



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜKSEK YAĞLI DİYET ile BESLENEN ve TAM KAT DERİ DEFEKTİ MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LAKTOFERRİNİN ETKİSİNİN**

ARAŞTIRILMASI

GÖNÜL SENA YILDIRIM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezli Yüksek Lisans Programı

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi. Ahmet Sarper BOZKURT

Gaziantep

2022

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
Tezli Yüksek Lisans Programı
**YÜKSEK YAĞLI DİYET ile BESLENEN ve TAM KAT DERİ DEFEKTİ MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LAKTOFERRİNİN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

GÖNÜL SENA YILDIRIM

Tez Savunma Tarihi : 13/12/2022

Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne; Bu çalışmanın bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Ramazan BAL

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Tez Jürisi

Prof. Dr Ramazan BAL

Dr. Öğrt. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT

Dr. Öğrt. Üyesi Murat KORKMAZ

ETİK BEYAN

Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlamış olduğum bu tez çalışmamda; Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğuma tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

13.12.2022

Gönül Sena YILDIRIM

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında her türlü desteği sağlayan danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT'a

Maddi manevi sürekli arkamda durup beni destekleyen, pes ettiğim yerde ayağa kaldıran ailem; Babam Mustafa YILDIRIM, annem; Vesile Gül YILDIRIM, Kardeşlerim; Pınar, İbrahim, İdil YILDIRIM'a,

Fizyolojiyi bana sevdiren, bilim ışığında yürümemi sağlayan Prof. Dr. Ramazan BAL'a, Prof. Dr. Şeniz DEMİRYÜREK'e, Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Caner YILDIRIM'a, Dr. Öğr. Üyesi Nadide DOĞRU ÖZKUL'a,

Biyokimyasal analizlerimi gerçekleştirmek için yardımlarını esirgemeyen hocam, Araş. Gör. Hasan ULUSAL'a,

Deneylerime ve derslerime katılımda tolerans gösteren, iş ile birlikte çalışma hayatımı da devam ettirmemi sağlayan ilk iş yerim olan Şehitkarayılan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi Uygulama Oteli mesai arkadaşlarıma

Tez çalışmamı gerçekleştirdiğim Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GAÜNDAM) personellerine teşekkür ederim.

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından (proje No: TF.YLT.21.31) desteklendiği için teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	1
İMGELER VE KISALTMALAR	3
ŞEKİL LİSTESİ.....	4
RESİM LİSTESİ.....	5
TABLO LİSTESİ.....	6
ÖZET	7
ABSTRACT.....	8
1. GİRİŞ VE AMAÇ	9
1.1 Amaç ve Hedefler.....	11
2.GENEL BİLGİLER.....	13
2.1 Laktoferrin Tanımı.....	13
2.1.1 Laktoferrin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	13
2.1.2 İnsan Laktoferrini ile Sığır Laktoferrin Farkı;	15
2.1.3 Laktoferrin Biyolojik Özellikleri	15
2.1.3.1 Laktoferrin Antibakteriyel Etki	16
2.1.3.2 Laktoferrin Antifungal Etki	18
2.1.3.3 Laktoferrin Antiviral Etki.....	18
2.1.3.4 Covid-19 ve Laktoferrin İlişkisi	19
2.1.3.5 Laktoferrin İmmünomodülatör Etki	20
2.1.2 Laktoferrin ve Demir Metabolizması	20
2.1.3 Laktoferrinin Parçalanma Ürünü: Laktoferrisin	22
2.1.4 Oral Laktoferrinin Emilimi ve Etki Mekanizmaları.....	22
2.2. Yağ Dokusu.....	23
2.2.1. Beyaz Yağ Doku	23
2.2.2. Kahverengi Yağ Dokusu	24
2.3. Yara İyileşmesi.....	25
2.3.1. Tam kat deri defekti	25
2.3.2. Yara İyileşmesi Tipleri	26

2.3.3. Yara İyileşme Evreleri.....	26
2.3.3.1 Yara iyileşmesinde Büyüme faktörleri ve Sitokinlerin Rolü;.....	29
3.MATERYAL VE METOD	31
3.1 Araştırma Yeri.....	31
3.2. Çalışmanın Genel Planı.....	31
3.3. Canlı ağırlıklarının belirlenmesi.....	31
3.5. Deneysel Hayvan Modelleri.....	34
3.5.1 Tam Kat Deri Defekti Modeli.....	34
3.5.2 Uygulanan diyet modeli	35
3.6. Makroskobik olarak yara yüzey alanı görüntüleme ve ölçme.....	35
3.7. Serum örneklerinin alınması.....	35
3.8. Biyokimyasal ölçümler.....	35
3.8.1. IL-6.....	36
3.8.2. VEGF.....	36
3.9. İstatiksel analiz.....	37
4.BULGULAR.....	39
4.1 Canlı ağırlık artışları.....	39
4.2.Yara Analizleri.....	42
4. 1 Biyokimyasal Parametreler.....	46
6. TARTIŞMA.....	52
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR	61
EKLER	73
ÖZGEÇMİŞ	74

İMGELER VE KISALTMALAR

BYD	: Adipoz Doku Beyaz Dokusu
nhLF	: Doğal İnsan Laktoferrin
TGF) β1	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
HCV	: Hepatitis C
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HCMV	: İnsan Sitomegalo Virüs
KYD	: Kahverengi Yağ Dokusundan
KGF	: Keratinosit Büyüme Faktörü
LF	: Laktoferrin
PAS	: Peyniraltı Suyu
rhLF	: Rekombinant İnsan Laktoferrin
bLf	: Sığır Laktoferrin
Lfcin-B	: Sığır Laktoferrisin
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
UCP1	: Uncoupling protein1
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Laktoferrinin biyoaktif veya fonksiyonel özellikleri.....	16
Şekil 2. Laktoferrinin (LF) antibakteriyel etkisinin mekanizması.....	17
Şekil 3. Laktoferrinin (LF) antiviral etkisinin mekanizması.....	19
Şekil 4. Laktoferrin yapısı.....	21
Şekil 5. Yara iyileşmesinin aşamaları.....	29
Şekil 6. Grupların ağırlıklılıklarının çok değişkenli grafiği.....	40
Şekil 7. Yara yüzey alanının 1. Ve 21. Günde gruplar arası karşılaştırılması.....	46
Şekil 8. 21. Gündeki IL-6 düzeylerinin gruplar arasındaki dağılımı.....	48
Şekil 9. 21. Gündeki VEGF parametrelerinin grup ortalamalarının logaritmik grafiği..	50
Şekil 10. 21. Gündeki IL-6 ve VEGF parametrelerinin grup ortalamalarının logaritmik grafiği.....	51

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Tam Kat Deri Defekti Modelinin Oluşturulması.....	34
Resim 2. Doku Örneklerinin alınması, hazırlanması ve homojenizasyonu için kullanılan alet ekipmanlar ve ratlardan doku örnekleri alınma görüntüleri.....	37
Resim 3. Günlere göre karşılaştırılmalı her gruptan rasgele seçilen birer hayvanın 1. ve 21. gündeki makroskobik görüntüleri.....	45



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Deneysel çalışma planı ve gruplandırma	33
Tablo 2. Sıçanların günlere göre ağırlık ortalamaları.....	41
Tablo 3. 1 ve 21. Günde gruplar arasındaki arkların analizi.....	43
Tablo 4. 1. ve 21. Gün gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma analizleri.....	43
Tablo 5. Deneysel gruplara ait serum parametrelerin analizi	47
Tablo 6. Deneysel gruplar arasında IL-6 için çoklu karşılaştırma analizleri.....	47
Tablo 7. Deneysel gruplar arasında VEGF için çoklu karşılaştırma analizleri.....	49



ÖZET

YÜKSEK YAĞLI DİYET ile BESLENEN ve TAM KAT DERİ DEFEKTİ MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LAKTOFERRİNİN ARAŞTIRILMASI

Gönül Sena YILDIRIM

Yüksek Lisans Tezi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT

Aralık 2022, 74 sayfa

Laktoferrin, süt protein ailesinin bir üyesi olup çok çeşitli biyoaktiviteleri bulunmaktadır. Bu çalışmada da laktoferrinin yara iyileşmesi üzerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla 48 adet 250-300 gram ağırlığında Erkek Sprague-Dawley (SD) Rat; Kontrol (K) (n=8), Tam kat deri defekti modeli (TK) (n=8), sıgır laktoferrin (bLf) (n=8) ve Yüksek Yağlı Diyet (YYD) + sıgır laktoferrin (bLf) (n=8), Yüksek yağlı diyet (YYD)+Tam kat deri defekti modeli (TK) (n=8), YYD+Tam kat deri defekti modeli (TK) + sıgır laktoferrin bLf (n=8) olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu ratlar standart pelet yemle ad libitum olarak beslenmiştir. Yüksek yağlı Diyet + bLf ve Yüksek yağlı diyet +Tam Kat deri defekti + bLf grubu ratlara, yüksek yağlı diyet ve sıgır laktoferini yeme katılarak oral yol ile verilmiştir. Deneysel çalışmada tüm gruplarda 1., 4., 7., 10., 14., 17. ve 21. günlerde canlı ağırlık artışları ölçülmüştür. TK, YYD+ TK ve YYD+TK+ bLf gruplarına tam kat deri defekti modeli oluşturulmuştur. Tam kat deri defekti oluşturulan gruplardaki deney hayvanları, 1. ve 21. günde makroskopik olarak görüntülenip yara yüzey alanları ölçülerek karşılaştırılmıştır. 1. günde gruplar arasında herhangi anlamlı bir fark bulunamamışken, YYD+TK+bLf grubunun 21. günde yara alanı TK ve YYD+TK grubuna göre daha küçük yara yüzey alanı ölçülmüştür ($p<0.05$). Laktoferrin verilen grubun yara alanları diğer gruplara göre daha hızlı bir şekilde kapanmıştır. Postoperatif 21. günde gruplardaki sakrifiye edilen tüm sıçanlardan alınan serumlar biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Grupların serum IL-6 protein miktarlarına bakıldığında 21. günde YYD+TK+bLf grubunda en fazla, en düşük ise TK grubunda diğer biyokimyasal parametremiz olan serum VEGF protein miktarlarına bakıldığında 21. günde YYD+TK+bLf grubunda en fazla, en düşük ise TK grubunda ölçülmüştür ($p<0.05$). Sonuç olarak deneysel çalışma sonucunda elde edilen veriler, laktoferinin tam kat deri defekti oluşturulmuş sıçanlarda yara iyileşmesi sürecini hızlandırdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Tam kat deri defekti modeli, yara iyileşmesi, laktoferrin, yüksek yağlı diyet.

ABSTRACT

STUDYİNG THE EFFECTS OF LACTOFERRİN İN RATS FED HİGH FAT DIET AND FORMED FULL- THİCKNESS SKİN DEFECT TYPE

Gönül Sena YILDIRIM

M. Sc. Thesis, Department of Physiology

Supervisor: Asst. Prof. Ahmet Sarper BOZKURT

Dec 2022, 74 page

Lactoferrin is a member of the family of milk proteins and possesses a vast array of bioactivities. This study investigated the effect of lactoferrin on wound healing. 48 male Sprague-Dawley (SD) rats weighing 250-300 grams were utilized: Control (C) (n =8), Full-thickness skin defect model (FTSD) (n =8), bovine lactoferrin (bLf) (n= 8) and High Fat Diet (HFD) + bovine lactoferrin (bLf) (n = 8), High-fat diet (HFD)+Full-thickness skin defect model Rats in the control group were fed regular pellet food ad libitum. Rats in the HFD + bLf and HFD+FTSD + bLf groups were administered high-fat diet and bovine lactoferrin orally. In the experimental investigation, all groups' body weight gains were measured on the first, fourth, seventh, tenth, fourteenth, seventeenth, and twenty-first days. For the FTSD, HFD+ FTSD, and HFD+ FTSD+ bLf groups, a full-thickness skin defect model was developed. The wound surface areas of experimental animals with full-thickness skin defects were compared on the first and twenty-first days using macroscopy and surface area measurements. On the first day, there was no significant difference between the groups, but by the 21st day, the HFD+ FTSD+bLf group had a smaller wound surface area than the FTSD and HFD+ FTSD groups ($p<0.05$). The wounds of the group administered lactoferrin healed more quickly than those of the other groups. On the twenty-first postoperative day, all rats were sacrificed. Serum samples were examined biochemically. On the 21st day, the blood IL-6 protein levels are highest in the HFD+FTSD+bLf group and lowest in the FTSD group, when the serum VEGF protein levels, which are our other biochemical criteria, are highest in the HFD+FTSD+bLf group and lowest in the FTSD group ($p<0.05$). In conclusion, the experimental study's findings indicate that lactoferrin improves the wound healing process in rats with full-thickness skin abnormalities.

Keywords: Full thickness skin defect model, Wound healing, lactoferrin, High-fat diet.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) fazla kilonun ve obezitenin normalin dışında veya fazla yağ birikimi olarak tanımasını yapmaktadır (1). Başlıca risk faktörlerinden olan vücut ağırlığının fazla artışı, dünya genelinde hastalıklara sebep olmaktadır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde obezitenin görülme sıklığıyla ilişkili olarak salgın ilan edilmiştir (2). Yetersiz beslenmenin yerini alarak önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (3). Obezite ve gereğinden fazla kiloyla beraber ortaya çıkan sağlık problemleri olan tip 2 diyabet ve İnsülin direnci ve glikoz intoleransı, dislipidemi metabolik sendrom kardiyovasküler hastalıklar önemli derecede kişisel ve ekonomik yük bindirmektedir. Dünya genelinde fazla vücut ağırlığı oranı artmaya devam ettiği sürece bu yükün artması da beklenilmektedir (4, 5). Obezite, alınan enerji ve harcanan enerji arasındaki farkın denk olmamasından kaynaklı ortaya çıkmaktadır (7). Obezitenin oluşmasında genetik, sosyokültürel çevresel ve davranışsal faktörler etkilemektedir (8). Özellikle abdominal bölgede biriken fazla yağ androjen seviyesi normale göre daha yüksek olan kadınlar (polikistik over sendromu olan kadınlar gibi) ile erkeklerde daha fazla gözlenmektedir (9).

Türkiye’de obezitenin görülme sıklığı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır ve çarpıcı sonuçlara rastlanmıştır (10). Bu çalışmalarda obezite oranının 30 yaşından büyük Türk erkeklerinin dörtte birinde (%25,2), kadınların ise yarısına yakın olduğu (%44,2) saptanmıştır. Orta yaşlı (31-49 yaş) ve yaşlı (50 yaş ve üzeri) gruplarda ayrı ayrı ele alındığında, bu görülme sıklığı erkeklerde anlamlı biçimde değişmediği (%24,8 ve 25,7), kadınlarda ise (sırasıyla %38 ve 50,2) önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Obezite görülme sıklığı zamana göre artmıştır; 1990 yılında yakın yaşlarda erkeklerde oran %12,5 iken, şu an oran iki kat artmıştır. Kadınlarda görülme sıklığı, elli yaşında ve elli yaş üstündeki kadınlarda %40’tan düşük iken, %50’ye yükselmiştir. Türk erkekleri, Avrupa’nın çeşitli bölgelerindeki orta yaşlı erkeklerde rastlanan %10 ila %15’lik obezitenin görülme sıklığının iki katına ulaşmıştır. Kadınlarımızda ise, görülme sıklığı Avrupalı kadınlara nazaran iki kat fazladır. Türk erkeklerinin %22,6’sı ve Türk kadınların da %61’i bel çevresi ölçüsüne göre (kadınlar için >88 cm, erkekler için >102 cm), abdominal obezite görülmektedir. Böylece, genel olarak kabul edilen bu kriterler ile, orta yaşlı her 5 kişide 1 kişi, 50 yaş üstündeki her 4 Türk erkeğinden 1’i abdominal obezite erkeklerle nazaran kadınlarda daha büyük bölüme gözlenmektedir (10).

Obezite, halk sağlığı ve kronik sağlığı önemli ölçüde etki eden bir hastalık olarak kabul edilir. Obezitenin takibi tedavisi ve önlenmesiyle artan mali yük üzerinde çalışılması gereken durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Doğrudan ve dolaylı harcamalar ekonomik maliyet olarak sayılmaktadır. Hastalığın tanısında ve hastalığın tedavisiyle ilişkili harcamalar Doğrudan harcamalar olarak adlandırılır. (İlaçlar, evde bakım, hastanede yatma, doktor muayeneleri) Erken ölüm ve hastalık sebebiyle çalışamayan insanlara verilen ücret ve verim kayıplarını da içeren harcamalar da dolaylı harcamalardır (11).

Yara iyileşmesi, yaralanma olduktan sonra başlar ve oldukça kompleks bir yapıda fakat organize olarak iyi bir etkileşim sağlayarak çeşitli hücreler ile dokular arasında ilerler. Yaralanma ile trombosit agregaları ile anında pıhtılarla dolan bir boşluk oluşmaktadır. Sonraki aşama ise iltihaplanma aşamasıdır. Bu aşamada, lökositlerden monositler nötrofiller bölgeye sızar. Pıhtılar ve hasar görmüş hücrelerden parçalanmış ürünleri uzaklaştırır, sitokinler ile çeşitli büyüme etkenlerini de serbest bırakmaktadır (12, 13). Proliferatif faz, Büyüme etkenleri ve sitokinlere cevap olarak başlayan bir fazdır. Bu aşamada ise, epidermal hücreler göç ederek ve çoğalarak yara boşluğunu doldurmaktadır. Böylelikle epidermal hücreler, ilk pıhtı kalıntılarının yerini almakta ve kollajenin salgıladığı gibi taban zarı bileşenlerini salgılamaktadır. Bu nedenledir ki, lökosit infiltrasyonu yara iyileşmesi için zorunlu olarak kabul edilir. Derideki yara iyileşmesi için lökosit alımını, anjiyogenez ve kollajen birikimi gerekmektedir. Kemokinler, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) - β 1 gibi çeşitli efektör moleküller bu süreçleri düzenler (14).

Yaranın iyileşme süreci, enflamatuvar süreç arttığında etkilenmektedir. Enfeksiyon gibi rahatsızlıkların riski, immün sistemdeki değişiklikler geçici bile olsa rahatsızlıkların şiddetlenmesiyle artabilmektedir. Peyniraltı suyu (PAS) proteinlerinin spesifik veya spesifik olmayan immün yanıtı arttırdığını, deney hayvanlarında yapılan laboratuvar çalışmaları sonucu kanıtlamıştır (14). Kobaylarda, içeriğı PAS ile zenginleştirilmiş diyetlerin alımı ile hayvanların ömrünün uzadığı belirtilmiştir. PAS yaralanmış veya ameliyat ile zarar görmüş dokuların iyileşme sürecine katkı sağlamaktadır. Büyümeyi destekleyen faktörlerin sağlanması, immüniteyi artırma ve yumuşak kas hücre fonksiyonunu düzenlemesi daha sonraki yıllarda sağlığını sürdürmeye yardımcı olmaktadır (15).

Eskiden laktotransferrin olarak bilinen laktoferrin, serum transferrin, ovotransferrin, melanotransferrin ve inhibitör okarbarbonik anhidrazın yanı sıra transferrin protein ailesinin bir üyesi olan demir bağlayıcı bir glikoproteindir (16). İlk olarak sığır sütünden izole edilen laktoferrin, doğal olarak üretilir ve insanlar dahil olmak üzere farklı memeli türlerde mukozal epitel hücreleri ve nötrofillerce salgılanmaktadır. Laktoferrin; süt, gözyaşı ve tükürük, gibi sıvılarda bulunmaktadır. Beyin, meme bezi, böbrek ve uterus gibi çok çeşitli organlarda salgılanabilir (17, 18, 19, 20). Yüksek homolojiye sahip olmakta ve yaklaşık 700 aminoasitlik glikozile edilen proteinin 80 kDa'sından oluşmaktadır. Önemli biyolojik özelliklere sahip Laktoferrin, antikanser, antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitelere sahiptir (21).

Laktoferrinin, immün sistem bileşenlerini indükleyerek veya baskılayarak doğuştan gelen ve adaptif immün yanıtları değiştirebildiği düşünülmektedir (22, 23, 24). Laktoferrin, lenfoid dokunun immün yanıtını modüle eder, bağırsak dokusuyla ilişkilidir ve aynı zamanda konsantrasyona bağlı proliferasyonu ve küçük epitel hücrelerinin farklılaşmasını teşvik eder; böylece ince bağırsak sindirim enzimlerinin kütlelerini, uzunluğunu ve ekspresyonunu etkiler (25, 24, 26). Ayrıca enflamatuvar sürecin son aşaması olan doku onarımına katılan inflamasyon, inflamasyon medyatörleri ve proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında rol oynarlar (27, 28).

1.1 Amaç ve Hedefler

Deri yara iyileşmesi, bağışıklık hücreleri, keratinositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinin düzenlenmesini gerektiren karmaşık bir biyolojik süreçtir. Enflamasyon başarılı yara iyileşmesi için gerekli olsa da uzun süreli veya aşırı inflamasyon iyileşmeyen kronik yaralara neden olabilir. Glandüler epitel hücrelerinden vücut sıvılarına salgılanan demir bağlayıcı bir glikoprotein olan laktoferrin, başlangıçtaki enflamatuvar fazı artırarak cilt yarasının iyileşmesini destekler.

Bu çalışma ile, günümüzde yardımcı ve doğal tedavi olarak ilginin arttığı Laktoferrinin, uygulanan yüksek yağlı diyet ile birlikte şekillenen inflamatuvar durumu etkileyip etkilemeyeceğini ve tam kat deri defekti modeli oluşturulan sıçanlarda iyileşmenin günlere göre karşılaştırılmalı etkisinin belirlenmesi ve yüksek yağlı diyet ile beslenen ve tam kat deri defekti modeli oluşturan sıçanlarda sığır laktoferrin uygulamasının takibinde makroskopik olarak görüntüleme ve biyokimyasal parametrelerdeki (VEGF, IL-6) değişiklikleri üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Hedefler;

1. Yüksek Yağlı diyetin serum proteinler üzerine etkilerinin belirlenmesi.
2. Laktoferrinin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin belirlenmesi
3. Laktoferrinin serum proteinleri seviyelerinin düzeylerine olan etkisini araştırmak.
4. Makroskobik olarak görüntülenen yara alanlarında ki küçülmenin, serum daki biyokimyasal verilerle korelasyonun belirlenmesi.



2.GENEL BİLGİLER

2.1 Laktoferrin Tanımı

Laktoferrin (Lf), Sorensen ve ark. tarafından ilk defa 1939 yılında sığır sütünden izole edilmiştir. Bu çok fonksiyonlu proteinle ilgili ciddi araştırmalar, Lf'nin 1960 yılında aynı anda üç bağımsız laboratuvar tarafından insan sütünde ana demir bağlayıcı protein olarak belirlenip izole edilmesiyle başlamıştır. 1984 yılında insandaki Lf'nin moleküler yapısı ve aminoasit dizisi keşfedilmiştir (29). Keşfi yaklaşık 50 yıl önceye dayanan Lf, yapısında demir içeren bir glikoproteindir. Bu sebepten yapısında demir bulunduran transferrin, transferrin ailesinin bir üyesidir (30).

Laktoferrin, sadece sütte bulunmamaktadır (31). Lf, birçok memeli keçi, köpek, insan, inek gibi canlılarda mukozal epitel hücrelerce üretilmektedir. Lf, 77 - 93 kDa molekül ağırlığına sahip inek, at, keçi, bufalo, domuz gibi memeli hayvanlarda iki demir bağlama bölgesine sahip tek zincirli glikoproteindir (32,33). Lf, en çok kolostrum ve süt yapısında bulunmaktadır. Bununla beraber ayrıca tükürük, vajinal akıntılar, gis (mide-bağırsak) salgıları, gözyaşı, burun ve sperm, safra, bronşiyal akıntılar gibi mukozal salgılarda da bulunmaktadır. Lf, sütte en yüksek oranda bulunan protein olan kazeinden sonra gelen proteindir (34).

2.1.1 Laktoferrin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Laktoferrin, iki demir bağlama bölgesinden oluşan, molekül ağırlığı yaklaşık olarak 80 kDa olan, 692 aminoasitten oluşmuş pozitif yüklü (pI 8,4–9,0), tek zincirli bazik bir glikoproteindir. Laktoferrin iki globüler lobtan oluşmaktadır. Bu globüler lob α -heliks yapı ile birbirine bağlanmış N (1–333 aminoasitler arası) ve C-terminal (346–692 aminoasitler arası) olarak adlandırılır.

Loblar heliks yapıda (334–344 aminoasitler arası) olup birbiri ile bağlıdır ve her lob bir demir bağlama bölgesi içermektedir. Her bir lobta β -plaka ve α -heliks yapı formunda iki alt domain bulunmaktadır. Bundan dolayıdır ki laktoferrin molekülü 4 domain ile (N1, N2, C1 ve C2) ifade edilmektedir (34,37,38). Laktoferrin arjinince zengin bölge içermekte ve bu bölge N-terminaline yakın bazik aminoasitten oluşmaktadır.

Demir iyonları, doymuş laktoferrin molekülünün %5- 30'unu oluşturmaktadır (35). Laktoferrin %5 demir içeriyor ise apolaktoferrin, fakat demire doymuş hale gelmişse hololaktoferrin olarak adlandırılır. Sütte bulunan laktoferrinin apolaktoferrin şeklindedir (32). %15'i demir iyonları ile doymuş olarak bulunmaktadır (37).

Laktoferrin geniş pH aralığında demir bağlama kapasitesine sahiptir ve mide asiditesinden de olumsuz etkilenmemektedir (39). Transferrine göre Laktoferrin, 300 kat kadar fazla demir iyonunu bağlayabilmektedir ve pH'ın 3 olduğu gibi fazla asidik durumlarda dahi demir çelatları oluşturabilir. Lf, oksidatif değişime transferrine göre çok daha dirençlidir (33). Demir iyonları harici; magnezyum, kalsiyum, potasyum, sodyum, çinko, kobalt, bakır, mangan, iyonları aracılığı ile RNA ve DNA'yı da bağlama özelliğine de sahiptir (40). Laktoferrin, tüm bunlara ilaveten proteolitik bozunmalara karşı da dirençlidir (41).

Laktoferrinin, heksozları (özellikle mannoz) ve heksozaminleri şeker olarak içerdiği saptanmıştır. İnek laktoferrinin içerdiği karbonhidratlar, N-asetillaktozamin, nöraminik asittir N-asetil glukozamin galaktoz, mannozdur. Araştırmacılar, laktoferrinin yüksek glikolizasyon derecesi ile proteolitik enzim sonucu bozulmalara ve düşük pH'lara karşı dirençli olmasının temel nedeni olabileceği vurgusunu yapmaktadırlar (42).

Laktoferrin, değişik kaynaklardan dolayı şeker bağlanma bölgesi ve sayısı bakımından farklılıklar göstermektedir. İnsan sütü laktoferrini 3 (Asn137, Asn478 ve Asn623) bağlanma bölgesine sahiptir. İnek, koyun ve keçi sütü laktoferrini 5 (Asn233, Asn281, Asn368, Asn476 ve Asn545) şeker bağlanma bölgesine sahiptir. Ancak şeker bağlanma bölgelerin kullanılmasına yönelik yapılan çalışmalarda, insan sütü laktoferrininde 2 bölgenin ,(Asn137 ve Asn478) ; inek sütü laktoferrinin de ise 4 bölgenin (Asn233, Asn368, Asn476 ve Asn545) bölgeye genellikle şeker bağlandığı tespit edilmiştir (38).

İnsan sütü laktoferrin ile inek sütü laktoferrinin birbirlerine çok benzemektedir. Her iki sütte bulunan laktoferrinler gerek demiri bağlama kapasiteleri olsun gerek aminoasit bileşimi açısından çok büyük bir farklılık göstermemektedir. İnek ve insan sütünde bulunan laktoferrin kimyasal ve biyokimyasal özellikleri birbirinden farklılıklar içerse de hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar gösteriyor ki biyoaktivite özellikleri oldukça benzerdir (42).

2.1.2 İnsan Laktoferrini ile Sığır Laktoferrin Farkı;

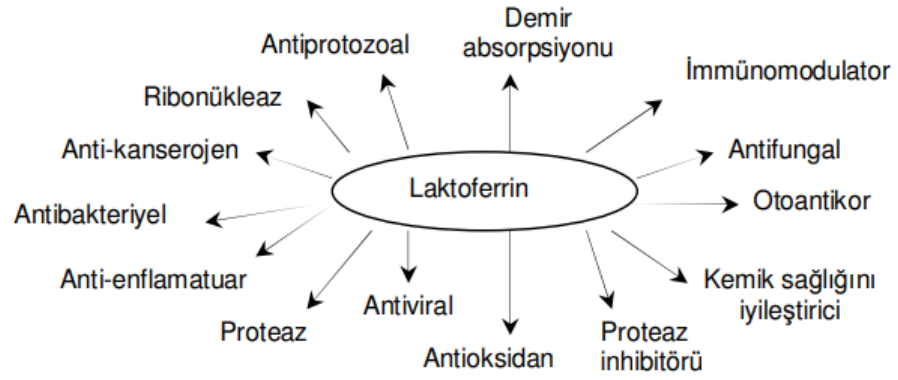
Laktoferrinin sinyal peptidi, 11'i bu iki tür içinde korunan 19 amino asitten oluşur. Sığır proteininin ilk beş amino asidi iki temel amino asit içerirken, insan proteini glisin ile başlar ve onu hLf'yi benzersiz kılan dört arginin ile takip eder (43).

Doğal insan laktoferrin (nhLF) bebekler için ideal bir gıda takviyesidir; bununla birlikte, endüstride kullanım için çok az insan laktoferrin mevcuttur; böylece hayvanlarda kolaylıkla bulunabilen bLF ile karşılaştırıldığında kullanımını azalmaktadır. Hem bLF hem de rekombinant insan laktoferrin (rhLF), osteoblastlar üzerindeki etkilerine göre incelenmiştir. rhLF'nin sıçan osteoblast benzeri hücreler üzerindeki proliferatif etkisinin, bLF'ninkinden daha az olduğu bildirilmiştir (44).

Birçok çalışma, bLf, nhLF ve rhLF'nin belirgin farklılıklar nedeniyle birbirlerinin yerine geçemeyeceğini göstermiştir: nhLF ve bLf, sırasıyla 691 ve 689 AA'dan oluşur (45). Cornish ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada nhLF ve bLf'nin osteoblastlar üzerindeki proliferasyon etkisi incelenip karşılaştırılmıştır (46). Çalışma sonucunda genel olarak, mevcut çalışmada, bLf, osteoblastlar üzerinde aynı konsantrasyonda ve aynı tedavi süresinde nhLF'den daha iyi proliferasyon etkileri göstermiştir (47).

2.1.3 Laktoferrin Biyolojik Özellikleri

Laktoferrinin çok çeşitli işlevleri bulunmaktadır. Farklı fizyolojik ve çevresel değişikliklere yanıt verme özelliğinden dolayı konağın ilk savunma hattında yer alan önemli bir bileşendir (49). Laktoferrine antiparaziter, antifungal antibakteriyel, antiviral, antitümör aktivite, demir emiliminin düzenlenmesi, inflamasyon ve enfeksiyon esnasında immünomodülatör etkileri gibi birden çok farklı biyolojik özelliği bulunmaktadır. (50,51) (Şekil 1).



Şekil 1. Laktoferrinin biyoaktif veya fonksiyonel özellikleri (50,51).

Laktoferrinin, çoğunlukla süt olmak üzere süt dışında çeşitli çalışmalarda belirttiği gibi, laktoferrinin önemli rolü vücutta bulunan demir seviyelerinin korunmasıdır. Bebeklerin anne sütü ile beslendiğinde demir eksikliği olmadığı, demir içermeyen pediatrik formüllerle beslenen bebeklerin ise sonraki yaşlarla beraber demir eksikliği ve demir eksikliği sonucuna bağlı hastalıklara yakalanma riskleri risklerinin arttığı belirtilmiştir (52,53).

Laktoferrin ile ilgili çalışmalar, transferine benzer oluşundan dolayı genellikle demir bağlama özelliği baz olarak yapılmıştır. Bu fonksiyonların başlıcaları olarak; inflamasyon sırasında demir metabolizmasının düzenlenmesi, demir absorpsiyonu ve antimikrobiyal aktivite sayılmaktadır. Fakat ilk çalışmalardan sonrasında laktoferrinin demir bağlama dışında birçok farklı özelliğe sahip olabileceği üzerinde durulmuştur.

Bu fonksiyonel özelliklerin çoğu proteinin yapısal bütünlüğüne oldukça bağlı olduğundan, bLf ağızdan alındığında midede büyük ölçüde sindirilebileceği unutulmamalıdır (55). Özellikle, bLf reseptörleri bağırsak mukozasında ve bağırsağın lenfatik dokusunun hücrelerinde bulunduğundan bLf'nin reseptörlerini bağlamak için yapısal bütünlüğünü koruması önemlidir (56,57).

2.1.3.1 Laktoferrin Antibakteriyel Etki

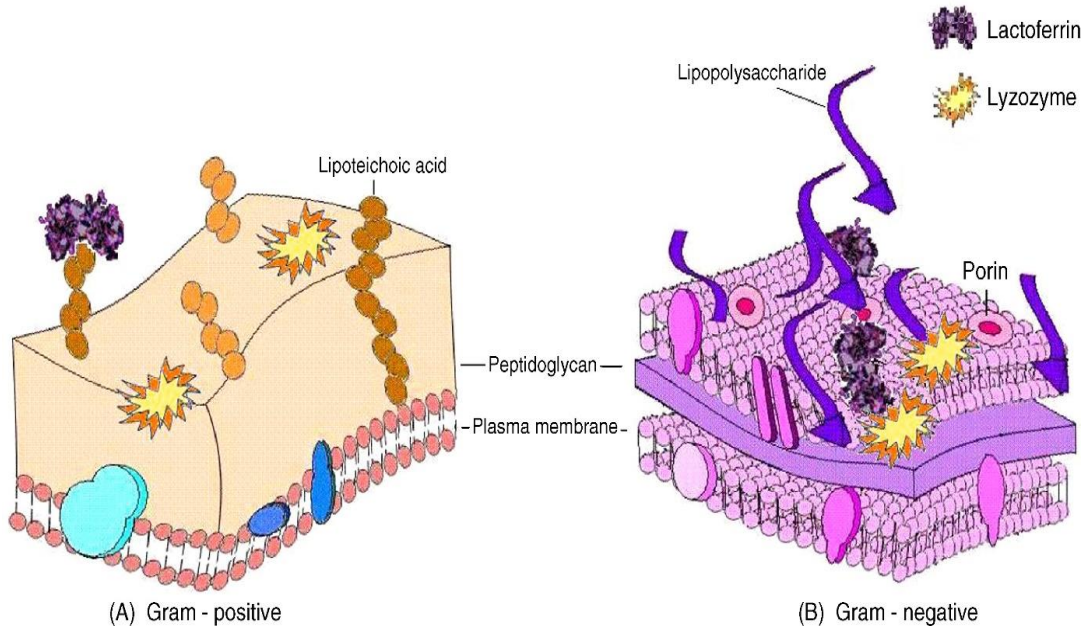
Laktoferrinin biyoaktivite özelliği demir bağlamasında etkin rol oynamasından gelir. Biyoaktivitesiyle paralel şekilde mikrobiyal gelişim sağlanması ve oksidatif reaksiyonları önleyici olarak da rol oynamaktadır. Laktoferrin, gram negatif bakterilerle etkileşime girerek (dış membranı ile etkileşimi sonucu) membran düzeninin bozulmasına sebebiyet

vermektedir. Dolayısıyla koruyucu bariyer olarak rol oynayan lipopolisakkaritlerin açığa çıkmasına ve laktoferrin bir antibiyotik gibi davranmasına neden olmaktadır (58).

Laktoferrinin pozitif yüklü N-ucu, Lipopolisakkaritler (LPS) ile bakteriyel katyonlar (Ca^{2+} ve Mg^{2+} arasındaki etkileşimi engeller.), hücre duvarından LPS salınımına, zarın geçirgenliğinde artışa ve bunun sonucunda bakterilerde hasara neden olur (59).

Laktoferrinin gram pozitif bakterilere karşı etki mekanizması, lipoteikoik asit gibi bakteri yüzeyindeki anyonik moleküllere net pozitif yükü nedeniyle bağlanmaya dayanır, bu da hücre duvarındaki negatif yükün azalmasına ve böylece lizozim ile lizozim arasındaki temasın artmasına neden olmaktadır (60).

Laktoferrin mikroorganizmlara karşı bakteristatik ve bakterisidal etki göstermektedir. Laktoferrin dış çürümesine neden olan *Streptococcus mutans* bakterisi gibi birden çok gram pozitif ve negatif bakterilere (*Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*) *Shigella dysenteriae* karşı antimikrobiyal etki göstermektedir. Düşük pH'da ısıtma işlemi uygulanan laktoferrinden açığa çıkan veya pepsinle ilişkilendirilen peptitlerin de antimikrobiyal aktivitesi saptanmıştır (58) (Şekil 2).



Şekil 2. Laktoferrinin (LF) antibakteriyel etkisinin mekanizması. (A) Gram-pozitif bakteriler: LF, lipoteikoik asit gibi hücre zarının negatif yüklü moleküllerine bağlanır, duvar yükünü nötralize eder ve lizozim gibi diğer antibakteriyel bileşiklerin hareketine izin verir. (B) Gram-negatif bakteriler: LF, lipopolisakkaritin lipid A'sına bağlanarak bu lipidin serbest kalmasına neden olarak hücre zarına zarar verir (34).

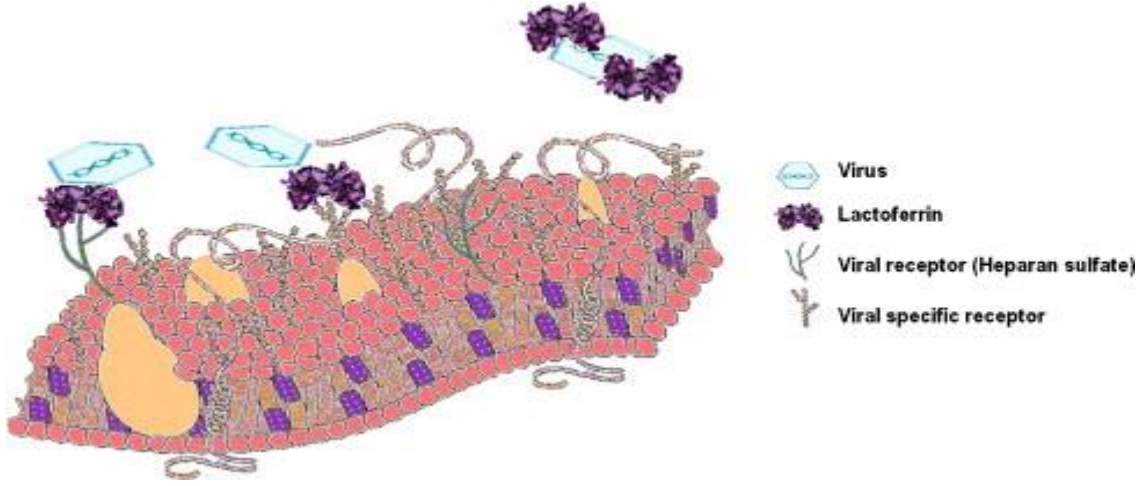
2.1.3.2 Laktoferrin Antifungal Etki

Laktoferrinin antifungal etkisi, elektron mikroskopuyla incelendiği ölçüde, hücre duvarında hava kabarcıklarının oluşması ve sonra şişmesiyle hücrenin parçalanması şeklindedir (61). Laktoferrin, *Candida albicans* ve *Candida krusei* gibi mantarları etkisiz hale getirmesi hücre yüzeyinin geçirgenliğini değiştirerek bakterileri yok etmesi gibi gerçekleştirir (62).

2.1.3.3 Laktoferrin Antiviral Etki

Laktoferrin, viral reseptörlere bağlanarak birçok virüsü doğrudan veya dolaylı olarak etkisiz hale getirmektedir. Böylelikle virüsün sağlıklı hücreleri enfekte etmesi engellenmiş olur. Laboratuvar çalışmalarında laktoferrinin, HIV-1 ve HIV-2 virüslerinin reseptörleri ile sıkıca bağlanmış olduğu ve bu bağlanma sonucuyla virüsün hücre içine girmesi virüs-hücre füzyonunun engellediğini tespit edilmiştir. Laktoferrin, sistemik immün cevabını artırarak dolaylı olarak viral saldırılara karşı virüslerin ölümüne veya virüslerin inaktivasyonuna sebep olur (63). Laktoferrin, insan immün yetmezlik virüsünü (HIV), hepatitis C (HCV) rota virüs, Herpes simpleks (HSV) çoğu virüslerin replikasyonunu engellemektedir (64). Kimyasal olarak elde edilen laktoferrin ile insan ve sığır sütü kolostrumundan elde edilen laktoferrinin insan sitomegalo virüs (HCMV) ve insan HIV üzerine etkisine bakılmıştır. Bu canlı ortamda çalışma sonucunda laktoferrinler HCMV'nin replikasyonunun bloke edilip sitopatik etkilere neden olan HIV-1 'in ise durdurulduğu saptanmıştır ve laktoferrindeki negatif (-) ve pozitif (+) yüklü zincirlerin iki virüs için de önemli olduğu tespit edilmiştir (65).

Herpes simpleks tip-1 virüsü ile sağlıklı hücrelerin enfekte olmasını laktoferrin engellemektedir. Bu engeli ise lenfositler, fagositler ve doğal öldürücü hücrelerle direkt etkileşimler yolu ile sağlayarak, viral proteinlerin blokasyonu ile virüsün sağlıklı hücrelere yapışmasının önüne geçerek gerçekleştirir (63) (Şekil 3).



Şekil 3. Laktoferrinin (LF) antiviral etkisinin mekanizması. Laktoferrin viral partikülüne ve glikozaminoglikanlara, spesifik viral reseptörlere ve heparan sülfata bağlanarak virüsün konakçı hücreye girişini önler (34).

2.1.3.4 Covid-19 ve Laktoferrin İlişkisi

2019'un Aralık ayının sonunda, Çin'in Wuhan kentinde akut solunum yolu enfeksiyonları salgını ortaya çıktı. Daha sonra SARS-CoV-2 olarak adlandırılan yeni bir koronavirüsten kaynaklandığı belirlendi. Hastalık son derece bulaşıcı olmakla birlikte hava yolları ile bulaşmakta; insanlar arasında doğrudan yayılma kabiliyetine sahiptir ve salgın hızla küresel olarak yayılmaktadır (66). COVID-19, hafif grip benzeri semptomlardan yaşamı tehdit eden koşullara kadar bir dizi klinik belirti sergiler. Hastalığın başlangıç evresi klinik olarak öksürük, ateş, genel halsizlik ve miyalji ile karakterizedir (67).

Laktoferrin, yeni ciddi akut solunum sendromu koronavirüsü 2 ile yakından ilişkili olan şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü (SARS-CoV) dahil olmak üzere çok çeşitli virüslere karşı çalışılmış, doğal oluşumlu, toksik olmayan bir glikoproteindir (68).

Laktoferrin, hücre yüzeyi moleküllerine veya viral partiküllere veya her ikisine bağlanma yoluyla viral girişi engeller. HIV durumunda olduğu gibi virüs replikasyonunu baskıladığı da biliniyordu. Bu nedenle virüs girişinin ve replikasyonunun önlenmesinde çok önemli bir rol oynar (69). Çalışmalar, T hücresi aktivasyonunu indükleyerek, IL-6, TNF- α dahil olmak üzere interlökin seviyelerini baskılayarak ve ferritini aşağı regüle ederek immünomodülatör ve antioksidan etkiler gösterdiğini göstermiştir (70).

Sonuç olarak, genel olarak antiviral tedavi olarak ve özel olarak COVID-19'a karşı kullanılan Laktoferrin, gelecekte yapılacak daha fazla araştırma için bir köşe taşı

olabilir. Laktoferrinin satın alınabilirliği, çevresel güvenliği ve verimliliği, onları diğer tüm kontrol stratejilerinden üstün kılacaktır.

2.1.3.5 Laktoferrin İmmünomodülatör Etki

İmmünomodülatörler, bağışıklık tepkisinin doğuştan gelen ve adaptif kolları dahil olmak üzere bağışıklık sistemi bileşenlerini artırarak veya azaltarak bağışıklık tepkisini değiştirebilen biyolojik veya sentetik maddelerdir (71). Kolostrum, doğumdan sonra memelilerin süt bezlerinde üretilen ilk süt, immünomodülatör özelliklere sahip element içerir ve bu unsurların bir besin takviyesi olarak bazı ilaç ve besin endüstrisi dikkatini çekmiştir (72). Doğumdan önce memelilerin meme bezlerinde bulunan kolostrum, süten önce gelen sıvıdır. İlk emzirme sonrası kolostrum sıvısı 2-3 günlük süreçte süte dönüşür. Tüm memelilerde, kolostrum yenidoğanın hayati fonksiyonları için çok önemlidir. Çünkü bağışıklık faktörleri kolostrum ile yenidoğana yüksek konsantrasyonlarda aktarılır. İnsanlarda, bazı immün faktörler plasenta ile aktarılır. Diğer memelilerde de olduğu gibi, yenidoğan bir bebeğin ilk kolostrumu alması, sağlığı önemli ölçüde etkilemektedir ve bu etki yenidoğanın yaşamı boyunca devam etmektedir. Yenidoğanın immün sistemi tam olarak gelişim göstermediği için patojenlere karşı dirençli değildir (73). Laktoferrin, vücuttaki ilk savunma hattıdır. Gözyaşı, burun salgıları, tükürük ve bağırsak sıvıları (örn. safra) gibi vücut sıvılarının ve ayrıca nötrofillerinde (beyaz kan hücrelerinin ikincil granülleri) az miktarda bulunur. Lf, nötrofillerce ve mukozal astarca (örn , ağızda veya bağırsak yolunda) tarafından sentezlenir. Lf, inflamatuvar uyaranlara cevap olarak salınır (74).

2.1.2 Laktoferrin ve Demir Metabolizması

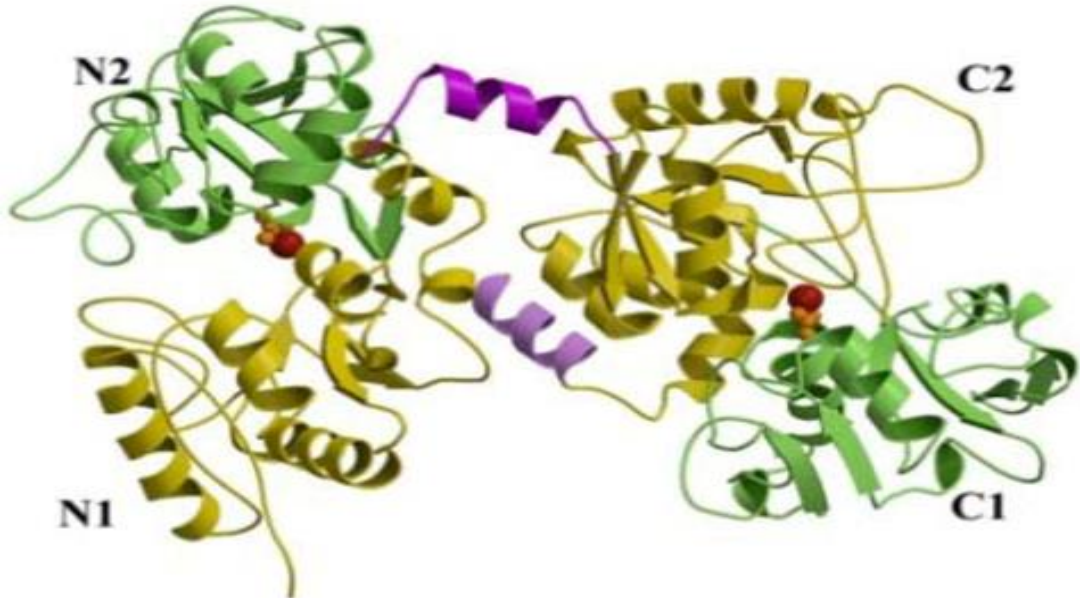
Laktoferrin, anne sütünden demir emilimi için olası bir organizatör olduğu ileri sürülmüştür (75). Bu protein, demirin insan sütünden emilebileceği bir dağıtım sistemi olarak önerilmiştir çünkü laktoferrin başlıca demir bağlayıcı protein olarak kabul edilmektedir (76).

Sığır ve insan laktoferrini yapısal ve biyokimyasal olarak benzerdir ve in vitro ve hayvan modeli değerlendirmelerine göre karşılaştırılabilir biyoaktiviteye sahiptir (77). Sığır

laktoferrin (bLf) bebeklerinde demir metabolizmasının birçok çalışmasında güvenli olduğu kanıtlanmıştır (78,79).

Laktoferrinin yapısı %33-%41 homoloji ile iki loba (N ve C lobları) katlanmış tek bir polipeptit zincirinden oluşur (62). Her iki lob da α -sarmal kalıntı ile birbirine bağlanır ve Lf'yi esnek bir molekül haline getirir. Lf'nin iki lobunun α -sarmalı ve β levhadan yapılmıştır ve her lob Fe^{+2} 'den birini bağlayabilir veya Fe^{+3} karbonat iyonu ile sinerjide iyonlar (CO_3^{2-}) (80). Lf'nin demir bağlayıcı özelliğinin transferin ailesi arasında maksimum olduğu bilinmektedir. Lf, farklı pH aralığında da demire bağlı kalabilmektedir (81).

Demir bağlayıcı özelliği, laktoferrin veya transferrin varlığında, serbest demirin vücut sıvılarındaki konsantrasyonunun 10-18 M'yi geçemeyeceği kadar yüksektir. Böylece bu metalin çözünmeyen hidroksitler olarak çökmesini önler, mikrobiyal büyümeyi engeller ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engeller. İnsan laktoferrin (hLf) üç boyutlu (3D) yapısından da açıkça anlaşılıyor ki, molekül iki homolog loba (N-lob kalıntıları 1–333 ve C-lob kalıntıları 345–691) katlanır. İki lob, 3 dönüşlü bir α -sarmal oluşturan bir peptit (kalıntılar 334-344) ile bağlanırken, transferrindeki peptit düzensiz ve esnektir. İki lobun bir araya geldiği, çoğunlukla hidrofobik olan kursivalent olmayan etkileşimler vardır (82).



Şekil 4. Laktoferrin yapısı (83).

2.1.3 Laktoferrinin Parçalanma Ürünü: Laktoferrisin

Sığır laktoferrisin (Lfcin-B), sığır laktoferrinin (bLF) pepsin enzimi ile parçalanmasıyla meydana gelen bir peptittir. Laktoferrinin, antimikrobiyal etkisinden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (84,85,86).

Laktoferrinin hidrolitik olarak parçalanması sonucu oluşan laktoferrisinin antimikrobiyal etkisinin sahip olduğu pozitif yükten gelmektedir. Laktoferrisinin önemli özellikleri arasında yüksek oranda bulunan ve asimetrik olarak kümeleşmiş şekilde bazik aminoasit içermesi sayılabilir. Yirmi beş aminoasidin sekizi bazik ve bunlardan altısı α -heliks yapıda bulunan N-uçtadır. Laktoferrisinin antimikrobiyal etkisini, katyonik, α -heliks yapılar aracılığı ile hücre membranında iyon kanalları oluşturup, membran geçirgenliğini artırarak sağlamaktadır. İnsan ve sığır laktoferrininin pepsin ile parçalanması esnasında oluşan peptitlerin bakterisidal etkisi sindirime uğramamış laktoferrinin etkisinden 100-1000 kat daha fazladır (87).

Sığır laktoferrisin, ~80 kDa demir bağlayıcı bir glikoprotein olan sığır laktoferrinin, asidik hidrolizinden üretilen 25 kalıntılı çok işlevli bir peptittir. LfcinB bakterisidal, antifungal, antiparaziter, antitümör, antiviral ve immünomodülatör aktivitelere sahiptir (88). LfcinB, heparan sülfat ile etkileşime girerek viral girişi önler (89). Ayrıca, LfcinB, endotelial plazma membranı üzerindeki Heparin benzeri yapılara rekabetçi bağlanma yoluyla FGF-2/vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF₁₆₅) ile uyarılan anjiyogenezi inhibe eder (90).

2.1.4 Oral Laktoferrinin Emilimi ve Etki Mekanizmaları

İntestinal mukozal bariyeri hasar görmüş bebeklerde (0-1 yaş) veya erişkinlerde de bunun olağan olduğu düşünülmektedir. Hayvan deneylerinde verilen çok yüksek konsantrasyondaki Laktoferrine sistemik dolaşımda rastlanılmamıştır. Bu nedendir ki oral verilen laktoferrinin ilk olarak intestinal ümmün sistem üzerine sonrasında ise sistemik immün sistemi üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir. Oral olarak verilmiş Laktoferrinin, intestinal mukozada NK, CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerini; intestinal epitel hücrelerinde ise IL-18 üretiminin arttığını göstermiştir. IL-18 gibi humoral faktörlerin ve seviyeleri artmış immün sistem hücrelerinin, sistemik ve intestinal immün sistem arasındaki bir bağ olabileceğini düşündürürmekte (91).

Oral Laktoferrinin, etkilerini enterositlere bağlanma ile göstermektedir. Lektin aktivitesinin oluşu ve ilk olarak intestinde bulunmasından dolayı insan Laktoferrin

reseptörleri intellektin olarak isimlendirilmiştir. Önceleri İntelektinini, sadece insan laktoferrininin bağlayabileceği düşünülmüştür. Ancak 2008’de yapılan bir çalışma ile ısıya maruz bırakılan sığır laktoferrinin de İntelektini bağlayabileceği saptanmıştır (92).

2.2. Yağ Dokusu

Adipoz doku beyaz dokusu (BYD) ve kahverengi yağ dokusundan (KYD) oluşan endokrin sistemidir. BYD insanda bulunan en büyük yağ dokusudur. Sağlığın korunmasından başlıca görevli beyaz yağ dokusu, büyük yağ damlası içerir (93). Beyaz yağ dokusu, depoladığı tek yağ damlasının büyüklüğüne bağlı olarak değişiklik gösteren küresel hücrelerdir. Hücre hacminin %90’ından daha fazlasını kapsayan bu yağ damlası trigliseritten oluşur. Beyaz yağ dokusundaki mitokondri daha az ve değişkendir (93,94,95).

Obez bireylerin, beyaz adipoz dokularındaki mitokondriyal DNA miktarının azalım gösterdiği tespit edilmiştir. Obeziteye yatkınlığın bozulmuş mitokondriyal aktivitenin sebep olabileceği ve obezitede mitokondriyal biyogenezisin değiştiği belirtilmiştir (96,97).

Multilokular adipozit içeren kahverengi yağ dokusu, sayıca çok fazla, daha değişken çapta, daha köşeli küçük yağ damlalarıdır. Kahverengi yağ dokusunun en önemli organeli çok miktarda olup mitokondrisi daha geniş ve küreseldir. Kahverengi yağ dokusunun oksijen ihtiyacı beyaz yağ dokusundan daha fazladır bu yüzden daha çok kapiller içerir. Ayrıca sinir kaynağı da KYD’da daha yoğundur (98). Enerji harcamasına pozitif yönde katkı sağlayan ve İç mitokondriyal membranda bulunan uncoupling protein1 (UCP1), KYD’nun belirleyici proteindir (99). Adipositlerde, asetil CoA glikoliz yolu ile glikozdan oluşan pirüvattan ve de β -oksidasyon yolu ile yağ asitlerinden oluşur. Krebs halkasında Asetil gruplarının oksitlenmesinden sonra beyaz yağ dokusu sonucu enerji olarak ATP çıkarken kahverengi yağ dokusunda enerji, ısı olarak açığa çıkmaktadır (98).

2.2.1. Beyaz Yağ Doku

Beyaz yağ dokusu (BYD) intraperitoneal alan ve deri altında bulunur. Vücut ağırlığının %20’sini oluşturmaktadır. Beyaz yağ dokusunun görevi ise trigliseriti, yani enerjiyi depolamaktır. Bunun yanında adipokin diye adlandırılan peptit ve hormonları sentezlemektedir (100,101).

Adipoz doku pek çok hücre tipinden meydana gelmektedir; bunlar preadipositler, fibroblastlar matür adipositler ve makrofajlardır. Bu hücrelerden bazıları adipokin sentezinde aktif rol oynarken bazıları ise daha az aktiftir. Ayrıyeten yağ dokusu içeriği metabolik kapasiteye göre değişiklik göstermektedir. Örneğin visseral yağ dokusu ile deri altı yağ dokusu içeriği birbirinden farklıdır. Adipokin depo yağları tarafından daha fazla salgılanmaktadır. Fakat önemli bir nokta ise dolaşımda bulunan adipokinlerin tamamının adipoz kökenli değildir (102,103). Beyaz yağ doku, obezite ile birlikte artarken, lipoatrofik durumlar da ise azalmaktadır. Yağ dokusunun ağırlığını belirleyen yağ dokusunda bulunan trigliserit miktarı, en önemli faktördür. Yağ dokusunun artışı veya azalışı patolojik bir durumdur. Tip 2 diyabet, hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalıklar (KVH) gibi pek çok metabolik hastalık ile doğrudan ilişkilidir. Yağ dokusundan salınan adipokinlerin miktarı da değişmektedir. (102,104).

2.2.2. Kahverengi Yağ Dokusu

Kahverengi yağ dokusunun (KYD) asıl görevi yağı depolamak yerine yağı yakarak vücuda ısı sağlamak bir diğer adıyla termogenezistir. (105). Termogenezisten sorumlu kahverengi yağ dokusunun meydana gelmesinde adipositlerin kökeni mezodermidir. (106). Kahverengi yağ dokusunda eksprese edilen UCP1, kahverengi yağ dokusuna özel molekül olarak kabul edilir. UCP1, enerjinin açığa ısı olarak çıkmasını ATP sentezinde oksidatif fosforilasyonu durdurarak sağlar KYD’nda fazla sayıda bulunan sempatik sinirler, termogenezisi düzenler. Beslenme ve soğuğa maruz kalmak kahverengi yağ dokusunun aktivitesini arttırmaktadır. Ayrıca UCP1 ekspresyonunu ve SSS’nden salınan norepinefrini de arttırmaktadır. Tiroit hormonu, β -adrenerjik antagonistleri, insülin ve cAMP analogları da UCP1 ekspresyonunu arttırmaktadır (107). Adipoz dokuda bulunan sempatik sinir aktivitesini besin alımı ve soğuk arttırmaktadır, Artan sinir aktivitesi ile Noradrenalin β -adrenerjik reseptörleri bağlanır böylelikle trigliserit hidrolizi için gerekli olan sinyaller üst üste başlar. Serbest kalarak UCP1’i aktive eden yağ asitleri KYD’nda oluşan termogenezis için enerji kaynağı sağlamış olmaktadır. Termogenezis için direkt substrat olmayan glikoz, yağ asitlerinin oksidasyonu ve serbest yağ asidi sentezi için karbon kaynağı olarak görev almaktadır. (108).

2.3. Yara İyileşmesi

Yara, tabii olan anatomik ve fonksiyonel bütünlüğün dağılmasıdır. Yaralanmayı takiben dokuda fonksiyon korunması ve kaybedilen fonksiyonların geri kazanılmasına yönelik mekanizmalar aktive olmaktadır. Deride yaralanma ile; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hücre proliferasyonu ile yeni doku oluşumu, matriks ve dokusunun yeniden şekillenmesini içeren sürekli bir olay dizisi başlatılmaktadır. Bu sürecin başlanması ile yaralanmış bölgede kısmi yenilenme gerçekleşir. Yaranın iyileşme süreci, yaralanma başladıktan sonra düşük molekül ağırlıklı maddeler çeşitli büyüme etkenleri, sitokinlerce salınımının artması ile başlatılır. Yara iyileşme sürecindeki hücresel ve moleküler temel, son yıllarda yapılan çalışmalarda açıklanmaya çalışılmıştır. Hücresel, klinik ve diğer faktörlerin etkileşimleri ile değerlendirilmesi normal yara iyileşmesinde, tedaviye uygun yöntemin planı ve tedavinin geliştirilmesinde önem taşımaktadır. Bu konuda farklı tedavi yöntemlerinin denemesi ile iyileşim sürecinin hızlanması, aşırı inflamasyon ve enfeksiyon oluşumunun engellenmesi iyileşme süreci sonrası doku bozulmasını önlemeye yönelik yeni ve etkili tedavi arayışları sürmektedir (109,110).

2.3.1. Tam kat deri defekti

Tam kat yaraların tedavisi dermatolojik pratiğin ortak bir parçasıdır. Bu yaraların iyileşmesi, sonunda hem yapısal hem de işlevsel olarak kabul edilebilir bir sonuca yol açan karmaşık, koordineli bir olaylar dizisidir.

Bu sürecin başlaması, sıyrıklar, kabarcıklar, yanıklar, hipotermik yaralanmalar, iskemi veya çok sayıda başka etiyolojiler gibi kasıtsız bir travma veya planlanmış bir kusur nedeniyle cerrahi insizyon olarak veya delici olarak dokular tahrip edilir (111, 112).

Travmatik yaralar, kimyasal veya fiziksel nedenler sonucu oluşabilmektedir. Yaralanmada fiziksel etken olarak ezikler veya aşırı ısı, ezik ve insizyon, venöz dolaşımın bozulması ve arteriyel akımın bozulması örnek olarak gösterilebilir. Trombüs, damar tıkanıklığı, protein bütünlüğünü bozacak pH seviyesi de kimyasal etkenlere örnek olarak gösterilmektedir (113,114).

Çok sayıda büyüme faktörü ve hücre tipi söz konusudur. Yaralar görünüm, iyileşme süresi ve diğer yönler açısından farklılık gösterse de yine de hepsi aynı temel aşamalardan geçer (112).

2.3.2. Yara İyileşmesi Tipleri

Yara iyileşmesi, üç kategoriden oluşmaktadır (115). Primer İyileşme, sekonder İyileşme, tersiyer iyileşme olmak üzeredir. Primer iyileşme, yara dudaklarının ciddi bir şekilde doku kaybına maruz kalmadan ve bakteriyel bulaş olmadan yaklaştırılmasıyla oluşan iyileşme tipidir (116). Gecikmiş primer iyileşme, primer iyileşmenin alt tipidir. Bu alt tipinde steril şartlarda travmaya uğramış alana nemli pansuman yapılmalıdır. Sütüre edilemeyen alanda oksijenizasyonu ve anjiogeneziyle doku kanlanmaktadır. Yara sahasına migrasyona uğramış lökositler, enfekte olmuş materyali iyileşme sahasından uzaklaştırmaktadır. Travma sahasının temizliğinden sonra yaraya sütur atılarak kapatılır (117, 118). Sekonder iyileşme, yara bölgesi herhangi bir yaklaştırma yapılmadan, granülasyon dokusu ile iyileşmesi sonucu onarım ve epitelizasyonun kendiliğinden gelişmesine denir. Bu iyileşmede yara bakım hizmeti daha önemlidir. Tersiyer iyileşme, sekonder iyileşmeye bırakılan cerrahi alanın, toparlanması sağlandıktan sonra sütüre edilerek kapatılmasına tersiyer iyileşme denir. Primer iyileşmede meydana gelen gerilme kuvveti tersiyer iyileşmede de aynı değere ulaşır (119).

2.3.3. Yara İyileşme Evreleri

Yara; basınç, cerrahi işlemler, travmalar, venöz staz veya diabetes mellitus gibi kronik hastalık durumlarından sonra ortaya çıkan, doku bütünlüğünün bozulması durumu olarak tanımlanmaktadır (120, 121).

Genel olarak, herhangi bir yaranın iyileşmesinde kaydedilen 4 aşama vardır: Hemostaz, iltihaplanma, çoğalma veya granülasyon ve matris oluşumu veya yeniden şekillenme (122,123).

Hemostaz ve Enflamasyon (4.ve 6. Gün)

Enflamatuvar faz, hemostaz ve inflamasyon ile karakterizedir. Yara oluşumu sırasında açığa çıkan kolajen, inflamatuvar fazı başlatan pıhtılaşma kaskatı (hem içsel hem de dışsal yollar) aktive eder. Yaralanma meydana geldikten sonra hücre zarları, güçlü vazokonstriktörler olan tromboksan A2 ve prostaglandin 2- α 'yı serbest bırakır. Oluşan pıhtı kolajen, trombositler, trombin ve fibronektin 'den oluşur ve bu faktörler, inflamatuvar

yanıtı başlatan sitokinleri ve büyüme faktörlerini serbest bırakır (124). Fibrin pıhtısı, nötrofiller, monositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi gelen hücreler için iskele görevi görür (125).

Proliferatif Faz (Epitelizasyon, Anjiyogenez ve Geçici Matriks Oluşumu; 4 ila 14. Günler)

Epitelizasyon, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu ve kolajen birikimi, yara iyileşmesinin ana adımlardır. Epitelizasyon yara onarımında erken oluşur. Bazal membran sağlam kalırsa, epitel hücreleri normal düzende yukarı doğru göç eder. Epitelyal progenitör hücreler, yaranın altında (cilt dokusunda) bozulmadan kalır ve normal epidermis katmanları 2 ila 3 gün içinde restore edilir. Bazal membran tahrip olmuşsa, cilt kenarında bulunan epitel hücreleri çoğalmaya ve koruyucu bir bariyeri yeniden oluşturmak için sinyaller göndermeye başlar (127).

TNF-a tarafından uyarılan anjiyogenez, endotelial hücre göçü ve kılcal oluşum ile işaretlenir. Kılcal damarların yara yatağına göçü, uygun yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Granülasyon fazı ve doku birikimi, kılcal damarlar tarafından sağlanan besinleri gerektirir ve bunun meydana gelmemesi, kronik olarak iyileşmeyen bir yara ile sonuçlanır. Cilt kenarında bulunan epitel hücreleri çoğalmaya ve sıvı kayıplarına ve daha fazla bakteri istilasına karşı koruyucu bir bariyeri yeniden oluşturmak için sinyaller göndermeye başlar. Epitel proliferasyonu ve kemotaksi için uyarıcı, aktive trombositler ve makrofajlar tarafından üretilen epidermal büyüme faktörü (EGF) ve TGF-a'dır (127, 128).

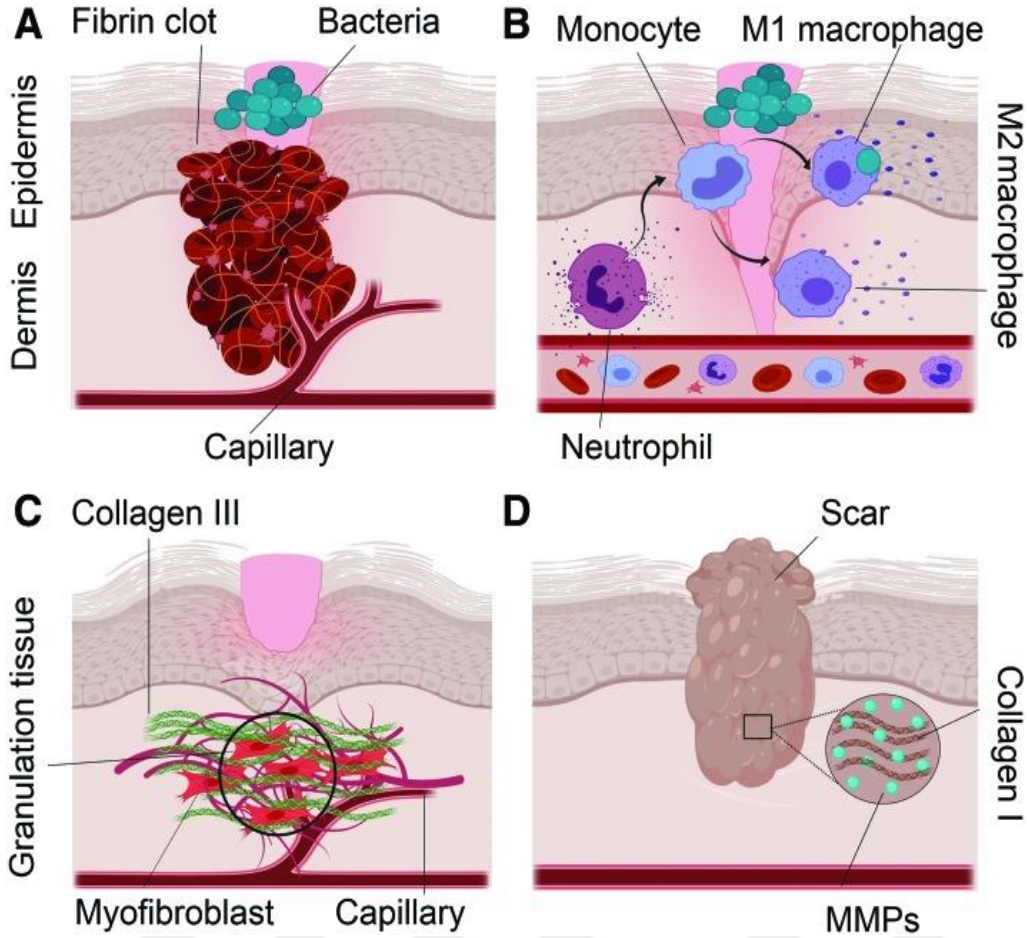
Epitelizasyon, yaralanmadan kısa bir süre sonra başlar ve ilk olarak inflamatuvar sitokinler tarafından uyarılır. IL-1 ve TNF-a, fibroblastlarda keratinosit büyüme faktörü (KGF) gen ekspresyonunu yukarı regüle eder. Sırasıyla fibroblastlar, komşu keratinositlerin yara bölgesinde göç etmesini, çoğalmasını ve epidermiste farklılaşmasını simüle eden KGF-1, KGF-2 ve IL-6'yı sentezler ve salgılar (127,128).

Proliferatif fazın son kısmı granülasyon dokusu oluşumudur. Fibroblastlar çevre dokudan yara bölgesine göç eder, aktive olur ve kollajen sentezlemeye başlar ve çoğalır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve EGF, fibroblastlara giden ana sinyallerdir ve

trombositlerden ve makrofajlardan türetilir. Fibroblastlar tarafından PDGF ekspresyonu, otokrin ve parakrin sinyalleme ile güçlendirilir. Yara bölgesinde zaten bulunan fibroblastlar ("yara fibroblastları" olarak adlandırılır) kollajen sentezlemeye başlayacak ve yara kontraksiyonu için miyofibroblastlara dönüşecektir (makrofaj tarafından salgılanan TGF- β 1 tarafından uyarılır.) yara çevresinden gelen fibroblastlara göre daha az proliferasyona sahiptirler (129, 130).

Yeniden Şekillenme (8. Gün - 1 Yıl)

Başlangıçta, matris esas olarak fibrin ve fibronektinden oluşur (125). Glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar ve diğer proteinler (sistein açısından zengin salgılanan protein asidik veya SPARC gibi) fibroblastlar tarafından sentezlenir (124). Bu gelişigüzel ve düzensiz glikan topluluğu, yeni matris için bir ön çerçeve sağlar. Bu geçici matris, kolajenden yapılmış daha güçlü ve organize bir matris ile değiştirilir. Yaralanmamış ciltteki kolajen yüzde 80 ila 90 tip I ve yüzde 10 ila 20 tip III'tür. Granülasyon dokusunda, kolajen tip III yüzde 30'u oluşturur ve olgun skarda yüzde 10'a geri döner (131). Kollajen tip III'ün görünümü aynı zamanda fibronektin varlığı ile de örtüşmektedir. Denatüre kollajenin fibronektin ile kaplanmasının fagositozunu kolaylaştırdığı öne sürülmüştür (132). Tip III kollajenin (yaranın gücüne önemli ölçüde katkıda bulunmayan) erken ve artan birikiminin rolü belirsizdir. Matriks yeniden modelleme proteinazları, MMP'ler (her biri bir kolajen tipine/tiplerine özel ve farklı sitokinlerin etkisi ve kontrolü altında olan birkaç farklı tane vardır), değişen TGF- β , PDGF, IL-1 konsantrasyonlarından etkilenir EGF, MMP aktivitesi, fibroblastlar tarafından üretilen TGF-P ve IL-6 tarafından yukarı regüle edilen metalloproteinazın doku inhibitörleri tarafından daha da bastırılır; TNF- α , fibroblastlar tarafından IL-6 salınımını uyarır (133).



Şekil 5. Yara iyileşmesinin aşamaları. **(A)** Pıhtılaşma: fibrin varlığında trombositler stabil bir pıhtı oluşturur. Trombositler ayrıca bakteriyel ürünlerle birlikte enflamatuvar hücreleri yaralanma bölgesine çeken trombosit kaynaklı büyüme faktörü üretir. **(B)** Enflamasyon: nötrofiller yara yatağına toplanır. Lökositler, iltihabı şiddetlendiren proinflamatuvar sitokinler IL-1, IL-6 ve TNF-a salgılar. M2 makrofajları çoğunlukla inflamasyonun geç fazında bulunur ve anti-inflamatuvar sitokin IL-10 üretir. **(C)** Çoğalma: miyofibroblastlar, yeni kılcal damarlar ve Kol III'ten oluşan granülasyon dokusu bu aşamanın ayırt edici özelliğidir. **(D)** Tadilat: Col III'ün, ana efektörler olarak MMP'ler ile daha sert Col I demetleri ile değiştirildiği yara iyileşmesinin son aşamasıdır. Yara onarımının nihai sonucu, yaralanma bölgesinde skar oluşumudur. IL, interlökin; Sütun III, kolajen tip III; TNF, tümör nekroz faktörü. (134).

2.3.3.1 Yara iyileşmesinde Büyüme faktörleri ve Sitokinlerin Rolü;

Büyüme faktörleri ve sitokinler yara iyileşmesinde önemli görevlere sahiptir (135). Sitokinlerin yara iyileşmesinde en önemli etkilerinden biri ise hücre bölünmesi üzerine olanıdır (136). Büyüme faktörleri, protein ve enzim üretimi, hücrelerin bölünmesi, hücre migrasyonu, hücrenin farklılaşmasında rol oynarlar. Büyüme faktörleri yara iyileşmesini, hücresel çoğalmayı ve angiogenezi uyarak gerçekleştirirler. Böylece büyüme faktörleri, yara iyileşmesindeki tüm evreler için önemlidir (137). Sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin ve birçok hayvan modelinde yara iyileşmesini hızlandırdığına dair

alışmalar rapor edilmiştir (138, 139). Diyabetik fareler üzerinde yapılan bir çalışmada topikal olarak uygulanmış VEGF'nin, yara bölgesinde lenf anjiyogenezini ve anjiyogenez arttırarak yara iyileşmesini daha da hızlandığı saptanmış, bir başka çalışmada ise sıçanlarda venöz flep modelinde subdermal olarak verilen VEGF'nin flep yaşayabilirliğini arttırdığı bildirilmektedir (140).



3.MATERYAL VE METOD

3.1 Araştırma Yeri

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalı ve Biyokimya Anabilim dalı ile Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GAÜNDAM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız da kullanılan erkek Sprague-Dawley (SD) erkek sıçanlar, Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GAÜNDAM) temin edilmiştir. Çalışmanın tüm aşamalarında Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 287 protokol numaralı onay alındıktan sonra çalışılmıştır.

3.2. Çalışmanın Genel Planı

Bu çalışmada, deney gruplarının oluşturulması için, ağırlıkları 250- 300 gram arası 48 adet SD erkek sıçanlar randomize şekilde seçilip gruplandırılmıştır. Çalışmada kullanılan SD erkek sıçanlar deney gününe kadar konvansiyonel kafeslerde tutulmuştur. İçme suları günlük değiştirilecek ve gün aşırı kafes temizliği yapılmıştır. Sıçanlar oda sıcaklığı 22-24 C° arasında, havalandırma şartları sağlanmış, aydınlatılması 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan odalarda barındırılmıştır. Sıçanlar çalışma boyunca ad libitum standart pelet yemle beslenmişlerdir. 48 adet SD erkek sıçanlar, toplam 6 gruba ayrıldı ve her grupta 8 sıçan bulunmaktadır.

3.3. Canlı ağırlıklarının belirlenmesi

Deneysel çalışmaya başlamadan önce gruplarda bulunan deney hayvanlarının vücut ağırlıkları tespit edilmiştir. Deneysel çalışma grubundaki sıçanların canlı ağırlıklar ölçümleri haftada 2 defa aynı günler ve saatlerde tespit edilmiştir.

3.4. Deney grupları

Gaziantep Üniversitesi Deney hayvanları Araştırma Merkezinden temin edilen 250- 300 gram arası 48 adet SD erkek sıçanlar 6 farklı gruba ayrılmıştır. Her grupta 8 adet erkek SD sıçan bulunmaktadır.

1. Kontrol grubu (K): Araştırma süresi boyunca (21 gün) standart yem ve içme suyu ile ad libitum olarak beslenmiştir.

2. Sığır Laktoferrin grubu (bLf): Sığır Laktoferrin, ile beslenen grup olup 21 gün boyunca standart yeme karıştırılarak 200 mg/kg/gün dozda oral olarak verilmiştir (26,27).

3. Tam kat deri defekti grubu (TK): Deney hayvanları anestezi altında sıçanların sırt tüyleri traş bıçağı ile cilde hasar vermemeye özen gösterilerek traşlandıktan sonra, dorsal kısımda, 12 mm (1,2 cm) çapında biyopsi punch ile 1 adet dairesel tam kalınlıkta deri defekti oluşturulmuştur. Tam kat deri defekti modeli oluşturulan sıçanlar gruplara ayrılarak tek tek barındırılmıştır (141).

4. Yüksek Yağlı Diyet (YYD) + Sığır Laktoferrin (bLf) grubu: Araştırma süresi boyunca (21 gün) yağlı diyetle ek olarak 200 mg/kg dozunda sığır Laktoferrin yeme karıştırılarak oral olarak verilmiştir (26,28).

5. Yüksek Yağlı Diyet (YYD) + Tam Kat Deri Defekti (TK) grubu: Araştırma süresi boyunca (21 gün) yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanların dorsal kısımda, 12 mm (1,2 cm) çapında biyopsi punch ile 1 adet dairesel tam kalınlıkta deri defekti modeli oluşturulmuştur.

6. Yüksek Yağlı Diyet (YYD) + Tam Kat Deri Defekti Modeli (TK) + Sığır Laktoferrin grubu (bLf): Yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarda yeme katılan 200 mg/kg dozunda laktoferrin uygulanan sıçanlarda dorsal kısımda, 12 mm (1,2 cm) çapında biyopsi punch ile 1 adet dairesel tam kalınlıkta deri defekti modeli oluşturulmuştur.

Günler/ Gruplar	*Laktofer rin uygulanı şı (1.gün)	Yüksek yağlı diyet uygulanışı (1.Gün)	Tam kat deri defekti oluşturulmas ı (1.Gün)	1.Gün Y/M/L (adet)	5.gün Y/L (adet)	9.gün Y/L (adet)	13.g ün Y/L (adet)	17.gün Y/L (adet)	19.gün Y/L (adet)	21.gün M/S (adet)	Grup başına düşen hayvan sayısı
1.Kontrol Grubu (K)	-	-	-	0/0/0	0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/7	7
2.Laktoferrin grubu (bLf):	200mg/kg /gün	-	-	0/0/8	0/0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	8
3. Tam Kat Deri Defekti Grubu (TK)	-	-	1. gün	0/7/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	7/7	7
4.Yüksek Yağlı Diyet+Laktoferrin (bLf)	200mg/kg /gün	%56 yağ içeriği	-	8/0/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	0/8	8
5. Yüksek Yağlı Diyet +Tam Kat Deri Defekti Modeli (YYD+TK)	-	%56 yağ içeriği	1. gün	8/8/0	7/0	7/0	6/0	6/0	6/0	6/6	6
6.YüksekYağlı Diyet+Tam Kat Deri Defekti Modeli+Laktoferrin Grubu: (YYD+TK+bLf)	200mg/kg /gün	%56 yağ içeriği	1. gün	8/8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8
Toplam											44

Tablo 1. Deneysel çalışma planı ve gruplandırma. **K:** Kontrol Grubu, **bLf:** Laktoferrin verilmiş Grup, **TK:** Tam Kat deri defekti oluşturulmuş Grup **YYD+TK:** Yüksek Yağlı diyet verilen ve tam kat deri defekti oluşturulan grup **YYD+TK+bLf:** Yüksek yağlı diyet ve laktoferrin verilen ve tam kat deri defekti oluşturulmuş grup **L:**Laktoferrin verilen gün, **Y:** Yüksek yağlı diyet verilen gün **T:** Tam kat deri defekti modeli oluşturulan gün. **M:**Makroskobik olarak görüntülenen gün. **S:** Sakrifikasyon yapılan gün.

3.5. Deneysel Hayvan Modelleri

3.5.1 Tam Kat Deri Defekti Modeli

Deney hayvanları anestezi altında sıçanların sırt tüyleri sırt dokusuna zarar vermeden özenle temizlenmiştir. Daha sonra dorsal kısımda, 12 mm (1,2 cm) mm çapında biyopsi punch ile 1 adet dairesel tam kalınlıkta deri defekti oluşturulmuştur. Tam kat deri defekti oluşturulan sıçanlar kafeslerde tek tek barındırılmıştır.



Resim 1. Tam Kat Deri Defekti Modelinin Oluşturulması. **1.** Deri defekti modeli oluşturmak için gereken malzemeler. **2.** Sıçanın sırt kısmının tüylerinden temizlenmesi. **3.** Sırt tüyleri alınmış sıçan. **4.** Tam kat deri defekti modeli oluşturulmuş sıçan.

3.5.2 Uygulanan diyet modeli

Standart diyet ve yüksek yağlı diyet daha önceki literatürde belirtilen oranlarda, özel olarak hazırlanmış AIN-93 diyetine göre hazırlanmıştır. Standart diyetin yağ oranı enerjinin %12'si, yüksek yağlı diyetin ise %42'si olacak şekilde hazırlanmıştır. Yüksek yağlı diyet; standart diyetten buğday nişastasını değiştirerek %15 don yağı ve %10 soya fasulyesi yağı eklenerek standart diyetten elde edilmiştir. Tüm malzemeler gıda 26 karıştırma mikserinde karıştırıldıktan sonra pelet makinasında yeme dönüştürülmüştür (142).

3.6. Makroskobik olarak yara yüzey alanı görüntüleme ve ölçme

Tam kat deri defekti oluşturulan ve gruplara ayrılan sıçanların görüntülenmesi için fotoğraf makinesi yüksekliği sabitlenmiş açısı dik, ışık düzeyi ve fotoğraf makinası aynı olacak şekilde görüntülenmiştir. Tam kat deri defekti oluşturulan sıçanların ilk gün (1. gün) ve son gün (21. gün) yara alan çaplarını kıyaslamak için makroskobik olarak görüntülenmiştir (Adobe Systems, New York, NY, <http://www.adobe.com>).

3.7. Serum örneklerinin alınması

Anestezi altında kan örnekleri sıçanların kuyruk venalarından enjeksiyon yardımı ile tüplere alınmıştır. 4000 g ve 10 dakika süre boyunca santrifüj yapılarak serumları çıkartılarak tüplere alınmıştır.

3.8. Biyokimyasal ölçümler

Doku yaralanmaları VEGF ve IL-6 gibi pro-enflamatuar sitokinlerin stimülasyonuna neden oldukları bilinmektedir ve bu gibi enflamatuvar sitokinlerin salınımı, damar endotelinin uyarılmasını indükleyebilir. Bu bilgilere dayanarak çalışmamızda laktoferrinin yüksek yağlı diyet ile beslenen ve tam kat deri defekti yara modeli oluşturulan sıçanların yara iyileşmesi ile ilgili serumda IL-6 ve VEGF biyomarkırlarına bakılmıştır.

3.8.1. IL-6

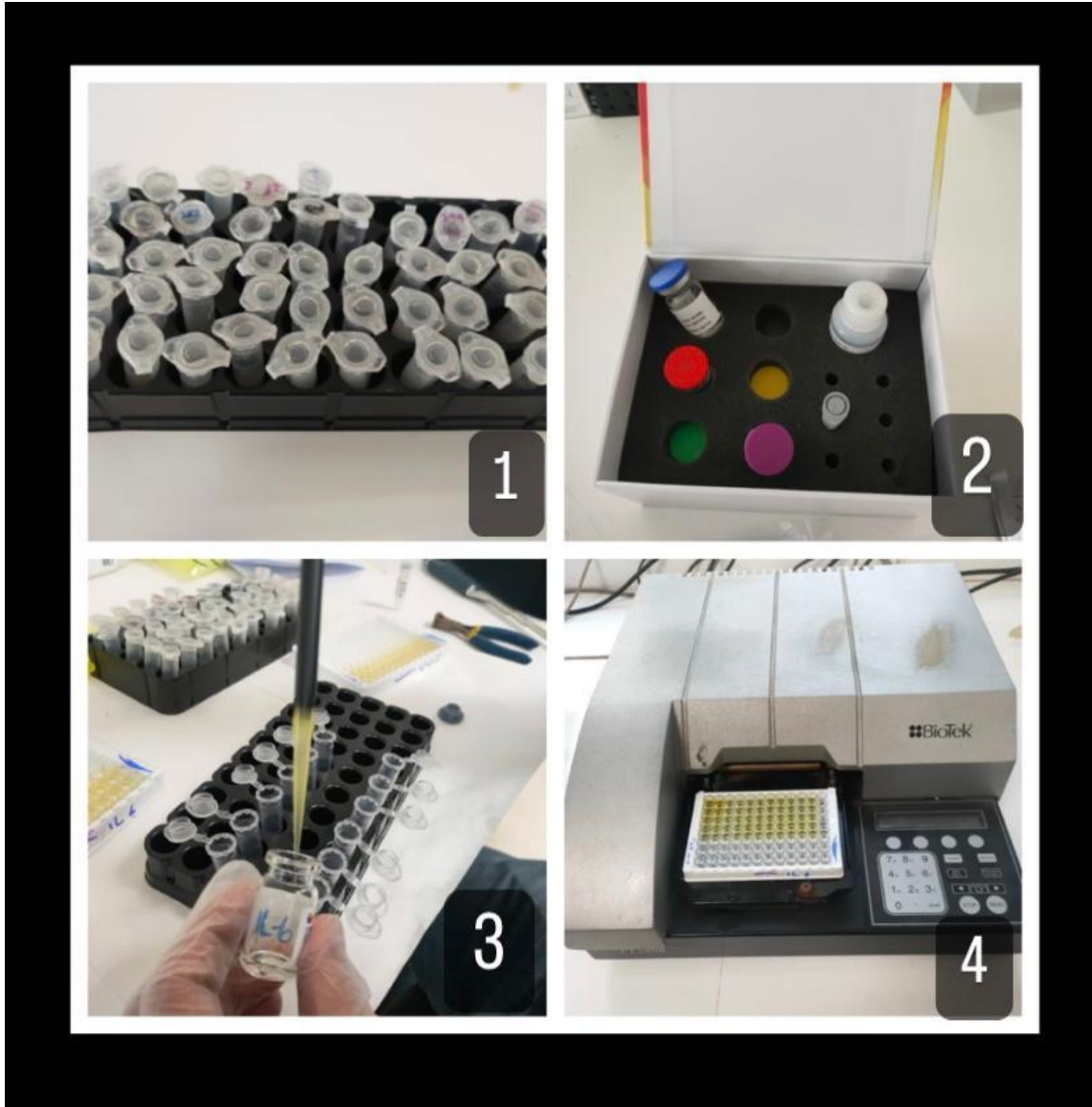
Çalışma için ayrılmış örneklerin, kit reaktiflerinin ve mikropłakanın oda sıcaklığa gelmesi sağlandı. Örneklerde Rat IL-6 (Bioassay Technology Laboratory, Katalog No:E0135Ra, Çin) düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, Enzim bağlı immunosorbent yöntem) yöntemi kullanılarak kit yardımıyla ölçüldü. Bu kit biyotinlenmiş ikili sandviç prensibine göre ölçüm yapmaktadır.

Bu kitte saflaştırılmış Rat monoklonal IL-6 antikor ile önceden kaplanmış mikropłaka kullanılır. 50 µL IL-6 standartları (24; 12; 6; 3 ve 1.5 ng/L) ve örneklerden 40 µL kuyucuklara eklendi. Örnekler üzerine 10 µL biyotinlenmiş anti- IL-6 antikorı eklendi. Ardından örnek ve standartlara 50 µL strepdavin-HRP eklenip inkübatörde (Sanyo Sterilizier, Japonya) 1 saat 37 °C’de bekletildi. İnkübasyon bittikten sonra ELISA (Biotek ELx50, ABD) yıkama cihazında yıkandı. Daha sonra 50 µL Kromojen A ve Kromojen B solüsyonu eklenip 15 dk 37 °C’de karanlıkta bekletildi. Renk oluşması için karanlıkta bekletilip, asit çözeltisi eklenerek reaksiyon durdururdu. Renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile 450 nm’de okundu. Rat IL-6 düzeyleri standart grafik yardımıyla hesaplandı.

3.8.2. VEGF

Çalışma için ayrılmış örneklerin, kit reaktiflerinin ve mikropłakanın oda sıcaklığa gelmesi sağlandı. Örneklerde Rat VEGF (Bioassay Technology Laboratory, Katalog No: E0659Ra, Çin) düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, Enzim bağlı immunosorbent yöntem) yöntemi kullanılarak kit yardımıyla ölçüldü. Bu kit biyotinlenmiş ikili sandviç prensibine göre ölçüm yapmaktadır.

Bu kitte saflaştırılmış Rat monoklonal VEGF antikor ile önceden kaplanmış mikropłaka kullanılır. 50 µL VEGF standartları (1600; 800; 400; 200 ve 100 ng/L) ve örneklerden 40 µL kuyucuklara eklendi. Örnekler üzerine 10 µL biyotinlenmiş anti- VEGF antikorı eklendi. Ardından örnek ve standartlara 50 µL strepdavin-HRP eklenip inkübatörde (Sanyo Sterilizier, Japonya) 1 saat 37 °C’de bekletildi. İnkübasyon bittikten sonra ELISA (Biotek ELx50, ABD) yıkama cihazında yıkandı. Daha sonra 50 µL Kromojen A ve Kromojen B solüsyonu eklenip 15 dk 37 °C’de karanlıkta bekletildi. Renk oluşması için karanlıkta bekletilip, asit çözeltisi eklenerek reaksiyon durdururdu. Renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile 450 nm’de okundu. Rat VEGF düzeyleri standart grafik yardımıyla hesaplandı.



Resim 1. Serum Örneklerinin alınması, hazırlanması ve homojenizasyonu için kullanılan alet ekipmanlar 1. Alınan serum örneği. 2. Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) Elisa Kiti. 3. Örnekler üzerine 10 μ L biotinlenmiş anti- IL-6 antikor eklenmesi 4. Microplate protein okuyucu

3.9. İstatiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme, Statistical Package for Social Science (SPSS) Versiyon 22.0 (SPSS inc, Chicago, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. 3 grup arasında istatistiksel olarak tam kat deri defekti modeli oluşturulmuş kontrol grubu ile yüksek yağ ile beslenmiş ve tam kat deri defekti modeli oluşturulan grup ve laktoferrin ile yüksek yağlı diyet ile beslenen ve tam kat deri defekti oluşturulan grupların yara alanlarının iyileşme ölçümlerinde gözlenen farklılıkları günlere göre (1. ve 21. günler)

değerlendirmek için grupların normale göre dağılımlarının farklılıkları incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler grup ortalaması $\pm$ standart hata (S.H.) şeklinde ifade edilmiştir (n: deneyde kullanılan hayvan sayısını göstermektedir). Normalite analizleri için Shapiro-Wilk kullanıldı. Biyokimyasal parametreler olan VEGF ve IL-6'nın ikiden fazla bağımsız grubun ortalamaları arasındaki fark One-Way ANOVA kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki fark ise Post Hoc Tukey kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar %95 güven aralığında p değeri kullanılarak değerlendirildi ve p değerleri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4.BULGULAR

Yüksek yağlı diyet ile beslenen ve tam kat deri defekti oluşturulan sıçanlarda bLf'nin yara iyileşmesi ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin araştırılması amaçlanan çalışmamızda 6 grupta toplamda 48 adet erkek SD sıçan kullanılmıştır. Deneysel çalışmamız sürecine sıçanların canlı ağırlıkları tespit edilerek randomize şekilde gruplar dizayn edilmiştir. Bulgular; Canlı ağırlık artışları (Tablo 1, Tablo 2 ve Şekil 6), makroskobik olarak görüntüleme ve gruplar arası günlere göre karşılaştırma (Tablo 3 ve Resim 3), VEGF ve IL-6 biyokimyasal parametrelerinin serum örnekleri açısından gruplar arası korelasyonu olarak verilmiştir (Tablo 6 ve Tablo 7).

4.1 Canlı ağırlık artışları

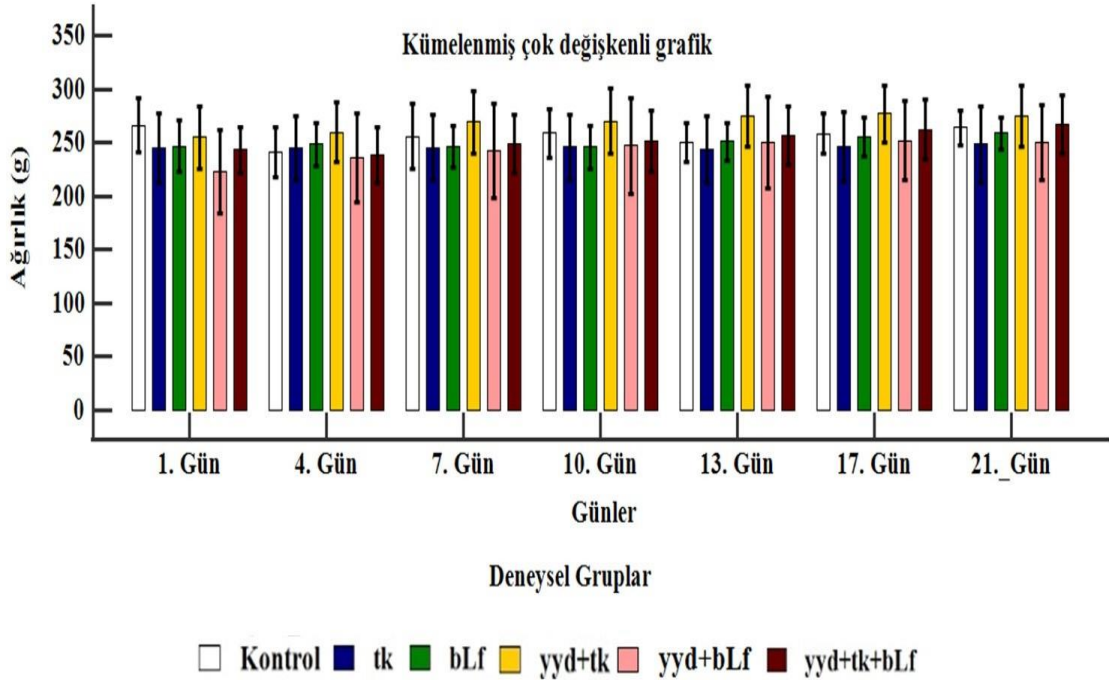
Deneysel çalışmada sıçanların ağırlık tartımları 1. 4, 7, 10, 13, 17, ve 21. günlerde aynı saatlerde gerçekleştirilmiştir. Grupların ağırlık değişimlerinin gruplara ve günlere göre dağılımına baktığımızda (Şekil 6) , kontrol grubunun ağırlık değişiminde 1. Gündeki canlı ağırlıklarına (266,1 +27,07) kıyasla 4. gün (241,01+24,78) ve 13. Günde (250,46+19,88) düşüş yaşanırken, 21. günde (263,95+38,41) ile arasındaki fark neredeyse eşitlenmek üzere arasındaki canlı ağırlık artışı olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmektedir (Tablo 2). TK grubunun canlı ağırlık değişimine bakıldığında gözle görülür bir artış veya azalışın yanı sıra günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmektedir (Tablo 2).

Sığır laktoferrin verilen grup olan bLf 'de canlı ağırlık değişiminde 1.gün de (246,8+28,1) 4., 7. ve 10. günde artış ya da azalış yönünde bir değişiklik olmaksızın, 13. günden (250,86+20,32) sonra diğer günlerde canlı ağırlık artışı artarak devam ettiği gözlenmiştir. 1 ile 21. günler karşılaştırıldığında canlı ağırlık değişiminin pozitif yönde olduğu görülmektedir. bLf grubunun canlı ağırlık artışında veya azalışında istatistiki olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 2).

Yüksek yağlı diyet+Tam kat deri defekti grubunun ağırlık artışının 1. günden başlayarak canlı ağırlıklar (254,99+27,63), 4. gün (259,84+26,31), 7. gün (269,05+27,74), 10. Gün (269,70+29,07), 13.gün (274,95+27,40), 17. gün (276,76+25,36), 21. gün (275,04+27,07) artarak devam ettiği gözlenmektedir. Canlı ağırlık artışları pozitif yönde olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı fark olmadığı

görülmüştür (Tablo 2).

YYD+bLf grubunun ağırlık değişimi 1.günde canlı ağırlık artışı (223,23+ 46,10) 4., 7., 13., 10., 17. ve 21. Günde de (251,72+41,80) sürekli olarak artarak devam ettiği görülmektedir. Sürekli olarak devam eden artışa rağmen istatistiki olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 2). YYD+bLf+TK grubunun canlı ağırlık değişiminde 4. gün (238,63+ 28,33) düşüş yaşanırken diğer günlerde ağırlık değişiminin pozitif yönde olduğu görülmektedir. Canlı ağırlıklar istatistiki olarak değerlendirildiğinde anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 2).



Şekil 6. Grupların ağırlıklıklarının çok değişkenli grafiği.

Tablo 2. Grupların ağırlıklarının çok değişkenli grafiği.

	Gruplar	N	Ortalama	Ortalamalar için %95 Güven aralığı		P
				Min.	Mak.	
1.gün	Kontrol	7	266,1000	241,0587	291,1413	0.239
	TK	7	244,4357	212,0990	276,7724	
	bLf	8	246,8000	223,2928	270,3072	
	YYD+ TK	6	254,9917	225,9905	283,9928	
	YYD+bLf	8	223,2313	184,6884	261,7741	
	YYD+TK+bLf	8	243,3214	222,0308	264,6121	
4.gün	Kontrol	7	241,0143	218,0901	263,9384	0.800
	TK	7	244,9429	215,2675	274,6183	
	bLf	8	248,3062	227,6829	268,9296	
	YYD+ TK	6	259,8417	232,2279	287,4555	
	YYD+bLf	8	235,5000	193,8077	277,1923	
	YYD+TK+bLf	8	238,6357	212,4321	264,8393	
7.gün	Kontrol	7	255,8586	225,0009	286,7162	0.771
	TK	7	245,5929	214,8320	276,3538	
	bLf	8	246,7625	227,2624	266,2626	
	YYD+ TK	6	269,0583	239,9399	298,1768	
	YYD+bLf	8	242,2062	197,7770	286,6355	
	YYD+TK+bLf	8	248,5357	221,5447	275,5268	
10.gün	Kontrol	7	258,7643	235,6907	281,8379	0.786
	TK	7	246,2429	215,7279	276,7578	
	bLf	8	246,1688	226,1264	266,2111	
	YYD+ TK	6	269,7083	239,1939	300,2227	
	YYD+bLf	8	247,0812	202,5341	291,6284	
	YYD+TK+bLf	8	251,8143	223,3684	280,2602	
13.gün	Kontrol	7	250,4643	232,0714	268,8572	0.621
	TK	7	243,3614	211,9567	274,7661	
	bLf	8	250,8625	233,8663	267,8587	
	YYD+ TK	6	274,9500	246,1912	303,7088	
	YYD+bLf	8	250,3150	207,5713	293,0587	
	YYD+TK+bLf	8	257,2214	229,9750	284,4678	
17.gün	Kontrol	7	258,2686	239,5102	277,0269	0.589
	TK	7	246,2029	213,3018	279,1039	
	bLf	8	255,9000	237,7880	274,0120	
	YYD+ TK	6	276,7667	250,1502	303,3831	
	YYD+bLf	8	251,6750	214,6475	288,7025	
	YYD+TK+bLf	8	262,2500	234,6357	289,8643	

21.gün	Kontrol	7	263,9529	247,2582	280,6475	0.582
	TK	7	248,4557	212,9282	283,9832	
	bLf	8	259,0087	244,1557	273,8618	
	YYD+ TK	6	275,0450	246,6282	303,4618	
	YYD+bLf	8	251,7212	215,1703	285,0722	
	YYD+TK+bLf	8	266,842	239,7324	293,9533	

YYD+bLf grubunun ağırlık değişimi 1.günde canlı ağırlık artışı (223,23+ 46,10) 4, 7,10 13, 17 ve 21. günde de (251,72+41,80) sürekli olarak artarak devam ettiği görülmektedir. Sürekli olarak devam eden artışa rağmen istatistiki olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 2). YYD+bLf+TK grubunun canlı ağırlık değişiminde 4. gün (238,63+ 28,3) düşüş yaşanırken diğer günlerde ağırlık değişiminin pozitif yönde olduğu görülmektedir. Canlı ağırlıklar istatistiki olarak değerlendirildiğinde anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 2).

4.2.Yara Analizleri

Deneyisel çalışmanın 1. gününün de 12mm punch ile tam kat deri defekti modeli 3 gruba (TK, YYD+TK, YYD + TK + bLf) uygulanmıştır. Tam kat deri defekti modeli oluşturulan gruplarda makroskobik görüntülemenin yapıldığı 1. gün ve 21. günler arasında Tablo 3 'te verilmiştir. TK, YYD+TK ve YYD+TK+bLf grupların 1. ve 21. günlere göre tam kat deri defekti oluşturulan sıçanlarda yara yüzey alanlarının karşılaştırılmalı tablosunda tam kat deri defekti oluşturulan gün olan 1. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Makroskobik görüntüleme yapılan son gün olan 21. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ve gruplar arasında yara yüzey alanları arasında azalış görülmüştür. ($p<0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3. 1. ve 21. Günde gruplar arasındaki arkların analizi.

Gün	DeneySEL Gruplar	N	Ortalama	% 95 Güven aralığı	P
1.Gün	TK	7	.447	.434±.459	.883
	YYD+TK	6	.445	.433±.457	
	YYD+TK +bLf	8	.443	.432±.455	
	Toplam	21	.445	.440±.451	
21. Gün	TK	7	.156	-.027±.340	.049*
	YYD+TK	6	.153	.140±.166	
	YYD+TK +bLf	8	.006	-.000±.012	
	Toplam	21	.102	.040±.165	

*P <0.05 ise anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arasındaki anlamlılık One-way ANOVA ile tespit edildi.

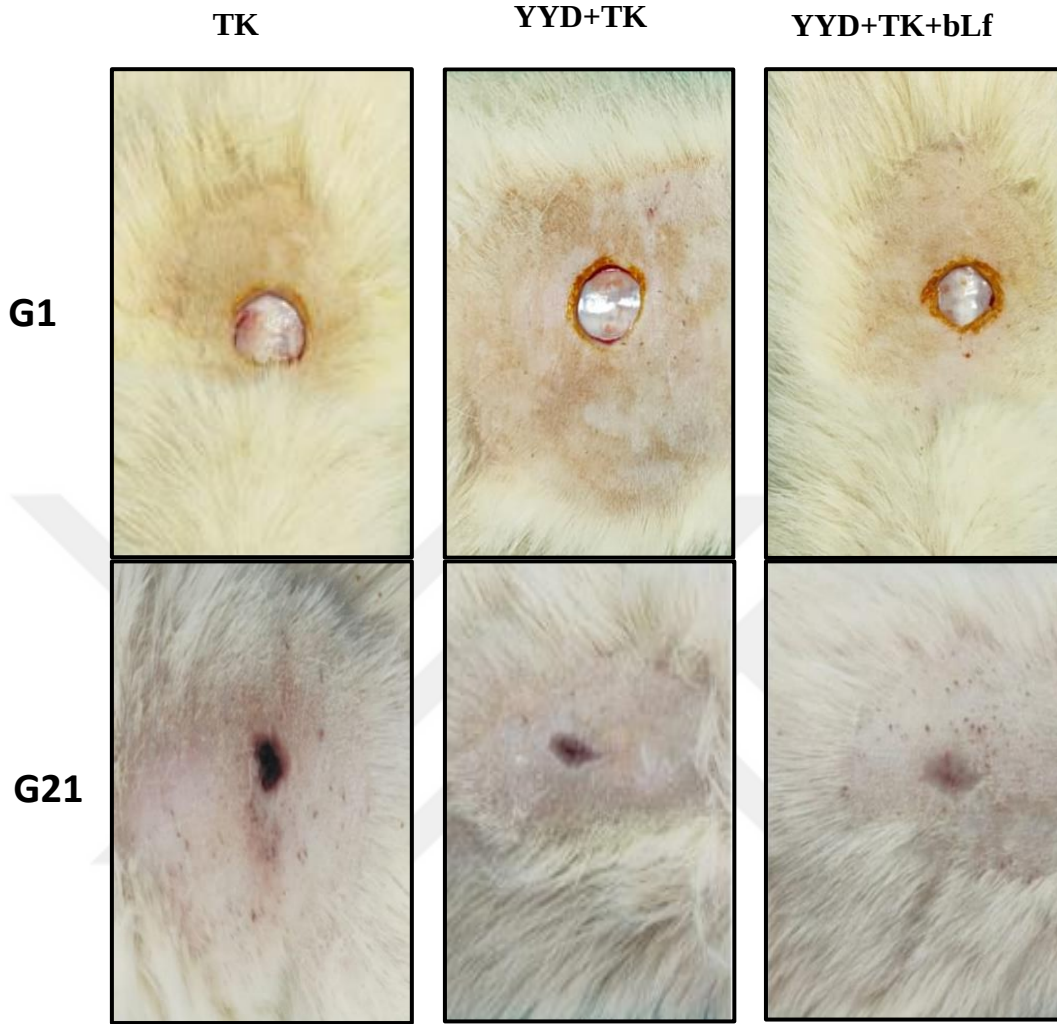
TK, YYD+TK ve YYD+TK+bLf grupların günlere göre tam kat deri defekti oluşturulan sıçanlarda yara alanlarının karşılaştırılmalı tablosunda tam kat deri defekti oluşturulan gün olan 1. günde gruplar arasında fark bulunamamıştır. Makroskobik görüntülemeye TK grubu, YYD+ TK, YYD+TK+bLF grupları arasında 21. günde anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). İstatiksel olarak anlamlı fark bulunan 21. günde YYD+TK grubu ile YYD + TK + bLf grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ve yara yüzey alanın YYD+TK+bLf verilen grupta daha az gözlendiği görülmektedir. (Tablo 3).

Tablo 4. 1. ve 21. gün gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma analizleri.

Bağımlı değişken	Yara grupları	Yara grupları	Ortalama Fark	95% Güven aralığı	P
1.Gün	TK	YYD+TK	.002	-.018±.022	.993
		YYD+TK+BLF	.003	-.016±.023	.952
	YYD+TK	TK	-.002	-.022±.018	.993
		YYD+TK+BLF	.002	-.017±.021	.993
	YYD+TK+BLF	TK	-.003	-.023±.016	.952
		YYD+TK	-.002	-.021±.017	.993
21. Gün	TK	YYD+TK	.003	-.242±.248	1.000
		YYD+TK+BLF	.150	-.095±.395	.252
	YYD+TK	TK	-.003	-.248±.242	1.000
		YYD+TK+BLF	.147*	.130±.164	.000*
	YYD+TK+BLF	TK	-.150	-.395±.095	.252
		YYD+TK	-.147*	-.164±.130	.000*

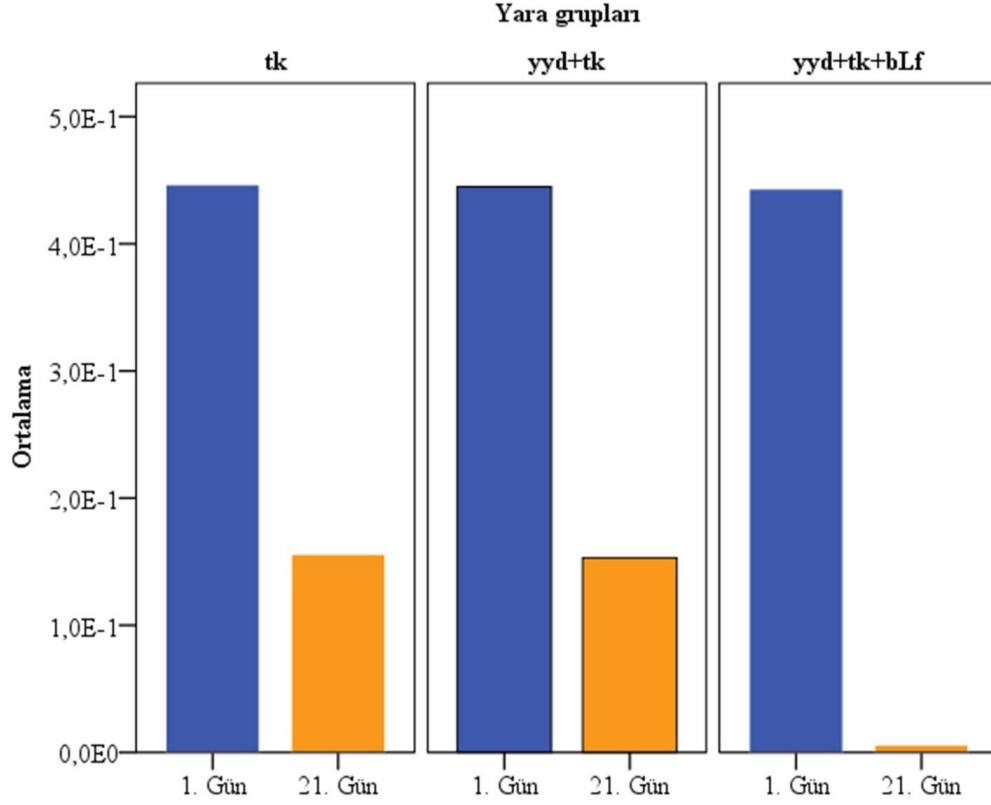
*Ortalama fark *P < 0.05 düzeyinde anlamlı.

Gruplardaki tam kat deri defekti modeli oluşturulan sıçanların 1. ve 21. günlerinde makroskopik görüntüleme yapılmış olup temsili birer sıçanın örnek resimleri verilmiştir. Resimden de görüleceği üzere YYD+TK+bLf grubunda ki yara yüzey alanının YYD+TK grubuna göre daha fazla kapandığı gözlenmektedir. Tam kat deri defekti oluşturulan 1. ve 21. güne kadar makroskopik görüntülenen gruplardan (TK, YYD+TK ve YYD+TK+bLf) rastgele olarak seçilen her gruptan bir sıçanın yara alanlarının resimleri makroskopik olarak gösterilmiştir (Resim 3). Makroskopik görüntülenen gruplarda (TK, YYD+TK, YYD+TK, bLf) 21. günlerdeki görselde her grupta tüylerin tekrar uzaması ve sırt bölgesinde açılan yara yüzey alanlarının çapları küçüldüğü görülmektedir. TK+YYD+bLf grubunun yara alanı çapı ve skar dokusunun diğer TK ve TK+YYD grubuna göre daha da küçüldüğü görülmüştür. TK+YYD grubunun ise TK grubuna göre hem yara alanı çapı küçülmediği ve skar dokusunun belirgin olduğu görülmektedir (Resim 3). 1. ve 21. gün gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma analizlerine baktığımızda 1. Gün gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunamamışken 21. gün YYD+TK grubu ile YYD+TK+bLf grubu arasında istatistik olarak anlamlı bir fark ($P < 0.05$) bulunmuştur ve YYD+TK+ bLf grubunda yara yüzey alanının daha da küçüldüğü görülmektedir. (Tablo 4).



Resim 3. Günlere göre karşılaştırılmalı her gruptan rasgele seçilen birer hayvanın 1. ve 21. gündeki makroskobik görüntüleri. **TK:** Tam kat deri defekti oluşturulan grup. **YYD+TK:** Tam Kat deri defekti oluşturulmuş ve yüksek yağlı diyet verilen grup. **YYD +TK+ bLf:** Tam kat deri defekti oluşturulmuş yüksek yağlı diyet ve laktoferrin verilen grup.

Grupların 1. ve 21. günlerdeki yara yüzey alanlarının gruplar arasında karşılaştırılması yapıldığında, 1.gün tüm gruplara eşit şekilde yara alanı açılmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. 21. günde ölçülen yara alanında TK grubu ile YYD+TK grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. YYD+TK+bLf grubunun 21. günde yara alanı TK ve YYD+TK grubuna göre daha küçük yara yüzey alanı çapı ölçülmüştür (Resim 3).



Şekil 7. Yara alanının 1.ve 21. günde gruplar arası karşılaştırılması.

4. 1 Biyokimyasal Parametreler

Bu çalışmada VEGF ve IL-6 biyokimyasal parametrelerin analizi yapılmıştır. Sakrifikasyondan sonra (21. gün) alınan serum örneklerinin protein oranlarına bakılarak pg/mg düzeyleri ve istatistiki analizlere dayanan standart sapmaları şekilde gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Deneysel gruplara ait serum parametrelerinin analizi.

Serum parametreleri	Deneysel Gruplar	N	Ortalama	%95 Güven aralığı	P
IL-6 (pg/mL)	Kontrol	7	2.474	2.29±2.658	.000*
	TK	7	1.393	1.327±1.460	
	bLf	8	2.385	2.335±2.435	
	YYD+TK	6	1.821	1.761±1.882	
	YYD+bLf	8	2.457	2.381±2.534	
	YYD+TK+bLf	8	2.532	2.491±2.571	
	Toplam	44	2.208	2.078±2.337	
VEGF (pg/mL)	Kontrol	7	237.067	229.311±244.822	.000*
	TK	7	143.317	141.527±145.107	
	bLf	8	198.078	192.239±203.917	
	YYD+TK	6	212.096	203.890±220.301	
	YYD+bLf	8	234.939	225.760±244.118	
	YYD+TK+bLf	8	238.916	236.794±241.039	
	Toplam	44	211.307	201.053±221.560	

*P < 0.05 ise anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arasındaki anlamlılık One-way ANOVA ile tespit edildi.

Gruplarda 21. günde bakılan VEGF ve IL-6 proteinlerin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. (p<0,05).

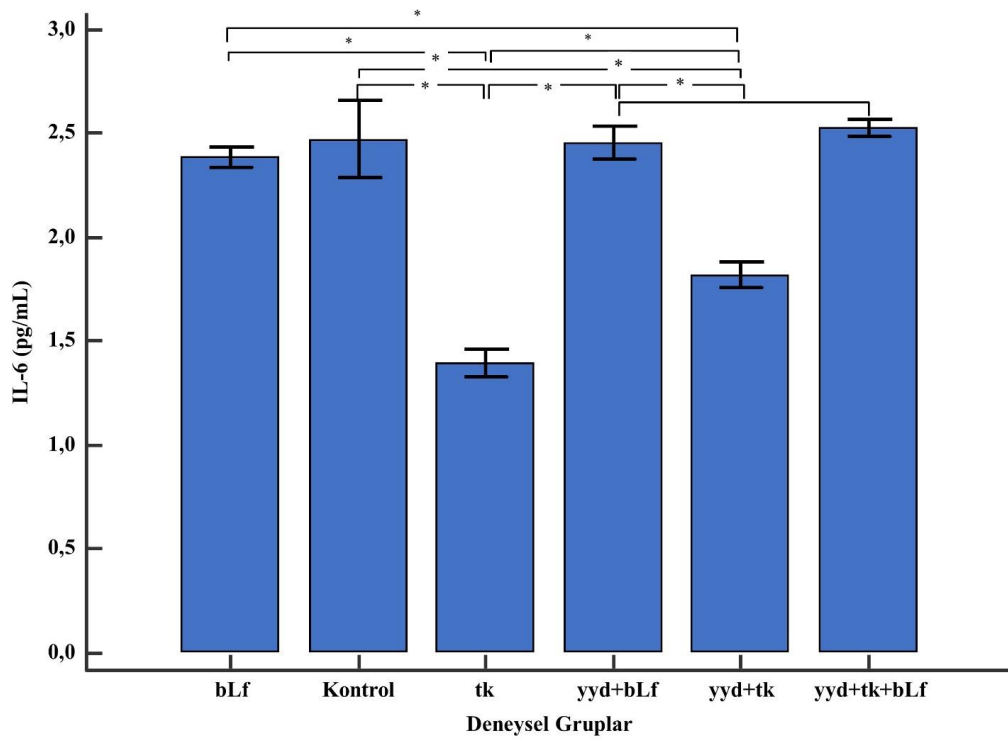
Tablo 6. Deneysel gruplar arasında IL-6 için çoklu karşılaştırma analizleri.

Serum parametresi	Deneysel Gruplar	(J) Deneysel Gruplar	Ortalama fark (I-J)	P	% 95 Güven aralığı
IL-6 (pg/mL)	Kontrol	TK	1.081*	.000	.920±1.242
		bLf	.0892	.501	-.063±.241
		YYD+TK	.653*	.000	.485±.820
		YYD+ bLf	.0168	.999	-.139±.173
		YYD+TK+bLf	-.057	.878	-.213±.099
	TK	Kontrol	-1.081*	.000	-1.241±-.920
		bLf	-.992*	.000	-1.144±-.840
		YYD+TK	-.428*	.000	-.596±-.261
		YYD+ bLf	-1.064*	.000	-1.220±-.908
		YYD+TK+bLf	-1.138*	.000	-1.294±-.983
	bLf	Kontrol	-.089	.501	-.240±.063
		TK	.991*	.000	.840±1.144
		YYD+TK	.564*	.000	.405±.722
		YYD+ bLf	-.072	.677	-.219±.074
		YYD+TK+bLf	-.146*	.049	-.293±-.000
	YYD+TK	Kontrol	-.652*	.000	-.820±-.485
		TK	.428*	.000	.261±.596
		bLf	-.564*	.000	-.722±-.405
		YYD+ bLf	-.636*	.000	-.798±-.473
		YYD+TK+bLf	-.710*	.000	-.873±-.548
	YYD+ bLf	Kontrol	-.017	.999	-.173±.139
		TK	1.06*	.000	.908±1.220
		bLf	.072	.677	-.074±.219
		YYD+ bLf	.636*	.000	.473±.798
		YYD+TK+bLf	-.074	.681	-.225±.076
	YYD+TK+bLf	Kontrol	.057	.878	-.099±.213
		TK	1.138*	.000	.983±1.294
		bLf	.146*	.049	.000±.293
		YYD+ bLf	.710*	.000	.548±.873
		YYD+TK+bLf	.0741	.681	-.076±.225

ANOVA, p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmektedir.

Deneysel gruplar arasında 21. günde bakılan IL-6 için çoklu karşılaştırma analizlerine göre Kontrol grubu ile TK ve YYD+TK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0.05). TK grubu ile tüm gruplar istatistiksel olarak anlamlı bir fark

oluştugu gör÷lmektedir. bLf grubu ile diğ er gruplar kıyaslandığında ise TK,YYD+TK ve YYD+TK+bLf grubu arasında istatiks el olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. YYD+TK grubunu diğ er gruplar ile karşılaştırdığımızda tüm gruplar ile istatiks el olarak anlamlı bir fark oluştuğ u gör÷lmektedir. YYD+bLf grubu ile diğ er gruplar karşılaştırdığında ise TK ve TK+YYD grupları arasında istatiks el olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Son grubumuz YYD+TK+bLf grubunu diğ er gruplar ile kıyasladığımızda TK, bLf ve YYD+TK grupları arasında istatiks el olarak anlamlı bir fark bulunduğ u gör÷lmektedir (Tablo 6).



Ş ekil 8. 21. Gündeki IL-6 düzeylerinin gruplar arasındaki dağılımı. ANOVA, $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmektedir.

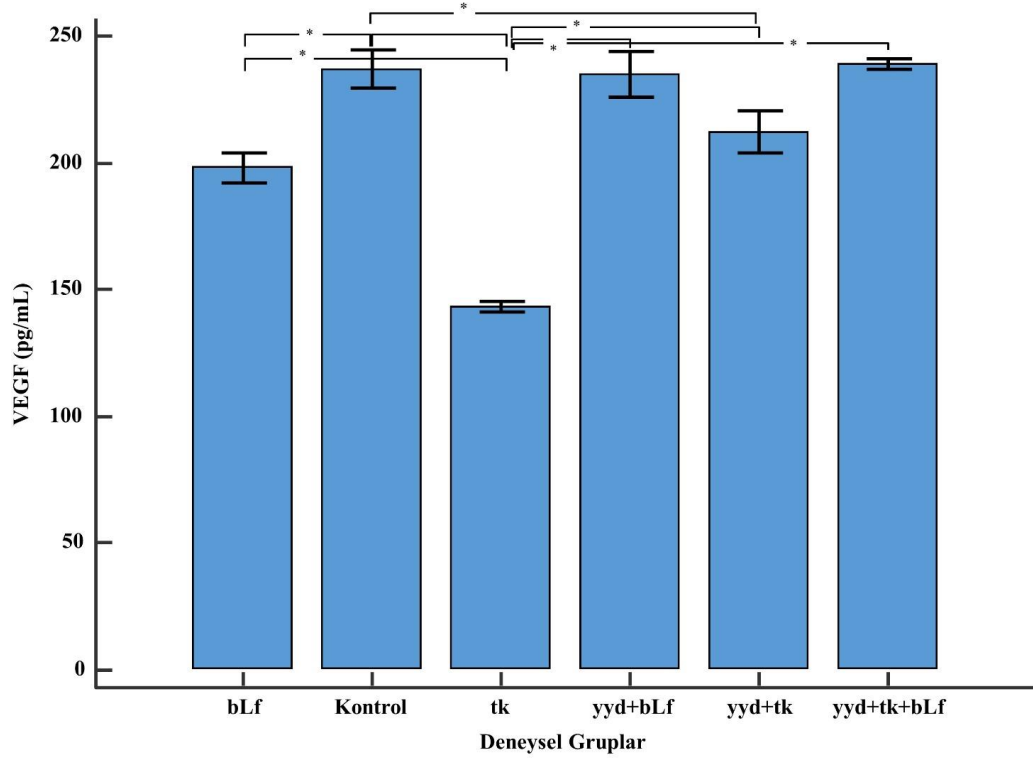
Grupların serum IL-6 protein miktarlarına bakıldığında 21. günde YYD+TK+bLf grubunda en fazla, en düşük ise TK grubunda ölç÷lmüştür (Ş ekil 8).

Tablo 7. Deneysel gruplar arasında VEGF için çoklu karşılaştırma analizleri.

Serum parametresi	Deneysel Gruplar	Deneysel Gruplar	Ortalama fark	P	% 95 Güven aralığı
VEGF	Kontrol	TK	93.750*	.000	81.997±105.503
		bLf	38.988*	.000	27.908±50.070
		YYD+TK	24.971*	.000	12.738±37.204
		YYD+bLf	2.127	.993	-9.252±13.507
		YYD+TK+bLf	-1.850	.996	-13.230±9.530
	TK	Kontrol	-93.750*	.000	-105.503±-81.997
		bLf	-54.761*	.000	-65.842±-43.680
		YYD+TK	-68.779*	.000	-81.012±-56.546
		YYD+bLf	-91.622*	.000	-103.002±-80.242
		YYD+TK+bLf	-95.599*	.000	-106.979±-84.220
	bLf	Kontrol	-38.989*	.000	-50.070±-27.908
		TK	54.761*	.000	43.680±65.842
		YYD+TK	-14.018*	.010	-25.606±-2.429
		YYD+bLf	-36.861*	.000	-47.545±-26.177
		YYD+TK+bLf	-40.838*	.000	-51.522±-30.154
	YYD+TK	Kontrol	-24.971*	.000	-37.204±-12.738
		TK	68.779*	.000	56.546±81.0116
		bLf	14.018*	.010	2.429±25.606
		YYD+bLf	-22.844*	.000	-34.718±-10.969
		YYD+TK+bLf	-26.821*	.000	-38.696±-14.944
	YYD+bLf	Kontrol	-2.127	.993	-13.507±9.252
		TK	91.622*	.000	80.243±103.002
		bLf	36.861*	.000	26.177±47.545
		YYD+bLf	22.844*	.000	10.969±34.718
		YYD+TK+bLf	-3.977	.885	-14.971±7.017
	YYD+TK+bLf	Kontrol	1.850	.996	-9.530±13.230
		TK	95.599*	.000	84.220±106.979
		bLf	40.838*	.000	30.154±51.522
		YYD+bLf	26.821*	.000	14.946±38.696
		YYD+TK+bLf	3.977	.885	-7.017±14.971

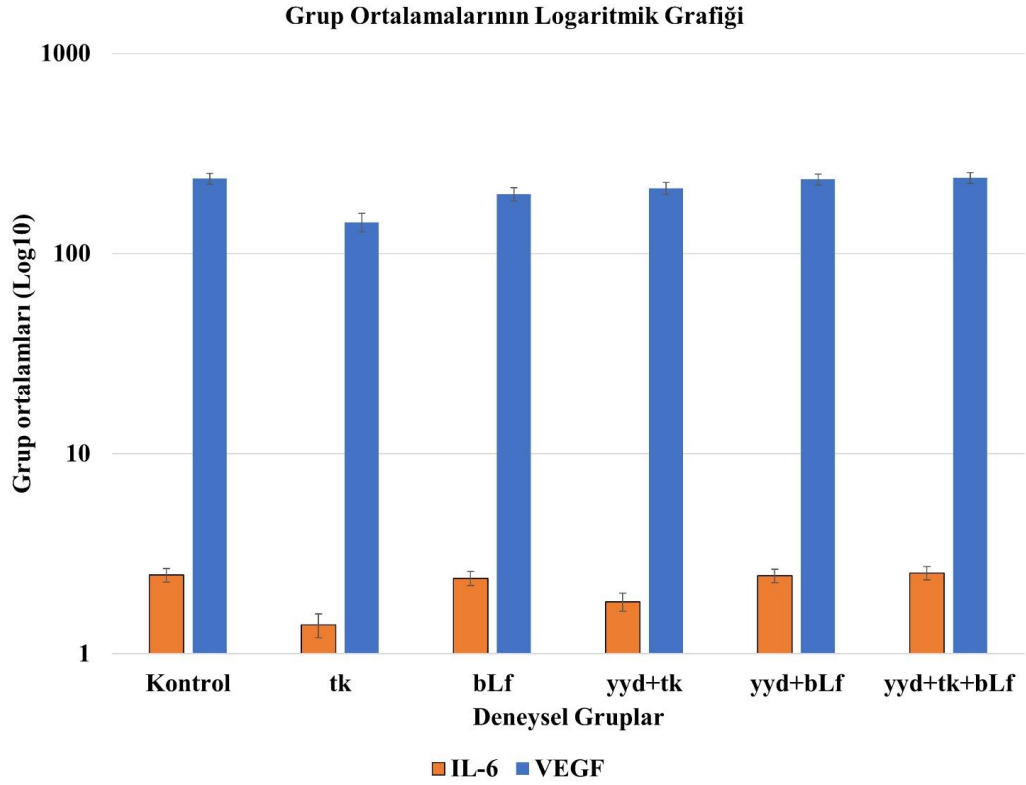
ANOVA, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmektedir.

Deneysel gruplar arasında 21. Günde bakılan VEGF için çoklu karşılaştırma analizlerine göre gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. ($p < 0.05$). Kontrol grubu ile TK, bLf ve YYD+TK grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. TK grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. bLf grubu ile diğer gruplar kıyaslandığında arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. YYD+TK grubunu diğer gruplar ile karşılaştırdığımızda tüm gruplar ile anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. YYD+bLf grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise TK, bLf ve TK+YYD grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Son grubumuz YYD+TK+bLf grubunu diğer gruplar ile kıyasladığımızda TK, bLf ve YYD+TK grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir (Tablo 7).



Şekil 9. 21. Gündeki VEGF düzeylerinin gruplar arasındaki dağılımı. ANOVA, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmektedir.

Grupların serum VEGF protein miktarlarına bakıldığında 21. günde YYD+TK+bLf grubunda en fazla, en düşük ise TK grubunda ölçülmüştür (Şekil 9).



Şekil 10. 21. Gündeki IL-6 ve VEGF parametrelerinin grup ortalamalarının logaritmik grafiği.

Grupların 21. gündeki logaritmik ortalamalarına bakıldığında, IL-6'nin kontrol grubuna kıyasla en düşük ortalama sahip grup TK grubu olmuştur. 21. Gündeki grup ortalamalarına göre IL-6 seviyelerinin en fazla ortalama sahip grup YYD+TK+bLf olmuştur. VEGF için 21. gündeki grup ortalamalarına bakıldığında kontrol grubuna göre en düşük ortalama sahip grup TK grubu olmuştur. 21. gündeki grup ortalamalarına göre IL-6 seviyelerinin en fazla ortalama sahip grup ise YYD+TK+bLf olmuştur (Şekil 10).

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen ve tam kat deri defekti modeli oluşturulan sıçanlarda sığır laktoferrinin yara iyileşmesi üzerine makroskobik görüntüleme ile yara alanı ölçülüp ve biyokimyasal parametreler açısından etkisi araştırılmıştır. Son 60 yılda, araştırmalar Lf'nin antimikrobiyal etkileri olduğunu bağışıklık sistemi gelişimini iyileştirebileceğini göstermiştir (143,144). Sığır laktoferrinin yara iyileştirmesi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Laktoferrin mikrobiyal büyümeyi baskımlarken, adaptif bağışıklık tepkilerinin gelişimi üzerindeki önemli etkisi sayesinde doğrudan birinci basamak savunma aktivitesini de etkinleştirir (145,146). Laktoferrin tarafından demirin bağlanması hakarete bağlı oksidatif stresi azaltır, böylece sitokinlerin büyüklüğünü ve spesifik üretimini değiştirir (146). Lf, T-hücre öncüllerinin yetkin yardımcı hücrelere olgunlaşmasını teşvik ederek ve olgunlaşmamış B-hücrelerinin etkili antijen sunan hücrelere farklılaşmasıyla adaptif bağışıklık sistemi üzerinde derin bir modülatör etkiye sahiptir, ayrıca doğal öldürücü (NK) hücre aktivitesini ve fagositik aktiviteyi artırır, reaktif oksijen türlerinin üretimini değiştirerek nötrofillerin işlevini teşvik ederek doğuştan gelen bağışıklık sisteminin lökositleri üzerinde değişiklikler yaratmaktadır (147,148). Sığır Laktoferrinin , yüksek oranda katyonik N terminali ve serin proteaz aktivitesi olan 78 kDa, demir bağlayıcı bir glikoproteindir (38). Hem plazmin hem de bLf, arginin kalıntılarının C-terminal tarafındaki peptit bağlarını hidrolize eder, bu da bLf 'nin yara iyileşmesine benzer bir katkı yapabileceğini düşündürür (145). Deneysel çalışmalara bakıldığında özellikle yumuşak dokularda, Lf 'nin iltihaplanmaya karşı doğrudan cilt granülasyonunu ve epitelizasyonunu teşvik ederek yara iyileştirme sürecini desteklediği bulunmuştur. Bu etkiler, fibroblast ve keratinosit çoğalmasını ve göçünü uyarma, hücre dışı matriks bileşenlerinin sentezini artırma yeteneğine dayanmaktadır, bu da Lf'nin yara iyileşmesindeki yüksek terapötik potansiyelini açıklamaktadır (149,150). Takayama ve ark. (2003) ile Engelmayer ve ark. (2008) yaptığı çalışmalar da bu açıklamayı desteklemekte ve çalışmalarında Lf'nin fibroblast motilitesini ve kollajen jel kasılmasını desteklediğini, yara kasılması için bir model olduğunu göstermektedir (151, 152). Laktoferrinin, mukozal epitel hücrelerde ve enflamatuar hücrelerde sitokin tepkilerini modüle etme yeteneği iyi bilinmektedir.

Sitokinler sinerji içinde hareket eder ve reseptörlerinde veya hücre içi sinyal iletim yolları boyunca meydana gelebilecek örtüşen aktiviteye sahiptir. Hanj ve ark. (2004) yaptığı

çalışmada bLf 'nin etkilerini, deri defekti oluştuktan sonra üretilen sitokin seviyelerinin değiştirilmesi yoluyla yara dokusunu iyileşmesi yönünde uyguladığını göstermektedir. (153, 154). Bizim çalışmamızda sıçanlara pelet yeme (200 mg/kg canlı ağırlık) sığır laktoferrin uygulamasının Lf'nin hem in vitro hem de hayvan modeli çalışmalarında ve ayrıca klinik deneylerde IL-6 'nın önemli bir negatif düzenleyicisi olduğu kapsamlı bir şekilde gösterilmiştir Bu çalışmada bulgulara bakıldığında zaman bLf'nin özellikle VEGF'in seviyesi üzerine negatif yönde etki edici bir özelliği olduğu gösterilmiştir. bLf ile tedavi edilen tam kat deri defektinin VEGF ekspresyonunun etkilerini araştırmak için hayvan deneyleri kullanılmıştır ve bLf'nin oral yoldan verilmesinin, tam kat deri defekti üzerinde vaskülojeniz ve anjiyogenez ile ilişkili olarak VEGF aşırı ekspresyonunu azaltabileceğini göstermiştir. H. Bohlen ve arkadaşlarının (2000) yaptığı bir çalışmada sığır laktoferrinin bir anjiyogenez inhibitörü olarak hareket edebilir ve bu nedenle yara tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduğu ve özellikle anjiyogenezin bLf tarafından baskılanmasına VEGF-A aracılık eder ve bLf sıçanlarda yara kaynaklı anjiyogenezi inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu çalışmada, H.Bohlen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadaki laktoferrinin VEGF seviyeleri üzerine inhibe edici etkisiyle benzer sonuçlar görülmüştür. Fakat H. Bohlen ve arkadaşlarının çalışmasındaki verilerin aksine laktoferinin, kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Carmo Ls. Ark (2013) yılında yaptıkları 4 hafatalık yüksek yağlı diyet ile besleme yapılarak, obezite ve sitokinler üzerine kurulu çalışmada interlökin (IL)-1 α , IL-6, tümör nekrozu üretimi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladıkları çalışmada, Yüksek Yağlı Diyet grubundaki kemik iliği hücreleri, kontrol grubundaki hücrelerle karşılaştırıldığında daha fazla IL-1 α , IL-6 ve TNF- α üretimini gözlemlemişlerdir (155). Andrich DE. Ve ark. (2019) yılında yüksek yağlı diyetlerin ve diyetle bağlı obezitenin, iskelet kası da dahil olmak üzere birçok organda metabolik homeostazına ve oksidatif stres ve inflamasyonu seviyelerine bakıldığı çalışmalarında yüksek yağlı diyet verilen grupların kontrol grubuna göre proinflamatuvar olan interlökin 6'nın 4.5 kata kadar artışını gözlemlemişlerdir (156).

Bizim çalışmamızda da yukarıdaki verilerle benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Grupların serum IL-6 protein miktarlarına bakıldığında 21. günde en düşük TK grubunda ölçülmüştür. TK ve TK+YYD grubunun serum IL-6 seviyelerine bakıldığında YYD+TK grubunun IL-6 seviyelerinin TK grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir. YYD+bLf grubu ile bLf grubunun IL-6 seviyelerine bakıldığında ise YYD içeren grubun IL-6 seviyelerinin biraz daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 8). Böylelikle

çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile beslenmenin IL-6 seviyelerinin artması yönünde bir etki yaptığı sonucuna varılmıştır. bLf ile Kontrol grubunun IL-6 seviyeleri kıyaslandığında bLf grubunun IL-6 seviyelerinin daha düşük olduğu görülmekte ve bu verilere göre de bLf'nin serum IL-6 seviyesini az miktar da olsa düşürdüğü çıkarılmaktadır.

Orhan C. ve ark. (2016) yılında yaptıkları bir çalışmada Mesozeaxantin'in yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanlarda retinal oksidatif hasara ve retinanın büyüme ve transkripsiyon faktörlerine karşı koruyucu potansiyelini değerlendirmişlerdir. Sıçanlarda yaptıkları bu çalışmada yüksek yağlı diyet verilen grupların VEGF seviyelerinin arttığını gözlemlemişlerdir (157).

Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Grupların serum VEGF seviyelerine miktarlarına bakıldığında 21. günde en düşük TK grubunda ölçülmüştür. TK ve TK+YYD grubunun VEGF seviyelerine bakıldığında YYD+TK grubunun VEGF seviyelerinin TK grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir. YYD+bLf grubu ile bLf grubunun VEGF seviyelerine bakıldığında ise YYD içeren grubun VEGF seviyelerinin daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 9). Bu sonuçlara dayanak olarak yüksek yağlı diyetle beslenen gruplarda VEGF seviyelerini arttırdığı sonucuna varılmaktadır. bLf'nin VEGF seviyeleri üzerine bakıldığında Kontrol grubuna ve YYD+TK+bLf grubuna göre daha düşük seyrettiği görülmekte ve bLf'nin VEGF seviyeleri üzerine inhibe edici bir etkisinin olduğu çıkarılmaktadır.

Bu çalışmada grupların serumlarında VEGF protein miktarlarına bakıldığında istatistiki olarak anlamlı farklılık sadece 21. günde tespit edilmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile TK, bLf ve YYD+TK grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. TK grubu ile kontrol grubu dışındaki tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. bLf grubu ile diğer gruplar kıyaslandığında ise TK ve YYD+TK grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. YYD+TK grubunu diğer gruplar ile karşılaştırdığımızda tüm gruplar ile istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. YYD+bLf grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise TK ve TK+YYD grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Son grubumuz YYD+TK+bLf grubunu diğer gruplar ile kıyasladığımızda TK, bLf ve YYD+TK grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir.

Weisberg ve ark. (2003) yaptığı bir çalışmada YYD 'nin neden olduğu inflamasyonun adipoz dokularda ve özellikle obez organizmaların genişlemiş adipositlerini çevreleyen aktive makrofajların birikmesinden kaynaklanabileceği fikrini savunmaktadır. Enflamasyon, hasarlı dokulara lökosit göçü içeren vücudun doğal bir savunma mekanizmasıdır. Enfeksiyöz ve alerjik tetikleyiciler, sınırlı faydalı etkileri olduğu düşünülen akut inflamasyonun başlangıç fazını indükler. Ancak, devam eden akut inflamasyon, doku hasarı ile sonuçlanan kronik inflamasyona yol açar. Akut inflamasyon, nötrofilik hücrelerin infiltrasyonu ve ardından monositik hücreler ile karakterize edilirken, kronik inflamasyon, inflamasyon bölgesinde makrofajlar ve lenfositler gibi mononükleer hücrelerin varlığı ile karakterize edilir. Bu hücrelerin inflamatuvar bölgede toplanmasına ek olarak, inflamatuvar süreçler sırasında çeşitli sitokinler de üretilir (158).

Bu sitokinler sinerji içinde hareket eder ve reseptörlerinde veya hücre içi sinyal iletim yolları boyunca meydana gelebilecek örtüşen aktiviteye sahiptir. Bu sitokinler temel olarak akut faz proteinlerinin (APP'ler) üretimini uyaran interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 β (IL-1 β), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interferon-y (IFN-y) ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)'dır. IL-6, sadece akut faz reaksiyonlarını ortaya çıkarmakla kalmaz, aynı zamanda son-aşama B hücresi farklılaşması, immünoglobulin salgılanması ve T hücresi aktivasyonu yoluyla spesifik hücresel bağışıklık yanıtının gelişmesine yol açar. Dolayısıyla IL-6, enflamasyonun akut fazından kronik fazına geçiş için önemli bir modülatördür (159). IL-6'nın plazma ve yağ dokusu düzeylerinin obezite düzeylerinde iyi yönde korelasyon gösterdiği iki farklı çalışma tarafından ayrı ayrı rapor edilmiştir (160, 161). IL-6 seviyeleri, yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanlarda yükselir ve IL-6 ile geliştirilmiş YYD 'nin neden olduğu steatoz ve karaciğer hasarını meydana getirir. YYD 'nin neden olduğu obezite, eksojen IL-6'ya yanıt olarak azalmış hepatik STAT3 fosforilasyonu ve sitokin sinyalleme-3 (Socs3) mRNA ekspresyonunun baskılayıcısı ile ilişkilidir (162,163). YYD, bağırsak bakterilerinin artmasına ve bağırsak bariyerlerinin geçirgenliğinin genişlemesine neden olabilmektedir. YYD kaynaklı disbiyotik mikrobiyom bağırsak mikrobiyotasını ve bağırsak geçirgenliğini değiştirdiğinden, sonuçta büyük inflamatuvar yanıtla sonuçlanabilir (164). IL-6, inflamatuvar ve yerleşik hücreler tarafından üretilen bir sitokindir ve çeşitli inflamasyonların patogeneğinde çok önemli bir role sahiptir. Gallucci ve ark (1998) son zamanlarda, IL-6 KO farelerinin, yara bölgelerinde bir transkripsiyon faktörü AP-1'in aktivasyonunun azalmasıyla yara iyileşmesinde bozulma sergilediğini bildirmiştir.

Deneyisel çalışmamızda grupların 21. günde bakılan IL-6 için çoklu karşılaştırma analizlerine göre Kontrol grubu ile TK ve YYD+TK grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). TK grubu ile kontrol grubu dışındaki tüm gruplar ile anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. bLf grubu ile diğer gruplar kıyaslandığında ise TK ve YYD+TK grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. YYD+TK grubunu diğer gruplar ile karşılaştırdığımızda tüm gruplar ile istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. YYD+bLf grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise TK ve TK+YYD grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Son grubumuz YYD+TK+bLf grubunu diğer gruplar ile kıyasladığımızda TK, bLf ve YYD+TK grupları arasında anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. Zimecki ve ark (1998) yapmış olduğu çalışmada laktoferrinin IL-6 protein seviyesini düşürdüğüne dair sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Yüksek yağlı diyet ile dengenin bozulması ile hem bağırsak hem de sistemik inflamasyona neden olan bir faktör olarak görülmüştür (165). Bulgularımız bLf'nin VEGF aracılı anjiyogenez üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmaları anlamaya ve yara tedavisinde bLf 'nin potansiyel kullanım olasılığını düzenlemeye yardımcı olabilir. Yağ dokusu metabolik olarak etkisiz değildir, ancak adipokinler olarak bilinen hormon benzeri maddeleri aktif olarak salgılar. Endotel fonksiyonunu ve anjiyogenezi etkilediği gösterilen bir adipokin leptindir. Leptin öncelikle adipositler tarafından salgılanır ve serumda yağ dokusu miktarıyla doğru orantılı olarak bulunur (164,165). Leptin, vücuttaki enerji depolarının yenilenmesi için hipotalamusa bir sinyal olarak beyaz yağ dokusu tarafından sentezlenir ve salgılanır, yağ kütlesi ile orantılı olarak salgılanır ve bu nedenle obezite bağlamında yükselir (164). Anjiyogenez üzerindeki leptin etkilerine, aynı kökenli reseptör Ob-R aracılığıyla sinyalleme aracılık eder. Leptin seviyelerindeki akut artışlar proanjiyojenik olabilse de, obezite vakalarında olduğu gibi leptin seviyelerindeki kronik yükselme, protein tirozin fosfataz B1'in (PTP1B) yukarı regülasyonu yoluyla zayıflatılmış anjiyojenik tepkilerle ilişkilidir (166). VEGF'nin pozitif bir düzenleyicisidir. Ayrıca, leptin sinyalizasyonunun blokajı ksenogreftlerinin modellerinde VEGF ekspresyonunu belirgin şekilde azaltmıştır (167).

Yara iyileşmesi , hemostaz/inflamasyon fazı, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazı dahil olmak üzere ardışık ancak örtüşen fazlar tarafından yönetilen çok yönlü bir süreci içeren insan veya hayvanda önemli fakat karmaşık bir süreçtir (164). Proliferasyon aşamasına eşlik eden önemli bir aktivite, anjiyogenez olarak bilinen bir süreç olan yeni

kan damarlarının oluşumudur. Sağlam dokularda, mikrovaskülatür, atık ürünlerin ve karbondioksitin uzaklaştırılmasıyla dengeli olarak dokulara yeterli besin ve oksijenin verildiği bir homeostaz durumunda kalır. Yaralanma üzerine, mikrovaskülatör bozularak sıvı birikimine, iltihaplanmaya ve hipoksi gelişimine neden olur. Hipoksi ve inflamatuvar sitokinler, endotel hücrelerini aktive ederek bağışıklık hücrelerinin işe alınmasına yol açar. Yaralanan doku, daha sonra makrofajlar tarafından takip edilen erken bir nötrofil akışını işe alır. Makrofajların son zamanlarda bir fenotip sürekliliği halinde polarize olduğu anlaşılmıştır ve bu polarizasyonun doğasının yara iyileşmesi, skar oluşumu ve anjiyogenez üzerinde kritik bir etkisi vardır (168). IL-6'nın yaraların iyileşmesindeki rolü küçümsenemez ve inflamatuvar yanıtın zamanlaması, IL-6 sinyal yolunun bozulmasının yara iyileşmesini geciktirdiği başarılı bir iyileşme ve yara kapanması için çok önemlidir. IL-6'nın yaradaki birincil ekspresyonları M1 makrofajlardır, kronik inflamatuvar sinyalleme nedeniyle yara iyileşmesine zarar verebilir. Tersine, IL-6, makrofajlar üzerinde IL-4R'nin ve Th2 lenfositleri tarafından IL-4 salgılanmasının desteklenmesi yoluyla M2 polarizasyonu üzerinde bir miktar kontrole sahiptir ve bu M2 makrofajları, proliferatif sitokinler TGF- β ve VEGF'nin önde gelen salgılayıcılarıdır. IL-6/TGF- β geri besleme döngüsü, fibroblastlarda pozitif bir otokrin döngüsünde çalıştığından, çeşitli profibrotik cilt koşullarının patogenezinde rol oynar. IL-6 ile stimülasyon, miyofibroblastların hayatta kalmasını destekler ve aşırı kontraktür, bazı kutanöz fibropatilerin bir özelliğidir. IL-6'ya yanıt olarak endotel dokusu, keratinositler, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından VEGF ekspresyonu, artan vaskülarizasyona dayanan fibrotik hastalıklara katkıda bulunur. Bu çalışmada 3 grupta (TK, TK+YYD, TK+YYD+bLf) tam kat deri defekti modeli oluşturulmuştur. Bulgularda da anlatıldığı gibi bu 3 grup makroskobik olarak görüntülenmiştir. İki grup yüksek yağlı diyet ile beslenirken (TK+YYD, TK+YYD+bLf) bir gruba sığır laktoferrin (YYD+TK+bLf) verilerek, bLf' nin tam kat deri defekti oluşturulan sıçanlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Tam kat deri defekti modeli oluşturulmuş sıçanlarda makroskobik olarak yara alanlarını görüntülemek için 1. ve 21. (Resim 3) günlerde anestezi altında görüntüleme yapılmıştır. Elde edilen yara alanlarının 1. gün ve 21. gündeki yara alanlarının küçülme oranları karşılaştırılmıştır. Makroskobik görüntüleme yapılmadan önce yara bölgesinin yüzeyi, enflamasyon olmayan ve uzayan tüyler traş edildikten sonra değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile bLf ile beraber yüksek yağlı diyetle beslenen grup (TK+YYD+bLf) diğer tam kat deri defekti modeli oluşturulan gruplara (TK, YYD+TK) nazaran yara alanı bölgesinin son gün (21. gün) ölçüldüğünde en küçük yara alanına sahip

olduğu ve laktoferrinin yara alanının diğer gruplara göre daha fazla kapanması ve skar izinin kaybolmasının bu çalışmamız ile bLf'nin epitel hücre göçünü teşvik ederek sağladığını düşünebiliriz.

Belvedere ve ark (2000) yapmış olduğu bir çalışmada laktoferrinin deri lezyonları üzerindeki etkilerine bakmışlardır. Laktoferrinin farelerin sırtında yapılan cilt yaralarının kapanmasını desteklediğini göstermişlerdir ve bunu da laktoferrinin antimikrobik etkisini güçlendirecek mevcut bağışıklık hücrelerinin ve kofaktörlerin etkisine bağlamışlardır. Bizim yaptığımız çalışma ile Belvedere ve ark (2000) yaptığı çalışmalarda benzer sonuçlar bulmuştur.

Başka bir çalışmada ise Saaristo ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada yara iyileşmesi sürecinde büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin VEGF miktarlarını arttırdığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda bu belirtilen düşünceyi destekleyici bulgular elde edilmiştir. Sığır Laktoferrinin verildiği gruplarda yara alanlarının daha küçüldüğü bizim çalışmamızda da tespit edilmiştir.

Obezite, daha fazla yağdan zengin gıda alımı ve hareketsiz yaşam tarzı da dahil olmak üzere modern toplumdaki davranış değişikliklerini yansıtan küresel öneme sahip büyük bir halk sağlığı ve ekonomik sorunu temsil eder (169).

Yang ve ark. (2007) yaptığı bir çalışmada enerji alımı ve enerji harcaması arasındaki dengesizlik nedeniyle anormal veya aşırı yağ birikimi ile karakterize olduğunu öngörmüşlerdir. Bu çalışmada hiperlipidemi, lipid metabolizmasında düzensizliğe neden olduğu ve obezite için önemli bir risk faktörü olduğunu rapor edilmiştir.

Shi ve ark. yaptığı bir çalışmada kilo alıp verme sırasında diyetle verilen laktoferrinin, yağ kütlesi üzerine daha kolay bir şekilde etki edebileceğine yer verilmiştir. Morishita ve ark. 4 hafta süren çalışmalarında ise, ICR farelerine gastrik entübasyon yoluyla laktoferrin verilmiştir. Bu çalışma sonucunda, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, laktoferrin verilen farelere göre visseral yağ birikiminde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Morishita ve arkadaşlarının ile Takeuchi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarına bakıldığında ise diyetteki sığır laktoferrinin ile beslenen farelerde plazma Tag ve Nefa konsantrasyonlarını azalttığını gösteren ancak fareler yüksek yağlı bir diyetle beslendiğinde, laktoferrinin azalttığı plazma Tag ve Nefa konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışmamızda benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Bu çalışmada, 21 gün boyunca 200 mg/kg bL ile oral uygulamanın obezite gelişimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, 200 mg/kg bLF takviyesinin vücut ağırlığı artışını ve yağ indeksini istatistiki olarak anlamlı fark çıkmamasına rağmen kilo ağırlık artışını azalttığını gösterdi. YYD ile beslenen gruplarda diğer gruplara göre ağırlık artışının daha fazla olduğuna ulaşılmıştır (Şekil 6).

Ley ve ark (2005) yaptığı bir çalışmada ise laktoferrinin obeziteye Bacteroidetes-Firmicutes oranında bir azalmaya eşlik ettiğini bildirmiştir, luminal enerjinin çıkarılmasında daha yüksek bir verim olduğunu ve dolayısıyla kilo alımına katkıda bulunduğunu gösterir.

Yapılan bu çalışmada yağlı diyet verilen grup ile YYD+bLf arasında bir değişiklik bulunmadı, bu da bLf'nin anti-obezite etkisinin muhtemelen ilişkili olmadığını göstermektedir. Fakat bu durumun tam tersi olduğu ve laktoferrin verilen grupların ağırlık artışlarının yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplara nazaran daha az arttığı gözlenmiştir (Şekil 6, Tablo 2).

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız, diyetlere uygun dozlarda katılan bLf ve yüksek yağlı diyetin tam kat deri defekti modeli oluşturulan sıçanlarda yara iyileşmesi süreçlerine etkisine bakılmıştır. Diyetlerine bLf ilave edilen grupların yara iyileşmesi daha hızlı olarak şekillenmiştir. Tam kalınlıktaki yaraların kendiliğinden iyileşmesi kompleks bir süreç olup ve iyileşme aşamaları belirli bir süre almaktadır. Tam kalınlıktaki yaraların tedavisine yönelik iskeleler hem yapısal hem de işlevsel olarak uygun doku rejenerasyonunu sağlamalıdır. İdeal bir iskele, doğal derinin fiziksel, mekanik ve biyokimyasal özelliklerini taklit etmelidir. Bununla birlikte, mevcut tek veya çift katmanlı cilt iskeleleri, hassas mimari ve işlevsellikten yoksundur, bu nedenle, tam kalınlıktaki cilt yaralarının iz bırakmadan yenilenmesini sağlayamaz. Son zamanlarda, Laktoferrinin daha geleneksel tedavilerle sinerji içinde verimli uygulamalar bulacağını ve büyük olasılıkla bu tedavilerin daha düşük, daha sürdürülebilir dozlarda uygulanmasına izin vereceği düşünülmektedir. Lf, üzerinde etkide bulunduğu sisteme göre farklı sonuçları tetikleyebilir. Aslında Lf, hücre döngüsü ilerlemesi ve normal hücrelere ve bağışıklık hücrelerine doğru hücre göçü üzerinde olumlu etkiler gösterir. Ayrıca, Lf, bağışıklık tepkisini artırarak gelişmeyi önleyebilir veya yara iyileşmesini destekleyebileceği ön görülmektedir. Yüksek yağlı diyet ve bLf verilen çalışmalarda ise beslenme süreleri çok daha uzatılarak canlı ağırlık artış ortalama verilerinin güvenilirliği artırılabilir.

Bu bulgular ışığında; Laktoferrin ve özellikle onun sığır sütü türevi formu olan sığır laktoferrinin, birçok inflamasyon ve yara iyileşmesi için alternatif bir tedavi için potansiyel olarak güçlü bir aday olarak karşımıza çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al: Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2014;384:766-781.
2. Pal, S. and Radavelli-Bagatini, S. (2013). The effects of whey protein on cardiometabolic risk factors. *Obes. Rev.* 14:324–343.
3. Despres, J. P. and Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 444:881–887. 2006.
4. Pal, S. and Radavelli-Bagatini, S. (2013). The effects of whey protein on cardiometabolic risk factors. *Obes. Rev.* 14:324–343.
5. Bouchard C., “Can obesity be prevented?” *Nutr Rev.* 54 (4 Pt 2):125-130 (1996).
6. Caterson ID., Brom J., “Pocket Picture Guide Obesity 1th edition”, Elsevier science. 20-47 (2001).
7. Onat A. “Türkiye’de Obezitenin Kardiyovasküler Hastalıklara Etkisi”, *Türk Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 31(5):279-289 (2003).
8. Field AE, Barnoya J, Colditz GA, “Handbook of Obesity Treatment 1th edition”, Wadden TA, Stunkard AJ, The Guilford Press, P:12-13 (2003).
9. Singer, A. J., Clark, R. A. (1999) Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.* 341, 738– 746.1999.
10. Martin, P. (1997) Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276, 75– 81.
11. Wong, C.W. and D.L. Watson. 1995. Immunomodulatory Effects Of Dietary Whey Proteins In Mice. *Journal of Dairy Research* 62 : 359 – 368.
12. Almults, W.R. and J.B. German. 2001. Health Enhancing Properties of Dairy Ingredients. *Dairy Council Digest* 72 (12) 7 - 12.
13. Giansanti, F.; Panella, G.; Leboffe, L.; Antonini, G. Lactoferrin from Milk: Nutraceutical and Pharmacological Properties. *Pharmaceuticals* 2016, 9, 61.
14. Teng, C.T.; Pentecost, B.T.; Chen, Y.H.; Newbold, R.R.; Eddy, E.M.; McLachlan, J.A. Lactotransferrin gene expression in the mouse uterus and mammary gland. *Endocrinology* 1989, 124, 992–999.
15. Teng, C.T.; Beard, C.; Gladwell, W. Differential expression and estrogen response of lactoferrin gene in the female reproductive tract of mouse, rat, and hamster. *Biol. Reprod.* 2002, 67, 1439–1449.
16. Abrink, M.; Larsson, E.; Gobl, A.; Hellman, L. Expression of lactoferrin in the kidney: Implications for innate immunity and iron metabolism. *Kidney Int.* 2000, 57, 2004–2010.

17. Fillebeen, C.; Mitchell, V.; Dexter, D.; Benaissa, M.; Beauvillain, J.C.; Spik, G.; Pierce, A. Lactoferrin is synthesized by mouse brain tissue and its expression is enhanced after MPTP treatment. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1999, 72, 183–194.
18. Redwan, E.M.; Uversky, V.N.; El-Fakharany, E.M.; Al-Mehdar, H. Potential lactoferrin activity against pathogenic viruses. *Comptes Rendus Biol.* 2014, 337, 581–595.
19. E.N. Baker, H.M. Baker Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin *Cell. Mol. Life Sci.*, 62 (2005), pp. 2531-2539, 10.1007/s00018-005-5368-9.
20. D. Legrand, A. Pierce, E. Ellass, M. Carpentier, C. Mariller, J. Mazurier Lactoferrin Structure and Functions Z. Bösze (Ed.), *Bioact. Compon. Milk*, Springer New York, New York, NY (2008), pp. 163–194, 10.1007/978-0-387-74087-46.
21. D. Legrand Overview of lactoferrin as a natural immune modulator *J. Pediatr.*, 173 (Suppl) (2016), pp. S10-15, 10.1016/j.jpeds.2016.02.071.
22. S.A. González-Chávez, S. Arévalo-Gallegos, Q. Rascón-Cruz Lactoferrin: structure, function and applications *Int. J. Antimicrob. Agents*, 33 (301) (2009), pp. e1-8, 10.1016/j.ijantimicag.2008.07.020.
23. D. Sharma, S. Shastri, P. Sharma Role of lactoferrin in neonatal care: a systematic review *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 30 (2017), pp. 1920-1932, 10.1080/14767058.2016.1232384.
24. P. Puddu, P. Valenti, S. Gessani Immunomodulatory effects of lactoferrin on antigen presenting cells *Biochimie*, 91 (2009), pp. 11-18, 10.1016/j.biochi.2008.05.005.
25. T. Siqueiros-Cendón, S. Arévalo-Gallegos, B.F. Iglesias-Figueroa, I.A. García-Montoya, J. Salazar-Martínez, Q. Rascón-Cruz Immunomodulatory effects of lactoferrin *Acta Pharmacol. Sin.*, 35 (2014), pp. 557-566, 10.1038/aps.2013.200.
26. Hessin A HR, Hassan A, Yassin N, Kenawy S. Lactoferrin enhanced apoptosis and protected against thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *OA Maced J Med Sci.* 2015;3:195–201. doi: 10.3889/oamjms.2015.038.
27. Naozi S., Maroufi NF., Nouri M., Oskouei MP., Shiralizade J., Yekani F., Mamipour M., Faridvand Y., Decreasing serum homocysteine and hypocholesterolemic effects of Bovine lactoferrin in male rat fed with high-cholesterol diet. *J. Cardiovasc Thorac Res.* 10(4). 203-208. 2018.
28. P. G. Reeves, F. H. Nielsen Jr, G. C. Fahey, J. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *Nutr* 1993,123(11)
29. Vogel H. J. and Sicairos N. L. “Preface to the special issue on lactoferrin ” *Biochemistry and Cell Biology*, 90(3):1 (2012).
30. García-Montoya I.A., Cendon T.S., Arévalo-Gallegos S., Q. Rascón-Cruz “Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview ” *Biochimica et Biophysica Acta* 1820 ,226–236 (2012).

31. Avcı ve Sel, 2004). : Avcı G. ve Sel T., “ Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde süt ve serum laktoferrin düzeyleri”, Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 51: 181-187 (2004).
32. Steijns, J. M. ve Hooijdonk, A. C. V. 2000. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. *British Journal of Nutrition*. 84(1) 11-17.
33. Erga, k . S. Peen, E, Tenstad, O. ve Reed, R. K. 2000. Lactoferrin and antilavtoferrin antibodies: Effects o f lactoferrin on albumin extravasation in different tissues in rats. *Açta Physiologica Scandinavica*. 170 (1) 11 – 19.
34. Gonzalez-Chavez S.A., Arevalo-Gallegos S., Rascon-Cruz Q., ‘‘Lactoferrin: structure, function and applications’’ *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33: 1-8 (2009).
35. Losnedahl, K. J. Wang, H. Aslanı, M, Sixiang, Z. ve Hurley, W.L. 1996. Antimicrobial Proteins in Milk. *Illinois Dairy Report 1996*, Department o f Animal Sciences, University of Illinois, 5 p.
36. Kuvvata, H. Yip, T. Yip, C.L. Tomita, M. ve Hutchens, T.W. 1998. Bactericidal domain lactoferrin: Detection, quantitation and characterization o f lactoferricin in serum by SELDI affinity mass spectrometry. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 245 (1998) 764 - 773.
- 37.Kanyshkova T.G., Buneva V.N., Nevinsky G.A., 2001. Lactoferrin and its biological functions. *Biochemistry (Moscow)* 66: 1–7.
38. Baker, E.D., Baker, H.M. 2009. A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin. *Biochimie* 91: 3-10.
- 39 Percival, M. 1999. Intestinal health. *Ansr - Applied Nutritional Science Reports*. 5 (5) 1-6.
- 40 Vegarud, G. E. Langsrud, T. ve Svenning C. 2000. Mineral - binding milk proteins and peptides; occurrence, biochemical and technological characteristics. *British Journal of Nutrition* 84(1)91 - 98.
41.). Lygren, B. Sveier, H. Hjeltne, B. ve Waagbo, R. 1999. Examination o f the immunomodulatory properties and the effect on disease resistance o f dietary bovine lactoferrin and vitamin C fed to Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) for a short - term period. *Fish & Shellfish Immunology* 9(2) 95 - 107.
42. Van Berkel, P.H.C., Geerts, M.E., van Veen, H.A., Kooiman, P.M., Pieper, F.R., de Boer, H. A., Nuijens, J.H., 1995. Glycosylated and unglycosylated human lactoferrins can both bind iron and have identical affinities towards human lysozyme and bacterial lipopolysaccharide, but differ in their susceptibility towards tryptic proteolysis. *Biochemical Journal* 312: 107-114.
43. Teng, C.T. Regulation of lactoferrin gene expression by estrogen and epidermal growth factor: Molecular mechanism. *Cell Biochem. Biophys*. 1999, 31, 49-64.

44. Grey, A., T. Banovic, Q. Zhu, M. Watson, K. Callon, K. Palmano, J. Ross, D. Naot, I. R. Reid, and J. Cornish. 2004. The low-density lipoprotein receptor-related protein 1 is a mitogenic receptor for lactoferrin in osteoblastic cells. *Mol. Endocrinol.* 18:2268–2278.
45. Lactoferrin reduces in vitro osteoclast differentiation and resorbing activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 296 (12163011): 261-266.)
46. Cornish J.Callon K.E. Naot D.Palmano K.P.Banovic T.Bava U.Watson M.Lin J.-M.Tong P.Chen Q. Lactoferrin is a potent regulator of bone cell activity and increases bone formation in vivo. *Endocrinology.* 2004; 145 (15166119): 4366-4374.)
47. Cornish J.Palmano K. Callon K.E. Watson M. Lin J.M. Valenti P, Naot D, Grey A.B, Reid I.R.Lactoferrin and bone; structure–activity relationships.*Biochem. Cell Biol.* 2006; 84 (16936800): 297-3029).
- 49.Connely OM. Antiinflammatory activities of lactoferrin. *J Am Coll Nutr* 2001;20(5 Suppl.):389S–95S.
50. Farnaud, S., Evans, R.W., 2003. Lactoferrin: a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Molecular Immunology* 40: 395–405. , Brock, J.H., 2002. The physiology of lactoferrin. *Biochemistry and Cell Biology* 80: 1–6.
51. Brock J. The physiology of lactoferrin. *Biochem Cell Biol* 2002;80(1): 1-6.
52. Saarinen UM, Siimes MA. Iron absorption from infant milk formula and the optimal level of iron supplementation. *Acta Paediatr Scand* 1977;66:719–22.
53. Siimes MA, Salmenperä L, Perheentupa J. Exclusive breast-feeding for 9 months: risk of iron deficiency. *J Pediatr* 1984;104:196–9.
54. Johanson, B. Isolation of an iron-containing red protein from human milk. *Acta Chem. Scand.* 1960, 14, 510–512.
55. Wang, B.; Timilsena, Y.P.; Blanch, E.; Adhikari, B. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019, 59, 580–596.
56. Jiang, R.; Lopez, V.; Kelleher, S.L.; Lönnerdal, B. Apo- and holo- lactoferrin are both internalized by lactoferrin receptor via clathrin-mediated endocytosis but differentially affect ERK-signaling and cell proliferation in Caco-2 cells. *J. Cell Physiol.* 2011, 226, 3022–3031.
57. Yao, X.; Bunt, C.; Cornish, J.; Quek, S.Y.; Wen, J. Oral Delivery of Bovine Lactoferrin Using Pectin-and Chitosan-Modified Liposomes and Solid Lipid Particles: Improvement of Stability of Lactoferrin. *Chem. Biol. Drug Des.* 2015, 86, 466–475.
58. Viljoen, M. 1995. Lactoferrin: a general review. *Haematologica* 80: 252-267.
59. R.T. Coughlin, S. Tonsager, E.J. McGroaty Quantitation of metal cations bound to membranes and extracted lipopolysaccharide of *Escherichia coli* *Biochemistry*, 22 (1983), pp. 2002-2007.
60. E.C. Leitch, M.D. Willcox Elucidation of the antistaphylococcal action of lactoferrin and lysozyme *J Med Microbiol*, 48 (1999), pp. 867-871.

61. Wakabayashi H, Abe S, Okutomi T, Tansho S, Kawase K, Yamaguchi H. Cooperative anti-Candida effects of lactoferrin or its peptides in combination with azole antifungal agents. *Microbiol Immunol*. 1996;40(11): 821-825.
62. Gonzelez-Chavez SA, Arevalo-Gallegos S, Rasc6n-Cruz Q *Int J Antimicrob Agents*. Lactoferrin: structure, function and applications. 2009; 33(4): 301.el-8.
63. Brink W. Lactoferrin: The Bioactive Peptide that Fights Disease. <http://www.brinkzone.com/lacto.html>, (2001).
64. Joannou C. Lactoferrin Structure. http://www.umds.ac.uk/mrg/acto_struct.html, (2001).
65. Sanchez L., Calvo M., Brock J. M. Biological Role of Lactoferrin. *Archives of Disease in Childhood*, 67: 657-661, (1992).
66. World Health Organization (2020) Rolling updates on coronavirus disease (COVID-19). Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen>. Accessed 7 Sept 2020.
67. Huang C, Wang Y, Xingwang L, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395:497e506.
68. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 2020;92:418–23.
69. Rosa L, Cutone A, Lepanto MS, Paesano R, Valenti P. Lactoferrin: a natural glycoprotein involved in iron and inflammatory homeostasis. *Int J Mol Sci*. (2017) 18:1985.
70. . Ishikado A, Imanaka H, Takeuchi T, Harada E, Makino T. Liposomalization of lactoferrin enhanced its anti-inflammatory effects via oral administration. *Biol Pharm Bull*. (2005) 28:1717–21. doi: 10.1248/bpb.28.1717.
71. Ahmad I, Owais M, Shahid M, Aqil F. Combating Fungal Infections. In: *Problems and remedy*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010. p 397–422.
72. Benson KF, Carter SG, Patterson KM, Patel D, Jensen GS. A novel extract from bovine colostrum whey supports anti-bacterial and antiviral innate immune functions in vitro and in vivo. *Prev Med* 2012; 54: 116–23.
73. Rovere-Querini P, Capobianco A, Scaffidi P, Valentini B, Catalanotti F, Giazzone M, et al. HMGB1 is an endogenous immune adjuvant released by necrotic cells. *EMBO Rep* 2004; 5: 825–30.
74. Lönnerdal B. Bioactive proteins in breast milk. *J Paediatr Child Health* 2013; 49: 1-7.
75. Wang X, Liu S, Xu H, Yan W. Effects of recombinant human lactoferrin on improving the iron status of IDA rats. *Wei Sheng Yan Jiu* 2012;41:13
76. Ueno HM, Urazono H, Kobayashi T. Serum albumin forms a lactoferrin-like soluble iron-binding complex in presence of hydrogen carbonate ions. *Food Chem* 2014;145:90–4.

77. Farnaud S, Evans RW. Lactoferrin a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol Immunol* 2003;40:395–405.
78. Chierici R, Sawatzki G, Tamisari L, Volpato S, Vigi V. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin. 2. Effects on serum iron, ferritin and zinc levels. *Acta Paediatr* 1992;81:475–9.
79. Hernell O, Lonnerdal B. Iron status of infants fed low-iron formula: no effect of added bovine lactoferrin or nucleotides. *Am J Clin Nutr* 2002;76:858–64.
80. Lafisco, M.; Foggia, M.D.; Bonora, S.; Prat, M.; Roveri, N. Adsorption and spectroscopic characterization of lactoferrin on hydroxyapatite nanocrystals. *Dalton Trans.* 2011, 40, 820–827.
81. Aisen, P.; Leibman, A. Lactoferrin and transferrin: A comparative study. *BBA-Protein Struct.* 1972, 257, 314–323.
82. Anderson, B.F.; Baker, H.M.; Norris, G.E.; Rice, D.W.; Baker, E.N. Structure of human lactoferrin: Crystallographic structure analysis and refinement at 2.8 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 1989, 209, 711–734.
83. Baker, E.N.; Baker, H.M. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. *Cell. Mol. Life Sci.* 2005, 62, 2531–2539.
84. Tympner F., Gutmann W. Lactoferrin Levels in Pure Pancreatic Secretion of Chronic Pancreatitis. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 17(12): 858–6, (1979).
85. Van Hooijdonk A. C. M., Kuussendraper K. D., Steijns J. M. In Vivo Antimicrobial and Antiviral Activity of Components in Bovine Milk and Colostrum Involved in Nonspecific Defence. *British Journal of Nutrition*, 84: Suppl 1,p:127–134,(2000).
86. Kimura M., Nam M. S., Ohkouchi Y., Kamura K. S., Yu D. Y. Antimicrobial Peptide of Korean Native Goat Lactoferrin and Identification of the Part Essential for This Activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 268: 333–33, (2000).
87. Schanbacher FL, Talhouk RS, Murray FA, Gherman LI, Willet LB (1998). Milk-borne bioactive peptides, *Int. Dairy J.* 8: 393–403.
88. Gifford JL, Hunter HN, Vogel HJ. 2005. Lactoferricin: a lactoferrin-derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties. *Cell Mol Life Sci* 62(22):2588–2598.
89. Andersen JH, Jenssen H, Sandvik K, Gutteberg TJ. 2004. Anti-HSV activity of lactoferrin and lactoferricin is dependent on the presence of heparan sulphate at the cell surface. *J Med Virol* 74(2):262–271.
90. Mader JS, Smyth D, Marshall J, Hoskin DW. 2006. Bovine lactoferricin inhibits basic fibroblast growth factor- and vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis by competing for heparin-like binding sites on endothelial cells. *Am J Pathol* 169(5):1753–1766.

91. Yamauchi K, Wakabayashi H, Shin K, Takase M. Bovine lactoferrin: benefits and mechanism of action against infections. *Biochem Cell Biol*. 2006; 84(3):291-296.
92. Bellamy W, Takase M, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M. Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J Appl Bacteriol*. 1992;73(6): 472-479.
93. Gilsanz V, Smith ML, Goodarzian F, Kim M, Wren TA, Hu HH. Changes in brown adipose tissue in boys and girls during childhood and puberty. *The Journal of pediatrics* 2012;160(4):604-9.
94. Saito M. Brown Adipose tissue as a regulator of energy expenditure and body fat in humans. *Diabetes & Metabolism Journal* 2013;37(1):22-9.
95. Saely CH, Geiger K, Drexel H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. *Gerontology* 2010; 58: 15-23.
96. De Pauw A, Tejerina S, Raes M, Keijer J, Arnould T. Mitochondrial (dys) function in adipocyte (de) differentiation and systemic metabolic alterations. *The American journal of pathology* 2009;175(3):927-39.
97. Boudina S, Graham T E. Mitochondrial function/ dysfunction in white adipose tissue. *Experimental physiology* 2014;99: 1168-1178.
98. Medina-Gómez G. Mitochondria and endocrine function of adipose tissue. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2012;26(6):791-804.
99. Timmons JA, Wennmalm K, Larsson O, Walden TB, Lassmann T, Petrovic N, Hamilton DL, Gimeno RE, Wahlestedt C, Baar K, Nedergaard J. Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007;104(11):4401-6.
100. Sorisky A, Gagnon AM. Clinical Implications of Adipose Tissue. *Canadian Journal of Diabetes* 2002;26(3):232-40.
101. Wisse BE, Kim F, Schwartz MW. Physiology. An integrative view of obesity. *Science* 2007; 318(5852):928 9.
102. Rayhurn P, Bing C, Wood IS. Adipose tissue and adipokines--energy regulation from the human perspective. *J Nutr* 2006;136:1935-9.
103. Cousin B, Munoz O, Andre M, et al. A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *FASEB J* 1999;13(2):305-12.
104. Sanchez-Recalde A, Carlos Kaski J. Diabetes mellitus, inflammation and coronary atherosclerosis: current and future perspectives. *Rev Esp Cardiol* 2001;54(6):751-63.
105. Scheele C, Nielsen S. Metabolic regulation and the anti-obesity perspectives of human brown fat. *Redox Biol* 2017;12:770-5.

106. Enerback S. The origins of brown adipose tissue. *N Engl J Med* 2009;360(19):2021-3.
107. Klingenspor M. Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis. *Experimental physiology* 2003;88:141-148.
108. Inokuma KI, Ogura-Okamatsu Y, Toda C, Kimura K, Yamashita H, Saito M. Uncoupling protein 1 is necessary for norepinephrine-induced glucose utilization in brown adipose tissue. *Diabetes* 2005;54(5):1385-91.
109. Mutsaers SE, Bishop JE, McGrouther G et al. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997(1):5-17.
110. Theoret CL. The pathophysiology of wound repair. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2005; 21(1):1-13.
111. L.G. Ovington Hanging wet-to-dry dressings out to dry *Home Healthc Nurse*, 19 (2001), p. 477.
112. J.W. Orr, P.T. Taylor Complications in gynecological surgery: prevention, recognition, and management J.W. Orr, H.M. Shingleton (Eds.), *Wound healing*, JB Lippencott, Philadelphia (1994), p. 167.
113. Göktürk E, Turgut A, Bayeu C, Gunal 1, Seber S, Gulbas 2. (1995). Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand*, 66(5):473-475.
114. Paes-Junior TJ, Niccoli-Filho W. (2001). Clinical comparison between conventional suture and vaporization with carbon dioxide laser in rat's skin. *J Clin Laser Med Surg*, 19(6):319-324.
115. Genel Cerrahi Cilt-1. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Konu 4. Yara İyileşmesi 2002: 51-59.
116. F. Charles Brunnicardi, Dana K. Andersen, Timothy R. Billiar, David L. Dunn, John G. Hunter, Raphael E. Pollock Schwartz's Principles of Surgery 8th ed, Mc- Graw Hill, 2005; 223-248.
117. Schilling JA. Wound Healing. *Surgical Clinics of North America* 1976; 56: 859-874.
118. Carrico TJ, Mehrhof Jr. AI, Cohen IK. Biology of Wound Healing. *Surgical Clinics of North America* 1984; 64: 721-733.
119. Sayek İ. Temel Cerrahi. Engin A. 3. baskı, Ankara 2004; 322-323.
120. Waili NS, Salom K, Butler G, Al Ghamdi AA. Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control. *J Med Food* 2011;14(10):1079-96.
121. Özler M, Şimşek K, Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Pinealektomili ratlarda yara iyileşmesi, *Gülhane Tıp Dergisi*. 2012; 52:181-184.

122. (J.T. Kanegaye A rational approach to the outpatient management of lacerations in pediatric patients *Curr Probl Pediatr*, 28 (1998), p. 205.
123. R.N. McNamara, J. Loisel *Laceration repair* F. Henretig, C. King (Eds.), *Textbook of pediatric emergency procedures*, Williams and Wilkins, Baltimore (1997), p. 1141.
124. Witte, M., and Barbul, A. General principles of wound healing. *Surg. Clin. North Am.* 77: 509, 1997.
125. Kurkinen, M., Vaheri, A., Roberts, P., et al. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab. Invest.* 43: 47, 1980.
126. Martin, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276: 75, 1997.
127. Lawrence, W., and Diegelmann, R. Growth factors in wound healing. *Clin. Dermatol.* 12: 157, 1994.
128. Grotendorst, G., Soma, Y., Takehara, K., et al. EGF and TGF- α are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissue regeneration. *J. Cell Physiol.* 139: 617, 1989.
129. Smola, H., Thiekotter, G., and Fusenig, N. Mutual induction of growth factor gene expression in by epidermal-dermal cell interaction. *J. Cell Biol.* 122: 417, 1993.
130. Xia, Y., Zhao, Y., Marcus, J., et al. Effects of keratinocyte growth factor-2 (KGF-2) on wound healing in an ischemia-impaired rabbit ear model and on scar formation. *J. Pathol.* 188: 431, 1999.
131. Ehrlich, H., and Krummel, T. Regulation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound Repair Regen.* 4: 203, 1996.
132. Grinnell, F., Feld, M., and Minter, D. Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin substrata: Requirement for cold-insoluble globulin (plasma fibronectin). *Cell* 19: 517, 1980.
133. Henry, G., and Garner, W. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg. Clin. North Am.* 83: 483, 2003.
134. Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C., and Perkins A.J. *Inflammation and Repair*. Robbins Basic Pathology. New York, NY: Elsevier, 2018, p. 57.
135. Uzun E. (2013). Diyabetik Ratlarda Topikal Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) Uygulamasının Yara Dokusundaki Oksidatif Olaylar Üzerine Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 38-44.
136. Güneş H. (1999). Sitokinlerin Hücre Döngüsü Üzerinde Etkileri. *Tr J of Biology.* 23: 283-292.
137. Steefos HH. (1994). Growth Factors and Wound Healing. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 28: 95-105.

138. Lee ARC, Leem H, Jaegwan L, Park KC. (2005). Reversal of Sulfadiadine-Impaired Wound Healing by Epidermal Growth Factor. *Biomaterials*. 26: 4670-4676.
139. Saaristo A, Tammela T, Farkkila A, Karkkainen M, Suominen E, Herttuala S, Aitalo K. (2006). Vascular Endothelial Growth Factor-C Accelerates Diabetic Wound Healing. *Am J Pathol*. 169(3): 1080-1087.
140. Zhang F, Brooks D, Chen W, et al. (2006). Improvement of Venous Flap Survival by Application of Vascular Endothelial Growth Factor in a rat model. *Ann Plast Surg*. 56: 670-673.
141. Zeyu Qiu. Kwon.MD. andKamiyama Y. Effects of Plasma Fibronectin on the Healing of Full-Thickness SkinWounds in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Surgical Research*138,64–70 (2007)doi:10.1016/j.jss.2006.06.034. 2007.
142. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. Oxford University Press; 1993.
143. Baker EN Baker HM . A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin. *Biochimie (Paris)*. 2009;91:3–10.
144. Massucci MT Giansanti F Di Nino G . Proteolytic activity of bovine lactoferrin. *Biometals*. 2004;17:249–255.
145. Kruzel ML, Bacsi A, Choudhury B, Sur S, Boldogh I. Lactoferrin decreases pollen antigen-induced allergic airway inflammation in a murine model of asthma. *Immunology*. 2006;119:159–66.
146. Zimecki M, Mazurier J, Machnicki M, Wieczorek Z, Montreuil J, Spik G. Immunostimulatory activity of lactotransferrin and maturation of CD4– CD8– murine thymocytes. *Immunol Lett*. 1991;30:119–23.
147. Damiens E, Mazurier J, el Yazidi I, Masson M, Duthille I, Spik G, et al. Effects of human lactoferrin on NK cell cytotoxicity against haematopoietic and epithelial tumour cells. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1402:277–8.
148. Shau H, Kim A, Golub SH. Modulation of natural killer and lymphokine-activated killer cell cytotoxicity by lactoferrin. *J Leukoc Biol*. 1992;51:343–9.
149. Ward PP, Mendoza-Meneses M, Park PW, Conneely OM. Stimulus-dependent impairment of the neutrophil oxidative burst response in lactoferrin-deficient mice. *Am J Pathol*. 2008;172:1019–29.
- 150.A. Frioni, M.P. Conte, A. Cutone, C. Longhi, G. Musci, M.C. diPatti, T. Natalizi, M. Marazzato, M.S. Lepanto, P. Puddu, R. Paesano, P. Valenti, F. Berlutti Lactoferrin differently modulates the inflammatory response in epithelial models mimicking human inflammatory and infectious diseases *Biometals*, 27 (2014), pp. 843-856.
- 151.R. Paesano, M. Pietropaoli, F. Berlutti, P. Valenti Bovine lactoferrin in preventing preterm delivery associated with sterile inflammation *Biochem. Cell Biol.*, 90 (2012), pp. 468-475.

152. Hoene M, Weigert C (2008) The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obes Rev* 9: 20–29. pmid:17956545.
153. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, et al. (2000) Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 3338–3342.
154. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G (2001) Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E745–751. pmid:11287357.
155. Carmo, L. S., Rogero, M. M., Cortez, M., Yamada, M., Jacob, P. S., Bastos, D. H. M., ... & Ambrósio Fock, R. (2013). The effects of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) consumption on IL-1, IL-6, TNF- α and IL-10 production by bone marrow cells in wistar rats fed a high-fat diet. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 83(1), 26-35.
156. Andrich, D. E., Melbouci, L., Ou, Y., Auclair, N., Mercier, J., Grenier, J. C., ... & St-Pierre, D. H. (2019). A Short-Term High-Fat Diet Alters Glutathione Levels and IL-6 Gene Expression in Oxidative Skeletal Muscles of Young Rats. *Frontiers in Physiology*, 10, 372.
157. Orhan, C., Akdemir, F., Tuzcu, M., Sahin, N., Yilmaz, I., Deshpande, J., ... & Sahin, K. (2016). Mesozeaxanthin protects retina from oxidative stress in a rat model. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*, 32(9), 631-637.
158. Miller AM, Wang H, Bertola A, Park O, Horiguchi N, Ki SH, et al. Inflammation-associated interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 activation ameliorates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in interleukin-10-deficient mice. *Hepatology* 2011;54:846–856.
159. Cansby E., Nerstedt A., Amrutkar M., Durán E. N., Smith U., and Mahlapuu M.. 2014. Partial hepatic resistance to IL-6-induced inflammation develops in type 2 diabetic mice, while the anti-inflammatory effect of AMPK is maintained. *Mol. Cell. Endocrinol.* 393: 143–151.
160. P.J. Turnbaugh, R.E. Ley, M.A. Mahowald, V. Magrini, E.R. Mardis, J.I. Gordon A n obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest *Nature*, 444 (2006), p. 1027.
161. S. Ding, M.M. Chi, B.P. Scull, R. Rigby, N.M. Schwerbrock, S. Magness, C. Jobin, P.K. Lund High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in Mouse *PloS One*, 5 (2010).
162. Adya R, Tan BK, Randeva HS. Differential effects of leptin and adiponectin in endothelial angiogenesis. *J Diabetes Res* 2015: 648239, 2015. doi: 10.1155/2015/648239.

163. Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., et al (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 334: 292–295.
164. Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J* 393: 7–20, 2006. doi: 10.1042/BJ20051578.
165. Heida NM, Leifheit-Nestler M, Schroeter MR, Müller JP, Cheng IF, Henkel S, Limbourg A, Limbourg FP, Alves F, Quigley JP, Ruggeri ZM, Hasenfuss G, Konstantinides S, Schäfer K. Leptin enhances the potency of circulating angiogenic cells via src kinase and integrin (alpha)vbeta5: implications for angiogenesis in human obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30: 200–206, 2010.
166. R.R. Gonzalez, A. Watters, Y. Xu, U.P. Singh, D.R. Mann, B.R. Rueda, M.L. Penic het Breast Cancer Res., 11 (2009), p. R36.
167. Lindley LE, Stojadinovic O, Pastar I, Tomic-Canic M. Biology and biomarkers for wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138(Suppl. 3):18S-28S.
168. C.J. Ferrante, S.J. Leibovich Regulation of macrophage polarization and wound healing *Adv Wound Care* (New Rochelle), 1 (2012), pp. 10-16.)
169. World Health Organization [WHO] and Global Health Observatory [GHO] (2014).

EKLER

Ek.1 Etik kurul onay yazısı

	T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI			
TOPLANTI TARİHİ 10.11.2022	TOPLANTI SAYISI 9	TOPLANTI YERİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu		
BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı <i>(Türkçe ve İngilizce)</i> Yüksek yağlı diyet ile beslenen ve tam kat deri defekti modeli oluşturulan sıçanlarda laktoferrinin etkisinin araştırılması Studying the effects of lactoferrin in rats fed high fat diet and formed full-thickness skin defect type Başvuru Tarihi 03.11.2022 Protokol no 287 Kullanılacak deney hayvanı (tür/ırk/cinsiyet/sayı) Sıçan / Sprague Dawley / Erkek / 66			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2022 / 56 ☒ Kabul ☐ Red Dr. Öğr. Ahmet Sarper BOZKURT' un yürütücüsü olduğu ve uygunluk kararı alınan (Etik kurul karar no: 2021/15) daha önceki başvurusu ile ilgili değişiklik önerisi incelenmiş, değişiklik başvurusunun Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesince "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.			
Yürütücü	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı			
Araştırmacılar	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖRKMEZ, Arş. Gör. Dr. Hasan ULUSAL, Yüksek Lisans Öğrencisi Gönül Sena YILDIRIM			
ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. Piraye KERVANCIOĞLU (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Anatomi AD.	H	E	
Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.	H	H	
Prof. Dr. Emine Elçin EMRE (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	H	E	
Prof. Dr. Can DEMİREL (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	H	E	
Doç. Dr. Haluk ŞEN (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Üroloji AD.	H	E	
Doç. Dr. Merve GÖYMEN (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD.	H	E	
Dr. Öğr. Üyesi A. Sarper BOZKURT (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	E	H	
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülbın KAVAK (Üye)	GAÜN Tıp F. Radyasyon Onkolojisi AD.	H	E	
Veteriner Hekim Filiz BİÇİCİ (Üye)	GAÜN Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GAÜNDAM)	H	E	
Veteriner Hekim M. Celal ÖZSÖYLER (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E	
Avukat Orhan BEYAZ (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E	

E: Evet, H: Hayır

ÖZGEÇMİŞ

Gönül Sena YILDIRIM, lise eğitimini Şanlıurfa Birecik Türkan Halit Aykılıç Fen Lisesi'nde tamamladı. 2015 senesinde Sanko Üniversitesi'nde Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nde lisans eğitimine başladı ve 2019 senesinde lisans eğitimini tamamladı. 2020 senesinde Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fiziyojji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

