

**DIYABETİK RATLARDA TOPIKAL TROMBOSİT KÖKENLİ BÜYÜME
FAKTÖRÜ'NÜN YARA DOKUSU OKSİDATİF OLAYLARI ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Sibel GÖKŞEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2014

ANKARA

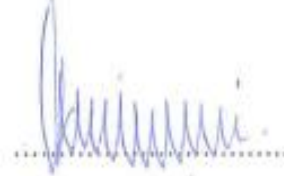
Sibel GÖKŞEN tarafından hazırlanan “DİYABETİK RATLARDA TOPIKAL TROMBOSİT KÖKENLİ BÜYÜME FAKTÖRÜ’NÜN YARA DOKUSU OKSİDATİF OLAYLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı



Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nersin ÖZSOY
Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi



Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi



Tez Savunma Tarihi: 31/ 01 / 2014

Bu tez ile Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sibel GÖKŞEN

**DİYABETİK RATLARDA TOPIKAL TROMBOSİT KÖKENLİ BÜYÜME
FAKTÖRÜ'NÜN YARA DOKUSU OKSİDATİF OLAYLARI ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Sibel GÖKŞEN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2014**

ÖZET

Diyabette yara iyileşmesindeki gecikmenin en önemli nedenleri arasında büyüme faktörü salınımının azalması, büyüme faktörü yıkımının ve oksidatif stresin artması bulunmaktadır. Trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) yara iyileşmesinin tüm evrelerinde görev alan en önemli büyüme faktörlerinden biridir. Bu çalışmada, streptozosin ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda oluşturulan dorsolateral kesi yaralarına topikal olarak uygulanan PDGF'nin, yara iyileşmesi sürecinde yara dokusundaki oksidatif olayların zamana bağımlı etkilerini incelemek amaçlanmıştır. Çalışma da 200-250 g ağırlığında 42 adet Wistar-Albino dişi rat kullanıldı. Ratlar, streptozotosin ile diyabetik hale getirildi. Diyabetik ratlar kontrol grubu (n=6), tedavisiz grup (n=12), kitosan uygulanan grup (n=12) ve kitosan+PDGF uygulanan grup (n=12) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu hariç tüm ratlarda anestezi altındayken sırtta orta hattın iki yanında eksizyonel kesi yaraları oluşturuldu. PDGF uygulanan gruplardaki ratların yaralarına her gün birer kez topikal yolla kitosan jel içerisinde PDGF-BB (7 ng/ml) uygulandı. Kitosan grubunda ise aynı miktarda kitosan jel uygulandı. Uygulamalardan sonra iyileşmenin 3 ve 7. günlerinde ratlar feda edildi. Çıkarılan yara dokularının tiyobarbitürik asit reaktif türleri (TBARS), glutatyon (GSH), nitrik oksit (NOx), askorbik asit (AA) seviyeleri ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

Sonuçlar aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi ve Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi ($p<0,05$). Topikal PDGF-BB uygulamasının yara iyileşmesinin erken evresinde yara dokusu TBARS seviyesini ve enzimatik olmayan antioksidan seviyelerini arttığı tespit edilmiştir. NOx seviyesinin ise erken evrede azaldığı, ileri evrede ise arttığı tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, diyabetli yaralara uygulanan PDGF-BB'nin iyileşmenin erken evresinde oksidatif denge üzerine etkili olduğu söylenebilir.

Bilim Kodu : 203.1.057

Anahtar Kelimeler : PDGF, Yara İyileşmesi, Diabetes Mellitus, Oksidatif Stres

Sayfa Adedi : 109

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

**INVESTIGATION OF THE EFFECT TOPICAL PLATELET DERIVED
GROWTH FACTOR ON OXIDATIVE EVENTS OF WOUND TISSUE IN
DIABETIC RATS
(M.Sc. Thesis)**

Sibel GÖKŞEN

**GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
January 2014**

ABSTRACT

The reasons that cause delay in wound healing in diabetes are decrease in the level of growth factors secretion, increase of growth factors destruction and in oxidative stress. Platelet derived growth factor (PDGF) is one of the important growth factors that play a role in all phases of wound healing. In the study, we aimed to investigate time-dependent effects of topically PDGF administration on oxidative events during dorsolateral incision wounds healing in diabetic rats. In our study 42 female Wistar albino rats (weight: 200-250g) were used. Rats get diabetic with streptozotocin. Diabetic rats were divided into four groups: control group (n=6), untreated group (n=12), chitosan treated group (n=12), chitosan+PDGF treated group (n=12). Two full-thickness excisional skin wounds were made under anesthesia in all rats except for control group. In the PDGF groups, the wounds were treated topically with single daily dose PDGF-BB (7ng/ml) after wounding. In the chitosan treated groups, the wounds were treated topically with equal amount blank chitosan gel. After these administrations, on the 3rd and 7th days of wound healing, rats were sacrificed. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs), glutathione (GSH), nitric oxide (NOx), ascorbic acid (AA) levels and superoxide dismutase (SOD) activity were measured spectrophotometrically in wound tissues. Results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. Mean differences were compared by Mann-

Whitney U test ($P < 0.05$). PDGF administration significantly increased TBARS levels and non-enzymatic antioxidant levels in early phase of wound healing. PDGF significantly decreased NOx levels in 3rd and increased NOx levels in 7th of wound healing. In light of this information, PDGF-BB administration may have effects on oxidative balance in early phase of wound healing.

Science Code : 203.1.057

Key Words : PDGF, Wound Healing, Diabetes Mellitus, Oxidative Stress

Page Number: 109

Supervisor : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren danışmanım Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e, kıymetli tecrübeleriyle bana yol gösteren Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI'ya, ayrıca manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve dostlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Yara ve yara iyileşmesi	7
2.1.1. Tanımı	7
2.1.2. Yara tipleri	7
2.1.3. Yara iyileşmesinin evreleri	9
2.1.4. Yara iyileşmesinin tipleri	22
2.1.5. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler	24
2.2. Diabetes mellitus	27
2.2.1. Tanımı	27
2.2.2. Sınıflandırması	28
2.2.3. Epidemiyoloji ve prevalans	32
2.2.4. Tanı	33
2.2.5. Diyabetin komplikasyonları	33

Sayfa

2.3. Büyüme Faktörleri.....	39
2.4. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)	42
2.4.1. PDGF izoformları	43
2.4.2. PDGF reseptörleri	45
2.4.3. PDGF sinyal ileti mekanizmaları.....	46
2.5. Oksidatif Stres	49
2.5.1. Serbest radikaller	50
2.5.2. Antioksidan savunma sistemleri	60
2.6. Diabetes Mellitus'un, PDGF'nin ve serbest radikallerin yara iyileşmesi üzerine etkileri.....	65
3. MATERYAL VE METOT.....	75
3.1. Deney Protokolü	75
3.2. PDGF Preparatının Hazırlanması	75
3.3. Diyabet Modelinin Oluşturulması	76
3.4. Yara Modelinin Oluşturulması.....	76
3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması	76
3.6. Yöntemler.....	78
3.6.1. Dokuda TBARS tayin yöntemi	78
3.6.2. Dokuda GSH tayin yöntemi	79
3.6.3. Dokuda NOx tayin yöntemi	79
3.6.4. Dokuda AA tayin yöntemi	79
3.6.5. Dokuda SOD tayin yöntemi	80
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	80

	Sayfa
4. BULGULAR.....	81
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	86
KAYNAKLAR.....	94
ÖZGEÇMİŞ	113

ÇİZELGELERİN LİSTESİ**Çizelge****Sayfa**

Çizelge 4.1. Yara dokusundaki TBARS, GSH, NO _x , AA seviyeleri ve SOD aktivitesi	81
--	----

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yara iyileşmesinin evreleri	21
Şekil 2.2. Yara iyileşme sürecinde görülen farklı hücre tipleri	22
Şekil 2.3. Primer ve sekonder yara iyileşmesi.....	24
Şekil 2.4. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu	37
Şekil 2.5. Poliöl ve diaçilgliserol yollarının birbiriyle ilişkisi	38
Şekil 2.6. Büyüme faktörlerinin etki mekanizmaları	40
Şekil 2.7. PDGF-BB'nin üç boyutlu yapısı	44
Şekil 2.8. PDGF izoformlarının yapısı	44
Şekil 2.9. PDGF reseptörleri ve izoformlarının bağlanması	46
Şekil 2.10. PDGF reseptörleri ve fosforlanmış tirozin kalıntıları	49
Şekil 2.11. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu	54
Şekil 2.12. Serbest radikallerin hücre sel hedefleri	57
Şekil 2.13. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu, etkileri ve detoksifikasyonu.....	60
Şekil 2.14. Normal ve diyabetik yara iyileşmesinin karşılaştırılması	74
Şekil 4.1. Gruplara ait TBARS seviyelerinin günlere göre değişimi	82
Şekil 4.2. Gruplara ait GSH seviyelerinin günlere göre değişimi	82
Şekil 4.3. Gruplara ait NOx seviyelerinin günlere göre değişimi	83
Şekil 4.4. Gruplara ait AA seviyelerinin günlere göre değişimi	84
Şekil 4.5. Gruplara ait SOD aktivitelerinin günlere göre değişimi	84

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. (a) Omurganın her iki yanında yaklaşık 5 cm uzunluğunda yapılan kesi yarası (b) Süturla adapte edilen kesi yarası.....	78
Resim 3.2. Alınan yara dokusu.....	78
Resim 4.1. Deney gruplarının tümüne ait kesi yaralarının morfolojik görüntüleri	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simge	Açıklama
cm	Santimetre
CuCl₂	Bakır (II) klorür
g	Gram
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H₂SO₄	Sülfürik asit
HOCl	Hipokloröz asit
Fe	Demir
IP₃	İnositol trifosfat
kDa	Kilo dalton
kg	Kilogram
LH	Yağ asidi
LOO[·]	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
mg	Miligram
ml	Mililitre
ng	Nanogram
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
Na₂HPO₄	Disodyum fosfat
NaNO₂	Sodyum nitrit
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
O₂^{·-}	Süperoksit radikali
O₃	Ozon
OH[·]	Hidroksil radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit

Simge**Açıklama****PIP₂**

Fosfatidil inositol bisfosfat

PIP₃

Fosfatidil inositol trisfosfat

rpm

Dakikadaki devir sayısı

U

Ünite

VCl₃

Vanadyum 3 klorür

μmol

Mikromol

Kısaltmalar**Açıklama****AA**

Askorbik asit

ADA

Amerikan diyabet derneği

AGE

İleri glikasyon son ürünleri

ATP

Adenozin trifosfat

BHT

Bütil hidroksi tolueen

BSA

Sığır serum albumin

CAT

Katalaz

cGMP

Halkasal guanozin monofosfat

cSrc

Tirozin kinazların Src ailesi

CSF

Serebrospinal sıvı

DAG

Diaçil gliserol

DM

Diabetes mellitus

DNA

Deoksiribonükleik asit

DTNB

5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit

ECM

Ekstrasellüler matriks

EDTA

Etilendiamin tetra asetik asit

EGF

Epidermal büyüme faktörü

FDA

Amerikan gıda ve ilaç dairesi

FGF

Fibroblast büyüme faktörü

Gap

GTPaz aktive eden protein

GC

Guanilat siklaz

Kısaltmalar**Açıklama**

GDP	Guanozin difosfat
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S transferaz
GTP	Guanozin trifosfat
GÜDAM	Gazi üniversitesi laboratuvar hayvanları yetiştirme ve deneysel araştırma merkezi
IDDM	İnsüline bağımlı diabetes mellitus
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
MAPK	Mitojen ile aktifleşen protein kinaz
MDA	Malondialdehit
MMP	Matriks metallo proteinaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	Nitro blue tetrazolyum
NDDG	Ulusal diyabet veri grubu
NFkβ	Nükleer faktör kapa β
NGF	Sinir büyüme faktörü
NIDDM	İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PCA	Perklorik asit
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü
PDGFR	Trombosit kökenli büyüme faktörü reseptörü
PI3K	Fosfatidil inositol 3-kinaz
PKC	Protein kinaz C
PLC-γ	Fosfolipaz C- γ

Kısaltmalar**Açıklama****ROT**

Reaktif oksijen türleri

SHP-2

SH2 bölgesi içeren protein tirozin fosfataz-2

SOD

Süperoksit dismutaz

STZ

Streptozotosin

T1DM

Tip 1 diabetes mellitus

T2DM

Tip 2 diabetes mellitus

TBA

Tiyobarbitürik asit

TBARS

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri

TCA

Trikloroasetik asit

TGF- β Transforme edici büyüme faktörü- β **TNF- α** Tümör nekroz faktör- α **TURDEP**

Türkiye diyabet epidemiyoloji projesi sonuçları

VEGF

Vasküler endotelyal büyüme faktörü

WHO

Dünya sağlık örgütü

1. GİRİŞ

Yara; bir dokunun normal fonksiyonlarını kesintiye uğratacak şekilde bütünlüğünün bozulmasıdır [1]. Yara iyileşmesi; anatomik bütünlük ve fonksiyonun onarımı ile sonuçlanan karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşme süreci iç içe geçmiş inflamasyon, hücresel proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç evreye ayrılmaktadır. İnflamasyon evresinde hemostaz ve inflamatuvar infiltrasyon şekillenir. Proliferasyon evresinde fibroplazia, granülasyon dokusunun oluşumu, angiogenez, yara kontraksiyonu ve epitelizasyon ile karakterizedir. Son evrede ise skar dokusunun olgunlaşması tamamlanır [2]. Bu süreç büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler tarafından düzenlenmektedir [3-6]. Yara iyileşmesinde etkili olan bazı büyüme faktörleri; trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotelial büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü (FGF)'dir [2, 6-8]. Yaralanmayla başlayan iyileşme süreci günler, aylar ve hatta yıllarca sürebilmektedir [9,10]. Dolaşım veya herhangi bir metabolik problemi olmayan bir zeminde yara iyileşmesi, kendi dinamik sürecinde kısa sürede iyileşmeyle sonlanırken [11] enfeksiyonlarda, diabetes mellitus'ta, sistemik steroid ile radyasyon uygulamaları ve kemoterapötik ajanların kullanımı sırasında gecikmektedir [8, 12].

Diabetes Mellitus (DM), insülinin mutlak veya fonksiyonel eksikliği ya da insüline karşı gelişen direnç sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik bir metabolizma hastalığıdır [13-16]. Günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite hızına sahip olan, tedavi harcamaları ve iş gücü kaybı nedeni ile hem hastaya hem de topluma büyük yük getirdiği için önemli bir sağlık sorunudur [16-19]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre ülkemizde 2000 yılında 2 920 000 olan DM prevalansının 2030 yılında 6 422 000'e ulaşacağı tahmin edilmektedir [20]. Türk Diyabet Derneği ve İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinin birlikte yaptığı çalışmada ülkemizde DM prevalansı %7,2 olarak bulunmuştur [13, 21].

DM’de yara iyileşmesinin bozulması veya gecikmesi iyi bilinen bir klinik problemidir [22]. DM’de yara iyileşmesinin metabolik, vasküler, nörolojik ve inflamatuvar değişiklikler tarafından engellendiği kabul edilmektedir [23]. Diyabetik hayvan modellerinde ve insanlarda; yeterli büyüme faktörü üretilmemesi, büyüme faktörü yıkımının ve serbest radikallerin artması yara iyileşmesindeki gecikmesinin en önemli nedenleri arasında gösterilmektedir [14, 17, 24]. Diyabette artan serbest radikaller lipitler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır [14]. Diyabetik yara iyileşmesinde inflamatuvar süreç anormaldir. Fibroblastlar ve endotel hücrelerinin proliferasyonu bozulmuştur. Hiperglisemi, kollajen birikiminde bir azalmaya ve yaranın yeniden yapılanmasının bozulmasına yol açmaktadır. Diyabette anormal yara kontraksiyonu ve gerilim kuvvetinde bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Diyabetikler nötrofil kemotaksisi ve fagositozu bozulduğu için yara enfeksiyonlarına daha çok duyarlıdır [25].

Büyüme faktörleri yara iyileşmesinde yer alan inflamatuvar hücreler, trombositler, fibroblastlar, epitel hücreleri ve endotel hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipi tarafından sentezlenen ve salgılanan düzenleyici polipeptitlerdir [26]. Bu polipeptitler, hücrenin büyümesi, sağkalımı ve ölümünde önemli bir rol oynamaktadır [27]. Büyüme faktörleri otokrin, parakrin, jankstakrin veya endokrin sinyal ile hareket edebilir [26]. Büyüme faktörü reseptörleri membrana bağlı ve enzime bağlı reseptörlerdir. Reseptörlerinin çoğu tirozin kinaz reseptörleridir [27]. Hücre reseptörlerine bağlanan büyüme faktörleri, hücre içinde birçok olayın kaskadını uyarmaktadır [26].

Trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF); PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC ve PDGF-DD’yi içeren homo veya heterodimerik büyüme faktörleri ailesinden oluşmaktadır [28]. PDGF’ler, PDGFR- α ve PDGFR- β olarak bilinen iki farklı transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak aktif hale gelir [24, 28-30]. PDGF’ler trombositler, makrofajlar, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve keratinositler tarafından üretilmektedir [28, 31]. Birçok çalışmada

PDGF'nin yara iyileşmesinin düzenlenmesi ve hızlandırılmasında önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir.

Makrofajlar tarafından uyarılan PDGF, iyileşme sürecinde önemli olan diğer büyüme faktörlerinin, fibronektin, kollajen ve proteoglikan gibi çeşitli matriks moleküllerinin salgılanmasını artırmaktadır [32]. Aynı zamanda fibroblastlar, düz kas hücreleri ve glial hücreler gibi mezenşimal kökenli hücreler için önemli bir mitojen, kemoatraktan, ve hayatta kalma faktörüdür [30]. Normal yara iyileşmesi için belirli bir seviyede olması gereken PDGF ve reseptörlerinin ekspresyonunun diyabetik yara iyileşmesinde azaldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [24]. Beer ve ark. (1997) genetik olarak diyabetli olan db/db farelerin yaralarını glukokortikoid ile tedavi etmişler ve yaralarında PDGF A, B ve β reseptörünün ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar PDGF'lerin ve reseptörlerinin normal yara iyileşmesi için gerekli olduğunu göstermektedir [33].

Hayvan modellerinde ve klinik denemelerde yara iyileşmesine topikal olarak uygulanan rekombinant PDGF-BB ve PDGF gen transferinin iyileşmeyi hızlandırdığı belirtilmektedir [34]. Greenhalgh ve arkadaşları (1990) genetik olarak diyabetli farelerin sırtlarında yapmış oldukları tam kalınlıktaki deri yaralarını rPDGF, bFGF ve ikisinin kombinasyonu ile topikal olarak tedavi etmişlerdir. Sadece büyüme faktörüyle tedavi edilen yara alanlarında fibroblastlar ve kılcal damarlarda artma ve büyüme faktörlerinin kombinasyonu ile tedavi edilen yara alanlarında ise 21 gün sonra önemli ölçüde daha fazla yara kapanması olduğunu belirtmişlerdir. Diyabetli yaraları normal yaralarla karşılaştırdıklarında ise inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunun geciktiğini, granülasyon doku oluşumunun kötüleştiğini ve yara kapanmasının geciktiğini belirtmişlerdir [35]. Doxey ve arkadaşları (1998) normal ve diyabetik (STZ) ratların makrofajlarından salınan sitokin seviyelerini belirledikleri çalışmada diyabetik ratlarda normal ratların makrofajlarına göre sitokin salınımının azaldığını belirtmişlerdir [36]. Lee ve arkadaşları (2005) genetik olarak diyabetli db/db farelerindeki diyabetik yaraları lentiviral aracılı PDGF geni ile tedavi etmişlerdir. Tedavi gruplarını kontrol gruplarıyla karşılaştırdıklarında granülasyon dokusu oluşumunda önemli bir değişikliğin olmadığını, fakat kollajen fibrillerinin

önemli ölçüde kalın ve daha hizalı olduğunu belirtmişlerdir [37]. Man ve arkadaşları (2005) genetik olarak diyabetli farelerin sırtlarındaki tam kalınlıktaki eksizyonel yaraları insan PDGF-B geni içeren lentiviral vektörlerini yara kenarlarına ve tabanına enjekte ederek tedavi etmişlerdir. Tedavi grubu kontrol grubuyla karşılaştırdığında yara iyileşmesi ve neovaskülarizasyonda anlamlı bir artış olduğunu, daha kalın ve düzenli kollajen liflerinin olduğunu ve kollajen içeriğinin 3.5 kat arttığını belirtmişlerdir [38]. Cheng ve arkadaşları (2007) diyabetik ratların sırtlarında oluşturdukları tam kalınlıktaki yaraları rekombinant-insan trombosit kökenli büyüme faktörü (rhPDGF) ile topikal olarak tedavi etmişlerdir. Reepitelizasyon oranının önemli derecede hızlandığını ve granülasyon doku kalınlığının arttığını belirtmişlerdir [39]. Li ve arkadaşları (2008) diyabetik (STZ) ratların sırtlarındaki tam kalınlıktaki yaraları farklı dozlarda topikal olarak PDGF-BB ile tedavi etmişlerdir. PDGF-BB tedavisinin anjiogenezi, hücre proliferasyonunu ve epitelizasyonu geliştirdiğini, kollajen liflerinin depolanmasının daha fazla organize olduğu ve bu etkilerinin doza bağımlı olduğunu belirtmişlerdir [24]. Ackermann ve arkadaşları (2011a) diyabetik (STZ) ratların sırtlarında halkasal tam kalınlıktaki punch biyopsi yaralarını PDGF, bFGF ve VEGF'nin kombinasyonu (proanjiogenik büyüme faktörü kombinasyonu) ve sadece PDGF ile subkütanöz enjeksiyonla tedavi etmişlerdir. Proanjiogenik büyüme faktörü kombinasyonu ile tedavi edilen grup, sadece PDGF ile tedavi edilen grup ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha fazla yara kapanma oranına ve damar yoğunluğuna (1,6 kat) sahip olduğunu belirlemişlerdir [32]. Kaltalıoğlu ve arkadaşları (2013) ratlardaki deri yara iyileşmesine topikal olarak uygulanan PDGF'nin iyileşme sürecindeki yara dokusu oksidatif olaylarına etkisini incelemişlerdir. TBARS seviyesinin iyileşmenin erken evrelerinde arttığını, ileri evrelerinde ise azaldığını ve NOx seviyelerinin azaldığını belirtmişlerdir [40].

Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır [14, 41, 42]. Diyabetik yaralarda serbest radikallerin oluşumu ve bunları ortadan kaldıran antioksidan mekanizmalar arasında dengesizlik olduğu bilinmektedir. Bu durumun, diyabette süregelen hiperglisemi varlığında glikozun ve glikolize proteinlerin otooksidasyonu sonucu

serbest radikallerin artışı ve savunma mekanizmalarının azalması ile açıklanmaya çalışılmaktadır [22].

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir. Bunlardan en önemli olan serbest radikaller singlet oksijen (singlet O_2), süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), hipokloröz asit ($HOCl$) gibi oksijenden oluşan radikaller (Reaktif oksijen türleri, ROT) ve nitrik oksit (NO) radikalidir [17, 42]. Bu radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birisidir [17]. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir [41]. Başlıca serbest radikaller mitokondriyal elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum, redoks döngüsü, araşidonik asit metabolizması ve solunumsal patlama gibi olaylar sırasında meydana gelmektedir [42]. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA ve karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklere etki ederek yapılarının bozulmasına neden olmaktadır [17, 42]. Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur [41].

ROT'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarın önlenmesi için vücutta antioksidan savunma mekanizmaları geliştirilmiştir [17]. Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere ikiye ayrılmaktadır [42]. Hücre içi antioksidan enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimlerin en önemlileri süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalazdır [17]. Enzimatik olmayan en önemli antioksidan ise C vitaminidir [42]. Yara iyileşmesi sürecinde antioksidanların miktarlarının ve aktivitelerinin azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [40, 43-45].

Birçok büyüme faktörünün yara dokusundaki oksidatif olaylar üzerine etkilerini gösteren çalışmalar [40, 46-49] bulunmasına rağmen, yara iyileşmesinin tüm aşamalarında önemli olan PDGF'nin diyabetik yara iyileşmesi sürecindeki oksidatif

olaylar üzerine etkilerini zamana bağımlı olarak gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda oluşturulan dorsolateral kesi yaralarına topikal olarak uygulanan PDGF'nin, yara iyileşmesi sürecinde yara dokusundaki oksidatif olayların zamana bağımlı etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara ve yara iyileşmesi

2.1.1. Tanımı

Yara, yumuşak dokuların normal anatomik yapı ve fonksiyonun bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise travma ile başlayan ve yeni doku oluşumu ile sonuçlanan hücresel ve biyokimyasal olaylar sürecidir [2]. Bu sürecin asıl amacı epitel dokunun devamlılığını sağlamaktır [1]. Dokunun cerrahi veya travmatik olarak hasar görmesini takiben her organizmanın öncelikli görevi; kanamayı durdurmak, enfeksiyonu önlemek, bozulan anatomik bütünlük ve fonksiyonel yapıyı onarmaktır [2].

Lokal yaralanmaya karşı organizmanın ilk cevabı inflamasyon süreciyle başlar, rejenerasyon ve reparasyon ile sonuçlanır [50]. Rejenerasyon ve reparasyon, doku ve hücre bütünlüğünün yeniden oluşmasında iki temel süreçtir [2]. Rejenerasyon, orijinal yapıdan hem yapı hem de fonksiyon olarak ayırt edilemeyen yeni dokunun meydana gelmesidir. Reparasyon ise ekstrasellüler matriksin yeniden sentezlenip birikmesiyle, yani bağ dokunun oluşumu ile doku devamlılığının sağlanmasıdır [2, 50].

Dermal doku iyileşmesi; hücre çoğalması, hücre göçü ve kollajen sentezi gibi bileşenlerden oluşan dinamik bir olaydır. Tam kalınlıktaki dermal yaralar dermis ve epidermisi içerir. Epidermis damarsız bir yapıya sahiptir ve epitelizasyon ile iyileşir. Dermis ise granülasyon doku oluşumu ve kollajen sentezi ile iyileşir [2].

2.1.2.Yara tipleri

Cildin alt katmanlarının dış ortamla temasına göre yara tipleri, açık ve kapalı yaralar olmak üzere iki temel grupta değerlendirilebilir. Yaraları aşağıdaki gibi sınıflandırabiliriz:

A. Yarayı oluşturan etkenlere göre yara tipleri

1. Travmatik yaralar

- ✓ Kesi yaraları
- ✓ Laserasyon yaraları
- ✓ Delici yaralar
- ✓ Abrasyon yaraları
- ✓ Avulsiyon yaraları
- ✓ Silah mermisi yaraları
- ✓ Kırık fragmanların ekspozisyonu ile ortaya çıkan yaralar

2. Vasküler nedenli yaralar

a. Arteriel yetmezlik yaraları

- ✓ Arterioskleroza bağlı yaralar
- ✓ Vaskülitler sonucu oluşan yaralar
- ✓ Embolizme bağlı yaralar
- ✓ Damar anomalileri sonucu ortaya çıkan yaralar

b. Venöz yetmezlik yaraları

c. Lenfatik yaralar

3. Nörojenik yaralar (trofik bozukluklar sonrası, duyu bozuklukları-nöropatik bozukluklar sonrası gelişen yaralar)

4. Basınç yaraları (püskürttükleri madde niteliğine göre sınıflanırlar)

- ✓ Hava
- ✓ Kimyasal maddeler

5. Termal yaralar

- ✓ Yanıklar
- ✓ Donuklar

6. Hayvan ısırıkları ile oluşan yaralar

7. Hastalıklar sırasında ortaya çıkan yaralar

- ✓ Malign hastalıklar
- ✓ Metabolik hastalıklar
- ✓ Enfeksiyon hastalıkları
- ✓ Hematolojik hastalıklar

B. Yaranın derinliğine göre yara tipleri

1. Yüzeysel yaralar
 2. Derin yaralar
- C. Yaranın oluşma zamanına göre yara tipleri
1. Akut yaralar
 2. Kronik yaralar [9]

2.1.3. Yara iyileşmesinin evreleri

Yara iyileşmesinde tüm olaylar iç içe geçmiş ve eş zamanlı olmasına rağmen, daha kolay anlaşılabilmesi amacıyla yara iyileşmesi; inflamasyon, hücresel proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç evreye ayrılmıştır [2, 50, 51]. Bu evreler hem katabolik hem de anabolik süreçleri içermektedir [1].

Inflamasyon evresi

Yara iyileşmesinin temel evresi [1] olan inflamasyon; organizmayı kan kaybına karşı korumak, yabancı maddelerin invazyonunu önlemek ve yarayı onarıma hazır hale getirmek için gelişen, organizmanın gösterdiği vasküler, humoral ve hücresel bir reaksiyondur [2]. Bu evre yüksek vasküler permeabilite, kan hücrelerinin yara ortamına kemotaksisi, sitokinlerin ve büyüme faktörlerin lokal serbestleşmesi ile karakterizedir [1].

Yaralanma sonrası kan damarlarının bütünlüğü bozularak kanama meydana gelir. Kanama ile eş zamanlı başlayan hemeostazla yara iyileşmesinin ilk aşaması başlamış olur. Yara meydana geldikten sonra hücre membranları tromboksan A₂ ve prostaglandin F₂ α gibi vazoaaktif bileşikler salgılayarak [51], hasar gören damarlarda 5-10 dakikalık geçici bir vazokonstrüksiyona neden olurlar. Şekillenen vazokontrüksiyon, kan kaybını önlemek için kan akım miktarını azaltarak hemeostazın şekillenmesine katkıda bulunur. Vazokontraksiyonu takiben yaklaşık 20 dk sonra histamin, serotonin, prostaglandin E₁, prostaglandin E₂ aracılığı ile şekillenen vazodilatasyon ve permeabilite artışı sonucu kan hücrelerinin diapedezi, sıvı ve proteinlerin damar dışına çıkışı şekillenir. Vazokontrüksiyonla eş zamanlı

olarak damardan çıkan trombositlerin endotel altı kollajen ile teması sonucu trombositlerin kümeleşmesi, kümeleşen trombositlerin damarı tıkaması ve Hageman faktörünün aktivasyonuna yol açmasıyla pıhtılaşma mekanizması harekete geçer [2]. Hageman faktörü; bradikinin, C_{3a} ve C_{5a} anafatoksinlerinin ortaya çıkmasına öncülük etmektedir. Bunlar lokal kan damarı permeabilitesini arttırarak plazma proteinlerinin sızıntısına ve ekstravasküler pıhtı oluşumuna sebep olmaktadır [1]. Fibrinojen, trombin ve diğer pıhtılaşma faktörleri yardımı ile pıhtılaşma meydana gelir ve kanama durur. Oluşan pıhtı; fibrin, fibronektin, trombin, trombosit, vitronektin, von Willebrand faktör ve trombozpondin gibi kan proteinleri ile eritrosit ve lökosit gibi şekilli elementlerden oluşur. Pıhtıyı oluşturan bu faktörler ise inflamatuvar reaksiyonu başlatan sitokin ve büyüme faktörlerini salgırlar [2, 51].

Trombositlerin kollajenle temasında, kollajenin yapısında bulunan prolin ve hidroksiprolin aminoasitleri trombositleri aktive eder [2]. Aktive olan trombositler ise granüllerinde bulunan trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombosit faktör IV, fibronektin, serotonin, trombosit aktive edici faktör (PAF), adenozin difosfat, tromboksan A₂, fibrinojen, von Willebrand faktör ve trombozpondin gibi faktörler ile, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 (IL-1) gibi sitokinler salgılanır [1, 6]. Bu salgılanan faktörlerin ve sitokinlerin, yara iyileşmesinin erken ve geç dönemlerinde önemli bir rolü vardır [2].

Oluşan pıhtıyla kontaminasyon ve kan kaybı önlediği gibi yara iyileşmesi için de geçici bir matriks sağlanmış olur. Ayrıca fibrin pıhtıları bölgede yaralanan lenfatikleri tıkararak sıvının yaralanmış bölgeden drene olmasını önler. Böylece inflamasyon bölgesel bir olay olarak kalır. Yangının lokalize olmasıyla bölgede kızarıklık, şişlik, ateş ve yaradan salınan nöropeptitlerden kaynaklanan ağrı oluşur. Dikiş uygulanan yaralarda ise, oluşan pıhtı yarayı yeteri kadar doldurarak yara dudaklarını birbirine yapıştırır ve böylece yaraya sınırlı bir direnç kazandırmaktadır. Sonraki süreçte pıhtı dehidre olarak yara kabuğuna dönüşür. Yara kabuğu ise yarayı

tıpkı pansuman materyali gibi dış kontaminasyondan korur, sekonder kanamaları önler, iç hemeostazı sürdürür ve pıhtı yüzeyi altında epitel migrasyonun gelişmesini sağlar [2].

Pıhtılaşma sürecinde aktive olan bileşiklerden, mast hücrelerinden, yaralı ve aktive olmuş mezenşimal hücrelerden, fibrinojen ve fibrin yıkımlanma ürünlerinden salgılanan çeşitli vazoaktif mediatörler ve kemoatraktanlar aracılığı ile kan dolaşımından yara bölgesine ilk olarak inflamatuvar lökositler gelirler. Travmayı takiben ilk birkaç saat ile 6 saat içinde yara bölgesine gelen ilk lökositler nötrofillerdir ve kısa sürede sayıları artar. Yarada mikroorganizma varlığında ise yaralanmadan sonraki birkaç dakika içinde nötrofiller bölgeye gelirler. Yara bölgesinde nötrofillerin sayısı 24-48. saatlerde pik seviyeye ulaşır [2]. Nonspesifik savunma sistemi elemanı olan nötrofiller, yaralanma boyunca yara bölgesine giren bakterileri, ölü dokuları ve yabancı cisimleri fagosite ederek yaranın sterilizasyonunu sağlamaktadır [1, 2]. Bu mekanizmada proinflamatuvar sitokinler olarak bilinen IL-1 ve TNF- α 'da önemli rol oynar. Nötrofiller farklı tiplerde çeşitli proteazlara sahiptirler. Bunlardan serin proteazlar geniş bir özelliğe sahipken, metalloproteinazlar (çinko iyonu içeren) özellikle kollajeni sindirirler. Her iki proteaz da yara bölgesinde önceden var olan ekstrasellüler matriksi yıkımlarlar. Ayrıca nötrofiller prostaglandin E ve çeşitli enzimler salgılayarak nekrotik dokunun kolay yıkımlanmasına katkıda bulunurlar. Yara bölgesindeki sağlam dokular matriks proteaz inhibitörlerinden yapılmış bir “armor” tarafından korunur. Enfeksiyon bulunmadığı takdirde nötrofillerin yaradaki sayısı üçüncü günden sonra hızla azalır. Enfeksiyon varlığında ise nötrofil infiltrasyonu enfeksiyon kontrol altına alınmaya kadar devam eder, yara bölgesinde kalma süreleri ve sayıları artar. Nötrofiller bilinmeyen bir uyarıcı ile ölürlere ve yerini makrofajlara terk ederler. Yara bölgesinde ölen nötrofillerin lizozomal enzimleri, ölü dokuları yıkımlayarak yangısal reaksiyona katkıda bulunur ve ölü nötrofiller doku makrofajları tarafından fagosite edilir veya skar ile atılırlar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda enfeksiyon bulunmayan yaralarda, normal yara iyileşme süreci için nötrofillerin zorunlu hücreler olmadıkları ileri sürülmektedir [2].

Yara iyileşmesinde yara bölgesine gelen immün hücrelerinden biri de makrofajlardır. Yara bölgesine 48–96. saat içinde ulaşan makrofajlar sistemik dolaşımdaki monositlerden kaynaklanan mononükleer fagositik hücrelerdir. Makrofajların nötrofillerle birlikte yara bölgesine geldikleri de ifade edilmektedir. Ayrıca monositler birleşerek çok çekirdekli epitelioid veya histiosit gibi dev hücrelere dönüşürler. Monositlerin yangılı bölgeye gelmelerinde fibrin, alginat, hipoksik ortam, artmış laktat konsantrasyonu, matriks yıkılma ürünleri, trombin, inflamatuvar proteinler, bakteri endotoksinleri, yangısal hücre ürünleri, nötrofil ve trombositlerden salınan birçok kemoatraktan madde aracılık eder. Yara bölgesine gelen makrofajlar özellikle IL-1 ve IL-8 gibi proinflamatuvar peptitler ve TNF salınımı ile inflamasyonu sürdürürler [2]. Makrofajlar, 3-5. günlerde yarada hakim hücre olurlar [1] ve patolojik organizmaları, doku artıklarını ve nonfonksiyonel nötrofilleri fagosit ederler [2]. Ayrıca makrofajlar hem nitrik oksit sentezleyerek, hem de serbest oksijen radikalleri vasıtasıyla patojenleri yok ederler. Hasarlı ekstraselüler matriks ise keratinositler, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından sentezlenen matriks metalloproteinazları tarafından temizlenir. Bu metalloproteinazlar inflamatuvar debris de temizleyerek yara hücrelerinin matrikse doğru hareket etmelerine olanak sağlar. Aktive olan makrofajların en önemli görevleri; inflamatuvar evre ile onarım evresi arasında geçiş görevi üstlenmeleri, epitelizasyon, anjiogenez, fibroplaziyayı kapsayan mezenşimal hücrelerin aktivasyonunu ve yara iyileşmesi için gerekli kollajenaz, tümör nekroz faktör (TNF), serebrospinal sıvı (CSF), trombosit aktive edici faktör (PAF), araşidonik asit metabolitleri, TGF- β , TNF- α , IL-1, IL-6, PDGF, FGF, IFN- α (makrofaj kaynaklı) gibi faktörleri sentezleyerek salgılamalarıdır [1, 2]. Bu maddeler daha sonraki doku proliferasyonu ve differansiasyonu safhalarında uzun süreli etki göstermektedirler. Peptit yapısında olan bu maddeler endotel hücrelerini, fibroblastları ve keratinositleri tamir fonksiyonlarındaki sıralarına göre aktive ederler. Bugün makrofajların salgıladığı 20’den fazla sitokin ve büyüme faktörü bilinmektedir. Özetle bu büyüme faktörleri fibroblastlar tarafından ekstraselüler matriksin organizasyonu ve endotel hücreleri ile düz kas hücrelerinin proliferasyonunu düzenler [2].

Nötrofillerin aksine, makrofajların yaradaki varlığı ve aktivitelerinin normal yara iyileşmesi için hayati öneme sahip olduğu, hem yara debrimenti hem de yara onarımı için zorunlu olduğu bildirilmektedir. Trombosit ve nötrofiller tarafından başlatılan yara onarımı makrofajlar tarafından devam ettirilir [2]. Monosit ve makrofajların azlığı veya kaybı fibroblast fonksiyonunda gecikme ve yetersiz anjiogenez sebebiyle yara iyileşmesinde şiddetli değişikliğe yol açar. Çünkü makrofajlar yara tamiri için gerekli olan tek inflamatuvar hücre tipidir [1]. Aşırı kontamine yaralarda makrofajların maksimum stimülasyonu, inflamatuvar fazın uzamasına dolayısıyla iyileşmenin gecikmesine ve daha fazla skar dokusu oluşumuna neden olabilir [2].

İnflamatuvar evre boyunca yara, gerilme kuvvetine dayanıklı değildir [1].

Hücrel proliferasyon evresi

Bu evre inflamasyonu takiben yaklaşık yaralanmadan sonraki 3–5. günlerde yaradaki kan pıhtısı, nekrotik doku, yabancı cisimler ve enfeksiyon gibi bariyerler kalktıktan sonra başlar. Proliferasyon evresi; fibroblastların hakim olmasıyla yaradaki granülasyon dokusunun oluşumu, epitelizasyon ve yara kontraksiyonu ile karakterizedir [2].

Granülasyon dokusunun oluşumu

Normal yara iyileşme sürecinin en belirgin göstergesi düzenli biçimde granülasyon dokusunun gelişimidir. Granülasyon dokusu oluşumu tüm yaralarda meydana gelmekle birlikte, özellikle açık yara iyileşmesinde daha belirgindir ve yaralanmadan sonraki 3–6. günlerde başlar. Açık yaraların iyileşmesinde granülasyon dokusunun görevi, sistemik bir enfeksiyona karşı bariyer görevi üstlenmekte ve epitel hücrelerinin göç etmesi için bir zemin hazırlamaktadır [2].

Granülasyon dokusu; fibronektin, hiyalüronik asitten zengin proteoglikanlar ve başlangıçta çoğunluğu tip III iken sonra tip I'e dönüşecek olan kollajen yapıları bir madde içine yerleşmiştir. Bu doku makrofajlardan, perisitlerden, fibroblastlardan,

mast hücrelerinden ve kapiller damarların içini döşeyen endotel hücrelerinden meydana gelen oldukça vasküler bir yapıdır. Granülasyon dokusunun tek damar tipi kılcal damarlardır [1]. Bu dokunun gelişimi, fibroplazia olarak tanımlanan fibroblastların aktivasyonu ve yeni damar oluşum süreci olan anjiogenez ile karakterizedir [2]. Bu safhada yaranın gerilme kuvvetinde belirgin bir artış meydana gelir [1].

Fibroplazia

Fibroplazia; yara bölgesinde granülasyon dokusunun oluşumuyla başlayan ve kollajen üreten fibroblastların yara kenarından yara alanına doğru çoğalarak göç etmesiyle devam eden bir süreçtir. Bu süreçte fibroblastlardan üretilen kollajen yara alanında birikir [2]. Ekstrasellüler matriks elemanlarından ve inflamatuvar hücrelerden salınan IL-1, TNF- α , PDGF, EGF, FGF, özellikle TGF- β 1 ve TGF- β 2 gibi birçok kemoatraktan fibroblastların yara bölgesine göç etmesinde ve proliferasyonun da rol oynar [1,2].

Makrofajların etkisiyle çoğalan fibroblastlar 3-5 gün içinde temiz ve enfekte olmayan yarada en önemli hücre tipi olurlar [1]. Fibroblastlar bağ dokuyu çevreleyen farklılaşmamış mezenşimal hücrelerden ve perivasküler dış zardan köken alarak [2], fibrin lifleri boyunca [1] sitoplazmik uzantılar oluşturarak yaranın içine doğru hareket ederler [2]. Yara çevresinde gelişen iskemi nedeniyle artan laktat seviyesi fibroblast göçünde uyarıcı olmaktadır. Fibroblastlar her 18-20 saatte bir bölünürler ve ana fonksiyonları kollajen sentezidir [1]. Fibroblastlar yaralanmadan sonraki 3-4. günlerde görülürler ve 7. günde pik seviyeye ulaşarak 15–21. güne kadar yarada aktif olarak kalırlar. Fibroblastlar onarım sürecinin esas elementidir ve dokuların yeniden yapılanma sürecinde kullanılan yapısal proteinlerin büyük bir bölümünün üretilmesinden sorumludurlar. Fibroblastlar fibrin pıhtısını geçici matriks olarak kullanırlar. Geçici matriks hızla glikoprotein (fibronektin – laminin), proteoglikan (hyaluronik asit) ve kollajen (başlangıçta tip III, daha sonra tip I) den oluşan gevşek bir yapıya sahip ekstrasellüler matriks ile yer değiştirir. Yara bölgesine ulaşan fibroblastlar, yara olgunlaşmasında önemli olan elastin, fibronektin ve

glikozaminoglikan gibi geçici matriksin yerini alacak şekilsiz temel madde bileşikleri ile kollajenaz gibi proteazların senteziyle, eş zamanlı olarak yaraya gerilim kuvveti kazandıran glikoprotein yapısında olan kollajen sentezini de yaparlar. Kollajenin yapısı ağırlıklı olarak hidroksiprolin ve hidroksilizin aminoasitlerinden meydana gelir. Kollajen oluşumu yara onarım sürecinin 4–5. günlerde tropokollajen moleküllerinin ekstraselüler matrikse bırakılmasıyla şekillenmeye başlar. Başlangıçta şekillenen olgunlaşmamış kollajen fibrilleri, birbirleriyle çapraz bağlanarak olgun kollajeni oluştururlar. Kollajen içeriği artarken temel madde miktarı azalır. Yarada erken dönemde gerilim direncinin artması kollajen formasyonuna bağlı iken, sonraki direnç artışı skar dokusunun olgunlaşmasına bağlıdır [2].

Yara merkezindeki asidik ortam ve düşük oksijen seviyesi fibroblast proliferasyonunu uyarır. Angiogenez sürecinde şekillenen yeni damar oluşumu, yara merkezinde oksijen seviyesini artırarak fibroblast proliferasyonunu azaltır. Fibroblastlar asidik ortam ve düşük oksijen seviyesinde maksimum matriks proteinlerini üretirler. Yara ortamı anoksik koşullarda kollajenlerin çapraz bağlanmasını inhibe eder. Oksijen kollajenlerin çapraz bağlanması için zorunlu bir kofaktördür. Matriksin birikmesi ve fibroblastlarda protein sentezinin sona ermesinden sonra, fibroblastlar fenotipik karakterlerini değiştirerek miyofibroblast formuna dönüşürler. Miyofibroblastlar özellikle onarım sürecinin 2. haftasında yara kontraksiyonuna katılırlar [2].

Anjiogenez

Proliferasyon evresinin önemli bir parçası olan anjiogenez [1]; yara bölgesindeki endotel hücrelerden yeni kan damarları oluşumunu kapsayan [2], ekstraselüler matriks ile hücresel bileşenlerin ve birçok anjiogenik faktörlerin etkileşimini içeren kompleks bir süreçtir [52]. Bu süreç, yara iyileşmesinde fibroblastların proliferasyon süreci ile paralel olarak gelişir. Yara onarımında mezenşimal hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu ve sentez işlemini gerçekleştirebilmeleri için gerekli oksijen ve enerji yeni oluşan kan damarlarıyla sağlanır [2].

Anjiogenez, serum ve ekstraselüler ortamdan kaynaklanan birçok faktör tarafından aktive edilir [2]. Bu süreç düşük oksijen tansiyonu ve pH ile yüksek laktat seviyelerini içeren ortamın lokal faktörleri tarafından uyarılır. Ayrıca hipoksi yeni damarların uyarılmasında önemli bir rol oynar [52]. Bunlara ek olarak, bazı çözünebilen medyatörler endotel hücrelerin anjiogenik sinyallerinde etkilidir [6]. Yaralanma, dokuda hasarlanmaya ve hipoksiye neden olduktan sonra [2] makrofajlar, trombositler ve epidermal hücrelerden salınan çeşitli sitokinler yeni kan damarı oluşumunu düzenler [52]. Özellikle bFGF, onarım sürecinin ilk 3. günü aktive olarak, kılcal damarların bazal membranlarını parçalayıp serbest endotel hücrelerin meydana gelmesini sağlayan proteazların sentezini uyararak, endotel hücrelerinin migrasyonunu destekler [2]. Ayrıca trombosit kökenli maddeler, heparin ve fibronektin de endotel hücrelerinin migrasyonunu artırır [1]. Yara kenarlarındaki keratinositler, fibroblastlar, makrofajlar, trombositler ve diğer endotel hücrelerinden salgılanan VEGF, ekstraselüler matriks bileşiklerinin bağlanmasına aracılık eden birçok yüzey reseptörlerini indükleyerek hücreler migrasyonu kolaylaştırır. Böylece anjiogenik uyarımlara cevap olarak yaralanmadan sonraki ikinci günde kılcal damarların ucunda bulunan endotel hücreler yara içine doğru hareket eder ve sıralı bir şekilde dizilerek kılcal damarların tomurcuklanması ve diğer yönlerden gelen tomurcuklarla birleşip dallanarak kılcal damar ağını şekillendirirler. Yaradaki lenfatik drenaj iyileşmenin başlangıç sürecinde zayıf olduğu için, lenfatik kanal kan damarlarından yavaş veya eş zamanlı olarak gelişir [2].

Yara kenarındaki kılcal damarların endotel hücreleri anjiogenezi oluşturmak üzere göç ederken salgıladıkları kollajenaz, plazminojen aktivatörü ve stromelizin gibi medyatörlerle vasküler bazal membranı parçalarlar [1]. Bu parçalanmış bazal membran aralıklarından endotel hücreleri psödopodlar oluşturarak perivasküler alana çıkar ve proteolitik enzimler salgılayarak [2] endotel hücrelerinin proliferasyonlarını ve dallanmalarını sağlarlar [1]. Prolifere olan endotel hücreleri 24 saat sonra hareket ederek tübüler bir lümen oluştururlar. Deri iyileşmesi sırasında bu dallanma yüzeye doğru hızlı bir şekilde gelişir. Uç kısımda tekrar dallanarak ve birleşerek fonksiyonel kılcal ağlar oluştururlar. Bu kılcal ağlardan yeni dallar gelişir ve granülasyon dokusunda hızlı bir şekilde yayılır [1]. Sonra yara yeni damarlarla dolarak

anjiogenezi durdurur. Muhtemelen bu süreç anjiostatin ve endostatin gibi uzun bir antianjiogenik faktörler listesi tarafından düzenlenir [52]. Bu süreç kılcal damar sisteminin yeterince onarılmasına, dokunun oksijenlenmesine ve metabolik ihtiyaçların karşılanmasına kadar devam eder [6].

Epitelizasyon

Epitelizasyon, yaralanmadan sonra derinin bariyer özelliğinin yeniden kazandırılması amacıyla epitel hücrelerinin ayrılmasını, göç etmesini, çoğalmasını, organize ve keratinize olmasını kapsayan bir süreçtir [2]. İyileşmenin biyokimyasal ve hücresel altyapısı oluştuktan ve bakteri kontaminasyonu 10^5 /gramın altına düştükten sonra epitel hücreleri proliferasyon olarak karşı tarafa doğru göç etmeye başlar. Yara kenarlarında ve deri eklerinde yaralanmadan 24 saat sonra reepitelizasyon başlar [1].

Yaralanmadan sonraki ilk saatlerde önce yara kenarındaki epitel migrasyonu ile epidermis belirginleşir ve yuvarlaklaşır [1]. Bununla eş zamanlı olarak, bazal epidermal hücreler [2] genişler ve mitoz başlar [1]. Bu süreçte bazal epidermal hücrelerin sitoplazmalarında aktin filamentlerin şekillenmesi, hücre içi tonofilamentlerin kısalması ve psödopod benzeri çıkıntıların şekillenmesi gibi belirgin fenotipik değişimlere uğrarlar. Bu değişimler, epitel hücrelerin birbirleriyle ve bazal membranla olan bağlantılarını kaybetmelerine neden olur. Yaralanmadan sonraki ilk dakikalarda meydana gelen pıhtı epitelizasyon için geçici bir engel oluşturur [2]. Hasarlanmış alanın merkezine doğru hareket eden keratinositler [1]; tip V kollajeni, nötral proteazları, plazminojen aktivatörünü, kollajenazı ve fibronektini üreterek epitelizasyon sürecine katkı sağlarlar. Fibronektin, epitel hücrelerin yara tabanına doğru hareket etmelerinde kılavuzluk eder. Kollajenaz ve diğer proteazlar ise pıhtı ile canlı yüzey arasındaki bağlantıyı ayırarak epitel hücrelerine göç edecek zemini oluştururlar [2]. Ekstraselüler matriks ve yaranın oluşturduğu elektriksel alandaki değişiklikler epitel hücrelerinin migrasyonunda uyarıcı bir etki gösterir [1]. Ayrıca yara alanındaki birçok büyüme faktörü epitel hücrelerin proliferasyonunu ve migrasyonunu sağlar [53]. Örneğin; TGF- β epidermal katmanların maturasyonlarını hızlandıran bir büyüme faktörüdür [6]. Bazal

epidermal hücrelerin bölünmesiyle oluşan hücreler yassılaşıp, ilerledikçe tabakalaşma sağlanır ve yara matriksinin üzerini bir çarşaf gibi örter. Yara yüzeyinin örtülmesi tamamlandıktan sonra epidermis keratinize olmaya başlar. Kollajen matriksinin yeniden şekillenmesi yaşa ve kişiye bağlı olarak yıllarca sürebilir. Dermal yara nemli tutulur ve dış etkenlerden korunursa epitel yaranın üzerini daha hızlı örter [1]. Eğer yara kabuğu varsa, epitelizasyon bu kabuğun altında devam eder. Buraya göç eden epitel hücreleri yassı görünümünü kaybeder ve daha çok sütunumsu bir şekil alırlar ve mitotik aktiviteleri normalin 17 katı artar. Bu tek katlı epitel örtü, göç eden yeni epitel hücreleri ile birbirinin üstüne binecek şekilde ikinci ve üçüncü tabaka oluşur. Epitelin tabakalaşması ile yüzeysel epiteli yavaş yavaş keratinize olur ve sağlamlaşır. Fakat bu oluşum hiçbir zaman normal epitel yapısında değildir. Enfeksiyonun ve yara kabuğunun şekillenmediği yaralarda, nemli ortam ve yeterli oksijenizasyonun sağlandığı koşullarda epitel hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonu maksimumdur. Aşırı granülasyon dokusunun gelişimi, kronik yangı varlığı ve yara yatağındaki fibrin kalıntıları epitelizasyonun bozulmasına neden olur. Yeni şekillenen epitel deri eklentilerinden yoksun, ince ve kırılgan bir yapıdadır [2].

Bazal membranın zarar görmediği yüzeysel kısmi kalınlıktaki epidermal yaralarda epitelizasyon, yara periferinde kalan epitel kalıntıları, kıl folikülü ve ter bezi gibi epidermal oluşumlardan meydana gelir. Tam kalınlıktaki açık yaralarda bazal membran hasar görmüştür ve epitelizasyon sadece yara kenarlarındaki sağlam epitel hücrelerinden köken alır. Yeterli granülasyon dokusu şekillendikten sonra granülasyon dokusu yüzeyinde 4-5 günlük latent bir periyottan sonra göç etmeye başlarlar. Dikiş ile karşı karşıya getirilen yaralarda epitelizasyon hemen başlar ve 24-48 saat içinde yaranın iki dudağı arasında periferden merkeze tek katlı epitelyal bir köprü oluşur. Bu yaranın dışarıdan gelebilecek tehlikelere karşı oluşturduğu ilk koruma engelidir. Ayrıca, bu yaralarda epitelyal hücreler dikiş ipliğinin doku içinde kalan bölümü boyunca da göç ederler [2].

Yara kontraksiyonu

Yaranın kapatılmasını kolaylaştırmak için yarayı çevreleyen tam kalınlıktaki yara dudaklarının merkeze doğru hareketi sonucu gelişen bir küçülmedir. Granülasyon dokusu deri kenarlarını içe doğru çeker ve böylece epitelizasyon ile kapatılacak alan azalır. Yaralanmadan hemen sonra derideki normal elastik gerilmenin açığa çıkmasına bağlı olarak yara kenarlarında hafif bir geri çekilme vardır ve bu durum yara alanının artışına neden olur. Bu yaklaşık 72 saat sürer. Ardından doku kontraksiyonu yaranın orijinal çapına döner ve yara kontraksiyonu ile yara büyüklüğü yavaş yavaş azalır. Kontraksiyon yaralanmadan sonra 5–15. günlerde maksimum düzeydedir ve günlük yaklaşık olarak 0,6-0,7 mm ilerler [2].

Yara kontraksiyon süreci; TGF- β 1, TGF- β 2 ve PDGF gibi büyüme faktörülerinin etkisi altındaki özelleşmiş hücre yüzey reseptörleri (örneğin; integrin) aracılığıyla kollajen matriks ile fibroblastların bağlanmasına ihtiyaç duyar [52]. Granülasyon dokusundaki fibroblastlar yapısal ve fonksiyonel farklılaşmayla kontraktıl yeteneğine sahip miyofibroblastları oluştururlar [2]. Miyoblastlar yara kontraksiyonundan sorumlu olan başlıca hücrelerdir [52]. Bu hücreler sadece yara dokusunda bulunur, sağlam bağ dokuda ise bulunmazlar ve bu hücrelerin aktin-miyozin içerdiği düşünülmektedir. Bu hücreler yara yatağında birbirlerine, kas tabakasına ve yara dudaklarındaki dermise bağlanırlar. Böylece bu miyofibroblastların kontraksiyonu yara kenarlarını yara merkezine doğru çekerek, yara alanının küçülmesini sağlar. Derinin gevşek olduğu yerlerde kontraksiyon en iyi şekilde gerçekleşir ve minimal skar oluşumu ile yara kapatılır. Derinin alt dokulara sıkı olarak bağlı olduğu bölgelerde, kontraksiyon biraz yavaştır ve yara daha fazla skar oluşumu ile kapatılır [2]. İnsan da yara kontraksiyonu en az ekstremitelerde, en fazla gövde ve perine bölgelerinde meydana gelir [1].

Yara kontraksiyonu epitelizasyon tamamlanıncaya kadar devam eder. Yoğun bakteri kontaminasyonu olduğu zaman hem yara kontraksiyonu hem de epitel göçü gerçekleşemez [1]. Yara dudakları birbirleri ile temas sağladıklarında, miyofibroblastların gerilim gücü yarayı çevreleyen derinin gerilimine eşit olduğunda

ve miyofibroblastlarda yapısal bir bozukluk olduğu zaman kontraksiyon durur. Ayrıca granülasyon dokusunun, tam kalınlıktaki greft veya flep ile kapatılması ve açık yaraların mekaniksel olarak hareketsizleştirilmesi yara kontraksiyonunu engeller. Yaraların şekline göre, yara kontraksiyonu ve skar oluşumu da değişir [2]. Yara kontraksiyonu yaranın şekli, derinliği ve boyutundan etkilenir. Çizgisel yaralar kare, dörtgen ve dairesel yaralara göre daha hızlı kapanır [53]. Dairesel yaralar üçgen, dörtgen ve kare şeklindeki yaralardan yaklaşık olarak %30 daha yavaş büzüşerek iyileşir [2].

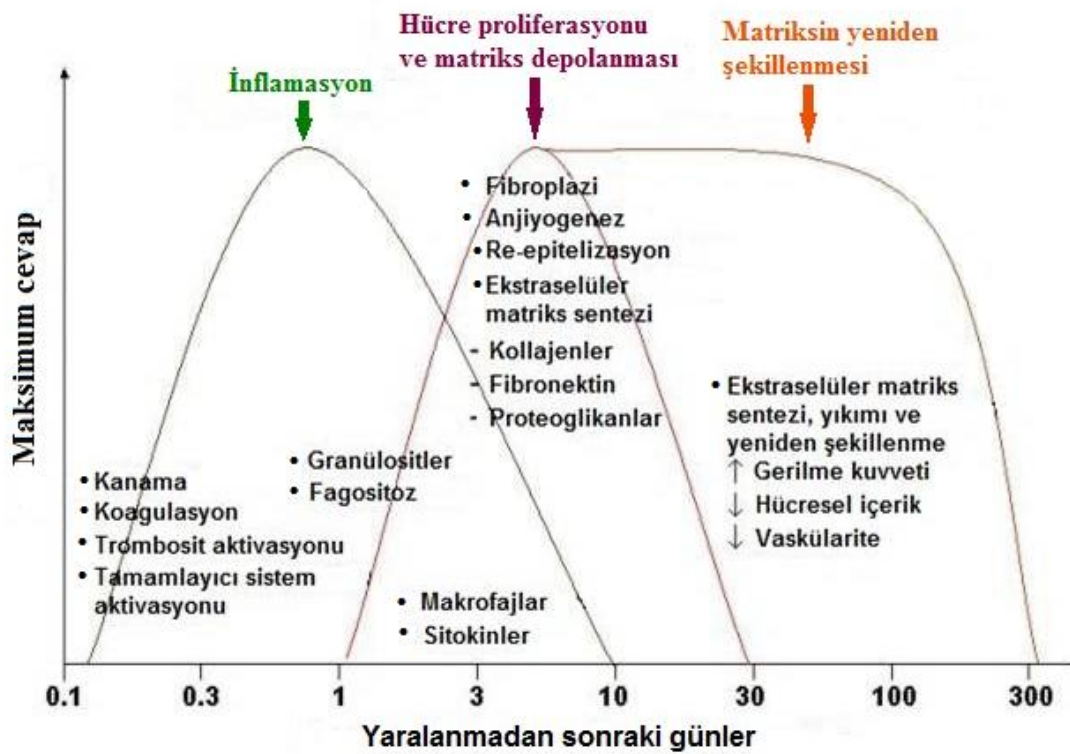
İyileşmenin ilk 3 haftası boyunca yeni kollajen sentezi yara gerilim kuvvetinin kazanılmasında belirleyicidir. Zaman ilerledikçe gerilim kuvvetinin kazanımı genellikle kollajenin çapraz bağlanması ve yeniden yapılanma ile sonuçlanır. Yaralanmadan 1 hafta sonra birçok yara fazla orijinal gerilim kuvvetinin yaklaşık % 5-10'nunu kazanırlar. 6 hafta sonra birçoğu orijinal gerilim kuvvetini geri kazanır, fakat bozulmamış deriyle aynı kopma kuvvetine asla erişemez. 1. yıl sonunda birçok yaralanmış deri yaralanmamış derinin yaklaşık % 70-80'i kadar güçlü olur [52].

Maturasyon evresi

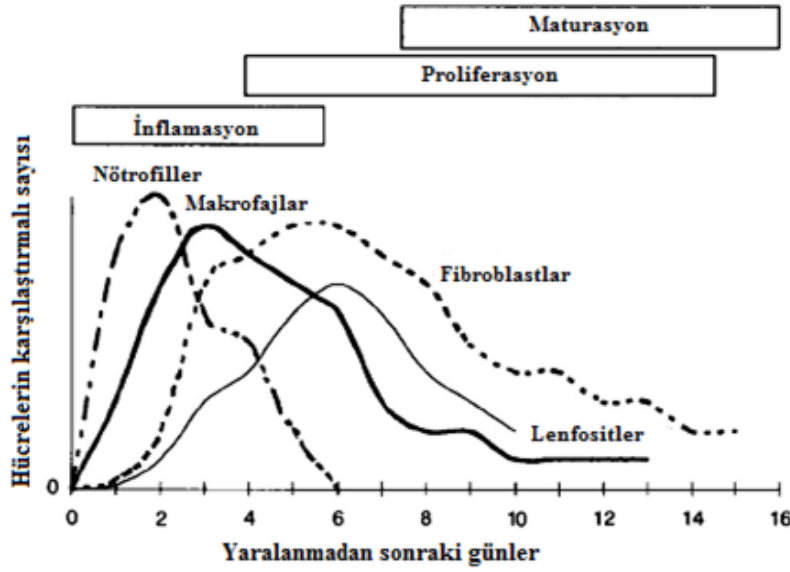
Yara onarım sürecinin son evresi olan maturasyon, granülasyon dokusunun skar dokusuna dönüşmesini ve ekstraselüler matriksin olgunlaşmasını kapsayan yara iyileşmesinin en uzun evresidir. Maturasyon evresi, yara bölgesindeki fibroblastların sayısının azaldığı, kollajen üretiminin dengeye ulaştığı, epitelizasyonun tamamlandığı, yara renginin soluklaştığı, yara gerilim direncinin arttığı, skar dokusunun hacminin azaldığı ve sonuçta iyileşmiş skar dokusunun olduğu evredir. Bu evre sürecinde, fazla miktarda hücresel ve vasküler yapıya sahip granülasyon dokusu yavaş yavaş şekil ve yapı değiştirerek daha az hücre ve damara sahip skar dokusu ile yer değiştirir. Bu hücresel azalma, hücrelerin yara dışına göç etmeleri veya programlı hücre ölümü olarak adlandırılan apoptoz ile gerçekleşmektedir [2].

Bu fazın en önemli özelliği, kollajen birikimi ve düzenlenmesidir. Kesintisiz kollajen sentezi en az yaralanmadan sonraki 4-5 haftaya kadar devam eder. Başlangıçta

üretile kollajen sağlam derideki kollajenden daha incedir. Zaman geçtikçe, başlangıçtaki kollajen iplikleri absorbe edilir ve gerilme hattı boyunca daha kalın ve düzenli kollajen birikir. Bu değişiklik ile birlikte yara gerilim kuvveti de artar. Kollajen fiberlerin kalınlığı ve düzeniyle yara gerilim kuvveti arasında pozitif bir korelasyon vardır [2]. Yara gerilim kuvveti inflamasyon fazında %10, proliferasyon fazında %45 kadardır [1]. Skar dokusu 1. haftada yaranın en son kazanacağı direncin %3'üne sahiptir. Üçüncü haftada %30, 3. ay ve sonrasında %80 direnç kazanır [2].



Şekil 2.1. Yara iyileşmesinin evreleri [54]



Şekil 2.2. Yara iyileşme sürecinde görülen farklı hücre tipleri [55]

2.1.4. Yara İyileşmesinin Tipleri

Üç tip yara iyileşmesi vardır:

Primer Yara İyileşmesi

Yara kapanmasının en basit ve en hızlı tipi [53] olan primer yara iyileşmesi, temiz ve düzgün kesilerek oluşturulan yara kenarlarının doku katmanları karşılıklı bir araya getirilerek en az skar dokusuyla komplikasyonsuz iyileşmesidir [1]. Yara kenarları fiziksel olarak yapışkan bantlar, biyolojik doku yapıştırıcıları, dikiş ya da zımba (stapler) ile tutturularak yapıştırılır ve sadece onarılacak küçük bir defekt bırakılır [53]. Sonuç olarak, vücut büyük bir granülasyon doku matriksi oluşturmak zorunda kalmaz [53] ve onarım hızlanır [1]. Yeni kan damarları ve keratinositler arasında azalan mesafe; migrasyonu ve en aza indirilmiş bakteriyel kontaminasyonu gerektirir [53]. Kapatılan yara boyunca arada kalan sınırlı boşluk fibrin ile dolar. Fibrinöz yapışma 24 saatte olur [1]. Yara kontraksiyonu cerrahi insizyonlar gibi çizgisel yara boyunca en hızlıdır ve yara kapanması daha fazladır. Bu nedenle cerrahi insizyon boyunca proliferasyon çoğunlukla epitelizasyondan oluşur [53]. 24-48 saatte epitel doku altta oluşan ince skar dokusunu örter. Yara içine dışarıdan geçiş olmayacağı

için temiz cerrahi yaralar ertesi gün açık bırakılabilir [1]. Primer yara iyileşmesinde yaraların yara gerilimi düşük ve damarlanması iyi olursa en iyi şekilde iyileşir. Cerrahi insizyonlara ek olarak kağıt kesikleri ve küçük kutanöz yaralarda primer iyileşmeyle iyileşir [53].

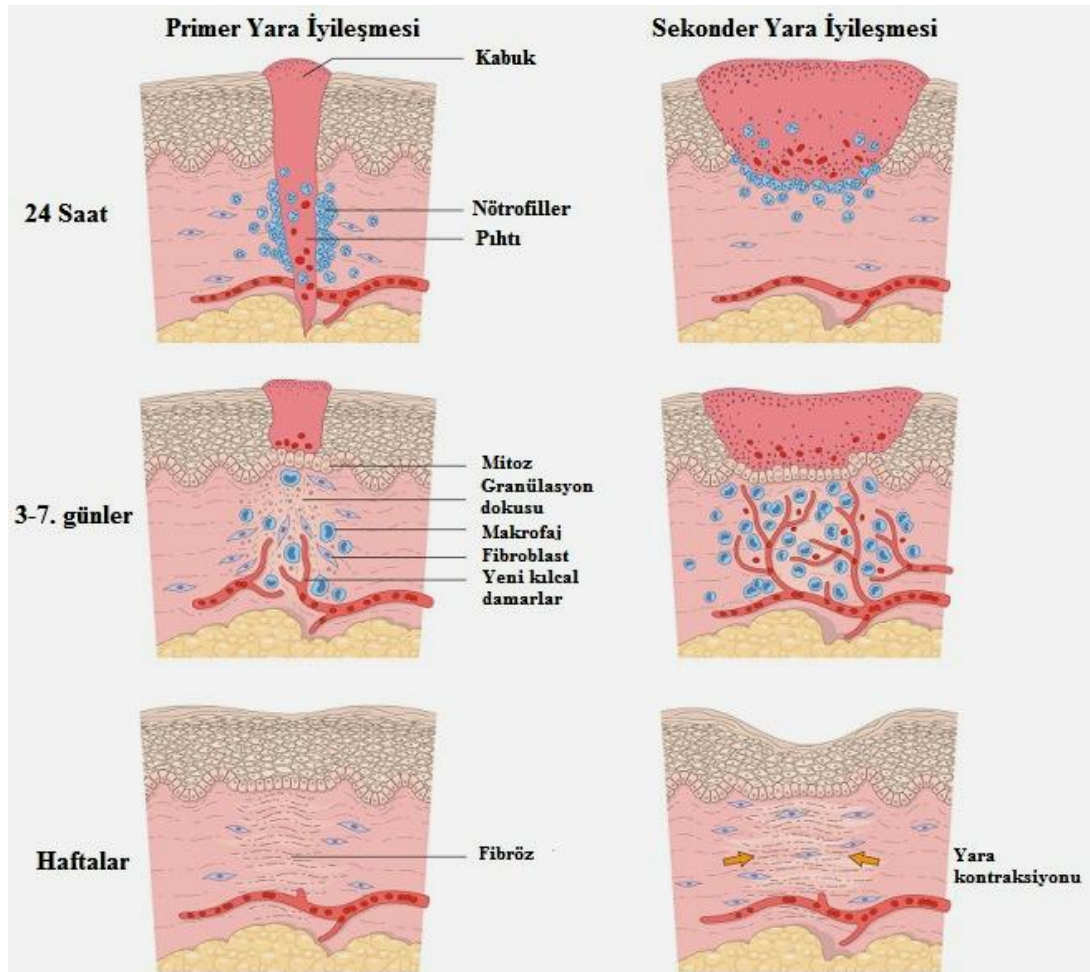
Sekonder yara iyileşmesi

Sütür konulmadan spontan iyileşmeye bırakılmış veya sonradan sütürleri alınarak kenarları birbirinden ayrılmış ameliyat yaralarının iyileşmesi sekonder yara iyileşmesi ile olur. Bu yaraların iyileşme süreleri yaranın derinliğine ve kenarlarının birbirinden uzaklığına bağlıdır [1, 56]. Bu yaralar zeminleri alttan dolarak iyileşir [1]. Yara alanını doldurmak için bir granülasyon doku matriksinin oluşması gereklidir [53]. Granülasyon dokusu 2-3 hafta sonra yara kenarları hizasına gelince üzeri epitelize olur ve skar epiteli ile örtülür [1].

Yara iyileşmesinin evreleri aynı olmakla birlikte proliferasyon evresi uzun sürer [1]. Sekonder yara iyileşmesinde yara kontraksiyonu defekt boyutunun azaltılmasında daha önemli bir rol oynar [53]. Bu yaraların gerilme kuvveti daha düşüktür, travmaya daha az dayanıklıdır ve küçülme eğilimindedir [1]. Sekonder yara iyileşmesi primer yara iyileşmesine göre daha fazla zaman ve enerji gerektirir [53]. Aynı zamanda daha fazla granülasyon [1] ve skar dokusu [53] oluşur. Fiziksel tedavi gerektiren yaraların büyük bir kısmı sekonder iyileşmeyle iyileşir [53]. Enfeksiyon riski yüksek olan ameliyat yaralarında, gecikmiş ve temizliğinden emin olunmayan yaralarda ve bazı hayvan ısırıklarında uygulanabilir [1].

Tersiyer yara iyileşmesi

Sekonder yara iyileşmesine bırakılan yaraların kapatılmaya engel hali ortadan kalktıktan sonra, primer iyileşmede olduğu gibi suture edilerek iyileşmesidir [56]. Yara kontamine ise enfeksiyon riskini azaltmak için tersiyer yara iyileşmesi kullanılabilir [53].



Şekil 2.3. Primer ve sekonder yara iyileşmesi [57]

2.1.5. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Birçok faktörün yara iyileşmesini olumlu ya da olumsuz etkilediği bilinmektedir [53].

Lokal Faktörler

Başlangıç mekanizması: Genellikle cerrahi yaralar travmatik yaralardan daha hızlı iyileşir, çünkü cerrahi olarak başlatılan yaralarda hücre ve doku hasarı daha azdır [53].

Başlangıç zamanı: Akut yaraların iyileşmesinde öngörülen bir yol takip edilebildiği için başlangıç zamanı yara iyileşmesi için öngörülecek zamana yararlı olabilir. Maalesef kronik yaralar da aynı değildir. Kronik yaralar kendi kendini sınırlayamaz [53].

Yaranın yeri: Damarlanmanın yoğun olduğu alanlar damarlanmanın az olduğu alanlara göre daha hızlı iyileşir [53].

Yaranın ölçüleri: Yaranın şekli, boyutu ve derinliği iyileşme oranına etki eder. Dairesel yaralar kare ya da dikdörtgen yaralardan daha yavaş kapanır [53].

Sıcaklığı: Yara ve çevresinin sıcaklığı 12°C'nin altında olduğunda yara gerilim kuvvetini azalttığı, iyileşmenin 30°C'de 20°C'dekinden daha hızlı olduğu ve 37-38°C'de yara iyileşmesini geliştirdiği gösterilmiştir [53].

Yaranın hidrasyonu: Nemli ortamlar kuru ortamlara göre yaranın daha hızlı iyileşmesini ve daha az acı vermesini sağlar. Yarada bir kabuğun oluşması yara iyileşmesini engellemektedir. Yaranın nemli tutulması epitelizasyonu teşvik eder ve epidermal hücrelerin migrasyonunu artırır [53, 58].

Nekroz: Yara alanında bulunan nekrotik dokular granülasyon dokusu oluşumunu engelleyerek yara iyileşmesini geciktirir ve fagositozu engelleyerek de enfeksiyonu artırır [1, 53, 58].

Enfeksiyon: Enfeksiyon olduğunu söylenebilmek için patojen bakteri miktarının her gram doku ünitesine düşen miktarın 10^5 'in üzerinde olması gerekir. [53, 56, 59] Enfeksiyon önlenmezse yara iyileşmesi gecikmektedir [56]. Enfeksiyon; inflamasyon evresini uzatır, epitel migrasyonunu ve granülasyon dokusunu bozarak epitelizasyonu ve anjiogenezi yavaşlatır, dokudaki oksijen basıncını düşürür, kollajenolitik aktiviteyi artırarak yara gerilim direncini ve yara kontraksiyonunu azaltır, skar oluşumunu artırır [53, 59].

Dolaşım: Kan dolaşımının iyi olduğu bölgelerde yara iyileşmesi hızlı olur. Örneğin; baş-boyun bölgesinde alt ekstremitelere göre iyileşme daha hızlıdır [1]. Yetersiz kan akımı enfeksiyon riskini arttırır [1, 53]. Periferik damar hastalıkları ve DM gibi dolaşımı bozan hastalıklar yara iyileşmesine geciktirir [1].

Mekanik stres: Yara alanında aşırı veya devamlı basınç olduğunda kılcal kan damarı ağında kan akımı bozarak iyileşmesini geciktirir. [58] Optimal mekanik stres altında yara iyileşmesinin hızlandığı, skar dokusunun daha organize ve güçlü bir hale geldiği belirtilmiştir [59].

Sistemik Faktörler

Yaş: Yaşlanma anatomik ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır. Yaşlanmayla birlikte makrofaj ve fibroblast fonksiyonunun bozulması, bağışıklık sistemi baskılanması, kollajen sentezi ve gücünün azalması, onarım ve rejenerasyonun yavaşlaması, yetersiz besin alınması, hormonal tepkilerin bozulması, hidrasyonun kötüleşmesi, dolaşım ve solunum sisteminin yetersiz olması, cildin bozulması gibi nedenlerden dolayı yara iyileşmesi gecikebilir. Aynı zamanda yaşlanma nedeniyle oluşan ek hastalıklar da yara iyileşmesinin bozulmasına katkıda bulunur. Yaşlı hastalarda yaralar genç hastalara göre daha yavaş iyileşir [53, 58].

Yetersiz beslenme: Başarılı bir yara iyileşmesi proteinler, karbonhidratlar, yağlar, vitaminler ve mineraller tarafından sağlanan yeterli besin depolarının varlığına bağlıdır. Yetersiz beslenme yara iyileşmesini yavaşlatır [56]. Protein eksikliği inflamatuvar fazı uzatır, fibroplaziyi bozar [56] ve kollajen sentezini olumsuz etkiler [59]. Özellikle metionin, sistin ve arjinin gibi amino asitler yara iyileşmesi için hayati önem taşırlar [56]. Esansiyel aminoasitler inflamasyon ve fibroblast ürünlerinin üretiminin arttırılması için gereklidir. Metionin sistine çevrilerek kullanılır. Sistin kollajen sentez aşamasında kofaktör olarak rol oynar. Arjinin ise, büyüme hormon sekresyonunu uyarak, yara iyileşmesini hızlandırır [59]. Karbonhidratlar ve yağlar hücrenin enerji kaynağı olarak yara iyileşmesinde rol alırlar [56]. Yağlar yeni hücrelerin sentezi için gereklidir [59]. Sodyum, potasyum,

kalsiyum, flor, fosfor, çinko ve magnezyum gibi minerallerin eksikliği kollajen sentezinde bozukluklara neden olarak yara iyileşmesini olumsuz etkiler. A, B, C, D, E gibi vitaminlerin eksikliği yara iyileşmesini olumsuz etkiler [56]. Yetersiz beslenme bağışıklık sistemini bozarak enfeksiyon riskini artırır [53].

Oksijenizasyon: Oksijen yara iyileşmesinde hayati bir öneme sahiptir [56]. İyileşme süresince yaranın normal dokulardan daha çok oksijene ihtiyacı vardır [59]. Oksijen fagositoz, fibroblast çoğalması, kollajen sentezi, büyüme faktörü üretimi, angiogenez, epitelizeasyon ve neovaskülarizasyon için gereklidir [53, 59].

Büyüme faktörleri: Polipeptit yapısında olan hedef hücredeki reseptörlerle birleşerek mitojen, kemotaktik ve hücre hareketini uyarıcı etki gösteren büyüme faktörleri yara iyileşmesinin bütün evrelerinde önemli bir role sahiptir [59].

Sistemik hastalıklar: Diabetes mellitus, ateroskleroz, kronik vasküler hastalıklar, kronik lenfödem, renal yetmezlik, obezite, kollajen doku hastalıkları, maling hastalıklar, immün yetmezlikler, anemi ve kanser yara iyileşmesini geciktirir [1, 53, 58].

2.2. Diabetes Mellitus

2.2.1. Tanımı

Diabet kelimesi Yunanca da “sifon” anlamına gelmekte ve aşırı idrar oluşumunu anlatmaktadır. Mellitus kelimesi ise Yunanca bal anlamına gelen “mel” kelimesinden türetilmiştir [60].

Diabetes mellitus (DM); insülin sekresyonunda, insülin etkisinde veya her ikisindeki bozukluklar sonucu karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasındaki bozukluğa bağlı olarak gelişen kronik hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma hastalığıdır [61-65].

2.2.2. Sınıflandırması

Diyabetin etyolojisi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla, hastalığın sınıflandırılması sürekli yenilenmektedir. DM'un tüm tiplerinde temel özellik hiperglisemidir, fakat hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizma farklıdır. DM'un bazı tiplerinde mutlak insülin eksikliği veya bozuk insülin salgılanmasına neden olan genetik bir kusur varken, bazı tiplerinde temel özellik insüline karşı direnç olmasıdır. Son yıllarda DM, hiperglisemiye neden olan patogeneze göre sınıflandırma çalışmaları yapılmaktadır [16].

İlk kez 1979 yılında Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG) ve daha sonra da 1985 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından diyabetin geniş bir sınıflandırılması yapılmıştır. WHO'nun yaptığı sınıflama kliniksel olup aynı zamanda diyabeti terminolojik olarak insüline bağımlı (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan (NIDDM) olarak adlandırmıştır. Her iki grup diyabette heterojen olduğundan WHO sınıflamasının genel uygulanabilirliği sınırlıdır. Buna karşı her iki sınıflama da, epidemiyolojik çalışmalarda ve hastaların tedavisinde klinik araştırma ayrımı için önemli ve gerekli yönergeleri sağlamıştır. Daha sonra Amerikan diyabet derneği (ADA) tarafından 1998 yılında önerilen yeni sınıflama ise etiyolojik olup, insüline bağımlı olan ve insüline bağımlı olmayan diyabet yerine tip 1 ve tip 2 diyabet terminolojisini önermektedir [14].

Diabetes mellitus'un etiyolojik sınıflaması:

- I. Tip 1 diabetes melitus
 - A. Otoimmün
 - B. İdiyopatik
- II. Tip 2 diabetes melitus
- III. Diğerleri
 - A. Beta hücresi fonksiyon bozukluğuna neden olan genetik defektler
 - 1. Kromozom 12, HNF-1 α (MODY3) (HNF: Hepatik nükleer faktör)

2. Kromozom 7, glukokinaz (MODY2)
3. Kromozom 20, HNF-4 α (MODY1)
4. Kromozom 13, IPF-1 (MODY4)
5. Kromozom 17, HNF-1 (MODY5)
6. Kromozom 2, NeuroD1 (MODY6)
7. Mitokondriyal DNA
8. Diğerleri

B. İnsülin etkisindeki genetik defektler

1. Tip A insülin direnci
2. Leprechaunism
3. Rabson-Mendenhall sendromu
4. Lipoatrofik diyabet
5. Diğerleri

C. Egzokrin pankreas hastalıkları

1. Pankreatit
2. Travma/pankreatektomi
3. Neoplazi
4. Kistik fibroz
5. Hemokromatoz
6. Fibrokalkülöz pankreatopati
7. Diğerleri

D. Endokrinopatiler

1. Akromegali
2. Cushing sendrom
3. Glukagonoma
4. Feokromositoma
5. Hipertiroidizm
6. Somatosttinoma
7. Aldesteronoma
8. Diğerleri

E. İlaç veya kimyasal ajana bağlı

1. Vakor

2. Pentamidin
3. Nikotinik asit
4. Glukokortikoid
5. Tiroid hormonu
6. Diazoksid
7. β -adrenerjik agonistler
8. Tiyazidler
9. Dilantin
10. γ -interferon
11. Diğerleri

F. Enfeksiyonlar

1. Konjenital rubella
2. Sitomegalo virüs
3. Diğerleri

G. İmmün aracılı diyabetin nadir formları

1. “Stiff-man” sendromu
2. İnsülin reseptörüne antikorlar
3. Diğerleri

H. Diyabetle bazen ilişkili diğer genetik sendromlar

1. Down sendromu
2. Klinefelter sendromu
3. Turner sendromu
4. Wolfram sendromu
5. Friedreich ataksisi
6. Huntington koresi
7. Laurence-Moon-Biedl sendromu
8. Miyotonik distrofi
9. Porfiri
10. Prader-Willi sendromu
11. Diğerleri

IV. Gestasyonel diabetes melitus [16, 61, 65, 66-70].

Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diabetes mellitus (T1DM) pankreas β hücrelerinin çoğunlukla (% 90) otoimmün nedenlerle hasar görmesi sonucu gelişen [68], insülin eksikliğinin sebep olduğu hiperglisemi ve ketoasidoz ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır [71, 72]. Genellikle çocuklarda ve gençlerde görülmektedir. Prevalansı % 0.3-0.5 civarındadır [68]. Bu nedenle çocukluk çağıının en sık görülen kronik hastalıklarından birisidir [61]. Tanı konulduğunda hastaların % 90'ı 30 yaş altındadır [68]. Çocuk ve gençlerde β hücrelerinin yıkımı hızlı olurken erişkinlerde bu süreç yavaştır [64]. T1DM'li bireyler yaşamak için insüline bağımlıdırlar. T1DM dünyada tüm diyabet vakalarının yaklaşık olarak %5-10'undan sorumludur [61]. Tüm dünyada her yıl T1DM insidansı % 2-5 oranında artmaktadır. En sık görülen semptomları; polidipsi, poliüri, zayıflama, yorgunluk ve polifajidir. Diğer belirtileri ise; kramplar, bulanık görme, huzursuzluk, sinirlilik ve enfeksiyondur [71]. Nöropati, nefropati ve retinopati gibi diyabetin ileri komplikasyonları görülmektedir [63].

Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM); genetik ve çevresel etkenlere cevap olarak gelişen insülin direnci, insülin salgısında azalma ve glukoz yapımında artma ile karakterize heterojen bir hastalıktır [16]. Tüm dünyadaki diyabet vakalarının yaklaşık olarak % 90'nından sorumludur. Genellikle 40 yaşın üzerinde ve obezlerde olmak üzere, çocukluk döneminde de görülebilmektedir [16, 61]. İnsülin direncinden dolayı bu kişilerde insülin seviyesi normal veya yüksek olmasına rağmen kan şekeri düzeyleri normal sınırlarda tutulamamaktadır [64]. Hastaların yaşaması için insülin şart değildir [68]. T2DM nüfusun artışına, toplumların yaşlanmasına, obezitenin ve sedanter hayat tarzının artmasına paralel olarak prevalansı hızla artan, uygun şekilde tedavi edilmediğinde ise morbidite ve mortalite artışına neden olan bir hastalıktır [73]. Tip 2 diyabet prevalansı yaş ile değişkenlik göstermektedir (%3-10). Ülkemizde yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi (TURDEP-Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study) çalışmasının sonuçlarına göre T2DM prevalansının 20-60 yaş arasındaki bireylerde % 7.2, 60 yaş üzerindeki bireylerde ise

bu oranın % 20 olduğu belirtilmektedir [68]. T2DM’de aile hikayesi önemlidir. Ailesinde diyabetik bireylerin olması, obezite, hipertansiyon ve kadınlarda gestasyonel diyabet öyküsü mevcutiyeti T2DM görölme riskini arttırmaktadır. T2DM hastalarında mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon gelişim riski yüksektir [64].

2.2.3. Epidemiyoloji ve prevalans

DM tüm dünyada görölme sıklığı artan en önemli sağık sorunlarından birisidir [68, 74]. Olguların çoğı tip 2 olmak üzere, dünyada yaklaşık 171-194 milyon kişinin diyabetli olduğı düşünölmektedir [74]. WHO 2025 yılında tüm diyabetiklerin sayısının 300 milyon olacağını tahmin etmektedir [68]. Ülkemizde DM sıklığı ortalama % 7’dir [16]. Son 20 yıl içerisinde elde edilen veriler tip 1 diyabetin bütün ırklarda göröldüğünü ve beyaz ırkın daha yüksek risk altında olduğunu göstermektedir [64]. T1DM insidans ve prevalansı (hastalık yükü) coğrafik ve etnik farklılıklar göstermektedir. [75].

Ülkemizde en geniş kapsamlı diyabet epidemiyolojisi çalışması TURDEP grubu tarafından 1997-1998 yılları arasında Sağık Bakanlığı’nın, Türk İstatistik Entitüsü’nün ve WHO’nun katılımlarıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre diyabet prevalansı % 7.2 olarak bulunmuştur [21].

DM, bütün toplumlarda ve ırklarda görölen bir hastalıktır. Literatürde T2DM prevalansı gelişmekte olan ölkelerde % 3,3, endüstriyel ölkelerde %5,6 olarak bildirilmektedir [76].

Türkiye’de 20-80 yaş grubunda diyabet prevalansının % 7,2 olduğı ve diyabetin beş yaş üstü grupta ölüm nedenleri arasında beşinci sırada yer aldığı bildirilmektedir [18].

2.2.4. Tanı

Diabetes Mellitusun Tanı Kriterleri (ADA 2011)

1. Diyabetin klasik semptomları (poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı) ile beraber rastgele bakılmış plazma glukoz düzeyinin >200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması. Günün en son alınan yemeği göz önüne alınmadan günün herhangi bir zamanında bakılan kan şekeri.
 2. Açlık plazma glukozunun >126 mg/dl (7 mmol/l) olması. En az 8 saat kalori alınmamış açlık dönemi olmalıdır.
 3. Oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında ikinci saatteki plazma glukozunun >200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması. (Test WHO'nun belirttiği gibi 3 günlük yeterli karbonhidrat (150g/gün) alımından sonra açlık durumunda 300 ml su içinde eritilmiş 75 gr glukoz kullanarak yapılmalıdır. Test sırasında dolaşımamalı, sigara içilmemeli tam bir inaktivite sağlanmalıdır.)
 4. $A1c \geq \% 6.5$ (Test metodu güvenilir ve standartlara uygun olmalı)
- [67, 68].

2.2.5. Diyabetin Komplikasyonları

Diyabette görülen komplikasyonlar akut ve kronik olarak sınıflandırılmaktadır. Bu komplikasyonlar bir yandan yaşam süresini kısaltmakta, diğer yandan da yaşam kalitesini azaltmaktadır. Diyabete bağlı komplikasyonların gelişmesinde diyabetin süresi, genetik faktörler ve metabolik kontrol önemli bir rol oynamaktadır [77].

A. Akut komplikasyonlar:

1. Ketoasidoz koması
2. Nonketotik hiperosmolar koma
3. Laktik asidoz koması
4. Hipoglisemi koması
5. Öglisemik hiperosmolar ketotik koma

B. Kronik komplikasyonlar:

1. Makrovasküler komplikasyonlar
 - a. Serebrovasküler hastalıklar
 - b. Kardiyovasküler hastalıklar
 - c. Periferik damar hastalıkları
 - d. Diyabetik ayak
2. Mikrovasküler komplikasyonlar
 - a. Diyabetik nefropati
 - b. Diyabetik retinopati
 - c. Diyabetik nöropati [78].

Kronik Hiperglisemi Sonucunda Oluşan Değişiklikler

- A. Biyokimyasal değişiklikler
 1. Polyol yolunun işletilmesi
 2. Glikasyon / oksidasyon
 3. Protein kinaz C aktivasyonu
 4. Gen ekspresyonunun değişmesi
- B. Fonksiyonel değişiklikler
 1. Sinir iletiminin bozulması
 2. Glomerüler filtrasyon değişmesi
 3. Kapiller sızma
 4. Büyüme faktörlerinin artması
 5. Lipoprotein metabolizmasında değişiklik
- C. Organ değişiklikleri
 1. Akson yapısında bozulma
 2. Glomerüler yapıda bozulma
 3. Matriks değişimi
 4. İntimal proliferasyon
 5. Endotelde değişiklikler
- D. Kliniksel yansıma

1. Anjiopati, retinopati, nefropati, nöropati
2. Deri değışiklikleri ve enfeksiyona eğilimin artması
3. Aterosklerozis [70].

Deneyssel ve klinik gözlemler, diyabetin tüm komplikasyonlarının metabolik bozukluklarla, özellikle de hiperglisemi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Fizyopatolojik süreçlerin temelinde birkaç biyokimyasal olay yatmaktadır [79]:

- Enzimatik olmayan glikozilasyon yoluyla AGE oluşumu
- Poliol yolu
- Protein kinaz C aktivasyonu
- Oksidatif stres [80, 81].

Enzimatik olmayan glikozilasyon

Proteinlerin aminoterminal gruplarının yüksek glukoz konsantrasyonlarına maruz kalması durumunda glukozun proteine non-enzimatik olarak bağlanması sonucu moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşturur. Bu reaksiyonla önce shiff bazları ve sonrasında da daha stabil olan amadori ürünleri oluşmaktadır. Amadori ürünlerinden de ileri glikolizasyon son ürünleri (AGE) olarak adlandırılan kararlı bileşikler oluşmaktadır. Amadori ürünlerinin oluşumuna kadar olan evre geri dönüşümlü iken, daha sonraki evreler geri dönüşümsüzdür. Diyabette AGE oluşumu ileri derecede artmaktadır ve mikrovasküler komplikasyonların oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır [17, 68, 81, 82].

Artmış AGE oluşumu;

- ✓ Nitrik oksit (NO) oluşumunu engelleyerek damarda relaksasyon defekti oluşmasına,
- ✓ Endotel yüzeyinden ve makrofajlardan TNF- α ve IL-1, IGF-1, PDGF gibi lokal büyüme faktörleri salınmasına,
- ✓ Koagülasyonun ve trombozisin desteklenmesi gibi durumlara neden olmaktadır [68].

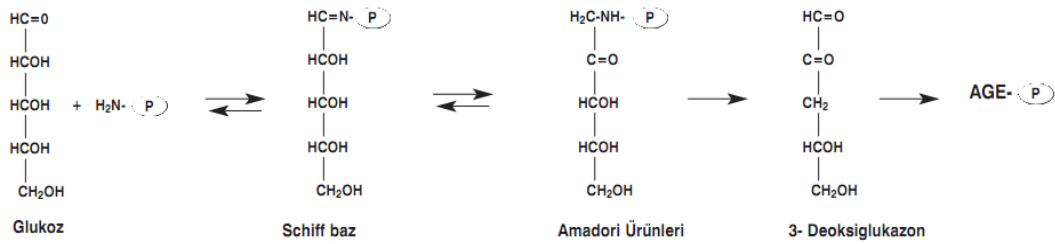
AGE'ler, endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu arttırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler. Yine AGE'lerin toksik etkileri arasında; proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyebilmeleri ve sonuçta nükleer faktör kappa B (NFkB) gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive etmeleri ve ilgili genlerin (prokoagülant doku faktörü endotelin -1, adhezyon molekülü, VCAM-1 gibi) ekspresyonlarında artış bulunmaktadır. Araştırmalar AGE'lerin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığını göstermektedir [83]. Giardino ve ark. hücre içi AGE oluşumu ile lipid peroksidasyonu arasında sıkı bir ilişki olduğunu, lipid peroksidasyonunun önlenmesi ile AGE oluşumunun da önlendiğini bildirmişlerdir [84].

Makrofajlarda, endotel hücrelerinde ve glomerül mezenşimal hücrelerinde bulunan reseptör-AGE olarak adlandırılan özel AGE reseptörleri aracılığıyla hücrel etkilerini göstermektedirler [68, 81]. RAGE, immünglobulin süpergen ailesinin bir üyesidir. 2 sabit ve 1 adet de değişken domaini mevcuttur [85]. RAGE, pek çok hücrede bulunsa da yara iyileşmesi ile doğrudan ilgili olarak fibroblastlarda, endotel hücrelerinde ve makrofajlardaki varlığı önemlidir [86].

RAGE aktivasyonu;

- 1- Vasküler tonus artışı ve vazokonstriksiyona,
- 2- Makrofajlardan ve mezenşimal hücrelerden sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınmasına,
- 3- Hücre proliferasyonu ile matriks sentezinin artmasına ve bazal membranın kalınlaşmasına,
- 4- Endotel geçirgenliğinde artışa,
- 5- Endotel hücrelerinin ve makrofajların pıhtılaşma öncüsü etkinliklerinde artışa,
- 6- Lipoproteinler, nükleik asitler, histonlar ve enzimlerin yapı ve işlevlerinde bozukluğa bağlı aterosklerotik ve mutajenik etkilere neden olmaktadır [80, 81].

RAGE'leri baskılayarak yara iyileşmesinin düzeldiği gösterilmiştir. Bu çalışmadan yola çıkarak RAGE'in fizyopatolojik açıdan önemli bir yer tuttuğu ileri sürülmüştür. Goova ve ark. diyabetik yaralarda, inflamasyonun başlagıcının daha geç ve kronik fazın ise uzamış olduğunu belirtmişlerdir [87].



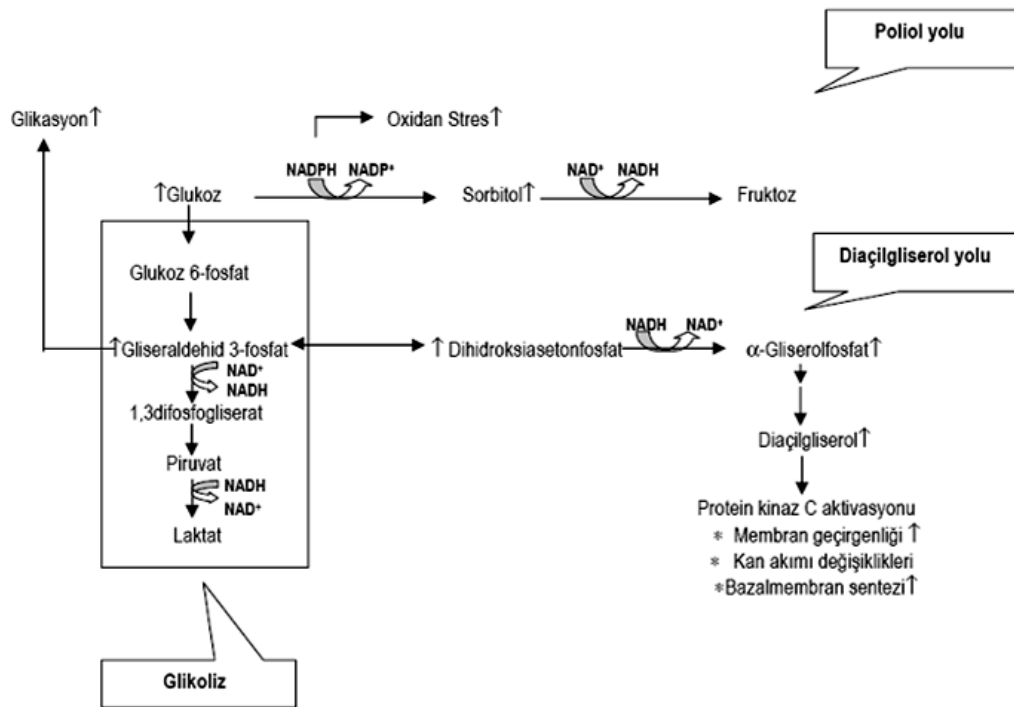
Şekil 2.4. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu [82]

Poliol yolu

Diyabetiklerde artmış intrasellüler glukoz düzeyi polioliol yolunun aktivasyonuna neden olur. Glukoz aldoz redüktaz enzimi tarafından katalize edilen ve kofaktör olarak indirgenmiş NADPH'nin kullanıldığı reaksiyonla sorbitole dönüştürülür. Daha sonra sorbitol, sorbitol dehidrogenaz enzimi ile fruktoza okside olur. NAD, NADH'a indirgenir. Hiperglisemi durumunda, sorbitol yapımı ve NADPH tüketimi artar, hücre içi miyoinositol azalır. Buna bağlı olarak $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPaz}$ aktivitesi azalır ve hücre içi Na^+ atılamadığından, osmolalite artar ve hücre içine su çekilerek ödem gelişir [68]. NO sentezi için gerekli olan NADPH'nin azalması vazodilatasyonda görev alan NO'nun sentezinin azalmasına neden olarak diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkmasında rol oynamaktadır [17]. Aynı zamanda diaçilgliserol sentezi artmaktadır. Diaçilgliserolün artışı da protein kinaz C aktivasyonuna yol açarak diyabetteki damar patolojilerine neden olmaktadır [14]. NADPH, hem serbest radikallerin uzaklaştırılmasında görev alan glutatyon oluşumu hem de NO sentezi için gereklidir [68].

Protein kinaz C aktivasyonu

Hücre içi hiperglisemide glikoliz ara ürünlerinden olan gliseraldehit 3-fosfat, gliserol 3-fosfata indirgenir ve açillenir. Diaçilgliserol (DAG) protein kinaz C'nin aktivatörü olduğundan konsantrasyonunun artması enzimin aktivasyonuna yol açar. DAG primer olarak PKC'nin beta ve alfa izoformlarını aktive eder [88]. VEGF gibi vazoaktif maddeler, büyüme faktörleri, dislipidemi, oksidatif stres ve AGE oluşumu PKC'nin aktivasyonuna neden olmaktadır. Aktive olan PKC'nin, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini, hücre dışı matriks bileşenlerini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogeneğinde rol aldığı öne sürülmektedir [17, 68].



Şekil 2.5. Poliöl ve diaçilgliserol yollarının birbiriyle ilişkisi [14, 81]

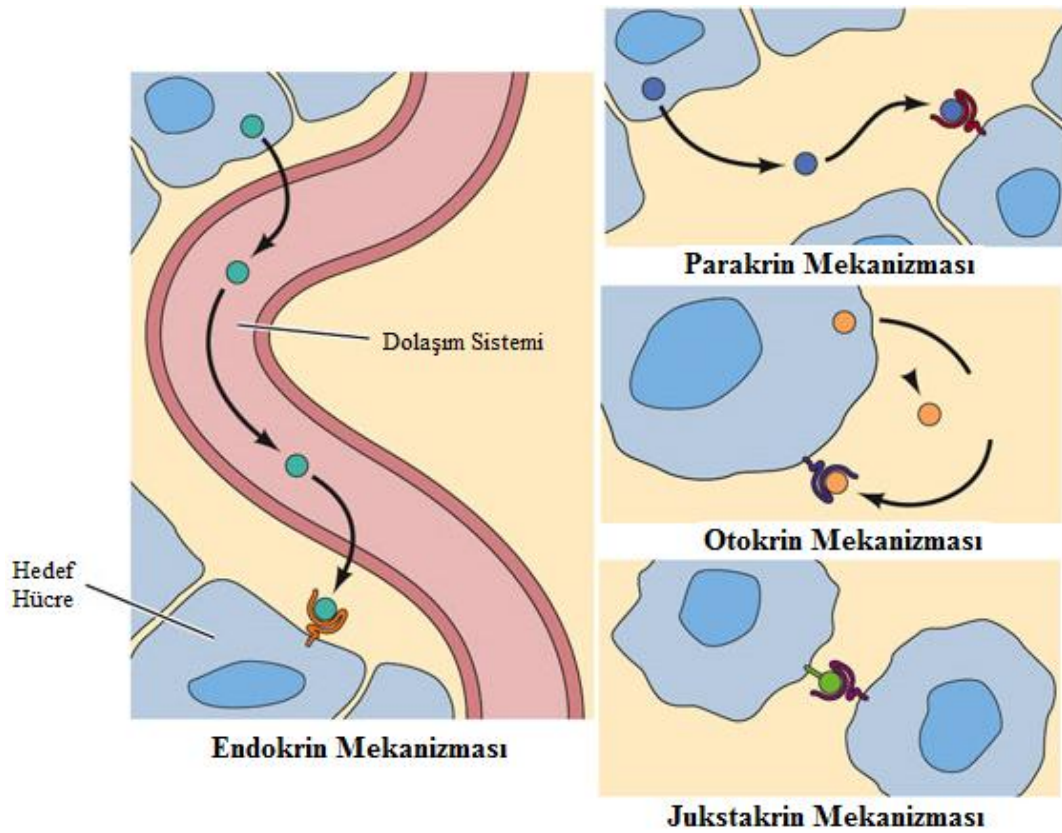
Oksidatif stres

Oksijenden türeyen reaktif oksijen ürünleri (ROT) ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizliktir. Hücre içi ve dışında

glukoz konsantrasyonunun artışı oksidatif strese neden olmaktadır. Lipid hidroperoksitleri, konjuge dienler, tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) ve isoprostanlar gibi oksidatif stres göstergelerinin düzeylerinin arttığı diyabetli hastalarda E vitamini, C vitamini, glutatyon, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan savunma sistemi parametrelerinin düzeylerindeki değişiklikler diyabetin uzun dönem komplikasyonlarının patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir [81].

2.3. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri hücre bölünmesini uyaran, inhibe eden ve hücrenin farklılaşmasını başlatan polipeptidlerdir. Hücre büyümesi ve proliferasyonun başlamasında büyüme faktörleri önemli bir rol oynamaktadır. Bir büyüme faktörünün hangi işlevi başlatacağı hücre tipine ve hücre gelişim evresine göre değişmektedir. Daha ileri bölünmenin olmayacağı bir hücrede büyüme faktörleri, farklılaşmayı etkilemektedir. Hidrofilik polipeptid yapısındaki büyüme faktörleri hücre membranındaki özgün reseptörlerine bağlanarak hücrel olayları başlatmaktadır. Protein kinaz aktivitesine sahip olan büyüme faktörü-reseptör kompleksi çoğunlukla tirozin kinaz aktivitesi göstermektedir. Aynı zamanda bazı büyüme faktörlerinin serin/treonin kinaz aktivitesi bulunmaktadır [3]. Büyüme faktörleri hücrel fonksiyonlarını otokrin (salgılandığı hücreye olan etkisi), parakrin (komşu hücrelere olan etkisi), jukstakrin (bitişik hücreye olan etkisi) veya endokrin (kan yoluyla uzaktaki hücrelere etkisi) mekanizmalarla sağlamaktadırlar [7, 26]. Yara iyileşmesinde etkili olan başlıca büyüme faktörleri; epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF)'dür.



Şekil 2.6. Büyüme faktörlerinin etki mekanizmaları [89]

Epidermal Büyüme faktörü (EGF)

EGF ilk olarak Dr. Stanley COHEN tarafından rapor edilmiştir [28]. 53 amino asitlik bir polipeptittir [7, 90]. EGF; trombositler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılanmaktadır. Fibroblastlar üzerinde parakrin etki gösterir [28]. Hücrelerin çoğunda EGF'ye ait reseptörler bulunmaktadır. Anjiogenezi ve kollajenaz aktivitesini uyarıcı özelliğe sahiptir [7]. İn vitro çalışmalarda EGF akut yaralanmadan sonra reepitelizasyonun önemli derecede hızlanmasını ve yaralarda gerilim kuvvetinin artmasını düzenlemektedir [28].

Transforme edici büyüme faktörü (TGF- β)

Makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve trombositler tarafından üretilmektedir [28]. Makrofajlar tarafından kendi üretimini otokrin yolla düzenler. Ayrıca

monositleri uyarak FGF, PDGF, TNF- α , IL-1 gibi büyüme faktörlerinin salınımını sağlar. Hemen hemen tüm hücrelerin TGF- β için reseptörü vardır [7]. Aktif TGF- β tip I ve tip II den oluşan heterodimerik bir reseptör kompleksine bağlanarak biyolojik fonksiyonlarını göstermektedirler [4]. Kuvvetli anabolik olarak fibrozis ve anjiogeneze yol açmaktadır [91]. TGF- β , makrofajlar için kemotaktiktir. Fibroblast kemotaksisini ve proliferasyonunu uyarır [7], fakat keratinositlerde dahil olmak üzere birçok hücrenin proliferasyonunu inhibe etmektedir [4]. Birçok in vitro çalışmada eksojen TGF- β uygulamasının anjiogenezi, fibroblast proliferasyonunu, miyoblast farklılaşmasını ve matriks birikimini uyarıcı olduğu ve yara kontraksiyonu için önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir [2, 4, 7, 28].

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF ailesi 23 üyeden oluşmaktadır. Bunların deri yara iyileşmesinde kullanılan en önemli üç üyesi FGF-2, FGF-7 ve FGF-10 dur. FGF'ler keratinositler, fibroblastlar, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, kondrositler ve mast hücreleri tarafından üretilmektedir [28]. FGF'ler yara alanındaki fibroblastlar ve keratinositleri de içeren çeşitli hücre tipleri için mitojeniktir [4]. FGF-2 akut yaralarda artmıştır ve granülasyon dokusu oluşumu, reepitelizasyon ve dokunun yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynar. İn vitro çalışmalar da FGF-2'nin çeşitli ekstrasellüler matriks bileşenlerinin sentezi ve depolanmasını düzenlediği [28], anjiogenezi uyardığı [4, 91], reepitelizasyon boyunca keratinosit hareketliliğini artırdığı, fibroblastların göçünü teşvik ettiği, kollajen üretimini uyardığı ve yara gerim kuvvetini artırdığı gösterilmiştir [2, 28, 92]. Fakat FGF-2 düzeyinin kronik yaralarda azaldığı belirtilmiştir. FGF-7 ve FGF-10 da akut yaralarda bulunmaktadır. İn vitro çalışmalarda FGF-7 ve FGF-10'un reepitelizasyonda önemli bir rol oynayan keratinositlerin proliferasyonu ve migrasyonunu uyardığı gösterilmiştir. Ek olarak, FGF-7 ve FGF-10 reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyon faktörlerinin transkripsiyonunu artırmaktadır [28].

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF ailesinin üyeleri: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, ve plasenta büyüme faktörüdür [28]. VEGF'ler VEGFR-1, VEGF-2 ve VEGF-3 olan 3 farklı transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak biyolojik fonksiyonlarını göstermektedirler [4]. VEGF-A endotel hücreleri, keratinositler, fibroblastlar, düz kas hücreleri, trombositler, nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilmektedir [2, 28]. Birçok in vitro çalışmada VEGF-A'nın anjiogenezdeki erken olayları, özellikle endotelial hücrelerin migrasyonunu ve proliferasyonunu teşvik ettiği için yara iyileşmesinde önemlidir [2, 28].

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

IGF ailesinin üyeleri: IGF-I ve IGF-II'dir [93]. Hepatosit ve fibroblastlardan sentezlenmektedir [94]. IGF-I protein sentezinin teşvik edilmesinde çok önemlidir ve fibroblastları da içeren birçok hücre tipinin proliferasyonu artırmaktadır [93]. Çeşitli çalışmalar da eksojen IGF-I'nin özellikle diğer büyüme faktörleriyle kombine edildiğinde yara iyileşmesi üzerine yararlı etkisinin olduğu belirtilmiştir [4]. Yara iyileşmesinde PDGF veya FGF ile birlikte çalışarak fibroblast proliferasyonunu hızlandırmaktadır [94].

2.4. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

1974 yılında keşfedilen PDGF tam kan serumunun mitojenik aktivitesi tayin edilirken trombositlerde bulunmuştur [30, 34]. PDGF ailesi dört farklı gen tarafından kodlanan, 4 farklı polipeptid zincirinin 5 farklı disülfid bağı ile bağlanmasıyla meydana gelen PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC ve PDGF-DD izoformlarından oluşmaktadır [30, 34, 95]. PDGF izoformları inaktif öncüler olarak endoplazmik retikulumdaki disülfid bağı ile bağlı dimerik polipeptitlere monte edilerek sentezlenmektedir. Daha sonra biyolojik olarak aktif formlar oluşturmak üzere proteolitik işlemlerden geçirilmektedirler. Katyonik A ve B zincirlerinin oluşturduğu dimerler golgi aygıtının içindeki hücre dışı yol aracılığıyla aktive

edilirken, C ve D zincirlerinin oluşturduğu dimerler hücre dışında aktive edilmektedir [29, 34, 96, 97]. PDGF'nin A- ve B- zincirlerinin olgun kısımları yaklaşık 100 amino asit kalıntısından uzundur ve yaklaşık % 60 amino asit sekans benzerliği göstermektedir [29]. PDGF izoformları α - ve β - transmembran tirozin kinaz reseptörleri aracılığıyla biyolojik aktivitelerini göstermektedirler [4, 29, 34, 97]. Ana kaynağı trombositlerin α granülleri olan PDGF aynı zamanda makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve vasküler endotelial hücreler tarafından sentezlenmektedir [28, 95].

2.4.1. PDGF izoformları:

PDGF-A

PDGF-A zincirini kodlayan gen 7. kromozom üzerinde bulunmaktadır [29, 96]. 196 polipeptid ve alterneatif birleşme nedeniyle 211 amino asit olarak sentezlenen [97] A zinciri 14 kDa'dur [90]. Fibroblastlar, keratinositler, vasküler düz kas hücreleri, vasküler endotelial hücreler, astrositler, nöronlar, epitel hücreleri, makrofajlar ve trombositler/megakaryositler tarafından sentezlenmektedir [29]. Ekspresyonu kalp, pankreas ve iskelet kasında en yüksektir [97].

PDGF-B

PDGF-B zincirini kodlayan gen 22. kromozom üzerinde bulunmaktadır [29, 96]. 241 amino asit olarak sentezlenen [97] B zinciri 17 kDa'dur [94]. Fibroblastlar, keratinositler, vasküler düz kas hücreleri, vasküler endotelial hücreler, epitel hücreleri, makrofajlar ve trombositler/megakaryositler tarafından sentezlenmektedir [29]. Ekspresyonu kalp ve plasentada en yüksektir [97].



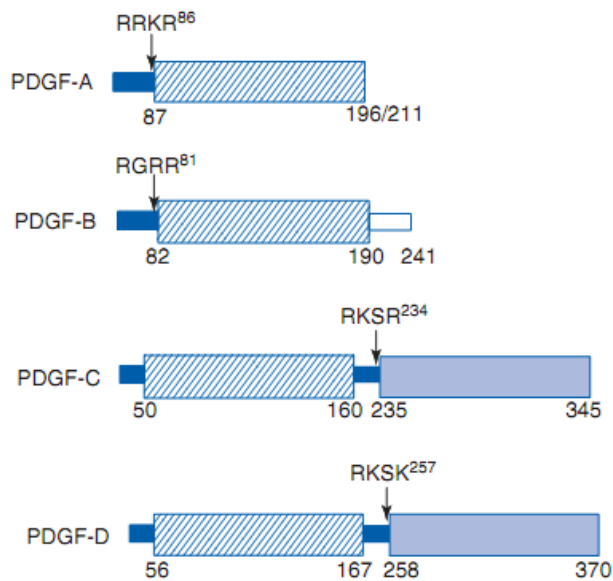
Şekil 2.7. PDGF-BB' nin üç boyutlu yapısı [98]

PDGF-C

PDGF-C zincirini kodlayan gen 4. kromozom üzerinde bulunmaktadır [29, 96]. 345 amino asit olarak sentezlenmektedir. Ekspresyonu kalp, böbrek ve pankreasta en yüksekken, karaciğer ve ovaryumda düşüktür [97].

PDGF-D

PDGF-D zincirini kodlayan gen 11. kromozom üzerinde bulunmaktadır [29, 96]. 370 amino asit olarak sentezlenmektedir. Ekspresyonu kalp, pankreas ve ovaryumda en yüksektir [97].



Şekil 2.8. PDGF'lerin yapısı [96]

2.4.2. PDGF reseptörleri

PDGF reseptörleri 1982 yılında bağlayıcı aktif tirozin kinazlar olarak tespit edilmiştir [95]. PDGF izoformları PDGFR- α ve PDGFR- β olmak üzere iki farklı tirozin kinaz reseptörüne bağlanma yeteneğine sahiptir [96, 97]. Bu reseptörlerden PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\alpha\beta$ ve PDGFR- $\beta\beta$ dimerik kompleksleri oluşmaktadır [96].

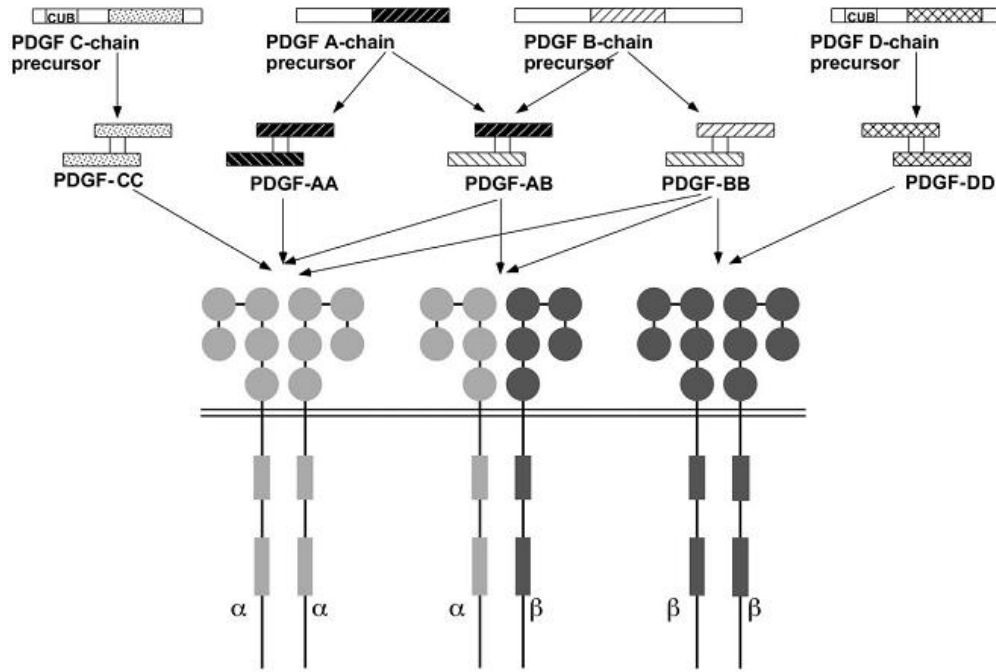
PDGF reseptör- α (PDGFR- α)

İnsanda PDGFR- α 4 kromozomda yer almaktadır ve molekül ağırlığı 170 kDA'dur [29]. α reseptörü hem A- hem de B- zincirine yüksek afiniteyle bağlandığı için [29] PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB ve PDGF-CC aktifleşmesini sağlamaktadır [97].

PDGF reseptör- β (PDGFR- β)

İnsanda PDGFR- β 5 kromozomda yer almaktadır ve molekül ağırlığı 180 kDA'dur [29]. β reseptörü B- zincirine yüksek afiniteyle bağlandığı için [29] PDGF-BB ve PDGF-DD aktifleşmesini sağlamaktadır [97].

Ayrıca PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC ve PDGF-DD heterodimerik PDGFR- α/β kompleksi tarafından aktifleşmesini sağlamaktadır [95, 97].



Şekil 2.9. PDGF reseptörleri ve izoformların bağlanması [31]

2.4.3. PDGF sinyal ileti mekanizmaları

PDGF'nin reseptörüne bağlanmasıyla birlikte tirozin kinaz aktivitesi kazanan PDGF-reseptör kompleksi hücre içinde otofosforile olmaktadır. Bu yolla oluşan tirozin fosfatlar SH2 bölgesi olan proteinlere bağlanarak fosforile olmalarını ve aktifleşmelerini sağlamaktadır. Bu şekilde aktifleşen proteinler reseptörlerden ayrılarak çeşitli hücre içi ileti yollarını başlatmaktadır [3].

SH2 alanına sahip olan proteinlerin birçoğu PDGF α ve β reseptörlerine bağlanmaktadır [29]. Bu moleküllerin bazıları; fosfotidilinositol 3-kinaz (PI 3-kinaz), fosfolipaz C- γ (PLC- γ), tirozin kinazların Src ailesi (c-Src), tirozin fosfataz proteini-2 (SHP-2) ve Ras aktivatörü olan GTPaz aktive edici protein (GAP) gibi enzimlerdir [29, 34]. Grb2, Grb7, Nck, Shc ve Crk gibi diğer moleküllerin enzimatik aktiviteleri yoktur ve aşağı yönlü katalitik molekülleriyle reseptöre bağlanarak fonksiyonlarını uyarlamaktadırlar. Ayrıca PDGF reseptörleri Stat ailesi üyelerine de bağlanmaktadır. PDGF reseptörlerine bağlanan her bir SH2 alanı molekülü bir sinyal dönüşümünü başlatmaktadır [29].

PDGF reseptörlerinin dimerize edilmesiyle uyarılan otofosforilasyonun iki önemli fonksiyonu vardır:

1. Kinaz alanlarının içindeki korunmuş tirozin kalıntısının fosforilasyonu kinazların katalitik etkilerinde bir artmaya sebep olur.
2. Kinaz alanının dışında bulunan tirozin kalıntılarının otofosforilasyonu SH2 alanını içeren sinyal transdüksiyon molekülleri için yerleştirme alanları oluşturmaktadır [29].

PDGF tarafından aktive edilen iyi tanımlanmış sinyal yolları şunlardır:

Fosfotidilinositol 3-kinaz (PI 3-Kinase)

PI3K'daki SH2 bölgesi reseptörlerdeki fosfotirozinlere bağlanarak aktifleşmektedir. Aktif PI3K fosfotidilinositol bifosfatı (PIP2) fosforilleyerek fosfotidilinositol trifosfata (PIP3) dönüştürmektedir. Hücre içi sinyal iletiminde önemli bir rolü olan fosfotidilinositol 3-kinaz, birkaç efektör molekülü ile aktin reorganizasyonu, kemotaksis, hücre büyümesi ve antiapoptozu içeren farklı hücrelerin cevabına aracılık ederek farklı sinyaller tarafından aktive edilebilir [29].

Fosfolipaz C- γ (PLC- γ)

Fosfolipaz C- γ SH2 bölgesinden tirozin fosfatlara bağlanarak aktifleşmektedir. PDGF reseptörünün PLC- γ bağlanmasıyla katalitik aktivite artarak fosforilasyona neden olur. Örneğin; PI(4,5)P2'nin aktivasyonu inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) üretimine yol açarak Ca^{+2} salınımını artırmaktadır [3, 29]. DAG ve Ca^{+2} kombinasyonu ile aktifleşen PKC tarafından fosforillenen serin/treonin kinazlar hücrel olayları başlatmaktadır [3].

Src

Tirozin kinazların Src ailesinin üyeleri katalitik alana ek olarak bir SH3 ve bir SH2 alanlarını bulundurmaıyla karakterizedir. İnaktif yapılandırma da Src fosforillenmiş bir COOH-terminal tirozin kalıntısı moleküller arası etkileşime katılmaktadır. PDGF reseptörlerinin otofosforilasyonu için SH2 alanına bağlanması defosforilasyon ile bağlantılı olarak Src'yi aktive eder. Bloke edici antikorlar veya dominant negatif Src molekülünün mikroenjeksiyonu hücre büyümesinin inhibe ettiği için Src PDGF'nin mitojenik cevabında önemlidir [29, 30].

SHP-2

SHP-2 katalitik aktivitesinin tam aktivasyonu için SH2 bölgesinden tirozin fosfatlara bağlanması gerekmektedir. SHP-2 PDGF reseptörlerin sinyali için olumsuz bir modulatördür. SHP-2; Grb2/Sos bağlanarak Ras aktivasyonunu ve Src'nin defosforilasyonu da Src aktivasyonunu gerçekleştirmektedir [29].

GAP

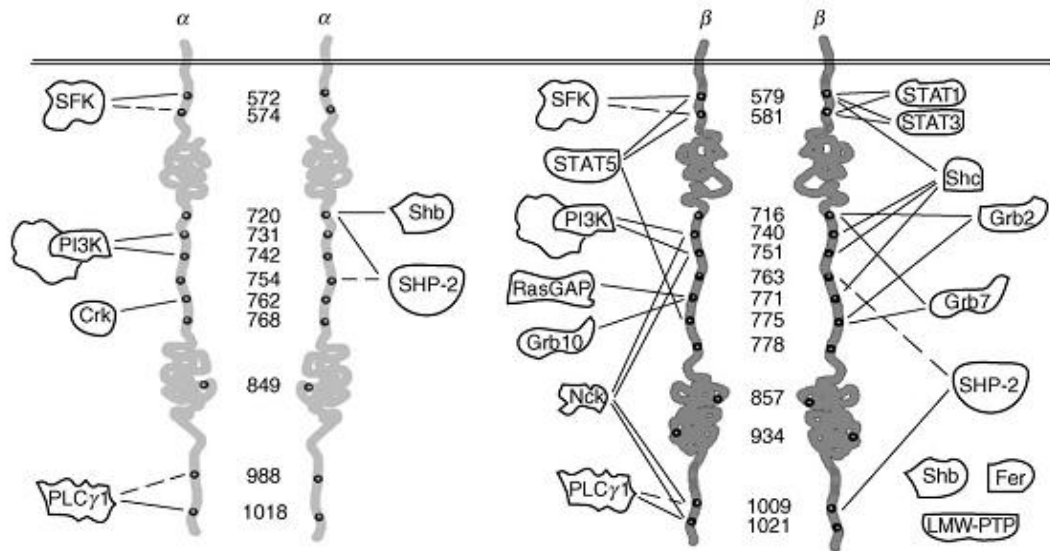
Aktive edilmiş GTPaz proteini PDGF beta reseptörüne bağlanırken, alfa reseptörüne bağlanamaz. GTPaz Ras•GDP'yi Ras•GTP'ye dönüştürdüğü için PDGF reseptörleri Ras aktivasyonunda düzenleyici bir rol oynar [29].

Grb2/Sos

Adaptör bir molekül olan Grb2 Sos aracılığıyla Ras aktivasyonunu (inaktif Ras•GDP'e aktif Ras•GTP'ye dönüşümü) gerçekleştirmektedir. Ras aktivasyonu, çeşitli hücresel cevaplar için büyük önem taşımaktadır. Aktive edilen Ras serin/treonin kinaz Raf-1 bağlanmasıyla mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolağı ile hücre büyümesi, göçü ve farklılaşmasını içeren bir yolun aktivasyonunu başlatır. Raf-1 MAPK kaskadındaki ilk kinazdır. Ras ve PI3-kinaz fizyolojik olarak etkileşime girerek birbirlerini aktive edebilirler [3, 29, 30].

Stat

Uyarılmış PDGF reseptörüne bağlanarak tirozin fosforilasyonu gerçekleştirir. Böylece Stat moleküllerini konformasyonel değişikliklere uğratarak transkripsiyon faktörü gibi davranmasını sağlamaktadır [29]. Transkripsiyon faktörleri gibi davranan STAT ailesi üyeleri PDGF reseptörlerine direk olarak bağlanır. Bağlandıktan sonra çekirdekte tirozin fosforilasyonu, dimerizasyon ve translokasyon gerçekleşir ve translokasyonu düzenleyici olarak hareket eder [34].



Şekil 2.10. PDGF reseptörleri ve fosforlanmış tirozin kalıntıları [30]

2.5. Oksidatif Stres

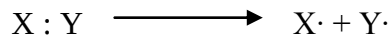
Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır [17].

2.5.1. Serbest Radikaller

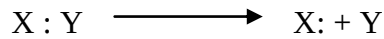
Serbest radikaller, atomik veya moleküler yapılarında bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir [42, 99, 100].

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelmektedir:

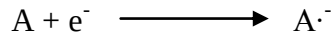
1. *Homolitik fizyon:* normal bir molekülün kovalent bağı kırılır ve elektronlar eşit şekilde paylaşılır.



2. *Heterolitik fizyon:* normal bir molekülün kovalent bağı kırılır ve elektronlar sadece atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle oluşmaktadır.



[42, 99, 100].

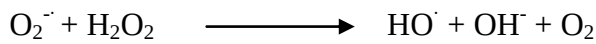
Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en çok elektron transferiyle meydana gelmektedir. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler [96].

Serbest Oksijen Radikalleri Ve Reaktif Oksijen Türleri

Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Oksijen molekülü bir oksijen alarak indirgenir ve serbest süperoksit radikalini meydana getirir. Bu radikal zayıf bir oksitleyici, fakat güçlü bir redükleyicidir. Bu radikalın moleküler düzeyde önemli olan özelliği sekonder olarak ürettiği

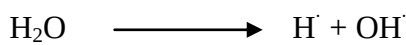
radikallerdir. O_2^- ; mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'a oksidasyonu ve birçok oksidaz tarafından üretilmektedir. Süperoksit radikalının kendisi direk hücre hasarına sebep olmaz. Hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle önemlidir. Bu radikal düşük pH değerlerinde daha reaktiftir. Oksidatif strese neden olan bir dizi reaksiyonu başlatabilir. Örneğin; Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinen, O_2^- ve H_2O_2 'in demir varlığında etkileşmesiyle reaktif $HO^\cdot$ meydana gelir [14, 42, 100].



Süperoksit, nötrofillerin bakteriyal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksit düzeyleri bakteriyal enfeksiyonlara yatkınlığın artmasına sebep olabilir. Artmış süperoksit düzeyleri ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süperoksit düzeyleri kontrol altına alınmaktadır. Aşırı yükselmiş glukoz nedeniyle bozulan hücrel metabolizma sonucunda, süperoksit üretimi aşırı derecede artmaktadır. Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olur. ATP sentezi inhibe edilir ve elektron transport zinciri yavaşlar [14].

Hidroksil Radikali ($HO^\cdot$)

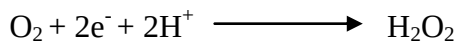
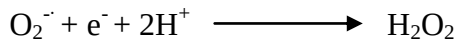
Biyolojik sistemdeki en güçlü radikaldır. Yarılanma ömrü çok kısadır. H_2O_2 'den Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarıyla oluşturulmaktadır. Suyun yüksek enerjili olan X ve gama ışınları gibi iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda $HO^\cdot$ oluşmaktadır [42, 100].



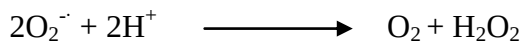
Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin birçoğu ile reaksiyona girebilmektedir [14].

Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

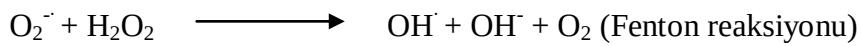
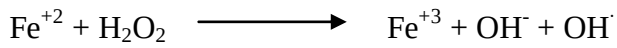
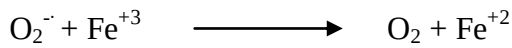
Son derece güçlü bir oksitleyici ajan olmasına rağmen nispeten yavaş reaksiyon vermektedir. O₂⁻'nin dismutasyon reaksiyonuyla veya direk olarak oksijenin indirgenmesiyle meydana gelmektedir.



veya



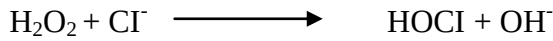
Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelebildiği gibi süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4.8'de en hızlıdır. O₂⁻'nin varlığında Haber-Weiss reaksiyonuyla, demir varlığında ise fenton reaksiyonuyla OH[·]ı oluşturmaktadır [42, 100].



Üretildiği bölgede kalan süperoksitin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinmektedir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksit başka bir şekilde de serbest Fe⁺² ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur. Bu da doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lökosit savunmasının diğer bir bileşenidir [14].

Hipokloröz Asit (HOCl)

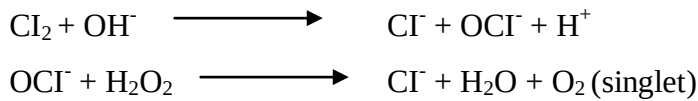
Radikal olmamasına rağmen ROT arasında yer almaktadır. Aktive edilen monositler, nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlar O_2^- üretmektedirler. HOCl ve radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri ortadan kaldırmasında çok önemlidir. Özellikle nötrofiller içerdikleri miyeloperoksitaz enzimi aracılığıyla O_2^- 'nin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 molekülünü klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür [42].



HOCl tiyol gruplarını, aminleri, aminoasitleri, tiyoeterleri, nükleotidleri ve hemoproteinleri kolaylıkla oksitlemektedir [42].

Singlet Oksijen (Singlet O_2)

Oksijen molekülünün daha reaktif bir türü olan singlet oksijenler moleküler oksijenin enerji almasıyla meydana gelmektedir. Delta ve sigma olmak üzere iki tipi vardır. Sigma tipi daha reaktiftir [42].

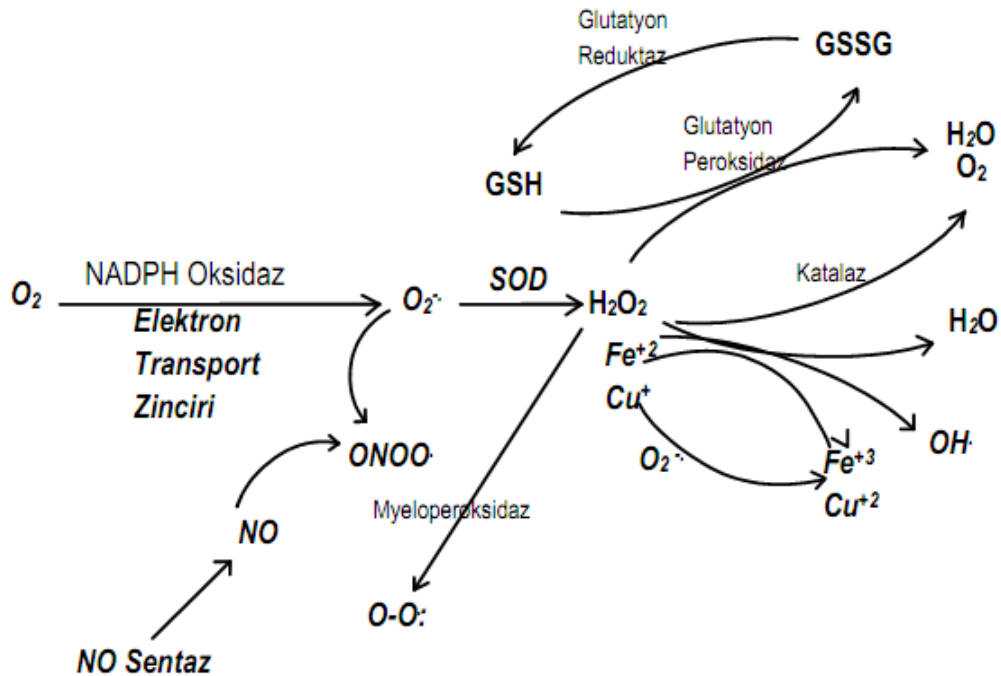


Singlet O_2 'ler, biyolojik olarak önemli olan proteinlerin ve metiyonin, triptofan, histidin veya sistein gibi aminoasitlerin kalıntılarıyla reaksiyon vererek önemli hasarlar oluşturmaktadır [42].

Nitrik Oksit (NO)

NO, bir atom azot ve bir atom oksijenin ortaklanmamış elektron vererek oluşturduğu lipofilik serbest radikal gazıdır. NO nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjinin'den sentezlenmektedir. NOS enziminin beyinden izole edilen nöronal NOS

(nNOS), makrofajlardan pürifiye edilen indüklenebilen NOS (iNOS) ve endotelial hücrelerden izole edilmiş endotelial NOS (eNOS) olmak üzere 3 izoformu bulunmaktadır [27]. NO, düz kasa çözünerek geçen guanilat siklaz (GC) enziminin hem demirine bağlanır ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) sentezini uyarak damar gevşemesini uyarmaktadır [27, 42]. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücresel solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. NO süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda O_2^- ile reaksiyona girerek güçlü bir prooksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturur ve onun da ileri dekompozisyonla güçlü oksidan olan $OH^\cdot$ oluşumuna yol açtığı öne sürülmüştür [14, 42]. Diyabette görülen endoteldeki fonksiyon bozukluklarından (tartışmalı olmakla birlikte) endotelde bulunan nitrik oksit üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. Ancak diyabette NO'nun artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır [14].



Şekil 2.11. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu [14]

Başlıca Serbest Radikal Kaynakları

A. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

Süperoksit radikalının in vivo en önemli kaynağı mitokondri ve endoplazmik retikulumdaki elektron transport zinciridir [42]. Normalde mitokondri sitokrom oksidazıyla oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport zincirindeki pek çok bileşik (NAD^+ , FAD, koenzim Q) oksijenle tepkimeye girerek O_2^- oluşumuna neden olmaktadır. Bu mekanizmayla oluşan hasar, hücrenin enerji sistemini etkileyerek ATP kullanımının artmasına ve sentezinin azalmasıyla hücredeki ATP seviyesini hızla düşürmektedir (99)

B. Endoplazmik retikulum

Birçok hayvan ve bazı bitki dokularındaki endoplazmik retikulum başlıca sitokrom P-450 olarak bilinen sitokromları bulundurmaktadır. İndirgenmiş sitokromların karbon monoksit ile kompleks oluşturması ve bu kompleksin 450 nm dalga boyundaki ışığı absorbe etmesi nedeniyle sitokrom P-450 adı verilmiştir. Sitokrom P-450 oksijen molekülünü kullanarak birçok substratı oksitlemektedir. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanırken, diğer atom suyu oluşturmaktadır. Sitokrom P-450 reaksiyon sırasında indirgenen bir ajana ihtiyaç duyduğu için indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)' ı kullanmaktadır [42].

C. Redoks döngüsü

Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, adriamisin, bleomisin ve furosemid gibi bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girmektedirler. Bu bileşikler fazladan bir ortaklanmamış elektron kazanma eğilimindedirler. Bu ajanlardan oluşan radikal tekrardan ana bileşiğe dönüşebilmek için oksijenle kolayca oksitlenir ve sonuçta O_2^- oluşturur. Oluşan radikaller intrasellüler ferritin depolarından demiri serbest bırakma özelliğine sahiptirler. Sitozole salınan demir serbest radikallerden daha reaktif olan $\text{HO}^\bullet$ gibi ikincil radikallerin oluşmasında katalitik bir rol oynamaktadır. Redoks

döngüsü sonucunda 1-Fazladan serbest radikal üretimi, hücre hasarına yol açabilir, 2-GSH ve NADPH açığa çıkarabilir. Bu iki redükleyici ajanın oksidasyonu hücrenin oksidatif strese girmesine yol açar [42].

D. Araşidonik asit metabolizması

Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranındaki araşidonik asitin salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitin enzimatik oksidasyonu ile çeşitli serbest radikal ara ürünleri oluşmaktadır. Aynı zamanda bazı ksenobiyotiklerden de reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılarla etkileşerek toksisite gösterebilirler [42, 100].

E. Solunumsal patlama

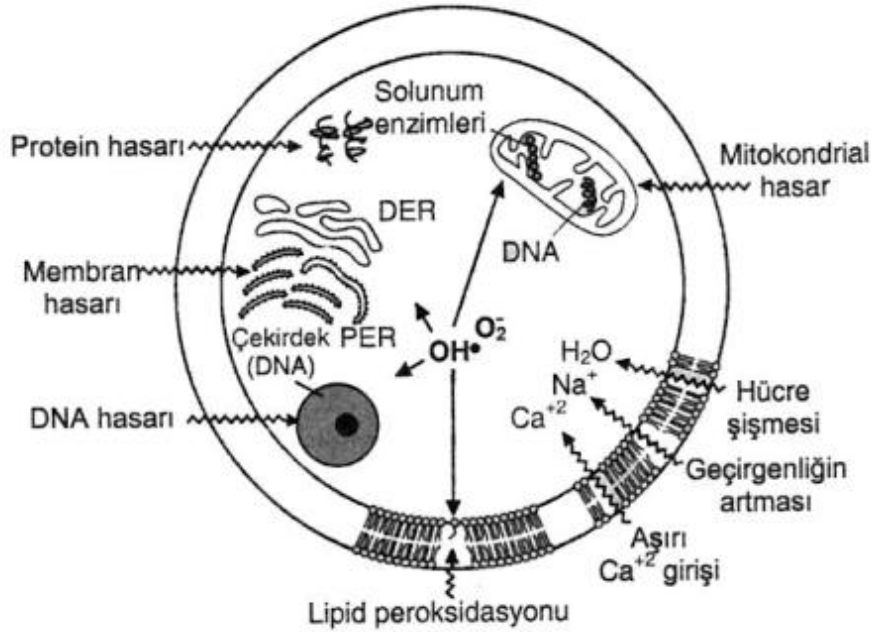
Fagositik hücrelerde meydana gelen solunumsal patlamayla O_2^- , $OH^\cdot$, H_2O_2 ve HOCl gibi serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Solunumsal patlamadan NADPH oksidaz enzimi sorumludur [100].

F. Otooksidasyon

Askorbik asit, tioller (glutatyon, sistein gibi), adrenalin ve flavin koenzimleri gibi bazı bileşiklerin otooksidasyonu sonucunda süperoksit oluşmaktadır [100].

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, karbonhidrat, DNA ve enzim gibi önemli bileşenlerine etki etmektedirler.



Şekil 2.12. Serbest radikallerin hücresel hedefleri [3]

Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitleri serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir [14, 100]. Bu reaksiyon lipid peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Direkt olarak membran yapısına ve dolaylı olarak reaktif aldehidler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar vermektedir. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür [100].

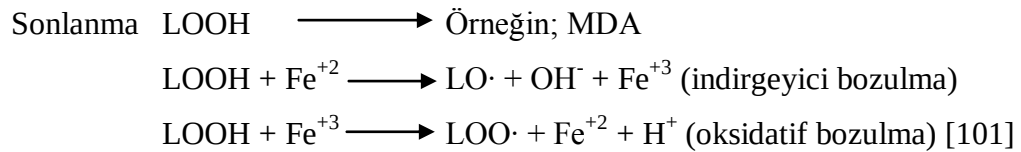
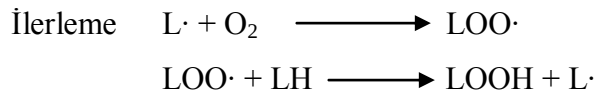
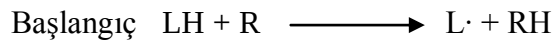
Lipit peroksidasyonu:

Başlangıç safhası; yağ asidi (LH) ile birleşen radikal (R) yağ asidinin metilen kısmından bir hidrojen atomu kopararak lipid radikali ($L\cdot$) oluşturur [42, 100, 101].

İlerleme safhası; lipid radikalının oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksil radikali ($LOO\cdot$)'ni oluşturur. Meydana gelen peroksil radikali başka bir lipid molekülünden hidrojen atomu kopartarak lipid peroksiti oluştururken geride yeni bir lipid radikali oluşur. Yeni oluşan radikal oksijenle reaksiyona girerek başka bir peroksil radikalını

oluşturur. Böylece lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu şeklinde devam eder [42, 100, 101].

Sonlanma safhası; lipid peroksitler metal iyonlarının etkisiyle yıkılarak daha reaktif olan radikal türlerini oluşturur. Bu yıkım ürünlerinin en önemlilerinden birisi malondialdehit (MDA)' tir [42, 100, 101]. Bu yıkım ürünleride DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler [14].



Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA oluşmaktadır. MDA, lipid peroksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak armaktadır. Peroksidasyonla oluşan MDA membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir [41, 100]. Aynı zamanda hücre çekirdeğinde ise başlıca DNA ile tepkimeye girerek nükleik asit yapısındaki baz değişiklikleri ve DNA zincirinin kopması sonucu kromozomal yapının değişmesine neden olmaktadır [14, 41, 99]. MDA bu özellikleri nedeniyle DNA için mutajenik, hücre kültürleri için ise genotoksik ve karsinojeniktir [41].

Serbest radikallerin proteinlere etkisi

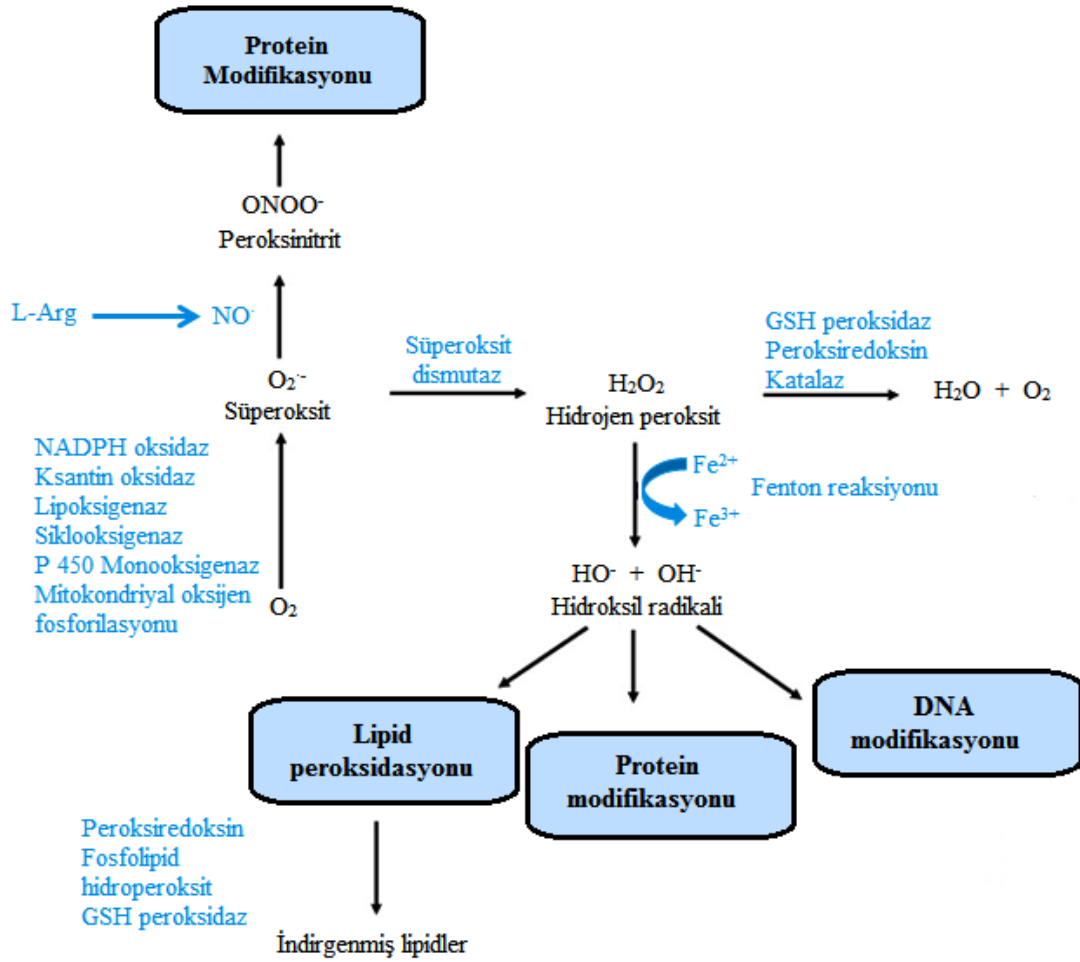
Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Prolin ve lizin, süperoksit radikali, hidrojen peroksid ve hidroksil radikali üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu methemoglobin oluşmaktadır [100].

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkisi

Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksid membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir [100].

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisi

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşmaktadır [100].



Şekil 2.13. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu, etkileri ve detoksifiyesi [102]

2.5.2. Antioksidan savunma sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek, yok etmek veya kısmen azaltmak için bazı savunma mekanizmaları gelişmiştir [17, 99, 100]. Doğrudan oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denilmektedir [99, 100]. Normal sağlıklı kişilerde serbest radikaller/antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur. Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olmaktadır [14].

Antioksidanlar etkilerini 4 farklı mekanizma ile göstermektedirler:

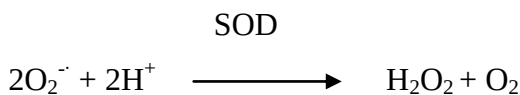
1. *Temizleme etkisi:* Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Enzimler tarafından yapılmaktadır.
2. *Baskılama etkisi:* Oksidanlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale getirme işlemidir. Vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılmaktadır.
3. *Onarma etkisi:* Oksidanların meydana getirdiği hasarın onarılması işlemidir.
4. *Zincir kırma etkisi:* Oksidanları kendilerine bağlayarak fonksiyonlarını engelleme işlemidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılmaktadır [14, 100].

Antioksidan sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere ikiye ayrılmaktadır:

Enzimatik antioksidanlar

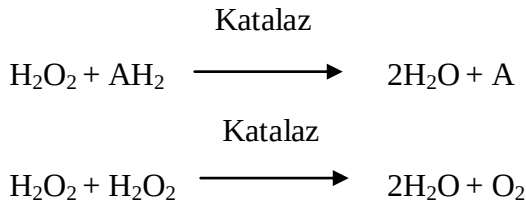
Süperoksit dismutaz (SOD)

Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968’de keşfedilmiştir. Mitokondride lokalize olan Mn-SOD, sitozolde lokalize olan Cu-Zn SOD ve Cu içeren plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD olmak üzere üç türü bulunmaktadır. Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde SOD bulunmaktadır ve süperoksitin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir [14, 99].



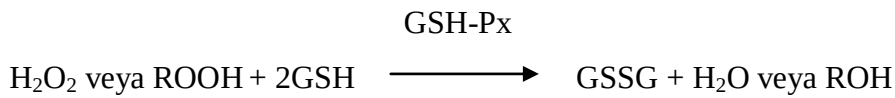
Katalaz (CAT)

Sumer ve Dounce tarafından 1937’de kristalize halde saflaştırılmıştır. Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir [14]. Hidrojen peroksit oluşum hızının düşük olduğu durumlarda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif, hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalayarak ortamdan uzaklaştırmaktadır [99]. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur [14].



Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

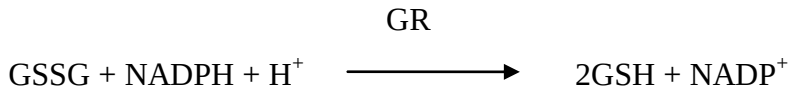
Her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur [14]. Glutasyon peroksidaz, glutasyon ile hidrojen peroksit veya lipid peroksidlerinin indirgenmesinde görev yapmaktadır. [99] Böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur [14].



GSH-Px solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır [99].

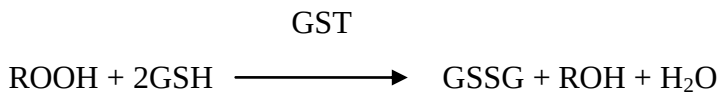
Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz glutatyonda oluşan disülfid bağının tekrar sülfidril yapısına indirgenmesinde görev yapmaktadır [99].



Glutasyon S-Transferaz (GST)

Araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri başta olmak üzere lipit peroksitlerine (ROOH) karşı GST'ler Se-bağımsız glutasyon peroksitaz aktivitesi gösteren antioksidan bir enzimdir [42].



Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutasyon (GSH)

Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelen bir tripeptittir. GSH H_2O_2 'yi yıkan Se-GSH-Px enziminin substratıdır. Aynı zamanda $\text{OH}^\cdot$ ve singlet O_2 temizleyicisidir. Proteinlerdeki $-\text{SH}$ gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı korumaktadır. Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korumada hayati bir öneme sahiptir [42, 100].

C Vitamini (Askorbik asit)

Askorbik asit; moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyebilen bir vitamindir [14]. Plazmadaki oksidan

ajanlara karşı ilk antioksidan savunmayı oluşturmaktadır. C vitamini kollajen sentezinde, tirozin yıkımında, epinefrin sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır. Güçlü bir indirgeyici olduğu için semihidroaskorbat radikal ara ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik asite oksite olur. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. O_2^- ve $OH^\cdot$ ile kolayca reaksiyona girerek temizlemektedir. C vitamini Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen O_2^- dışındaki tek hücrel ajandır. C vitamini Fe^{+3} ile doğrudan reaksiyona girdiğinde C vitamini radikali oluşmaktadır. Fakat bu radikal çok reaktif değildir [14, 42].

E Vitamini

Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu α -tokoferol'dür. Zincir kırıcı antioksidan olarak işlev görmektedir [14]. O_2^- , $OH^\cdot$, singlet O_2 , lipid peroksi radikallerini ve diğer radikalleri temizlemektedir. GSH-Px ile E vitamini birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki göstermektedirler. GSH-Px peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin sentezini etkilemektedir [42].

A vitamini

Metabolik ön maddesi β -karotendir. Çok güçlü bir singlet O_2 temizleyicisidir. Ayrıca $OH^\cdot$, peroksi ve alkoksi radikalleriyle doğrudan reaksiyon vererek lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını önleyebilir [42].

Melatonin

$OH^\cdot$ 'ni temizleyen güçlü bir antioksidandır. Lipofilik bir yapıda olduğu için antioksidan etki alanı geniştir [42].

Transferrin ve Laktoferrin

Demir iyonlarını bağladıkları için serbest demir miktarını azaltmaktadırlar. Demir bağlı olduğu için OH⁻'nin oluşumunda rol almazlar. Böylece lipid peroksidasyonunu önlemiş olurlar [42].

2.6. Diabetes mellitus'un, PDGF'nin ve serbest radikallerin yara iyileşmesi üzerine etkileri

Diabetes mellitus' un yaygın komplikasyonlarından birisi bozulmuş veya gecikmiş yara iyileşmesidir [22, 92, 103]. Birçok diyabet hastası göz önüne alındığında değişen iyileşmenin etkisi çok büyüktür [104]. Diyabetli populasyonun morbidite ve mortalitesi artmasına rağmen diyabetin yara iyileşmesindeki etki mekanizması tam olarak ortaya konulamamıştır [103]. Fakat, temelde bu durumdan hiperglisemi sorumlu tutulmaktadır [22].

DM'de yara iyileşmesinin bozulması veya gecikmesine katkıda bulunan birçok faktör vardır. Bu faktörlerin DM'li hastaların ateroskleroz ve renal yetmezlik gibi hastalıklara yatkın olması, nöropati gelişme riskinin fazla olması ve enfeksiyon riskinin artmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda hücresel, metabolik ve biyokimyasal faktörlerin değişimi de doku onarımının bozulmasına neden olarak yara iyileşmesinin gecikmesine katkıda bulunmaktadır [104, 105].

DM hastalarının hem makrovasküler hem de mikrovasküler hastalıklara yatkınlıkları vardır. Diyabette artan ateroskleroz insidansı sonucunda kan akımı azalır ve dokulara yeterli oksijen taşınmaz. Bu durum yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Kapiller düzeydeki perivasküler membran kalınlaşması mikrobelerin dokuya ulaşmasını ve lökosit migrasyonunu daha da zorlaştırabilir [103, 104].

Hızlanmış ateroskleroz ve nöropati nedeniyle azalan perfüzyon diyabetik hastalarda enfeksiyon riskini artırmaktadır [54, 103, 105, 106]. Bağışıklık fonksiyonunun bozulması uzun ve anormal iyileşme için zemin hazırlamaktadır [105]. Diyabetli

hastalar diğer hastaların aksine enfeksiyon geliştiğinde yara bölgesine gidecek kan akımını artıramadıkları için artan oksijen ihtiyacını karşılayamazlar [103, 107]. Ayrıca deride çatlamaya eğilimin olması, bakterilerin kolonize olabileceği alanların artmasına neden olur. Glikoz kontrolünün eksikliği enfeksiyon riskini arttıran bir faktördür. Hiperglisemi, bakterilerin yararlanacağı besin maddelerini arttırabilir ve konağın lokal savunmasını bozabilir. Hiperglisemik bir ortamda lökosit fonksiyonları da bozulmaktadır [104].

Diyabetik hastalarda yara iyileşmesinin tüm evreleri hiperglisemiden etkilenmektedir [106]. Diyabetiklerde inflamatuvar hücrelerin proliferasyonu ve fonksiyonu bozulduğu için inflamasyon fazının başlaması yavaşlamıştır ve daha uzun sürer [25, 103, 104, 106]. Kötü kontrollü diyabetlilerden alınan nötrofillerle gerçekleştirilen çalışmalarda kemotaksis, bağlanma, fagositoz, diapedez ve hücre içi öldürme fonksiyonlarında bozukluklar olduğu bildirilmiştir [54, 103, 106, 108].

Diyabetli insan ve hayvanlardaki yara iyileşmesi modellerinde yapılan çalışmalar sonucunda; hücrel infiltrasyonun, angiogenezin, granülasyon dokusunun, kollajen sentez ve organizasyonunun, fibroblast, kemotaksisin, fagositozun, yara gerilim kuvvetinin, hidroksiprolin seviyesinin ve büyüme faktörlerinin azalması ile yara dokusu hücrelerindeki apoptozun ve oksidatif stresin artmasının yara iyileşmesinin bozulmasına katkı sağladığı düşünülmektedir [14, 17, 22-25, 91, 103, 105-108].

Yara iyileşmesinin tüm evreleri doğrudan veya dolaylı olarak büyüme faktörleri tarafından kontrol edilmekte ve düzenlenmektedir. Ekstrasellüler fragmentlerden ve inflamatuvar hücrelerden salınan IL-1, TNF- α , PDGF, VEGF EGF, FGF, TGF- β 1 ve TGF- β 2 gibi sitokinler ve büyüme faktörleri; hücrel proliferasyonu, kemotaksisi, angiogenezi, ekstrasellüler matriks üretimi ve yıkımını, vaskülerizasyonu, epitelizeasyonu, protein ekspresyonunu, enzim üretimini ve sitokin salınımını uyarak yara iyileşmesinde rol oynamaktadırlar [2, 13, 28, 35, 109].

1990'larda yapılan birçok araştırma diyabetik popülasyonda yara iyileşmesini hızlandırmak için rekombinant büyüme faktörlerinin potansiyel kullanımına

odaklanmıştır. Araştırmacılar diyabetik hayvanlarda yaralara büyüme faktörü uygulamasının yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu keşfetmişlerdir ve bu durumu açıklamak için iki hipotez ortaya atmışlardır [104]:

Birinci hipotez, diyabetik hayvanların yaralarında yeterli büyüme faktörü üretilmediğidir. Yani, yara yeterli büyüme faktörü sentezleyemiyorsa normal iyileşme için uyarı yetersizdir. Büyüme faktörü tedavisinin etkili olması bu hipotezi desteklemektedir. Moleküler belirleme tekniklerini kullanan araştırmacılar diyabetli hayvanlarla kontrol hayvanlarını karşılaştırdıklarında çeşitli büyüme faktörlerinin mRNA ve protein ekspresyonlarında bir azalma olduğunu belirtmişlerdir [104].

İkinci hipotez ise, diyabetli hayvan ve hastaların yara ortamında büyüme faktörlerinin yıkımında artış olduğudur. Bu hipotez, kronik yara sıvısı akut yara sıvısıyla kıyaslandığında matriks metalloproteinazların (MMP'ler) seviyesinin arttığını gösteren kronik basınç ülserleri çalışmalarıyla desteklenmektedir. Benzer sonuçlar diyabetik hayvanların yaralarında da bulunmuştur. Neely ve arkadaşları (2000) genetik olarak diyabetli fare modeli kullanarak diyabetik yaraları diyabetik olmayan kontrolleriyle kıyasladıklarında MMP-2 ve MMP-9'un arttığını belirtmişlerdir. Bu nedenlerden dolayı büyüme faktörlerinin hem üretiminin azalması hem de yıkımının artması DM' de bozulan iyileşme patogeneziyle ilişkilidir [104].

Diyabetik yaralarda büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve kemokinlerin salınımındaki değişiklikler diyabette bozulan anjiyogenezis, granülasyon dokusunun oluşumu ve reepitelizasyona katkı sağlamaktadır. Diyabetik yaralardaki inflamatuvar sürecin uzamasında PDGF, IL-1, TNF- α ve MMP'lerinin ekspresyonlarının azalması önemli bir rol oynamaktadır [106, 107].

Yapılan çalışmalarda, diyabetik yara sıvılarında IGF-1, TGF- β 1, PDGF ve EGF'nin ekspresyonunun azaldığı belirtilmiştir [25, 92, 106]. Kronik yara sıvısı akut yara sıvısı ile karşılaştırıldığında proinflamatuvar sitokinlerin konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir. Fakat, kronik yaralarda yüksek bir proteaz aktivitesi ve azalmış doğal

proteaz inhibitörleri seviyeleri ile büyüme faktörlerinin konsantrasyonu azalmıştır [26].

Yara iyileşmesinin her evresinde rol aldığı bilinen PDGF:

- Nötrofiller, monositler, makrofajlar, fibroblastlar, miyoblastlar ve düz kas hücreleri için etkili bir mitojen ve kemotaktiktir [4, 28, 29, 31, 35, 90-92, 96, 97, 106, 109].
- Yara iyileşmesinin her evresinde önemli olan diğer büyüme faktörlerinin salgılanması için makrofajları uyarmaktadır [28, 29, 31, 35].
- PDGF'nin fibronektin, kollajen, proteoglikanlar ve hiyalüronik asit gibi çeşitli matriks moleküllerinin üretimini uyarmaktadır [29, 31].
- Fibroblastlardan kollajenazın üretilmesini ve salgılanmasını uyarmaktadır [29,31].
- Fibroblast aktivasyonunda, anjiogenezisin düzenlenmesinde, ekstrasellüler matriks (ECM) birikiminde, vaskülerizasyonda, kollajen ve MMP sentezinde rol almaktadır [4, 28, 29, 31, 34, 91, 92, 106, 109].
- Granülasyon dokusu oluşumunu artırmaktadır [28].
- Maturasyon evresinde MMP'lerin sentezini artırarak eski kollajenin yıkılmasına yardımcı olmaktadır [28].
- PDGF uyarımı PI3 kinaz ve Rac bağımlı bir yolla NADPH oksidazın aktivasyonu aracılığıyla ROT üretimine yol açarak bakteriyel kontaminasyonun kaldırılmasına yardım eder [95].
- Büyümenin durmasını sağlayan STAT1 ve hücrenin yaşamasını sağlayan STAT3'ü aktive etmektedir [96].

Becaplermin (PDGF-BB) insan nöropatik ülserlerinin tedavisi için Amerika gıda ve ilaç dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olan ilk ve tek büyüme faktörüdür [4, 26, 110].

Kronik tam kalınlıkta diyabetli nöropatik ülserleri olan 118 hastayı 20 hafta veya yara tamamen kapanana kadar rekombinant insan PDGF-BB (becaplermin) ve plasebo ile tedavi etmişlerdir. Rekombinant insan PDGF-BB uygulanan 61 hastanın %48'inde, plasebo uygulanan 57 hastanın ise %25'inde tam yara iyileşmesinin olduğunu belirtmişlerdir. Sonuçlar arasındaki bu önemli fark nedeniyle becaplermin adıyla rekombinant insan PDGF-BB ile hazırlanan bu ilaç FDA tarafından onaylanmıştır [26].

İyileşmeyen insan dermal ülserlerinde PDGF seviyeleri cerrahi olarak oluşturulmuş akut yaralarla karşılaştırıldığında önemli bir şekilde azalmıştır [4].

Hayvan modellerindeki yara iyileşmesine topikal olarak uygulanan PDGF'nin ya da PDGF gen transferinin iyileştirmeyi hızlandığı belirtilmektedir. Rekombinant PDGF-BB'nin yararlı etkileri klinik denemelerde gösterilmiştir [34].

Grotendorst ve arkadaşları (1985) normal ve diyabetik (STZ) ratlarda yaptıkları çalışmada yaraya implante edilen PDGF eklenmiş yara çemberinin kontrollerine göre kollajen depolanmasının arttığını ve diyabetiklerde ise kollajen depolanmasının daha az olduğunu belirtmişlerdir [111].

Greenhalgh ve arkadaşları (1990) genetik olarak diyabetli farelerin sırtlarında yaptıkları tam kalınlıktaki deri yaralarını rPDGF, bFGF ve ikisinin kombinasyonu ile topikal olarak tedavi etmişlerdir. Sadece büyüme faktörüyle tedavi edilen yara alanlarında fibroblastlar ve kılcal damarlarda artma ve büyüme faktörlerinin kombinasyonu ile tedavi edilen yara alanlarında ise 21 gün sonra önemli ölçüde daha fazla yara kapanması olduğunu belirtmişlerdir. Diyabetli yaraları normal yaralarla karşılaştırdıklarında ise inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunun geciktiğini, granülasyon dokusu oluşumunun kötüleştiğini ve yara kapanmasının geciktiğini belirtmişlerdir [35].

Pierce ve arkadaşları (1991) tavşan kulağında yaptıkları tam kalınlıktaki eksizyonel yaraları PDGF-BB ve TGF- β ile tedavi etmişler ve PDGF-BB ile tedavi edilen grubu

kontrolüyle karşılaştırdıklarında makrofaj proliferasyonunun ve glikozaminoglikanların arttığını, TGF- β ile tedavi edilen grubu kontrolüyle karşılaştırdıklarında ise kollajen birikiminin arttığını belirtmişlerdir [112].

Pierce ve arkadaşları (1992) yara modellerine eksojen olarak uygulanan PDGF'nin, TGF- β ve bFGF'den daha iyi histolojik onarım cevabı oluşturduğu için yara iyileşmesini daha fazla desteklediğini belirtmişlerdir [113].

Doxey ve arkadaşları (1995) normal ve diyabetik (STZ) ratların yara dokusundaki PDGF seviyelerini radyoimmünoassay ile belirledikleri çalışmada, iyileşmenin 5. gününde normal ratların yara alanındaki PDGF seviyesinin diyabetiklerden önemli derecede yüksek olduğunu, iyileşmenin 10. gününde iki grupta benzer olduğunu ve iyileşmenin 20. gününde ise diyabetik ratlarda önemli ölçüde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. İyileşmenin ilk aşamalarında diyabetik ratlarda düşük olan PDGF seviyesinin kötü yara iyileşmesinde rol aldığını düşünmektedirler [114].

Beer ve arkadaşları (1997) genetik olarak diyabetli olan db/db farelerin yaralarını glukokortikoid ile tedavi etmişler ve yaralarında PDGF A, B ve β reseptörünün ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar PDGF'lerin ve reseptörünün normal yara iyileşmesi için gerekli olduğunu göstermektedir [33]. Bu hipotez yaşlı farelerde geciken yara iyileşmesinin PDGF A ve B izoformları ve α - ve β -reseptörlerinin ekspresyonlarının azalmasıyla ilişkili olduğunun bulunmasıyla desteklenmiştir [4, 29].

Doxey ve arkadaşları (1998) normal ve diyabetik (STZ) ratların makrofajlarından salınan sitokin seviyelerini belirledikleri çalışmada diyabetik ratlarda normal ratların makrofajlarına göre sitokin salınımının azaldığını belirtmişlerdir [36].

Cohen ve arkadaşları (2001) 4 mm'lik punch biyopsi yaralarını PDGF jel ve antibiyotik bir merhemle tedavi ettikleri çalışmada, PDGF jel ile tedavi edilen grup antibiyotik merhemle tedavi edilen grupla karşılaştırıldığında tam kalınlıktaki yara iyileşmesini önemli derecede hızlandırdığını belirtmişlerdir [115].

Gilbertson ve arkadaşları (2001) yaptıkları çalışmada, mezenşimal hücre tiplerinde PDGF-CC'nin PDGF-AA, PDGF-AB ve PDGF-BB'den daha fazla mitojen aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir [116].

Farelerdeki hedef gen çalışmaları PDGF ve PDGF reseptörlerinin gelişimde parakrin büyüme faktörü olarak önemli bir fonksiyonu olduğunu göstermiştir [29].

Breitbart ve arkadaşları (2003) diyabetik farelerdeki dorsal eksizyonel deri yaralarını, insan PDGF genini retroviral yolla aktardıkları fare dermal fibroblastlarıyla tedavi etmişler ve yara iyileşmesini önemli derecede hızlandığını belirtmişlerdir [117].

Keswani ve arkadaşları (2004) farklı diyabet modellerindeki farelerin yaralarını adenoviral aracılı PDGF-B geni ile tedavi etmişlerdir. Granülasyon dokusunun ve neovaskülarizasyonun artırdığını belirtmişlerdir [118].

Lee ve arkadaşları (2005) genetik olarak diyabetli db/db farelerindeki diyabetik yaraları lentiviral aracılı PDGF geni ile tedavi etmişlerdir. Tedavi gruplarını kontrol gruplarıyla karşılaştırdıklarında granülasyon dokusu oluşumunda önemli bir değişikliğin olmadığını, fakat kollajen fibrillerinin önemli ölçüde kalın ve daha hizalı olduğunu belirtmişlerdir [37].

Man ve arkadaşları (2005) genetik olarak diyabetli farelerin sırtlarındaki tam kalınlıktaki eksizyonel yaraları insan PDGF-B geni içeren lentiviral vektörlerini yara kenarlarına ve tabanına enjekte ederek tedavi etmişlerdir. Tedavi grubu kontrol grubuyla karşılaştırdığında yara iyileşmesi ve neovaskülarizasyonda anlamlı bir artış olduğunu, daha kalın ve düzenli kollajen lifelerinin olduğunu ve kollajen içeriğinin 3.5 kat arttığını belirtmişlerdir [38].

Cheng ve arkadaşları (2007) diyabetik ratların sırtlarında oluşturdukları tam kalınlıktaki yaraları rekombinant-insan trombosit kökenli büyüme faktörü (rhPDGF) ile topikal olarak tedavi etmişlerdir. Reepitelizasyon oranının önemli derecede hızlandığını ve granülasyon doku kalınlığının arttığını belirtmişlerdir [39].

Li ve arkadaşları (2008) diyabetik (STZ) ratların sırtlarındaki tam kalınlıktaki yaraları farklı dozlarda topikal olarak PDGF-BB ile tedavi etmişlerdir. PDGF-BB tedavisinin anjiogenezisi, hücre proliferasyonunu ve epitelizasyonu geliştirdiğini, kollajen liflerinin depolanmasının daha fazla organize olduğu ve bu etkilerinin doza bağımlı olduğunu belirtmişlerdir [24].

Ackermann ve arkadaşları (2011 a) diyabetik (STZ) ratların sırtlarında halkasal tam kalınlıktaki punch biyopsi yaralarını PDGF, bFGF ve VEGF'nin kombinasyonu (proanjiogenik büyüme faktörü kombinasyonu) ve sadece PDGF ile subkütanöz enjeksiyonla tedavi etmişlerdir. Proanjiogenik büyüme faktörü kombinasyonu ile tedavi edilen grup, sadece PDGF ile tedavi edilen grup ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha fazla yara kapanma oranına ve damar yoğunluğuna (1,6 kat) sahip olduğunu belirlemişlerdir [32].

Ackermann ve arkadaşları (2011 b) normal ratların sırtlarında halkasal tam kalınlıktaki punch biyopsi yaralarına PDGF, bFGF ve VEGF kombinasyonu ile subkütanöz enjeksiyonla tedavi etmişlerdir. Tedavi grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında damar yoğunluğunda, yara gerim kuvvetinde ve kollajen miktarında önemli bir artış olduğu ve yara kapanmasının hızlandığını belirtmişlerdir [119].

Kaltalıoğlu ve arkadaşları (2013) ratlardaki deri yara iyileşmesine topikal olarak uygulanan PDGF'nin iyileşme sürecindeki yara dokusu oksidatif olaylarına etkisini incelemişlerdir. TBARS seviyesinin iyileşmenin erken evrelerinde arttığını, ileri evrelerinde ise azaldığını ve NOx seviyelerinin azaldığını belirtmişlerdir [40].

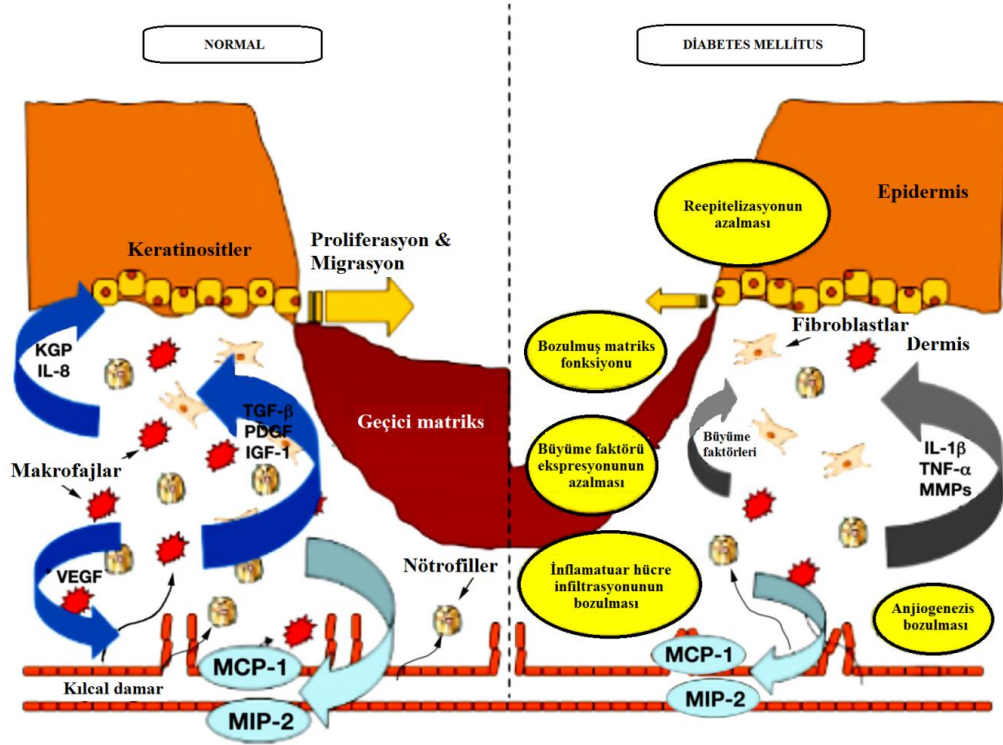
Diyabette reaktif oksijen türlerinin rolü 1980'li yıllardan beri geniş çapta tartışılan bir konu olmuştur. Pankreas adacık hücrelerindeki süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitesinin karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük seviyede olduğu bilinmektedir. Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diyabet ve diyabet

komplifikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır [17].

Süperoksit anyonu enzimatik ya da enzimatik olmayan reaksiyonlarla fizyolojik olarak uygun diğer ROT'lara dönüştürülebilir. ROT patojenlere karşı savunma da gereklidir [120, 121] ve düşük seviyeleri hücre içi sinyallerinde önemli bir mediatördür [122, 121]. H_2O_2 'nin düşük dozlarda yara iyileşmesini geliştirdiği gösterilmiştir. Öte yandan aşırı miktardaki ROT yüksek reaktif olması nedeniyle zararlıdır [121].

Yaralanmanın erken döneminde makrofajlar aktive olarak nitrik oksit sentezlerler. Endotelial hücreler, fibroblastlar, monosit ve lenfositler de nitrik oksit sentezini hızlandırırlar [2]. Moleküler oksijen ve reaktif oksijen türleri ile kolayca reaksiyona girdiği bilinen NO oksidatif stresin ana bileşenidir. Yara iyileşmesinde NO inflamasyon evresinde, anjiogeneze, proliferasyonda, sitokinlerin salınımında, immün cevapların oluşmasında, kollajen sentezinde ve birikiminde rol oynamaktadır [23, 106, 123, 124]. Yara iyileşmesinde önemli bir mediatör olan NO diyabetik yaralarda eksiktir [106]. Deneysel çalışmalarda düşük konsantrasyondaki nitrik oksitin hücre proliferasyonunu artırdığı [2, 23], yüksek konsantrasyonlarda ise hücre farklılaşmasına neden olduğu belirtilmektedir [2]. Yüksek konsantrasyonlarda NO inflamasyon evresinde sterilizasyonu sağladığı gibi kollajen üretimini bozarak yara iyileşmesini bozabilir [123]. Bununla birlikte, yaralardaki süperoksitin aşırı ve uzun süreli üretildiği durumlarda NO yüksek derecede reaktif ve zararlı radikaller olan peroksinitrit ve peroksinitröz asit üretiminin önemli derecede artmasına neden olarak yara iyileşmesini önemli ölçüde bozmaktadır [23]. Obayashi ve arkadaşlarının (2006) yaptıkları çalışmada, eksojen NO uygulamasının fibroblastlar tarafından üretilen tip I kollajenin üretiminin hızlandığını belirtmişlerdir [124].

Yapılan çalışmalarda diyabetli hastaların; SOD düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı serum glutatyon peroksidaz aktivitesinin ve C vitamini düzeyinin azaldığı belirtilmektedir [14].



Şekil 2.14. Normal ve diyabetik yara iyileşmesinin karşılaştırılması [106]

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Protokolü

Çalışmalara, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan (G. Ü. ET-10.117) izin alınarak başlandı. Yara dokusu numunelerinin alınmasına kadar olan bütün işlemler Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) laboratuvarlarında yapıldı. Deneylerde GÜDAM'ndan sağlanan 200-250 g ağırlıkta 42 adet Wistar albino dişi rat kullanıldı. Deney öncesi ve deney sırasında ratlar ad libitum olarak beslendi. Deney süresince gruplar tek tek kafeslerde gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldı. Alınan yara dokusu numunelerinin biyokimyasal parametreleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında analiz edildi.

3.2. PDGF Preparatının Hazırlanması

Deneylerde kullanılan kitosan içindeki PDGF preparatı Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında hazırlandı.

Kitosan jel formülasyonunun, deri pH'ına uygun değerde olması için çeşitli laktik asit oranları ve kullanıma uygun viskozitede olması için de çeşitli kitosan oranları denendi. Öncelikle % 1' lik ve % 1,5' luk laktik asit oranları ile denendi. Farklı laktik asit derişiminde kitosanın (Sigma, C-3646) % 1' lik, % 2' lik ve % 3' lük jelleri hazırlandı. Laktik asit, kullanılacak olan distile suyun yarısına eklendi ve gerekli miktar kitosan ilave edilip manyetik karıştırıcıda yavaşça karıştırıldı. Kitosan şıştikten sonra distile suyun geri kalan kısmı eklenerek karıştırıldı. Oluşan hava kabarcıklarının çıkması için oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Hazırlanan jellerin pH' ları ölçüldü. Hazırlanan kitosan jeller arasından pH' sı 4-5 olan deri pH' sına en yakın pH değerindeki jele ait laktik asit oranının kullanılmasına karar verildi. Kullanılan formülasyonun bileşenleri % 3 kitosan ve % 1 laktik asit olarak belirlendi. Formülasyonun pH' ı 4,7 olarak ölçüldü. Kitosan jel hazırlandıktan sonra PDGF-

BB'nin (Sigma, P-4056) son konsantrasyonu 7 ng/ml olacak şekilde jel üzerine disperse edilmesiyle PDGF içeren kitosan jel hazırlandı.

3.3. Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabet oluşturmak için 42 rata 12 saatlik açlık sonrası tek doz 55 mg/kg Streptozotosin (STZ) intraperitoneal (i.p.) yolla enjekte edildi. 3 gün sonra kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 250 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabet olarak kabul edildi. Diyabet oluşturulduktan 7 gün sonra, yara modelleri oluşturuldu.

3.4. Yara Modelinin Oluşturulması

Deney hayvanları standart terazide tartılıp ağırlıklarına göre intramüsküler olarak ketamin (Ketalar 50 mg/kg) ve ksilazin (Rompun 5 mg/kg) enjekte edilerek genel anestezi sağlandı. Hayvanların dorsalinde, omurganın her iki yanında 5 cm uzunluğunda olacak şekilde dorsolateral eksizyonel kesi yaraları yapıldı. Daha sonra yara dudakları sütur ile adapte edildi. Operasyon sonrası analjezinin sağlanması için farmakolojik ajan olan parasetamol içme suyuna 2 mg/ml olacak şekilde kullanıldı.

PDGF uygulanan gruptaki ratların yaralarına her gün birer kez topikal yolla kitosan jel içerisinde PDGF (7 ng/ml) yaklaşık olarak aynı saatte uygulandı. Kitosan gruplarındaki ratlara ise aynı miktarda kitosan jel uygulandı.

3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her grupta 6 adet olmak üzere 7 ayrı rat grubu oluşturuldu ve gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı.

Diyabetli Kontrol Grubu

1.Grup: Oluşturulan grupların değerlerini kıyaslamak üzere sadece STZ ile diyabetik yapılan kontrol grubu (n=6)

Diyabetli Tedavisiz Gruplar

2.Grup: STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra sadece yara yapılan grup (iyileşmenin 3.günü feda edildi) (n=6)

3.Grup: STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra sadece yara yapılan grup (iyileşmenin 7.günü feda edildi) (n=6)

Diyabetli Kitosan Uygulanan Gruplar

4.Grup: STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara yapılarak, kitosan jel uygulanan grup (iyileşmenin 3.günü feda edildi) (n=6)

5.Grup: STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara yapılarak, kitosan jel uygulanan grup (iyileşmenin 7.günü feda edildi) (n=6)

Diyabetli PDGF Uygulanan Gruplar (Kitosan+PDGF)

6.Grup: STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara yapılarak, kitosan+PDGF uygulanan grup (iyileşmenin 3.günü feda edildi) (n=6)

7.Grup: STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara yapılarak, kitosan+PDGF uygulanan grup (iyileşmenin 7.günü feda edildi) (n=6)

Denekler kronobiyolojik sıraya uygun bir şekilde operasyonu izleyen 3 ve 7. günlerde anestezi altındayken kalplerinden kan çekilmek suretiyle feda edildi ve yara dokusu hemen çıkarılıp bulaşmayı önleyici materyale sarıldıktan sonra sıvı azot içerisine konularak donduruldu ve -30 °C’de muhafaza edildi.



Resim 3.1. (a) Omurganın her iki yanında yaklaşık 5 cm uzunluğunda yapılan kesi yarası (b) Sütürle adapte edilen kesi yarası



Resim 3.2. Alınan yara dokusu

3.6. Yöntemler

3.6.1. Dokuda TBARS tayin yöntemi

Yara dokularındaki TBARS seviyeleri tiyobarbitürik asit reaktif madde oluşumu Buege yöntemiyle çalışıldı [125]. Yara dokusu örnekleri tartıldı. Homojenizatör ile KCl içinde homojenize edildi. Elde edilen homojenata TCA eklenerek 2000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Daha sonra süpernatanta TBA ve BHT eklendi. Numunelerin absorbansları spektrofotometrede 535 nm'de, köre karşı ölçüldü. Yara dokularındaki TBARS konsantrasyonu nmol/g doku olarak hesaplandı.

3.6.2. Dokuda GSH tayin yöntemi

Yara dokularındaki GSH seviyelerinin belirlenmesi için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı [126]. Yara dokusu örnekleri KCl içerisinde homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen homojenata reaktif karışımı eklenerek 4000 rpm de 20 dk santrifüj edildi. Daha sonra süpernatanta Na_2HPO_4 ve DTNB çözeltileri eklendi. Oda sıcaklığında 5-10 dk inkübe edildikten sonra karışımın absorbansları spektrofotometrede köre karşı 412 nm dalga boyunda ölçüldü. Yara dokularındaki GSH konsantrasyonu $\mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplandı.

3.6.3. Dokuda NOx tayin yöntemi

Yara dokularındaki NOx seviyelerinin belirlenmesi için Griess yöntemi kullanıldı [127]. Yara dokuları 0,1 M sodyum fosfat tamponuyla homojenize edilerek 3500 rpm' de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanta ve NaOH eklenerek inkübe edildi ve ortamdaki nitratı nitrite indirgemek için VCl_3 eklenerek ve 37 °C' de 30 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra sodyum fosfat tamponu ve eşit miktarlarda karıştırılmış olan Griess I+II reaktifleri eklendi. 37 °C' de 10 dk inkübasyondan sonra numunelerin absorbansları spektrofotometrede köre karşı 540 nm' de ölçüldü. 6,4 mM' lık stok sodyum nitrit (NaNO_2) standartı günlük olarak dilüe edilerek, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 ve 1 μM konsantrasyonlarda standartlar elde edildi. Hazırlanan standart eğriden dokulardaki NOx konsantrasyonu $\mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplandı.

3.6.4. Dokuda AA tayin yöntemi

Yara dokularındaki AA seviyelerinin belirlenmesi için Roe ve Kuether' in Berger tarafından modifiye edilen metod kullanıldı [128]. yara dokusu örnekleri PCA/EDTA karışımı içinde homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen homojenat 15000 g' de devirde 4 °C' de 3 dk santrifüj edildi. Bir tüpe standart AA çözeltisi, başka bir tüpe kör için PCA çözeltisi ve numunelerin hazırlanacağı tüplere süpernatant konuldu. Her bir tüpe renk reaktifi eklenip vortekslenerek 3 saat 37 °C' de inkübe edildi. Numunelerin ısısı 0 °C' ye getirilip her bir tüpe H_2SO_4 eklenerek oda sıcaklığında 45

dk bekletildi. Numunelerin absorbansları spektrofotometrede köre karşı 515 nm dalga boyunda ölçüldü. Yara dokularındaki AA konsantrasyonu mg/g doku olarak hesaplandı.

3.6.5. Dokuda SOD tayin yöntemi

Yara dokularındaki SOD aktivitelerini belirlemek için Sun ve arkadaşlarının yöntemi kullanıldı [129]. Serum fizyolojik ile homojenize edilen dokular, 7000 rpm' de 4 °C' de 30 dk satrifüj edildi. Elde edilen süpernatanta etanol-kloroform (3:5,v/v) karışımı eklendi. Süpernatantlar tekrar 7000 rpm' de 60 dk santrifüj edildikten sonra reaktif karışımı ve ksantin oksidaz eklendi. 20 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra CuCl_2 ilavesi ile reaksiyon sonlandırılıp numunelerin absorbansları spektrofotometrede köre karşı 560 nm' de ölçüldü. 1 ünite SOD' un NBT 'nin indirgenmesini %50 oranında inhibe ettiği kabul edilerek dokulardaki SOD aktivitesi U/g doku olarak hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Bütün değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Diyabetli kontrol grubu, diyabetli tedavisiz gruplar, diyabetli kitosan jel uygulanan gruplar ve diyabetli kitosan jel içinde PDGF uygulanan gruplardaki yara dokusuna ait NOx, TBARS, GSH, AA seviyeleri ve SOD aktivitesi Çizelge 4.1’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yara dokusundaki TBARS, GSH, NOx, AA seviyeleri ve SOD aktivitesi

		TBARS [nmol/ g doku]	GSH [μmol/g doku]	NOx [μmol/g doku]	AA [mg/g doku]	SOD [U/g doku]
Diyabetli Kontrol Grubu [n=6]		47,68 ± 3,67	7,81 ± 0,6	88,58 ± 9,01	0,23 ± 0,05	293,89 ± 7,9
Diyabetli Tedavisiz Gruplar [n=12]	3. gün [n=6]	22,12 ± 5,37 ^c	0,84 ± 0,32 ^c	383,61 ± 30,06 ^c	0,10 ± 0,01 ^c	286,75 ± 11,07
	7. gün [n=6]	22,15 ± 6,72 ^c	1,18 ± 0,79 ^c	233,85 ± 33,09 ^{a,c}	0,10 ± 0,01 ^c	295,46 ± 7,36
Diyabetli Kitosan jel Uygulanan Kontrol Grupları [n=12]	3. gün [n=6]	20,96 ± 5,63 ^c	1,33 ± 0,65 ^c	252,86 ± 55,93 ^{*,c}	0,13 ± 0,03 ^c	293,42 ± 13,37
	7. gün [n=6]	26,50 ± 5,41 ^c	1,57 ± 0,96 ^c	303,54 ± 83,77 ^{*,c}	0,16 ± 0,01 ^{*,c}	285,86 ± 9,24
Diyabetli PDGF Uygulanan [Kitosan+PDGF] Gruplar [n=12]	3. gün [n=6]	45,67 ± 8,14 ^{*,b}	3,21 ± 1,5 ^{*,c}	250,74 ± 65,67 ^{*,c}	0,15 ± 0,03 ^{*,c}	288,88 ± 3,16
	7. gün [n=6]	25,54 ± 2,72 ^{a,c}	1,14 ± 0,86 ^c	316,37 ± 68,89 ^{*,c}	0,12 ± 0,01 ^{*,b,c}	291,68 ± 7,1

* p<0,05 Uygulama yapılan grupların tedavisiz gruptaki aynı değeri ile karşılaştırıldığında

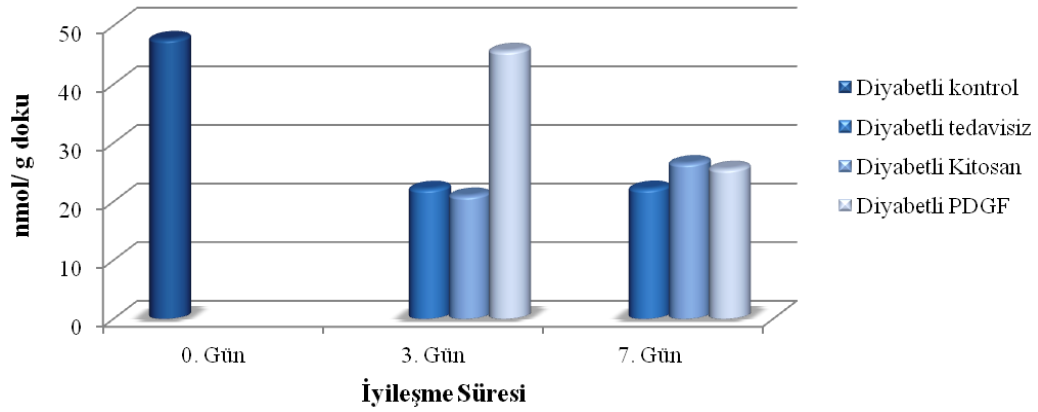
a p<0,05 Grup içi 7. gün 3. gün ile karşılaştırıldığında

b p<0,05 PDGF uygulanan grubun kitosan uygulanan gruptaki aynı değeri ile karşılaştırıldığında

c p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

TBARS Seviyeleri

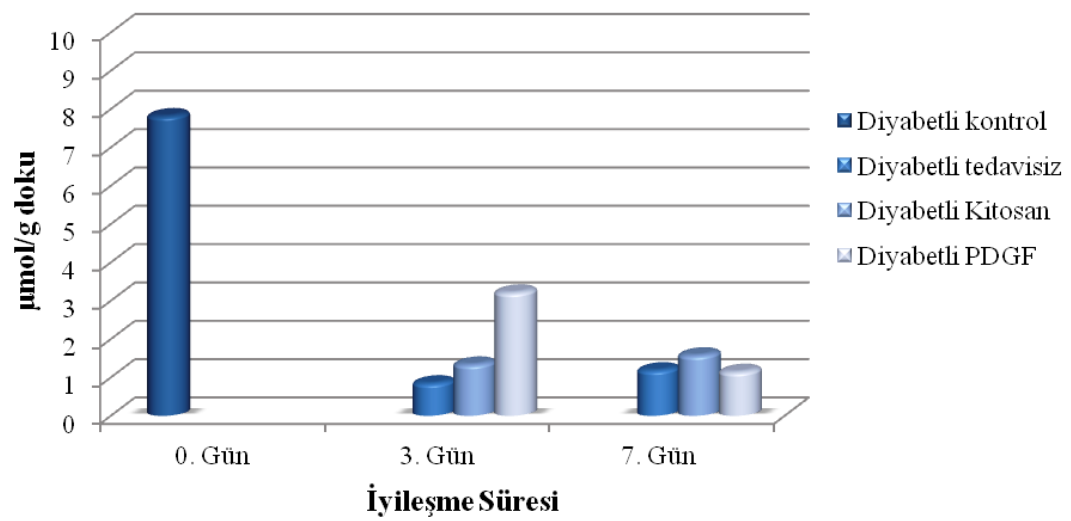
Diyabetli tedavisiz gruplar ve diyabetli kitosan uygulanan gruplar diyabetli kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. (p<0,05) Diyabetli PDGF uygulanan grubun 7. günü diyabetli kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. (p<0,05) Diyabetli PDGF uygulanan grubun 3. günü diyabetli tedavisiz grup ve diyabetli kitosan uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. (p<0,05) Diyabetli PDGF uygulanan grubun 7. günü diyabetli tedavisiz grup ve diyabetli kitosan uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamamıştır. (p>0,05)



Şekil 4.1. Gruplara ait TBARS seviyelerinin günlere göre değişimi

GSH Seviyeleri

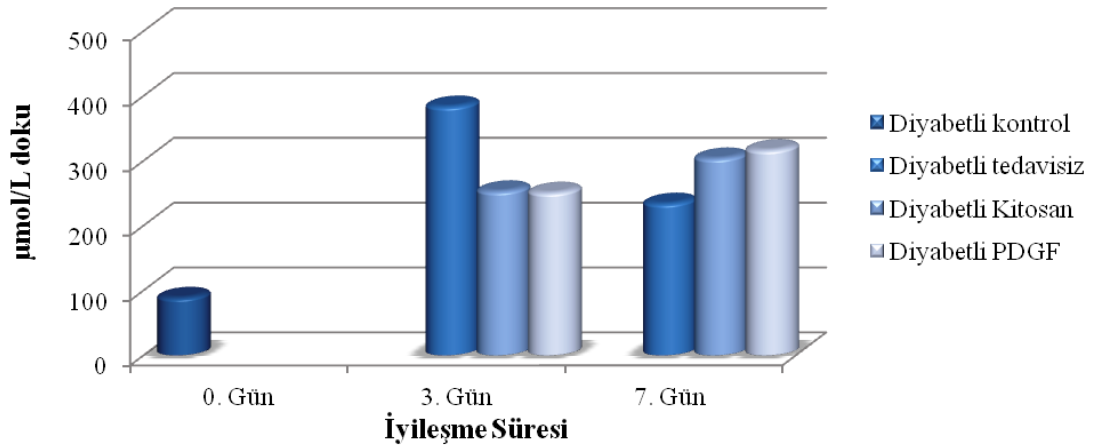
Diabetli tedavisiz gruplar, diabetli kitosan uygulanan gruplar ve diabetli PDGF uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. ($p < 0,05$) Diabetli PDGF uygulanan grubun 3. günü diabetli tedavisiz grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p < 0,05$) Diabetli PDGF uygulanan grubun 7. günü diabetli tedavisiz grup ve diabetli kitosan uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamamıştır. ($p > 0,05$)



Şekil 4.2. Gruplara ait GSH seviyelerinin günlere göre değişimi

NOx Seviyeleri

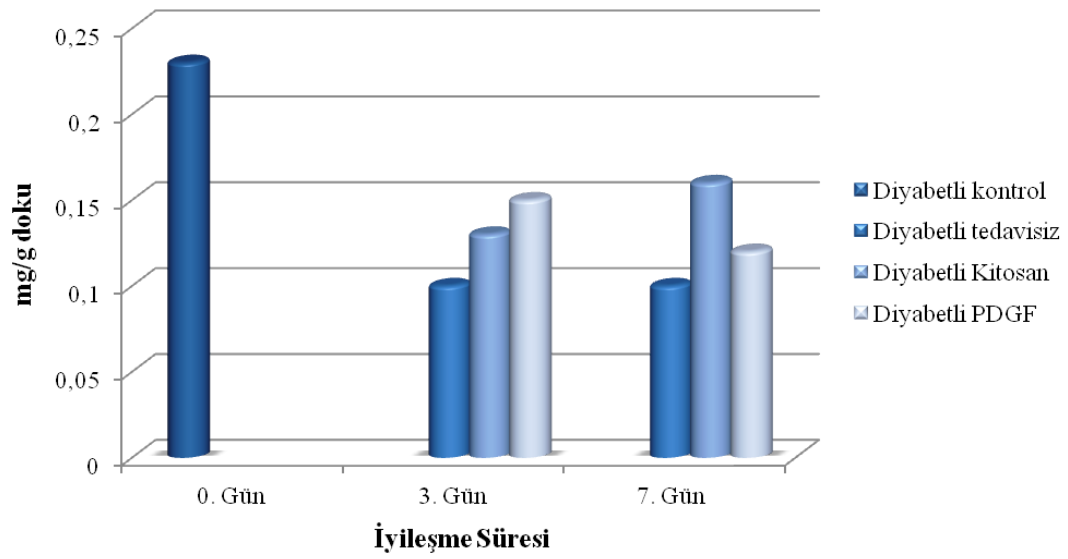
Diyabetli tedavisiz gruplar, diyabetli kitosan uygulanan gruplar ve diyabetli PDGF uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$) Diyabetli kitosan uygulanan grubun ve diyabetli PDGF uygulanan grubun 3. günleri tedavisiz grupla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azalırken, 7. günlerinde anlamlı bir şekilde artmıştır. ($p<0,05$) Diyabetli tedavisiz grubun 7. günü 3. günü ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. ($p<0,05$)



Şekil 4.3. Gruplara ait NOx seviyelerinin günlere göre değişimi

AA Seviyeleri

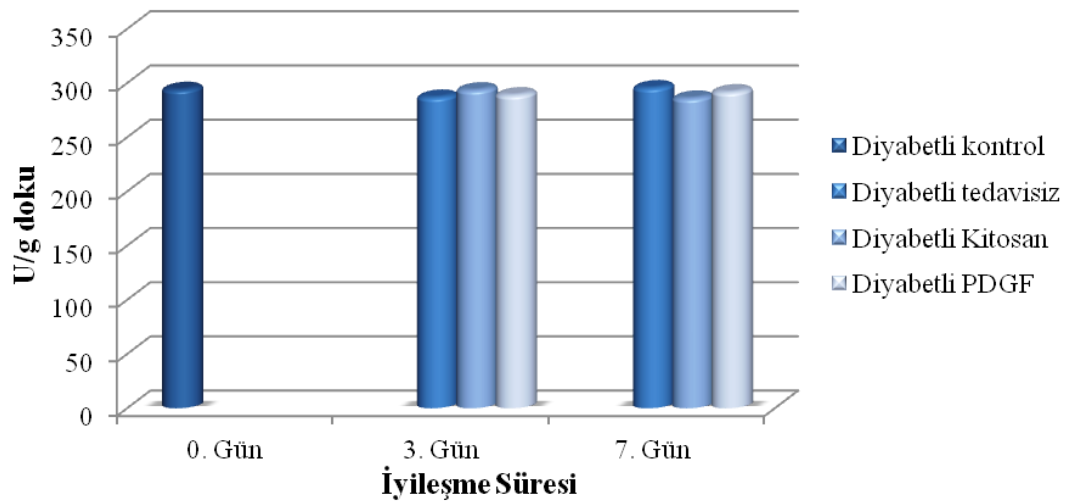
Diyabetli tedavisiz gruplar, diyabetli kitosan uygulanan gruplar ve diyabetli PDGF uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. ($p<0,05$) Diyabetli PDGF uygulanan grubun 3 ve 7. günleri tedavisiz grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$) Diyabetli kitosan uygulanan grubun 7. günü tedavisiz grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$) Diyabetli PDGF uygulanan grubun 7. günü diyabetli kitosan uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. ($p<0,05$)



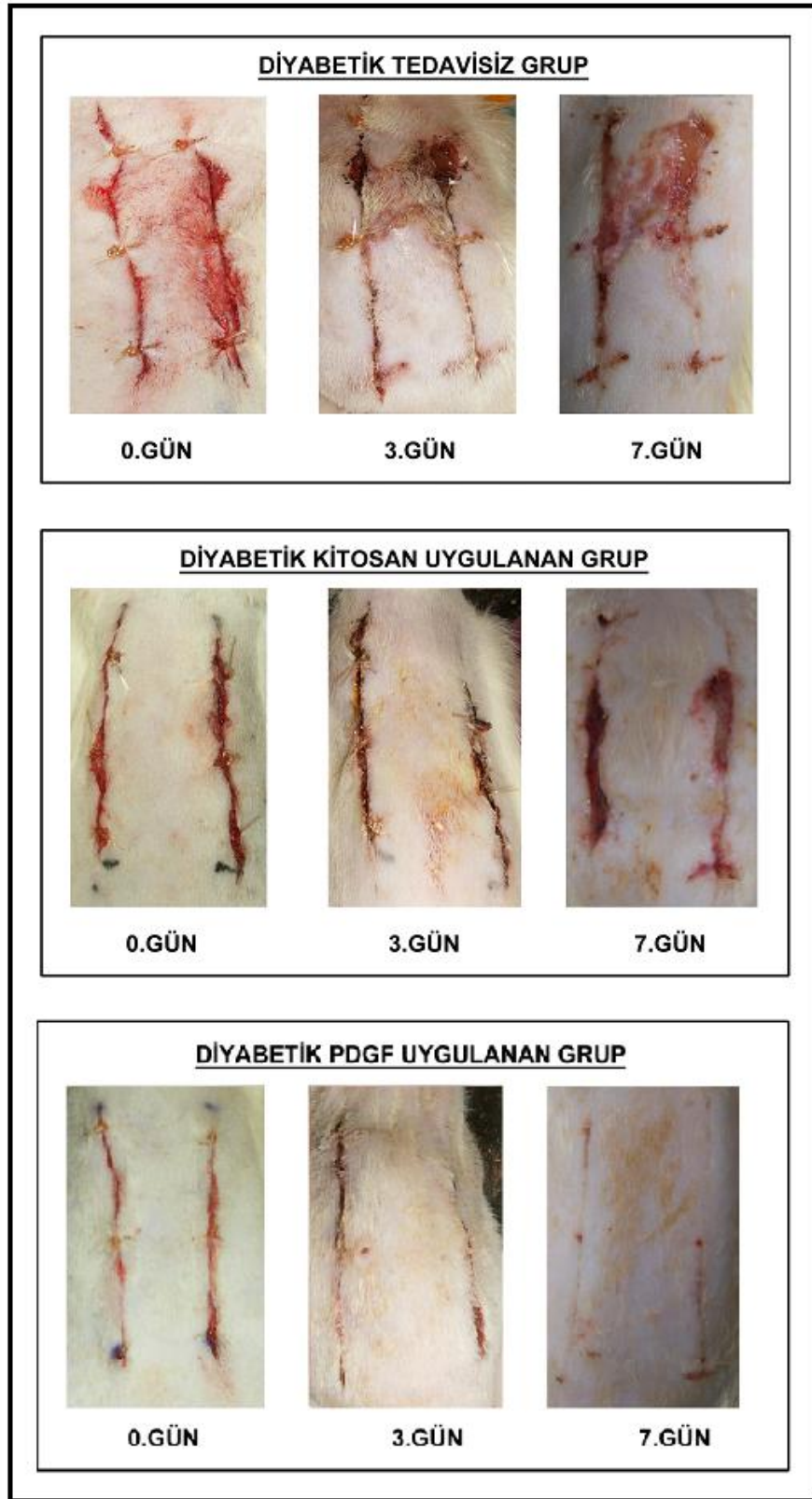
Şekil 4.4. Gruplara ait AA seviyelerinin günlere göre değişimi

SOD Aktiviteleri

SOD aktivitesi bakımından gruplar birbirleriyle ve kendi içlerinde karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. ($p>0,05$)



Şekil 4.5. Gruplara ait SOD aktivitesinin günlere göre değişimi



Resim 4.1. Deney gruplarının tümüne ait kesi yaralarının morfolojik görüntüleri

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Yara, yumuşak dokuların normal anatomik yapı ve fonksiyonun bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise travma ile başlayan ve yeni doku oluşumu ile sonuçlanan hücresel ve biyokimyasal olaylar sürecidir. Yara iyileşme süreci iç içe geçmiş inflamasyon, hücresel proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç evreye ayrılmaktadır [2]. Bu süreç büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler tarafından düzenlenmektedir [3-6]. Yaralanmayla başlayan iyileşme süreci günler, aylar ve hatta yıllarca sürebilmektedir [9,10]. Dolaşım veya herhangi bir metabolik problemi olmayan bir zeminde yara iyileşmesi, kendi dinamik sürecinde kısa sürede iyileşmeyle sonlanırken [11] enfeksiyonlarda, diabetes mellitus'ta, sistemik steroid ile radyasyon uygulamaları ve kemoterapötik ajanların kullanımı sırasında gecikmektedir [8, 12].

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olan DM, insülinin mutlak veya fonksiyonel eksikliği ya da insüline karşı gelişen direnç sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik bir metabolizma hastalığıdır [13-16]. DM'de yara iyileşmesinin bozulması veya gecikmesi iyi bilinen bir klinik problemdir [22]. DM'de yara iyileşmesinin metabolik, vasküler, nörolojik ve inflamatuvar değişiklikler tarafından engellendiği kabul edilmektedir [23]. Diyabetik hayvan modellerinde ve insanlarda; yeterli büyüme faktörü üretilmemesi, büyüme faktörü yıkımının ve serbest radikallerin artması yara iyileşmesindeki gecikmesinin en önemli nedenleri arasında gösterilmektedir [14, 17, 24].

Büyüme faktörleri yara iyileşmesinde görev alan hücre tipleri tarafından sentezlenen ve salgılanan düzenleyici proteinlerdir [26]. Yara iyileşme sürecindeki etkileri kapsamlı olarak araştırılmıştır [25, 40, 46-49]. PDGF yara iyileşmesinde görev alan en önemli büyüme faktörlerinden biridir. Birçok çalışmada PDGF uygulamasının yara iyileşmesinin düzenlenmesi ve hızlandırılmasında önemli bir rolünün olduğu gösterilmiştir [24, 26, 32, 34, 35, 39, 40, 111-113, 119].

Bu çalışmada STZ ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda oluşturulan dorsolateral kesi yaralarına topikal olarak uygulanan PDGF'nin, yara iyileşmesi sürecinde yara dokusundaki oksidatif olayların zamana bağımlı etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

Diyabetli PDGF uygulanan grubun yara dokusu TBARS seviyesi 3. günde diyabetli tedavisiz grup ve diyabetli kitosan uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$) Diyabetli PDGF uygulanan grubun yara dokusu TBARS seviyesi 7. günde diyabetli tedavisiz grup ve diyabetli kitosan uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. ($p>0,05$) Diyabetli PDGF uygulanan grup kendi içinde değerlendirildiğinde yara dokusu TBARS seviyelerinin 7. günde 3. güne göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. ($p<0,05$)

ROT'un neden olduğu oksidatif stres sonucunda meydana gelen lipid peroksidasyonunun derecesi, en önemli son ürünlerinden olan MDA'nın konsantrasyonu ile belirlenir. MDA'nın belirlenmesinde kullanılan TBARS seviyesinin diyabetli PDGF uygulanan grubun 3. gününde diyabetli tedavisiz ve diyabetli kitosan gruplarına göre anlamlı olarak artmış olması, topikal PDGF uygulamasının iyileşmenin erken evrelerinde ROT üretimini uyarımış olabileceği düşünülmektedir. PDGF inflamasyon evresindeki birçok hücre için etkili bir mitojen ve kemotaktiktir [4, 28, 29, 31, 35, 90-92, 96, 97, 106, 109]. İnflamasyonun erken evresindeki fagositik hücreler tarafından bakteri kontaminasyonu ortadan kaldırırken, inflamatuvar hücreler tarafından NADPH oksidaz enzimi aracılığıyla ROT üretiminin ve salınımının artması sonucunda oksidatif stres uyarılmaktadır. [130, 131]. PDGF bu hücrelerin yara alanına gelmesini ve çoğalmasını sağlayarak ROT üretiminin artmasına neden olmuş olabilir. Chen ve arkadaşları (2004) insan lens epitelyal hücrelerinde yaptıkları çalışma da PDGF'nin mitojenik uyarıcı fonksiyonunun MAPK'lar ve hücre proliferasyonu aktivitesini ROT aracılığıyla gösterdiğini ve düşük seviyelerde H_2O_2 'nin PDGF gibi etki ettiğini belirtmişlerdir [132]. Adachi ve arkadaşları (2005) karaciğer yıldız hücrelerinde yaptıkları çalışmada PDGF-BB'nin NADPH oksidaz aktivasyonu aracılığıyla ROT üretimini uyardığını ve meydana gelen ROT'ların da hücre proliferasyonunu uyardığını belirtmişlerdir [133].

Rasik ve arkadaşları (2000) diyabetli ratlarda geciken yara iyileşmesine antioksidanların katkısını araştırdıkları çalışmada, diyabetli ratların derisindeki TBARS seviyesinin sağlıklı ratların derisiyle karşılaştırdıklarında ve yara oluşturulduktan sonra 7. günde diyabetli yara dokusundaki TBARS seviyesinin sağlıklı yara dokusuyla karşılaştırdıklarında önemli bir farkın olmadığını belirtmişlerdir [134]. Srivatsan ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada, komplikasyonsuz diyabet hastalarının eritrositlerindeki TBARS seviyelerini sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak azaldığını, komplikasyonlu diyabet hastalarının eritrositlerindeki TBARS seviyelerini sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırdıklarında ise anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda komplikasyonlu diyabet hastalarının TBARS seviyelerini komplikasyonsuz diyabet hastalarıyla karşılaştırdıklarında daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir [135]. Judith ve arkadaşları (2010) ratlardaki eksizyonel yara modeline topikal olarak kollajen/kitosan/PDGF-BB karışımını uyguladıkları çalışmada, tedavi grubunun MDA konsantrasyonunu kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında azaldığını belirtmişlerdir [131]. Arya ve arkadaşları (2011) diyabetik hastalarda yaptıkları çalışmada, diyabetli kronik iyileşmeyen yarası olan ve olmayan gruplarla sağlıklı grubu karşılaştırdıklarında MDA seviyelerinin arttığını belirtmişlerdir [136]. Kaltalıoğlu ve arkadaşları (2013) ratlarda yaptıkları eksizyonel yaraları topikal olarak kitosan+PDGF ile tedavi etmişlerdir. Tedavi grubunun TBARS seviyesinin sadece kitosan jel uygulanan grupla karşılaştırdıklarında 3. günde önemli miktarda arttığını, 7. günde ise önemli miktarda azaldığını belirtmişlerdir [40].

Kronik diyabetik yaralarda artan matriks metalloproteinazlar (MMP) ve azalan matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) seviyelerinin [137-139] neden olduğu proteolitik bozunmadan dolayı büyüme faktörlerinin ve büyüme faktörü reseptörlerinin azaldığını belirten çalışmalar bulunmaktadır [138, 140-144]. İleri evrede arttığı belirtilen proteolitik aktiviteden dolayı eksojen PDGF-BB'nin yıkımlanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle ileri evrede gerekli olmayan ROT üretimi ve salınımını uyarmayarak, yara iyileşmesine olumlu bir katkı sağladığı düşünülmektedir.

Diyabetli PDGF uygulanan grubun 3. günündeki yara dokusu GSH seviyesi diyabetli tedavisiz grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$)

Glutasyon direk olarak serbest radikalleri süpürücü fonksiyonu olan önemli bir antioksidandır. Eritrositleri ve lökositleri oksidatif strese karşı korumada hayati bir öneme sahiptir [42, 100]. Iantomasi ve arkadaşları (1999) serum açlığına maruz bıraktıkları NIH3T3 fibroblast hücre kültürüyle yaptıkları çalışmada, PDGF-BB uygulamasının hücrese GSH içeriğinin arttırdığını belirtmişlerdir [145]. Srivatsan ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada, komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diyabet hastalarının eritrositlerindeki GSH seviyelerini sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak azaldığını belirtmişlerdir [135]. Rasik ve arkadaşları (2000) diyabetli ratlarda geciken yara iyileşmesine antioksidanların katkısını araştırdıkları çalışmada, diyabetli ratların derisindeki GSH seviyesinin sağlıklı ratların derisiyle karşılaştırdıklarında ve yara oluşturulduktan sonra 7. günde diyabetli yara dokusundaki GSH seviyesinin sağlıklı yara dokusuyla karşılaştırdıklarında anlamlı olarak azaldığını belirtmişlerdir [134]. Judith ve arkadaşları (2010) ratlardaki eksizyonel yara modeline topikal olarak kollajen/kitosan/PDGF-BB karışımını uyguladıkları çalışmada, tedavi grubunun GSH seviyesini kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında arttığını belirtmişlerdir [131]. Arya ve arkadaşları (2011) diyabetik hastalarda yaptıkları çalışmada, diyabetli kronik iyileşmeyen yarası olan ve olmayan gruplarla sağlıklı grubu karşılaştırdıklarında GSH seviyelerinin azaldığını belirtmişlerdir [136]. Kaltalıoğlu ve arkadaşları (2013) ratlarda yaptıkları eksizyonel yaraları topikal olarak kitosan+PDGF ile tedavi etmişlerdir. Tedavi gruplarının GSH seviyelerini tedavisiz ve sadece kitosan jel uygulanan grupla karşılaştırdıklarında 3 ve 7. günlerinde anlamlı bir şekilde arttığını belirtmişlerdir [40]. İyileşmenin erken evrelerinde yara dokusunda artan GSH seviyesinin, artmış TBARS seviyesinin neden olduğu oksidatif olayları ortadan kaldırmak için antioksidan kapasitenin artmasına katkı sağlamış olabileceği düşünülmektedir.

Diyabetli kitosan uygulanan grubun ve diyabetli PDGF uygulanan grubun 3. günlerindeki yara dokusu NOx seviyeleri tedavisiz grupla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azalırken, 7. günlerinde anlamlı bir şekilde artmıştır. ($p<0,05$)

İyileşmenin erken evresinde NO'nun PDGF tarafından baskılandığı düşünülmektedir. İleri evrede arttığı belirtilen proteolitik aktiviteden dolayı eksojen PDGF-BB'nin yıkımlanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle ileri evrede NO üretimi PDGF tarafından baskılanmamış olabilir. Scott-Burden ve arkadaşları (1992) yaptıkları çalışmada düz kas hücre kültürüne PDGF-AB ve PDGF-BB uygulamışlar ve IL-1 β tarafından uyarılan NO üretimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir [146]. Kunz ve arkadaşları (1997) yaptıkları çalışmada mezanjiyal hücre kültürüne PDGF-BB uygulamışlar ve IL-1 β tarafından uyarılan nitrit üretimini inhibe ettiğini ve iNOS protein üretimini azalttığını belirtmişlerdir [147]. Hwang ve arkadaşları (2000) yaptıkları çalışmada aktive edilmiş makrofaj hücre kültürüne kitin ve kitosan uygulamasının NO üretimini önemli derecede inhibe ettiğini belirtmişlerdir [148]. Yu ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada makrofaj hücre kültüründe oligokitosa uygulamasının makrofajlarda iNOS aktivitesini artırdığını, NO ve TNF- α sentezini uyardığını belirtmişlerdir [149]. Pattani ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada periferik kan mononükleer hücre kültürüne ve ratlardaki eksizyonel yaralara boş kitosa jel uygulamışlardır. Kültürde doza bağımlı olarak ve yara oluşturulduktan 24 saat sonraki yara dokularında NO üretimini artırdığını belirtmişlerdir [150].

Luo ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada tip 1 diyabetli farelerin eksizyonel yaralarındaki eNOS proteinini, yapısal NOS aktivitelerini ve O₂⁻ seviyelerini kontrolleriyle karşılaştırdıklarında eNOS proteini ve yapısal NOS aktivitelerini önemli derecede azaldığını ve O₂⁻ seviyesinin ise önemli derecede arttığını belirtmişlerdir. Oluşturdukları yaraları adenoviral aracılı tek doz eNOS ve manganez süperoksit dismutaz (MnSOD) kutanöz gen terapisi uygulamışlardır. Her iki uygulamada da yara iyileşmesi boyunca eNOS protein aktivitesinin önemli derecede arttığını, yapısal NOS aktivitesinin ise yara oluşturulduktan sonraki 1, 7 ve 14. günlerde önemli derecede arttığını belirtmişlerdir [151]. Kaltalıoğlu ve arkadaşları

(2013) ratlarda yaptıkları eksizyonel yaraları topikal olarak kitosan+PDGF ile tedavi etmişlerdir. Tedavi grubunun NOx seviyesini sadece kitosan jel uygulanan grupla karşılaştırdıklarında ise 3 ve 7. günlerde anlamlı olarak azaldığını belirtmişlerdir [40].

Diyabetli PDGF uygulanan grubun 3 ve 7. günlerindeki yara dokusu AA seviyeleri tedavisiz grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$) Diyabetli kitosan uygulanan grubun 7. gündeki yara dokusu AA seviyesi tedavisiz grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ($p<0,05$)

AA suda çözünebilen önemli bir antioksidandır. Lipid hasarına, protein ve DNA oksidasyonuna neden olan ROT'lara karşı süpürücü etki göstermektedir. Aynı zamanda kollajenin üçlü sarmal yapısının stabilize edilmesi için gerekli olan hidroksilasyonu teşvik ettiğinden [152] kollajen sentezinde önemlidir. PDGF-BB uygulaması yara iyileşme sürecinde AA seviyesini arttırarak yara dokusundaki oksidatif olaylara karşı antioksidan kapasiteyi arttırmış olabileceği ve ileri evrede yara alanında azalan kanlanma nedeniyle AA'nın dokudaki kullanımının kısıtlanmış olabileceği düşünülmektedir. Rasik ve arkadaşları (2000) diyabetli ratlarda geciken yara iyileşmesine antioksidanların katkısını araştırdıkları çalışmada, diyabetli ratların derisindeki AA seviyesinin sağlıklı ratların derisiyle karşılaştırdıklarında azaldığını, yara oluşturulduktan sonra 7. günde diyabetli yara dokusundaki AA seviyesinin sağlıklı yara dokusuyla karşılaştırdıklarında ise önemli bir farkın olmadığını belirtmişlerdir [134]. Srivatsan ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada, komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diyabet hastalarının eritrositlerindeki AA seviyelerinin sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir [135]. Judith ve arkadaşları (2010) ratlardaki eksizyonel yara modeline topikal olarak kollajen/kitosan/PDGF-BB karışımını uyguladıkları çalışmada, tedavi grubunun AA seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında arttığını belirtmişlerdir [131]. Konerding ve arkadaşları (2012) diyabetik farelerin (STZ) yaralarına tek doz AA uyguladıkları çalışmada, tip 3 kollajen içeriğinin ve yara gerilim kuvvetinin arttığını belirtmişlerdir [153]. Kaltahoğlu ve arkadaşları (2013) ratlarda yaptıkları eksizyonel yaraları topikal olarak kitosan+PDGF ile tedavi

etmişlerdir. Tedavi grubunun AA seviyesi tedavisiz grupla karşılaştırdıklarında 7. günde ve sadece kitosan jel uygulanan grupla karşılaştırdıklarında ise 3. günde anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir [40].

SOD aktivitesi bakımından gruplar birbirleriyle ve kendi içlerinde karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. ($p>0,05$)

Hücre içi serbest radikallerin meydana getirdiği toksik etkileri azaltan SOD özellikle süperoksit radikalının ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynamaktadır [136]. Yara iyileşmesinin ileri evresinde ve diyabette azalan oksijenlenmeden dolayı süperoksit radikalının oluşmadığı ve bu nedenle SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir farkın olmadığı düşünülmektedir. Rasik ve arkadaşları (2000) diyabetli ratlarda geciken yara iyileşmesine antioksidanların katkısını araştırdıkları çalışmada, diyabetli ratların derisindeki SOD aktivitesinin sağlıklı ratların derisiyle karşılaştırdıklarında azaldığını, yara oluşturulduktan sonra 7. günde diyabetli yara dokusundaki SOD aktivitesini sağlıklı yara dokusuyla karşılaştırdıklarında ise önemli bir farkın olmadığını belirtmişlerdir [134]. Şekeroğlu ve arkadaşları (2000) diyabetli hastalarda yaptıkları çalışmada, diyet öncesi ve sonrası eritrositlerdeki SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir farkın olmadığını belirtmişlerdir [154]. Kimura ve arkadaşları (2003) yaptıkları çalışmada, tip 2 diyabetli hastaların serum ekstrasellüler SOD konsantrasyonunu sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir. Artan SOD aktivitesinde DM'lu hastalarda görülen mikro ve makro komplikasyonları azalttığını bildirmişlerdir [155]. Srivatsan ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada, komplikasyonlu ve komplikasyonsuz diyabet hastalarının eritrositlerindeki SOD enzim aktivitelerini sağlıklı kontrolleriyle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda komplikasyonlu diyabet hastalarının SOD enzim aktivitesini komplikasyonsuz hastalarla karşılaştırdıklarında ise anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir [135]. Judith ve arkadaşları (2010) ratlardaki eksizyonel yara modeline topikal olarak kollajen/kitosan/PDGF-BB karışımını uyguladıkları çalışmada, tedavi grubunun SOD aktivitesinin kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında arttığını belirtmişlerdir [131]. Arya ve arkadaşları (2011) diyabetik hastalarda yaptıkları çalışmada, diyabetli

kronik iyileşmeyen yarası olan ve olmayan gruplarla sağlıklı grubu karşılaştırdıklarında SOD enzim aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir [136]. Kaltalıoğlu ve arkadaşları (2013) ratlarda yaptıkları eksizyonel yaraları topikal olarak kitosan+PDGF ile tedavi etmişlerdir. Tedavi grubunun SOD aktivitesi diğer gruplarla karşılaştırdıklarında anlamlı bir farkın bulunmadığını belirtmişlerdir [40].

PDGF-BB uygulaması diyabetik yaralarda artan oksidatif olaylarla uyumlu olarak erken evrede enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından antioksidan kapasitenin artırılmasına katkı sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca erken evrede TBARS seviyesinin arttığı ve NO üretiminin ise baskılandığı görülmüştür. İleri evrede ise diyabette arttığı belirtilen proteolitik aktivite nedeniyle PDGF-BB'nin etki gösterememiş olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında, diyabetik ratlarda oluşturulan dorsolateral kesi yaralarına uygulanan PDGF-BB'nin yara iyileşmesinin erken evresinde oksidatif olaylar üzerine dengeleyici bir rol oynadığı ve bu etkinin günlere ve yara iyileşmesinin evrelerine göre değişebileceği gösterilmiştir. Sonraki çalışmalarda diyabetik yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olan PDGF-BB'nin farklı dozları ve farklı tedavi süreleri kullanılarak oksidatif olaylar üzerindeki etkisi ayrıntılı olarak araştırılabilir.

KAYNAKLAR

1. Arslan, M. K., “Yara İyileşmesi ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler”, Akut ve Kronik Yara Bakımı, Kurt, N., **Nobel Tıp Kitabevleri**, 9-33 (2003).
2. Karasu, A., Bakır, B., “Yara ve Yara İyileşmesi”, **Veteriner Cerrahi Dergisi**, 14(1): 36-43 (2008).
3. Aslan, D., “Hücre Döngüsü, Büyümesi ve Proliferasyonu, Onkogenler”, İnsan Biyokimyası, Onat, T., Emerk, K., Sözman, E. Y., **Palme Yayıncılık**, Ankara, 691-699, 714 (2006).
4. Werner, S., Grose, R., “Regulation of wound healing by growth factors and cytokines”, **Physiol Rev.**, 83(3):835-70 (2003).
5. Takayama, Y., Aoki, R., “Roles of lactoferrin on skin wound healing”, **Biochem Cell Biol.**, 90(3):497-503 (2012).
6. Chin, G. A., Diegelmann, R. F., Schultz, G. S., “Cellular and molecular regulation of wound healing”, Wound Healing, Falabella, A. F., Krisner, R. S., **Boca Raton : Talyor & Francis**, 17-37 (2005).
7. Cığer, S., “Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri”, Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi, Erdem, C., Çelebi, C. R., **TDD Yayınları**, Ankara, 20-6 (1996).
8. Ömeroğlu, S., Çam, M., Erdoğan, D., Görgün, M., Lortlar, N., Dinçer, S., “Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlardaki Deri Yaralarında, İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I’in Lokalizasyonunun İmmünohistokimyasal Olarak Gösterilmesi”, **Düzce Tıp Fakültesi Dergisi**, 5(2):5-8 (2003).
9. Orhun, H., "Yara Tanımı, Yaralanma Tipleri ve Travmatik Yaraların Tedavisi", Akut ve Kronik Yara Bakımı, Kurt, N., **Nobel Tıp Kitabevleri**, 34-47 (2003).
10. Reinke, J.M., Sorg, H., “Wound Repair and Regeneration”, **Eur Surg Res.**, 49:35–43 (2012).
11. Özler, M., Şimşek, K., Topal, T., Öter, Ş., Korkmaz, A., “Pinealektomili Ratlarda Yara İyileşmesi”, **Gülhane Tıp Dergisi**, 52: 181-184 (2010).
12. Schäfer, M., Werner, S., “Oxidative stress in normal and impaired wound repair” **Pharmacol Res.**, 58(2):165-71 (2008).
13. Aydoğan, Ü., Akbulut, H., Doğaner, Y. Ç., “Diyabetik Ayak”, **TAF Prev Med Bull.**, 9(4):375-382 (2010).

14. Memişoğulları, R., “Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi”, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3:30-39 (2005).
15. Poulsen, T. M., “Diabetes”, *BMJ*, 316:1221-1225 (1998).
16. Yöнем, A., “Diabetes Mellitus Fizyoloji, Tanımlama, Sınıflama, Etiyopatogenez, Klinik Özellikler” Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet, Özata, M., *İstanbul Tıp Kitabevi*, 543-564 (2011).
17. Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C., “Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres”, *Türk J Biochem.*, 31(2):51-56 (2006).
18. Uçan, Ö., Ovayolu, N., Torun, S., “Diabetes Mellitus’lu Hastaların Kan Şekeri Kontrolü ve İnsülin Kullanımına Yönelik Bilgilerinin Belirlenmesi”, *Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 10(1):89-96 (2007).
19. Tarcan, E., “Diyabetik Ayak Ülserlerinin Cerrahi Tedavisi”, Akut ve Kronik Yara Bakımı, Kurt, N., *Nobel Tıp Kitabevleri*, 273-284 (2003).
20. İnternet: World Health Organization, “WHO Diabetes Programme, prevalence data”, http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/index4.html.2006 (27.11.1013).
21. Satman, I., Yılmaz, T., Sengul, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Bastar, I., Tütüncü, Y., Sargın, M., Dinçcağ, N., Karsıdağ, K., Kalaça, S., Özcan, C., King, H., “Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP)”, *Diabetes Care*, 25: 1551-6 (2002).
22. Dinçer, S., Gülen, Ş., “Leptin Uygulanan Sağlıklı ve Diyabetik Sıçanlarda Yara Dokusu Malondialdehit ve Glutatyon Düzeyleri”, *Erciyes Tıp Dergisi*, 32(3):161-166 (2010).
23. Pradhan, L., Nabzdyk, C., Andersen, N. D., LoGerfo, F. W., Veves, A., “Inflammation and neuropeptides: the connection in diabetic wound healing”, *Expert Rev Mol Med.*, 11(e2):1-24 (2009).
24. Li, H., Fu, X., Zhang, L., Huang, Q., Wu, Z., Sun, T., “Research of PDGF-BB gel on the wound healing of diabetic rats and its pharmacodynamics”, *J Surg Res.*, 145(1):41-8 (2008).
25. Dogan, S., Demirer, S., Kepenekci, I., Erkek, B., Kiziltay, A., Hasirci, N., Müftüoğlu, S., Nazikoglu, A., Renda, N., Dinçer, U. D., Elhan, A., Kuterdem, E., “Epidermal growth factor-containing wound closure enhances wound healing in non-diabetic and diabetic rats”, *Int Wound J.*, 6(2):107-15 (2009).

26. Kiwanuka, E., Junker, J., Eriksson, E., "Harnessing growth factors to influence wound healing", *Clin Plast Surg.*, 39(3):239-48 (2012).
27. Goodman, S. R., "Tıbbi Hücre Biyolojisi", Rosti, R. Ö., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 227-248 (2011).
28. Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., Tomic-Canic, M., "Growth factors and cytokines in wound healing", *Wound Repair Regen.*, 16(5): 585-601 (2008).
29. Heldin, C. H., Westermark, B., "Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor", *Physiol. Rev.*, 79(4): 1283-1316 (1999).
30. Kovalenko, M., Kazlauskas, A., "Platelet-Derived Growth Factor Receptor Family", *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 3: 339-406 (2004).
31. Heldin, C. H., "Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)", *Encyclopedia of Hormones*, 231-237 (2003).
32. Ackermann, M., Wolloscheck, T., Wellmann, A., Li, V. W., Li, W. W., Konerding, M. A., "Priming with a combination of proangiogenic growth factors enhances wound healing in streptozotocin-induced diabetes in mice", *Eur Surg Res.*, 47(2):81-9 (2011a).
33. Beer, H. D., Longaker, M. T., Werner, S., "Reduced expression of PDGF and PDGF receptors during impaired wound healing", *J Invest Dermatol*, 109: 132–138 (1997).
34. Östman, A., Heldin, C. H., "Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)", *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 3:690-696 (2004).
35. Greenhalgh, D. G., Sprugel, K. H., Murray, M. J., Ross, R., "PDGF and FGF Stimulate Wound Healing in the Genetically Diabetic Mouse", *Am J Pathol.*, 136(6): 1235–1246 (1990).
36. Doxey, D. L., Nares, S., Park, B., Trieu, C., Cutler, C. W., Iacopino, A. M., "Diabetes-Induced Impairment of Macrophage Cytokine Release in a Rat Model: Potential Role of Serum Lipids", *Life Sciences*, 63(13):1127-1136 (1998).
37. Lee, J. A., Conejero, J. A., Mason, J. M., Parrett, B. M., Wear-Maggitti, K. D., Grant, R. T., Breitbart, A. S., "Lentiviral Transfection with the PDGF-B Gene Improves Diabetic Wound Healing", *Plast Reconstr Surg.*, 116(2):532-8 (2005).

38. Man, L. X., Park, J. C., Terry, M. J., Mason, J. M., Burrell, W. A., Liu, F., Kimball, B. Y., Moorji, S. M., Lee, J. A., Breitbart, A. S., "Lentiviral Gene Therapy with Platelet-Derived Growth Factor B Sustains Accelerated Healing of Diabetic Wounds Over Time", **Ann Plast Surg.**, 55(1):81-6 (2005).
39. Cheng, B., Liu, H. W., Fu, X. B., Sun, T. Z., Sheng, Z. Y., "Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor Enhanced Dermal Wound Healing by a Pathway Involving ERK and c-fos in Diabetic Rats", **J Dermatol Sci.**, 45(3):193-201 (2007).
40. Kaltalıoğlu, K., Coşkun-Cevher, S., Tugcu-Demiroz, F., Celebi, N., "PDGF Supplementation Alters Oxidative Events in Wound Healing Process: a Time Course Study", **Arch Dermatol Res.**, 305(5):415-22 (2013).
41. Mercan, U., "Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi", **YYU Vet Fak Derg.**, 15 (1-2):91-96 (2004).
42. Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., "Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi", **GATA Basımevi**, Ankara, 1-62 (2001).
43. Rasik, A. M., Shukla, A., "Antioxidant status in delayed healing type of wounds", **Int J Exp Pathol**, 81(4): 257-263 (2000).
44. Shukla, A., Rasik, A. M., Patnaik, G. K., "Depletion of reduced glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant defence enzymes in a healing cutaneous wound", **Free Radical Res.**, 26(2): 93-101 (1997).
45. Gupta, A., Singh, R. L., Raghubir, R., "Antioxidant status during cutaneous wound healing in immunocompromised rats", **Mol. Cell. Biochem.**, 241(1-2):1-7 (2002).
46. Coşkun, Ş., Peker, E. G. G., Balabanlı, B., Ahıska, S., Acartürk, F., "Effect of transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) on nitric oxide production and lipid peroxidation in oral mucosal wound healing", **Med. Chem. Res.**, 20(1): 23-28 (2011).
47. Coşkun, Ş., Güleç, E. G., Balabanlı, B., Acartürk, F., "Effects of epidermal growth factor on lipid peroxidation and nitric oxide levels in oral mucosal ulcer healing: a time-course study", **Surg. Today**, 37(7): 570-574 (2007).
48. Akbulut, K. G., Gönül, B., Türkyılmaz, A., Çelebi, N., "The role of epidermal growth factor formulation on stress ulcer healing of the gastric mucosa", **Surg. Today**, 32(10): 880-3 (2002).
49. Kalay, Z., Cevher, S. C., "Oxidant and antioxidant events during epidermal growth factor therapy to cutaneous wound healing in rats", **Int Wound J**, 1-10 (2011).

50. Vidinský, B., Gál, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, L., Bobrov, N., Sabo, J., "Histological Study of the First Seven Days of Skin Wound Healing in Rats", *Acta Vet. Brno*, 75: 197-202 (2006).
51. Broughton, II, G., Janis, J. E., Attinger, C. E., "Wound healing: an overview", *Plast. Reconstr. Surg.*, 117(7 Suppl): 1e-S-32e-S (2006).
52. Singer, A. J., Clark, R. A. F., "The Biology of Wound Healing", Lacerations and Acute Wounds an Evidence-Based Guide, Singer, A. J., Hollander, J. E., **F. A. Davis Company**, Philadelphia, 1-8 (2003).
53. Myers, B. A., "Wound Management: Principles and Practice 1st ed.", **Prentice Hall**, New Jersey, 9-36 (2004).
54. İnternet: World Wide Wounds, "Phases of repair in acute wound healing", <http://www.worldwidewounds.com/2004/august/Enoch/images/enochfig1.jpg> (27.11.2013).
55. Le, N. N., Rose, M. B., Levinson, H., Klitzman, B., "Implant healing in experimental animal models of diabetes", *J Diabetes Sci Technol.*, 1;5(3):605-18 (2011).
56. Arab, A., Orakçı, V., Erbilin, M., Şahin, M., "Yara iyileşmesi", *J Turgut Ozal Med Cent*, 1(2): 160- 166 (1994).
57. İnternet: Dentistry and Medicine, "Primer and Seconder Wound Healing" <http://dentistryandmedicine.blogspot.com/2011/10/regeneration-healing-repair.html> (27.11.2013).
58. Hess, C. T., "Checklist for Factors Affecting Wound Healing", *Adv Skin Wound Care*, 24(4): 192 (2011).
59. İnternet: Mersin Üviversitesi, "Yara İyileşmesi ve Yara Bakımı", [http://yeniweb.mersin.edu.tr/uploads/304/files/Yara_iyile%C5%9Fmesi_ve_yara_bak%C4%B1m%C4%B1\(D4-K%C3%96\).pdf](http://yeniweb.mersin.edu.tr/uploads/304/files/Yara_iyile%C5%9Fmesi_ve_yara_bak%C4%B1m%C4%B1(D4-K%C3%96).pdf) (19.01.2014).
60. Sodeman, W. A., Sodeman, T. M., "Sodeman's Pathologic Physiology Mechanisms of Disease 2nd ed.", Hekimler Birliği Vakfı, **Türkiye Klinikleri Yayınevi**, Ankara, 1154-1156 (1992).
61. Inzucchi, S. E., "Diabetes Mellitus El Kitabı", Demiriz, I. Ş., Demiriz, B., **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 1-75 (2009).
62. Koolman, J., Röhm, K. H., "Renkli Biyokimya Atlası", Yeşilkaya, A., Baykal, A., Alper, Ö., **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 164 (2003).

63. Grdl, F., Ademođlu, E., “Biyokimya, 2. Baskı”, **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 582-583 (2006).
64. Bennett, P. H., Knowler, W. C., “Diabetes Mellitus ve Glikoz Hemostazının Tanımı, Teşhisi ve Sınıflandırılması”, Joslin’s Diabetes Mellitus 14th, Yumuk, V., **İstanbul Medikal Yayıncılık**, İstanbul, 331-397 (2008).
65. Yumuk, V., “Diabetes Mellitus’a Genel Bir Bakış”, Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet, Özata, M., **İstanbul Tıp Kitabevi**, İstanbul, 539-41 (2011).
66. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, **Diabetes Care** 32 (Suppl 1): 13-61 (2009).
67. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, **Diabetes Care** 34 (Suppl 1): 62-69 (2011).
68. Altun, B. U., “Endokrinolojide Temel ve Klinik Bilgiler”, **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 101-154 (2011).
69. Jameson, J. L., “Harrison’s Endocrinology”, **Mc Graw Hill**, New York, 283-331 (2006).
70. Akalın, S., Aslan, M., Başkal, N., Çorakçı, A., Dinççağ, N., Erbaş, T., Hatun, Ş., İlkova, H., İmamoğlu, Ş., Karadeniz, Ş., Korugan, Ü., Özer, E., Tuncel, E., Yeşil, S., Yılmaz, C., Yılmaz, M. T., “Diabetes Mellitus 2000”, Yılmaz, C., Yılmaz, M. T., İmamoğlu, Ş., **Gri Tasarım**, İstanbul, 25, 26, 136 (2000).
71. Deyneli, O., “Tip 1 Diabetes Mellitus”, Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet, Özata, M., **İstanbul Tıp Kitabevi**, İstanbul, 565 (2011).
72. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, **Diabetes Care**, 33 (Suppl 1): 62-9 (2010).
73. Konca, C., Ayvaz, G., “Tip 2 Diabetes Mellitusun İnsülin Dışı Tedavisi”, Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet, Özata, M., **İstanbul Tıp Kitabevi**, İstanbul, 571 (2011).
74. Zimmet, P., Shaw, J., “Dünya Çapında Bir Sorun-Diyabet”, Joslin’s Diabetes Mellitus 14th, Yumuk, V., **İstanbul Medikal Yayıncılık**, İstanbul, 525-9 (2008).
75. Özbey, N., Orhan, Y., “Diabetes Mellitus”, **Nobel Tıp Kitabevleri**, İstanbul, 8-9 (2003).
76. United States Renal Data System, “Incidence and prevalence of ESRD”, **Am J Kidney Dis**, 32(2):38-49 (1998).

77. Karaca-Sivrikaya, S., “Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarına Verilen Planlı Eğitimin Hastaların Tutumlarına, İyilik Hallerine ve Metabolik Kontrol Değişkenlerine Etkisi”, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 24 (2006).
78. Arslan, D., “Tip 1 Diabetes Mellituslu Hastalarda Otoimmünite Varlığının Mikrovasküler Komplikasyon Gelişme Süresine Etkisi”, Doktora Tezi, *Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, İstanbul, 19 (2008).
79. Yonekura, H., Yamamoto, Y., Sakurai, S., Watanabe, T., Yamamoto, H., “Roles of the receptor for advanced glycation endproducts in diabetes-induced vascular injury”, *J Pharmacol Sci.* 97(3):305-11 (2005).
80. Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., Mitchell, R. N., “Robbin’s Temel Patoloji (Basic Pathology), 8. baskı”, Çevikbaş, U., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 775-81 (2008).
81. Alper, G., "Diyabet", İnsan Biyokimyası, Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. Y., *Palme Yayıncılık*, Ankara, 280-90 (2006).
82. Parmaksız, İ., “Diyabet Komplikasyonlarında İleri Glikasyon Son Ürünleri”, *Marmara Medical Journal*, 24(3):141-8 (2011).
83. Giardino, I., Edelstein, D., Brownlee, M “BCL-2 Expression or Antioxidants Prevent Hyperglycemia-Induced Formation of Intracellular Advanced Glycation Endproducts in Bovine Endothelial Cells”, *J Clin Invest.*, 15;97(6): 1422–1428 (1996).
84. Giardino, I., Fard, A. K., Hatchell, D. L., Brownlee, M., “Aminoguanidine Inhibits Reactive Oxygen Species Formation, Lipid Peroxidation, and Oxidant-Induced Apoptosis”, *Diabetes*, 47(7):1114-20 (1998).
85. Jakus, V., Rietbrock, N., “Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications”, *Physiol Res.*, 53(2): 131-142 (2004).
86. Pierce, G. F., “Inflammation in Nonhealing Diabetic Wounds: the Space-Time Continuum Does Matter”, *Am. J. Pathol.*, 159(2):399-403 (2001).
87. Goova, M. T., Li, J., Kislinger, T., Qu, W., Lu, Y., Bucciarelli, L. G., Nowygrod, S., Wolf, B. M., Caliste, X., Yan, S. F., Stern, D. M., Schmidt, A. M., “Blockade of Receptor for Advanced Glycation End-Products Restores Effective Wound Healing In Diabetic Mice”, *Am J Pathol.*, 159(2):513-25 (2001).
88. Koya, D., King, G. L., “Protein Kinase C Activation and the Development of Diabetic Complications, *Diabetes*, 47(6):859-866 (1998).

89. İnternet: Oregon State University, "What are the main kinds of signaling or communication models in cells?"
<http://oregonstate.edu/instruction/bi314/summer09/signalingnew.html>
(29.12.2013).
90. Playford, R. J., "Growth Factors", *Encyclopedia of Gastroenterology*, 249-56 (2004).
91. İnternet: Kütüphanem, "Yara İyileşmesi",
kutuphanem.bilgievi.gen.tr/indir.aspx?id=24789 (20.01.2014).
92. Chu, X., Newman, J., Park, B., Nares, S., Ordonez, G., Iacopino, A. M., "In vitro alteration of macrophage phenotype and function by serum lipids", *Cell Tissue Res.*, 296(2):331-7 (1999).
93. Robson, M. C., Payne, W. G., "Growth Factor Therapy to Aid Wound Healing", Wound Healing, Falabella, A. F., Krisner, R. S., *Boca Raton : Talyor & Francis*, 17-37 (2005).
94. Ekmekçi, P., Bostancı, S., "Yara iyileşmesi", *T. Klin. Dermatoloji*, 12:114-120 (2002).
95. Rönnstrand, L., "Signaling by the Platelet-Derived Growth Factor Receptor Family", Three-Volume Set 2 ed., *Handbook of Cell Signaling*, 427-34 (2010).
96. Borner, J. C., "Platelet-Derived Growth Factor", *Elsevier*, 343-7 (2006).
97. Fredriksson, L., Li, H., Eriksson, U., "The PDGF Family: Four Gene Products form Five Dimeric İsoforms", *Cytokine Growth Factor Rev.*, 15(4):197-204 (2004).
98. İnternet: Proteinkinaze.de, "PDGF BB"
<http://www.proteinkinaze.biz/page.php?modul=GoShopping&op=show&category=90&article=1191-PDGF%20BB,%2010%20%26%23956%3Bg> (29.12.2013).
99. Yıldırım Sözmen, E., "Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri", İnsan Biyokimyası, Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. Y., *Palme Yayıncılık*, Ankara, 749-758 (2006).
100. Akkuş, İ., "Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri", *Mimoza Yayınevi*, Konya, 1-77 (1995).
101. Comporti, M., "Lipid Peroxidation. An Overview", Free Radicals: From Basic Science to Medicine, Poli, G., Albano, E., Dianzani, M. U., *MCBU*, Basel, 65-79 (1993).

- 102.Schäfer, M., Werner, S., “Oxidative stress in normal and impaired wound repair”, *Pharmacol Res.*, 58(2):165-71 (2008).
- 103.Ganchi, P. A., Eriksson, E., “Diabetes Mellitus ve Yara İyileşmesi”, Joslin’s Diabetes Mellitus 14th, Yumuk, V., *İstanbul Medikal Yayıncılık*, İstanbul, 1133-44 (2008).
- 104.Greenhalgh, D. G., “Wound Healing and Diabetes Mellitus”, *Clin Plast Surg*, 30:37-45 (2003).
- 105.Gantwerker, E. A., Hom, D. B., “Skin: Histology and Physiology of Wound Healing”, *Clin Plast Surg.*, 39(1):85-97 (2012).
- 106.Le, N. N., Rose, M. B., Levinson, H., Klitzman, B., “Implant healing in experimental animal models of diabetes”, *J Diabetes Sci Technol.*, 1;5(3):605-18 (2011).
- 107.Francis-Goforth, K. N., Harken, A. H., Saba, J. D., “Normalization of Diabetic Wound Healing”, *Surgery.*, 147(3):446-9 (2010).
- 108.Mast, B. A., “The Skin”, Wound Healing Biochemical & Clinical Aspects, Cohen, I. K., Diegelmann, R. F., Lindblad, W. J., *W. B. Saunders Company*, Philadelphia, 344-55 (1992).
- 109.Dulmovits, B. M., Herman, I. M., “Microvascular Remodeling and Wound Healing: A Role for Pericytes”, *Int J Biochem Cell Biol.*, 44(11):1800-12 (2012).
- 110.Goldman, R., “Growth Factors and Chronic Wound Healing: Past, Present, and Future”, *Adv Skin Wound Care.*, 17(1):24-35 (2004).
- 111.Grotendorst, G. R., Martin, G. R., Pencev, D., Sodek, J., Harvey, A. K., “Stimulation of Granulation Tissue Formation by Platelet-derived Growth Factor in Normal and Diabetic Rats”, *J Clin Invest.*, 76(6): 2323–2329 (1985).
- 112.Pierce, G. F., Vande-Berg, J., Rudolph, R., Tarpley, J., Mustoe, T.A., “Platelet-derived Growth Factor-BB and Transforming Growth Factor Betal Selectively Modulate Glycosaminoglycans, Collagen, and Myofibroblasts in Excisional Wounds”, *Am J Pathol.*, 138(3):629-46 (1991).
- 113.Pierce, G. F., Tarpley, J. E., Yanagihara, D., Mustoe, T. A., Fox, G. M., Thomason, A., “Platelet-Derived Growth Factor (BB homodimer), Transforming Growth Factor-Beta 1, and Basic Fibroblast Growth Factor in Dermal Wound Healing , Neovessel and matrix formation and cessation of repair”, *Am J Pathol.*, 140:1375-88 (1992).

114. Doxey, D. L., Ng, M. C., Dill, R. E., Iacopino, A. M., "Platelet-Derived Growth Factor Levels in Wounds of Diabetic Rats", *Life Sci.*, 57(11):1111-23 (1995).
115. Cohen, M. A., Eaglstein, W. H., "Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor Gel Speeds Healing of Acute Full-Thickness Punch Biopsy Wounds", *J Am Acad Dermatol.*, 45(6):857-62 (2001).
116. Gilbertson, D. G., Duff, M. E., West, J. W., Kelly, J. D., Sheppard, P. O., Hofstrand, P. D., Gao, Z., Shoemaker, K., Bukowski, T. R., Moore, M., Feldhaus, A. L., Humes, J. M., Palmer, T. E., Hart, C. E., "Platelet-derived Growth Factor C (PDGF-C), a Novel Growth Factor That Binds to PDGF α and β Receptor", *J Biol Chem.*, 276(29):27406-14 (2001).
117. Breitbart, A. S., Laser, J., Parrett, B., Porti, D., Grant, R. T., Grande, D. A., Mason, J. M., "Accelerated Diabetic Wound Healing Using Cultured Dermal Fibroblasts Retrovirally Transduced With the Platelet-Derived Growth Factor B Gene", *Ann Plast Surg.*, 51(4):409-14 (2003).
118. Keswani, S. G., Katz, A. B., Lim, F. Y., Zoltick, P., Radu, A., Alaei, D., Herlyn, M., Crombleholme, T. M., "Adenoviral Mediated Gene Transfer of PDGF-B Enhances Wound Healing in Type I and Type II Diabetic Wounds", *Wound Repair Regen.*, 12(5):497-504 (2004).
119. Ackermann, M., Wolloscheck, T., Wellmann, A., Li, V. W., Li, W. W., Konerding, M. A., "Priming with a Combination of Proangiogenic Growth Factors Improves Wound Healing in Normoglycemic Mice", *Int J Mol Med.*, 27(5):647-53 (2011b).
120. Arul, V., Masilamoni, J. G., Jesudason, E. P., Jaji, P. J., Inayathullah, M., Dicky-John, D. G., Vignesh, S., Jayakumar, R., "Glucose Oxidase Incorporated Collagen Matrices for Dermal Wound Repair in Diabetic Rat Models: A Biochemical Study", *J. Biomater.*, 26: 917–938 (2012).
121. Valacchi, G., Zanardi, I., Sticozzi, C., Bocci, V., Travagli, V., "Emerging Topics in Cutaneous Wound Repair", *Ann N Y Acad Sci.*, 1259:136-44 (2012).
122. Valacchi, G., Fortino, V., Bocci, V., "The dual action of ozone on the skin", *Br J Dermatol.*, 153(6): 1096–100 (2005).
123. Widgerow, A. D., Kalaria, S., "Pain Mediators and Wound Healing- Establishing the Connection", *Burns.*, 38(7):951-9 (2012).
124. Obayashi, K., Akamatsu, H., Okano, Y., Matsunaga, K., Masaki, H., "Exogenous Nitric Oxide Enhances the Synthesis of Type I Collagen and Heat Shock Protein 47 by Normal Human Dermal Fibroblasts", *J Dermatol Sci.*, 41(2):121-6 (2006).

125. Buege, A., Aust, S. D., "Microsomal lipid peroxidation", **Methods in Enzymology**, 52: 302-310 (1978).
126. Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A., Öz, H., "The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats", **Toxicology**, 36(1): 71-76 (1985).
127. Miranda, K. M., Espey, M. G., Wink, D. A., "A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite", **Nitric oxide-Biol. Ch.**, 5(1): 62-71 (2001).
128. Berger, J., Shepard, D., Morrow, F., Taylor, A., "Relationship between dietary intake and tissue levels of reduced and total vitamin C in the nonscorbutic guinea pig", **J. Nutr.**, 119(5): 734-740 (1989).
129. Sun, Y., Oberley, L. W., Li, Y., "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase", **Clin. Chem.**, 34(3): 497-500 (1988).
130. Dröge, W., "Free radicals in the physiological control of cell function", **Physiol. Rev.**, 82(1): 47-95 (2002).
131. Judith, R., Nithya, M., Rose, C., Mandal, A. B., "Application of a PDGF-containing novel gel for cutaneous wound healing", **Life Sci.**, 87(1-2): 1-8 (2010).
132. Chen, K. C., Zhou, Y., Xing, K., Krysan, K., Lou, M. F., "Platelet derived growth factor (PDGF)-induced reactive oxygen species in the lens epithelial cells: the redox signaling", **Exp Eye Res.**, 78(6):1057-67 (2004).
133. Adachi, T., Togashi, H., Suzuki, A., Kasai, S., Ito, J., Sugahara, K., Kawata, S., "NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells", **Hepatology**, 41(6): 1272-1281 (2005).
134. Rasik, A. M., Shukla, A., "Antioxidant status in delayed healing type of wounds", **Int J Exp Pathol**, 81(4): 257-263 (2000).
135. Srivatsan, R., Das, S., Gadde, R., Manoj-Kumar, K., Taduri, S., Rao, N., Ramesh, B., Baharani, A., Shah, K., Kamireddy, S. C., Priyatham, G., Balakumaran, T. A., Balakumaran, S. S., Kamath, A., Rao, A., "Antioxidants and Lipid Peroxidation Status in Diabetic Patients with and without Complications", **Arch Iran Med.**, 12(2):121-7 (2009).
136. Arya, A. K., Pokharia, D., Tripathi, K., "Relationship between oxidative stress and apoptotic markers in lymphocytes of diabetic patients with chronic non healing wound", **Diabetes Research and Clinical Practice**, 94(3):377-84 (2011).

137. Aparecida Da Silva, A., Leal-Junior, E. C., Alves, A. C., Rambo, C. S., Dos Santos, S. A., Vieira, R. P., De Carvalho Pde, T., "Wound-healing effects of low-level laser therapy in diabetic rats involve the modulation of MMP-2 and MMP-9 and the redistribution of collagen types I and III", *J Cosmet Laser Ther.*, 15(4):210-6 (2013).
138. Menghini, R., Uccioli, L., Vainieri, E., Pecchioli, C., Casagrande, V., Stoeher, R., Cardellini, M., Porzio, O., Rizza, S., Federici, M., "Expression of tissue inhibitor of metalloprotease 3 is reduced in ischemic but not neuropathic ulcers from patients with type 2 diabetes mellitus", *Acta Diabetol.*, 50(6):907-10 (2013).
139. Yang, C., Zhu, P., Yan, L., Chen, L., Meng, R., Lao, G., "Dynamic changes in matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 levels during wound healing in diabetic rats", *J Am Podiatr Med Assoc.*, 99(6):489-96 (2009).
140. Lobmann, R., Zemlin, C., Motzkau, M., Reschke, K., Lehnert, H., "Expression of matrix metalloproteinases and growth factors in diabetic foot wounds treated with a protease absorbent dressing", *J Diabetes Complications.*, 20(5):329-35 (2006).
141. Lobmann, R., Ambrosch, A., Schultz, G., Waldmann, K., Schiweck, S., Lehnert, H., "Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients", *Diabetologia.*, 45(7):1011-6 (2002).
142. Baker, E. A., Kumar, S., Melling, A. C., Whetter, D., Leaper, D. J., "Temporal and quantitative profiles of growth factors and metalloproteinases in acute wound fluid after mastectomy", *Wound Repair Regen.*, 16(1):95-101 (2008).
143. Liu, Y., Min, D., Bolton, T., Nubé, V., Twigg, S. M., Yue, D. K., McLennan, S. V., "Increased Matrix Metalloproteinase-9 Predicts Poor Wound Healing in Diabetic Foot Ulcers", *Diabetes Care.*, 32(1):117-9 (2009).
144. Brandner, J. M., Zacheja, S., Houdek, P., Moll, I., Lobmann, R., "Expression of Matrix Metalloproteinases, Cytokines, and Connexins in Diabetic and Nondiabetic Human Keratinocytes Before and After Transplantation Into an Ex Vivo Wound-Healing Model", *Diabetes Care.*, 31(1):114-20 (2008).
145. Iantomasi, T., Favilli, F., Degl'Innocenti, D., Vincenzini, M. T., "Increased glutathione synthesis associated with platelet-derived growth factor stimulation of NIH3T3 fibroblasts", *Biochim. Biophys. Acta*, 1452(3): 303-312 (1999).
146. Scott-Burden, T., Schini, V. B., Elizondo, E., Junquero, D. C., Vanhoutte, P. M., "Platelet-Derived growth factor suppresses and fibroblast growth factor enhances cytokine-induced production of nitric oxide by cultured smooth muscle cells. Effects on cell proliferation", *Circ. Res.*, 71(5): 1088-1100 (1992).

147. Kunz, D., Walker, G., Eberhardt, W., Messmer, U. K., Huwiler, A., Pfeilschifter, J., "Platelet-derived growth factor and fibroblast growth factor differentially regulate interleukin 1 β - and cAMP-induced nitric oxide synthase expression in rat renal mesangial cells", *J. Clin. Invest.*, 100(11): 2800-2809 (1997).
148. Hwang, S. M., Chen, C. Y., Chen, S. S., Chen, J. C., "Chitinous materials inhibit nitric oxide production by activated RAW 264.7 macrophages", *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 271(1): 229-233 (2000).
149. Yu, Z., Zhao, L., Ke, H., "Potential role of nuclear factor-kappaB in the induction of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha by oligochitosan in macrophages", *Int. Immunopharmacol.*, 4(2): 193-200 (2004).
150. Pattani, A., Patravale, V. B., Panicker, L., Potdar, P. D., "Immunological Effects and Membrane Interactions of Chitosan Nanoparticles", *Mol. Pharmaceut.*, 6(2): 345-352 (2009).
151. Luo, J. D., Wang, Y. Y., Fu, W. L., Wu, J., Chen, A. F., "Gene Therapy of Endothelial Nitric Oxide Synthase and Manganese Superoxide Dismutase Restores Delayed Wound Healing in Type 1 Diabetic Mice", *Circulation.*, 109(16):2484-93 (2004).
152. Lee, Y. H., Chang, J. J., Chien, C. T., Yang, M. C., Chien, H. F., "Antioxidant Sol-Gel Improves Cutaneous Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats", *Exp Diabetes Res.*, 2012:1-11 (2012).
153. Konerding, M. A., Ziebart, T., Wolloscheck, T., Wellmann, A., Ackermann, M., "Impact of single-dose application of TGF- β , copper peptide, stanozolol and ascorbic acid in hydrogel on midline laparotomy wound healing in a diabetic mouse model", *Int J Mol Med.*, 30(2):271-6 (2012).
154. Sekeroğlu, M. R., Sahin, H., Dülger, H., Algün, E., "The Effect of Dietary Treatment on Erythrocyte Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, and Serum Lipid Peroxidation in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus", *Clin Biochem.*, 33(8):669-74 (2000).
155. Kimura, F., Hasegawa, G., Obayashi, H., Adachi, T., Hara, H., Ohta, M., Fukui, M., Kitagawa, Y., Park, H., Nakamura, N., Nakano, K., Yoshikawa, T., "Serum Extracellular Superoxide Dismutase in Patients With Type 2 Diabetes", *Diabetes Care.*, 26(4):1246-50 (2003).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÖKŞEN, Sibel
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 17.11.1987 Çorum
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (538) 821 01 10
 e-mail : goksensibel@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2010
Lise	Mimar Sinan Lisesi	2004

Yabancı Dil

İngilizce

Sözlü Sunum ve Bildiriler

Sibel GÖKŞEN “Tıbbi bitkilerdeki doğal antioksidanların önemi” Hitit Üniversitesi
 1. Öğrenci Kongresi, 19-20 Aralık 2009, Çorum (Sözlü Sunum)

Ferudun KOÇER, Adem İMALI, Selda GÖKŞEN, Sibel GÖKŞEN, Gamze KAPTAN “Ekolojik dengenin korunmasında mikorizanın önemi” 1. Ulusal Kuraklık ve Çölleşme Sempozyumu, 16-18 Haziran 2009, Konya, 707-14 syf. (Poster Bildirimi)

Emre AVCI, Gülçin ALP, Selda GÖKŞEN, Sibel GÖKŞEN, Şule ÇOŞKUN CEVHER “*Coprinus micaceus* (Bull. : FR.) FR.’un antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi” 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010, Denizli, 564 syf. (Poster Bildirimi)

Selda GÖKŞEN, Adem İMALI, Gamze KAPTAN, Sibel GÖKŞEN, Ferudun KOÇER “Restore Edilen ve Restore Edilmeyen Tarihi Çorum Konaklarının Mikrofungus Florası” 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010, Denizli, 971-2 syf. (Poster Bildirimi)

Emre AVCI, Gülçin ALP, Sibel GÖKŞEN, Selda GÖKŞEN, Şule COŞKUN CEVHER “*Morus alba* (Beyaz Dut) ve *Morus nigra* (Kara Dut)’nın Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi” 22. Ulusal Biyokimya Kongresi, 27-30 Ekim 2010, Eskişehir, 149 syf. (Poster Bildirimi)

Sibel GÖKŞEN, Kaan KALTALIOĞLU, Fatmanur TUĞCU DEMİRÖZ, Nevin ÇELEBİ, Şule COŞKUN CEVHER “Diyabetik Ratlarda Trombosit Kökenli Büyüme Faktörünün Yara Dokusu Antioksidan Parametrelerine Etkileri” 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, İzmir, 1000 syf. (Poster Bildirimi)

Kaan KALTALIOĞLU, Sibel GÖKŞEN, Fatmanur TUĞCU DEMİRÖZ, Nevin ÇELEBİ, Şule COŞKUN CEVHER “Trombosit Kökenli Büyüme Faktörünün Dermal Yara Dokusu Antioksidan Kapasitesi Üzerine Etkileri” 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, İzmir, 1011-1012 syf. (Poster Bildirimi)

Sibel GÖKŞEN, Kaan KALTALIOĞLU, Zeynep KALAY, Ebru UZUN, Şule COŞKUN CEVHER “Diyabetli Ratlarda Dorsolateral Eksizyonel Yaralara Uygulanan Trombosit Kökenli Büyüme Faktörünün Oksidatif Parametrelere Etkisi” 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Ankara, 105 syf (Poster Bildirimi)

Ebru UZUN, Kaan KALTALIOĞLU, Zeynep KALAY, Sibel GÖKŞEN, Şule COŞKUN CEVHER “Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü’nün Diyabetli Ratlarda Yara İyileşme Sırasındaki Oksidatif Olaylara Etkisinin İncelenmesi” 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Ankara, 93 syf (Poster Bildirimi)

Kaan KALTALIOĞLU, Zeynep KALAY, Ebru UZUN, Sibel GÖKŞEN, Şule COŞKUN CEVHER “birlikte uygulanan trombosit kökenli büyüme faktörü ve vasküler endotelyal büyüme faktörünün yara dokusu antioksidan kapasitesi üzerine etkileri” 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Ankara, 96 syf (Poster Bildirimi)

Kaan KALTALIOĞLU, Sibel GÖKŞEN, Zeynep KALAY, Ebru UZUN, Şule COŞKUN CEVHER “Dermal Yara İyileşmesi Esnasında Uygulanan Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü’nün Dokudaki Oksidatif Parametreler Üzerine Etkisi” 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Ankara, 97 syf (Poster Bildirimi)

Zeynep KALAY, Kaan KALTALIOĞLU, Sibel GÖKŞEN, Ebru UZUN, Şule COŞKUN CEVHER “Dorsolateral Eksizyonel Yara İyileşmesi Sürecinde Topikal Olarak Uygulanan Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörünün Normal ve Diyabetik Rat Serumlarındaki Bazı Oksidatif Stres Parametrelerine Zamana Bağlı Etkisi” 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Ankara, 109 syf (Poster Bildirimi)