



**DIYABETİK RATLARDA ROSMARİNİK ASİT VE KARVAKROL
UYGULAMASININ YARA İYİLEŞMESİNDE MALONDİALDEHİT VE
GLUTATYON DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Eren ÇAVUŞOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- 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 sunduğumu,
- Tez çalışmada 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.

Eren ÇAVUŞOĞLU

28/07/2023

DİYABETİK RATLARDA ROSMARİNİK ASİT VE KARVAKROL
UYGULAMASININ YARA İYİLEŞMESİNDE MALONDİALDEHİT VE
GLUTATYON DÜZEYLERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Eren ÇAVUŞOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2023

ÖZET

Doku yıkımını takiben doku bütünlüğünün yeniden sağlanma süreci yara iyileşmesi olarak tanımlanır. Diyabet ve artmış oksidatif stres gibi faktörlerin yara iyileşme sürecini etkilemesi sonucu gecikmiş yara iyileşmesi veya iyileşmeyen yaraların oluşması, insan yaşamını olumsuz etkiler. Bu çalışmada, doğal antioksidan aktivitelere sahip olan karvakrol ve rosmarinik asidin, hem topikal hem de intraperitoneal uygulamalarla, diyabetik yaraların iyileşme sürecinde meydana gelen oksidatif olaylar üzerinde sinerjistik bir etkisi olup olmadığını ortaya çıkarmayı hedefledik. Bu deneyler, streptozotosinle indüklenmiş diyabetli 54 erkek Wistar-Albino rat ile gerçekleştirildi ve dokuz gruba ayrıldılar: kontrol grubu, tedavi edilmemiş gruplar (3. ve 7. gün), karbopol tedavi grupları (3. ve 7. gün), topikal tedavi grupları (3. ve 7. gün) ve intraperitoneal tedavi grupları (3. ve 7. Gün). Kontrol grubu hariç tüm hayvanlarda tam kalınlıkta punch biyopsi (8 mm) ile eksizyonel deri yaraları oluşturuldu. Tedavi edilen gruplarda, yaralar %2 karbopol jel içeren karvakrol ve rosmarinik asit (10 mg/kg) ile topikal olarak tedavi edildi ve diğer tedavi edilen gruplar karvakrol ve rosmarinik asitle (10 mg/kg) intraperitoneal olarak tedavi edildi. %2 karbopol ile tedavi edilen gruplarda, yaralar eşit miktarda karbopol jelle topikal olarak tedavi edildi. Daha sonra, denekler yara iyileşmesinin 3. ve 7. günlerinde feda edildi ve yara dokularında malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Sonuç olarak, tedavi edilen ve tedavi edilmeyen gruplar karşılaştırıldığında, karvakrol ve rosmarinik asit uygulamalarının (3. ve 7. gün) yara dokusundaki MDA düzeylerini tedavi edilmeyen gruba kıyasla azalttığı belirlendi ($p < 0,05$). Karvakrol ve rosmarinik asitin birlikte uygulanmasının hem topikal hem de sistemik uygulamalarının yara dokusunun antioksidan kapasitesini artırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Karvakrol ve rosmarinik asitin kombine kullanımları diyabetik yaraların özellikle enflamasyon ve proliferasyon fazında gerçekleşen oksidatif olayları düzenleme yönünde potansiyel terapötik bir ajan olarak kullanılabilir.

Bilim Kodu : 20317
Anahtar Kelimeler : Yara iyileşmesi, diyabet, malondialdehit ve glutatyon, rosmarinik asit, karvakrol
Sayfa Adedi : 79
Danışman : Prof. Dr. Şule CEVHER COŞKUN

EFFECT OF ROSMARINIC ACID AND CARVACROL TREATMENT ON
MALONDIALDEHYDE AND GLUTATHIONE LEVELS IN WOUND HEALING OF
DIABETIC RATS

(M. Sc. Thesis)

Eren ÇAVUŞOĞLU

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2023

ABSTRACT

Tissue integrity restoration following tissue damage is defined as wound healing. Factors such as diabetes and increased oxidative stress can affect the wound healing process, leading to delayed wound healing or non-healing wounds, adversely affecting human life. In this study, we aimed to determine whether carvacrol and rosmarinic acid, which have natural antioxidant activities, have a synergistic effect on oxidative events occurring in the healing process of diabetic wounds when applied both topically and intraperitoneally. These experiments were conducted with 54 male Wistar-Albino rats induced with diabetes by streptozotocin and divided into nine groups: control group, untreated groups (day 3 and day 7), carbopol treatment groups (day 3 and day 7), topical treatment groups (day 3 and day 7), and intraperitoneal treatment groups (day 3 and day 7). In all animals, except the control group, full-thickness excisional skin wounds were created with an 8 mm punch biopsy. In the treated groups, wounds were topically treated with carvacrol and rosmarinic acid (10 mg/kg) in 2% carbopol gel, and other treated groups were intraperitoneally treated with carvacrol and rosmarinic acid (10 mg/kg). In the 2% carbopol-treated groups, wounds were topically treated with an equal amount of carbopol gel. Later, subjects were sacrificed on days 3 and 7 of wound healing, and malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels in wound tissues were measured spectrophotometrically. In conclusion, when treated and untreated groups were compared, it was determined that applications of carvacrol and rosmarinic acid (days 3 and 7) reduced MDA levels in wound tissue compared to the untreated group ($p < 0.05$). The combined application of carvacrol and rosmarinic acid was found to increase the antioxidant capacity of wound tissue and reduce lipid peroxidation, both topically and systemically. The combined use of carvacrol and rosmarinic acid can be used as a potential therapeutic agent in regulating oxidative events that occur during the inflammation and proliferation phase of diabetic wounds.

Science Code : 20317

Key Words : Wound healing, diabetes, malondialdehyde and glutathione, rosmarinic acid, carvacrol

Page Number : 79

Supervisor : Prof. Dr. Şule CEVHER COŞKUN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin tamamlanmasında ve bu önemli kilometre taşını aşmamda beni destekleyen herkese, içten ve derin bir teşekkür sunmak istiyorum.

Başta, rehberliğinizi ve olağanüstü akademik becerinizi bana cömertçe sağlayan, sabırla bilimsel merakımı ve eleştirel düşünme yeteneklerimi yönlendiren değerli danışmanım Prof. Dr. Şule Cevher COŞKUN'a şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca, bu tezde kullanılan deneylerin hazırlanmasında ve yürütülmesinde beni destekleyen ve elinden geleni ardına koymayan, sabırla tüm sorularıma yanıt veren, tez çalışmalarım boyunca birlikte yol aldığım laboratuvar ekibime, özellikle Elif Naz ALVER ve Sevim KÖMÜR'e, ve GÜDAM ekibine teşekkür ederim.

Sonsuz desteklerini, sevgilerini ve güvencelerini her an yanımda hissettiğim, bu süreçte her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan, beni cesaretlendiren ve her zaman yanımda olduğunu hissettiren anneme, babama ve kardeşime olan minnettarlığımı ifade etmek isterim. Hayatımdaki her adımda bana inanıp güvendikleri için onlara derin bir teşekkür borçluyum.

Son olarak, bana bu tezin yazılmasına yardımcı olan ve bu sürecin her adımında bana destek olan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Metabolizma Bölümü'ne ve özellikle Prof. Dr. İlyas OKUR'a içten teşekkürlerimi sunarım. Her birinizin bu tez üzerindeki etkisi, bu belgenin sayfalarına işlenmiştir ve hep hatırlanacaktır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Derinin Temel Yapısı	5
2.1.1. Epidermis.....	5
2.1.2. Dermis.....	7
2.1.3. Hipodermis.....	8
2.2. Yara ve Yara İyileşmesi.....	8
2.2.1. Yara çeşitleri.....	9
2.2.2. Yara iyileşmesi fazları.....	10
2.2.3. Yara iyileşmesi tipleri	15
2.2.4. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler	17
2.2.5. Yara iyileşmesi ve diyabet	20
2.2.6. Yara iyileşmesi, reaktif oksijen türleri	21
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri.....	22
2.3.1. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri.....	23
2.3.2. Antioksidan savunma sistemleri	25

	Sayfa
2.3.3. Lipit peroksidasyonu.....	31
2.4. Yara İyileşmesi ve Fitoterapi	33
2.4.1. Rosmarinik asit	33
3. MATERYAL VE METOT	39
3.1. Deney Protokolü	39
3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması	39
3.3. Yara Modelinin Oluşturulması.....	39
3.4. Deney Gruplarının Dizaynı.....	39
3.5. Yara Dokularının Alınması	42
3.6. Yöntemler	42
3.6.1. Dokuda MDA tayin yöntemi.....	42
3.6.2. Dokuda GSH tayin yöntemi.....	43
3.7. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR	45
4.1. MDA Düzeyleri.....	45
4.2. GSH Düzeyleri.....	47
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ	79

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Akut ve kronik yaraların iyileşmesine katılan başlıca büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre tipleri ile bunların ilgili rolleri	11
Çizelge 2.2. Başlıca reaktif oksijen ve nitrojen türleri	24
Çizelge 3.1. Deneyler için oluşturulan gruplar ve uygulanan işlemler	40
Çizelge 4.1. Deney gruplarında MDA değerleri.....	45
Çizelge 4.2. Deney gruplarında GSH değerleri.....	47



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Derinin katmanları.....	6
Şekil 2.2. Yara iyileşmesinin fazları.....	9
Şekil 2.3. Yara iyileşmesi periyodunda diyabetin etkileri.....	21
Şekil 2.4. Organizmada antioksidan savunma mekanizmaları	23
Şekil 2.5. Antioksidanların sınıflandırılması.....	28
Şekil 2.6. Rosmarinik asitin yapısı ve öncülleri	35
Şekil 2.7. Karvakrolün yapısı	37
Şekil 4.1. Gruplardan elde edilen MDA düzeyleri grafiği	46
Şekil 4.2. Gruplardan elde edilen GSH düzeyleri grafiği.....	49

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Diyabetik rata uygulanan yara oluşumu görünümü	41
Resim 3.2. Diyabetik rata uygulanan intraperitoneal uygulama görünümü	42



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Kısaltmalar	Açıklamalar
4-HNE	4-hidroksinonenal
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
CAT	Katalaz
CRP	C-Reaktif Protein
Cu/Zn-SOD	Bakır/çinko süperoksit dismutaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
ECM	Ekstrasellüler matriks
eeRo	<i>Rosmarinus officinalis Linnaeus</i> etanolik özütü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EPC	Endotelial progenitör hücreler
Fe-SOD	Demir süperoksit dismutaz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü-2
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Glutatyon Disülfid
GST	Glutatyon-S-transferaz
H₂O	Su
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HO-1	Hem Oksijenaz-1
IgG	İmmünglobulin G
IL-1	İnterlökin-1
IL-1β	İnterlökin 1 beta
IL-6	İnterlökin-6
i.p.	İntraperitoneal

Kısaltmalar	Açıklamalar
KGF	Keratinosit Büyüme Faktörü
L-	Lipit radikalleri,
LDH	Laktat dehidrogenaz
LOO-	Lipit peroksil radikalleri
LOOH	Lipit hidroperoksit
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
MMP	Matriks Metalloproteinazlar
Mn-SOD	Mangan süperoksit dismutaz
MYPT1	Miyozin Fosfataz Hedef Alt Birimi 1
NADPH	Oksidaz (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz)
NF-κB	Çekirdek Faktörü kappa B
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
Nrf2	Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlgili Faktör 2
O₂-	Süperoksit
O₂	Oksijen
OH-	Hidroksil
ONOO-	Peroksinitrit
PBMC	Periferik Kan Mononükleer Hücreler
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PUFA	POLİ doymamış yağ asitleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SCI	Omurilik Yaralanması
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotosin
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif madde
TGF-beta1	Dönüşüm Büyüme Faktörü-beta 1
TGF-α	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Alfa
TGF-β	Dönüştürücü büyüme faktör-beta
TIMP	Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri
TLR4	Toll-benzeri reseptör 4

Kısaltmalar	Açıklamalar
TNF-α	Tümör Nekrozis Faktör-alfa
UV	Ultraviyole
UVB	Ultraviyole B
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
α-SMA	Alfa-Düz Kas Aktin



1. GİRİŞ

Yara, doku bütünlüğünün bozulduğu hasardır. Yaraların çeşitli nedenleri vardır, bunlar arasında kesikler, çizikler, ezilmeler, yanıklar ve ameliyatlar bulunur. Yaralar, vücudun koruyucu bariyerinin zarar görmesiyle ortaya çıkar ve insan yaşamında önemli bir rol oynar [1, 2].

Yaranın boyutu ve derinliği, yaranın ciddiyetini belirlemede önemli bir faktördür. Vücut, hasarlı dokuyu onarmak ve fonksiyonları geri kazanmak için karmaşık bir dizi mekanizmayı devreye sokar. Yara iyileşme süreci dört aşamadan oluşur: hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve remodelleme. Hemostaz aşaması kanamayı durdurur ve pıhtılaşma mekanizmasını başlatır. Enflamasyon aşaması hasarlı hücrelerin temizlenmesini sağlar ve enfeksiyon riskini azaltır. Proliferasyon aşamasında yeni hücreler ve kılcal damarlar oluşur. Remodelleme aşaması ise iyileşen dokunun güçlendirilmesi ve yapılandırılmasıyla tamamlanır. Bu aşamalar birbirleriyle uyumlu bir şekilde çalışarak yara iyileşmesini sağlar ve sağlığı korur. Bu süreç, vücudun doğal savunma ve onarım mekanizmasıdır ve uygun tedavi ile desteklendiğinde, zarar gören bölgenin tamiri ve işlevlerin geri kazanılmasına yardımcı olur [3].

Yaranın doğru bir şekilde ele alınması ve tedavi edilmesi, enfeksiyon ve komplikasyon riskini azaltır ve daha hızlı iyileşmeyi teşvik eder. Yara iyileşmesi etkili bir şekilde gerçekleştiğinde, vücut dış etkenlere karşı korunmaya devam eder ve sağlıklı bir yaşamın devam etmesine yardımcı olur. Bu nedenle, yara iyileşmesi insan sağlığı ve yaşam kalitesi açısından büyük öneme sahiptir [4].

Diyabet, dünya sağlık örgütü verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 422 milyon insan da görülen ve yaşam kalitesini önemli ölçüde düşüren kronik bir hastalıktır. Kan şekerinin anormal seviyelerde yüksek olduğu bu durum, vücudun enerji üretiminde kullanılan glikozun hücrelere düzgün bir şekilde ulaşmamasıyla karakterize edilir. Diyabetin kontrol altına alınmaması, uzun vadede ciddi sağlık komplikasyonlarına yol açabilir. Bu komplikasyonların başında, diyabetik yaralar gelmektedir [5].

Diyabetik yaralar, hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyen ciddi bir komplikasyondur. Genellikle yavaş ve zor iyileşirler [6]. Diyabetik ayak ülserleri gibi kronik

yaralar, genellikle nöropati ve damar hastalığı gibi diyabetle ilişkili durumlar nedeniyle gelişir ve cilt hasarının tedavisi normalden daha karmaşıktır [7]. Yara enfeksiyonları, iyileşme sürecini daha da karmaşık hale getirebilir ve yara yerinde ciddi hasara yol açabilir, hatta bazen amputasyon gerektirebilir. Bu durumlar, hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkiler ve ayrıca sağlık sistemine önemli mali yükler getirir [8]. Diyabetik yaraların tedavisi, yarayı iyileştirmek ve komplikasyonları önlemek için çok yönlü bir yaklaşım gerektirir, bu da genellikle uzmanlık gerektiren karmaşık ve maliyetli tedavileri içerir [9]. Hastaların çoğunluğu, düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşayan bireylerdir ve her yıl diyabete bağlı olarak doğrudan yaklaşık 1,5 milyon ölüm gerçekleşmektedir. Bu durum, diyabetin küresel bir sağlık sorunu olduğunu ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde büyük bir yük oluşturduğunu göstermektedir. Bu nedenle, diyabetin önlenmesi, erken teşhisi ve etkili tedavisi, düşük ve orta gelirli ülkelerde sağlık hizmetlerinin önemli bir önceliği haline gelmiştir [10].

Diyabetik yaralar, özellikle tip 2 diyabet hastalarında sıkça rastlanan ve yara iyileşme süreçlerini önemli ölçüde zorlaştıran sorunlardır. Araştırmalar, diyabetik yaraların dünya genelinde diyabetli hastaların %15 ila %25'inde görüldüğünü göstermektedir. Bu yaraların gelişimi ve iyileşme süreci, oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi gibi faktörlerle yakından ilişkilidir [11].

Oksidatif stres, hücrelerde oksijen radikallerinin artışı ve antioksidan savunma sisteminin bu radikalleri etkisiz hale getirememesi nedeniyle ortaya çıkar. Diyabetik hastalarda, oksidatif stres seviyeleri sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksektir. Bu durum, hücresel hasar ve iltihaplanma ile sonuçlanarak, diyabetik yaraların iyileşmesini daha da zorlaştırır [12].

Fitoterapi, tıbbi bitkilerin ve onların ekstraktlarının, sağlık sorunlarını önlemek ve tedavi etmek için kullanılmasını içeren bir tedavi yaklaşımıdır. Fitoterapi, geleneksel ve tamamlayıcı tıbbın önemli bir parçasıdır ve binlerce yıldır dünya çapında kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemi, bitkilerin doğal kimyasal bileşenlerini, genellikle toksisite seviyeleri düşük ve genellikle iyi tolere edilir olduğu için kullanır. Fitoterapi uygulamalarında kullanılan bitkiler, çeşitli sağlık sorunlarına karşı farklı etkiler gösterir. Bu sorunlar arasında, sindirim bozuklukları, hava yolu hastalıkları, diyabet, kalp hastalığı, anksiyete ve depresyon gibi çeşitli durumlar bulunmaktadır. Bitkisel ilaçlar ayrıca, antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkiler gibi farklı etki mekanizmalarına sahip olabilirler [13, 14].

Rosmarinik asit, özellikle adaçayı ve biberiye gibi *Lamiaceae* familyasından bitkilerde bulunan bir fenolik bileşiktir [15]. Yapısal özellikleri ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle, çeşitli sağlık etkilerine sahiptir. Rosmarinik asit, polifenolik yapısı nedeniyle güçlü bir antioksidan özelliğe sahiptir. Reaktif oksijen türleri (ROS) gibi serbest radikallerle etkileşerek hücrel hasarı önler. Bu, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarını engelleyerek yara iyileşmesine yardımcı olur. Antienflamatuar özellikler gösteren rosmarinik asit, sitokinler, prostaglandinler ve lökotrienler gibi iltihaplanma süreçlerinde rol oynayan mediyatörleri modüle eder. Bu, enflamasyonun kontrol altına alınmasını sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırır. Rosmarinik asit ayrıca antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Bakteri, mantar ve virüsler gibi patojenik mikroorganizmaların büyümesini inhibe ederek yara enfeksiyonlarını önler ve kontrol eder [16, 17]

Karvakrol, özellikle kekik, biberiye ve adaçayı gibi *Lamiaceae* familyasından bitkilerde bulunan bir monoterpen fenol bileşiktir. Moleküler yapısı sayesinde güçlü antioksidan özelliklere sahip olan karvakrol, ROS gibi serbest radikallerle etkileşir ve hücrel hasarı azaltır. Bu, lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, protein oksidasyonunun engellenmesi ve DNA hasarının önlenmesi ile yara iyileşmesine katkıda bulunur [18]. Karvakrol, antienflamatuar etkiler gösterir ve proenflamatuar sitokinlerin, prostaglandinlerin ve lökotrienlerin üretimini modüle eder [19]. Bu, yara bölgesindeki ödem ve iltihaplanmanın azaltılmasını sağlar, bu da yaralı dokunun hızlı ve etkili bir şekilde iyileşmesini destekler. Antimikrobiyal özelliklere sahip olan karvakrol, yara enfeksiyonlarını önler ve kontrol eder. Gram-pozitif ve gram-negatif bakteri, mantar ve virüs gibi patojenik mikroorganizmaların büyümesini inhibe eder [20].

Rosmarinik asit ve karvakrol, yara iyileşme sürecinde birlikte kullanıldığında sinerjistik etkiler gösterebilir. Her iki bileşenin antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal özellikleri, yara iyileşmesini hızlandırmada ve komplikasyon riskini azaltmada bir arada daha etkili olabilir [21, 22].

Bu sinerjistik etki, yara iyileşmesi sürecini daha hızlı ve etkili hale getirebilir. Bu bileşenlerin bir arada kullanılması, diyabetle ilişkili komplikasyonların ve genel sağlık durumunun iyileştirilmesinde de olumlu etkiler gösterebilir [23].

Rosmarinik asit ve karvakrol, doğal ve etkili alternatifler olarak diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonların yönetiminde kullanılabilir. Her iki bileşenin antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal özellikleri, yara iyileşmesini hızlandırır ve komplikasyon riskini azaltır. Bu sinerjistik etki, yara iyileşmesi sürecini daha hızlı ve etkili hale getirebilir, bu da diyabetli hastaların yaşam kalitesinin artmasına yardımcı olur.

Çalışmamızın amacı, doğal antioksidan özelliklere sahip olan karvakrol ve rosmarinik asidin, Streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş diyabetik ratlarda diyabetik yaraların iyileşme sürecinde meydana gelen oksidatif olaylar üzerindeki potansiyel sinerjistik etkilerini incelemektir. Bu bileşenlerin, diyabet ve artan oksidatif stresin neden olduğu gecikmiş yara iyileşmesi ve iyileşmeyen yaralar üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Hem topikal hem de intraperitoneal uygulamalar dikkate alınmıştır. Karvakrol ve rosmarinik asidin kombinasyonunun oksidatif stresi azaltıp azaltmadığı ve böylelikle diyabetik yaraların iyileşme sürecini geliştirip geliştirmediği üzerinde durulmuştur. Bu bileşiklerin doğal antioksidan özellikleri sayesinde, diyabet ve artmış oksidatif stresin yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerinin hafifletilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışma, diyabetik yaraların iyileşme sürecini teşvik etme ve doku bütünlüğünü artırma potansiyelinde bu antioksidanların faydalarına dair bilgi sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Temel Yapısı

Deri, insan vücudunda iskelet sisteminden sonra gelen en geniş organdır ve vücudun ilk savunma bariyerini oluşturarak birçok önemli fonksiyonu yerine getirir [24]. Deri, vücudun en geniş organıdır ve yaklaşık olarak 1,2-2,2 metre karelik bir yüzey alanı kaplar. Bu da vücut ağırlığının yaklaşık %16'sına denk gelmektedir [25].

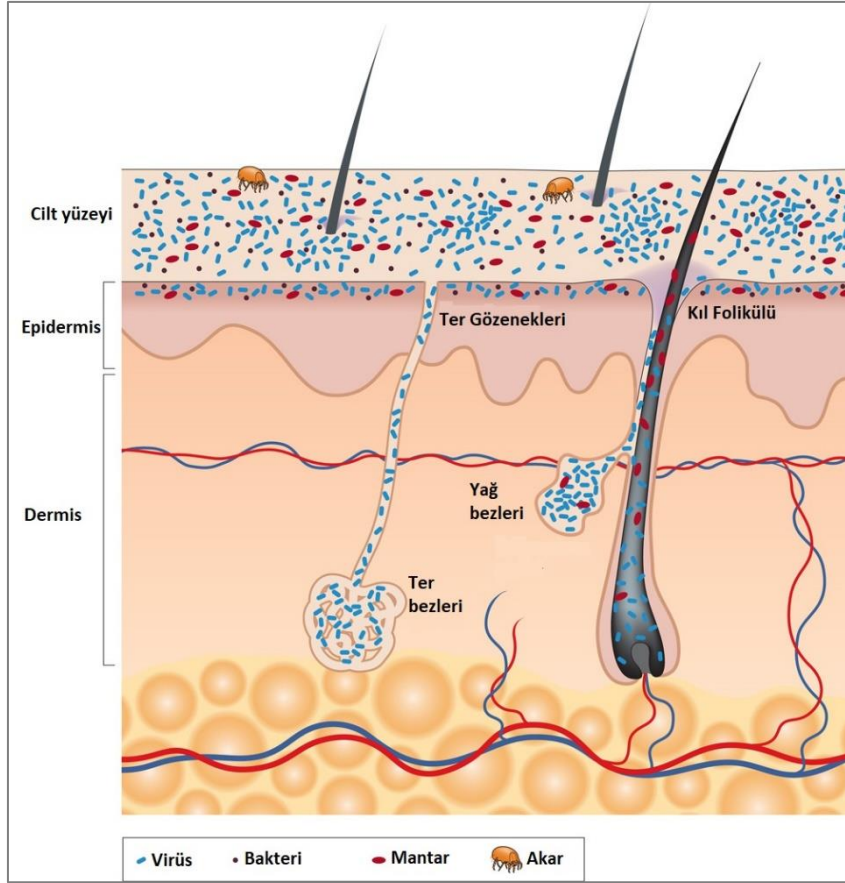
Cildin dört temel fonksiyonu vardır: duyu, termoregülasyon, koruma ve metabolizma.

1. **Duyum:** Cildin birinci işlevi, çevresel uyarıları (sıcaklık, basınç, ağrı, dokunma vb.) algılayan birçok farklı tipte duyu reseptörlerine sahip olmasıdır.
2. **Termoregülasyon:** Saçlar ve ter bezleri, vücut sıcaklığı ve su dengesinin düzenlenmesine yardımcı olur.
3. **Koruma:** Cildin koruyucu işlevi, vücudun iç ve dış etkenlere karşı savunmasını sağlar. Bu içerir enfeksiyona karşı direnç, kimyasal, termal ve UV hasarından koruma ve nem dengesinin korunması gibi işlevleri de içerir.
4. **Metabolizma:** Hipodermisteki yağ dokusu, vücutta D vitamini üretimine katkıda bulunduğu gibi aynı zamanda enerji depolaması ve hormon üretimi için de kullanılır [26].

Deri, vücudun en geniş organı olup ektoderm kökenli epidermis, mezenkimal kökenli dermis ve hipodermisten oluşan üç tabakadan oluşur. Bu tabakalar birbirine sıkı şekilde bağlıdır ve derinin sağlamlığını ve işlevselliğini sağlar [27].

2.1.1. Epidermis

Epidermis, insan derisinin en dış katmanıdır ve vücudumuzun dış ortamlarla direkt temasını sağlayan önemli bir koruyucu tabakadır. Bu tabaka, zararlı maddelerin, mikroorganizmaların deriye girişini engelleyerek cildimizi korur. Aynı zamanda, epidermis aşırı su kaybını önleyerek derinin nem dengesini korur. Bu sayede deri, sağlıklı bir bariyer fonksiyonu sağlar ve vücudumuzu dış etkenlere karşı korur (Şekil 2.1.). Epidermisin başlıca hücre türü keratinositlerdir ve keratin adı verilen proteinin üretiminden sorumludurlar. Keratin, derinin yapısal sağlamlığını ve su geçirmez özelliklerini sağlar [29].



Şekil 2.1. Derinin katmanları [28]

Epidermisin beş alt katmanı vardır:

1. Stratum basale (bazal tabaka): Epidermisin en alt katmanıdır ve burada hücre bölünmesi gerçekleşir. Bu süreç, sürekli olarak yeni hücreler üreterek derinin yenilenmesini sağlar.
2. Stratum spinosum (dikenli hücre tabakası): Bu tabaka, bazal tabakadan yeni hücrelerin göç ettiği yerdir ve keratinositlerin olgunlaşmaya başladığı yerdir.
3. Stratum granulosum (granüler tabaka): Bu tabaka, keratinositlerin daha da sıkıştığı ve keratohyalin granüllerinin biriktiği yerdir. Bu granüller, hücrelerin ölmesine ve keratinle dolmasına neden olur.
4. Stratum lucidum (saydam tabaka): Bu tabaka, sadece avuç içi ve ayak tabanlarında bulunan kalınlaşmış deride bulunur. Saydam hücrelerden oluşur ve su geçirmezlik sağlamaya yardımcı olur.
5. Stratum corneum (kornea tabaka): Epidermisin en dış ve en kalın katmanıdır. Ölü ve keratinle dolu hücrelerden oluşur ve esas olarak dış etkenlere karşı koruma sağlar [25].

Epidermis, cildin en dış katmanıdır ve dış etkenlere karşı koruma sağlar. Farklı hücre tiplerinden oluşur; korneositler en dış katmanı oluşturarak cildin su kaybını önleyen bir bariyer görevi görürken, keratinositler cildin yenilenmesinde önemli bir rol oynarlar [30].

Epidermis, melanositler gibi diğer hücre tiplerini de içerir. Melanositler, cildin rengini belirleyen melanin pigmentini üretirler. Ayrıca, Langerhans hücreleri gibi immün hücreleri de içerirler. Langerhans hücreleri, cildin enfeksiyonlara karşı korunmasında önemli bir rol oynarlar [31].

Epidermis, yara iyileşmesi sürecinde de önemli bir rol oynar. Yaralarda, epidermis hücreleri hızla çoğalarak, yara bölgesinde yeni cilt üretirler. Bu yeni cilt, yaraların tam olarak iyileşmesinde önemli bir rol oynar [31]

2.1.2. Dermis

Dermis, epidermisin altında bulunan ikinci tabakadır ve vücudun çoğu bölgesinde 1-2 mm kalınlığındadır. Kıl folikülleri, ter bezleri, kan damarları, sinir uçları ve bağ dokusu gibi yapılar dermisin önemli bileşenleridir ve cildin fonksiyonlarını desteklerler [32].

Dermis, çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen kollajen, elastin, retikulin, hidroksiapatit ve glikozaminoglikanlar gibi farklı moleküller içerir. Kollajen, derinin sertliğini ve dayanıklılığını sağlarken, elastin cildin esnekliğini ve çekme gücünü sağlar. Retikulin, cilt dokusunun alt yapısını oluşturur. Hidroksiapatit, kemiklerde bulunan bir mineraldir ve cildin sertliğini arttırırken, glikozaminoglikanlar cildin nemli kalmasını sağlarlar [33].

Dermis, cildin ikinci katmanıdır ve epidermise göre daha kalındır. Dermis iki ana tabakadan oluşur: papiller dermis ve retiküler dermis.

1. Papiller dermis: Bu tabaka, epidermis ile dermis arasında yer alır ve dermal papillalar adı verilen küçük, parmak şeklinde yapılar içerir. Papiller dermis, kan damarları, lenfatik damarlar ve sinir uçları açısından zengindir ve epidermisi beslemeye yardımcı olur. Ayrıca, bu tabakadaki Meissner's korpusları, dokunma duyarlılığını sağlar.
2. Retiküler dermis: Bu tabaka, papiller dermisin altında yer alır ve daha kalın, daha yoğun bağ dokusundan oluşur. Kollajen ve elastin lifleri bu tabakada yoğunudur ve derinin

yapısal gücünü sağlar. Ayrıca, retiküler dermiste bulunan Pacinian korpusları, basınç ve titreşim duyarlılığını sağlar [34].

2.1.3. Hipodermis

Hipodermis, cildin altında yer alan bir dokudur ve embriyonik gelişim sırasında dermisten farklılaşarak oluşur. Ayrıca subkutan doku olarak da bilinir. Dermis, cildin orta tabakasıdır ve hipodermis ile epidermis arasındaki bağlantıyı sağlar [35]

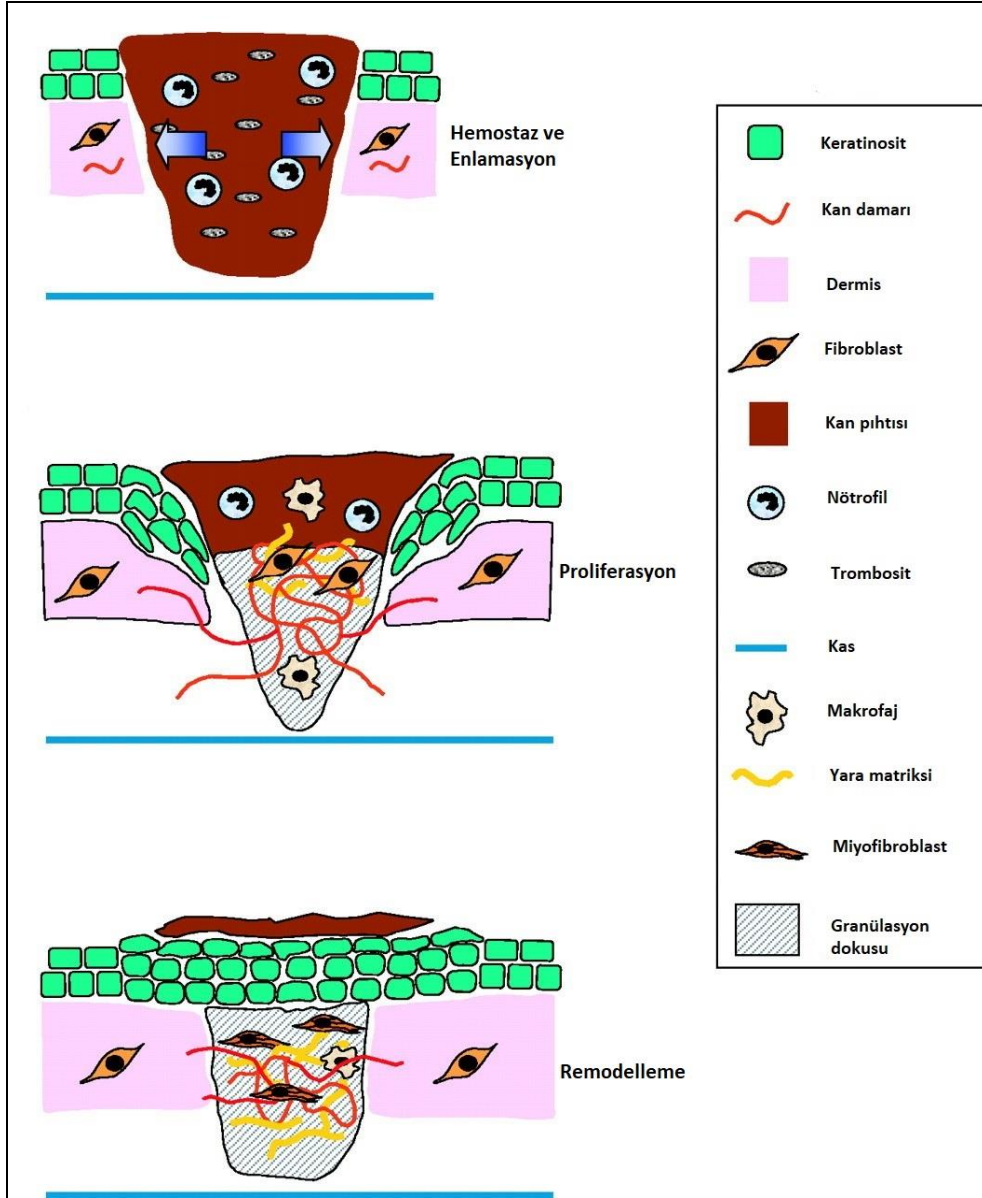
Hipodermis, cildin altında yer alan bir doku olarak somatik sinir sistemi tarafından innerve edilir. Somatik sinirler, vücudumuzdaki kasları ve duyu reseptörleri kontrol eden sinirlerdir ve merkezi sinir sisteminden çıkarlar. Hipodermis, dermis ve kaslar arasında yer alır ve hem somatik motor sinirler hem de somatik duyu sinirler tarafından innerve edilir [36].

Hipodermis, otonom sinir sistemi tarafından innerve edilerek, vücut sıcaklığı, kan akışı, terleme ve yağ depolama gibi çeşitli işlevleri kontrol eder. Otonom sinir sistemi, hipodermisin yağ hücreleri ve kan damarları gibi yapılarını kontrol ederek, vücudun sıcaklık düzenlemesi, enerji depolaması ve hormonal fonksiyonlar gibi çeşitli işlevlerine de katkıda bulunur. Otonom sinir sistemi, hipodermisin somatik sinir sistemi ile birlikte çalışarak, vücudumuzun cilt altındaki yağ dokusunun sağlıklı ve dengeli bir şekilde işlev görmesine yardımcı olur [37].

2.2. Yara ve Yara İyileşmesi

Yara, fiziksel, kimyasal veya termal nedenlerle canlı dokunun bütünlüğünün bozulması ve işlevini kaybetmesi durumunu ifade eder. Bu hasar, bir darbe, kesik, yanık veya yara izi şeklinde olabilir. Yara iyileşmesi ise, yara oluşumu sonrasında başlayan düzenli ve sıralı hücrel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumuyla sonuçlanması sürecidir. Yeni doku, orijinal dokunun tamamen aynısı olmak zorunda değildir [38].

Yara oluştuğunda, vücudun hemostatik mekanizmaları kanamayı durdurmak için çalışır ve ardından iyileşme mekanizmaları devreye girer. Yara iyileşme süreci, hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve remodelleme olmak üzere dört aşamadan oluşur (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Yara iyileşmesinin fazları [39]

2.2.1. Yara çeşitleri

Yara farklı tiplere ayrılabilir ve çeşitli sınıflandırmalarla ele alınabilir;

1. Deri bütünlüğüne göre yaralar
 - a) Açık yaralar
 - Abrazyon
 - İnsizyon
 - Avülsiyon
 - Laserasyon

- Penetrasyon
 - Ezilme
 - Ateşli silah yaralanması
- b) Kapalı yaralar
- Kontüzyon
 - Blast etki yaralanması
2. Patojen mikroorganizmalar ile kirlenme durumuna göre yaralar
- Temiz yaralar
 - Enfekte yaralar
3. Oluş zamanına göre yaralar
- Akut yaralar
 - Kronik yaralar [40,41].

2.2.2. Yara iyileşmesi fazları

Yara iyileşmesi, doku hasarına doğal bir fizyolojik tepkidir [31]. Akut ve kronik yaraların iyileşmesi, çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, mediatörler ve hücre tiplerinin dinamik ve koordineli etkileşimlerini içeren oldukça karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte, belirli hücre tiplerinin spesifik rolleri bulunmakta ve bunlar, yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında farklı biçimlerde görev almaktadır [42]. Aynı zamanda, sitokinler ve mediatörler hücreler arasında iletişim kurarak, vasküler sistemin düzgün çalışmasını sağlar ve böylece genel yara iyileşme sürecini hızlandırır ve düzenler. Çizelge 2.1. rolleri hakkında detaylı bilgiler verilmiştir.

Yara iyileşme süreci, hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve remodelleme olarak dört aşamaya ayrılır [3].

Çizelge 2.1. Akut ve kronik yaraların iyileşmesine katılan başlıca büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre tipleri ile bunların ilgili rolleri [43]

Büyüme Faktörleri	Hücreler	Akut Yara	Fonksiyonu	Kronik Yara
EGF	Trombositler Makrofajlar Fibroblastlar	Yükselmiş düzeyler	Reepitelyalizasyon	Düşmüş düzeyler
FGF-2	Keratinositler Mast Hücreleri Fibroblastlar Endotelial Hücreler Düz Kas Hücreleri Kondrositler	Yükselmiş düzeyler	Granülasyon doku oluşumu Reepitelizasyon Matris oluşumu ve remodelleme	Düşmüş düzeyler
TGF- β	Trombositler Keratinositler Makrofajlar Lenfositler Fibroblastlar	Yükselmiş düzeyler	Enflamasyon Granülasyon doku oluşumu Reepitelizasyon Matris oluşumu ve remodelleme	Düşmüş düzeyler
PDGF	Trombositler Keratinositler Makrofajlar Endotelial Hücreler Fibroblastlar	Yükselmiş düzeyler	Enflamasyon Granülasyon dokusu oluşumu Reepitelizasyon Matris oluşumu ve remodelleme	Düşmüş düzeyler
VEGF	Trombositler Nötrofiller Makrofajlar Endotelial hücreler Düz kas hücreleri Fibroblastlar	Yükselmiş düzeyler	Granülasyon dokusu oluşumu	Düşmüş düzeyler
IL-1	Nötrofiller Monositler Makrofajlar Keratinositler	Artmış seviyeler	Enflamasyon Reepitelizasyon	Yükselmiş düzeyler
IL-6	Nötrofiller Makrofajlar	Yükselmiş düzeyler	Enflamasyon Reepitelizasyon	Yükselmiş düzeyler
TNF- α	Nötrofiller Makrofajlar	Yükselmiş düzeyler	Enflamasyon Reepitelizasyon	Yükselmiş düzeyler

Hemostaz

Yaralanma anında vücudun ilk tepkisi, koagülasyon ve hemostaz süreçlerini başlatmaktır [44]. Bu süreçlerin ana hedefi aşırı kan kaybını önlemektir, bu da vasküler sistemi koruyarak ve hayati organların işlevinin yaralanmaya rağmen zarar görmesini engelleyerek gerçekleştirilir [45]. İkinci bir amaç, iyileşmenin sonraki aşamalarında gereken hücrelerin invazyonu için bir matris sağlamaktır [46].

Hemostaz, endotel hücreler, trombositler, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki dinamik bir denge tarafından düzenlenir [44]. Bu denge, yara alanında biriken fibrin miktarını belirler ve böylece onarıcı süreçlerin ilerlemesini etkiler [47].

Yaralanma, mikrovasküler hasara ve kanın yara alanına sızmasına neden olur [48]. Sinir refleks mekanizması nedeniyle, yaralanan damarlar, dairesel kas tabakasındaki vasküler düz kas hücrelerinin kasılması sonucu hızla daralır. Ancak, bu süreç, yatay kesintiye uğrayan

damarlarda etkilidir ve kan sızıntısının tamamen durmasına neden olabilir [49]. Diğer taraftan, boyuna kesilen arteriollerde bu süreç, aradaki boşluğu artırır [44].

Vazokonstriksiyonun bu geçici etkisi, kanama miktarını azaltabilir veya tamamen durdurabilir. Ancak, yara duvarındaki hipoksi ve asidoz nedeniyle vasküler düz kas tonusu yalnızca birkaç dakika için faydalıdır [50]. Eğer çözünemeyen bir fibrin tıkaç meydana gelmezse, hemostatik mekanizmaların uzun vadede etkisiz kalacağı söylenebilir [44].

Hemostatik olaylarla birlikte, hem dışsal hem de içsel yollarla koagülasyon kaskadı aktive olur [47].

Kan pıhtısı ve içerisinde hapsedilen trombositler, sadece hemostaz için değil, aynı zamanda sonraki hemostatik ve enflamatuar aşamalarda hücre göçü için geçici bir matris sağlama açısından da önemlidir [47]. Trombositlerin sitoplazması, büyüme faktörleri ve sitokinlerle dolu α -granülleri içerir [51]. Bu moleküller, yara iyileşme kaskadında promotörler olarak hareket eder ve nötrofilleri aktive eder ve çeker, sonraki aşamalarda makrofajları, endotel hücrelerini ve fibroblastları çeker [44].

Trombositler ayrıca, serotonin gibi vazoaaktif aminler içerir [51]. Bunlar, yoğun cisimlerde depolanır ve vazodilatasyona ve vasküler geçirgenliğin artmasına neden olur [49]. Bu durum, dokuda sıvının sızmasına ve ödeme yol açar ki bu da kendini takip eden enflamatuar fazda artırır [47].

Araşidonik asit metabolizmasının ürünleri olan eikosanoidler ve diğer bileşikler, hücre zarlarındaki yaralanmalar sonrası salınır ve hemen hemen enflamatuar yanıtta güçlü biyolojik işlevlere sahiptirler [52]. Bu genel süreç, yaralanma sonrası hemostazı oluşturan karmaşık mekanizmaları anlatır. Her adım bir öncekine bağlıdır ve birlikte, vücudun yaralanma sonrası hızlı ve etkili bir kan kaybını önleme ve iyileşme sürecini başlatma yeteneğini belirler [44].

Enflamasyon

Yara iyileşmesi sürecinde enflamasyon fazı, yaralanmanın hemen ardından başlar ve genellikle iki aşamaya ayrılır: erken ve geç enflamasyon fazı [53].

Erken enflamasyon fazı, koagülasyonun son aşamasında ve hemen sonrasında meydana gelir [54]. Bu evrede, komplement kaskadının aktivasyonu gibi olaylar başlar, bu da nötrofillerin yara bölgesine sızmalarını sağlar [55]. Nötrofiller, enfeksiyonları önlemek için bakterileri, yabancı partikülleri ve hasarlı dokuyu fagositoz ederler, bu durum özellikle bakteriyel dengesizliğe sahip akut yaraların iyileşme sürecinde kritik önem taşır [56]. Nötrofiller, genellikle yaralanmanın 24 - 36 saat sonrasında, çeşitli kimyasal çekicilerin etkisiyle yara bölgesine çekilir [57]. Yüzey adezyon moleküllerinin düzenlemesindeki değişiklikler, nötrofillerin endotel hücrelere yapışmasını sağlar [58]. Bu, nötrofillerin kan akışı ile itilerek endotel hücreler üzerinde yuvarlanmasına yol açar, bu bağlantılar selektin-bağımlı etkileşimlerle gerçekleştirilir [59].

Endotel hücreleri tarafından salgılanan kemokinler, hücrelerin venüllerden dışarı doğru göç etmelerini sağlayacak daha güçlü bir adezyon sistemini aktive eder [49]. Yara ortamına girdiklerinde, nötrofiller yabancı materyalleri ve bakterileri fagosite eder ve proteolitik enzimler ve oksijen türevli serbest radikal türlerini salarak onları yok eder [60].

Geç enflamasyon fazı boyunca, yaralanmanın 48 - 72 saat sonrasında, makrofajlar yara bölgesine giriş yapar ve fagositoz sürecini devam ettirirler. Bu makrofajlar, aslında yara bölgesine ulaştığında doku makrofajlarına dönüşen orijinal kan monositleridir [61]. Yaradan monosit ve makrofaj eksikliği, yetersiz yara debridmanına, gecikmiş fibroblast proliferasyonuna ve olgunlaşmaya ve anjiyogenezin gecikmesine yol açarak ciddi iyileşme bozukluklarına sebep olur ve bu durum, yetersiz fibrozis ve zayıf iyileşmiş bir yara ile sonuçlanır [62].

Makrofajlar, pıhtılaşma faktörleri, komplement bileşenleri ve PDGF (platelet kaynaklı büyüme faktörü) ve TGF- β (Transforme edici büyüme faktör-beta) gibi sitokinler ve platelet faktör IV, elastin ve kollajen yıkım ürünleri gibi çeşitli kimyasal çekicilerin etkisiyle yara bölgesine çekilir. Bu hücreler, nötrofillerden daha uzun ömürlüdür ve daha düşük bir pH'da aktivitelerini sürdürürler [63].

Makrofajlar, enflamasyonun geç aşamaları için ana hücrelerdir, hem düzenleyici hücreler olarak işlev görürler hem de TGF- β gibi önemli doku büyüme faktörlerinin bol bir rezervuarı olarak hizmet ederler. Ayrıca, keratinositler, fibroblastlar ve endotel hücrelerin

aktivasyonunu sağlayan diğer mediyatörleri (TGF- α , heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü, FGF (fibroblast büyüme faktörü), kollajenaz) salarlar [39].

Geç enflamasyon evresinde yaraya son gelen hücreler lenfositlerdir, bu hücreler yaralanmanın üzerinden 72 saat geçtikten sonra IL-1 (İnterlökin-1), komplement bileşenleri ve IgG (İmmünglobulin G) yıkım ürünlerinin etkisiyle çekilirler. IL-1, kollajenaz düzenlemesi, ekstrasellüler matriks bileşenlerinin üretimi ve parçalanması gibi süreçlerde önemli bir role sahiptir, bu süreçler daha sonra kollajen remodellemesi için gereklidir [2].

Enflamasyon süreci, yara iyileşmesinin başarısı için kritik bir role sahiptir. Bu aşama, potansiyel zararlı bakteri ve yabancı cisimlerin eliminasyonu, doku hasarının azaltılması ve sonraki iyileşme evrelerinin başlaması için çeşitli hücrelerin koordinasyonunu gerektirir. Bu nedenle, tüm evrelerin düzgün bir şekilde ilerlemesi, genel iyileşme sürecinin başarısı için hayati öneme sahiptir [31].

Proliferasyon

Yara iyileşmesinin proliferatif fazı, genellikle yaralanmanın sonrasında üçüncü gün başlar ve yaklaşık iki hafta boyunca devam eder. Bu fazın temel amacı, yara boşluğunu doldurmak ve yeni bir cilt tabakası oluşturmak için hücrelerin ve matriksin oluşturulmasıdır. İyileşme sürecinde fibroblastlar, makrofajlar tarafından salınan büyüme faktörlerinin etkisiyle aktive olur ve yara bölgesine göç ederler [64]. Bu fibroblastlar, bir çeşit iskele işlevi gören geçici matriksi kullanarak çoğalmaya başlarlar ve kollajen ile diğer ECM (ekstrasellüler matriks) bileşenlerini üretirler [65]. oluşan kollajen fibrillerinin sentezi, yaralanmanın 5. ve 7. günleri arasında zirveye ulaşır. Ancak bu ilk fibriller genellikle düzensizdir ve gerilme kuvvetine karşı zayıftır, bu nedenle dokunun yapısal bütünlüğünü tam olarak sağlayamazlar. Ancak, bu aşamada fibroblastların çoğalması süreci yeni damarların oluşumuyla birlikte hızlanır. Anjiyogenez veya yeni damar oluşumu, oksijen ve besin maddelerinin hücre çoğalmasını hızlandıracak şekilde yaraya taşınmasını sağlar. Yeni damarların oluşumu, EPC'ler (endotelial progenitör hücreler) tarafından desteklenir ve PDGF, FGF-2 (fibroblast büyüme faktörü-2) ve VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) gibi pro-anjiyogenik faktörlerin etkisi altında dinamik ve düzenli bir süreçtir [66]. Yaralanmanın 3. ve 7. günleri arasında, yeni damar oluşumu belirginleşir. Fazın sonlarına doğru, damar yoğunluğu azalmaya başlar. Bu süre zarfında, granülasyon dokusu, yeni oluşan kapiller ađ ve bağ dokusu tarafından

oluşur ve genellikle ikincil yaraları doldurur. Granülasyon dokusu oluşumu sırasında, keratinositler yara kenarlarından yeni matrikse doğru göç ederek epitelizasyon sürecini başlatır [67]. Bu hücreler, granülasyon dokusunu örter ve yarayı kapatır. Epidermal hücrelerden salınan çeşitli büyüme faktörleri, özellikle EGF (epidermal büyüme faktörü), KGF (keratinosit büyüme faktörü) ve FGF-2, epitelial hücrelerin çoğalmasını uyarır, böylece epiderminin restorasyonunu sağlar. Son olarak, bu fazda yara kontraksiyonu da gerçekleşir, bu süreç yara boyutunu azaltır ve yaranın kapanmasına yardımcı olur. Miofibroblastlar, yara kenarlarını birbirine doğru çeken hücrelerdir ve kontraksiyon sürecinde önemli bir rol oynarlar. Bütün bu süreçler boyunca, çeşitli enzimler de önemli roller oynarlar. Örneğin, MMP'ler eski veya hasarlı ECM bileşenlerini parçalar, bu da yeni ECM bileşenlerinin oluşmasını sağlar [68]. Kollajenazlar, kollajen moleküllerini parçalar, bu da kollajenin düzgün bir şekilde hizalanmasını ve çapraz bağlanmasını sağlar. Bu enzim aktiviteleri, yeni oluşan dokunun dayanıklılığını ve yapısal bütünlüğünü artırır. Ancak, tüm bu süreçlerin düzenlenmesi çok hassas bir denge gerektirir. Örneğin, aşırı MMP veya kollajenaz aktivitesi yara iyileşmesini engelleyebilir ve kronik yaralara neden olabilir. Benzer şekilde, büyüme faktörlerinin aktivitesi de dikkatlice düzenlenmelidir. Aşırı veya yetersiz büyüme faktörü aktivitesi, yara iyileşmesini engelleyebilir ve düzgün bir şekilde iyileşmeyen yaralara yol açabilir [39].

Remodelling fazı

Yara iyileşmesinin son aşaması olan yeniden modelleme veya olgunlaşma aşaması, yeni bir epitel ve son scar (iz) dokusu oluşumundan sorumludur [46]. Bu süreç, granülasyon dokusunun gelişimiyle eş zamanlı olarak başlar ve ekstraselüler matriksin (hücre dışı yapıların geneline oluşturan moleküller) sentezi ile devam eder. Bu aşama, birkaç aydan 1-2 yıla kadar, hatta bazen daha uzun süreler boyunca devam edebilir [31]. Yaranın iyileşme sürecinin son evresi olan yeniden modelleme, hücre dışı matriksin maturasyonu ve kollajen liflerin çaplarının büyümesiyle karakterizedir [3]. Yara iyileşme süreci tamamlandığında, kollajen lifleri orijinal gücünü tamamen kazanmamaktadır.

2.2.3. Yara iyileşmesi tipleri

Yara iyileşmesi, genellikle üç temel tipte gerçekleşir: primer iyileşme, sekonder iyileşme ve tersiyer iyileşme. Bu tipler, yaranın büyüklüğü, derinliği ve enfeksiyon riski gibi faktörlere

bağlı olarak farklı özellikler gösterirler. Her bir tip yara iyileşmesinin kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır [69].

Primer yara iyileşmesi

Yaranın kenarlarının hemen bir araya getirildiği ve tipik olarak bir cerrahi insizyonun sonucu olarak dikildiği veya zımbalandığı bir tür yara iyileşmesidir [70].

Primer yara iyileşmesinin ana avantajı, yara kenarlarının direkt apozisyonda olması nedeniyle minimum skar ve doku kaybıyla sonuçlanmasıdır [71].

Birincil yara iyileşmesi genellikle daha hızlıdır ve ikincil yara iyileşmesinden daha düşük enfeksiyon riskine sahiptir, çünkü yara kapanma ile korunur ve çevreye daha az maruz kalma durumuna sahiptir. Bununla birlikte, kontamine veya ağır enfekte yaralar gibi belirli yara türleri için uygun olmayabilir ve daha görünür yara izlerine neden olabilir [72].

Sekonder yara iyileşmesi

İkincil yara iyileşmesi, yara kenarlarının açık bırakıldığı ve iyileşmenin aşağıdan yukarıya doğru gerçekleştiği bir yara iyileşme yöntemidir. Bu yöntem, genellikle daha büyük yaralar veya önemli doku kaybı veya enfeksiyonu olan yaraların tedavisinde kullanılır. İkincil iyileşme yöntemi, birincil iyileşme yöntemine göre daha fazla enfeksiyon riski taşır [73].

Yara iyileşmesi, birincil yara iyileşmesinden daha yavaş bir süreçtir ve skar ve doku kaybına neden olma olasılığı daha yüksektir. Ancak, birincil kapanmanın mümkün olmadığı veya tavsiye edilmediği belirli yara tipleri için gereklidir. Kontamine veya ağır enfekte yaralar, nekrotik dokunun varlığı veya yara boyutunun büyük olması gibi durumlarda, yaranın açık bırakılması ve ikincil yara iyileşmesinin teşvik edilmesi önerilir. Bu durumlarda, ikincil yara iyileşmesi, yaranın iyice temizlenmesini ve debridement edilmesini sağlar, enfeksiyon riskini azaltır ve iyileşmeyi teşvik eder. Bununla birlikte, ikincil yara iyileşmesi daha uzun bir süreçtir ve daha belirgin yara izleri oluşabilir [72].

Tersiyer yara iyileşmesi

Tersiyer yara iyileşmesi, yaraların açık bırakıldığı ve yarayı örtmek için deri greftleri veya doku nakillerinin kullanıldığı bir yara iyileşme yöntemidir. Bu yöntem genellikle, geniş veya kronik yaralar veya önemli doku kaybı veya kusurları olan yaralar gibi kendi başlarına iyileşemeyen yaralar için kullanılır. Yara, öncelikle iyileşme sürecine hazırlanmak için açık bırakılır, ardından deri greftleri veya doku nakilleri ile örtülür ve son olarak yara iyileşmesi gerçekleşir. Bu yöntem, diğer yöntemlere göre daha uzun bir iyileşme süresine sahiptir ve daha fazla komplikasyon riski taşır [64].

2.2.4. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Yara iyileşmesinde oluşabilecek bozuklukların sebepleri birden fazla faktöre bağlıdır. Genel olarak, iyileşmeyi etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak sınıflandırılabilir. Lokal faktörler, yaranın özelliklerini doğrudan etkileyen etmenlerdir, sistemik faktörler ise kişinin genel sağlık durumu veya hastalık durumu gibi etkenlerle iyileşme sürecini etkiler [74].

Lokal faktörler

Oksidasyon

Oksidasyon, yara iyileşmesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Oksidatif stres, yaraların iyileşmesinde rol oynayan hücrelerin işlevini bozabilir ve yara iyileşmesini geciktirebilir. Oksidatif stres, ROS olarak bilinen serbest radikallerin hücrelerde birikmesi sonucu oluşur ve bu ROS'lar, hücre zarları, proteinler ve DNA gibi biyomolekülleri hasarlayabilir. Yara iyileşmesi sürecinde ROS'ların düzgün bir şekilde dengelemesi önemlidir, çünkü yaranın erken döneminde ROS'lar, enflamasyonu uyarır ve hücreleri yaraya çeker. Ancak, yara iyileşmesinin ileri dönemlerinde ROS'ların aşırı birikimi, hücrelerin işlevini bozabilir ve yara iyileşmesini geciktirebilir [75].

Enfeksiyon

Cilt yaralanması durumunda, mikroorganizmalar yaranın içerisinde çoğalabilir ve farklı enfeksiyon aşamalarına geçiş yapabilir. Enfeksiyonun yayılımı, mikroorganizmaların replikasyon durumuna ve enfeksiyonun aşamalarına bağlıdır. Enflamasyon, enfeksiyonlu

yaralarda normal bir süreçtir ancak etkili bir dekontaminasyon olmadığında enflamasyon süreci uzayabilir. Uzun süreli enflamasyon, yaranın iyileşmesini engelleyebilir [74].

Yabancı cisim

Yabancı cisimler, yaraların iyileşme sürecini olumsuz yönde etkileyebilir. Yabancı cisimler, yaranın içinde enfeksiyonlara neden olabilecek bakteri ve diğer patojenlerin birikmesine neden olabilir. Ayrıca, yabancı cisimler yaranın düzgün bir şekilde kapanmasını engelleyebilir ve iyileşme sürecini geciktirebilir. Yabancı cisimlerin yaradan çıkarılması, yara iyileşmesini hızlandırmak için önemlidir [76].

Venöz yeterlilik

Venöz yetersizlik, yaranın beslenmesini ve oksijen almasını engeller ve yara iyileşmesini yavaşlatır. Ayrıca, venöz yetersizlik, yarada enfeksiyon riskini de artırabilir. Venöz bacak ülserleri tedavi edilmezse, kronik hale gelebilir ve yara iyileşmesi daha da zorlaşabilir. Tedavi, altta yatan venöz yetersizliği yönetmeyi ve yara iyileşmesini teşvik etmeyi içerir [77].

Sistemik faktörler

Yaşlanma

Yaşlı bireylerin yara iyileşme sürecinde enflamatuvar yanıtın değiştiği ve bu değişikliğin iyileşme sürecine etki ettiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, yaralanma sonrası T hücre infiltrasyonunun geciktiği, kemokin üretiminde değişikliklerin ve makrofaj fagositoz kapasitesinde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Bu değişikliklerin sonucunda, yeniden epitelyalizasyon, kollajen sentezi ve anjiyogenezin geciktiği görülmüştür [78].

Yaşa bağlı cinsiyet hormonları

Yaşa bağlı yara iyileşme bozukluklarında cinsiyet hormonlarının önemli bir rolü vardır. Östrojenler yenilenme, matris üretimi, proteaz inhibisyonu, epidermal fonksiyon ve enflamasyonla ilişkili genleri düzenleyerek yara iyileşmesini etkilerken, androjenler ise cilt

yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Çalışmalar, östrojenin yaşa bağlı iyileşme bozukluğunu hem erkeklerde hem de kadınlarda iyileştirebileceğini göstermektedir [79, 80].

Stres

Kronik stres, immün fonksiyonların azalmasına ve enflamasyon sürecinin devamlılığının artmasına neden olabilir. Bu da yara iyileşmesinin yavaşlamasına veya duraksamasına sebep olabilir. Ayrıca stres, doku hasarının daha uzun süre devam etmesine neden olabilir ve bu da yara iyileşmesini daha da zorlaştırabilir [81].

Birçok araştırma, stres yönetimi tekniklerinin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, mindfulness meditasyonunun cilt yaralarının iyileşmesini hızlandırdığını ve hastaların ağrı ve stres seviyelerini azalttığını göstermiştir [82].

Diyabet

Diyabet insülin salgılamada, insülinin etkisinde oluşan bozukluklarla beraber kendini gösteren yüksek kan şekeri ile tanılanmış kronik, metabolik bir hastalıktır [83].

Diyabet, yaraların iyileşme sürecini önemli ölçüde etkileyebilir. Diyabetle ilişkili kronik yüksek kan şekeri seviyeleri dolaşımı bozarak yara bölgesine oksijen iletiminin azalmasına ve yara iyileşmesinin yavaşlamasına yol açabilir [84].

Bölüm 2.2.5' da bu konu kapsamlı olarak anlatılacaktır.

Obezite

Obezite, yara iyileşmesini olumsuz etkileyen kronik enflamasyona neden olabilir. Ayrıca, dokuların oksijenlenmesini azaltarak ve kan akışını bozarak yara iyileşmesini geciktirebilir. Obez bireylerde bağışıklık fonksiyonu bozulabilir, enfeksiyon riskini artırabilir ve yara iyileşmesini zorlaştırabilir. Ayrıca, fazla kilo yara bölgesindeki dokulara ekstra baskı uygulayarak iyileşme sürecini daha da geciktirebilir [85].

Beslenme

Yara iyileşmesini etkileyen faktörlerden biri beslenmedir. Malnütrisyon veya belirli besin eksiklikleri, travma ve cerrahi sonrası yara iyileşmesini ciddi şekilde etkileyebilir. Yara iyileşmesi için enerji kaynağı olarak karbonhidratlar, proteinler ve aminoasitler ile yağlar kullanılır [86]. Protein eksikliği, yara iyileşmesini etkileyen en önemli besin maddelerinden biridir [87]. Arginin, yara iyileşmesi için gereklidir ve immün fonksiyonu, hormon salınımı, vasküler tonus ve endotel fonksiyonunu modüle eder [88]. Glutamin, hızlı proliferasyon gösteren hücrelerin metabolik enerjisi için önemlidir [89]. Yağ asitleri, enerji ihtiyacını karşılamak ve yara iyileşmesi ve doku onarımı için gerekli yapı taşlarını sağlamak için kullanılır. Vitaminler, mikro besin maddeleri yara iyileşmesinde önemlidir. Akut ve kronik yara iyileşmesine yardımcı olmak için, beslenme desteği sağlanması gereklidir [74].

2.2.5. Yara iyileşmesi ve diyabet

Diyabetli bireylerde yaraların iyileşmesinde, vasküler, nöropatik, immün ve biyokimyasal bileşenleri içeren kompleks bir patofizyolojik süreç rol oynamaktadır [90].

Diyabetli bireylerde yaşamları süresince yaklaşık %15-25'i diyabetik ayak yarası riskiyle karşı karşıyadır ve bu yaraların %40-80'i ciddi enfeksiyonlarla sonuçlanarak kemikleri etkileyen osteomyelite neden olabilir [91].

Diyabetli bireylerde yara iyileşme süreci, sürekli enflamasyon, bozulmuş anjiyogenezi, azalmış endotel progenitor hücreler ve hücre dışı matriks düzenlemesindeki dengesizlikle karakterizedir (Şekil 2.3.). Diyabetik yaralarda iyileşme sürecinde, nötrofiller ve makrofajlar, artmış kemotaktik kemokin seviyeleri sayesinde hasar görmüş bölgeye hızlı bir şekilde sızarlar. Sızan hücreler, IL-1 β (interlökin 1 β) ve TNF- α (tümör nekroz faktörü α) gibi enflamatuvar sitokinleri serbest bırakır. Enflamatuvar sitokinlerin seviyeleri, yaralı bölgelerde uzun süreli yüksek konsantrasyonlarla bulunarak iyileşme sürecini olumsuz yönde etkiler [92].

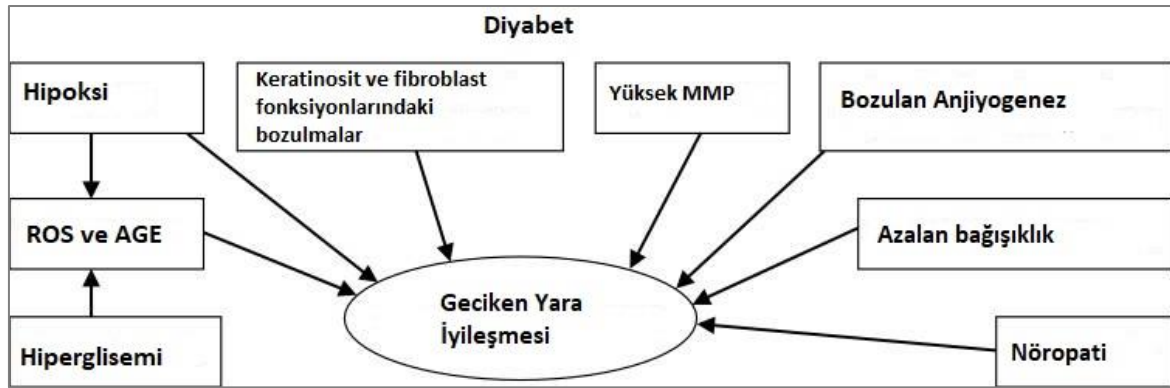
Diyabette, yara iyileşme sürecini başlatmak ve sürdürmek için önemli olan büyüme faktörlerinin üretimi azalmaktadır. Özellikle diyabetli hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan araştırmalar, yara dokusunda düşük IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) ve TGF- β (transforme edici büyüme faktörü- β) seviyelerinin gözlemlendiğini ortaya koymuştur. IGF-

1, hücre granülasyonu ve yaranın yeniden epitelizasyon süreçlerinde etkilidir, TGF- β ise bağışıklık hücreleri, keratinositler, fibroblastlar ve vasküler hücreleri toplayarak anjiyogenez ve ECM oluşumunda önemli bir rol oynar [93].

Vasküler olgunlaşma için gerekli faktörlerin (ANG1, ANG2 ve PDGF gibi) üretimi azalır, bu da yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler. Diyabetik fare modellerinde, ANG1 ve PDGF'nin dışarıdan uygulanması, yara iyileşme sürecini desteklemiştir [94].

Diyabetik yaralarda, MMP'ler (matriks metalloproteinazlar) ve TIMP'ler (matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri) tarafından düzenlenen ECM işleyişinde bozulma görülür. Yüksek glikoz seviyeleri, MMP üretimini artırır ve TIMP'lerin azalmasına yol açar. Bu dengesizlik, diyabetik yaraların iyileşme sürecinde sorunlara yol açar [95].

MMP'ler, hücre migrasyonu, lökosit invazyonu, sitokin işleme ve büyüme faktörlerine katkı sağlayarak yara iyileşmesinin farklı aşamalarında yer alır. MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge, uygun yara iyileşmesi için iskele yapılarının bozulmasını önlemekte önemlidir [96].



Şekil 2.3. Yara iyileşmesi periyodunda diyabetin etkileri [74]

2.2.6. Yara iyileşmesi, reaktif oksijen türleri

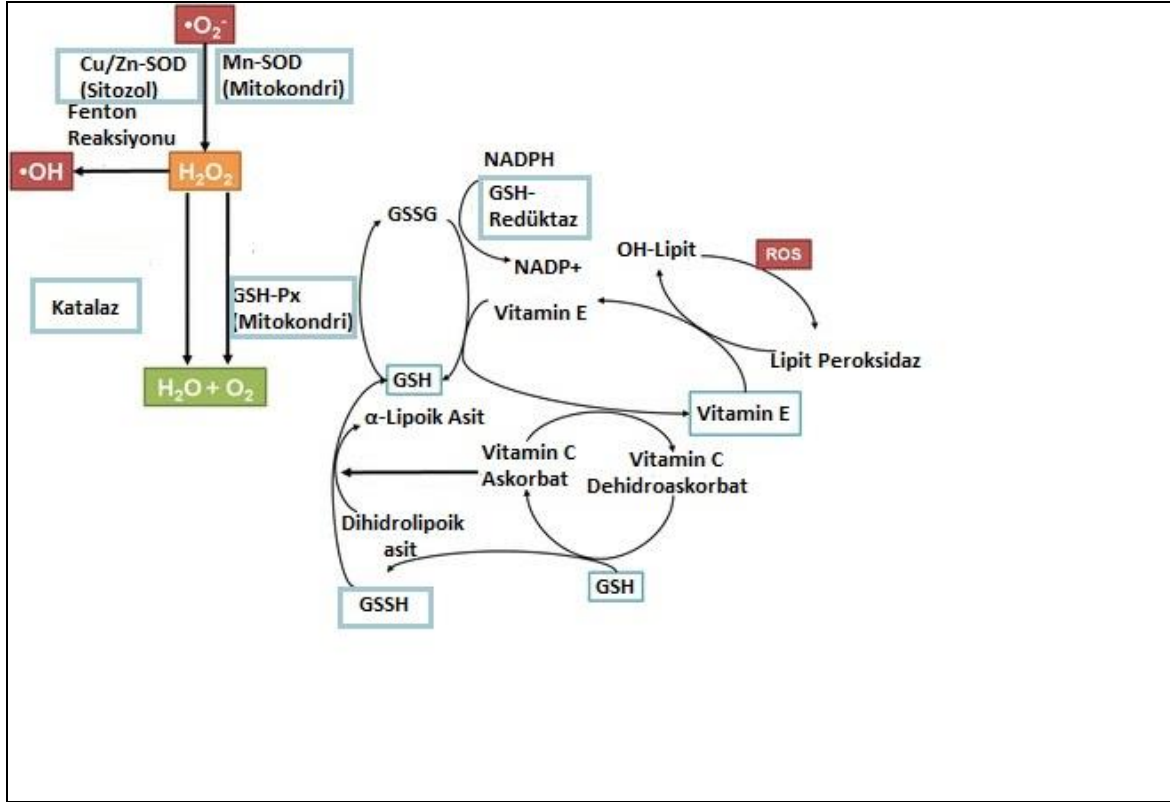
Yara iyileşmesi sürecinde, yara bölgesine yeterli oksijen sağlanması kritik öneme sahiptir [97]. Oksijen, dokuların yeniden yapılandırılması için gerekli enerjiyi sağlar ve aynı zamanda bakteri eliminasyonu, kolajen sentezi, anjiyogenez ve epitelizasyon gibi iyileşme sürecindeki etkinliklere destek olur [98].

ROS'lar, hücrelerin normal metabolik süreçleri sırasında, örneğin solunum zinciri boyunca oluşur [99]. Yaralı ve iltihaplı dokularda ise, özellikle enflamatuar hücrelerce yüksek seviyelerde üretilen NADPH oksidaz adlı enzim kompleksi vasıtasıyla büyük miktarda ROS oluşur. Bu durum, "solunum patlaması" olarak adlandırılmaktadır [100]. NADPH oksidaz aktivasyonu ile hücreler, yüksek düzeyde reaktif süperoksit radikal anyonları üretirler. Bu moleküller daha sonra H_2O_2 (hidrojen peroksit) ve suya dönüşür, ve bu süreç birkaç süperoksit dismutaz tarafından desteklenir [101]. H_2O_2 , bir radikal olmamasına rağmen, demir veya bakır iyonlarının varlığında hidroksil radikalleri oluşarak hücrelere ciddi zarar verebilir (Fenton reaksiyonu) [102]. Hidroksil radikalleri son derece saldırgan oldukları için hücresel makromoleküllerin oksidasyonuna yol açarlar. Bu yüzden, H_2O_2 hızla detoksifiye edilmelidir; bunu katalaz, çeşitli peroksidazlar ve peroksiredoksinler gerçekleştirir [103]. Peroksiredoksinler aynı zamanda lipit peroksitlerini de detoksifiye etme kabiliyetine sahiptir [104]. Eğer ROS detoksifikasyonu yetersiz olursa veya ROS fazla miktarda üretilirse, oksidatif stres meydana gelir ve bu da şiddetli hücre hasarına, erken yaşlanmaya veya hatta neoplastik dönüşüme yol açabilir [105].

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller, yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip olan atomlar veya atom gruplarıdır. Bu yapı, onları oldukça reaktif ve kimyasal olarak aktif hale getirir [106].

Oksidatif stres, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumu ile organizmanın antioksidan savunma sistemlerinin bu türlerin etkilerini nötralize etme kapasitesi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır Çizelge 2.2. de başlıcaları sunulmuştur. Bu dengesizlik, hücre ve dokulara zarar verebilir ve çeşitli hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir. Organizmalar, bu potansiyel zararlı etkilerle başa çıkmak için antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir [108]. Antioksidan savunma sistemleri, enzimatik bileşenler (örneğin süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) ve non-enzimatik bileşenler (örneğin C vitamini, E vitamini ve glutatyon) içermektedir. Bu koruma sistemleri, serbest radikallerin yol açabileceği oksidatif hasarı engellemeye ve hücrelerin normal işleyişini devam ettirmeye yardımcı olmaktadır [109].



Şekil 2.4. Organizmada antioksidan savunma mekanizmaları [110]

2.3.1. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerde, serbest radikaller fotoliz, organik materyalin termal parçalanması, radyoliz ve metal iyonları veya enzimler tarafından katalize edilen redoks reaksiyonları gibi bir dizi olay sonucunda meydana gelir. Bu radikaller, oldukça reaktif oldukları ve çeşitli moleküllerle hızlıca etkileşime girebildikleri için biyolojik süreçler üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilirler [111].

Oksijen özünde bir oksidandır ve metabolizması sırasında üretilen reaktif oksijen türleri potansiyel olarak toksik olabilir. Moleküler oksijen, paralel spin durumunda iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Bu elektronlardan biri, enerji seviyeleri arasında geçiş yaparsa veya farklı orbitallerde farklı yönlerde dönerse, bu durum singlet oksijenin oluşumuna yol açar [112]. Bu elektronların spin yönlerinin değişmesi, radikallerin oluşumunu tetikler. Spesifik olarak, bir veya iki elektronun farklı spin yönlerine sahip olması ve farklı orbitallere yerleştirilmesi, radikal oluşumuna yol açar. Bu radikaller, biyolojik sistemler üzerinde çeşitli etkileri olabilen oldukça reaktif bileşenlerdir [113].

Çizelge 2.2. Başlıca reaktif oksijen ve nitrojen türleri [107]

Reaktif oksijen türleri	Reaktif nitrojen türleri
Süperoksit (O_2^-)	Nitrik oksit (NO^-)
Hidroksil (HO)	Nitrojen dioksit (NO_2)
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Nitröz Asit (HNO_2)
Singlet oksijen (O_2)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Alkolsil (RO)	Alkil peroksinitrit ($ROONO$)

Süperoksit (O_2^-)

Süperoksit radikali, bir elektronun eksik olduğu durumlarda moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşur [114]. Biyolojik sistemlerde süperoksit, öncelikle mitokondriyal solunum zinciri ve NADPH oksidaz enzimleri gibi oksidazlar tarafından üretilir [115]. Ayrıca, bazı metal iyonlarının (örn. demir ve bakır) Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu gibi oksidatif süreçlerde yer almasıyla da süperoksit radikali oluşabilir [116].

Süperoksit radikali, biyolojik moleküllere zarar veren oksidatif süreçlerin başlatıcısıdır. Proteinler, lipitler ve DNA gibi biyolojik hedefler üzerinde oksidatif hasarlar oluşturarak hücre fonksiyonlarını bozar ve hücre ölümüne neden olabilir [117].

Hidroksil (OH^-)

Hidroksil radikali, reaktif oksijen türlerinin en etkili ve reaktif bileşenidir. Oksidatif hasar yaratarak proteinlerde, lipitlerde ve DNA'da tahribata sebep olur. Hidroksil radikali oluşumunda temel süreçler Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıdır. Fenton reaksiyonu, geçiş metalleri ve hidrojen peroksit kullanılırken, Haber-Weiss reaksiyonu süperoksit radikali ve hidrojen peroksit ile gerçekleşir. Bu iki reaksiyon, oksidatif stres ve hücre hasara önemli ölçüde sebep olur [118].

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Reaktif oksijen türlerinin önemli bir bileşeni olup, biyolojik sistemlerde oksidatif stres ve hücre sinyalizasyonunda rol alır. Oluşumu, mitokondriyal solunum zinciri ve peroksisomlar gibi hücre içi organellerde gerçekleşen enzimatik reaksiyonlara bağlıdır. Mitokondriyal solunumda, süperoksit radikali süperoksit dismutaz enzimi ile hidrojen peroksit ve

moleküler oksijene dönüşürken, peroksisomlarda uzun zincirli yağ asitleri ve amino asitlerin metabolizması sırasında hidrojen peroksit üretilir [119].

Nitrik oksit (NO)

Nitrik oksit (NO), reaktif nitrojen türlerinin en kritik bileşenlerinden biridir. Endotel hücreler, nöronlar ve makrofajlar gibi çeşitli hücre tiplerinde, l-arjinin amino asidinden NOS (nitrik oksit sentaz) aracılığıyla üretilir. NO'nun çeşitli biyolojik rolleri bulunmaktadır: bu gazotransmitter, kan damarlarının genişlemesine yardımcı olarak kan akışını artırırken, aynı zamanda trombositlerin bir araya gelip pıhtı oluşturmasını önler, böylece kanın akışkanlığını korur [120].

Peroksinitrit (ONOO-)

Peroksinitrit (ONOO-), nitrik oksit (NO) ve süperoksit aniyonu (O_2^-) birleştiğinde oluşan, kararsız, kısa ömürlü ve güçlü bir oksidanttır [121]. Bu bileşenler, NO'nun nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arginin amino asidinden üretildiği ve O_2^- 'nin genellikle hücre solunumundan kaynaklandığı biyolojik sistemlerde doğal olarak bulunur. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda veya düzgün bir şekilde düzenlenemeyen durumlarda, Peroksinitrit oluşumu artar ve hücrelerin oksidatif stres altında olduğu durumları tetikler. Peroksinitrit, hidroksil radikale benzer özellikler gösteren güçlü bir oksidandır ve aromatik bileşikleri hidroksilleyebilir ve nitratlayabilir, ayrıca tiyollerle hızlı bir şekilde reaksiyona girer [121].

2.3.2. Antioksidan savunma sistemleri

Antioksidan savunma sistemleri, hücrelerimizde serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) zararlı etkilerine karşı koruma sağlayan mekanizmaları içerir [122].

Antioksidanlar, zararlı serbest radikallerle mücadelede dört temel strateji kullanarak etkilerini gösterirler. Bunlar şunlardır:

1. Serbest radikalleri yakalayıp daha zayıf, zararsız bir moleküle dönüştürme (nötralize edici etki).
2. Serbest radikallere hidrojen bağışlayarak aktivitelerini düşürme veya etkisizleştirme (stabilize edici etki).

3. Serbest radikallerin sebep olduğu hasarları onarma (iyileştirici etki).
4. Serbest radikalleri hapsederek işlevlerini engelleme (reaksiyonu durduran etki) (Şekil 2.4.).

Antioksidan savunma sistemleri, iki ana kategoriye ayrılır: Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlardır (Şekil 2.5.). Bunlardan başlıcaları;

Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, antioksidan enzimler içerisinde birincil koruma mekanizmasıdır ve O_2^- - anyonunu oksijen O_2 ve hidrojen peroksit H_2O_2 'ye dönüştürme işlemini gerçekleştirir [123].

Oksidatif stresin azaltılması, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi sayesinde gerçekleştirilir [124]. Süperoksit radikalleri, hücrelerde enerji üretimi sırasında meydana gelen ve zararlı olan reaktif oksijen türleridir [125]. Bu radikaller, hücre zarlarına, proteinlere ve DNA'ya zarar verebilir; bu yüzden onların detoksifikasyonu oldukça önemlidir [126].

SOD enzimi, üç farklı formda mevcuttur ve hepsi süperoksit radikallerini oksijen ve hidrojen peroksit haline dönüştürme görevini üstlenir: [127].

Cu/Zn-SOD (SOD1): Bu SOD çeşidi, aktif bölgesinde bakır ve çinko iyonlarını kullanır. Cu/Zn-SOD, sitoplazma ve hücre çekirdeği içerisinde yer alır; bu alanlarda oluşan süperoksit radikallerini etkisiz hale getirir [128].

Mn-SOD (SOD2): Bu SOD çeşidi, aktif bölgesinde mangan iyonu kullanır. Mn-SOD, mitokondri iç membranında bulunur ve mitokondriyal süperoksit radikallerini etkisizleştirerek mitokondriyal hasarın önlenmesine katkıda bulunur [129].

Fe-SOD (SOD3): Bu SOD çeşidi, aktif bölgesinde demir iyonu kullanır. Fe-SOD, çoğunlukla prokaryotlar ve bazı bitkilerde mevcuttur; fakat insanlarda pek yaygın değildir [130].

SOD'nin çalışma mekanizması aşağıdaki gibidir:

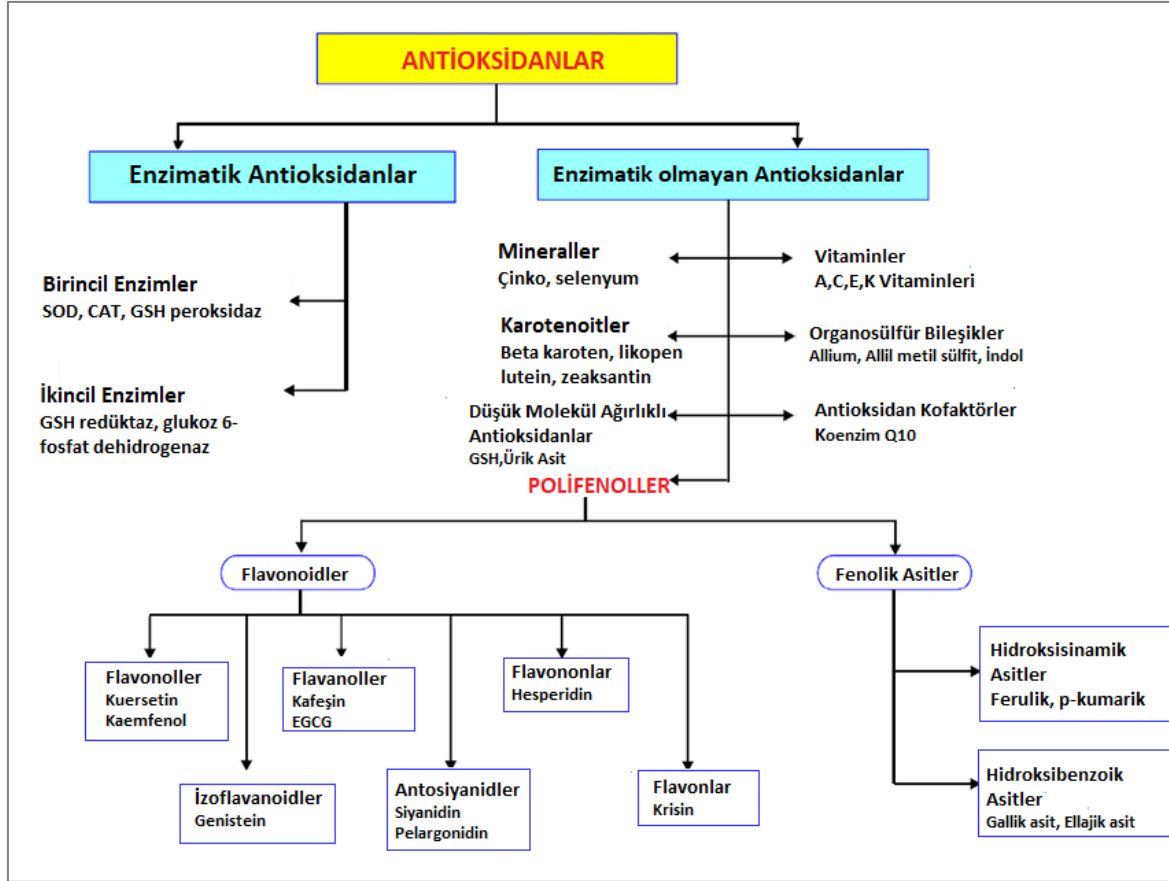
Süperoksit radikali (O_2^-) SOD enziminin aktif bölgesine yerleşir. Aktif bölgedeki metal iyonu (bakır, çinko, demir veya mangan) oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına dahil olur. Süperoksit radikali, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijen (O_2) hâline dönüşür. Hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi ek antioksidan enzimler tarafından su ve oksijene dönüştürülerek zararsız hâle getirilir [131].

Katalaz (CAT)

Katalaz, hücrelerde bulunan bir antioksidan enzimdir. Bu enzim, hidrojen peroksit (H_2O_2) moleküllerini su (H_2O) ve moleküler oksijen (O_2) bileşiklerine parçalayarak etkisiz hale getirir [132]. Katalaz, çoğu aerobik organizmada, özellikle peroksizom adı verilen hücre organellerinde bulunur [118].

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşenidir. Bu enzim, hücrelerin glutatyon adı verilen bir tripeptit kullanarak hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipit hidroperoksitlerini nötralize etmesine yardımcı olur. GSH-Px, çeşitli dokularda bulunur ve özellikle karaciğer, böbrekler ve kırmızı kan hücrelerinde yoğun olarak bulunur [133].



Şekil 2.5. Antioksidanların sınıflandırılması [134]

Enzimatik olmayan antioksidanlar

Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH), hücrelerde doğal olarak sentezlenen bir tripeptid (üç amino asit bileşimi) antioksidandır. Bu tripeptid, glutamat, sistein ve glicin amino asitlerinin birleşmesiyle sentezlenir [135].

Glutasyon, hücrelerimizde birçok önemli reaksiyonda görev alır. GSH, serbest radikalleri ve diğer reaktif oksijen türlerini etkili bir şekilde temizler. Bunun yanı sıra, glutasyon enzimler aracılığıyla dolaylı olarak da serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltır [136]. GSH-Px, GSH'ye bağımlı olarak H_2O_2 ve diğer peroksitleri indirger [137].

GSH'ın bir diğer rolü ise, GST (glutasyon-S-transferaz) bir arada çalışarak hücrelerin toksik bileşiklerden arınmasına yardımcı olur. GST, elektrofilik hedef moleküllerin GSH'ye bağlanmasını katalizler [138].

Glutasyon, hücre çoğalması, sperm olgunlaşması ve bağışıklık sistemi yanıtı gibi birçok biyolojik süreçte önemli bir rol oynar [139, 140]. T-lenfositlerinin ve nötrofillerin aktivasyonu ve sitokin üretimi gibi bağışıklık sistemi fonksiyonları için de gereklidir [141]. GSH, apoptoz sırasında, özellikle oksidatif stresin neden olduğu apoptotik yolların engellenmesi için kullanılır [142]. Süt üreten rat meme bezinde yapılan in vivo çalışmalar, erken GSH oksidasyonu ile nicel olarak daha fazla mitokondriyal DNA hasarı ve hücre apoptozu arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir [143].

Yapılan bir çalışmada ise, glutasyon ve kitosan uygulamasının tavşanların insizyonel oral mukozal yara iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Bulgular, glutasyon ve kitosan içeren tedavilerin yara iyileşmesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [144].

Ayrıca, influenza virüsü enfeksiyonunu engelleyebileceği gösterilmiştir. Glutasyon'un enfeksiyonu inhibe ettiği gösterilmiştir [140].

Vitamin C (Askorbik asit)

Vitamin C, kimyasal adı askorbik asit olan suya çözünebilen bir vitamindir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitterlerin biyosentezi için gereklidir [145]. C vitamini, insanlar için temel bir besin maddesidir, çünkü gulonolakton oksidaz adlı önemli bir enzimin biyosentez yeteneğini yitirmiş olmamız nedeniyle vücudumuzda üretilemez [146].

C vitamini eksikliği, skorbüt adı verilen ve hayati tehlike arz eden bir hastalığa yol açar. Skorbüt, kollajen yapılarının zayıflamasıyla belirginleşir ve bu durum, yara iyileşmesinde problemlere ve bağışıklık sisteminin düşmesine sebep olur [147].

Vitamin C, fagositoz gerçekleştiren nötrofiller gibi hücrelerde yoğunlaşır ve hücrelerin kemotaksi, fagositoz ve reaktif oksijen türleri üretme yeteneğini güçlendirerek mikroorganizmaları yok etmeyi destekler. Bunun yanı sıra, apoptoz süreci için gereklidir ve enfeksiyon alanındaki kullanılmış nötrofillerin makrofajlar tarafından temizlenmesine katkıda bulunur [148].

Askorbik asit, yara iyileşme ve yenilenme süreçlerinde kritik öneme sahiptir, çünkü kolajen sentezini teşvik eder. Özellikle ameliyat sonrası hastalar için, normal iyileşme sürecini

sağlamak adına yeterli miktarda askorbik asite ihtiyaç duyulmaktadır. Yara veya yanık bölgelerinde ameliyat sonrası dönemde, kolajen sentezi için askorbik asidin hızla tüketileceği düşünülmektedir [149].

Askorbik asitin demir emilimini artırma yeteneği uzun zamandır bilinmektedir [150].

Vitamin C, bitkisel kaynaklı gıdalardan alınan demirin daha emilebilir bir formuna dönüştürerek demirin emilimine yardımcı olur. Vitamin C ayrıca demiri hücrelerde depolamak için ferritin adı verilen bir proteine dönüştürerek vücutta depolanmasına yardımcı olur [151].

Vitamin E

Vitamin E, yağda çözünen ve insan vücudunun üretmediği, besinlerle alınması gereken bir vitamindir. Antioksidan olarak, dokuları serbest radikallerin hasarından korur ve hücre zarı stabilitesine, bağışıklık sistemi işlevine ve DNA sentezine katkıda bulunur. Dört ana tokoferol (alfa, beta, gama ve delta) ve dört tokotrienol formu (alfa, beta, gama ve delta) ile mevcuttur [152].

Ayrıca, yara iyileşmesinin son aşamalarında da yani doku yenilenmesi ve skar oluşumu aşamalarında, vitamin E'nin kolajen sentezini artırarak yara iyileşmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir [153].

Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, esas olarak pentoz fosfat yolu, şikimat ve fenilpropanoid yoloğı aracılığıyla oluşturulan benzersiz ikincil metabolitlerdir [154]. Fenolik bileşikler, benzol halkalarında bir ya da daha çok hidroksil yan grubu bulunduran kimyasal bileşiklerdir [155].

Bitkisel fenolik metabolitler, insan hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisindeki olası rolleri sebebiyle giderek daha fazla dikkat çekmektedir [156]. Yapılan çeşitli çalışmalar, fenolik bileşiklerin kanser, inme, kalp hastalığı ve osteoporozu önleme konusundaki tıbbi etkilerini ortaya koymuştur [157-160]. Fenolik bileşikler, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri sayesinde oksidatif stres ve patojenik mikroorganizmalarla mücadelede kullanılarak çeşitli hastalıkların tedavisine katkı sağlarlar [161, 162].

Fenolik asitler ve flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan iki önemli fenolik bileşik grubudur.

Fenolik asitler, hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler şeklinde iki kategoriye ayrılmaktadır [163]. Bu maddeler, bitkilerin büyüme ve gelişimine, renk ve lezzet oluşumuna, meyve olgunlaşmasına ve stres koşullarında korunmaya önemli katkılar sağlarlar [164]. İnsan sağlığına olan olumlu etkileri arasında, antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal gibi özellikleri bulunur [156, 165, 166]. Ayrıca, fenolik asitlerin diyabet, obezite gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisi açısından potansiyel faydaları da mevcuttur [167, 168].

Flavonoidler, geniş bir yelpazeye sahip fenolik bileşiklerdir ve altı temel alt sınıfa ayrılır: flavonlar, flavonoller, flavanoller, flavanonlar, antosiyanidinler ve izoflavonlardır [169]. Bu bileşikler, bitkilerde renklenme, UV koruması ve patojenlere karşı savunma gibi kritik işlevlere sahiptir [170]. İnsan sağlığına olan etkileri arasında antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antiviral, antimikrobiyal ve kardiyovasküler koruyucu aktiviteler bulunmaktadır [171]. Flavonoidlerin metabolizma üzerindeki önemli etkileri ise, insülin hassasiyetini artırarak kan şekeri düzeyini düşürme, lipid metabolizmasını düzenleme ve enerji dengesini kontrol etme gibi faydalar sağlar [172].

2.3.3. Lipit peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, biyolojik yapıdaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyona uğramasıyla gerçekleşen bir süreçtir [173]. Bu olgu, hücre zarlarında bulunan lipid molekülleri ile reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikaller arasındaki etkileşimin sonucunda ortaya çıkar [174]. Lipit peroksidasyonu, oksidatif stresin kritik bir belirteci olarak kabul edilir ve hücre zarı bileşenlerinin yapısal ve fonksiyonel uyumunu olumsuz yönde etkiler [175].

Lipit peroksidasyonu mekanizması üç ana aşama içerir: başlatma, yayılma ve sonlanma.

1. Başlatma: Bu aşamada, serbest radikaller ya da reaktif oksijen türleri (ROS) gibi enerjili moleküller, lipid molekülünden hidrojen atomu alarak kararsız lipid radikalleri (L-)

oluşturur. Bu radikaller hızla oksijenle reaksiyona girer ve lipit peroksil radikalleri (LOO-) meydana getirir [176].

2. Yayılma: Bu aşamada, lipit peroksil radikali (LOO-), başka bir lipit molekülünden hidrojen atomu çekerek lipit hidroperoksit (LOOH) oluşturur ve yeni lipit radikalleri (L•) üretir. Bu, daha fazla lipit peroksil radikallerinin oluşumunu tetikleyen hızlı ve zincirleme bir reaksiyondur. Bu süreçte, hasarlı lipit molekülleri artar ve hücre zarının bütünlüğü zarar görür [176].
3. Sonlanma: Bu aşamada, antioksidan moleküller devreye girerek serbest radikalleri ve lipit radikallerini stabilize eder ve lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunu durdurur. Lipit radikalleri, birleşerek dimer olabilir veya antioksidanlarla etkileşerek daha stabil ürünlere dönüşebilir [176].

Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan reaktif aldehidik ürünlerin önemli örnekleri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi bileşiklerdir. Bu ürünler, lipit peroksidasyonunun ve oksidatif stresin düzeylerini ölçmek için biyomarker olarak kullanılır [177].

Malondialdehit (MDA), doymamış lipitlerin oksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif bir aldehid türüdür [178]. MDA, lipit peroksidasyonunun seviyesini belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir biyomarker olarak kabul edilir ve oksidatif stresin göstergesi olarak hizmet eder [179]. Oksidatif stres, hücrelerin oksijen molekülleri ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı durumları ifade eder. Bu durum, hücre yapılarına ve işlevlerine zarar veren oksidatif hasarın bir sonucudur [109].

MDA'nın hücrelerde birikmesi, oksidatif stresin sonucu olarak hücre hasarının ve hastalıkların gelişimine neden olur [180]. MDA, DNA ve proteinlerle reaksiyona girerek, bu moleküllerin yapılarını ve işlevlerini bozarak hücre hasarına yol açabilir. Bu, DNA mutasyonlarına, protein fonksiyonlarının azalmasına ve enzim aktivitesinin değişmesine neden olabilir [177].

MDA seviyelerinin ölçümü, oksidatif stresin ve lipit peroksidasyonunun derecesini değerlendirmede önemli bir araçtır. MDA seviyeleri, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) yöntemi veya daha hassas spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler kullanılarak ölçülebilir. Bu yöntemler, MDA'nın biyolojik örneklerdeki seviyelerini

belirleyerek, oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun patolojik durumlarla ilişkisini ortaya koymak için kullanılır [173].

2.4. Yara İyileşmesi ve Fitoterapi

Deri hasarları, günlük yaşantımızda sıklıkla karşılaştığımız olaylardır ve insan cildi, uygun koşullarda kendi kendine iyileşme kabiliyetine sahiptir [46].

Fakat, bazı iç ve dış etkenler cildin doğal iyileşme kapasitesini etkileyebilir ve bu da, sağlık ve yaşam kalitesini doğrudan etkileyen kronik yaralar ve tedavi edilmemiş lezyonlar meydana getirebilir [53]. Bu yüzden, bu sağlık sorununa uygun yöntemlerle müdahale etmek önemlidir. Bu durumda, bitkisel tedaviler, kesikli yara tedavisi için bir alternatif sunabilir [181]. Doğa, binlerce yıl boyunca bitkilerin kullanılmasıyla tıbbi tedavilere kaynak sağlamış ve ilaç geliştirme prototipleri ile etkin bileşenlerin elde edilmesine olanak tanımıştır [182]. Antienflamatuvar, antimikrobiyal ve hücre uyarıcı özellikleri sayesinde, doğal bileşenler özellikle yara iyileşmesi tedavisinde tercih edilmektedir [183]. Çeşitli bitkiler ve ekstraktları, yara bakımı ve tedavisi için geleneksel olarak kullanılmış olup, iyileşme ve doku yeniden oluşumunu teşvik eden birden fazla ilişkili mekanizma aracılığıyla etki gösterir [184].

2.4.1. Rosmarinik asit

Rosmarinik asit (C₁₈H₁₆O₈), fenolik bir bileşik olup, Lamiaceae ve Boraginaceae ailelerine ait bitkilerde doğal olarak mevcuttur [15]. Bu bileşik, antioksidan, antienflamatuvar ve antimikrobiyal gibi çeşitli biyolojik etkilere sahiptir ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*), adaçayı (*Salvia officinalis*) ve hodan (*Borago officinalis*) gibi bitkilerde bulunur [185].

Yapısal ve Kimyasal Özellikler: Rosmarinik asit, kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenil laktik asit birimlerinin ester bağı ile birleşmesi sonucu oluşan fenolik bir bileşiktir (Şekil 2.6.). Fenolik yapısı nedeniyle, rosmarinik asit serbest radikal süpürücü aktivite göstererek antioksidan özellikler sergilemektedir [186].

Biyolojik Aktiviteler: Rosmarinik asitin biyolojik etkileri üzerine yapılan araştırmalar, aşağıdaki faydaları ortaya koymuştur:

Rosmarinik asit, iltihaplanma ve oksidatif stresle ilişkili birçok enzimi inhibe ederek yara iyileşmesini desteklemeye yardımcı olan güçlü antienflamatuar ve antioksidan etkilere sahiptir. Sanbongi vd., Perilla ekstresinde bulunan rosmarinik asitin, bir fare modeli üzerinde, ev tozu akarının sebep olduğu alerjik iltihaplanmayı nasıl engellediğini incelemiştir. Rosmarinik asidin iltihaplanmayı inhibe etme yeteneği, onun potansiyel bir anti-alerjik ajan olabileceğini göstermiştir [187].

Rosmarinik asit, bakteri, mantar ve virüslere karşı antimikrobiyal aktivite gösterir. Wang vd., *Rosmarinus officinalis L.* (biberiye) esansiyel yağının ve ana bileşenlerinin (özellikle 1,8-sineol, α -pinene ve camphor) antibakteriyel ve anti-kanser aktivitelerini karşılaştırmıştır. Çalışma, biberiye yağının ve bu bileşenlerin çeşitli bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini ve aynı zamanda insan kanser hücre hatları üzerinde de anti-kanser etkileri olduğunu bulmuştur [188].

Rosmarinik asit, hücre proliferasyonunu inhibe ederek ve apoptoza yol açarak kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını engeller. Yesil-Celiktas, vd., biberiye ekstraktları, karnosik asit ve rosmarinik asit gibi bileşenlerin çeşitli insan kanser hücre hatlarının büyümesini engelleme kapasitesini araştırmıştır. Çalışma, bu bileşenlerin kanser hücrelerinin büyümesini engelleme potansiyelini ortaya koymuş ve biberiye ve ana bileşenlerinin anti-kanser etkilerini göstermiştir [189].

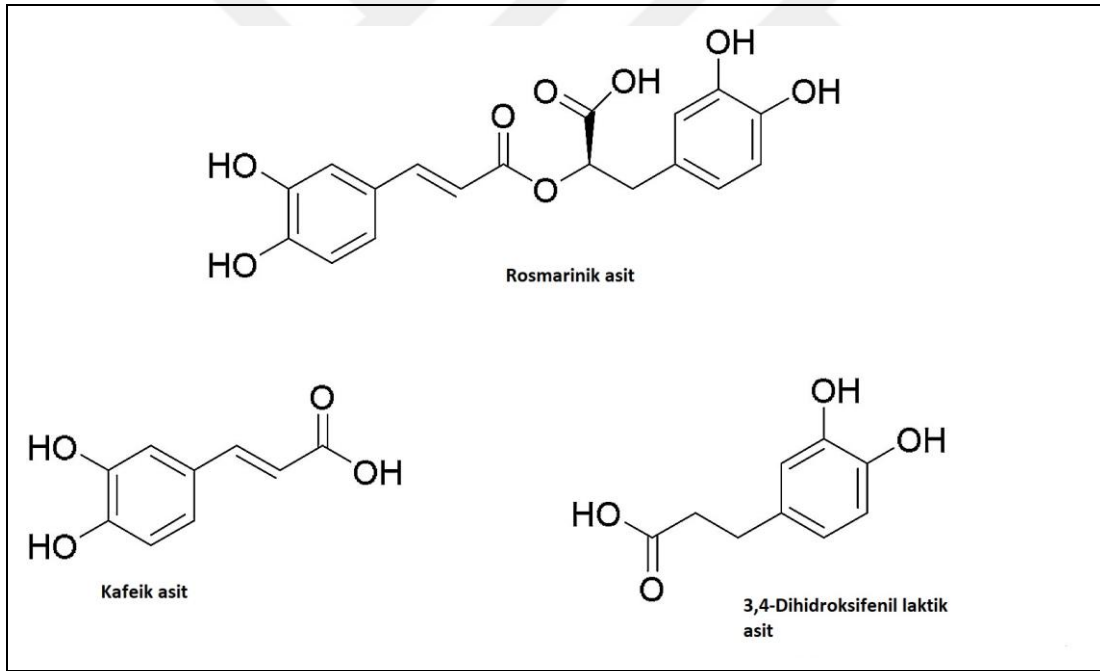
Rosmarinik asit, sinir sistemi üzerinde olumlu etkiler göstererek anksiyete ve depresyon belirtilerini hafifletir. Ito vd., Rosmarinik asitin farelerde antidepresan benzeri bir etki gösterdiğini ve bu etkinin hipokampus bölgesinde hücre proliferasyonunu artırarak gerçekleştiğini bulmuştur [190].

Rosmarinik asit, nöronları oksidatif strese karşı koruyarak nörodejeneratif hastalıkların gelişimini önlemeye yardımcı olabilir [191].

Rosmarinik asit, kan basıncını düşürerek ve oksidatif stresi azaltarak kardiyovasküler sağlığı destekler. Prasannarong vd., rosmarinik asitin, angiotensin II ile indüklenmiş ratlarda hipertansiyonu azalttığını ve iskelet kaslarında glikoz transportunu artırdığını bulmuştur. Bu bulgular, rosmarinik asidin hipertansiyon ve tip 2 diyabet tedavisinde potansiyel bir ajan olabileceğini gösteriyor [192].

Rosmarinik asitin farelerde atopik dermatit benzeri cilt lezyonlarının iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Rosmarinik asitin bu tür cilt lezyonlarına fayda sağlayabileceği düşünülmektedir [193]. Rosmarinik asitin dextran sülfat sodyum (DSS) ile indüklenen kolitli farelerdeki kolonik iltihabı baskılayıcı etkilerini araştırmıştır. Bu etki, yara iyileşmesi sürecinde önemli olan NF-κB ve STAT3 sinyal yollarının inhibisyonuyla ilişkilendirilmiştir. [194].

Küba, Türkoğlu vd., rosmarinik asitin ve topikal dexpanthenol'un bir rat deneysel yara modeli üzerinde yara iyileşme sürecini nasıl hızlandırdığını incelemiştir. Yapılan makroskopik karşılaştırmalar rosmarinik asitin yara boyutunu önemli derecede küçülttüğünü ortaya koymuştur. Araştırmada, her iki ajanın da yaraların iyileşmesini hızlandırdığı ve enflamasyonu azalttığı görülmüştür [195].



Şekil 2.6. Rosmarinik asitin yapısı ve öncülleri [196]

2.4.2. Karvakrol

Karvakrol (C₁₀H₁₄O), fenolik bir bileşik olup, özellikle *Lamiaceae* ailesine ait bitkilerde doğal olarak mevcuttur. Bu bileşik, antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal gibi çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. Özellikle kekik (*Thymus vulgaris*) ve kekikotu (*Origanum vulgare*) gibi bitkisel esansiyel yağlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur [197].

Karvakrol, antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümör özellikleri nedeniyle birçok çalışmanın odağı olmuştur.

Yapısal ve Kimyasal Özellikler: Karvakrol, monotermen fenol yapıya sahip bir bileşiktir ve yapısında hidroksil grubu (-OH) bulunur (Şekil 2.7.). Hidroksil grubunun varlığı, karvakrolün serbest radikallerle reaksiyona girme ve bu radikalleri nötralize etme yeteneği sağlar. Bu nedenle, karvakrol antioksidan özellikler gösterir [198].

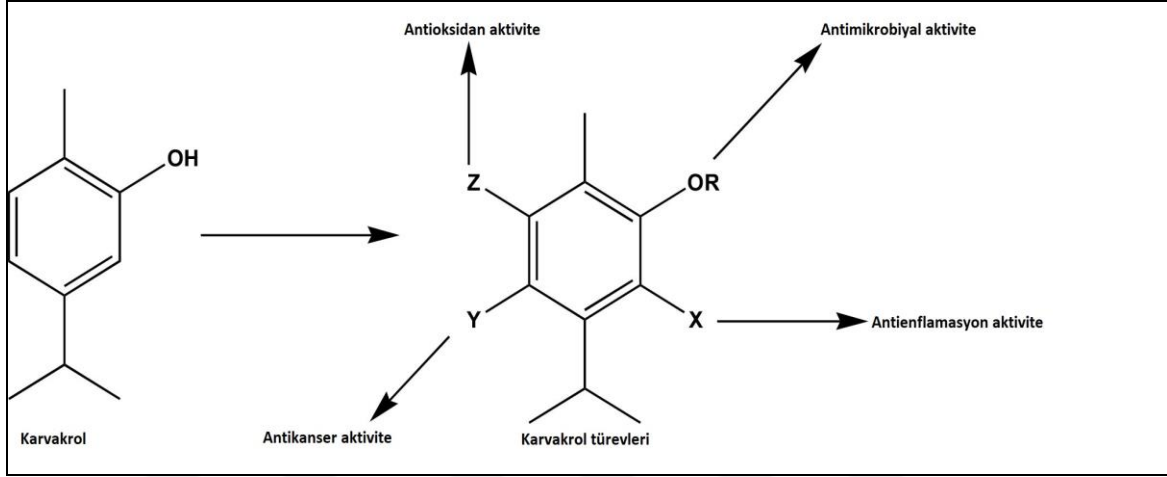
Karvakrolün antioksidan etkisi, fenolik yapısından ve serbest radikal süpürücü aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Serbest radikaller, hücre zarları, proteinler ve DNA gibi biyolojik moleküllere zarar verebilir ve bu da oksidatif stres ve çeşitli hastalıkların gelişimine yol açabilir. Karvakrol, serbest radikalleri nötralize ederek hücrelere ve dokulara olan zararlarını azaltabilir [199].

Lee vd., karvakrol açısından zengin kekik yağı ve timol açısından zengin kırmızı defne yağının *Escherichia coli* 'nin biyofilm oluşumunu ve virülansını inhibe ettiğini göstermiştir. *Escherichia coli* 'nin biyofilm oluşumu üzerindeki etkileri değerlendirmek için mikrotitre plakları kullanılmıştır. Bakterinin virülansını değerlendirmek için hücre adezyonu ve hücre zararlılığı testleri kullanılmıştır. Karvakrol açısından zengin kekik yağı ve timol açısından zengin kırmızı defne yağının, *Escherichia coli* 'nin biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azalttığı ve bakterinin virülansını azalttığı bulunmuştur [200].

Günel vd., erkek farelerde topikal karvakrol uygulamasının yara iyileşme sürecini hızlandırdığını göstermiştir. Farelerde oluşturulan yaralar üzerine karvakrol topikal olarak uygulanmış ve yara iyileşme parametreleri değerlendirilmiştir. Karvakrol uygulanan grupta daha hızlı yara kapanması, artmış yara kontraksiyonu ve gelişmiş epitelleşme gözlemlenmiştir. Ayrıca, histolojik analiz sonuçları karvakrol uygulamasının doku rejenerasyonunu ve kollajen birikimini artırdığını göstermiştir [201].

Costa, Durço vd., tarafından yapılan sistemik derleme, karvakrol, timol ve bu monotermenleri içeren esansiyel yağların yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Derleme, bu bileşiklerin yara iyileşmesinde potansiyel faydalarını vurgulamış ve antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve rejeneratif özelliklere sahip olduklarını belirtmiştir. Bu bileşiklerin yara kapanmasını hızlandırabileceği, doku rejenerasyonunu

teşvik edebileceği, enflamasyonu azaltabileceği ve enfeksiyonu önleyebileceği gösterilmiştir [202].



Şekil 2.7. Karvakrolün yapısı [203]



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Protokolü

Deneyleerde 250-300gr ağırlıkta 54 adet Wistar-Albino tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM) bakıldı. Deney öncesi ve deney sırasında ad libitum beslenen hayvanlar, deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldılar. Karvakrol ve Rosmarinik asit formülasyonları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD laboratuvarlarında Doç. Dr. Fatma Nur Tuğcu Demiröz tarafından hazırlandı.

3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabet oluşturmak üzere ratlara tek doz 60 mg/kg streptozotosin (STZ) (S0130, Sigma Aldrich, USA) intraperitonel yolla enjekte edildi. 3 gün sonra kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Kan şekeri 250 mg/dL'nin üzeri diyabetli olarak kabul edildi.

3.3. Yara Modelinin Oluşturulması

Deneyleerde kullanılacak olan 54 adet erkek Wistar-Albino rat, intramüsküler ketamin (Alfamanine 50mg/kg) ve ksilazin (Alfazyne 5mg/kg) enjeksiyon uygulaması ile genel anesteziye alınmıştır.

Deney öncesi enfeksiyon olmaması için yara oluşturulmadan önce hayvanların dorsal bölgelerine batikon uygulanmıştır. Tüm hayvanların dorsal bölgesinde omurganın her iki yanında birbirine paralel olacak şekilde 8 mm punch biyopsi (Acu-Punch, Acuderm, USA) ile 6 adet tek tip tam kat eksizyonel yara oluşturulmuştur (Resim 3.1.).

3.4. Deney Gruplarının Dizaynı

Her grupta 6 adet rat olmak üzere 9 grup oluşturuldu ve gruplara Çizelge 3.1.'de belirtildiği üzere belirlenen işlemler uygulandı.

Çizelge 3.1. Deneyler için oluşturulan gruplar ve uygulanan işlemler

1	Kontrol grubu	Diyabetli grup (n=6).
2	3 Günlük Tedavisiz Grup	Diyabet + Yara (3 gün) (n=6).
3	7 Günlük Tedavisiz Grup	Diyabet + Yara (7 gün) (n=6).
4	3 Günlük Karbopol Grup	Diyabet + Yara + Karbopol (3 gün) (n=6).
5	7 Günlük Karbopol Grup	Diyabet + Yara + Karbopol (7 gün) (n=6).
6	3 Günlük Topikal Tedavili Grup	Diyabet + Yara + Karvakrol ve Rosmarinik asit Topikal Tedavi (3 gün) (n=6).
7	7 Günlük Topikal Tedavili Grup	Diyabet + Yara + Karvakrol ve Rosmarinik asit Topikal Tedavi (7 gün) (n=6).
8	3 Günlük İntraperitoneal Tedavili Grup	Diyabet + Yara + Karvakrol ve Rosmarinik asit i.p. Tedavi (3 gün) (n=6).
9	7 Günlük İntraperitoneal Tedavili Grup	Diyabet + Yara + Karvakrol ve Rosmarinik asit i.p. Tedavi (7 gün) (n=6).

Deney için oluşturulan gruplar daha önceden belirlenen zaman noktalarında (3. ve 7. Günler) sakrifiye edilmiştir. Sakrifiye edilen tüm gruplardan daha sonra yapılacak olan MDA ve GSH analizleri için patolojik örnekler toplanmıştır.

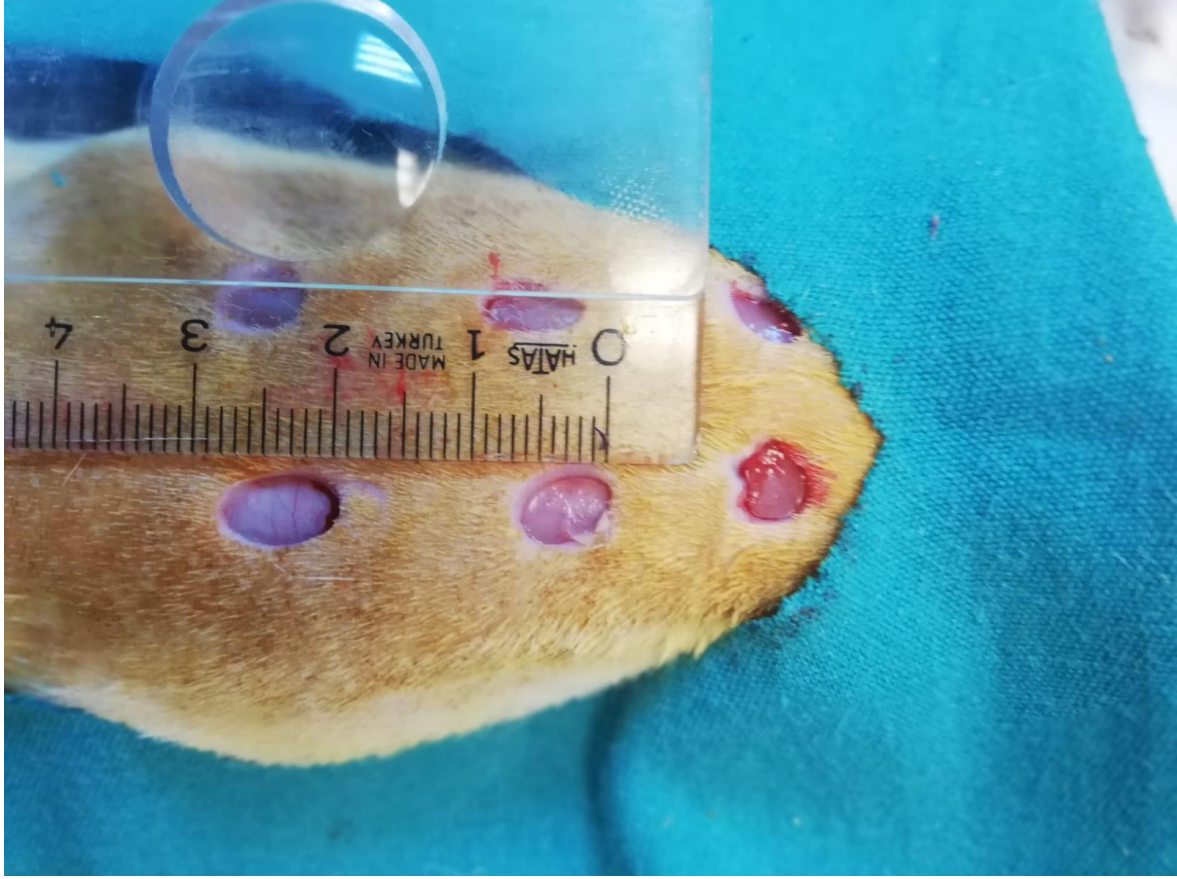
İlk grup, kontrol grubu olarak adlandırıldı ve bu gruptaki hayvanlara diyabet oluşturuldu, ancak herhangi bir tedavi uygulanmadı. İkinci ve üçüncü gruplar, tedavisiz gruplar olarak tanımlandı ve bu hayvanlarda diyabetli yara oluşturuldu. Herhangi bir tedavi uygulanmadan bu hayvanlar deneyin 3. ve 7. günlerinde sakrifiye edildi.

Dördüncü ve beşinci gruplar, karbopol tedavili gruplar olarak adlandırıldı. Diyabetli hayvanlarda yara oluşturuldu ve bu hayvanlar topikal olarak karbopol jel ile tedavi edildi. Bu tedavi sonrasında, bu hayvanlar deneyin 3. ve 7. günlerinde sakrifiye edildi.

Altıncı ve yedinci gruplar, karvakrol ve rosmarinik asit topikal tedavili gruplar olarak adlandırıldı. Diyabetli hayvanlarda yara oluşturuldu ve bu hayvanlar, karvakrol (10 mg/kg) ve rosmarinik asit (10 mg/kg) içeren jel ile topikal olarak tedavi edildi. Tedaviden sonra, bu hayvanlar deneyin 3. ve 7. günlerinde sakrifiye edildi.

Son olarak, sekizinci ve dokuzuncu gruplar, karvakrol ve rosmarinik asit ile intraperitoneal enjeksiyon tedavisi uygulanan gruplar olarak adlandırıldı. Diyabetli hayvanlarda yara oluşturuldu ve bu hayvanlara karvakrol (10 mg/kg) ve rosmarinik asit (10 mg/kg) içeren

ekstrakt ile intraperitoneal enjeksiyon uygulandı (Resim 3.2.). Bu tedavi sonrasında, hayvanlar deneyin 3. ve 7. günlerinde sakrifiye edildi (Çizelge 3.1.).



Resim 3.1. Diyabetik rata uygulanan yara oluşumu görünümü



Resim 3.2. Diyabetik rata uygulanan intraperitoneal uygulama görünümü

3.5. Yara Dokularının Alınması

Kontrol grubu hayvanların aynı bölgelerinden alınan dokular ile diğer gruplardan alınan yara dokuları bulaşmayı önleyecek materyale sarıldıktan sonra sıvı azot içerisinde konularak donduruldu ve analizlere kadar $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

3.6. Yöntemler

3.6.1. Dokuda MDA tayin yöntemi

Reaktifler

0.15 M KCl, %5'lik TCA, %0.67'lik TBA, %95'lik etanolde çözdürülmüş BHT, %1'lik H_2SO_4 , 1 Mm TEP (25 μl tetraetoksipropan/100mL distile su)

Dokunun hazırlanması

MDA analizinde kullanılacak olan ve önceden alınan yara dokusu örnekleri tartılarak numune miktarı belirlendi. Buz aküsü üzerinde bulunan yara dokusu, tartılan dokunun 9 katı

hacminde KCl içinde homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası oluşan karışıma daha sonrasında proteinleri çöktürmek üzere TCA eklendi ve çökme işlemi gözlemlenene kadar karıştırıldı. Daha sonra, +4°C'de 3000 g (RCF)'de 10 dakika süreyle santrifüj işlemi gerçekleştirildi.

Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant ortamdan alınarak çalışmaya devam edildi. Süpernatantlara TBA ve BHT ilave edilerek karıştırıldı ve 10 dakika süreyle su banyosunda ısıtıldı. Isıtma işlemi tamamlandıktan sonra, numuneler soğumaya bırakıldı. Numuneler soğuduktan sonra, 535 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında absorbans ölçümleri alındı. Yara dokusundaki MDA konsantrasyonları, nmol/g doku olarak hesaplandı.

3.6.2. Dokuda GSH tayin yöntemi

Reaktifler

0.15 M KCl, Reaktif karışımı = 30 g NaCl + 1,67 g metafosforik asit + 0.2 g EDTA/100 mL distile su, %1'lik Na₂HPO₄ içine 0.4 mg/mL DTNB

Dokunun hazırlanması

Yara dokusu ölçüldü ve tartıldı. Buz aküsü üzerinde alınan yara dokusu, tartılan dokunun 9 katı hacminde KCl içinde homojenize edildi. Deproteinizasyonun sağlanması için elde edilen homojenata 0.75 mL reaktif solüsyonu ilave edildi. Homojenat, 4.000 rpm'de +4°C'de 20 dakika süreyle santrifüj edildi. Bu işlem sonucunda elde edilen süpernatant, Na₂HPO₄ içinde çözünen DTNB ile karıştırıldı. Ardından, 412 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında ölçüm yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre, doku GSH seviyeleri µmol/g doku olarak hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Tüm veri setlerinin istatistiksel işlemleri ve görsel temsilleri Graphpad Prism 8.4.2 yazılımıyla yapılmıştır. Sonuçlar, standart sapmayı (\pm SD) da içerecek şekilde, ortalama \pm standart sapma formatında sunulmuştur. Gruplar ve deneylerin farklı günlerdeki yinelemeleri arasındaki farklılıklar tek yönlü ANOVA analizi ve sonrasında Post-Hoc Tukey

testi kullanılarak değerlendirilmiştir. p değeri 0,05 veya daha küçük olan bulgular istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. MDA Düzeyleri

Çizelge 4.1. Deney gruplarında MDA değerleri

GRUPLAR	MDA Değerleri (nmol/g)
Kontrol Grup (n=6)	41,11±2,32
3 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	50,12±4,68*
7 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	54,74±2,60* ^a
3 Günlük Karbopol Grup(n=6)	34,28±1,80* ^{a, b}
7 Günlük Karbopol Grup(n=6)	33,78±2,84* ^{a, b}
3 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	25,51±2,30* ^{a, b, c, d}
7 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	13,25±3,04* ^{a, b, c, d, e}
3 Günlük i.p. Tedavili Grup(n=6)	20,67±5,31* ^{a, b, c, d, f}
7 Günlük i.p. Tedavili Grup(n=6)	16,52±2,68* ^{a, b, c, d, e, f, g}

*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında (p <0,05)

a: 3 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

b: 7 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

c: 3 Günlük Karbopol Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

d: 7 Günlük Karbopol Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

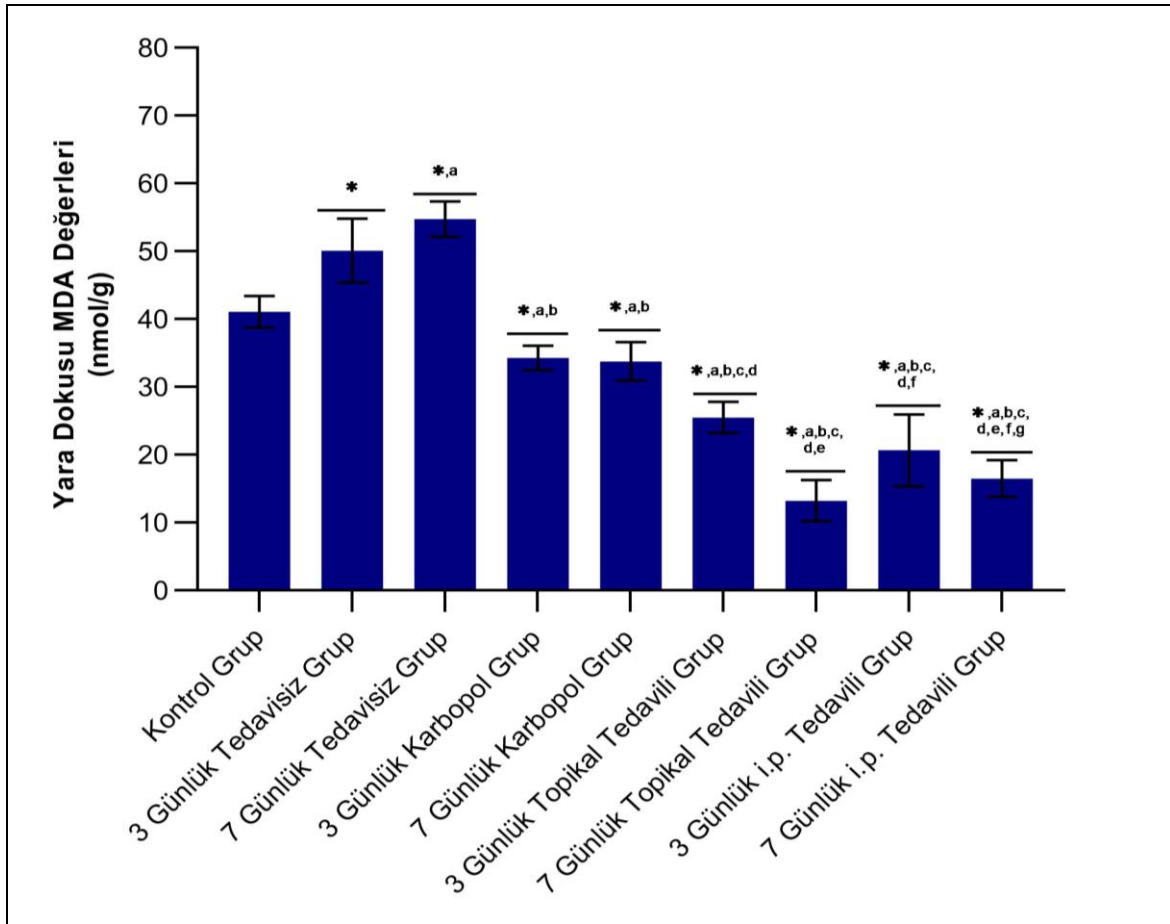
e: 3 Günlük Topikal Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

f: 7 Günlük Topikal Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

g: 3 Günlük i.p. Tedavili Grup ile Kıyaslandığında (p <0,05)

1. Kontrol Grubu (n=6): Bu grup, diğer gruplarla karşılaştırma yapmak için kullanılır. MDA değeri 41,11±2,32 olarak ölçülmüştür.
2. 3 Günlük Tedavisiz Grup (n=6): Bu grupta MDA değeri, kontrol grubuna göre önemli ölçüde yükselmiştir (50,12±4,68). İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (p<0,05).
3. 7 Günlük Tedavisiz Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve 3 günlük tedavisiz gruptan daha yüksektir (54,74±2,60). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).
4. 3 Günlük Karbopol Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve tedavisiz gruplardan düşüktür (34,28±1,80). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).
5. 7 Günlük Karbopol Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve tedavisiz gruplardan düşüktür (33,78±2,84). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).
6. 3 Günlük Topikal Tedavili Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve diğer gruplardan önemli ölçüde düşüktür (25,51±2,30). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

7. 7 Günlük Topikal Tedavili Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve diğer gruplardan önemli ölçüde düşüktür ($13,25 \pm 3,04$). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).
8. 3 Günlük i.p. Tedavili Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve diğer gruplardan düşüktür ($20,67 \pm 5,31$). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).
9. 7 Günlük i.p. Tedavili Grup (n=6): MDA değeri, kontrol grubundan ve diğer gruplardan düşüktür ($16,52 \pm 2,68$). Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$) (Çizelge 4.1.)



*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

a: 3 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

b: 7 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

c: 3 Günlük Karbopol Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

d: 7 Günlük Karbopol Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

e: 3 Günlük Topikal Tedavili Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

f: 7 Günlük Topikal Tedavili Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

g: 3 Günlük i.p. Tedavili Grup ile Kıyaslandığında ($p < 0,05$)

Şekil 4.1. Gruplardan elde edilen MDA düzeyleri grafiği

Sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla tedavisiz gruplarda MDA değerlerinin belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir ($p < 0,05$). Ancak, karbopol uygulaması, topikal

tedavi ve i.p. tedavi alan gruplarda MDA değerlerinde kontrol grubuna ve tedavisiz gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$). Karbopol tedavisi uygulanan grupların MDA seviyelerindeki azalma, bu tedavi türünün oksidatif stresle ilişkili MDA seviyeleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, en düşük MDA seviyeleri topikal tedavi ve i.p. tedavi uygulanan gruplarda görülmüştür.

Bu bulgular, özellikle karvakrol ve rosmarinik asit içeren topikal tedavi ve i.p. tedavilerinin oksidatif stresin azaltılmasında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Diğer yandan, 7. gününde ölçüm yapılan topikal ve i.p. tedavi gruplarındaki en düşük MDA değerleri, bu tedavilerin sürekli kullanımının daha etkili olabileceğini düşündürülebilir.

Bu sonuçlar, deneyde kullanılan tedavi yöntemlerinin oksidatif stresi azaltmada etkili olduğunu ve dolayısıyla doku hasarının önlenmesinde ve hücrelerdeki oksidatif stres etkilerinin hafifletilmesinde potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

4.2. GSH Düzeyleri

Çizelge 4.2. Deney gruplarında GSH değerleri

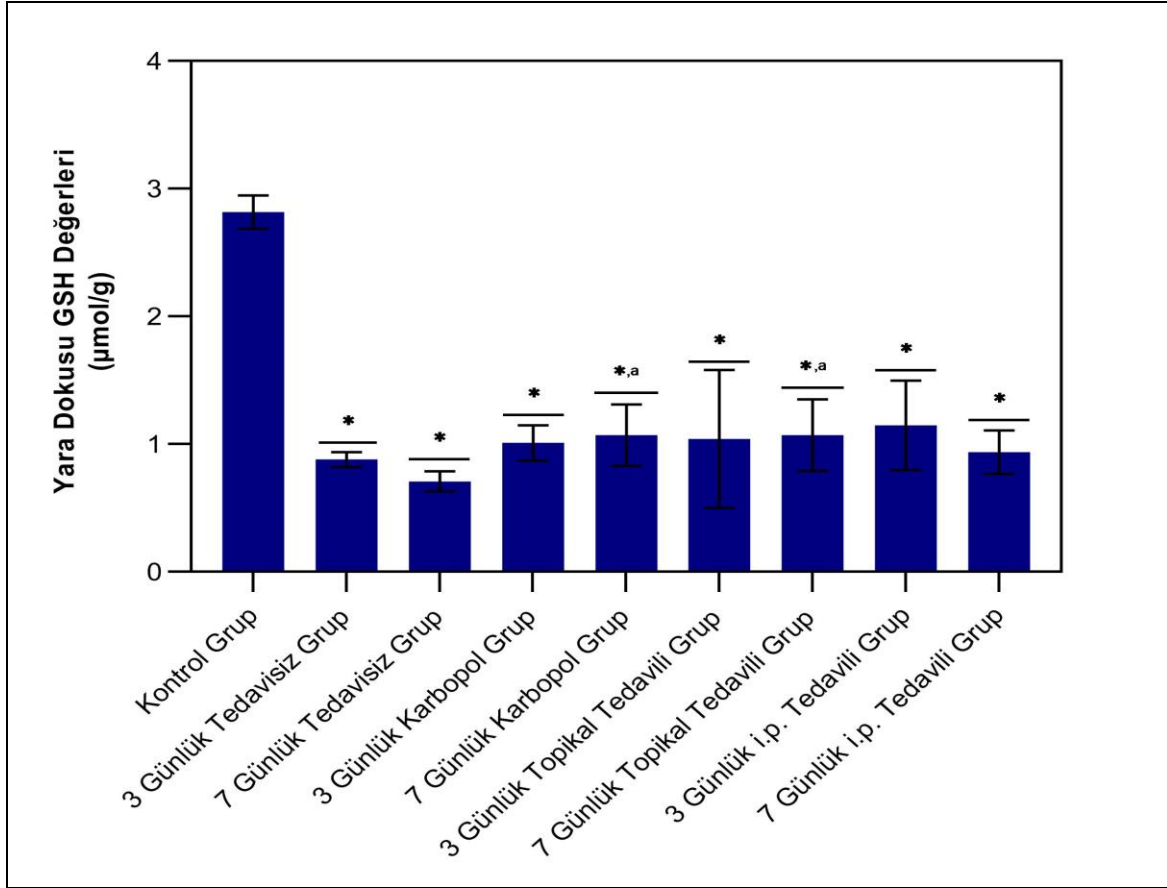
GRUPLAR	GSH Değerleri ($\mu\text{mol/g}$)
Kontrol Grup (n=6)	2,82 \pm 0,13
3 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	0,88 \pm 0,06*
7 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	0,71 \pm 0,08*
3 Günlük Karbopol Grup(n=6)	1,01 \pm 0,14*
7 Günlük Karbopol Grup(n=6)	1,07 \pm 0,24*, a
3 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	1,04 \pm 0,54*
7 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	1,07 \pm 0,28*, a
3 Günlük i.p. Tedavili Grup(n=6)	1,15 \pm 0,35*
7 Günlük i.p. Tedavili Grup(n=6)	0,94 \pm 0,18*

*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

a: 7 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

1. Kontrol Grubu (n=6): Bu grup, diğer gruplarla karşılaştırma yapmak için kullanılır. GSH değeri 2,82 \pm 0,13 olarak ölçülmüştür.
2. 3 Günlük Tedavisiz Grup (n=6): Bu grupta GSH değeri, kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşmüştür (0,88 \pm 0,06). İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$).

3. 7 Günlük Tedavisiz Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan daha düşüktür ($0,71\pm 0,08$) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).
4. 3 Günlük karbopol Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan düşüktür ($1,01\pm 0,14$) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).
5. 7 Günlük karbopol Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan düşük olmasına rağmen ($1,07\pm 0,24$), 7 Günlük Tedavisiz Grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$).
6. 3 Günlük Topikal Tedavili Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan düşüktür ($1,04\pm 0,54$) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).
7. 7 Günlük Topikal Tedavili Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan düşük olmasına rağmen ($1,07\pm 0,28$), 7 Günlük Tedavisiz Grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$).
8. 3 Günlük i.p. Tedavili Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan düşüktür ($1,15\pm 0,35$) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).
9. 7 Günlük i.p. Tedavili Grup (n=6): GSH değeri, kontrol grubundan düşüktür ($0,94\pm 0,18$) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). (Çizelge 4.2.).



*: Kontrol grubu ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)
a: 7 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında ($p < 0,05$)

Şekil 4.2. Gruplardan elde edilen GSH düzeyleri grafiği

GSH (Glutasyon) seviyelerine bakıldığında, 3. ve 7. günlerde yara iyileşmesi sırasında artan lipid peroksidasyonunu dengelemek için kullanılmıştır. Kontrol grubunun GSH değerleri ile karşılaştırıldığında, 3 ve 7 günlük tedavisiz grupların GSH seviyeleri önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Hem topikal hem de i.p. tedavili gruplar dahil olmak üzere tedavi uygulanan tüm gruplarda, 3. ve 7. günlerde GSH düzeylerinde bir artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar, rosmarinik asit ve karvakrolün birlikte kullanılmasının, yara dokusunun antioksidan kapasitesini artırabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm tedavi gruplarında saptanan GSH değerlerinin beklendiği üzere önemli ölçüde ve anlamlı olarak düşük olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ancak, karbopol ve topikal tedavi uygulanan 7 günlük gruplar, tedavisiz 7 günlük gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek GSH değerlerine sahiptir ($p < 0,05$). Bu, karbopol ve topikal tedavilerin 7 günlük süre zarfında GSH değerlerinin tedavisiz gruba göre korunmasına yardımcı olduğunu düşündürülebilir.

i.p. Tedavili gruplarda da GSH değerleri kontrol grubuna göre düşük olsa da, değerler 3 günlük ve 7 günlük süreler arasında önemli bir değişim göstermemiştir. Bu, i.p. tedavinin GSH değerlerinde belirgin bir iyileştirme sağlamadığına işaret edebilir. karbopol ve topikal tedavilerin 7 günlük süre zarfında GSH değerlerinin tedavisiz gruba göre korunmasına yardımcı olduğu anlaşılmaktadır. i.p. tedavi ise bu süreçte anlamlı bir etki göstermemiştir.



5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, doğal antioksidan aktiviteye sahip rosmarinik asit ve karvakrolün, diyabetik yaraların iyileşme sürecinde açığa çıkan oksidatif olaylar üzerindeki sinerjistik etkinliği incelenmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan bileşiklerin antioksidan kapasitesini ve oksidatif stres seviyesini belirlemek amacıyla diyabetik rat yara modelleri oluşturulmuş ve elde edilen yara dokusu numunelerinde uygulama sonrası MDA ve GSH düzeyleri incelenmiştir.

Kekik (*Thymus vulgaris*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve diğer bazı bitkilerden elde edilen Rosmanik asit içeriğinde pek çok fenolik bileşik içermektedir [204]. Fenolik bileşiklerin antienflamatuar aktivite gösterdiği daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [205].

Sadeghi vd., rosmarinik asitin lipopolisakkaritle (LPS) indüklenmiş periferik kan mononükleer hücreler (PBMC) üzerindeki antioksidan ve antienflamatuar etkilerini incelemiştir. LPS ile tedavi edilen PBMC'lere çeşitli konsantrasyonlarda rosmarinik asit eklendiğinde, rosmarinik asitin oksidatif stres belirteçlerini (MDA) ve TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proenflamatuar sitokinleri azalttığı bulunmuştur. Ayrıca, rosmarinik asitin antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GPx) aktivitesini artırdığı ve enflamasyonu düzenleyen NF- κ B yolaklarını inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, rosmarinik asitin enflamasyon ve oksidatif stresi azaltabileceği ve bu yüzden enflamatuar hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ajan olabileceğini göstermektedir [206].

Zych vd., rosmarinik asitin, östrojen eksikliği olan ratlarda glukoz ve lipit metabolizmasına etkisini araştırmıştır. Çalışmanın bulguları, rosmarinik asitin serum glukoz seviyelerini düşürdüğünü, lipit profili parametrelerini iyileştirdiğini ve oksidatif stresi azalttığını göstermiştir. Bu, rosmarinik asitin östrojen eksikliği nedeniyle oluşabilecek metabolik bozuklukları ve oksidatif stresi potansiyel olarak azaltabileceği anlamına gelir. Ancak, bu bulguların insanlar üzerinde de geçerli olup olmadığını belirlemek için daha fazla araştırma gereklidir [207].

Hasanein ve Seifi'nin çalışması, rosmarinik asitin, alkolle indüklenen karaciğer toksisitesine karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır. Araştırma, ratlar üzerinde, rosmarinik asitin

karaciğerdeki oksidatif stres belirteçleri ve karaciğer hasar belirteçlerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yani, rosmarinik asitin malondialdehit (MDA) seviyelerini azaltıp, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) seviyelerini artırdığı, bu sayede karaciğer hasarını hafiflettiği ve oksidatif stresi azalttığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, rosmarinik asitin hepatoprotektif ajan olarak kullanılmasının potansiyelini ortaya koymaktadır [208].

Ma vd., rosmarinik asitin omurilik yaralanmaları üzerindeki nöroprotektif etkisi incelenmiştir. Çalışmada, rosmarinik asitin SCI'li ratlarda oksidatif stresi ve enflamasyonu azaltma kapasitesi Nrf2 (nükleer faktör eritroid 2 ile ilgili faktör 2)/HO-1 (Hem Oksijenaz-1) ve TLR4 (Toll-benzeri reseptör 4)/NF- κ B (çekirdek faktörü kappa B) sinyalizasyon yolları üzerinden gözlemlenmiştir. Nrf2/HO-1 yollarının aktivasyonu, oksidatif stresi azaltmış ve antioksidan enzim aktivitesini artırmıştır. Diğer yandan, TLR4/NF- κ B yolu üzerindeki inhibisyon ise proenflamatuar sitokinlerin üretimini azaltmış ve enflamasyonu hafifletmiştir. Bu bulgular, rosmarinik asitin omurilik yaralanmalarına karşı potansiyel bir terapötik ajan olabileceğine işaret etmektedir [209].

Domitrović vd., rosmarinik asitin karbon tetraklorürle indüklenmiş farelerdeki akut karaciğer hasarı ve fibrojenez üzerindeki iyileştirici etkileri incelenmiştir. Bulgular, rosmarinik asitin karaciğerdeki oksidatif stresi (MDA, GSH) azalttığını, enflamatuar yanıtı (TNF- α , IL-1 β) ve fibrojenez belirteçlerini (TGF- β 1, α -SMA) düşürdüğünü göstermiştir. Bu, karbon tetraklorürle indüklenen karaciğer hasarı (AST, ALT) ve fibrojenezin azaltılmasına katkıda bulunmuştur. Bu sonuçlar, rosmarinik asitin akut karaciğer hasarı ve fibrojenez üzerinde potansiyel terapötik etkileri olduğunu göstermektedir [210].

Zhang vd., rosmarinik asitin radyasyonla indüklenen farelerde pulmoner fibrozisi (akciğer fibrozu) önlediği belirlenmiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmada, radyasyon tedavisi sonrasında rosmarinik asitin verilmesi ile akciğerlerde oluşan oksidatif stres ve fibrozis belirteçlerinde azalma görülmüştür. Rosmarinik asitin ROS/MYPT1/TGF β 1 sinyal yolunu miR-19b-3p aracılığıyla düzenlediği tespit edilmiştir. Bu bulgular, rosmarinik asitin radyasyonla ilişkili akciğer fibrozisini önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir [211].

Gautam vd., rosmarinik asitin deneysel olarak Freund tamamlayıcı adjuvan ile indüklenen artritteki enflamasyonu azalttığını ortaya koymaktadır. Ratlar üzerinde yapılan araştırmada, rosmarinik asitin artrit modelinde enflamasyonu azalttığı gözlenmiştir. Rosmarinik asitin uygulanan ratlarda eklem çapı azalmış, histopatolojik incelemelerde azalmış eklem hasarı ve enflamasyon tespit edilmiştir. Ayrıca, rosmarinik asitin sitokin düzeylerini düzenlediği ve oksidatif stresi azalttığı bulunmuştur. GSH, SOD, MDA ve TNF- α gibi antioksidan ve enflamatuar parametreler de ölçülmüştür. Bu bulgular, rosmarinik asitin artritte antiinflamatuvar etkilere sahip olabileceğini göstermektedir [212].

Zhao vd., siyah pirinç antosiyanin zengin özütü ve rosmarinik asitin dışkı ile indüklenen kolit modelinde koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir. Farelerde yapılan deneysel çalışmada, siyah pirinç antosiyanin zengin özütü ve rosmarinik asitin ayrı ayrı ve birlikte kullanılmasının, bağırsak histopatolojisini iyileştirdiği, oksidatif stresi azalttığı, bağırsak enflamasyonunu baskıladığı ve bağırsak bariyer fonksiyonunu koruduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, siyah pirinç antosiyanin zengin özütü ve rosmarinik asitin kolit tedavisinde potansiyel olarak faydalı olabileceğini göstermektedir [213]. Lambrechts vd., *Plectranthus aliciae* bitkisi, rosmarinik asit ve tetrasiklin altın nanopartiküllerini kullanarak akne bakterilerini hedefleyerek ve yara iyileşmesini in vitro ortamda araştırmıştır. Çalışmada, *Plectranthus aliciae* ekstraktının, rosmarinik asidin ve tetrasiklin altın nanopartiküllerinin akne bakterilerini hedefleme ve bakteriyel büyümeyi inhibe etme yeteneklerinin olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bu bileşiklerin hücre proliferasyonunu artırdığı, hücre göçünü teşvik ettiği ve yara iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir. Bu bulgular, *Plectranthus aliciae* bitkisinin ve bu bileşenlerin akne tedavisinde ve yara iyileşmesinde potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir [214].

Amaral vd., *Rosmarinus officinalis Linnaeus* (biberiye) etanolik özütünün (eeRo), etanolla indüklenen mide ülserine karşı potansiyel bir tedavi ajanı olabileceğini göstermiştir. Araştırma, etanolün neden olduğu mide zararına karşı eeRo'nun koruyucu etkisini incelerken, eeRo'nun antiinflamatuvar etkileri, antioksidan aktivitesi ve normal NO seviyelerini koruma yeteneğini belgelemiştir. EeRo'nun içerdiği ana aktif bileşenler, karnozik asit ve rosmarinik asit, bu koruma mekanizmasında önemli bir rol oynamıştır. EeRo'nun mide mukozasında güçlü antiinflamatuvar etkileri vardır, enflamatuar hücre infiltrasyonunu azaltır ve mide mukozasının histolojik yapısını korur. Ayrıca, eeRo, mide kan damarlarını genişleterek hücre proliferasyonunu artıran NO seviyelerini korur.

Antioksidan etkileri, indirgenmiş GSH seviyelerini artırarak ve GSSG (okside glutatyon) seviyelerini azaltarak midedeki GSH rezervlerinin tükenmesini önler. Ek olarak, eero H₂O₂ molekülünün oksijen ve suya dönüştürülmesinden sorumlu antioksidan enzim katalaz aktivitesini korur. Sonuç olarak, eero'nun belirgin antienflamatuar ve antioksidan etkileri, içerdiği yüksek konsantrasyonda karnosik asit ve rosmarinik asit ile teyit edilmiştir [215].

Karvakrol, kekik, biberiye ve yabani bergamot gibi doğal bitkilerden elde edilen bir fenolik izopropil monoterpindir. Bu bileşik, çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir, özellikle antikanser, antioksidan ve antienflamatuar etkileri bilinmektedir [216, 217].

Aristatile vd., karvakrolün UVB ışınlamasına maruz kalan insan periferik lenfositlerinde oksidatif stres ve hücrese DNA hasarını azaltma etkisini araştırmaktadır. Çalışma, lenfositlerin UVB ışınlarına maruz bırakılması ve karvakrol ile ön işlemden geçirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Karvakrol uygulanan lenfositlerde, oksidatif stres belirteçleri düşmüş ve antioksidan enzim aktivitesi artmıştır. Ayrıca, DNA hasarının göstergeleri karvakrol tedavisiyle azalmıştır. Bu bulgular, karvakrolün UVB ışınlarının neden olduğu oksidatif stres ve hücrese DNA hasarına karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir [218].

Guimarães vd., karvakrolün antioksidan ve antinosesepitif etkilerini incelemiştir. Çalışma hayvan modelleri üzerinde yapılan deneysel bir çalışmadır. Karvakrolün antioksidan etkisi, serbest radikal süpürme kapasitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri gibi biyokimyasal parametreler kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, karvakrolün antinosesepitif etkisi ağrı eşiği testleri ve enflamatuar ağrı modelleriyle değerlendirilmiştir. Bulgular, karvakrolün güçlü antioksidan etkiler gösterdiğini ve oksidatif stresi azalttığını, ayrıca antinosesepitif etkileri olduğunu ve ağrı eşiğini artırabildiğini göstermektedir [219].

Kuo vd., karvakrolün ligasyonla indüklenen periodontitis üzerindeki etkileri incelenmiştir. Fare modelleri kullanılarak, karvakrolün enflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) seviyelerini düşürdüğü, osteoklast aktivitesini azalttığı ve periodontal dokunun patolojik değişimlerini hafiflettiği bulunmuştur. Bu sonuçlar, karvakrolün diş eti hastalığı yönetiminde potansiyel bir ajan olabileceğini göstermektedir [220].

Bayramoglu vd., STZ ile indüklenen diyabetli ratlar üzerinde karvakrolün etkileri incelenmiştir. Karvakrol tedavisi, yüksek kan şekeri seviyelerini ve toplam plazma kolesterol seviyelerini anlamlı ölçüde düşürmüştür, insülin seviyelerini artırmıştır. Ayrıca, karvakrol AST, ALT ve LDH (laktat dehidrogenaz) seviyelerini düşürmüştür, böylece karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirmiştir. Karvakrol ayrıca oksidatif stres belirteçlerini azaltmış ve antioksidan enzim seviyelerini artırmıştır. Bu sonuçlar, karvakrolün diyabet semptomlarını kısmen tersine çevirme potansiyeli olduğunu göstermektedir [221].

Riaz vd., karvakrolün hiperürisemik ratlarda serum biyokimya profili üzerindeki etkilerini incelemiştir. Hiperürisemiye neden olan potasyum oksonat ile indüklenmiş ratlara yedi gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanması sonucunda elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Karvakrol tedavisi, serum ürik asit ve CRP düzeylerini anlamlı bir şekilde azaltmış ve enflamasyonu düzelmiştir. Ayrıca, karvakrol tedavisi eklem dokularında hasarı azaltmış, böbrek fonksiyonlarını etkilememiş ve oksidatif stres mediatörlerini düzeltmiştir. Sonuç olarak, karvakrol hiperürisemide potansiyel bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir [222].

Bu tez çalışmasında, MDA ve GSH seviyeleri, çeşitli tedavi grupları ve diyabetli yara modeli oluşturulmayan kontrol grubu arasında karşılaştırılmıştır. MDA ve GSH, oksidatif stres ve antioksidan kapasiteyi belirlemek için sıkça kullanılan biyokimyasal göstergelerdir. MDA, lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür ve genellikle oksidatif hasarın artışı işaret eder. GSH ise bir antioksidan olarak hücrelerin oksidatif stresle başa çıkmasında önemli bir rol oynar.

Çalışmamızda, MDA seviyeleri incelendiğinde yara modeli oluşturulan tedavisiz gruplarda MDA seviyeleri yara modeli oluşturulan diyabetik kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yükselmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 5.1.). Bu sonuç, tedavisiz gruplarda oksidatif stresin arttığını, lipid peroksidasyonunun ise potansiyel bir yükselişte olduğunu göstermektedir. Bu durum, yara dokusu oluşumu sürecinde hücrelerin ve dokuların serbest radikallerle daha fazla karşı karşıya kalması ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun artmasından kaynaklanmaktadır [215]. Süreç içerisinde bu gibi durumlara bağlı olarak hücrelerin hasar görme olasılığı artabilir, enflamasyon ve hücrel stres teşvik edilebilir, aynı zamanda yara iyileşme sürecini yavaşlatabilir [223]. Tedavi edilmeyen durumlarda, hücreler oksidatif

hasara karşı daha savunmasız olmakla beraber, bu durum hücrelerde daha fazla lipit peroksidasyonuna yol açmaktadır.

Çalışmamızda, karbopol, rosmarinik asit ve karvakrol ile topikal tedavi ve i.p. tedavi uygulanan gruplarda MDA seviyeleri, kontrol grubuna ve tedavi uygulanmayan gruplara kıyasla önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 5.2.). Bu sonuç, söz konusu tedavilerin hücrelerde oksidatif stresin azaltılmasında etkili olabileceğini ve bu durumun lipit peroksidasyonunu kontrol altına alabileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, uygulanan tedavilerin oksidatif hasarla bağlantılı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel bir değer taşıdığı düşünülmektedir.

GSH değerleri incelendiğinde ise MDA seviyelerini destekler nitelikte, kontrol grubuna kıyasla tedavisiz gruplarda önemli bir azalma görülmüştür. Düşük GSH seviyeleri genellikle oksidatif stresin arttığı durumları gösterir ve bu durum, tedavisiz gruplarda oksidatif stresin daha fazla olduğunu ve hücrelerin antioksidan savunma kapasitesini azaltabileceğini göstermektedir [224].

Tedavi uygulanan gruplarda ise GSH seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen, tedavisiz gruplara kıyasla daha yüksek kalmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, tedavilerin oksidatif stresin olumsuz etkilerini hafifletebileceğini, hücrelerin antioksidan kapasitesini artırabileceğini ve böylece hücrelerin oksidatif stresle daha etkin bir şekilde başa çıkabileceğini göstermektedir.

Tez çalışması kapsamında uygulanan tedavi yöntemlerinin hücrelerin oksidatif hasara karşı daha dirençli hale gelmesine yardımcı olabileceğini ve bu nedenle oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel bir değer taşıdığı düşünülmektedir.

Ancak, daha kapsamlı ve geniş örneklemlerle çalışmalarla sonuçların doğrulanması ve tedavi protokollerinin optimize edilmesi bu kapsamda önemli bir husustur. Bu şekilde, oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde daha etkin stratejiler geliştirilebilir.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, rosmarinik asit ve karvakrol uygulamalarının oksidatif stresin azaltılması ve hücrelerin antioksidan savunma mekanizmalarının güçlendirilmesi yönünde umut vadeden tedavi yaklaşımları olduğu görülmektedir.

Rosmarinik asit ve karvakrolün fenolik yapısı sebebi ile antioksidan özelliğe sahip olduğunu ve bu savunma sistemi mekanizmalarını stimüle ettiğini düşünmekteyiz. Literatür çalışmaları incelendiğinde diyabetik yara modelinde rosmarinik asit ve karvakrol uygulamasının olmadığı görülmüştür. Yaptığımız bu çalışma, rosmarinik asit ve karvakrolün birlikte kullanımının diyabetik yara modelinde ilk defa “kombine” bir şekilde uygulandığı *in vivo* bir çalışma olup, çalışmamızın özgün değerini yansıtmaktadır. Ayrıca diyabetik yara iyileşme çalışmaları incelendiğinde, tedavi metotlarının sadece topikal veya i.p. uygulamaları ile sınırlı kaldığı görülmüştür. Yaptığımız bu çalışmada iki ayrı tedavi uygulaması ayrı ayrı kullanılmıştır. Bu sayede aynı metabolitin farklı tedavi metotları üzerine olan etkinliği literatüre kazandırılmıştır. Karvakrol ve rosmarinik asitin kombine kullanımları diyabetik yaraların özellikle enflamasyon ve proliferasyon fazında gerçekleşen oksidatif olayları düzenleme yönünde potansiyel terapöik bir ajan olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları, diyabetik yara iyileşme sürecinde rosmarinik asit ve karvakrolün, özellikle oksidatif stresi hafifletme ve hücrelerin antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirme kapasitesine dikkat çekmektedir. Araştırmamızda, bu bileşiklerin tedavisiz rat yara modellerine kıyasla hem malondialdehit (MDA) seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü hem de glutatyon (GSH) seviyelerini artırdığı gözlemlenmiştir.

Ancak, çalışmamızın bulguları ışığında dikkate alınması gereken bazı hususlar bulunmaktadır. İlk olarak, tedavi protokollerinin ve dozlarının daha fazla optimize edilmesi gerekmektedir.

İkincisi, küçük bir örneklem aralığına sahip olduğu için, daha geniş örneklemelerle sonuçların teyit edilmesi ve daha güçlü bir kanıt elde edilmesi daha kapsamlı sonuçların eldesine imkân sağlayabilir. Ayrıca, farklı türde tedavi gruplarını ve daha uzun süreli tedavileri içeren daha kapsamlı çalışmalar yapılması, sonuçların daha geniş bir perspektiften değerlendirilmesine ve daha güçlü sonuçlara ulaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Üçüncü olarak, oksidatif stres ve antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanılan biyokimyasal göstergelerin sayısını artırmak, çalışmanın güvenilirliğini ve kapsamını artırmada yardımcı olabilir.

MDA seviyelerinin düşmesi, bileşiklerin oksidatif hasarı hafifletme ve lipit peroksidasyonunu kontrol altında tutma potansiyelini gösterirken; GSH seviyelerinin artması, bileşiklerin hücrelerin antioksidan savunma kapasitesini artırma ve oksidatif stresle daha etkin bir şekilde başa çıkma yeteneklerini göstermektedir. Sonuçlar, özellikle oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde, rosmarinik asit ve karvakrol gibi doğal antioksidanların potansiyel önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamızın sonuçları, rosmarinik asit ve karvakrolün diyabetik yara iyileşmesi ve oksidatif stresin azaltılması üzerinde potansiyel bir etkinliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, prelinik çalışmaların geliştirilmesiyle birlikte deney hayvanlarının kullanımını optimize etmeyi ve karvakrol ve rosmarinik asit gibi doğal yara iyileştirici ürünlerin farmakolojik etkileri hakkında daha güvenli ve doğru bilgiler elde

etmeyi gerektirmektedir. Bu çalışma, doğal antioksidanların oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilir stratejiler olarak kabul edilmesi açısından önemli bir adımdır.



KAYNAKLAR

1. Stadelmann, W. K., Digenis, A. G., and Tobin, G. R. (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *American Journal of Surgery*, 176(2), 26–38.
2. Singer, A. J., and Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *The New England Journal of Medicine*, 341(10), 738–746.
3. Diegelmann, R. F., and Evans, M. C. (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 9, 283–289.
4. Tottoli, E. M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S., and Conti, B. (2020). Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*, 12(8), 735.
5. Boulton, A. J., Meneses, P., and Ennis, W. J. (1999). Diabetic foot ulcers: A framework for prevention and care. *Wound Repair and Regeneration*, 7(1), 7–16.
6. Armstrong, D. G., Boulton, A. J. M., and Bus, S. A. (2017). Diabetic foot ulcers and their recurrence. *The New England Journal of Medicine*, 376(24), 2367–2375.
7. Boulton A. J. (2008). The diabetic foot: grand overview, epidemiology and pathogenesis. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 24(1), 3–6.
8. Lipsky B. A. (2016). Diabetic foot infections: Current treatment and delaying the 'post-antibiotic era'. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 32(1), 246–253.
9. Frykberg, R. G., and Banks, J. (2015). Challenges in the treatment of chronic wounds. *Advances in Wound Care*, 4(9), 560–582.
10. Mariadoss, A. V. A., Sivakumar, A. S., Lee, C. H., and Kim, S. J. (2022). Diabetes mellitus and diabetic foot ulcer: Etiology, biochemical and molecular based treatment strategies via gene and nanotherapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151, 113134.
11. Brem, H., and Tomic-Canic, M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(5), 1219–1222.
12. Wronka, M., Krzemińska, J., Młynarska, E., Rysz, J., and Franczyk, B. (2022). The influence of lifestyle and treatment on oxidative stress and inflammation in diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), 15743.
13. Bao, T. Q., Li, Y., Qu, C., Zheng, Z. G., Yang, H., and Li, P. (2020). Antidiabetic effects and mechanisms of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its phenolic components. *The American Journal of Chinese Medicine*, 48(6), 1353–1368.
14. Ghasemzadeh Rahbardar, M., and Hosseinzadeh, H. (2020). Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(9), 1100–1112.

15. Petersen, M., and Simmonds, M. S. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), 121–125.
16. Oluwatuyi, M., Kaatz, G. W., and Gibbons, S. (2004). Antibacterial and resistance modifying activity of rosmarinus officinalis. *Phytochemistry*, 65(24), 3249–3254.
17. Kernou, O. N., Azzouz, Z., Madani, K., and Rijo, P. (2023). Application of rosmarinic acid with its derivatives in the treatment of microbial pathogens. *Molecules*, 28(10), 4243.
18. Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., and Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64(1), 59–66.
19. Baser K. H. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29), 3106–3119.
20. Klancnik, A., Guzej, B., Kolar, M. H., Abramovic, H., and Mozina, S. S. (2009). In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. *Journal of Food Protection*, 72(8), 1744–1752.
21. Baranauskaite, J., Sadauskiene, I., Liekis, A., Kasauskas, A., Lazauskas, R., Zlabiene, U., Masteikova, R., Kopustinskiene, D. M., and Bernatoniene, J. (2020). Natural compounds rosmarinic acid and carvacrol counteract aluminium-induced oxidative stress. *Molecules*, 25(8), 1807.
22. Fimbres-García, J. O., Flores-Sauceda, M., Othon-Díaz, E. D., García-Galaz, A., Tapia-Rodríguez, M. R., Silva-Espinoza, B. A., and Ayala-Zavala, J. F. (2022). Facing resistant bacteria with plant essential oils: Reviewing the oregano case. *Antibiotics*, 11(12), 1777.
23. Yuan, H., Ma, Q., Cui, H., Liu, G., Zhao, X., Li, W., and Piao, G. (2017). How can synergism of traditional medicines benefit from network pharmacology?. *Molecules*, 22(7), 1135.
24. Macri, L., Silverstein, D., and Clark, R. A. (2007). Growth factor binding to the pericellular matrix and its importance in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(13), 1366–1381.
25. Proksch, E., Brandner, J. M., and Jensen, J. M. (2008). The skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*, 17(12), 1063–1072.
26. Rudikoff, D., and Lebwohl, M. (1998). Atopic dermatitis. *Lancet*, 351(9117), 1715–1721.
27. Elias P. M. (2007). The skin barrier as an innate immune element. *Seminars in Immunopathology*, 29(1), 3–14.
28. Grice, E. A., and Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews. Microbiology*, 9(4), 244–253.

29. Rice, R. H., and Green, H. (1977). The cornified envelope of terminally differentiated human epidermal keratinocytes consists of cross-linked protein. *Cell*, 11(2), 417–422.
30. Simon, D., and Bieber, T. (2014). Systemic therapy for atopic dermatitis. *Allergy*, 69(1), 46–55.
31. Reinke, J. M., and Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35–43.
32. Dekoninck, S., Hannezo, E., Sifrim, A., Miroshnikova, Y. A., Aragona, M., Malfait, M., Gargouri, S., de Neunheuser, C., Dubois, C., Voet, T., Wickström, S. A., Simons, B. D., and Blanpain, C. (2020). Defining the design principles of skin epidermis postnatal growth. *Cell*, 181(3), 604–620.e22.
33. Lee, H., Hong, Y., and Kim, M. (2021). Structural and functional changes and possible molecular mechanisms in aged skin. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12489.
34. Iriyama, S., Ogura, Y., Nishikawa, S., Hosoi, J., and Amano, S. (2022). Regeneration of collagen fibrils at the papillary dermis by reconstructing basement membrane at the dermal-epidermal junction. *Scientific Reports*, 12(1), 795.
35. Ogawa, Y., Kinoshita, M., Shimada, S., and Kawamura, T. (2018). Zinc and skin disorders. *Nutrients*, 10(2), 199.
36. Saini, N., Roberts, S. A., Klimczak, L. J., Chan, K., Grimm, S. A., Dai, S., Fargo, D. C., Boyer, J. C., Kaufmann, W. K., Taylor, J. A., Lee, E., Cortes-Ciriano, I., Park, P. J., Schurman, S. H., Malc, E. P., Mieczkowski, P. A., and Gordenin, D. A. (2016). The impact of environmental and endogenous damage on somatic mutation load in human skin fibroblasts. *PLoS Genetics*, 12(10), e1006385.
37. Glatte, P., Buchmann, S. J., Hijazi, M. M., Illigens, B. M., and Siepmann, T. (2019). Architecture of the cutaneous autonomic nervous system. *Frontiers in Neurology*, 10, 970.
38. Azmat, C. E., and Council, M. (2022). *Wound closure techniques*. Treasure Island FL: StatPearls Publishing.
39. Werner, S., and Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835–870.
40. Bowler, P. G., Duerden, B. I., and Armstrong, D. G. (2001). Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 244–269.
41. Eming, S. A., Martin, P., and Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6(265), 265.
42. Wang, P. H., Huang, B. S., Horng, H. C., Yeh, C. C., and Chen, Y. J. (2018). Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(2), 94–101.

43. Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., and Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585–601.
44. Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., and Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Advances in Skin & Wound Care*, 25(7), 304–314.
45. Levi, M., and Opal, S. M. (2006). Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Critical Care*, 10(4), 222.
46. Sorg, H., Tilkorn, D. J., Hager, S., Hauser, J., and Mirastschijski, U. (2017). Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *European Surgical Research. Europäische Chirurgische Forschung. Recherches Chirurgicales Europeennes*, 58(1-2), 81–94.
47. Gonzalez, A. C., Costa, T. F., Andrade, Z. A., and Medrado, A. R. (2016). Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), 614–620.
48. Brass, L. F., and Diamond, S. L. (2016). Transport physics and biorheology in the setting of hemostasis and thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 14(5), 906–917.
49. Velnar, T., Bailey, T., and Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542.
50. Robson, M. C., Steed, D. L., and Franz, M. G. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current Problems in Surgery*, 38(2), 72–140.
51. Nurden A. T. (2018). The biology of the platelet with special reference to inflammation, wound healing and immunity. *Frontiers in Bioscience*, 23(4), 726–751.
52. Ricciotti, E., and FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986–1000.
53. Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., and Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314–321.
54. Xue, M., and Jackson, C. J. (2015). Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring. *Advances in Wound Care*, 4(3), 119–136.
55. Houschyar, K. S., Momeni, A., Pyles, M. N., Maan, Z. N., Whittam, A. J., and Siemers, F. (2015). Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing. *Organogenesis*, 11(3), 95–104.
56. Dovi, J. V., Szpaderska, A. M., and DiPietro, L. A. (2004). Neutrophil function in the healing wound: adding insult to injury?. *Thrombosis and Haemostasis*, 92(2), 275–280.

57. Kolaczowska, E., and Kubes, P. (2013). Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews. Immunology*, 13(3), 159–175.
58. Ley, K., Laudanna, C., Cybulsky, M. I., and Nourshargh, S. (2007). Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Reviews. Immunology*, 7(9), 678–689.
59. Smith, M. L., Olson, T. S., and Ley, K. (2004). CXCR2- and E-selectin-induced neutrophil arrest during inflammation in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 200(7), 935–939.
60. Broughton, G., 2nd, Janis, J. E., and Attinger, C. E. (2006). Wound healing: an overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7), 1e-32e.
61. Mosser, D. M., and Edwards, J. P. (2008). Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews. Immunology*, 8(12), 958–969.
62. Wynn, T. A., and Vannella, K. M. (2016). Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*, 44(3), 450–462.
63. Pierce, G. F., Mustoe, T. A., Altrock, B. W., Deuel, T. F., and Thomason, A. (1991). Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *Journal of Cellular Biochemistry*, 45(4), 319–326.
64. Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., and Gurtner, G. C. (2019). Wound healing: A cellular perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665–706.
65. Diller, R. B., and Tabor, A. J. (2022). The role of the extracellular matrix (ECM) in wound healing: a review. *Biomimetics*, 7(3), 87.
66. DiPietro, L. A. (2016). Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. *Journal of Leucocyte Biology*, 100(5), 979-984.
67. Greaves, N. S., Ashcroft, K. J., Baguneid, M., and Bayat, A. (2013). Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *Journal of Dermatological Science*, 72(3), 206–217.
68. Kandhwal, M., Behl, T., Singh, S., Sharma, N., Arora, S., Bhatia, S., Al-Harrasi, A., Sachdeva, M., and Bungau, S. (2022). Role of matrix metalloproteinase in wound healing. *American Journal of Translational Research*, 14(7), 4391–4405.
69. Broughton, G., 2nd, Janis, J. E., and Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7), 12–34.
70. Wong, V. W., Sorkin, M., Glotzbach, J. P., Longaker, M. T., and Gurtner, G. C. (2011). Surgical approaches to create murine models of human wound healing. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2011, 969618.
71. Stroncek, J. D., and Reichert, W. M. (2008). Overview of Wound Healing in Different Tissue Types. In W. M. Reichert (Ed.), *Indwelling Neural Implants: Strategies for Contending With the In Vivo Environment*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis.

72. Leaper D. J. (2006). Traumatic and surgical wounds. *British Medical Journal*, 332(7540), 532–535.
73. Gosain, A., and DiPietro, L. A. (2004). Aging and wound healing. *World Journal of Surgery*, 28(3), 321–326.
74. Guo, S., and DiPietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229.
75. Zandi, P., and Schnug, E. (2022). Reactive oxygen species, antioxidant responses and implications from a microbial modulation perspective. *Biology*, 11(2), 155.
76. Dondossola, E., Holzapfel, B. M., Alexander, S., Filippini, S., Hutmacher, D. W., and Friedl, P. (2016). Examination of the foreign body response to biomaterials by nonlinear intravital microscopy. *Nature Biomedical Engineering*, 1, 0007.
77. Gloviczki, P., Comerota, A. J., Dalsing, M. C., Eklof, B. G., Gillespie, D. L., Gloviczki, M. L., Lohr, J. M., McLafferty, R. B., Meissner, M. H., Murad, M. H., Padberg, F. T., Pappas, P. J., Passman, M. A., Raffetto, J. D., Vasquez, M. A., Wakefield, T. W., Society for Vascular Surgery, & American Venous Forum (2011). The care of patients with varicose veins and associated chronic venous diseases: clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum. *Journal of Vascular Surgery*, 53(5), 2–48.
78. Swift, M. E., Burns, A. L., Gray, K. L., and DiPietro, L. A. (2001). Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. *The Journal of Investigative Dermatology*, 117(5), 1027–1035.
79. Gilliver, S. C., Ashworth, J. J., and Ashcroft, G. S. (2007). The hormonal regulation of cutaneous wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 56–62.
80. Hardman, M. J., and Ashcroft, G. S. (2008). Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biology*, 9(5), R80.
81. Gouin, J. P., and Kiecolt-Glaser, J. K. (2011). The impact of psychological stress on wound healing: methods and mechanisms. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 31(1), 81–93.
82. Meesters, A., den Bosch-Meevissen, Y. M. C. I., Weijzen, C. A. H., Buurman, W. A., Losen, M., Schepers, J., Thissen, M. R. T. M., Alberts, H. J. E. M., Schalkwijk, C. G., and Peters, M. L. (2018). The effect of mindfulness-based stress reduction on wound healing: a preliminary study. *Journal of Behavioral Medicine*, 41(3), 385–397.
83. Ma, R. C., and Chan, J. C. (2013). Type 2 diabetes in East Asians: similarities and differences with populations in Europe and the United States. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), 64–91.
84. Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D. G., and Deng, W. (2021). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 8852759.

85. Pierpont, Y. N., Dinh, T. P., Salas, R. E., Johnson, E. L., Wright, T. G., Robson, M. C., and Payne, W. G. (2014). Obesity and surgical wound healing: a current review. *ISRN Obesity*, 2014, 638936.
86. Arnold, M., and Barbul, A. (2006). Nutrition and wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7), 42–58.
87. Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., and Zouboulis, C. C. (2012). Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 308–319.
88. Stechmiller, J. K., Childress, B., and Cowan, L. (2005). Arginine supplementation and wound healing. *Nutrition in Clinical Practice*, 20(1), 52–61.
89. Campos, A. C., Groth, A. K., and Branco, A. B. (2008). Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11(3), 281–288.
90. Greenhalgh D. G. (2003). Wound healing and diabetes mellitus. *Clinics in Plastic Surgery*, 30(1), 37–45.
91. Geraghty, T., and LaPorta, G. (2019). Current health and economic burden of chronic diabetic osteomyelitis. *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*, 19(3), 279–286.
92. Wetzler, C., Kämpfer, H., Stallmeyer, B., Pfeilschifter, J., and Frank, S. (2000). Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. *The Journal of Investigative Dermatology*, 115(2), 245–253.
93. Roberts A. B. (1995). Transforming growth factor-beta: activity and efficacy in animal models of wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 3(4), 408–418.
94. Beer, H. D., Longaker, M. T., and Werner, S. (1997). Reduced expression of PDGF and PDGF receptors during impaired wound healing. *The Journal of Investigative Dermatology*, 109(2), 132–138.
95. Lobmann, R., Zemlin, C., Motzkau, M., Reschke, K., and Lehnert, H. (2006). Expression of matrix metalloproteinases and growth factors in diabetic foot wounds treated with a protease absorbent dressing. *Journal of Diabetes and its Complications*, 20(5), 329–335.
96. Liu, Y., Min, D., Bolton, T., Nubé, V., Twigg, S. M., Yue, D. K., and McLennan, S. V. (2009). Increased matrix metalloproteinase-9 predicts poor wound healing in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*, 32(1), 117–119.
97. Bishop A. (2008). Role of oxygen in wound healing. *Journal of Wound Care*, 17(9), 399–402.
98. Schäfer, M., and Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacological Research*, 58(2), 165–171.

99. Darr, D., and Fridovich, I. (1994). Free radicals in cutaneous biology. *The Journal of Investigative Dermatology*, 102(5), 671–675.
100. Auf Dem Keller, U., Kumin, A., Braun, S., and Werner, S. (2006). Reactive oxygen species and their detoxification in healing skin wounds. *The journal of investigative dermatology. Symposium Proceedings*, 11(1), 106–111.
101. Bedard, K., and Krause, K. H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87(1), 245–313.
102. Valko, M., Morris, H., and Cronin, M. T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12(10), 1161–1208.
103. Pisoschi, A. M., and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
104. Sung, C. C., Hsu, Y. C., Chen, C. C., Lin, Y. F., and Wu, C. C. (2013). Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 301982.
105. Cerutti, P. A., and Trump, B. F. (1991). Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells*, 3(1), 1–7.
106. Swartz, H. M., Mason, R. P., Hogg, N., Kalyanaraman, B., Sarna, T., Plonka, P. M., Zareb, M., Gutierrez, P. L., and Berliner, L. J. (2005). Free Radicals and Medicine. *Biomedical EPR, Part A: Free Radicals, Metals, Medicine, and Physiology*, 23, 25–74.
107. Nanda, N. (2016). Oxidative stress in hypothyroidism. *International Journal of Clinical and Experimental Physiology*, 3(1), 4-9.
108. Persson, T., Popescu, B. O., and Cedazo-Minguez, A. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 427318.
109. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.
110. Kurutas E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71.
111. Pryor W. A. (1986). Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Annual Review of Physiology*, 48, 657–667.
112. Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Oxford University Press.
113. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26.

114. Li, R., Jia, Z., and Trush, M. A. (2016). Defining ROS in Biology and Medicine. *Reactive Oxygen Species*, 1(1), 9–21.
115. Murphy M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *The Biochemical Journal*, 417(1), 1–13.
116. Memişoğulları, R. (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Duzce Medical Journal*, 7(3), 30-39.
117. Forman, H. J., Zhang, H., and Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30(1-2), 1–12.
118. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.
119. Turrens J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(2), 335–344.
120. Förstermann, U., and Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837d.
121. Pacher, P., Beckman, J. S., and Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315–424.
122. Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., and Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, 28(4), 41–55.
123. Fridovich I. (1975). Superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 44, 147–159.
124. McCord, J. M., and Edeas, M. A. (2005). SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 59(4), 139–142.
125. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40.
126. McCord J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal of Medicine*, 108(8), 652–659.
127. Fridovich I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 64, 97–112.
128. Canada, A. T., and Calabrese, E. J. (1989). Superoxide dismutase: its role in xenobiotic detoxification. *Pharmacology & Therapeutics*, 44(2), 285–295.
129. Robinson B. H. (1998). The role of manganese superoxide dismutase in health and disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 21(5), 598–603.

130. Bannister, J. V., Bannister, W. H., and Rotilio, G. (1987). Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 22(2), 111–180.
131. Finkel, T., and Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239–247.
132. Aebi H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–126.
133. Brigelius-Flohé, R., and Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(5), 3289–3303.
134. Bunaciu, A. A., Danet, A. F., Fleschin, Ş., and Aboul-Enein, H. Y. (2016). Recent Applications for in Vitro Antioxidant Activity Assay. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(5), 389–399.
135. Meister, A., and Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52, 711–760.
136. Fang, Y. Z., Yang, S., and Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872–879.
137. Lei X. G. (2002). In vivo antioxidant role of glutathione peroxidase: evidence from knockout mice. *Methods in Enzymology*, 347, 213–225.
138. Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., and Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 489–492.
139. Ursini, F., Heim, S., Kiess, M., Maiorino, M., Roveri, A., Wissing, J., and Flohé, L. (1999). Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*, 285(5432), 1393–1396.
140. Cai, J., Chen, Y., Seth, S., Furukawa, S., Compans, R. W., and Jones, D. P. (2003). Inhibition of influenza infection by glutathione. *Free Radical Biology & Medicine*, 34(7), 928–936.
141. Townsend, D. M., Tew, K. D., and Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(3-4), 145–155.
142. Circu, M. L., and Aw, T. Y. (2008). Glutathione and apoptosis. *Free Radical Research*, 42(8), 689–706.
143. Esteve, J. M., Mompo, J., Garcia de la Asuncion, J., Sastre, J., Asensi, M., Boix, J., Vina, J. R., Vina, J., and Pallardo, F. V. (1999). Oxidative damage to mitochondrial DNA and glutathione oxidation in apoptosis: studies in vivo and in vitro. *FASEB Journal*, 13(9), 1055–1064.
144. Kılıç, C., Güleç Peker, E. G., Acartürk, F., Kılıçaslan, S. M., and Çoşkun Cevher, Ş. (2013). Investigation of the effects of local glutathione and chitosan administration on incisional oral mucosal wound healing in rabbits. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 112, 499–507.

145. Naidu K. A. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2, 7-10.
146. Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, N., and Yagi, K. (1994). Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(18), 13685–13688.
147. Chambial, S., Dwivedi, S., Shukla, K. K., John, P. J., and Sharma, P. (2013). Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 28(4), 314–328.
148. Carr, A. C., and Maggini, S. (2017). Vitamin C and Immune Function. *Nutrients*, 9(11), 1211.
149. Shukla S. P. (1969). Level of ascorbic acid and its oxidation in the liver of the scorpion, *Palamnaeus bengalensis*. *Experientia*, 25(6), 602.
150. Hallberg L. (1981). Bioavailability of dietary iron in man. *Annual Review of Nutrition*, 1, 123–147.
151. Layrisse, M., Martinez-Torress, C., and González, M. (1974). Measurement of the total daily dietary iron absorption by the extrinsic tag model. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 27(2), 152–162.
152. Wu, J. H., and Croft, K. D. (2007). Vitamin E metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 28(5-6), 437–452.
153. Zampieri, N., Zuin, V., Burro, R., Ottolenghi, A., and Camoglio, F. S. (2010). A prospective study in children: Pre- and post-surgery use of vitamin E in surgical incisions. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 63(9), 1474–1478.
154. Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., and Chen, S. (2016). An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.
155. Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C. Y., Robles-Sánchez, M., Astiazaran-García, H., Alvarez-Parrilla, E., and González-Aguilar, G. A. (2014). Phenolic compounds: their journey after intake. *Food & Function*, 5(2), 189–197.
156. Pandey, K. B., and Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
157. Steinmetz, K. A., and Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96(10), 1027–1039.
158. Ness, A. R., and Powles, J. W. (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *International Journal of Epidemiology*, 26(1), 1–13.

159. Criqui, M. H., and Ringel, B. L. (1994). Does diet or alcohol explain the French paradox?. *Lancet*, 344(8939-8940), 1719–1723.
160. Adlercreutz, H., and Mazur, W. (1997). Phyto-oestrogens and Western diseases. *Annals of Medicine*, 29(2), 95–120.
161. Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
162. Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954–3962.
163. Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., and Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie*, 50(3), 586–621.
164. Cheynier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., and Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1–20.
165. Cushnie, T. P., and Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107.
166. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., and Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), 1818–1892.
167. Zhang, Y. J., Gan, R. Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A. N., Xu, D. P., and Li, H. B. (2015). Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules*, 20(12), 21138–21156.
168. Pérez-Torres, I., Castrejón-Téllez, V., Soto, M. E., Rubio-Ruiz, M. E., Manzano-Pech, L., and Guarner-Lans, V. (2021). Oxidative stress, plant natural antioxidants, and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1786.
169. Panche, A. N., Diwan, A. D., and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
170. Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., and Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 196, 67–76.
171. Kumar, S., and Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
172. Alkhalidy, H., Moore, W., Wang, Y., Luo, J., McMillan, R. P., Zhen, W., Zhou, K., and Liu, D. (2018). The Flavonoid Kaempferol Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetes by Suppressing Hepatic Glucose Production. *Molecules*, 23(9), 2338.

173. Ayala, A., Muñoz, M. F., and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438.
174. Kohen, R., and Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620–650.
175. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19.
176. Yin, H., Xu, L., and Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944–5972.
177. Del Rio, D., Stewart, A. J., and Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316–328.
178. Janero, D. R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology & Medicine*, 9(6), 515–540.
179. Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology & Medicine*, 11(1), 81–128.
180. Niki E. (2009). Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology & Medicine*, 47(5), 469–484.
181. Souza, R. K., da Silva, M. A., de Menezes, I. R., Ribeiro, D. A., Bezerra, L. R., and Souza, M. M. (2014). Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 157, 99–104.
182. Artem Ataide, J., Caramori Cefali, L., Machado Croisfelt, F., Arruda Martins Shimojo, A., Oliveira-Nascimento, L., and Gava Mazzola, P. (2018). Natural actives for wound healing: A review. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1664–1674.
183. dos Santos, O. J., and Torres, O. J. (2012). Phytotherapy evolution in the healing process in surgery. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 25(3), 139.
184. Maver, T., Maver, U., Stana Kleinschek, K., Smrke, D. M., and Kreft, S. (2015). A review of herbal medicines in wound healing. *International Journal of Dermatology*, 54(7), 740–751.
185. Gülçin, I., Küfrevioğlu, O. I., Oktay, M., and Büyükkuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3), 205–215.

186. Luft, J. G., Steffens, L., Morás, A. M., da Rosa, M. S., Leipnitz, G., Regner, G. G., Pflüger, P. F., Gonçalves, D., Moura, D. J., and Pereira, P. (2019). Rosmarinic acid improves oxidative stress parameters and mitochondrial respiratory chain activity following 4-aminopyridine and picrotoxin-induced seizure in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 392(11), 1347–1358.
187. Sanbongi, C., Takano, H., Osakabe, N., Sasa, N., Natsume, M., Yanagisawa, R., Inoue, K. I., Sadakane, K., Ichinose, T., and Yoshikawa, T. (2004). Rosmarinic acid in perilla extract inhibits allergic inflammation induced by mite allergen, in a mouse model. *Clinical and Experimental Allergy*, 34(6), 971–977.
188. Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y., and Efferth, T. (2012). Antibacterial activity and anticancer activity of rosmarinus officinalis L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*, 17(3), 2704–2713.
189. Yesil-Celiktas, O., Sevimli, C., Bedir, E., and Vardar-Sukan, F. (2010). Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(2), 158–163.
190. Ito, N., Yabe, T., Gamo, Y., Nagai, T., Oikawa, T., Yamada, H., and Hanawa, T. (2008). Rosmarinic acid from *Perillae Herba* produces an antidepressant-like effect in mice through cell proliferation in the hippocampus. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 31(7), 1376–1380.
191. Alkam, T., Nitta, A., Mizoguchi, H., Itoh, A., and Nabeshima, T. (2007). A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta (25-35). *Behavioural Brain Research*, 180(2), 139–145.
192. Prasannarong, M., Saengsirisuwan, V., Surapongchai, J., Buniam, J., Chukijrunroat, N., and Rattanavichit, Y. (2019). Rosmarinic acid improves hypertension and skeletal muscle glucose transport in angiotensin II-treated rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 165.
193. Lee, J., Jung, E., Koh, J., Kim, Y. S., and Park, D. (2008). Effect of rosmarinic acid on atopic dermatitis. *The Journal of Dermatology*, 35(12), 768–771.
194. Jin, B. R., Chung, K. S., Cheon, S. Y., Lee, M., Hwang, S., Noh Hwang, S., Rhee, K. J., and An, H. J. (2017). Rosmarinic acid suppresses colonic inflammation in dextran sulphate sodium (DSS)-induced mice via dual inhibition of NF- κ B and STAT3 activation. *Scientific Reports*, 7, 46252.
195. Küba, M. C., Türkoğlu, A., Oğuz, A., Tuncer, M. C., Kaya, Ş., Başol, Ö., Bilge, H., and Tatlı, F. (2021). Comparison of local rosmarinic acid and topical dexpanthenol applications on wound healing in a rat experimental wound model. *Folia Morphologica*, 80(3), 618–624.
196. Elufioye, T. O., and Habtemariam, S. (2019). Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108600.
197. Baser, K. H. C. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29), 3106-3119.

198. Sharifi-Rad, M., Varoni, E. M., Iriti, M., Martorell, M., Setzer, W. N., Del Mar Contreras, M., Salehi, B., Soltani-Nejad, A., Rajabi, S., Tajbakhsh, M., and Sharifi-Rad, J. (2018). Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1675–1687.
199. Manjamalai, A., and Grace, V. M. B. (2012). Antioxidant activity of essential oils from *Wedelia chinensis* (Osbeck) in vitro and in vivo lung cancer bearing C57BL/6 mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 2042-2050.
200. Lee, J. H., Kim, Y. G., and Lee, J. (2017). Carvacrol-rich oregano oil and thymol-rich thyme red oil inhibit biofilm formation and the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 123(6), 1420–1428.
201. Günal, M. Y., Okçu Heper, A., and Zaloğlu, N. (2014). The effects of topical carvacrol application on wound healing process in male rats. *Pharmacognosy Journal*. 6(3), 10-14.
202. Costa, M. F., Durço, A. O., Rabelo, T. K., Barreto, R. D. S. S., and Guimarães, A. G. (2019). Effects of carvacrol, thymol and essential oils containing such monoterpenes on wound healing: A systematic review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(2), 141-155.
203. Mbese, Z., and Aderibigbe, B. A. (2018). Biological efficacy of carvacrol analogues. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 13(3), 207–216.
204. Petersen, M., Abdullah, Y., Benner, J., Eberle, D., Gehlen, K., Hücherig, S., and Wolters, S. (2009). Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1663-1679.
205. Biluca, F. C., da Silva, B., Caon, T., Mohr, E. T. B., Vieira, G. N., Gonzaga, L. V., Vitali, L., Micke, G., Fett, R., Dalmarco, E. M., and Costa, A. C. O. (2020). Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (*Meliponinae*). *Food Research International*, 129, 108756.
206. Sadeghi, A., Bastin, A. R., Ghahremani, H., and Doustimotlagh, A. H. (2020). The effects of rosmarinic acid on oxidative stress parameters and inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-induced peripheral blood mononuclear cells. *Molecular Biology Reports*, 47(5), 3557–3566.
207. Zych, M., Kaczmarczyk-Sedlak, I., Wojnar, W., and Folwarczna, J. (2019). Effect of rosmarinic acid on the serum parameters of glucose and lipid metabolism and oxidative stress in estrogen-deficient rats. *Nutrients*, 11(2), 267.
208. Hasanein, P., and Seifi, R. (2018). Beneficial effects of rosmarinic acid against alcohol-induced hepatotoxicity in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 96(1), 32–37.
209. Ma, Z., Lu, Y., Yang, F., Li, S., He, X., Gao, Y., and Kang, X. (2020). Rosmarinic acid exerts a neuroprotective effect on spinal cord injury by suppressing oxidative stress and inflammation via modulating the Nrf2/HO-1 and TLR4/NF-κB pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 397, 115014.

210. Domitrović, R., Škoda, M., Marchesi, V. V., Cvijanović, O., Pugel, E. P., and Štefan, M. B. (2013). Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon tetrachloride-intoxicated mice. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 370-378.
211. Zhang, T., Ma, S., Liu, C., Hu, K., Xu, M., and Wang, R. (2020). Rosmarinic acid prevents radiation-induced pulmonary fibrosis through attenuation of ROS/MYPT1/TGFβ1 signaling Via miR-19b-3p. *Dose-Response: A publication of International Hormesis Society*, 18(4), 1559325820968413.
212. Gautam, R. K., Gupta, G., Sharma, S., Hatware, K., Patil, K., Sharma, K., Goyal, S., Chellappan, D. K., and Dua, K. (2019). Rosmarinic acid attenuates inflammation in experimentally induced arthritis in Wistar rats, using Freund's complete adjuvant. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 22(7), 1247–1254.
213. Zhao, L., Zhang, Y., Liu, G., Hao, S., Wang, C., and Wang, Y. (2018). Black rice anthocyanin-rich extract and rosmarinic acid, alone and in combination, protect against DSS-induced colitis in mice. *Food & Function*, 9(5), 2796-2808.
214. Lambrechts, I. A., Thiye, V. C., Katti, K. V., Mandiwana, V., Kalombo, M. L., Ray, S. S., Rikhotso, R., Janse van Vuuren, A., Esmear, T., and Lall, N. (2022). Targeting acne bacteria and wound healing in vitro using *Plectranthus aliciae*, rosmarinic acid, and tetracycline gold nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 15(8), 933.
215. Amaral, G. P., de Carvalho, N. R., Barcelos, R. P., Dobrachinski, F., de Lima Portella, R., da Silva, M. H., and Fachineto, R. (2013). Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 48-55.
216. Silva, E. R., de Carvalho, F. O., Teixeira, L. G., Santos, N. G. L., Felipe, F. A., Santana, H. S. R., and Nunes, P. S. (2018). Pharmacological effects of carvacrol in in vitro studies: A review. *Current Pharmaceutical Design*, 24(29), 3454-3465.
217. Singh, J., Luqman, S., and Meena, A. (2023). Carvacrol as a prospective regulator of cancer targets/signalling pathways. *Current Molecular Pharmacology*, 16(5), 542–558.
218. Aristatile, B., Al-Numair, K. S., Al-Assaf, A. H., Veeramani, C., and Pugalendi, K. V. (2015). Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular DNA damage induced by UVB irradiation in human peripheral lymphocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(11), 497-507.
219. Guimarães, AG, Oliveira, GF, Melo, MS, Cavalcanti, SC, Antonioli, AR, Bonjardim, LR, and Quintans-Júnior, LJ (2010). Karvakrolün antioksidan ve antinosiseptif aktiviterinin biyoanaliz rehberliğinde değerlendirilmesi. *Temel ve Klinik Farmakoloji ve Toksikoloji*, 107 (6), 949-957.
220. Kuo, P. J., Hung, T. F., Lin, C. Y., Hsiao, H. Y., Fu, M. W., Hong, P. D., and Fu, E. (2017). Carvacrol ameliorates ligation-induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*, 88(7), e120-e128.

221. Bayramoglu, G., Senturk, H., Bayramoglu, A., Uyanoglu, M., Colak, S., Ozmen, A., and Kolankaya, D. (2014). Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced diabetic rats. *Cytotechnology*, 66, 251-257.
222. Riaz, M., Al Kury, L. T., Atzaz, N., Alattar, A., Alshaman, R., Shah, F. A., and Li, S. (2022). Carvacrol alleviates hyperuricemia-induced oxidative stress and inflammation by modulating the NLRP3/NF- κ B pathway. *Drug Design, Development and Therapy*, 16, 1159–1170.
223. Shabalala, S. C., Johnson, R., Basson, A. K., Ziqubu, K., Hlengwa, N., Mthembu, S. X. H., Mabhida, S. E., Mazibuko-Mbeje, S. E., Hanser, S., Cirilli, I., Tiano, L., and Dlodla, P. V. (2022). Detrimental effects of lipid peroxidation in Type 2 diabetes: Exploring the neutralizing influence of antioxidants. *Antioxidants*, 11(10), 2071.
224. de Oliveira Formiga, R., Júnior, E. B. A., Vasconcelos, R. C., Araújo, A. A., de Carvalho, T. G., de Araújo Junior, R. F., and Batista, L. M. (2021). Effect of p-cymene and rosmarinic acid on gastric ulcer healing—Involvement of multiple endogenous curative mechanisms. *Phytomedicine*, 86, 153497.





Gazili olmak ayrıcalıktır