TÜRKİYE CUMHİRİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA *ARONIA MELANOCARPA* EKSTRATININ PALATAL MUKOZADAKİ SEKONDER YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN KLİNİK, HİSTOMORFOMETRİK VE HİSTOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

ESRA TUNÇ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. HATİCE SELİN GÜNGÖRMEK
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

EŞ DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ SİBEL DEMİRCİ DELİPINAR

İSTANBUL-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Esra TUNÇ

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca emeğini benden esirgemeyen, hem akademik hem de klinik bilgi ve tecrübelerini özveri ve içtenlikle paylaşan, bana her zaman yol gösteren, destekleyip yüreklendiren sevgili danışman hocam Doç. Dr. Hatice Selin GÜNGÖRMEK' e

Engin bilgi ve tecrübesini her zaman büyük bir zevkle paylaşan ve ihtiyacım olduğumda her zaman tüm desteğiyle yanımda olan, mesleki gelişimime büyük katkı sağlayan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Leyla KURU'ya

Uzmanlık eğitimim boyunca teorik ve pratik her türlü konuda yol göstermekten çekinmeyen değerli hocalarım Prof.Dr. Başak DOĞAN, Doç. Dr. Ömer Birkan AĞRALI, Doç. Dr. Hafize ÖZTÜRK ÖZENER, Dr. Öğr. Üyesi Kemal Naci KÖSE ve Dr. Öğr. Üyesi Nimet Gül GÖRGÜLÜ'ye,

Çalışmamı gerçekleştirebilmemde büyük emeği olan, tezimin histoloji kısmını son derece titiz ve dikkatli bir şekilde tamamlamamı sağlayan çok değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Sibel DEMİRCİ DELIPINAR'a

Uzmanlık eğitimimi sıcak ve samimi bir ortamda keyifle geçirmemi sağlayan eski, yeni çalışma arkadaşlarıma ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım, eğitimim boyunca bana yardımcı olan Periodontoloji Anabilim Dalı personeline,

Uzmanlık eğitimim boyunca yanımda olan, birlikte gülüp ağladığım, samimi dostlukları ve sevgileriyle eğitim hayatımı güzelleştiren canım arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. Selva GÜNDOĞDU ve Dt. Selin BABALI'ya,

Lisans hayatımın bana en güzel hediyeleri, varlıklarıyla beni güçlendiren kendi seçtiğim kız kardeşlerim Dt. Aslı KIZILDAŞ, Dt. Esra TOPALOĞLU, Dt. İnci GÜNTUT, Dt. Hümeyra ÇAPKIN'a,

Liseden beri hayatımda olan her türlü zorluğu birlikte aştığım, canım dostum İpek BAYRAKTAR HARRIS'e,

Evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum, sonsuz sevgilerini kalbimin en derinlerinde hissettiğim, iyiliğim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, her anımda yanımda olan haklarını asla ödeyemeyeceğim canım ailem, güzeller güzeli canım annem Neslihan ÇAMLICA ve canım babam Hayrettin ÇAMLICA'ya, canımdan öte sevdiğim kardeşlerim Yunus ÇAMLICA, Serra ÇAMLICA ve Neslişah Hüma ÇAMLICA'ya,

Varlığıyla beni tamamlayan, hayatıma girdiği ilk günden beri sonsuz sevgi ve desteğini esirgemeyen, yükümü hafifleten, hayattaki en büyük şansım, biricik eşim Serhat TUNÇ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....

TEŞEKKÜR.....

KISALTMALAR LİSTESİ.....i

ŞEKİL LİSTESİ..... iii

TABLO LİSTESİ.....vi

1.ÖZET..... 1

2. SUMMARY..... 3

3. GİRİŞ VE AMAÇ..... 5

4. GENEL BİLGİLER.....8

4.1 Diş eti..... 8

4.1.1. Diş etinin anatomik bölümleri..... 8

4.1.1.1. Serbest diş eti..... 8

4.1.1.2. İnterdental diş eti.....8

4.1.1.3. Yapışık diş eti..... 9

4.1.2. Diş etinin mikroskobik yapısı.....9

4.1.2.1. Diş eti epiteli..... 9

4.1.2.2. Bağ doku..... 9

4.2. Yara İyileşmesi.....10

4.2.1. Hemostaz fazı..... 10

4.2.2. Enflamatuvar faz.....11

4.2.3. Proliferasyon fazı.....13

4.2.4. Yeniden şekillenme fazı..... 13

4.3. Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Mediyatörler.....14

4.3.1. TNF-α..... 14

4.3.2. IL-1β..... 15

4.3.3. Antioksidanlar..... 15

4.4. Yara İyileşmesi Tipleri.....16

4.4.1. Primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi.....17

4.4.2. Akut ve kronik yara..... 17

4.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....18

4.5.1. Lokal faktörler..... 18

4.5.2. Sistemik faktörler..... 18
4.5.2.1. Diabetes Mellitus..... 19
4.5.2.1.1. Diabetes mellitusun epidemiyolojisi..... 19
4.5.2.1.2. Diabetes mellitusun sınıflaması..... 19
4.5.2.1.2.1. Tip 1 diabetes mellitus..... 20
4.5.2.1.2.1. Tip 2 diabetes mellitus..... 20
4.5.2.1.3. Diabetes mellitusun komplikasyonları..... 21
4.5.2.1.4. Diabetes mellitus ve yara iyileşmesi..... 22
4.5.2.2. Beslenme..... 23
4.5.2.2.1. Proteinler, karbonhidratlar ve yağlar..... 23
4.5.2.2.2. Vitaminler..... 24
4.5.2.2.3. Eser element ve mineraller..... 24
4.6. Kronik Yara İyileşmesinde Kullanılan Bitkiler ve Bitkisel Ekstratlar..... 25
4.7. Aronia Melanocarpa..... 25
4.7.1. *Aronia Melanocarpa*'nın kimyasal içeriği..... 27
4.7.1.1. Proantosiyanidinler..... 28
4.7.1.2. Antosiyaninler..... 28
4.7.1.3. Flavonoidler..... 28
4.7.1.4. Fenolik asitler..... 28
4.7.1.5. Polisakkaritler..... 29
4.7.2. *Aronia Melanocarpa*'nın etkileri..... 29
4.7.2.1. Antioksidan etki..... 29
4.7.2.2. Antienflamatuvar etki..... 29
4.7.2.3. Antibakteriyel ve antiviral etki..... 30
4.7.2.4. Antimutajenik ve antikanser etki..... 30
4.7.2.5. Kardiyoprotektif..... 31
4.7.2.6. Hepatoprotektif etki..... 32
4.7.2.7. Gastroprotektif etki..... 32
4.7.2.8. Antidiyabetik etki..... 32
5. GEREÇ VE YÖNTEM..... 33
5.1. Örneklem Sayısının Hesaplanması..... 33
5.2. Deney Hayvanlarının Seçilmesi..... 33
5.3. Deney Hayvanlarının Bakımı..... 34
5.4. Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturulması..... 35
5.5. Damakta Cerrahi Yara Oluşturulması..... 36
5.6. Çalışma Grupları..... 38

5.7. Aronia melanocarpa ekstratının içeriği..... 39
5.8. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Elde Edilmesi..... 40
5.9. Klinik Değerlendirme.....40
5.10. Histomorfometrik Değerlendirme ve Histolojik Değerlendirme..... 40
5.10.1. Masson Trikrom boyama.....41
5.10.2. Hematoksilen-Eozin boyaması.....42
5.11. Biyokimyasal Değerlendirme.....43
5.11.1. Serum TAS seviyelerinin belirlenmesi.....43
5.11.2. Serum TOS seviyelerinin belirlenmesi.....45
5.11.3. Serum IL-1β seviyelerinin belirlenmesi..... 46
5.11.4. Serum TNF-α seviyelerinin belirlenmesi..... 47
5.12. İstatistiksel Analiz.....47
6. BULGULAR.....48
6.1. Klinik Bulgular.....48
6.1.1. Yara alanlarının karşılaştırılması.....48
6.2.2. Vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.....50
6.2. Histomorfometrik Bulgular.....51
6.3. Histolojik Bulgular.....54
6.4. Biyokimyasal Bulgular.....63
6.4.1. Kan glikoz seviyelerinin karşılaştırılması..... 63
6.4.2. TAS değerlendirilmesi.....64
6.4.3. TOS değerlendirilmesi.....65
6.4.4. TNF-α değerlendirilmesi..... 66
6.4.5. IL-1β değerlendirilmesi..... 67
7. TARTIŞMA VE SONUÇ..... 69
KAYNAKÇA.....90
ÖZGEÇMİŞ.....108
BİLİMSEL FAALİYETLER.....109
EKLER.....110

KISALTMALAR LİSTESİ

% : Yüzde

°C : Santigrat derece

α : Alfa

β : Beta

µl : Mikrolitre

µm : Mikrometre

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ATP : Adenozin trifosfat

DA : Diyabetik Aronia

DCCT : Diyabet Kontrol ve Komplikasyon Çalışması

dk : dakika

DK : Diyabetik kontrol

DM : Diabetes Mellitus

DPPH : 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

DS : Diyabetik salin

DSÖ : Dünya sağlık örgütü

EPH : Endotelyal progenitör hücre

FBF : Fibroblast büyüme faktörü

gr : gram

GSH : Glutatyon

Ig : İmmnoglobülin

IL : İnterlökin

İGSÜ : İleri glikasyon son ürünleri

KGİP : Kalsitonin geniyle ilişkili peptit

LDH : Laktat dehidrogenaz

max : Maksimum

MDA : Malondialdehit

mg : miligram

min : Minimum

mL : Mililitre

mm^2 : milimetrekare

MMP : Matriks metalloproteinaz

NA : Nikotinamid

NO : Nitrit oksit

NPY : Nöropeptit Y

O_2 : Oksijen

RNT : Reaktif nitrojen türleri

ROT : Reaktif oksijen türleri

SA : Sağlıklı Aronia

SK : Sağlıklı kontrol

SOD : Süperoksit dismutaz

SS : Sağlıklı salin

STZ : Streptozotosin

TBF-β : Transforme edici büyüme faktörü beta

TKBF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

TNF-α : Tümör nekroz faktör alfa

UDF : Uluslararası Diyabet Federasyonu

VEBF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Diş etinin anatomik bölümleri.....8
Şekil 2. Yara iyileşmesi tipleri.....17
Şekil 3. (A-D) Yara iyileşme kaskatı şeması ve (E) kronik yara. (A) Yaralanmamış dokuda yassı çok katlı epitel (Ep) ve damar, ekstraselüler matriks ve damarları içeren dermis (De) gösterilmektedir. (B) Yaralanma sonrası ilk yanıt: Hemostaz ve koagülasyon. (C) Enflamasyon devam eder ve yeni ekstrasellüler matriks birikimi ile reepitelizasyon başlar. (D) Enflamasyon azalır, reepitelizasyon tamamlanır. Ekstraselüler matriks ve dokunun yeniden şekillenmesi gerçekleşir. (E) Enflamatuvar yanıt ile rejeneratif süreçler arasındaki dengesizlik sonucu kronik yara oluşumu.....18
Şekil 4. (a) *Aronia arbutifolia*, (b) *Aronia prunifolia* ve (c) *Aronia melanocarpa*..... 26
Şekil 5. Aronia Melanocarpa kullanım alanları.....27
Şekil 6. Aronia melanocarpa aktif bileşenleri.....27
Şekil 7. Wistar Albino sıçan.....33
Şekil 8. Deney akış şeması..... 34
Şekil 9. Standart sıçan kafesi.....35
Şekil 10. Sıçanlarda deneysel olarak diyabet oluşturulmasında kullanılan (a) streptozotosin, (b) nikotinamid, (c) glikoz solüsyonu, (d) glikoz ölçümünde kullanılan kan glikoz ölçüm cihazı36
Şekil 11. Sıçanlara anestezi için uygulanan (a) Ketamin-HCL ve (b) Ksilazin HCL..... 36
Şekil 12. (a) Sıçanların klavikulanın altındaki juguler venden 1 cc'lik enjektör ile kan örneklerinin alınması, (b) alınan kan örneklerinin 3000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilmesi..... 37
Şekil 13. (a) Tek kullanımlık punch biyopsi aleti, (b) sıçanların ağzı içerisinde ekartör kullanarak palatinal bölgede 4 mm çapında yara oluşturulması, (c) postoperatif analjezi için uygulanan Diclofenac sodium..... 37
Şekil 14. (a) *Aronia Melanocarpa,* (b) salin ve (c) oragastrik gavaj uygulaması..... 39
Şekil 15. Kamera ataçmanlı ışık mikroskopu.....41
Şekil 16. ELISA kitleri sırasıyla; Rat TAS ELISA Kit, Rat TOS ELISA Kit, Rat IL-1β ELISA Kit, Rat TNF-α ELISA KIT.....43
Şekil 17. TAS için standart dilüsyon işlemi..... 44
Şekil 18. Biyokimyasal analizlerde kullanılan cihazlar; (a) İnkübasyon için kullanılan etüv cihazı ve (b) otomatik yıkama cihazı.....44
Şekil 19. Durdurma solüsyonu eklenirken renk değişimi.....45
Şekil 20. ELISA okuyucu.....46

Şekil 21. Postoperatif 0. gün (a) Sağlıklı Kontrol grubu, (b) Diyabetik Kontrol grubu; 7. gün (c) Sağlıklı Salin grubu, (d) Sağlıklı Aronia grubu, (e) Diyabetik Salin grubu ve (f) Diyabetik Aronia grubu; 14. gün (g) Sağlıklı Salin grubu, (h) Sağlıklı Aronia grubu, (i) Diyabetik Salin grubu ve (j) Diyabetik Aronia grubuna ait temsili birer sıçanın palatinal yara alanlarının klinik görüntüleri.....48
Şekil 22. Postoperatif 0. gün (a) Sağlıklı Kontrol grubu, (b) Diyabetik Kontrol grubu; 7. gün (c) Sağlıklı Salin grubu, (d) Sağlıklı Aronia grubu, (e) Diyabetik Salin grubu ve (f) Diyabetik Aronia grubu; 14. gün (g) Sağlıklı Salin grubu, (h) Sağlıklı Aronia grubu, (i) Diyabetik Salin grubu ve (j) Diyabetik Aronia grubuna ait temsili birer sıçanın epitelyal kenarlar arasındaki mesafeyi gösteren histolojik görüntüleri (x2 büyütme).....52
Şekil 23. 0. gün sağlıklı kontrol grubuna ait (a) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, diyabetik kontrol grubuna ait (e) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde kolajen fibriller (*****) ve (f) image J programındaki görüntüde kolajen yoğunlukları (kırmızı alanlar) gösterilmiştir, sağlıklı kontrol grubuna ait (c) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde ve diyabetik kontrol grubuna ait (g) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah yuvarlak) ve (h) image J programındaki görüntüde vaskülarizasyon yoğunlukları (siyah alanlar) gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).....54
Şekil 24. 7. gün SS grubuna ait (a) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde kolajen fibriller (*) ve (h) image J programındaki görüntüde kolajen yoğunlukları (kırmızı alanlar) gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).....56
Şekil 25. 7. gün SS grubuna ait (a) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah yuvarlak) ve (h) image J programındaki görüntüde vaskülarizasyon yoğunlukları gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).....57
Şekil 26. 21. gün SS grubuna ait (a) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Massom trikrom ile boyanmış

kesitlerde kolajen fibriller (*) ve (h) image J programındaki görüntüde kolajen yoğunlukları (kırmızı alanlar) gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g)..... 60
Şekil 27. 21. gün SS grubuna ait (a) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah yuvarlak) ve (h) image J programındaki görüntüde vaskülarizasyon yoğunlukları gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g)..... 61
Şekil 28. Serum Total Antioksidan Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05..... 64
Şekil 29. Serum Total Antioksidan Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05.....65
Şekil 30. Serum Total Oksidan Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05..... 65
Şekil 31. Serum Total Oksidan Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05.....66
Şekil 32. Tümör Nekroz Faktörü alfa Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05.....67
Şekil 33. Tümör Nekroz Faktörü alfa Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05....67
Şekil 34. İnterlökin 1 beta Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05..... 68
Şekil 35. İnterlökin 1 beta Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05.....68

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Yara iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler.....19
Tablo 2. Diabetes mellitus'un komplikasyonları 21
Tablo 3. Diabetes mellitus'da bozulmuş yara iyileşme fazları 23
Tablo 4. Aronia melanocarpa'nın ana polifenol bileşenleri 28
Tablo 5. Çalışma grupları.....39
Tablo 6. Yara alanının (mm^2) grup içi ve gruplar arası karşılaştırması 49
Tablo 7. Grupların vücut ağırlıklarının (gr) grup içi ve gruplar arası karşılaştırması.....51
Tablo 8. Epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin (µm) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması 53
Tablo 9. Kolajen yoğunluğu, enflamasyon ve vaskülarizasyon yoğunluğunun grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması.....62
Tablo 10. Diyabetik grubun kan glikoz seviyeleri (mg/dL) grup içi ve gruplar arası karşılaştırması 63

1.ÖZET

Tezin Başlığı: Sıçanlarda *Aronia melanocarpa* ekstratının palatal mukozadaki sekonder yara iyileşmesi üzerine etkisinin klinik, histomorfometrik ve histolojik olarak değerlendirilmesi
Öğrencinin Adı Soyadı: Esra TUNÇ
Danışmanın Adı Soyadı: Doç. Dr. Hatice Selin GÜNGÖRMEK
Programın Adı: Periodontoloji Uzmanlık Programı

Amaç : Çalışmamızda, sağlıklı ve deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, *Aronia melanocarpa* bitkisel ekstratının gavaj yoluyla uygulamasının palatinal bölgede sekonder yara iyileşmesi üzerine etkilerinin klinik, histomorfometrik, histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı.
Gereç ve Yöntem : Çalışmamızda kullanılan 50 adet erkek Wistar albino sıçan, sağlıklı ve diyabetik olarak 2 ana gruba ayrıldı. 25 sıçanda intraperitoneal olarak 110 mg/kg nikotinamid (NA) uygulamasından 15 dk sonra 65 mg/kg streptozotosin (STZ) uygulanarak diyabet oluşturuldu. Sıçanların palatinal bölgelerinin ortasında 4 mm çapında mukoperiostal defekt meydana getirildi ve her iki gruptan 5 sıçan sakrifiye edildi. Ardından sağlıklı ve diyabetik gruplar uygulanan ajana göre aronia ve salin olarak 2 alt gruba ayrıldı. Defektler oluşturulduktan 0, 7 ve 21 gün sonra kan alınarak sıçanlar sakrifiye edildi, diyabetik sıçanlar sakrifiye edilmeden önce kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Yara bölgesinin fotoğrafları çekildi. Bu fotoğraflarda yara alanları Image-J bilgisayar programı kullanılarak ölçüldü. Örneklere rutin histolojik doku takibi uygulandıktan sonra epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin histomorfometrik olarak ölçülebilmesi ve kolajen yoğunluğunun değerlendirilmesi için Massom trikrom boyaması uygulandı. Vaskülarizasyon ile enflamatuvar hücre infiltrasyonunun değerlendirilmesi için Hematoksilen-eozin boyaması yapıldı. Ardından boyanan örneklerin tamamına histolojik değerlendirmeler yapıldı. Alınan serum örneklerinde Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviyeleri (TOS), Tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) ve İnterlökin 1 beta (IL-1β) seviyeleri ELİSA yöntemi ile tespit edildi.
Bulgular : SA ve DA gruplarının yara alanı 7. ve 21. günlerde DS grubundan daha küçük olduğu ve epitelyal kenarlar arasındaki mesafelerinin daha kısa olduğu görüldü ($p<0,05$). Tüm grupların 0, 7 ve 21. günlerde vücut ağırlıklarının benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$). DS grubunun kolajen yoğunluğu 21. günde DA ve SA gruplarından; SS grubunun ise SA grubundan daha düşük olduğu saptandı ($p<0,05$). 7. günde DS grubunun enflamatuvar hücre yoğunluğunun SA ve DA gruplarından; SS grubu ise SA grubundan daha fazla olduğu; 21.

günde ise DS grubunun, SA ve DA gruplarından daha yüksek; SA grubunun ise DA ve DS gruplarından daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). SA grubunun vaskülarizasyon yoğunluğu 7. ve 21. günlerde SS ve DS grubundan; DA grubunun ise DS grubundan daha yüksek bulundu ($p<0,05$). DA grubunun 21. gün kan glikoz seviyesinin DS grubuna kıyasla daha düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Yedinci ve 21. günlerde SA ve DA gruplarının serum TAS'larının SS ve DS gruplarından yüksek olduğu görülürken; SS ve DS gruplarının serum TOS'larının SA ve DA gruplarından yüksek olduğu saptandı. ($p<0,05$). Yedinci günde SS ve DS gruplarının serum TNF-α ve IL-1β değerlerinin SA ve DA gruplarından yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).

Sonuç : Sağlıklı ve diyabetik sıçanların palatinal bölgelerinde oluşturulan sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda *Aronia melanocarpa*'nın besin takviyesi olarak uygulanmasının antihiperglisemik, antienflamatuvar ve antioksidatif özellikleri ile diyabetik sıçanlarda kan glikozu seviyesini düşürdüğü, sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi ve enflamasyonu azalttığı, epitelizasyonu hızlandırdığı vaskülarizasyon ve kolajen oluşumunu arttırdığı görüldü.

Anahtar Kelimeler : *Aronia melanocarpa*, antioksidan, diabetes mellitus, sıçan, yara iyileşmesi

2. SUMMARY

Title of the thesis : Clinical, Histomorphometric, and Histological Evaluation of the Effect of *Aronia melanocarpa* Extract on Secondary Wound Healing in Palatal Mucosa in Rats
Student Name, Surname : Esra Tunç
Supervisor Name : Assoc. Prof. Hatice Selin Güngörmek
Program Name : Periodontology

Objective : The aim of this study was to investigate the clinical, histomorphometric, histologic and biochemical effects of administering *Aronia melanocarpa* herbal extract by gavage on secondary wound healing in the palatinal region in healthy and experimentally induced diabetic rats.

Materials and Methods : 50 Wistar albino male rats were divided into healthy (H) and diabetic (D) groups. Diabetes was induced to 25 rats by intraperitoneal administration of 65 mg/kg streptozotocin, 15 min after 110 mg/kg nicotinamide administration. Excisional wounds, 4 mm diameter, were made in the centre of the palate. After wound induction, 6 animals from each group were sacrificed. Then, the healthy and diabetic groups were subdivided into aronia and saline groups. The rats were sacrificed 0, 7 and 21 days after the defects were created and blood glucose levels were measured before sacrificing the diabetic rats. Photographs of the wound area were taken. In these photographs, wound areas were measured using Image-J computer programme. After routine histological tissue follow-up, Massom trichrome staining was performed on the sections taken for histomorphometric measurement of the distance between epithelial margins and evaluation of collagen density. In addition, Hematoxylin-eosin staining was applied to evaluate vascularisation and inflammatory cell infiltration. Histological evaluations were then performed on all of the stained specimens. Total Antioxidant Levels (TAL), Total Oxidant Levels (TOL), Tumor Necros Faktör alfa (TNF-α) and İnterleukin 1 beta (IL-1β) in serum samples were determined by ELISA method.

Results : HA and DA groups had smaller wound areas and shorter distances between epithelial edges than DS group on days 7 and 21 ($p<0.05$). Body weights of all groups were similar on days 0, 7 and 21 ($p>0.05$). Collagen density of DS group was lower than DA and HA groups and HS group was lower than SA group at day 21 ($p<0.05$). On day 7, the inflammatory cell density of the DS group was higher than that of the HA and DA groups and the HS group was higher than that of the HA group; on day 21, the DS group was higher than that of the HA and DA groups and the HA group was lower than that of the DA and DS groups ($p<0.05$). The vascularization density of the HA group was higher than that of the HS and DS groups on days

7 and 21, and that of the DA group was higher than that of the DS group ($p<0.05$). The blood glucose level of the DA group on day 21 was lower than that of the DS group ($p<0.05$). On the seventh and 21st days, serum TAS of HA and DA groups were higher than HS and DS groups, while serum TOS of HS and DS groups were higher than HA and DA groups ($p<0.05$). On the seventh day, serum TNF-α and IL-1β values of HS and DS groups were higher than HA and DA groups ($p<0.05$).

Conclusion: It can be concluded that the administration of *Aronia melanocarpa* as a dietary supplement the secondary healing of wounds created in the palatal regions of healthy and diabetic rats demonstrated antihyperglycemic, antiinflammatory, and antioxidant properties, reducing blood glucose levels in diabetic rats, decreasing oxidative stress and inflammation, accelerating epithelialization, and increasing vascularization and collagen formation in both healthy and diabetic rats.

Key Words : *Aronia melanocarpa*, antioxidant, diabetes mellitus, rat, wound healing

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara, fiziksel, kimyasal, termal, mikrobiyal veya immünolojik hasar sonucu dokunun hücresel, anatomik ve fonksiyonel epitel bütünlüğünün bozulması takiben epitelin altındaki normal dokunun yapı ve fonksiyonunun bozulmasıdır (Thakur ve ark. , 2011). Yara iyileşmesinde, temel yanıt bağ dokusu onarımıdır ve yara iyileşmesi farklı hücrelerin, büyüme faktörlerin ve sitokinlerin koordinasyonunun gerektirdiği birbiriyle iç içe geçen hemostaz, enflamatuvar, proliferasyon ve yeniden şekillenme olmak üzere 4 fazdan oluşur. Hemostaz fazı, yaralanmadan hemen sonra başlayan ve birkaç saat sonra tamamlanan, kanamayı durduran, yara iyileşmesinin ilk basamağıdır. Enflamatuvar faz, hemostaz fazını takiben, doku hasarını önlemek ve patojenik mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için yara bölgesine nötrofil, makrofaj ve lenfositlerin göç etmesiyle karakterize, doku onarımı ve fonksiyonun tekrar kazanılmasını sağlayan fazdır. Proliferasyon fazında, anjiyogenezis, granülasyon dokusunun oluşumu, yara kontraksiyonu ve reepitelizasyon gerçekleşir. Yeniden şekillenme fazı, yara iyileşmesinin son ve en uzun süre devam eden fazıdır, tamamlanması aylarca sürebilir. Bu süreçte kolajenin yeniden yapılanması, düzenlenmesi ve kolajen demetleri arasında bağlantının yeniden kurulması gerçekleşir. Granülasyon dokusunun oluşumuyla birlikte başlayan matriks sentezi zaman içinde değişikliğe uğrar ve geçici matriksin yerini kolajenden yapılmış daha güçlü ve organize matriks alır (Chhabra ve ark. , 2017).

Yara iyileşmesi onarım türüne göre primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üçe, iyileşme zamanına göre akut ve kronik yaralar olmak üzere ikiye ayrılır. Primer yara iyileşmesi, yara kenarlarının birbirine yaklaştırıldığı, dikiş materyalleri ile kapatıldığı, temiz, enfekte olmayan cerrahi kesinin en az skar dokusuyla komplikasyonsuz olarak iyileşmesidir. Sekonder yara iyileşmesi, doku kaybının fazla olduğu, yara kenarlarının bir araya getirilemediği durumlarda yaranın dikişsiz bir şekilde iyileşmeye bırakılmasıdır. Sekonder iyileşmeyi primer iyileşmeden ayıran en önemli fark proliferasyon fazının daha uzun sürmesi ve daha fazla granülasyon dokusunun oluşmasıdır. Tersiyer yara iyileşmesi yaranın 4-5 gün açık bırakıldıktan sonra primer iyileşmesi için kapatıldığı iyileşme türüdür. Ameliyat, yanık veya travma sonrası doku onarımı ve rejenerasyonu ile optimal hemostatik ve enflamatuvar fazlar ile yaklaşık 30 günlük bir zaman dilimi içinde normal şekilde iyileşen yaralara akut yara denir. Bu fazların bozulması, altta yatan patolojiler ve özellikle enfeksiyon nedeniyle normal bir zaman dilimi içinde iyileşmeyen yaralara ise kronik yara denir (Velnar ve ark. , 2009).

Diabetes mellitus (DM), pankreastan yeterli insülin salgılanamadığında veya salgılanan insüline cevap yetersiz kaldığında ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik bir hastalıktır

(American Diabetes Association, 2014). Diyabetik yara iyileşme sürecinden sorumlu ana faktör hiperglisemidir. Hücre metabolizması ve enerji üretimi için gerekli olan oksijen DM'de mikro ve makravasküler hastalıklar nedeniyle azalır. Hipoksi, hipoksi nedeniyle artan ROT ve zayıf doku perfüzyonu yara iyileşme sürecini bozar. Kronik hipergliseminin neden olduğu enflamasyon oksidatif stresi daha da arttırır ve yara iyileşmesi uzar. DM'de morbidite ve mortalitesindeki artış, hem makro hem de mikrovasküler komplikasyonların gelişmesinin yanı sıra yara iyileşme sürecinin başarısızlığından kaynaklanmaktadır (Blakytny ve Jude, 2006).

Düşük seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROT), hücre göçünü ve anjiyogenezi uyararak normal yara iyileşmesine destek olur, ancak aşırı ROT, özellikle kronik yaralarda yara iyileşmesini engelleyebilir. Kronik yaralarda, sürekli bir enflamatuvar yanıt vardır, bu yanıt hücrelerin antioksidan kapasitesini aşan fazla miktarda ROT birikimine yol açar ve yaranın enflamatuvar fazdan proliferatif faza geçişini engeller. Yara bölgesindeki enflamasyon kısır bir döngüye girer ve kronik yara olarak iyileşir. Bu nedenle, hücrelerde redoks dengesinin korunması, yani etkili bir şekilde antioksidan elde edilmesi, anormal hücre büyümesini ve düzensiz immün yanıtı önleyebilir (Xu ve ark. , 2020).

Antioksidanlar, ROT gibi diğer moleküllere elektronlarını verebilen kimyasal bileşiklerdir; böylece ROT'ların proteinler veya DNA gibi diğer önemli biyolojik moleküllerden elektron almalarını önler. Etki mekanizmasına bağlı olarak, iki tür antioksidan bileşik vardır: enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar (Koo ve ark. , 2019). Enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz bulunur. Enzimatik olmayan antioksidanların pek çoğu günlük besinlerimizde yaygın olarak bulunur. Bunlar; bazı vitaminler, flavonoidler, polifenoller ve diğer bileşikleri kapsamaktadır . Aktif bileşenleri, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla ortaya konan bitkiler ve bitkisel ekstratlar koagülasyon, enflamasyon, fibroplazi, epitelizasyon, kolajenasyon ve yara kontraksiyonu dahil olmak üzere yara iyileşme süreçlerinin çeşitli aşamalarına etki eder (Maver ve ark. , 2015; Nagori ve Solanki, 2011).

Aronia melanocarpa proantosiyanidinler, antosiyaninler, kuersetin ve fenolik asitler gibi polifenollerin yanı sıra düşük miktarlarda pektin ve yağ ile vitamin ve mineraller içerir. *Aronia melanocarpa* içeriğindeki polifenoller gibi yararlı bileşenlerle DM, kardiyovasküler hastalık, hiperkolesterolemi, hiperlipidemi ve hipertansiyon tedavisinde etkili olduğu ortaya konmuştur (Zhang ve ark. , 2021). *Aronia melanocarpa*, ROT oluşumunu baskılayarak, prooksidan enzimleri inhibe ve antioksidan enzimleri regüle ederek antioksidan etki, TNF-α ve IL-1β gibi proenflamatuvar sitokin seviyelerini azaltarak antienflamatuvar etki gösterir (Denev ve ark. , 2012; Kim ve ark. , 2024; Kong ve ark. , 2021).

Bilgimiz dahilinde sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda *Aronia melanocarpa*'nın sekonder yara iyileşmesi üzerine etkisini klinik, histomorfometrik, histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bilgiler ışığında; "Sağlıklı ve diyabetik sıçanlara sistemik olarak uygulanan *Aronia melanocarpa* ekstratı, palatinal bölgede cerrahi işlem sonrası sekonder yara iyileşmesini hızlandırır." hipotezinden yola çıkılarak; sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda, *Aronia melanocarpa* ekstratının oral yolla uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin klinik, histomorfometrik, histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 Diş eti

Oral mukoza; diş eti ve sert damağı kaplayan çiğneyici mukoza, dil dorsumunu örten özelleşmiş mukoza ve oral kavitenin yanak, dudak iç kısmı, dil alt bölgesi ve yumuşak damak gibi diğer kısımlarını kaplayan oral mükoz membran olmak üzere üç kısımdan oluşur (Mattos ve Santana, 2008).

Diş eti, alveol kemiğini ve dişlerin servikal bölgesini çevreleyen, alveoler kemiği örten çiğneme mukozasının bir parçası olan bağ dokusu kökenli yapıdır. Sağlıklı bir diş eti uçuk pembe renkli, sıkı kıvamlı ve *scallop* şeklindedir. Diş etinin başlıca görevi, mekanik, termal ve kimyasal travmalara, mikroorganizmalar ve mikroorganizmaların zararlı ajanlarına karşı dişleri ve çevresindeki dokuları korumak ve bu yapıların devamlılığını sağlamaktır (Newman ve ark. , 2006).

4.1.1. Diş etinin anatomik bölümleri

Diş eti anatomik olarak; serbest diş eti, interdental diş eti ve yapışık diş eti olmak üzere 3 kısımdan oluşur (Newman ve ark. , 2006).

Şekil 1. Diş etinin anatomik bölümleri

4.1.1.1. Serbest diş eti

Marjinal diş eti olarak da bilinen serbest diş eti, dişleri yaka benzeri bir şekilde çevreleyen diş etinin terminal kısmıdır. Serbest diş eti oluğu, vakaların yaklaşık %50'sinde yapışık diş etinden ayrılır. Serbest diş eti genellikle yaklaşık 1 mm genişliğindedir ve diş eti oluğunun yumuşak doku duvarını oluşturur. Apikokoronal ve meziodistal boyutları 0,06 ile 0,96 mm arasında değişmekte olup periodontal sond ile diş yüzeyinden ayrılabilir (Ainamo ve Löe, 1966; Mattos ve Santana, 2008).

4.1.1.2. İnterdental diş eti

İnterdental diş eti, dişlerin kontakt alanlarının altındaki interproksimal boşluğu kaplar ve piramit veya fasial ve lingual papili birleştiren *col* adı verilen çöküntü şeklinde olabilir. Belirli bir interdental boşlukta diş etinin şekli, bitişik dişler arasında bir temas noktasının varlığına veya yokluğuna, temas noktası ile kemik kreti arasındaki mesafeye ve bir dereceye kadar

çekilmenin varlığına veya yokluğuna bağlıdır. Diastema mevcutsa, diş eti, interdental papil içermeyen pürüzsüz, yuvarlak bir yüzey oluşturmak için interdental kemiğin üzerine sıkıca bağlanır (Tarnow ve ark. , 1992).

4.1.1.3. Yapışık diş eti

Yapışık diş eti serbest diş etinin devamı olup alveolar mukozaya kadar uzanır; mukogingival birleşim tarafından sınırlandırılır ve alveol kemiğinin altındaki periosta sıkıca bağlanır (Ainamo ve Talari, 1976).

Keratinize diş eti hem serbest hem yapışık diş etini içermektedir. Diş çevresinde geniş bir şerit şeklinde keratinize diş eti ve yapışık mukozanın varlığı çiğneme esnasında oluşacak olan fiziksel travma ve kimyasal, termal etkilere karşı periodonsiyumu korur ve alveolar mukoza etrafındaki kuvvetli kas dokularının sebep olduğu diş eti çekilmesini elimine eder (Newman ve ark. , 2006).

4.1.2. Diş etinin mikroskobik yapısı

Diş eti histolojik olarak üstte çok katlı yassı epitel ve altta kemiğe sıkıca bağlanan bağ dokusu olmak üzere iki bölümden oluşur (Tarnow ve ark. , 1992).

4.1.2.1. Diş eti epiteli

Diş eti epiteli, oral epitel, sulkular epitel ve bağlantı epiteli olmak üzere 3'e ayrılır (Fiorellini ve ark. , 2019). Oral epitel diş etinin ağız içine bakan kısmında yer alırken, sulkular epitel diş etinin diş yüzeyine bakan tarafında bulunur. Bağlantı epiteli ise diş ile diş etinin birbirine bağlandığı kısımda yer almaktadır (Ainamo ve Löe, 1966).

Diş eti epitelinin temel hücreleri keratinositlerdir. Keratinositlerin ürettikleri keratohiyalin lifler sitoplazmalarında birikerek diş etine mekanik destek sağlar. Bazal katmandan çoğalan bu hücreler üst tabakalara doğru ilerleyerek daha fazla keratohiyalin granülleri üretmeye başlar. En üst tabakada tüm hücresel özelliklerini kaybeder ve tümüyle keratinize olurlar. İşlevlerini tamamlamış bu hücreler daha sonra ağız boşluğuna atılırlar. Keratinositlerde birlikte diş eti epitelinde Langerhans ve Merkel hücreleri, enflamatuvar hücreler ve melanositler bulunmaktadır. Epitel, alttaki bağ dokusuna bazal lamina ile birleşir. Bazal lamina, lamina lucida ve lamina densa olmak üzere iki kısımdan oluşur. Bazal lamina ile epitel hücrelerinin hemidesmozomları, laminin glikoproteinlerinden zengin olan lamina lucida bölümünde temas ederler. Lamina densa ise bazal laminanın bağ dokuya komşu kısmında bulunur ve tip IV kolajen açısından zengindir (Boyde ve ark. , 1989).

4.1.2.2. Bağ doku

Diş eti bağ dokusunun ana bileşenlerini %60 kolajen lifler, %5 fibroblastlar, damarlar, sinirler ve %35 hücrelerarası matriks oluşturur. Lamina propria olarak bilinen diş eti bağ dokusu, epitel rete pegleri arasındaki papiller çıkıntılardan oluşan epitelin altındaki papiller tabaka ve alveol

kemiğinin periostuna bağlanan retiküler tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Bağ dokusunun esas hücresi fibroblastlardır. Fibroblastlar, bağ dokusunun ana maddesi olan ve yara iyileşmesinde görev alan kolajeni, fibrilleri ve hücrelerarası matriksi sentezler. Bağ dokusunda fibroblastlardan sonra en fazla bulunan hücre doğal immünite hücrelerinden biri olan makrofajlardır. Fibroblastlara ve makrofajlara ek olarak bağ dokusu hücresel elemanları arasında mast hücreleri, histiyositler, makrofajlar, adipoz doku, plazma hücreleri, lenfositler ve nötrofiller bulunmaktadır (Löe ve Karring, 1969).

Bağ dokusunda, kolajen, elastik ve retiküler olmak üzere üç farklı lif tipi bulunmaktadır. Lamina proprianın büyük bir kısmını Tip I kolajen oluşturur ve diş eti dokusuna gerilim kuvvetlerine karşı direnci sağlar. Tip IV kolajen ise, tip I kolajen liflerinin arasında dallanır ve bazal membran ile kan damarlarının duvarları arasında sürekli olarak bulunur. Elastik fibriller, enine bantlaşma göstermeyen ince fibril demetlerinden meydana gelmiştir, oksitalan, elaunin ve elastin fibrillerinden oluşur. Elastik fibriller % 100-140 oranında uzayarak dokuların fonksiyon görebilmesi için gerekli elastikiyeti sağlar. Retiküler fibriller; bağ dokusunda ince ipliksi ağlar oluşturur. Epitel ve bağ dokusu arasındaki bazal membranda ve bağ dokusu ile diğer dokuların birleştikleri kısımlarda bulunur (Boyde ve ark. , 1989).

4.2. Yara İyileşmesi

Yara; canlı dokularda fiziksel, kimyasal veya cerrahi nedenlere bağlı olarak normal anatomik yapının ve fonksiyonel devamlılığın bozulmasıdır (Chhabra ve ark. , 2017). Yara iyileşmesi, doku hasarına yanıt olarak gelişen, bozulan doku bütünlüğünün ve fonksiyonel devamlılığın geri kazanılması için oluşan karmaşık, biyokimyasal ve hücresel olaylar dizisidir. Optimal yara iyileşme süreci sırasıyla; hemostaz, enflamasyon, mezenkimal hücre farklılaşması, çoğalması ve yara bölgesine göçü, anjiyogenez, reepitelizasyon ve iyileşen dokuya güç sağlamak için kolajen sentezi, çapraz bağlanması ve hizalanması şeklinde olmaktadır. Yara iyileşmesi birbirinden ayrı olsa da iç içe geçen dört fazdan oluşmaktadır: hemostaz fazı, enflamatuvar fazı, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazı (Gosain ve DiPietro, 2004). Bu aşamalar ve biyofizyolojik fonksiyonlar uygun sırayla, belirli bir zamanda gerçekleşmeli ve belirli bir süre boyunca optimum yoğunlukta devam etmelidir.

4.2.1. Hemostaz fazı

Yara iyileşmesinin ilk aşaması olan ve damar hasarından sonra kanamayı durduran hemostaz fazıdır. Bu fazın temel amacı kanamayı durdurmaktır. Sekonder amaç ise uzun vadede, iyileşmenin sonraki aşamalarında devreye giren hücreler için bir matriks sağlamaktır. Üç evrede gerçekleşir: vazokonstriksiyon, primer hemostaz ve sekonder hemostaz. Bu fazdaki temel hücre trombosit; temel matriks bileşeni ise fibrinojendir. Devamlılığı bozulmuş dokuda, trombositler aktive olur, damar duvarına bağlanır ve trombosit agregasyonu olur. Fibrinojen

(faktör 1) hepatositler tarafından üretilir ve kanda dolaşır. Trombositlerin içinde de bulunan fibrinojen, kan pıhtısının temel bir bileşeni olan fibrin liflerine dönüşmez (Velnar ve ark. , 2009).

Dokuda yaralanma meydana geldiğinde, kanamayı durdurmak için verilen ilk yanıt damar duvarlarının refleks vazokonstriksiyonudur. Refleks vazokonstriksiyon kanama miktarını geçici olarak azaltabilir, hatta durdurabilir. Ancak vasküler düz kas tonusu, yara duvarındaki hipoksi ve asidoz pasif gevşemeye neden olana ve kanama yeniden başlayana kadar sadece birkaç dakika içinde etkili olmaktadır. Çözünmeyen fibrin tıkaç oluşumu hemostatik mekanizmaların uzun süreli etkili olmasını sağlar. Ardından, primer ve sekonder hemostaz eş zamanlı ve birbirleriyle iç içe geçmiş iki yolla gerçekleşir. Primer hemostaz, subendotelyal matriks içindeki kolajenin açığa çıkmasıyla ortaya çıkan trombosit agregasyonunu ve trombosit tıkaç oluşumunu içerir. Sekonder hemostaz, çözünür fibrinojenin fibrin ağını oluşturan çözünmez iplikçiklere dönüştürüldüğü koagülasyon kaskatının aktivasyonunu ifade eder (Rodrigues ve ark. , 2019).

Ekstrinsik ve intrinsik yollarla aktive olan pıhtılaşma kaskadı, trombosit agregasyonunu ve pıhtı oluşumunu sağlar. Kan yara bölgesine sızarken, kan komponentleri ve trombositler açıkta kalan kolajen ve diğer ekstraselüler matriks komponentleriyle etkileşime girerek, trombositlerden pıhtılaşma faktörlerinin salınmasını ve fibronektin, fibrin, vitronektin ve trombospondinden oluşan kan pıhtısı oluşumunu tetikler. Kan pıhtısı ve içinde bulunan trombositler sadece hemostaz için önemli değildir. Aynı zamanda hemostatik ve enflamatuvar fazların sonraki aşamalarında hücrelerin göçü için geçici bir matriks sağlar. Trombositlerin sitoplazması, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), transforme edici büyüme faktörü-β (TBF-β), epidermal büyüme faktörü ve insülin benzeri büyüme faktörleri gibi büyüme faktörleri ve sitokinlerle dolu α granülleri içerir. Bu moleküller, önce nötrofilleri ve daha sonra makrofajları, endotel hücreleri ve fibroblastları aktive ederek ve bu hücrelerin yara bölgesine göçünü sağlar. Endotel hücreleri, trombositler, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki dinamik denge hemostazı düzenler ve yara bölgesinde biriken fibrin miktarını belirleyerek iyileşme sürecini etkiler (Strecker-McGraw ve ark. , 2007).

Hemostaz sağlandıktan sonra endotel hücrelerinden salgılanan histamin, trombositlerde bulunan serotonin gibi vazoaktif aminler kapiller dilatasyona ve kapiller geçirgenliğin artmasını sağlayarak, enflamatuvar hücrelerin yara bölgesine göçünü hızlandırır ve yara iyileşmesinin enflamatuvar fazına geçiş sağlar (Komarcevic, 2000).

4.2.2. Enflamatuvar faz

Enflamatuvar faz, hemostaz fazını takiben, doku hasarını önlemek ve patojen mikroorganizmaları yara bölgesinden uzaklaştırmak için nötrofil, makrofaj ve lenfositlerin göç

etmesiyle karakterize, doku onarımı ve fonksiyonun tekrar kazanılmasını sağlayan fazdır. Erken ve geç enflamatuvar faz olmak üzere ikiye ayrılır (Ellis ve ark. , 2018; Hunt ve ark. , 2000).

Koagülasyonun geç evresinde ve hemen sonrasında başlayan erken enflamatuvar yanıtın birçok işlevi vardır. Kompleman kaskatını aktive eder ve nötrofillerin yara bölgesine infiltrasyonunu aktive eden moleküler olayları başlatır. Nötrofiller, bakterileri, yabancı partikülleri ve hasarlı dokuyu yok etmek ve uzaklaştırmak için fagositoz görevine başlar. Mikroorganizma yükü fazla olan akut yaraların iyileşmesinde fagositik aktive önemli rol oynar. Nötrofiller, yaralanmadan sonraki 24-36 saat içinde, TBF-β, kompleman faktörleri (C3a ve C5a), mikroorganizmalara ve trombositler tarafından üretilen formilmetiyonil peptidler dahil olmak üzere çeşitli kemoatraktif ajanlar tarafından yara bölgesine çekilmeye başlar (Aston ve ark. , 1997). Yüzey adezyon moleküllerinin regülasyonuyla nötrofiller yapışkan hale gelir ve yarayı çevreleyen post kapiller venüllerdeki endotel hücrelerine tutunur. Sonrasında nötrofiller kan akışıyla birlikte endotel yüzeyi boyunca yuvarlanır. Bu adezyon ve yuvarlanma selektin bağımlı adezyon molekülleri aracılığıyla gerçekleşir ve gerçekleşen adezyon zayıf adezyondur. Endotel hücreleri tarafından salgılanan kemokinler, integrinler yoluyla gerçekleşen daha güçlü adezyonu hızla aktive eder. Sonra nötrofiller, kan damarlarının endotel tabakasından geçerek yara bölgesine göç eder ve bu süreç diapedez olarak bilinmektedir. Nötrofiller yara bölgesine geldiğinde, yabancı maddeleri ve mikroorganizmaları, fagositoz yoluyla ve proteolitik enzimler ve ROT salgılayarak yok eder. Nötrofiller işlevini tamamladığında, iyileşmenin bir sonraki aşamasına geçilmeden, enflamatuvar yanıt artmadan ve doku hasarı meydana gelmeden önce ekstrüzyon ve apoptozla yaradan uzaklaştırılmalıdır. Arta kalan hücre kalıntıları ve apoptotik cisimler makrofajlar tarafından fagosite edilir (Hart, 2002; Velnar ve ark. , 2009).

Geç enflamatuvar fazın bir aşaması olarak; yaralanmadan 48-72 saat sonra, yarada makrofajlar belirir ve fagositoz sürecine devam eder. Bu hücreler başlangıçta kanda bulunan monositlerdir ve yara bölgesine geldiklerinde fenotipik değişime uğrayarak doku makrofajlarına dönüşürler. Pıhtılaşma faktörleri, kompleman faktörleri, TKBF, TBF-β, lökotrien B4 ve trombosit faktör IV gibi sitokinlerle birlikte elastin ve kolajen yıkım ürünlerini de içeren çok sayıda kemoatraktif ajan tarafından yara bölgesine çekilen makrofajlar, nötrofillerden daha uzun bir ömre sahiptir ve pH'ı daha düşük ortamda da görevine devam eder. Yara dokusunda, monosit ve makrofajların yeteri kadar işlev görememesi, yetersiz yara debridmanı, gecikmiş fibroblast proliferasyonu ve olgunlaşması ve gecikmiş anjiyogenez nedeniyle ciddi iyileşme bozuklukları görülebilir. Yaralanmadan 72 saat sonra, interlökin-1 (IL-1), kompleman faktörleri ve immünoglobulin G (IgG) parçalanma ürünlerinin etkisiyle yara bölgesine lenfositler gelir. Zamanla enflamatuvar yanıtın azalması, makrofajlar tarafından büyüme faktörleri salgılanması,

kan damar dilatasyonu ve geçirgenliğinde artış, fibroblastların yara bölgesine göç edip, çoğalmasıyla eş zamanlı olarak proliferasyon fazı başlar (Canedo-Dorantes ve Canedo-Ayala, 2019; Sugimoto ve ark. , 2016).

4.2.3. Proliferasyon fazı

Yara iyileşmesinde doku bütünlüğünün yeniden sağlandığı proliferasyon fazı, yaralanmadan sonraki 48 saat içinde başlar ve yaklaşık 15-21 gün devam eder. Reepitelizasyon, granülasyon dokusunun oluşumu ve anjiyogenez bu fazda gerçekleşir. Yara bölgesine en son gelen hücre popülasyonu, fibroblast ve endotelyal hücrelerdir. Asıl görevi matriksi yeniden şekillendirmek olan fibroblastlar önce çoğalır, ardından aktive olur. Bu aktivasyonu, esas olarak makrofajlardan salınan sitokinler ve büyüme faktörleri sağlar. Sağlıklı dokuda bulunan fibroblastlara kıyasla, yara dokusunda bulunan fibroblastlar, daha fazla kolajen sentezler, daha az prolifere olur ve etkin bir şekilde matriks kontraksiyonunu gerçekleştirir. Ayrıca, zaman içinde yara ortamında fazla biriken laktat, adenozin difosfat ribozilasyonu yoluyla kolajen sentezini etkili bir şekilde kontrol eder. Yara bölgesine yakın, zarar görmemiş venüllerden migrasyon ile damar dışına çıkan ve anjiyogenezde önemli rol oynayan endotel hücreleri de yara iyileşmesinin bu safhasında yoğun bir şekilde prolifere olur. TNF-α, TBF-β ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF) gibi sitokin ve büyüme faktörleri, endotel hücrelerin migrasyonunu, proliferasyonunu ve anjiyogenezi etkiler. Birçok hücre tarafından VEBF salgılanır, özellikle endotel hücrelerinde VEBF reseptörü bulunmasına rağmen, yara iyileşmesinde makrofaj VEBF reseptörleri çok önemli rol oynar. (Barbul ve ark. , 2015)

4.2.4. Yeniden şekillenme fazı

Yeni epitel ve skar dokusunun oluşumu ile karakterize yara iyileşmesinin son aşaması olan yeniden şekillenme fazı bir veya iki yıla kadar veya bazen daha da uzun yıllar devam etmektedir. Yara iyileşmesinde, yıkım ve sentez hassas bir dengededir. Hücre içi matriks maturasyonu sırasında, hyaluronik asit ve fibronektin parçalanır, kolajen demetlerinin çapı artar. Yaranın kolajen birikimine paralel olarak gerilim kuvveti artar. Sağlıklı dokuya kıyasla kolajen lifler, orijinal gerilim kuvvetinin yaklaşık %80'ini yeniden kazanabilir. Onarım süresi ve lokalizasyona bağlı olarak gerilim kuvveti değişebilir ancak, dokunun ilk gerilim kuvveti geri kazanılamaz (Spielman ve ark. , 2023).

Ekstraselüler matriks, kolajen sentez ve yıkımıyla sürekli olarak yeniden şekillenir. Yaralanmadan yaklaşık üç hafta sonra, sentez ve yıkım dengelenir. Nötrofiller, makrofajlar ve fibroblastların salgıladığı matriks metalloproteinaz (MMP) enzimleri kolajeni parçalar. MMP’lerin aktiviteleri inhibitör faktörler tarafından regüle edilir. Zamanla bu faktörlerin aktivitesi artarak MMP aktivitesi azalır ve yeni matriks akümülasyonu gerçekleşir (Baum ve Arpey, 2005; Clark, 1993).

Kolajen demetleri, ilk oluştuğunda oldukça düzensiz olsa da zamanla yeni kolajen matriks daha düzenli ve çapraz bağlanmış hale gelir. Kolajen demetlerin sonraki organizasyonu ise, yeniden şekillenme fazının son aşamasında, büyük ölçüde proliferatif fazda yara kontraksiyonu ile sağlanır. TKBF, TBF-β ve fibroblast büyüme faktörü (FBF) olmak üzere birçok faktör bu süreçte rol oynar. Zaman geçtikçe, apoptoz ile fibroblast ve makrofaj yoğunluğu, kapiller dilatasyon ve bölgeye kan akışı azalır. Tüm bunların sonucunda, yara bölgesinde metabolik aktivite azalır. Yeniden şekillenme fazının sonunda, hücre ve kan damarı sayısı azalmış ve yüksel gerilme kuvvetine sahip tamamen olgunlaşmış bir skar dokusu meydana gelir (Chhabra ve ark. , 2017).

4.3. Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Mediyatörler

Sitokinler, doğal ve kazanılmış immün yanıt için gerekli olan bir protein sinyal bileşikleri sınıfıdır. Sitokinler, hücre göçü, DNA replikasyonu, hücre döngüsü ve immünosit proliferasyonu dahil olmak üzere geniş bir dizi hücre tepkimesinde rol alır. Sitokinler yara ve enfeksiyon bölgesinde lokal olarak işlev gördüklerinde, patojen mikroorganizmaların yok edilmesine aracılık ederek yara iyileşmesini destekler. Ancak, enflamatuvar uyaranlara karşı abartılı proenflamatuvar sitokin yanıtı, hemodinamik düzensizlik ve metabolik bozukluklara neden olabilir. Antienflamatuvar sitokinlerden bir kısmı, proenflamatuvar sitokinlere karşı etki olarak salınır. Aynı zamanda, bu antienflamatuvar mediyatörler immünosit disfonksiyonuna ve konak immünosüpresyonuna neden olabilir. Proenflamatuvar/antienflamatuvar yanıt hassas bir dengededir (Han ve ark. , 2001).

4.3.1. TNF-α

TNF-α, güçlü bir proenflamatuvar sitokindir. İmmün sistemin önemli bir parçası olup, hücre büyümesinde ve hücre apoptozunda rol oynar. Yara iyileşmesinde TNF-α yüksek seviyeye yaralanmadan 12-24 saat sonra ulaşır. Proliferasyon fazı tamamlandığında, TNF-α bazal seviyesine döner. Yara iyileşmesinin erken evresinde, önce polimorfonükleer lökositler tarafından, sonrasında da makrofajlar tarafından salınır. TNF-α, fibroblast, keratinosit ve büyüme faktörlerinin salınımını uyarır ve antimikrobiyal savunma sistemini yukarı regüle eder. TNF-α enflamatuvar süreçte önemli bir rol oynar; makrofajları diğer proenflamatuvar sitokin olan IL-1, IL-6 ve IL-12'nin sentezini uyarır. Bu IL'ler, özellikle IL-1 ve IL-6, enflamasyonun artmasına büyük ölçüde katkıda bulunur (Heinrich ve ark. , 1990; Pickup ve ark. , 2000). Lokal düzeyde, TNF-α, TCD_8 lenfositlerinin damar endoteline adezyonunu artırır ve sitotoksisitelerini uyarır. DM'de artmış oksidatif stresten dolayı TNF-α seviyesi yükselir (Ponugoti ve ark. , 2012). TNF-α, tip 1 DM'de pankreas beta hücrelerinin yıkımında doğrudan rol oynar (McNerlan ve ark. , 2002). Diyabetik farelerin yaralarında TNF-α seviyesi, normal farelerdeki yaralara göre üç kat daha yüksek bulunmuştur (Siqueira ve ark. , 2010). DM'li

hastaların iyileşmeyen venöz bacak ülserlerinden alınan yara sıvısında TNF-α seviyesi iyileşen ülserlere göre üç kat daha yüksek bulunmuştur (Wallace, 1998).

4.3.2. IL-1β

IL-1 ailesi temel olarak IL-1a, IL-1β ve IL-1 reseptör antagonisti olan IL-1Ra'dan oluşmaktadır. IL-1β proenflamatuvar bir sitokindir. Esas olarak aktive edilmiş makrofajdan inaktif öncü bir peptid olan proIL-1β olarak sentezlenir. IL-1β dönüştürücü enzim olan Kaspaz 1 ile aktif IL-1β'e dönüşür. Nötrofiller, keratinositler ve makrofajlar dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından salgılanan IL-1β, enflamatuvar yanıtta çok önemli bir mediyatördür. Kemotaksis yoluyla nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerini yara bölgesine çeker ve aktive eder, böylece enflamatuvar yanıtı başlatır ve güçlendirir. Ayrıca, diğer kemokinlerin ve proenflamatuvar sitokinlerin üretimini uyararak bu yanıtı daha da yoğunlaştırır. IL-1β fibroblastların çoğalmasını uyarır ve VEBF'nin ekspresyonunu artırır, böylece anjiyogenezi uyarır ve yara iyileşmesinin yeniden şekillenme fazına yardımcı olur. Ayrıca, MMP ve metalloproteinazların doku inhibitörleri arasındaki dengeyi düzenler. Ancak, uzun süreli veya aşırı IL-1β aktivitesi yara iyileşmesini bozduğu için, uygun iyileşme için IL-1β seviyelerinin düzenlenmesi çok önemlidir (Dai ve ark. , 2021; Dinarello, 2011). IL-1β'nın önemli bir diğer etkisi de glikoz metabolizmasındaki düzenleyici rolüdür. İnsulinin, glikoz alımına bağlı sekresyonunu sağlar. Ancak metabolik sendrom gibi durumlarda kronik olarak uyarılan IL-1β, pankreatik β hücrelerinin fonksiyonunu bozarak tip 2 DM oluşumuna neden olmaktadır (Wiedemann ve ark. , 2022).

4.3.3. Antioksidanlar

Oksijen (O_2), mitokondriyal kaynaklı adenozin trifosfat (ATP) üretimi için gerekli olan temel maddedir ve yara iyileşme sürecinde doku yenilenmesinde gereken enerjinin yüksek seviyelerde tutulmasını sağlar. ROT olarak bilinen O_2'nin radikal türevleri de sekonder haberci-sinyal molekülleri olarak hareket ettikleri için yara iyileşme sürecinde çok önemlidir. ROT, O_2 içeren ancak eklenen elektronlarla indirgenerek oldukça reaktif, radikal olan moleküller için tanımlanmıştır. ROT molekül ailesinin bilinen türleri süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), peroksit ($\cdot O_2^{-2}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ($\cdot OH$) ve hidroksil (OH^-) iyonlarıdır. Endojen hücresel ROT, endoplazmik retikulumdan ATP üretimi sırasında mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan veya oksidoredüktazlar olarak bilinen enzim grubundan kaynaklanabilmektedir. ROT, oksidasyon reaksiyonuyla yakınında bulunan diğer moleküllerden elektron alır ve bu moleküllerin yapısına zarar verir. Ayrıca, ROT vazokonstriksiyon ve vazodilatasyonu düzenler. Bununla birlikte, nitrik oksit (NO) gibi nitrojen içeren O_2'nin radikal formlarını düzenler. NO, reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak da bilinen bir grup radikaldir. NO oksidasyonunu takiben normal fizyolojinin bir parçası olarak da üretilir.

NO, moleküler O_2, ROT, geçiş metalleri ve tiyoller ile nitrozil-metal kompleksleri, S-nitrozotiyoller, N_2O_3, NO_2^- ve $ONOO^-$ oluşturmak üzere bir dizi moleküle reaksiyona girer. NO tersine $\cdot O_2^-$'ye karşı antioksidan savunma görevi de görür. Yara iyileşme sürecinde, trombositler, makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve keratinositler de dahil olmak üzere bir dizi hücre bu radikalleri kullanır (Dunnill ve ark. , 2017). Çok sayıda çalışma, düşük seviyelerdeki ROT'ların hücre göçünü ve anjiyogenezi artırarak normal yara iyileşmesine yardımcı olduğunu göstermiştir. Ancak yüksek ROT seviyeleri, özellikle kronik yaralarda yara iyileşmesini engelleyebilir (Han ve ark. , 2018; Koo ve ark. , 2019; Saoudi ve ark. , 2021). Kronik yaralarda, sürekli bir enflamatuvar yanıt, hücrelerin antioksidan kapasitesini aşan büyük bir ROT birikimine yol açarak yaranın enflamatuvar fazdan proliferatif faza geçişini önler. Yara bölgesinde devam eden enflamasyon kronik yara iyileşmesine neden olur. Bu nedenle, hücrelerdeki redoks dengesini korumak, antioksidanı etkili bir şekilde elde etmek, anormal hücre büyümesini ve bozulmuş immün yanıtı engelleyebilir (Deng ve ark. , 2019; Malone-Povolny ve ark. , 2021).

Antioksidanlar, ROT gibi diğer moleküllere elektronlarını verebilen kimyasal bileşiklerdir; böylece ROT'ların proteinler veya DNA gibi diğer önemli biyolojik moleküllerden elektron almalarını önler. Etki mekanizmasına bağlı olarak, iki tür antioksidan bileşik vardır: enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar. Enzimatik antioksidanlar arasında SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz bulunur. SOD bir süperoksit radikalini O_2 molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen peroksite indirgenmesini katalize eder. Katalaz, her bir polipeptit alt birimi yapısında tek bir ferriprotoporfirin içeren bir hemoproteindir. Katalaz bir saniyede milyonlarca H_2O_2 molekülünü parçalayarak hücrelerde H_2O_2 konsantrasyonunu etkili bir şekilde sınırlayabildiğinden, yara iyileşmesinde antioksidan savunma enzimi olarak rol oynar. Glutatyon peroksidaz kofaktör olarak selenyumu kullanan ve lipitleri hücre içi peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir ve membrana bağlı bir antioksidan olan E vitamini yetersizliğinde de membranı peroksidasyona karşı korur.

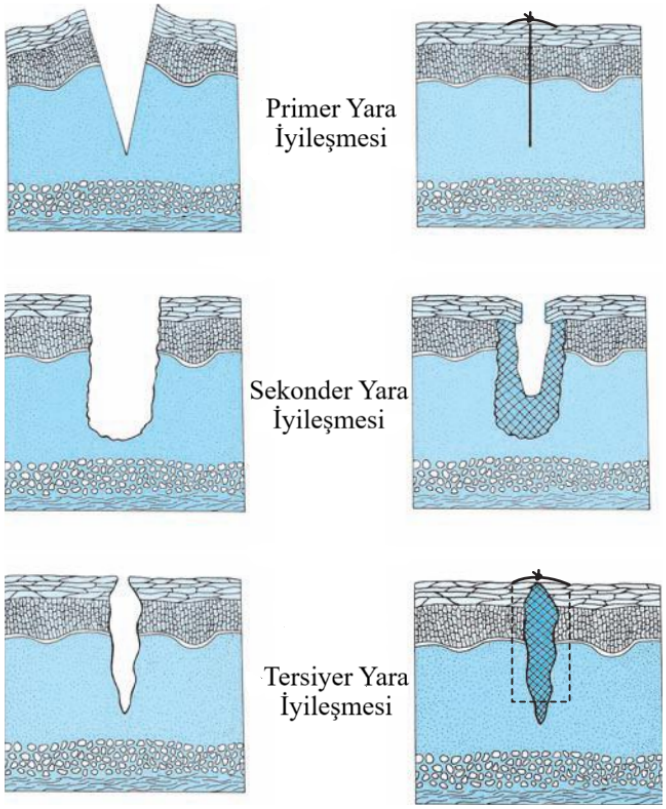
Enzimatik olmayan antioksidanlar E vitamini, C vitamini, glutatyon ve flavonoidler gibi düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Antioksidanlar, ROT'ları H_2O ve O_2 gibi daha kararlı moleküllere dönüştürmek için karmaşık bir dizi reaksiyonu katalize eder, bu nedenle ROT temizleyicileri olarak da adlandırılırlar (Dunnill ve ark. , 2017; Rahal ve ark. , 2014).

4.4. Yara İyileşmesi Tipleri

Yara iyileşmesi onarım türüne göre primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üçe (Şekil 2), iyileşme zamanına göre de akut ve kronik yaralar olmak üzere ikiye ayrılır (Whitney, 2005).

4.4.1. Primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi

Primer yara iyileşmesi, yara kenarlarının birbirine yaklaştırıldığı, dikiş materyalleri, stapler veya yapışkan bantlarla kapatıldığı, temiz, enfekte olmayan cerrahi kesinin en az skar dokusuyla komplikasyonsuz olarak iyileşmesidir. Bakteriyel kontaminasyon veya fazla doku kaybı nedeniyle, dokunun primer olarak kapatılmayıp, granülasyon dokusu oluşumu ve kontraksiyonu ile iyileşmesi sekonder iyileşme olarak adlandırılır. Tersiyer yara iyileşmesi bir diğer adıyla gecikmiş primer kapama, primer ve sekonder yara iyileşmesinin kombinasyonudur. Yara ortalama 5 gün açık bırakıldıktan sonra, yara kenarları bir araya getirilerek primer olarak kapatılır. Genellikle yüksek enfeksiyon riski olduğunda veya büyük miktarda doku kaybı olduğunda bu prosedür izlenir (Barbul ve ark. , 2015).

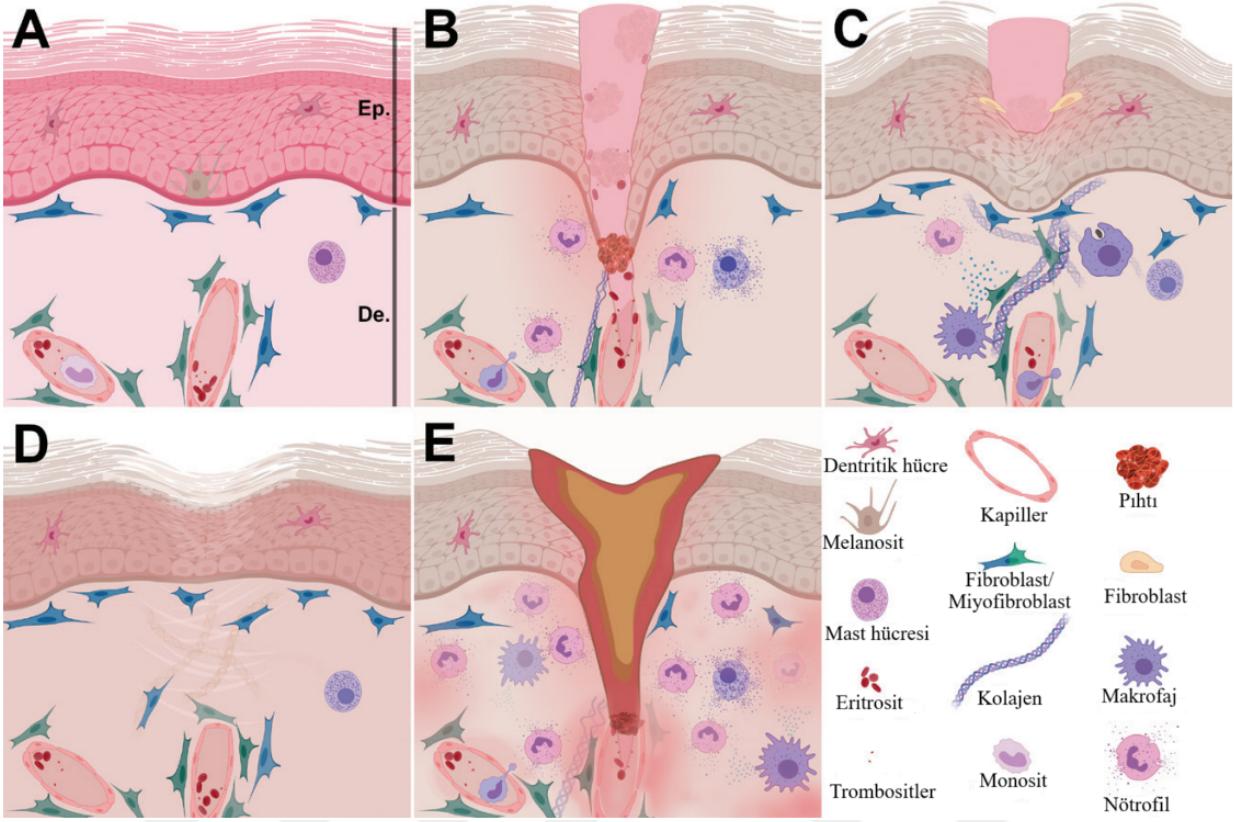


Şekil 2. Yara iyileşmesi tipleri

4.4.2. Akut ve kronik yara

Akut yaralar, 8-12 hafta arasında, kendi kendini onarır ve hem işlevsel hem de anatomik iyileşme ile sonuçlanır. Travmatik doku kaybı, cerrahi prosedür sonucu akut yara oluşabilir (Vanwijck, 2001). 12 haftadan daha uzun sürede iyileşen veya iyileşmeyen yaralar ise kronik yara olarak adlandırılır. İyileşme süreci, hemostaz, enflamasyon, proliferasyon veya yeniden şekillenme aşamalarından bir veya daha fazlasını geciktiren çeşitli faktörler nedeniyle tamamlanamaz ve bozulur (Şekil 3). Enfeksiyon, doku hipoksisi, nekroz ve yüksek enflamatuvar sitokin seviyeleri bu faktörlerden bazılarıdır. Yarada devam eden enflamatuvar

yanıt, iyileşmeyi geciktiren doku cevabıyla sonuçlanır. İyileşme koordine olmayan bir şekilde ilerlemeye devam ettiğinde, fonksiyonel ve anatomik sorunlar ortaya çıkar ve bu yaralar genellikle nüks etme eğilimindedir.



Şekil 3. (A-D) Yara iyileşme kaskatı şeması ve (E) kronik yara. (A) Yaralanmamış dokuda yassı çok katlı epitel (Ep) ve damar, ekstraselüler matriks ve damarları içeren dermis (De) gösterilmektedir. (B) Yaralanma sonrası ilk yanıt: Hemostaz ve koagülasyon. (C) Enflamasyon devam eder ve yeni ekstrasellüler matriks birikimi ile reepitelizasyon başlar. (D) Enflamasyon azalır, reepitelizasyon tamamlanır. Ekstraselüler matriks ve dokunun yeniden şekillenmesi gerçekleşir. (E) Enflamatuvar yanıt ile rejeneratif süreçler arasındaki dengesizlik sonucu kronik yara oluşumu.

4.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesinin bozulmasına birden çok faktör neden olabilir. Bu faktörler lokal ve sistemik faktörler olmak üzere ikiye ayrılır (Guo ve Dipietro, 2010).

4.5.1. Lokal faktörler

Lokal faktörler, yaranın özelliklerini doğrudan etkileyen faktörlerdir (Guo ve Dipietro, 2010). Bu faktörler tablo 1'de gösterilmektedir.

4.5.2. Sistemik faktörler

Sistemik faktörler; kişinin iyileşme yeteneğini etkileyen genel sağlık veya hastalık durumudur. Sistemik faktörler, lokal faktörlerle ilişkilidir. Lokal faktörler yoluyla yara iyileşmesinin bozulmasına yol açarlar (Guo ve Dipietro, 2010). Bu faktörler tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Yara iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler

Lokal Faktörler	Sistemik Faktörler
• Enfeksiyon • Yetersiz oksijenlenme veya perfüzyon • Yabancı cisimler • Vasküler bozukluklar • Uygulanan cerrahi teknik • Dehidratasyon	• Yaş/cinsiyet • Stres • Hastalıklar; DM, Kalıtsal iyileşme bozuklukları, kronik akciğer hastalığı, kronik kalp hastalığı, kronik karaciğer hastalığı,üremi • Obezite • İlaçlar; Glukortikoid steroidler, non-steroid antienflamatuar ilaçlar, kemoterapi • Sigara ve alkol • Bağışıklık sistemini baskılayan durumlar; Kanser, radyasyon tedavisi, AIDS • Beslenme

4.5.2.1. Diabetes Mellitus

DM, pankreastan yeterli insülin salgılanamadığında veya salgılanan insüline cevap yetersiz kaldığında ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik bir hastalıktır. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında, kan damarlarının yapısında ve işlevinde bozukluklarla birlikte bu durumlara eşlik eden birçok klinik ve biyokimyasal bulguyla hastalık seyrini göstermektedir (American Diabetes Association, 2014).

4.5.2.1.1. Diabetes mellitusun epidemiyolojisi

DM, komplikasyonlarıyla hayat kalitesini düşüren ve mortaliteyi arttıran dünyada en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (UDF) 2021 yılında yayınladığı Onuncu Diyabet Atlası verilerine göre, 20-79 yaş yetişkin nüfusun %10,5'i yani 540 milyon kişinin diyabet hastası olduğu bilinmektedir. UDF'ye göre 2045 yılına gelindiğinde %46'lık bir artış ile her 8 yetişkinden 1'inin, yani yaklaşık 783 milyon kişinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir. DM hastalarının %90'ından fazlası sosyoekonomik, demografik, çevresel ve genetik faktörlerden kaynaklı tip 2 DM hastasıdır (Abel ve ark. , 2024). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre DM tüm dünyada ölüm nedenleri arasında 8. sırada yer almaktadır (World Health Organization, 2024).

4.5.2.1.2. Diabetes mellitusun sınıflaması

Amerikan Diyabet Derneği tarafından yapılan DM sınıflaması şu şekildedir (American DiabetesAssociation, 2014):

- ❖ Tip 1 DM
- ❖ Tip 2 DM
- ❖ Gestasyonel DM

- Diğer DM tipleri
    - İlaç veya kimyasal indüklenmiş DM
        - Glukokortikoid kullanımı ile gelişen DM
        - HIV/AIDS tedavisi sırasında gelişen DM
        - Organ nakli sonrası gelişen DM
    - Monogenik DM sendromları
        - Neonatal DM
        - Gençlerde görülen erişkin tip DM
    - Ekzokrin pankreas hastalıkları
        - Kistik fibrozis
        - Pankreatit

4.5.2.1.2.1. Tip 1 diabetes mellitus

Geçmişte ‘insüline bağımlı DM’ veya ‘juvenil DM’ olarak adlandırılan tip 1 DM, DM hastalarının %5-10'unu oluşturur. İmmün aracılı ve idiyopatik olmak üzere ikiye ayrılır. İmmün aracılı tip 1 DM, pankreastaki β-hücrelerinin hücresel aracılı otoimmün yıkımı sonucu eksik insülin salınımı sonucu gelişir. β-hücre yıkım hızı, genellikle infant ve çocuklarda hızlıyken, yetişkinlerde ise yavaştır. Yetişkinler uzun yıllar boyunca ketoasidozu önlemek için yeterli β hücresi fonksiyonunu koruyabilir; Tip 1 DM’li bireyler ketoasidoz riski altındadır ve hayatta kalmak için insüline bağımlı hale gelirler. β-hücre yıkımının birden fazla genetik yatkınlıkla ve hala tam anlamıyla açıklanmayan çevresel faktörlerle ilişkilidir. Ayrıca, tip 1 DM’li hastalar Hashimoto tiroiditi, Graves hastalığı, Addison hastalığı, çölyak hastalığı, vitiligo, otoimmün hepatit, myastenia gravis ve pernisiyöz anemi gibi diğer otoimmün bozukluklara eğilim göstermektedir. İdiyopatik tip 1 DM’li hastalarda kalıcı insülin eksikliği vardır ama etiyolojisi bilinmemektedir. Otoimmün β-hücre yıkımına dair bulguları yoktur. Tip 1 DM, DM hastalarının sadece küçük bir kısmını oluşturur. Etkilenen hastalarda insülin replasman tedavisi gereklidir (Diabetes Care, 2017).

4.5.2.1.2.1. Tip 2 diabetes mellitus

Geçmişte ‘insüline bağımlı olmayan DM’ veya ‘erişkin DM’ olarak adlandırılan tip 2 DM, tüm DM’li hastaların %90-95'ini oluşturmaktadır. Genellikle rölatif insülin eksikliği ve insülin direnci olan bireyler tip 2 DM hastasıdır. Bu bireylerin, hastalığın başlangıcında veya yaşamları boyunca hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaçları olmayabilir. Tip 2 DM’nin etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, hastalığın gelişme riski yaş, obezite ve yetersiz fiziksel aktivite ile artmaktadır. Gestasyonel DM geçirmiş kadınlarda, hipertansiyon veya dislipidemi hastalarında ve belirli etnik alt gruplarda daha sık görülmektedir (Diabetes Care, 2017).

4.5.2.1.3. Diabetes mellitusun komplikasyonları

DM'nin komplikasyonları, akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Tablo 2). Akut ve kronik komplikasyonları hem tip 1 hem de tip 2 DM'li bireylerde görülebilir. Bu komplikasyonların bazıları hastalığın başlangıcından itibaren başlar, ancak çoğu birkaç yıl sonra gelişme eğilimindedir. DM uzun dönemde makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar ile morbidite ve erken ölüm riskini arttırır (Cole ve Florez, 2020). DM komplikasyonlarının önlenmesi için hem bireysel hem de toplumsal önlemler alınmalıdır. DM tedavisinin ilk hedefi glisemik kontrolün erken ve etkin bir şekilde sağlanmasıdır. Diyabet Kontrol ve Komplikasyon Çalışmasının (DKKÇ) sonuçları glisemik kontrol ile komplikasyonlarda önemli oranlarda azalma sağlandığını göstermiştir. DKKÇ verilerine göre glisemik kontrol ile göz komplikasyonlarında %76, böbrek komplikasyonlarında %70 ve nöropati oranında da %60 düzeyinde azalma tespit edilmiştir (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, 1993).

Tablo 2. Diabetes mellitus'un komplikasyonları

AKUT KOMPLİKASYONLAR	**KRONİK KOMPLİKASYONLAR**	
▪ Hipoglisemi	Makrovasküler Komplikasyonlar	Mikrovasküler Komplikasyonlar
▪ Diyabetik ketoasidoz	▪ Koroner arter hastalığı	▪ Nöropati
▪ Hiperglisemik hiperozmolar nonketotik koma	▪ Periferal vasküler bozukluk	▪ Nefropati
▪ Laktik asidoz	▪ Serebrovasküler hastalık	▪ Retinopati
		▪ Diyabetik ayak

4.5.2.1.4. Diabetes mellitus ve yara iyileşmesi

Kronik diyabetik yaralar akut yaralar gibi başlar, ancak iyileşme süreci farklı aşamalarda kesintiye uğrar ve tamamlanamaz. Çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, proteazlar, intraselüler ve ekstraselüler komponentler yara iyileşme sürecinde önemli rol oynar. Hiperglisemi, kronik enflamasyon, mikro ve makrovasküler bozukluklar, hipoksi, otonom ve duyusal nöropati ve bozulmuş nöropeptid sinyalizasyonu diyabetik yara iyileşme sürecini etkiler (Tablo 3) (Baltzis ve ark. , 2014).

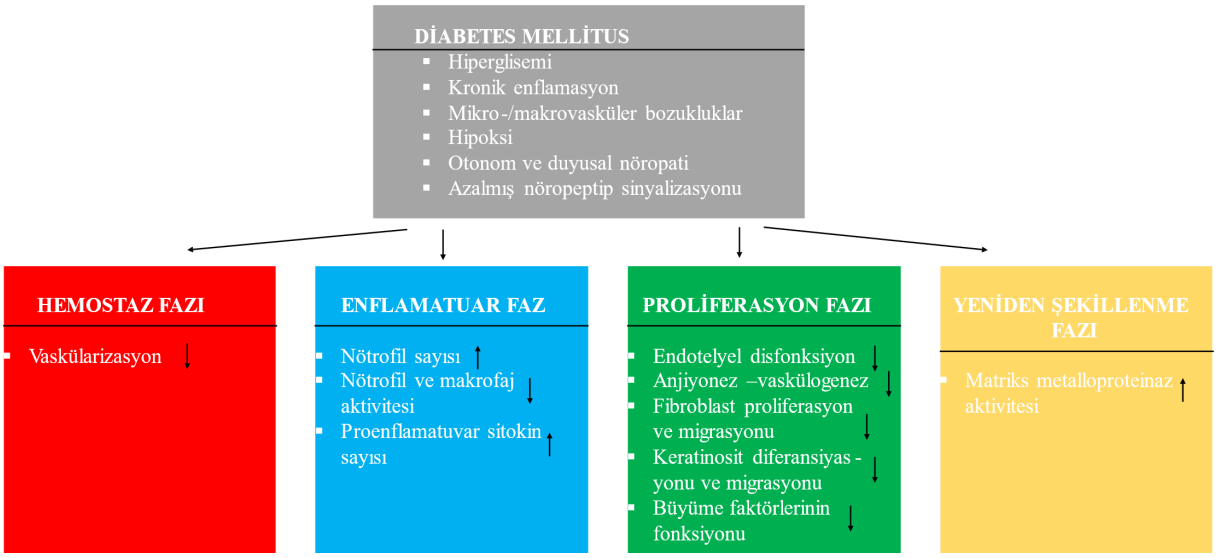
Kronik hiperglisemi sonucunda kolajen ve diğer proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonuyla ileri glikasyon son ürünleri (İGSÜ) oluşur. İGSÜ, ekstraselüler matriksin çözünürlüğünü azaltarak enflamatuvar fazın sonlanmasını engeller (Pradhan ve ark. , 2009). Diyabetik yara iyileşmesi, yara bölgesinde enflamatuvar hücre sayısında artış ve enflamatuvar yanıt ile karakterizedir. Proenflamatuvar (M1) - antienflamatuvar (M2) makrofaj oranı ve IL-1, IL-6 ve TNF-α gibi proenflamatuvar sitokinlerin sürekli ekspresyonuyla seviyeleri artar. Kronik diyabetik yaralarda, nötrofil ve makrofaj yoğunluğunun fazla olması sonucu nötrofiller sağlıklı dokuya da zarar verebilecek kadar fazla miktarda ROT ve proteaz salgılar. Ayrıca fibroblastların proliferasyonu ve migrasyon kapasitesi azalır, apoptozu artar; keratinositlerin ise proliferasyonu artar, ancak farklılaşma ve migrasyon kapasitesi azalır; büyüme faktörü ekspresyonu ve fonksiyonları azalır. Fibronektin, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi ekstraselüler matriksin parçalanmasından sorumlu MMP'lerin artışı ile de karakterize diyabetik kronik yaralarda, MMP aktivitesini inhibe eden MMP doku inhibitörlerinin seviyeleri azalır (H. Brem ve M. Tomic-Canic, 2007; Desta ve ark. , 2010; Martins ve ark. , 2013).

Diyabetik yara iyileşmesinde endotelyal progenitör hücre (EPH) sayısı azalır, bunun sonucunda anjiyogenez bozulur. Hiperglisemi ve kronik enflamasyon, EPH'ların disfonksiyonuna ve kemik iliğinde aktive olmamalarına neden olur. Ayrıca, vasküler bazal membranda gerçekleşen enzimatik olmayan glikasyon, EPH'ların toplanmasını bozar ve vasküler rejenerasyonu engeller (Kim ve ark. , 2012).

Hücre metabolizması ve enerji üretimi için gerekli olan oksijen DM'de mikro ve makrovasküler hastalıklar nedeniyle azalır. Hipoksi, hipoksi nedeniyle artan ROT ve zayıf doku perfüzyonu yara iyileşme sürecini bozar. Kronik hipergliseminin neden olduğu enflamasyon oksidatif stresi daha da arttırır ve yara iyileşmesinin süresi uzar (Blakytny ve Jude, 2006).

Yaralanmadan hemen sonra derinin periferik sinir lifleri uyarılır ve yaranın çevresinde çeşitli nöropeptitler salgılanır. Vazoregülasyon ve anjiyogenezde rol oynayan P maddesi, nöropeptid Y ve kalsitonin geniyle ilişkili peptid gibi nöropeptidler mast hücrelerine, endotel hücrelerine, fibroblastlara ve keratinositlere etki eder. DM'de bu nöropetitlerin ekspresyonu ve fonksiyonu azalır ve yara iyileşmesinin bozulur (Dinh ve Veves, 2005; Menghini ve ark. , 2013).

Tablo 3. Diabetes mellitus'da bozulmuş yara iyileşme fazları



4.5.2.2. Beslenme

Beslenme, yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Çeşitli biyolojik süreçler, proliferasyon ve bakım için besin maddelerine ihtiyaç duyar. Yara iyileşmesi, sitokinler ve büyüme faktörleri gibi kemotaktik faktörleri, hücresel onarım mekanizmalarını ve hücre bölünmesini, hareketini ve farklılaşmasını teşvik eden uygun bir ortam gerektirir. Nükleik asitlerin, proteinlerin ve fonksiyonel doku maturasyonu ve diferansiasyonunda rol alan diğer faktörlerin sentezi için yeterli miktarda besin gereklidir. Beslenme kısıtlılığı veya malabsorbsiyon sendromlarıyla ilişkili olarak veya besin biyoyararlanımını sınırlayan maddeler nedeniyle protein, karbonhidrat, yağ, vitamin ve mineral eksikliği yara iyileşmesini bozar (Lansdown, 2004).

4.5.2.2.1. Proteinler, karbonhidratlar ve yağlar

Protein, karbonhidrat ve yağları kapsayan makro besinler, daha fazla miktarda gerekli olan besinsel diyet öğeleridir.

Proteinler doku gelişimi, hücre yenilenmesi ve yaralanma sonrası onarım için ana yapı taşlarını oluşturur. RNA ve DNA sentezi, kolajen ve elastik doku oluşumu, bağışıklık sisteminin desteklenmesi, epidermal büyüme ve keratinizasyondaki işlevleriyle yara iyileşmesinin hemostaz, enflamasyon ve granülasyon dokusu oluşumu, hücre çoğalması, dokunun yeniden şekillenmesi ve matürasyonu aşamalarını önemli ölçüde etkiler. Uzun süre proteinden yetersiz beslenme sonucu cilt incelir, kırışır ve bağışıklık zayıflar. Çalışmalar, düşük protein seviyesine sahip diyabet hastalarında iyileşmeyen yara, enfeksiyon ve olası ampütasyona yol açan nekroz insidansının daha yüksek olduğunu göstermektedir (Eneroth ve ark. , 2004). Sistein ve prolin eksikliği neoanjiyogenezi, fibroblastları, kolajen sentezini ve yaranın yeniden şekillenmesini olumsuz yönde etkileyerek genellikle gerilme kuvveti azalmış ince, kırılgan skar dokusu ile

iyileşmeye neden olur. Aynı zamanda sistin, metiyonin, argentin, tirozin, histidin ve glisin eksiklikleri yara iyileşmesini geciktirir (Collins, 2006).

Vücut için temel enerji kaynağı olan karbonhidratlar, rejenerasyon için gerekli olan yüksek metabolik aktivitenin sürdürülmesinde rol alır. Fibroblast proliferasyonu glikoz eksikliğine duyarlıdır (Han ve ark. , 2004). Kronik yaralardan alınan yara sıvısı örnekleri incenlendiğinde düşük glikoz seviyeleri (0,3-5,9 mM/I) rapor edilmiştir (Trengove ve ark. , 1996).

Epidermal ve dermal dokuların yapı taşı olan yağlar, proliferasyon için enerji kaynağıdır. Prostaglandinler hücre metabolizmasında ve enflamasyonda önemli rol oynar. Prostaglandin sentezi, diyette bulunan 2 doymamış yağ asidi olan linoleik ve araşidonik aside bağlıdır. Bu lipidlerin eksikliklerinde yara iyileşmesi bozulur. ω-3 yağ asitleri TKBF, IL-1 ve TNF-α'yı inhibe ederek antienflamatuvar etki gösterir (Arnold ve Barbul, 2006).

4.5.2.2.2. Vitaminler

Vitaminler, yara iyileşme sürecinde çeşitli hücresel ve moleküler mekanizmaların optimal işleyişi için gereklidir. A vitamini, enflamasyon fazında yara ortamındaki makrofaj ve monosit sayısını artırarak ve immün sistemi uyararak yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Ayrıca, epitelizasyonu uyararak ve fibroblastlar tarafından kolajen birikimini artırarak yara iyileşmesini destekler. Askorbik asit veya L-askorbik asit olarak da bilinen C vitamini, prokolajenin hidroksilasyonunda kolajenin bağ dokusu proteinlerinin sentezinde rol alır. Ayrıca fibroblast proliferasyonu, kapiller oluşumu ve nötrofil aktivitesi üzerinde de etkilidir. E vitamini, selenyuma bağlı glutatyon oksidaz ile etkileşime girerek hücre zarı yağ asitlerinin bozulmasını engelleyerek antioksidan bir rol oynar. K vitamini, esas olarak pıhtılaşma ve kemik metabolizması için gerekli olan bazı proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu için gereklidir. Sonuç olarak, yara iyileşmesinin hemostaz aşamasında önemlidir. K vitamini eksikliği kanamaya, yara onarımında bozulmaya ve enfeksiyona neden olabilir. (Stechmiller ve ark. , 2009)

4.5.2.2.3. Eser element ve mineraller

Mikro besinler, vücudun az miktarda ihtiyaç duyduğu eser element ve mineraller, özellikle yara iyileşmesi sırasında hücresel metabolizma için kritik öneme sahiptir; kofaktör olarak çalışır veya yara onarımı için gerekli enzimlere katılır. Magnezyum, protein ve kolajen oluşumu ve doku büyümesi için gerekli enzimler için bir kofaktör olarak işlev gören önemli bir eser elementtir. Magnezyum, yara iyileşmesi sırasında kolajen sentezi sürecini desteklemek için ATP ile reaksiyona girer. Bakır, sitokrom oksidaz ve sitozolik antioksidan SOD için önemli bir kofaktördür; ayrıca kolajenin çapraz bağlanması ve güçlendirilmesi için gerekli olan lizil oksidazın tepkimesi için de gereklidir. Çinko, MMP'ler de dahil olmak üzere yaklaşık 100 enzimin katalitik aktivitesi için gerekli olan, DNA, protein, kolajen sentezi, hücre

proliferasyonu ve yara iyileşmesi gibi hücre metabolizmasının birçok aşamasında etkili olan temel bir mineraldir (Stechmiller, 2010).

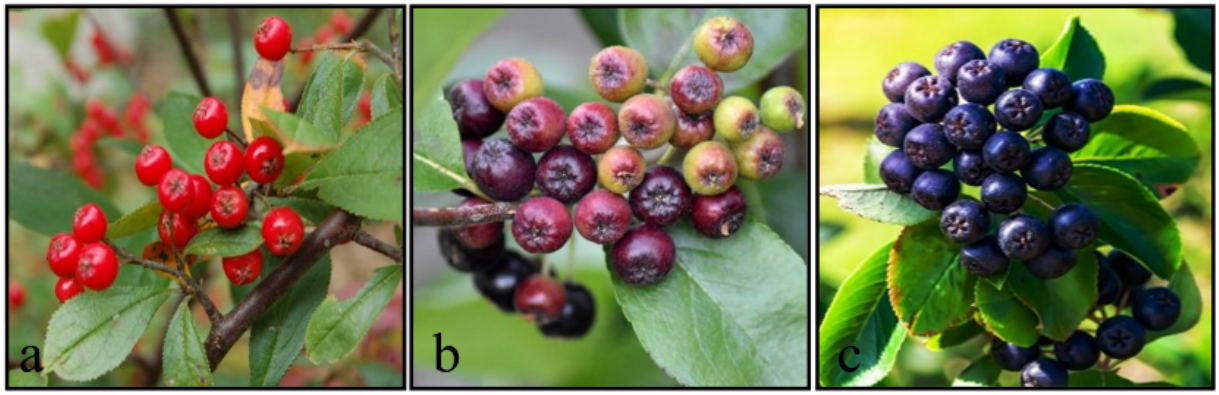
4.6. Kronik Yara İyileşmesinde Kullanılan Bitkiler ve Bitkisel Ekstratlar

DM'li bireylerde, kronik yaraların tedavisinde kullanılan mevcut yöntemler arasında temel olarak glisemik kontrol, antibiyotik tedavisi, vaskülarizasyonun artırılması, yara bölgesinin debridmanı, yara örtücülerin uygulanması, büyüme faktörlerinin kullanımı yer almaktadır. Bu tedaviler etkili olmakla birlikte, bazıları pahalıdır ve olumsuz yan etkileri vardır. Doğa, binlerce yıldır tıbbi tedavilerin kaynağı olmuştur. DSÖ verilerine göre bitkiler ve bitkisel ekstratlar, dünyanın az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerinin %80'inin temel sağlık hizmetlerinde önemli bir rol oynamaya devam etmektedir. Birçok bitki ve bitkisel ekstratlar, yara kontrolü ve tedavisinde önemli etkileri nedeniyle geleneksel olarak kullanılmaktadır, birbirleriyle bağlantılı birçok sistem yoluyla iyileşmeyi ve doku rejenerasyonunu indükler. Ekonomiktir ve çoğunlukla minimum istenmeyen yan etkiye neden olur. Bununla birlikte, aktivitelerine ilişkin artan farkındalık, potansiyel ve olası risk faktörleri göz önünde bulundurulduğunda yara tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmadan önce standardizasyon, doğrulama ve sistematik risk değerlendirmesi gerekmektedir. Son yıllarda, bitkiler ve ekstratlarının yara iyileşmesi ve kontrolü üzerine kapsamlı araştırmalar yürütülmektedir (Gupta ve Jain, 2010; Nagori ve Solanki, 2011; Raina ve ark. , 2008). Aktif bileşenleri, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla ortaya konan bitkiler ve bitkisel ekstratlar koagülasyon, enflamasyon, fibroplazi, epitelizasyon, kolajenasyon ve yara kontraksiyonu dahil olmak üzere yara iyileşme süreçlerinin çeşitli aşamalarına etki eder (Maver ve ark. , 2015; Nagori ve Solanki, 2011). *Bauhinia purpurea* kabuğu ekstratının hayvan çalışmalarında antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkileri olduğu gösterilmiştir (Gupta ve ark. , 2005). *Paeoniae rubrae* ekstratı yanık rat modelinde incelenmiş ve yanıklardan kaynaklanan mikrosirkülasyon bozukluğunu etkili bir şekilde önlediği, vasküler kasılmayı inhibe ettiği ve eritrositlerin mikrovasküler agregasyonunu azalttığı bulunmuştur (Chu, 1990). Çin'de yaygın olarak kullanılmakta olan *Angelica dahurica* ekstratının, neovaskülarizasyon ve granülasyon dokusu oluşumunu teşvik ederek diyabetik yara iyileşmesini hızlandırdığı bulunmuştur (Zhang ve ark. , 2017). *Acarus calamus* ekstratının etkinliği deride tam kalınlık yara oluşturulan sıçanlarda kullanılarak değerlendirilmiş; veriler, *Acarus calamus* ekstratının kolajen maturasyonunu teşvik ettiğini, yaranın gerilme kuvvetini artırdığını ve lipid peroksit seviyelerini azalttığını göstermiştir (Ponrasu ve ark. , 2014).

4.7. Aronia Melanocarpa

Chokeberry olarak adlandırılan aronia meyveleri, Kuzey Amerika'nın Doğu kısmına özgü olan Rosaceae ailesine aittir. Mayıs ayında çiçeklenip, Ağustos ve Eylül aylarında hasadı yapılan, ömrü 15-20 yıl olan, 2-3 m kadar boylanabilen çalı formunda bir meyve türüdür. Kırmızı

meyveli (*Aronia arbutifolia* (L.) Elliot), mor meyveli (*Aronia prunifolia Marsh*), siyah meyveli (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) olarak en çok bilinen üç aronia türü bulunmaktadır (Şekil 4). Önceleri yalnızca süs bitkisi olarak değerlendirilen aronia, düşük sıcaklık derecelerinde (-30ºC) büyüyebildiği ve meyvelerinin sağlık yönünden üstünlüklerinin anlaşılmasından itibaren yetiştiriciliği yaygınlaşmaya başlamıştır. Süs çeşitlerinin hepsinin yenilebilir meyveleri olmasına rağmen meyveleri daha küçük ve verimleri meyve veren çeşitlerden daha düşüktür (Kokotkiewicz ve ark. , 2010).

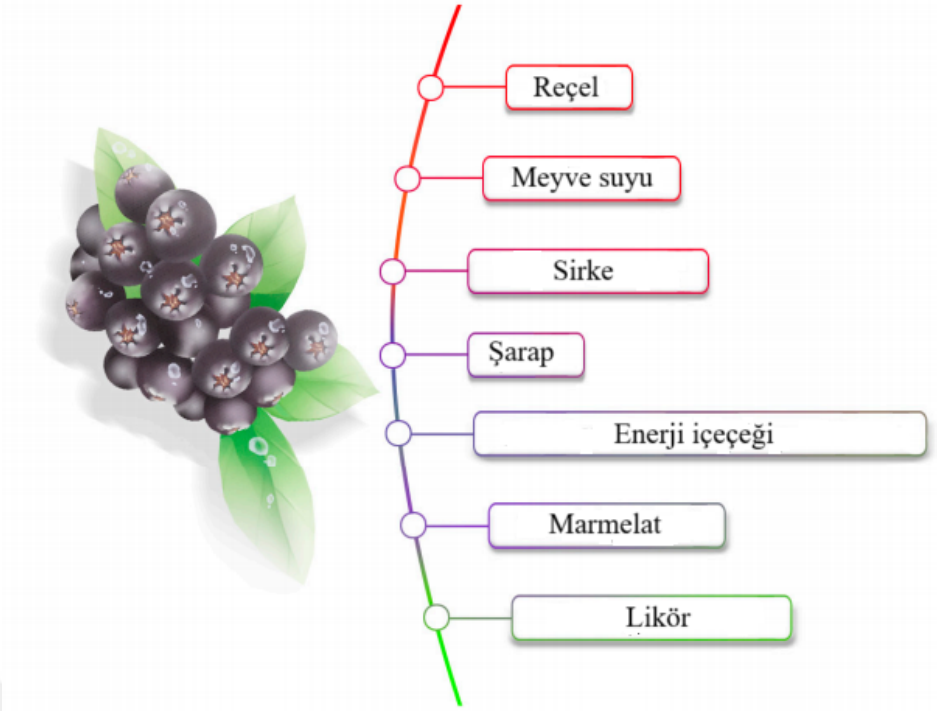


Şekil 4. (a) *Aronia arbutifolia*, (b) *Aronia prunifolia* ve (c) *Aronia melanocarpa*

Aronia melanocarpa, 19. yüzyılda Rusya'ya ithal edildikten sonra popüler hale gelmiş ve başlangıçta ev bahçelerinde yetiştirilmeye başlanmıştır. Sovyetler Birliği'nde büyük ölçekli ticari *Aronia melanocarpa* yetiştiriciliği 1940'ların sonunda başlamış ve 1984 yılında Sibirya'da 17.800 hektara kadar ulaşmıştır. 1986 yılında, pigment kaynağı elde etmek amacıyla İsveç'te ticari *Aronia melanocarpa* yetiştiriciliği projesi başlatılmıştır. Polonya, Çek Cumhuriyeti, Slovakya ve Ukrayna ve Sırbistan'da oldukça popülerdir (A. Persson ve ark. , 2004).

Ülkemiz için yeni bir meyve olan *Aronia melanocarpa*'ya talep ve yetiştiriciliği son yıllarda giderek artmaktadır. Türkiye'de ilk çalışmalar 2012 yılında Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde fidan üretimi ile başlanmış, 2014 yılında Yalova ve Kırklareli'de küçük bahçeler oluşturulmaya başlamıştır. 2017 yılından itibaren Yalova, Çanakkale, Samsun, İstanbul, Antalya ve Bursa, Bayburt, Ankara, İzmir, Çanakkale, Bolu, Trabzon, Giresun, Kırşehir ve Tekirdağ'da bahçeler kurulmaya devam etmiştir. Ülkemizde en büyük üretim alanı Kırklareli'nde olup onu Bursa ve Manisa izlemektedir (Şahin ve Erdoğan, 2022).

Aronia melanocarpa'daki yüksek tanen ve diğer polifenolik bileşikler nedeniyle tadı buruktur dolayısıyla nadiren meyvesi taze ve kurutulmuş olarak tüketilebilmektedir. Ekmek, çörek, kek, yoğurt, sos, dondurma, puding, pasta, baharat, reçel, marmelat, konserve, meyve suyu, yumuşak şekerlemeler, sakız, şarap, sirke, alkollü içecek, meyve suyu konsantresi, besin takviyesi ve çay yapımında meyve ve yaprakları kullanılabilmektedir (Şekil 5) (Tolic ve ark. , 2017).



Şekil 5. *Aronia Melanocarpa* kullanım alanları

4.7.1. *Aronia Melanocarpa*'nın kimyasal içeriği

Aronia melanocarpa içeriğinde bulunan proantosiyanidinler, antosiyanin, kuersetin, flavonoidler ve fenolik asitler gibi polifenolik bileşikleri içerir (Şekil 6). Zengin polifenol kaynağı bakımından dolayı *in vitro* antioksidan aktivitesi en yüksek olan meyvelerden biridir. Ayrıca, *Aronia melanocarpa* C, A, K, B2, B3 ve B9 vitaminleri, bakır, mangan, molibden ve polisakkaritler bakımından zengin ve eser miktarda demir, çinko ve kobalt içerir (Şekil 6) (Kokotkiewicz ve ark. , 2010).

Şekil 6. *Aronia melanocarpa* aktif bileşenleri

4.7.1.1. Proantosiyanidinler

Proantosiyanidinler, *Aronia melanocarpa* meyvesindeki ana fenolik aktif maddelerdir (Tablo 4). Proantosiyanidinler temel olarak C-C bağları ile bağlanmış farklı sayıda kateşin birimlerinin oluşturduğu polimerlerden oluşur. Meyvenin buruk tadının ana nedeni proantosiyanidinlerdir (Bräunlich, Slimestad, ve ark. , 2013). Proantosiyanidinler monomer, dimer, trimer ve 10'dan fazla polimer şeklinde bulunmaktadır (Wu ve ark. , 2004).

Tablo 4. *Aronia melanocarpa*'nın ana polifenol bileşenleri

Element	Ağırlık (µg/g)
Proantosiyanid B1	129.78
Proantosiyanid B2	3834.99
Proantosiyanid B4	196.02
Rutin	134.40
Kuersetin	79.10

4.7.1.2. Antosiyaninler

Meng ve ark. (2019), *Aronia melanocarpa*'nın antosiyanin bileşenlerini test etmiş ve bulunan başlıca antosiyaninler: siyanidin-3,5-diheksosid, siyanidin-heksosid dimer, siyanidin-3-O-(galaktozid, glukozid, arabinosid, ksilosid) ve delfinidin-3-O-rutinosid dimerdir. Gao ve ark. (2024), tarafından yapılan araştırma, *Aronia melanocarpa* polifenollerinin ana maddesinin yüksek oranda polimerize proantosiyanidin olduğunu göstermiştir. Antosiyanin, ısı-asit-alkol işlemi altında doğrudan siyanidine dönüştürülebilir olduğu ve dönüştürme işleminden sonra, yüksek oranda polimerize proantosiyanidinin hücreler üzerinde antioksidan aktivitesi 4,77 kat arttığı bulunmuştur.

4.7.1.3. Flavonoidler

Flavonoidler *Aronia melanocarpa*'nın önemli aktif bileşenlerinden biridir. *Aronia melanocarpa* içeriğindeki flavonoidleri tespit etmek için gaz kromatografisi kütle spektrometresi teknolojisi kullanılmış ve toplam flavonoid içeriğinin %0,233 olduğu bulunmuştur. Ayrıca, yapılan çalışmalarda *Aronia melanocarpa* flavonoidlerinin kuersetin, rutin, hiperozid içerdiğini göstermiştir (Gao ve ark. , 2024).

4.7.1.4. Fenolik asitler

Fenolik asit, aynı benzen halkası üzerinde bir veya birden fazla fenolik hidroksil grubuna sahip bileşenleri kapsar. Bu bileşenler; kafeik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit, gallik asit, protokateşik asit, ferulik asit ve sinapinik asittir. *Aronia melanocarpa*'daki fenolik asitlerin ana bileşenleri klorojenik asit ve neoklorojenik asittir. Ochmian ve ark. (2012), 100 g *Aronia melanocarpa*'nın klorojenik asit içeriğini 72-84 mg ve neoklorojenik asit içeriğini 62,2-72,1

mg olarak ölçmüştür. *Aronia melanocarpa* ekstratındaki fenolik asitleri tespit etmek için yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanmış ve başlıca 0,045 mg/g gallik asit, 0,102 mg/g protokateşik asit, 0,055 mg/g p-hidroksibenzoik asit, 0,686 mg/g kafeik asit, 10,206 mg/g benzoik asit, 0,295 mg/g p-kumarik asit, 0,267 mg/g ferulik asit ve 0,253 mg/g sinnamik asit fenolik asitleri bulunmuştur (Gao ve ark. , 2024).

4.7.1.5. Polisakkaritler

Aronia melanocarpa polisakkaritlerinin ekstraksiyon işlemini yanıt yüzey metodolojisi ile optimize edilmiş; katı-sıvı oranının 1:10 (g/mL), mikrodalga gücünün 500 W ve ekstraksiyon süresinin 25 dakika olduğu koşullar altında polisakkarit ekstraksiyon oranı %4,46 gibi yüksek bir oranda gerçekleşmiştir. Bu polisakkaritler: galakturonik asit, glukoz, galaktoz ve arabinoz, ksiloz tespit edilmiştir (Gao ve ark. , 2024).

4.7.2. *Aronia Melanocarpa*'nın etkileri

Aronia melanocarpa'nın antioksidatif, antibakteriyel, antiviral, antimutajenik, antikanser, kardiyoprotektif, hepatoprotektif, gastroprotektif, antienflamatuar ve antidiyabetik etkileri bulunmaktadır (Cvetanović ve ark. , 2018; Kokotkiewicz ve ark. , 2010).

4.7.2.1. Antioksidan etki

Aronia melanocarpa çok güçlü antioksidandır. Gao ve ark. (2024), *Aronia melanocarpa* ekstratındaki polifenolleri kullanarak yaptığı *in vitro* antioksidan testler sonucu, *Aronia melanocarpa* polifenollerinin süperoksit anyon, 2,2'-azinobis ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikallerini uzaklaştırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca, *Aronia melanocarpa* polifenollerinin antioksidan kapasitesinin C vitamininkinden daha yüksek olduğu ve konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivitesinin arttığı ortaya konulmuştur (Lei ve ark. , 2023). Bräunlich ve ark. (2013), *Aronia melanocarpa*'dan ekstrate edilen siyanidin-3-galaktosid, siyanidin-3-glukosid ve siyanidin-3-arabinosidin DPPH serbest radikalleri üzerinde çok güçlü temizleme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Rugină ve ark. (2015), yaptığı hayvan çalışmasında, *Aronia melanocarpa* polifenollerinin iyonize radyasyon nedeniyle açığa çıkan süperoksit anyonlarını etkili bir şekilde temizleyebildiğini göstermiştir. Borowska ve ark. (2016), tarafından yapılan çalışmada ise, *Aronia melanocarpa*'nın ağır metaller veya toksik maddeler sonucu oluşan oksidatif stresin neden olduğu hastalıkları etkili bir şekilde önleyebileceği ve tedavi edebileceği gösterilmiştir.

4.7.2.2. Antienflamatuvar etki

Aronia melanocarpa vücutta güçlü bir antienflamatuvar etki gösterir. Bararu ve ark. (2013), diyabetik sıçanları *Aronia melanocarpa* ekstratı ile beslemiş ve sıçanlarda enflamasyona neden olan monosit ve granülosit sayısının azaldığını ve aterosklerotik plak oluşumuna neden olan lenfositlerin baskılandığı sonucuna varmışlardır. Kuzmanova ve ark. (2018), sıçanlarda kolit

oluşturmak için trinitrobenzen sülfonik asit kullanmış ve ardından sıçanları 14 gün boyunca 2,5, 5,0 ve 10,0 mL/kg *Aronia melanocarpa* ekstratı ve 400 mg/kg sülfasalazin ile beslemişlerdir. Çalışmada, 2,5 veya 5,0 mL/kg *Aronia melanocarpa* ekstratının antienflamatuvar etkisinin, sülfasalazin ile eşdeğer olduğu bulunmuştur.

4.7.2.3. Antibakteriyel ve antiviral etki

*Aronia melanocarp*a'nın antibakteriyel ve antiviral etkileri bulunmaktadır. *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* ve *Saccharomyces cerevisiae* türleri üzerinde antibakteriyel etkinliği ile ilgili değerlendirmeler yapılmış ve *Aronia melanocarpa* içeriğinde bulunan proantosiyanidinlerin *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde güçlü inhibitör etkilere sahip olduğu, ancak *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde neredeyse hiçbir etkisi olmadığı bulunmuştur (Efenberger-Szmechtyk ve ark. , 2021). Yapılan başka bir çalışmada ise *Aronia melanocarpa* içeriğinde bulunan polifenollerin, *Bacillus subtilis, Alicyclobacillus, Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes* ve *Saccharomyces cerevisiae* dahil olmak üzere beş bakteri türü üzerinde önemli inhibitör etkileri olduğu bulunmuştur (Kim ve Shin, 2020). *Aronia melanocarpa*'dan elde edilen farklı polifenollerin antibakteriyel etkileri değerlendirilmiş ve antosiyaninler, proantosiyanidinler, neoklorojenik asit ve klorojenik asidin *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella enterica, Listeria monocytogenes* ve *proteus, Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* dahil olmak üzere 10 çeşit patojen bakteriye karşı etkili olduğu ve belirli antibakteriyel etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. *Aronia melanocarpa* proantosiyaninin en güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Bräunlich, Økstad, ve ark. , 2013; Denev ve ark. , 2019).

Park ve ark. (2013), *Aronia melanocarpa* polifenollerinin H1N1, H3N2 ve H5N1 gibi çeşitli influenza virüsü alt tipleri üzerinde *in vivo* inhibitör etkilere sahip olduğunu ve fareleri fatal virüs saldırılarından koruyabildiğini göstermiştir. *Aronia melanocarpa*, doğrudan veya dolaylı olarak viral replikasyonu inhibe edebilir ve influenzayı önleme ve tedavi etme potansiyeline sahiptir (Gramza-Michałowska ve ark. , 2017).

4.7.2.4. Antimutajenik ve antikanser etki

Aronia melanocarpa, içeriğinde bulunan antosiyaninler sayesinde, serbest radikalleri uzaklaştırarak ve promutajen aktivasyonundan sorumlu enzimleri inaktive ederek *in vitro* antimutajenik aktivite gösterir. Antimutajenik aktivitenin değerlendirildiği Ames testinde, *Aronia melanocarpa*'dan izole edilen antosiyaninlerin varlığında benzoapiren ve 2-aminofluorenin mutajenik aktivitelerinin neredeyse tamamen yok olduğu görülmüştür (Gąsiorowski ve ark. , 1997). *İn vitro* insan kaynaklı lenfositler kullanılarak yapılan kardeş kromatid değişim testi de *Aronia melanocarpa* ekstratlarının önemli antimutajenik aktivitesini ortaya koymuştur. Yüksek antosiyanin dozu benzoapirenin genotoksisitesini yaklaşık %30,

mitomisin C'ninkini ise yaklaşık %10 oranında azalttığı bulunmuştur (Gąsiorowski ve ark. , 1997). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise, sistemik *Aronia melanocarpa* ekstratı kullanımının kolon hücrelerinde azoksimetan kaynaklı kolon kanseri biyobelirteci olan anormal kript odakların oluşumunun önemli ölçüde engellediği ve *Aronia melanocarpa* içeriğindeki antosiyaninlerinin kemopreventif etkisini doğrulamıştır (Lala ve ark. , 2006). Aminoprin ve sodyum nitrit uygulanan sıçanlarda *Aronia melanocarpa*'nın karsinojenik N-nitrozamin oluşumunu etkili bir şekilde inhibe ettiği, serumda transaminaz aktivitesini ve karaciğer hasarını azaltarak ortaya koymuştur (Atanasova-Goranova ve ark. , 1997).

4.7.2.5. Kardiyoprotektif

Aronia melanocarpa, vazodilatasyonu artırarak, kan basıncını düşürerek, kan pıhtısı oluşumunu ve LDL oksidasyonunu azaltarak kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. *Aronia melanocarpa* ekstratı doz bağımlı vazodilatasyona neden olur. *Aronia melanocarpa* çok düşük konsantrasyonlarda, koroner arterleri ROT'un neden olduğu vazokonstrüksüyondan korur (Bell ve Gochenaur, 2006). *Aronia melanocarpa*, çeşitli klinik çalışmalarla ortaya konan belirgin antihipertansif aktiviteye sahiptir. Metabolik sendromlu hastalarda, 2 aylık antosiyanin tedavisi, kontrol grubuna kıyasla arteriyel basınç değerlerinde düşüşle sonuçlanmıştır (Broncel ve ark. , 2007). Benzer antihipertansif etkiler, 6 hafta boyunca *Aronia melanocarpa* meyve suyu tüketen hafif hiperkolesterolemili erkeklerde de gözlenmiştir (Skoczyñska ve ark. , 2007). *Aronia melanocarpa*'nın lipid düşürücü aktivitesi, deneysel olarak indüklenmiş hiperkolesterolemili sıçan modelleri kullanılarak kanıtlanmıştır. 30 gün boyunca hiperkolesterolemik (%1-4 kolesterol) diyete ilaveten *Aronia melanocarpa* meyve suyu takviyesi, *Aronia melanocarpa* ile beslenmeyen kontrol grubuna kıyasla, kan plazmasındaki toplam kolesterol, LDL ve trigliserit seviyelerinde önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür (Valcheva-Kuzmanova, Kuzmanov, Mihova, ve ark. , 2007). Lipid düşürücü, vazorelaksatif ve antihipertansif aktivitelerin yanı sıra, *Aronia melanocarpa in vitro* insan trombositleri üzerinde önemli bir antiagregan etki gösterebildiği ortaya konmuştur. İlginç bir şekilde, *Aronia melanocarpa* ekstratının bu aktivitesi, kardiyovasküler hastalık riski taşıyan hastalarda trombositlerin süperoksit üretimini engelleme etkisinden bağımsız olduğu bulunmuştur. Hem risk grubundaki hastalarda hem de sağlıklı bireylerde antiagregan etkisi gözlenmiş ve bu etkinin doza bağımlı olduğu, polifenol konsantrasyonu arttıkça, antiagregan etkinin arttığı gösterilmiştir (Ryszawa ve ark. , 2006). Karşılaştırmalı bir *in vitro* çalışmada, *Aronia melanocarpa* ekstratının üzüm çekirdeği ekstratına benzer ve *Yucca schidigera* kabuğundan elde edilen ekstrattan daha düşük antiagregan aktivite sergilediği ve bu antiagregan etkisinin dozla doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. Bahsedilen tüm ekstratlar trombosit

agregasyonunu, adezyonunu ve süperoksit oluşumunu inhibe etmiş ve saf resveratrol çözeltisinden daha güçlü etkileri olduğu gösterilmiştir (Olas ve ark. , 2008).

4.7.2.6. Hepatoprotektif etki

Kondeva-Burdina ve ark. (2015), sıçan karaciğer hücrelerini CCl_4 ve tert-bütil hidroperoksite maruz bırakmış ve *Aronia melanocarpa* meyve suyunun, hücre canlılığını ve glutatyon (GSH) konsantrasyonunu artırarak, malondialdehit (MDA) ve laktat dehidrogenaz (LDH) konsantrasyonunu ise azaltarak karaciğer hücrelerini koruyabildiği bulunmuştur. Kuzmanova ve ark. (2015), *Aronia melanocarpa* meyve suyunun, parasetamolun neden olduğu hepatotoksik etkileri engelleyebildiğini ve karaciğeri koruyabildiğini bulmuştur, ancak etki mekanizması bildirilmemiştir.

4.7.2.7. Gastroprotektif etki

Aronia melanocarpa ekstratının sıçanlarda etanol kaynaklı mide ülserleri üzerindeki etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, *Aronia melanocarpa* ekstratının gastrik mukozal hasarı ve ödem oluşumunu önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Paulrayer ve ark. , 2017).

4.7.2.8. Antidiyabetik etki

Aronia melanocarpa, hipergliseminin neden olduğu oksidatif stresi kontrol altına alarak potansiyel antidiyabetik aktivite gösterir (Banjari ve ark. , 2017). Deneysel DM oluşturulmuş erkek Wistar sıçanlara sekiz hafta boyunca günlük olarak *Aronia melanorcarpa* 100 mg/kg etanol ekstresi verildiğinde, kan glikoz ve serum insülin seviyesi ile insülin direnci önemli ölçüde azalmış, glikoz tolerans ve karaciğer glikojen seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (Mu ve ark. , 2020). İnsanlarda yapılan bir çalışmada, 35 tip 2 DM'li hasta, standart diyabetik tedavilerinin yanı sıra fenol bakımından zengin *Aronia melanocarpa* meyve suyu günde 3 kere 50 mL tüketmiştir. Hastaların sağlık durumlarının iyileştiği görülmüştür. Bu durum, *Aronia melanocarpa* meyve suyunun diyabetin önlenmesi ve tedavisi için umut verici bir ajan olabileceğini göstermiştir (Milutinović ve ark. , 2019). *Aronia melanocarpa*'nın tip 1 DM tedavisinde de etkili olduğu gösterilmiştir. Tip 2 DM'den farklı olarak tip 1 DM, pankreatik β hücrelerinin hasar gördüğü ve insülinin üretilemediği bir otoimmün reaksiyondan kaynaklanır. Dolayısıyla, tip 1 DM insüline bağımlıdır ve yüksek kan glikoz seviyeleri nedeniyle ciddi bir organ yetmezliği ile ilişkilidir. Tip 1 DM hayvan modeliyle yapılan bir çalışmada, 31 gün boyunca her gün *Aronia melanocarpa* etanol özütü ile gavaj yapılmış ve pankreas β hücrelerinin korunduğu ve kan glikoz seviyelerinin düştüğü bulunmuştur. Bu sonuçlar, *Aronia melanocarpa* tüketiminin pankreatik β hücrelerinin korunmasında ve tip 1 DM tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir (Olechno ve ark. , 2022).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

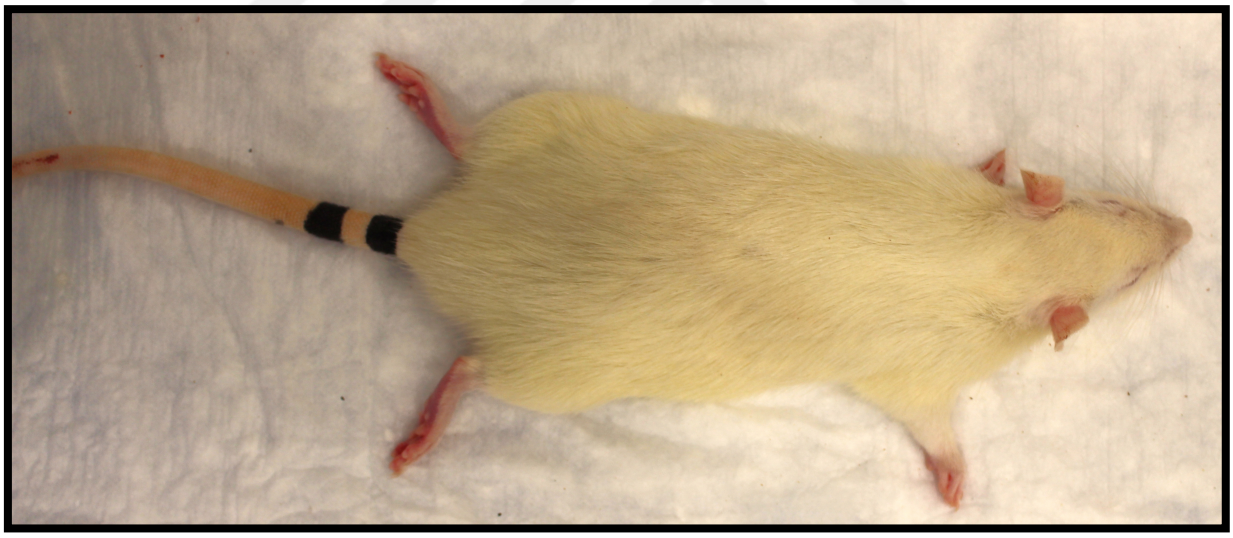
Çalışma protokolü, T.C Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 21.02.2024 tarihli toplantısında alınan, 2024/06 protokol no'lu Etik Kurul kararı ile onaylandı (Ek 1).

5.1. Örneklem Sayısının Hesaplanması

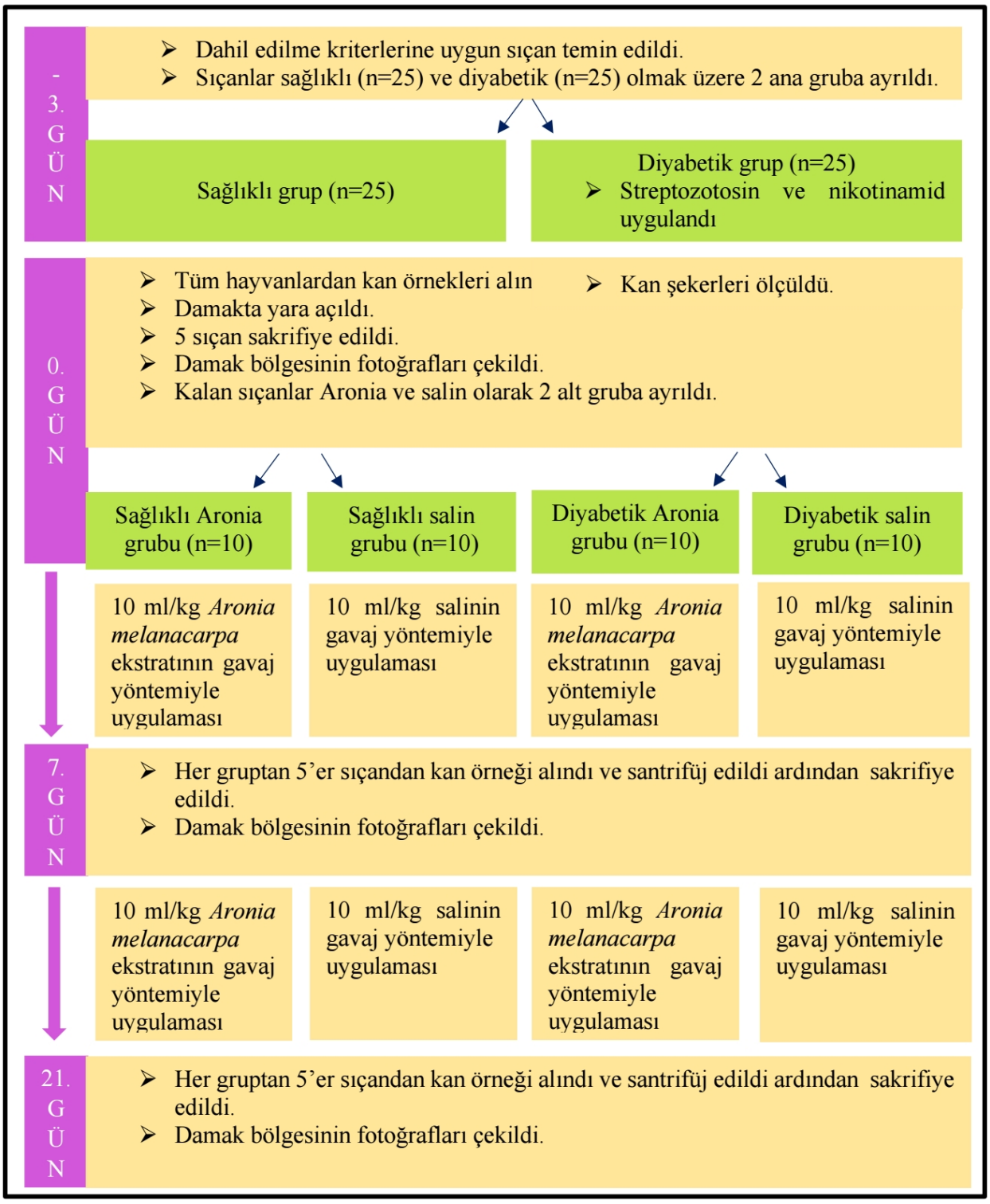
Örneklem sayısı G-POWER 3.1.9.2 (G Power Version 3.1.9.2, 2014, Kiel Üniversitesi, Almanya) programı kullanılarak belirlendi. Benzer çalışma tasarımına sahip önceki çalışma (Rahati ve ark. , 2016) referans alınarak, 0,85 etki büyüklüğü, %90 güç ve 0,50 hata payı ile her bir grup için örneklem sayısı n=5, toplam örneklem sayısı ise n=50 olarak hesaplandı.

5.2. Deney Hayvanlarının Seçilmesi

Bu çalışmada deney hayvanı olarak; ortalama 3 aylık, ağırlıkları 250-400 gr arasında değişen, sistemik olarak sağlıklı 50 adet genç erişkin erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı (Şekil 7). Çalışmada kullanılan deney hayvanları, Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve çalışmanın deneysel kısmı aynı merkezde yürütüldü. Araştırmanın deney akış şeması şekil 8'de gösterilmektedir.



Şekil 7. Wistar Albino sıçan

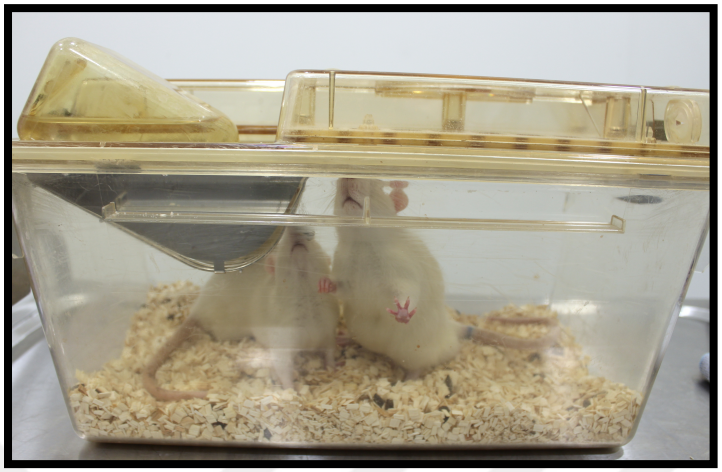


Şekil 8. Deney akış şeması

5.3. Deney Hayvanlarının Bakımı

Hayvanların bakımı Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Araştırma boyunca, ARRIVE'nin hayvan bakımı ve deney protokollerine ilişkin yönergelerine bağlı kalındı (Percie du Sert ve ark. , 2020). Sıçanlar, 22 ± 1 °C sıcaklıkta, %40-60 nem seviyesine sabitlenmiş ve 12 saat aydınlık/12

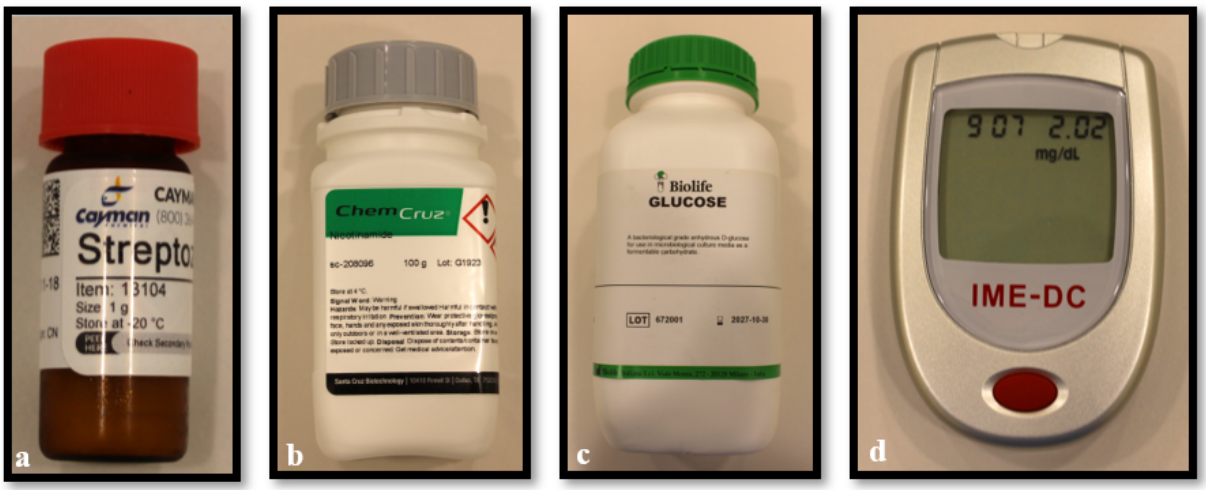
saat karanlık döngüsüne sahip, filtrelenmiş havalandırması olan bir hayvan odasındaki standart deney kafeslerinde bir kafeste en fazla 3 adet sıçan olacak şekilde tutuldu (Şekil 9). Kafesler, düzenli olarak temizlendi. Sıçanlar ad libitum olarak saf su ve standart sıçan yemi ile beslendi. Uzman bir veteriner gözetiminde takipleri yapıldı.



Şekil 9. Standart sıçan kafesi

5.4. Deneysel Diabetes Mellitus Oluşturulması

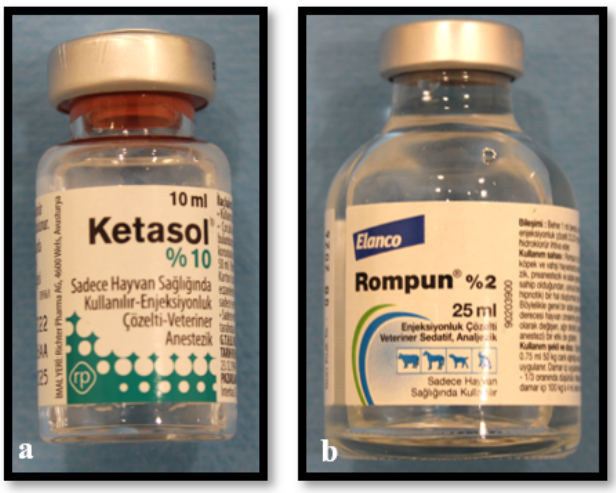
Çalışmada streptozotosin (STZ) (Sigma Chemical Co., St. Louis Missouri, ABD) ve nikotinamid (NA) (Acros Organics BV, Geel, Belçika) kullanılarak (Şekil 10 a,10 b), deneysel olarak tip 2 DM oluşturuldu. Deney öncesi rastgele seçilen 25 adet sıçan bir gece aç bırakıldıktan sonra kan glikoz seviyeleri ölçüldü ve diyabet oluşturulmak üzere intraperitoneal olarak 110 mg/kg NA uygulanmasından 15 dk sonra distile su içerisinde çözündürülen STZ tek doz 65 mg/kg intraperitoneal olarak enjekte edildi. Masif pankreatik insülin salınımına bağlı hipoglisemiyi önlemek için sıçanlara STZ uygulamasından 6 saat sonra %5 glikoz solüsyonu (Biolife Glucose, Milano, İtalya) (Şekil 10 c) ilk 24 saatte verildi. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan kanda, kan glikoz ölçüm cihazı (eBsensor Blood Glucose Monitoring System, Visgeneer Inc., Tayvan) (Şekil 10 d) ve cihaza uygun test stripleri kullanılarak kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Kan glikoz düzeyi 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edildi (Parmar ve ark. , 2018) ve çalışmaya dâhil edildi.



Şekil 10. Sıçanlarda deneysel olarak diyabet oluşturulmasında kullanılan (a) streptozotosin, (b) nikotinamid, (c) glikoz solüsyonu, (d) glikoz ölçümünde kullanılan kan glikoz ölçüm cihazı

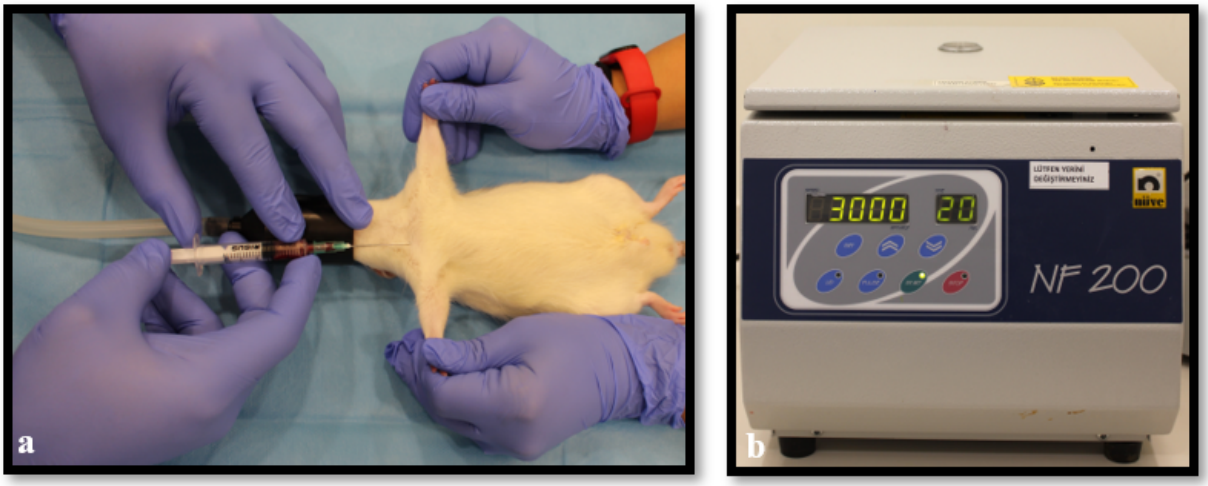
5.5. Damakta Cerrahi Yara Oluşturulması

Tüm cerrahi işlemler steril cerrahi koşullar altında asepsi, antisepsi ve sterilizasyon kurallarına dikkat edilerek veteriner hekim kontrolünde, tek bir araştırmacı (ET) tarafından gerçekleştirildi. Hayvanlarda yara oluşturulmadan önce sıçanlar intraperitoneal olarak 100 mg/kg Ketamin-HCL (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) (Şekil 11 a), 10 mg/kg Ksilazin-HCL (Rompun, Bayer, Almanya) (Şekil 11 b) enjeksiyonuyla anestezi altına alındı.



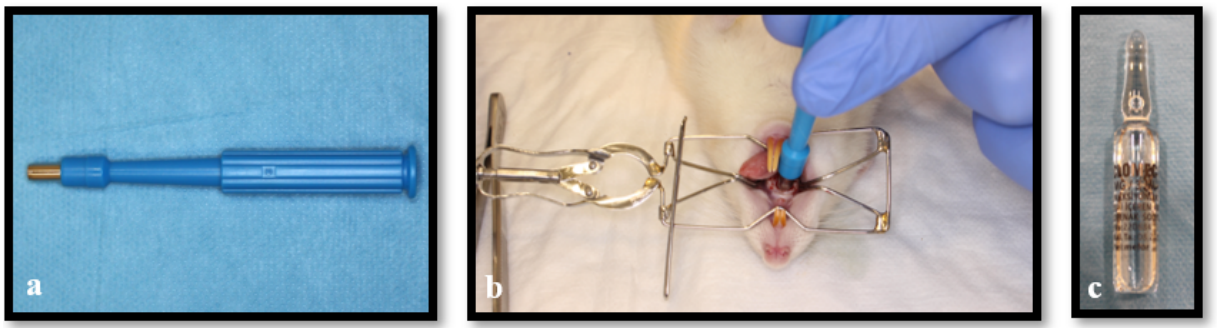
Şekil 11. Sıçanlara anestezi için uygulanan (a) Ketamin-HCL ve (b) Ksilazin HCL

Sıçanların klavikulanın altındaki juguler venden 1 cc'lik enjektör ile kan örnekleri alındıktan (Şekil 12 a) sonra 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 3000 x g de 20 dakika santrifüj (Şekil 12 b) edilerek serum örnekleri elde edildi. Örnekler biyokimyasal testler yapılana kadar -80 °C'de saklandı.



Şekil 12. (a) Sıçanların klavikulanın altındaki juguler venden 1 cc'lik enjektör ile kan örneklerinin alınması, (b) alınan kan örneklerinin 3000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilmesi

Sıçanların ağız içi uygulamalarında yeterli ağız açıklığını sağlamak, başı uygun konuma getirmek ve yumuşak dokuların ekartasyonunu kolaylaştırmak için özel tasarlanmış ağız ekartörü kullanıldı. Sıçanlarda palatinal mukozanın ortasında, tek kullanımlık punch biyopsi aleti (Kai Medikal, Kai Industries Co., Ltd., Seki, Japonya) (Şekil 13 a) kullanılarak 4 mm çapında tam kalınlık defekt oluşturuldu (Şekil 13 b). Kanama kontrolü yapıldıktan sonra mukoperiostal yaralar sekonder iyileşmeye bırakıldı. Yaraların oluşturulduğu ilk gün 0. gün olarak kaydedildi. Operasyon sonrası tüm hayvanlara analjezik olarak günde bir kere 10 mg/kg Diclofenac sodium (Dicloron, Deva, Türkiye) (Şekil 13 c) intraperitoneal yolla uygulandı. *Aronia melanocarpa* ekstratının antimikrobiyal özelliğinden dolayı postoperatif dönemde herhangi bir antimikrobiyal ilaç verilmesine ihtiyaç duyulmadı (Efenberger-Szmechtyk ve ark. , 2020).



Şekil 13. (a) Tek kullanımlık punch biyopsi aleti, (b) sıçanların ağzı içerisinde ekartör kullanarak palatinal bölgede 4 mm çapında yara oluşturulması, (c) postoperatif analjezi için uygulanan Diclofenac sodium

5.6. Çalışma Grupları

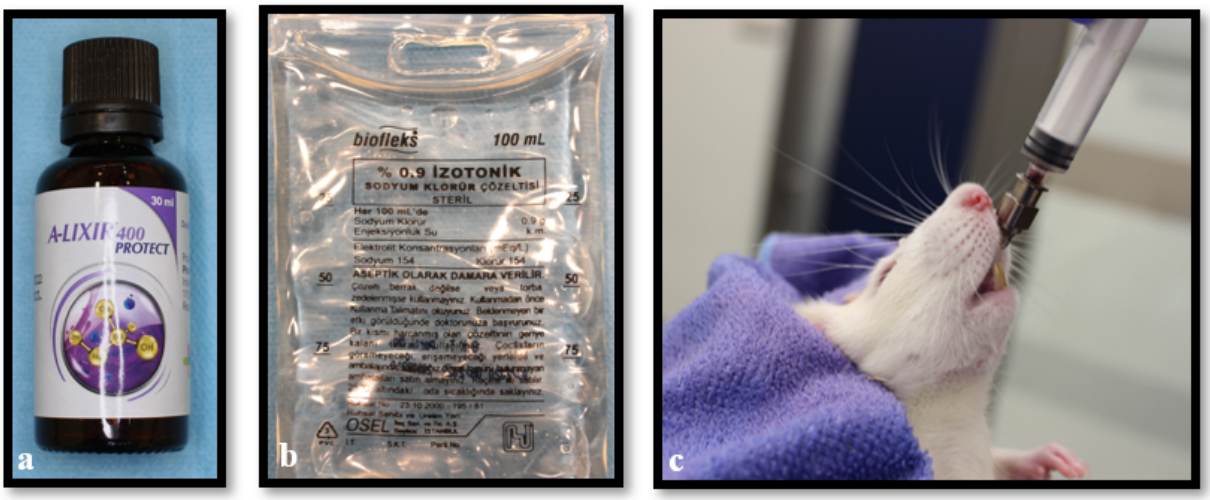
Çalışmada kullanılan 50 sıçandan 25'i sağlıklı olarak, 25'i ise deneysel diyabet oluşturulmak üzere bilgisayar destekli bir program (https://www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1/) kullanarak rastgele gruplara ayrıldı. Sağlıklı ve diyabetik gruplardaki sıçanların palatal mukozalarında yara oluşturulmasını takiben başlangıç değerlerinin elde edilebilmesi için Sağlıklı Kontrol (SK) ve Diyabetik Kontrol (DK) alt gruplarını oluşturacak şekilde her iki gruptan da 5'er sıçan 0. günde sakrifiye edildi. Ardından *Aronia Melanocarpa* (A-LIXIR 400 PROTECT, Pharmanova, Sırbistan) (Şekil 14 a) uygulama ve DM durumuna göre çalışma grupları (Tablo 5) şu şekilde oluşturuldu:

Sağlıklı Salin (SS) Grubu (n=10): Bu gruptaki sıçanlara damakta cerrahi müdahale ile yara oluşturulmasını takiben 21 gün boyunca günde 2 kez olmak üzere her gün toplam 10 ml/kg salin solüsyonu (1 Ml %0,9 NaCl) (Polifarma, Tekirdağ, Türkiye) (Şekil 14 b) orogastrik gavaj (Şekil 14 c) yöntemiyle verildi. Bu gruptan 5'er sıçan 7 ve 21. günlerde sakrifiye edildi.

Sağlıklı Aronia (SA) Grubu (n=10): Bu gruptaki sıçanlara damakta cerrahi müdahale ile yara oluşturulmasını takiben 21 gün boyunca günde 2 kez olmak üzere her gün toplam 10 ml/kg *Aronia Melanocarpa* ekstratı orogastrik gavaj yöntemiyle verildi. Bu gruptan 5'er sıçan 7 ve 21. günlerde sakrifiye edildi.

Diyabetik Salin (DS) Grubu (n=10): Bu gruptaki sıçanlara damakta cerrahi müdahale ile yara oluşturulmasını takiben 21 gün boyunca günde 2 kez olmak üzere her gün toplam 10 ml/kg salin solüsyonu orogastrik gavaj yöntemiyle verildi. Bu gruptan 5'er sıçan 7 ve 21. günlerde sakrifiye edildi.

Diyabetik Aronia (DA) Grubu (n=10): Bu gruptaki sıçanlara damakta cerrahi müdahale ile yara oluşturulmasını takiben 21 gün boyunca günde 2 kez olmak üzere her gün toplam 10 ml/kg *Aronia Melanocarpa* ekstratı orogastrik gavaj yöntemiyle verildi. Bu gruptan 5'er sıçan 7 ve 21. günlerde sakrifiye edildi.



Şekil 14. (a) *Aronia Melanocarpa*, (b) salin ve (c) oragastrik gavaj uygulaması

Tablo 5. Çalışma grupları

ANA GRUPLAR	n	ALT GRUPLAR	n
SAĞLIKLI (S) GRUP	25	Sağlıklı Kontrol (SK)	5
		Sağlıklı Salin (SS) Grubu	10
		Sağlıklı Aronia (SA) Grubu	10
DİYABETİK (D) GRUP	25	Diyabetik Kontrol (DK)	5
		Diyabetik Salin (DS) Grubu	10
		Diyabetik Aronia (DA) Grubu	10

5.7. Aronia melanocarpa ekstratının içeriği

Aronia melanocarpa ekstratının kimyasal analizi, flavonoidlerin ve antosiyaninlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için C-18 ters fazlı kolon ayrımına dayalı yüksek performanslı sıvı kromatografi diyot dizi dedektörü (HPLC-DAD) kullanılarak üretici firma tarafından gerçekleştirilmiştir (Tasic ve ark. , 2021). İçeriğinde aşağıdaki bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir;

✓ 80,40 mg/mL siyanidin 3-galaktosid,

✓ 19,71 mg/mL siyanidin 3-arabinosid,

✓ 4,92 mg/mL siyanidin 3-glukosid,

✓ 4,26 mg/mL siyanidin 3-ksilosid,

✓ 3,55 mg/mL rutin,

✓ 8,12 mg/mL hiperosid

✓ 4,36 mg/mL isoquercetin

✓ Toplam polifenol miktarı 410 mg/mL

✓ Toplam enerji değeri 502.47 kJ (118.23 kcal) /100 mL'dir.

5.8. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Elde Edilmesi

Her gruptan 5 sıçan 0, 7 ve 21. günlerde sakrifiye edildi. Sıçanların anestezi altında dekapitasyon yöntemiyle sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi. Sakrifiye edilen sıçanların kafaları vücutlarından giyotin ile diseke edildi. Maksillaları keskin bir makas yardımı ile mandibuladan ayırıldı. Örnekler %4'lük tamponlanmış nötral formaldehit (Atabay Kimya, İstanbul) içeren kaplara alındı. Histomorfometrik ve histolojik değerlendirmeler için Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarı'na teslim edildi.

5.9. Klinik Değerlendirme

Yara bölgesi, cerrahi olarak yaranın oluşturulduğu 0. gün, sıçanların maksillaları ayrıldıktan sonra 7. ve 21. günlerde, kalibrasyon sağlamak amacıyla UNC 15 periodontal sond (University of North Carolina, Hu- Friedy Manufacturing Inc., Şikago, IL, ABD) ile sabit bir mesafede ve büyütülmüş olarak fotoğraf makinesi (Canon EOS 5D. Tokyo, Japonya) kullanılarak fotoğraflandı. Fotoğraf çekiminin tamamlanmasının ardından elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı. Ortalama yara alanı her grup için Image J (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, ABD, https://imagej.nih.gov/ij) programı kullanılarak hesaplandı.

5.10. Histomorfometrik Değerlendirme ve Histolojik Değerlendirme

Histomorfometrik ve histolojik değerlendirmeler Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarı'nda deneyimli bir histolog (SDD) tarafından yapıldı.

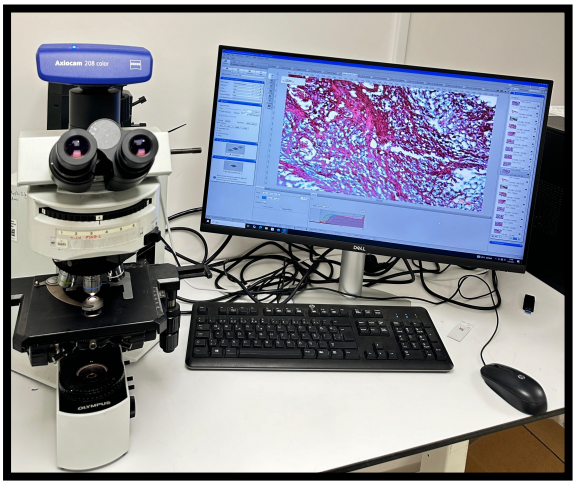
Yara oluşturulan damak bölgesinden elde edilen doku örnekleri, histolojik inceleme için %4'lük tamponlanmış nötral formaldehit ile 24 saat fikse edildi. Fiksasyon işlemini takiben dokular, gün aşırı yenilenen %5 nitrik asit + %5 formik asit'ten oluşan dekalsifikasyon solüsyonu içerisinde dekalsifikasyon işlemine tabi tutuldu. Dekalsifiye olan örnekler bu işlemden sonra her birinde 24 saat bekletilmek üzere sırasıyla %70, %90, %96 ve %100'lük yükselen etil alkol (Merck, New Jersey, ABD) serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi uygulandı. Dokular şeffaflaştırma

işlemi için 3 kez 5 dakika süreyle toluenden (Riedel-de Haën, Honeywell, ABD) geçirildikten sonra infiltrasyon işlemi için 56 °C'lik etüv içerisinde, yumuşak parafinde 46-48 °C ve sert parafinde 56-58 °C 45'er dakika bekletildi. Rutin doku takibi tamamlanan örnekler, sert parafin içerisine gömüldü ve kalıpların oda ısısında sertleşmesi beklendi. Parafin blok haline getirilen doku örneklerinden mikrotom (Leica SM 2000, Wetzlar, Almanya) aracılığı ile her bir yara için damağın orta hattına dik olacak şekilde 5 µm kalınlığında seri beş kesit alındı ve pozitif şarjlı lamlar (Thermo Scientific, İsviçre) üzerine yapıştırıldı.

5.10.1. Masson Trikrom boyama

Parafin dokulardan alınan kesitler ksilol içerisinde 2 saat bekletilerek deparafinize edildi. Deparafinizasyon sonrası dokular %100, %96, %90, %70'lik azalan etil alkol serilerinde 5'er dakika bekletildi ve hidratasyon işlemi uygulandı. Hidratasyon sonrası dokular distile su ile çalkalandıktan sonra Weigert'in demirli hematoksilen boyasında 2 dakika bekletildi ve morartma işlemi için akarsu altında 10 dakika yıkandı. Morartma işleminin ardından 15 sn Fuksinli Ponceu'da çalkalandı, dokular akarsu altında yıkandı ve %1'lik asetik asitte 1 dk bekletildi. Farklılaştırma işlemi için %5'lik Fosfowolframik asitte 15 dk bekletildi ve tekrar %1'lik asetik asitte 1 dk bekletildi. Dokular Işık Yeşili boyasında 2 dk bekletildi ve akarsu altında yıkandı. %1'lik asetik asitte 1 dk bekletildikten sonra dehidratasyon işlemi için %70, %90, %96, %100 yükselen etanol serilerinde 5'er dakika bekletildi. Dehidratasyon sonrası 1 saat ksilol içerisinde bekletilen dokulara şeffaflaştırma işlemi uygulandı ve entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Her kesit, kamera ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus Corporation BX51TF, Tokyo, Japonya) (Şekil 15) kullanılarak x2 büyütmede fotoğraflandı. Çekilen fotoğraflarda Image J (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, ABD, https://imagej.nih.gov/ij) yazılımı kullanılarak,



Şekil 15. Kamera ataçmanlı ışık mikroskobu

her kesitin epitelyal kenarları arasındaki mesafe μm cinsinden ölçülerek histomorfometrik olarak değerlendirildi.

Kolajen miktarını değerlendirmek için önceki bir çalışmada (Nasiry ve ark. , 2017) belirlenen yönteme göre histopatolojik değerlendirme yapıldı. İncelenecek her lam için rasgele 5 bölge olacak şekilde x40 büyütmeli objektif lens kullanılarak bir grupta toplam 25 mikrograf çekildi. Bu çekim tüm gruplar için tekrarlandı. Kolajen miktarı, Image J (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, ABD, https://imagej.nih.gov/ij) yazılımı kullanılarak toplam kırmızı renkli alan mikrograflarından elde edilen skorların ortalaması hesaplandı.

5.10.2. Hematoksilen-Eozin boyaması

Parafin dokulardan alınan kesitler ksilol içerisinde 2 saat bekletilerek deparafinize edildi. Deparafinizasyon sonrası dokular %100, %96, %90, %70'lik azalan etil alkol serilerinde 5'er dakika bekletildi ve hidratasyon işlemi uygulandı. Hidratasyon sonrası dokular distile su ile çalkalandıktan sonra Erlich Hematoksilen boyasında 15 dakika bekletildi. Hematoksilen boyama sonrası dokular akarsu altında yıkandı ve farklılaştırma işlemi için %1'lik asit-alkol çözeltisiyle çalkalandı. Çalkalanan dokular morartma işlemi için akarsu altında 10 dakika yıkandı ve distile sudan geçirildikten sonra Eozin boyasında 1-3 dakika bekletildi. Dokular yeniden akarsu ile yıkandı ve dehidratasyon işlemi için %70, %90, %96, %100 yükselen etanol serilerinde 5'er dakika bekletildi. Dehidratasyon sonrası 1 saat ksilol içerisinde bekletilen dokulara şeffaflaştırma işlemi uygulandı ve entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı. Her kesit, kamera ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus Corporation BX51TF, Tokyo, Japonya) kullanılarak x40 büyütmede fotoğraflandı.

Vaskülarizasyon miktarını değerlendirmek için önceki bir çalışmada (Nasiry ve ark. , 2017) belirlenen yönteme göre histopatolojik inceleme yapıldı. Her bir lam için rasgele 5 bölge olacak şekilde x40 büyütmeli objektif lens kullanılarak bir grupta toplam 25 mikrograf çekildi. Bu çekim tüm gruplar için tekrarlandı. Vaskülarizasyon miktarı, Image J (National nstitutes of Health, Bethesda, Maryland, ABD, https://imagej.nih.gov/ij) yazılımı kullanılarak toplam kırmızı renkli alan mikrograflarından elde edilen skorların ortalaması hesaplandı.

Enflamatuvar hücre infiltrasyonunun değerlendirilmesi için önceki bir çalışmada (Delipinar ve ark. , 2017) belirlenen yönteme göre histopatolojik inceleme yapıldı. Her bir doku örneğinden x10 büyütmede rastgele seçilen beş bölgenin bazofilik boyanan mononüklear hücre yaygınlığı H-SCORE yöntemi ile yarı-kantitatif olarak değerlendirildi. Tarafsız iki kör göz tarafından, hangi gruba ait olduğu bilinmeden, HE boyalı preperatlarda yara bölgesine ait rastgele seçilen 5 bölgede, x40 büyütmede enflamatuvar hücre yoğunluğuna 0-300 arasında bir değer verildi. 0 değeri enflamatuvar hücre infiltrasyonu yok, 1-75 arası çok hafif enflamatuvar hücre infiltrasyonu, 75-150 arası hafif enflamatuvar hücre infiltrasyonu, 150-225 arası orta dereceli

enflamatuvar hücre infiltrasyonu, 225-300 şiddetli enflamatuvar hücre infiltrasyonu şeklinde değerlendirildi (Delipinar ve ark. , 2017).

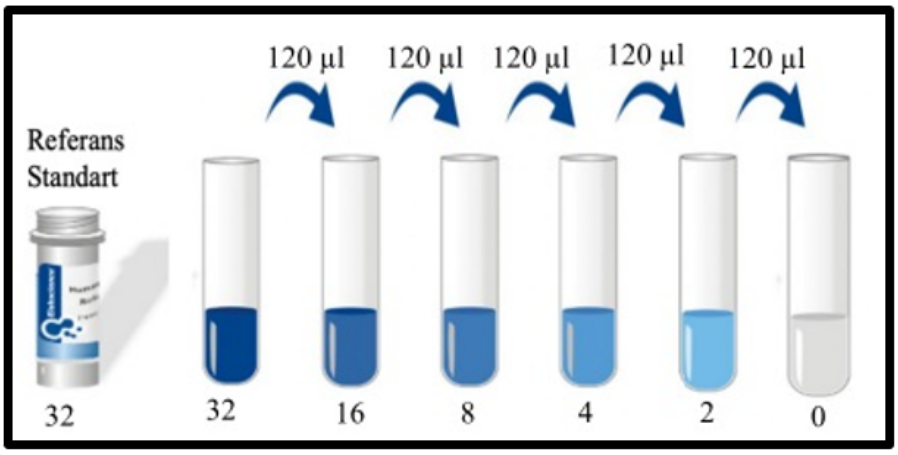
5.11. Biyokimyasal Değerlendirme

Serum örneklerindeki TAS, TOS, TNF-α ve IL-1β seviyeleri ELISA yöntemi ile tespit edildi. Bu amaçla her bir proteine özel olarak üretilmiş ELISA kitleri (Rat Total antioxidant status ELISA Kit, Elabscience, Inc., Houston, TX, ABD, Rat total oxidant status ELISA Kit, Elabscience, Inc., Houston, TX, ABD, Rat Interleukin 1β , ELISA Kit , Rat Tumor necrosis factor α, ELISA KIT, DRG International, NJ, ABD) kullanıldı (Şekil 16). Serum örnekleri analiz gününde -80◦C'lik dolaptan çıkarılıp çözünmeleri için 30 dk oda sıcaklığında bekletildi ve hemen ardından analize alındı.

Şekil 16. ELISA kitleri sırasıyla; Rat TAS ELISA Kit, Rat TOS ELISA Kit, Rat IL-1β ELISA Kit, Rat TNF-α ELISA KIT.

5.11.1. Serum TAS seviyelerinin belirlenmesi

ELISA kiti içerisinden alınan 120 µl'lik standart solüsyona, 120 µl standart dilüent eklenerek 32 U/ml konsantrasyonunda bir standart stok solüsyonu hazırlandı. Standart dilüsyon işleminin gerçekleştirilmesi amacıyla ayrılan beş adet tüpten ilki, 32 U/ml konsantrasyonundaki stok solüsyon ile doldurulduu. Kalan tüplere 120 µl standart dilüent ilave edildi ve ardından seri dilüsyon yöntemi kullanılarak sırasıyla 16 U/ml, 8 U/ml, 4 U/ml ve 2 U/ml konsantrasyonlarında çözeltiler elde edildi (Şekil 17). Serinin son tüpü, 0 ng/ml konsantrasyonu ile standart sıfır olarak belirlendi. 96 kuyucuklu bir plaka üzerinde, otomatik bir pipet kullanılarak her bir standarttan 50 µl alınıp kuyucuklara yerleştirildi. Daha sonra, her bir kuyucuğa 40 µl serum örneği ilave edildi. Buna ek olarak, her kuyucuğa 10 µl biotin antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi.



Şekil 17. TAS için standart dilüsyon işlemi

Plakanın üzeri, inkübasyon sürecini sağlamak amacıyla yapışkan bir bant ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi (Şekil 18 a). İnkübasyon süresinin sonunda, yapışkan bant çıkarıldı ve kuyucuklar otomatik yıkama cihazı kullanılarak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı (Şekil 18 b).

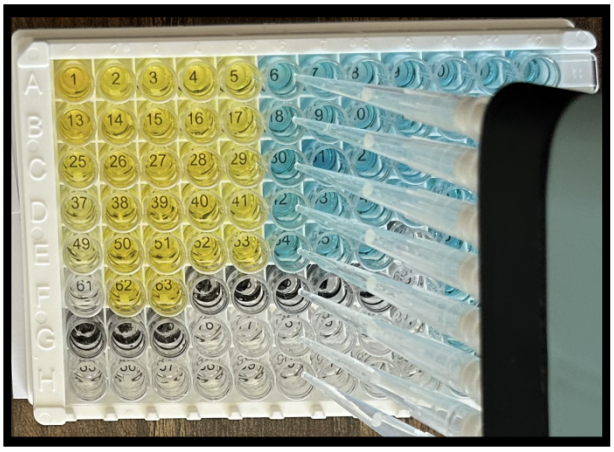
Şekil 18. Biyokimyasal analizlerde kullanılan cihazlar; (a) İnkübasyon için kullanılan etüv cihazı ve (b) otomatik yıkama cihazı

Yıkama işleminden sonra plaka, kalan sıvıların dökülmesi için kâğıt havlu üzerine ters çevrilerek hafifçe vuruldu. İleri aşamada, her kuyucuğa 50 µl kromojen solüsyonu A ve 50 µl kromojen solüsyonu B eklendi ve karışım 37°C'de 10 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasını takiben, reaksiyonu durdurmak amacıyla her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu ilave edildi, maviden sarıya renk değişimi takip edildi. Sarı rengin görülmesinden sonra tüm plakalar ELISA okuyucuya (Diagnostic Automation INC, DAR 800 microplate reader, Woodland Hills, CA, ABD) yerleştirildi ve 450 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometrik ölçüm ile okundu.

5.11.2. Serum TOS seviyelerinin belirlenmesi

ELISA kiti içerisinden alınan 120 µl'lik standart solüsyona, 120 µl standart dilüent eklenerek 12 nmol/ml konsantrasyonunda bir standart stok solüsyonu hazırlandı. Standart dilüsyon işleminin gerçekleştirilmesi amacıyla ayrılan beş adet tüpten ilki, 12 nmol/ml konsantrasyonundaki stok solüsyon ile doldurulduu. Kalan tüplere 120 µl standart dilüent ilave edildi ve ardından seri dilüsyon yöntemi kullanılarak sırasıyla 6 nmol/ml, 3nmol/ml, 1.5 nmol/ml ve 0,75 nmol/ml konsantrasyonlarında çözeltiler elde edildi. Serinin son tüpü, 0 ng/ml konsantrasyonu ile standart sıfır olarak belirlendi. 96 kuyucuklu bir plaka üzerinde, otomatik bir pipet kullanılarak her bir standarttan 50 µl alınıp kuyucuklara yerleştirildi. Daha sonra, her bir kuyucuğa 40 µl serum örneği ilave edildi. Buna ek olarak, her kuyucuğa 10 µl biotin antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. Plakanın üzeri, inkübasyon sürecini sağlamak amacıyla yapışkan bir bant ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda, yapışkan bant çıkarıldı ve kuyucuklar otomatik yıkama cihazı kullanılarak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı.

Yıkama işleminden sonra plaka, kalan sıvıların dökülmesi için kağıt havlu üzerine ters çevrilerek hafifçe vuruldu. İleri aşamada, her kuyucuğa 50 µl kromojen solüsyonu A ve 50 µl kromojen solüsyonu B eklendi ve karışım 37°C'de 10 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasını takiben, reaksiyonu durdurmak amacıyla her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu ilave edildi, maviden sarıya renk değişimi takip edildi (Şekil 19). Sarı rengin görülmesinden sonra tüm plakalar ELISA okuyucuya (Diagnostic Automation INC, DAR 800 microplate reader, Woodland Hills, CA, ABD) yerleştirildi ve 450 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometrik ölçüm ile okundu.



Şekil 19. Durdurma solüsyonu eklenirken renk değişimi

5.11.3. Serum IL-1β seviyelerinin belirlenmesi

ELISA kiti içerisinden alınan 120 µl'lik standart solüsyona, 120 µl standart dilüent eklenerek 4800 pg/L konsantrasyonunda bir standart stok solüsyonu hazırlandı. Standart dilüsyon işleminin gerçekleştirilmesi amacıyla ayrılan beş adet tüpten ilki, 4800 pg/L konsantrasyonundaki stok solüsyon ile doldurulduru. Kalan tüplere 120 µl standart dilüent ilave edildi ve ardından seri dilüsyon yöntemi kullanılarak sırasıyla 2400 pg/L, 1200 pg/L, 600 pg/L ve 300 pg/L konsantrasyonlarında çözeltiler elde edildi. Serinin son tüpü, 0 ng/ml konsantrasyonu ile standart sıfır olarak belirlendi. 96 kuyucuklu bir plaka üzerinde, otomatik bir pipet kullanılarak her bir standarttan 50 µl alınıp kuyucuklara yerleştirildi. Daha sonra, her bir kuyucuğa 40 µl serum örneği ilave edildi. Buna ek olarak, her kuyucuğa 10 µl biotin antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. Plakanın üzeri, inkübasyon sürecini sağlamak amacıyla yapışkan bir bant ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda, yapışkan bant çıkarıldı ve kuyucuklar otomatik yıkama cihazı kullanılarak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı.

Yıkama işleminden sonra plaka, kalan sıvıların dökülmesi için kâğıt havlu üzerine ters çevrilerek hafifçe vuruldu. İleri aşamada, her kuyucuğa 50 µl kromojen solüsyonu A ve 50 µl kromojen solüsyonu B eklendi ve karışım 37°C'de 10 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasını takiben, reaksiyonu durdurmak amacıyla her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu ilave edildi, maviden sarıya renk değişimi takip edildi. Sarı rengin görülmesinden sonra tüm plakalar ELISA okuyucuya (Diagnostic Automation INC, DAR 800 microplate reader, Woodland Hills, CA, ABD) yerleştirildi ve 450 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometrik ölçüm ile okundu (Şekil 20).

Şekil 20. ELISA okuyucu

5.11.4. Serum TNF-α seviyelerinin belirlenmesi

ELISA kiti içerisinden alınan 120 µl'lik standart solüsyona, 120 µl standart dilüent eklenerek 640 ng/L konsantrasyonunda bir standart stok solüsyonu hazırlandı. Standart dilüsyon işleminin gerçekleştirilmesi amacıyla ayrılan beş adet tüpten ilki, 640 ng/L konsantrasyonundaki stok solüsyon ile doldurulduu. Kalan tüplere 120 µl standart dilüent ilave edildi ve ardından seri dilüsyon yöntemi kullanılarak sırasıyla 320 ng/L, 160 ng/L, 80 ng/L ve 40 ng/L konsantrasyonlarında çözeltiler elde edildi. Serinin son tüpü, 0 ng/ml konsantrasyonu ile standart sıfır olarak belirlendi. 96 kuyucuklu bir plaka üzerinde, otomatik bir pipet kullanılarak her bir standarttan 50 µl alınıp kuyucuklara yerleştirildi. Daha sonra, her bir kuyucuğa 40 µl serum örneği ilave edildi. Buna ek olarak, her kuyucuğa 10 µl biotin antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. Plakanın üzeri, inkübasyon sürecini sağlamak amacıyla yapışkan bir bant ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda, yapışkan bant çıkarıldı ve kuyucuklar otomatik yıkama cihazı kullanılarak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı.

Yıkama işleminden sonra plaka, kalan sıvıların dökülmesi için kâğıt havlu üzerine ters çevrilerek hafifçe vuruldu. İleri aşamada, her kuyucuğa 50 µl kromojen solüsyonu A ve 50 µl kromojen solüsyonu B eklendi ve karışım 37°C'de 10 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasını takiben, reaksiyonu durdurmak amacıyla her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu ilave edildi, maviden sarıya renk değişimi takip edildi. Sarı rengin görülmesinden sonra tüm plakalar ELISA okuyucuya (Diagnostic Automation INC, DAR 800 microplate reader, Woodland Hills, CA, ABD) yerleştirildi ve 450 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometrik ölçüm ile okundu.

5.12. İstatistiksel Analiz

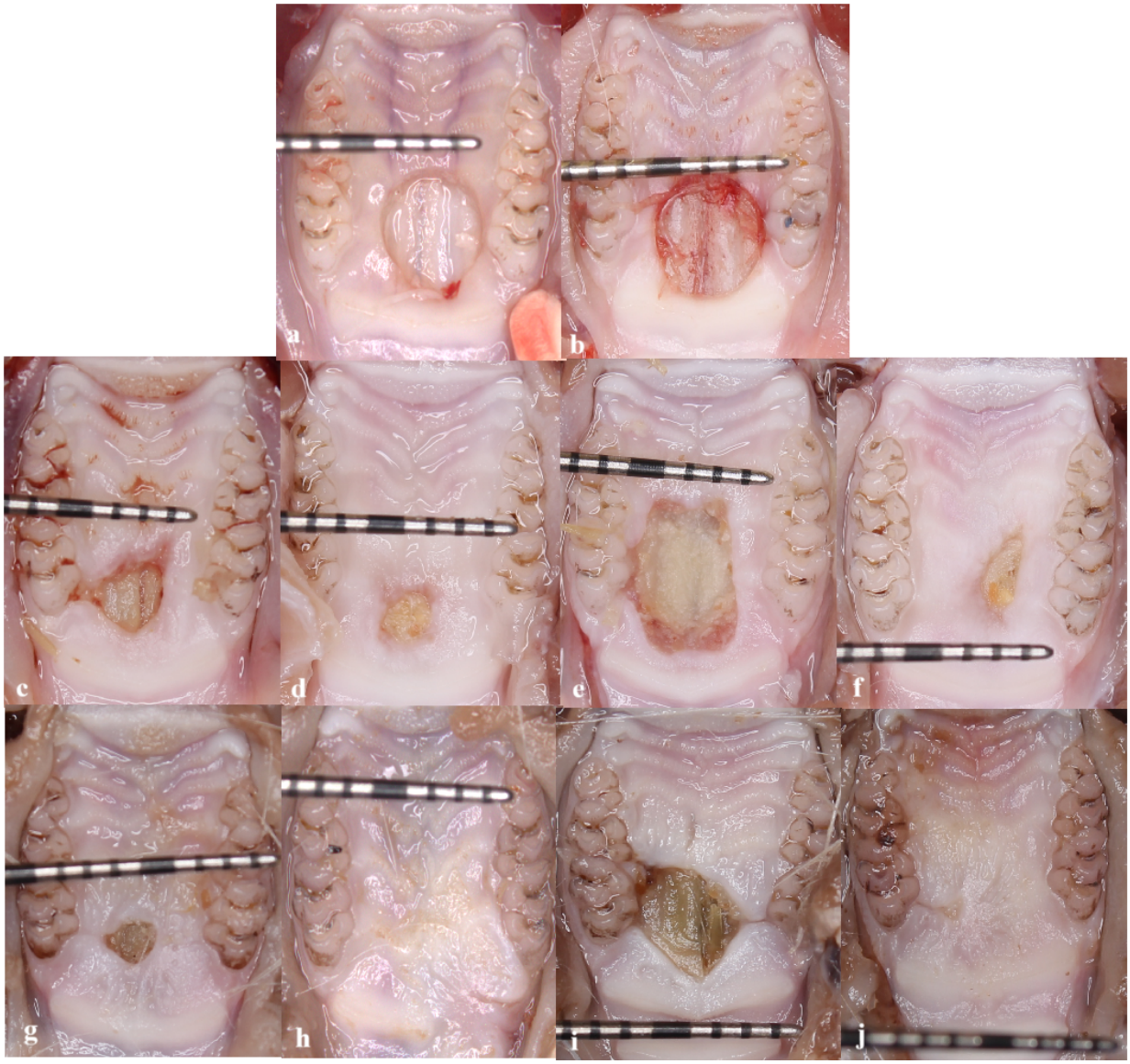
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 24 paket programı (IBM SPSS Statistic for Windows, versiyon 24.0. Win64 IBM Inc., ABD) kullanıldı. Tüm veriler medyan, minimum, maksimum olarak verildi. Dağılımın normalliği Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Parametreler normal dağılım göstermediği için non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar arası çoklu karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanıldı, anlamlılık tespit edildiğinde grupların ikili karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi uygulandı. Aynı gruba ait tekrarlayan verilerin grup içi çoklu değerlendirilmesinde Friedman testi kullanıldı. Bu test sonucunda anlamlılık tespit edildiğinde dönemlerin ikili karşılaştırmasında Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon Signed Rank testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Klinik Bulgular

6.1.1. Yara alanlarının karşılaştırılması

Çalışma gruplarına ait temsili birer sıçanın ağız içindeki yara bölgelerinin 0, 7 ve 21. günlerdeki klinik görüntüleri Şekil 21'de gösterildi. Bu görüntülerde, her bir gruptaki yara alanlarının 0. günden 21. güne doğru zaman içinde iyileştiği gözlemlendi.



Şekil 21. Postoperatif 0. gün (a) Sağlıklı Kontrol grubu, (b) Diyabetik Kontrol grubu; 7. gün (c) Sağlıklı Salin grubu, (d) Sağlıklı Aronia grubu, (e) Diyabetik Salin grubu ve (f) Diyabetik Aronia grubu; 21. gün (g) Sağlıklı Salin grubu, (h) Sağlıklı Aronia grubu, (i) Diyabetik Salin grubu ve (j) Diyabetik Aronia grubuna ait temsili birer sıçanın palatinal yara alanlarının klinik görüntüleri

Tablo 6. Yara alanının (mm^2) grup içi ve gruplar arası karşılaştırması

	GRUPLAR													
	S-Kontrol (a) n=5 Medyan (Min-Max)	D-Kontrol (b) n=5 Medyan (Min-Max)	S-Salin (c) n=10 Medyan (Min-Max)	S-Aronia (d) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Salin (e) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Aronia (f) n=10 Medyan (Min-Max)	$p^{*(a-b)}$	$p^{\#(c-d-e-f)}$	$p^{*(c-d)}$	$p^{*(c-e)}$	$p^{*(c-f)}$	$p^{*(d-e)}$	$p^{*(d-f)}$	$p^{*(e-f)}$
0. gün	13,93 12,26-14,93	14,59 12,88-15,79					0,347	-	-	-	-	-	-	-
7. gün	-	-	6,54 5,24-11,73	4,22 2,03-6,18	14,21 10,20-16,16	6,05 2,93-8,41	-	0,005	0,069	0,109	0,336	0,001	0,392	0,010
21. gün	-	-	1,19 0,00-4,55	1,03 0,00-2,36	5,28 3,84-11,34	2,40 0,00-3,14	-	0,009	0,788	0,005	0,419	0,002	0,281	0,046
$p^{\dagger}$	-	-	0,007	0,007	0,022	0,015								
$p^{\ddagger(0-7)}$	-	-	0,114	0,114	0,752	0,058								
$p^{\ddagger(0-21)}$	-	-	0,002	0,002	0,011	0,004								
$p^{\ddagger(7-21)}$	-	-	0,114	0,114	0,027	0,343								

S; Sağlıklı, D; Diyabetik, Min; Minimum, Max; Maksimum, * Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi, $^{\#}$Kruskal Wallis testi, † Friedman testi, ‡Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon testi, $p<0,05$.

Tablo 6'da tüm grupların 0, 7 ve 21. günlerdeki yara alanlarının medyan değerleri gösterilmektedir. Yara alanı başlangıçta medyan değerleri 13,93 mm^2 SK grubu ve 14,59 mm^2 DK grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Yedinci ve 21. günlerde yara alanı boyutlarının medyan değerleri sırasıyla SS grubunda 6,54 mm^2 ve 1,19 mm^2, SA grubunda 4,22 mm^2 ve 1,03 mm^2, DS grubunda 14,21 mm^2 ve 5,28 mm^2 ve DA grubunda 6,05 mm^2 ve 2,40 mm^2 olduğu tespit edildi. Tüm grupların yara alanı medyan değerleri grup içi karşılaştırıldığında 0. ve 7. günlerin benzer olduğu görüldü ($p>0,05$) ve başlangıca kıyasla 21. günde anlamlı azalma olduğu saptandı ($p<0,05$). SS, SA, DA gruplarının 7. ve 21. gün yara alanı medyan değerlerinin benzer olduğu görülürken ($p>0,05$), DS grubunun 7. güne kıyasla 21. günde yara alanının azaldığı tespit edildi ($p<0,05$).

Gruplar arası çoklu karşılaştırmada 7. ve 21. günlerde en küçük yara alanı SA grubunda olduğu görülür iken, en büyük yara alanı DS grubunda gözlendi. 7. gündeki yara alanı; SA ve DA gruplarında DS grubundan, 21. gündeki yara alanı ise SA, DA ve SS gruplarında DS grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha düşük bulundu ($p<0,05$).

6.2.2. Vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

SS, SA, DS ve DA gruplarındaki hayvanların vücut ağırlıkları tabloda gösterilmektedir (Tablo 7). Sıfırıncı, 7. ve 21. günlerde vücut ağırlıklarının ortancaları sırasıyla SS grubunun 341,20 gr, 319,00 gr, 340,00 gr, SA grubunun 355,30 gr, 333,75 gr, 345,40 gr, DS grubunun 306,60 gr, 246,00 gr, 312,00 gr ve DA grubunun 328,60 gr, 308,10 gr, 368,00 gr olarak ölçülmüştür.

SS, SA, DS ve DA gruplarının grup içi çoklu karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Tüm grupların 0., 7. ve 21. günlerde vücut ağırlıklarının benzer olduğu görüldü ($p>0,05$).

Gruplar arası vücut ağırlıklarının karşılaştırmasının 0. ve 21. günlerde benzer olduğu ($p>0,05$), 7. günde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). 7. günde SS, SA ve DA gruplarının vücut ağırlıklarının DS grubundan fazla olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Tablo 7. Grupların vücut ağırlıklarının (gr) grup içi ve gruplar arası karşılaştırması

	GRUPLAR										
	S-Salin (a) n=10 Medyan (Min-Max)	S-Aronia (b) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Salin (c) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Aronia (d) n=10 Medyan (Min-Max)	$p^{\#(a-b-c-d)}$	$p^{*(a-b)}$	$p^{*(c-d)}$	$p^{*(a-c)}$	$p^{*(b-d)}$	$p^{*(b-c)}$	$p^{*(a-d)}$
0. gün	341,20	355,30	306,60	328,60	0,359						
7. gün	319 ,00	333,75	246,00	308,10	0,004	0,344	0,022	0,010	0,210	0,001	0,760
21. gün	340,00	345,40	312,00	368,00	0,284						
p†	0,549	0,247	0,247	0,091							

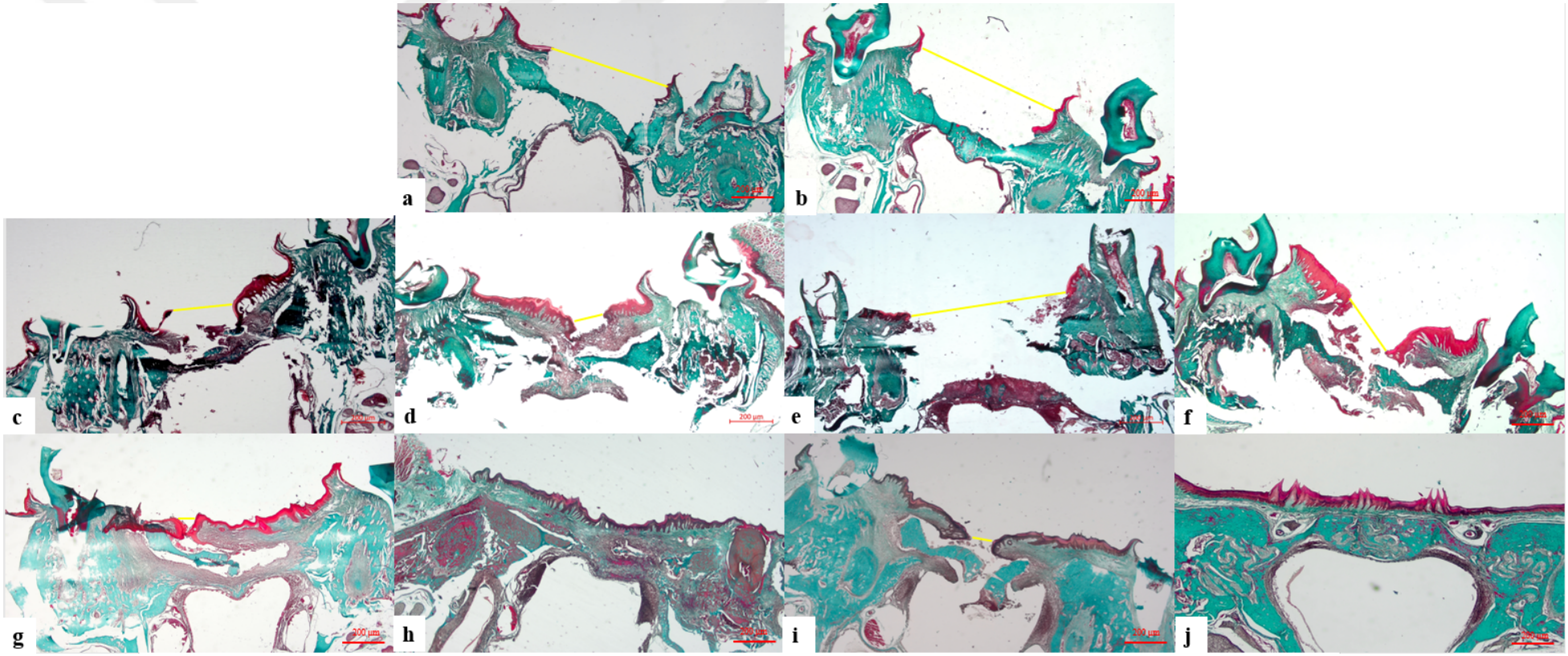
S; Sağlıklı, D; Diyabetik, Min; Minimum, Max; Maksimum, * Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi, # Kruskal Wallis testi, † Friedman testi

6.2. Histomorfometrik Bulgular

Çalışmanın tüm gruplarına ait temsili bir sıçanın 0, 7 ve 21. günlerdeki epitelyal kenarlar arasındaki mesafeyi gösteren histolojik görüntüleri Şekil 22'de görülmektedir. Histolojik görüntülere bakıldığında, tüm gruplardaki epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin 0. günden 21. güne doğru zamanla azaldığı görüldü.

Tüm gruplara ait 0, 7 ve 21. günlerdeki epitelyal kenarlar arasındaki mesafelerinin medyan değerleri Tablo 8'de gösterildi. Epitelyal kenarlar arasındaki mesafe başlangıçta medyan değerleri SK grubu 1103 µm ve DK grubu 1054 µm arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Yedinci ve 21. günlerde epitelyal kenarlar arasındaki mesafe değerleri sırasıyla SS grubunda 546 µm ve 233 µm, SA grubunda 483 µm ve 75 µm, DS grubunda 891 µm ve 555 µm ve DA grubunda 488 µm ve 203 µm olduğu tespit edildi. Grup içi karşılaştırmada, DS grubunun 0, 7 ve 21. günlerde epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin benzer olduğu görüldü ($p>0,05$). SS, SA ve DA gruplarının epitelyal kenarlar arasındaki mesafe değerlerinin 0. ve 7. günlerin benzer olduğu görüldü ($p>0,05$) ve başlangıca kıyasla 21. günde anlamlı azalma olduğu saptandı ($p<0,05$). SS, SA, DA gruplarının 7. ve 21. gün epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$).

Gruplar arası çoklu karşılaştırmada 7. ve 21. günlerde en kısa epitelyal kenarlar arası mesafe SA grubunda olduğu görülür iken, en uzun epitelyal kenarlar arası mesafe DS grubunda gözlendi. 7. gündeki epitelyal kenarlar arası mesafe; SA ve DA gruplarında DS grubundan, 21. gündeki epitelyal kenarlar arası mesafe ise SA, DA ve SS gruplarında DS grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha düşük bulundu ($p<0,05$).



Şekil 22. Postoperatif 0. gün (a) Sağlıklı Kontrol grubu, (b) Diyabetik Kontrol grubu; 7. gün (c) Sağlıklı Salin grubu, (d) Sağlıklı Aronia grubu, (e) Diyabetik Salin grubu ve (f) Diyabetik Aronia grubu; 21. gün (g) Sağlıklı Salin grubu, (h) Sağlıklı Aronia grubu, (i) Diyabetik Salin grubu ve (j) Diyabetik Aronia grubuna ait temsili birer sıçanın epitelyal kenarlar arasındaki mesafeyi gösteren histolojik görüntüleri (x2 büyütme)

Tablo 8. Epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin (µm) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

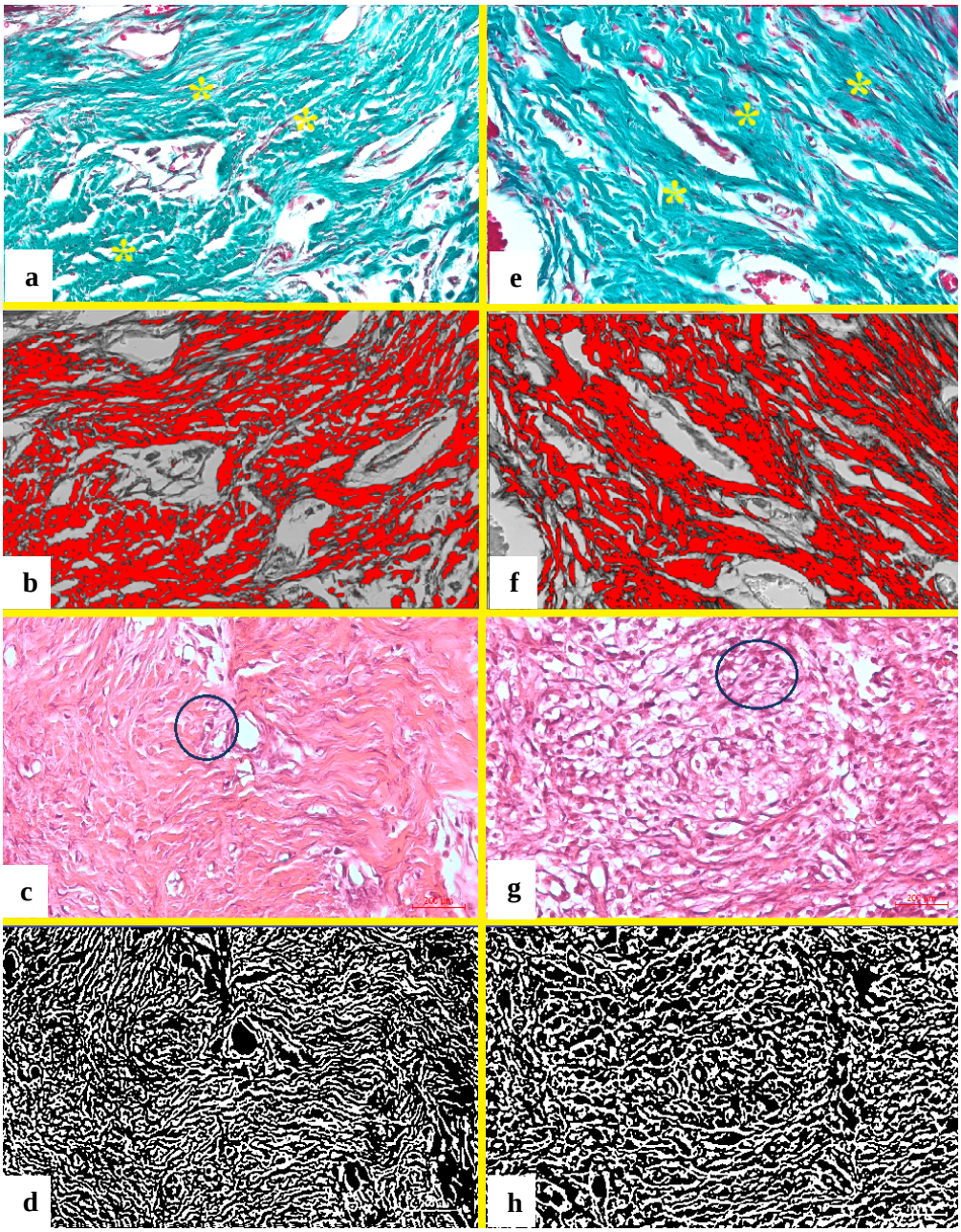
	GRUPLAR													
	S-Kontrol (a) n=5 Medyan (Min-Max)	D-Kontrol (b) n=5 Medyan (Min-Max)	S-Salin (c) n=10 Medyan (Min-Max)	S-Aronia (d) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Salin (e) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Aronia (f) n=10 Medyan (Min-Max)	$p^{*(a-b)}$	$p^{\#(c-d-e-f)}$	$p^{*(c-d)}$	$p^{*(c-e)}$	$p^{*(c-f)}$	$p^{*(d-e)}$	$p^{*(d-f)}$	$p^{*(e-f)}$
0. gün	1103 1084-1127	1054 838-1207					0,907	-	-	-	-	-	-	-
7. gün	-	-	546 456-987	483 387-512	891 610-1352	488 426-572	-	0,009	0,121	0,165	0,149	0,003	0,915	0,005
21. gün	-	-	233 0-397	75 0-114	555 362-976	203 0-271	-	0,002	0,077	0,044	0,979	0,001	0,081	0,041
$p^{\dagger}$	-	-	0,007	0,007	0,074	0,007								
$p^{\ddagger(0-7)}$	-	-	0,114	0,342		0,342								
$p^{\ddagger(0-21)}$	-	-	0,002	0,005		0,002								
$p^{\ddagger(7-21)}$	-	-	0,114	0,342		0,342								

S; Sağlıklı, D; Diyabetik, Min; Minimum, Max; Maksimum, * Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi, $^{\#}$Kruskal Wallis testi, † Friedman testi, ‡Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon testi, $p<0,05$.

6.3. Histolojik Bulgular

0. gün

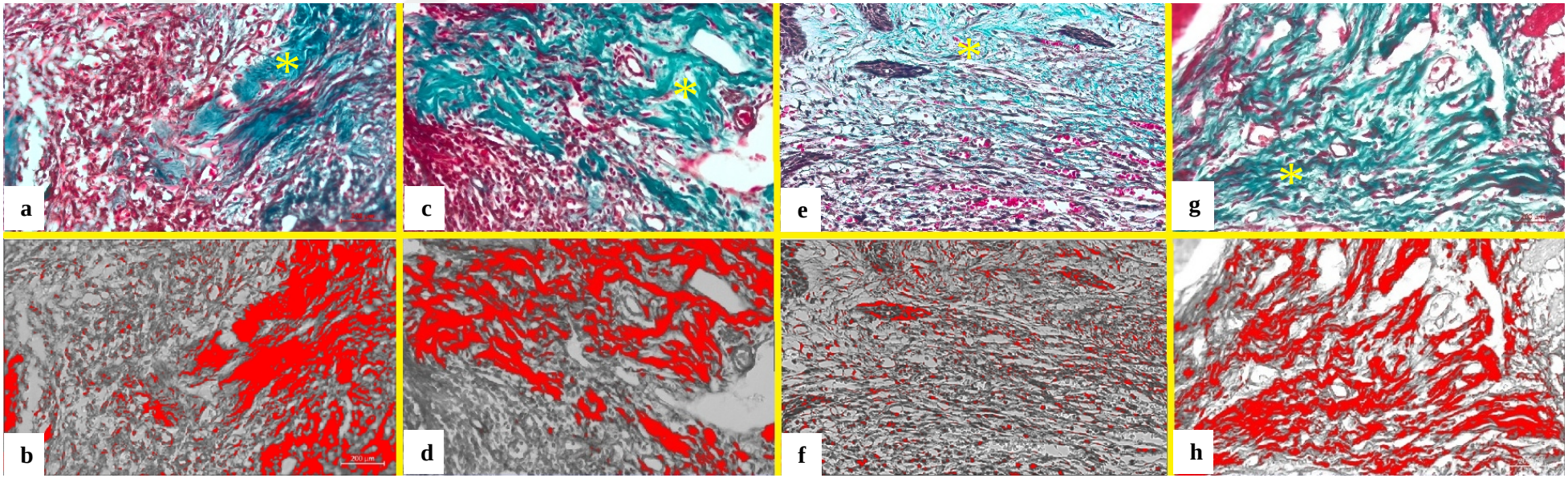
Çalışmanın gruplarına ait temsili bir sıçanın 0. gündeki kolajen yoğunluğu, enflamatuvar hücre ve vaskülarizasyon yoğunluğunu gösteren histolojik görüntüler şekil 23'te görülmektedir. SK ve DK gruplarının kolajen ve vaskülarizasyon yoğunluklarının benzer olduğu (Şekil 23 a, b, e ve f); DK grubunda enflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha yoğun olduğu görüldü (Şekil 23 f).



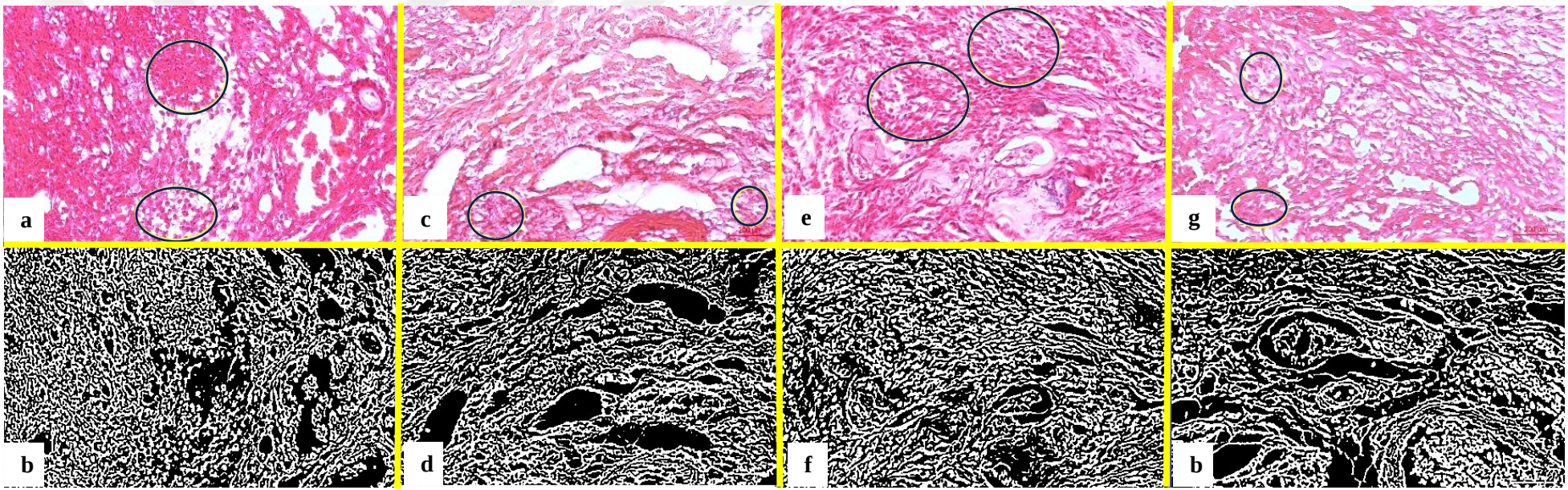
Şekil 23. 0. gün sağlıklı kontrol grubuna ait (a) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, diyabetik kontrol grubuna ait (e) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde kolajen fibriller (*****) ve (f) image J programındaki görüntüde kolajen yoğunlukları (kırmızı alanlar) gösterilmiştir, sağlıklı kontrol grubuna ait (c) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde ve diyabetik kontrol grubuna ait (g) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah yuvarlak) ve (h) image J programındaki görüntüde vaskülarizasyon yoğunlukları (siyah alanlar) gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).

7. gün

Çalışmanın gruplarına ait temsili bir sıçanın 7. gündeki kolajen yoğunluğu, enflamatuvar hücre ve vaskülarizasyon yoğunluğunu gösteren histolojik görüntüler şekil 24 ve 25'te görülmektedir. Tüm gruplarda, deneyin 7. gününde yara alanında bağ dokusu hücreleri arasında genişleme ve yaranın yeniden epitelize olmaya başladığı görüldü. DS grubunda, vaskülarizasyon alanlarının en az olduğu gözlendi. Bu vasküler içeriğin etrafında ince kolajen fibrillerle desteklenmiş yoğun enflamatuvar hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil 24 c ve 25 c). *Aronia melanocarpa* uygulanan sağlıklı ve diyabetik gruplarda ise, enflamatuvar hücre infiltrasyon yoğunluğunun salin gruplarına kıyasla daha az olduğu saptandı (Şekil 25 b ve d). Özellikle SA grubunda, enflamasyonun önemli ölçüde baskılandığı ve kolajen fibrillerinin daha kompakt bir yapıya sahip olduğu görüldü (Şekil 24 b)



Şekil 24. 7. gün SS grubuna ait (a) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde kolajen fibriller (*) ve (h) image J programındaki görüntüde kolajen yoğunlukları (kırmızı alanlar) gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).



Şekil 25. 7. gün SS grubuna ait (a) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah yuvarlak) ve (h) image J programındaki görüntüde vaskülarizasyon yoğunlukları gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).

21. gün

Çalışmanın gruplarına ait temsili bir sıçanın 21. gündeki kolajen yoğunluğu, enflamatuvar hücre ve vaskülarizasyon yoğunluğunu gösteren histolojik görüntüler şekil 26 ve 27'de görülmektedir.

DS grubunda, olgunlaşmış hücreler ile beraber kronik enflamatuvar hücrelerin düşük miktarlarda da olsa varlığını sürdürdüğü ve vaskülarizasyonun önemli ölçüde azaldığı fark edildi. Ayrıca, bu grupta kolajen yapıları incelendiğinde, kolajen liflerinin düzensiz ve ince yapıda olduğu belirlendi (26 c ve 27 c) . SA ve DA gruplarında, enflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaldığı, vaskülarize alanların daha yoğun ve düzenli olduğu, bu alanların daha düzenli ve kompakt bir formda organize olan kolajen fibrilleri ile desteklendiği görüldü (26 b, d ve 27 b, d) .

Tüm gruplara ait 0, 7 ve 21. günlerdeki kolajen yoğunluğu yüzdesi, enflamatuvar hücre yoğunluğunun skoru ve vaskülarizasyon yoğunluğu yüzdesi Tablo 9'da gösterilmektedir. SK grubunun 0. gün kolajen yoğunluğunun ortanca değeri %28, DK grubunun %32 olarak bulundu. Yedinci ve 21. günlerde kolajen yoğunluğunun değeri SA grubunun %19 ve %24, SS grubunun %11 ve %12, DA grubunun %15 ve %21, DS grubunun %16 ve %9 olarak saptandı.

Kolajen yoğunluğunun grup içi çoklu karşılaştırmalarında DS ve DA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$), SA ve SS gruplarının benzer olduğu görüldü ($p>0,05$). DA ve DS grubunun kolajen yoğunluğunun başlangıca kıyasla 7. günde istatistiksel olarak anlamlı azaldığı ($p<0,05$); 7. gün ile 21. günde benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$). DA grubunun kolajen yoğunluğunun başlangıç ile 21. günde benzer olduğu ($p>0,05$); ancak DS grubunun başlangıca kıyasla 21. günde anlamlı azaldığı saptandı ($p<0,05$).

Gruplar arası kolajen yoğunluğunun karşılaştırmasının 0. ve 7. günlerde benzer olduğu ($p>0,05$), 21. günde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). 21. günde DS grubunun kolajen yoğunluğu DA ve SA gruplarından; SS grubunun SA grubundan anlamlı daha az olduğu görüldü ($p<0,05$).

Enflamatuvar hücre yoğunluğu başlangıçta medyan değerleri SK grubu 5 ve DK grubu 24 arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$). Yedinci ve 21. günlerde enflamatuvar hücre yoğunluğunun değeri SA grubunun 135 ve 41, SS grubunun 218 ve 128, DA grubunun 198 ve 128 DS grubunun 286 ve 168 olarak saptandı.

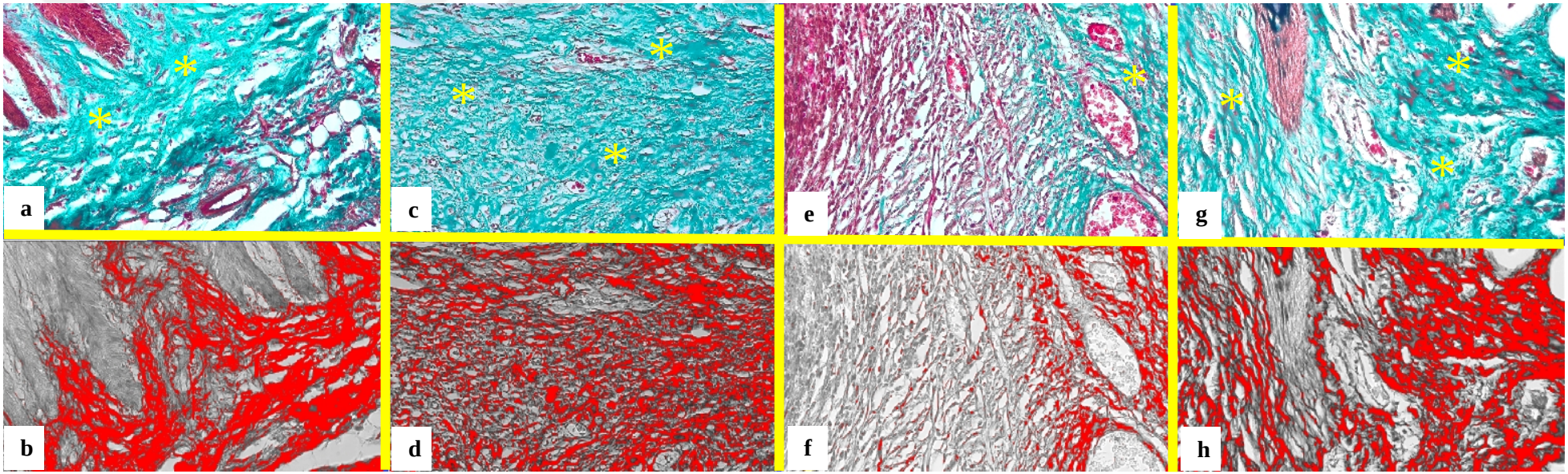
Enflamatuvar hücre yoğunluğunun grup içi çoklu karşılaştırmalarında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). Tüm grupların enflamatuvar hücre yoğunluğu başlangıca kıyasla 7. ve 21 günlerde arttığı ($p<0,05$); 7. güne kıyasla 21. günde azaldığı görüldü ($p<0,05$).

Gruplar arası enflamatuvar hücre yoğunluğunun, 0, 7 ve 21. günlerde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). Yedinci günde DS grubunun enflamatuvar hücre yoğunluğunun SA ve DA gruplarından; SS grubu ise SA grubundan daha fazla olduğu saptandı ($p<0,05$). Yirmi birinci günde DS grubunun enflamatuvar hücre yoğunluğunun SA ve DA gruplarından daha yüksek; SA grubunun ise DA ve DS gruplarından daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

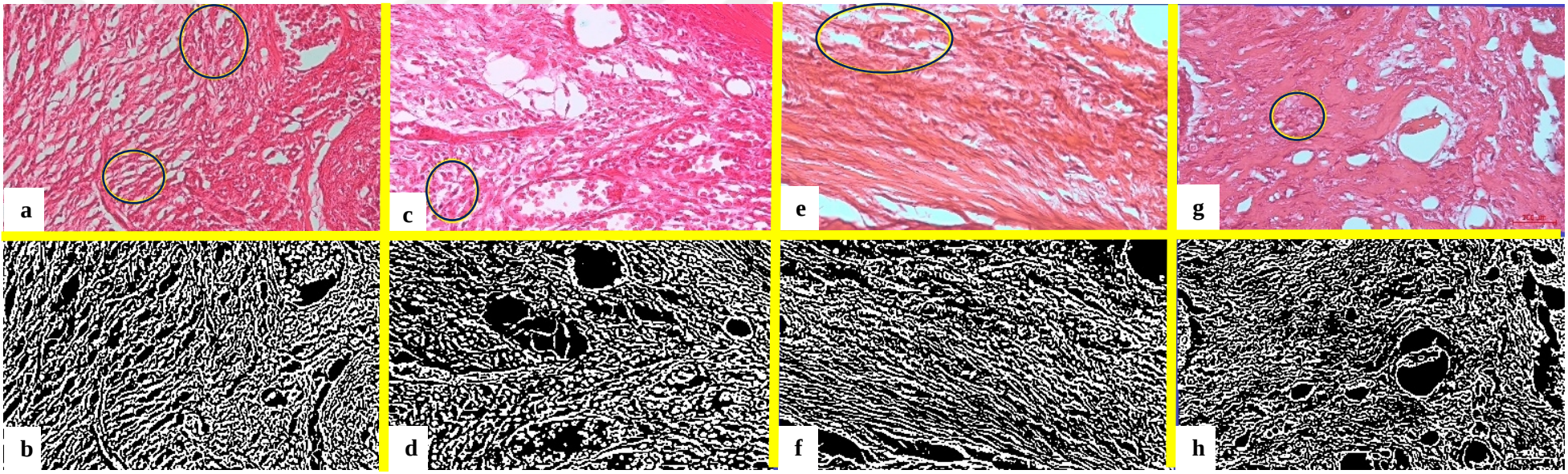
SK grubunun 0. gün vaskülarizasyon yoğunluğunun medyan değeri %64,80, DK grubunun %69,40 olarak bulundu. Yedinci ve 21. günlerde kolajen yoğunluğunun değeri SA grubunun %66,20 ve %66,60, SS grubunun %60,80 ve %61,40, DA grubunun %64,00 ve %64,00 DS grubunun %59,25 ve %60,00 olarak saptandı.

Vaskülarizasyon yoğunluğunun grup içi çoklu karşılaştırmalarında SS, DS ve DA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$), SA grubunun benzer olduğu görüldü ($p>0,05$). SS, DS ve DA gruplarının vaskülarizasyon yoğunluğu başlangıca kıyasla 7. günde azaldığı ($p<0,05$); 7. gün ile 21. günde benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$). DS ve DA gruplarının vaskülarizasyon yoğunluğu başlangıca kıyasla 21. günde azaldığı ($p<0,05$); ancak SS grubunun başlangıç ve 21. gün benzer olduğu saptandı ($p>0,05$).

Gruplar arası vaskülarizasyon yoğunluğunun karşılaştırmasının 0. günde benzer olduğu ($p>0,05$), 7. ve 21. günlerde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). 7. ve 21. günlerde DS grubunun vaskülarizasyon yoğunluğu SA ve DA gruplarına kıyasla; SS grubu ise SA grubuna kıyasla anlamlı daha az bulundu ($p<0,05$). 7. ve 21. günlerde DA grubunun vaskülarizasyon yoğunluğu SS ve SA gruplarıyla; SS ve DS gruplarının benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 26. 21. gün SS grubuna ait (a) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Massom trikrom ile boyanmış kesitlerde kolajen fibriller (*) ve (h) image J programındaki görüntüde kolajen yoğunlukları (kırmızı alanlar) gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).



Şekil 27. 21. gün SS grubuna ait (a) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (b) image J programındaki görüntüde, SA grubuna ait (c) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (d) image J programındaki görüntüde, DS grubuna ait (e) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde ve (f) image J programındaki görüntüde ve DA grubuna ait (g) Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde enflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah yuvarlak) ve (h) image J programındaki görüntüde vaskülarizasyon yoğunlukları gösterilmiştir. x40 büyütme (a, c, e, g).

Tablo 9. Kolajen yoğunluğu, enflamasyon ve vaskülarizasyon yoğunluğunun grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

		GRUPLAR													
		S-Kontrol (a) n=5 Medyan (Min-Max)	D-Kontrol (b) n=5 Medyan (Min-Max)	S-Salin (c) n=10 Medyan (Min-Max)	S-Aronia (d) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Salin (e) n=10 Medyan (Min-Max)	D-Aronia (f) n=10 Medyan (Min-Max)	p*(a-b)	p#(c-d-e-f)	p*(c-d)	p*(c-e)	p*(c-f)	p*(d-e)	p*(d-f)	p*(e-f)
KOLAJEN YOĞUNLUĞU (%)	0. gün	28 16-34	32 28-33					0,154	-	-	-	-	-	-	-
	7. gün	-	-	11 3-17	19 10-28	16x 3-19	15x 14-20	-	0,245						
	21. gün	-	-	12 8-23	24 21-33	9x 4-15	21 17-25	-	0,006	0,013	0,538	0,097	0,002	0,406	0,023
	p†	-	-	0,074	0,128	0,015	0,016								
ENFLAMASYON SKORU	0. gün	5 4-7	24 13-31					0,002	-	-	-	-	-	-	-
	7. gün	-	-	218x 189-226	135x 119-142	286x 283-298	198x 167-216	-	0,001	0,016	0,109	0,423	0,001	0,109	0,016
	21. gün	-	-	128x,y 97-144	41x,y 27-56	168x,y 154-195	128x,y 100-135	-	0,002	0,045	0,045	1	0,001	0,045	0,045
	p†	-	-	0,007	0,007	0,007	0,007								
VASKÜLARİZASYON YOĞUNLUĞU (%)	0. gün	64,8 61,8-76,4	69,4 65,4-72,6					0,273	-	-	-	-	-	-	-
	7. gün	-	-	60,8x 59,7-61,2	66,2 61,0-69,8	59,2x 58,4-60,8	64,0x 60,6-66,0	-	0,005	0,020	0,309	0,172	0,001	0,335	0,017
	21. gün	-	-	61,4 60,4-62,4	66,6 65,6-70,2	60,0x 57,8-65,2	64,0x 62,4-66,8	-	0,003	0,006	0,538	0,134	0,001	0,209	0,035
	p†	-	-	0,015	0,449	0,022	0,016								

S; Sağlıklı, D; Diyabetik, Min; Minimum, Max; Maksimum, * Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi, # Kruskal Wallis testi, † Friedman testi, x 0. güne göre anlamlı fark, y 7. güne göre anlamlı fark, p<0,05.

6.4. Biyokimyasal Bulgular

6.4.1. Kan glikoz seviyelerinin karşılaştırılması

Diyabetik gruplardan alınan kan örneklerinden ölçülen glikoz seviyeleri Tablo 10'da gösterilmektedir. Eksi üçüncü ve 0. günlerde DK grubunun kan glikoz seviyeleri sırasıyla 107,00 mg/dL ve 484,00 mg/dL, -3., 0., 7. ve 21. günlerde DS grubunun kan glikoz seviyeleri sırasıyla 99,50 mg/dL, 484,50 mg/dL, 478,50 mg/dL, 384,00 mg/dL, DA grubunun 102,50 mg/dL, 418,00 mg/dL, 401,00 mg/dL, 196,00 mg/dL olarak ölçüldü. Sıfırıncı ve 21. günler arası kan glikoz seviyesi farkı DS grubunun 66 mg/dL, DA grubunun 142 mg/dL olarak ölçüldü.

Kan glikoz seviyelerinin grup içi çoklu karşılaştırmalarında DS ve DA grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$), DK grubunda benzer olduğu görüldü ($p>0,05$). DS ve DA gruplarının kan glikoz seviyelerinin 0. gün ile 7. gün benzer olduğu ($p>0,05$), 21. günde ise istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edildi ($p<0,05$).

Gruplar arası kan glikoz seviyelerinin karşılaştırmasının -3., 0. ve 7. günlerde benzer olduğu ($p>0,05$), 21. günde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). Yirmi birinci günde DA grubunun DS grubuna kıyasla kan glikoz seviyesinin daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). DS ve DA grubunun 0. ve 21. günler arası kan glikoz seviyesi değişiminin benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$).

Tablo 10. Diyabetik grubun kan glikoz seviyeleri (mg/dL) grup içi ve gruplar arası karşılaştırması

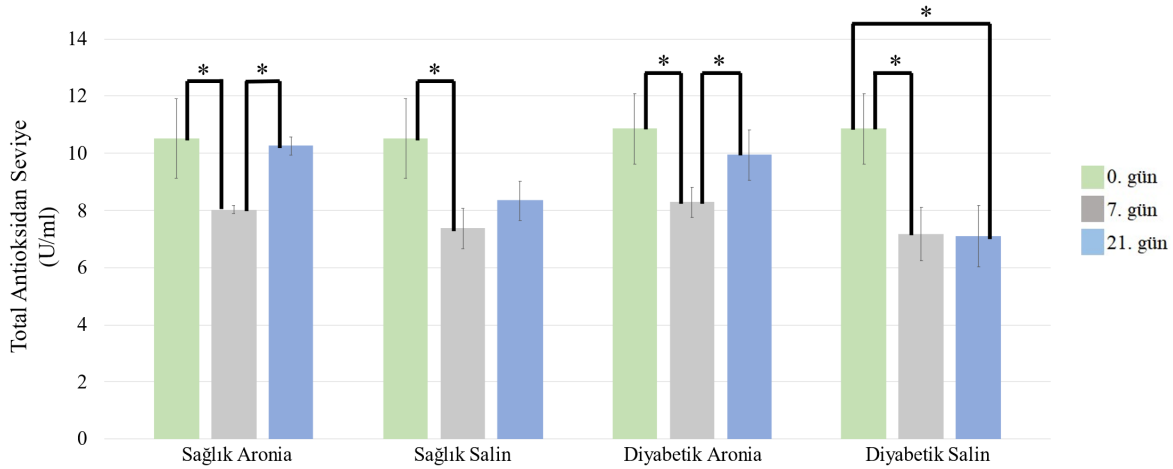
	GRUPLAR						
	Diyabetik Kontrol (a) n=5 Medyan (Min-Max)	**D-Salin (b) n=10 Medyan (Min-Max)**	**D-Aronia (c) n=10 Medyan (Min-Max)**	**$p^{\#(a-b-c)}$**	**$p^{*(a-b)}$**	**$p^{*(a-c)}$**	**$p^{*(b-c)}$**
-3. gün	107 98-116	99,50 79-114	102,50 91-114	0,262	-	-	-
0. gün	484 259-510	484,50 397-566	418 209-551	0,312	-	-	-
7. gün	-	478,50 338-600	401 222-600	-	-	-	0,289
21. gün	-	384^{x} 263-592	196^{x} 165-287	-	-	-	0,016
p†		0,021	0,003				
Δ 0. gün-21. gün	-	66 -55-134	142 44-346	-	-	-	0,117

D; Diyabetik, Min; Minimum, Max; Maksimum, * Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi, # Kruskal Wallis testi, † Friedman testi, x 0. güne göre göre anlamlı fark

6.4.2. TAS değerlendirilmesi

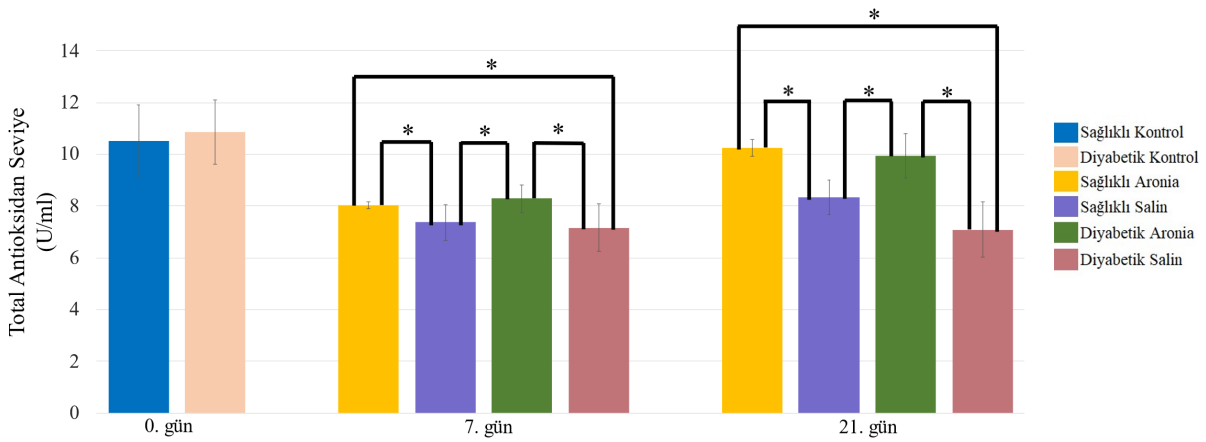
Tüm grupların serum örneklerinden elde edilen TAS'larının 0, 7 ve 21. günlerdeki grup içi ve gruplar arası karşılaştırmaları şekil 28 ve şekil 29'da gösterilmektedir. SK grubunun 0. gün TAS'ının ortanca değeri 10,52 U/ml DK grubunun 10,86 U/ml olarak bulundu. Yedinci ve 21. günlerde TAS'ları sırasıyla SA grubunun 8,03 U/ml, 10,26 U/ml, SS grubunun 7,37 U/ml, 8,34 U/ml, DA grubunun 8,29 U/ml, 9,94 U/ml ve DS grubunun 7,17 U/ml, 7,09 U/ml olarak saptandı.

Tüm gruplarda serum TAS'larının grup içi çoklu karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Veriler incelendiğinde, SA, SS, DA ve DS gruplarının TAS'larında 0. güne kıyasla 7. günde anlamlı azalma olduğu ($p<0,05$) ve SA, SS ve DA gruplarının 0. gün ile 21. gün benzer olduğu ($p>0,05$) saptandı. DS grubunda TAS'ın 0. güne kıyasla 21. günde istatistiksel olarak anlamlı azaldığı görüldü ($p<0,05$). SA ve DA gruplarının TAS'nın 7. güne kıyasla 21. günde istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu ($p<0,05$), ancak SS ve DS gruplarının 7 ve 21. gün serum TAS'larının benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 28. Serum Total Antioksidan Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05

Gruplar arası serum TAS'larının karşılaştırmasının 0. günde benzer olduğu ($p>0,05$), 7. ve 21. günlerde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). Yedinci ve 21. günlerde SA ve DA gruplarının serum TAS'larının SS ve DS gruplarından yüksek olduğu ($p<0,05$), DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı ($p>0,05$).

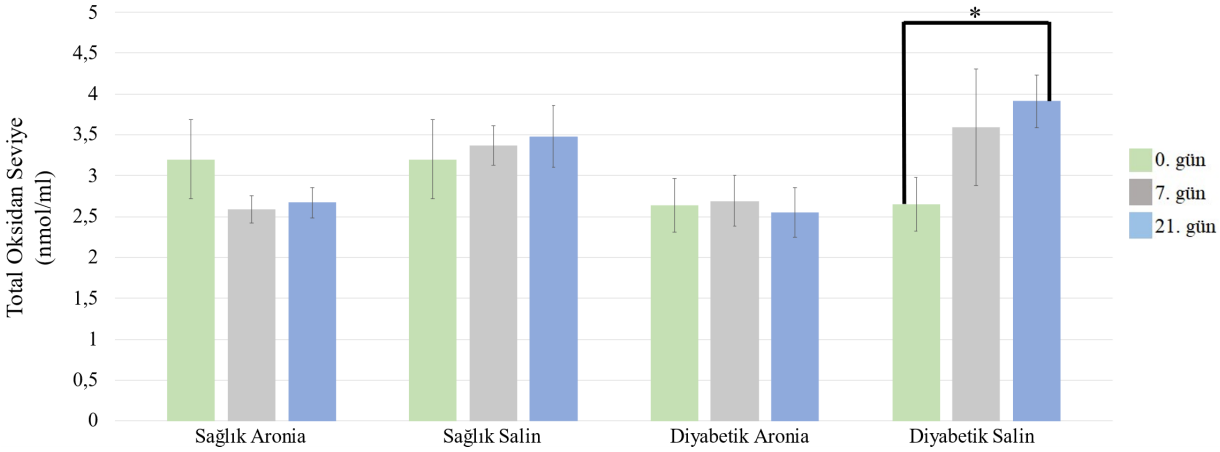


Şekil 29. Serum Total Antioksidan Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05

6.4.3. TOS değerlendirilmesi

Tüm grupların serum örneklerinden elde edilen TOS'larının 0, 7 ve 21. günlerdeki grup içi ve gruplar arası karşılaştırmaları şekil 30 ve şekil 31'de gösterilmektedir. SK grubunun 0. gün TOS'unun ortanca değeri 3,20 nmol/l ve DK grubunun 2,64 nmol/l olarak tespit edildi. Yedinci ve 21. günlerde TOS'ları sırasıyla SA grubunun 2,59 nmol/l, 2,67 nmol/l, SS grubunun 3,37 nmol/l, 3,48 nmol/l, DA grubunun 2,69 nmol/l, 2,55 nmol/l ve DS grubunun 3,59 nmol/l, 3,91 nmol/l olarak bulundu.

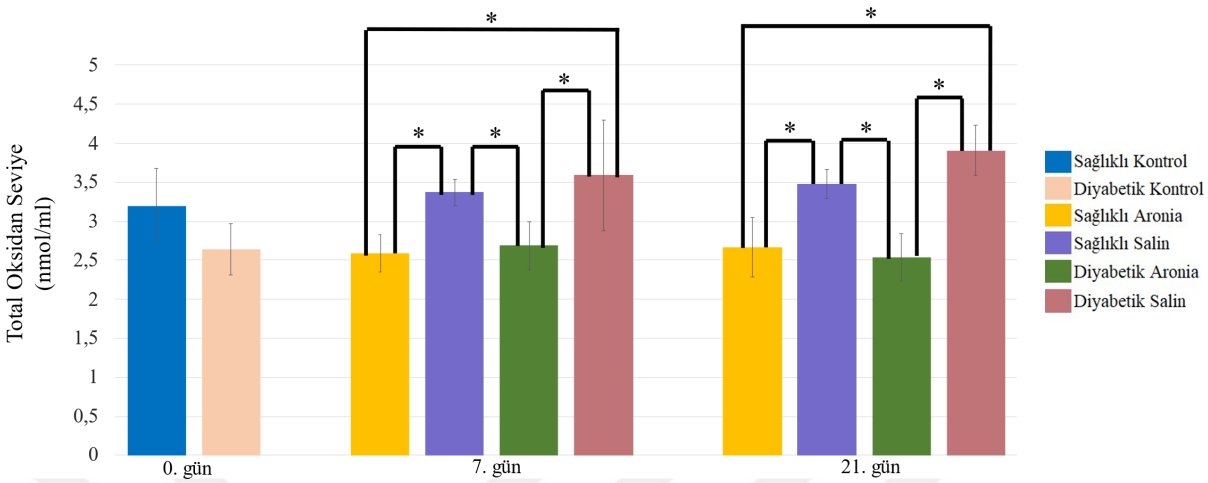
Serum TOS'larının grup içi çoklu karşılaştırmalarında DS grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu (p<0,05), SA, SS ve DA gruplarının benzer olduğu görüldü (p>0,05). DS grubunun TOS'unun başlangıç ile 7. gün ve 7. gün ile 21. günde benzer olduğu (p>0,05); ancak 0. güne kıyasla 21. günde istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edildi (p<0,05).



Şekil 30. Serum Total Oksidan Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05

Gruplar arası serum TOS'larının karşılaştırmasının 0. günde benzer olduğu (p>0,05), 7. ve 21. günlerde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü (p<0,05). Yedinci ve 21. günlerde SS ve DS

gruplarının serum TOS'larının SA ve DA gruplarından yüksek olduğu ($p<0,05$), DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı ($p>0,05$).

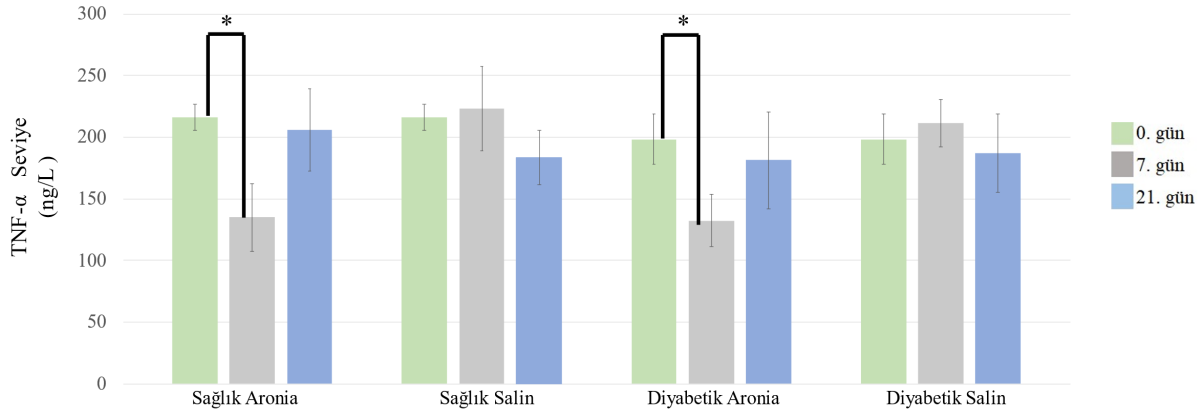


Şekil 31. Serum Total Oksidan Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *$p<0,05$

6.4.4. TNF-α değerlendirilmesi

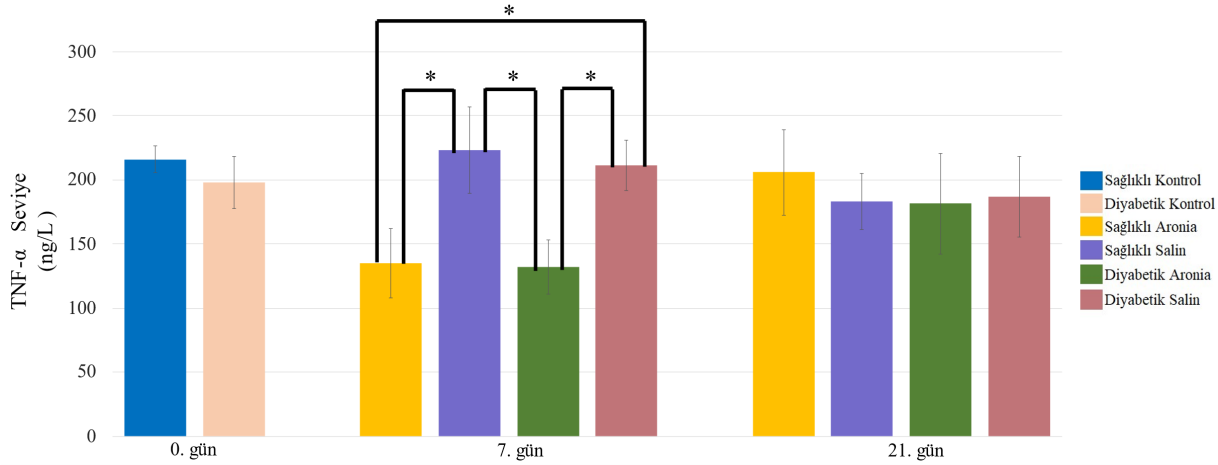
Tüm grupların serum örneklerinden elde edilen TNF-α değerlerinin 0, 7 ve 21. günlerdeki grup içi ve gruplar arası karşılaştırmaları şekil 32 ve şekil 33'de gösterilmektedir. SK grubunun 0. gün TNF-α ortanca değeri 215,97 ng/L ve DK grubunun 198,26 ng/L olarak bulundu. Yedinci ve 21. günlerde TNF-α ortanca değerleri sırasıyla SA grubunun 134,90 ng/L, 205,93 ng/L, SS grubunun 223,10 ng/L, 183,55 ng/L, DA grubunun 132,21 ng/L, 181,45 ng/L ve DS grubunun 211,31 ng/L, 187,02 ng/L olarak saptandı.

Serum TNF-α değerlerinin grup içi çoklu karşılaştırmalarında SA ve DA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p<0,05$), SS ve DS gruplarının benzer olduğu görüldü ($p>0,05$). SA ve DA gruplarında TNF-α değerlerinin başlangıca kıyasla 7. günde istatistiksel olarak anlamlı azaldığı ($p<0,05$), 21. günde benzer olduğu saptandı ($p>0,05$). SA ve DA gruplarında TNF-α değerlerinin 7. ve 21. günlerde ise benzer olduğu tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 32. Tümör Nekroz Faktörü alfa Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05

Gruplar arası serum TNF-α değerlerinin karşılaştırmasının 0. ve 21. günlerde benzer olduğu (p>0,05), 7. günde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü (p<0,05). Yedinci günde SS ve DS gruplarının serum TNF-α değerlerinin SA ve DA gruplarından yüksek olduğu (p<0,05), DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı (p>0,05).



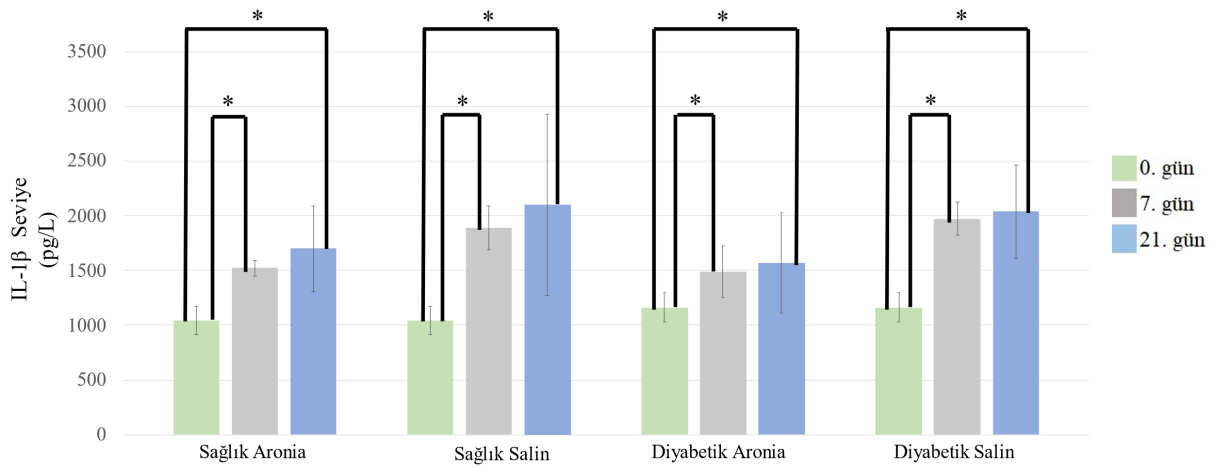
Şekil 33. Tümör Nekroz Faktörü alfa Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05

6.4.5. IL-1β değerlendirilmesi

Tüm grupların serum örneklerinden elde edilen IL-1β değerlerinin 0, 7 ve 21. günlerdeki grup içi ve gruplar arası karşılaştırmaları şekil 34 ve şekil 35'de gösterilmektedir. SK grubunun 0. gün IL-1β ortanca değeri 1041,97 pg/L DK grubunun 1161,65 pg/L olarak bulundu. Yedinci ve 21. günlerde IL-1β ortanca değerleri sırasıyla SA grubunun 1520,26 pg/L, 1700,72 pg/L, SS grubunun 1892,16 pg/L, 2096,58 pg/L, DA grubunun 1489,69 pg/L, 1568,76 pg/L ve DS grubunun 1969,80 pg/L, 2036,96 pg/L olarak bulundu.

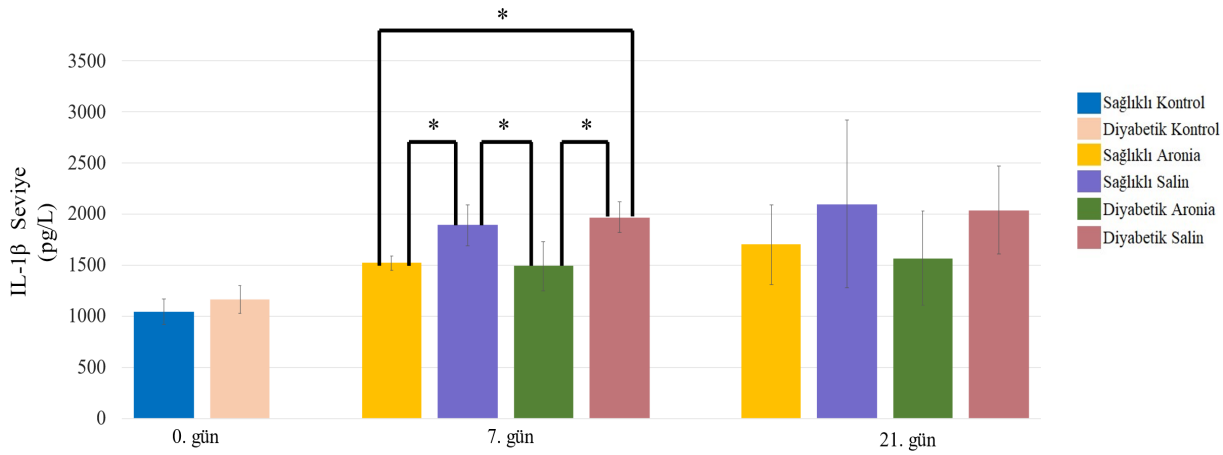
Tüm gruplarda serum IL-1β grup içi çoklu karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edildi (p<0,05). Veriler incelendiğinde SA, SS, DA ve DS gruplarının

IL-1β seviyeleri 0. güne kıyasla 7 ve 21. günlerde istatistiksel olarak arttığı ($p<0,05$), 7. ve 21. gün seviyelerinin benzer olduğu görüldü ($p>0,05$).



Şekil 34. İnterlökin 1 beta Seviyelerinin grup içi karşılaştırması; *p<0,05

Gruplar arası serum IL-1β değerlerinin karşılaştırmasının 0. ve 21. günlerde benzer olduğu ($p>0,05$), 7. günde ise anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0,05$). Yedinci günde SS ve DS gruplarının serum IL-1β değerlerinin SA ve DA gruplarından yüksek olduğu ($p<0,05$), DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı ($p>0,05$).



Şekil 35. İnterlökin 1 beta Seviyelerinin gruplar arası karşılaştırması; *p<0,05

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yara iyileşmesi; hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olmak üzere birbiriyle örtüşen 4 aşamadan oluşan, devamlı olarak hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerini içeren karmaşık ancak düzenli bir süreçtir (Clark, 1996). Doku yıkımı, nötrofillerin, monositlerin ve mast hücrelerinin yara bölgesine infiltre olduğu ve sitokin ürettiği akut enflamatuvar yanıta neden olur (Trautmann ve ark. , 2000). Ortama salınan sitokinler, keratinositlerin, endotel hücrelerin ve fibroblastların proliferasyonunu ve yara bölgesine migrasyonunu uyarır. Son aşamada, ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi, anjiyogenez ve reepitelizasyon yaranın kapanması ve skar oluşumundan sorumludur.

DM hastalarının en yaygın ve ciddi komplikasyonlarından biri yaraların iyileşmeyip kronik yara haline gelmesidir ve DM'li hastalarda kronik yara görülme sıklığı her geçen yıl artmaktadır. Diyabetik yara iyileşmesini etkileyen başlıca faktörler kan glikoz seviyelerinin kötü kontrolü, insülin direnci ve yüksek oksidatif stres seviyeleridir (Falanga, 2005). DM'li hastalarda, enflamatuvar yanıtta bozulma, zayıf dolaşım, azalmış anjiyogenez ve yetersiz fibroblast göçü nedeniyle yara iyileşmesi bozulur (Huysman ve Mathieu, 2009). Diyabetik yara bölgesinde apoptotik hücrelerin sayısı önemli ölçüde artarken, proenflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun arttığı ve antienflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun azalarak yara iyileşmesinin bozulduğu görülmüştür (Khanna ve ark. , 2010).

Kronik yaralar, çalışma, finansal istikrarı sürdürme, sosyalleşme ve topluma üretken ve faydalı bir şekilde katkıda bulunma olanakları da dahil olmak üzere birçok alanda hastaların yaşam kalitesi üzerinde yıkıcı bir etkiye sahiptir. Ayrıca, hastalara şiddetli fiziksel ağrılara ve kendileri ve aileleri de dahil olmak üzere duygusal strese neden olur. Yeni tedavi yöntemlerine ilişkin devam eden araştırmalara rağmen, kronik yaraların etkili bir şekilde tedavi edilmesi süregelen bir zorluk olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, kronik yara ortamının altında yatan süreçlerin daha bütüncül bir şekilde tedavi edilmesi için bitkilerin veya bu kaynaklardan elde edilen fitokimyasalların kullanımına yönelik ilgi giderek artmaktadır. Yapılan araştırmalar, antioksidan içeren bitkiler ve bitki ekstratlarının uygulanmasının yara iyileşmesi ve dokuları oksidatif hasardan önlemede, ROT'u, mikroorganizmaları ve enflamasyonu azaltmada ve kolajen üreten fibroblastların proliferasyonunu uyarmada etkili olacağı gösterilmiştir (Azevedo ve ark. , 2018; Maver ve ark. , 2015; Zhang ve ark. , 2016).

Aronia melanocarpa, yüksek miktarda polifenolik bileşikler içeren, özellikle antosiyaninler, proantosiyanidinler ve fenolik asitler bakımından zengin bir meyvedir. Bu meyve ayrıca C vitamini, E vitamini, B kompleks vitaminleri, mineraller ve diğer biyoaktif bileşenler açısından

da zengin olup, bu içeriği sayesinde güçlü antioksidan özellikler göstermektedir (Shi ve ark. , 2024). Yapılan çalışmalar, chokoberry ürünlerinin sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuştur (Denev ve ark. , 2012; Kokotkiewicz ve ark. , 2010). Bu ürünlerin yüksek antioksidan içeriği, birçok kronik hastalığın yönetiminde değerli kılmaktadır. Chokeberry takviyesinin kardiyovasküler sağlığı iyileştirdiği, kan basıncını düşürdüğü ve hipertansiyonu kontrol altına almada yardımcı olduğu gözlemlenmiştir (Broncel ve ark. , 2010; Jurikova ve ark. , 2017). Ayrıca, DM'nin tedavisinde de umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Christiansen ve ark. , 2023). Kan lipit profilini iyileştirme potansiyeli, chokeberry'nin hiperlipidemiye karşı koruyucu bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir (Kondeva-Burdina ve ark. , 2015). Aynı zamanda bakteriyostatik özellikleri sayesinde gastrointestinal sistem üzerinde de faydalı etkileri olduğu belirlenmiştir (Valcheva-Kuzmanova ve ark. , 2005). Güncel çalışmalar, *Aronia melanocarpa*'nın sadece antioksidan özellikleriyle değil, aynı zamanda antiviral, antikanser ve antienflamatuvar etkileriyle de öne çıktığını göstermektedir (Borowska ve Brzóska, 2016; Ren ve ark. , 2022). Bu çok yönlü etkileri, chokeberry'nin besin takviyesi olarak kullanımının giderek yaygınlaşmasına neden olmaktadır.

Bilgimiz dahilinde *Aronia melanocarpa*'nın DM'li sıçanların sekonder yara iyileşmesi üzerine etkisini klinik, histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, sağlıklı ve deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, palatinal yara iyileşmesinde *Aronia melanocarpa*'nın besin takviyesi şeklinde kullanımının sekonder yara iyileşmesi üzerine etkisini klinik olarak yara kapanması, histomorfometrik olarak epitelyal kenarlar arasındaki mesafe, histolojik olarak enflamatuvar hücre infiltrasyonu, vaskülarizasyon yoğunluğu ve kolajen yoğunluğu, biyokimyasal olarak da kan glikoz seviyesi, serum TAS, TOS, IL-1β, TNF-α seviyelerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Deney hayvanları, araştırmalarda ve biyolojik testlerde ilaç, madde, tedavi gibi etkinliklerin, canlı organizmadaki sonuçlarının elde edilmesi için kullanılan hayvanlardır. Deney hayvanlarının bilimsel deneylerde kullanılmaya başlanmasıyla birlikte araştırma verilerinin istenildiği kadar tekrarlanabildiği ve istenen koşullarda yeniden elde edilebildiği görülmüştür. Hayvan modelleri, belirli patolojilere uygun genetik özelliklere sahip türlerin seçilmesine, istatistiksel analiz için gerekli örnek sayısına hızlıca ulaşılmasına ve yeni teşhis yöntemleri veya tedavi stratejilerinin test edilmesine imkân tanımaktadır. Tüm bu nedenlere bağlı olarak günümüzde deneysel hayvan modelleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Andersen ve Winter, 2019). Deneysel hayvan modelleri geliştirilirken sıklıkla fare, sıçan, kobay ve tavşan gibi türler tercih edilmektedir. Bu çalışmada, yetiştirilme, barınma ve beslenme koşullarının kolayca sağlanabilmesi, yeterli miktarda deney hayvanı temin edilebilmesi, düşük maliyetli olması ve

literatürdeki benzer araştırmalarla uyumlu olması gibi unsurlar dikkate alınarak sıçan seçildi (M. Ahmad ve ark. , 2013; Azevedo ve ark. , 2018).

Yara iyileşmesini değerlendiren çalışmalarda erkek sıçanların kullanılması hormonal değişiklerinin etkisini azaltır. Dişi sıçanlar, östrus döngüleri nedeniyle hormonal dalgalanmalara maruz kalır ve bu durum yara iyileşme sürecini etkileyebilir. Erkek sıçanlar ise bu tür hormonal dalgalanmalara sahip olmadıkları için daha tutarlı sonuçlar elde edilmesine olanak sağlar. Erkek sıçanlar genellikle dişi sıçanlara oranla daha büyük ve daha dayanıklıdır, bu da cerrahi işlemler ve yara modelleri için daha uygun olmalarını sağlar. Bu durum, deneylerin tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini arttırır (Dorsett-Martin, 2004). Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda, sekonder yara iyileşmesinin değerlendirildiği benzer çalışma modelleriyle uyumlu olarak yalnızca erkek sıçanlar kullanıldı (M. Ahmad ve ark. , 2013; Zhang ve ark. , 2011).

Hayvan çalışmalarında, deneysel diyabet oluşturmak için farklı deneysel hayvan modelleri kullanılmıştır. Pankreas beta hücre kompleksinin cerrahi olarak çıkarılması, pankreatektomi, ventromedial hipotalamusun zedelenmesi, yüksek yağlı ve şekerli diyetle besleme, özellikle glukokortikoidler gibi insüline karşıt regülatör hormon yüklemesi ve kimyasal ajanlarla diyabet oluşturma gibi çeşitli teknikler kullanılarak deneysel diyabet oluşturulmaktadır. Kimyasal ajanlarla oluşturulan diyabet modelleri, diğer deneysel yaklaşımlara kıyasla daha ekonomik ve DM oluşturulması kolay olması nedeniyle tercih edilir. Bu diyabet modelinde, pankreastaki beta hücreleri hedef alınırken, alfa ve delta hücrelerine zarar verilmez, ayrıca ketozis gelişme olasılığı ve görece mortalite oranı daha düşüktür (King, 2012). STZ ve alloksan deneysel diyabet oluşturmak için en sık kullanılan kimyasal ajanlardır. Bu ajanların intraperitoneal, subkutan, intravenöz, parenteral verilmesiyle diyabet oluşturulabilir. Bu ajanlar pankreasta Langerhans adacıklarındaki beta hücresini tahrip ederek, hipoinsülinemik ve hiperglisemik duruma neden olurlar. Alloksan ve redüksiyon ürünü olan dialurik asid, süperoksit radikali ve hidrojenperoksit gibi serbest radikallere dönüşür. Bu serbest radikaller pankreas beta adacığında masif kalsiyum artışına neden olarak adacıkta toksisite oluşturur. Alloksan, böbrek tübül epitelinde toksisite ve buna bağlı böbrek yetmezliği oluşturmasından dolayı hafif yüksek dozda bile mortaliteye neden olabilir. STZ, *Streptomyces achromogenes* mantarından izole edilen nitrozüre grubu taşıyan alkilleyici bir kemoterapötiktir. STZ, beta hücrelerine glukoz taşıyıcısı olan GLUT 2 aracılığıyla girer ve DNA alkilasyonu yoluyla hücre ölümüne neden olur. STZ'nin beta hücrelerindeki etkisine kan insülin ve glikoz konsantrasyonlarındaki belirgin değişiklikler eşlik eder. STZ enjeksiyonundan iki saat sonra, kandaki insülin değerinde düşüş ile eşzamanlı olarak hiperglisemi gözlenir. Yaklaşık altı saat sonra, yüksek kan insülin seviyeleri ile hipoglisemi gelişir. Son olarak, hiperglisemi gelişir ve kan insülin seviyesi düşer.

Kan glikozu ve insülin konsantrasyonlarındaki bu değişiklikler beta hücre fonksiyonundaki bozuklukları ifade eder. STZ glikoz oksidasyonunu bozar ve insülin biyosentezini ve sekresyonunu azaltır. STZ'nin ilk başta glikoza karşı beta hücresi yanıtını ortadan kaldırdığı gözlemlenmiştir. Daha sonra yanıt geçici olarak geri dönmekte, bunu kalıcı kayıp takip etmekte ve hücreler hasar görmektedir. STZ, alloksana kıyasla daha kalıcı ve stabil bir diyabet oluşturur (Islas-Andrade ve ark. , 2000). Diğer bir yöntem ise STZ-NA ile indüklenen diyabettir. Bu modelde, STZ ve NA olmak üzere iki bileşiğin uygulanmasıyla diyabet oluşturulmaktadır. B3 vitamininin bir formu olan NA, STZ'nin beta hücrelerine olan toksik etkisini kısmen engelleyerek, beta hücrelerinin bir kısmının canlı kalmasını sağlar ve böylelikle bu hücreler glikoz uyarısına yanıt vermeye devam eder. STZ-NA diyabet modeli, diyabet araştırmalarında geniş bir uygulama alanına sahip olup, diyabetin farklı yönlerini incelemek ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmede önemli bir araçtır. Bu model, insülin salgı yanıtı, glikoz toleransı ve insülin direnci gibi tip 2 DM'nin birçok özelliğini taklit eder ve bu nedenle farmakolojik araştırmalar için değerli bir model olarak kabul edilir (Szkudelski, 2012). Bu nedenler ile çalışmamızda insüline bağımlı olmayan tip 2 DM modeli oluşturmada STZ-NA kombinasyonu kullanıldı.

Sıçanların palatal mukozalarında yara iyileşmesi üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, farklı çaplarda defektler oluşturulmuş ve bu defektlerin iyileşme süreçleri incelenmiştir. Ancak, sıçanların palatinal mukozalarında oluşturulacak defektin boyutu hakkında fikir birliğine varılamadığı görülmektedir. Taşkan ve ark. (2021), 5 mm çapında defekt oluştururken, Suragimath ve ark. (2010), 4,5 mm çapında, Weingberg ve ark. (2022), Oda ve ark. (2004), 4,2 mm çapında, Altan ve ark. (2018), Amaliya ve ark. (2019), 4 mm çapında defekt oluşturmuşlardır. Çalışmamızda sıçanların palatinal mukozalarının ortasında 4 mm çapında mukoperiostal yaralar oluşturuldu. 4 mm defekt çapı, literatürde benzer çapta defektlerin kullanıldığı çalışmalarla uyumludur ve bu çapın yara iyileşme süreçlerini farklı günlerde klinik, histolojik ve histomorfometrik değerlendirmede uygun bir yara modeli olduğunu gösterir.

Yara alanı ölçümü, uygulanan tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılabilen önemli klinik bir göstergedir (Cardinal ve ark. , 2008). Yara alanı ölçümünde bugüne kadar birçok yöntem geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Tahmin, ölçerek doğrudan temas yöntemleri, fotoğraflama ve 3D yöntemler olmak üzere 4 ana başlıkta toplanabilir (Foltynski ve ark. , 2021). Ağız içi sekonder yara iyileşmesi ve buna etki eden faktörleri değerlendiren pek çok çalışmada klinik olarak yara iyileşmesi fotoğraflardan yara alanının ölçülmesiyle değerlendirilmiştir (Chaushu ve ark. , 2021; Çalışır ve ark. , 2018; Kozlovsky ve ark. , 2007). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, ölçüm hatalarını en aza indirmek amacıyla fotoğraflar ile görüntüler kaydedildi ve daha önce Hammad ve ark. (2011) tarafından kullanılan bir bilgisayar

destekli ölçüm yazılımı kullanıldı. Bu yöntem, periodontal sond kullanılarak standart bir şekilde çekilen fotoğraflarda Image J yazılımı ile yara sınırlarının belirlenip yüzey alanının hesaplanmasını kapsamaktadır. Çalışmamızda 7. gündeki yara alanı; SA ve DA gruplarında DS grubundan, 21. gündeki yara alanı ise SA, DA ve SS gruplarında DS grubundan daha küçük olduğu saptandı. Hyun ve ark. (2018), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturduktan sonra sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg *Aster koraiensis* ekstratını 14 gün boyunca oral yolla uygulamış, 1, 8, 11 ve 14. günlerde yara alanını değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak ekstrat uygulanan diyabetik grubun 8. gün yara alanının diyabetik salin grubuna kıyasla daha küçük olduğu saptanmıştır. Parmar ve ark. (2018), STZ-NA kombinasyonu ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin, 100 ve 200 mg/kg fenolik içerikli *Solanum xanthocarpum* ekstratını oral olarak uygulamışlardır. Sıfırıncı, 7. ve 14. günlerde yara alanını değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak ekstrat uygulanan diyabetik grupların 7. gün yara alanının diyabetik salin grubuna kıyasla daha küçük olduğu saptanmıştır. Ahmad ve ark. (2018), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı sıçanlara oral yolla salin, diyabetik sıçanlara salin, 400 ve 600 mg/kg flavanoidlerden ve vitamin C'den zengin pomelo kabuğu ekstratı uygulamıştır. Yedinci, 14. ve 21. günlerde yara boyutu azalma oranını yüzde olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak 7. günde ekstrat uygulanan diyabetik grupların yara boyutunda azalma oranı salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla; 21. günde salin uygulanan sağlıklı grup ve ekstrat uygulanan diyabetik grupların yara boyutunda azalma oranının salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha fazla olduğunu görmüşlerdir. Li ve ark. (2018), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg bitki flavonoidlerinin içerisinde sıklıkla bulunan *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Yirmi birinci gün yara kapanma oranını yüzde olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan diyabetik grubun yara kapanma oranının, salin uygulanan sağlıklı gruba ve 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutini* 21 gün boyunca oral yolla uygulamışlardır. Sıfır, 5, 10, 14, 17 ve 21. günlerde yara alanını değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak 5. günde *rutin* uygulanan diyabetik grubun yara alanı salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha küçük olduğu; 21. günde ise salin uygulanan diyabetik grubun yara alanının salin uygulanan sağlıklı grup ve *rutin* uygulanan diyabetik gruba

kıyasla daha büyük olduğu görülmüştür. Oral olarak uygulanan polifenol içerikli *Aronia melanocarpa* ekstratının STZ-NA ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda, yara alanını küçülttüğü ve yara iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir. Besin takviyesi şeklinde uygulanan *Aronia melanocarpa'*nın, palatal yara iyileşmesi etkinliğinin değerlendirildiği başka bir çalışma bulunmaması nedeniyle bu konunun aydınlatılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Oksidatif stres, hücresel bileşenlerin, özellikle lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın zarar görmesine yol açarak birçok hastalığın gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde, dünya nüfusunun önemli bir bölümünün bazı hastalıkların tedavisinde hala geleneksel ilaçlara başvurması, bitkilerin ilaç geliştirme sürecinde değerli bir kaynak olarak değerlendirilmesini teşvik etmektedir (James ve ark. , 2018; Oyebode ve ark. , 2016). Obezite ve DM gibi metabolik bozukluklar, dünya genelinde giderek yaygınlaşmakta ve bu durum, bu hastalıkların önlenmesi ve yönetimi için yeni stratejilerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu bağlamda, vücut ağırlığındaki değişimlerin hastalık durumu hakkında bilgi sunduğu gösterilmiştir (Kamble ve ark. , 2013; Tambewagh ve ark. , 2017). Çalışmamızda, *Aronia melanocarpa* ekstratının sekonder yara iyileşmesi üzerindeki etkisi ve buna bağlı olarak vücut ağırlıkları ve değişimi değerlendirilmiştir. Gruplar arası vücut ağırlıklarının karşılaştırmasının 0. ve 21. günlerde benzer olduğu, 7. günde SS, SA ve DA gruplarının vücut ağırlıklarının DS grubundan fazla olduğu tespit edildi. Tüm gruplarda 0., 7. ve 21. günlerde vücut ağırlıklarının benzer olduğu görüldü. Rahati ve ark. (2023), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş ve 21 gün boyunca oral yolla salin, 300 mg/kg ıspanak ekstratı uygulamıştır. Üç, 7, 14, 21 ve 30. günlerde sıçanların vücut ağırlıklarını değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak 21. günde ekstrat uygulanan diyabetik gruplarla salin uygulanan diyabetik grubun vücut ağırlıklarının benzer olduğu görülmüştür. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutin* 21 gün boyunca oral uygulamışlardır ve 0, 3, 7, 14 ve 21. günlerde vücut ağırlıklarını ölçmüşlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak 7. günde *rutin* uygulanan diabetik sıçanların vücut ağırlığı salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ahmad ve ark. (2013), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturduktan sonra sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin, polifonellerden zengin 400 mg/kg limon kabuğu ekstratı, 400 mg/kg portakal kabuğu ekstratı ve 400 mg/kg greyfurt portakalı ekstratını oral olarak uygulamışlar ve 1, 3, 6, 9. ve 12. günlerde vücut ağırlıklarını ölçmüşlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak 6. günde salin uygulanan diabetik grubun vücut ağırlığı eksrat uygulanan diyabetik gruplara kıyasla daha

düşük olduğu görülmüştür. Oral olarak uygulanan polifenol içerikli *Aronia melanocarpa* ekstratının STZ-NA ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda vücut ağırlığı değişimi üzerine bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir. *Aronia melanocarpa* ekstratının diğer metabolik ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkilerini inceleyecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yaralanmanın ardından yara kenarındaki hücreler arasındaki bağlantı kopmaktadır. Epidermal hücreler trombositler ve makrofajlardan salgılanan büyüme faktörlerinin etkisiyle yara alanına göç ederek yeni epitel oluşumunu sağlarlar (Singer ve Clark, 1999). Reepitelizasyon, histomorfometrik olarak epitelyal kenarlar arasındaki mesafenin ölçülmesiyle değerlendirilebilir. Çalışmamızda *Aronia melanocarpa* ekstratının DM'li ve sağlıklı sıçanlarda 0., 7. ve 21. günlerde yara bölgesinde epitelyal kenarlar arası mesafe üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Yedinci gündeki epitelyal kenarlar arası mesafe; SA ve DA gruplarında DS grubundan, 21. gündeki epitelyal kenarlar arası mesafe ise SA, DA ve SS gruplarında DS grubundan istatistiksel daha düşük olduğu saptandı. Literatürde, diyabetik sıçanlarda polifenol içerikli bitkisel ekstratların sekonder yaralarda epitelyal arası mesafeyi değerlendiren çalışma bulunamamıştır, alınan doku örneklerinden epitelizasyonu histolojik olarak değerlendiren çalışmalar mevcuttur (Chen ve ark. , 2020; Li ve ark. , 2018; Rahati ve ark. , 2023; Zhang ve ark. , 2011). Zhang ve ark. (2011), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 14 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin ve 2 gr/kg *Oncorhynchus keta* balığı derisi jelatinini oral olarak uygulamışlardır. Yedinci ve 14. günlerde doku örneklerini Hematoksilen-eozin ile boyamış ve epitelizasyonu 0, 1, 2 ve 3 olarak derecelendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak, antioksidan uygulanan diyabetik grubun epitelizasyon derecesi salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Li ve ark. (2018), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Yirmi birinci gün doku örneklerini Hematoksilen-eozin ile boyamışlar, epitelizasyonu 0, 1, 2 ve 3 olarak derecelendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulanan grupların epitelizasyon derecesi salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutin* 21 gün boyunca oral uygulamışlardır. Yirmi birinci gün reepitelizasyonu değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak salin uygulan sağlıklı grup ve rutin uygulanan diyabetik grubun reepitelizasyon derecesinin salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Rahati ve ark. (2023), STZ ile DM

oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş ve 21 gün boyunca oral yolla salin, 300 mg/kg ıspanak ekstratı uygulamıştır. Üç, 7, 14, 21. günlerde epitelizasyonun histolojik değerlendirilmesi için Hematoksilen-eozin ve Masson trikrom boyama yöntemleri kullanmış ve yara dokusu kesitlerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak 7. günde salin uygulanan sağlıklı grup ile ekstrat uygulanan diyabetik grubun epitelizasyonunun benzer olduğu; 21. günde ekstrat uygulanan diyabetik grubun epitelizasyonunun salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha iyi olduğu görülmüştür. Sağlıklı ve diyabetik gruplarında sistemik *Aronia melanocarpa* uygulaması epitelizasyonu hızlandırarak histomorfometrik olarak epitelyal kenarlar arasındaki mesafeyi kısaltabilir.

Yara iyileşmesi, enflamasyon, hücre proliferasyonu ve göçü, anjiyogenez, matriks sentezi, re-epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumu gibi bir dizi fizyolojik süreci içerir. İyileşme kaskatı, trombositlerin açığa çıkmış kolajenle temasıyla birlikte, yaralanmadan hemen sonra başlar. Trombosit agregasyonunun ilerlemesiyle birlikte pıhtılaşma faktörleri salınarak yara bölgesinde pıhtı oluşumu meydana gelir. Pıhtı içindeki fibrinojen, geçici bir matriks görevi görerek sonraki iyileşme fazlarına zemin hazırlar (Clark, 2001). Yara bölgesine gelen enflamatuvar hücreler ve trombositler, sitokinler ve büyüme faktörleri olan sinyal moleküllerini salgılar. Fibroblastlar, yara iyileşmesinde gerekli olan kolajen sentezinden sorumlu bağ dokusu hücreleridir. Kolajen, insanlarda en fazla bulunan protein olup insan vücudundaki toplam proteinin %30'unu oluşturur (Prockop ve Kivirikko, 1995). Sağlıklı dokularda kolajen, yapısal bütünlük ve mukavemet sağlar. Yara iyileşmesinde, yarayı onarmak, anatomik yapıyı ve işlevselliği yeniden kurmak için kolajen sentezi gereklidir. Yara kontraksiyon oranı kolajen seviyeleri ile ilişkilidir. Diyabetik yara iyileşmesinde, granülasyon dokusunda azalmış kolajen sentezi görülmektedir. Kronik hiperglisemi sonucu açığa çıkan İGSÜ kolajen, fibrin ve keratin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine birikerek düzenleyici moleküllerin bağlanmasını etkiler, proteolize duyarlılığı artırır ve protein çapraz bağlarını azaltır (Reiser, 1991). Flavonoidler, kolajen sentezini artırarak, kolajenin çapraz bağlanmasını destekler ve çözünür kolajenin bozulmasını engelleyerek stabilitesini korur. Ayrıca, çözünür kolajenin çözünmez kolajene dönüşümünü teşvik eder ve katabolik süreçlerini inhibe eder (Baynes, 1991). Lee ve ark. (2022), insan deri hücreleri üzerinde yaptığı *in vitro* çalışmada *Aronia Melanocarpa* ekstratının kolajen sentezini arttıdığını, MMP-1 ve MMP-2 ekspresyonunu azalttığını ortaya koymuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise *Aronia melanocarpa* ekstratının topikal uygulaması, farelerde kolajen yıkımını azaltarak UV kaynaklı cilt hasarını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Her ve ark. , 2020). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda *Aronia melanocarpa* bitkisel ekstratının DM'li ve sağlıklı sıçanlarda 0., 7. ve 21. günlerde yara bölgesinde oluşan kolajen miktarı üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Tüm grupların kolajen yoğunluğunun 0.

ve 7. günlerde benzer olduğu, 21. günde DS grubunun kolajen yoğunluğu DA ve SA gruplarından; SS grubunun SA grubundan daha az olduğu tespit edildi. DA grubunun kolajen yoğunluğunun SS ve SA gruplarıyla benzer olduğu saptandı. Ahmad ve ark. (2017), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca oral yolla salin, 100 mg/kg kuarsetin uygulamıştır. Yirmi birinci gün kolajen yapısında yer alan ve kolajenin stabilizasyonunda kritik rol oynayan hidroksiprolin amino asit seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak kuarsetin uygulanan diyabetik grup ile salin uygulanan sağlıklı grubun hidroksiprolin seviyesinin benzer olduğu görülmüştür. Li ve ark. (2018), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Yirmi birinci gün hidroksiprolin seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulanan diyabetik grupların hidroksiprolin seviyesinin salin uygulanan diyabetik gruptan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ahmad ve ark. (2018), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı sıçanlara oral yolla salin, diyabetik sıçanlara salin, 400 ve 600 mg/kg pomelo kabuğu ekstratı uygulamıştır. Yirmi birinci gün hidroksiprolin seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak, ekstrat uygulanan diyabetik grupların hidroksiprolin seviyesinin salin uygulanan diyabetik gruptan daha fazla olduğu; ekstrat uygulanan diyabetik gruplarla salin uygulan sağlıklı grubun hidroksiprolin seviyelerinin benzer olduğu saptanmıştır. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutin* 21 gün boyunca oral uygulamışlardır. Yirmi birinci gün kolajen yoğunluğunu değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak *rutin* uygulanan diyabetik grubun kolajen yoğunluğu salin uygulanan diyabetik gruptan daha fazla olduğu ve salin uygulanan sağlıklı grupla benzer olduğu görülüştür. Yapılan çalışmalar, polifenoller bakımından zengin ekstratların, diyabetik sıçanlarda oluşturulan kutanöz yaralarda kolajen sentezini artırmada etkili olduğu ve kolajen yoğunluğunu artırarak yara iyileşmesinin daha hızlı ilerlemesini desteklediğini göstermektedir. *Aronia melanocarpa*, STZ-NA ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda kolajen sentezini artırarak yara iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir. Akut yara iyileşmesinde, enflamatuvar yanıtın hızlı bir şekilde gelişmesi ve yara iyileşmesinin sonraki fazlarına geçişi için 3 gün boyunca devam etmesi gerekmektedir. Bu durum, nötrofiller ve makrofajlar gibi enflamatuvar hücrelerin yara bölgesine göç etmesini ve nekrotik doku ile mikroorganizmaları fagositoz etmesini gerektirir. Ancak, DM gibi kronik yara iyileşmesinde enflamatuvar yanıt daha uzun süreli olur ve yara rejenerasyonunu etkiler (Wetzler ve ark. ,

2000). Diyabetik yaralarda görülen gecikmiş enflamasyon çözünmesi, yaranın geç iyileşmesine neden olan faktörlerden biridir. Artmış ve uzun süreli enflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibroblastlar gibi yara iyileşmesinde rol alan bir çok hücrenin migrasyonunu ve aktivitesini baskılayan yüksek düzeyde enflamatuvar sitokin salınımına yol açar (Wetzler ve ark. , 2000). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Aronia melanocarpa* bitkisel ekstratının antienflamatuvar etkinliği gösterilmiştir (Ali ve ark. , 2021; Bararu ve ark. , 2013). H skoru yöntemi, enflamatuvar hücre infiltrasyonunun değerlendirilmesi için kullanılan yöntemlerden biridir, sadece pozitif ya da negatif boyanmayı değil, aynı zamanda boyanmanın derecesini de değerlendirir (Detre ve ark. , 1995). Böylece incelenecek parametrenin seviyelerini daha ayrıntılı olarak tanımlamaya yardımcı olur. Aynı protokoller uygulandığında, H skoru verileri standart hale getirilmiş olur (McCarty Jr ve ark. , 1986). Çalışmamızda *Aronia melanocarpa* ekstratının antienflamatuvar özelliğinin DM'li ve sağlıklı sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine etkisini karşılaştırmak amacıyla, enflamatuvar hücre infiltrasyonu değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeyi yapabilmek için önceki bir çalışmada (Delipinar ve ark. , 2017) belirlenen H skoru yöntemi kullanıldı. Çalışmamızda, 7. günde DS grubunun enflamatuvar hücre yoğunluğunun SA ve DA gruplarından; SS grubu ise SA grubundan daha fazla olduğu saptandı. Yirmi birinci günde ise DS grubunun enflamatuvar hücre yoğunluğunun SA ve DA gruplarından daha yüksek; SA grubunun ise DA ve DS gruplarından daha düşük olduğu tespit edildi. Ahmad ve ark. (2017), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca oral yolla salin, 100 mg/kg kuarsetin uygulamıştır. Yirmi birinci gün enflamatuvar hücre infiltrasyonunu değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak kuarsetin uygulanan diyabetik grubun enflamatuvar hücre inflitrasyonunun, salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla düşük olduğu saptanmıştır. Li ve ark. (2018), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Yirmi birinci gün doku örneklerini Hematoksilen-eozin ile boyamışlar ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunu değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulanan diyabetik grubun enflamatuvar hücre inflitrasyonunun, salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla düşük olduğu görülmüştür. Fu ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş ve salin, 10, 20 ve 40 mg/mL kuarsetini 14 gün boyunca oral olarak uygulamışlardır. Yedinci gün doku örneklerini Hematoksilen-eozin ile boyamışlar ve enflamatuvar hücre sayımı gerçekleştirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak kuarsetin uygulanan grupların enflamatuvar hücre sayısının, salin uygulanan gruba kıyasla düşük olduğu tespit edilmiştir. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş,

sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutini* 21 gün boyunca oral yolla uygulamışlardır. Yirmi birinci gün doku örneklerini Hematoksilen-eozin ile boyamışlar ve enflamatuvar hücre sayımı yaparak enflamasyonu değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan diyabetik grubun enflamatuvar hücre sayısının, salin uygulanan sağlıklı gruba ve rutin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Rahati ve ark. (2023), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş ve 21 gün boyunca oral yolla salin, 300 mg/kg ıspanak ekstratı uygulamıştır. 3, 7, 14, 21. günlerde enflamasyonu 0-8 arasında derecelendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak ıspanak ekstratı uygulanan diyabetik grubun enflamasyon şiddeti, salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha az olduğu saptanmıştır. *Aronia melanocarpa*, STZ-NA ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda enflamatuvar infiltrasyonu azaltarak yara iyileşmesini hızlandırdığı yara iyileşmesinin proliferasyon fazına daha hızlı geçişini desteklediği düşünülmektedir.

Önceden var olan damarlardan yeni kan damarlarının oluşumu olan anjiyogenez, kronik yaralarda ciddi şekilde zarar gören yara iyileşmesinde çok önemli bir süreçtir. Vasküler komponent, yaranın oluşumundan birkaç gün sonra ortaya çıkan angiyogeneze bağlıdır. Yaraya doğru gelişen kapillerler, iyileşme için gerekli bileşenleri sağlamanın yanı sıra, metabolitlerin de atılmasını kolaylaştırır. Yeni dokuların yenilenmesi için gerekli olan oksijen ve kan desteği yeni damarlardan zamanında sağlanamadığında, kronik yaraların iyileşmesi zorlaşır (Harold Brem ve Marjana Tomic-Canic, 2007). Çalışmamızda *Aronia melanocarpa* ekstratının DM'li ve sağlıklı sıçanlarda 0., 7. ve 21. günlerde yara bölgesinde vaskülarizasyon miktarı üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. 7. ve 21. günlerde DS grubunun vaskülarizasyon yoğunluğu SA ve DA gruplarına kıyasla; SS grubu ise SA grubuna kıyasla daha düşük olduğu görüldü. 7. ve 21. günlerde DA grubunun vaskülarizasyon yoğunluğunun SS ve SA gruplarıyla; SS ve DS gruplarının benzer olduğu tespit edildi. Zhang ve ark. (2011), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 14 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 2 gr/kg *Oncorhynchus keta* balığı derisi jelatini oral olarak uygulamışlardır. Yedinci ve 14. günlerde doku örneklerini Hematoksilen-eozin ile boyamış ve vaskülarizasyonu 0, 1, 2 ve 3 olarak derecelendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak, antioksidan uygulanan diyabetik grubun vaskülarizasyon derecesi salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Li ve ark. (2018), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Yirmi birinci gün vaskülarizasyonu histolojik olarak değerlendirmişlerdir.

Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulanan diyabetik grupların vaskülarizasyonunun salin uygulanan diyabetik gruptan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fu ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş ve salin, 10, 20 ve 40 mg/mL kuarsetini 14 gün boyunca oral olarak uygulamışlardır. Yedinci gün doku örneklerini Massom trikrom ile boyamış ve vaskülarizasyonu değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan grubun vaskülarizasyonunun kuarsetin uygulanan gruplara kıyasla daha az olduğu bulunmuştur. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutini* 21 gün boyunca oral yolla uygulamışlardır. Yirmi birinci gün doku örneklerini Massom trikrom ile boyamışlar ve vaskülarizasyonu değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan diyabetik grubun vaskülarizasyonunun *rutin* uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha az olduğu saptanmıştır. Rahati ve ark. (2023), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş ve 21 gün boyunca oral yolla salin, 300 mg/kg ıspanak ekstratı uygulamıştır. 3, 7, 14, 21. günlerde kan damarı oluşumunu histolojik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak, ekstrat uygulanan diyabetik grupların kan damarı oluşumunun salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. *Aronia melanocarpa*, STZ-NA ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda vaskülarizasyonu artırarak yara iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir.

DM'de gözlenen en belirgin metabolik bozukluk kronik hiperglisemidir (Brownlee, 1995). Uzun süreli hiperglisemi pankreas adacık disfonksiyonu ile sonuçlanabilir (Duan ve ark. , 2016; Xu ve ark. , 2015). Bozulmuş anjiyogenez ve yara iyileşme sürecinden sorumlu ana faktör hiperglisemidir. DM tedavisinde bitkiler ve bitkisel ekstratlar uzun süredir kullanılmakta ve alternatif bir tedavi olarak kabul edilmektedir. İçeriğinde bulunan aktif bileşenler pankreas beta hücrelerini onarabilir, insülin direnciyle mücadele edebilir veya insülin salgılayabilir (Choudhury ve ark. , 2018). Çalışmalar, *Aronia melanocarpa* tüketiminin hipoglisemik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Badescu ve ark. , 2015; Mu ve ark. , 2020). STZ kullanılarak DM oluşturulan hayvan çalışmaları, bitkiler ve bitkisel ekstratların hipoglisemik potansiyelini incelemek için etkili bir model olarak kullanılmaktadır (Bandawane ve ark. , 2011; Khan ve ark. , 2014). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda DM oluşturduğumuz sıçanların kan glikoz seviyeleri ölçüldü ve *Aronia melanocarpa*'nın hipoglisemik etkisi değerlendirildi. Çalışmamızda 7. günde DS ve DA grubu kan glikoz seviyelerinin benzer olduğu, 21. günde DA grubunda DS grubuna göre kan glikoz seviyesinin daha düşük olduğu görüldü. Çalışmamız bilgimiz dahilinde DM'li sıçanların sekonder yara iyileşmesinde *Aronia melanocarpa*

ekstratının kan glikoz seviyesi üzerine etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. DM'li sıçanlarda *Aronia melanocarpa'*nın hipoglisemik etkisi iki hayvan çalışmasında değerlendirilmiştir (Kuzmanova ve ark. , 2007; Oprea ve ark. , 2014). Kuzmanova ve ark. (2007), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlara ve sağlıklı sıçanlara 6 hafta boyunca oral yolla salin, 10 ve 20 mg/kg *Aronia melanocarpa* meyve suyu vermiş, kan glikoz seviyelerini 0. gün ve 6. haftada değerlendirmiştir. Diyabetik sıçanlara uygulanan *Aronia melanocarpa* meyve suyunun, diyabetik salin uygulanan sıçanlara kıyasla plazma glikoz seviyelerinde düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Benzer başka bir çalışma Oprea ve ark. (2014), tarafından alloksan indüksiyonu ile DM oluşturulan sıçanlarda yapılmıştır. Sağlıklı sıçanlara ve diyabetik sıçanlara salin ve 10 mg/kg *Aronia melanocarpa* ekstratı 6 hafta boyunca oral yolla uygulanarak 6. hafta kan glikoz seviyeleri değerlendirilmiştir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak ekstrat verilen diyabetik sıçanların kan glikoz seviyelerinin salin uygulanan sıçanlara kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Antioksidanların kutanöz yara modeli oluşturulmuş DM'li sıçanlarda hipoglisemik etkisini değerlendiren birçok hayvan çalışması bulunmaktadır (Ahmad ve ark. , 2018; M Ahmad ve ark. , 2013; Ahmad ve ark. , 2017; Chen ve ark. , 2020; Nasiry ve ark. , 2017; Nayak ve ark. , 2007; Parmar ve ark. , 2018; Rahati ve ark. , 2023; Tuhin ve ark. , 2017). Nayak ve ark. (2007), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturduktan sonra sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve antosiyaninlerden zengin 100 mg/kg *Morinda citrifolia* meyve suyunu 11 gün boyunca oral yolla uygulamış, 11. gün kan glikoz seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularından farklı olarak diyabetik salin grubuna kıyasla antioksidan meyve suyu verilen grubun kan glikoz seviyesi daha düşük bulunmuştur. Tuhin ve ark. (2017), alloksan ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuştur. Sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara 16 gün boyunca salin, 100, 200 ve 400 mg/kg flavanoid içerikli *Euphorbia hirta linn* bitkisinin ekstratını oral olarak uygulamışlar ve 8. gün kan glikoz seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularından farklı olarak ekstrat uygulanan grupların 8. gün kan glikoz seviyelerinin diyabetik salin uygulan gruba kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Parmar ve ark. (2018), STZ-NA kombinasyonu ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin,100 ve 200 mg/kg fenolik içerikli *Solanum xanthocarpum* eksratını oral uygulamışlardır. Sıfırıncı, 7. ve 14. günlerde kan glikoz seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularından farklı olarak ekstrat uygulanan grupların 7. gün kan glikoz seviyelerinin diyabetik salin uygulan gruba kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Bu farklılığın uygulanan antioksidan ajan dozlarının çalışmamız dozlarına kıyasla yüksek olmasından, diyabet indüksiyon yöntemlerinin farklı olmasından (Szkudelski, 2001; Tuhin ve ark. , 2017) ve *Aronia melanocarpa'*nın erken dönem

hipoglisemik etkisinin sınırlı olabileceğinden kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Ahmad ve ark. (2013), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturduktan sonra sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin, polifonellerden zengin 400 mg/kg limon kabuğu ekstratı, 400 mg/kg portakal kabuğu ekstratı ve 400 mg/kg greyfurt portakalı ekstratını oral olarak uygulamışlardır. Sıfırıncı, 3., 6., 9. ve 12. günlerde kan glikoz seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız 7. gün bulgularıyla benzer olarak ekstrat uygulanan diyabetik grupların ve salin uygulanan diyabetik grubun 6. gün kan glikoz seviyelerinin benzer olduğu tespit edilmiştir. Ahmad ve ark. (2017), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca oral yolla salin, 100 mg/kg kuarsetin uygulamıştır. Yirmi birinci gün kan glikoz seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak kuarsetin uygulanan diyabetik grubun 21. gün kan glikoz seviyesi diyabetik salin uygulanan gruba kıyasla daha düşük ölçülmüştür. Ahmad ve ark. (2018), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı sıçanlara oral yolla salin, diyabetik sıçanlara salin, 400 ve 600 mg/kg pomelo kabuğu ekstratı uygulamıştır. Sıfırıncı, 7., 14. ve 21. gün kan glikoz seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak 7. günde ekstrat uygulanan grupların ve salin uygulanan diyabetik grubun kan glikoz seviyelerinin benzer olduğu, 21. günde ise ekstrat uygulanan grupların kan glikoz seviyelerinin salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutin* 21 gün boyunca oral uygulamışlardır. Birinci, 3., 7., 14. ve 21. günlerde kan glikoz seviyelerini ölçmüşlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak 21. günde *rutin* uygulanan grubun kan glikoz seviyesi salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Rahati ve ark. (2023), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlara ve sağlıklı sıçanlara kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca oral yolla salin ve 300 mg/kg ıspanak ekstratı uygulamışlardır. Üçüncü, 7., 14., 21. ve 30. günlerde kan glikoz seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak, ekstrat uygulan diyabetik grup ile salin uygulanan diyabetik grubun 7. gün kan glikoz seviyelerinin benzer olduğu, eksrat uygulanan diyabetik grubun 21. gün kan glikoz seviyesi diyabetik salin uygulanan gruba kıyasla daha düşük ölçülmüştür. *Aronia melanocarpa* hipoglisemik etkisini gastrik mukoza hasarını azaltarak (Valcheva-Kuzmanova ve ark. , 2005), α-glikozidaz, lipaz ve amilazı inhibe ederek (Simeonov ve ark. , 2002; Worsztynowicz ve ark. , 2014), insülin sinyali ile ilişkili birçok yolun modülasyonu ile (Adisakwattana ve ark. , 2011; Valcheva-Kuzmanova, Kuzmanov, Tancheva, ve ark. , 2007) ve beta hücrelerinin bütünlüğünün yeniden sağlayarak (Dragan ve ark. , 2015; Qin ve Anderson, 2012; Sikora ve ark. , 2014) gösterir.

Ayrıca *Aronia melanorcarpa* antioksidan ve antienflamatuvar özellikleriyle hiperglisemi kaynaklı oksidatif stresin ve bunun sonucunda ortaya çıkan komplikasyonların azaltılmasında da etkili olabilir (King ve Bolling, 2020).

Kronik yaraların nötrofil kaynaklı oksidanlar ve serbest radikaller tarafından önemli ölçüde oksidatif strese maruz kaldığını ve bu durumun kronik yara iyileşmesinde doku hasarına neden olduğu bilinmektedir. Aşırı ROT birikimi oksidatif strese, sitotoksisiteye ve gecikmiş yara iyileşmesine neden olur (Pattanayak ve ark. , 2011). Bitki ekstratlarındaki birçok antioksidan, yara iyileşmesi de dahil olmak üzere ROT ile ilişkili patolojilerin ve/veya yaralanmaların olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için kullanılır (Akacha ve ark. , 2022; Mzid ve ark. , 2017; Zammel ve ark. , 2021). *Aronia melanocarpa,* yüksek polifenol içeriğine sahip meyveler arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip meyvedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda *Aronia melanocarpa*'nın, yüksek antioksidan aktivite sergilediği bildirilmiştir (Kedzierska ve ark. , 2010; Ryszawa ve ark. , 2006). Lei ve ark. (2023), tarafından yapılan *in vitro* çalışmada, *Aronia melanocarpa* polifenollerinin antioksidan kapasitesinin C vitamininkinden daha yüksek olduğu ve konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivitesinin arttığını ortaya koymuştur. Nowak ve ark. (2016), tarafından, 3 hafta boyunca günlük 250 mL Aronia meyve suyu tüketen sağlıklı insanlar üzerinde yapılan klinik çalışmada, Aronia meyve suyunun serum antioksidan kapasitesinin önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. TAS ve TOS, antioksidan aktivitenin ve oksidatif stresin değerlendirilmesinde kritik öneme sahip iki biyokimyasal parametredir. TAS, toplam antioksidan kapasitesini ölçerken, takviye olarak kullanılan ekstratın serbest radikalleri nötralize etme yeteneğini değerlendirir; TOS, toplam oksidan seviyelerini belirleyerek hücresel hasara yol açabilen ROT ve serbest radikalleri ölçer. Çalışmamızda *Aronia melanocarpa* bitkisel ekstratının sekonder yara iyileşmesi üzerine antioksidatif etkisinin biyokimyasal yöntemlerle karşılaştırılması amaçlandı. Oksidatif yükü değerlendirebilmek için serum TAS ve TOS seviyeleri ölçüldü. Çalışmamızda sıçanlardan alınan serum örneklerinde TAS'larının DS grubunda 0. günden 21. güne doğru azaldığı, SA, SS ve DA gruplarının 0 ve 21. gün TAS'larının benzer olduğu görüldü. SA ve DA gruplarının TAS'ının 7. güne kıyasla 21. günde daha yüksek olduğu, SS ve DS gruplarının 7 ve 21. gün serum TAS'larının benzer olduğu saptandı. Çalışmamız bilgimiz dahilinde DM'li sıçanların sekonder yara iyileşmesinde *Aronia melanocarpa* ekstratının TAS üzerine etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Li ve ark. (2018), STZ ile diyabet oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Dokuda, SOD ve GSH seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulan diyabetik grupta 21. gün SOD ve GSH seviyelerinin yüksek olduğu

saptanmıştır. Chen ve ark. (2020), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara salin, diyabetik sıçanlara salin ve 100 mg/kg antioksidan *rutini* 21 gün boyunca oral yolla uygulamışlardır. Yirmi birinci gün antioksidan enzimlerden SOD ve glutatyon peroksidazı immünohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmamız bulgularıyla benzer olarak 21. günde antioksidan uygulanan grupta antioksidan aktivitenin arttığı saptanmıştır. Özkaya ve ark. (2019), Ghaisas ve ark. (2014) ve Zhang ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmalar, kutanöz yara oluşturdukları sağlıklı sıçan grubuna 14 gün boyunca oral yolla salin ve STZ indüksiyonu ile DM oluşturdukları sıçanlara salin, antioksidan olarak ise ferulik asit, N-asetil sistein ve *Oncorhynchus keta* balığı derisi jelatini uygulamışlardır. Diyabetik salin uygulanan guruba kıyasla antioksidan uygulanan diyabetik sıçanlarda serum toplam sülfidril, SOD, GSH, katalaz seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Polifenol içerikli bitkisel ekstratların serum antioksidan molekülleri arttırmada etkili olduğu düşünülebilir. Ancak Aronia melanocarpanın serumda enzimatik ve enzimatik olmayan biyolojik moleküller üzerine etkisini inceleyecek daha fazla sayıda hayvan ve insan çalışmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda deney hayvanlarından alınan serum örneklerinde TOS'larının 7. ve 21. günlerde SS ve DS gruplarının serum TOS'larının SA ve DA gruplarından yüksek olduğu, DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı ($p>0,05$). Çalışmamız bilgimiz dahilinde DM'li sıçanların sekonder yara iyileşmesinde *Aronia melanocarpa* ekstratının TOS üzerine etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Li ve ark. (2018), STZ ile DM oluşturduğu sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, 21 gün boyunca sağlıklı gruba salin, diyabetik gruba salin, 25, 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* oral olarak uygulamışlardır. Dokuda, NO ve lipit peroksidasyonu ölçmek için MDA seviyelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 21. gün bulgularıyla benzer olarak 50 ve 100 mg/kg *hesperidin* uygulan diyabetik gruba kıyasla salin uygulanan diyabetik grupta NO ve MDA seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Ghaisas ve ark. (2014) ve Özkaya ve ark.'nın (2019) yaptıkları hayvan çalışmalarında, kutanöz yara oluşturulan sağlıklı sıçan grubuna 14 gün boyunca oral yolla salin ve STZ indüksiyonu ile DM oluşturulan sıçanlara salin, antioksidan olarak ise ferulik asit ve N-asetil sistein uygulamışlardır. DM'li salin uygulanan guruba kıyasla DM'li antioksidan uygulanan grupların serum plazma MDA, floresan oksidasyon ürünleri ve TOS seviyelerini azaltarak lipit peroksidasyonunu ve oksidatif stresi düşürdüğü gösterilmiştir. Tuhin ve ark. (2017), alloksan indüksiyonu ile DM oluşturduğu sıçanlarda kutanöz yara oluşturduktan sonra 100, 200 and 400 mg/kg *Euphorbia hirta linn* bitki ekstratını 16 gün boyunca oral uygulamıştır. Ekstrat uygulanan grupların 16. gün serum MDA ve NO seviyelerinin salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır. *Aronia melanocarpa*'nın antioksidan etki mekanizması, ROT ve RNT'lerin oluşumunu baskılaması,

prooksidan enzimlerin inhibisyonu ve antioksidan enzimleri regüle etmesiyle açıklanabilir (Denev ve ark. , 2012; Kim ve ark. , 2024; Li ve ark. , 2024). Antioksidanlar, sağlıklı hücrelere zarar veren serbest radikalleri inhibe etme ve antioksidan enzimleri regüle etme kapasiteleri sayesinde sağlığı desteklemede önemlidir. Dolayısıyla, antioksidan etkiler kanser, enfeksiyon, kalp hastalığı ve diyabet gibi oksidatif stresten kaynaklanan diğer hastalıkların iyileştirilmesinde de yararlı olabilir. Bu doğrultuda, *Aronia melanocarpa* içeriğinde bulunan ve güçlü antioksidan aktivite gösteren polifenoller, E ve C vitamini, bakır ve çinko sayesinde sağlığın iyileştirilmesinde ve DM tedavisinde takviye edici gıda olarak kullanılabilir.

Enflamatuvar bir sitokin olan TNF-α, enflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde ve yara iyileşmesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. TNF-α, yara bölgesindeki vasküler endotel hücreleri, keratinositler ve fibroblastlar tarafından hızla salınır. Enflamatuvar lökositlerin yara bölgesine ulaşmasını teşvik ederek enflamasyonu tetikler. Kronik yaralarda aşırı TNF-α salgılanması, kontrolsüz kronik enflamasyonu tetikleyebilecek olumsuz bir etkiye sahip olabilir ve bu durum doku ve organ hasarına yol açabilir (Ritsu ve ark. , 2017). Diyabetik yara iyileşmesinde, bozulmuş fibroblast proliferasyonu, artmış TNF-α seviyeleriyle ilişkilendirilmiştir (Kaiser ve Polk, 1997). Diyabetik farelerde fibroblast apoptozunun, sağlıklı farelere kıyasla daha yüksek olduğu (Liu ve ark. , 2006) ve diyabetik ayak ülserlerinde fibroblast apoptozunun yüksek olduğu ortaya konmuştur (Hasnan ve ark. , 2010). TNF-α, fibroblast, keratinosit ve endotel hücrelerinin apoptozunu uyarır (Petrache ve ark. , 2000). TNF-α inhibisyonunun, diyabetik yara iyileşmesinde artmış olan apoptozu azalttığı gösterilmiştir (Siqueira ve ark. , 2010). Ayrıca DM'de, fibroblast ve keratinosit migrasyonu bozulmuştur (Usui ve ark. , 2008) ve yüksek TNF-α seviyeleri de hücre migrasyonunu inhibe eder (Corredor ve ark. , 2003). Çalışmamızda *Aronia melanocarpa* bitkisel ekstratının sekonder yara iyileşmesi üzerine antienflamatuvar etkisi serum TNF-α seviyesinin biyokimyasal yöntemlerle ölçülmesiyle değerlendirildi. Çalışmamızda, 7. günde SS ve DS gruplarının serum TNF-α seviyesinin SA ve DA gruplarından yüksek olduğu, DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı. Sıfırıncı ve 21. gün serum TNF-α değerlerinin tüm gruplarda benzer olduğu tespit edildi. Çalışmamız bilgimiz dahilinde DM'li sıçanların sekonder yara iyileşmesinde *Aronia melanocarpa* ekstratının serum TNF-α seviyesi üzerine etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Ebaid ve ark. (2013), sıçanlarda kutanöz yara oluşturduktan sonra sağlıklı sıçanlara ve STZ indüksiyonu ile DM oluşturdukları sıçanlara 8 gün oral yolla salin ve 250 mg/kg antienflamatuvar, antioksidan etkileriyle bilinen bir süt proteini olan *Whey* proteini uygulamışlardır. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak 8. gün protein uygulanan sağlıklı ve diyabetik grupla, salin uygulanan sağlıklı ve diyabetik grup serum TNF-α seviyesinin benzer olduğu, salin uygulanan sağlıklı ve salin uygulanan diyabetik grubun TNF-

α seviyesinin protein uygulanan sağlıklı ve diyabetik gruptan yüksek olduğu saptanmıştır. Azevedo ve ark. (2018), STZ indüksiyonu ile DM oluşturdukları sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara ve 10 gün oral yolla salin ve 100 mg/kg antioksidan *Moringa oleifera* ekstratı uygulamışlardır. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan sağlıklı ve salin uygulanan diyabetik grubun 10. gün TNF-α seviyesinin antioksidan ekstrat uygulanan sağlıklı ve diyabetik gruptan yüksek olduğu bulunmuştur. Nakhate ve ark. (2023), STZ-NA ile DM oluşturduğu farelerde ve sağlıklı farelerde kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı farelere salin, diyabetik farelere salin, 100 ve 200 mg/kg antioksidan *Acacia catechu* eksratı 14 gün boyunca oral uygulamışlardır. On dördüncü gün serum örneklerinden serum TNF-α seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan sağlıklı ve diyabetik gruba kıyasla ekstrat uygulanan grubun serum TNF-α seviyesi daha düşük ölçülmüştür. IL-1β, DM dahil olmak üzere birçok enflamatuvar hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan güçlü bir proenflamatuvar sitokindir. IL-1β; adipositler, makrofajlar, endotel hücreleri, nöronlar, mikroglia ve pankreas beta hücreleri gibi birçok hücre tarafından salgılanır (Bartfai ve Schultzberg, 1993; Bendtzen ve ark. , 1986). Pankreasta IL-1β , yüksek glikoz konsantrasyonlarında indüklenir ve IL-1β'nın, insülin sekresyonunun bozulmasına, hücre proliferasyonunun azalmasına ve pankreas beta hücrelerinin apoptozuna yol açan iyi bilinen sitotoksik etkileri bulunmaktadır (Maedler ve ark. , 2002). Diyabetik yara iyileşmesinde, IL-1β enflamatuvar yanıtın uzun süre devam etmesini sağlayarak yara iyileşmesini bozar (Mirza ve ark. , 2013). Diyabetik fareler üzerinde yapılan bir çalışmada IL-1β reseptörü inhibitörü ile yapılan tedavinin, kronik yara iyileşme sürecini desteklediği gösterilmiştir (Perrault ve ark. , 2018). Başka çalışmalarda IL-1β'nin sistemik olarak bloke edilmesinin farelerde ve insanlarda glisemik kontrol ile beta hücre fonksiyonunu iyileştirebileceği gösterilmiştir (Larsen ve ark. , 2007; Osborn ve ark. , 2008). Çalışmamızda *Aronia melanocarpa* bitkisel ekstratının sekonder yara iyileşmesi üzerine antienflamatuvar etkisi serum IL-1β seviyesinin de biyokimyasal yöntemlerle ölçülmesiyle değerlendirildi. Çalışmamızda SA, SS, DA ve DS gruplarının IL-1β seviyeleri 0. güne kıyasla 7 ve 21. günlerde arttığı, 7. ve 21. gün seviyelerinin benzer olduğu görüldü. Yedinci günde SS ve DS gruplarının serum IL-1β değerlerinin SA ve DA gruplarından yüksek olduğu, DS ve SS grupları ile SA ve DA gruplarının benzer olduğu saptandı. Çalışmamız bilgimiz dahilinde DM'li sıçanların sekonder yara iyileşmesinde *Aronia melanocarpa* ekstratının serum IL-1β seviyesinin üzerine etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Ebaid ve ark. (2013), sıçanlara kutanöz yara oluşturduktan sonra sağlıklı sıçanlara ve STZ indüksiyonu ile DM oluşturdukları sıçanlara 8 gün oral yolla salin ve 250 mg/kg Whey proteini uygulamış, topladıkları serum örneklerinden 8. gün serum IL-1β seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer

olarak salin uygulanan diyabetik gruba kıyasla ekstrat uygulanan grubun serum IL-1β seviyesi daha düşük ölçülmüştür. Azevedo ve ark. (2018), STZ indüksiyonu ile DM oluşturdukları sıçanlarda ve sağlıklı sıçanlarda kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı sıçanlara ve 10 gün oral yolla salin ve 100 mg/kg antioksidan *Moringa oleifera* ekstratı uygulamışlardır. Onuncu gün serum IL-1β seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak IL-1β salin uygulanan sağlıklı ve diyabetik grubun antioksidan ekstrat uygulanan sağlıklı ve diyabetik gruptan yüksek olduğu bulunmuştur. Nakhate ve ark. (2023), STZ-NA ile DM oluşturduğu farelerde ve sağlıklı farelerde kutanöz yara oluşturmuş, sağlıklı farelere salin, diyabetik farelere salin, 100 ve 200 mg/kg antioksidan *Acacia catechu* eksratı 14 gün boyunca oral olarak uygulamış, 14. gün serum IL-1β seviyesini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün bulgularıyla benzer olarak salin uygulanan sağlıklı ve diyabetik gruba kıyasla ekstrat uygulanan grubun serum IL-1β seviyesi daha düşük ölçülmüştür. *Aronia melanocarpa*, antosiyaninler, proantosiyanidinler ve fenolik asit gibi çok sayıda polifenol içerdiği sayesinde antienflamatuvar etki gösterir (Ho ve ark. , 2014; Strugała ve ark. , 2016). Yapılan *in vitro* çalışmalarda *Aronia melanocarpa*'nın antienflamatuvar etkinliği kanıtlanmıştır (Martin ve ark. , 2018; Zapolska-Downar ve ark. , 2012). Yang ve ark. (2020), yaptıkları hayvan çalışmasında, CCl_4 ile karaciğer hasarı oluşturduğu farelerde *Aronia melanocarpa* antosiyaninlerinin TNF-α, IL-1 ve IL-6 ekspresyonunu azalttığını ortaya koymuşlardır. Wang ve ark. (2020), kronik alkolik karaciğer hasarı oluşturulmuş farelerde *Aronia melanocarpa*'nın antienflamatuvar etkisini araştırmıştır. 2 g/kg *Aronia melanocarpa*'nın karaciğerde IL-2, IL-4, IL-6, tiyoesteraz 4, fibrinojen benzeri protein 1 ve fibrinojen γ enflamatuvar faktör seviyelerini etkili bir şekilde azalttığını göstermişlerdir. Kong ve ark. (2021), lipopolisakkarit ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda, *Aronia melanocarpa*'nın serum lipopolisakkarit seviyesinin azaldığını ve lipopolisakkarit seviyesinin azalmasına bağlı olarak IL-6, IL-1β, TNF-α gibi proenflamatuvar sitokinlerin ve bu sitokinler ile ilişkili mRNA ekspresyonunun azaldığını bulmuşlardır. Loo ve ark. (2016) *Aronia melanocarpa*'nın hipertansiyon hastaları üzerindeki antienflamatuvar etkisi üzerine yaptığı çalışmada, *Aronia melanocarpa* takviyesi sonucu kan basıncının düştüğü ve orta derecedeki enflamasyonun etkili bir şekilde azaldığı, serum IL-10 ve TNF-α seviyelerinin önemli derecede azalttığı ortaya konulmuştur. Bu çalışmaların ve çalışmamızın bulgusundan yola çıkarak, yara iyileşmesi sırasında TNF-α ve IL-1β proenflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun fazla olması, yara iyileşmesi sürecinde hücre göçünü engelleyerek, apoptozu artırarak ve enflamatuvar yanıtın uzun süre devam etmesini sağlayarak yara iyileşmesinin uzamasına ve gecikmesine sebep olabileceğini, *Aronia melanocarpa* ekstratının normal ve diyabetik yara iyileşmesinde TNF-α ve IL-1β seviyelerini düşürerek enflamasyonu azalttığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın limitasyonları içerisinde; salin verilen grup dışında herhangi bir uygulama yapılmadan yara iyileşmesinin doğal seyrinin izlendiği sağlıklı ve diyabetik grupların olmaması; uzamış enflamatuvar faz ve/veya proliferasyon fazına denk gelen 14. gün değerlendirmesi olmaması; yara iyileşmesinde yer alan hücreler ve moleküler biyobelirteçlerin histolojik olarak değerlendirilmesinin yanı sıra immünhistokimyasal değerlendirmeyle de desteklenmemesi sayılabilir. Bu nedenle, araştırmamızın sonuçları sınırlı olup *Aronia melanocarpa*'nın yara iyileşmesindeki potansiyelinin tam olarak ortaya koymak için daha kapsamlı uzun takip dönemli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak;

- SA ve DA gruplarının yara alanı 7. ve 21. günlerde DS grubundan daha küçük olduğu ve epitelyal kenarlar arasındaki mesafelerinin daha kısa olduğu görüldü. Diyabetik sıçanlara sistemik olarak uygulanan *Aronia melanocarpa* ekstratının palatinal yara iyileşmesini ve epitelizasyonu hızlandırdığı sonuç olarak yara boyutlarını küçültebilir.
- Tüm grupların 0, 7 ve 21. günlerde vücut ağırlıklarının benzer olduğu, sistemik olarak uygulanan *Aronia melanocarpa* ekstratının vücut ağırlığı değişimi üzerine etkisi bulunmayabilir.
- DS grubunun kolajen yoğunluğu 21. günde DA ve SA gruplarından; SS grubunun ise SA grubundan daha düşük saptandı. Sağlıklı ve diyabetik sıçanların palatal mukozalarındaki yaraların iyileşme sürecinde *Aronia melanocarpa*'nın sistemik olarak uygulanması yara iyileşmesinin geç döneminde kolajen oluşumunu destekleyebilir.
- 7. günde DS grubunun enflamatuvar hücre yoğunluğunun SA ve DA gruplarından; SS grubu ise SA grubundan daha fazla olduğu; 21. günde ise DS grubunun, SA ve DA gruplarından daha yüksek; SA grubunun ise DA ve DS gruplarından daha düşük olduğu tespit edildi. Sağlıklı ve diyabetik sıçanların palatal mukozalarındaki yaraların iyileşme sürecinde *Aronia melanocarpa*'nın sistemik olarak uygulanması yara iyileşmesinin erken ve geç döneminde enflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak yara iyileşmesini destekleyebilir.
- SA grubunun vaskülarizasyon yoğunluğu 7. ve 21. günlerde SS ve DS grubundan; DA grubunun ise DS grubundan daha yüksek bulundu. Sağlıklı ve diyabetik sıçanların palatal mukozalarındaki yaraların iyileşme sürecinde *Aronia melanocarpa*'nın sistemik olarak uygulanması yara iyileşmesinin erken ve geç döneminde vaskülarizasyonu destekleyebilir.

- DA grubunun 21. gün kan glikoz seviyesinin DS grubuna kıyasla daha düşük olduğu görüldü. *Aronia melanocarpa*'nın oral olarak uygulanması diyabetik sıçanlarda kan glikoz seviyesini düşürerek yara iyileşme sürecini destekleyebilir.
- Yedinci ve 21. günlerde SA ve DA gruplarının serum TAS'larının SS ve DS gruplarından yüksek olduğu görülürken; SS ve DS gruplarının serum TOS'larının SA ve DA gruplarından yüksek olduğu saptandı. Sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda oral uygulanan *Aronia melanocarpa*'nın yara iyileşme sürecinde antioksidan seviyeyi arttırabilir ve oksidan seviyeyi azaltabilir.
- Yedinci günde SS ve DS gruplarının serum TNF-α ve IL-1β değerlerinin SA ve DA gruplarından yüksek olduğu görüldü. Sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda *Aronia melanocarpa*'nın sistemik uygulaması yara iyileşmesinin erken döneminde TNF- α ve IL-1β seviyelerini düşürerek enflamasyonu azaltabilir.
- Bu çalışmanın klinik, histomorfometrik, histolojik ve biyokimyasal sonuçlarına göre, sağlıklı ve diyabetik sıçanların palatinal bölgelerinde oluşturulan sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda *Aronia melanocarpa*'nın besin takviyesi olarak uygulanmasının antihiperglisemik, antienflamatuvar ve antioksidatif özellikleri ile diyabetik sıçanlarda kan glikozu seviyesini düşürebildiği, sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi ve enflamasyonu azaltabildiği, epitelizasyonu hızlandırabildiği, vaskülarizasyon ve kolajen oluşumunu arttırabildiği görüldü.
- *Aronia melanocarpa*, sağlıklı ve DM'li hastalarda sekonder ve kronik yaraların iyileşmesinde pratik ve etkili bir besin takviyesi olarak tavsiye edilebilir.

KAYNAKÇA

A. Persson , H., Jeppsson, N., V. BARTISH, I., & Nybom, H. (2004). RAPD analysis of diploid and tetraploid populations of Aronia points to different reproductive strategies within the genus. *Hereditas*, *141*(3), 301-312.

Abel, E. D., Gloyn, A. L., Evans-Molina, C., Joseph, J. J., Misra, S., Pajvani, U. B., Simcox, J., Susztak, K., & Drucker, D. J. (2024). Diabetes mellitus-Progress and opportunities in the evolving epidemic. *Cell*, *187*(15), 3789-3820. https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.06.029

Adisakwattana, S., Yibchok-Anun, S., Charoenlertkul, P., & Wongsasiripat, N. (2011). Cyanidin-3-rutinoside alleviates postprandial hyperglycemia and its synergism with acarbose by inhibition of intestinal α-glucosidase. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, *49*(1), 36-41. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3128364/pdf/jcbn-49-36.pdf

Ahmad, A. A., Al Khalifa, I. I., & Abudayeh, Z. H. (2018). The role of pomelo peel extract for experimentally induced wound in diabetic rats. *Pharmacognosy Journal*, *10*(5).

Ahmad, M., Ansari, M. N., Alam, A., & Khan, T. H. (2013). Oral dose of citrus peel extracts promotes wound repair in diabetic rats. *Pak J Biol Sci*, *16*(20), 1086-1094. https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.1086.1094

Ahmad, M., Sultana, M., Raina, R., Pankaj, N. K., Verma, P. K., & Prawez, S. (2017). Hypoglycemic, Hypolipidemic, and Wound Healing Potential of Quercetin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pharmacogn Mag*, *13*(Suppl 3), S633-S639. https://doi.org/10.4103/pm.pm_108_17

Ainamo, J., & Löe, H. (1966). Anatomical characteristics of gingiva. A clinical and microscopic study of the free and attached gingiva. *The Journal of Periodontology*, *37*(1), 5-13.

Ainamo, J., & Talari, A. (1976). The increase with age of the width of attached gingiva. *Journal of Periodontal research*, *11*(4), 182-188. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1600-0765.1976.tb00069.x?sid=nlm%3Apubmed

Akacha, A., Badraoui, R., Rebai, T., & Zourgui, L. (2022). Effect of Opuntia ficus indica extract on methotrexate-induced testicular injury: A biochemical, docking and histological study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, *40*(10), 4341-4351. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/07391102.2020.1856187

Ali, M. S., Lee, E.-B., Lee, S.-J., Lee, S.-P., Boby, N., Suk, K., Birhanu, B. T., & Park, S.-C. (2021). Aronia melanocarpa extract fermented by Lactobacillus plantarum EJ2014 modulates immune response in mice. *Antioxidants*, *10*(8), 1276. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8389331/pdf/antioxidants-10-01276.pdf

Altan, A., Aras, M. H., Damlar, I., Gokce, H., Ozcan, O., & Alpaslan, C. (2018). The effect of Hypericum Perforatum on wound healing of oral mucosa in diabetic rats. *Eur Oral Res*, *52*(3), 143-149. https://doi.org/10.26650/eor.2018.505

Amaliya, A., Muhaimina, R. K., Susanto, A., & Sutjiatmo, A. B. (2019). Histological Assessment of Palatal Donor Site Wound Healing after Application of Moringa oleifera Lamarck Leaf Extract in Rats. *Eur J Dent*, *13*(2), 248-254. https://doi.org/10.1055/s-0039-1695065

Andersen, M. L., & Winter, L. M. F. (2019). Animal models in biological and biomedical research - experimental and ethical concerns. *An Acad Bras Cienc*, *91*(suppl 1), e20170238. https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170238

Arnold, M., & Barbul, A. (2006). Nutrition and wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, *117*(7S), 42S-58S.

Association, A. D. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, *37*(Supplement_1), S81-S90.

Aston, S. J., Beasley, R. W., & Thorne, C. H. (1997). *Grabb and Smith's plastic surgery*. Lippincott-Raven.

Atanasova-Goranova, V., Dimova, P., & Pevicharova, G. (1997). Effect of food products on endogenous generation of n– nitrosamines in rats. *British Journal of Nutrition*, *78*(2), 335-345.

Azevedo, I. M., Araujo-Filho, I., Teixeira, M. M. A., Moreira, M., & Medeiros, A. C. (2018). Wound healing of diabetic rats treated with Moringa oleifera extract. *Acta Cir Bras*, *33*(9), 799-805. https://doi.org/10.1590/s0102-865020180090000008

Badescu, M., Badulescu, O., Badescu, L., & Ciocoiu, M. (2015). Effects of Sambucus nigra and Aronia melanocarpa extracts on immune system disorders within diabetes mellitus. *Pharmaceutical biology*, *53*(4), 533-539. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/13880209.2014.931441

Baltzis, D., Eleftheriadou, I., & Veves, A. (2014). Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: new insights. *Adv Ther*, *31*(8), 817-836. https://doi.org/10.1007/s12325-014-0140-x

Bandawane, D., Juvekar, A., & Juvekar, M. (2011). Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Alstonia scholaris Linn bark in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, *45*(2), 114-120.

Banjari, I., Misir, A., Šavikin, K., Jokić, S., Molnar, M., De Zoysa, H., & Waisundara, V. Y. (2017). Antidiabetic effects of Aronia melanocarpa and its other therapeutic properties. *Frontiers in Nutrition*, *4*, 53. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5681526/pdf/fnut-04-00053.pdf

Bararu, I., Badescu, L., Badulescu, O., Ciocoiu, M., & Badescu, M. (2013). Possibilities of limiting the inflammatory syndrome present in experimental diabetes mellitus by using natural poliphenols. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, *18*(2), 97.

Barbul, A., Efron, D. T., & Kavalukas, S. L. (2015). Wound Healing. In F. C. Brunicardi, D. K. Andersen, T. R. Billiar, D. L. Dunn, J. G. Hunter, J. B. Matthews, & R. E. Pollock (Eds.), *Schwartz's Principles of Surgery, 10e*. McGraw-Hill Education. accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1117741787

Bartfai, T., & Schultzberg, M. (1993). Cytokines in neuronal cell types. *Neurochemistry international*, *22*(5), 435-444.

Baum, C. L., & Arpey, C. J. (2005). Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg*, *31*(6), 674-686; discussion 686. https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2005.31612

Baynes, J. W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, *40*(4), 405-412.

Bell, D. R., & Gochenaur, K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of applied physiology*, *100*(4), 1164-1170.

Bendtzen, K., Mandrup-Poulsen, T., Nerup, J., Nielsen, J. H., Dinarello, C. A., & Svenson, M. (1986). Cytotoxicity of human p I 7 interleukin-1 for pancreatic islets of Langerhans. *Science*, *232*(4757), 1545-1547.

Blakytny, R., & Jude, E. (2006). The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med*, *23*(6), 594-608. https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01773.x

Borowska, S., & Brzóska, M. M. (2016). Chokeberries (Aronia melanocarpa) and their products as a possible means for the prevention and treatment of noncommunicable diseases and unfavorable health effects due to exposure to xenobiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and food safety*, *15*(6), 982-1017. https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/1541-4337.12221?download=true

Boyde, A., Oksche, A., & Vollrath, L. (1989). Handbook of microscopic anatomy. *V/6, A. Oksche and L. Vollrath (eds.)(Springer-Verlag 1989) p*, *309*.

Bräunlich, M., Øksta d, O. A., Slimestad, R., Wangensteen, H., Malterud, K. E., & Barsett, H. (2013). Effects of Aronia melanocarpa constituents on biofilm formation of Escherichia coli and Bacillus cereus. *Molecules*, *18*(12), 14989-14999. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6270606/pdf/molecules-18-14989.pdf

Bräunlich, M., Slimestad, R., Wangensteen, H., Brede, C., Malterud, K. E., & Barsett, H. (2013). Extracts, anthocyanins and procyanidins from Aronia melanocarpa as radical scavengers and enzyme inhibitors. *Nutrients*, *5*(3), 663-678. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3705312/pdf/nutrients-05-00663.pdf

Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest*, *117*(5), 1219-1222. https://doi.org/10.1172/JCI32169

Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *The Journal of clinical investigation*, *117*(5), 1219-1222. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1857239/pdf/JCI0732169.pdf

Broncel, M., Koziróg1ABDEF, M., Duchnowicz2ABD, P., Koter-Michalak2ABD, M., Sikora3ACD, J., & Chojnowska-Jezierska1ABG, J. (2010). Aronia melanocarpa extract reduces blood pressure, serum endothelin, lipid, and oxidative stress marker levels in patients with metabolic syndrome. *Med Sci Monit*, *16*(1), 34.

Broncel, M., Koziróg-Kołacińska, M., Andryskowski, G., Duchnowicz, P., Koter-Michalak, M., Owczarczyk, A., & Chojnowska-Jezierska, J. (2007). Effect of anthocyanins from Aronia melanocarpa on blood pressure, concentration of endothelin-1 and lipids in patients with metabolic syndrome. *Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, *23*(134), 116-119.

Brownlee, M. (1995). The pathological implications of protein glycation. *Clinical and investigative medicine. Medecine clinique et experimentale*, *18*(4), 275-281.

Canedo-Dorantes, L., & Canedo-Ayala, M. (2019). Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. *Int J Inflam*, *2019*(1), 3706315. https://doi.org/10.1155/2019/3706315

Cardinal, M., Eisenbud, D. E., Phillips, T., & Harding, K. (2008). Early healing rates and wound area measurements are reliable predictors of later complete wound closure. *Wound repair and regeneration*, *16*(1), 19-22. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1524-475X.2007.00328.x

Care, D. (2017). Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*, *40*(Suppl 1), S11-S24.

Chaushu, L., Atzil, S., Vered, M., Chaushu, G., Matalon, S., & Weinberg, E. (2021). Age-Related palatal wound healing: An experimental in vivo study. *Biology*, *10*(3), 240. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8003724/pdf/biology-10-00240.pdf

Chen, L., Huang, C., Liao, C., Chang, H., Kuan, Y., & Tseng, T. (2020). Effects of rutin on wound healing in hyperglycemic rats. Antioxidants 2020; 9 (11): 1122e8. In.

Chhabra, S., Chhabra, N., Kaur, A., & Gupta, N. (2017). Wound Healing Concepts in Clinical Practice of OMFS. *J Maxillofac Oral Surg*, *16*(4), 403-423. https://doi.org/10.1007/s12663-016-0880-z

Choudhury, H., Pandey, M., Hua, C. K., Mun, C. S., Jing, J. K., Kong, L., Ern, L. Y., Ashraf, N. A., Kit, S. W., & Yee, T. S. (2018). An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. *Journal of traditional and complementary medicine*, *8*(3), 361-376. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6035310/pdf/main.pdf

Christiansen, C. B., Jeppesen, P. B., Hermansen, K., & Gregersen, S. (2023). Aronia in the type 2 diabetes treatment regimen. *Nutrients*, *15*(19), 4188. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10574687/pdf/nutrients-15-04188.pdf

Chu, Z. (1990). Effect of radix Paeoniae rubrae extract on mesenteric microcirculation. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang wai ke za zhi= Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Waikf [ie Waike] Zazhi= Chinese Journal of Plastic Surgery and Burns*, *6*(2), 128-130, 160.

Clark, R. A. (1993). Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. *Am J Med Sci*, *306*(1), 42-48. https://doi.org/10.1097/00000441-199307000-00011

Clark, R. A. (1996). Wound repair. *The molecular and cellular biology of wound repair*, *2*, 3-35.

Clark, R. A. (2001). Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *936*, 355-367. https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03522.x?sid=nlm%3Apubmed

Cole, J. B., & Florez, J. C. (2020). Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nat Rev Nephrol*, *16*(7), 377-390. https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5

Collins, C. (2006). Nutrition and wound care. *Clin Nutr Highlights*, *2*(3), 27.

Corredor, J., Yan, F., Shen, C. C., Tong, W., John, S. K., Wilson, G., Whitehead, R., & Polk, D. B. (2003). Tumor necrosis factor regulates intestinal epithelial cell migration by receptor-dependent mechanisms. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *284*(4), C953-C961. https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpcell.00309.2002

Cvetanović, A., Zengin, G., Zeković, Z., Švarc-Gajić, J., Ražić, S., Damjanović, A., Mašković, P., & Mitić, M. (2018). Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries Aronia melanocarpa's extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*, *121*, 458-466.

Çalışır, M., Akpınar, A., Talmaç, A. C., Lektemur Alpan, A., & Göze, Ö. F. (2018). Humic acid enhances wound healing in the rat palate. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2018*(1), 1783513.

Dai, J., Shen, J., Chai, Y., & Chen, H. (2021). IL-1β impaired diabetic wound healing by regulating MMP-2 and MMP-9 through the p38 pathway. *Mediators of Inflammation*, *2021*(1), 6645766.

Delipinar, S. D., Sonmez, H., Ekmekci, H., Erozenci, L. A., & Seckin, I. (2017). The effects of different inhibitory pathways of prostaglandin E.

Denev, P., Číž, M., Kratchanova, M., & Blazheva, D. (2019). Black chokeberry (Aronia melanocarpa) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. *Food chemistry*, *284*, 108-117. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619301761?via%3Dihub

Denev, P. N., Kratchanov, C. G., Ciz, M., Lojek, A., & Kratchanova, M. G. (2012). Bioavailability and antioxidant activity of black chokeberry (Aronia melanocarpa) polyphenols: in vitro and in vivo evidences and possible mechanisms of action: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and food safety*, *11*(5), 471-489.

Deng, Z., Shi, F., Zhou, Z., Sun, F., Sun, M.-H., Sun, Q., Chen, L., Li, D., Jiang, C.-Y., & Zhao, R.-Z. (2019). M1 macrophage mediated increased reactive oxygen species (ROS) influence wound healing via the MAPK signaling in vitro and in vivo. *Toxicology and applied pharmacology*, *366*, 83-95. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X19300389?via%3Dihub

Desta, T., Li, J., Chino, T., & Graves, D. T. (2010). Altered fibroblast proliferation and apoptosis in diabetic gingival wounds. *J Dent Res*, *89*(6), 609-614. https://doi.org/10.1177/0022034510362960

Detre, S., Jotti, G. S., & Dowsett, M. (1995). A" quickscore" method for immunohistochemical semiquantitation: validation for oestrogen receptor in breast carcinomas. *Journal of clinical pathology*, *48*(9), 876-878. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC502883/pdf/jclinpath00234-0090.pdf

Dinarello, C. A. (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *117*(14), 3720-3732.

Dinh, T., & Veves, A. (2005). Microcirculation of the diabetic foot. *Curr Pharm Des*, *11*(18), 2301-2309. https://doi.org/10.2174/1381612054367328

Dorsett-Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: a review. *Wound Repair Regen*, *12*(6), 591-599. https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2004.12601.x

Dragan, S., Andrica, F., Serban, M.-C., & Timar, R. (2015). Polyphenols-rich natural products for treatment of diabetes. *Current medicinal chemistry*, *22*(1), 14-22. https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cmc/2015/00000022/00000001/art00004

https://www.eurekaselect.com/article/61984

Duan, H., Ma, B., Ma, X., Wang, H., Ni, Z., Wang, B., Li, X., Jiang, P., Umar, M., & Li, M. (2016). Anti-diabetic activity of recombinant irisin in STZ-induced insulin-deficient diabetic mice. *International journal of biological macromolecules*, *84*, 457-463. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813015302385?via%3Dihub

Dunnill, C., Patton, T., Brennan, J., Barrett, J., Dryden, M., Cooke, J., Leaper, D., & Georgopoulos, N. T. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. *International wound journal*, *14*(1), 89-96. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7950185/pdf/IWJ-14-89.pdf

Ebaid, H., Ahmed, O. M., Mahmoud, A. M., & Ahmed, R. R. (2013). Limiting prolonged inflammation during proliferation and remodeling phases of wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats supplemented with camel undenatured whey protein. *BMC immunology*, *14*, 1-13.

Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A., Czyzowska, A., Kucharska, A. Z., & Fecka, I. (2020). Composition and Antibacterial Activity of Aronia melanocarpa (Michx.) Elliot, Cornus mas L. and Chaenomeles superba Lindl. Leaf Extracts. *Molecules*, *25*(9), 2011. https://doi.org/10.3390/molecules25092011

Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A., Czyżowska, A., Śniadowska, M., Otlewska, A., & Żyżelewicz, D. (2021). Antibacterial mechanisms of Aronia melanocarpa (Michx.), Chaenomeles superba Lindl. and Cornus mas L. leaf extracts. *Food chemistry*, *350*, 129218. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621002223?via%3Dihub

Ellis, S., Lin, E. J., & Tartar, D. (2018). Immunology of Wound Healing. *Curr Dermatol Rep*, *7*(4), 350-358. https://doi.org/10.1007/s13671-018-0234-9

Eneroth, M., Larsson, J., Oscarsson, C., & Apelqvist, J. (2004). Nutritional supplementation for diabetic foot ulcers: the first RCT. *Journal of wound care*, *13*(6), 230-234.

Falanga, V. (2005). Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *The Lancet*, *366*(9498), 1736-1743. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673605677008?via%3Dihub

Fiorellini, J. P., Kim, D., & Chang, Y. (2019). Anatomy, structure, and function of the periodontium. *Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. 13th ed. Elsevier Sanders: Philadelphia*, 36.

Foltynski, P., Ciechanowska, A., & Ladyzynski, P. (2021). Wound surface area measurement methods. *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, *41*(4), 1454-1465.

Fu, J., Huang, J., Lin, M., Xie, T., & You, T. (2020). Quercetin promotes diabetic wound healing via switching macrophages from M1 to M2 polarization. *Journal of Surgical Research*, *246*, 213-223.

Gao, D., Xu, J., Sheng, L., & Song, K. (2024). Comprehensive Utilization Technology of Aronia melanocarpa. *Molecules*, *29*(6), 1388.

Gąsiorowski, K., Szyba, K., Brokos, B., & Oszmiański, J. (1997). Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from Aronia melanocarpa fruits. *Cancer letters*, *119*(1), 37-46. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383597002486

Ghaisas, M. M., Kshirsagar, S. B., & Sahane, R. S. (2014). Evaluation of wound healing activity of ferulic acid in diabetic rats. *Int Wound J*, *11*(5), 523-532. https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.01119.x

Gosain, A., & DiPietro, L. A. (2004). Aging and wound healing. *World J Surg*, *28*(3), 321-326. https://doi.org/10.1007/s00268-003-7397-6

Gramza-Michałowska, A., Sidor, A., & Kulczyński, B. (2017). Berries as a potential anti-influenza factor–A review. *Journal of Functional Foods*, *37*, 116-137.

Group, D. C. C. T. R. (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New England journal of medicine*, *329*(14), 977-986.

Guo, S., & Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *J Dent Res*, *89*(3), 219-229. https://doi.org/10.1177/0022034509359125

Gupta, M., Mazumder, U., Kumar, R. S., Gomathi, P., Rajeshwar, Y., Kakoti, B., & Selven, V. T. (2005). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from Bauhinia racemosa stem bark in animal models. *Journal of ethnopharmacology*, *98*(3), 267-273. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105000620?via%3Dihub

Gupta, N., & Jain, U. (2010). Prominent wound healing properties of indigenous medicines. *Journal of Natural Pharmaceuticals*, *1*(1), 2-2.

Hammad, H., Hammad, M., Abdelhadi, I., & Khalifeh, M. (2011). Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: a clinical and histomorphometric study. *International journal of dental hygiene*, *9*(1), 9-16. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1601-5037.2009.00410.x

Han, J., Hughes, M., & Cherry, G. (2004). Effect of glucose concentration on the growth of normal human dermal fibroblasts in vitro. *Journal of wound care*, *13*(4), 150-153.

Han, Q.-q., Shen, T.-t., Wang, F., Wu, P.-f., & Chen, J.-g. (2018). Preventive and therapeutic potential of vitamin C in mental disorders. *Current medical science*, *38*(1), 1-10. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11596-018-1840-2.pdf

Han, Y.-P., Tuan, T.-L., Wu, H., Hughes, M., & Garner, W. L. (2001). TNF-α stimulates activation of pro-MMP2 in human skin through NF-κB mediated induction of MT1-MMP. *Journal of cell science*, *114*(1), 131-139.

Hart, J. (2002). Inflammation. 1: Its role in the healing of acute wounds. *J Wound Care*, *11*(6), 205-209. https://doi.org/10.12968/jowc.2002.11.6.26411

Hasnan, J., Yusoff, M., Damitri, T., Faridah, A., Adenan, A., & Norbaini, T. (2010). Relationship between apoptotic markers (Bax and Bcl-2) and biochemical markers in type 2 diabetes mellitus. *Singapore medical journal*, *51*(1), 50.

Heinrich, P. C., Castell, J. V., & Andus, T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochemical journal*, *265*(3), 621. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1133681/pdf/biochemj00190-0011.pdf

Her, Y., Lee, T.-K., Kim, J. D., Kim, B., Sim, H., Lee, J.-C., Ahn, J. H., Park, J. H., Lee, J.-W., & Hong, J. (2020). Topical application of Aronia melanocarpa extract rich in chlorogenic acid and rutin reduces UVB-induced skin damage via attenuating collagen disruption in mice. *Molecules*, *25*(19), 4577. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7582310/pdf/molecules-25-04577.pdf

Ho, G. T., Bräunlich, M., Austarheim, I., Wangensteen, H., Malterud, K. E., Slimestad, R., & Barsett, H. (2014). Immunomodulating activity of Aronia melanocarpa polyphenols. *International journal of molecular sciences*, *15*(7), 11626-11636. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4139804/pdf/ijms-15-11626.pdf

Hunt, T. K., Hopf, H., & Hussain, Z. (2000). Physiology of wound healing. *Adv Skin Wound Care*, *13*(2 Suppl), 6-11. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11074996

Huysman, F., & Mathieu, C. (2009). Diabetes and peripheral vascular disease. *Acta Chirurgica Belgica*, *109*(5), 587-594. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00015458.2009.11680493

Hyun, S.-W., Kim, J., Jo, K., Kim, J. S., & Kim, C.-S. (2018). Aster koraiensis extract improves impaired skin wound healing during hyperglycemia. *Integrative Medicine Research*, *7*(4), 351-357. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6303526/pdf/main.pdf

Islas-Andrade, S., Monsalve, M. C. R., Peña, J. E. d. l., Polanco, A. C., Palomino, M. A., & Velasco, A. F. (2000). Streptozotocin and Alloxan in Experimental Diabetes. Comparison of the Two Models in Rats. *ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA*, *33*(3), 201-208. https://doi.org/10.1267/ahc.33.201

James, P. B., Wardle, J., Steel, A., & Adams, J. (2018). Traditional, complementary and alternative medicine use in Sub-Saharan Africa: a systematic review. *BMJ global health*, *3*(5), e000895. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6231111/pdf/bmjgh-2018-000895.pdf

Jurikova, T., Mlcek, J., Skrovankova, S., Sumczynski, D., Sochor, J., Hlavacova, I., Snopek, L., & Orsavova, J. (2017). Fruits of black chokeberry Aronia melanocarpa in the prevention of chronic diseases. *Molecules*, *22*(6), 944. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6152740/pdf/molecules-22-00944.pdf

Kaiser, G. C., & Polk, D. B. (1997). Tumor necrosis factor alpha regulates proliferation in a mouse intestinal cell line. *Gastroenterology*, *112*(4), 1231-1240.

Kamble, H., Kandhare, A. D., Bodhankar, S., Mohan, V., & Thakurdesai, P. (2013). Effect of low molecular weight galactomannans from fenugreek seeds on animal models of diabetes mellitus. *Biomedicine & Aging Pathology*, *3*(3), 145-151.

Kedzierska, M., Olas, B., Wachowicz, B., Stochmal, A., Oleszek, W., Jeziorski, A., & Piekarski, J. (2010). The nitrative and oxidative stress in blood platelets isolated from breast cancer patients: The protectory action of aronia melanocarpa extract. *Platelets*, *21*(7), 541-548. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/09537104.2010.492534

Khan, T., Raina, R., Verma, P., Sultana, M., & Jyoti, M. (2014). Phytochemical constituents and antidiabetic potential of Ipomoea carnea Jacq leaves extracts. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, *4*(2), 137.

Khanna, S., Biswas, S., Shang, Y., Collard, E., Azad, A., Kauh, C., Bhasker, V., Gordillo, G. M., Sen, C. K., & Roy, S. (2010). Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS one*, *5*(3), e9539. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2832020/pdf/pone.0009539.pdf

Kim, J. H., Choi, M. S., Auger, C., Lee, K. W., & Schini-Kerth, V. B. (2024). Polyphenol-rich Aronia melanocarpa juice sustains eNOS activation through phosphorylation and expression via redox-sensitive pathways in endothelial cells. *Food Science and Biotechnology*, 1-11.

Kim, K. A., Shin, Y. J., Kim, J. H., Lee, H., Noh, S. Y., Jang, S. H., & Bae, O. N. (2012). Dysfunction of endothelial progenitor cells under diabetic conditions and its underlying mechanisms. *Arch Pharm Res*, *35*(2), 223-234. https://doi.org/10.1007/s12272-012-0203-y

Kim, S.-S., & Shin, Y. (2020). Antibacterial and in vitro antidementia effects of aronia (Aronia melanocarpa) leaf extracts. *Food Science and Biotechnology*, *29*, 1295-1300. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7406618/pdf/10068_2020_Article_774.pdf

King, A. J. (2012). The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol*, *166*(3), 877-894. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x

King, E. S., & Bolling, B. W. (2020). Composition, polyphenol bioavailability, and health benefits of aronia berry: A review. *Journal of Food Bioactives*, *11*.

Kokotkiewicz, A., Jaremicz, Z., & Luczkiewicz, M. (2010). Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of medicinal food*, *13*(2), 255-269. https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2009.0062?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed

Komarcevic, A. (2000). [The modern approach to wound treatment]. *Med Pregl*, *53*(7-8), 363-368. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11214479 (Savremeni pristup tretmanu rana.)

Kondeva-Burdina, M., Valcheva-Kuzmanova, S., Markova, T., Mitcheva, M., & Belcheva, A. (2015). Effects of Aronia melanocarpa fruit juice on isolated rat hepatocytes. *Pharmacognosy magazine*, *11*(Suppl 4), S592. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4787094/pdf/PM-11-592.pdf

Kong, Y., Yan, T., Tong, Y., Deng, H., Tan, C., Wan, M., Wang, M., Meng, X., & Wang, Y. (2021). Gut microbiota modulation by polyphenols from Aronia melanocarpa of LPS-induced liver diseases in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, *69*(11), 3312-3325. https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.0c06815

Koo, M.-A., Hong, S. H., Lee, M. H., Kwon, B.-J., Seon, G. M., Kim, M. S., Kim, D., Nam, K. C., & Park, J.-C. (2019). Effective stacking and transplantation of stem cell sheets using exogenous ROS-producing film for accelerated wound healing. *Acta Biomaterialia*, *95*, 418-426. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S174270611930039X?via%3Dihub

Kozlovsky, A., Artzi, Z., Hirshberg, A., Israeli-Tobias, C., & Reich, L. (2007). Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: a clinical and histomorphometric study in rats. *Journal of clinical periodontology*, *34*(2), 164-171. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-051X.2006.01033.x

Kuzmanova, Kuzmanov, K., Tancheva, S., & Belcheva, A. (2007). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Aronia melanocarpa fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, *29*(2), 101-106. https://doi.org/10.1358/mf.2007.29.2.1075349

Lala, G., Malik, M., Zhao, C., He, J., Kwon, Y., Giusti, M. M., & Magnuson, B. A. (2006). Anthocyanin-rich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats. *Nutrition and cancer*, *54*(1), 84-93. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1207/s15327914nc5401_10

Lansdown, A. B. (2004). Nutrition 2: a vital consideration in the management of skin wounds. *British journal of nursing*, *13*(20), 1199-1210.

Larsen, C. M., Faulenbach, M., Vaag, A., Vølund, A., Ehses, J. A., Seifert, B., Mandrup-Poulsen, T., & Donath, M. Y. (2007). Interleukin-1–receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *New England journal of medicine*, *356*(15), 1517-1526. https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa065213?download=true

Lee, H.-R., Ryu, H. G., Lee, Y., Park, J. A., Kim, S., Lee, C. E., Jung, S., & Lee, K.-H. (2022). Effect of Aronia extract on collagen synthesis in human skin cell and dermal equivalent. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2022*(1), 4392256.

Lei, W., Rui, W., Jinxu, D., Yikai, W., HUANG, X., & Changbao, C. (2023). Research on the extraction, purification and determination of chemical components, biological activities, and applications in diet of black chokeberry (Aronia melanocarpa). *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, *51*(10), 100301.

Li, W., Kandhare, A. D., Mukherjee, A. A., & Bodhankar, S. L. (2018). Hesperidin, a plant flavonoid accelerated the cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats: Role of TGF-ß/Smads and Ang-1/Tie-2 signaling pathways. *EXCLI journal*, *17*, 399. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5962903/pdf/EXCLI-17-399.pdf

Li, Y., Xu, C., Han, H., Pascual-Sabater, S., Fillat, C., & Goel, A. (2024). Aronia Berry Extract Modulates MYD88/NF-kB/P-Glycoprotein Axis to Overcome Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer. *Pharmaceuticals*, *17*(7), 911. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11279572/pdf/pharmaceuticals-17-00911.pdf

Liu, R., Bal, H. S., Desta, T., Behl, Y., & Graves, D. T. (2006). Tumor necrosis factor-α mediates diabetes-enhanced apoptosis of matrix-producing cells and impairs diabetic healing. *The*

American journal of pathology, *168*(3), 757-764. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1606517/pdf/JPATH168000757.pdf

Loo, B.-M., Erlund, I., Koli, R., Puukka, P., Hellström, J., Wähälä, K., Mattila, P., & Jula, A. (2016). Consumption of chokeberry (Aronia mitschurinii) products modestly lowered blood pressure and reduced low-grade inflammation in patients with mildly elevated blood pressure. *Nutrition Research*, *36*(11), 1222-1230. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531716304341?via%3Dihub

Löe, H., & Karring, T. (1969). A quantitative analysis of the epithelium-connective tissue interface in relation to assessments of the mitotic index. *Journal of dental research*, *48*(5), 634-640. https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/00220345690480050501?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub 0pubmed

Maedler, K., Sergeev, P., Ris, F., Oberholzer, J., Joller-Jemelka, H. I., Spinas, G. A., Kaiser, N., Halban, P. A., & Donath, M. Y. (2002). Glucose-induced β cell production of IL-1β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *The Journal of clinical investigation*, *110*(6), 851-860. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC151125/pdf/JCI0215318.pdf

Malone-Povolny, M. J., Bradshaw, T. M., Merricks, E. P., Long, C. T., Nichols, T. C., & Schoenfisch, M. H. (2021). Combination of nitric oxide release and surface texture for mitigating the foreign body response. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, *7*(6), 2444-2452.

Martin, D. A., Smyth, J. A., Liu, Z., & Bolling, B. W. (2018). Aronia berry (Aronia mitschurinii 'Viking') inhibits colitis in mice and inhibits T cell tumour necrosis factor-α secretion. *Journal of Functional Foods*, *44*, 48-57.

Martins, V. L., Caley, M., & O'Toole, E. A. (2013). Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair. *Cell Tissue Res*, *351*(2), 255-268. https://doi.org/10.1007/s00441-012-1410-z

Mattos, C. M., & Santana, R. B. (2008). A quantitative evaluation of the spatial displacement of the gingival zenith in the maxillary anterior dentition. *Journal of periodontology*, *79*(10), 1880-1885. https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1902/jop.2008.080053?download=true

Maver, T., Maver, U., Stana Kleinschek, K., Smrke, D. M., & Kreft, S. (2015). A review of herbal medicines in wound healing. *International journal of dermatology*, *54*(7), 740-751. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/ijd.12766?download=true

McCarty Jr, K. S., Szabo, E., Flowers, J. L., Cox, E. B., Leight, G. S., Miller, L., Konrath, J., Soper, J. T., Budwit, D. A., & Creasman, W. T. (1986). Use of a monoclonal anti-estrogen receptor antibody in the immunohistochemical evaluation of human tumors. *Cancer research*, *46*(8_Supplement), 4244s-4248s.

McNerlan, S., Rea, I., & Alexander, H. (2002). A whole blood method for measurement of intracellular TNF-α, IFN-γ and IL-2 expression in stimulated CD3+ lymphocytes: differences between young and elderly subjects. *Experimental gerontology*, *37*(2-3), 227-234. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531556501001887?via%3Dihub

Meng, L., Zhu, J., Ma, Y., Sun, X., Li, D., Li, L., Bai, H., Xin, G., & Meng, X. (2019). Composition and antioxidant activity of anthocyanins from Aronia melanocarpa cultivated in Haicheng, Liaoning, China. *Food Bioscience*, *30*, 100413.

Menghini, R., Uccioli, L., Vainieri, E., Pecchioli, C., Casagrande, V., Stoehr, R., Cardellini, M., Porzio, O., Rizza, S., & Federici, M. (2013). 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), 907-910. https://doi.org/10.1007/s00592-013-0478-6

Milutinović, M., Veličkovič Radovanović, R., Šavikin, K., Radenković, S., Arvandi, M., Pešić, M., Kostić, M., Miladinović, B., Branković, S., & Kitić, D. (2019). Chokeberry juice supplementation in type 2 diabetic patients--impact on health status. *Journal of Applied Biomedicine*, *17*(4).

Mirza, R. E., Fang, M. M., Ennis, W. J., & Koh, T. J. (2013). Blocking interleukin-1β induces a healing-associated wound macrophage phenotype and improves healing in type 2 diabetes. *Diabetes*, *62*(7), 2579-2587. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3712034/pdf/2579.pdf

Mu, J., Xin, G., Zhang, B., Wang, Y., Ning, C., & Meng, X. (2020). Beneficial effects of Aronia melanocarpa berry extract on hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats. *Journal of Food Science*, *85*(4), 1307-1318. https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/1750-3841.15109?download=true

Mzid, M., Badraoui, R., Khedir, S. B., Sahnoun, Z., & Rebai, T. (2017). Protective effect of ethanolic extract of Urtica urens L. against the toxicity of imidacloprid on bone remodeling in rats and antioxidant activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *91*, 1022-1041.

Nagori, B. P., & Solanki, R. (2011). Role of medicinal plants in wound healing. *Research Journal of Medicinal Plant*, *5*(4), 392-405.

Nakhate, V. P., Akojwar, N. S., Sinha, S. K., Lomte, A. D., Dhobi, M., Itankar, P. R., & Prasad, S. K. (2023). Wound healing potential of Acacia catechu in streptozotocin-induced diabetic mice using inávivo and in silico approach. *Journal of traditional and complementary medicine*, *13*(5), 489-499. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10492149/pdf/main.pdf

Nasiry, D., Khalatbary, A. R., Ahmadvand, H., Talebpour Amiri, F., & Akbari, E. (2017). Protective effects of methanolic extract of Juglans regia L. leaf on streptozotocin-induced diabetic peripheral neuropathy in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, *17*, 1-11.

Nayak, B., Isitor, G., Maxwell, A., Bhogadi, V., & Ramdath, D. (2007). Wound-healing activity of Morinda citrifolia fruit juice on diabetes-induced rats. *Journal of wound care*, *16*(2), 83-86.

Newman, M. G., Carranza, F. A., Takei, H. H., & Klokkevold, P. R. (2006). *Carranza's clinical periodontology*. Elsevier Brasil.

Nowak, D., Grąbczewska, Z., Gośliński, M., Obońska, K., Dąbrowska, A., & Kubica, J. (2016). Effect of chokeberry juice consumption on antioxidant capacity, lipids profile and endothelial function in healthy people: a pilot study. *Czech Journal of Food Sciences*, *34*(1), 39.

Ochmian, I. D., Grajkowski, J., & Smolik, M. (2012). Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (Aronia melanocarpa). *Notulae botanicae horti agrobotanici cluj-napoca*, *40*(1), 253-260.

Oda, Y., Kagami, H., & Ueda, M. (2004). Accelerating effects of basic fibroblast growth factor on wound healing of rat palatal mucosa. *J Oral Maxillofac Surg*, *62*(1), 73-80. https://doi.org/10.1016/j.joms.2003.05.007

Olas, B., Wachowicz, B., Tomczak, A., Erler, J., Stochmal, A., & Oleszek, W. (2008). Comparative anti-platelet and antioxidant properties of polyphenol-rich extracts from: berries of Aronia melanocarpa, seeds of grape and bark of Yucca schidigera in vitro. *Platelets*, *19*(1), 70-77. https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/09537100701708506

Olechno, E., Puścion-Jakubik, A., & Zujko, M. E. (2022). Chokeberry (A. melanocarpa (Michx.) Elliott)—A natural product for metabolic disorders? *Nutrients*, *14*(13), 2688. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9268775/pdf/nutrients-14-02688.pdf

Oprea, E., Manolescu, B. N., Fărcăşanu, I. C., Mladin, P., & Mihele, D. (2014). Studies concerning antioxidant and hypoglycaemic activity of Aronia melanocarpa fruits. *Farmacia*, *62*(2), 254-263.

Organization, W. H. (2024). *Making older persons visible in the Sustainable Development Goal's monitoring framework and indicators*. World Health Organization.

Osborn, O., Brownell, S., Sanchez-Alavez, M., Salomon, D., Gram, H., & Bartfai, T. (2008). Treatment with an Interleukin 1 beta antibody improves glycemic control in diet-induced obesity. *Cytokine*, *44*(1), 141-148. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3063393/pdf/nihms269887.pdf

Oyebode, O., Kandala, N.-B., Chilton, P. J., & Lilford, R. J. (2016). Use of traditional medicine in middle-income countries: a WHO-SAGE study. *Health policy and planning*, *31*(8), 984-991. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5013777/pdf/czw022.pdf

Ozkaya, H., Omma, T., Bag, Y., Uzunoglu, K., Isildak, M., & Duymus, M. (2019). Topical and systemic effects of N-acetyl cysteine on wound healing in a diabetic rat model. Wounds [Internet]. 2019 Apr; 31 (4): 91–6. In.

Park, S., Kim, J. I., Lee, I., Lee, S., Hwang, M.-W., Bae, J.-Y., Heo, J., Kim, D., Han, S.-Z., & Park, M.-S. (2013). Aronia melanocarpa and its components demonstrate antiviral activity against influenza viruses. *Biochemical and biophysical research communications*, *440*(1), 14-19. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X13014484?via%3Dihub

Parmar, K. M., Shende, P. R., Katare, N., Dhobi, M., & Prasad, S. K. (2018). Wound healing potential of Solanum xanthocarpum in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharm Pharmacol*, *70*(10), 1389-1400. https://doi.org/10.1111/jphp.12975

Pattanayak, S., Nayak, S., Dinda, S., Panda, D., & Navale, K. (2011). Evaluation of herbal ointments formulated with methanolic extract of Cajanus scarabaeoides. *Journal of Pharmacy and Allied Health Sciences*, *1*(2), 49-57.

Paulrayer, A., Adithan, A., Lee, J. H., Moon, K. H., Kim, D. G., Im, S. Y., Kang, C.-W., Kim, N. S., & Kim, J.-H. (2017). Aronia melanocarpa (black chokeberry) reduces ethanol-induced gastric damage via regulation of HSP-70, NF-κB, and MCP-1 signaling. *International journal of molecular sciences*, *18*(6), 1195. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5486018/pdf/ijms-18-01195.pdf

Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., & Dirnagl, U. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *40*(9), 1769-1777.

Perrault, D. P., Bramos, A., Xu, X., Shi, S., & Wong, A. K. (2018). Local administration of interleukin-1 receptor antagonist improves diabetic wound healing. *Annals of plastic surgery*, *80*(5S), S317-S321.

Petrache, I., Otterbein, L. E., Alam, J., Wiegand, G. W., & Choi, A. M. (2000). Heme oxygenase-1 inhibits TNF-α-induced apoptosis in cultured fibroblasts. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, *278*(2), L312-L319. https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajplung.2000.278.2.L312

Pickup, J. C., Chusney, G. D., Thomas, S. M., & Burt, D. (2000). Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor α and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life sciences*, *67*(3), 291-300. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320500006226?via%3Dihub

Ponrasu, T., Madhukumar, K. N., Ganeshkumar, M., Iyappan, K., Sangeethapriya, V., Gayathri, V. S., & Suguna, L. (2014). Efficacy of Acorus calamus on collagen maturation on full thickness cutaneous wounds in rats. *Pharmacognosy magazine*, *10*(Suppl 2), S299. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4078342/pdf/PM-10-299.pdf

Ponugoti, B., Dong, G., & Graves, D. T. (2012). Role of forkhead transcription factors in diabetes-induced oxidative stress. *Journal of Diabetes Research*, *2012*(1), 939751.

Pradhan, L., Nabzdyk, C., Andersen, N. D., LoGerfo, F. W., & Veves, A. (2009). Inflammation and neuropeptides: the connection in diabetic wound healing. *Expert Rev Mol Med*, *11*, e2. https://doi.org/10.1017/S1462399409000945

Prockop, D. J., & Kivirikko, K. I. (1995). Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annual review of biochemistry*, *64*, 403-434.

Qin, B., & Anderson, R. A. (2012). An extract of chokeberry attenuates weight gain and modulates insulin, adipogenic and inflammatory signalling pathways in epididymal adipose tissue of rats fed a fructose-rich diet. *British Journal of Nutrition*, *108*(4), 581-587.

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*, *2014*(1), 761264.

Rahati, S., Eshraghian, M., Ebrahimi, A., & Pishva, H. (2016). Effect of spinach aqueous extract on wound healing in experimental model diabetic rats with streptozotocin. *J Sci Food Agric*, *96*(7), 2337-2343. https://doi.org/10.1002/jsfa.7349

Rahati, S., Kamalinezhad, M., Ebrahimi, A., Eshraghian, M., & Pishva, H. (2023). Accelerated wound healing induced by spinach extract in experimental model diabetic rats with streptozotocin. *Sci Rep*, *13*(1), 14933. https://doi.org/10.1038/s41598-023-42033-0

Raina, R., Parwez, S., Verma, P., & Pankaj, N. (2008). Medicinal plants and their role in wound healing. *Online Veterinary J*, *3*(1), 21.

Reiser, K. M. (1991). Nonenzymatic glycation of collagen in aging and diabetes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, *196*(1), 17-29.

Ren, Y., Frank, T., Meyer, G., Lei, J., Grebenc, J. R., Slaughter, R., Gao, Y. G., & Kinghorn, A. D. (2022). Potential benefits of black chokeberry (Aronia melanocarpa) fruits and their constituents in improving human health. *Molecules*, *27*(22), 7823. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9696386/pdf/molecules-27-07823.pdf

Ritsu, M., Kawakami, K., Kanno, E., Tanno, H., Ishii, K., Imai, Y., Maruyama, R., & Tachi, M. (2017). Critical role of tumor necrosis factor-α in the early process of wound healing in skin. *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery*, *21*(1), 14-19.

Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., & Gurtner, G. C. (2019). Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*, *99*(1), 665-706. https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017

Rugină, D., Diaconeasa, Z., Coman, C., Bunea, A., Socaciu, C., & Pintea, A. (2015). Chokeberry anthocyanin extract as pancreatic β-cell protectors in two models of induced oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2015*(1), 429075.

Ryszawa, N., Kawczyñska-Dród, A., Pryjma, J., Czesnikiewicz-Guzik, M., Adamek-Guzik, T., Naruszewicz, M., Korbut, R., & Guzik, T. (2006). Effects of novel plant antioxidants. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *57*(4), 611-626.

Saoudi, M., Badraoui, R., Chira, A., Saeed, M., Bouali, N., Elkahoui, S., Alam, J. M., Kallel, C., & El Feki, A. (2021). The Role of Allium subhirsutum L. in the attenuation of dermal wounds by modulating oxidative stress and inflammation in Wistar albino rats. *Molecules*, *26*(16), 4875. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8398921/pdf/molecules-26-04875.pdf

Shi, D., Xu, J., Sheng, L., & Song, K. (2024). Comprehensive Utilization Technology of Aronia melanocarpa. *Molecules*, *29*(6), 1388. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10975833/pdf/molecules-29-01388.pdf

Sikora, J., Broncel, M., & Mikiciuk-Olasik, E. (2014). Aronia melanocarpa Elliot Reduces the Activity of Angiotensin I-Converting Enzyme—In Vitro and Ex Vivo Studies. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2014*(1), 739721.

Simeonov, S. B., Botushanov, N. P., Karahanian, E. B., Pavlova, M. B., Husianitis, H. K., & Troev, D. M. (2002). Effects of Aronia melanocarpa juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus. *Folia medica*, *44*(3), 20-23.

Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*, *341*(10), 738-746. https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199909023411006?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub 0pubmed

Siqueira, M. F., Li, J., Chehab, L., Desta, T., Chino, T., Krothpali, N., Behl, Y., Alikhani, M., Yang, J., & Braasch, C. (2010). Impaired wound healing in mouse models of diabetes is mediated by TNF-α dysregulation and associated with enhanced activation of forkhead box O1 (FOXO1). *Diabetologia*, *53*, 378-388. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3130195/pdf/nihms-208224.pdf

Skoczyñska, A., Jêdrychowska, I., Porêba, R., Affelska-Jercha, A., Turczyn, B., Wojakowska, A., & Andrzejak, R. (2007). Influence of chokeberry juice on arterial blood pressure and lipid parameters in men with mild hypercholesterolemia. *Pharmacol Rep*, *59*(Suppl 1), 177-182.

Spielman, A. F., Griffin, M. F., Parker, J., Cotterell, A. C., Wan, D. C., & Longaker, M. T. (2023). Beyond the Scar: A Basic Science Review of Wound Remodeling. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, *12*(2), 57-67. https://doi.org/10.1089/wound.2022.0049

Stechmiller, J., Cowan, L., & Logan, K. (2009). Nutrition support for wound healing. *Support Line*, *31*(4), 61-68.

Stechmiller, J. K. (2010). Understanding the role of nutrition and wound healing. *Nutrition in clinical practice*, *25*(1), 61-68. https://aspenjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1177/0884533609358997?download=true

Strecker-McGraw, M. K., Jones, T. R., & Baer, D. G. (2007). Soft tissue wounds and principles of healing. *Emerg Med Clin North Am*, *25*(1), 1-22. https://doi.org/10.1016/j.emc.2006.12.002

Strugała, P., Gładkowski, W., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Gabrielska, J. (2016). Antioxidant activity and anti-inflammatory effect of fruit extracts from blackcurrant, chokeberry, hawthorn, and rosehip, and their mixture with linseed oil on a model lipid membrane. *European journal of lipid science and technology*, *118*(3), 461-474.

Sugimoto, M. A., Sousa, L. P., Pinho, V., Perretti, M., & Teixeira, M. M. (2016). Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Front Immunol*, *7*, 160. https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00160

Suragimath, G., Krishnaprasad, K. R., Moogla, S., Sridhara, S. U., & Raju, S. (2010). Effect of carbonated drink on excisional palatal wound healing: a study on Wistar rats. *Indian J Dent Res*, *21*(3), 330-333. https://doi.org/10.4103/0970-9290.70789

Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, *50*(6), 537-546.

Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood)*, *237*(5), 481-490. https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011372

Şahin, A., & Erdoğan, Ü. (2022). Aronia (Aronia melanocarpa Michx Elliot) production and evaluation methods in the world and Turkey.

Tambewagh, U. U., Kandhare, A. D., Honmore, V. S., Kadam, P. P., Khedkar, V. M., Bodhankar, S. L., & Rojatkar, S. R. (2017). Anti-inflammatory and antioxidant potential of Guaianolide isolated from Cyathocline purpurea: Role of COX-2 inhibition. *International immunopharmacology*, *52*, 110-118. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576917303405?via%3Dihub

Tarnow, D. P., Magner, A. W., & Fletcher, P. (1992). The effect of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence or absence of the interproximal dental papilla. *Journal of periodontology*, *63*(12), 995-996. https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1902/jop.1992.63.12.995

Tasic, N., Jakovljevic, V. L., Mitrovic, M., Djindjic, B., Tasic, D., Dragisic, D., Citakovic, Z., Kovacevic, Z., Radoman, K., & Zivkovic, V. (2021). Black chokeberry Aronia melanocarpa extract reduces blood pressure, glycemia and lipid profile in patients with metabolic syndrome: A prospective controlled trial. *Molecular and cellular biochemistry*, *476*, 2663-2673. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11010-021-04106-4.pdf

Taskan, M. M., Balci Yuce, H., Karatas, O., Gevrek, F., Isiker Kara, G., Celt, M., & Sirma Taskan, E. (2021). Hyaluronic acid with antioxidants improve wound healing in rats. *Biotech Histochem*, *96*(7), 536-545. https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1832255

Thakur, R., Jain, N., Pathak, R., & Sandhu, S. S. (2011). Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2011*(1), 438056.

Tolic, M.-T., Krbavcic, I. P., Vujevic, P., Milinovic, B., Jurcevic, I. L., & Vahcic, N. (2017). Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (Aronia melanocarpa L.). *Polish journal of food and nutrition sciences*, *67*(1).

Trautmann, A., Toksoy, A., Engelhardt, E., Bröcker, E. B., & Gillitzer, R. (2000). Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo. *The Journal of pathology*, *190*(1), 100-106.

Trengove, N. J., Langton, S. R., & Stacey, M. C. (1996). Biochemical analysis of wound fluid from nonhealing and healing chronic leg ulcers. *Wound repair and regeneration*, *4*(2), 234-239. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1524-475X.1996.40211.x

Tuhin, R. H., Begum, M. M., Rahman, M. S., Karim, R., Begum, T., Ahmed, S. U., Mostofa, R., Hossain, A., Abdel-Daim, M., & Begum, R. (2017). Wound healing effect of Euphorbia hirta linn.(Euphorbiaceae) in alloxan induced diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine*, *17*, 1-14.

Usui, M. L., Mansbridge, J. N., Carter, W. G., Fujita, M., & Olerud, J. E. (2008). Keratinocyte migration, proliferation, and differentiation in chronic ulcers from patients with diabetes and normal wounds. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *56*(7), 687-696.

Valcheva-Kuzmanova, S. (2015). Comparative Study of the Protective Effect of Fruit Juice and Quercetin in a Model of Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Journal of Biomedical and Clinical Research*, *8*(2), 118-123.

Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, A., Kuzmanova, V., & Tzaneva, M. (2018). Aronia melanocarpa fruit juice ameliorates the symptoms of inflammatory bowel disease in TNBS-induced colitis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *113*, 33-39. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691518300115?via%3Dihub

Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Mihova, V., Krasnaliev, I., Borisova, P., & Belcheva, A. (2007). Antihyperlipidemic effect of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods for Human Nutrition*, *62*, 19-24. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11130-006-0036-2.pdf

Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Tancheva, S., & Belcheva, A. (2007). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Aronia melanocarpa fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, *29*(2), 101-106.

Valcheva-Kuzmanova, S., Marazova, K., Krasnaliev, I., Galunska, B., Borisova, P., & Belcheva, A. (2005). Effect of Aronia melanocarpa fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, *56*(6), 385-392. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0940299305000047?via%3Dihub

Vanwijck, R. (2001). [Surgical biology of wound healing]. *Bull Mem Acad R Med Belg*, *156*(3-4), 175-184; discussion 185. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11789398 (Biologie chirurgicale de la cicatrisation.)

Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*, *37*(5), 1528-1542. https://doi.org/10.1177/147323000903700531

Wallace. (1998). Levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and soluble TNF receptors in chronic venous leg ulcers-correlations to healing status. *J Invest Dermatol*, *110*, 292-296. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15400351?via%3Dihub

Wang, Z., Liu, Y., Zhao, X., Liu, S., Liu, Y., & Wang, D. (2020). Aronia melanocarpa prevents alcohol-induced chronic liver injury via regulation of Nrf2 signaling in C57BL/6 mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2020*(1), 4054520.

Weinberg, E., Tagger-Green, N., Lusthaus, M., Vered, M., Mijiritsky, E., Chaushu, L., & Kolerman, R. (2022). The Impact of Corticosteroid Administration at Different Time Points on Mucosal Wound Healing in Rats: An Experimental Pilot In Vivo Study. *Biology (Basel)*, *11*(9). https://doi.org/10.3390/biology11091309

Wetzler, C., Kämpfer, H., Stallmeyer, B., Pfeilschifter, J., & Frank, S. (2000). Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse:

prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. *Journal of investigative dermatology*, *115*(2), 245-253.

Whitney, J. D. (2005). Overview: acute and chronic wounds. *Nurs Clin North Am*, *40*(2), 191-205, v. https://doi.org/10.1016/j.cnur.2004.09.002

Wiedemann, S. J., Trimigliozzi, K., Dror, E., Meier, D. T., Molina-Tijeras, J. A., Rachid, L., Le Foll, C., Magnan, C., Schulze, F., & Stawiski, M. (2022). The cephalic phase of insulin release is modulated by IL-1β. *Cell metabolism*, *34*(7), 991-1003. e1006. https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/211022/1/1_s2.0_S1550413122002212_main.pdf

Worsztynowicz, P., Napierała, M., Białas, W., Grajek, W., & Olkowicz, M. (2014). Pancreatic α-amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (Aronia melanocarpa L.). *Process Biochemistry*, *49*(9), 1457-1463.

Wu, X., Gu, L., Prior, R. L., & McKay, S. (2004). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *52*(26), 7846-7856. https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0486850

Xu, W., Zhou, Q., Yin, J.-j., Yao, Y., & Zhang, J.-l. (2015). Anti-diabetic effects of polysaccharides from Talinum triangulare in streptozotocin (STZ)-induced type 2 diabetic male mice. *International journal of biological macromolecules*, *72*, 575-579. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014006102?via%3Dihub

Xu, Z., Han, S., Gu, Z., & Wu, J. (2020). Advances and impact of antioxidant hydrogel in chronic wound healing. *Advanced healthcare materials*, *9*(5), 1901502.

Yang, J., Gao, J., Yu, W., Hao, R., Fan, J., & Wei, J. (2020). The effects and mechanism of Aronia melanocarpa Elliot anthocyanins on hepatic fibrosis. *Journal of Functional Foods*, *68*, 103897.

Zammel, N., Saeed, M., Bouali, N., Elkahoui, S., Alam, J. M., Rebai, T., Kausar, M. A., Adnan, M., Siddiqui, A. J., & Badraoui, R. (2021). Antioxidant and anti-Inflammatory effects of Zingiber officinale roscoe and Allium subhirsutum: In silico, biochemical and histological Study. *Foods*, *10*(6), 1383. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8232813/pdf/foods-10-01383.pdf

Zapolska-Downar, D., Bryk, D., Małecki, M., Hajdukiewicz, K., & Sitkiewicz, D. (2012). Aronia melanocarpa fruit extract exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *European Journal of Nutrition*, *51*, 563-572. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3397226/pdf/394_2011_Article_240.pdf

Zhang, X.-n., Ma, Z.-j., Wang, Y., Sun, B., Guo, X., Pan, C.-q., & Chen, L.-m. (2017). Angelica Dahurica ethanolic extract improves impaired wound healing by activating angiogenesis in diabetes. *PLoS one*, *12*(5), e0177862. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5443501/pdf/pone.0177862.pdf

Zhang, X. N., Ma, Z. J., Wang, Y., Li, Y. Z., Sun, B., Guo, X., Pan, C. Q., & Chen, L. M. (2016). The Four-Herb Chinese Medicine Formula Tuo-Li-Xiao-Du-San Accelerates Cutaneous Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats through Reducing Inflammation and Increasing Angiogenesis. *J Diabetes Res*, *2016*, 5639129. https://doi.org/10.1155/2016/5639129

Zhang, Y., Zhao, Y., Liu, X., Chen, X., Ding, C., Dong, L., Zhang, J., Sun, S., Ding, Q., & Khatoom, S. (2021). Chokeberry (Aronia melanocarpa) as a new functional food relationship with health: An overview. *Journal of Future Foods*, *1*(2), 168-178.

Zhang, Z., Zhao, M., Wang, J., Ding, Y., Dai, X., & Li, Y. (2011). Oral administration of skin gelatin isolated from Chum salmon (Oncorhynchus keta) enhances wound healing in diabetic rats. *Mar Drugs*, *9*(5), 696-711. https://doi.org/10.3390/md9050696

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı	Esra	**Soyadı**	TUNÇ
Doğum Yeri	İstanbul	**Doğum Tarihi**	[redacted]
Uyruğu	T.C.	**TC Kimlik No**	[redacted]
E-mail	[redacted]	**Tel**	

Eğitim Düzeyi	**Mezun Olduğu Kurumun Adı**	**Mezuniyet Yılı**
Doktora/Uzmanlık	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı	2025
Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2020
Lise		

İş deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl-Yıl)**
Araştırma Görevlisi	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2021-2025

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

Program	Kullanma Becerisi

BİLİMSEL FAALİYETLER

Bildiri (Poster veya Sözel)

Çamlıca E., İşlek İ., Kuru L., Cinel Z.L., (Eylül 21-23, 2023) Periferal Dev Hücreli Granülomun Serbest Dişeti Grefti İle Tedavisi: Olgu Sunumu [Poster Bildiri] TPD 52. Bilimsel Kongresi ve 30. Bilimsel Sempozyumu. İzmir, Türkiye

Tunç E., Babalı S., Ağralı Ö.B., (Eylül 12-15, 2024) Treatment of Gingival Recession with Deepithelialized Connective Tissue Graft and Coronally Advanced Flap: A Case Report [Poster Bildiri]. FDI Dünya Diş Hekimliği Kongresi. İstanbul, Türkiye

EKLER

ACIBADEM
MEHMET ALİ AYDINLAR
ÜNİVERSİTESİ

SAYI: HDK-2024/06 22.02.2024
KONU: ACU-HADYEK 2024/06 sayılı başvurunuz

Sn. Doç. Dr. Hatice Selin GÜNGÖRMEK

ACU-HADYEK 2024/06 sayılı **" Sıçanlarda *Aronia Melanocarpa* ekstratının palatal mukozadaki sekonder yara iyileşmesi üzerine etkisinin klinik, histomorfometrik ve histolojik olarak değerlendirilmesi "** isimli projeniz için verilen dilekçe Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun **21.02.2024** tarihli **02.** toplantısında incelenmiş ve **etik açıdan uygun bulunmuştur**.

2024/06 sayılı karar ektedir.

Prof. Dr. Serap ARBAK

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Kerem Aydınlar Kampüsü Kayışdağı Caddesi 32 Ataşehir 34752 İstanbul T 0216 500 44 44 F 0216 576 50 76
www.acibadem.edu.tr