

**DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME FAKTÖRÜ BETA (TGF- $\beta$ )' NİN  
TÜKÜRÜK BEZİ OKSİDAN OLAYLARINA  
ZAMAN BAĞIMLI ETKİSİ**

**Emel ÇİNAR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZİRAN 2008  
ANKARA**

Emel ÇİNAR tarafından hazırlanan DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME FAKTÖRÜ BETA (TGF- $\beta$ )' NİN TÜKÜRÜK BEZİ OKSİDAN OLAYLARINA ZAMAN BAĞIMLI ETKİSİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Şule COŞKUN .....  
Tez Danışmanı

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

Prof. Dr. Deniz ERBAŞ .....  
Fizyoloji Ana Bilim Dalı, G.Ü.

Doç. Dr. Şule COŞKUN .....  
Biyoloji Ana Bilim Dalı, G.Ü.

Doç. Dr. Nesrin ÖZSOY .....  
Biyoloji Ana Bilim Dalı, A.Ü.

20.06.2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **TEZ BİLDİRİMİ**

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

Emel ÇİNAR

**DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME FAKTÖRÜ BETA (TGF- $\beta$ )' NİN  
TÜKÜRÜK BEZİ OKSİDAN OLAYLARINA  
ZAMAN BAĞIMLI ETKİSİ  
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Emel ÇİNAR**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Haziran 2008**

**ÖZET**

Dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta$  (Transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ), hemen hemen bütün hücre tiplerinden eksprese edilen önemli bir polipeptittir. TGF- $\beta$  gibi çeşitli büyüme faktörleri yara iyileşmesi sürecinde önemli rol oynar. Ağız yaralarına uygulanan TGF- $\beta$ ' nin tükürük bezi oksidan olaylarına etkilerinin araştırıldığı çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu sebeple ağız mukozasında cerrahi kesi yarasına TGF- $\beta$  uygulamasının, tükürük bezi oksidan olayları üzerine etkilerini, zaman bağımlı olarak araştırmayı planladık.

Deneylerde Yeni Zelanda albino tavşanlar (erkek,  $n= 36, 2,5 \pm 0,4$  kg) kullanıldı. Submukozal kesi yapıldıktan sonra tavşanlar iki eşit gruba ayrıldılar: 1- Tedavi edilmeyen yaralar, 2- TGF- $\beta$  ile tedavi edilmiş yaralar. Yaralanmadan sonraki 1., 3. ve 5. günlerde tavşanlar kulak veninden aşırı dozda sodyum pentobarbital verilerek feda edildiler. Tükürük bezleri hemen çıkarılarak, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), önemli antioksidanlar olan glutatyon (GSH) ve askorbik asit (AA), nitrik oksit ( $\text{NO}_x$ ) düzeyleri ve nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar Anova Varyans Analizi ve Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

**Sonuçta ekzojen TGF- $\beta$  uygulaması ile tükürük bezi dokusunda tüm günlerde MDA, GSH ve NOx düzeyleri anlamlı artmış bulunmuştur. C vitamini düzeyi ve MPO enzim aktivitesi bakımından ise yaralanmanın 3. gününde bir artış tespit edilmiştir.**

**Bilim Kodu : 203.1.057**

**Anahtar Kelimeler : TGF- $\beta$ , submandibular bez, lipit peroksidasyonu, antioksidan, MPO, vitamin C, nitrik oksit**

**Sayfa Adedi : 76**

**Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Şule COŞKUN**

**EFFECT OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF- $\beta$ )  
ADMINISTRATION ON OXIDATIVE STRESS OF SUBMANDIBULAR  
GLAND: A TIME COURSE STUDY**

**(M.Sc. Thesis)**

**Emel ÇİNAR**

**GAZİ UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

**June 2008**

**ABSTRACT**

**Transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) is the important polypeptide which is expressed from all of the cell types. Various growth factors such as TGF- $\beta$  play significant roles during wound healing process. There are limited numbers of studies on the effect of exogenous TGF- $\beta$  implantation on oxidative events of salivary gland. That is why we planned to investigate the effects of oral submucosal implanted TGF- $\beta$  on the oxidative stress of salivary gland.**

**In this study, we used New Zeland albino rabbits (male, n= 36, 2,5  $\pm$  0,4 kg). After submucosal incisions were made the rabbits were divided into two equal groups: 1- Untreated wounds and 2- TGF- $\beta$  implanted wounds. The rabbits were killed by excess of sodium pentobarbitale anesthesia on the 1st, 3th and 5th days of postwounding. Submandibular glands were excised immediately. The levels of malondialdehit (MDA) which is the last products of lipid peroxidation, glutathione (GSH) and ascorbic acid (AA) levels which are important antioxidants, nitric oxide (NO<sub>x</sub>) levels and myeloperoxidase (MPO) activity which is the indicator of neutrophil infiltration were measured by spectrophotometrically. Results were compared by Anova Variance Analysis and Mann Whitney U test.**

**In conclusion, it has been found that exogenous TGF- $\beta$  treatment caused a increase in MDA, GSH and NOx levels of salivary gland. At the third day of wound healing, increased MPO activity and AA levels of salivary gland were determined by TGF-beta treatment.**

**Science Code : 203.1.057**

**Key Words : TGF- $\beta$ , submandibulary gland, lipit peroxidation, antioxidant, MPO, Vitamine C, nitric oxide**

**Page Number : 76**

**Adviser : Associated Prof. Şule COŞKUN**

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım süresince benden yardım ve desteğini esirgemeyen, değerli hocam sayın Doç. Dr. Şule COŞKUN' a sonsuz saygı, sevgi ve teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca TGF-  $\beta$  formölasyonlarının hazırlanmasındaki katkılarından dolayı, G. Ü. Eczacılık Faköltesi Farmasötik Teknoloji A.B.D. Baőkanı Prof. Dr. Füsün ACARTÜRK' e ve laboratuvardaki çalıőmalarım sırasında, yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Uzm. Bio. Emine Gülçeri GÜLEÇ ve Uzm. Bio. Kadriye YILMAZ' a teőekkürlerimi sunarım. Eğitim hayatım boyunca desteklerini benden esirgemedikleri ve her zaman yanımda oldukları için sevgili aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| ÖZET.....  | iv           |
| ABSTRACT.....  | vi           |
| TEŞEKKÜR.....  | viii         |
| İÇİNDEKİLER.....   | ix           |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....  | xii          |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....  | xiii         |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                     | xiv          |
| 1. GİRİŞ.....  | 1            |
| 2. GENEL BİLGİLER.....   | 7            |
| 2.1. Tükürük Bezleri.....  | 7            |
| 2.1.1. Majör tükürük bezleri (Glandulae salivariae majores)..... | 7            |
| 2.1.2. Minör tükürük bezleri (Glandulae salivariae minores)..... | 11           |
| 2.2. Tükürük Bezleri Mikro Anatomi ve Histolojisi.....           | 11           |
| 2.2.1. Tükürük bezi bölümleri.....                               | 12           |
| 2.3. Tükürük Bezi Fizyolojisi.....                               | 14           |
| 2.4. Tükürük Sekresyonunun Kontrolü.....                         | 16           |
| 2.4.1. Tükürük sekresyon mekanizması.....                        | 17           |
| 2.4.2. Tükürük yapımı.....                                       | 18           |
| 2.5. Tükürüğün İçeriği.....                                      | 18           |
| 2.6. Tükürüğün Fonksiyonları.....                                | 21           |
| 2.7. Büyüme Faktörleri.....                                      | 22           |
| 2.7.1. Büyüme faktörlerinin sınıflandırılması.....               | 24           |

**Sayfa**

|  |    |
|--|----|
| 2.7.2. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri..... | 25 |
| 2.8. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- $\beta$ ).....    | 27 |
| 2.8.1. TGF- $\beta$ ' nın özellikleri.....                   | 28 |
| 2.8.2. TGF- $\beta$ ' nın etki mekanizması.....              | 30 |
| 2.8.3. Yara iyileşmesinde TGF- $\beta$ ' nın rolü.....       | 31 |
| 2.9. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres.....         | 32 |
| 2.9.1. Serbest radikaller.....                               | 32 |
| 2.9.2. Serbest oksijen radikalleri.....                      | 34 |
| 2.9.3. Oksijen türevi olmayan serbest radikaller.....        | 38 |
| 2.9.4. Oksijen radikallerinin biyolojik reaksiyonları.....   | 40 |
| 2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri.....                    | 41 |
| 2.10.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....              | 42 |
| 3. MATERYAL-METOT.....                                       | 55 |
| 3.1. Deney Protokolü.....                                    | 55 |
| 3.2. TGF- $\beta$ Preparatının Hazırlanması.....             | 55 |
| 3.3. Yara Modelinin Oluşturulması.....                       | 56 |
| 3.4. Yöntemler.....  | 57 |
| 3.4.1. Dokuda MDA tayin yöntemi.....                         | 57 |
| 3.4.2. Dokuda GSH tayin yöntemi.....                         | 57 |
| 3.4.3. Dokuda AA tayin yöntemi.....                          | 57 |
| 3.4.4. Dokuda MPO tayin yöntemi.....                         | 58 |
| 3.4.5. Dokuda NO <sub>x</sub> tayin yöntemi.....             | 58 |
| 3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....                        | 58 |

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| 4. BULGULAR.....                                 | 59           |
| 4.1. Tükürük Bezi MDA Düzeyleri.....             | 59           |
| 4.2. Tükürük Bezi GSH Düzeyleri.....             | 59           |
| 4.3. Tükürük Bezi MPO Düzeyleri.....             | 60           |
| 4.4. Tükürük Bezi AA Düzeyleri.....              | 60           |
| 4.5. Tükürük Bezi NO <sub>x</sub> Düzeyleri..... | 61           |
| 5. SONUÇ.....                                    | 66           |
| KAYNAKLAR.....                                   | 70           |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                    | 76           |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| <b>Çizelge</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Çizelge 2.1. Tükürükteki organik madde miktarları.....  | 19           |
| Çizelge 2.2. Tükürükteki inorganik madde miktarları.....  | 19           |
| Çizelge 2.3. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri.....  | 26           |
| Çizelge 4.1. Ekzojen TGF- $\beta$ uygulamasının tükürük bezi MDA, GSH,<br>AA, NOx düzeylerine ve MPO aktivitesine etkileri..... | 62           |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil   | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1. Tükürük bezi boşaltıcı kanalları.....  | 9     |
| Şekil 2.2. Sekretuar ünitenin yapısı.....   | 12    |
| Şekil 2.3. TGF- $\beta$ ' nın yapısı.....   | 27    |
| Şekil 2.4. TGF- $\beta$ ' nın etki mekanizması.....                                       | 30    |
| Şekil 4.1. Ekzojen TGF- $\beta$ uygulamasının tükürük bezi MDA düzeylerine etkileri.....  | 63    |
| Şekil 4.2. Ekzojen TGF- $\beta$ uygulamasının tükürük bezi GSH düzeylerine etkileri.....  | 63    |
| Şekil 4.3. Ekzojen TGF- $\beta$ uygulamasının tükürük bezi MPO aktivitesine etkileri..... | 64    |
| Şekil 4.4. Ekzojen TGF- $\beta$ uygulamasının tükürük bezi AA düzeylerine etkileri.....   | 64    |
| Şekil 4.5. Ekzojen TGF- $\beta$ uygulamasının tükürük bezi NOx düzeylerine etkileri.....  | 65    |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

| <b>Simgeler</b>                    | <b>Açıklamalar</b>      |
|------------------------------------|-------------------------|
| <b>cm</b>                          | Santimetre              |
| <b>Cl<sup>-</sup></b>              | Klor iyonu              |
| <b>dk</b>                          | Dakika                  |
| <b>e<sup>-</sup></b>               | Elektron                |
| <b>Fe<sub>2</sub><sup>+</sup></b>  | Demir iyonu             |
| <b>g</b>                           | Gram                    |
| <b>H<sup>+</sup></b>               | Hidrojen iyonu          |
| <b>H<sub>2</sub></b>               | Hidrojen atomu          |
| <b>HCL</b>                         | Hidroklorik asit        |
| <b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b> | Bikarbonat              |
| <b>HO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>  | Perhidroksil radikali   |
| <b>HOCL</b>                        | Hipokloröz asit         |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>  | Hidrojen peroksit       |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> | Sülfirik asit           |
| <b>kg</b>                          | Kilogram                |
| <b>K<sup>+</sup></b>               | Potasyum iyonu          |
| <b>L<sup>•</sup></b>               | Lipit radikali          |
| <b>LOO<sup>•</sup></b>             | Lipit peroksit radikali |
| <b>LOOH</b>                        | Lipit hidroperoksit     |
| <b>mg</b>                          | Miligram                |
| <b>ml</b>                          | Mililitre               |
| <b>mmHg</b>                        | Milimetre civa          |
| <b>mmol</b>                        | Milimol                 |
| <b>Na<sup>+</sup></b>              | Sodyum iyonu            |

| <b>Simgeler</b>                    | <b>Açıklamalar</b>       |
|------------------------------------|--------------------------|
| <b>ng</b>                          | Nanogram                 |
| <b>nm</b>                          | Nanometre                |
| <b>NO</b>                          | Nitrik oksit             |
| <b>NO<sub>2</sub></b>              | Azot dioksit             |
| <b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>  | Süperoksit radikali      |
| <b>O<sub>3</sub></b>               | Ozon                     |
| <b>OH<sup>•</sup></b>              | Hidroksil radikali       |
| <b>ONOOH</b>                       | Peroksi nitrit           |
| <b>OSCN<sup>-</sup></b>            | Hipotiyosiyanat          |
| <b>pO<sub>2</sub></b>              | Parsiyel oksijen basıncı |
| <b>RO<sup>•</sup></b>              | Alkoksil radikali        |
| <b>ROO<sup>•</sup></b>             | Peroksil radikali        |
| <b>RS<sup>•</sup></b>              | Til radikali             |
| <b>R-SH</b>                        | Tiyol bileşikleri        |
| <b>SCN<sup>-</sup></b>             | Tiyosiyanat              |
| <b>µl</b>                          | Mikrolitre               |
| <b><sup>1</sup>ΔGO<sub>2</sub></b> | Singlet oksijen          |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>               |
|--------------------|----------------------------------|
| <b>AA</b>          | Askorbik asit                    |
| <b>BHT</b>         | Bütilhidroksi Toluen             |
| <b>CAT</b>         | Katalaz                          |
| <b>DNA</b>         | Deoksiribonükleik asit           |
| <b>DTNB</b>        | 5,5 ditibios 2-nitrobenzoik asit |
| <b>EGF</b>         | Epidermal Büyüme Faktörü         |
| <b>FGF</b>         | Fibroblast Büyüme Faktörü        |
| <b>GSH</b>         | Glutasyon                        |
| <b>GSH-Px</b>      | Glutasyon Peroksidaz             |

| <b>Kısaltmalar</b>             | <b>Açıklamalar</b>                            |
|--------------------------------|---|
| <b>GST</b>                     | Glutasyon S- Transferaz                       |
| <b>IgA</b>                     | İmmünglobilin A                               |
| <b>IGF</b>                     | İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü                |
| <b>IgM</b>                     | İmmünglobilin M                               |
| <b>IL- I</b>                   | İnterlökin-I                                  |
| <b>MDA</b>                     | Malondialdehit                                |
| <b>MLT</b>                     | Melatonin                                     |
| <b>MPO</b>                     | Miyeloperoksidaz                              |
| <b>NGF</b>                     | Sinir Büyüme Faktörü                          |
| <b>nNOS</b>                    | Nöronal nitrik oksit sentaz                   |
| <b>NOS</b>                     | Nitrik oksit sentaz                           |
| <b>PCA</b>                     | Perklorasetik asit                            |
| <b>PDGF</b>                    | Trombosit kaynaklı büyüme faktörü             |
| <b>PEG</b>                     | Poliyeten Glikol                              |
| <b>PLC</b>                     | Fosfolipaz C                                  |
| <b>PLGSH-Px</b>                | Fosfolipit hidroperoksit glutasyon peroksidaz |
| <b>PRL</b>                     | Prolaktin                                     |
| <b>ROS</b>                     | Reaktif oksijen türleri                       |
| <b>SOD</b>                     | Süperoksit Dismutaz                           |
| <b>TBA</b>                     | Tiyobarbitürik asit                           |
| <b>TBARS</b>                   | Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri         |
| <b>TCA</b>                     | Triklorasetik asit                            |
| <b>TGF- <math>\beta</math></b> | Dönüştürücü Büyüme Faktörü-beta               |
| <b>TGF-<math>\alpha</math></b> | Dönüştürücü Büyüme Faktörü- alfa              |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | Tümör Nekroz Faktörü-alfa                     |
| <b>UV</b>                      | Ultraviyole                                   |



(TNF- $\alpha$ ), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IL-1) gibi büyüme faktörlerinin salınımını sağlar [6].

TGF-  $\beta$ ' nın yara iyileşmesi bağlamında en önemli etkisi inflamatuvar hücre kemotaksisini uyarmak ve ekstraselüler matriks sentezini arttırmaktır [7].

TGF-  $\beta$ ' nın tavşankulağı yara modelinde epitelizasyonu hızlandırmadığı, ancak kollajen sentezini uyardığı gösterilmiştir. Yeni doğan farelere subkutan TGF-  $\beta$  enjeksiyonunun kollajen sentezi ve anjiogenezi uyardığı saptanmıştır. Kobaylarda yapılan bir başka çalışmada ise, açık bırakılan yaralar TGF-  $\beta$  içeren spançlarla muamele edilmiş, sonuçta 8. günde, bu tedaviyi görmeyenlere oranla daha fazla granülasyon dokusu olduğu saptanmıştır [6, 8].

TGF-  $\beta$ , makrofajlar için kemoatraktandır, aynı zamanda fibroblast kemotaksisini ve proliferasyonunu da uyarır. Kollajen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinen TGF-  $\beta$ , yara kontraksiyonunda da rol oynar. Matriksi organize edebilme özelliği nedeni ile doku tamiri sonrası yeniden şekillenme fazında görev alır [6, 8].

Tükürük bezleri büyüme, farklılaşma ve yara iyileşmesinde etkili olan, doku sağlığının korunmasında önemli rol oynayan, biyolojik olarak aktif peptitlerin zengin bir kaynağıdır [9, 10]. Tükürük içerdiği immünglobulinler, büyüme faktörleri ve antibakteriyel yapılarla yara iyileştirici özelliğe sahiptir [11].

TGF- $\beta$ ' nın sıçanların submandibular tükürük bezinde kanal hücrelerinin salgı granüllerinde özel yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir [12].

Sıçanlarda submandibular bez hücrelerinde amilaz sekresyonunda TGF- $\beta$ 3' ün rolünü göstermek amacıyla yapılan bir çalışmanın sonucunda; TGF- $\beta$ 3' ün amilaz sekresyonunu ve hücre farklılaşmasını uyardığı fakat hücre proliferasyonu üzerinde etkisinin olmadığı rapor edilmiştir [13].

Tükürük bezinde bulunan TGF- $\beta$ , EGF, NGF (sinir büyüme faktörü)' nin, özofagus ve mide mukozasını koruyucu, intestinal lezyonları iyileştirici, yara dokusunda epitelizasyonu ve yara kontraksiyonunu artırıcı etkileri bilinmektedir [9].

TGF- $\beta$  Tip I reseptörü inaktive edilen sıçanlarda, bir çeşit meme kanseri virüsü olan Cre virüsü submandibular bezin boşaltım kanalına verilerek inflamatuvar hasar oluşturulmuştur. Deneysel sonunda reseptörleri aktif olan hayvanların inflamatuvar hasara karşı, deney grubuna oranla daha çok direnç gösterdikleri bildirilmiştir [14].

Ağız içerisinde oluşturulan hasarların tükürük bezlerinin fonksiyonu üzerine etki ettiği bilinmektedir [15]. Damakta mukoza ve submukozayı içeren kesi yarası oluşturulan ve tükürük bezleri çıkarılan ratlarda, özellikle tükürükle direkt temas eden mukozal bölümün submukozaya göre daha geç iyileştiği saptanmış ve tükürükteki faktörlerin epitelizasyondan daha ziyade yara kontraksiyonunda etkili olduğu ortaya atılmıştır [11].

Yaralanma ile bozulmuş doku bütünlüğünün yeniden tamiri sırasında oksidatif olaylar gelişmektedir. Yaralanma ve bunu takiben tamiri sürecinde artmış olan serbest radikaller oksidatif hasara neden olurlar [16].

Çeşitli patolojik durumlarda, normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşmasıyla veya organizmanın antioksidan sisteminin yetersiz kalmasıyla artan serbest radikaller hücrenin çeşitli bileşenleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar. Oksijen radikallerinden etkilenebilecek başlıca vücut kimyasal maddeleri arasında proteinler, nörotransmitterler, nükleik asitler sayılabilir. DNA ve hücre membranlarının başlıca bileşenleri olan yağ asitleri de radikallerden etkilenirler [17].

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan, membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipit yapısını değiştirerek hücre yapısı ve fonksiyonlarını bozan

kimyasal bir olaydır [18]. Lipit peroksidasyonu sonucu lipit radikalleri oluşur. Bu radikaller bir araya gelerek konjuge dienleri yaparlar. Devam eden oksidasyonla bu dien' lerde parçalanır [19]. Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA), bu zincir sırasında bir ara ürün olarak oluşur [16, 19]. MDA düzeyi, oksidatif poliansatüre yağ asitleri hasarının bir göstergesi olarak kabul edilir. MDA miktarının artması hasarı gösterir [19].

Yaralanmanın erken döneminde makrofajlar nitrik oksit sentezler. Nitrik oksit kısa ömürlü bir radikal ve biyolojik mediatördür. Nitrik oksit mekanik kuvveti ve kollajen oluşumunu artırarak yara iyileşmesini hızlandırır. Bu sentez hipoksik koşullarda artar. Nitrik oksitin sentezinin engellenmesi yara iyileşmesini geciktirir [20, 4, 21-26].

Tükürük bezinde yaygın nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) yerleşimi, nitrik oksitin tükürük bezinin kan akımı ve sekresyonunun düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir [27].

NO' in tükürük bezlerinde vasküler tonusu kontrol ettiği, tükürüğün antibakteriyel etkisinde ve oral karsinojenlerin detoksifikasyonunda, tükürüğün sıvı ve protein sekresyonunun ve kolinerjik stimülasyonla uyarılan tükürük amilaz sekresyonunun düzenlenmesinde rol aldığı rapor edilmiştir [27].

Parasempatik submandibular gangliyonda tüm nöronların NOS immünoreaktif olduğu domuz ve sıçanlarda gösterilmiştir. Ek olarak asinilerin yakınında NOS immünoreaktif ince fibrillerden oluşan zengin ağsı yapılar saptanmıştır [27].

Organizmada, reaktif oksijen türlerinin hasar oluşturucu etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Normal koşullarda bu toksik ürünlerin hasar oluşturucu etkileri antioksidanlarla sınırlanmaktadır. Böylece oksidatif hasara bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarı en aza indirilmektedir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarına kadar

giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkar. Antioksidanlar doğrudan etkiyle oksidanları inaktif hale getirebilirler [28–30].

Enzimatik olmayan antioksidanlardan biri olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır [16]. Dokuda glutatyon miktarının artması hücrelerin oksidatif stresten korunduğunun bir göstergesidir [19].

Askorbik asit (vitamin C) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kuvvetli indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler [16].

Askorbik asitin, tükürük bezlerinden salgılanan granüllerin bileşenlerini oluşturduğu ve salgı oluşumunda önemli role sahip olduğu belirtilmiştir. Askorbik asit tükürük bezlerinin fonksiyonunda önemli rol oynar ve tükürük sekresyonunu etkiler [31].

Askorbik asit eksikliğinde insanlarda majör tükürük bezleri şişmesiyle lâkrimal sekresyona ve tükürükte azalmaya neden olduğu bildirilmiştir [32]. Bu anlamda organizmada değişen durumlarda bu iki antioksidanın birbirleri ile etkileşimde buldukları da bilinmektedir.

Yara iyileşmesinin inflamasyon fazında rol alan nötrofillerin, fagositoz sırasında büyük miktarda oksijen kullanmaları nedeniyle solunum patlaması gerçekleşir [33]. Solunumsal patlamanın amacı, fagositler tarafından mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılacak oksidan ajanlar sağlamaktır. Bu oksidan ajanları kullanan mikrobisidal sistemlerden biri de miyeloperoksidaz (MPO) sistemidir. Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde MPO ihtiva ederler [33, 34].

Tüm bu bilgilerin ışığında, oral mukozadaki yaraya ekzojen olarak uygulanan TGF- $\beta$ 'nın, hedef doku dışındaki tükürük bezlerinde gerçekleşen oksidan olaylara ne gibi etkilerde bulunduğunu göstermek amacıyla, MDA ve NO düzeyi, MPO aktivitesi ve

enzimatik olmayan antioksidanlar olan glutatyon (GSH) ve askorbik asit (AA) düzeylerini zaman bağımlı olarak araştırmayı planladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tükürük Bezleri

Tükürük; ağız içindeki birleşik sıvının genel adıdır. Bu sıvı değişik bezlerin salgılarını, gıda artıklarını, mikroorganizmaları ve oral epitel artıklarını içerir [35]. Tükürük adı verilen ve önemli fonksiyonları olan bu salgı, tükürük bezleri tarafından oluşturulur. Tükürük bezleri majör ( *Glandula salivariae majores*) ve minör tükürük bezleri (*Glandula salivariae minores*) olmak üzere iki gruba ayrılır [36].

Majör tükürük bezleri; parotis, submandibular ve sublingual bez olup bunlar tükürük üretiminde ana role sahiptir. Minör tükürük bezleri başta oral kavite ve farenks olmak üzere, tüm üst sindirim ve solunum yolu mukozası altında yaygın olarak yerleşirler ve 700–1000 kadardır [37]. Bu kadar çok bezden salgılanan tükürüğün içeriğinde içerdiği protein ve elektrolitlere bağlı olarak değişir. Bu salgılarına göre de seröz, mukoz ve karışık salgı olarak adlandırılan salgılarını yaparlar [35].

Değişik tükürük bezlerinin salgıları ağıza değişik bölgelerden girerler. Örneğin parotis salgısı molar bölgeden, lingual bez salgısı alt ön grup dişlerin lingual yüzeye bakan kısmından girer. Her bezin salgısı farklı olduğuna göre her bölgeye etkide farklı olacaktır ancak, kapiller kuvvetlerin etkisi, diffüzyon, dil, dudak ve yanak kaslarının etkisiyle tükürük hem karışır hem de her bölgeye yayılır [35].

#### 2.1.1. Major tükürük bezleri (*Glandulae salivariae majores*)

##### Kulak altı tükürük bezleri (*Glandula parotidea*, Parotis bezi)

En büyük tükürük bezi olan parotis, kulağın ön ve aşağısında, ramus mandibularının arkasında yer alır. Kraniokaudal olarak; ortalama 5–8 cm, ventrodorsal olarak 3–4 cm boyutlarında olup ortalama ağırlığı 20–30 gr olan düzensiz, geniş şekilli ve unilobular bir bezdir. Parotis 3 yüzeysel ve 2 derin olmak üzere 5 parçaya sahiptir. Parotis etrafı kaslarla çevrili üçgen şekilli bir alanda oturur. Parotis bezi kendi

fasyasının kapsülü içinde bulunur ve derin servikal fasyanın süperfisial tabakası ile birlikte devam eder [36].

Parotis bezi seröz yapıda bir bezdir. Bu bezin oldukça saydam ve sulu olan salgısı, kuru besin maddelerinin ıslatılmasına ve ağıza giren fazla asitin veya bazik maddelerin sulandırılarak nötralleştirilmesine yarar. Ayrıca içinde bol miktarda pityalin (alfa-amilaz) enzimi bulunur [38].

Parotis bezi kanalı (Stenon) yaklaşık 6 cm boyundadır, bezin ön kenarından çıkarak masseter kasını çaprazlar ve bukkinatör kas ile bukkal mukozayı delerek ağız boşluğuna açılır. Kanalın orifisi üst 2. molar diş seviyesindedir [37].

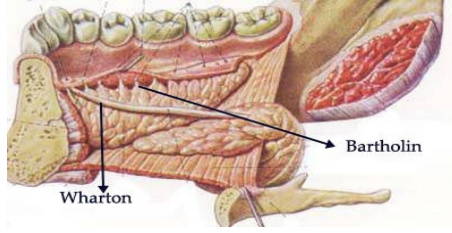
Kulak altı tükürük bezinde önemli sayılacak miktarda lenf dokusu vardır. Bunların bir kısmı kapsül altında ayrı lenf bezleri olarak bulunur. 15–20 kadar lenf folikülü ise bez içinde dağılmıştır. Lenf akımı derin juguler zincire boşalır [39].

Parotis bölgesindeki tabakalar;

1. Yüzeysel tabaka (Sinir tabakası)
2. Orta tabaka (Ven tabakası)
3. Derin tabaka (Arter tabakası)'dır [39].

#### Çene altı tükürük bezi (Glandula submandibularis, Submandibular bez)

Submandibular bez parotid bezin yarı ağırlığında olup sıklıkla submaksiller bez olarak adlandırılır. Bu bez diğastrik kasın anterior ve posterior karınları ve mandibulanın inferior sınırı arasında kalan submandibular üçgen içerisinde yer alır. Bez mandibula ramusunun medial ve inferiorunda, mandibulanın posterior yarısının tabanının bir kısmının süperiorunda, bir kısmının inferiorunda yer alır. Bu bez mylohyoid kasın anterior sınırının etrafında “C” şeklini oluşturur. Bu kas bezi süperfisial ve derin loblara ayırır. Parotid bezde olduğu gibi submandibular bezde kendi kapsülü ile sınırlıdır [36].



Şekil 2.1. Tükürük bezi boşaltıcı kanalları [37]

Bezin boşaltıcı kanalı Wharton yaklaşık 5 cm uzunluğundadır. Ağız tabanı mukozasının altından öne doğru uzanarak, ağız tabanındaki sublingual karunküldeki ostiumla sonlanır. Bez kanalının lingual sinir ile yakın ilişkisi vardır ve kanal siniri arka-dıştan çaprazlar [37].

Submandibular bezde karışık tiptedir. Ancak bu bezde seröz hücreler çoğunlukta olduğundan salgısı serözdür. Bu salgı besin maddelerini eriterek tat duygusunun doğmasına yol açar. Tükürük sıvısının içinde bulunan müsin maddesi, besinleri ıslatıp yutmaya uygun duruma getirirken yine bu sıvıda yer alan alfa-amilaz (pityalin) enzimi nişastayı maltoza ve izomaltoza çevirir [38].

Lenf akımı çenealtı lenf bezlerine, oradanda jugular lenf bezlerine olur [39].

Submandibular bezin innervasyonu iki önemli kaynaktan gelir:

1. Sempatik innervasyon; lingual arter boyunca superior servikal gangliyondan sağlanır.
2. Parasempatik innervasyon ise; lingual sinir yoluyla submandibular gangliyon tarafından sağlanır [36].

Submandibular bez ve parotis bez kanalları arasında farklılıklar mevcuttur. Parotid kanal oldukça dar iken tam olarak fleksibl değildir. Submandibular kanal geniştir.

Dilate edilebilir fakat frenulum linguae' ya yakın olan orifisi parotis orifisinden daha dardır [36].

#### Dilaltı tükürük bezleri (Glandula sublingualis, Sublingual bez)

Major bezlerin en küçüğüdür. Badem şeklindeki bez, ağız tabanı mukozasının derininde, frenulum linguae' nin iki yanında, mandibula ve genioglossus kası arasında yer alır. Dilaltı bölgesinde plika sublingualis adlı kabartıyı yapar, ortalama 3–4 cm uzunlukta ve 1 cm kalınlığındadır. İnferiorda mylohyoid kasla sınırlıdır. Wharton kanalı ve lingual sinir, sublingual bez genioglossus kası arasında ilerler [36].

Parotid ve submandibular bezin aksine sublingual bezin gerçek bir kapsülü yoktur. Aynı zamanda parotis ve submandibular bezin aksine sublingual bezin tek dominant kanalı olmayıp bunun yerine yaklaşık olarak 10 tane küçük kanal (Rivinius kanalları) tarafından drene edilir [36, 37]. Bu kanallar bezin superiorundan çıkarlar, ağız tabanında sublingual oluk boyunca plika sublingualislerde boşalırlar. Bunun sonucunda anteriordaki kanalların bir kaçı birleşerek ortak bir kanal oluşturabilirler (Bhartolin kanalı). Bu kanalda tipik olarak Wharton kanalına dökülür [36].

Sublingual bez karışık tip bir bez olmakla beraber, mukoz hücreleri çoğunluktadır. Bu yüzden salgısı müsince zengindir. Bu bez çok sayıda küçük bezlerin birleşmesiyle meydana gelmiştir ve bu küçük bezlerin her birinin salgısı ayrı ayrı kanallarla ağız tabanında ağız boşluğuna dökülür. Salgısı besin maddelerini lokma haline getirir ve kayganlık vererek yutulmalarını kolaylaştırır [38].

Arteriyel beslenmesi; lingual arterin sublingual dalı ve fasial arterin submental dalı ile olurken venöz drenaj arteriyel beslenme gibi olup vena jugularis internaya dökülürler. Lenfatik drenajı ise submental ve submandibular lenf nodlarına olmaktadır [36].

Sublingual bezin innervasyonu iki önemli kaynaktan olmaktadır:

1. Sempatik innervasyon; fasial arter boyunca servikal zincir gangliyonlarından,
2. Parasempatik innervasyon; submandibular bez gibi submandibular gangliyondan innerve edilir [36].

### **2.1.2. Minör tükürük bezleri (*Glandulae salivariae minores*)**

Majör tükürük bezlerinin aksine minör tükürük bezlerini drene edebilecek duktuslardan yoksundurlar. Bunun yerine her tükürük ünitesi kendi tek duktusuna sahiptir [36].

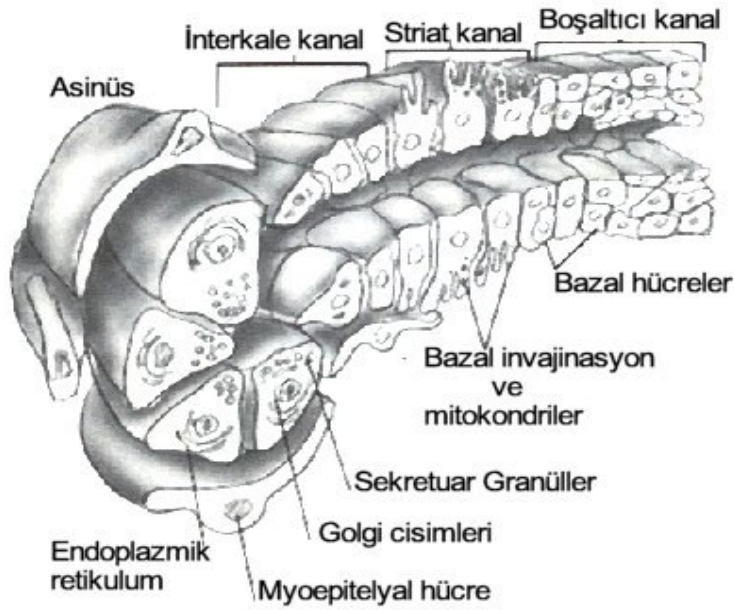
Minör tükürük bezleri bukkal, labial, palatal ve lingual bölgelerde lokalize olmuştur. Dudakların iç yüzündeki mukozada ve sert damak mukozasında daha yoğundurlar [36, 37]. Tüm tükürük yapımının yaklaşık %5- 8' ini oluştururlar. Fakat bir veya daha fazla majör tükürük bezi fonksiyon dışı kalırsa, mukozanın nemlendirilmesi işini anlamlı derecede kompanze edebilirler [37]. Minör bezlerin birçoğu parasempatik innervasyonu lingual sinir yoluyla alır. Damağın minör tükürük bezleri ise sfenopalatin gangliyondan palatin sinirler yoluyla alır [36].

## **2.2. Tükürük Bezleri Mikro Anatomi ve Histolojisi**

Tükürük bezleri çift taraflı olarak kulakaltı (parotid), çenealtı (submandibular) ve dilaltı (sublingual) bezlerdir. Bunlar konnektif doku kapsülünün septalarıyla oluşan lob ve lobülüslerden ibaret tübüler ve tübüloalveolar bir yapı gösteren dış salgı bezleridir. Merokrin bez grubuna dâhil edilirler. Tükürük bezleri parankim ve stromadan oluşmuşlardır. Parankim, asini, salgı kanalı ve boşaltım kanallarını içerir. Stroma ise bağ dokusundan müteşekkül olup parankime destek sağlar. Kan damarları, lenf damarları ve tükürük kanaliküllerini içerir. Stromayı oluşturan bu bağ dokusu bazı bezlerde fibröz kapsülü teşkil eder [36].

### 2.2.1. Tükürük bezi bölümleri

Her bir tükürük bezinin salgılayıcı (sekretuar) ve kanal (duktal) bölümleri vardır. Salgılayıcı ünite (tükürük ünitesi); asiniler, miyoepitelyal hücreler, birleştirici kanallar, salgı kanalları ve boşaltıcı kanallardan oluşur. Tüm tükürük asiner hücreleri, salgılayıcı granüller içerir. Seröz bezlerde bu granüller amilaz, mukoz bezlerde ise müsin içerir [36].



Şekil 2.2. Sekretuar ünitenin yapısı [36]

#### Salgılayıcı (Sekretuar) ünitenin yapısı

Asini primer salgının yapımından sorumlu olup üç tipe ayrılır.

1. Seröz (protein salgılayan) asini; zimojen granüllerden zengin sferikal hücrelerdir. Gerçekte seromukoz hücrelerdir. Çünkü önemli miktarda polisakkaritleri ve proteinleri salgırlar.

2. Mukoz (müsin salgılayan) asini; şekilleri daha tübüler olup, musinojen granülleri Hematoksilen- Eozin boyasında yıkandığı için boş hücre görünümü verirler.

3. Seromukoz (Karma) asini; seröz demilünler veya birkaç seröz asiniler arasında ağırlıklı olarak mukoz asiner hücrelerden oluşur [36].

Miyoeptelyal hücreler, asinilerin etrafına belirgin yapılar gönderir. Bu yapılar proksimal kanal sisteme de gider ve salgıları boşaltıcı kanallara doğru hareket ettirir. Sempatik sistemin, miyoeptelyal hücreler için motor sinir taşıdığı gösterilmiştir. Parasempatik sistemle de uyarılırlar. Bu hücrelerin kontraksiyonu tükürüğün ilk hareketini sağlamaya yardım eder [36].

#### Kanal (duktal) ünitenin yapısı

Asini lümeni kanal sistemle devam eder. Sırasıyla; birleştirici, salgı ve boşaltıcı kanalları oluşturur.

Birleştirici kanallar, karbonik anhidrazdan zengin küçük kuboid epitelial hücrelerle çevrilidir. Bu hücreler duktal lümene bikarbonat sekrete edip, lümeden klorid absorbe ederler. Salgı kanalları ise basit kuboid epitelial hücrelerle çevrili olup proksimalde bazal ve bazolateral plazma membranı, mitakondri nedeniyle girintiler oluştururlar. Bu hücreler lümeden sodyum absorbe edip potasyum ve aşırı hipotonik bir sıvı salgırlar. Tükürük akımı arttıkça bu hücrelerin aktivasyonu için geçen süre kısılır ve daha az hipotonik bir tükürük oluşur.

Boşaltıcı kanallar proksimalde basit kuboidal ve strafiye kuboidal hücrelerle, distalde ise psödostrafiye kolumnar epitelle çevrilidirler.

Birleştirici kanallar kısa olup mukoz hücreleri daha azdır. Salgı kanallar ise mukoz bezlerden yoksundur. Ancak her iki kanalda seröz bezlerden zengindir ve sekresyonu çok fazla modifiye ederler.

Kulakaltı tükürük bezi tamamen seröz bir bezdir. Bezin kendisine has özelliği birçok yağ hücresi içermesidir ki kulakaltı tükürük bezinde adoposit/ asiner hücre oranı 1/1' dir.

Çenealtı tükürük bezleri, tubuloasiner veya karma fakat ağırlıklı olarak seröz bir bezdir. Yaklaşık % 10 asini musinözdür.

Dilaltı tükürük bezleri ise karma olup ağırlıklı olarak mukozdur. Miks asinilerde, seröz hücreler mukoz hücrelerin etrafında yarım ay gibi dizilmişlerdir. Bunlara Ginuzzi yarım ayı denir.

Majör bezlerden dilaltı tükürük bezleri basit bir transport sistemi kullanırken, kulakaltı ve çenealtı bezler daha karmaşık sistemler içerir. Dilaltı bezde karma fakat mukoz ağırlıklı bir bezdir. Saf seröz asini nadir veya yoktur.

Tükürük bezi stroması lenfosit ve plazma hücrelerinden zengin olup bu hücreler IgA üretiminden sorumludur. IgA bazal membran üzerindeki salgılayıcı parçalara yapışır ve epitelyal hücre üzerinden transport edilerek kanal lümenine salgılayıcı IgA şeklinde bırakılırlar.

Sonuçta kulakaltı bez sadece seröz bir bezdir. Çenealtı ve dilaltı bezler seröz ve mukoz olarak karma bezlerdir. Çenealtı daha çok seröz iken, dilaltı bez daha çok mukozdur [36].

### **2.3. Tükürük Bezi Fizyolojisi**

Tükürük bezleri, büyüklüklerine göre çok fazla tükürük üretirler. İnsanlarda bu miktar bezin 1 g' ı için dakikada 1 ml' ye ulaşabilir. Tükürük salgısı, hem parasempatik hem de sempatik sistemin uyarılması ile meydana gelir. Parasempatik uyarı esastır, sempatik uyarı daha çok tükürüğün yapısını düzenler.

Psikişik etkilerle tükürük salgısı azalır veya çoğalır. Korku salgıyı azaltır. Yiyecek kokuları ve kuduz, ensefalit, epilepsi, parkinson hastalığı gibi bazı hastalıklar tükürük salgısını artırır. Tükürük bezlerinin sinirsel kontrolü VII. ve IX. kafa çiftleri ile taşınan parasempatik sistemin pregangliyonik lifleri ile sağlanır.

İnsanlarda 24 saat içinde salgılanan tükürük miktarının 1000–1500 ml olduğunu ileri sürenler yanında, 500–700 ml' nin daha gerçekçi olduğunu savunanlar da vardır [39]. Bir günlük tükürük salgısının % 70 kadarı submandibular bezden, %25 kadarı parotis bezden, % 5 kadarı da sublingual bezden salgılanır [38, 39]. Küçük tükürük bezlerinin salgısı çok azdır. Salgı hızı, öğünler esnasında artar [39].

#### Tükürük akımı

24 saatlik periyot boyunca ortalama tükürük salınımı 1–1.5 litredir (~ 1cc/dk). Büyük kısmı yemekler sırasında salgılanır.

Bazal tükürük akım hızı 0.001–0,2 ml/dk/bez' dir. Stimülasyonla tükürük akım hızı 0,18–1,7 ml/dk/bez' dir. Tükürük akım hızı minör tükürük bezlerinde stimülasyondan bağımsızdır. Toplam tükürük çıkışının % 7–8' ini oluşturur.

Unstimüle fazda majör tükürük bezlerinin rölatif ağırlığı:

- Submandibular bez, % 69
- Parotid bez, % 26
- Sublingual bez, % 5

Stimüle fazda majör tükürük bezlerinin rölatif ağırlığı:

- Parotid bez, % 69
- Submandibular bez, % 26
- Sublingual bez, % 5

Sublingual ve minör tükürük bezleri toplam tükürüğün % 10' unu oluşturmalarına rağmen birlikte mukoz salgının büyük kısmını yaparlar ve oral mukozayı örten münin tabakanın devamlılığında kritik rol oynarlar [36].

Tükürük akış hızını etkileyen fizyolojik nedenler:

- Işık; karanlıkta dinlenim akış hızı düşer, ışık bu hızı artırır.
- Harekete geçiş; oturur vaziyetteyken kalkmak ya da hızlanmak gibi durum değişiklikleri akış hızını artırır.
- Hidrasyon; vücut su kaybı akış hızını azaltır. Total suyun % 8' inden fazlasının kaybında tükürük akış hızı durur.
- Egzersiz; vücudu normal temposu dışında çalıştırmak akış hızını düşürür.
- Stres ve korku; akış hızını düşürür.
- Psikolojik uyarı; sevilen bir yiyeceği hayal etmek, görmek, ondan söz etmek hızını artırır.
- Çiğneme; refleks olarak çiğneme hareketi tükürük akışını uyarır ve akış hızı 3 kat artar.
- Tat; 10 kat kadar artış sağlar (en fazla ekşi sonra tatlı ve tuzlu sonra acı).
- Gebelik; hafif artma görülür.

#### **2.4. Tükürük Sekresyonunun Kontrolü**

Tükürük bezleri hem sempatik hem de parasempatik sinirler alırlar. Parasempatik sinirler medulla oblangata' da bulunan nucleus salivatorius superioe ve inferior' dan

kök alırlar. Sempatik ve parasempatik sinirlerin bezler üzerine etkisi, çeşitli laboratuvar hayvanlarında farklıdır. İnsanda seröz bezler parasempatik sinirler alırlar. Deney hayvanlarında nervus facialis' in (VII. sinir) bir kolu olan Chorda tympani uyarılırsa, bol tükürük sekresyonu başlar. Vazodilatasyon meydana gelir ve bezden kan akımı çok artar. Atropin vena içi enjekte edilince, chorda tympani uyarılması salgı yaptırmaz; zira atropin asetilkolin etkisini bloke eder. Fakat vazodilatasyon yine meydana gelir. Sempatik sinirler uyarılırsa, az sulu (koyu), yapışkan, mukozca zengin bir tükürük salınır ve vazokonstriksiyon gözlenir.

Tükürük sekresyonu refleks yoluyla olur. Şartlı ve şartsız refleksler işe karışır. Şartsız (doğuştan olan) reflekslerde besin maddesi ağızdaki sinir uçlarını uyarır, meydana gelen impuls medulla oblongata' daki bir merkezi (nucleus salivatorius) uyarır. Bu merkezden çıkan impulslar otonom sinirler yoluyla tükürük bezlerini sekresyona sevkederler. Şartlı (kazanılmış) refleksler tecrübe ile kazanılır. Besin maddesini görmek, kokusunu almak ve hatta düşünmek beyindeki ilgili merkezleri uyarak tükürük sekresyonunun başlatılmasına yol açar [38].

#### **2.4.1. Tükürük sekresyon mekanizması**

Parasempatik sinirler uyarılınca, bol miktarda tükürük salınması ve vazodilatasyon gözlenmesi, bezdeki kılcak kan damarlarından doku sıvısına ve buradan bez hücrelerine sıvı geçtiğine işaret etmektedir. Chorda tympani uyarıldığı sırada submandibular bezin kanalı bir monometreye eklenirse, basınç 150 mmHg' nın üstüne çıkar. Bu basınç, beze arter kanını sağlayan arteria carotis basıncından da fazladır (arteria carotis basıncı 90–100 mmHg kadardır). Buna göre, tükürük salgılanması sadece kılcak kan damarlarından kan sıvısının beze geçmesi ile açıklanamaz. Bez hücrelerinden (asiner hücrelerden) salınan salgı, tükürük kanalını geçerken çok değişir. Kanal hücreleri salgıdan  $Na^+$  ve  $Cl^-$  absorbe ederler, bunlara karşılık salıya  $K^+$  verirler [38].

### **2.4.2. Tükürük yapımı**

Parasempatik sinir sistemi yoluyla nöronal olarak kontrol edilirler. Duyusal uyarımlar arasında hiyerarşi mevcuttur. Sırasıyla yutma, çiğneme, tat, koklama, görme ve en son düşünme. Stimülasyon total tükürük akımının 0,3 cc/dk' dan 1cc/dk' nın üzerine çıkmasına neden olur. Ek olarak cevabın büyüklüğü kişinin açlık durumuyla da ilişkilidir.

Tükürük yapımı iki fazda oluşan aktif bir süreçtir.

1. Primer sekresyon; asiner hücrede oluşur. Bu sekresyon sonucunda yapı ve osmolalite açısından plazmaya benzer bir sekresyon oluşmaktadır.
2. Duktal sekresyon; hipotonik tükürük salgısı olur. Sonuçta azalmış sodyum ve artmış potasyum içerikli bir salgı oluşur [36].

### **2.5. Tükürüğün İçeriği**

Tükürük kimyasal içerik olarak organik kısım, elektrolitler ve sudan oluşan bir bileşiktir. Organik kısmını oluşturan proteinler % 0,1- % 0,2 oranında bulunurlar. Ayrıca tükürükte eser miktarlarda lipit ve serbest karbonhidratlar vardır.

Çizelge 2.1. Tükürükteki organik madde miktarları [35]

| % mg                            | Bez tipi      |         |
|---------------------------------|---------------|---------|
|                                 | Submandibular | parotis |
| Lipid                           | 2-6           | 2.8-7   |
| Protein                         | 100-300       | 100-300 |
| Amilaz                          | -             | 30-60   |
| Histidin-(zengin protein)       |               | 3       |
| Proline-(zengin protein)        |               | 50-20   |
| Tirozin-(zengin protein)        |               | 1-5     |
| IgA                             | 5-30          | 10-50   |
| IgG                             | <4            | <10     |
| IgM                             | 0             | 0- 30   |
| Non-Ig aglutinin                | <1            | 1       |
| Beta <sub>2</sub> mikroglobülin | 20-60         | 20-90   |
| Lizozim                         | 30*           | 20*     |
| laktoferrin                     | -             | 1       |

\*=mikrogram/ml

İnorganik kısmı oluşturan moleküller ise elektrolit haldedirler ve temel elektrolitlerin ortalama değerleri şekildedir:

Çizelge 2.2. Tükürükteki inorganik madde miktarları [35]

| Elektrolit | Parotis salgısı |           | Sub mand. Salgısı |           | Karışık tükürük |           |
|------------|-----------------|-----------|-------------------|-----------|-----------------|-----------|
|            | Ortalama        | Sınırlar  | Ortalama          | Sınırlar  | Ortalama        | Sınırlar  |
| Potasyum   | 37,0            | 30- 80    | 17                | 10- 17    | 20              | 15- 25    |
| Sodyum     | 2,5             | 05,-0,6   | 10                | 10- 53    | 6               | 1- 26     |
| Klorit     | 33,0            | 17- 40    | 25                | 10- 42    | 14              | 0- 28     |
| Fosfat     | 8,0             | 4- 20     | 6                 | 0,2- 7,5  | 5               | 2- 10     |
| Bikarbonat | 1,0             | 0,5- 5,0  | 4                 | 3- 25     | 1               | 6- 70     |
| Kalsiyum   | 1,3             | 0,5- 2,1  | 2,1               | 0,7- 3,8  | 1,5             | 1- 2      |
| Magnezyum  | 0,1             | 0,07- 0,5 | 0,07              | 0,05- 0,5 | 0,1             | 0,05- 0,6 |

Bunların dışında alınan gıdalara ilaçlara ve çevreye bağlı olarak eser miktarlarda da olsa tükürük yapısında bir çok elektrolit bulunabilir. Bu elektrolitlerin temel işlevleri de şu şekilde sıralanabilir.

- *Kalsiyum:* Çözünürlük ürünüdür, diş yapısının temelini oluşturur, remineralizasyona katılır, bazı enzimlerin aktivatörüdür.
- *İnorganik fosfat:* Çözünürlük ürünüdür, diş fosfat yapısının esasını oluşturur, remineralizasyona katılır, tampon sistem olarak pH dengelenmesinde rol alır. Osmoregülatördür.
- *Florit:* Diş yapısını güçlendirir. Remineralizasyona katılır. Plak floritinin kaynağıdır.
- *Klorit:* Alfa amilazın ozmoregülatör aktivatörüdür ki bu peroksidaz oksidasyonu ile tiyo siyanatın antibakteriyel etki yapan hipotiyosiyanata dönüşmesini sağlar.
- *Iyodit:* Tiroid fonksiyonundan bağımsız olarak iyot peroksidaz oksidasyonu ile birlikte antibakteriyel etki gösterir.
- *Tiyosiyanat: (SCN<sup>-</sup>)* Bu iyon peroksidaz oksidasyonu ile hipotiyosiyanat. (OSCN<sup>-</sup>) iyonu haline dönerki buda önemli antibakteriyel savunma mekanizmalarından biridir.
- *Bikarbonat: (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)* iyonu pH tampon sisteminin esasını oluşturur. Osmoregülatördür.
- *Sodyum ve Potasyum:* Osmoregülatördür. Membrandan geçişi düzenleyen sistemde yer alır.
- *Magnezyum:* Diş yapısına etki eden enzimlerin aktivasyonunda rol oynar [35].

(Osmoregülatör terimi konsantrasyonları litrede 2,5 mmol den fazla konsantrasyonda olan elektrolitler için kullanılır ki bunlar tükürüğün ozmotik basıncına konsantrasyonları nedeniyle direkt etki ederler)

Tükürüğün pH' sı 6,2 ile 7,4 arasında değişir; pH 6,8' de en iyi etki gösterir. Tükürük pH' sının yükselmesi halinde, kalsiyum ve fosfor gibi maddelerin çökmesi sonucu diş taşları ve tükürük kanalları taşları şekillenir [38].

## 2.6. Tükürüğün Fonksiyonları

- 1- Oral mukozayı nemlendirir. Gerçekte oral mukozadaki musin tabaka, oral kavitedeki en önemli non-immün savunma mekanizmasıdır.
- 2- Kuru yemekleri nemlendirir. Sıcak yemekleri soğutur. Lokmanın oluşumuna yardım eder. Yutmayı kolaylaştırır.
- 3- Çözünmüş durumdaki yemeklerin tat cisimlerini stimüle etmesine yardım eder. Tat cisimlerini sürekli temizleyerek yeni uyarımlara hazır hale getirir.
- 4- Oral kavite içeriklerini tamponlar. Tükürük bikarbonat yönünden zengindir.
- 5- Sindirim; alfa amilaz (pityalin) tükürükte bulunur, bu ise 1-4 glikozit bağlarını kırar, lingual lipaz ise yağ yıkımından sorumludur. Amilaz nişastaya etki ederek onu maltoz ve dekstrine parçalar.
- 6- Oral floradaki bakteriyel florayı kontrol eder.
- 7- Enamel onarımı ve yeni diş mineralizasyonu, tükürük yüksek düzeyde kalsiyum ve fosfat içermektedir.
- 8- Koruyucu tabaka oluşturarak dişlerin korunması, antibakteriyel bileşikler içeren bir protein tabakası dişleri sarar. Bunun için tükürük bezleri ile ilgili problemler genelde kötü ağız hijyenine sebep olur.
- 9- Konuşmaya yardım eder. Bukkal ve farengeal mukozanın ıslatılması konuşma yönünden gereklidir.
- 10- Hormonal etki; tükürükte parotin adlı protein tanımlanmıştır. Bu hormon mezenkimal dokunun gelişmesine yardım eder ve kemik gelişiminde önemli rol oynar.

Lizozim, sekretuar IgA ve tükürük peroksidazı tükürüğün antibakteriyel özelliklerinde önemli rol oynar. Lizozim bakteri ile aglütine olup otolizinleri aktive eder. IgA mikroorganizmaların dokuya adezyonunu engeller. Peroksidaz tükürük

tiyosiyanatını yıkarak bakteriyel glikozitte yer alan enzimleri okside eder. Bu yüzden tükürük akım hızı oral hijyen için diğer faktörlerden daha önemlidir [36].

İmmünglobulin A (IgA) insanlarda parotis ve submandibular bezde sentez edilmektedir. Hormon veya hormona benzer maddeler salgılar. Tükürük bezlerinin tiroid dışı iyot metabolizmasında önemli rolü vardır. Tükürükte sinir büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, renin, glukagona benzer maddeler, eritropoetin, gastrin, somatostatin vb faktör ve hormonlar bulunmaktadır [39].

## 2.7. Büyüme Faktörleri

Ağırlıkları 4000–60000 Dalton arasında değişen, çok az miktarları bile hücrenel aktiviteyi etkileyebilen proteinlerdir [1].

Büyüme faktörleri hücrelerin replikasyon ve farklılaşmasını regüle ederler. Sistemik dolaşımda bulunurlar ve çeşitli hücre sistemleri ve dokularca salınırlar, bu nedenle de hücre metabolizmasının sistemik ve lokal düzenleyicileridir. Büyüme faktörleri dolaşımda serbest olarak ya da spesifik bağlayıcı proteinlere bağlı olarak bulunurlar yada platelet agregasyonundan sonra salınmak üzere platelet granüllerinde depolanırlar [2].

Büyüme faktörleri hücrenel fonksiyonları endokrin, parakrin veya otokrin mekanizmalarla sağlarlar.

- Endokrin yolla etkileyen faktörler hedef hücreye kan yoluyla gider ve uzaktaki hücreleri de etkiler.

- Parakrin yolla etki eden faktörler salgılandıkları bölgede etkilidirler.

- Otokrin faktörler, tarafından salgılandıkları hücrenin fonksiyonlarını etkiler.

- Bazı transforne fibroblastlar, hiç salgılanmamış faktörlere hücrenin kendi içinde, intrakrin mekanizma ile yanıt verirler [1, 40].

Geniş araştırmalarda dokuya özgü büyüme faktörü üretimi gösterilememiştir, çoğunlukla aynı faktör çeşitli hücre ve dokularca sentezlenir. Lokal olarak üretilen faktörlerin sentez ve etkileri sistemik hormonlarca reseptör içeren dokularda modifiye edilir. Sistemik hormonlar spesifik dokularda lokal faktörleri düzenleyerek hedef dokuya özgüllük kazandırır. Bu 4 seviyede düzenlenir;

- 1- Sentez
- 2- Aktivasyon
- 3- Reseptöre bağlanma
- 4- Bağlayıcı proteinler [2].

Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin, o faktörler için reseptöre sahip olup olmamasına bağlıdır. Reseptöre bağlanma sonucu hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki çoğunlukla tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörleri bulunur [1, 6].

Sitokin ve koloni uyarıcı faktörlerin reseptörleri diğer faktörlerinkinden farklıdır. Çünkü diğerleri sitoplazmik uzantılarında tirozin kinaz aktivitesi gösteren sitoplazmik bir parça içermezler ya da sitoplazmik uzantıları yoktur veya çok kısadır. Bununla birlikte sitoplâzmadaki tirozin kinaz aktivitesini başlatırlar. Bazı durumlarda bu bir transmembran proteini olan gp130' a bağlanmakla olur. Bu sitoplâzmadaki Janus Tirozin Kinazları (JAKs) aktive eder. Bunlarda sinyal iletici ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) proteinleri aktive eder. Fosforillenen STAT' lar homo ve heterodimerler oluşturarak transkripsiyon faktörü olarak etki ettikleri nükleusa giderler. Bu JAK-STAT yolu direkt hücre yüzeyinden nükleusa olan bir diğer yoldur [41].

Büyüme faktörleri; kemotaktik ve hücresele proliferasyonu uyarmasıyla, aynı ve farklı tipteki hücreler arasındaki sinyalizasyonu sağlamasıyla, ekstrasellüler matriks oluşumu ve anjiogenezi kontrol etmesiyle, kontraksiyon sürecini düzenlemesiyle ve doku bütünlüğünü yeniden kurmasıyla iyileşme sürecinde temel bir rol oynarlar [42].

### 2.7.1. Büyüme faktörlerinin sınıflandırılması

Bilinen çok sayıda büyüme faktörü vardır ve bunların sınıflandırılması birkaç şekilde yapılmaktadır. Birinci sınıflandırma klasik sınıflandırmadır ve buna göre büyüme faktörleri 3 gruba ayrılır. Birinci grup; çeşitli hücrelerin çoğalmasını ve gelişimini sağlayan sinir büyüme faktörü, IGF-1, aktivin, inhibin ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi faktörlerdir. Bu grupta 20' den fazla faktör tanımlanmıştır. Sitokinler ikinci gruptur. Sitokinler; makrofaj ve lenfositlerce üretilir ve immün sistemin düzenlenmesinde önemlidir. Üçüncü grup; kırmızı ve beyaz kürelerin çoğalma ve olgunlaşmasını düzenleyen koloni uyarıcı faktörlerdir.

Büyüme faktörlerinin klasik sınıflandırılması:

1- Çeşitli hücre tiplerinin bölünme ve/veya gelişmesini uyaran büyüme faktörleri

Sinir büyüme faktörü ve Epidermal büyüme faktörü

IGF-1

Aktivin ve İnhibinler

2- Lenfokin ve sitokinler

3- Koloni uyarıcı faktörler

Büyüme faktörleri; vücuttaki doğal metabolizmalar, fizyolojik ve patolojik durumlar üzerine etkilerine dayanarak da aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

I- Embriyogenez ve gebelikte görevli büyüme faktörleri

II- Epitel ve hemopoetik hücrelerde görevli büyüme faktörü

III- Yara iyileşmesi ve inflamasyonda görevli büyüme faktörleri

IV- Tümör hücreleri ile ilgili olan büyüme faktörleri [43].

### 2.7.2. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri

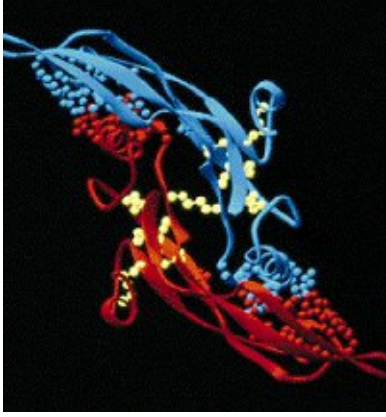
Peptid büyüme faktörleri doku tamirinin başlatılmasında ve idamesinde önemli rol oynarlar. Doku hasarı olduğu zaman pıhtılaşma ve platelet degranülasyonu uyarılır. Platelet granüllerinin içinde platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) bulunur. Plateletlerden salgılanan büyüme faktörleri, iyileşmeye giden yolda bir takım olaylar zincirini başlatırlar ve devam ettirirler. İlk olay, inflamatuvar hücrelerin, fibroblastların, epitel hücrelerinin ve endotel hücrelerinin yara bölgesine çekilmesidir. Plateletlerden salınan büyüme faktörleri hızla yara bölgesine dağılırlar ve proteazlar tarafından parçalanırlar. İyileşmenin olabilmesi için de inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve epitel hücreleri tarafından büyüme faktörü sentezinin idamesi şarttır [3].

Bütün peptid büyüme faktörleri, etkilerini, hedef hücre zarında bulunan yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak gösterirler. Bu reseptörlerin aktivasyonu, yara iyileşmesine giden yolda bir takım olayları uyarır. Bu büyüme faktörlerinin postreseptör düzeyde hangi mekanizmayla yara iyileşmesini sağladıkları tam bilinmemekle beraber, tirozin rezidülerinden protein fosforilasyonunun temel olay olduğu sanılmaktadır.

Çizelge 2.3. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri [44]

| Büyüme Faktörü  | Kaynağı  | Görevleri   |
|---|--|---|
| Trombosit-kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-derived growth factor, PDGF)                    | Trombositler, makrofajlar endotel hücreleri, düz kas hücreleri | Fibroblast proliferasyonu, nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, anjiogenez               |
| Transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming growth factor $\beta$ , TGF- $\beta$ )   | Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre  | Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis indirekt anjiogenez, diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardım |
| Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor, EGF)                                     | Trombositler(?), tükürük, idrar, anne sütü, plazma             | Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması                   |
| Transforme edici büyüme faktörü alfa (Transforming growth factor $\alpha$ , TGF- $\alpha$ ) | Aktive makrofajlar (?), trombosit, keratinosit, bazı dokular   | EGF'ye benzer   |
| İnterlökinler (Interleukins 1-2, IL-1,2)  | Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre                       | Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi   |
| Tümör nekroz faktörü (Tümör necrosis factor, TNF)   | Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler                          | Fibroblast proliferasyonu   |
| Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (Leucocyte derived growth factor, LDGF)                     | Makrofaj, mast hücresi T lenfositleri                          | Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen   |
| Bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor, CTGF)                           | Endotel hücreler, fibroblastlar                                | Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen   |
| Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factors, FGF)                               | Beyin, pitüiter bez, makrofaj diğer doku ve hücreler           | Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depolanmasını uyarır, anjiogenez, yara kontraksiyonu |
| Keratinosit büyüme faktörleri (Keratinocyte growth factors, KGF)                            | Fibroblastlar  | Epitel hücre proliferasyonu   |
| İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (İnsülin-like growth factor-1, IGF-1)                      | Karaciğer, plazma, fibroblastlar                               | Sülfath proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonu uyarır                         |
| İnsan büyüme hormonu (Human growth hormone, HGH)  | Pitüiter bez, plazma   | Anabolizma, IGF-1'i uyarır  |
| İnterferonlar (Interferons, IFN)  | Lenfositler, fibroblastlar                                     | Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu  |

## 2.8. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (Transforming Growth Faktör- Beta)



Şekil 2.3. TGF- $\beta$ ' nın yapısı [45]

TGF- $\beta$ , trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan izole edilmiştir. Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur, hasarlanan bölgeye degranülasyonla salınır. Makrofajlar tarafından kendi üretimini otokrin yolla düzenler. Ayrıca monositleri uyararak FGF, PDGF, TNF- $\alpha$ , IGF-I gibi büyüme faktörlerinin salınımını sağlar. Hemen hemen tüm hücrelerin TGF- $\beta$  için reseptörü vardır ve en azından teorik olarak TGF- $\beta$  ile uyarılabilirler [6].

TGF- $\beta$  ailesi diğer büyüme faktörlerine nazaran daha yakın zamanda tanımlanmıştır. Bu ailenin üyeleri özellikle ektoderm kökenli keratinosit ve lökositlerin büyümesini geçici olarak inhibe ederken, fibroblast gibi mezoderm kökenli hücreler için zayıf da olsa mitojeniktir [46].

Yara iyileşmesi sürecinde inaktif halde bulunan TGF- $\beta$  muhtemelen düşük pH veya plazminin etkisiyle proteolize uğramakta ve aktif hale geçmektedir. TGF- $\beta$ ' nın yara iyileşmesi bağlamında en önemli etkisi inflamatuvar hücre kemotaksisini uyararak ve ekstraselüler matriks sentezini artırmaktır [7].

### 2.8.1. TGF- $\beta$ ' nin özellikleri

#### Yapı/ fonksiyon özellikleri

Hücre tipine ve durumuna bağlı olarak; steroidler, retinoitler, EGF, NGF, lenfosit aktivatörleri, vitamin D<sub>3</sub> ve IL-I gibi farklı uyarıcılarla TGF-  $\beta$  sekresyonu uyarılabilir. TGF- $\beta$  sentezi EGF, FGF, deksametazon, kalsiyum, retinoitler ve folikül stimule edici hormon ile inhibe edilebilir. Aynı zamanda TGF- $\beta$  kendi gen ifadesini etkiler ve bu durum yara iyileşmesinde önemli olabilir [47].

TGF- $\beta$ ; betaglikan ve dekorin kompleksi gibi ekstraselüler matriks ile birleşik olarak bulunabilir. Bu durum faktörün biyolojik olarak inaktif formda depo edilmesini sağlar [47].

#### Protein özellikleri

TGF- $\beta$ ; TGF- $\beta$ -1, TGF- $\beta$ -2, TGF- $\beta$ -3, TGF- $\beta$ -4 ve TGF- $\beta$ -5 olarak bilinen en az beş izoformda bulunur. Bunlar; TGF- $\alpha$  ile ilişkili değildir. Bunların amino asit dizilimleri % 70- 80 arasında homoloji gösterir. TGF- $\beta$ -1 genel formdur ve diğer izoformlar hücre ve dokularda daha sınırlı oranda bulunurken TGF- $\beta$ -1 hemen hemen hepsinde yaygın olarak bulunur. TGF- $\beta$ -2, NGF ve PDGF- BB' nin ayrıntılı topolojilerinde benzerlik vardır.

Bütün izoformların biyolojik olarak aktif formları disülfid bağlı homodimerlerdir. Bununla birlikte disülfid bağlı heterodimer izoformları da mevcuttur. Monomerik altbirimler 112 amino asit uzunluktadır. TGF- $\beta$ -4 aminoterminal sonda iki tane ilave amino asit içerir.

TGF- $\beta$  izoformları uzun prokürsörlerin proteolitik bölünmesiyle ortaya çıkar.

TGF- $\beta$ -1: 390 amino asit

TGF- $\beta$ -2: 412 amino asit

TGF- $\beta$ -3: 412 amino asit

TGF- $\beta$ -4: 304 amino asit

TGF- $\beta$ -5: 382 amino asit

Bu izoformlar prekürsörlerin karboksitermal ucundan elde edilir [47].

### Gen yapısı

TGF- $\beta$ ' nın farklı izoformları farklı genlerle kodlanır. Bütün genler 100 kb' tan fazla uzunluğa sahiptir ve 7 ekson içerir. Genler değişik kromozomların haritasını oluşturur. TGF- $\beta$ -1 geni 19q13 insan kromozomunu, TGF- $\beta$ -2, 1q41, TGF- $\beta$ -3 de 14q24 nolu insan kromozomlarını haritalandırır. TGF- $\beta$ -3 geni embriyonik kalp ve akciğer dokusunda çok fazla fakat karaciğer, dalak, böbrek dokularında sınırlı olarak görülür. TGF- $\beta$ -1 dalak dokusunda çok fazla gösterilmiştir [47].

### İlgili faktörler

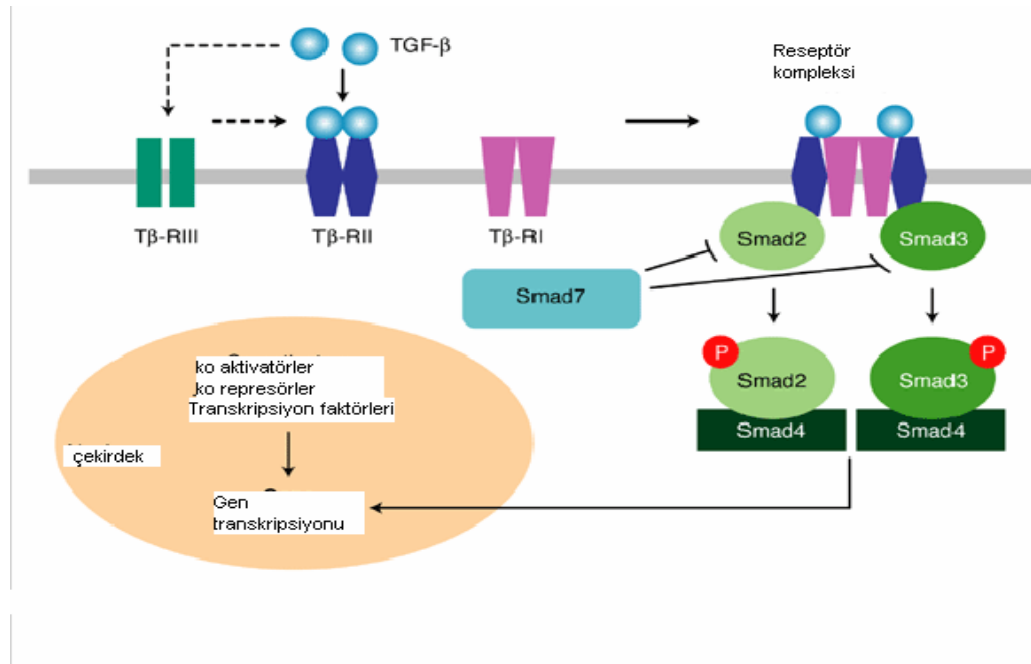
TGF- $\beta$ ; TGF- $\beta$  süper ailesi olarak bilinen protein ailesinin ilk örneğidir. Bu aile; inhibitörler, Activin A, MIS (bone morpho genetic proteins), dpp (decapentaplegic) ve Vg-1' i kapsar. MNSF (monoclonal nonspecific supressor factor) TGF- $\beta$ -2 ile % 60 dizilim benzerliği gösterir [47].

### Biyolojik aktiviteler

TGF- $\beta$ ' nın biyolojik aktiviteleri türe özgü değildir. Çeşitli TGF- $\beta$  izotipleri birçok biyolojik aktivite paylaşır ve bunların hücre üzerindeki etkileri birçok durumda nitelik olarak benzerlik gösterir. Bununla beraber birkaç farklı aktivite örneği vardır. Bazı sistemlerde TGF- $\beta$ -3 diğer izotiplere göre daha aktif olarak ortaya çıkar. TGF- $\beta$ -2; endotelial hücrelerin gelişimini önlemeyen tek varyanttır. TGF- $\beta$ -2 ve TGF- $\beta$ -3 civciv embriyo kültürlerinde silli gangliyonik nöronların yaşamını inhibe eder. TGF- $\beta$  izoformlarının en göze çarpan farkları; dokuların gelişimi, yenilenmesi ve patolojik yanıtındaki mRNA ve proteinlerinin farklı ifadeleridir [47].

## 2.8.2. TGF- $\beta$ 'nin etki mekanizması

TGF- $\beta$ , hücrelerin gelişmesini, çoğalmasını ve birçok farklı hücre tipinin gelişiminin bloke edilmesini regüle eder. TGF- $\beta$  reseptörü Tip I ve Tip II altbirimlerinden oluşur. Bunlar SMAD protein ailesini uyan, serin tirozin kinazlardır. TGF- $\beta$ 'nin hücre yüzeyindeki Tip II reseptöre bağlanması Tip I reseptörün fosforlanmasına neden olur. Böylece Tip I reseptör Smad 2 ve 3 proteinini fosforlayacak ve aktive edecek duruma gelir. Aktive olan Smad 2 ve Smad 3, Smad 4 ile heterodimerler oluşturur ve nükleusa giderler. Smad kompleksi, ko-aktivatörler, ko-represörler ve diğer transkripsiyon faktörleriyle birlikte gen ekspresyonunu regüle ederler [48].



Şekil 2.4. TGF- $\beta$ 'nin etki mekanizması [48].

Burada üç fonksiyonel sınıf oluşturan 8 farklı smad proteini vardır. Bu sınıflar; R-smad (reseptör –kontrol) , Co-Smad (Co-mediator) ve I-smad (engelleyci) dir. R-smadlar (smad 1,2,3,5 ve8), Tip I reseptör kinazlarla direkt fosforlanır, aktive olurlar ve homotrimerizasyona uğrarlar ve Co-smad, Smad 4 ile heteromerik kompleks oluştururlar. Aktif smad kompleksleri nükleusa girer, diğer nükleer

kofaktörlerle birleşerek hedef genlerin transkripsiyonunu regüle eder. I-Smad, Smad 6 ve Smad 7, TGF- $\beta$  sinyalizasyonunu negatif yönde regüle eder. Bunuda reseptör için R-Smad larla yarışarak veya Co-Smadlarla etkileşim kurarak yapar, çünkü TGF- $\beta$  nın hücre gelişimi üzerinde negatif etkisi vardır. Bu mekanizmanın inaktive olması tümör oluşumuna neden olur. Tümör oluşturan mutasyonlar hem TGF- $\beta$  ailesinin reseptörlerinde hemde Smad proteinlerinde gözlenir. TGF- $\beta$  nın Tip II reseptörü birçok insanda gastrointestinal kanser ile mikrosatellit değişkenlikteki mutasyonda ve Smad 4 pankreatik karsinomların yaklaşık yarısında inaktiftir. Diğer birçok somatik ve kalıtsal hastalık TGF- $\beta$  yolundaki mutasyon veya bozuklukların sonucudur [49].

### **2.8.3. Yara iyileşmesinde TGF- $\beta$ ' nın rolü**

TGF- $\beta$  da, yara iyileşmesiyle ilgili çalışmalarda kullanılmaktadır. Tavşankulağı yara modelinde epitelizasyonu hızlandırmadığı, ancak kollajen sentezini uyardığı gösterilmiştir. Yeni doğan farelere subkutan TGF- $\beta$  enjeksiyonunun kollajen sentezi ve angiogenezi uyardığı saptanmıştır. Gine Domuzlarında açık bırakılan yaralar TGF- $\beta$  içeren spançlarla muamele edilmiş, sonuçta, 8. günde, bu tedaviyi görmeyenlere oranla daha fazla granülasyon dokusu içerdikleri saptanmıştır. Farelerdeki insizyonel yaralara kollajen vehikül içinde TGF- $\beta$  uygulandığında, 3 ve 14. günler arasında, yaranın sağlamlığında, kontrollere oranla artma saptanmıştır[6, 8].

Transforme edici faktör- $\beta$  desteği, adriamycine bağlı yara iyileşmesindeki zayıflamanın üstesinden gelebilmektedir. Glukokortikoide bağlı yara iyileşmesindeki gecikmeyi, kollajen vehikül içinde TGF- $\beta$  desteği, 7. günden itibaren ortadan kaldırmaktadır [6, 8].

TGF- $\beta$  , makrofajlar için kemotaktiktir; fibroblast kemotaksisini ve proliferasyonunu uyarır. TGF- $\beta$  kollajen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinir. Ayrıca kollajenazı aktive eden diğer faktörlerin uyarıcı etkisini azaltır. TGF- $\beta$  fibroblastlarca fibronektin ve proteoglikan sentezini; keratinositlerce de fibronektin sentezini uyarır.

Yara kontraksiyonunda rol oynar. Matriksi organize edebilme özelliği nedeni ile remodeling olayında görev yapar [6, 8].

TGF-  $\beta$  tek başına, endotel hücre proliferasyonunu inhibe ederken, başka bir kofaktörle birlikte anjiogenezi stimüle eder. Ayrıca epitelyal hücre proliferasyonunu uyarır [6, 8].

Normal gelişim süresi 31 gün olan fetal tavşana, gebeliğin 24. gününde TGF-beta içeren subkutan yara implante edilmiş ve 1- 7 gün sonra görülen histolojik cevaplar TGF-beta içermeyen fetal ve yetişkin kontrol implantları ile karşılaştırılmıştır. Yetişkin implantın histolojisi erken akut inflamatuvar cevap ile karakterize ve 7. güne kadar fibroblastlar ve kollajenin predominant olduğu gözlenmiştir. Aksine fetal tavşandan alınan kontrol implantlarında akut inflamasyon veya fibroblast penetrasyon bulgusu ve kollajen depolanması olmadığı görülmüştür. TGF-beta ihtiva eden fetal tavşanda 7. günde bol fibrotik reaksiyon gözlenmiş, histolojisinde kollajen depolanması ile belirgin fibroblast penetrasyonu görülmüştür. Bu çalışma TGF-betanın fetal yarada fibroblast penetrasyonu ve kollajen birikimi ile adult benzeri iyileşmeye yol açtığını göstermiştir [50]. Adult tavşanlarda yaralara TGF-betaya karşı nötralize edici antikolar enjekte edildiğinde yaralarda daha az sayıda makrofaj, kan damarı ve daha az kollajen ve fibronektin içeriği olduğu ve skarsız iyileşme geliştiği tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol yaralarındaki eşit gerilme direnci ve daha normal deri yapısı gösterdiği de görülmüştür. Sonuç olarak seçilmiş sitokinlerin yaralara erken devrede uygulanması skar kontrolünde yeni bir yaklaşım olabilir [51].

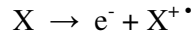
## **2.9. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres**

### **2.9.1. Serbest radikaller**

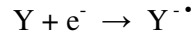
Canlı hücrelerin yapıtaşlarını oluşturan moleküllerin atomları, kovalent bağlarla birbirine bağlıdır. Bu tip bağlar paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasına dayanmaktadır. Yeterli bir enerji

kaynağı ile (radian ısı veya çoğu kez kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir. Bu tip bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, kimyasal aktiviteleri yüksek molekül veya atomlar “serbest radikal” olarak adlandırılırlar [52, 53]. Radikal, eşlenmemiş elektronun atomik veya moleküler orbitali kendi başına işgal etmesidir. Sembolün üzerine bir nokta konur, bu serbest radikal türlerine özgü bir işarettir [16]. Radikaller;

1- Radikal olmayan atom veya molekülden bir elektron kaybıyla oluşabilir.



2- Radikal olmayan atom veya molekülün bir elektron kazanması ile oluşabilir.



3- Kovalent bağların homolitik kırılması ile oluşabilir [16].

Başlıca serbest radikal kaynaklarını şu şekilde sınıflandırabiliriz.

1- Endojen kaynaklar:

- Mitokondrial elektron transport zinciri
- Endoplazmik retikulum
- Redoks döngüsü
- Araşidonik asit metabolizması
- Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelial hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar.
- Ksantin Oksidaz, NADPH Oksidaz gibi oksidan enzimler.
- Otoksidasyon reaksiyonları.

2- Ekzojen Kaynaklar

- Diyet faktörleri
- Çevresel faktörler

- İlaçlar [54].

### 2.9.2. Serbest oksijen radikalleri

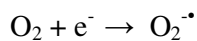
Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, elektron alıcısı olarak, aerob organizmaların yaşamı için gerekli bir maddedir. Memeliler hücrelerindeki ATP üretiminin büyük bir kısmını mitokondrial elektron transport sisteminde, oksijenin dört elektronunun su oluşturmak üzere indirgenmesiyle elde ederler. Fakat bu süreçte oksijenin % 1- 3'ü tam olarak suya dönüşemez ve ara ürün olarak serbest oksijen radikalleri ve bunların da çeşitli reaksiyonları ile reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelir [16, 55].

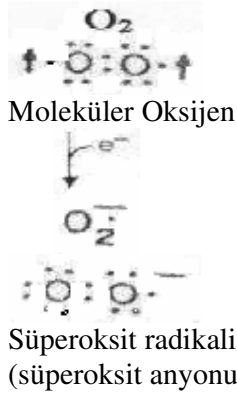
#### Reaktif oksijen türleri (ROT)

- Singlet oksijen ( $^1\Delta G_{O_2}$ )
- Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )
- Hidrojen Peroksit radikali ( $H_2O_2$ )
- Hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ )
- Alkoksil radikali ( $RO^{\cdot}$ )
- Peroksil radikali ( $ROO^{\cdot}$ )
- Hipokloröz asid (HOCL)
- Perhidroksil radikali ( $HO_2^{\cdot}$ )

#### *Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )*

Soluduğumuz oksijen iki radikalli, iki tek elektron içeren ve çok stabil olan bir moleküldür, bir dış enerji kaynağı sayesinde bir elektron kazanmakla serbest elektronlarından birisini negatif yük elde ederek çift konuma getirebilir. Bu molekül süperoksit anyonudur ( $O_2^{\cdot-}$ ) [52].





Yalnızca bir eşleşmemiş elektronlu süperoksit,  $O_2^-$  in isminin süper olmasına rağmen kendisinden daha az radikaldir. Sitoplâzmadaki  $O_2^-$  nin başlıca kaynağı endoplazmik retikulumdaki sitokrom P450 sistemidir [56].

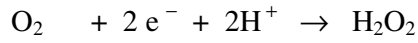
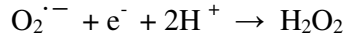
Basit ancak spontan olarak, reaktif bir radikal olan süperoksit anyonu organik moleküllerin çeşitli yıkım reaksiyonlarında rol oynayabilir. Süperoksit anyonu genellikle zararlı oksidatif bir faktör olarak kabul edilmesine rağmen, aslında direkt olarak sadece nükleofilik özelliklerine dayanarak etki yapar ve aktivitesi sadece proton bulunmayan ortamlarda ortaya çıkar. Böyle ortamlara iki fosfo lipid kattan oluşan hücre membranında karşılaşmak mümkündür. Burada  $O_2^-$ , deesterifikasyon ile fosfolipid moleküllerinin yağ asitlerini serbestleştirmek suretiyle fosfolipoproteinli yapının stabilitesini bozar. Ama proton içeren ortamlarda  $O_2^-$  molekülünün ömrü kısadır,  $O_2^-$  molekülü tekrar  $O_2$  molekülü olabilmek için kendi elektronunu başka bir süperoksit anyona transfer eder. Böylelikle,  $O_2$  molekülü ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) molekülü oluşmaktadır.



Genellikle,  $O_2^-$  molekülünün, fazla toksik olmadığı ancak daha reaktif oksijen kökenli metabolitler için prekürsör olduğu kanısı mevcuttur [56- 58].

### *Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )*

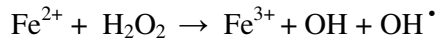
Oksidandır ama reaktif değildir. Geçiş metalleri varlığında, hidroksil radikali için bir kaynak oluşturur [56]. Hidrojen peroksit, süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki oksijenlerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton ile birleşmesi sonucu meydana gelir [54].



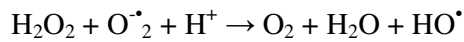
### *Hidroksil radikali ( $HO^\bullet$ )*

Biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü radikaldir. Canlılarda şu mekanizmalarla oluşur:

- 1- Suyun radyasyona maruz kalması
- 2-  $H_2O_2$ ' nin UV ışığına maruz kalması
- 3- Fenton reaksiyonu:  $H_2O_2$   $Fe^{2+}$  ve diğer geçiş elementleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek  $OH^\bullet$  radikali oluşur.

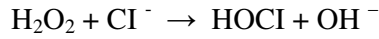


- 4- Haber-Weiss reaksiyonu: Hidrojen peroksit süperoksit ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur [16, 56].



### *Hipokloröz asit (HOCl)*

Enzimatik olarak, nötrofiller tarafından üretilir, güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller,  $\text{OH}^\bullet$  üretirler. Özellikle nötrofiller, içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla,  $\text{OH}^\bullet$  nin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti, klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl (hipokloröz asit) e dönüştürür [58].



### *Singlet oksijen ( $^1\Delta\text{Go}_2$ )*

Enerji verilmek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şekli singlet oksijen ( $\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$ ) olarak bilinmektedir. Yapısında eşlenmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT' leri arasında yer alan  $\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$  serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir. Sigma ve delta olmak üzere iki tipi mevcuttur [56].

Singlet oksijen şu mekanizmalarla oluşur:

- 1- Oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi
- 2- Süperoksit radikalinin dismutasyonu
- 3- Hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu

*Peroksil radikal (ROO•)*

Karbon merkezli radikaller hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini oluştururlar. Bu peroksil radikali lipid peroksidasyonunu başlatan radikal olup çok uzun ömürlüdür [56].

*Perhidroksil radikali (HO<sub>2</sub>•)*

Süperoksit radikali düşük pH' da daha reaktif olup protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan perhidroksil radikalini oluşturur [56].

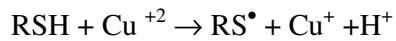


*Alkoksil radikali (RO•)*

Peroksil radikalinden bir oksijen atomunun çıkması sonucu oluşur [56].

**2.9.3. Oksijen türevi olmayan serbest radikaller**

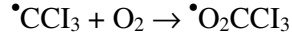
1-Tiyol bileşikleri (R-SH) geçiş metallerinin varlığında oksitlenerek RS• (til) radikali oluştururlar.



2- Karbon merkezli radikallerde birçok biyolojik sistemlerde oluşabilmektedir.



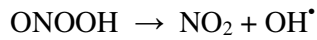
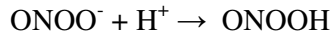
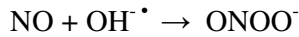
Karbon merkezli radikaller çoğunlukla O<sub>2</sub> ile reaksiyona girerek peroksil radikali verir.



3- Azot merkezli radikaller de oluşabilir. Örneğin eritrositlerde fenilhidrazin metabolizmasında fenilhidrazin radikali ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}=\text{N}\bullet$ ) oluşur. Bu başlık altında Nitrik Oksit (NO) önem arz etmektedir.

#### *Nitrik oksit*

Bu lipofilik serbest radikal, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L-arjiniinden sentezlenir. Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, oluşmuş olan ROS' ları ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit ( $\text{ONOOH}$ ) oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonla  $\text{OH}\bullet$  radikali oluşumuna yol açmaktadır [58, 59].



Çeşitli patolojik durumlarda, normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşmasıyla veya organizmanın antioksidan sisteminin yetersiz kalmasıyla artan serbest radikaller hücrenin çeşitli bileşenleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar.

Oksijen radikallerinden etkilenebilecek başlıca vücut kimyasal maddeleri arasında proteinler (enzimler ve kollajen), nörotransmitterler, nükleik asitler sayılabilir. DNA ve hücre membranlarının başlıca bileşenleri olan yağ asitleri de radikallerden etkilenirler [17].

#### 2.9.4. Oksijen radikallerinin biyolojik reaksiyonları

##### Lipit peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan, membran fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır [18].

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli bir radikal etkisi ile membran yapısında bulunan konjuge olmayan çok doymamış yağ asiti zincirindeki metilen gruplarından, bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlamaktadır. Bu olay, yağ asiti zincirinin radikalleşmesine neden olur. Oluşan lipid radikali ( $L^{\bullet}$ ) dayanıksızdır ve bir dizi spontan değişikliğe uğrayarak oluşan konjuge dienler daha stabildir. Lipid radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikali ( $LOO^{\bullet}$ ) meydana gelmektedir. Bu radikaller de membran yapısındaki diğer çok doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan  $H_2$  atomlarını alarak Lipit Hidroperoksitler' ine ( $LOOH$ ) dönüşmektedir. Lipit hidroperoksitlerden, Fenton tipi bir reaksiyonla aldehit ve alkanlar oluşur. Üretilen hidroperoksitler daha fazla radikali yıkarak, lipit peroksit, etan ve pentan gibi uçucu gazlar oluşur. Aldehitler en toksik ürünlerdir. Plazma malondialdehit (MDA) konsantrasyonu non-enzimatik lipid peroksit oluşumunun bir sonucudur [60].

##### Protein oksidasyonu

Protein oksidasyonu, proteinlerin ROS veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu meydana gelir [56].

Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları, enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkınlık, reseptör aracılı endositozun

bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir [16, 28, 52].

### DNA oksidasyonu

Oksidatif hasara bağlı olarak DNA' da tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir. Oksidatif modifikasyon sonucunda DNA antijenik karakter kazanmakta ve anti DNA antikorları oluşmaktadır [28, 61].

### Karbonhidrat oksidasyonu

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu; Hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bağ dokunun önemli bir mukopolisakkariti olan hiyaluronik asidin, inflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıda artmış olan  $H_2O_2$  ve  $OH^*$  ile parçalandığı gösterilmiştir [18].

## **2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Organizmada, ROS' ların hasar oluşturuıcı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Normal koşullarda bu toksik ürünlerin hasar oluşturuıcı etkileri antioksidanlarla sınırlanmaktadır. Böylece oksidatif hasara bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarı en aza indirilmektedir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkar. Antioksidanlar doğrudan etkiyle oksidanları inaktif hale getirebilirler [28–30].

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler [16, 50, 62, 63].

- 1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.

### **2.10.1. Antioksidanların sınıflandırılması**

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler [54].

#### Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim olanlar ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

*Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır:*

- 1) Süperoksit dismutaz (SOD)
- 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)
- 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST)
- 4) Katalaz (CAT)
- 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
- 6) Hidroperoksidaz

*Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır:*

- 1) Melatonin.
- 2) Seruloplazmin.
- 3) Transferrin.
- 4) Miyogloblin.
- 5) Hemogloblin.
- 6) Ferritin.
- 7) Bilurubin.
- 8) Glutasyon.
- 9) Sistein.
- 10) Metiyonin.
- 11) Ürat.
- 12) Laktoferrin.
- 13) Albümin.

#### Ekzojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

*Vitamin ekzojen antioksidanlar şunlardır:*

- 1)  $\alpha$ — tokoferol (vitamin E).
- 2)  $\beta$ — karoten.
- 3) Askorbik asit (vitamin C).
- 4) Folik asit (folat).

*İlaç olarak kullanılan ekzojen antioksidanlar şunlardır:*

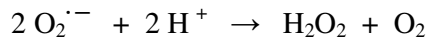
- 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten).

- 2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar, diphenylene iodonium).
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz.
- 4) Trolox-C (vitamin E analogu)
- 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein).
- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin).
- 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin).
- 8) Nötrofil adezyon inhibitörleri.
- 9) Sitokinler (TNF ve IL-1).
- 10) Barbitüratlar.
- 11) Demir şelatörleri [54].

*Enzim olan endojen antioksidanlar*

*Süperoksit dismutaz (SOD)*

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalının ( $O_2^{\cdot-}$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. *Cu-Zn SOD* sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. *Mn SOD* mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır.

SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ( $O_2^{\cdot -}$ ) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar.

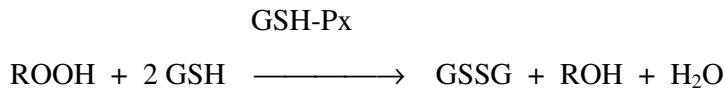
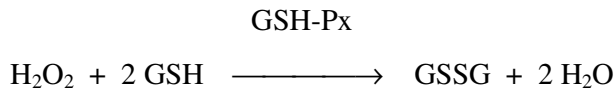
SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku  $pO_2$  artışıyla artar. SOD'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür.

Cu-Zn SOD'ın spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur [54].

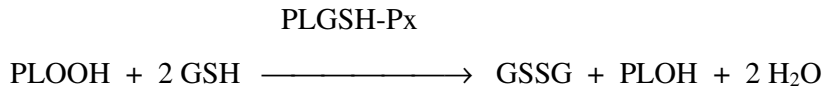
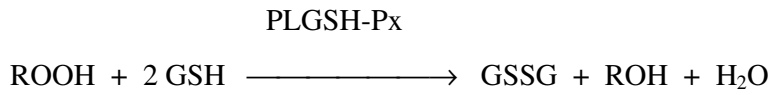
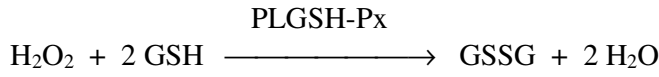
#### Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır.

Glutasyon peroksidaz (glutasyon: $H_2O_2$  oksidoredüktaz), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir.



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilen bir enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger.



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur.

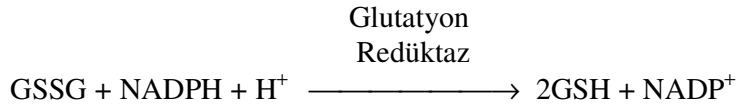
GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler.

GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelere düşük bulunmuştur.

Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur [54].

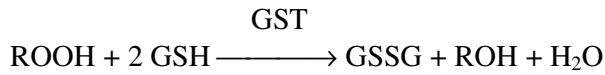
Glutasyon redüktaz

Glutasyon redüktaz, GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutasyona (GSH) dönüşümünü katalize eder [54].



Glutasyon S-Transferazlar (GST)

Glutasyon S-transferazlar (GST), her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. Glutasyon S-transferazlar (GST), başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.



Glutasyon S-transferazlar (GST) katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Bunlar hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. GST'lar, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler.

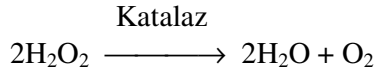
Serum GST konsantrasyon tayininin aminotransferazlardan (AST ve ALT) daha duyarlı bir hepatosellüler hasar indeksi sağladığı gösterilmiştir [54].

Katalaz (CAT)

Katalaz ( $\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}_2$  oksidoredüktaz,) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir.

Katalaz esas olarak peroksisomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur.

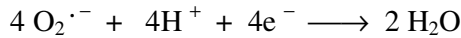
Katalaz hidrojen peroksidi ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) suya ve oksijene parçalar.



Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) hidroksil serbest radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır [54].

Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) detoksifiye eder.



Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) zararlı etkilerine engel olurlar [54].

## *Enzim yapısında olmayan antioksidanlar*

### *Vitamin C (askorbik asit)*

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Tirozinden epinefrin sentezinin dopamin  $\beta$ -hidroksilaz basamağında görev alır. Tirozin yıkılımında p-hidroksi fenil pirüvatın homogentizata oksidasyonunda rol alır. Safra asitlerinin sentezindeki 7- $\alpha$ -hidroksilaz başlangıç basamağında rol alır. Lizinden karnitin sentezinde rol alır. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir.

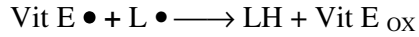
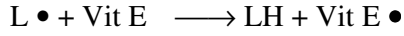
Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler.

Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir [54].

### *Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)*

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ve hidroksil

radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir.



Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Vitamin E ve C verilmesinin, yaşlı kişilerde ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır.

Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutatyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller.

Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Vitamin E selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır.

Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve vitamin E ile diğer antioksidanların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği kaydedilmiştir [54].

### Karotenoidler

Vitamin A'nın ön maddesi olan  $\beta$ -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır [54].

### Melatonin (MLT)

Melatonin en zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ( $\text{OH}^\bullet$ ) ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir.

Melatonin hidroksil serbest radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamdaki süperoksit radikalini ( $\text{O}_2^\cdot$ ) tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir.

Melatoninin antioksidan olarak diğer bir özelliği lipofilik olmasıdır, hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir.

Serbest oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrolün DNA üzerine hasar oluşturucu etkisinin, melatonin tarafından çok etkili şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Melatonin kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirir.

Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi de azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir [54].

### Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutasyon (GSH) çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutasyon (GSH) yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar.

Glutasyon (GSH) eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir [54].

### Ürat

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır [54].

### Bilirubin

Bilirubin süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır [54].

### Albumin

Albumin LOOH ve HOCl toplayıcısıdır [54].

### Seruloplazmin

Seruloplazmin olasılıkla SOD'a benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri ( $Fe^{2+}$ ) ferri demire ( $Fe^{3+}$ ) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder [54].

### Transferrin ve Laktoferrin

Transferrin ve laktoferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar [54].

### Ferritin

Ferritin dokudaki demiri bağlar [54].

### Sistein

Sistein süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır [54].

### Ebselen

Ebselen selenyumlu bir bileşiktir. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesini güçlendirir ve lipoksijenaz yolunu inhibe eder [54].

### Sitokinler

Sitokinler başta katalaz olmak üzere antioksidan enzimleri aktive ederler. Ancak proteolitik enzimleri aktive ettiklerinden dolayı zararlı da olabilirler [54].

### Demir şelatörleri

Demir şelatörleri hücre içine girerek serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler, böylece Fenton reaksiyonunu ve sonuçta hidroksil radikali oluşumunu inhibe ederler. Bu özelliklerinden dolayı reperfüzyonda kullanılmalarının faydalı olduğu kaydedilmiştir [54].

### Desferroksamin

Desferroksamin serbest Fe<sup>3+</sup> 'ü bağlar [54].

### Oksipürinol

Oksipüranol allopürinolün metabolitidir, doğrudan hidroksil radikali ve hipokloriti azaltıcı yönde etki eder [54].

### Mannitol

Mannitol hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterir [54].

### Probukol

Probukol kan kolesterolünü düşürmede kullanılır. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu kırıcı etkisi vardır [54].

Reaktif oksijen türevlerinin meydana getirdiği hasarı inhibe eden pek çok endojen mekanizma bulunmakla beraber, ekzojen olarak da hasarlanmayı engelleyebilen birçok ilaç tanımlanmıştır. Etki mekanizmaları farklı olan ekzojen ve endojen ajanlar şunlardır:

*Antioksidan enzimler:* Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz bu gruptan olan primer antioksidanlardır. Serbest radikalleri, biyolojik önemi olan moleküllerle etkileşmeden önce daha zararsız bileşiklere dönüştürerek veya başka moleküllerden radikal üretimini engelleyerek etkilerini gösterirler [64, 65].

*Serbest radikal toplayıcılar:* Vitamin E, vitamin C, Beta-karoten, ürik asit, bilirubin, albümin bu gruptandır ve sekonder antioksidanlar olarak bilinir. Bunlar serbest radikalleri yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engeller [64- 66].

*Nötrofil inhibitörleri:* PAF antagonistleri ve 5-lipooksijenaz inhibitörleri kemotaksisi inhibe ederken TGF-beta ise nötrofillerin endotele yapışmasını ve adenozin reseptör mekanizması yoluyla aktive nötrofillerden serbest radikal üretimini inhibe eder [67, 68].

### **3. MATERYAL-METOT**

#### **3.1. Deney protokolü**

Deneylerde 5 aylık  $2,5 \pm 0,4$  kg ağırlıkta 36 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar Lemali deney hayvanları yetiştirme çiftliğinden sağlandı ve G.Ü. Fen- Edebiyat Fakültesi Fizyoloji laboratuvarında bakıldı. Deney öncesi ve deney süresince pelet yem ve su ile beslenen hayvanlar, deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldılar.

#### **3.2. TGF- $\beta$ Preparatının Hazırlanması**

Deneylerde kullanılan pelet (boncuk) formu G. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır. Bunun için inert bir madde olan polietilenglikol (PEG) boncuk kullanılmıştır. Bu nedenle yara iyileşmesinde etkili faktörümüzü PEG içerisinde uyguladık. Laboratuvarımızda yaptığımız ön denemelerde PEG; in vitro koşullarda 37 °C' de 35 dakikada erimiştir ve in vivo koşullarda da en az bu süre içinde yaraya yavaş yavaş serbestlenmektedir.

TGF- $\beta$  (Sigma, T- 7039 2 UG) 1 flakon suda çözülüp polietilen glikol (PEG 6000) içinde 20 ng olacak şekilde doze edilerek hazırlandı. Uygulamalarda TGF beta 1 distile suda çözülmüştür. Su hacmi vakum altında yeterli miktara kadar 30 °C de steril şartlarda uçurulmuştur. Daha sonra bir damla PEG ve 20 ng eşdeğer TGF beta 1 çözeltisi karıştırılmıştır. Bu şekilde UV lamba altında steril şartlarda hazırlanan PEG 6000+TGF beta 1 şeklinde formulasyonlar ayrı ayrı flakonlara yerleştirilip ağzı kapatılarak deneylerimizin yapıldığı Fizyoloji Laboratuvarına getirilmiştir.

### 3.3. Yara Modelinin Oluşturulması

Sabah saat 10:00' da hayvanların önce standart terazide ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra ketamin (Ketalar 50mg/kg) ve ksilazin (Rhompun 5mg/kg) intramüsküler olarak enjekte edilerek genel anestezi sağlanmıştır. Hayvanın ağzı açılıp, yanak ve dil ekarte edildikten sonra kesici dişler ile azı dişler arasındaki diastema bölgesinin en derin iç bükey yeri, merkez olacak şekilde sağ ve sol çenede kretin tepesine 1,5 cm uzunluğunda postero-anterior yönde insizyon (kesi), perioste kadar incek şekilde tek işlemde gerçekleştirilmiştir. İnsizyondan sonra yara dudakları vestibul ve lingual yönde periost elevatörü ile mukoza üzerinde formülasyonlar yerleşecek kadar cerrahi teknikler kullanılarak ekarte edilmiştir. Tüm tavşanların ağız mukozasında insizyon yarası yapılmıştır.

I. Gruptaki tavşanlara sadece kesi yarası yapılmıştır.

II. Gruptaki tavşanlara PEG+TGF- $\beta$ ' lı kombinasyonları taşıyan boncuk yerleştirilmiştir.

Kontrol grubundaki tavşanlara hiçbir uygulama yapılmamıştır.

Daha sonra yara dudakları adapte edilip kanama kontrolü yapılarak iki adet sütür atılmıştır. Tavşanlar deney süresince pelet yem ve su ile beslenmişlerdir.

Kesi yarası yapılan ve PEG+TGF- $\beta$  kombinasyonlu boncuk uygulanan tavşanlar; kronobiyolojik sıraya uygun olacak şekilde operasyonu izleyen 1., 3. ve 5. günlerde sabah saat 10:00' da ağırlıkları tartılarak, aşırı doz sodyum barbitol, kulak veninden verilerek feda edilmiştir. Ağızdaki tükürük bezleri sağlı-sollu hemen çıkarılarak, bulaşmayı önleyecek materyale sarıldıktan sonra sıvı azot içerisinde konularak dondurulmuştur.

### **3. 4. Yöntemler**

#### **3. 4. 1. Dokuda MDA tayin yöntemi**

Dokuda MDA düzeyleri tiyobarbitürik asit reaktif madde oluşumu yöntemiyle çalışıldı [69]. Doku örnekleri tartıldı. Homojenizatör ile soğuk TCA içinde homojenize edildi. Daha sonra süpernatant alınarak üzerine TBA ve BHT eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 535 nm' de, köre karşı okundu.

#### **3.4.2. Dokuda GSH tayin yöntemi**

Dokuda glutatyon tayini için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı [70]. Doku örnekleri TBARS yöntemindeki gibi homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ve DTNB çözeltisi ile karıştırıldı. Oda ısısında 5-10 dk bekletildikten sonra karışımın absorbanansı spektrofotometrede köre karşı 412 nm dalga boyunda ölçüldü.

#### **3.4.3. Dokuda AA tayin yöntemi**

Roe ve Kuether' in Berger tarafından modifiye edilmiş metodu kullanıldı [71]. Doku PCA/EDTA karışımı içinde buz soğukluğunda homojenize edildi. Homojenat 15000 g (RCF) devirde 3 dk. 4 °C de santrifüj edildi. Bir tüpe standart AA çözeltisi, başka bir tüpe kör için PCA çözeltisi ve örneklerin hazırlanacağı tüplere süpernatant konuldu. Her bir tüpe renk reaktifi eklenip vortekslenerek, 3 saat 37 °C de inkübe edildi. Numunelerin ısı 0 °C ye getirilip her bir tüpe  $\text{H}_2\text{SO}_4$  eklendi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Numuneler 515 dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu.

#### **3.4.4. Dokuda MPO tayin yöntemi**

Glowick ve Kaplan' ın yöntemi kullanıldı [72]. Doku sodyum fosfat tamponunda buz soğukluğunda homojenize edildi. Homojenat 3500 rpm devirde 10 dk. 4 derecede santrifüj edildi. Süpernatant, sodyum fosfat tamponu, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ortodiazidinin ve su tüplerine konularak karıştırıldı. Numuneler 37 °C de 30 dk inkübe edildikten sonra üzerlerine HCl eklenerek, 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu.

#### **3.4.5. Dokuda NOx tayin yöntemi**

Dokulardaki NOx konsantrasyonu Griess yöntemi ile çalışıldı [73]. Dokular, sodyum fosfat tamponu ile homojenize edildikten sonra, 3500 RPM'de 15 dk santrifüj edildi. 200 µL süpernatana, ortamdaki nitratı nitrite indirgemek amacıyla eşit miktarda VCl<sub>3</sub> eklendi ve 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra sodyum fosfat tamponu ve eşit miktarlarda karıştırılmış olan Griess I+II reaktifleri eklendi. 37 °C'de 10 dk inkübasyondan sonra numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede, köre karşı, 540 nm'de okundu.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirme**

Bütün değerler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi. Sonuçlar dağılımın homojen olup olmamasına göre Anova Varyans Analizi ve Mann Whitney U test ile değerlendirildi.  $p < 0,05$  önemli kabul edildi.

## **4. BULGULAR**

### **4.1. Tükürük Bezi MDA Düzeyleri**

Tedavisiz grupta, tükürük bezi MDA düzeyleri kendi aralarında kıyas edildiğinde; günlere bağlı olarak yaralanmanın 3. gününde diğer günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar, kendi aralarında karşılaştırıldığında 3. günde diğer günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. 5. günde tükürük bezi MDA düzeyi diğer günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar tedavisiz gruplarla yani kendi kontrolleri ile karşılaştırıldığında TGF- $\beta$  uygulamasının MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) ölçüde artırdığı ve bu artışın 3. günde daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

### **4.2. Tükürük Bezi GSH Düzeyleri**

Tedavisiz grupta tükürük bezi GSH düzeyleri kendi aralarında mukayese edildiğinde, yaralanmanın 3. gününde 1. güne oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Diğer tedavisiz gruplarda kendi aralarındaki artış ve azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında yaralanmayı takiben 3. ve 5. günlerde tükürük bezi GSH düzeyleri 1. güne oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi tedavisiz kontrolleri ile karşılaştırıldığında, TGF- $\beta$  uygulanan gruplarda tükürük bezi GSH düzeylerinin bütün günlerde istatistiksel

olarak anlamlı ölçüde ( $p<0.05$ ) artmış olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2).

#### **4.3. Tükürük Bezi MPO Enzim Aktivitesi**

Kesi yarasını takiben tükürük bezi MPO aktivitesi değerlendirildiğinde, tedavisiz gruplar kendi aralarında kıyas edildiğinde yaralanmanın 3. ve 5. günlerinde 1. güne oranla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında yaralanmanın 3. gününde MPO aktivitesi diğer günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. 5. günde 1. ve 3. günlere oranla MPO aktivitesinde tespit edilen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi tedavisiz kontrolleriyle mukayese edildiğinde, 1. ve 5. günlerde TGF- $\beta$  uygulanan grupların MPO aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır. Yaralanmanın 3. gününde ise TGF- $\beta$  uygulanan grupların MPO aktivitesinde meydana gelen artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3).

#### **4.4. Tükürük Bezi AA (Vitamin C) Düzeyleri**

Tedavisiz gruplarda tükürük bezi AA düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, yaralanmayı takiben 3. günde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında yaralanmanın 3. gününde 1. ve 5. günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artma meydana gelmiştir. 5. günde ise, 1. ve 3. günlere kıyasla meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi tedavisiz kontrolleriyle mukayese edildiğinde, 3. günde TGF- $\beta$  uygulanan grupta AA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır. Yaralanmanın 5. gününde TGF- $\beta$  uygulanan grupta meydana gelen azalma da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.4).

### **5. Tükürük Bezi NO<sub>x</sub> Düzeyleri**

Kesi yarasını takiben tedavisiz gruplarda NO<sub>x</sub> düzeyleri kendi aralarında kıyaslandığında günlere bağlı istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma tespit edilmiştir ( $p >0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, yaralanmanın 3. gününde NO<sub>x</sub> seviyesinde 1. ve 5. günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. 5. günde ise diğer günlere oranla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

TGF- $\beta$  uygulanan gruplarda, NO<sub>x</sub> düzeyleri kendi kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) artmış bulunmuştur (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.1. Ekzojen TGF-  $\beta$  uygulamasının tükürük bezi MDA, GSH, AA, NOx düzeyleri ve MPO aktivitesine etkileri

| GRUP  | MDA<br>(nmol/g doku)            | GSH<br>( $\mu$ mol/g doku)    | MPO<br>(U/g doku)            | AA<br>(mg/g doku)            | NOx<br>( $\mu$ mol/g doku)      |
|---|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Tedavisiz grup<br>1.Gün<br>n=6              | 18.81 $\pm$ 2.66 <sup>a</sup>   | 7.10 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>  | 0.32 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> | 0.09 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> | 20.88 $\pm$ 1.62 <sup>a</sup>   |
| Tedavisiz grup<br>3.Gün<br>n=6              | 50 $\pm$ 9.89 <sup>b</sup>      | 10.14 $\pm$ 1.63 <sup>b</sup> | 0.25 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup> | 0.03 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup> | 19.64 $\pm$ 1.81 <sup>b</sup>   |
| Tedavisiz grup<br>5.Gün<br>n=6              | 23.83 $\pm$ 10.25 <sup>c</sup>  | 9.62 $\pm$ 3.08 <sup>c</sup>  | 0.22 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup> | 0.10 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup> | 17.68 $\pm$ 2.55 <sup>c</sup>   |
| TGF- $\beta$ uygulanan grup<br>1.Gün<br>n=6 | 117.68 $\pm$ 12.43 <sup>d</sup> | 19.62 $\pm$ 1.06 <sup>d</sup> | 0.21 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup> | 0.10 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup> | 208.45 $\pm$ 11.73 <sup>d</sup> |
| TGF- $\beta$ uygulanan grup<br>3.Gün<br>n=6 | 171.32 $\pm$ 9.94 <sup>e</sup>  | 22.69 $\pm$ 0.99 <sup>e</sup> | 0.42 $\pm$ 0.03 <sup>e</sup> | 0.15 $\pm$ 0.03 <sup>e</sup> | 374.31 $\pm$ 14.77 <sup>e</sup> |
| TGF- $\beta$ uygulanan grup<br>5.Gün<br>n=6 | 82.36 $\pm$ 5.64 <sup>f</sup>   | 22.78 $\pm$ 1.93 <sup>f</sup> | 0.14 $\pm$ 0.01 <sup>f</sup> | 0.07 $\pm$ 0.01 <sup>f</sup> | 173.36 $\pm$ 7.41 <sup>f</sup>  |

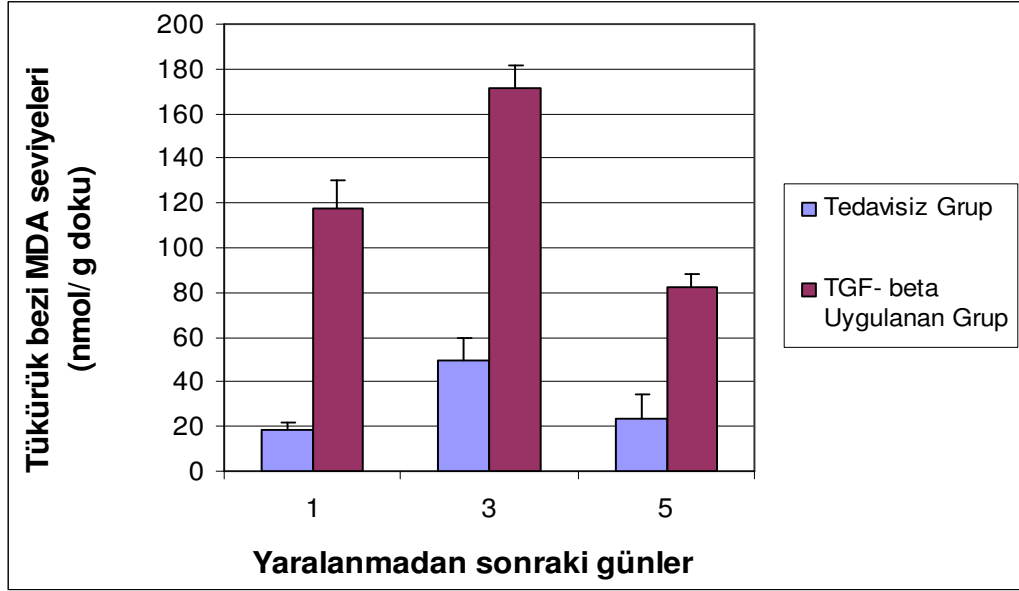
MDA p<0.05: a-b, a-d, b-c, b-e, c-f, d-e, d-f, e-f

GSH p<0.05: a-b, b-e, a-d, c-f, d-e, d-f

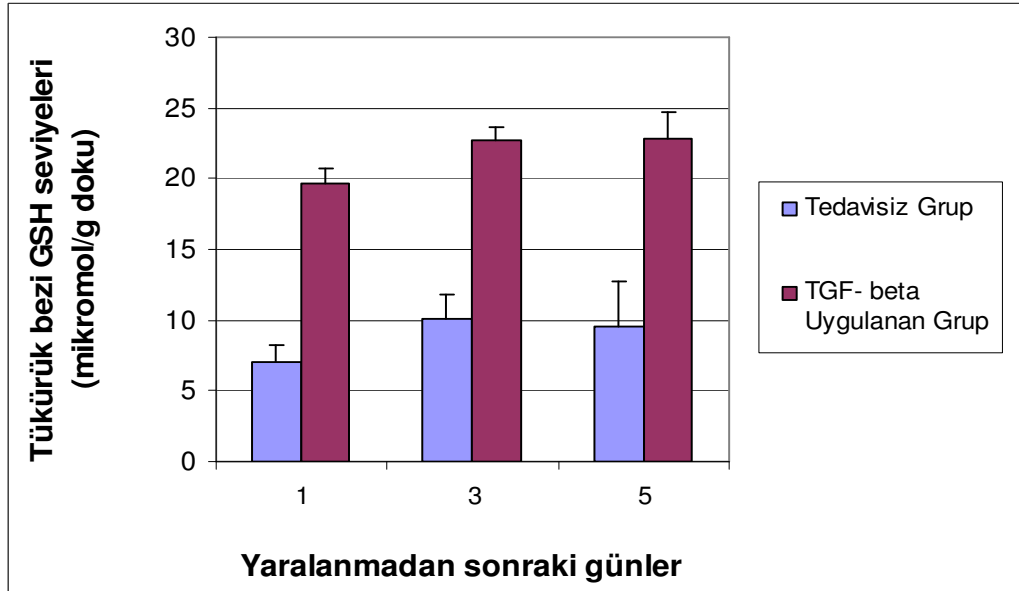
MPO p<0.05: a-b, a-c, a-d, b-e, c-f, d-e, d-f, e-f

AA p<0.05: a-b, b-c, b-e, c-f, d-e, d-f, e-f

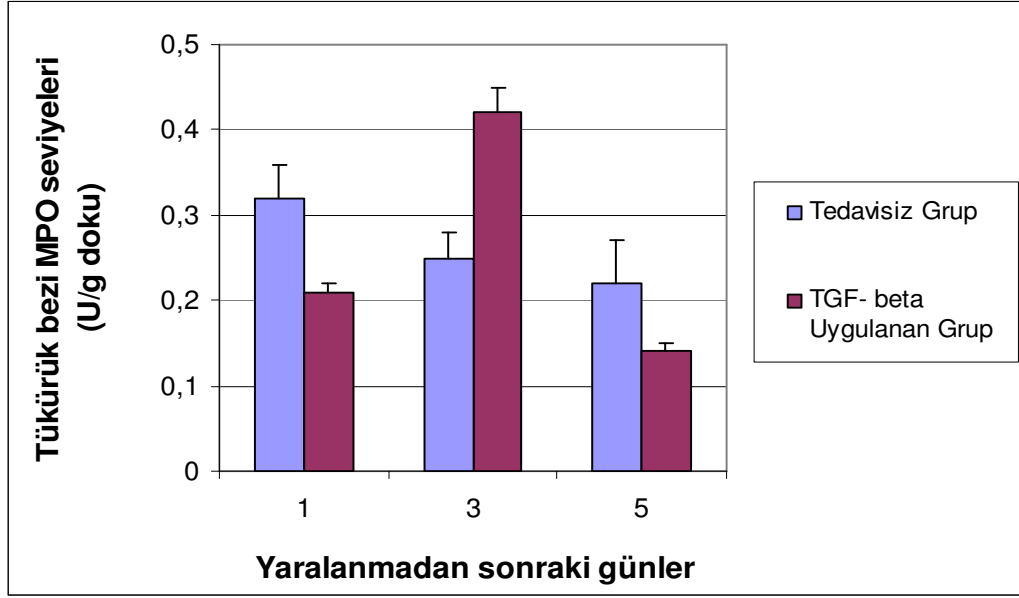
NOx p<0.05: a-d, b-e, c-f, d-e, d-f, e-f



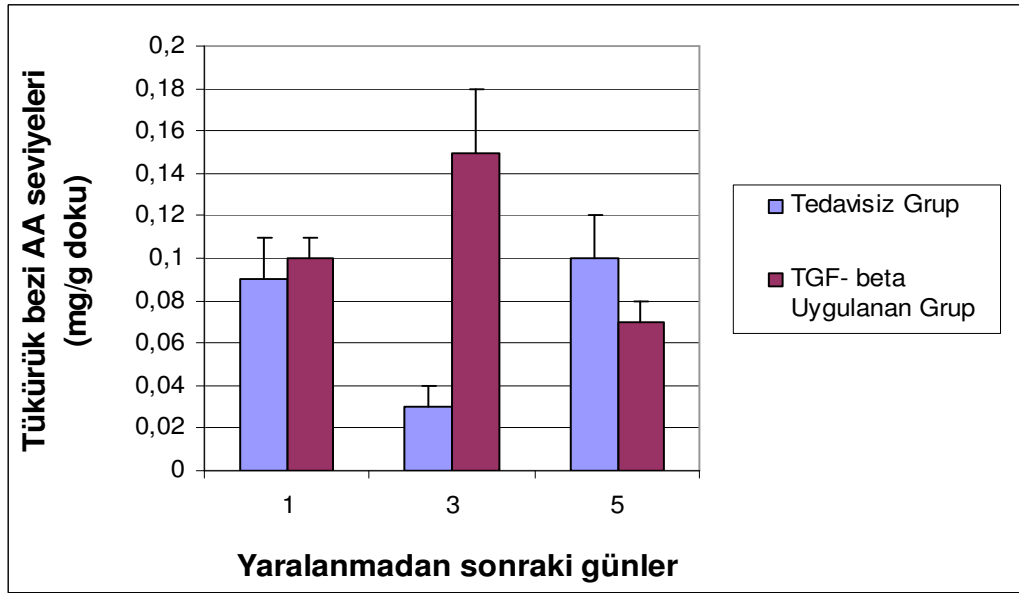
Şekil 4.1. Ekzojen TGF- $\beta$  uygulamasının tükürük bezi MDA düzeylerine etkisi



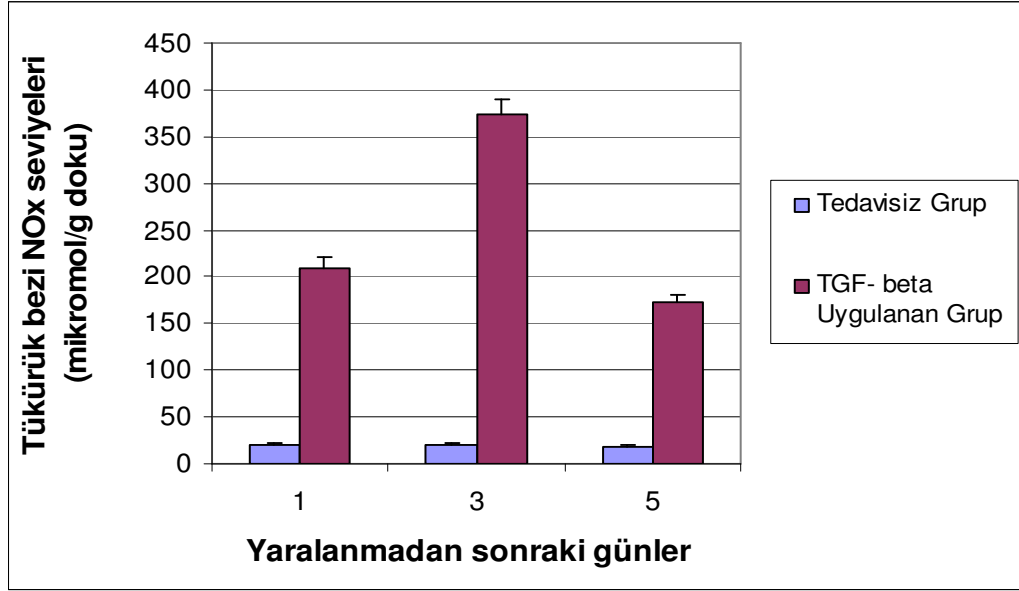
Şekil 4.2. Ekzojen TGF- $\beta$  uygulamasının tükürük bezi GSH düzeylerine etkisi



Şekil 4.3. Ekzojen TGF- $\beta$  uygulamasının tükürük bezi MPO aktivitesine etkisi



Şekil 4.4. Ekzojen TGF- $\beta$  uygulamasının tükürük bezi AA düzeylerine etkisi



Şekil 4.5. Ekzojen TGF- $\beta$  uygulamasının tükürük bezi NOx düzeylerine etkisi

## 5. SONUÇ

TGF- $\beta$  hemen hemen bütün hücre tiplerinden eksprese edilen önemli bir polipeptit olup hücrel olayların geniş bir aralığını düzenlediği bilinmektedir [6].

Tükürük bezleri büyüme, farklılaşma ve yara iyileşmesinde etkili olan, doku sağlığının korunmasında önemli rol oynayan, biyolojik olarak aktif peptitlerin zengin bir kaynağıdır [9, 10]. Tükürük içerdiği immünglobulinler, büyüme faktörleri ve antibakteriyel yapılarla yara iyileştirici özelliğe sahiptir [11].

Tükürük bezinde bulunan TGF- $\beta$ , EGF ve NGF' nin özofagus ve mide mukozasını koruyucu, intestinal lezyonları iyileştirici, yara dokusunda epitelizasyonu ve yara kontraksiyonunu artırıcı etkileri bilinmektedir [9].

Oral kavitedeki infeksiyonlar tükürükte lipit peroksidasyon düzeylerini yükseltmekte ve antioksidan aktivitenin düşmesine yol açmaktadır [74].

Bu çalışmada; yara iyileşmesini hızlandırmak üzere dışarıdan uygulanan TGF- $\beta$ ' nin tükürük bezi oksidan olaylarına zaman bağımlı etkilerini göstermek amacıyla lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri, önemli antioksidanlardan olan GSH ve AA düzeyleri ve NOx seviyeleri ile nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan MPO enzim aktivitesi, günlere bağımlı olarak, yara iyileşmesinde dikkate alınarak tespit edilmiştir.

Bunun için oral mukozalarında kesi yarası yapılan ve kesi yarası yapıldıktan sonra ekzojen olarak TGF- $\beta$  uygulanan iki deney grubu seçilmiş, her iki grupta da yaralanmadan sonraki 1., 3. ve 5. günlerde tükürük bezi oksidan olayları araştırılmıştır.

Oral mukozalarında kesi yarası yapıp tedavi edilmeyen tavşanların, yaralanmadan sonraki tükürük bezi MDA düzeyleri yaralanmanın 3. gününde 1. güne oranla anlamlı olarak artmıştır. Bu sonuç tükürük bezinin ağız içindeki yaralanmaya bağlı

inflamatuvar yanıtı karşı duyarlılığını göstermesi açısından anlamlıdır. Ekzojen TGF- $\beta$  uygulanan grupta ise, yaralanmayı takiben 1. günden 3. güne MDA düzeylerindeki artışın ve 3. günden 5. güne olan azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur.

Daha önce yaptığımız ve henüz yayınlanmamış olan çalışmamızda TGF- $\beta$ ' nın ekzojen olarak ağız içi yaralara uygulanmasının lipit peroksidasyonunu artırmış olduğu, özellikle yaralanmanın 3. gününde en yüksek MDA seviyesine ulaşıldığı gösterilmiştir [75]. Bu çalışmada da bir önceki çalışmamıza paralel olarak iyileşme esnasında tükürük bezi MDA düzeylerinin artmış olduğu tespit edilmiştir.

Bu bulgular TGF- $\beta$ ' nın uygulama dozunun; kemotaksisi, hücre proliferasyonunu ve inflamatuvar yanıtı artırarak lipit peroksidasyonunu tetiklemiş olabileceğini akla getirmektedir. Özellikle inflamatuvar fazın etkin olduğu yaralanmanın 3. gününde tükürük bezi MDA düzeylerindeki artış 20 ng TGF- $\beta$  uygulamasının inflamatuvar yanıtı değiştirmiş olduğunu ve tükürük bezinin de bundan etkilendiğini göstermektedir.

Kesi yarası yapılan tedavisiz grupların tükürük bezi GSH seviyeleri karşılaştırıldığında yaralanmanın 3. gününde 1. güne oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Yaralanmayı takip eden 5. günde de 1. güne kıyasla bir artış tespit edilmişse de, bu değişiklik istatistiksel olarak anlamsızdır. TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi tedavisiz grupları ile mukayese edildiğinde ise tükürük bezi GSH düzeylerinde anlamlı bir artış saptanmıştır.

TGF- $\beta$  uygulanan gruplarda tükürük bezi GSH düzeylerinin artmış olması, TGF- $\beta$  uygulamasıyla submandibular tükürük bezinde artan lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan savunma sistemlerinin harekete geçtiğinin bir göstergesidir.

Oral mukozalarında yapılan kesi yarasına ekzojen TGF- $\beta$  uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında; tükürük bezi MPO aktivitesinde yaralanmanın 3. gününde 1. güne oranla anlamlı bir artış gözlenmiştir. 5. günde MPO aktivitesi tekrar

anlamli derecede azalmiştir. Tedavili gruplar kendi tedavisiz gruplarıyla mukayese edildiğinde yine 3. günde ki artış dikkat çekmektedir.

Özellikle inflamatuvar fazın etkin olduğu yaralanmanın 3. gününde MPO enzim aktivitesinin artmış bulunması ekzojen TGF- $\beta$  uygulamasının, tükürük bezinin bu inflamatuvar yanıtta duyarlılık gösterdiğini ve burada nötrofil infiltrasyonunu arttırmış olabileceğini akla getirmektedir. Bu bulguyla uyumlu olarak; MPO aktivitesi sonucu oluşan HOCl' nin lipit peroksidasyonunu arttırmış olabileceğini düşündürmektedir, 3. günde ki MDA düzeyindeki artışında buna paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Ağız dokusundaki inflamatuvar hastalıklarda MPO enzim aktivitesinin arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (76–78). Sol molar diş çevresinde ligatürle periodontitis yapılan ratlarda, deneyin 8. gününde dişeti dokusunda MPO enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir [76]. Bizim çalışmamızın sonuçlarında bu bulguyla paralellik göstermektedir.

Tükürük bezi AA seviyelerinde, ağız yaralarına ekzojen olarak TGF- $\beta$  uygulanan gruplarda, iyileşmenin 3. gününde diğer günlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Ekzojen TGF- $\beta$  uygulanan grupların AA düzeyleri kendi tedavisiz gruplarıyla karşılaştırıldığında 3. günde meydana gelen anlamlı artış bu günde tespit edilen en yüksek MDA düzeyleriyle bir uygunluk göstermektedir. Artmış lipit peroksidasyonu, 3. günde GSH ile birlikte bir diğer antioksidan olan AA' nın seviyesindeki artışı tetiklemiştir. AA in antioksidan özelliğini GSH ile birlikte gösterdiği bilinmektedir [79]; bizim çalışmamızda da bu korele antioksidan aktivite tespit edilmiştir.

Ağız yarası oluşturulan hayvanlarda yaraya TGF- $\beta$  uygulanmasıyla tükürük bezi NOx düzeylerinin anlamlı olarak artmış olduğu dikkat çekmektedir. Özellikle yaralanmanın 3. günündeki NOx seviyesindeki artış MDA seviyesindeki artışla paralellik göstermektedir. Burada ekzojen olarak uygulanan TGF- $\beta$ ' nin uygulama

dozunun; prooksidan etki göstererek MDA ve NOx seviyelerini artırmış olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; TGF- $\beta$ ' nın ağız içi yaralara ekzojen olarak uygulanması, tükürük bezinde de yansıyan reaksiyonlar oluşturmuştur. Yara iyileşmesine olumlu katkılarının olduğu bilinen TGF- $\beta$ ' nın bu çalışmadaki uygulama dozunun prooksidan etki göstererek inflamatuvar yanıtları arttırdığı ve buna bağlı olarak oksidan ve antioksidan olayları etkilediği gözlemlenmiştir.

Gelecekte farklı TGF- $\beta$  uygulama dozları ile yeni çalışmalar yapılması, yara iyileşmesi esnasında tükürük bezinin yanıtı ve TGF- $\beta$ ' nın bunun üzerindeki etkilerinin aydınlatılması noktasında yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Steenfos, H., "Growth factors and wound healing", *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*, 28: 95-105 (1994).
2. Canalis, E., "Growth factors and their potential clinical value", *J Clin Endocrinol Metab Clinical Review.*, 75 (1): 1-4 (1992).
3. Bennett, NT., Schultz GS., "Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors", *Am J Surg* 165: 728-37 (1993).
4. Kalaycı, G., "Genel Cerrahi", *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul, 273-281 (2004).
5. Taşkın, S., "Ekzojen Epidermal Büyüme Faktörünün Tükürük Bezi Oksidan Olaylarına Zaman Bağımlı Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* , 1 (2007).
6. Lawrence, W. T., Diagemann, R.F., "Growth factor on wound healing", *Clinics in dermatology*, 12: 157-169 (1994).
7. Miyazone, K., Oloffson, A., Colosetti, P., Holding, CH., "A role of the latent TGF- $\beta$ 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF- $\beta$ 1", *EMBO J* 10:1091-1110 (1991).
8. Sprugel, KH., Mc Pherson, JM., Clowes, AW et al. "Effect of growth factors in vivo", *Am J Pathol*, 129: 601-613 (1987).
9. Mathison, R., "Submandibular glands: A role in homeostasis and allostasis", *Biomed. Rev.*, 4: 61-69 (1995).
10. Karagami, H., Hiramatsu, Y., Hishida, S., Okazaki, Y., Horie, K., Oda, Y., Ueda, M., "Salivary growth factors in health and disease", *Anv. Dent. Res.*, 14: 99-102 (2000).
11. Bodner, L., Dayan, D., Rotehchild, D., Hamel, I., "Healing of experimental wounds in sialodenectomized rat", *J. Clin. Periodontol*, 19: 345-347 (1992).
12. Amano, O., Iseki, S., "Expression and localization of cell growth factors in salivary gland", *Acta Anatomica Nipponica, Review*. Japanese 76(2): 201-212 (2001).
13. Zhu, Y., Zhou, Q., Wang, Y., "Role of transforming growth factor beta3 on amylase secretion of submandibular gland cells in rat", *Journal of Allergy and Immunology*, 18 (6): 490-493 (2004).

14. Nandula, SR., Amarnath, S., Molinolo, A., Bandyopadhyay, PC., Hall, B., Goldsmith, CM., Zheng, C., Larsson, J., Sreenath, T., Chen, W., Ambudkar, IS., Karlsson, S., Baum, BJ., Kulkarni, AB., "Female mice are more susceptible to developing inflammatory disorders due to impaired transforming growth factor beta signaling in salivary glands", *Arthritis Rheum*, 56 (6): 805-806 (2007).
15. Campos, S. C. G., Moreira, D. A. C., Nunes, T. D. S., Colepicolo, P., Brigagao, M. R. P. L., "Oxidative stress in alcohol rat sialadenosis", *Archives of oral biology*, 50:661- 668 (2005).
16. Akkuş, İ., "Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri, 1. Baskı", *Mimoza Yayınları*, Konya, 3-10 (1995).
17. Aruoma, O., Kaur, H., Halliwell, B., "Oxygen free radicals and human diseases", *J R Soc Health.*, 111(5):172-177 (1991).
18. Halliwell, B., Gutteridge, JMC., "Free Radicals in Biology and Medicine", *Oxford University Pres*, USA, 121-179 (2001).
19. Salman, E., Bayraktaroğlu, M., Doğan, O. V., Yörükoğlu, Y., Yüce, E., Kösebalaban, Ş., Özer, N., "Askorbik Asit' in Serbest Oksijen Radikal Temizleyici Olarak Açık Kalp Cerrahisinde Kullanımı", *GKD Cer. Derg.*, 2:200-216 (1994).
20. Sayek, İ., "Temel Cerrahi", *Güneş Kitapevi*, İstanbul, 975-989 (2004).
21. Seymour, I., Schwartz, Editör-in-Chief, Principles of Surgery I-II, 7th Edition, International Edition, *Mc-Graw-Hill Companies*, Australia, 687-692 (1999).
22. Çevikbaş, U., "Temel Patoloji", *Nobel Kitabevi*, İstanbul, 301-324 (2003).
23. Mustoe, T.A, Porras-Reyes, BH, "Modulation of wound healing response in chronic irradiated tissues", *Clin Plast Surg*; 20(3):465–472 (1993).
24. Martha, K., Tibbs, "Wound healing following radiatipn therapy: a review", *Radiotherapy and Oncology*, 42, 99–106 (1997).
25. Barbul, A, "Wound Healing ", *The Surgical Clinics of North America*, 77(3): 509-528 (1997).
26. Schaffer, M., Weimer, W., Wider, S., Stülten, C., Bongartz, M., Budach, W., Becker, H.D., "Differential Expression of İnflammatory Mediators in Radiation-İmpaired Wound Healing", *Jornal of Surgical Research*, 107, 93–100 (2002).
27. Parıldar, Z., Türk, T., Özmen, D., Keser, G., Kabasakal, Y., Bayındır, O., "Salivary nitric oxide levels in sjögren's syndrome" *T Klin J Med Sci*, 23: 295-299 (2003).

28. Mathers, J., Fraser, JA., McMahon, M., Saunders, RD., Hayes, JD., McLellan, LI., "Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress", *Biochem Soc Symp.* (71): 157- 176 (2004).
29. Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., "Free radicals, antioxidants, and nutrition", *Nutrition*, 18(10): 872- 879 (2002).
30. Aslan, R., "Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağaltımda antioksidanlar", *İlaç ve Tedavisi Dergisi*, 12 (8): 475-480 (1999).
31. Von Zastrow, M., Triton, T. R., Castle, J. D., "Identification of L-ascorbic acid in secretion granules of the rat parotid gland", *J. Biol. Chem.*, 259:11746-11750 (1984).
32. Hodges, R. E., "What's new about scurvy?", *Am. J. Clin. Nutr.*, 24: 383-384 (1971).
33. Hohn, D. C., Mackay, R. D., Halliday, B., Hunt, T. K., "Effect of O<sub>2</sub> tension on microbicidal function of leucocytes in wounds and in vitro", *Surg. Forum*, 27: 18- 20 (1976).
34. Babior, B. M., "Phagocytes and oxidative stress", *Am J Med.*, 109: 33-44 (2000).
35. İnternet:Tükürüğün içeriği  
<http://www.dentistry.ankara.edu.tr/tukrukvecuruk.doc>
36. İnternet:Tükürük bezi anatomi ve fizyolojisi  
<http://www.ankaranumune4kbb.com/download/downloadkat.asp?kid=4&islem=indir& id=1> (2002).
37. İnternet: Tükürük bezi fizyolojisi  
<http://kbb.uludag.edu.tr/oralkavite-tukruk-anatomi.htm>
38. Noyan, A., "Fizyoloji Ders Kitabı", *Meteksan A.Ş.*, Ankara, 860-862 (1996).
39. İnternet: Tükürük bezi hastalıkları  
<http://tip.erciyes.edu.tr/Anabilim/Cerrahi/Web/Kbb/EGITIM/DERS/you/TBH.htm>
40. Fisher, D.A., Lakshmanan J., "Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals", *Endoc. Rev.*, 11(3):418-422 (1990).
41. Ganong, W.F., "Growth Factors. The general and cellular basis of medical physiology", *Review of medical physiology*, 42-43 (1999).

42. Gope, R., "The effect of epidermal growth factor & plateleted derived growth factor on wound healing process" , *Indian.J.Med.Res.*, 116:201-206 (2002).
43. Cross, M., Dexter, TM., "Growth factors in development, transformation and tumorigenesis", *Cell.*, 64:271-280 (1991).
44. İnternet: Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri  
[www.dermaneturk.com/yara\\_online/buyume\\_faktor.doc](http://www.dermaneturk.com/yara_online/buyume_faktor.doc)
45. İnternet: TGF- $\beta$ ' nın yapısı <http://images.google.com.tr/images?hl=tr&q=tgf-beta&um=1&ie=UTF-8&sa=N&tab=wi>
46. Olashav, N.E., O'Keefe, E.J., Pledger, W.J., "Platelet-derived growth factor modulates epidermal growth factor receptors by a mechanism distinct from that of phorbol esters", *Proc Natl Acad Sci.*, USA, 83:3834-3838 (1986).
47. İnternet: TGF- $\beta$ ' nın yapısı  
<http://www.grt.kyushu-u.ac.jp/spad/account/ligaredtgf-beta.html>.
48. Pinzani, M., Nad Marra, F., "Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cell", *Semin Liver Dis* 21,397-416 (2001).
49. Shi, Y., Massague, J., "Mechanisms of TGF- $\beta$  Signaling from Cell Membrane to the Nucleus", *Cell.*, 113:685-700 (2003).
50. Burtis, CA, Ashwood, ER., "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", *W.B. Saunders Company.*, Philadelphia, Pennsylvania, 37:11-12 (1999).
51. Krummel, TM., Michna, BA., Thomas, BL., Sporn, MB., Nelson, JM., Salzberg, A.M., Cohen, IK., Diegelmann, RF., "Transforming growth factor beta (TGF-beta) induces fibrosis in a fetal wound model", *J. Pediatr. Surg*; 23(7): 647-652 (1988).
52. Deby, C., Pincemail, J., "Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms", In: Rökan (Ginkgo Biloba). Recent result in pharmacology and clinic. *Ed: Fünfgeld EW. Springer- Verlag*, Berlin, 57-70 (1988).
53. Murray, R.K., Et al., "Harper' s Biochemistry", *Appleton and Lange.*, 13: 110-115 (1990).
54. İnternet: Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar  
<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>
55. Cheeseman, KH., Slater, TF., "An introduction to free radical biochemistry", *Br Med Bull.*, 49(3):481-493 (1993).

56. Grrisham, M.B., Mc Cord, JM., "Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites", In: Physiology of oxygen radicals. Ed: Taylor, AE., Malton, S., Ward, PA., *American Physiology Society*, Bethesda, Maryland, USA, 1-18 (1986).
57. Porter, N.A., "Chemistry of lipid peroxidation". *Methods Enzymol.*, 105:273-282 (1984).
58. Southorn, PA., Powis, G., "Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions", *Mayo Clin Proc.* 9. Review, 63(4):381-389 (1988).
59. Cochrane, C.G., "Cellular injury by oxidants", *Am J Med.* 30;91(3C):23-30 (1991).
60. Halliwell, B., Chirico, S., "Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance", *Am J Clin Nutr*; 57(5): 715-724 (1993).
61. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaoğlu, M., Lunec, J., "Oxidative DNA damage mechanisms, mutation, and disease", *FASEB J.* 17(10):1195-1214 (2003).
62. Dawn, B.M., Allan, D.M., Colleen, M.S., "Basic Medical Biochemistry" *Clinical Approach Lippincott Williams & Wilkins.*, Baltimore, Maryland, 214-220 (1996).
63. Tietz, N.W., "Clinical Guide to Laboratory Tests", *W.B. Saunders Company.*, Philadelphia, Pennsylvania, 203-206 (1995).
64. Girotti, A.W., "Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems", *J Lipid Res*; 86: 117-118 (2000).
65. Ertan, T., Soran, A., Kılıç, M., Aşlar, A.K., Koç, M., Cengiz, Ö., "Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin (TAS) önemi", *Cerrahi Tıp Bülteni*, 2(4):154-167 (2001).
66. Huang, H.Y., Helzlsouer, K.J., Appel, L.J., "The effects of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage", Results from a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*; 9:647-652 (2000).
67. Chen, H.F., Kou, Y.R., "Vagal and mediator mechanism underlying the tachypnea syndrome caused by pulmonary air embolism in dogs", *J Appl Physiol*; 88: 1247-1253 (2000).
68. Kutty, R.K., Kutty, G., Wiggert, B., Chader, G.J., Darrow, R.M., Organisciak, D.T., "Induction of heme oxygenase 1 in the retina by intensive visible light", *Suppression by the antioxidant dimethylthiourea. Biochemistry*; 92: 1177-1181 (1995).

69. Casini, A., Ferrali, M., Pompella, A., "Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissue of bromobenzene intoxicated mice", *Am. J. Pathol.*, 123: 520-531 (1986).
70. Aykaç, A. G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak- Toker, N., Sivas, A., Öz, H., "The effect of cronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats", *Toxicology*, 36: 71-76 (1985).
71. Berger, J., Shepart, D., Morrow, F., Taylor, A., "Relationship between dietary intake and tissue levels reduced and total vitamin C in nonscorbutic guinea pig", *J. Nutr.*, 119: 734-740 (1989).
72. Glowick, S. P., Kaplan, S. D., "Methods in enzymology", *Academic Press.*, New York, 769 (1955).
73. Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R., "Analyses of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological fluids", *Anal. Biochem.*, 126: 131-138 (1982).
74. Turgeneva, L. B., Novikov, V. E., Tsenov, L. M., "A clinico pharmacological study of olifen in periodontal inflamation", *Exp. Clin. Pharmacol.*, 60 (2): 777 (1997).
75. Coşkun, Ş., Ahıska, S., Güleç, E., G., "Effectts of TGF-β 1 on nitric oxide production and lipid peroxidation in oral mucosal wound healing", *Apoptosis World*, 237 (2008).
76. Güleç, E., G., "Epidermal büyüme faktörünün oral submukozal implantla uygulanmasının yara dokusu oksidan olaylarına etkileri", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 10 (2006).
77. Develioğlu, A., H., Taner, İ., L., "Miyeloperoksidaz' ın özellikleri ve periodontal hastalıktaki önemi", *C.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 1 (1): 24-27 (1998).
78. Çağlayan, F., Yamalık, N., Kılınç, K., Giray., "Erişkin periodontisli hastalara diyeti örneklerinde miyeloperoksidaz düzeylerinin incelenmesi", *H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 24-27 (1994).
79. Waczulikova, I., Krahulec, B., Sikurova, L., Carsky, J., Orszaghova, Z., Durackova, Z. "Effect of vitamin C and E on nonenzymatic glycation and physico- chemical properties of isolated erythrocyte membranes in diabetic patients". *Bratisl. Lek. Listy.*, 101: 152-156 (2000).

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÇİNAR, Emel  
 Uyuşu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 20.02.1980 Ankara  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0 (312) 356 35 20  
 e-mail : [emelcinar@windowslive.com](mailto:emelcinar@windowslive.com)

### Eğitim

| Derece               | Eğitim Birimi                                 | Mezuniyet tarihi |
|----------------------|---|------------------|
| Tezsiz Yüksek Lisans | Gazi Üniversitesi /Eğitim Bilimleri Enstitüsü | 2005             |
| Lisans               | Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü            | 2002             |
| Lise                 | Keçiören Fatih Sultan Mehmet Süper Lisesi     | 1998             |

### İş Deneyimi

| Yıl      | Yer                                       | Görev   |
|----------|---|---------|
| 2004-... | Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi | Biyolog |

### Yabancı Dil

İngilizce

### Sahip Olunan Belgeler

İyi Klinik Uygulamalar Eğitim Programı Sertifikası, 2006

Bilgisayar işletmenliği sertifikası (MEB onaylı), 2003