light, hypochlorous acid and the combination of these lights with hypochlorous acid were applied to the keratinocyte cell line (HaCaT) and fibroblast cell line (BJ). At the end of the experiment, keratinocyte and fibroblast cells reacted differently to the treatments. An increase was observed in keratinocyte after 48 and 72 hours, while a decrease in the fibroblast cells.

The ability of photobiomodulation to promote wound healing is due to increased proliferation of cells. We think that the data we have obtained can help to wound healing in health fields.

KEYWORDS: Wound healing, hypochlorous acid, phototherapy, LED

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Yara Nedir?	1
1.2 Yara Çeşitleri	1
1.2.1 Açık Yaralar	2
1.2.1.1 Kesik (İnsizyon) Yara	3
1.2.1.2 Sıyrık (Abrasyon) Yara	3
1.2.1.3 Yırtık (Laserasyon) Yara.....	3
1.2.1.4 Delici Yara	3
1.2.1.5 Avülsiyon Yara	4
1.2.2 Kronik Yaralar	4
1.2.2.1 Diyabetik Yaralar	4
1.2.2.2 Bası Yaraları	4
1.2.2.3 Venöz Ülserler	5
1.2.2.4 Arteriyel Ülserler	5
1.2.3 Yanık Yaraları.....	5
2. YARA TEDAVİSİNDE BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ	
YAKLAŞIMLARI	6
2.1 Yara İyileşmesi	6
2.2 Yara İyileşmesinin Önemi	6
2.3 Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Faktörler	7
2.3.1 Büyüme Faktörleri ve Sitokinler.....	7
2.3.2 Diğer Faktörler.....	8
2.4 Yara İyileşmesinin Evreleri	9
2.4.1 Hemostaz	9
2.4.2 İnflamasyon Fazı	10
2.4.3 Proliferasyon Fazı	11
2.4.4 Remodelizasyon (Maturasyon) Fazı	11
2.5 Yara İyileşmesinde Kullanılan Yöntemler	11
2.5.1 Geleneksel Yaklaşımlar	11
2.5.2 Güncel Yaklaşımlar	12
2.5.2.1 Negatif Basınçlı Yara Tedavisi	12
2.5.2.2 Hiperbarik Oksijen Tedavisi	13
2.5.2.3 Modern Yara Örtüleri.....	13
2.5.2.4 Elektrik Stimülasyonu	13
2.5.2.5 Ozon Tedavisi	13
2.5.2.6 Ultrason	14
2.5.2.7 Fotobiyomodülasyon	14
2.6 Hipokloröz Asit	19

3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1 Gereç	20
3.1.1 Hücre Kültürü	20
3.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	20
3.1.2.1 Fetal Sığır Serum (FBS) (HyClone).....	20
3.1.2.2 Penicilin Streptomysin (Pen Strep) (Gibco)	20
3.1.2.3 Dulbecco'S Modified Eagle'S Medium (DMEM) (HyClone).....	21
3.1.2.4 Tripsin -EDTA (0.25 %) (With Phenol Red)	21
3.1.2.5 Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS)	22
3.1.3 Elektronik Devre Malzemeleri	22
3.1.2.1 Arduino Uno	22
3.1.2.2 Kırmızı LED	22
3.1.2.3 Infrared (IR-Kızılötesi) LED	23
3.2 Yöntem	23
3.2.1 Hücre Kültürü Basamakları	23
3.2.2 Devre Tasarımı	25
3.2.2.1 Bağlantılar	25
3.2.2.2 Yazılım	27
3.2.3 Uygulama	27
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
7. KAYNAKLAR	51
8. EKLER	58
EK A 58	
9. ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Yara iyileşmesi aşamaları ve bu aşamalarda görev alan hücreler	9
Şekil 2.2: Dalga boylarının doku penetrasyon derinlikleri	14
Şekil 2.3: Fotonların mitokondriyal elektron taşıma zinciri üzerindeki etkileri	16
Şekil 2.4: Işık yayan diyotun şematik gösterimi	18
Şekil 3.1: Infrared ve kırmızı ışık kaynakları.....	25
Şekil 3.2: Bağlantı şeması	26
Şekil 3.3: Led'in çalışma prensibi.....	27
Şekil 3.4: Akış şeması	27
Şekil 3.5: Kuyucuklu plaklara ekilen hücrelerin görüntüsü.....	31
Şekil 3.6: Hücre kültürlerine kırmızı ve infrared ışığın uygulanması.....	31
Şekil 3.7: Hücre sayımı için eppendorf tüpünde hazırlanan karışımlar	32
Şekil 3.8: Karışımın thoma lamına aktarılmış görüntüsü	32
Şekil 3.9: Thoma lamının üzerinde bulunan kareler	32
Şekil 4.1: Keratinosit hücre kültüründe kırmızı ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	34
Şekil 4.2: Keratinosit hücre kültüründe kırmızı ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	35
Şekil 4.3: Keratinosit hücre kültüründe infrared ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	37
Şekil 4.4: Keratinosit hücre kültüründe infrared ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	38
Şekil 4.5: Fibroblast hücre kültüründe kırmızı ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	40
Şekil 4.6: Fibroblast hücre kültüründe kırmızı ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	41
Şekil 4.7: Fibroblast hücre kültüründe infrared ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	43
Şekil 4.8: Fibroblast hücre kültüründe infrared ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)	44

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Yara çeşitleri.....	1
Tablo 1.2: Yara çeşitleri ve özellikleri.....	2
Tablo 2.1: Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinler.....	7
Tablo 2.2: Yara iyileşmesinde rol oynayan diğer faktörler.....	8
Tablo 3.1: Penicilin streptomysin (Pen Strep) içeriği.....	20
Tablo 3.2: Dulbecco'S modified eagle's medium (DMEM) içeriği.....	21
Tablo 3.3: Arduino uno özellikleri.....	22
Tablo 3.4: Kırmızı led teknik özellikleri.....	23
Tablo 3.5: Infrared led teknik özellikleri.....	23
Tablo 3.6: Flasklara eklenen kimyasallar ve miktarları.....	25
Tablo 3.7: Kontrol grupları uygulama parametreleri.....	28
Tablo 3.8: Keratinosit hücrelere kırmızı ışık uygulama parametreleri.....	28
Tablo 3.9: Fibroblast hücrelere kırmızı ışık uygulama parametreleri.....	29
Tablo 3.10: Keratinosit hücrelere infrared ışık uygulama parametreleri.....	29
Tablo 3.11: Fibroblast hücrelere infrared ışık uygulama parametreleri.....	30
Tablo 4.1: Hipokloröz asit ekli kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	36
Tablo 4.2: Hipokloröz asit içermeyen kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	36
Tablo 4.3: Hipokloröz asit ekli infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	39
Tablo 4.4: Hipokloröz asit içermeyen infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	39
Tablo 4.5: Hipokloröz asit ekli kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	42
Tablo 4.6: Hipokloröz asit içermeyen kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	42
Tablo 4.7: Hipokloröz asit ekli infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	45
Tablo 4.8: Hipokloröz asit içermeyen infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları.....	45

SEMBOL LİSTESİ

TGF-α	:	Transforming Growth Factor Alpha
TGF-β	:	Transforming Growth Factor Beta
PDGF	:	Platelet Derived Growth Factor
EGF	:	Epidermal Growth Factor
FGF	:	Fibroblast Growth Factor
TNF-α	:	Tumor Necrosis Factor
IL-1	:	İnterlökin-1
IL-2	:	İnterlökin-2
IL-6	:	İnterlökin-6
IL-8	:	İnterlökin-8
BJ	:	Fibroblast Hücre Hattı
HaCaT	:	Keratinosit Hücre Hattı
FBS	:	Fetal Bovine Serum
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
DMEM	:	Dulbecco'S Modified Eagle'S Medium
EDTA	:	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
DMSO	:	Dimetil Sülfoksit
CO₂	:	Karbondioksit
LED	:	Light Emitting Diode
R²	:	Belirleme Katsayı Değeri
T-25	:	25 cm ² Hücre Kültürü Flaskları
T-75	:	75 cm ² Hücre Kültürü Flaskları
IU	:	International Unit
atm	:	Atmosfer Birimi
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
PBM	:	Photobiomodulation - Fotobiyomodülasyon
GETAT	:	Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp
ATP	:	Adenozin Trifosfat
CCO	:	Cytochrome C-Oxidase - Sitokrom C-Oksidaz
NIR	:	Near Infrared Light – Yakın İnfrared Işık
UV	:	Ultraviyole
HOCl	:	Hipokloröz Asit Formülü

ÖNSÖZ

Yaralanma, gündelik yaşamda insanların sık karşılaştığı sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Yaralarda iyileşmeyi engelleyen sebeplerin bulunması ve bu sebeplerin ortadan kaldırılması iyileşme sürecinin hızlandırılmasına yardımcı olmaktadır. Ancak yaşlı nüfusun artması, sağlık kuruluşlarına uzak yaşayan insanların sağlık hizmetine ulaşamaması, sağlık harcamalarındaki artışların olması ve kompleks hastalardaki iyi yönetilemeyen yaralar, bir süre sonra kronik yaranın gelişmesine yol açabilmekte veya yara enfeksiyon kaparak iyileşme süresini uzatmaktadır.

Günümüzde bu sosyal ve mali yükün ortadan kaldırılması ve hafifletilmesi için, bu yaraları değerlendirecek, teşhis ve tedavi için süreci kolaylaştıracak yenilikçi teknolojiler kullanılmaya başlanmıştır.

Çalışmamızda yara iyileşme sürecinde önemli rol oynayan hücreler üzerinde olumlu sonuçlar elde edilen, LED teknolojisi kullanılan taşınabilir optik düzenek tasarlanmıştır.

Bu tez çalışmasında ve yüksek lisans boyunca bana hiçbir desteğini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Ahmet KOLUMAN'a, çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE'ye, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Mücahit SEÇME'ye, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Hatice Şiyzen ÇOBAN'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Elif ÖNDER'e ve Batuhan AKILLI arkadaşşıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

1.1 Yara Nedir?

Deri, yüzey alanı bakımından insan vücudunda bulunan en büyük organdır. Deriler iç organları ve dokuları sıcaklıktan, enfeksiyondan ve mekanik hasardan korumaktadır (Prasetyono 2009). Fakat kimyasal, fiziksel veya hastalıklar gibi farklı nedenlerle deri bütünlükleri bozulmakta ve tahrip olmaktadır. Bunun sonucunda ise dokuların ya da organların fizyolojik özellikleri tamamen veya geçici olarak kaybolmaktadır. Bu durum yara olarak tanımlanmaktadır. Ciltte yaralanmanın şiddetine ve yaralanan bölgenin özelliğine göre farklı derecelerde yaralar oluşabilmektedir. Yaralarda derinliğin artması iç organların ve dokuların etkilenme oranını artırmaktadır (Rodrigues ve diğ. 2018, Kurtoğlu ve Karataş 2009). Bunun yanı sıra yaraların sağlık ekonomisi üzerinde de önemli etkisi bulunmaktadır. Sadece Amerika'da iyileşmeyen yaralar için yaklaşık 50 milyar dolar, cerrahi yaralar için yaklaşık 12 milyar dolar ve yanıklar için de yaklaşık her yıl 7,5 milyar dolarlık maliyet oluşmaktadır (Rodrigues ve diğ. 2018)

1.2 Yara Çeşitleri

İnsanlar günlük aktivitelerini gerçekleştirirken yaşamları boyunca farklı türde yaralar oluşabilmektedir. Yaralar özelliklerine ve sebeplerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Yaraların çeşitleri ve yaraların özellikleri **Tablo 1.1** ve **Tablo 1.2**'de belirtilmiştir.

Tablo 1.1: Yara çeşitleri (Web Anonim 1 2021)

İyileşme süresine göre	Deri bütünlüğüne göre	Kontamine durumuna göre
<ul style="list-style-type: none">• Akut yaralar• Kronik yaralar	<ul style="list-style-type: none">• Açık yaralar• Kapalı yaralar	<ul style="list-style-type: none">• Temiz yaralar• Temiz-kontamine yara• Kontamine yaralar• Kirli yara

Tablo 1.2: Yara çeşitleri ve özellikleri (Web Anonim 1 2021, Web Anonim 2 2020)

Akut yaralar	İyileşmeyi engelleyen faktörlerin az olduğu ve öngörülen sürede uygun şekilde iyileşen yara çeşitleridir.
Kronik yaralar	İyileşmeyi engelleyen faktörlerin çok ve devamlı olması nedeniyle beklenilenden yavaş iyileşen yara çeşitleridir.
Açık yaralar	Deri bütünlüğünün bozulduğu yara çeşitleridir.
Kapalı yaralar	Deri bütünlüğünün bozulmadığı yara çeşitleridir. Fakat yaralı doku açığa çıkmasa bile deri yüzeyinin altında doku hasarı ve kanamalar meydana gelmektedir. Bu tip yaralara genellikle künt travma neden olmaktadır.
Temiz yaralar	Cerrahi ameliyat yaraları gibi patojen mikroorganizmanın olmadığı yaralardır.
Temiz-kontamine yaralar	Sindirim, solunum ve ürogenital sistemlerin cerrahi yöntemlerle açılması sonucu oluşan yaralardır.
Kontamine yaralar	Mikroorganizmaların bulunduğu açık yara çeşitleridir.
Kirli yaralar	Yaralarda enfeksiyon belirtilerinin görüldüğü yaralardır.

1.2.1 Açık Yaralar

Açık yaralar, vücudun iç dokusunun dış ortama maruz bırakılmasıyla oluşan yara çeşitleridir. Genellikle keskin veya sert nesnelere içeren kazalardan kaynaklanmaktadır. Bu tip yaralanmaların kendi başına bırakılması halinde yaraların enfeksiyon riski artmaktadır (Wysocki 2002).

Açık yaralar kendi içinde farklı kategorilere ayrılmaktadır. Yara tiplerine göre bazı yaralar evde tedavi edilebilirken ciddi kanama içeren yaralar ise tıbbi destek alınarak tedavi edilmektedir.

1.2.1.1 Kesik (İnsizyon) Yara

Kesik yaralar genellikle bıçak, jilet, kırık cam gibi keskin nesnelere oluşturduğu bir yaralanma çeşididir. Bu tip yaralar derin veya yüzeysel şekilde olabilmektedir. Derin kesikler kaslara, sinirlere ve damarlara zarar verebilmektedir (Ekizoğlu ve Arıcan 2009, Web Anonim 1 2021).

1.2.1.2 Sıyrık (Abrasyon) Yara

Cildin sert, pürüzlü bir yüzeye sürtünmesi sonucu ciltte aşınma meydana gelmektedir. Bu tür yaralanmalar derin olmamaktadır. Bu nedenle kanamalar çok az olmaktadır. Ancak kir ve bakteri gibi yabancı maddelere maruz kalmış olabileceğinden yaralanan bölgenin temizlenmesi gerekmektedir (Ekizoğlu ve Arıcan 2009, Web Anonim 1 2021).

1.2.1.3 Yırtık (Laserasyon) Yara

Yırtık yaralanmalarında deride derin ve pürüzlü bir açıklık veya yırtık oluşmaktadır. Yırtılmalar genellikle makine veya diğer keskin alet içeren kazalar ve olaylardan meydana gelmektedir. Bu tür yaralanmalar ciddi kanamalara neden olabilmektedir (Ekizoğlu ve Arıcan 2009, Web Anonim 1 2021).

1.2.1.4 Delici Yara

Delici yaraları iğne, bıçak, şiş ve çivi gibi cisimlerin neden olduğu bir yaralanma çeşididir. Bu tip yaralarda çoğunlukla derinlik fazla, yüzeysel genişlik az olmaktadır. Delinme yaralarında kıymık ve iğne gibi nesnelere ile sadece dokunun dış katmanı etkilenmekteyken, bıçak veya ateşli silah yaraları derinlerde bulunan kaslara ve iç organlara zarar vermektedir ve bu da ciddi kanamalara neden olmaktadır (Marelli ve diğ. 2018, Ekizoğlu ve Arıcan 2009, Web Anonim 1 2021).

1.2.1.5 Avülsiyon Yara

Avülsiyon yaralar, derinin veya derinin altındaki dokuların kısmen veya tamamen yırtılması ile oluşan yaralardır. Bu tip yaralar genellikle motorlu araç kazaları, patlamalar, makine kazaları ve diğer travma içeren olaylar sırasında meydana gelmektedir. Bu yaralanmalarda kanama fazladır ve genellikle uzuvlar anatomik bölgelerinden ayrılmaktadır (Ekizoğlu ve Arıcan 2009, Web Anonim 1 2021).

1.2.2 Kronik Yaralar

Kronik yaralar iyileşmesi uzun zaman alan ya da hiç iyileşemeyen yara çeşitleridir. Yaklaşık üç ay gibi bir süre içerisinde iyileşmemeleri halinde bu ismi almaktadırlar. (Aktaş 2012) Akut yaraların aksine bu yaralarda iyileşmeyi engelleyen daha fazla faktör bulunmaktadır. Sinirsel, damarsal ve hücrel hastalıkların yanı sıra obezite, beslenme bozukluğu, yaş, radyoterapi, sigara kullanımı gibi faktörler bu tip yaraları kronikleştirmekte ve iyileşmesini geciktirmektedir (Sivrikaya ve Erdem 2019, Wolcott ve diğ. 2009).

1.2.2.1 Diyabetik Yaralar

Diyabet hastalarının çoğunda bu tip yaralar görülmektedir. Diyabet hastalığı yıllar içerisinde kan dolaşımına ve sinir dokularına zarar vermektedir. Buna bağlı olarak da hastaların özellikle ayaklarında kolayca yaralar açılmaktadır. Eğer diyabetik yaralar için önlem alınmazsa düzensiz kan düzeyinden dolayı yaralar enfeksiyon kapmakta, zamanla yaralar kangrene dönüşmekte ve uzuv kaybı ile sonuçlanabilmektedir (Demir ve diğ. 2004).

1.2.2.2 Bası Yaraları

Yatak yarası olarak da adlandırılmaktadır. Bası yaraları, uzun süre aynı pozisyonda yatmak veya sandalyede oturmaya bağlı olarak yumuşak dokuların basınç altında kalmasıyla oluşmaktadır. Basıncın etkisiyle dokuların dolaşımı bozulmakta ve dokularda hasar oluşmaktadır. Bası yaraları yatağa bağımlı hastalarda veya ameliyatta uzun süre pozisyonu değişmeyen hastalarda görülebilmektedir. En çok kuyruk kemiği, kalçalar, ayak bilekleri gibi kemik çıkıntılarının çevresinde ortaya çıkmaktadır (Sivrikaya ve Erdem 2019, Wolcott ve diğ. 2009).

1.2.2.3 Venöz Ülserler

Toplumda varis yarası olarak da bilinmektedir. Bu tip yaraların ağrıları hastanın yaşam kalitesini azaltabilecek düzeydedir. Venöz ülserleri daha çok ayak bileği ve çevresinde görülmektedir. Kişinin bacak toplardamarındaki kapakların yetmezliği sonucu toplardamar içerisindeki basınç artmakta ve deri altı dokunun beslenmesi bozulmaktadır (Coşkun ve diğ. 2016, Wolcott ve diğ. 2009).

Bunun sonucunda ise damar bölgesindeki dokular yapısal olarak bozulmaktadır. Bu yaralar çok zor iyileşmektedir ve hekim kontrolünde takip edilmesi gerekmektedir (Coşkun ve diğ. 2016).

1.2.2.4 Arteriyel Ülserler

Atardamarın çeşitli sebeplerle tıkanması sonucu kan dolaşımı bozulmaktadır ve dokulara yeterince kan ulaşmamaktadır. Dokuların yetersiz beslenmesi sonucu arteriyel ülserler oluşmaktadır. Kontrolsüz diyabet ve sigara arteriyel yetmezliğe neden olan faktörler arasında bulunmaktadır (Falabella ve Kirsner 2005).

1.2.3 Yanık Yaraları

Yanıklar elektrik, güneş, ısı, kimyasal madde veya radyasyon sebebiyle cildin bariyerinde bozulmalar meydana gelen bir yaralanma çeşididir. Yanıklar nüfuz ettiği deri katmanlarına göre birinci, ikinci ve üçüncü yanık şeklinde derecelendirilmiştir. Yanık yaralarında tedavi ve bakımlar, yanığın şiddetine göre değişmektedir (Sayılan ve diğ. 2018, Falabella ve Kirsner 2005).

2. YARA TEDAVİSİNDE BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMLARI

2.1 Yara İyileşmesi

Herhangi bir travma ile hasar alan dokuların sıralı biyokimyasal ve hücreyel prosesler ile fonksiyonel ve anatomik özelliklerini geri kazanması sürecine yara iyileşmesi denilmektedir. İyileşme süreci yaralanmadan hemen sonra başlamaktadır ve bu süreçte özel bir sıra takip edilerek yaralar mümkün olduğunca kısa sürede kapatılmaktadır. Yara gerilim kuvvetinin normal düzeyine getirilmesi bu süreçlerin temel amacı arasında bulunmaktadır (Baktır 2019, Topalan ve Önel 2010).

Yara iyileşme süresi yaralanan bölgeye, yaranın büyüklüğüne ve yaranın ciddiyetine göre değişiklik göstermektedir. Buna ek olarak radyoterapi, kemoterapi, büyüme faktörleri ve sitokinler, genetik bozukluklar, beslenme gibi faktörler de yara iyileşmesini etkilemektedir. Yara iyileşmesinin uzun sürmesi yaralarda enfeksiyon riskini artırmaktadır. Sağlıklı bir yara iyileşmesi için, dokunun iyi beslenmesi ve nemlenmesi gerekmektedir (Baktır 2019, Köklü ve Çankal 2013).

2.2 Yara İyileşmesinin Önemi

Sağlık uzmanları, yara iyileşme sürecinin kompleks yapısını ve hasta çeşitliliğini dikkate alarak uygun tedavi yöntemini ve bakımını seçmesi gerekmektedir. Tedavilerde yaralarda iyileşmeyi engelleyen sebepleri bulmak ve bu sebepleri ortadan kaldırmak iyileşme sürecini hızlandırmaktadır. Ancak kompleks hastalardaki iyi yönetilemeyen yaralar, bir süre sonra kronik yaranın gelişmesine yol açabilmekte veya yara enfeksiyon kaparak iyileşme süresi uzamaktadır. Kronik yaralar başta olmak üzere, yaralar toplum ve sağlık servisleri için hem mali yüke neden olmakta hem de hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir (Gray ve diğ. 2018, Guo ve Dipetrio 2010).

Bu sosyal ve mali yükün ortadan kaldırılması veya hafifletilmesi için yara iyileşme sürecinin desteklenerek doku onarımının hızlandırılması gerekmektedir. Günümüzde bu yaraları değerlendirmek, teşhis ve tedavi etmek için süreci kolaylaştıracak yenilikçi teknolojiler kullanılmaya başlanmıştır (Baktır 2019).

2.3 Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Faktörler

2.3.1 Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

Yara iyileşmesinde rol oynayan sitokinler ve büyüme faktörleri ile bunların görevleri **Tablo 2.1**'de belirtilmiştir.

Tablo 2.1: Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinler (Öztopalan ve diğ. 2017, Demiryılmaz ve Ferah 2017, Topalan ve Önel 2010)

Büyüme faktörleri ve Sitokinler	Kaynağı	Görevleri
TGF-α (Transforming growth factor alpha)	T lenfositleri, makrofajlar, keratinositler	Nötrofillerin aktivasyonunu, fibroblastların proliferasyonunu ve anjiogenezin uyarımını sağlamaktadır.
TGF-β (Transforming growth factor beta)	Trombositler, T lenfositleri, makrofajlar, endotel hücreleri, keratinositler	Hücre kemotaksi, anjiogenez, reepitelizasyon ve kollajen sentezini uyarmaktadır.
PDGF (Platelet derived growth factor)	Trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri	Makrofaj ve nötrofil kemotaksisini, anjiogenez ve fibroblast proliferasyonunu uyarmaktadır. Yara kontraksiyonunu uyarmaktadır.
EGF (Epidermal growth factor)	Trombositler, makrofajlar	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonunu, anjiogenez ve kollejenaz aktivitesini uyarmaktadır. Reepitelizasyonu arttırmaktadır.
FGF (Fibroblast growth factor)	Makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositler, endotel hücreleri	Anjiogenezi uyarmaktadır. Endotel proliferasyonunu arttırmaktadır. Neovaskularizasyonu hızlandırmaktadır.
TNF-α (Tumor necrosis factor)	Makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositleri	Fibroblast proliferasyonunu uyarmaktadır. Makrofajları aktive etmektedir.
İnterlökinler (IL-1, IL-2, IL-6 ve IL-8)	Makrofajlar, mast hücreleri, keratinositler, lenfositler	Fibroblast proliferasyonunu ve nötrofil kemotaksisini uyarmaktadır.

2.3.2 Diğer Faktörler

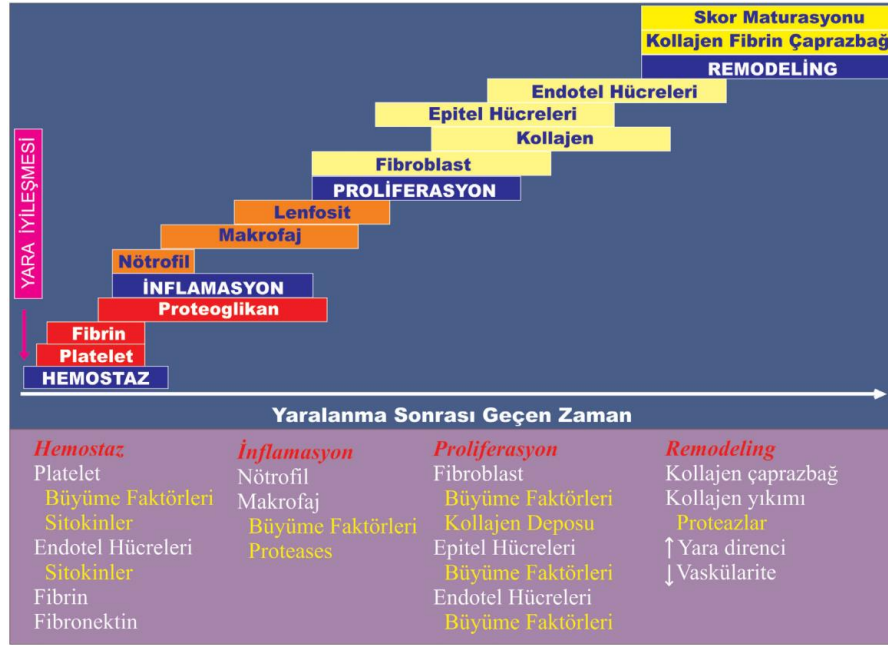
Yara iyileşmesinde rol oynayan diğer faktörler **Tablo 2.2**'de belirtilmiştir.

Tablo 2.2: Yara iyileşmesinde rol oynayan diğer faktörler (Köklü ve Çankal 2013, Rainey 2002)

Yaş	İnsanlarda yaş ilerledikçe metabolik süreçler yavaşlamaktadır. Bu da doku onarım süresini uzatmaktadır.
Beslenme	Yaralanmalarda dokunun enerji ihtiyacı artmaktadır. Beslenmenin yetersiz olması (çinko, demir, C vitamini ve A vitamini eksikliği ile protein, karbonhidrat ve lipid eksikliği) durumunda kollojen üretimi, doku onarımı ve protein sentezi olumsuz etkilenmektedir.
Sitotoksik ilaçlar	Steroid ve steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçlar, sitotoksik ve kemoterapotik ilaçlar yara iyileşmesini geciktirmektedir. Yara gerilim gücü ve epidermal proliferasyon azalmaktadır.
Kan dolaşımı	İyi kan dolaşımının olmaması yara bölgesine yeterli miktarda kan gitmesine engel olmaktadır.
Enfeksiyon	Bakteriyel enfeksiyonlar yaralarda enflamasyon sürecini uzatıp yara iyileşmesini geciktirmektedir.
Oksijen oranı	Dokularda hipoksi düzeyinin artması kollojen sentezini, hücre proliferasyonlarını ve hücrenin enfeksiyonlara karşı savunmasını olumsuz etkilemektedir.
Yabancı cisimler	Yara alanında bulunan yabancı cisimlerin (dikiş materyali, kir, toprak parçaları vb.) uzaklaştırılmamaları halinde yara enfekte olmaktadır ve iyileşme süreci uzatmaktadır.
Sigara içmek	Sigara kullanımı dokularda karboksihemoglobin oranını artırmaktadır. Bu nedenle kanın oksijen taşıma kapasitesi azalmakta ve dokuda hipoksi meydana gelmektedir.
Hastalıklar	Diyabet gibi metabolik bozukluklarda, kardiyovasküler ve pulmoner hastalıklarda, steroid ile tedavi edilen hastalıklarda yara iyileşmesi olumsuz etkilenmektedir. Tiroid ve hipofiz hormonlarının eksikliği metabolizmayı yavaşlattığından iyileşme gecikmektedir.

2.4 Yara İyileşmesinin Evreleri

Yara iyileşmesi genellikle dört aşamada tanımlanmaktadır. Bunlar sırasıyla hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve remodelizasyon (maturasyon) şeklindedir. **Şekil 2.1**'de yara iyileşme aşamaları ve bu aşamalarda görev alan hücreler gösterilmiştir. Bu aşamaların kesin sınırları bulunmamaktadır. Her bir evre birbiriyle iç içe geçebilmektedir. Akut yaralarda bu evreler sorunsuz bir şekilde düzenli olarak ilerlemektedir. Kronik yaralarda ise benzer şekilde iyileşme süreci başlatılacak, ancak inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon evrelerinin sürelerinde artış gözlenecektir (Falabella ve Kirsner 2005).



Şekil 2.1: Yara iyileşmesi aşamaları ve bu aşamalarda görev alan hücreler (Demiryılmaz ve Ferah 2017)

2.4.1 Hemostaz

Bu aşama yaralanmanın hemen ardından gerçekleşmektedir. Doku hasarının olduğu andan itibaren yara bölgesinde kan kaybını azaltmak için damarlarda kısa süreli daralma (vazokonstriksiyon) meydana gelmektedir. Doku zedelenmesi sonrası sitokinler salınmakta ve birçok kompleks süreçler başlatılmaktadır (Baktır 2019, Rodrigues ve diğ. 2018).

Bu aşamada önemli rol oynayan hücrelerden biri trombositlerdir. Normalde hasar almamış dokudaki trombositler damar duvarına yapışmamakta veya birbirleriyle bir araya gelmemektedirler (Baktır 2019, Rodrigues ve diğ. 2018).

Ancak damar duvarının açılmasıyla birlikte trombositler açılan damar duvarındaki kollajenle temas ederek yaralanma bölgesinde agregasyona uğramakta ve aktive olmaktadır. Trombosit agregasyonu ilerledikçe çeşitli büyüme faktörleri ve pıhtılaşma faktörleri salınarak geçici pıhtı oluşturulmaktadır. Hemostaz aşamasında amaç pıhtı oluşturarak kanamayı durdurmak ve bakteriyel kontaminasyonun önlenmesini sağlamaktır (Rodrigues ve diğ. 2018).

2.4.2 İnflamasyon Fazı

İnflamasyon, yara iyileşmesinin bir sonraki aşamasıdır. Bu aşama yaralanmadan sonraki ilk 24 saat içinde gerçekleşmektedir (Schultz ve diğ. 2006). Kompleman ve prostaglandin sisteminin aktive olmasıyla damarlarda vazodilatasyon gerçekleşmektedir. Genişlemiş damarlar kan hücrelerinin geçişini artırmaktadır. İlk doku geçişini nötrofiller ve mast hücreleri yapmaktadır. Daha sonra monosit isimli kan hücreleri yara alanına hâkim olmaya başlamaktadır. Mast hücreleri, yara bölgesinin etrafında oluşan kızarıklık, ısı, şişme ve ağrı gibi karakteristik belirtilerden sorumlu enzimler, histamin ve diğer aktif aminlerle dolu granüller salgılamaktadırlar (Topalan ve Önel 2010, Falabella ve Kirsner 2005).

Nötrofiller, monositler ve makrofajlar yara bölgesini enfeksiyon ve kalıntılardan temizlemektedirler. Bu kan hücreleri ve trombositler proenflamatuar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- α) ve büyüme faktörlerini (PDGF, TGF- β , TGF- α) serbest bırakırlar. Salınan büyüme faktörleri ile de dokular onarılmaktadır. Bu aşama normal yaralarda yaklaşık iki hafta kadar sürmektedir. Ancak kronik yaralarda bu süre önemli ölçüde daha uzun olmaktadır (Rodrigues ve diğ. 2018, Falabella ve Kirsner 2005).

2.4.3 Proliferasyon Fazı

Proliferasyon fazı inflamasyon aşamasını takiben, yaralanmadan sonra yaklaşık beşinci gününde başlamakta ve iki hafta kadar devam etmektedir. Bu aşamada hasar gören ve yitirilen dokular yeniden yapılmaktadır. Genel olarak bu süreçte reepitelizasyon ve kontraksiyon gelişmektedir. Anjiyogenez safhası ile de mikro dolaşım düzenlenerek doku güçlendirilmektedir (Baktır 2019, Öztöpalan ve diğ. 2017).

Fibroblastlar, endotel hücreler ve makrofajlar bu fazda önemli rol oynamaktadırlar. Makrofajlar, kemotaktik ve büyüme faktörlerini serbest bırakarak çevre dokulardan fibroblast ve endotel hücrelerini yara alanına doğru çekmektedirler (Topalan ve Önel 2010).

Yara bölgesine ulaşan endotel hücreleri fibroblastların ve makrofajların metabolik ihtiyaçlarını karşılamaktadır. Ayrıca endotel hücreleri yeni damarların oluşumunda da görev almaktadır. Fibroblastlar ise ekstraselüler matris ve olgunlaşmamış Tip III kollojen sentezlemeye ve biriktirmeye başlamaktadır. Kollajenin artmasıyla yaranın gerilme mukavemeti artmaktadır. Yaralanmada büyük bir doku kaybı var ise yara kenarlarındaki epitel hücreleri, granülasyon dokusunun üzerinden ilerleyerek vasküler yara alanını kapatıncaya kadar devam etmektedirler (Baktır 2019, Falabella ve Kirsner 2005).

2.4.4 Remodelizasyon (Maturasyon) Fazı

Yara iyileşmesinin en son ve en uzun süren aşamasıdır. Bu fazın tamamlanması yıllar sürebilmektedir. Burada granülasyon dokusu olgunlaşarak yerini skar dokusuna bırakmaktadır. Olgunlaşma sırasında granülasyon dokusundaki hücre yoğunluğu ve metabolik aktivitesi azalmaktadır. Dokunun gerilim direnci, düzenli bir şekilde biriken kollajenlerin yeniden düzenlenmesi ile artırılmaktadır. Başlangıçta sentezlenen tip III kollajen daha sıkı olan tip I kollajene dönüşmektedir. Kollajenlerde meydana gelen bu değişiklikler gerilme direncini artırmaktadır. Ancak onarılmış dokular, hasar almamış normal dokular kadar güçlü değildir. Yaralar başlangıçtaki gücünün yaklaşık %80'ine ulaşabilmektedir (Demiryılmaz ve Ferah 2017, Topalan ve Önel 2010).

2.5 Yara İyileşmesinde Kullanılan Yöntemler

2.5.1 Geleneksel Yaklaşımlar

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de geleneksel, alternatif ve tamamlayıcı tıp şeklinde değişik isimlendirmeler kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’ne (DSÖ) göre geleneksel tıp (GETAT) “Fiziksel ve ruhsal hastalıklardan korunma, tanı koyma, bunları iyileştirme ya da tedavi etmenin yanında sağlığın iyi sürdürülmesinde kullanılan, farklı kültürlerle özgü teori, inanç ve tecrübelerle dayalı, izahı yapılabilen veya yapılamayan bilgi, beceri ve uygulamalar bütünüdür” (Ünal ve Dağdeviren 2019).

GETAT uygulamaları modern tıp uygulamalarının bir alternatifi olmayıp hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan çeşitli sağlık uygulamalarıdır. Eski zamanlardan günümüze kadar uygulanmaya devam etmekte olan bu yöntemlerin, tecrübe sahibi kişiler tarafından doğru uygulandığında insan sağlığına faydalı olabilmektedir (Ünal ve Dağdeviren 2019, Tütüncü ve Etiler 2017).

Türkiye’de Sağlık Bakanlığı tarafından 2014 yılında “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği” yayınlanmış olup, bu yönetmelikte 15 yöntem ele alınmıştır. Bu yöntemler fitoterapi, larva uygulaması, sülük tedavisi, akupunktur, refleksoloji, apiterapi, müzik terapi, hipnoz, kupa uygulaması, proloterapi, mezoterapi, homeopati, ozon uygulaması, osteopati ve kayropratik şeklindedir (Ünal ve Dağdeviren 2019, Tütüncü ve Etiler 2017).

2.5.2 Güncel Yaklaşımlar

2.5.2.1 Negatif Basıncılı Yara Tedavisi

Negatif basınçlı yara tedavisi sıvının emilmesi prensibine dayanan bir tedavi yöntemidir. Bu uygulamada kullanılan cihaz poliüretan sünger, tüp ve toplama kabından oluşmaktadır. Yaranın üzeri sünger ile kapatılarak yaraya 125 mmHg’nın altında bir negatif basınç uygulanmaktadır. Vakum etkisi ile birlikte yaradan çıkan sıvı cihaza çekilmektedir. Bu sayede yara bölgesinin nemlendirilmesiyle birlikte bu tedavi yöntemi ödemin ve enfeksiyonun azalmasına yardımcı olmakta ve yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadır (Mutlu ve Yılmaz 2019, Lambert ve diğ. 2005).

2.5.2.2 Hiperbarik Oksijen Tedavisi

Hiperbarik oksijen tedavisinde 1 atm'den daha yüksek basınç (2.0-2.4 atm) altında hastalara aralıklı olarak %100 oksijen verilerek uygulanmaktadır. Bu tedavi yöntemi tek veya çok kişilik özel basınç odalarında gerçekleştirilmektedir. Burada yara bölgesinde bulunan dokuların oksijen miktarının artırılması ile yara iyileşmesinin hızlandırılması amaçlanmaktadır. Hiperbarik oksijen tedavisi oksijen seviyesi yetersiz olan ve iyileşmesi zor olan yaralarda tercih edilmektedir (Mutlu ve Yılmaz 2019, Coşkun ve diğ. 2016).

2.5.2.3 Modern Yara Örtüleri

Modern yara örtüleri, yara bölgesini örterek hasar alan dokuları dış etkenlere karşı korumakta ve iyileşme sürecine katkı sağlamaktadır. Günümüzde yara çeşitliliğinin fazla ve değişken olması sebebiyle farklı yara örtüleri geliştirilmiştir. Modern yara örtüleri yaraların enfeksiyona karşı korunmasında, fazla sızıntının uzaklaştırılmasında ve yaranın nemli tutulması amacıyla kullanılmaktadır. Uygun yara örtüsünü seçebilmek için yaranın durumunun ve ihtiyacının belirlenmesi gerekmektedir. En sık kullanılan yara örtüleri hidrokolloidler, aljinat örtüleri, hidrojeller ve köpüklerdir (Kurtoğlu ve Karataş 2009).

2.5.2.4 Elektrik Stimülasyonu

Elektrik stimülasyonu, özellikle zor iyileşen kronik yaralarda iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu uygulamada elektrotlar aracılığıyla direk hasar gören cildin yüzeyine elektrik akımı uygulanarak nötrofil ve makrofajların göçü artırılmakta ve fibroblastlar uyarılmaktadır (Mutlu ve Yılmaz 2019, Thakral ve diğ. 2013).

2.5.2.5 Ozon Tedavisi

Ozon tedavisi, düşük dozda (%0,5-5) ozon içeren ozon/oksijen karışımından oluşmaktadır ve çoğunlukla kronik yaralarda tercih edilen bir tedavi yöntemidir. Ozon tedavisinin antibakteriyel etkisi bulunmaktadır. Bu yöntem yaralara topikal ya da sistemik olarak uygulanarak iyileşme süreci hızlandırılmaktadır (Coşkun ve diğ. 2016, Altınbilek ve diğ. 2014).

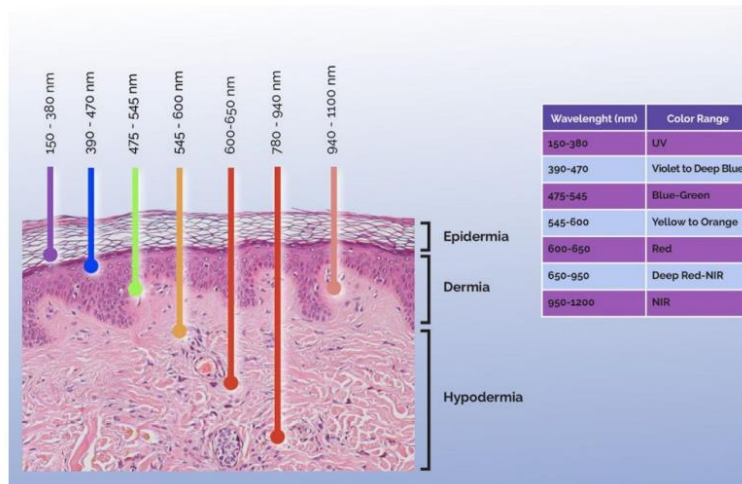
2.5.2.6 Ultrason

Ultrason, yara iyileşmesinde kullanılan yeni tekniklerden biridir. Yara bölgesindeki dokulara yüksek frekanslı ses dalgaları gönderilerek o bölgedeki dokuların hücresel aktiviteleri uyarılmaktadır. Bu tekniğin avantajları arasında daha derin dokulara etki edebilme, yüksek oranda yönlendirilebilme ve odaklanabilme bulunmaktadır (Mutlu ve Yılmaz 2019).

2.5.2.7 Fotobiyomodülasyon

Fotobiyomodülasyon (PBM), düşük seviyeli ışık tedavisi olarak da bilinmektedir. Bu teknikte görünür ve kızılötesi spektrumda lazer ve LED (ışık yayan diyotlar) ışık kaynaklarının iyonlaştırıcı olmayan formlarının kullanılmasıyla hücrelerde fotokimyasal olaylar meydana getirilmektedir (Mosca ve diğ. 2019). Fotobiyomodülasyon, düşük güç kullanılması nedeniyle dokuda belirgin bir sıcaklık artışına neden olmamaktadır (Freitas ve Hambling 2016).

Kırmızı ve kızılötesi ışığın vücuttaki fizyolojik etkileri birbirine benzemektedir. Bu iki ışığın arasındaki fark, kızılötesi ışığın vücuda kırmızı ışığa göre daha derin nüfuz edebilmesidir. **Şekil 2.2**'de dalga boylarının doku penetrasyon derinlikleri gösterilmiştir. Bilimsel araştırmalarda en terapötik olan kırmızı ve kızılötesi ışığın dalga boyları sırasıyla 620-700 nm ile 700-1000 olduğu bildirilmektedir (Sloan 2018).



Şekil 2.2: Dalga boylarının doku penetrasyon derinlikleri (Whitten 2018)

Bu tedavi iltihabı azaltmak, ağrıyı hafifletmek, doku onarımını teşvik etmek amacıyla kullanılmaktadır. Fotobiyomodülasyonun hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda yara iyileşmesini hızlandırdığı, mitokondriyal metabolizmayı artırdığı, ATP üretimini artırdığı, anti-enflamatuar hareket sağladığı, damar oluşumunu artırdığı gözlenmiştir (Freitas ve Hambling 2016, Yücel 2013).

İn-vitro çalışmalarda kırmızı ve kızılötesi ışıkları; fibroblast, lenfosit, iskelet kası hücreleri, insan epitel hücreleri, endotel hücre, miyoblast, keratinosit, osteoblast gibi hücre tiplerinin çoğalmasını uyardığı gösterilmektedir (Michanek ve diğ. 2019, Sloan 2018).

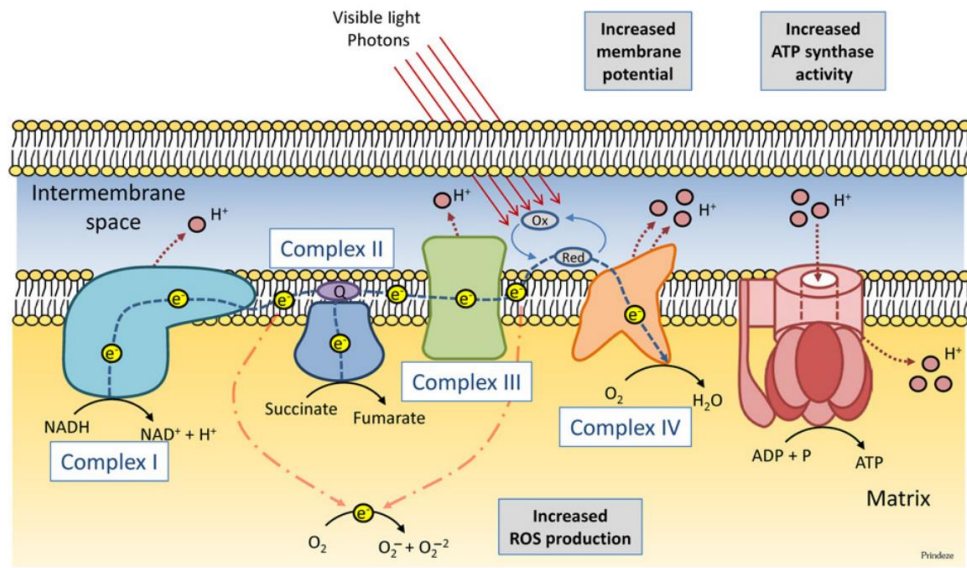
A. Etki Mekanizması

Işık dalga boylarının insan dokularına nüfuz ettiği ve lokal olarak hücrel metabolizmayı, hücrel sinyalleri, enflamatuar süreçleri ve büyüme faktörü üretimini etkilediği gösterilmiştir. Birçok hücrel molekülün ışığın çeşitli dalga boylarını absorbe edebildiği çalışmalarda gösterilmiştir (Heiskanen ve Hamblin 2018). Fotobiyomodülasyon tedavisinin moleküler, hücrel ve doku seviyelerindeki çeşitli etkilerinin bulunduğu bilinmektedir. Bununla beraber PBM'in en iyi çalışılan moleküler mekanizması belirli dalga boylarındaki ışığın Sitokrom C-Oksidaz enzimi tarafından absorbe edilmesidir (Mosca ve diğ. 2019, Ateş 2017).

Otto Warbrug isimli araştırmacı, Sitokrom C-Oksidaz'ı (CCO) mitokondriyal oksidatif respirasyon zincirinin terminal enzimi olarak tanımlamıştır ve Nobel ödülü (1931) kazanmıştır. Oksijen yerine CCO'ya bağlanan karbon monoksitin solunumu inhibe edebileceğini, bir ışık parlaması ile karbon monoksitin yerini değiştirebileceğini ve oksijenin bağlanarak mitokondride tekrar solunumun başlayacağını açıklamıştır (Yücel 2013).

Sitokrom C-Oksidazın foto-alıcı olduğu yapılan araştırmalarda desteklenmektedir. Sitokrom C-Oksidaz (CCO) mitokondriyal potansiyeli artırarak Sitokrom C'den moleküler oksijene elektron transferine aracılık eden ve ATP üretimini destekleyen mitokondriyal solunum zincirinin terminal enzimidir (Tam ve diğ. 2020).

Sitokrom C-Oksidaz'ın (CCO), kırmızı ile kızılötesi dalga boylarındaki ışınları absorbe ettiği bildirilmiştir (Heiskanen ve Hamblin 2018). Fotonların moleküller tarafından emilmesi ile elektriksel olarak uyarılmış durumlar ortaya çıkmakta ve bu da elektron transfer reaksiyonlarının hızlanmasına yol açmaktadır. Elektron transfer reaksiyonlarının hızlanmasıyla elektron taşınımı artar ve daha fazla ATP üretimi gerçekleşmektedir (Hamblin ve Demidova 2006). ATP'nin artması hücresel çoğalma ile sonuçlanarak daha hızlı şekilde yara iyileşmesine olanak sağlayan bir ortam oluşturmaktadır (Ateş 2017, Yücel 2013). Fotonların mitokondriyal elektron taşıma zinciri üzerindeki etkileri **Şekil 2.3**'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3: Fotonların mitokondriyal elektron taşıma zinciri üzerindeki etkileri (Prindeze ve diğ. 2012)

B. Lazer

İngilizce de “Light amplification by stimulated emission of radiation” kelimelerinin baş harflerinde oluşmaktadır ve “Uyarılmış salınım ışımasıyla ışık yükseltmesi” anlamına gelmektedir. Lazerler saçılım göstermeyen, koherent ve tek dalga boyundaki (tek renkli) bir ışın demetidir. Lazerlerin tek dalga boyunda olmaları, spesifik uygulamalar için belli dalga boyunun seçilmesini ve seçilen dalga boyunun küçük bir alana yönlendirilebilmesini sağlamaktadır (Boyras ve Yıldız 2016, Gümüşderelioğlu 2015).

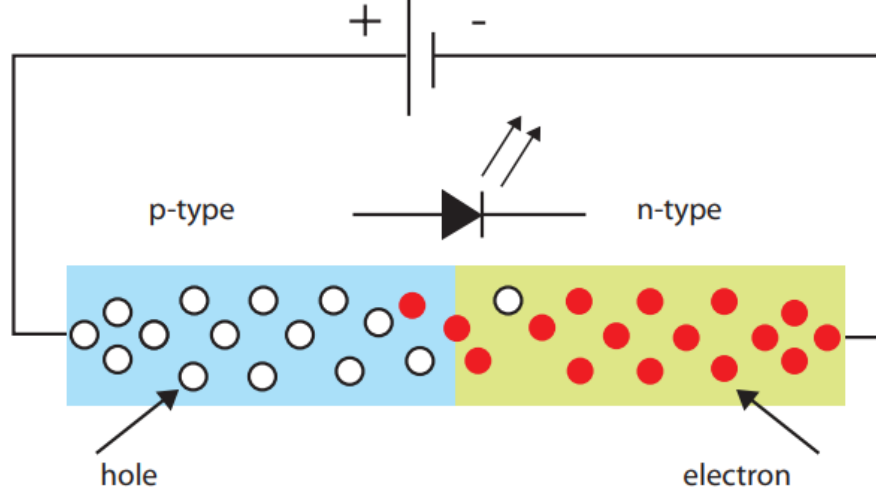
Sağlık alanındaki uygulamalarda enerji yoğunluklarına göre yüksek enerjili lazerler ve düşük enerjili lazerler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yüksek enerjili lazerler uygulandıkları bölgede oluşturdukları termal etkiden dolayı cerrahi alanlarda dokuları kesmek ve yapıştırmak için kullanılmaktadır. Günümüzde sağlık alanında fotobiyomodülasyon uygulamalarında düşük enerjili lazerler uygulandıkları bölgede sıcaklık artışına sebep olmadıkları için tercih edilmektedir (Boyras ve Yıldız 2016, Gümüşderelioğlu 2015). Fotobiyomodülasyon uygulamalarında aşağıda belirtilen lazerler yaygın olarak kullanılmaktadır (Gümüşderelioğlu 2015).

- Helyum-neon lazer (He-Ne: 632,8 nm)
- Galyum-alüminyum lazer (Ga-Al: 630-685 nm)
- Helyum-neon-arsenit lazer (He-Ne-As: 780-870 nm)
- Galyum-arsenit lazer (Ga-As: 904 nm)
- Yakut lazer (694 nm)

C. LED (Light Emitting Diode)

LED'ler, elektrik akımını koherent olmayan dar spektrumlu ışığa dönüştüren yarı iletken devre elemanlarıdır. LED'ler ultraviyolede (UV) görünür ve yakın kızılötesi (NIR) bant genişliğine (247-1300 nm) kadar değişen dalga boylarını yaymaktadırlar (Ghaemi ve diğ. 2019, Barolet 2008).

LED'ler n-tipi ve p-tipi olmak üzere p-n bağlantısı içeren yarı iletkenlerdir. LED'in çalışma mekanizmasında, iletim yönünde doğru voltajın uygulanmasıyla elektronlar n-bölgesinden p-bölgesine doğru hareket etmeye başlamakta ve p-bölgesinde bulunan delikler ile birleşmektedir. Bu birleşmeden dolayı foton adı verilen bir enerji açığa çıkmaktadır (Yücel 2013). Işık yayan diyotun şematik görüntüsü **Şekil 2.4**'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4: Işık yayan diyotun şematik gösterimi (Demir 2011).

LED'ler klinik alanda geleneksel ışık kaynaklarının kullanımına etkili bir alternatif sunmaktadır (Ghaemi ve diğ. 2019). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda LED ışık tedavisinin terapötik etkilerinin bulunduğu gösterilmektedir. LED ışık tedavisi ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından kabul edilmiş ve insanlarda kullanım için onaylanmıştır (Barolet 2008).

LED ışık tedavisi ile düşük seviyeli lazer tedavisinin benzer biyolojik etkileri göstermelerine rağmen iki ışık kaynağı arasında belirli farklar bulunmaktadır. Lazerler ve LED'ler arasındaki önemli farklardan biri ışık enerjisinin iletilme şeklidir. LED'ler lazerlere kıyasla aynı dalga boylarında ışığın çok daha yumuşak bir şekilde iletilmesini ve önemli ölçüde daha düşük enerji çıkışı sağlamaktadır. Böylece LED'ler dokulara zarar vermek için yeterli gücü sağlayamamaktadır (Martignago ve diğ. 2019, Barolet 2008).

Ayrıca LED'ler daha büyük bir yüzey alanına dağılmakta ve daha hızlı bir tedavi ile sonuçlanan geniş alanların hedeflendiği yerlerde kullanılabilir. Bu bağlamda LED ışık tedavisinin iyileşme sürecini optimize edebileceği varsayılmaktadır (Martignago ve diğ. 2019, Barolet 2008). LED'lerin diğer avantajları arasında lazer güvenlik hususlarının olmaması, evde kullanım kolaylığı, giyilebilir cihaz olasılığının bulunması ve lazerlere göre daha düşük maliyet içermeleridir. (Martignago ve diğ. 2019).

2.6 Hipokloröz Asit

Hipokloröz asit, klorun suda çözünmesiyle oluşan zayıf bir asittir. HOCl formülüyle gösterilmektedir.



A. Yara Bakımında Hipokloröz Asit

Antimikrobiyal tedavi, biyofilm oluşumu ve mikroorganizmaların direnci yara bakımında büyük bir zorluk teşkil etmektedir. Biyofilm oluşumunun yaradaki makrofajların ve nötrofillerin varlığını uzatan ve bunun da normal yara iyileşmesini bozduğu ve potansiyel olarak doğuştan gelen immünolojik tepkilerin etkinliğini azalttığı düşünülmektedir (Gold ve diğ. 2019).

Hipokloröz asit, bakteri ve virüs gibi yabancı varlıkların istilasına yanıt olarak, bağışıklık sisteminin ayrılmaz bir parçası olan nötrofiller tarafından doğal olarak üretilmektedirler. Son 15 yılda Hipokloröz asit solüsyonları sitotoksikite olmaksızın hem antimikrobiyal hem de yara iyileştirici özellikler göstermiştir (Tran ve diğ. 2020). Yapılan araştırmalar, güçlü antimikrobiyal özellikleri, anti-enflamatuar etkileri ve biyofilmleri parçalama yeteneği nedeniyle HOCl solüsyonlarının yara ve skar yönetiminde potansiyel bir araç sunduğunu göstermektedir (Joachim 2020).

Çalışmalarla desteklenen HOCl'nin bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı olan etkisinin, yara bakımında prosedür öncesi ve sonrası bir antiseptik ve anti-enflamatuar ajan olarak önemli bir potansiyele sahiptir ve antiseptik olarak tercih edilebilecek ilk seçenekler arasında yer almaktadır (Tran ve diğ. 2020, Gold ve diğ. 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada iki farklı hücre kültürü üzerine kırmızı ve kızılötesi ışık uygulaması hipokloröz asit ile beraber ve ayrı ayrı uygulanmış ve hücrelerin üreme zamanında ve sayısında değişim incelenmiştir.

3.1 Gereç

3.1.1 Hücre Kültürü

Bu tez çalışmasında kullanılan fibroblast (BJ) hücre hattı ve keratinosit (HaCaT) hücre hattı Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD.'dan temin edilmiştir.

3.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.1.2.1 Fetal Sığır Serum (FBS) (HyClone)

Fetal sığır serum (FBS) hücrelerin yüzeye tutunabilmelerini sağlayan ve hücrelerin çoğalmaları için kullanılan bir protein çözeltilisidir. Bu çözelti biyolojik güvenlik kabininde 15 mL'lik falkon tüplere bölünerek -20 °C'de kullanılıncaya kadar saklanmaktadır.

3.1.2.2 Penicilin Streptomysin (Pen Strep) (Gibco)

Penicilin ve streptomysin hücre kültüründe kullanılan antibiyotiklerdir. Hücrelerde meydana gelebilecek herhangi bir bakteri veya mantar kontaminasyonuna uğramamaları sebebiyle kullanılmaktadır. Penicilin streptomysin (Pen Strep) içeriği **Tablo 3.1**'de belirtilmiştir.

Tablo 3.1: Penicilin streptomysin (Pen Strep) içeriği

İçindekiler	Miktarı
Penicilin	10,000 IU/mL
Streptomysin	10,000 µg/mL

3.1.2.3 Dulbecco'S Modified Eagle'S Medium (DMEM) (HyClone)

Laboratuvar koşullarında hücre kültürü çalışmaları için sıvı besi yeri tercih edilmektedir. Bu tür çalışmalarda kullanılan besiyerleri, hücrelerin in vitro ortamda yaşamaları ve çoğalmaları için gerekli olan maddeleri içermelidir. Dulbecco'S modified eagle's medium (DMEM) içeriği **Tablo 3.2**'de belirtilmiştir.

Tablo 3.2: Dulbecco'S modified eagle's medium (DMEM) içeriği

İçindekiler	Miktarı
L-Glutamine	4.00 nM
L Glucose	1000 mg/L
Sodium Pyruvate	110 mg/L

A. Hazırlanışı

Bazal besi yeri hücrelerin beslenebilmeleri için gerekli maddelere sahiptir ancak tek başına yeterli değildir. Hazırlanacak hacme göre hücre kültürü çalışmalarında kullanılacak uygun besi yerini hazırlamak için **Tablo 3.2**'deki malzemelere ek olarak,

- ✓ %10 fetal sığır serum (FBS)
- ✓ 100 IU/mL penisilin ve 10 mg/mL streptomisin

Maddeleri de eklenmelidir. Eklenen maddeler pipetleme yapılarak homojen hale getirildikten sonra şişelerin ağzı parafinle sarılmaktadır. Kullanıma hazır olan besi yerleri 2-8 °C'de son kullanma tarihine kadar saklanabilmektedir.

3.1.2.4 Tripsin -EDTA (0.25 %) (With Phenol Red)

Tripsin, hücre pasajlamaları için kullanılan bir enzimdir. Bu çalışmada kullanılan solüsyon %0.25 EDTA içermektedir. Tripsinin yüksek sıcaklıklarda bekletilmesi, tripsinin aktivitesini düşürmektedir. Bu nedenle -20 °C'de oligotlanarak saklanmaktadır.

3.1.2.5 Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS)

İçeriğinde inorganik tuzlar ve su bulunan bu solüsyon, hücre içi ve dışındaki ozmotik basıncı dengede tutmaktadır. Hücre kültüründe, ölü hücreler ile hücre atıklarını uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadır.

3.1.3 Elektronik Devre Malzemeleri

3.1.3.1 Arduino Uno

Bu çalışmada elektronik devre için Arduino Uno kullanılmıştır. Teknik özellikleri **Tablo 3.3**'de belirtilmiştir.

Tablo 3.3: Arduino uno özellikleri

Çalışma Gerilimi	5V
Önerilen Giriş Gerilimi	7-12V
Mikrodenetleyici	ATmega328
Dijital G/Ç Pinleri	14 (6 tanesi PWM çıkışı)
Analog Giriş Pinleri	6
Flash Hafıza	32 KB (ATmega328)
SRAM	2 KB (ATmega328)
EEPROM	1 KB (ATmega328)
Her G/Ç için Akım	40 mA
3.3V Çıkış için Akım	50 mA

3.1.3.2 Kırmızı LED

Çalışmada elektronik devre için kırmızı ledler kullanılmıştır. Ledlere ait teknik özellikler **Tablo 3.4**'de belirtilmiştir.

Tablo 3.4: Kırmızı led teknik özellikleri

Boyut	5 mm
Renk	Kırmızı
Yayıdığı Dalga Boyu	625-740 nm
Çalışma Voltajı	1.5-3V
Önerilen Kullanım Akımı	16-18 mA
Maksimum Akım	20 mA

3.1.3.3 Infrared (IR-Kızılötesi) LED

Yapılan elektronik devrede infrared ledler kullanılmıştır. Ledlere ait teknik özellikler **Tablo 3.5**'te belirtilmiştir.

Tablo 3.5: Infrared led teknik özellikleri

Boyut	5 mm
Renk	Infrared
Yayıdığı Dalga Boyu	750 nm-1 mm
Çalışma Gerilimi	1.35V

3.2 Yöntem

3.2.1 Hücre Kültürü Basamakları

Kırmızı led ışık ve infrared led ışığın, fibroblast (BJ) hücre hattı ile keratinosit (HaCaT) hücre hattı üzerindeki etkilerini anlayabilmek amacıyla bu çalışmada gerçekleştirilen kültür basamakları;

1. Hücrelerin çözdürülmesi ve dondurulması
2. Hücrelerin kullanılacak flasklara ekimin yapılması
3. Hücrelerin kültür ortamında pasajlanması ve çoğaltılması şeklindedir.

a. Hücrelerin Çözdürülmesi

Dondurulmuş fibroblast (BJ) hücre hattı ve keratinosit (HaCaT) hücre hatlarının çözdürülmesi için dondurulan kriyotüpteki hücreler hızlı bir şekilde 37°C'de sıcak su banyosunda çözdürülmüştür. Kriyotüpteki hücrelere oda sıcaklığında olan biraz taze besi yeri ilavesi yapılmıştır. Kriyotüp içeriği 15 ml'lik falkon tüpe aktarılmıştır. Kalan hücre peleti üzerine yeni besi yeri ilave edilerek pipetleme yapılmıştır ve falkonda bulunan hücre süspansiyonu yeni kültür kaplarına ekilerek uygun kültür ortamı olan 37 °C'de %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmişlerdir.

b. Hücrelerin Dondurulması ve Saklanması

Fibroblast (BJ) hücre hattı ile keratinosit (HaCaT) hücre hattının dondurularak saklanması işleminde hücreler kriyotüpler içerisinde DMSO (Dimetil sülfoksit) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin tripsinizasyon basamağından sonra tripsin hacminin en az iki katı serumu besiyeriyle inhibe edilmiştir.

Hücreler pipetleme yapılarak tek hücre süspansiyonu haline getirilip bir falkon tüpe aktarılmıştır. Üzerine 2 ml daha besi yeri ilave edilmiştir ve hücre süspansiyonu 1500 rpm'de 4 dakika santrifüjlenerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Bu basamaklardan sonra 1,5 ml hacimli kriyotüplere 9:1 oranında besi yeri ve DMSO (%10 DMSO) oranında olacak şekilde hücre süspansiyonu edilmiştir. Resüspanse edilerek kriyotüplere aktarılan hücreler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80 derecede muhafaza edilmiştir.

c. Hücrelerin Ekilmesi ve Pasajlanması

Fibroblast (BJ) hücre hattı ile keratinosit (HaCaT) hücre hattının çoğaltılması ve pasajlanması işleminde çözdürülen hücreler hazırlanmış olan besi yeri ile steril şartlarda 25 cm²'lik ve 75 cm²'lik flasklara ekilmiştir. Düzenli kontrol ile besi ortamları tazelenerek 37 °C'de %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmiştir. Flasklarda çoğalan hücreler belli bir doyumluğa (confluent) ulaştıktan sonra pasajlanma işlemine geçilmiştir.

Pasajlama işlemine başlamadan önce besi yeri, PBS ve tripsin-EDTA 37 °C'de su banyosunda ısıtılmıştır. Hücrelerin pasajlanması için ilk olarak yapıştıkları yüzeyden ayrılması gerekir. Hücreleri yüzeyden ayırmadan önce hücreler PBS ile yıkanmıştır. Bu işlem flaskta bulunan ölü hücrelerden ve hücre atıklarından arındırmak için gereklidir.

Ardından PBS pipetle uzaklaştırılmıştır. Daha sonra flasklara tripsin-EDTA ilave edilerek 3-4 dakika beklenmiştir ve hücrelerin flaskların yüzeyinden kalkması sağlanmaktadır. Flask içerisindeki hücre+tripsin-EDTA süspansiyonu 15 ml'lik falkon tüplere alınıp 1500 rpm'de 4 dakika santrifüj edilmiştir ve süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Çöken hücrelere yeni besi yeri eklenmiştir ve pipetleme yapılarak homojenize edilmiştir. Uygun oranlarda 75 cm²'lik flasklara yeniden ekim gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin yeniden flasklara yapışarak çoğalmalarını sağlamak için 37°C de %95 nem ve %5 CO₂ ortamında inkübasyona bırakılmıştır. Değişimler inverted mikroskop ile takip edilmiştir.

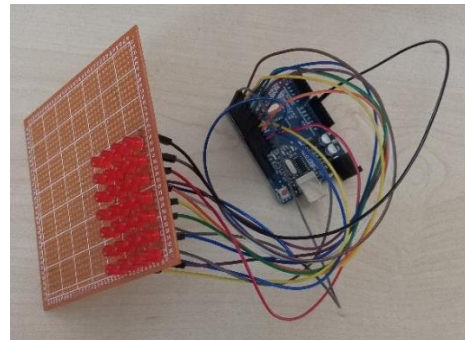
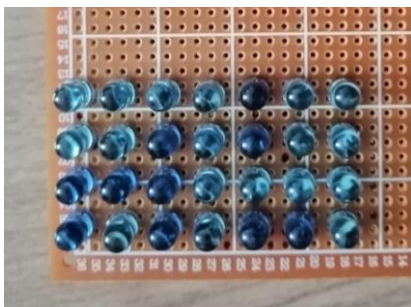
Flasklara eklenen kimyasallar ve miktarları **Tablo 3.6**'da belirtilmiştir.

Tablo 3.6: Flasklara eklenen kimyasallar ve miktarları

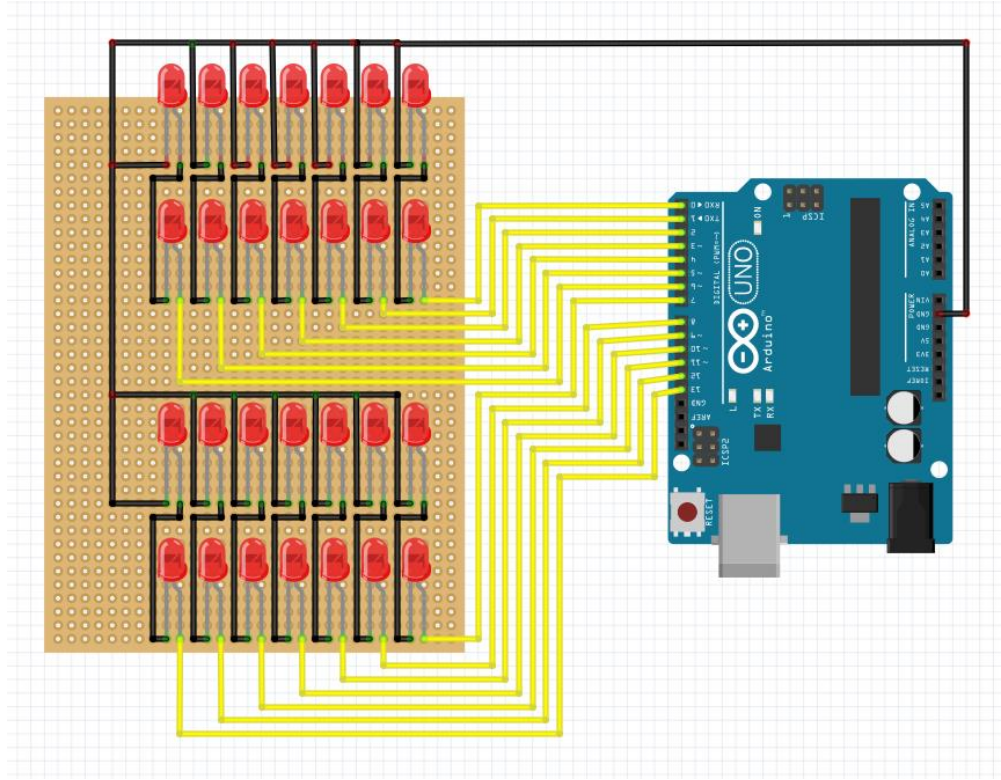
Flask	Besiyeri	PBS	Tripsin-EDTA
T-25	5-12 ml	2-5 ml	2-4 ml
T-75	10-15 ml	5-10 ml	2-8 ml

3.2.2 Devre Tasarımı

3.2.2.1 Bağlantılar



Şekil 3.1: Infrared ve kırmızı ışık kaynakları

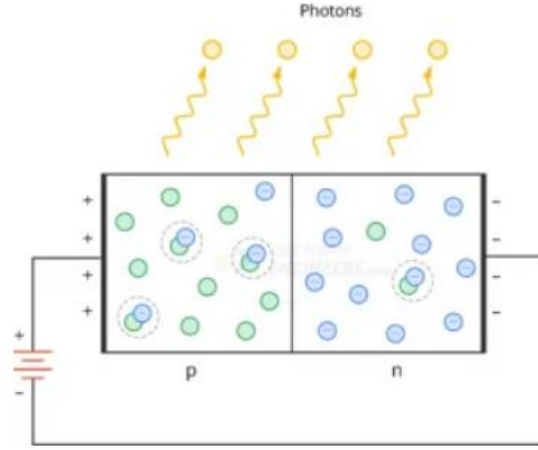


Şekil 3.2: Bağlantı şeması

Işık kaynakları için 5 mm boyutunda 28 adet kırmızı mantar LED ve 28 adet infrared mantar Led kullanılmıştır. Ledlerin bağlantı çizimi **Şekil 3.2**'de gösterilmiştir.

Işık kaynağında kullanılan kırmızı ledler ile infrared ledlerin çalışma prensipleri **Şekil 3.3**'de gösterilmiştir. Led'ler sadece bir yönde akımı geçirmektedirler. Led'e doğru voltaj uygulandığında P maddesindeki deliklerle N maddesindeki elektronlar birleşim yüzeyinde nötrleşmektedir. Bu elektronlar daha yüksek bir enerji seviyesinden daha düşük bir enerji seviyesine düştüğü için, enerjiyi fotonlar (ışık) şeklinde yaymaktadırlar.

LED'lerin yaydığı ışık, LED çipi içerisindeki yarı iletken katkı maddeleri ile ilgilidir. LED'in hangi renkte ışık yayması isteniyorsa galyum, arsenit, alüminyum gibi kimyasal malzemelerden uygun oranda yarı iletken malzemeye katkı yapılmaktadır.



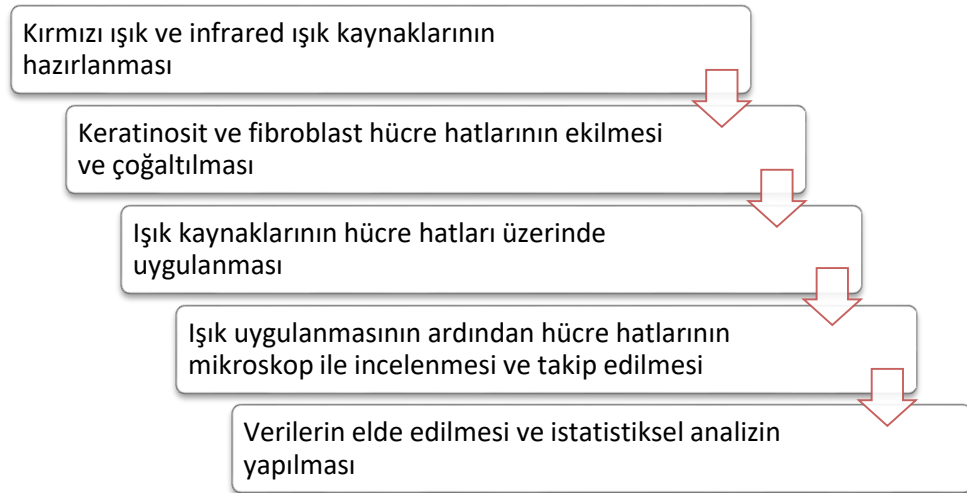
Şekil 3.3: Led'in çalışma prensibi

3.2.2.2 Yazılım

Tasarlanan ışık sisteminin yazılımı için gerekli kodlama Arduino programında hazırlanmıştır. Hazırlanan kodlar, **EKLER** kısmında belirtilmiştir.

3.2.3 Uygulama

Bu çalışmada kırmızı led ışık, infrared led ışık ve hipokloröz asidin keratinosit (HaCaT) hücre hattı ve fibroblast (BJ) hücre hattının çoğalmaları üzerinde oluşturdukları etkilerin gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma genel olarak beş aşamadan oluşmaktadır. Çalışmanın akış şeması **Şekil 3.4**'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4: Akış şeması

Çalışmada dördü kontrol grubu olmak üzere toplamda 36 grup bulunmaktadır. Çalışmadaki kontrol grupları **Tablo 3.7**'de belirtilmiştir. Hücrelere uygulanan diğer parametreler **Tablo 3.8**, **Tablo 3.9**, **Tablo 3.10** ve **Tablo 3.11**'de belirtilmiştir.

Tablo 3.7: Kontrol grupları uygulama parametreleri

Grup No	Hücre Tipi	Hipokloröz Asit İçeriği
1.	Keratinosit	Yok
2.	Fibroblast	Yok
3.	Keratinosit	Var
4.	Fibroblast	Var

Tablo 3.8: Keratinosit hücrelere kırmızı ışık uygulama parametreleri

Grup No	Hücre Tipi	Işık Tipi	Uygulama Süresi	Hipokloröz Asit İçeriği	Günde
1.	Keratinosit	Kırmızı	10'	Yok	1
2.	Keratinosit	Kırmızı	20'	Yok	1
3.	Keratinosit	Kırmızı	10'	Yok	2
4.	Keratinosit	Kırmızı	20'	Yok	2
5.	Keratinosit	Kırmızı	10'	Var	1
6.	Keratinosit	Kırmızı	20'	Var	1
7.	Keratinosit	Kırmızı	10'	Var	2
8.	Keratinosit	Kırmızı	20'	Var	2

Tablo 3.9: Fibroblast hücrelere kırmızı ışık uygulama parametreleri

Grup No	Hücre Tipi	Işık Tipi	Uygulama Süresi	Hipokloröz Asit İçeriği	Günde
1.	Fibroblast	Kırmızı	10'	Yok	1
2.	Fibroblast	Kırmızı	20'	Yok	1
3.	Fibroblast	Kırmızı	10'	Yok	2
4.	Fibroblast	Kırmızı	20'	Yok	2
5.	Fibroblast	Kırmızı	10'	Var	1
6.	Fibroblast	Kırmızı	20'	Var	1
7.	Fibroblast	Kırmızı	10'	Var	2
8.	Fibroblast	Kırmızı	20'	Var	2

Tablo 3.10: Keratinosit hücrelere infrared ışık uygulama parametreleri

Grup No	Hücre Tipi	Işık Tipi	Uygulama Süresi	Hipokloröz Asit İçeriği	Günde
1.	Keratinosit	Infrared	10'	Yok	1
2.	Keratinosit	Infrared	20'	Yok	1
3.	Keratinosit	Infrared	10'	Yok	2
4.	Keratinosit	Infrared	20'	Yok	2
5.	Keratinosit	Infrared	10'	Var	1
6.	Keratinosit	Infrared	20'	Var	1
7.	Keratinosit	Infrared	10'	Var	2
8.	Keratinosit	Infrared	20'	Var	2

Tablo 3.11: Fibroblast hücrelere infrared ışık uygulama parametreleri

Grup No	Hücre Tipi	Işık Tipi	Uygulama Süresi	Hipokloröz Asit İçeriği	Günde
1.	Fibroblast	Infrared	10'	Yok	1
2.	Fibroblast	Infrared	20'	Yok	1
3.	Fibroblast	Infrared	10'	Yok	2
4.	Fibroblast	Infrared	20'	Yok	2
5.	Fibroblast	Infrared	10'	Var	1
6.	Fibroblast	Infrared	20'	Var	1
7.	Fibroblast	Infrared	10'	Var	2
8.	Fibroblast	Infrared	20'	Var	2

Keratinosit (HaCaT) ve fibroblast (BJ) hücre hatlarının ekimi için 24 kuyucuklu plaklar kullanılmıştır. Her bir kuyucuğa 1 ml besi yeri eklenmiştir. Önceden çoğaltılan hücreler tripsin-EDTA ile flasklardan kaldırılmıştır ve (3.1) eşitliği kullanılarak kuyucuk başına 12000 hücre olacak şekilde ekilmiştir.

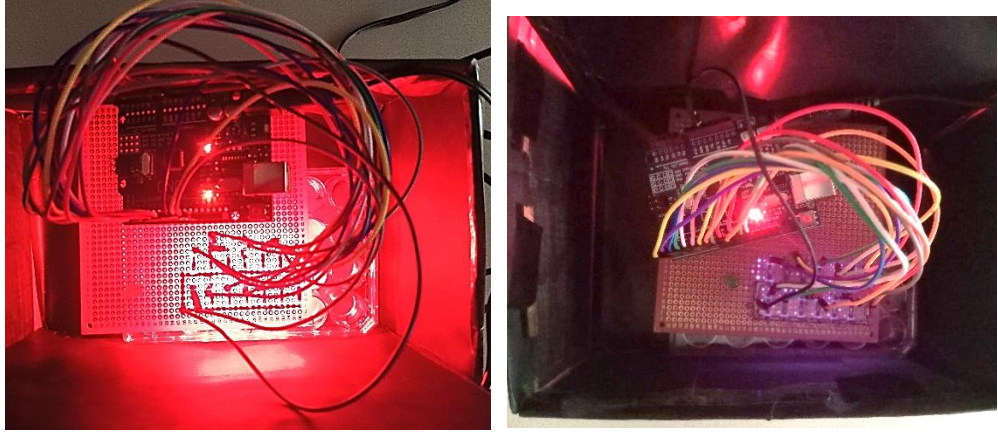
$$\text{Hücre Konsantrasyonu (hücre/ml)} = \frac{\text{Hücre sayısı} \times 10.000}{\text{Alan sayısı} \times \text{Dilüsyon faktörü}} \quad (3.1)$$

Hücrelerin yapışması için bir gün boyunca 37 °C'de %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmiştir. Hücrelerin yapışmalarının ardından tablolarda belirtilen gruplara 2 ppm hipokloröz asit eklenmiştir ve hücreler bir gün daha inkübatörde bekletilmiştir. Kuyucuklu plaklara ekilen hücrelerin görüntüsü **Şekil 3.5**'te gösterilmiştir.



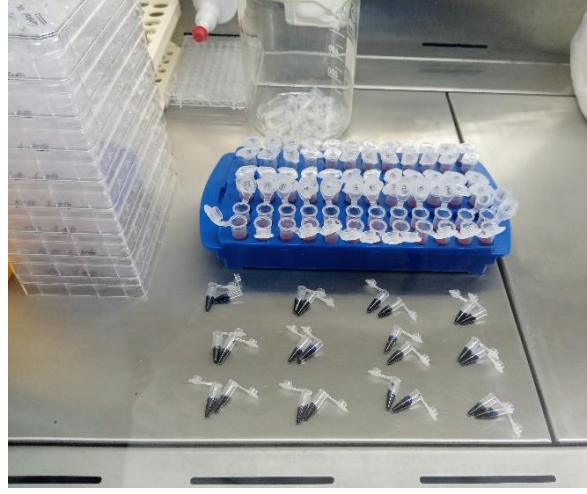
Şekil 3.5: Kuyucuklu plaklara ekilen hücrelerin görüntüsü

Bu işlemin ardından optik düzenek, ekilen hücelere 1 cm uzaklıkta olacak şekilde ayarlanmıştır ve her bir grup için tablolarda belirtilen ışık parametreleri uygulanmıştır. **Şekil 3.6'**da hücre kültürlerine kırmızı ve infrared ışığın uygulanması gösterilmiştir. Hücre kültürlerine mümkün olduğunca karanlık ortamda ışık verilmesine özen gösterilmiştir. Işıklar verildikten sonra sırasıyla hücrelerin 24, 48 ve 72 saat sonra gösterdikleri değişiklikler mikroskop ile incelenmiştir.



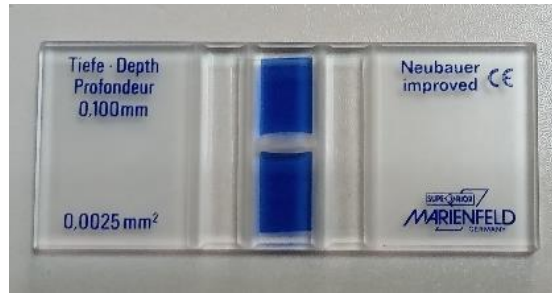
Şekil 3.6: Hücre kültürlerine kırmızı ve infrared ışığın uygulanması

Hücreler incelendikten sonra sayım işlemine geçilmiştir. Öncelikle kuyucuklarda bulunan besiyerleri pipetle uzaklaştırılmıştır ve 500 µl PBS ile yıkanmıştır. Ardından kuyucuklara 400 µl tripsin-EDTA ilave edilerek hücreler kaldırılmıştır. Tripsin-EDTA'nın üzerine 600 µl besiyeri ilave edilmiştir ve oluşan hücre süspansiyonu 2 ml'lik eppendorf tüplere aktarılmıştır. Steril 0.5 ml'lik eppendorf tüpüne 50 µl tripan mavisi ve 50 µl hücre süspansiyonu eklenerek 1:1 oranında karışım elde edilmiştir. Hücre sayımı için eppendorf tüpünde hazırlanan karışımlar **Şekil 3.7**'de gösterilmiştir.

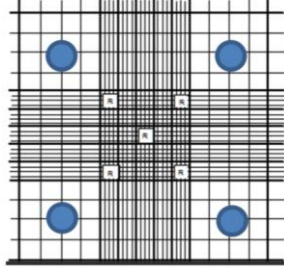


Şekil 3.7: Hücre sayımı için eppendorf tüpünde hazırlanan karışımlar

Bu karışımdan 10 µl alınmıştır ve Thoma lamı üzerine aktarılmıştır. Karışımın Thoma lamına aktarılmış görüntüsü **Şekil 3.8**'de gösterilmiştir. Thoma lamına aktarılan karışımın invert mikroskopta 4X büyütmede sayımı gerçekleştirilmiştir. Thoma lamının üzerinde bulunan kareler **Şekil 3.9**'da gösterilmiştir. Thoma lamında mavi olarak işaretlenmiş 4 büyük alan sayıldı. Hücrelerin miktarı (3.1) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8: Karışımın thoma lamına aktarılmış görüntüsü



Şekil 3.9: Thoma lamının üzerinde bulunan kareler

A. İstatistiksel Analiz

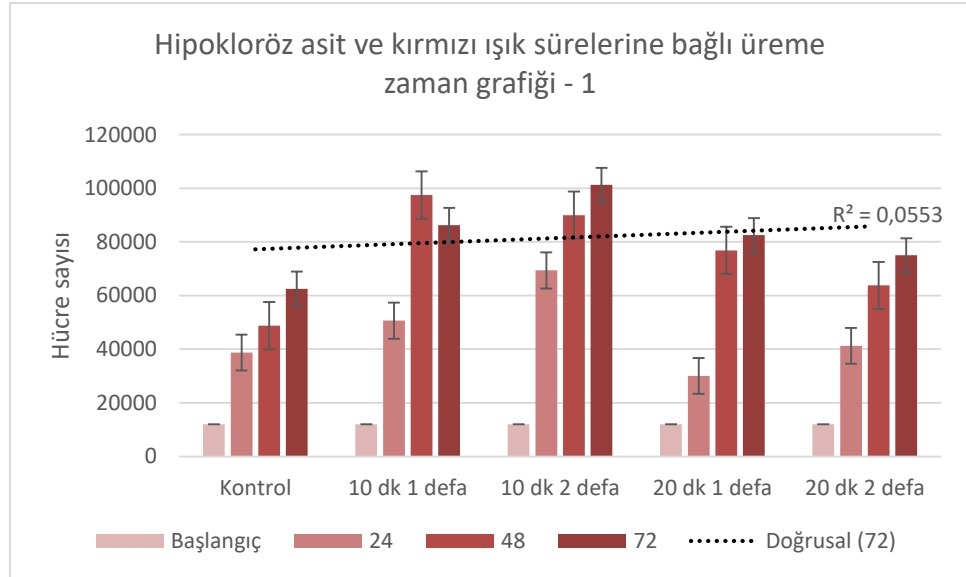
R^2 sistematik hata ile yüklü bir istatistik olup, sistematik hata düzeyi, sabit bağımsız değişken sayısı için, R^2 değeri örnek büyüklüğüne göre değişmektedir. Çalışmamızda son veriler (72 saat) üzerinden R^2 değeri hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada keratinosit (HaCaT) ve fibroblast (BJ) hücre kültürleri, hipokloröz asit uygulaması ile birlikte iki farklı ışık kaynağı (kırmızı ve infrared ışık) ile muamele edilerek hücrelerdeki üreme hızlarına bakılmıştır.

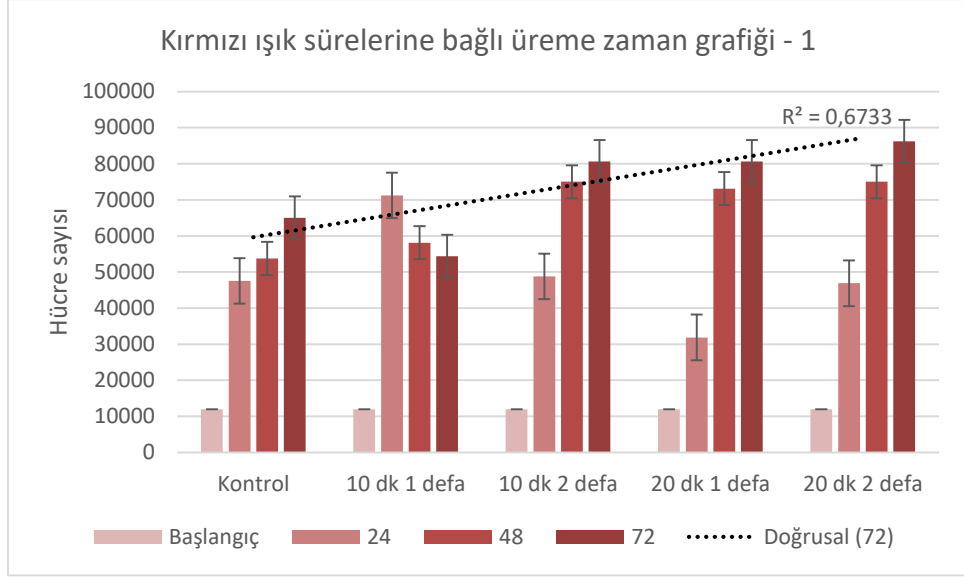
A. Keratinosit (HaCaT) Hücre Kültüründe Kırmızı Işık Uygulaması Sonuçları

Keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe kırmızı ışık ve hipokloröz asidin beraber uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.1**'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Keratinosit hücre kültüründe kırmızı ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

Kırmızı ışık ve hipokloröz asit beraber uygulanan keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda kontrol grubuna göre tüm gruplarda hipokloröz asit eklemesinin olumlu etkisi olduğu, buna ek olarak kırmızı ışık verilen gruplarda da 20 dakika 1 defa uygulanan grubun 24. saati hariç diğer gruplarda belirgin bir artış olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0.05$). Buna bağlı olarak saatler bazında bakıldığında en belirgin hücre artışını 10 dakika 2 defa uygulanan hücre gruplarında 72. saatte belirlenmiştir.



Şekil 4.2: Keratinosit hücre kültüründe kırmızı ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

Keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe kırmızı ışık uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.2'**de gösterilmiştir.

Sadece kırmızı ışık uygulanan keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda 20 dakika 1 defa ve 20 dakika 2 defa uygulamalarının 24. saati ile 10 dakika 1 defa uygulamasının 72. saati hariç diğer uygulama gruplarında kontrol grubuna göre belirgin bir artış gözlemlenmiştir ($p \leq 0.05$). Buna bağlı olarak saatler bazında bakıldığında en belirgin hücre artışı 20 dakika 2 defa uygulanan hücre gruplarında 72. saatte belirlenmiştir.

Kırmızı ışık uygulamasından elde edilen verilere bakıldığında 72. saatte hipokloröz asit ekli grupta 10 dakika 2 defa uygulamada 101.000 hücre sayılmışken hipokloröz asit içermeyen grupta 72. saatte 80.625 hücre sayılmıştır. Her iki hücre sayımı da kontrol grubuna göre yüksek olmakla beraber hipokloröz asit eklenen grupta belirgin bir artışın olduğu gözlemlenmiştir.

Buna bağlı olarak hipokloröz asit ekli kırmızı ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.1'**de belirtilmiştir.

Tablo 4.1: Hipokloröz asit ekli kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	4,22	8,12	7,19
10 dakika 2 defa	5,78	7,5	8,44
20 dakika 1 defa	2,5	6,41	6,88
20 dakika 2 defa	3,44	5,31	6,25

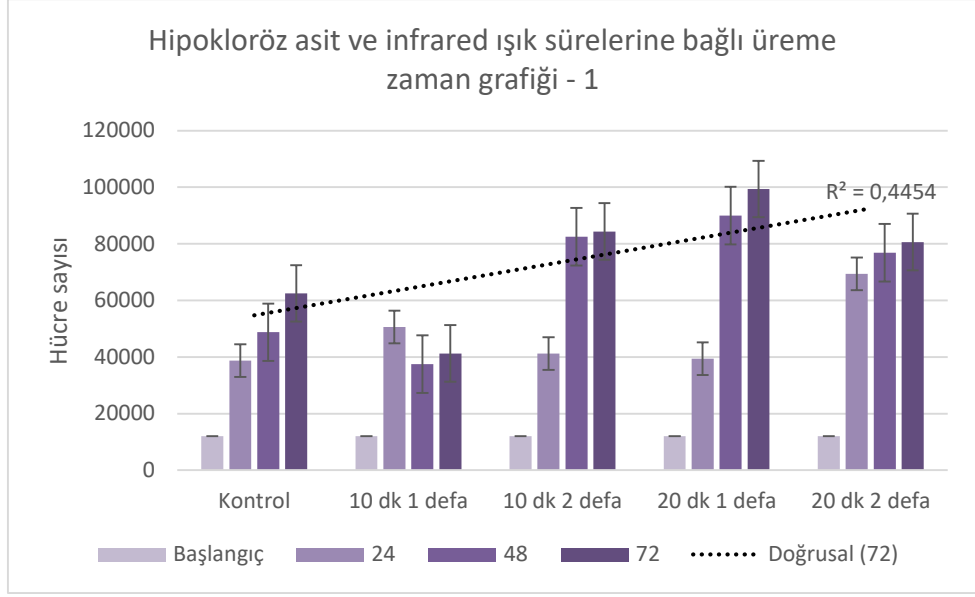
Benzer şekilde hipokloröz asit içermeyen kırmızı ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.2**'de belirtilmiştir.

Tablo 4.2: Hipokloröz asit içermeyen kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	5,96	4,84	4,53
10 dakika 2 defa	4,06	6,25	6,72
20 dakika 1 defa	2,66	6,09	6,72
20 dakika 2 defa	3,91	6,25	7,19

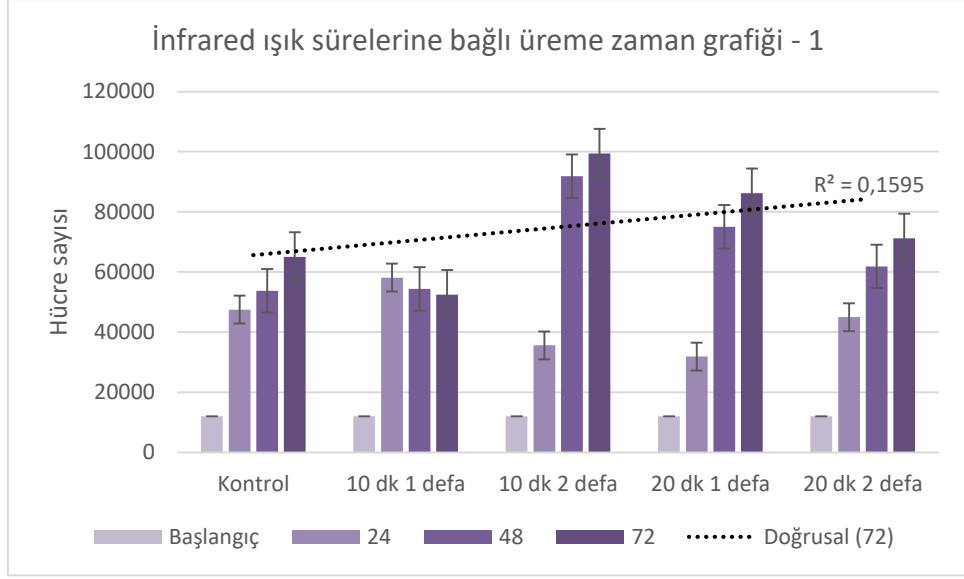
B. Keratinosit (HaCaT) Hücre Kültüründe İnfrared Işık Uygulaması Sonuçları

Keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe infrared ışık ve hipokloröz asidin beraber uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.3**'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3: Keratinosit hücre kültüründe infrared ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

İnfrared ışık ve hipokloröz asit beraber uygulanan keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda kontrol grubuna göre tüm gruplarda hipokloröz asit eklemesinin olumlu etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Buna ek olarak infrared ışık verilen gruplarda da 10 dakika 1 defa uygulanan grubun 48. saati ve 72. saati hariç diğer gruplarda belirgin bir artış olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0.05$). Buna bağlı olarak saatler bazında bakıldığında en belirgin hücre artışını 20 dakika 1 defa uygulanan hücre gruplarında 72. saatte belirlenmiştir.



Şekil 4.4: Keratinosit hücre kültüründe infrared ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

Keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe infrared ışık uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.4**'te gösterilmiştir. Sadece infrared ışık uygulanan keratinosit (HaCaT) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda ise 10 dakika 1 defa uygulamasının 72. saati, 10 dakika 2 defa uygulamasının 24. saati, 20 dakika 1 defa uygulamasının 24. saati ile 20 dakika 2 defa uygulamasının 24. saatinde kontrol grubuna göre belirgin bir artış gözlemlenmemiştir. Bununla birlikte belirtilen gruplar hariç diğer uygulama gruplarında kontrol grubuna göre belirgin bir artış gözlemlenmiştir ($p \leq 0.05$). Buna bağlı olarak saatler bazında bakıldığında en belirgin hücre artışı 10 dakika 2 defa uygulanan hücre gruplarında 72. saatte belirlenmiştir.

İnfrared ışık uygulamasından elde edilen verilere bakıldığında 72. saatte hipokloröz asit ekli grupta 20 dakika 1 defa uygulamada 99.375 hücre sayılmışken hipokloröz asit içermeyen grupta 72. saatte 86.250 hücre sayılmıştır. Her iki hücre sayımı da kontrol grubuna göre yüksek olmakla beraber hipokloröz asit eklenen grupta belirgin bir artışın olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde infrared ışık uygulamasından elde edilen verilere göre 72. saatte hipokloröz asit eklenmeyen grupta 10 dakika 2 defa uygulamada 99.375 hücre sayılmışken hipokloröz asit ekli grupta 72. saatte 84.375 hücre sayılmıştır.

Yine iki hücre sayımının kontrol grubuna göre yüksek olmasıyla beraber hipokloröz asit eklenmeyen grupta daha belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu veriler sonucunda ise 72. saatte hipokloröz asit ekli grubun 20 dakika 1 defa uygulaması ile hipokloröz asit ekli olmayan grubun 10 dakika 2 defa uygulamasının hücre sayılarının eşit olduğu gözlemlenmiştir.

Buna bağlı olarak hipokloröz asit ekli infrared ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.3**'de belirtilmiştir.

Tablo 4.3: Hipokloröz asit ekli infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	4,22	3,12	3,44
10 dakika 2 defa	3,44	6,88	7,03
20 dakika 1 defa	3,28	7,5	8,28
20 dakika 2 defa	5,78	6,41	6,72

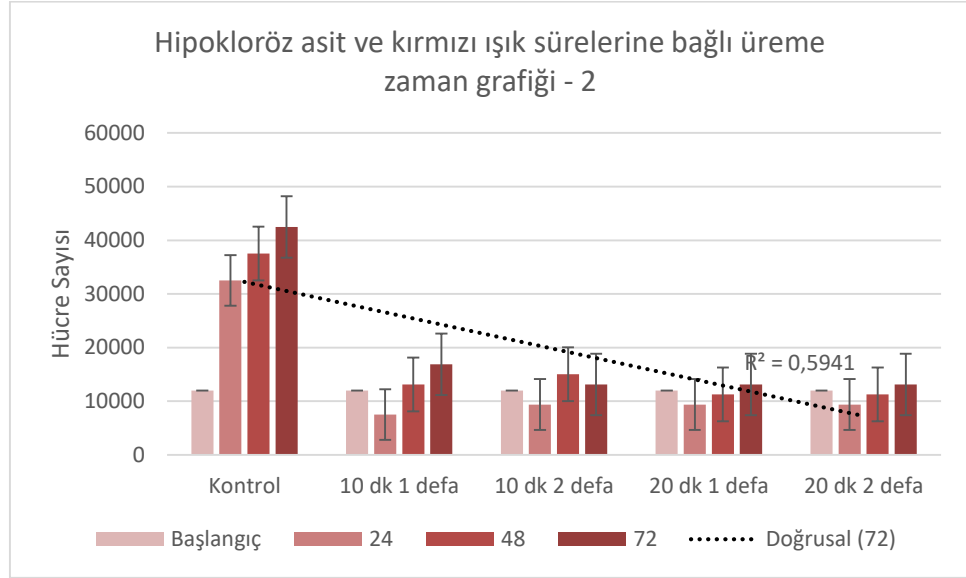
Benzer şekilde hipokloröz asit içermeyen infrared ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.4**'de belirtilmiştir.

Tablo 4.4: Hipokloröz asit içermeyen infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	4,84	4,53	4,38
10 dakika 2 defa	2,97	7,66	8,28
20 dakika 1 defa	2,66	6,25	7,19
20 dakika 2 defa	3,75	5,16	5,94

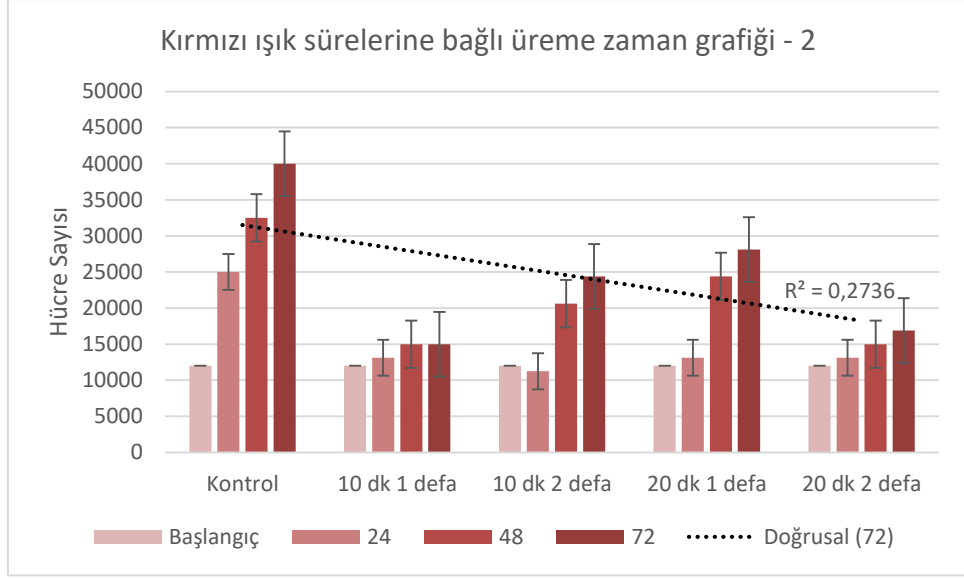
C. Fibroblast (BJ) Hücre Kültüründe Kırmızı Işık Uygulaması Sonuçları

Fibroblast (BJ) hücre kültüründe kırmızı ışık ve hipokloröz asidin beraber uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.5**'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5: Fibroblast hücre kültüründe kırmızı ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

Kırmızı ışık ve hipokloröz asit beraber uygulanan fibroblast (BJ) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda kontrol grubuna göre hipokloröz asit eklemesinin tüm gruplarda olumlu bir etki gözlemlenmemiştir. Buna ek olarak kontrol grubuna göre kırmızı ışık verilen gruplarda da belirgin bir hücre artışı gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.6: Fibroblast hücre kültüründe kırmızı ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

Fibroblast (BJ) hücre kültüründe kırmızı ışık uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.6**'de gösterilmiştir.

Sadece kırmızı ışık uygulanan fibroblast (BJ) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda kontrol grubuna göre tüm gruplarda belirgin bir artış gözlemlenmemiştir. Ancak saatler bazında bakıldığında kontrol grubuna en yakın hücre artışı 20 dakika 1 defa uygulanan hücre gruplarında 72. saatte gözlemlenmiştir.

Kırmızı ışık uygulamasından elde edilen verilere bakıldığında 72. saatte hipokloröz asit içermeyen grupta 20 dakika 1 defa uygulamada 28.125 hücre sayılmışken hipokloröz asit ekli grupta 72. saatte 13.125 hücre sayılmıştır. Hipokloröz asit eklenmeyen grubun hücre sayısı, hipokloröz asit ekli olan grubun hücre sayısından fazla olmasına rağmen kontrol grubuna göre her iki grubun hücre sayısında belirgin bir artış gözlemlenmemiştir.

Buna bağlı olarak hipokloröz asit ekli kırmızı ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.5**'te belirtilmiştir.

Tablo 4.5: Hipokloröz asit ekli kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	0,63	1,09	1,41
10 dakika 2 defa	0,78	1,25	1,09
20 dakika 1 defa	0,78	0,94	1,09
20 dakika 2 defa	0,78	0,94	1,09

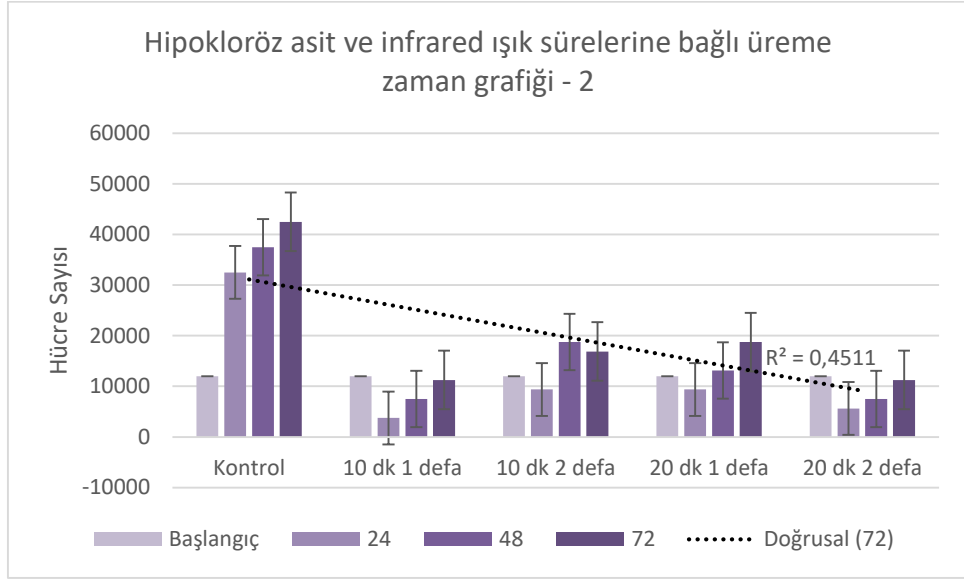
Benzer şekilde hipokloröz asit içermeyen kırmızı ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.6'**da belirtilmiştir.

Tablo 4.6: Hipokloröz asit içermeyen kırmızı ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	1,09	1,25	1,25
10 dakika 2 defa	0,94	1,72	2,03
20 dakika 1 defa	1,09	2,03	2,34
20 dakika 2 defa	1,09	1,25	1,41

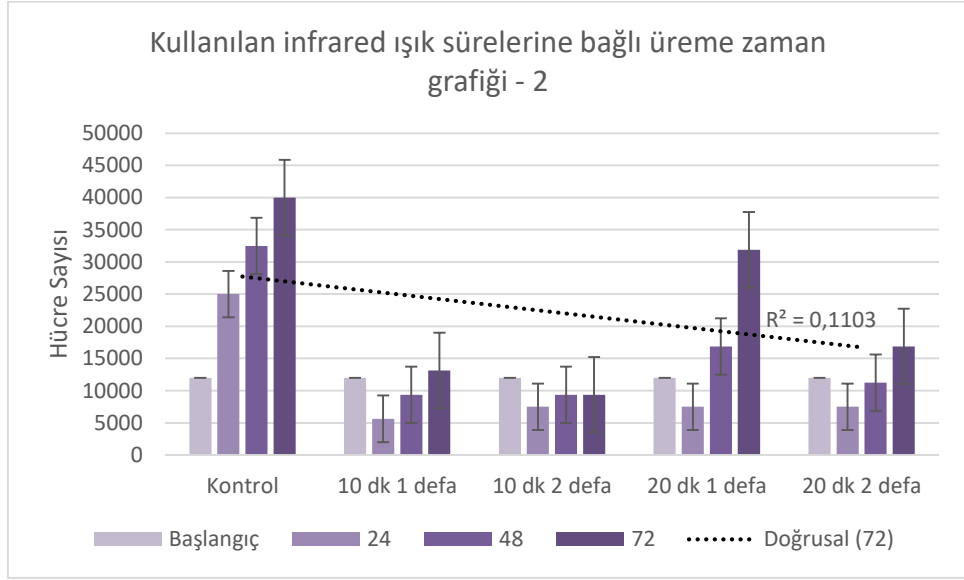
D. Fibroblast (BJ) Hücre Kültüründe İnfrared Işık Uygulaması Sonuçları

Fibroblast (BJ) hücre kültüründe infrared ışık ve hipokloröz asidin beraber uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.7'**de gösterilmiştir.



Şekil 4.7: Fibroblast hücre kültüründe infrared ışık ve hipokloröz asidin farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

İnfrared ışık ve hipokloröz asit beraber uygulanan fibroblast (BJ) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda kontrol grubuna göre hipokloröz asit eklemesinin tüm gruplarda olumlu bir etki gözlemlenmemiştir. Buna ek olarak kontrol grubuna göre infrared ışık verilen gruplarda da belirgin bir hücre artışı gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.8: Fibroblast hücre kültüründe infrared ışığın farklı uygulama sürelerinde elde edilen hücre sayıları ile bu veriler arasındaki doğrusal regresyon ve belirleme katsayı değeri (R^2)

Fibroblast (BJ) hücre kültüründe infrared ışık uygulanması sonucu elde edilen veriler **Şekil 4.8**'de gösterilmiştir. Sadece infrared ışık uygulanan fibroblast (BJ) hücre kültüründe yapılan analizler sonucunda kontrol grubuna göre tüm gruplarda belirgin bir artış gözlemlenmemiştir. Ancak saatler bazında bakıldığında kontrol grubuna en yakın hücre artışı 20 dakika 1 defa uygulanan hücre gruplarında 72. saatte gözlemlenmiştir.

İnfrared ışık uygulamasından elde edilen verilere bakıldığında 72. saatte hipokloröz asit içermeyen grupta 20 dakika 1 defa uygulamada 31.875 hücre sayılmışken hipokloröz asit ekli grupta 72. saatte 18.750 hücre sayılmıştır. Hipokloröz asit eklenmeyen grubun hücre sayısı, hipokloröz asit ekli olan grubun hücre sayısından fazla olmasına rağmen kontrol grubuna göre her iki grubun hücre sayısında belirgin bir artış gözlemlenmemiştir.

Buna bağlı olarak hipokloröz asit ekli infrared ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.7**'de belirtilmiştir.

Tablo 4.7: Hipokloröz asit ekli infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	0,31	0,63	0,94
10 dakika 2 defa	0,78	1,56	1,41
20 dakika 1 defa	0,78	1,09	1,56
20 dakika 2 defa	0,47	0,63	0,94

Benzer şekilde hipokloröz asit içermeyen infrared ışık uygulama gruplarının kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda kaç kat artış gösterdiği **Tablo 4.8'**de belirtilmiştir.

Tablo 4.8: Hipokloröz asit içermeyen infrared ışık uygulama gruplarının gösterdikleri artış katsayıları

Gruplar	24. saat	48. saat	72. saat
10 dakika 1 defa	0,47	0,78	1,09
10 dakika 2 defa	0,63	0,78	0,78
20 dakika 1 defa	0,63	1,41	2,66
20 dakika 2 defa	0,63	0,94	1,41

5. TARTIŞMA

Fotobiyomodülasyonda çeşitli dalga boylarında kırmızı ve kızılötesi ışık tedavilerinin hücre büyümesini arttırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Tripodi ve diğ. 2020, De Abreu ve diğ. 2019, Heiskanen ve Hamblin 2018). Ayrıca hipokloröz asidin de yara iyileşmesine katkısı olduğu bilinmektedir (Joachim 2020, Gold ve diğ. 2019, Wang ve diğ. 2007). Kliniklerde ve bilimsel araştırmalarda genellikle LED ışık terapisi ve hipokloröz asidin hücre hatlarındaki biyolojik etkileri ayrı olarak ele alınmıştır. Ancak LED ışık tedavilerinin hipokloröz asitle beraber kullanımına ilişkin bir bilgi literatürde mevcut değildir.

Bu çalışmada, literatürde belirtilen olumlu özellikler dikkate alınarak taşınabilir iki adet optik düzenek tasarlanmış olup ışık kaynağı olarak kırmızı ve kızılötesi dalga boylarında ışımaya yapan LED'ler tercih edilmiştir.

Çalışmada sırasıyla epidermis ve dermiste bulunan, iki birincil hücre tipi olan keratinosit ve fibroblast hücre kültürleri, hazırlanan düzenekle kırmızı LED ışık ve infrared LED ışık ile muamele edilmiştir. Kırmızı ışık, infrared ışık ve bu ışıklarla birlikte kullanılan hipokloröz asit uygulamalarının bu hücrelerin üreme hızında meydana getirdiği değişiklikler gözlemlenmiştir.

Bu kapsamda yapılan analizlerde, keratinosit hücre kültüründe kırmızı ışık uygulamasından elde edilen verilere bakıldığında 10 dakika (2 defa) süresinin 48. ve 72. saatinde kontrol grubuna göre daha belirgin bir fark yarattığı ve üremelerin daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada Fuchs ve ark. (2021) keratinosit (HEKn) hücrelerini 12 dakika belirli dalga boyunda kırmızı LED ışığa maruz bırakmışlardır. PBM tedavisinden 72 saat sonra hücrenin metabolik aktivite artışı sergilediğini, daha önceki zaman noktalarında ise kontrole kıyasla metabolik aktivitede herhangi bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda kırmızı ışık uygulanan gruplara bakıldığında 10 dakika süre ile uygulamaya maruz bırakıldıktan 72 saat sonra keratinosit hücrelerinin üremelerinde azalma gözlemlenmiştir.

Bu çalışma ile verilerimiz uyum göstermemektedir. İki çalışma arasında mevcut farklılığın kullanılan ışık kaynağının gücü, hücre kültürü seçiminde fark ve uygulama şekline bağlı olduğu düşünülmektedir.

Yapılan benzer bir çalışmada Courtois ve ark. (2020) keratinosit (HaCaT) hücre kültürüne iki farklı dozda 660 nm dalga boyunda kırmızı ışık uygulamıştır. Çalışma sonucunda uygulanan kırmızı ışığın keratinositlerin proliferasyonunu ve migrasyonunu artırdığını, PBM'in bu hücredeki arttırma etkinliğinin yara iyileşmesini destekleyebileceğini söylemişlerdir. Başka bir çalışmada, kornea epitel hücreleri, mavi ışık ve kırmızı ışığa maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda kırmızı ışığın mitokondriyal işlevi geliştirdiği ve mavi ışığın hücrelere vermiş olduğu olumsuz etkisini kırmızı ışığın azalttığı belirtilmiştir (Alvarez ve Osborne 2019). Çalışmamızda keratinosit (HaCaT) hücreleri üzerine uygulanan kırmızı ışık uygulamasından elde edilen verilere bakılarak çalışmamızın yara iyileşmesine katkı sağlayabileceğini söylememiz mümkündür.

Vinck ve ark. (2003) fibroblast hücrelerine kırmızı ışık ve infrared ışık uygulamasının kontrol grubuna göre yüksek oranda etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada 30 dakika süreyle kırmızı ve infrared LED ışığın adenokarsinojenik insan bazal epitel hücreleri, insan osteosarkom hücreleri ve PtK2 keseli epitel hücrelerinde kontrol grubuna göre hücre migrasyonunda artış olduğunu belirtmişlerdir (Spitler ve Berns 2014). Çalışmamızda kullanılan kırmızı ve infrared ışığın keratinosit hücrelerinde 20 dakika süreyle günde 1 kez uygulamadan elde edilen veriler bu çalışmalar ile uyum göstermektedir. Fuchs ve ark. (2021) kırmızı ve infrared LED ışığa maruz bırakılan fibroblast (HFF1) hücrelerinde 72 saatten sonra belirgin bir artışın olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda hem kırmızı ve hem de infrared ışığa maruz bırakılan fibroblast hücrelerinde bir artış gözlemlenmemiştir. Verilerimiz ile bu çalışma uyum göstermemektedir.

Yapılan başka bir çalışmada ışık kaynağı olarak LED kullanılarak iki çeşit keratinosit hücreleri 5 dakika kırmızı ışık ve infrared ışık ile muamele edilmiştir ancak mukozal kolonilerin sayısında etkisiz olduğu bildirilmiştir (Khan ve Arany 2016). Çalışmamızda keratinosit hücre grubuna kırmızı ve infrared uygulanmasından elde ettiğimiz verilere baktığımızda bu çalışma ile sonuçlarımız uyum göstermemektedir.

Fotobiyomodülasyon uygulamalarında, hücrelerdeki biyolojik yanıtlar birçok parametreye bağlıdır. Uyarıcı yanıtların ışığın dalga boyuna, ışınlanmanın zamanına ve uygulama sayısına bağlı olduğu ve çoklu ışınmaların kümülatif etkiye neden olabileceği söylenmektedir (Ateş 2017, Türsen ve Türsen 2015).

Çalışmamızda keratinosit hücre kültüründe infrared ışık uygulanan gruplara göre kırmızı ışık uygulanan gruplarda daha etkili sonuçların alındığı gözlemlenmiştir. Ayrıca aynı hücrelerde uygulamalardan elde edilen verilere bakıldığında günde tek bir uygulama ile günde iki kez uygulama arasında farklılıklar gözlenmiştir. Günde iki kez uygulamaya tabi tutulan hücrelerde daha belirgin bir artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak kullanılan ışınların dalga boyunun, uygulama süresinin ve sayısının hücre yanıtlarında rol oynadığını, çalışmamızın bu bilgileri desteklediği görülmektedir.

Haina ve ark. (1982) kırmızı ışığın uygulandığı yara granülasyon dokusunun kontrole göre % 25 artırdığını belirtmiştir. Yapılan başka bir çalışmada Silveria ve ark. (2016) sıçan üzerinde yaptığı çalışmada yanık yarası üzerine kırmızı ve infrared ışık uygulamıştır. Deney sonucunda infrared ışığın enflamatuvar yanıtı azalttığını ve yara onarımında etkili olduğu rapor edilmiştir. De sousa ve ark. (2013) sıçan üzerinde oluşturdukları kesi yarasını kırmızı ışık ile muamele etmişlerdir. Elde ettikleri kantitatif sonuçların anjiyogenezi stimüle ettiğini belirtmişlerdir. Benzer bir çalışmada Corazza ve ark. (2007) kırmızı ışığın anjiyogenez etkisini gözlemlemişler ve yara onarımında anjiyogenez artışı olduğunu söylemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada Bastos ve ark. (2009) sıçanlarda yara üzerine uyguladıkları kırmızı ve infrared ışığın kollojen fiber üretiminde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmalarda kırmızı ve infrared ışığın oluşturduğu biyolojik etkilerin yara iyileşmesine katkı sağladığı görülmektedir. Çalışmamızda hücrelerde oluşan biyolojik etkiler konumuz olmadığı için çalışılmamıştır. Ancak uyguladığımız kırmızı ve infrared ışığın keratinosit hücre üremelerinde artışın görülmesi yara iyileşmesine katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda keratinosit ve fibroblast hücrelerinin kontrol gruplarına 2 ppm hipokloröz asit eklenmiştir. Keratinosit hücrelerinde hipokloröz asit eklenmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücrelerin üremelerinde azalma meydana gelmiştir. Fibroblast hücrelerinde ise hipokloröz asit eklenmeyen kontrol grubuna göre hücrelerde artış gözlenmiştir.

Odom ve ark. (2019) dört hastanın kronik yaraları üzerini hipokloröz asit ile muamele ettiler ve cilt tahrişi olmadan yaranın önemli ölçüde iyileştiğini belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada Sakarya ve diğ. (2014) scratch yöntemini kullanarak stabilize HOCl solüsyonunu keratinosit ve fibroblast hücrelerine uygulamıştır. Stabilize HOCl solüsyonunun fibroblast migrasyonunu düşük dozda arttırdığını ve yüksek dozda azalttığını belirtmiştir. Keratinosit hücrelerinde ise doza bağlı bir şekilde 24 saat sonra bir artış gözlemlenmiştir. Stabilize HOCl çözeltisinin hücrelerde gözlemlenilen sonuçların yara iyileşmesini artırdığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda fibroblast hücrelerinde olumlu yönde gözlemlenilen değişim bu çalışmayla uyum göstermektedir. Tran ve ark. (2020) yapılan çalışmalarda hipokloröz asidin yara iyileşmesi ve antimikrobiyal açıdan düşük dozun umut verici olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda keratinosit hücrelerinde hipokloröz asit eklenen grupta gözlemlenilen azalmanın uygulama dozundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ayrıca çalışmamızda uygulanan hipokloröz asit ve kırmızı ışık ile infrared ışık uygulamalarının bir arada olduğu çalışma literatürde gözlemlenmemekle beraber keratinosit hücre kültüründeki çalışma verilerimize bakıldığında kontrol grubunda hipokloröz asit tek başına istenen etkiyi gösterememiş olmasına karşılık, ışık uygulamalarıyla beraber bakıldığında belirgin bir farklılık oluşturduğu gözlemlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaralanma, gündelik yaşamda insanların sık karşılaştığı sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Günümüzde yaranın bakımı ve tedavisi için pek çok yöntem mevcut olmasına rağmen yaşlı nüfusun artması, kronik hastalıkların artması, sağlık kuruluşlarına uzak yaşayan insanların sağlık hizmetine ulaşamaması ve sağlık harcamalarındaki artışların olması, tedavide hem hastalara hem de sağlık kuruluşlarına zorluklar oluşturabilmektedir.

Genel olarak yara bakımının hasta açısından yıpratıcı ve hastaneye bağımlı yapısının değiştirilmesi hedeflenmelidir. Bu amaçla, teletıp yaklaşımı içerisinde birçok teşhis yaklaşımının evde sağlık kapsamında uygulanmaya başladığı ve yaygınlaştığı gözlemlenmektedir. Yara tedavisi gibi uzun soluklu bir tedavi sürecinde hastanın kendi başına uygulayabileceği çevre dostu teknolojilerin kullanımının yaygınlaşması hem hastanelerde yığılımın azalması hem de ekonomik açıdan etkisi olacağı düşüncesi ile yaygınlaştırılması önemlidir.

Bu çalışmada, hipokloröz asit ile birlikte belirlenen sürelerde kırmızı ışık ve infrared ışık uygulanarak iki farklı hücre kültürünün üreme sayısındaki değişikliklerin gözlemlenmesi ve en fazla üremeyi sağlayan parametrelerin tespit edilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmadan elde edilen verilere bakıldığında sadece keratinosit hücre kültüründe olumlu yönde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak hipokloröz asidin varlığı durumunda toplam 6 adet uygulama ile sadece LED ışıkların verildiği 6 adet uygulamanın iyileşmeye katkı sağlayacağı gözlemlenmiştir. Bu uygulamalar arasından hipokloröz asit ve kırmızı ışığın 10 dakika (2 defa) süre ile diğer uygulamalara kıyasla iyileşmeye daha fazla katkı yapacağı düşünülmektedir.

Hastaların yaşam kaliteleri yaralarda teşhis ve tedavi süreçlerinin daha hızlı gerçekleştirilmesi ile doğru orantılı olarak artmaktadır ve teletıp yaklaşımının bu süreçleri daha hızlı bir şekilde sonuçlandırılabilmesi kanaati oluşturmuştur. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında endüstriyel prototip yapılması ve etik kurul alınarak hastalarla çalışma yapılmasına yönelik aşamaların hayata geçirilmesi hedeflenmektedir.

7. KAYNAKLAR

Aktaş, Ş., “Kronik yarada lokal faktörler ve yardımcı tedaviler”, *ANKEM Dergisi*, 26(Ek 2), 217-222, (2012).

Altınbilek, T., Kaya, E., Uyar, M., Tuncay, M. S., Çiftçi, Ö. T. ve Yılmaz, G., “Yaralanmalarda ozon terapi uygulamaları”, *Integr Tıp Dergisi*, 2(2), 44-48, (2014).

Ateş, G. B., “Photobiomodulation On Human Osteoblasts And Osteogenic Differentiation Of Adipose-Derived Stem Cells”, Doktora Tezi, Boğaziçi University, İstanbul, (2017).

Baktır, G., “Yara iyileşmesi ve deneysel yara modelleri”, *Experimed*, 9(3), 130-7, (2019).

Barolet, D., “Light-emitting diodes (leds) in dermatology”, *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 27(4), 227–238, (2008).

Bastos, J. L. N., Lizarelli, R. F. Z., and Parizotto, N. A., “Comparative study of laser and LED systems of low intensity applied to tendon healing”, *Laser Physics*, 19(9), 1925–1931, (2009).

Boyras, İ. and Yıldız, A., “Lazer Çeşitleri ve yüksek yoğunluklu lazer kullanımı”, *J Contemp Med*, 6 (Case Reports), 104-109, (2016).

Corazza, A. V., Jorge, J., Kurachi, C., and Bagnato, V. S., “Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources”, *Photomedicine and Laser Surgery*, 25(2), 102–106, (2007).

Coşkun, Ö., Uzun, G., Dal, D., Yıldız, Ş., Sönmez, Y. A., Yurttas, Y., Güler, A., Mutluoğlu, M., Tekindur, Ş., Sarı, S., Şahin, M. A., Zor, F. ve Tanyüksel, M., “Kronik yarada tedavi yaklaşımları”, *Gülhane Tıp Dergisi*, 58, 207-228, (2016).

Çinkılıç, Ö. S., “İyileşme Döneminde Uygulanan Led Fotobiyomodulasyon Tedavisinin Farklı Yüzey Özelliklerine Sahip Dental İmplantlarda, İmplant Stabilite Oranlarına Etkisinin Rezonans Frekans Analizi İle Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2011).

De Abreu, P. T. R., de Arruda, J. A. A., Mesquita, R. A., Abreu, L. G., Diniz, I. M. A., and Silva, T. A., “Photobiomodulation effects on keratinocytes cultured in vitro: a critical review”, *Lasers in Medical Science*, (2019).

De Freitas, L. F. and Hamblin, M. R., “Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy”, *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 22(3), 348–364, (2016).

De Sousa, A. P. C., Paraguassu, G. M., Silveria, N. T. T., de Souza, J., Cangussu, M. C. T., dos Santos, J. N. And Pinheiro, A. L. B., “Laser and led phototherapies on angiogenesis”, *Lasers Med Sci*, 28(3), 981-7, (2013).

Demir, R., *Led teknolojisi*, İstanbul : Açık hava Reklamcılar Derneği, (2011).
Demir, Y., Demir, S. and Gökçe, Ç., “Diabetik ayak: fizyopatolojisi, tanısı ve rekonstrüksiyon öncesi tedavisinde güncel yaklaşımlar”, *The Medical Journal of Kocatepe*, 5, 1-12, (2004).

Demiryılmaz, İ. ve Ferah, A., “Yara iyileşmesinde bağ dokusunun yeri ve nöralterapi yaklaşımı”, *Journal of Complementary Medicine*, 11(3), (2017).
Ekizoğlu, O. ve Arıcan, N., “Yaralar”

Falabella, A. F. and Kirsner, R. S., *Wound healing*, U.S.A : Taylor and Francis Group, (2005).

Fuchs, C., Schenk, M. S., Pham, L., Cui, L., Anderson, R. R. and Tam, J., “Photobiomodulation response from 660 nm is different and more durable than that from 980 nm”, *Lasers in Surgery and Medicine*, (2021).

Fushimi, T., Inui, S., Nakajima, T., Ogasawara, M., Hosokawa, K. and Itami, S., “Green light emitting diodes accelerate wound healing: Characterization of the effect and its molecular basis in vitro and in vivo”, *Wound Repair and Regeneration*, 20(2), 226–235, (2012).

Ghaemi, M., Davood, S., Mokmeli, S., Kowsari, G., Mortazavi, P. and Golmai, P., “Comparison and evaluation of the low-level laser and the red and blue led effects on wound healing in rabbit”, *J Lasers Med Sci*, 10(3), 189-193, (2019).

Gold, M. H., Andriessen, A., Bhatia, A. C., Bitter, P., Chilukuri, S., Cohen, J. L. and Robb, C. W., “Topical stabilized hypochlorous acid: The future gold standard for wound care and scar management in dermatologic and plastic surgery procedures”, *Journal of Cosmetic Dermatology*, (2020).

Gray, T. A., Wilson, P., Dumville, J. C. and Cullum, N. A., “What factors influence community wound care in the UK? A focus group study using the Theoretical Domains Framework”, *BMJ Open*, 9(7), e024859, (2019).

Guo, S. and DiPietro, L. A., “Factors affecting wound healing”, *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229, (2010).

Gümüşderelioğlu, M., “Iřıkla tedavi: fototerapi”, *Bilim ve Teknik*, 78-81, (2015).

Haina, D., Brunner, R., Landthaler, M., Braun-Falco, O. and Waidelich W., “Animal experiments on light-induced woundhealing”, *Optoelectronics in Medicine*, 164-169, (1982).

Hamblin, M. R. and Demidova, T. N., “Mechanisms of low level light therapy. Mechanisms for Low-Light Therapy”, (2006).

Heiskanen, V. and Hamblin, M. R., “Photobiomodulation: lasers vs. light emitting diodes?”, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 17(8), 1003–1017, (2018).

Joachim, D., “Wound cleansing: benefits of hypochlorous acid”, *Journal of Wound Care*, 29(Sup10a), S4–S8, (2020).

Khan, I. and Arany, P. R., “Photobiomodulation therapy promotes expansion of epithelial colony forming units”, *Photomedicine and Laser Surgery*, 34(11), 550–555, (2016).

Köklü, A. H. K. ve Çankal, D. A. U., “Yara iyileşmesini etkileyen faktörler iđerisinde beslenmenin yeri”, *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Dergisi*, 7, 135-141, (2013).

Kurtoğlu, A. H. and Karataş, A., “Yara tedavisinde güncel yaklaşımlar: modern yara örtüleri”, *Ankara Ecz. Fak. Dergisi*, 38(3), 211-232, (2009).

Lambert, K. V., Hayes, P. and McCarthy, M. “Vacuum assisted closure: a review of development and current applications”, *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 29(3), 219–226, (2005).

Mosca, R. C., Ong, A. A., Albasha, O., Bass, K. and Arany, P., “Photobiomodulation therapy for wound care: a potent, noninvasive, photoceutical approach”, 32(4), (2019).

Mutlu, S. ve Yılmaz, E., “Yara yönetiminde güncel yaklaşımlar”, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(4), 481-494, (2019).

Núñez-Álvarez, C. and Osborne, N. N., “Enhancement of corneal epithelium cell survival, proliferation and migration by red light: Relevance to corneal wound healing”, *Experimental Eye Research*, (2019).

Odom, E. B., Mundschenk, M.-B., Hard, K., and Buck, D. W., “The utility of hypochlorous acid wound therapy in wound bed preparation and skin graft salvage”, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 143(3), 677e–678e, (2019).

Öztopalan, D. F., Işık, R. Ve Durmuş, A. S., “Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinlerin rolü”, *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10(1), 83-88, (2017).

Prasetyono, T. O. H., “General concept of wound healing, revisited. Medical”, *Journal of Indonesia*, 208, (2009).

Prindeze, N. J., Moffatt, L. T. and Shupp, J. W., “Mechanisms of action for light therapy: A review of molecular interactions”, *Experimental Biology and Medicine*, 237(11), 1241–1248, (2012).

Rainey, J., *Wound care: a handbook for community nurses*, England and U.S.A: Whurr publishers Ltd, (2002).

Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A. and Gurtner, G. C., “Wound healing: a cellular perspective”, *Physiological Reviews*, 99(1), 665–706, (2019).

Sakarya, S., Gunay, N., Karakulak, M., Ozturk, B. and Ertugrul, B., “Hypochlorous acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency”, *Wounds*, 26(12), 342-350, (2014).

Sayılan, A. A., Seyhan, E. ve Kanan, N., “Yanıklarda Akut Dönem ve Hemşirelik Bakımı”, 5(3), 485-493, (2018).

Schultz, G., Chin, G. A., Diegelmann, R. and Moldawer, L., “Principles of wound healing”, 8(24), (2006).

Silveira, P. C. L., Ferreira, K. B., da Rocha, F. R., Pieri, B. L. S., Pedrosa, G. S., De Souza, C. T., Pinho, R. A., “Effect of low-power laser (lpl) and light-emitting diode (led) on inflammatory response in burn wound healing”, *Inflammation*, 39(4), 1395–1404, (2016).

Sivrikaya, S. K. and Erdem, G., “Kronik hastalarda yara bakımı”, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(2), (2019).

Sloan, M., *Red light therapy miracle medicine*, EndAllDisease Publishing, (2018).

Spitler, R. and Berns, M. W., “Comparison of laser and diode sources for acceleration of in vitro wound healing by low-level light therapy”, *Journal of Biomedical Optics*, 19(3), 038001, (2014).

Tam, S. Y., Tam, V. C. W., Ramkumar, S., Khaw, M. L., Law, H. K. W. and Lee, S. W. Y., “Review on the cellular mechanisms of low-level laser therapy use in oncology”, *Frontiers in Oncology*, (2020).

Thakral, G., LaFontaine, J., Najafi, B., Talal, T. K., Kim, P. and Lavery, L. A., “Electrical stimulation to accelerate wound healing”, *Diabetic Foot & Ankle*, 4(1), 22081, (2013).

Topalan, M., ve Önel, D., “Yara iyileşmesi”, (eds: M. Topalan ve Ş. Aktaş), *Güncel Yönleriyle Kronik Yara*, Aygül Ofset Matbaacılık, 1-26, (2010).

Tran, A. Q., Topilow, N., Rong, A., Persad, P. J., Lee, M. C., Lee, J. H. and Lee, W. W., “Comparison of skin antiseptic agents and the role of 0.01% hypochlorous acid”, *Aesthetic Surgery Journal*, 41(10), 1170–1175, (2020).
Tütüncü, S. Etiler, N., *Tıbbın alternatifi olmaz*, Ankara : Türk Tabipleri Birliği Merkez Konseyi, (2017).

Tripodi, N., Corcoran, D., Antonello, P., Balic, N., Caddy, D., Knight, A., Meehan, C., Sidiroglou, F., Fraser, S., Kiatos, D., Husaric, M., Apostolopoulos, V. and Feehan, J. “The effects of photobiomodulation on human dermal fibroblasts in vitro: A systematic review”, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 112100, (2020).

Türsen, B. ve Türsen, Ü., “Dermatolojide ışık yayan diyot”, (2015).

Ünal, M. ve Dağdeviren, H. N., “Geleneksel ve tamamlayıcı tıp yöntemleri”, *Euras J Fam Med*, 8(1), 1-9, (2019).

Vinck, E. M., Cagnie, B. J., Cornelissen, M. J., Declercq, H. A. and Cambier, D. C., “Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation”, *Lasers in Medical Science*, 18(2), 95–99, (2003).

Wang, L., Bassiri, M., Najafi, R., Nafaji, K., Yang, J., Khosrovi, B., Hwong, W., Barati, E., Belisle, B., Celeri, C. and Robson, M. C., “Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part 1. stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity”, *J Burns Wounds*, 6, e5, (2007).

Web Anonim 1, “Yaşlı bakım ilke ve uygulamaları”,
https://cdn-acikogretim.istanbul.edu.tr/auzefcontent/20_21_Guz/yasli_bakim_ilke_ve_uygulamalari/7/index.html, (2021).

Web Anonim 2, “Yara bakımı”,
https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/100639/mod_resource/content/1/7-Yara%20ve%20hem%C5%9Firelik%20bakımı.pdf, (2020).

Wolcott, R. D., Cutting, K. F., Dowd, S. and Percival, S. L., “Types of Wounds and Infections”, (2010).

Yücel, Ö., “Led Fotobiyomodülasyon Tedavisinin Dental İmplant Stabiliteleri Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi”, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Konya, (2013).

EKLER

8. EKLER

EK A

```
void setup() {  
  
    // put your setup code here, to run once:  
  
    pinMode(1, OUTPUT);  
  
    pinMode(2, OUTPUT);  
  
    pinMode(3, OUTPUT);  
  
    pinMode(4, OUTPUT);  
  
    pinMode(5, OUTPUT);  
  
    pinMode(6, OUTPUT);  
  
    pinMode(7, OUTPUT);  
  
    pinMode(8, OUTPUT);  
  
    pinMode(9, OUTPUT);  
  
    pinMode(10, OUTPUT);  
  
    pinMode(11, OUTPUT);  
  
    pinMode(12, OUTPUT);  
  
    pinMode(13, OUTPUT);  
  
    pinMode(0, OUTPUT);  
}
```

```
}

void loop() {

    // put your main code here, to run repeatedly:

    digitalWrite(1, HIGH);

    digitalWrite(2, HIGH);

    digitalWrite(3, HIGH);

    digitalWrite(4, HIGH);

    digitalWrite(5, HIGH);

    digitalWrite(6, HIGH);

    digitalWrite(7, HIGH);

    digitalWrite(8, HIGH);

    digitalWrite(9, HIGH);

    digitalWrite(10, HIGH);

    digitalWrite(11, HIGH);

    digitalWrite(12, HIGH);

    digitalWrite(13, HIGH);

    digitalWrite(0, HIGH);

}
```

Şekil A: Optik düzeneğin arduino kod yazılımları