



**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ**  
**ANABİLİM DALI**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN**  
**SIÇANLARDA NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ YARA**  
**İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ahmet AYDIN**

**KAYSERİ-2017**



**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ**  
**ANABİLİM DALI**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN**  
**SIÇANLARDA NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ YARA**  
**İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ahmet AYDIN**

**Danışman**

**Doç. Dr. Teoman ESKİTAŞCIOĞLU**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**  
**Tarafından TTU- TTU-2015-6110 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**KAYSERİ-2017**

## TEŞEKKÜRLER

İhtisasım boyunca her türlü desteğini benden esirgemeyen, çalışma süresince ortaya çıkan tüm problemleri büyük bir sabır ve özveri ile çözüme kavuşturan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Teoman Eskitaşçıoğlu'na,

Bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, hekimlik sanatının tüm inceliklerini hoşgörü ile aktaran, sahip oldukları cerrahi disiplin ve farklı bakış açıları ile meslek hayatıma ışık tutan anabilim dalı öğretim görevlilerimiz Sayın Prof. Dr. Galip Kemal Günay'a, Sayın Prof. Dr. Atilla Çoruh'a, Sayın Prof. Dr. İrfan Özyazgan'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Alper Kemaloğlu'a,

Tez jürimde bulunmasıyla beni onurlandıran Sayın Prof. Dr. Yavuz Demir'e,

Çalışmamızda kullandığımız nar çekirdeği yağı ile ilgili yapmış olduğu araştırmalar sonucu bilgi ve birikimlerinden faydalandığım Gıda Mühendisliği Fakültesi öğretim görevlisi Sayın Doç. Dr. Mustafa Çam'a,

Patoloji Anabilim Dalı öğretim görevlisi Sayın Prof. Dr. Hülya Akgün'e, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim görevlisi Sayın Doç. Dr. Aysun Çetin'e,

Asistanlık döneminde birlikte çalışma fırsatı bulduğum ve bir ağabey gibi sevdiğim, her konuda örnek aldığım Sayın Dr. Yalçın Yontar'a,

Yardıma ihtiyaç duyduğum her zaman yanımda olan çalışma arkadaşlarım Sayın Dr. Fatih Kılıç'a, Sayın Dr. Sercan Yücel'e, Sayın Dr. Osman Serdar Berk'e ve Sayın Dr. Erman Menekşe'ye,

İhtisasım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca desteklerini her zaman arkamda hissettiğim babam Pehlül Aydın, annem Aliye Aydın ve ablalarım Yasemin Aydın ve Çiğdem Zengin'e,

Hiç tükenmeyen sevgisi ve her konuda vermiş olduğu destekleri ile bana kendimi şanslı hissettiren, mutluluk sebebim Sümeyye Nur Süel'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Ahmet AYDIN**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	i
İÇİNDEKİLER.....	i
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR.....	ix
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT.....	xv
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Derinin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu.....	3
2.1.1.Epidermis.....	4
2.1.2. Dermis .....	5
2.1.3. Hipodermis (Subkutis) .....	5
2.2. Hücresel Düzeyde Yara İyileşmesi .....	5
2.2.1. Hemostaz .....	6
2.2.2. Enflamasyon.....	6
2.2.3. Proliferasyon .....	7
2.2.4. Yeniden modelleme (maturasyon, remodelling).....	9
2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler .....	10
2.4. Diyabet ve Yara İyileşmesi .....	11
2.5. Moleküler Düzeyde Diyabetik Yara İyileşmesi.....	13
2.5.1. Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör (PPAR) Ailesi.....	13
2.5.2. Nükleer Faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$ ) .....	15
2.6. Streptozotosin (STZ) ve Deneysel Diyabet Modeli .....	15
2.7. Nar (Punica granatum) .....	16

2.8. Yağ Asitleri ve Sınıflandırılması .....	18
2.9. Nar Çekirdeği Yağı ve Pünisik Asit.....	21
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>23</b>
3.1. Deney Planı .....	23
3.2. Deneysel Diyabetin Oluşturulması .....	24
3.3. Yara Modelinin Oluşturulması.....	25
3.4. Sakrifikasyon Yöntemi .....	25
3.5. İncelenecek Parametreler .....	25
3.5.1. Biyokimyasal inceleme .....	27
3.5.2. Histopatolojik inceleme.....	28
3.5.3. Kopma kuvvetinin incelenmesi .....	28
3.5.4. Eksizyonel yara alanında küçülme .....	28
3.6. İstatistiksel Yöntem.....	30
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>31</b>
4.1. Genel Bulgular .....	31
4.2. Kan Glukoz Değerleri .....	31
4.3. Biyokimyasal Bulgular .....	32
4.3.1. İnsizyonel yaralarda doku TNF- $\alpha$ konsantrasyon bulguları (ng/L).....	32
4.3.2. İnsizyonel yaralarda doku COX-2 konsantrasyon bulguları (ng/mL).....	33
4.3.3. İnsizyonel yaralarda doku 5-LOX konsantrasyon bulguları (ng/mL).....	34
4.3.4.İnsizyonel yaralarda doku IL-1 konsantrasyon bulguları (pg/mL) .....	35
4.3.5. İnsizyonel yaralarda doku IL-6 konsantrasyon bulguları (pg/mL) .....	36
4.3.6. İnsizyonel yaralarda doku NF- $\kappa$ B konsantrasyon bulguları (ng/mL) .....	37
4.3.7. İnsizyonel yaralarda doku MDA konsantrasyon bulguları (nmol/ml) .....	38
4.3.8. İnsizyonel yaralarda doku hidrokisprolin konsantrasyon bulguları (ng/L). 39	
4.4. Histopatolojik Bulgular .....	40
4.4.1. Enflamatuvar hücre yoğunluğu bulguları .....	40

4.4.2. Fibroblast yoğunluğu bulguları .....	41
4.4.3.Epitelizasyon bulguları.....	42
4.4.4. Kolajen yoğunluğu bulguları.....	46
4.4.5. Yeni damar oluşumu bulguları .....	46
4.5. İnsizyonel Yaralarda Kopma Kuvveti (N) Bulguları: .....	48
4.6. Eksizyonel Yara Alanında Küçülme Bulguları.....	49
4.7. Farklı Parametreler Arasındaki Tutarlılığın Değerlendirilmesi .....	51
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>58</b>
<b>6. SONUÇLAR.....</b>	<b>68</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>69</b>
<b>TEZ ONAY SAYFASI.....</b>	<b>84</b>

## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Yara iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler. ....	10
<b>Tablo 2.</b>	Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptörler (PPAR) ve fonksiyonları. ....	14
<b>Tablo 3.</b>	Nar bitkisinin çeşitli kısımları ve kimyasal bileşenleri. ....	18
<b>Tablo 4.</b>	Çeşitli CLnA izomerleri ve bunların kaynaklandığı bitki türleri. ....	21
<b>Tablo 5.</b>	Histopatolojik değerlendirmede kullanılan parametrelerin skorlaması. ....	27
<b>Tablo 6.</b>	Deney gruplarının haftalık kan glukoz değerlerinin karşılaştırılması. ....	32
<b>Tablo 7.</b>	İnsizyonel yaralarda doku TNF- $\alpha$ konsantrasyon bulguları. ....	33
<b>Tablo 8.</b>	İnsizyonel yaralarda doku COX-2 konsantrasyon bulguları. ....	33
<b>Tablo 9.</b>	İnsizyonel yaralarda doku 5-LOX konsantrasyon bulguları. ....	34
<b>Tablo 10.</b>	İnsizyonel yaralarda doku IL-1 konsantrasyon bulguları. ....	35
<b>Tablo 11.</b>	İnsizyonel yaralarda doku IL-6 konsantrasyon bulguları. ....	36
<b>Tablo 12.</b>	İnsizyonel yaralarda doku NF- $\kappa$ B konsantrasyon bulguları. ....	37
<b>Tablo 13.</b>	İnsizyonel yaralarda doku MDA konsantrasyon bulguları. ....	38
<b>Tablo 14.</b>	İnsizyonel yaralarda doku hidrokspirolin konsantrasyon bulguları. ....	39
<b>Tablo 15.</b>	İnsizyonel yaralarda 1. gün enflamatuvar hücre yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	40
<b>Tablo 16.</b>	İnsizyonel yaralarda 3. gün enflamatuvar hücre yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	41
<b>Tablo 17.</b>	İnsizyonel yaralarda 7. gün enflamatuvar hücre yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	41
<b>Tablo 18.</b>	İnsizyonel yaralarda 3. gün fibroblast yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	42
<b>Tablo 19.</b>	İnsizyonel yaralarda 7. gün fibroblast yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	42
<b>Tablo 20.</b>	İnsizyonel yaralarda 3. gün epitelizasyon yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	43

<b>Tablo 21.</b> İnsizyonel yaralarda 7. gün epitelizasyon yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	43
<b>Tablo 22.</b> İnsizyonel yaralarda 3. gün kolajen yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	47
<b>Tablo 23.</b> İnsizyonel yaralarda 7. gün kolajen yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	47
<b>Tablo 24.</b> İnsizyonel yaralarda 7. gün kesit alanına düşen yeni damar sayılarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	48
<b>Tablo 25.</b> Eksizyonel yaralarda 21. gün kesit alanına düşen yeni damar sayılarının histopatolojik olarak karşılaştırılması. ....	48
<b>Tablo 26.</b> Deneş gruplarının insizyonel yara kopma kuvveti değerlerinin karşılaştırılması. ....	49
<b>Tablo 27.</b> Deneş gruplarının eksizyonel yara alanında küçülme yüzdelerinin karşılaştırılması. ....	49
<b>Tablo 28.</b> Spearman testi ile parametreler arasındaki tutarlılığın değerlendirilmesi ve korelasyon katsayıları. ....	51



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Derinin katmanları. ....	3
Şekil 2.	Epidermisin katmanları .....	4
Şekil 3.	2010 yılı itibariyle Türkiye’de bölgelere göre nar üretimi. ....	17
Şekil 4.	Doymuş yağ asitlerinin kimyasal formülü. ....	19
Şekil 5.	Doymamış yağ asitlerinin kimyasal formülü. ....	19
Şekil 6.	Linoleik asidin konjugasyonu sonucu meydana gelen değişiklikler.....	20
Şekil 7.	Deney modelinin oluşturulması. ....	26
Şekil 8.	50 cm yükseklikten, 50 mm objektif ile çekilen fotoğrafın alan hesaplaması. ....	29
Şekil 9.	CAD destekli yazılım kullanılarak eksizyonel yaraların alan hesaplaması. ....	29
Şekil 10.	Gruplar arasında kan glukoz değerlerinin karşılaştırılması. ....	32
Şekil 11.	TNF- $\alpha$ standart grafiği ve $R^2$ değerleri.....	33
Şekil 12.	COX-2 standart grafiği ve $R^2$ değerleri.....	34
Şekil 13.	5-LOX standart grafiği ve $R^2$ değerleri. ....	34
Şekil 14.	IL-1 standart grafiği ve $R^2$ değerleri. ....	35
Şekil 15.	Deney grupları IL-6 düzeylerinin 3 ve 7. gün karşılaştırılmaları. ....	36
Şekil 16.	IL-6 standart grafiği ve $R^2$ değerleri. ....	37
Şekil 17.	NF- $\kappa\beta$ standart grafiği ve $R^2$ değerleri. ....	38
Şekil 18.	MDA standart grafiği ve $R^2$ değerleri. ....	39
Şekil 19.	Hidroksiprolin standart grafiği ve $R^2$ değerleri. ....	40
Şekil 20.	1. günde KG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara mikrofotografik görüntüsü (H&E, $\times 10$ ).....	44
Şekil 21.	1. günde KG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara histopatolojik görüntüsü (H&E, $\times 100$ ) .....	44

<b>Şekil 22.</b>	7. günde LTG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara histopatolojik görüntüsü (H&E, ×40) .....	45
<b>Şekil 23.</b>	7. günde LTG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara histopatolojik görüntüsü (H&E, ×100) .....	45
<b>Şekil 24.</b>	7. günde DKG’da sakrifiye edilen 4 numaralı deneğin insizyonel yara histopatolojik görüntüsü (H&E, ×100). .....	46
<b>Şekil 25.</b>	0 ve 21. günlerde çekilen fotoğraflar ile eksizyonel yara alanındaki küçülmenin gruplar arası karşılaştırılması. ....	50
<b>Şekil 26.</b>	3. gün IL-1 düzeyi ve 7. gün fibroblast yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	52
<b>Şekil 27.</b>	3. gün IL-1 düzeyi ve 7. gün epitelizasyon yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	52
<b>Şekil 28.</b>	3. gün IL-1 düzeyi ve 7. gün kolajen yoğunluğu arasındaki ilişki.....	53
<b>Şekil 29.</b>	7. gün IL-1 düzeyi ve fibroblast yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	53
<b>Şekil 30.</b>	7. gün IL-1 düzeyi ve epitelizasyon yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	54
<b>Şekil 31.</b>	7. gün IL-1 düzeyi ve kolajen yoğunluğu arasındaki ilişki.....	54
<b>Şekil 32.</b>	3. gün COX-2 düzeyi ve 7. gün fibroblast yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	55
<b>Şekil 33.</b>	3. gün COX-2 düzeyi ve 7. gün epitelizasyon yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	55
<b>Şekil 34.</b>	3. gün COX-2 düzeyi ve 7. gün kolajen yoğunluğu arasındaki ilişki. ....	56
<b>Şekil 35.</b>	3. gün COX-2 düzeyi ve 7. gün insizyonel yara damar sayısı arasındaki ilişki.....	56
<b>Şekil 36.</b>	3. gün COX-2 düzeyi ve 21. gün eksizyonel yara damar sayısı arasındaki ilişki.....	57
<b>Şekil 37.</b>	3. gün COX-2 düzeyi ve 21. gün insizyonel yara kopma kuvveti arasındaki ilişki. ....	57

## KISALTMALAR

**A.B.D.:** Amerika Birleşik Devletleri

**AGES:** İleri glikasyon son ürünleri

**ANOVA:** Tek yönl varyans analizi

**°C:** Derece selsiyus

**CA:** California

**CLA:** Konjuge linoleik asit

**CLnA:** Konjuge linolenik asit

**cm:** Santimetre

**COX:** Siklooksijenaz

**Diyabet:** Diabetes Mellitus

**dk:** Dakika

**DKG:** Diyabetik kontrol grubu

**dl:** Desilitre

**DMBA:** 7,12-dimetilbenz[a]antrasen

**DNA:** Deoksiribo nükleik asit

**DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü

**EGF:** Epidermal büyüme faktörü

**gr:** Gram

**H&E:** Hematoksilen-Eozin

**HIF-1:** Hipoksi indüklenebilir faktör-1

**IA:** Iowa

**IL:** İnterlökin

**Iκβ:** İnhibitör- κβ

**iNOS:** Nitrik oksit sentaz

**kg:** Kilogram

**KG:** Kontrol grubu

**L:** Litre

**LA:** Linoleik asit

**LD50:** %50 öldürücü doz

**LNA:** Linolenik asit

**LOX:** Lipooksijenaz

**LTG:** Lokal tedavi grubu

**m<sup>2</sup>:** Metrekare

**MA:** Massachusetts

**maks:** Maksimum

**MDA:** Malondialdehit

**min:** Minimum

**ml:** Mililitre

**mm:** Milimetre

**mmHg:** Milimetre cıva

**mmol:** Milimol

**MMP:** Matriks metalloproteinaz

**N:** Newton

**NaCl:** Sodyum klorür

**NF- $\kappa$ B:** Nükleer Faktör- $\kappa$ B

**ng:** Nanogram

**nmol:** Nanomol

**NO:** Nitrik oksit

**NY:** New York

**O<sub>2</sub>:** Oksijen

**OECD:** Organisation for Economic Co-operation and Development

**OLETF:** Otsuka Long Evans Tokushima Fatty

**OTG:** Oral tedavi grubu

**PDGF:** Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

**pg:** Pikogram

**PPAR:** Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör

**ROR:** Reaktif oksijen radikalleri

**SC-CO<sub>2</sub>:** Süperkritik karbondioksit

**SS:** Standart sapma

**STZ:** Streptozotosin

**TGF- $\beta$ :** Dönüştürücü büyüme faktör- $\beta$

**TIMPs:** Doku metalloproteinaz inhibitörleri

**TNF- $\alpha$ :** Tümör nekroz faktör- $\alpha$

**TPA:** 12-O-tetradekonil forbol-13-asetat

**TURDEP -2:** Türkiye Diyabet, Obezite, Hipertansiyon ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-2

**TXA2:** Tromboksan A2

**TZD:** Tiyazolidindion

**UV:** Ultraviyole

**VEGF:** Vasküler endotelyal büyüme faktörü

**vWF:** von Willebrand faktör

**$\alpha$ -ESA:**  $\alpha$ -eleostearik asit



# STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Diyabet, yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen önemli sistemik hastalıklardan biridir. Normal yara iyileşmesinin farklı fazlarında duraksama gözlenerek olması gereken senkronizasyon bozulur. Bu sebeple klinikte diyabetik hastaların yara iyileşme problemleri sıklıkla karşımıza çıkar.

Nar çekirdeği yağı omega-5 yağ asidi ve konjuge linolenik asit olan pünisik asitten zengindir. Pünisik asidin oksidatif stresi ve uzamış enflamasyonu inhibe ettiği, keratinosit proliferasyonunu uyardığı in vivo and in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak, yara iyileşmesi üzerine etkisi henüz çalışılmamıştır. Ayrıca nar çekirdeği yağının lokal olarak uygulandığında enflamasyon ve oksidatif stres üzerine olan etkileri de bilinmemektedir.

**Gereç ve Yöntemler:** Kırk adet Spraque-Dawley türü erkek sıçan, her grupta on hayvan olacak şekilde kontrol grubu (KG), diyabetik kontrol grubu (DKG), oral tedavi grubu (OTG) ve lokal tedavi grubu (LTG) olarak dörde ayrıldı. Kontrol grubu hariç sıçanlara tek doz (55 mg/kg) intraperitoneal Streptozotosin (STZ) enjeksiyonu yapıldı ve kan glukoz değerleri 200 mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edildi. STZ enjeksiyonundan 1 hafta sonra sıçan sırt derisine eksizyonel ve insizyonel yara modeli oluşturuldu. Nar çekirdeği yağı, OTG'na 0,8 ml/kg dozda orogastrik gavaj ile LTG'nun insizyonel ve eksizyonel yaralarına ince bir tabaka halinde, yara modeli oluşturulmasından sakrifiye edilecekleri 21. güne kadar günlük olarak uygulandı. KG'na ve DKG'na cerrahi işlemten sonra biyopsilerin alımı dışında başka herhangi bir işlem yapılmadı.

Sıçanların haftalık kan glukoz değerleri ölçümü yapıldı. İnsizyonel yaralardan postoperatif 1, 3 ve 7. günlerde histopatolojik inceleme için, 3, 7 ve 21. günlerde biyokimyasal inceleme için ve 21. günde kopma kuvveti ölçümü için biyopsiler alındı. Eksizyonel yaralardan sıçanların sakrifiye edildikleri 21. günde histopatolojik inceleme amacıyla biyopsiler alındı. Yara modelinin oluşturulduğu 0. gün ve sakrifikasyonun gerçekleştirildiği 21. günlerde sıçanların eksizyonel yaralarının fotoğrafları çekildi.

**Bulgular:** 14. günde OTG'nun kan glukoz seviyelerinin LTG'na göre anlamlı olarak azaldığı ( $p<0,05$ ), 21. günde ise OTG'nun kan glukoz seviyelerinin DKG'na göre anlamlı olarak azaldığı ( $p<0,05$ ) gözlemlendi. LTG kopma kuvveti düzeylerinin DKG ve OTG düzeylerine göre anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p<0,05$ ). LTG eksizyonel yara alanı küçülme yüzdelerinin DKG'na göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Yedinci günde alınan örneklerde LTG fibroblast ve epitelizasyon yoğunluklarının KG'na ve DKG'na göre anlamlı olarak arttığı ( $p<0,05$ ), OTG'na göre anlamlı olmasa da artmış olduğu gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Ayrıca 7. günde LTG kolajen yoğunluğunun KG'na göre anlamlı olarak arttığı ( $p<0,05$ ), diğer gruplara göre ise anlamlı olmasa da artmış olduğu gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Yirmi birinci gün insizyonel yara hidrokspirolin değerleri karşılaştırıldığında DKG değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Üçüncü günde alınan örneklerde LTG, MDA konsantrasyonunun diğer gruplara oranla anlamlı olmasa da azalmış olduğu gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Üçüncü ve 7. günlerde LTG IL-1 konsantrasyonları diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek seviyedeydi ve bu değer KG ve DKG'na göre anlamlı olarak artmıştı ( $p<0,05$ ). Yedinci günde KG, OTG ve LTG IL-6 seviyeleri 3. gün ölçümlerine göre azalma eğiliminde olduğu halde DKG'da 3. gün ölçümlerine göre anlamlı bir artış gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Çalışmanın 3. günde gruplar arasında COX-2 düzeyi en yüksek olan grup LTG'ydu ve DKG'na göre anlamlı olarak artmıştı ( $p<0,05$ ). Üçüncü günde NF- $\kappa$ B düzeylerinin DKG'da diğer tüm gruplara göre artmış olduğu gözlemlendi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Lokal olarak uygulanan nar çekirdeği yağı diyabetik yara iyileşmesinde daha etkili sonuçlar vermektedir. İnterlökin-1 düzeyini artırarak epitelizasyonu ve fibroblast proliferasyonunu uyarır. Kolajen yoğunluğunu artırarak, yara kopma kuvvetinde artış meydana getirir. Diyabetik yara iyileşmesinde gözlenen enflamasyon fazının geç başlayıp, uzun süre devam etme durumunu normale çevirerek enflamasyonu düzenleyici etki gösterir.

**Anahtar kelimeler:** Nar çekirdeği yağı, pünisik asit, yara iyileşmesi, diyabet.



## EFFECTS OF POMEGRANATE SEED OIL ON WOUND HEALING IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

### ABSTRACT

**Introduction and Aim:** Diabetes mellitus is one of the important systemic disorders that has negative effects on wound healing. It halts the different stages of normal wound healing process and corrupted synchronization occurs. In this reason wound healing problems are frequently encountered in diabetic patients.

Pomegranate seed oil is a rich source of puniic acid that is an omega-5 fatty acid and one of the conjugated linolenic acids. In vivo and in vitro studies showed that puniic acid inhibits oxydative stres and prolonged inflammation and stimulates keratinocyte proliferation. However, there is no study of the effects of puniic acid on wound healing process. And also there is no study related to antioxidant and anti-inflammatory effects of pomegranate seed oil in topical application.

**Materials and Methods:** Fourty male, Spraque-Dawley rats were divided into four groups: control group (CG), diabetic control group (DCG), oral treatment group (OTG) and topical treatment group (TTG). In rats (except the control group) diabetes was induced by injecting a single dose of 55 mg/kg streptozotocin (STZ) intraperitoneally to achieve consistent blood glucose levels above 200 mg/dl. Incisional and excisional wounds created on each rats dorsal skin after one week of STZ injection. A dose of 0,8 ml/kg pomegranate seed oil administered orally by orogastric gavage for OTG and topically as a thin layer for TTG every day until sacrifice procedure. There were no procedure carried out in CG and DCG except taking biopsies.

Blood glucose level was measured weekly for each rats. Biopsies were taken from incisional wounds for histopathological evaluation at day 1,3 and 7, for biochemical evaluation at day 3,7 and 21, for breaking strength measurement at day 21. Excisional wounds were evaluated histopathologically with the biopsies that were taken at 21st day. Excisional wounds were photographed at postoperative day 0 and 21.

**Findings:** According to blood glucose level TTG was significantly lower ( $p < 0,05$ ) compared to OTG and DCG at day 14 and 21 respectively. Breaking strength level was

significantly higher ( $p < 0,05$ ) in TTG compared to DCG and OTG. Wound area shrinkage rates in TTG was significantly higher ( $p < 0,05$ ) compared to DCG. Fibroblast density and epithelisation rate was significantly higher ( $p < 0,05$ ) in TTG compared to CG and DCG in day 7. Fibroblast density and epithelisation rate was higher in TTG compared to OTG in day 7 however it was not statistically significant ( $p > 0,05$ ). Collagen density of TTG in day 7 was significantly higher ( $p < 0,05$ ) compared to CG and it was higher compared to DCG and OTG, but not statistically significant ( $p > 0,05$ ). Hydroxyproline level was significantly lower ( $p < 0,05$ ) in DCG compared to others. MDA level of TTG in 3th day was lower compared to others but it was not statistically significant ( $p > 0,05$ ). In day 3 and 7, IL-1 concentration of the TTG was the highest among the other groups and it was statistically significant compared to CG and DCG. There was a tendency to decrease in IL-6 levels of CG, OTG and TTG in 7th day, however IL-6 levels of DCG was significantly increased ( $p < 0,05$ ) in 7th day compared to 3th day. TTG has the highest COX-2 level in 3th day among the other groups and it was statistically significant compared to DCG ( $p < 0,05$ ). DCG has the highest NF- $\kappa$ B level in 3th day among the the other groups but it was not statistically significant ( $p > 0,05$ )

**Results:** Topical pomegranate seed oil treatment is more effective in diabetic wound healing. It promotes the epithelisation and fibroblast proliferation by increasing IL-1 level. It increases the breaking strength level by increasing the collagen density. It acts as an inflammatory modulator by normalise the late oncet and prolonged inflammation period that are seen in diabetic wound healing.

**Keywords:** Pomegranate seed oil, punicic acid, wound healing, diabetes.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yara, doku ve organ bütünlüğünün herhangi bir etmen sonucu bozulması durumudur. Yara iyileşmesi ise doku bütünlüğünün bozulmasından başlayarak yeni doku oluşumu ile sonuçlanan hücresel ve biyokimyasal olaylar zinciridir. Aktif ve dinamik bir olay olan yara iyileşmesi, birbirlerini izleyen, sınırları kesin olarak çizilemeyen ve birbirleri ile sıkı ilişki içerisinde olan hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve yeniden modelleme (maturasyon, remodelling) olarak adlandırılan dört evrede gerçekleşmektedir (1).

Yara tedavisi insanlığın var oluşundan bu yana güncelliğini koruyan ve sürekli üzerinde çalışılan konuların başında gelmektedir. İyileşmenin herhangi bir evresinde görülecek olumsuzluk, sonraki evreleri de etkileyerek uzamış yara iyileşmesi ve anormal skar oluşumuyla sonuçlanabilir (2). Bu olumsuz faktörlerin ortadan kaldırılması amacıyla günümüze kadar birçok tedavi yöntemi denenmiştir. İyileşme sürecini hızlandırmak için sistemik veya topikal olarak kullanılan çeşitli ajanlar bu yaklaşımların başlıcalarıdır.

Diyabet, yara iyileşmesini çeşitli faktörlerle etkileyen sistemik bir hastalıktır. 2010 yılında gerçekleştirilen Türkiye Diyabet, Obezite, Hipertansiyon ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-2 (TURDEP-2) sonuçlarına göre Türkiye genelinde diyabet prevalansı %13.7 olarak bulunmuştur (3). 2002 yılında %7.2 olan ve 8 yıl içerisinde %90'lık bir artış gösteren diyabet prevalansının diyabetik yara gözlenme sıklığını da etkileyeceğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde yaygın olarak bulunan nar meyvesinin (*Punica granatum*) endüstriyel yöntemlerle hazırlanan çekirdek yağı, konjuge linolenik asit (CLnA) ve omega-5 yağ

asidi olan pünisik asitten zengindir (ortalama %80). Endemik bitki çekirdekleri dışında, pünisik asidin tek doğal kaynağı nar çekirdeği yağıdır. Literatürde nar çekirdeği yağının PPAR (Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör) nükleer reseptör aktivasyonu, NF- $\kappa$ B (Nükleer Faktör kappa-beta) inhibisyonu ve siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonu sonucu antienflamatuvar ve reaktif oksijen radikalleri ile etkileşerek antioksidan etki gösterdiği farklı deneysel ve klinik çalışmalarda kanıtlanmıştır. Ancak, yara iyileşmesi üzerindeki etkileriyle ilgili literatürde deneysel ve klinik çalışma yer almamaktadır.

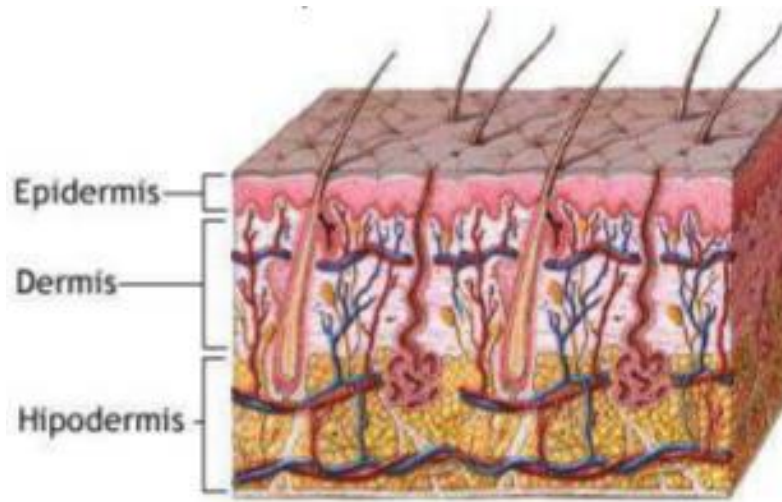
Çalışmamızda antioksidan ve antienflamatuvar etkileri bilinen nar çekirdeği yağının diyabetik sıçanların sırtlarında oluşturulacak olan insizyonel ve eksizyonel yara modellerinde yara iyileşmesinin histopatolojik, biyokimyasal ve makroskopik parametrelerle incelenerek etkilerinin araştırılması, sistemik ve topikal uygulamalar arasındaki farkların ortaya konulması ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Derinin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu

Deri, vücudun iç ortamının bütünlüğünü ve dış ortamla organizma arasındaki ilişkiyi sağlayan, vücudun en ağır ve en geniş organıdır (1). Yetişkin bir bireyde derinin toplam ağırlığı total vücut ağırlığının %8'i kadardır ve yüzey alanı 1,2-2,2 m<sup>2</sup>'dir (4). Yaralanmalar, enfekte edici patojenler ve ultraviyole (UV) ışınlar gibi fiziksel etmenlerden vücudu korur, vücut ısısının ve sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesine, vitamin D sentezine yardım eder ve önemli ölçüde kendini yenileyebilme kapasitesine sahiptir (5).

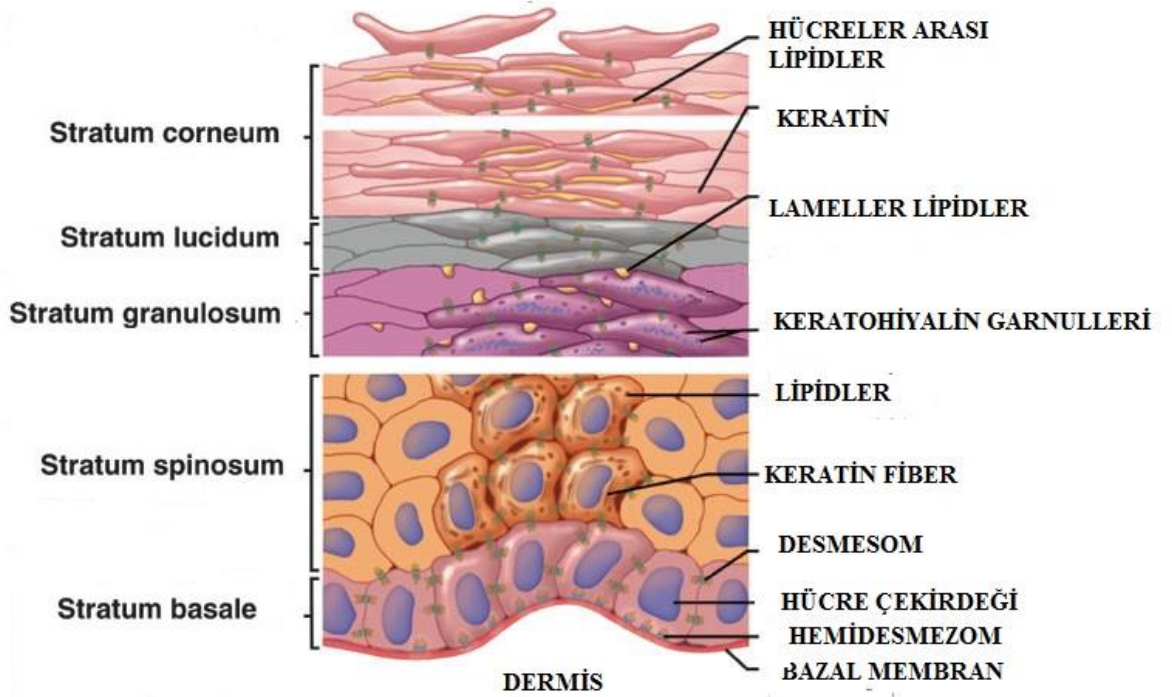
Deri, en dışta ekdoderm kökenli epitelyal bir tabaka olan epidermis, daha derinde mezoderm kökenli bağ doku tabakası olan dermis ve hipodermis (subkutis, subkutanöz doku) tabakalarından meydana gelir (6) (Şekil 1).



Şekil 1. Derinin katmanları.

### 2.1.1.Epidermis

Epidermis, derinin en yüzeyel tabakasıdır. Asıl olarak keratinosit adı verilen hücreleri içerir ve çok katlı keratinize yassı epitelden meydana gelir. Dokunma duyusunun alınmasında rol alan nöral krista kökenli hücreler olan Merkel hücreleri, T lenfositlere antijen sunumunda rol oynayan dendritik Langerhans hücreleri ve melanin pigmentini üreterek bunları keratinositlere taşıyan melanositler bu tabakada yer alır (6). Epidermis 5 temel tabakadan oluşur (Şekil 2). Bunlar, dıştan içe doğru sırasıyla, stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum basale'dir. Sürekli mitotik faaliyet göstererek epidermin tüm katlarını oluşturan stratum basale aynı zamanda stratum germinativum olarak da adlandırılır ve yara iyileşmesindeki epidermal cevaptan primer olarak sorumludur. Stratum basale'de proliferen olan keratinositler epidermin yüzeyel tabakalarına doğru göç ederken yassılaştır ve sonunda çekirdeklerini kaybeder. Stratum corneum'da bu hücreler canlılığını yitirerek keratinle dolu yapılara dönüşürler. Bu süreç keratinizasyon olarak tanımlanır. Epidermis tabakasının kalınlığı vücudun bölümüne, yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişkenlik gösterir.



Şekil 2. Epidermin katmanları

### **2.1.2. Dermis**

Dermis, avasküler yapıda olan epidermise difüzyon ile besin desteği sağlayan katmandır. Dermisin kalınlığı yaklaşık olarak 2-3 mm'dir ve yapısında ekstrasellüler matriks, kolajen ve elastin lifler bulunur.

Dermisi oluşturan iki tabaka vardır. Bunlar papiller tabaka (stratum papillare) ve retiküler tabakadır (stratum reticulare). Papiller tabaka, ince elastik liflerden oluşur ve papilla adı verilen parmaklı çıkıntılar meydana getirir. Epiderminin bazal tabakasındaki keratinositlerin bazal yüzeylerinde bulunan hemidesmozomlar sayesinde dermis ile sıkı temas sağlanır (7). Serbest sinir uçları, dokunma ve basınç duyusunu algılayan yapılar da papiller dermis tabakasında bulunmaktadır. Retiküler tabakada ise kalın kolajen lif demetleri ve elastik liflerden ibaret bir ağ yapısı mevcuttur.

### **2.1.3. Hipodermis (Subkutis)**

Yağ ve bağ dokusundan oluşur. Enerji deposu ve mekanik tampon görevi de yapar ve vücudu sıcaklık dalgalanmalarından korur. Deriyi, altındaki yapılara bağlar ve ona bağlandığı vücut bölgeleri üzerinde hareket yeteneği kazandırır (5).

## **2.2. Hücresel Düzeyde Yara İyileşmesi**

Organizmanın herhangi bir yerinde oluşmuş olan doku bütünlüğünün bozulmasına karşı, homeostazisi yeniden sağlamak için vücudun verdiği cevaplar bütününe yara iyileşmesi denir. Bu süreç sonucunda onarım ya rejenerasyon ile (dokunun kendi mimarisinin yeniden oluşturulması) ya da skar oluşumu ile (fibrozis sonucu dokunun ekstrasellüler matriks ile onarımı) sonuçlanır.

İyileşme evreleri, birbirinin içine geçmiş, ancak, biyolojik olarak ayrı dört aşamadan meydana gelir. Bu süreçte, aşamaların sınırlarını tam olarak çizmek mümkün değildir. Yaranın farklı bölgelerinde iyileşmenin farklı aşamalarını görmek mümkündür (8). Bu evreler;

1. Hemostaz
2. Enflamasyon
3. Proliferasyon

4. Yeniden modelleme (maturasyon, remodelling)'dir.

### **2.2.1. Hemostaz**

Hemostaz, yara iyileşme sürecinde yer alan ilk basamak olup ana hedefi damar duvarındaki yaralanmayı takiben kanama kontrolünü sağlamaktır. Yara iyileşmesinin diğer fazlarında ihtiyaç duyulacak olan hücreler için geçici bir matriks ağı oluşturur ve bu sürecin ilerlemesine yardımcı olur. Hemostaz evresi kanamaya yanıt olarak katekolamin salınımını takiben geçici vazokonstriksiyon ile başlar. Yaklaşık 5-10 dakika sürer. Damar yaralanmasını takiben açığa çıkan subendotelde bulunan kolajen ve mikrofibriller, trombositlerle temas eder ve Hageman faktörünü (faktör XII) aktive ederler (9,10). Bunun sonucunda trombositlerden sitokin ve büyüme faktörü salınımı olur (10). Yoğun granüllerden kalsiyum, serotonin, ADP salgılanırken  $\alpha$ -granüllerden von Willebrand faktör (vWF), fibronektin, trombospondin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), heparini nötralize eden protein (trombosit faktör 4) salgılanır.

Trombositlerden salınan tromboksan A2 (TXA2), vazokonstriksiyona ve aynı zamanda trombosit agregasyonuna neden olur. İntrensek ve ekstrinsek pıhtılaşma mekanizmaları aktive olurlar. Ekstresek yolak sonucu protrombin aktive olarak trombine dönüşür. Aktif trombin, fibrinojeni fibrine dönüştürerek fibrin tıkaçın oluşmasına sebep olur. Fibrin tıkaç, enflamatuvar hücre ve fibroblast göçü için erken yara matriksi olarak işlev görmektedir (11).

### **2.2.2. Enflamasyon**

Yaralanma sonrası erken dönemde gelişen vazokonstriksiyon 10-15 dakikada sonlanır ve yerini vazodilatasyona bırakır. Vazodilatasyonu oluşturan etmenler, endotel veya mast hücresi kaynaklı lökotrienler, prostaglandinler ve histamindir. Artan kan akımı, trombositlerden salgılanan faktörler ve doku hasarı sonucu meydana gelen nekroz kaynaklı faktörler endotel geçirgenliğini değiştirirler ve hücreler arası alana plazma geçişi ile birlikte ödeme neden olurlar. Damar geçirgenliğindeki artış, kompleman faktörler, interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), dönüştürücü büyüme faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), gibi kemotaktik maddeler, nötrofil kemotaksisini uyarır (9,12). Nötrofiller yaralanmadan hemen sonra ilk 24 saatte yara bölgesinde baskın olan enflamatuvar hücrelerdir. Fagositoz yardımı ile reaktif oksijen radikalleri (ROR) ve proteolitik



enzimler yardımıyla bakteri ve yabancı cisimler ortadan uzaklaştırılır, travmadan zarar görmüş nekrotik hücre kalıntıları temizlenir (13).

Yara iyileşmesinin 2-3. günlerinde nötrofil sayısı giderek azalır ve baskın hücreler makrofajlar haline gelir. Makrofajlar enflamasyonun en önemli hücreleridir ve genellikle dolaşımdaki monositlerden kaynaklanır. Makrofajlar fagositoz ve proteolitik enzim salgılamalarının yanı sıra salgıladıkları pek çok sitokinler ve büyüme faktörleri ile yara iyileşmesini düzenler. Makrofajlardan salınan sitokinlerin uyarılması ile anjiyogenez, fibroblast göçü ve proliferasyonu, kolajen üretimi gerçekleşir (10,13).

T-lenfositler de yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Yara yerine göçleri ve aktive olmaları makrofajlar tarafından sağlanır. IL-1, IL2, TNF-  $\alpha$ , epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi pek çok sitokinin kaynağı ve düzenleyicisidirler.

Enflamatuvar dönemin süresi çeşitli faktörlere göre değişkenlik gösterse de ortalama 3-5 gün sürer.

### **2.2.3. Proliferasyon**

Yara iyileşmesinin 3-5. gününden itibaren makrofajlarda salınan PDGF ve TGF-  $\beta$  gibi sitokinler tarafından fibroblastlar aktive edilir ve çoğalmaya başlar. Bu dönemde fibroblastlar yara yerinin baskın hücreleri haline gelir (10).

Fibroblastların yara bölgesine ulaşabilmesi için bu bölgede bulunan nekrotik dokuları proteolitik enzimler ile parçalaması gerekmektedir. Bu sebeple matriks metalloproteinaz (MMP) adı verilen enzimler salgılar. Mezenkim kökenli kök hücreler de bu dönemde fibroblastlara farklılaşabilir (11).

Fibroblastların ana fonksiyonu kolajen salgılamaktır (10). Kolajen, bağ dokunun temel yapı taşıdır ve organizmadaki total proteinin 1/3'ünü oluşturur. Yaralanmanın 5-7. günlerinde kolajen sentezi maksimum seviyeye ulaşır. Kolajen molekülündeki aminoasitler tekrarlayan tripeptid dizilimindedir. Glisin amino asidine prolin, hidroksiprolin, lizin ve hidroksilizinden ikisi bağlanarak polimer yapısını oluşturur (8,14). Prolin ve lizin aminoasitlerinin protokolajen molekülüne bağlanabilmesi için hidroksil hale dönmeleri gerekmektedir. Bu reaksiyonda prolin hidroksilaz ve lizil hidroksilaz enzimleri rol oynar. Askorbik asit,  $\alpha$ -ketoglutarat, oksijen ve demir bu

enzimlerin kofaktörleri olarak görev yapar (15). İnsan vücudunda farklı dokularda farklı kolajen tipleri sentez edilebilmektedir. Sağlam derinin kolajenlerinin %80-90'ı tip-I kolajen tarafından oluşturulurken geri kalan kısmını tip-III kolajen oluşturur. Granülasyon dokusundaki kolajenlerin %30'u tip-III kolajen tarafından oluşturulmaktadır (11). Kıkırdak dokuda tip-II kolajen, bazal membranda tip-IV kolajen baskındır. Normal ciltte tip-I/tip-III kolajen oranı 4/1'dir. Yara iyileşmesinin erken evrelerinde bu oran 2/1'e kadar çıkar (16). Yara bölgesindeki kolajen miktarı, yara iyileşmesini gösteren önemli parametrelerden birisidir.

Fibroblastlar kolajen sentezinin yanı sıra fibronektin ve proteoglikanları da sentezler. Bu maddeler bağ dokusunun fiziksel özelliklerinin oluşmasını sağlar, hücreler arasındaki boşlukları doldurarak destek oluşturan ekstrasellüler matriksi oluşturur (1,10).

Epitelizasyon sıvı kaybını ve enfeksiyonu önlemede büyük önem taşır (11). Kısmi kalınlıktaki yaralarda epitelizasyonun sorumlusu dermisteki deri ekleridir. Ancak, tam kat yaralarda epitelizasyon yalnızca yara kenarlarında gerçekleşir.

Anjiyogenez, yara bölgesinde yeni damarların oluşması, gelişmesi anlamına gelir. Endotel hücresi bu süreç içerisinde yer alan temel hücre grubudur. Perisitlerle birlikte kapiller damar duvarına yerleşir. Aktive olmuş makrofajlarca salınan sitokinlerin uyarısıyla endotelial hücreden yeni kapillerler oluşur. Anjiyogenez yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) primer uyarıcısıdır (1,10,17). Doku hipoksisi sonucu ortamda bulunan fibroblast, keratinosit ve makrofajlarda hipoksi indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) proteini aktive olarak VEGF salınır. Ortamın yükselen oksijen konsantrasyonu ise HIF-1 proteinini inaktif hale getirir (18).

Sekonder iyileşme, yara alanının kontraksiyon ve epitelizasyon ile küçülmesi ile gerçekleşir. Yara kontraksiyonu özellikle açık yaralar için büyük önem taşımaktadır. Kontraksiyon, granülasyon dokusunun gelişmesi ile eş zamanlı olarak başlar (1,10). Kontraksiyonun temeli myofibroblastlar içerisinde zengin olarak mevcut olan aktin filamentleridir. Kontraksiyon ilerleyerek yara boyutunu küçültür ve ilerleyen epidermis granülasyon dokusunu sonuç olarak tamamen örter. Bu süreçte, TGF- $\beta$  etkin rol oynar (19).

#### 2.2.4. Yeniden modelleme (maturasyon, remodelling)

Bu dönemde fibroblast ve enflamatuvar hücreler giderek azalır, kolajen lifler organize olarak ağ yapısı oluşturur. Fibroblastlar ilk olarak tip-III kolajen sentezler. Tip-III kolajen organize olmamıştır ve jel yapısındadır. Yeniden modelleme fazında tip-III kolajen yıkılarak yerini tip-I kolajene bırakır. Tip-I kolajen organize olarak stres çizgilerine paralel dizilir (11).

Kolajenin yapımı ve yıkımı yeniden modelleme fazında (yara iyileşmesinin 21. gününde) dengeye ulaşır. Kolajen yıkımının sorumlusu MMP'lerdir. Bu enzimler doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMPs) tarafından inhibe edilir. Bu denge TGF- $\beta$ , PDGF ve IL-1 tarafından sağlanır (11). İlk sentezlenen kolajenin çapraz bağ sayısı azdır ve nötral çözücülerde çözülebilir. Çapraz bağları artan kolajen molekülü sadece asit çözeltilerde çözülebilir hale gelir. Son halini alan kolajen molekülünde tüm çapraz bağlantıları tamamlanmıştır ve hiçbir çözücüde çözülemez. Dokudaki çözülebilen ve çözilemeyen kolajen miktarı, yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanılan kriterlerdendir (20,21).

Myofibroblastlar, fibroblastik hücrelerden köken alır ve sitoplazmasında aktin ve miyozin filamentleri bulunur. Özellikle doku kaybı olan yaralarda bu hücreler yara gerilim hattı boyunca kolajen liflerini beraberinde sürükleyerek yara alanını kapatmak üzere sentripedal olarak defektin geometrik merkezine ilerler.

Yara gerilimi ile kolajen miktarı ve çapraz bağlanma yoğunluğu arasında doğru orantı vardır. Kolajen fibrillerin yerini daha fazla moleküller arası bağlar içeren organize fibrillerin alması ile gerilim kuvveti artar (1,12).

Yeniden modelleme fazının süresi birçok değişken tarafından etkilenerek değişiklik gösterebilir. Bunlar; hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi ve lokalizasyonu ve enflamasyon fazının süresidir.

Gerilim kuvveti, her birim kesit alanına uygulanan kuvvettir. Sentezlenen kolajen miktarını ve yara iyileşmesinin erken fazlarının sorunsuz devam ettiğini gösterir (22). Üçüncü haftada yara gerilim kuvveti normalin %20'sine ulaşır. Yara iyileşmesi sonucu

oluşan gerilim kuvveti hiçbir zaman normal derinin gerilim kuvvetinin %80'ini geçemez (23). Yara kopma kuvveti, iyileşen yarayı ayırmak için gereken kuvvet miktarıdır ve klinik olarak yara iyileşmesinin objektif olarak değerlendirilmesine olanak sağlayan bir kriterdir.

### 2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesinin normal fizyolojisini bozan birçok lokal ve sistemik faktör tarif edilmiştir (Tablo 1).

Yetersiz kan akımı, enfeksiyon, iyonize radyasyon ve yara yerinde yabancı cisim varlığı yara iyileşmesini bozan lokal faktörlerden bazılarıdır. Fibroblast proliferasyonu için doku parsiyel O<sub>2</sub> basıncının en az 15 mmHg olması gerekir. Arteriyel veya venöz kan akımındaki bozukluklar bu sebeple yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Gecikmiş yara iyileşmesinin en önemli faktörü enfeksiyondur. Gram doku başına düşen bakteri miktarının 10<sup>5</sup>'in üzerinde olması yara enfeksiyonu olarak tanımlanır. Virülanslarının yüksek olması sebebi ile  $\beta$ -hemolitik streptokoklar daha düşük bakteriyel yükte yara yeri enfeksiyonuna sebep olabilmektedir (24).

Beslenme bozuklukları, dehidratasyon, immunsupresif ilaç kullanımı, nikotin bağımlılığı, sistemik ve metabolik hastalıklar yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen en önemli sistemik faktörlerdir (25). Diyabet, yara iyileşmesini bozan sistemik nedenler arasında önemli bir yer tutmaktadır.

**Tablo 1.** Yara iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler.

Lokal Faktörler	Sistemik Faktörler
Enfeksiyon	Metabolik hastalıklar
Yabancı cisim	Beslenme bozuklukları
Arteriyel veya venöz yetmezlik	Diyabet
Mekanik travma	İmmunsupresif ilaç kullanımı
İyonize radyasyon	İleri yaş

## 2.4. Diyabet ve Yara İyileşmesi

Diyabet, insülin eksikliği ya da insüline karşı oluşan periferik direnç nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 1980 yılında yayınladığı ilk küresel rapordan günümüze kadar diyabet görülme sıklığı 4 kat artmıştır. Bu dramatik artış, obezite görülme sıklığının artması nedeniyle tip-II diyabetin artmasından kaynaklanmaktadır. Yalnızca diyabet nedeniyle 2012 yılında 1.5 milyon ölüm gerçekleşmiştir (26). Kontrol edilemeyen diyabet sonucunda kan glukoz düzeylerinin artmasıyla kalp, göz, böbrek gibi organlar, nöral ve vasküler dokular etkilenerek ciddi morbiditeler ortaya çıkabilir. Diyabet hastalarının %60'a yakını nöropati bulguları göstermektedir ve %15'i hayatlarında en az bir defa diyabetik ayak ülseri ile karşılaşmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde major ekstremitte amputasyonlarının %67'sinin diyabete bağlı olduğu bildirilmiştir (27).

Tip-I diyabet fizyopatolojisinde pankreasın insülin salgılayan  $\beta$  hücrelerinde yıkım büyük rol oynar. Tip-II diyabette ise hücre-reseptör defektine bağlı olarak organizmanın ürettiği insülinin kullanımında ortaya çıkan sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine alınamaz ve enerji olarak kullanılamaz. Özellikle kas ve yağ dokusu gibi periferik dokularda insülinin etkisi yetersizdir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde pankreas, kan glukoz düzeyine yanıt olarak yeteri kadar insülin salgılayamaz ve karaciğerde glukoz yapımı aşırı derecede artmıştır. Tip-II diyabetin risk faktörlerinde genetik ve metabolik faktörler rol oynar. Etnik köken, ailede diyabet hikayesi, geçirilmiş gestasyonel diyabet, obezite, sağlıksız beslenme, azalmış fiziksel aktivite ve sigara kullanımı en önemli risk faktörleridir (26).

Klinik ve deneysel çalışmalar diyabetik yaralarda iyileşmenin farklı fazlarında duraksama gözlendiğini ve olması gereken senkronizasyonun kaybolduğunu göstermiştir (28,29). Diyabetli hastalarda yara iyileşmesini bozan birçok etmen tariflenmiştir. Ancak, kesin patogenez tam olarak açıklanamamıştır. Diyabetli hastalarda yara iyileşmesinin enflamatuvar fazı geç başlar ve daha uzun süre devam eder. Endotel bazal laminası kalınlaştığından ve yetersiz vazodilatasyon gerçekleştiğinden lökosit göçü sekteye uğrar (30). Bölgeye göç eden enflamatuvar hücrelerin geri çekilmesi de aynı sebeple engellendiğinden enflamatuvar faz uzun süre devam ederek kronik enflamasyon oluşur. Hücre göçündeki bu gecikme iyileşmenin diğer dönemlerinde de bozukluklara yol açar.

Diyabette gözlenen hiperglisemi mikroorganizmalar için uygun besi yeri oluşturur. Ayrıca nötrofillerin fagositik aktivitelerinin de bozulması klinikte diyabetik yara enfeksiyonları ile sıkça karşılaşmamıza neden olur (31). Diyabette bozulmuş olan lökosit aktivitesi daha sonraki evrelere de etki ederek fibroblast proliferasyonunu ve kolajen sentezini engeller (32).

Diyabetik hastalarda artmış glukoz konsantrasyonu, poliol yolunu aktifleyerek sorbitol sentezine yol açar. Aldoz redüktaz enzimi sorbitol sentez yolunda görev alır ve aktivitesi için NADPH gereksinimi duyar. Bu nedenle NADPH konsantrasyonu azalır. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Sorbitol yolunun aktive olmasıyla NADPH konsantrasyonunun düşmesi sonucu redükte glutatyon ve NO sentezi azalır, hücrenin antioksidan kapasitesi sınırlanmıştır olur.

Diyabetik hastaların yara iyileşmesinde kolajen sentezinde inhibisyon gözlenir (32). Deneysel olarak diyabetize edilmiş deney hayvanlarında kolajen yoğunluğunun kontrol grubuna göre %30 daha az olduğu gösterilmiştir (33). Kolajen sentezindeki bu azalma yaranın kopma kuvvetinde azalmaya neden olur. İnsülin tedavisi azalmış yara gerilim kuvvetinin normale dönmesinde etkili olmaz (34).

Deneysel olarak diyabetize edilmiş farelerde fibroblast fonksiyonlarının azaldığı ve fibroblastlarca sentezlenen MMP-9 enziminde artış olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra MMP enzim aktivitesini kontrol eden TIMP-2 azalmıştır. Bu da doku kolajen miktarının azalması ile sonuçlanır (35-37).

Keratinositler de fibroblastlar gibi yara iyileşmesinde önemli rol oynayan hücrelerdir. Genetik olarak diyabetize edilmiş farelerde keratinosit proliferasyonunun ve keratinositlerce sentezlenen VEGF mRNA'sı sentezinin azaldığı gösterilmiştir (38). Glikolize kolajenin keratinosit göçünü engellediği de yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (39).

Artmış ateroskleroz ve nöropati sonucu gelişen perfüzyon bozukluğu, azalmış anjiyogenez ve immün yanıtta gözlenen bozukluklar da diyabetik hastalarda yara iyileşme problemlerine neden olan etmenlerdendir (8).

## 2.5. Moleküler Düzeyde Diyabetik Yara İyileşmesi

### 2.5.1. Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör (PPAR) Ailesi

Peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör (PPAR) ligant ile etkinleştirilen transkripsiyon faktörüdür ve sınıf-II nükleer reseptör ailesine aittir. Yapılan çalışmalarda aterosklerotik lezyonlarda yer alan hücrelerde PPAR'ın anti-enflamatuvar etkileri de tanımlanmıştır (40). PPAR aktive olduğunda, hedef genlerinde promotör bölgelerdeki spesifik PPAR yanıt elemanlarına bağlanarak gen ekspresyonunu baskılamak veya aktive etmek üzere gen fonksiyonunu düzenler (41). Günümüze dek PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta$  ve PPAR- $\gamma$  olmak üzere üç alt tür tanımlanmıştır. PPAR'lar, yağ asidi ve karbohidrat metabolizmasını düzenleyen güçlü transkripsiyon faktörleridir. Bu reseptörler çeşitli spesifik dokularda eksprese edilerek metabolizmayı düzenleyici etki gösterirler (Tablo 2).

Diyabetik hastalarda insülin direnci nedeni ile kandaki normal ya da yüksek insülin düzeyine rağmen başta kas, yağ ve karaciğer olmak üzere tüm dokularda insüline karşı zayıf biyolojik yanıt oluşmaktadır. Isseman ve Green, fibratların ve tiyazolidindionların (TZD) PPAR agonisti olarak etki ederek insülin direnci gelişmiş deney hayvanı modellerinde karaciğer, çizgili kas ve yağ dokusu hücrelerinde glukoz taşıyıcı sayısını artırarak glukoz kullanımını artırdığını ve insülin direncini azalttığını göstermiştir (42).

PPAR'lar proenflamatuvar mediyatörlerin üretiminden sorumlu olan NF- $\kappa\beta$ 'nın ekspresyonunu sınırlayarak enflamatuvar yanıtı azaltmaktadır (43). Bu mekanizmada, PPAR'lar DNA'ya bağlanmaksızın doğrudan proteinler ile etkileşmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda PPAR agonistlerinin enflamasyonu azalttığı ile ilgili sonuçlar elde edilmiştir ve seçici PPAR agonistleri enflamatuvar hastalıkların tedavisinde umut vermektedir.

Son on yılda PPAR reseptörlerine etki eden farmakolojik ajanların hiperlipidemi, diyabet, obezite ve ateroskleroz gibi kronik hastalıkların kontrolünde etkili olabileceğine yönelik yoğun çalışmalar yapılmıştır (44). Yapılan daha güncel çalışmalarda ise bu reseptörlerin epidermal yara iyileşmesinin farklı fazları ile ilişkisi gösterilmiştir. Fetal dönemde PPAR- $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  izotiplerinin her üçü de fare epidermisinden izole edilmiştir ve doğumla beraber bu reseptörlerin azalarak saptanamayacak seviyelere ulaştığı gözlenmiştir. Ancak doğum

sonrasında keratinosit proliferasyonunu uyuracak herhangi bir durumda PPAR- $\alpha$  ve  $\beta$  erişkin epidermisinde yeniden ekspresyona uğramaktadır (45). Yara iyileşmesi esnasında açığa çıkan interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ve TNF- $\alpha$ , PPAR- $\beta$  gen ekspresyonunu stimüle ederler ve sonuç olarak keratinosit diferansiyasyonu ve göçü artar, keratinositlerin apoptotik uyarılara karşı direnci artar (46).

**Tablo 2.** Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptörler (PPAR) ve fonksiyonları.

PPAR alt tip	Primer doku	Ligand	Fonksiyon	İlişkili hastalıklar
PPAR- $\alpha$	Karaciğer, kas, kalp	Yağ asitleri (fibratlar)	Trigliserit yıkımı	Dislipidemi, diyabet, kardiyomiyopati
PPAR- $\beta$	Ubikütöz	Proteinler, yağ asitleri	Enerji dengesi	Dislipidemi, obezite
PPAR- $\gamma$	Adipoz doku, makrofajlar, kas, kalp	Yağ asitleri (TZD grubu ilaçlar)	Trigliserit depolamak	İnsülin direnci, obezite, metabolik sendrom

Yara iyileşmesi esnasında makrofajlar proenflamatuvar hücre fenotipinden (M1 fenotip) iyileşme ile ilişkili fenotipe (M2 fenotip) dönüşürler. Bu dönüşüm anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumu için oldukça önemlidir (47,48). Ancak diyabetik yara iyileşmesinde makrofaj disfonksiyonu yara iyileşmesinde gecikme ile sonuçlanır (48,49). Son yıllarda yapılan çalışmalarda NLRP3 – IL-1 $\beta$  yolağının, diyabetik yara iyileşmesinde yıkıcı etkileri olan proenflamatuvar M1 fenotipinin sürdürülmesinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (50,51). Mirza ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IL-1 $\beta$ 'nin diyabetik durumda PPAR- $\gamma$  üzerine baskılayıcı etki göstererek makrofajların proenflamatuvar M1 fenotipinden iyileşme ile ilişkili M2 fenotipe dönüşümünü engellediği ve yara iyileşmesinde bozulmaya sebep olduğu bildirilmiştir. PPAR- $\gamma$  agonistlerinin bu etkiyi ortadan kaldırarak, M2 fenotipini indükleyerek enflamasyonu azalttığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı da yine aynı çalışmada in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir (52).



### 2.5.2. Nükleer Faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$ )

Nükleer faktör- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve COX-2 gibi proenflamatuvar enzimlerin ekspresyonunda rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (53,54). Hipoksi/anoksi, IL-1, TNF- $\alpha$ , ROR, lipopolisakkarit gibi bakteriyel veya viral ürünler ve UV radyasyon tarafından aktive edilebilir (55,56). Nükleer faktör- $\kappa\beta$ 'nın aktive olmasıyla IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinler sentezlenir. Lökositler, vasküler endotel hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar proenflamatuvar sitokinlere NF- $\kappa\beta$  aktivasyonu ile yanıt verirler (57).

İnhibitör- $\kappa\beta$  proteini (I $\kappa\beta$ ) NF- $\kappa\beta$ 'ya bağlanarak onun çekirdeğe translokasyonunu ve dolayısıyla DNA'ya bağlanmasını engeller. İnhibitör- $\kappa\beta$  kinaz  $\beta$  (IKK $\beta$ ), I $\kappa\beta$  proteinini NF- $\kappa\beta$ 'ya bağlandığı yerden ayırarak NF- $\kappa\beta$ 'yı aktif hale getirir. Yuan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda yüksek doz salisilatın IKK $\beta$  ve dolayısıyla NF- $\kappa\beta$  inhibisyonu yaparak insülin direncini düşürdüğü, böylece kan glukoz konsantrasyonunu düşürerek diyabet tedavisinde kullanılabileceğini belirtilmiştir (58,59). Bu çalışmaların sonucunda NF- $\kappa\beta$  ve IKK $\beta$ 'nın insülin direncinin ve tip II diyabet oluşumunun ana şüphelileri olduğu düşünülmüştür (59,60).

### 2.6. Streptozotosin (STZ) ve Deneysel Diyabet Modeli

Günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konulması, patogenezinin aydınlatılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının incelenmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygındır. Günümüze dek tanımlanmış birçok deneysel diyabet modeli bulunmakla beraber, bu modellerden hiçbiri insan diyabetine tam olarak eşdeğer tutulamaz (62). Ancak kullanılan bu yöntemler hastalığa dair araştırmalar için oldukça önemlidir.

Çeşitli kimyasal ajanların kullanımı, cerrahi uygulamalar veya genetik modifikasyonlarla elde edilen diyabet tabloları deneysel diyabet modelleri arasında sayılabilen metodlardan bazılarıdır. Streptozotosin (STZ) ve alloksan pankreasın insülin salgılayan beta hücrelerine seçici olarak toksik etki gösteren kimyasal diyabetojenik ajanlardır (63). Kimyasal olarak oluşturulan diyabet modelleri diğer deneysel modellere göre daha ucuzdur ve pankreasın  $\beta$  hücrelerini tahrip ederken  $\alpha$  ve  $\Delta$  hücrelerine zarar vermezler. Ketozis ve mortalite göreceli olarak daha az gözlemlendiğinden deneysel diyabet modeli

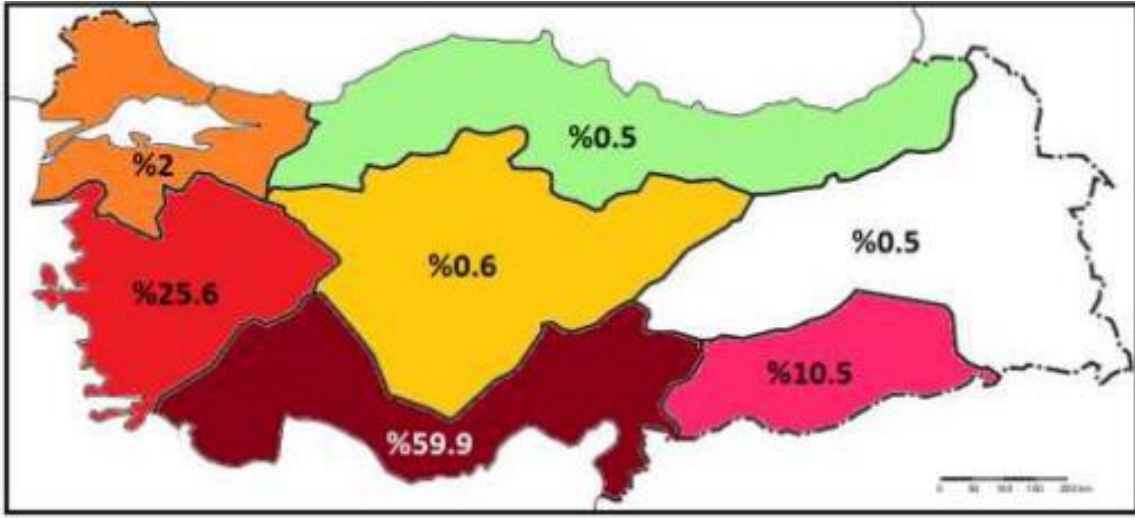
oluşturulmasında en sık tercih edilen yöntem haline gelmiştir. Streptozotosinin alloksana göre  $\beta$  hücreleri dışındaki hücelere daha az zarar verdiği ve ketozise daha az sebep olduğu bildirilmiştir (64).

Streptozotosin, ilk kez 1959 yılında *Streptomyces achromogenes* kültüründen izole edilen dar spektrumlu bir antibiyotiktir (65). Nitrozüre grubu antineoplastik, onkolitik ve sitotoksik bir ilaçtır. Diyabetojenik özelliği 1963 yılında tariflenmiştir (66). Streptozotosin pH 4-4.5'te çözünür ve stabil kalır. Ancak, nötral pH'da hızla parçalanır. Işıktan korunarak -20 °C'de saklanmalıdır. Kolaylaştırılmış difüzyon ile pankreasın  $\beta$  hücrelerine girerek enerji metabolizmasını bloke eder ve bu hücelere doğrudan sitotoksik etki gösterir. Aynı zamanda yapısında bulunan glukoz molekülü sayesinde plazma membranındaki glukoreseptörlere bağlanarak glukozla uyarılan insülin salınımını bloke eder. Sonuç olarak deney hayvanlarında hipoinsülinemi ve hiperglisemi meydana gelir ve tip-I diyabet benzeri tablo oluşur.

## **2.7. Nar (*Punica granatum*)**

Latince ismi *Punica granatum* olan nar, tropik-subtropik bir iklim meyvesidir ve Ortadoğu, Akdeniz, Çin, Hindistan, Güneybatı Amerika ve Meksika'ya kadar uzanan geniş bir alanda yetiştirilmektedir (67). Familyasında tek bir cins içeren (monotipik) bitki türlerine gıda mühendisleri, bitki bilimciler ve beslenme uzmanları tarafından ilgi duyulmaktadır ve bu bitkiler ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Punicaceae familyasına ait tek bir bitki cinsi (*Punica*) vardır ve bu cinsin baskın türü de *Punica granatum*'dur. *Punica* cinsinin ikinci türü ise sadece Yemen'de endemik olarak yetiştirilen *Punica protopunica*'dır. İsmi çekirdekli elma anlamına gelen "pomuni granatum" teriminden alan nar meyvesi aynı zamanda Kartacalılar tarafından getirildiği düşünüldüğünden *Malum punicum* (Kartaca elması) olarak da bilinmektedir. Eski Mısır ve Yunan efsanelerinde ve kutsal kitaplarda da bahsedilen nar, bilinen en eski tarım ürünlerinden birisidir. Nar, geleneksel tıpta dizanteri, asidoz, diyare ve respiratuvar patolojiler gibi çeşitli hastalıkların tedavilerinde, oral aft ve ülserlerin önlenmesinde kullanılmıştır. Ayrıca antihelmintik ve antipiretik olarak kullanıldığı da bilinmektedir (69,70).

Nar üretimi ve ihracatı sıralamasında önemli bir yere sahip olan Türkiye, İran ve Çin'in ardından nar meyvesi üretiminde üçüncü sırada bulunmaktadır (71). Son yıllarda nar ile ilgili yapılan bilimsel çalışmaların artması ile birlikte nar üretiminde dünya çapında bir artış gözlenmektedir. Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre 1994 yılında Türkiye'de nar meyvesi üretimi 53.000 ton iken bu rakam 2015 yılında 445.750 tona yükselmiştir (72). Ülkemizde nar, başta Akdeniz Bölgesi olmak üzere Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde yaygın olarak yetiştirilmektedir (73) (Şekil 3).



Şekil 3. 2010 yılı itibariyle Türkiye'de bölgelere göre nar üretimi.

Nar meyvesi, kabuk, tane ve çekirdek kısımlarından oluşur. Nar meyvesinin yenilebilir tane kısmı yaklaşık olarak bütün meyvenin ağırlıkça %52'sidir. Yenilebilen kısımlarının %78'ini nar suyu geri kalanını ise nar çekirdeği oluşturur. Nar meyvesinin yanı sıra ağaç kabuğu, yaprak ve çiçek kısımlarının her biri de kendine özgü kimyasal bileşikler içerir (74) (Tablo 3).

Temel beslenmeye ilave olarak sağlık üzerine olumlu etkiler de gösteren gıda veya gıda bileşenlerine fonksiyonel gıdalar adı verilir (75). Son yıllarda sağlıklı beslenme bilincinde gözlenen gelişme ile birlikte biyoaktif bileşenler içeren fonksiyonel gıdalar üzerine yapılan bilimsel araştırmaların sayısı her geçen gün artmaktadır (76). Nar meyvesinin de kabul edilmiş tıbbi faydalarının ve hastalık önleyici etkilerinin, içerdiği biyoaktif maddeler sonucu gerçekleştiği yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (77).

Nar meyvesinin içeriğindeki organik asitler, fenolik bileşikler, suda çözünen vitaminler, mineraller ve nar kabuğunun içeriğindeki flavanoidler, ellagitanninler ve

proanthocyanidin gibi biyoaktif bileşikler yapılan analizlerde değişik oranlarda saptanmıştır (78-80). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda içeriğindeki bu biyoaktif bileşiklerin antioksidan, antitümöral, antihepatotoksik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiviral ve antidiyabetik özellikleri gösterilmiştir (78,81-86). Ayrıca içeriğindeki bu bileşikler nedeni ile nar meyvesinin farklı kısımlarının özütleri çeşitli vücut nemlendirici, bronzlaştırıcı, bakım kremleri, yüz maskeleri ve yaşlanmayı geciktirici preparatların bileşimine girmiştir (87-89). Murthy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlarda nar kabuğu içeren jel preparatların sıçan dorsum derisinde oluşturulmuş eksizyonel yara modelinde iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada nar kabuğu içerisindeki polifenollerin yara iyileşmesinde pozitif rol oynadığı bildirilmiştir (90).

**Tablo 3.** Nar bitkisinin çeşitli kısımları ve kimyasal bileşenleri.

Bitki kısmı	Kimyasal bileşenler
Nar meyve suyu	Antosiyaninler, glukoz, askorbik asit, ellagik asit, kateşin, kuersetin, mineraller, demir, aminoasitler
Nar meyve çekirdeği yağı	Pünisik asit ve diğer yağ asitleri, steroller, ellagik asit
Nar meyve kabuğu	Punikalagin, gallik asit ve diğer yağ asitleri, katesin, kuersetin, antosiyanidler, flavanoller
Nar bitki yaprağı	Taninler (punikalin ve punikafolin), flavon glikozidleri
Nar bitki çiçeği	Gallik asit, ursolik asit, tritepenoidler
Nar bitki kökü	Ellagitaninler (punikalin, punikalagin), piperidin alkaloidleri

## 2.8. Yağ Asitleri ve Sınıflandırılması

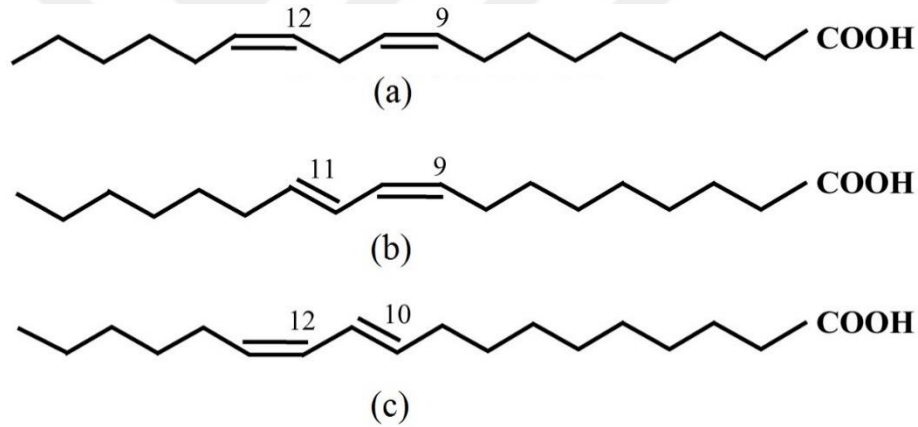
Yapılarındaki yağ asitlerine göre yağlar hücre ve organel membranlarda yapı taşı olarak görev yaparlar, metabolizma için gerekli hücresel yakıt maddesi olarak depo edilirler, metabolizma için gerekli olan yakıtın taşınabilir formunu oluştururlar ve bazı vitaminlerin absorpsiyonlarını sağlarlar (91,92).

İnsan diyeti doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış (omega-3 ve omega-6) yağ asitlerinden oluşur. Bunların dışında çoklu doymamış yağ asitlerinin konjugasyonu



olduğu bildirilmiştir (99). Akdeniz ve Asya ülkelerinde diyetle alınan konjuge yağ asitleri miktarının batılı ülkelere göre daha fazla olması sebebiyle enflamatuvar hastalıkların daha az sıklıkla gözlendiği düşünülmektedir (100).

Konjuge linoleik asitler, oktadekanoik asidin (18:2 omega-6) konjugasyonu sonucu oluşur. Yapısında iki adet çift bağ bulundurur (94) (Şekil 6). Et ürünleri, süt yağı ve peynirde doğal olarak çok az miktarda bulunur (101). Konjuge linoleik asitlerin antikanserojenik, antiaterosklerotik, antihipertansif, antilipojenik ve antioksidan özelliklerinin varlığı bilinmektedir (102,103). Doğal olarak eldesi zor olduğundan alkalın izomerizasyon yolu ile sentetik olarak üretilip besin takviyesi olarak kullanılmaktadır. Brezilya Sağlık Gözetimi Ajansı sentetik CLA içeren besin takviyelerinin satışını, güvenilirliği ve etkili oluşu ile ilgili yetersiz bilimsel veri olmasından dolayı yasaklamıştır (95).

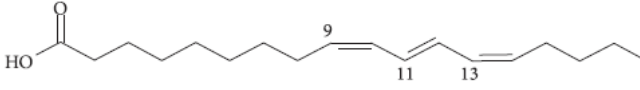
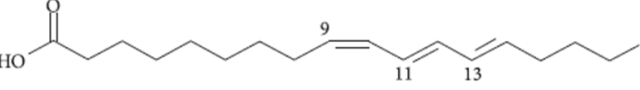
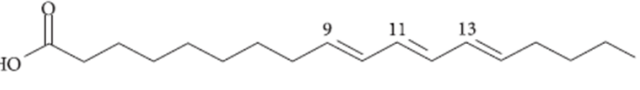
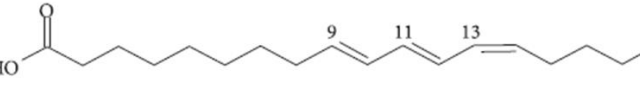
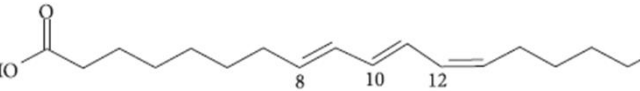
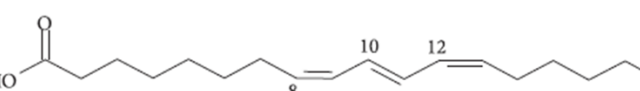


**Şekil 6.** Linoleik asidin konjugasyonu sonucu yapısında meydana gelen değişiklikler. a. Linoleik asit (18:2 Omega-6 yağ asidi), b. Konjuge linoleik asit (18:2, 9z11e), c. Konjuge linoleik asit (18:2, 10e12z).

Konjuge linoleik asitlerin doğada az miktarda bulunması ve sentetik olarak elde edilen ürünlerinin insan üzerindeki tartışmalı etkileri nedeniyle alternatif bir molekül arayışına gidilmiştir. Konjuge linolenik asit, omega-3 yağ asidinin konjuge bağlar içeren pozisyonel ve geometrik izomerleridir. Yapısında üç adet çift bağ bulundurur (94). Doğada tanımlanmış olan farklı CLnA izomerleri mevcuttur (Tablo 4). Bunlar hayvansal yağlarda ender olarak bulunsalar da çeşitli bitki çekirdeği yağlarından bolca elde edilebilirler. Bu bitki tohumlarının her birinin kendine özgü konjugaz enzimi vardır. Bu nedenle her bitki tohumu yapısında yalnızca bir çeşit CLnA izomeri bulundurabilir.

Yapılan çalışmalarda CLnA'ların absorpsiyonundan sonra belirli miktarlarda CLA'lara metabolize oldukları bildirilmiştir (97,103-105). Bu çalışmalar CLnA'ların aynı zamanda doğal CLA kaynağı olduklarını gösterdiğinden önemlidir. Konjuge linolenik asitlerin bazı fizyolojik etkilerinin CLA'ya metabolize olmaları ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (95). Yücel tarafından yapılmış olan bir çalışmada Türkiye'de yetişen 11 ayrı bitki tohumunun içerdikleri yağ asitleri analiz edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Çalışmada en fazla CLnA içeren bitki tohumu %86'lık oran ile nar çekirdeğidir. Yine aynı çalışmada elde edilen CLnA izomerlerinin kaynağı olan bitki tohumlarından sadece acı su kabağı, nar ve mahlep kaynaklı ürünlerin yenilebilir olduğu belirtilmiştir (106).

**Tablo 4.** Çeşitli CLnA izomerleri ve bunların kaynaklandığı bitki türleri

CLnA	Kimyasal Yapı	Kaynak
Pünisik asit		Punica granatum (nar), Trichosanthes krilowii, Trichosanthes bracteata, Trichosanthes nervifolia
$\alpha$ -eleostearik asit ( $\alpha$ -ESA)		Momordica charantia, Prunus mahaleb (mahlep)
$\beta$ -eleostearik asit ( $\beta$ -ESA)		
Katalpik asit		Catalpa ovata, Catalpa bignonioides
Kalendik asit		Calendula officinalis
Jakarik asit		Jacaranda mimosifolia

## 2.9. Nar Çekirdeği Yağı ve Pünisik Asit

Nar meyvesinin endüstriyel olarak işlendikten sonra ortaya çıkan posasının büyük bir kısmını nar çekirdeği ve kabuğu oluşturmaktadır. Nar çekirdeği kütlelerinin ortalama %20'sini nar çekirdeği yağı oluşturmaktadır. Nar çekirdeğinin yağı, soğuk pres veya süperkritik karbondioksit (SC-CO<sub>2</sub>) ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilebilir. Nar

çekirdeğinin içerdiği başlıca kimyasal bileşimler monoaçilgliseroller, gliseridler ve sterollerin yanı sıra proteinler, pektin ve şekerdir (107).

Nar çekirdeği yağının yağ asitleri kompozisyonunun incelendiği bazı araştırmalar bulunmaktadır. Kırılan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinde üretilen nar meyvesi türlerinden elde edilen çekirdek yağı içerisindeki doymamış yağ asitlerinin analizi yapılmış ve önemli bir kısmının (%70.42–76.17) pünisik asit tarafından oluşturulduğu gösterilmiştir. İçerdiği yağ asidi miktarlarının, narın çeşidi, yetiştirildiği bölgenin koşulları, olgunlaşma dönemi ve saklama koşulları gibi birçok faktör tarafından değişiklik gösterebildiği de yine aynı çalışmada bildirilmiştir (108).

Bir CLnA izomeri olan pünisik asit (9c,11t,13c-CLnA), aynı zamanda omega-5 yağ asidi olarak da bilinir. Pünisik asit ilk defa *Trichosanthes krilowii*, *Trichosanthes bracteata* ve *Trichosanthes nervifolia* adlı endemik bitki türlerinden elde edilmiş olsa da en yüksek miktarda nar çekirdeği yağı içerisinde bulunur. Koba ve arkadaşlarının çalışmasında bol miktarda pünisik asit içeren nar çekirdeği yağının, CLnA izomerlerinin fizyolojik etkilerinin incelenmesi ve daha iyi anlaşılabilmesi için uygun bir kaynak olduğu bildirilmiştir (109).

Literatürde nar çekirdeği yağı ve pünisik asidin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin gösterildiği birçok çalışma mevcuttur (110-113). Antiinflamatuvar etkileri sebebi ile diyabet durumunda insülin direncini azalttığı bilinmektedir (110,114,115). Ayrıca deri, prostat, kolon ve meme kanserleri üzerine antikarsinogenik etkileri olduğu da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (116-121).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) ağırlıkları 350-400 gr arasında değişen toplam 40 adet erkek Spraque-Dawley sıçan üzerinde, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 11.03.2015 tarih ve 15/57 karar numaralı izni ile gerçekleştirilmiştir. Sıçanların her biri, 40×60 cm boyutlarında standart plastik kafeslere ayrı ayrı konularak birbirlerine zarar vermeleri önlenmiştir. Sıçanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış, %40-60 rölatif nem oranına ve 20-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda barındırıldı ve %18-20 protein içeren pellet sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum beslendi.

#### 3.1. Deney Planı

Sıçanlar randomizasyon listesine göre seçilerek her bir grup on hayvandan oluşacak şekilde dört gruba ayrıldı. Sıçanların her birine daha sonra ayrıntıları verilecek olan insizyonel ve eksizyonel yara modeli oluşturuldu. Tedavi gruplarında daha önceki analiz sonuçlarında %81,9 pünisik asit içerdiği bilinen SC-CO2 ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen nar çekirdeği yağı kullanılmıştır (Tabia Pure Nature nar çekirdeği yağı, Doğal Destek Ürünleri Araştırma Sanayi ve Ticaret A. Ş., Aydın, Türkiye).

Grup I (Kontrol Grubu-KG): İnsizyonel ve eksizyonel yara modeli oluşturulan bu gruptaki deney hayvanlarına, sakrifiye edilecekleri 21. güne kadar biyopsi işlemleri haricinde başka bir işlem yapılmadı.

Grup II (Diyabetik Kontrol Grubu-DKG): Streptozotosin uygulamasından bir hafta sonra diyabetik oldukları teyit edilen sıçanlara insizyonel ve eksizyonel yara modeli oluşturuldu. Bu cerrahi işlem sonrası sakrifiye edilecekleri 21. güne kadar biyopsi işlemleri haricinde başka bir işlem yapılmadı.

Grup III (Oral Tedavi Grubu-OTG): Streptozotosin uygulamasından bir hafta sonra diyabetik oldukları teyit edilen sıçanlara insizyonel ve eksizyonel yara modeli oluşturuldu. Sıçanlara cerrahi işlemin yapıldığı gün dahil, sakrifiye edilecekleri 21. güne kadar günlük 0,8 ml/kg dozda orogastrik gavaj yardımıyla nar çekirdeği yağı uygulandı.

Grup IV (Lokal Tedavi Grubu-LTG): Streptozotosin uygulamasından bir hafta sonra diyabetik oldukları teyit edilen sıçanlara insizyonel ve eksizyonel yara modeli oluşturuldu. Sıçanlara cerrahi işlemin yapıldığı gün dahil, sakrifiye edilecekleri 21. güne kadar her gün, oluşturulan insizyonel ve eksizyonel yaraların üzerine ince bir tabaka halinde nar çekirdeği yağı uygulandı.

### **3.2. Deneysel Diyabetin Oluşturulması**

Toz STZ flakonu (sc-200719, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, A.B.D.), deneysel diyabetin oluşturulacağı zamana kadar -20 °C'de ışıktan korunarak muhafaza edildi. Diyabet oluşturulmak istenilen deney hayvanları (DKG, OTG, LTG) işlemden 12 saat önce aç bırakıldı. 147 mg tri-sodyum sitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ), 49,5 ml %0.9'luk izotonik NaCl çözeltisine eklendikten sonra ortalama 0,5 ml sitrik asit eklenerek 10 mmol/l'lik, pH'sı 4,5 olan tampon çözelti hazırlandı. Streptozotosin, hazırlanmış olan sodyum sitrat tampon çözeltisi içerisinde çözdürüldükten sonra zaman kaybetmeden Tesch ve Allen'in tarif ettiği şekilde 55 mg/kg dozdan intraperitoneal olarak tek doz uygulandı (122). Uygulama sonrası akut hipogliseminin sebep olabileceği mortalitenin engellenmesi için ilk 48 saat %5'lik dekstroz çözeltisi deney hayvanlarına ad libitum olarak verildi.

Uygulamadan 1 hafta sonra diyabet oluşturulmak istenilen deney hayvanlarının kuyruk kanından glukometre kullanılarak (FreeStyle Optium Neo H, Abbott Diabetes Care, CA, A.B.D.) ölçülen kan glukoz değerlerinin 200 mg/dl üzerinde olduğu gözlenen deney hayvanları diyabetik olarak kabul edildi. Diyabetize edilmiş deney hayvanlarının kan glukoz değerleri sakrifiye edildikleri güne kadar haftalık olarak kaydedildi.

Gruplar arasındaki standardizasyonun sağlanabilmesi için, diyabet oluşturulmamış olan kontrol grubundaki ratlara yara modelinin oluşturulmasından bir hafta önce 10 mmol/l'lik sodyum sitrat çözeltisi intraperitoneal olarak uygulandı ve ardından deney hayvanlarına 48 saat boyunca %5'lik dekstroz çözeltisi ad libitum olarak verildi.

### **3.3. Yara Modelinin Oluşturulması**

Sıçanlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer Türkiye, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer Türk, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile genel anestezi uygulandı. Tüm ratlar pron pozisyonda tesbit edildikten sonra sırt bölgesindeki kıllar elektrikli tıraş makinesi ile temizlendi. Cerrahi alan %10'luk povidon iyodin solüsyonu ile antisepsi kurallarına uygun şekilde temizlendi. Operasyon aynı cerrah tarafından steril koşullarda gerçekleştirildi. Altıparmak ve Eskitaşçıoğlu'nun çalışmasında kullanılan deney modeline benzer bir model kullanılarak sıçan sırtında eksizyonel ve insizyonel yaraların oluşturulması planlandı (123). Sıçan sırtının sefalik bölgesine aralarındaki mesafe 2 cm olacak şekilde birbirine paralel, 5'er cm uzunluğunda iki adet vertikal tam kat deri insizyonu yapıldı ve 4/0 keskin uçlu ipek sütür ile basit aralıklı biçimde sütüre edildi. Kaudale ise kenar uzunlukları 3'er cm olan kare şeklinde tam kat deri defekti oluşturuldu (Şekil 7).

### **3.4. Sakrifikasyon Yöntemi**

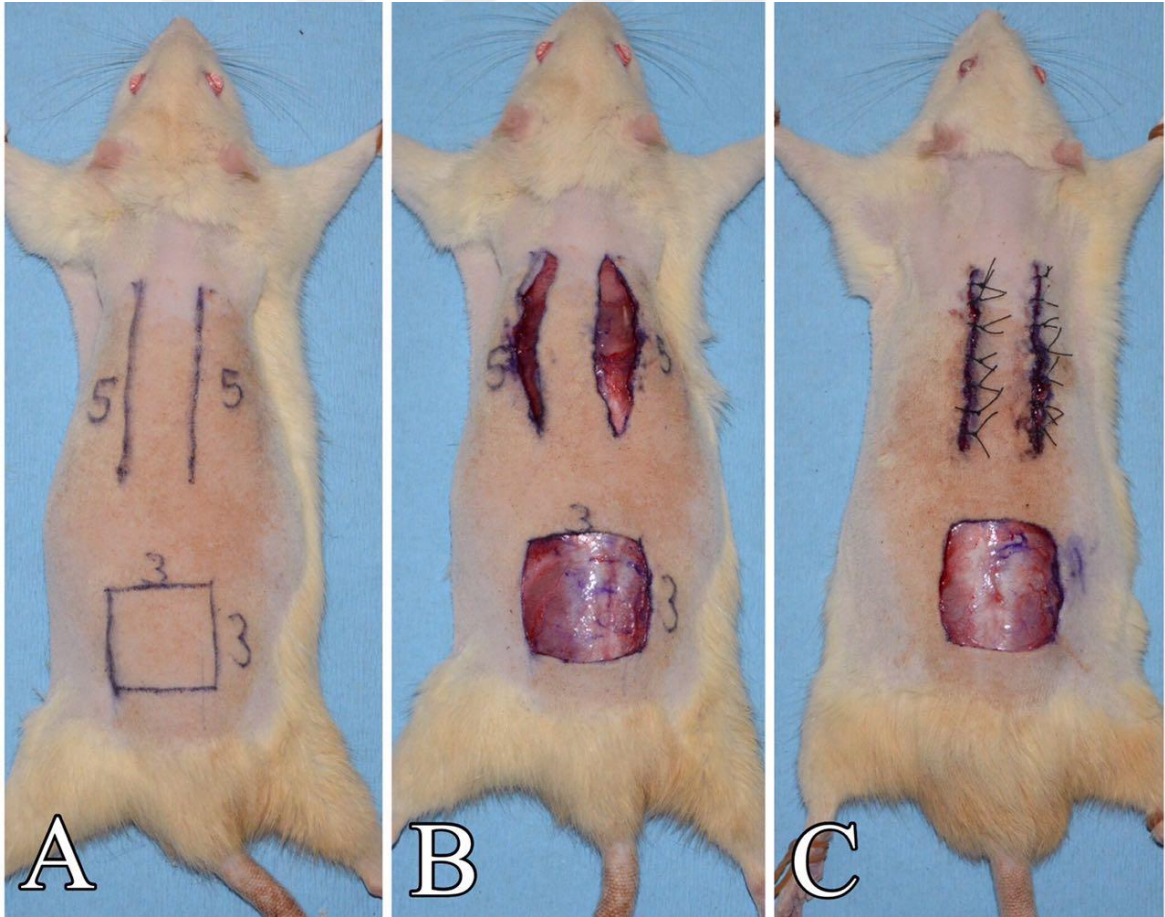
Cerrahi işlem sonrası 21. gününde doku biyopsileri alındıktan sonra sıçanlara intraperitoneal olarak yüksek doz barbitürat (100 mg/kg pentobarbital) enjeksiyonu yapılarak sakrifikasyon gerçekleştirildi.

### **3.5. İncelenecek Parametreler**

#### **3.5.1. Biyokimyasal İnceleme**

Nar çekirdeği yağının oral ve lokal uygulamalarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin araştırılması amacıyla biyokimyasal incelemeler yapıldı. Tüm gruplarda çalışmanın 3, 7 ve 21. günlerinde sıçan sırtı sefalik bölgesinde oluşturulmuş olan insizyon hattından, insizyonu ortalayacak şekilde 10×10 mm boyutunda doku örnekleri alındı ve örneklerin ağırlıkları hesaplandı. Sıçan TNF- $\alpha$  ELISA kiti (katalog no: 201-11-0765, Sunred Biological Technology Co., Şangay, Çin), sıçan malondialdehit (MDA) ELISA

kiti (katalog no: 201-11-0157, Sunred Biological Technology Co., Şangay, Çin), sıçan IL-1 beta platinum ELISA kiti (katalog no: BMS630, eBioscience Inc., San Diego, CA, A.B.D.), sıçan IL-6 ELISA kiti (katalog no: BMS625, eBioscience Inc., San Diego, CA, A.B.D.), sıçan hidrokspirolin ELISA kiti (katalog no: YHB0566Ra, YH Biosearch Laboratory, Şangay, Çin), sıçan COX-2 ELISA kiti (katalog no: E20160415023, Rel Assay Diagnostic, Mega Tıp San.Tic.Ltd.Şti., Gaziantep, Türkiye) , sıçan 5-lipooksijenaz (5-LOX) ELISA kiti (katalog no: E20160415024, Rel Assay Diagnostic, Mega Tıp San.Tic.Ltd.Şti., Gaziantep, Türkiye) ve sıçan NF- $\kappa$ B ELISA kiti (katalog no:E20160415022, Rel Assay Diagnostic, Mega Tıp San.Tic.Ltd.Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanıldı. Her bir kitte belirtilen protokole göre çalışıldı. 450 nm değerinde absorban değerleri ölçüldü ve bir bilgisayar yazılımı (ELISA calc, Comple-Software, Iowa City, IA, A.B.D.) kullanılarak hesaplamaları yapıldı.



**Şekil 7.** Deneysel modelin oluşturulması. **A.** Sıçan dorsal derisine oluşturulacak insizyonel ve eksizyonel yara modelinin çizilmesi. **B.** İşaretli bölgelerden eksizyon ve insizyonların yapılması. **C.** İnsizyonların sütüre edilmesi.

### 3.5.2. Histopatolojik inceleme

Tüm gruplarda çalışmanın 1, 3 ve 7. günlerinde sıçan sırtında sefalik bölgede oluşturulmuş olan insizyon hattından, insizyonu ortalayacak şekilde ve 21. gününde kaudal bölgeye oluşturulmuş olan eksizyonel yara bölgesinden 10×10 mm boyutlarında alınan tam kat doku örnekleri %10'luk tamponlanmış nötral formalin çözeltisinde, oda sıcaklığında 72 saat tespit edildi. Tespit edilen dokulardan parafin bloklar hazırlandı ve 5 µm kalınlığında kesitler alınarak preperatlar hazırlandı. Hazırlanan preperatlar Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi ve mikroskopik fotoğrafları çekildi. Histopatolojik incelemeler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tek bir patolog tarafından doku örneklerinin hangi gruba dahil olduğu bilinmeden rastgele seçim yapılarak değerlendirildi.

Deney hayvanlarının her birinin insizyonel yaralarından alınan doku örnekleri (1, 3 ve 7. günlerde olmak üzere 3'er adet) histopatolojik olarak enflamatuvar hücre yoğunluğu, fibroblast sayısı ve kolajen yoğunluk düzeyi 'yok', 'düşük', 'orta' ve 'yüksek' olacak şekilde, epitelizasyon yoğunluğu ise 'yok', 'kısmi' ve 'tam' olacak şekilde semikantitatif olarak Tablo 5'deki skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca yine bu örnekler 20 büyütmede 5 farklı alanda ve eksizyonel yaralardan 21. günde alınan örnekler 20 büyütmede 10 farklı alanda incelenerek yeni oluşan damar sayılarının ortalamaları alındı ve anjiyogenez değerlendirildi.

**Tablo 5.** Histopatolojik değerlendirmede kullanılan parametrelerin skorlaması.

Skor	Enflamatuvar hücre yoğunluğu	Fibroblast yoğunluğu	Kolajen yoğunluğu	Epitelizasyon
0	Yok (0)	Yok (0)	Yok (0)	Yok
1	Hafif (1-5)	Hafif (1-5)	Hafif (1-5)	Kısmi
2	Orta (6-10)	Orta (6-10)	Orta (6-10)	Tam
3	Şiddetli (>10)	Şiddetli (>10)	Şiddetli (>10)	

### **3.5.3. Kopma kuvvetinin incelenmesi**

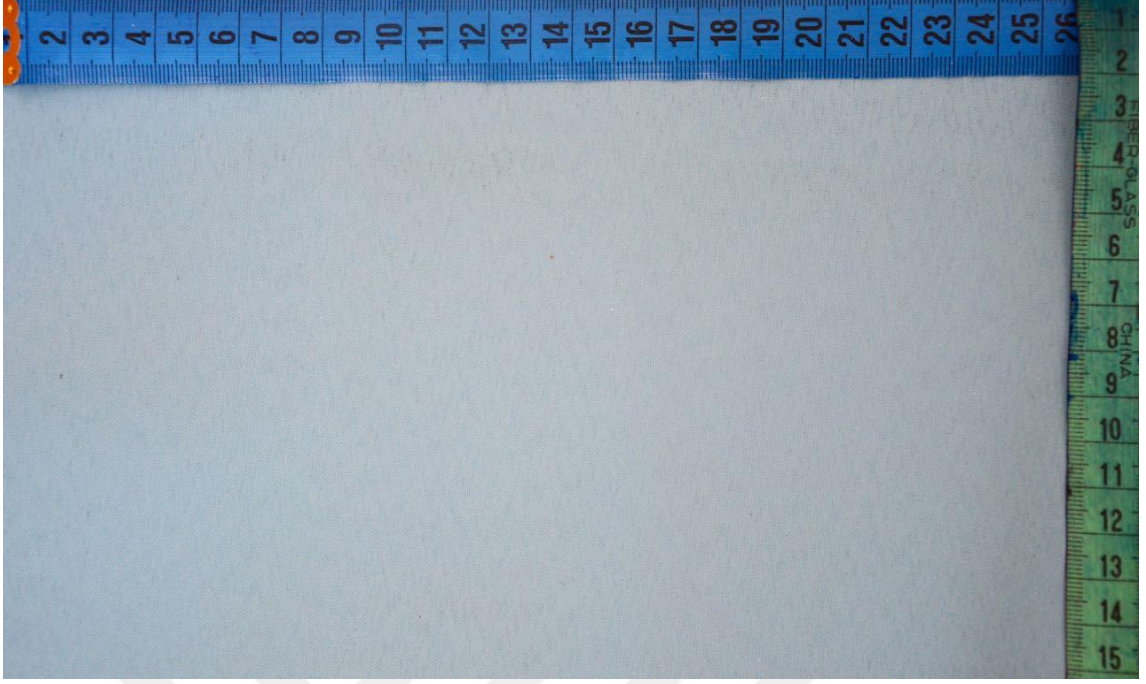
Deney hayvanlarının sırt bölgesinde oluşturulmuş olan insizyon hattından 21. günde, sakrifikasyon işleminin hemen öncesinde alınan örnekler Stadler ve arkadaşlarının tariflediği şekilde kopma kuvvetlerinin ölçülmesi amacıyla incelendi (124). Alınan örnekler tensiometri cihazında (Instron TT-CM, Instron Eng Co., MA, A.B.D.) aynı gün çalışıldı.

Uzun aksı insizyon hattına dik olarak alınan, 30×10 mm boyutlarında doku örnekleri tensiometre cihazının klemplerine yerleştirildi. Klempler arasındaki mesafe 10 mm olacak şekilde ayarlandı ve insizyon hattı ile her iki klemp arasındaki mesafenin 5'er cm uzaklıkta olacak şekilde doku örneklerinin yerleştirilmesine özen gösterildi. Böylelikle kopmanın daima insizyon hattında olması hedeflendi. Klempler ile deri şeritleri arasına zımpara kağıdı konularak doku örneklerinin kaymaları engellendi. Klemplerin birbirlerinden uzaklaşma hızları 10 mm/dk olarak ayarlanarak insizyon hattına dik ve vertikal gerilim uygulandı. Kopma anındaki gerilim kuvveti, Newton (N) cinsinden hesaplandı ve kopma kuvvetleri kayıt edildi.

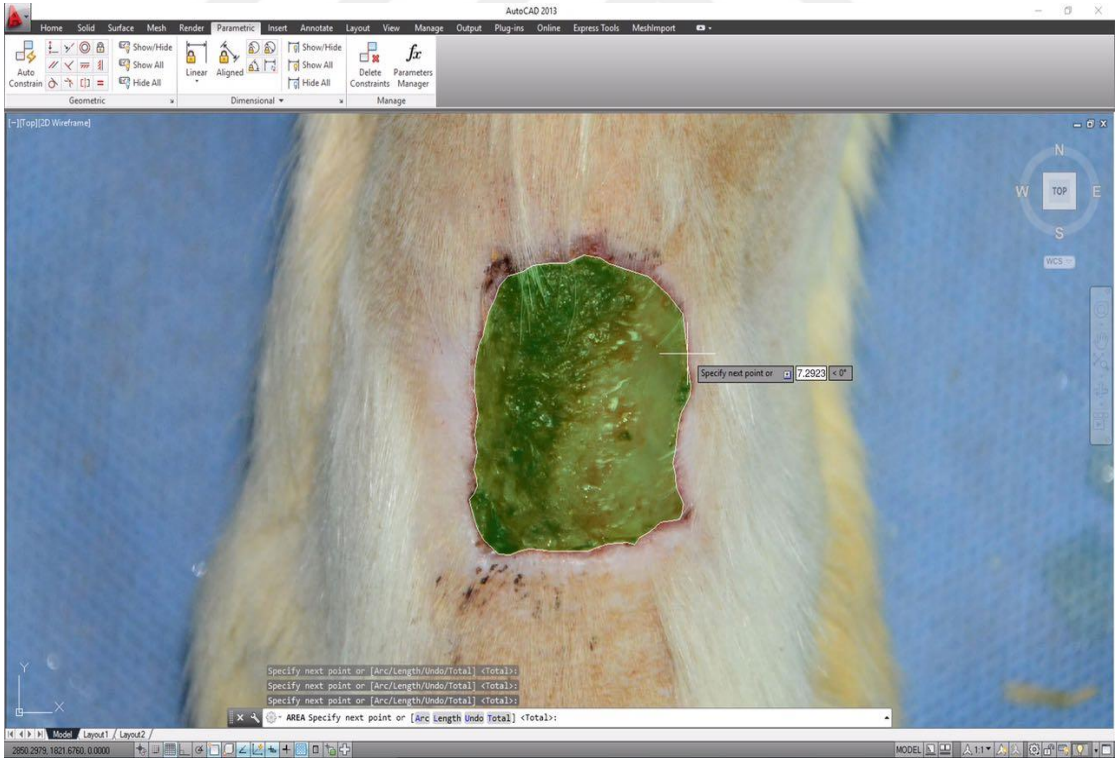
### **3.5.4. Eksizyonel yara alanında küçülme**

Tüm gruplarda 0 ve 21. günlerde, eksizyonel yaraların alanlarının değerlendirilmesi amacıyla deney hayvanlarının fotoğrafları çekildi. Fotoğraflama her bir hayvan için 50 cm yükseklikten 50 mm'lik objektif değeri kullanılarak yapıldı. Birbirine dik iki adet mezura kullanılarak çekim alanı hesaplandı (Şekil 8). Bu değerlerin referans alınması ve CAD destekli bir yazılıma (AutoCAD 2013, Autodesk Inc., San Rafael, CA, A.B.D.) tanıtılmasıyla eksizyonel yaraların alan ölçümleri yapıldı (Şekil 9).





Şekil 8. 50 cm yükseklikten, 50 mm objektif ile çekilen fotoğrafın alan hesaplaması.



Şekil 9. CAD destekli yazılım kullanılarak eksizyonel yaraların alan hesaplaması.

### 3.6. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel verilerin analizinde IBM SPSS Statistics 24.0 paket programı (IBM Corp., Armonk, NY, A.B.D.) kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren parametreler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi, anlamlı olanlar post-hoc Tukey testi ile karşılaştırıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler ise Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Parametrik testler ile değerlendirilen bulgular ortalama  $\pm$  standart sapma (SS), nonparametrik testler ile değerlendirilen bulgular ortanca, minimum ve maksimum değerleri yazılarak tablolandırıldı. Aynı grup içerisinde tekrarlayan iki ölçümün karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametreler için bağımlı örneklem t testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için Wilcoxon t testi kullanıldı. Farklı parametreler arasındaki tutarlılığın değerlendirilmesi amacıyla normal dağılım gösteren veriler için Pearson korelasyon testi, normal dağılım göstermeyen veriler için Spearman korelasyon testi kullanıldı. Analiz sonuçlarına göre p değerinin  $<0,05$  olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Genel Bulgular

Sıçanların hepsinde kontrolsüz diyabetin genel semptomları olan poliüri, polidipsi, polifaji, halsizlik gözlenmiştir. Deney hayvanlarının sakrifiye edildiği 21. güne kadar diyabetin komplikasyonlarına bağlı 3, anestezi komplikasyonlarına bağlı 1 olmak üzere toplam 5 sıçan kaybedilmiş ve 35 sıçan ile çalışma tamamlanmıştır. Deneklerin sırt bölgelerinde yapılan cerrahi işlem sonrasında yara yeri enfeksiyonu, hematoma, seroma, abse veya dikiş hattında ayrışma gibi komplikasyonlar gözlenmedi.

### 4.2. Kan Glukoz Değerleri

Çalışmamızda STZ enjeksiyonu yapılan deney hayvanlarının (DKG, OTG ve LTG) hepsinin kan glukoz düzeyi, enjeksiyondan 1 hafta sonra 200mg/dl'nin üzerine çıktı ve sakrifikasyon dönemi olan 21. güne kadar bu değer altına düşmedi (Tablo 6). Gruplar arasındaki kan glukoz seviyeleri incelendiğinde 0 ve 7. günlerde diyabetize edilmiş DKG, OTG ve LTG grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, 14. günde OTG kan glukoz seviyelerinin LTG'na göre anlamlı olarak azaldığı ( $p<0,05$ ), 21. günde ise OTG kan glukoz seviyelerinin DKG'na göre anlamlı olarak azaldığı ( $p<0,05$ ) gözlenmiştir. Ayrıca beklendiği gibi diyabetize edilmiş DKG, OTG ve LTG gruplarının kan glukoz düzeyleri tüm dönemlerde diyabetize edilmemiş KG'na göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Şekil 10'da de gözlendiği gibi OTG haftalık kan glukoz seviyeleri düşme eğilimindedir.

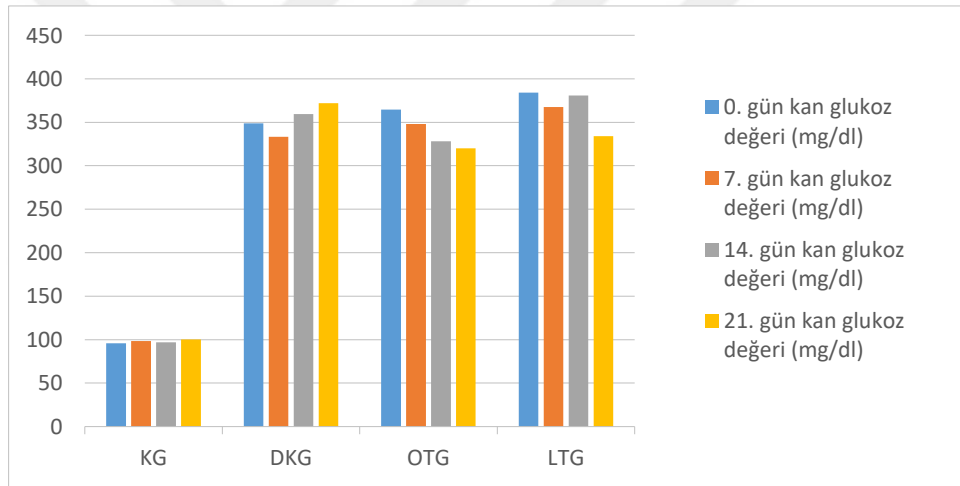
**Tablo 6.** Deney gruplarının haftalık kan glukoz değerlerinin karşılaştırılması.

GRUPLAR	0. GÜN KAN GLUKOZ DÜZEYİ (mg/dl) Ortalama ± SS	7. GÜN KAN GLUKOZ DÜZEYİ (mg/dl) Ortalama ± SS	14. GÜN KAN GLUKOZ DÜZEYİ (mg/dl) Ortalama ± SS	21. GÜN KAN GLUKOZ DÜZEYİ (mg/dl) Ortalama ± SS
KG (n=10)	95,70 ± 8,11	98,40 ± 8,93	97,00 ± 6,89	100,40 ± 8,89
DKG (n=8)	348,88 ± 43,23 <sup>a</sup>	333,38 ± 60,86 <sup>a</sup>	359,38 ± 48,29 <sup>a</sup>	371,88 ± 43,64 <sup>a</sup>
OTG (n=9)	364,56 ± 39,51 <sup>a</sup>	348,00 ± 4,11 <sup>a</sup>	328,11 ± 48,53 <sup>b</sup>	320,11 ± 44,55 <sup>c</sup>
LTG (n=8)	384,13 ± 41,24 <sup>a</sup>	367,38 ± 49,10 <sup>a</sup>	380,63 ± 42,61 <sup>a</sup>	333,88 ± 50,47 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: p<0,05 KG'na kıyasla.

<sup>b</sup>: p<0,05 LTG ve KG'na kıyasla.

<sup>c</sup>: p<0,05 DKG ve KG'na kıyasla.



**Şekil 10.** Gruplar arasında kan glukoz değerlerinin karşılaştırılması.

### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

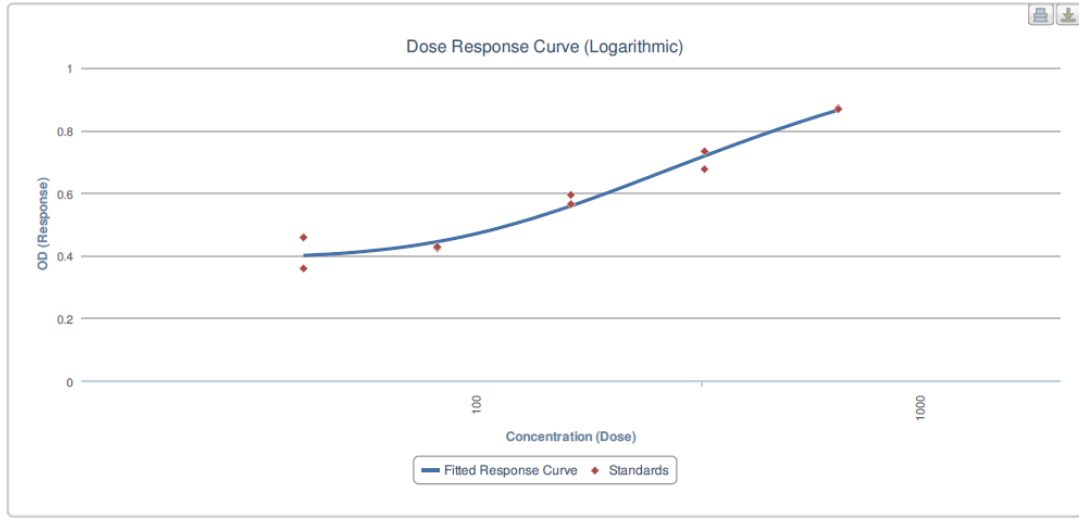
#### 4.3.1. İnsizyonel yaralarda doku TNF- $\alpha$ konsantrasyon bulguları (ng/l)

Gruplar arasında insizyonel yara TNF- $\alpha$  konsantrasyonları karşılaştırıldığında 3. ve 7. günlerde alınan örneklerde anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 7, Şekil 11). Örneklerin birçoğunun konsantrasyonlarının, TNF- $\alpha$  kitinin inceleme aralığı dışında olması sebebi ölçümleme sadece sınırlı sayıda örnek için yapılabildi.

**Tablo7.** İnsizyonel yaralarda doku TNF- $\alpha$  konsantrasyon bulguları.

Doku TNF- $\alpha$ Konsantrasyonu (ng/l)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün Ortalama $\pm$ SS	150,75 $\pm$ 14,44	94,58 $\pm$ 90,65	178,92 $\pm$ 0	144,08 $\pm$ 24,79
7. gün Ortalama $\pm$ SS	148,96 $\pm$ 137,66	97,34 $\pm$ 137,66	218,90 $\pm$ 114,03	138,03 $\pm$ 2,16

R<sup>2</sup> value: 0.9707464



**Şekil 11.** TNF- $\alpha$  standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

#### 4.3.2. İnsizyonel yaralarda doku COX-2 konsantrasyon bulguları (ng/ml)

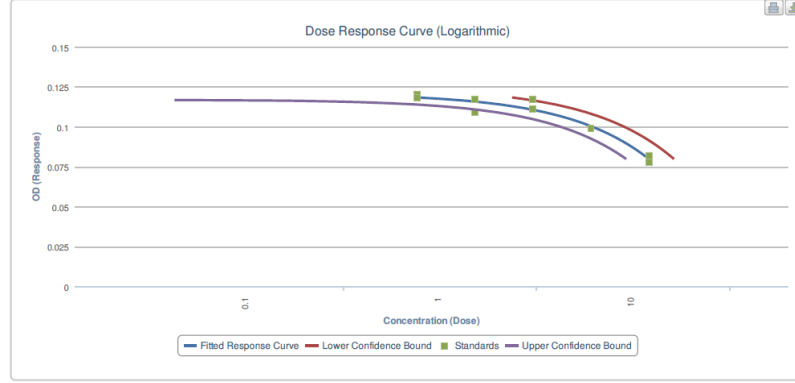
Çalışmanın 3. günde gruplar arasında COX-2 düzeyi en yüksek olan grup LTG'ydü ve DKG'na göre anlamlı olarak artmıştı ( $p < 0,05$ ). Yedinci günde COX-2 düzeyleri arasında gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 8, Şekil 12).

**Tablo 8.** İnsizyonel yaralarda doku COX-2 konsantrasyon bulguları

Doku COX-2 Konsantrasyonu (ng/ml)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün Ortanca (min-maks)	1,72 (0-3,19)	0 (0-1,44)	1,72 (0-4,94)	3,92 <sup>a</sup> (0,56-8,45)
7. gün Ortanca (min-maks)	0,56 (0-2,90)	1,14 (0-4,07)	4,06 (0-6,70)	0 (0-4,07)

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  DKG'na kıyasla.

R<sup>2</sup> value: 0.9502636



Şekil 12. COX-2 standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

### 4.3.3. İnsizyonel yaralarda doku 5-LOX konsantrasyon bulguları (ng/ml)

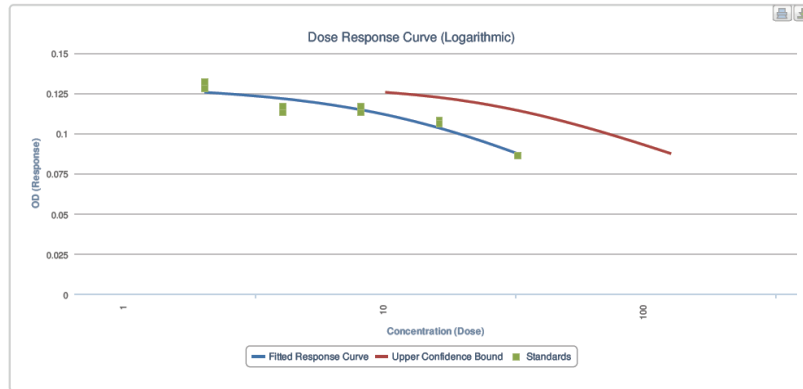
Üçüncü ve 7. günlerde 5-LOX seviyeleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 9, Şekil 13). Yedinci günde 5-LOX seviyelerinin düşme eğiliminde olduğu gözlemlendi ve bu düşüş tüm gruplarda 3. güne göre istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ).

Tablo 9. İnsizyonel yaralarda doku 5-LOX konsantrasyon bulguları

Doku 5-LOX Konsantrasyonu (ng/ml)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün Ortanca (min-maks)	5,49 (0,89-13,23)	4,93 (0-9,75)	4,93 (0,43-11,79)	6,05 (1,36-7,84)
7. gün Ortanca (min-maks)	1,13 <sup>a</sup> (0-7,24)	0,21 <sup>a</sup> (0-3,86)	0 <sup>a</sup> (0-13,23)	2,07 <sup>a</sup> (0-2,32)

<sup>a</sup>: Her bir grup için 3. gün konsantrasyonlarına kıyasla

R<sup>2</sup> value: 0.9119131



Şekil 13. 5-LOX standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

#### 4.3.4.İnsizyonel yaralarda doku IL-1 konsantrasyon bulguları (pg/ml)

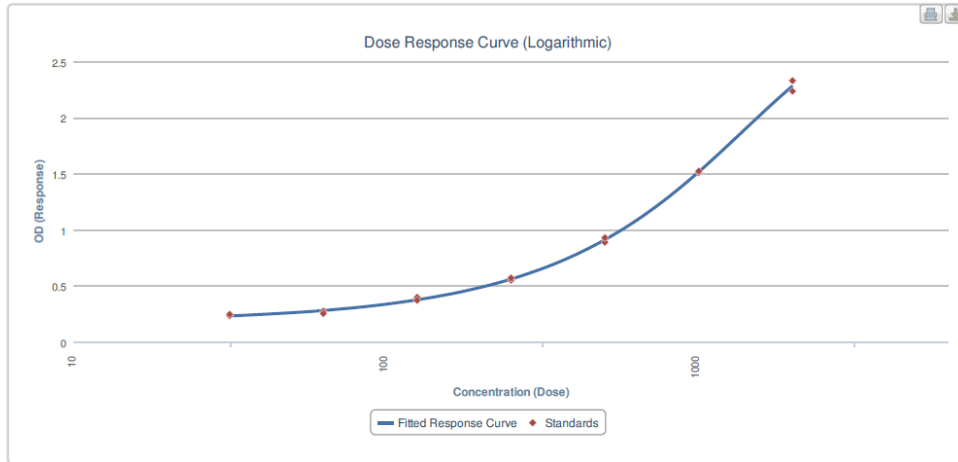
Üçüncü ve 7. günlerde LTG IL-1 konsantrasyonları diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek seviyededir ve KG ve DKG'na göre anlamlı olarak artmıştır ( $p<0,05$ ). OTG, IL-1 seviyeleri KG ve DKG'na göre anlamlı olmasa da yüksektir ( $p>0,05$ ) (Tablo 10, Şekil 14).

**Tablo 10.** İnsizyonel yaralarda doku IL-1 konsantrasyon bulguları.

Doku IL-1 Konsantrasyonu (pg/ml)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün	88,63	60,69	141,94	213,74 <sup>a</sup>
Ortanca (min-maks)	(0-187,86)	(38,25-168,89)	(0,00-208,96)	(139,26-239,80)
7. gün	71,50	51,55	105,56	134,56 <sup>a</sup>
Ortanca (min-maks)	(17,76-106,54)	(18,40-120,52)	(0-154,72)	(80,06-285,46)

<sup>a</sup>:  $p<0,05$  KG ve DKG'na kıyasla.

R<sup>2</sup> value: 0.998976



**Şekil 14.** IL-1 standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

#### 4.3.5. İnsizyonel yaralarda doku IL-6 konsantrasyon bulguları (pg/ml)

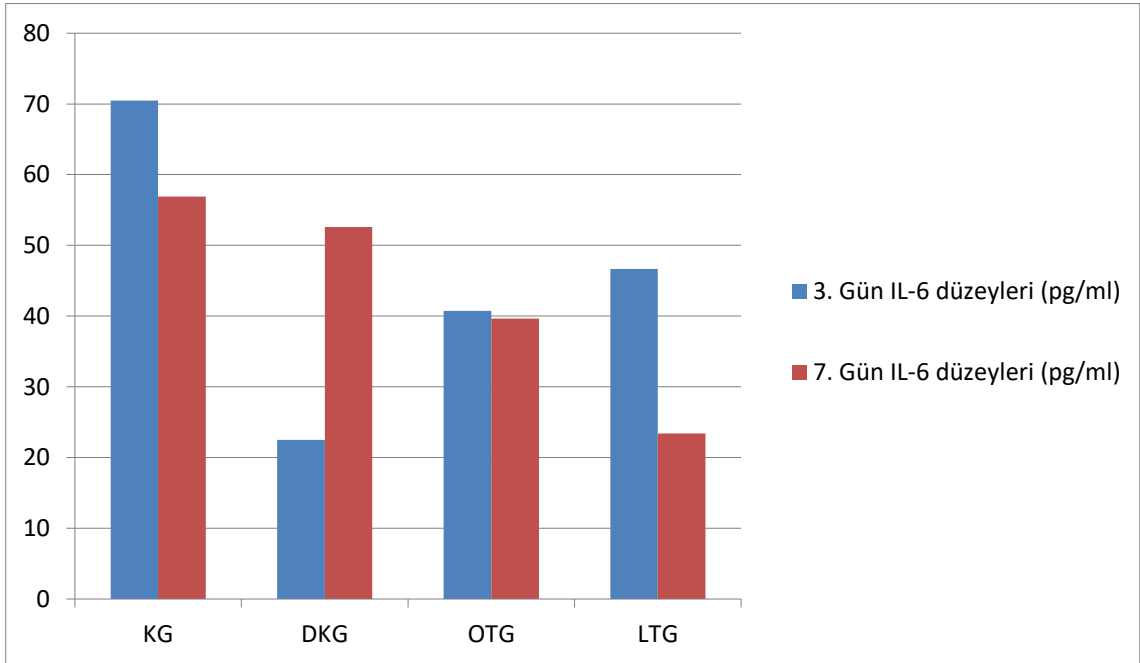
Çalışmanın 3. gününde IL-6 seviyeleri KG'da DKG'na göre anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Ancak 7. günde KG, OTG ve LTG IL-6 seviyeleri 3. gün ölçümlerine göre azalma eğiliminde olduğu halde DKG'nda artış gözlemlendi ve bu artış 3. gün ölçümlerine göre istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0,05$ ). (Tablo 11, Şekil 15 ve 16).

**Tablo 11.** İnsizyonel yaralarda doku IL-6 konsantrasyon bulguları.

Doku IL-6 Konsantrasyonu (pg/ml)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün Ortalama $\pm$ SS	70,46 $\pm$ 48,41 <sup>a</sup>	22,48 $\pm$ 11,55	40,75 $\pm$ 18,84	46,69 $\pm$ 23,39
7. gün Ortalama $\pm$ SS	56,90 $\pm$ 22,83	52,59 $\pm$ 31,34 <sup>b</sup>	39,63 $\pm$ 28,84	28,39 $\pm$ 11,54

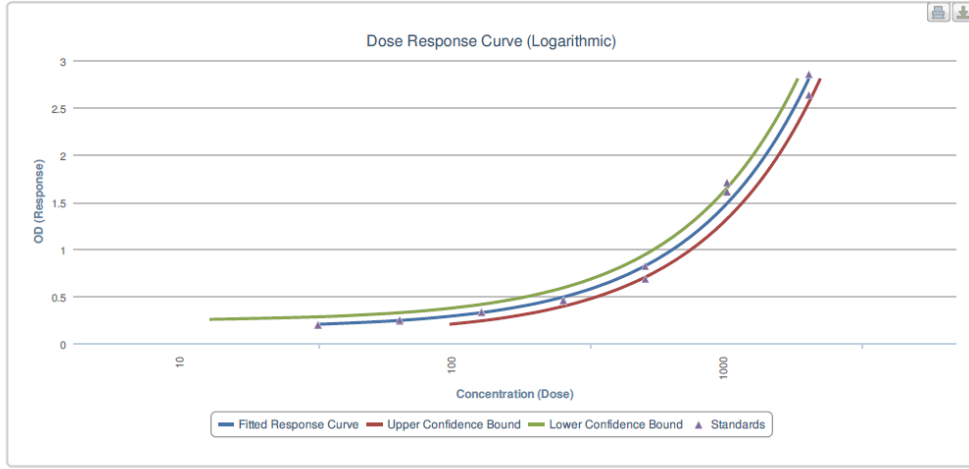
<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  DKG'na kıyasla.

<sup>b</sup>:  $p < 0,05$  DKG 3. gün bulgularına kıyasla



**Şekil 15.** Deney grupları IL-6 düzeylerinin 3 ve 7. gün karşılaştırılmaları.

R<sup>2</sup> value: 0.9890576



Şekil 16. IL-6 standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

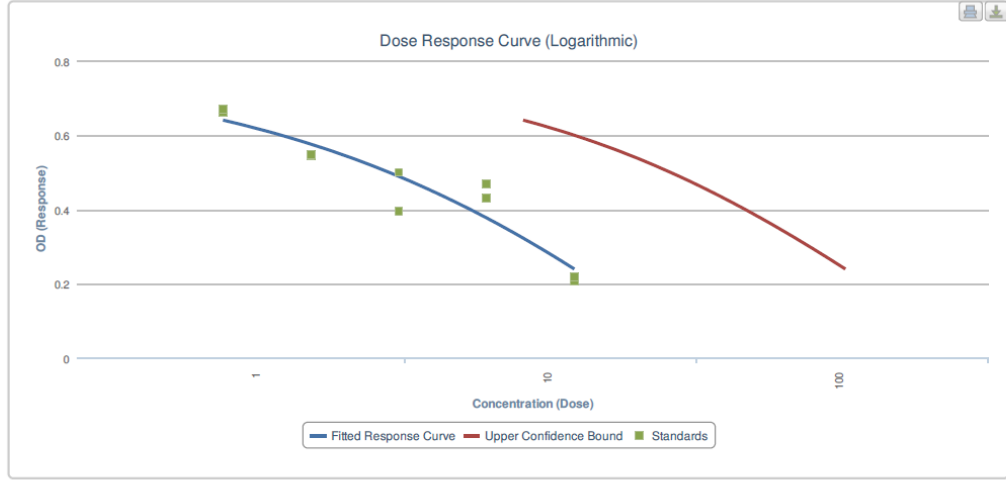
#### 4.3.6. İnsizyonel yaralarda doku NF-κβ konsantrasyon bulguları (ng/ml)

Üçüncü günde NF-κβ düzeylerinin DKG'da diğer tüm gruplara göre artmış olduğu gözlemlendi. Ancak, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Yedinci günde NF-κβ düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 12, Şekil 17).

Tablo 12. İnsizyonel yaralarda doku NF-κβ konsantrasyon bulguları.

Doku NF-κβ Konsantrasyonu (ng/ml)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün	2,03	5,19	3,07	3,59
Ortanca (min-maks)	(1,30-3,98)	(1,06-7,00)	(0,70-7,77)	(2,74-8,87)
7. gün	2,09	2,70	3,37	3,35
Ortanca (min-maks)	(1,24-4,13)	(1,02-3,18)	(0-7,15)	(1,30-6,15)

R<sup>2</sup> value: 0.8920253



Şekil 17. NF-κβ standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

#### 4.3.7. İnsizyonel yaralarda doku MDA konsantrasyon bulguları (nmol/ml)

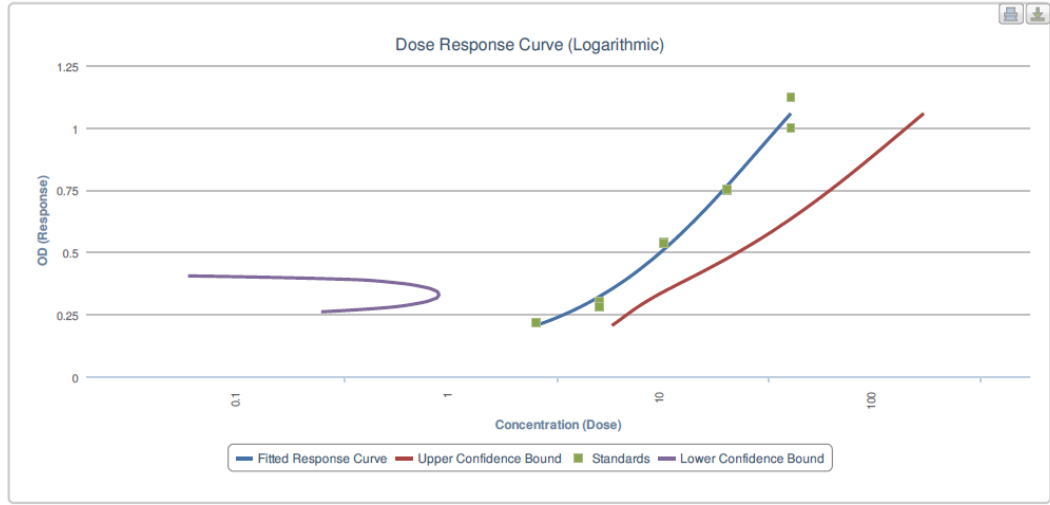
Gruplar arasında insizyonel yara MDA konsantrasyonları karşılaştırıldığında 3. ve 7. günlerde alınan örneklerde anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Üçüncü günde alınan örneklerde LTG grubuna ait MDA konsantrasyonunun diğer gruplara oranla anlamlı olmasa da azalmış olduğu gözlemlendi ( $p>0,05$ ) (Tablo 13, Şekil 18).

Tablo 13. İnsizyonel yaralarda doku MDA konsantrasyon bulguları.

Doku MDA Konsantrasyonu (nmol/ml)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün Ortalama ± SS	2,66 ± 2,93	4,34 ± 3,55	4,39 ± 3,62	3,81 ± 3,19
7. gün Ortalama ± SS	5,30 ± 4,44	5,62 ± 4,76	5,81 ± 4,04	5,58 ± 3,52



R<sup>2</sup> value: 0.9874076



Şekil 18. MDA standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

#### 4.3.8. İnsizyonel yaralarda doku hidroksiprolin konsantrasyon bulguları (ng/L).

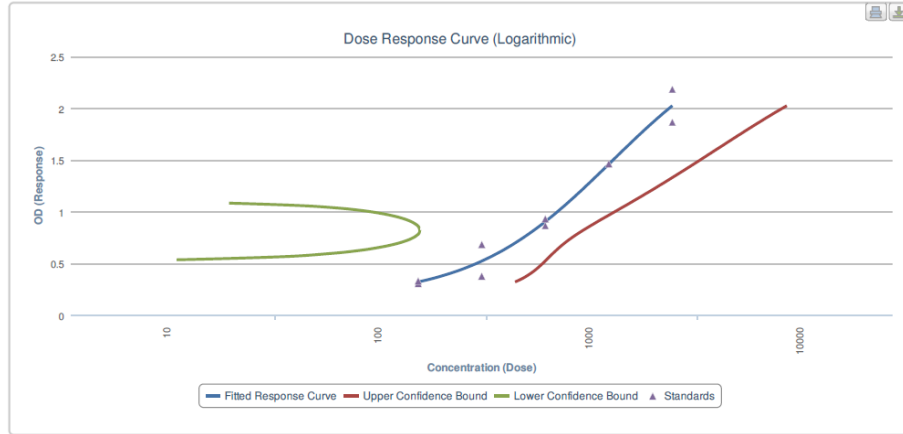
İnsizyonel yaralarda 21. gün hidroksiprolin değerleri karşılaştırıldığında DKG değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p > 0,05$ ) (Tablo 14, Şekil 19).

Tablo 14. İnsizyonel yaralarda doku hidroksiprolin konsantrasyon bulguları.

Doku Hidroksiprolin Konsantrasyonu (ng/L)	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
21. gün Ortalama $\pm$ SS	600,74 $\pm$ 86,68	416,88 $\pm$ 213,77 <sup>a</sup>	589,90 $\pm$ 70,12	610,92 $\pm$ 77,94

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  diğer tüm deney gruplarına kıyasla.

R<sup>2</sup> value: 0.9749489



Şekil 19. Hidroksiprolin standart grafiği ve R<sup>2</sup> değerleri.

#### 4.4. Histopatolojik Bulgular

##### 4.4.1. Enflamatuvar hücre yoğunluğu bulguları

Enflamatuvar hücre yoğunluk düzeyleri Tablo 5'deki skorlama sistemine göre yapıldı. Çalışmamızda insizyonel yaralardan 1, 3 ve 7. günlerde alınan biyopsiler histopatolojik olarak incelendiğinde gruplar arasında enflamatuvar hücre yoğunluğu açısından anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Enflamatuvar hücre yoğunluğunun en yüksek gözleendiği dönem 3. gün olurken, 7. günde bu yoğunluk en düşük seviyelerdeydi (Tablo 15, 16, 17).

**Tablo 15.** İnsizyonel yaralarda 1. gün enflamatuvar hücre yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	ENFLAMATUVAR HÜCRE YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
1. gün	Yok (0)	2 (%22,2)	2 (%22,2)	0	5 (%55,6)
	Düşük (1)	4 (%21,1)	6 (%31,6)	7 (%36,8)	2 (%10,5)
	Orta (2)	4 (%66,7)	0	2 (%33,3)	0
	Yüksek (3)	0	0	0	1 (%100)
	Ortanca (Min.-Maks.)	1 (0-2)	1 (0-1)	1 (1-2)	0 (0-3)

**Tablo 16.** İnsizyonel yaralarda 3. gün enflamatuvar hücre yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	ENFLAMATUVAR HÜCRE YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün	Yok (0)	0	0	0	1 (%100,0)
	Düşük (1)	6 (%31,6)	4 (%21,1)	3 (%15,8)	6 (%31,6)
	Orta (2)	4 (%26,7)	4 (%26,7)	6 (%40,0)	1 (%6,7)
	Ortanca (Min-Maks)	1,5 (1-2)	1,5 (1-2)	2 (1-2)	1 (0-2)

**Tablo 17.** İnsizyonel yaralarda 7. gün enflamatuvar hücre yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	ENFLAMATUVAR HÜCRE YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
7. gün	Yok (0)	1 (%100,0)	0	0	0
	Düşük (1)	8 (%24,2)	8 (%24,2)	9 (%27,3)	8 (%24,2)
	Orta (2)	1 (%100,0)	0	0	0
	Ortanca (Min-Maks)	1 (0-2)	1 (1)	1 (1)	1 (1)

#### 4.4.2. Fibroblast yoğunluğu bulguları

Dokulardaki fibroblast yoğunluğu Tablo 5’deki skorlama sistemine göre değerlendirildi. Çalışmanın 1. gününde alınan örneklerin histopatolojik değerlendirilmesinde fibroblast hücrelerine rastlanmadığından karşılaştırılma yapılamadı. Üçüncü günde alınan örneklerde OTG ve LTG’da fibroblast hücreleri gözlenmeye başlandı. Ancak, gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ) (Tablo 18). Yedinci günde alınan örneklerde LTG fibroblast yoğunluğunun KG’na ve DKG’na göre anlamlı olarak arttığı ( $p<0,05$ ), OTG’na göre anlamlı olmasa da artmış olduğu gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Ayrıca 7. günde OTG

fibroblast yoğunluğunun KG ve DKG'na göre anlamlı olmasa da artmış olduğu çalışmamızda gözlemlendi ( $p>0,05$ ) (Tablo 19).

**Tablo 18.** İnsizyonel yaralarda 3. gün fibroblast yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	FİBROBLAST YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün	Yok (0)	10 (%30,3)	8 (%24,2)	8 (%24,2)	7 (%21,2)
	Düşük (1)	0	0	1 (%50,0)	1 (%50,0)
	Ortanca (Min-Maks)	0 (0)	0 (0)	0 (0-1)	0 (0-1)

**Tablo 19.** İnsizyonel yaralarda 7. gün fibroblast yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	FİBROBLAST YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
7. gün	Yok (0)	9 (%47,4)	6 (%31,6)	3 (%15,8)	1 (%5,3)
	Düşük (1)	1 (%7,7)	2 (%15,4)	6 (%46,2)	4 (%30,8)
	Orta (2)	0	0	0	3 (%100)
	Ortanca (Min-Maks)	0 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-1)	1 (0-2) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $p<0,05$  KG ve DKG'na kıyasla.

#### 4.4.3.Epitelizasyon bulguları

Dokulardaki epitelizasyon değerleri Tablo 5'deki skorlama sistemine göre değerlendirildi. Çalışmanın 1. gününde alınan örneklerin histopatolojik değerlendirilmesinde epitelizasyona rastlanmadığından karşılaştırma yapılamadı. Üçüncü günde alınan örneklerde LTG'da kısmi epitelizasyon gözlenmeye başlandı. Ancak, gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ) (Tablo 20). Yedinci günde alınan örneklerde LTG'nun %66,7'sinde tam epitelizasyon gözlemlendi ve epitelizasyon değerlerinin KG'na ve DKG'na göre anlamlı olarak arttığı ( $p<0,05$ ), OTG'na göre

anlamli olmasa da artmiş olduğu gözlendi ( $p>0,05$ ). Ayrıca 7. günde OTG epitelizasyon değerlerinin KG ve DKG'na göre anlamli olmasa da artmiş olduğu çalışmamızda gözlendi ( $p>0,05$ ) (Tablo 21).

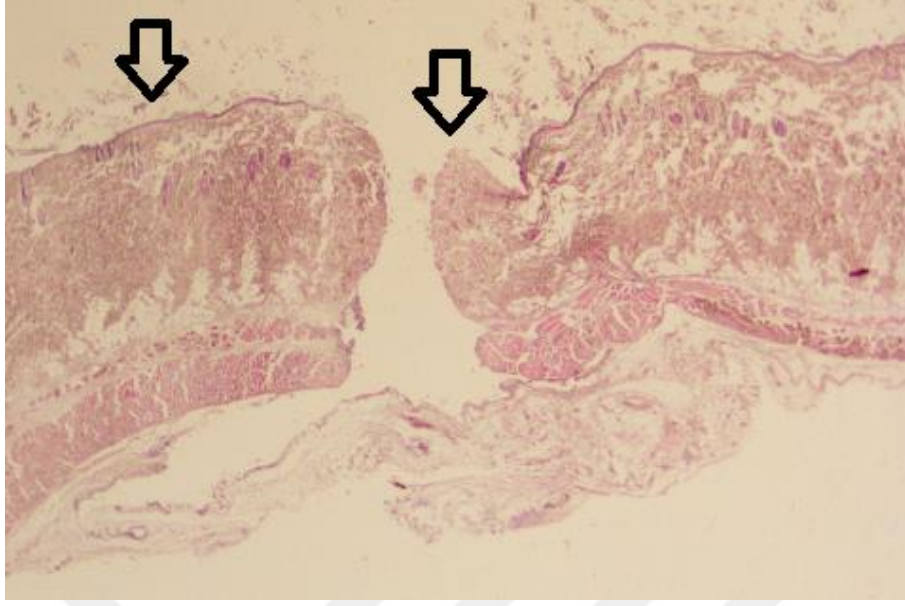
**Tablo 20.** İnsizyonel yaralarda 3. gün epitelizasyon yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	EPİTELİZASYON (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün	Yok (0)	10 (%47,4)	8 (%31,6)	9 (%15,8)	6 (%5,3)
	Kısmi (1)	0 (%7,7)	0 (%15,4)	0 (%46,2)	2 (%30,8)
	Ortanca (Min-Maks)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0-1)

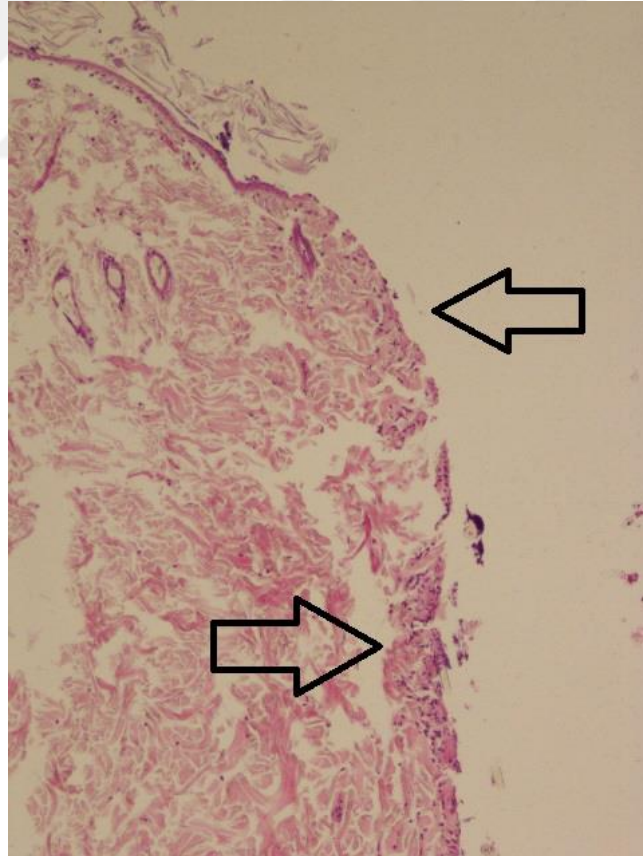
**Tablo 21.** İnsizyonel yaralarda 7. gün epitelizasyon yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	EPİTELİZASYON (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
7. gün	Yok (0)	3 (%37,5)	5 (%62,5)	0	0
	Kısmi (1)	6 (%33,3)	3 (%16,7)	7 (%38,9)	2 (%11,1)
	Tam (2)	1 (%11,1)	0	2 (%22,2)	6 (%66,7)
	Ortanca Skor (Min-Maks)	1 (0-2)	0 (0-1)	1 (1-2)	2 (1-2) <sup>a</sup>

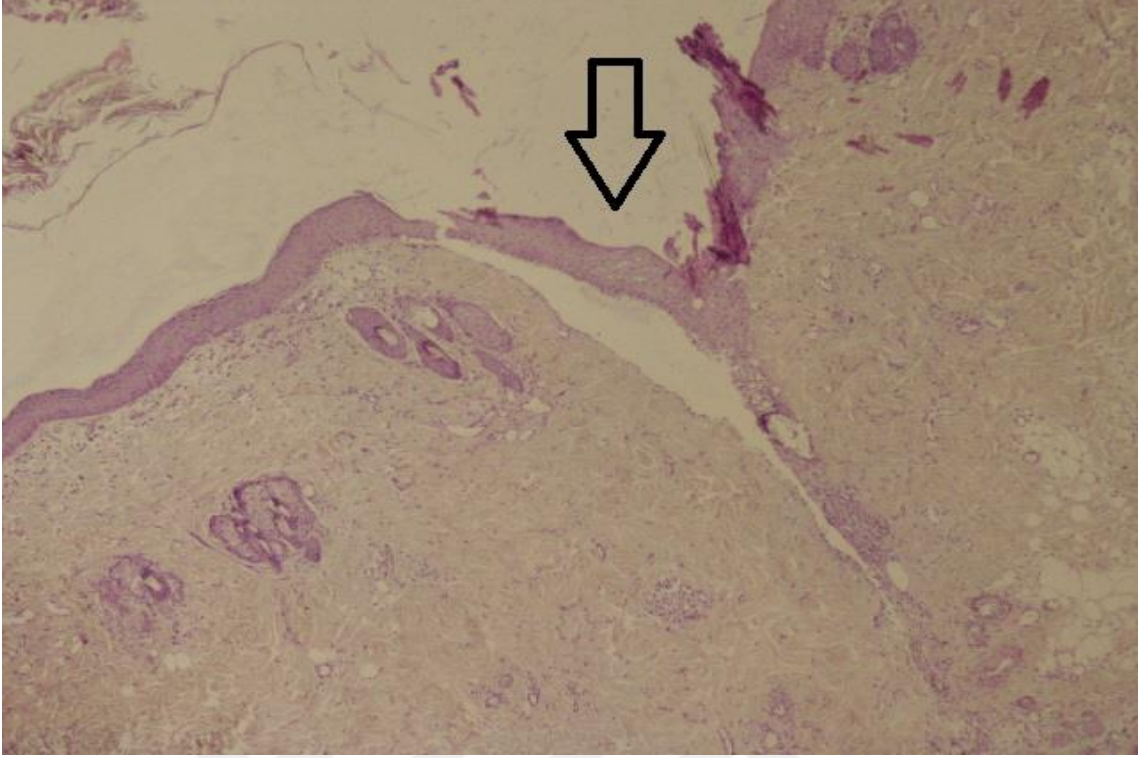
<sup>a</sup>:  $p<0,05$  KG ve DKG'na kıyasla.



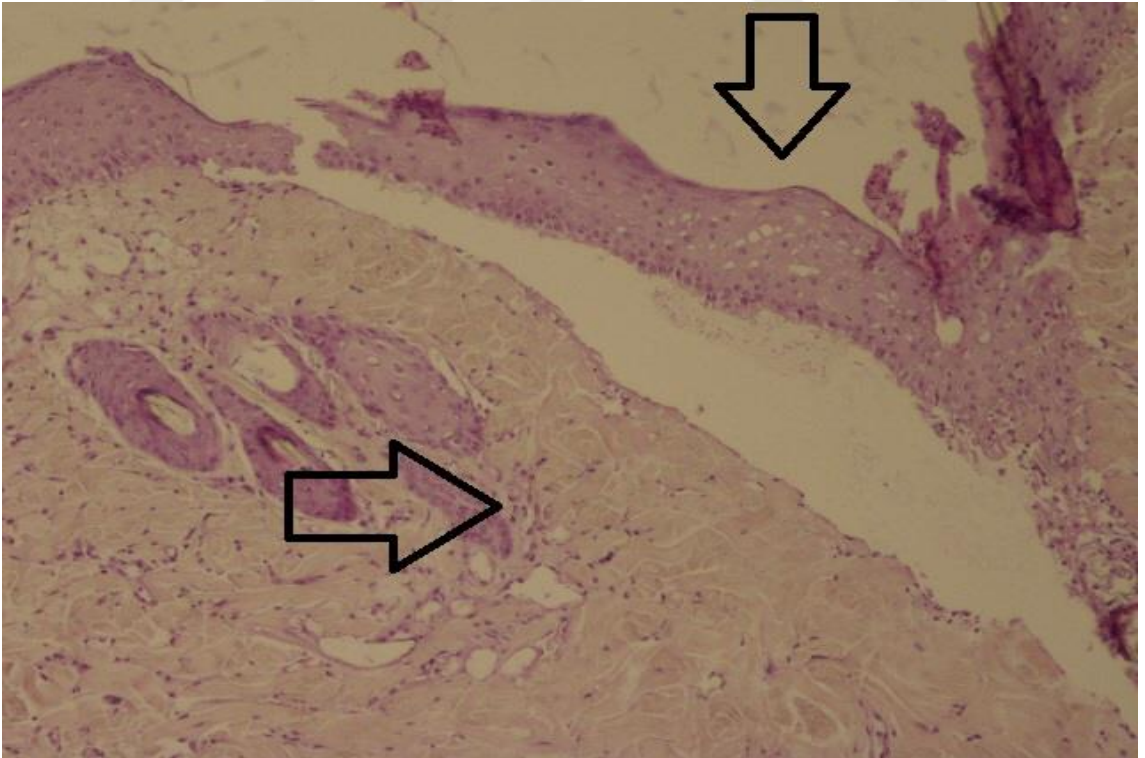
**Şekil 20.** 1. günde KG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara mikrofotografik görüntüsü (H&E, ×10). Soldaki ok ile insizyon hattının uzağındaki etkilenmemiş normal epitel dokusu gösterilirken, sağdaki ok ile insizyon hattında epitelizasyonun gözlenmediği alan gösterilmiştir.



**Şekil 21.** Birinci günde KG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara mikrofotografik görüntüsü (H&E, ×100). Üstteki ok ile insizyon hattında epitelizasyonun henüz gözlenmediği gösterilirken, alttaki ok ile enflamatuvar hücre infiltrasyonu gösterilmiştir.

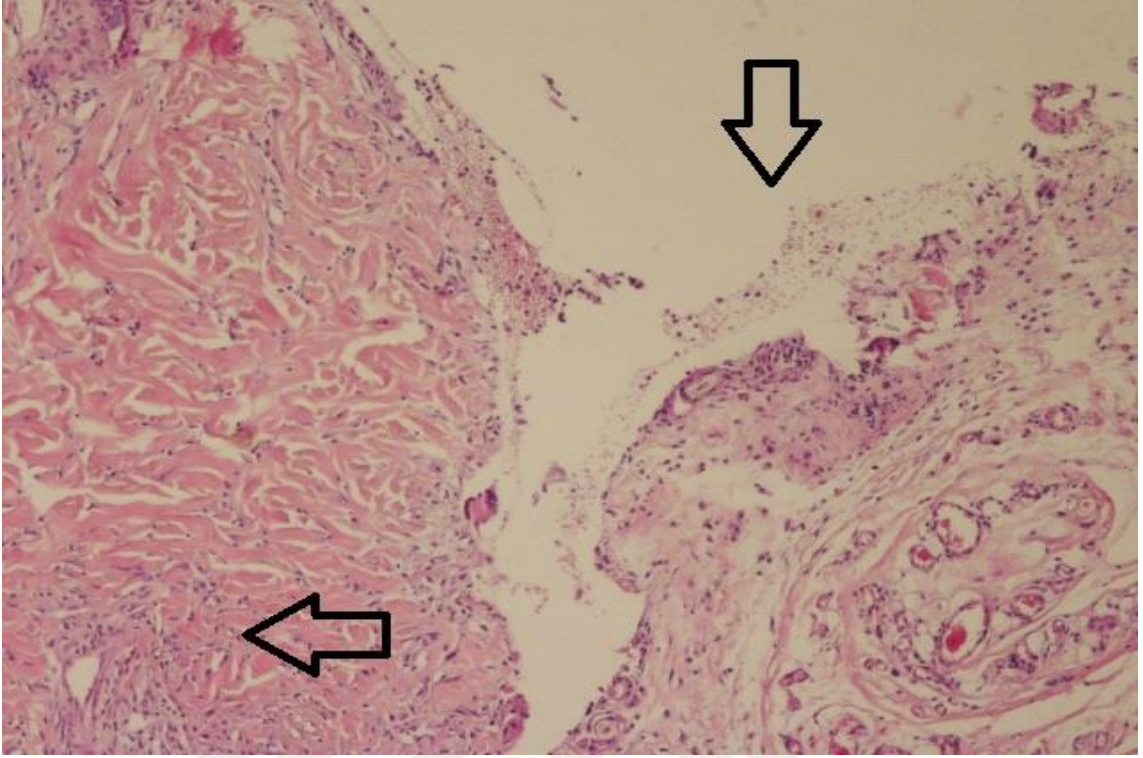


**Şekil 22.** Yedinci günde LTG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara mikrofotografik görüntüsü (H&E,  $\times 40$ ). Ok ile insizyon hattında tam epitelizasyon gösterilmiştir.



**Şekil 23.** Yedinci günde LTG’da sakrifiye edilen 2 numaralı deneğin insizyonel yara mikrofotografik görüntüsü (H&E,  $\times 100$ ). Üstteki ok ile insizyon hattında tam epitelizasyon, alttaki ok ile artmış fibroblast yoğunluğu gösterilmiştir.





**Şekil 24.** Yedinci günde DKG’da sakrifiye edilen 4 numaralı deneğin insizyonel yara mikrofotografik görüntüsü (H&E, ×100). Üstteki ok ile insizyon hattında yetersiz ve mature olamamış epitelizasyon gösterilirken, alttaki ok ile enflamatuvar hücre infiltrasyonu gösterilmiştir.

#### 4.4.4. Kolajen yoğunluğu bulguları

Dokulardaki kolajen yoğunluğu, Tablo 5’deki skorlama sistemine göre değerlendirildi. Çalışmanın 1. gününde histopatolojik incelemelerde kolajen liflerin gözlenmemesi sebebi ile değerlendirme yapılamadı. Üçüncü günde OTG ve LTG’da kolajen lifleri gözlenmeye başlansa da gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 22). Çalışmanın 7. gününde LTG kolajen yoğunluğunun KG’na göre anlamlı olarak arttığı ( $p<0,05$ ), diğer gruplara göre ise anlamlı olmasa da artmış olduğu gözlendi ( $p>0,05$ ). Ayrıca 7. günde değerlendirilen histopatolojik incelemelerde OTG kolajen yoğunluğunun KG ve DKG’na göre anlamlı olmasa da artmış olduğu çalışmamızda gözlendi ( $p>0,05$ ) (Tablo 23).



**Tablo 22.** İnsizyonel yaralarda 3. gün kolajen yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	KOLAJEN YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
3. gün	Yok (0)	10 (%30,3)	8 (%24,2)	8 (%24,2)	7 (%21,2)
	Düşük (1)	0	0	1 (%50,0)	1 (%50,0)
	Ortanca (Min-Maks)	0 (0)	0 (0)	0 (0-1)	0 (0-1)

**Tablo 23.** İnsizyonel yaralarda 7. gün kolajen yoğunluklarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

ZAMAN	KOLAJEN YOĞUNLUĞU (SKOR)	GRUPLAR			
		KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
7. gün	Yok (0)	7 (%53,8)	4 (%30,8)	1 (%7,7)	1 (%7,7)
	Düşük (1)	3 (%15,0)	4 (%20,0)	8 (%40,0)	5 (%25,0)
	Orta (2)	0	0	0	2 (%100,0)
	Ortanca (Min-Maks)	0 (0-1)	0,5 (0-1)	1 (0-1)	1 (0-2) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  KG'na kıyasla.

#### 4.4.5. Yeni damar oluşumu bulguları

Çalışmada insizyonel yaralardan 1 ve 3. günlerde alınan örnekler histopatolojik olarak incelendiğinde yeni damar oluşumu izlenmediğinden karşılaştırma yapılamadı. İnsizyonel yaralardan 7. günde ve eksizyonel yaralardan 21. günde alınan örneklerde LTG yeni damar sayıları DKG ve OTG'na göre anlamlı olarak artmış olduğu izlendi ( $p < 0,05$ ). Ayrıca DKG ve OTG arasında yeni damar oluşumu bakımından anlamlı bir fark yoktu ( $p > 0,05$ ) (Tablo 24 ve 25).

**Tablo 24.** İnsizyonel yaralarda 7. gün kesit alanına düşen yeni damar sayılarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

7. GÜN İNSİZYONEL YARA DAMAR SAYISI Ortalama ± SS	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
	7,03 ± 1,54 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,97	4,07 ± 1,51	6,85 ± 2,47 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  DKG ve OTG'na kıyasla.

**Tablo 25.** Eksizyonel yaralarda 21. gün kesit alanına düşen yeni damar sayılarının histopatolojik olarak karşılaştırılması.

21. GÜN EKSİZYONEL YARA DAMAR SAYISI Ortalama ± SS	GRUPLAR			
	KG n=10	DKG n=8	OTG n=9	LTG n=8
	13,38 ± 2,35 <sup>a</sup>	8,24 ± 2,46	11,15 ± 1,87	14,22 ± 1,65 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  DKG ve OTG'na kıyasla.

#### 4.5.İnsizyonel Yaralarda Kopma Kuvveti (N) Bulguları:

İncelenen kopma kuvveti bulguları KG'da ortalama  $15,4 \pm 1,57$  N, DKG'da  $11,75 \pm 2,12$  N, OTG'da  $12,22 \pm 1,71$  N, LTG'da  $14,63 \pm 1,40$  N olarak ölçüldü (Tablo 26). LTG kopma kuvveti düzeyleri ile KG düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ( $p > 0,05$ ); DKG ve OTG düzeylerine göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür ( $p < 0,05$ ). OTG kopma kuvveti değerleri ile DKG arasında anlamlı fark gözlenmese de ( $p > 0,05$ ) OTG kopma kuvveti değerlerinin DKG'na göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca DKG yara kopma kuvveti değerlerinin KG değerlerine göre beklendiği gibi anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 26.** Deney gruplarının insizyonel yara kopma kuvveti değerlerinin karşılaştırılması.

<b>GRUPLAR</b>	<b>KOPMA KUVVETİ (N)</b> <b>Ortalama ± SS</b>
<b>KG (n=10)</b>	15,4 ± 1,57 <sup>a</sup>
<b>DKG (n=8)</b>	11,75 ± 2,12
<b>OTG (n=9)</b>	12,22 ± 1,71
<b>LTG (n=8)</b>	14,63 ± 1,40 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  DKG ve OTG'na kıyasla.

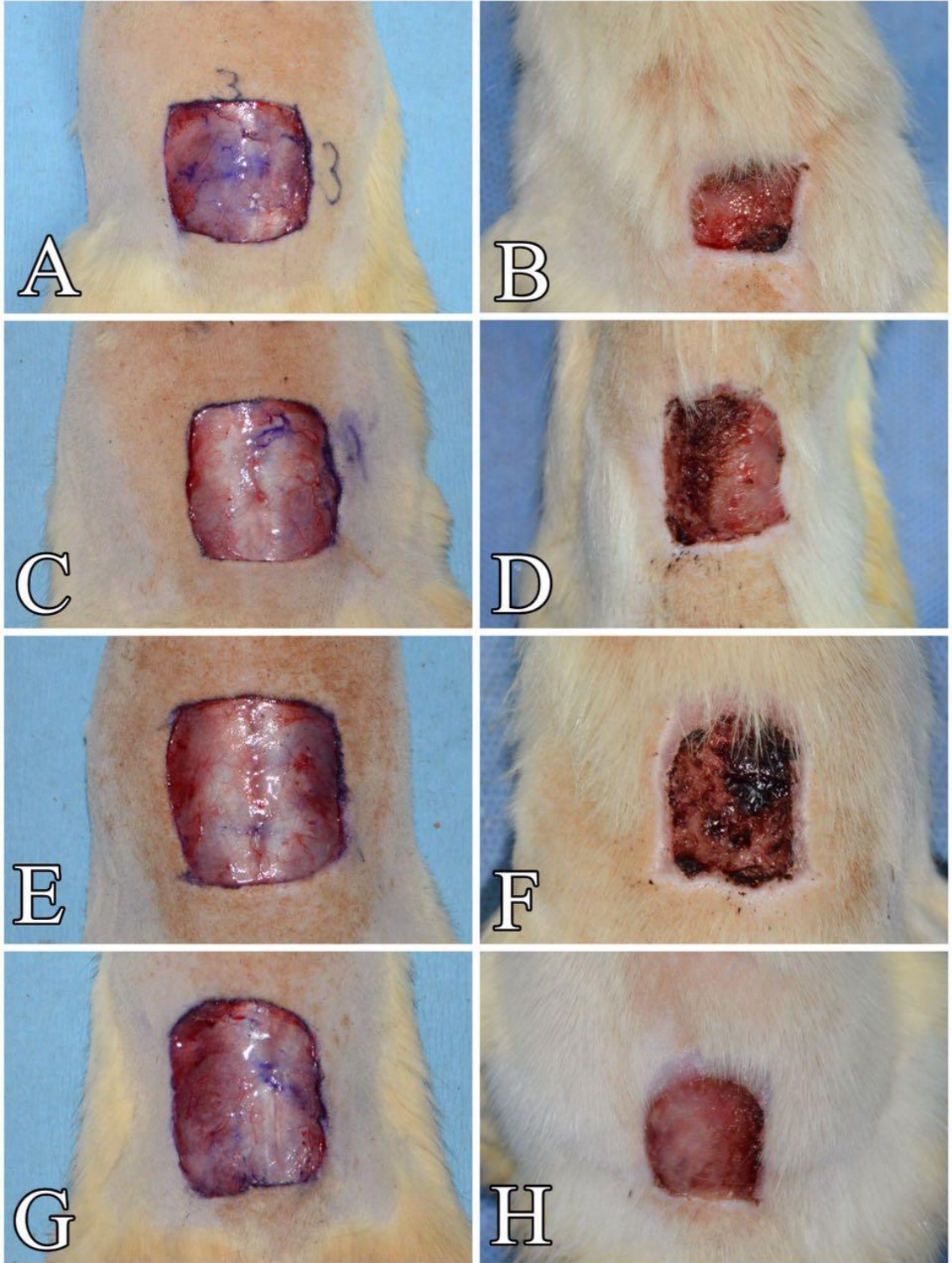
#### **4.6. Eksizyonel Yara Alanında Küçülme Bulguları**

Eksizyonel yara alanlarında küçülme yüzdelerinin ortalamaları KG'da %77,4 ± 3,62, DKG'da %70,25 ± 4,62, OTG'da %73,0 ± 3,90, LTG'da %77,0 ± 5,45 olarak ölçüldü (Tablo 27 ve Şekil 25). LTG eksizyonel yara alanı küçülme yüzdesi ile KG yüzdeleri arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ( $p > 0,05$ ); DKG yüzdelerine göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür ( $p < 0,05$ ). OTG yara alanı küçülme yüzdesi diğer gruplarla karşılandığında anlamlı bir fark gözlenmese de ( $p > 0,05$ ), DKG yüzdelerine göre daha yüksek, LTG yüzdelerine göre daha düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca DKG yara alanı küçülme yüzdesinin KG yüzdesine göre beklendiği gibi anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 27.** Deney gruplarının eksizyonel yara alanında küçülme yüzdelerinin karşılaştırılması.

<b>GRUPLAR</b>	<b>YARA ALANI KÜÇÜLME YÜZDELERİ (%)</b> <b>Ortalama ± SS</b>
<b>KG (n=10)</b>	77,4 ± 3,62
<b>DKG (n=8)</b>	70,25 ± 4,62 <sup>a</sup>
<b>OTG (n=9)</b>	73,0 ± 3,90
<b>LTG (n=8)</b>	77,0 ± 5,45

<sup>a</sup>:  $p < 0,05$  KG ve LTG'na kıyasla.



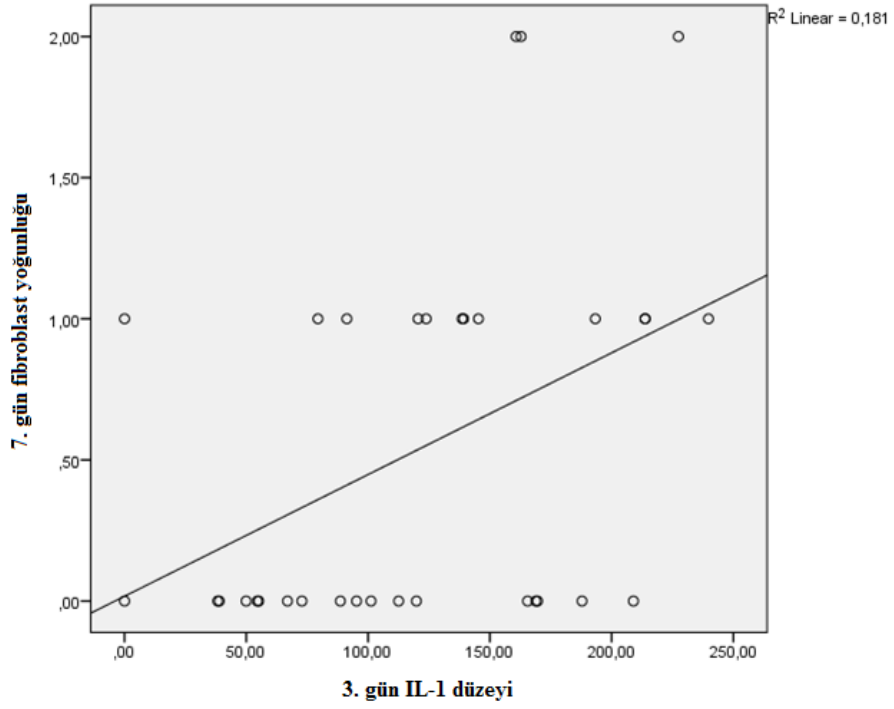
**Şekil 25.** 0 ve 21. günlerde çekilen fotoğraflar ile eksizyonel yara alanındaki küçülmenin gruplar arası karşılaştırılması. **A.** KG 0. gün, **B.** KG 21. gün, **C.** DKG 0. gün, **D.** DKG 21. gün, **E.** OTG 0. gün, **F.** OTG 21. gün, **G.** LTG 0. gün, **H.** LTG 21. gün fotoğrafları.

#### 4.7. Farklı Parametreler Arasındaki Tutarlılığın Değerlendirilmesi

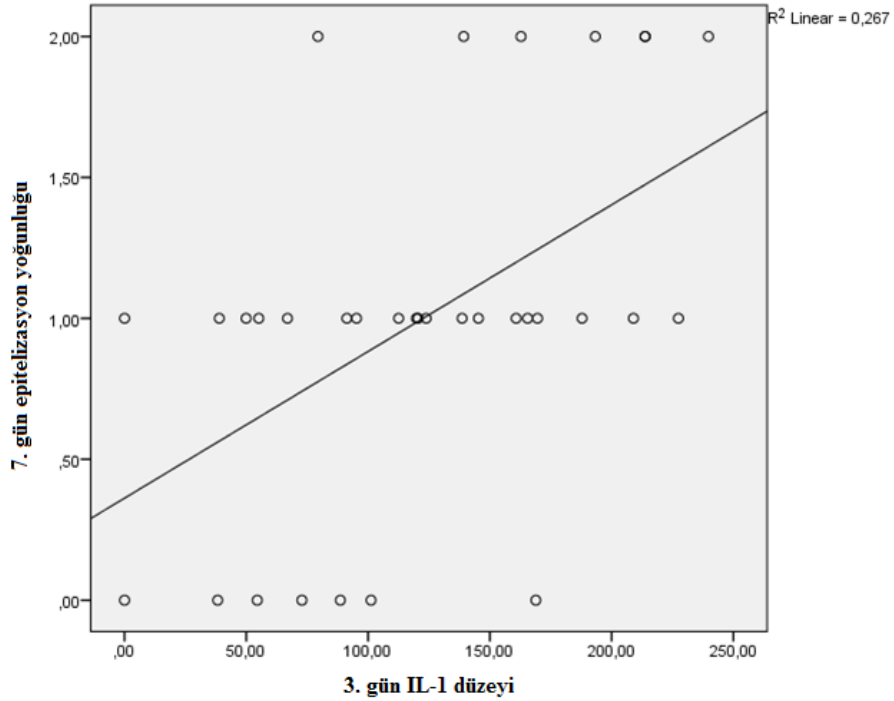
Çalışmamızda parametreler arasındaki tutarlılık, korelasyon testleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi. İnsizyonel yara 7. gün epitelizasyon, fibroblast ve kolajen yoğunluğu bulguları ile 3 ve 7. gün IL-1 seviyeleri arasında pozitif yönde korelasyon gözlemlendi ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ) (Tablo 28, Şekil 26-31). İnsizyonel yara 7. gün epitelizasyon, fibroblast, kolajen yoğunluğu ve damar sayıları bulguları ile 3. gün COX-2 seviyeleri arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ ) korelasyon gözlemlendi (Tablo 28, Şekil 32-35). Eksizyonel yara 21. gün damar sayıları ile 3. gün COX-2 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ ) pozitif yönde korelasyon mevcuttu (Tablo 28, Şekil 36). Ayrıca 21. günde ölçülen insizyonel yara kopma kuvveti ile 3. gün COX-2 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlıya yakın ( $p=0,066$ ) pozitif yönde korelasyon gözlemlendi (Tablo 28, Şekil 37).

**Tablo 28.** Spearman testi ile parametreler arasındaki tutarlılığın değerlendirilmesi ve korelasyon katsayıları.

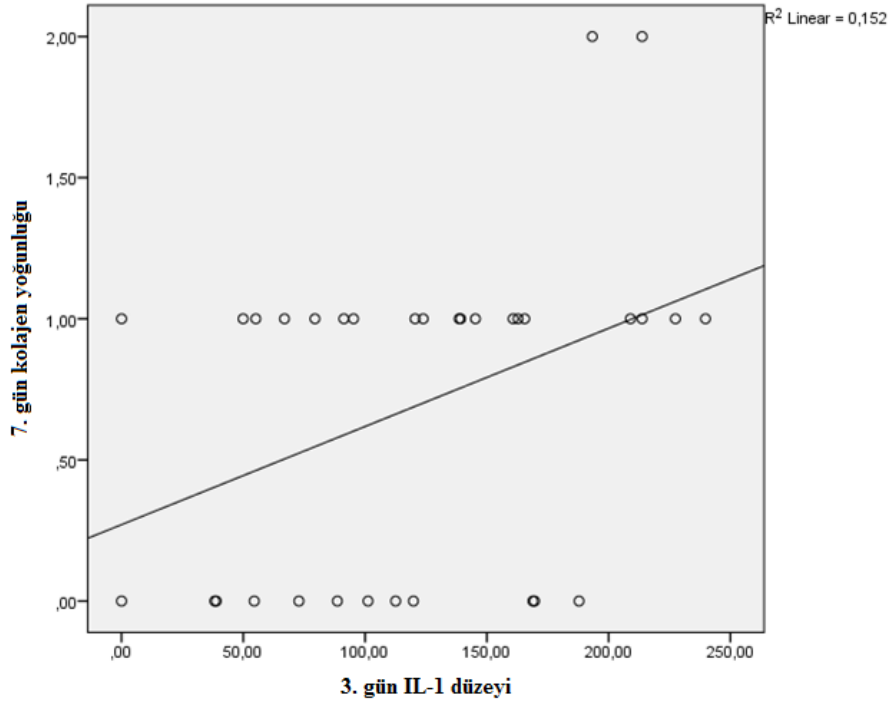
PARAMETRELER	7. Gün				21. Gün	
	Fibroblast yoğunluğu	Epitelizasyon yoğunluğu	Kolajen yoğunluğu	İnsizyonel yara damar sayısı	Eksizyonel yara damar sayısı	İnsizyonel yara kopma kuvveti
3. gün IL-1 korelasyon katsayısı	0,46	0,38	0,39	-	-	-
7. gün IL-1 korelasyon katsayısı	0,53	0,52	0,37	-	-	-
3. gün COX-2 korelasyon katsayısı	0,48	0,48	0,36	0,39	0,41	0,31



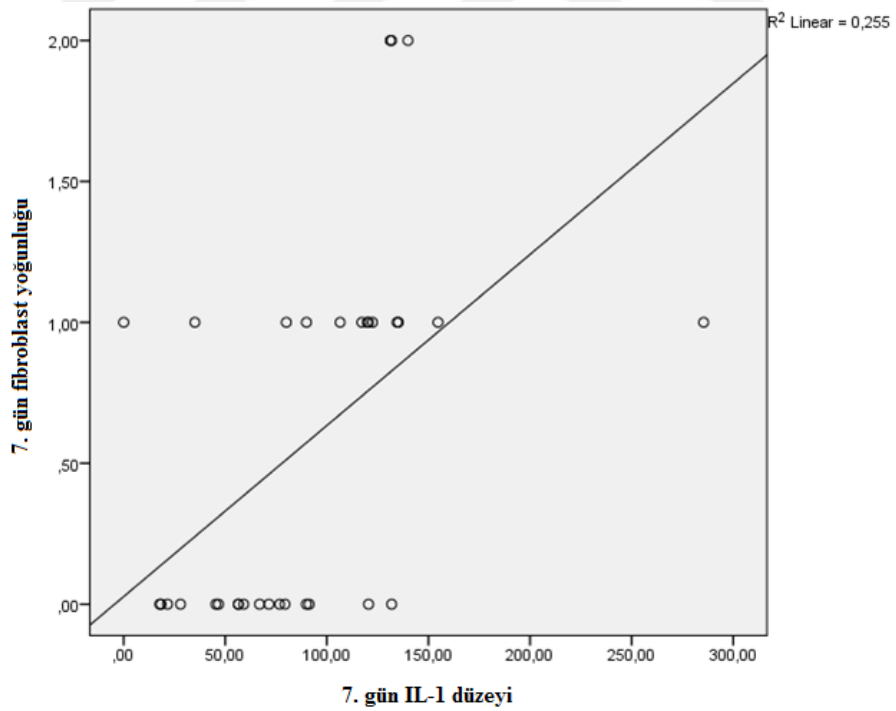
Şekil 26. 3. gün IL-1 düzeyi ve 7. gün fibroblast yoğunluğu arasındaki ilişki.



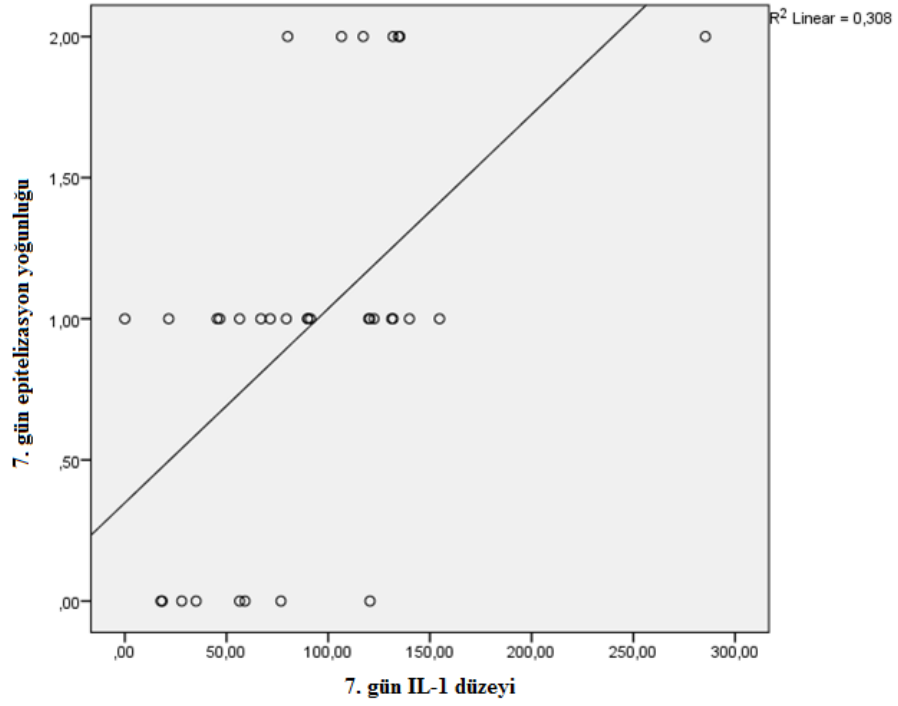
Şekil 27. 3. gün IL-1 düzeyi ve 7. gün epitelizasyon yoğunluğu arasındaki ilişki.



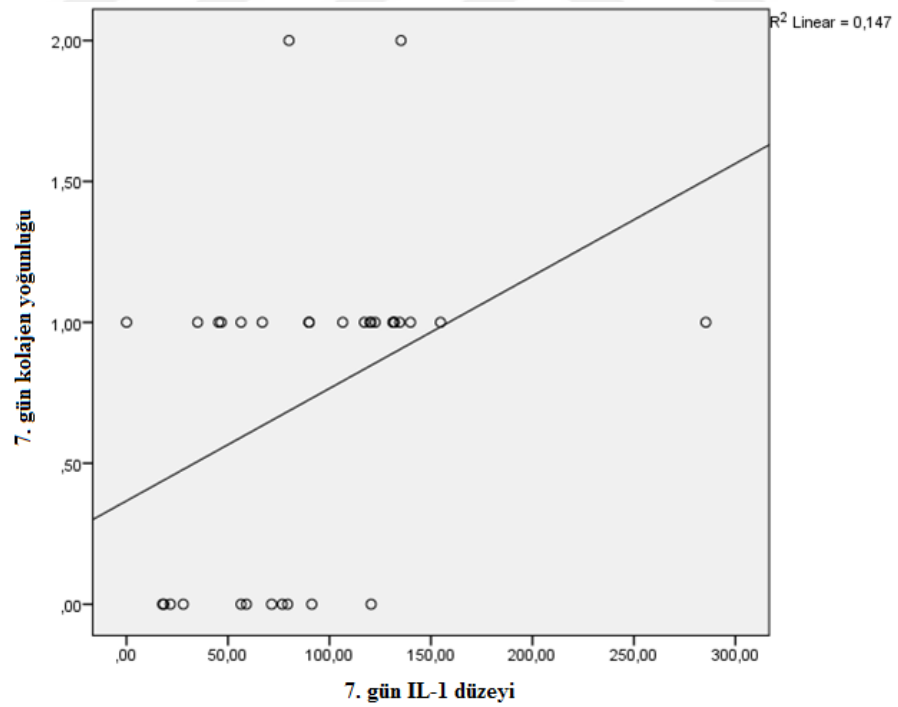
Şekil 28. 3. gün IL-1 düzeyi ve 7. gün kolajen yoğunluğu arasındaki ilişki.



Şekil 29. 7. gün IL-1 düzeyi ve fibroblast yoğunluğu arasındaki ilişki.

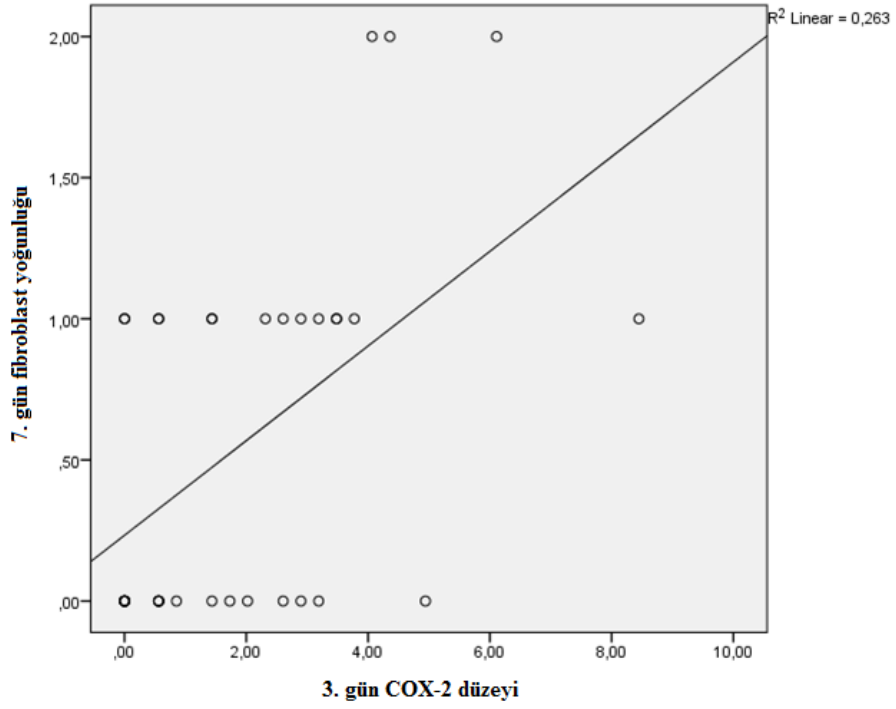


Şekil 30. 7. gün IL-1 düzeyi ve epitelizasyon yoğunluğu arasındaki ilişki.

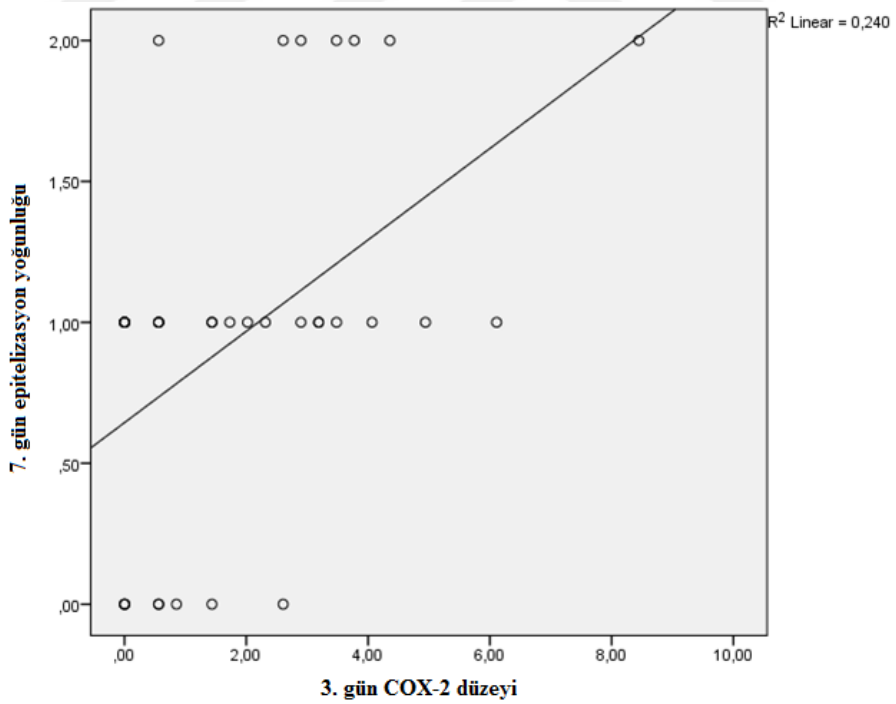


Şekil 31. 7. gün IL-1 düzeyi ve kolajen yoğunluğu arasındaki ilişki.



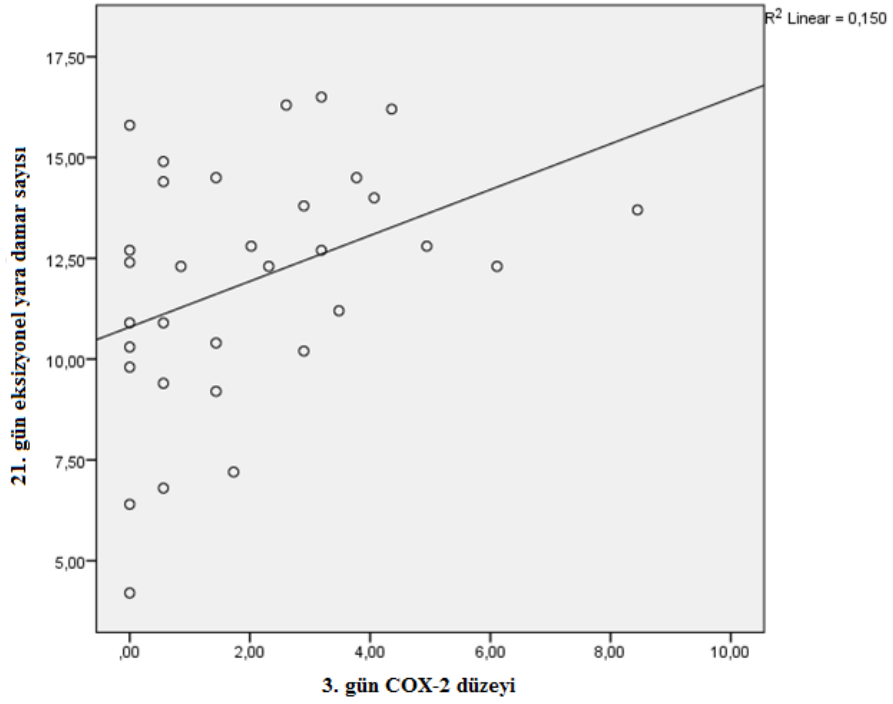


Şekil 32. 3. gün COX-2 düzeyi ve 7. gün fibroblast yoğunluğu arasındaki ilişki.

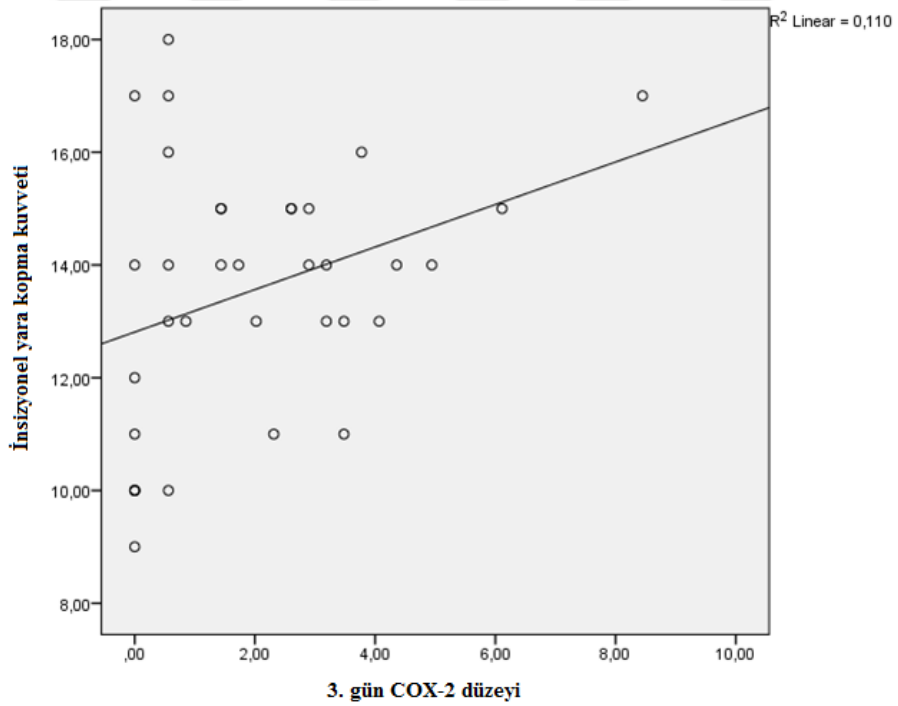


Şekil 33. 3. gün COX-2 düzeyi ve 7. gün epitelizasyon yoğunluğu arasındaki ilişki.





Şekil 36. 3. gün COX-2 düzeyi ve 21. gün eksizyonel yara damar sayısı arasındaki ilişki.



Şekil 37. 3. gün COX-2 düzeyi ve 21. gün insizyonel yara kopma kuvveti arasındaki ilişki.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, antienflamatuvar, antioksidan ve proliferatif özellikleri bilinen nar çekirdeği yağının, yara iyileşme sürecinde aksamaların gözleendiği diyabetik hasta grubunda yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca nar çekirdeği yağının lokal ve oral uygulamaları arasında deneysel olarak bir fark olup olmadığı da araştırılmıştır.

Çalışmamızda, yara iyileşmesinin hem erken hem de geç dönem sonuçlarını ortaya koyabilmek amacıyla farklı zamanlarda alınan örnekler histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiş, insizyonel yara kopma kuvveti ve eksizyonel yara alanı küçülme yüzdeleri karşılaştırılmıştır. Böylelikle, çalışma gruplarında gözlenen histopatolojik ve morfolojik bulgular, yara iyileşmesinin her bir fazında ayrı ayrı ortaya konmuş ve değerlendirilmiştir.

Nar çekirdeği yağının antienflamatuvar ve antioksidan etkileri literatürde birçok deneysel ve klinik çalışma ile tariflenmiştir. Ancak, yara iyileşmesi ile ilgili in vivo herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle, enflamasyon fazının uzadığı ve oksidatif stresin arttığı diyabetik yara modeli çalışmamızda tercih edilmiştir.

Diyabetin ve olası kronik komplikasyonlarının önlenmesi ve tedavi edilmesi tıbbi araştırmaların öncelikli konuları arasında yer almaktadır. Bitkisel ürünler doğal, güvenilir ve hazırlanmalarının kolay olması sebebi ile bu araştırmalarda sıklıkla kullanılmıştır. Bu çalışmaların geliştirilmesinde geleneksel tıbbın da önemi büyüktür. Altıparmak ve Eskitaşçıoğlu'nun çalışmasında oral olarak uygulanan kantoron yağının (Hypericum perforatum) diyabetik yara iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiş, bu etkinin immün düzenleyici etkisinden kaynaklandığı vurgulanmıştır (123). Araştırmalara konu olan bu doğal ürünlerden bir diğeri de nar meyvesi ve bu meyvenin farklı kısımlarından elde edilen preparatlardır (125).

Ülkemizde yaygın olarak bulunan nar meyvesinin endüstriyel yöntemlerle hazırlanan çekirdek yağı bir CLnA izomeri ve omega-5 yağ asidi olan pünisik asitten zengindir. Endemik bitki çekirdekleri dışında pünisik asidin tek doğal kaynağı nar çekirdeği yağıdır. Ayrıca nar çekirdeği yağının antienflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin, içerdiği pünisik asitten kaynaklandığı yapılan deneysel çalışmalarla bildirilmiştir. Çalışmamızda saf pünisik asit yerine nar çekirdeği yağı kullanılmasının temel sebebi elde edilmesinin ve uygulanabilirliğinin daha kolay olmasıdır.

Son yıllarda nar çekirdeği yağı ve pünisik asit ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça fazladır. Pünisik asidin insan hepatoma HepG2 hücrelerinde hipolipidemik etki gösterdiği bilinmektedir ve apolipoprotein B100 sekresyonunu azaltmaktadır (126). Bununla birlikte diyetlerine nar çekirdeği yağı eklenen obez hiperlipidemik OLETF (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty) sıçanların daha zayıf oldukları ve adipoz hücrelerin apoptoza uğradığı benzer bir çalışmada gösterilmiştir (127).

McFarlin ve arkadaşlarının günlük enerjilerinin %60'ı yağ olacak şekilde yüksek kalori ile beslenen CD-1 farelerde yaptıkları çalışmada, diyetlerine nar çekirdeği yağı eklenen grubun daha az oranda kilo aldığı, leptin ve insülin seviyelerinin düşerken, adiponektin seviyesinin arttığı gösterilmiştir (115). Düşük konsantrasyonda plazma adiponektin seviyesinin insülin direnci ve obezite ile ilişkili olduğu bilinmektedir (128). Yine aynı çalışmada plazma leptin ve adiponektin düzeylerinin PPAR- $\gamma$  ilişkili mekanizma etkisi sonucu değiştiği düşünülmüştür. Çalışmada gruplar arasında plazma glukoz konsantrasyonlarında anlamlı bir fark olmamasına rağmen, insülin konsantrasyonundaki azalmanın insülin direncindeki azalma sonucu gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda nar çekirdeği yağının tip-II diyabet gelişme riskini azalttığı sonucuna varılmıştır (115). Mollazadeh ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada da STZ ile diyabetize edilen erkek Wistar sıçanlara farklı konsantrasyonlarda (0,4 ml/kg ve 0,8 ml/kg) 3 ve 4 haftalık oral nar çekirdeği yağı tedavisi verilmiştir. Bu çalışmada serum glukoz seviyelerinin McFarlin'in çalışmasının aksine oral nar çekirdeği yağı tedavisi ile anlamlı olarak azaldığı gösterilmiş, 4 hafta 0,8 ml/kg doz ile gerçekleştirilen tedavide düşüşün en fazla olduğu gözlemlenmiştir (114). Hontecillas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, nar çekirdeği yağı içerisindeki pünisik asidin karaciğer ve karın içi yağ dokudaki PPAR- $\alpha$  ve - $\gamma$ 'yı aktive ederek, TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyonunu ve NF- $\kappa$ B DNA

bağlanma aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Bu mekanizmalar ile nar çekirdeği yağının insülin direncini ve obezite ile ilişkili enflamasyonu azalttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada genetik olarak obez db/db fareler ve diyet ile indüklenmiş obez fareler kullanılmış, diyetlerine nar çekirdeği yağı eklenen grupta açlık kan glukozunun azaldığı gösterilmiştir (110). Çalışmamızda oral tedavi grubu için verilen 0,8 ml/kg nar çekirdeği yağı dozu, literatürde Mollazadeh ve arkadaşlarının çalışmasındaki en etkin doz olması sebebi ile kabul edildi. Ayrıca bu gruptaki sıçanların kan glukoz seviyelerinin Mollazadeh ve Hontecillas'ın çalışması ile uyumlu olarak lokal tedavi grubu ve diyabetik kontrol grubuna göre sırasıyla 14 ve 21. günlerde anlamlı olarak azaldığı, ancak 200 mg/dl'nin altına düşmeyerek diyabetik kaldıkları gözlenmiştir. Farklı çalışmalarda oral nar çekirdeği yağının kan glukoz değerlerini farklı şekilde etkilemesinin sebebi, deneysel diyabet modellerinin, deney hayvanlarının tür, soy ve beslenme şekillerinin farklılık göstermesi olabilir. Bizim çalışmamızda tek doz 55 mg/kg STZ enjeksiyonu ile diyabetize edilen erkek Spraque-Dawley sıçanlar, sakrifiye edilecekleri güne kadar pellet sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum beslenmiştir. Çalışmamızda karaciğer, çizgili kas veya yağ doku PPAR seviyeleri çalışılmamış olmasına rağmen, literatürde mevcut olan diğer deneysel çalışmalar göze alındığında oral nar çekirdeği yağı içeriğindeki pünisik asidin bir oral antidiyabetik ajan olan TZD gibi davranarak PPAR- $\gamma$  agonistik etkisi ile insülin direncini ve dolayısıyla kan glukoz seviyelerini düşürdüğü tahmin edilmektedir.

Diyabetik yarada iyileşmeyi olumsuz yönde etkileyen temel sebebin kontrol edilemeyen artmış enflamasyon olduğu düşünülmektedir. Literatürde nar çekirdeği yağının ve pünisik asidin antienflamatuvar ve bağışıklık uyarıcı özelliklerini inceleyen bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda nar çekirdeği yağı içerisindeki pünisik asidin PPAR nükleer reseptörlerini aktive ederek NF- $\kappa$ B'yı inhibe ettiği ve sonuç olarak da TNF- $\alpha$  miktarını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca COX-2 ve 5-LOX enzimlerini de inhibe ederek antienflamatuvar etki gösterdikleri bilinmektedir.

Riera ve arkadaşlarının çalışmasında pünisik asidin PPAR- $\gamma$  ve - $\beta$  yolu ile mukozal enflamasyonu önlediği ve deneysel irritabl barsak sendromunu iyileştirdiği bildirilmiştir. PPAR- $\beta$  aktivasyonu ile kolonik keratinosit büyüme faktörünü uyardığı, PPAR- $\gamma$  aktivasyonu ile de TNF- $\alpha$  miktarını azalttığı ve makrofajların iyileşme ile ilgili M1 fenotipine dönüşümünü hızlandırdığı düşünülmüştür (111).

Çalışmamızda nar çekirdeği yağı oral veya lokal olarak uygulandığında TNF- $\alpha$  değerlerini anlamlı olarak etkilememiştir. Örneklerin birçoğunun TNF- $\alpha$  değerleri, çalışılan kitin değerlendirme aralığının dışında olması sebebi ile sonuçların etkilenmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Schubert ve arkadaşları nar çekirdeği yağı ve fermente nar suyunun antioksidan ve antienflamatuvar özelliklerini in vitro olarak araştırmış ve bunu bilinen diğer antioksidan maddeler ile karşılaştırmıştır. Nar çekirdeği yağı COX enzimini %37'lik bir oranda inhibe ederken, fermente nar suyunda COX enzim inhibisyonu gözlenmemiştir. Yine nar çekirdeği yağı 5-LOX enzimini %75 oranında inhibe ederken, fermente nar suyu yalnızca %23,8 oranında inhibe edebilmiştir (112).

Çalışmamızda gruplar arasında 5-LOX düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemesine rağmen 3. gün COX-2 düzeyleri incelendiğinde LTG'da DKG'na göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. Üçüncü günde COX-2 seviyesi DKG'da en düşük seviyede gözlemlendi. Diyabet durumunda enflamasyonun geç başlaması, bu bulgunun sebebi olarak düşünüldü. Nar çekirdeği yağı uygulaması ile diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesinin enflamasyon dönemi normal zamanında başlatılmış oldu. Bu bulgular göz önüne alındığında nar çekirdeği yağının diyabetik yara iyileşmesinde enflamasyonu azaltıcı değil, düzenleyici rolü olduğunu düşünmekteyiz.

Saha ve Ghosh tarafından yapılan çalışmada tek doz STZ ile diyabetize edilmiş sıçanlara oral olarak CLnA izomerleri olan pünisik asit ve  $\alpha$ -eleostearik asit ( $\alpha$ -ESA) içeren bitki tohumu yağları verilmiş, antioksidan ve antienflamatuvar özellikleri karşılaştırılmıştır. Yapısındaki yüksek trans formu içeriği nedeni ile  $\alpha$ -ESA (cis-9, trans-11, trans-13-oktadekatrienoik) daha yüksek oranda antioksidan özellik gösterirken, yapısındaki yüksek cis formu içeriği nedeni ile pünisik asit (cis-9, trans-11, cis-13-oktadekatrienoik acid) daha yüksek oranda antienflamatuvar özellik göstermiştir. Pünisik asidin plazma TNF- $\alpha$  ve IL-6 ve hepatic NF- $\kappa$ B seviyelerini düşürerek antienflamatuvar etki gösterdiği de yine bu çalışmada bildirilmiştir (113).

Çalışmamızda 3. günde incelenen IL-6 seviyeleri DKG'da diğer gruplar ile karşılaştırıldığında en düşük seviyede iken çalışmanın 7. gününde en yüksek seviyeye çıkmıştır. Diyabetize edilmiş tüm gruplarda yara iyileşmesinin 3. gününde IL-6 seviyeleri

KG'na oranla daha düşüktü. Bu da diyabet durumunda yara iyileşmesinin enflamasyon fazının geç başladığının ve daha uzun sürdüğünün göstergesi olarak düşünülmüştür. Nar çekirdeği yağının oral uygulaması ile IL-6 seviyesindeki artış durdurulmuş, lokal uygulaması ile de düşürülmüştür. Böylece diyabet durumunda enflamasyon fazının geç başlaması ve uzun süre devam etmesi, nar çekirdeği yağı tedavisi ile önlenmiştir.

Nar çekirdeği yağının metabolik etkilerinin yanı sıra, immün sistemi düzenleyici etkileri de bulunmaktadır. Yamasaki ve arkadaşları immün sistemi zayıflatılmış inbred C58BL/6N farelerde yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlarda nar çekirdeği yağı ile beslenen gruplarda splenositlerde sentezlenen IgG ve IgM miktarları artmış ancak IgA miktarında artış gözlenmemiştir (129).

Nar çekirdeği yağının antioksidasyon kapasitesi, bir kimyasal antioksidan standart olan BHA ve kırmızı şarap ve yeşil çay gibi bilinen diğer doğal antioksidan maddeler ile karşılaştırılmış ve kırmızı şaraptan daha antioksidan olduğu, yeşil çay ve BHA'ya yaklaştığı gözlenmiştir (130).

Elbandy ve Ashoush'un çalışmalarında 28 gün boyunca aterosjenik diyet uygulanan sıçanlara oral nar çekirdeği yağı tedavisi verilmiş ve nar çekirdeği yağının plazmadaki indirgenmiş glutasyon seviyesini yükseltirken, MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Çalışmada plazma lipit profilini düzenleyen ve antioksidan özelliği sayesinde lipit peroksidasyonunu azaltan nar çekirdeği yağının ateroskleroza önlemede doğal besin takviyesi olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (131).

Boussetta ve arkadaşlarının çalışmasında punisik asidin TNF- $\alpha$  bağımlı ROR üretimini ve nötrofillerden myeloperoksidaz salımını azaltarak daha az doku hasarına sebep olduğu gösterilmiştir. Çalışmada hem saf punisik asidin hem de nar çekirdeği yağının kolon mukozası üzerinde anlamlı bir antiinflamatuvar etki gösterdiği gözlenmiştir. Punisik asidin TNF- $\alpha$  bağımlı ROR salınımını azaltırken bakteriyel kemotaktik faktör olan fMLP varlığında salınan ROR miktarına ve nötrofil migrasyonuna etki etmediği gösterilmiştir. Bu mekanizma ile punisik asidin nötrofillerin zararlı etkilerini azaltırken konak savunması esnasındaki faydalarına etki etmediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca çalışmada linoleik asit (omega-6),  $\alpha$ -linolenik asit (omega-3) ve CLA gibi yağ asitlerinin etkileri



pünisik asit ile karşılaştırılmış, hiçbirinin TNF- $\alpha$  ile indüklenen ROR üretimini anlamlı bir biçimde inhibe etmediği gözlenmiştir (100).

Mollazadeh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, diyabetik sıçanlarda 4. haftada alınan renal ve kardiyak örnekler histopatolojik olarak incelenmiş, oral nar çekirdeği yağı tedavisi ile patolojik değişikliklerin normale döndüğü gösterilmiştir. Bu sonuçlar MDA seviyelerini incelemesi sonucunda azalan oksidatif stres ile ilişkilendirilmiştir (114).

Çalışmamızın 7. gününde lokal nar çekirdeği yağının insizyonel yarada MDA düzeylerini anlamlı olmasa da düşürdüğü gözlenmiştir. Literatürde nar çekirdeği yağının lokal uygulaması ile ilgili yeterli bilgi bulunmadığından çalışmamızda lokal uygulama günde bir defa ince bir tabaka halinde yapılmıştır. Tekrarlayan dozlarda veya farklı konsantrasyonlarda yapılacak olan uygulamalar ile elde edilen sonuçların değişebileceğini düşünmekteyiz.

Nar çekirdeği yağı her ne kadar son yıllarda piyasaya çıkan yaşlanma önleyici ve nemlendirici kozmetik ürünlerin içeriğinde bulunsa da, deri üzerine etkileri ile ilgili çok az çalışma mevcuttur. Hora ve arkadaşlarının CD<sub>1</sub> fareler üzerinde yaptığı çalışmada, DMBA (7,12-dimetilbenz[a]antrasen) ile başlatılan ve çoklu dozlarda TPA (12-O-tetradekonil forbol-13-asetat) ile desteklenen deri kanseri modelinde nar çekirdeği yağının deri tümörü oluşumunu geciktirmediği, ancak tümör oluşum insidansını ve her bir denekte oluşan ortalama tümör miktarını anlamlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Yazarlar, nar çekirdeği yağının antitümöral etkisinin ornitin dekarboksilaz enzimindeki inhibisyona bağlı olduğunu düşünmüştür (116).

Aslam ve arkadaşlarının çalışmasında nar meyvesinin farklı fraksiyonlarının in vitro olarak dermal ve epidermal etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda nar çekirdeği yağının keratinosit proliferasyonunu anlamlı bir biçimde artırdığı, ancak fibroblast proliferasyonuna etki etmediği, nar kabuğu sulu ekstresinin ise keratinosit proliferasyonu üzerinde etkili olmadığı, ancak fibroblast proliferasyonunu anlamlı bir biçimde arttırdığı gösterilmiştir (132).

Aslam'ın çalışmasındaki epitelizasyon bulgularına benzer sonuçlar çalışmamızda da gözlenmiştir. Yara iyileşmesinin 3. gününde LTG'da kısmi epitelizasyon gözlenmeye

başlandı ve 7. günde LTG epitelizasyon yoğunluğunun KG ve DKG'na göre anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi.

Aslam'ın in vitro çalışmasının aksine 7. günde lokal nar çekirdeği yağı verilen tedavi grubunda fibroblast yoğunluğu KG ve DKG'na göre anlamlı olarak arttığı, OTG'na göre de anlamlı olmasa da yüksek bulunduğu çalışmamızda gözlenmiştir. Fibroblast proliferasyonu bulgularında çalışmalar arasında farklılık gözlenmesinin sebebi Aslam ve arkadaşlarının çalışmasında oluşturulmuş olan in vitro modelin yara modeli olmaması, normal sağlıklı erişkinlerden alınmış tam kat deri kültürlerinin kullanılmış olması olabilir. Bununla birlikte yara iyileşmesinin bir çok büyüme faktörü ve sitokinlerin rol aldığı, hem hücre içi hem de hücre dışı komponentleri olan kompleks bir süreç olduğu göz önüne alındığında in vivo ve in vitro çalışmaların farklılık göstermesi normal karşılanabilir.

Primer yara iyileşmesinde normal fonksiyonlara sahip yeterli sayıda fibroblast hücreleri, kolajen sentezi ve çapraz bağların oluşması ve normal yara gerilim kuvvetinin oluşması için gereklidir. Diyabette artmış kolajenaz aktivitesi ve bununla birlikte kolajenin sentezinde azalma gözlenir (133). Çalışmamızda 3. günde OTG ve LTG gruplarında kolajen fibrilleri gözlenmeye başlandı ve LTG'nun 7. gün kolajen yoğunluklarının KG'na göre anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi. Bu durumun, LTG'da 7. günde histopatolojik olarak gösterilen artmış fibroblastik aktivite sonucu artan kolajen sentezi sebebi ile oluşabileceği düşünüldü.

Hidroksiprolin, kolajen liflerinin sabit olarak %13'ünü oluşturduğu için yara iyileşmesinde kolajen sentezinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilir (134). Çalışmamızda en düşük hidroksiprolin konsantrasyonu DKG'nda gözlemlendi. Lokal ve oral tedavi gruplarında 21. gün hidroksiprolin miktarları DKG'na göre anlamlı olarak artmıştı. Böylece tedavi gruplarında artmış kolajen yoğunluğu, 7. günde histopatolojik olarak, 21. günde de biyokimyasal olarak gösterilmiş oldu. Ye ve arkadaşlarının çalışmasında kan glukoz değerlerindeki dalgalanmaların diyabet durumunda tip-I kolajen sentezini azalttığı ve yıkımını arttırdığı bildirilmiştir (135). OTG'da hidroksiprolin değerlerinde gözlenen artışın sebebi, kan glukoz değerlerini regüle ederek kolajen sentezini arttırması ve yıkımını azaltması olarak yorumlanabilir.

Diyabete bağlı bozulmuş yara iyileşmesi durumunda dokunun yeterli miktarda beslenmesi ve kanlanması sağlanması, yaranın iyileşme sürecini etkileyen en önemli etkenlerden birisidir. Çalışmamızda lokal olarak uygulanan nar çekirdeği yağının insizyonel ve eksizyonel yaralarda anjiyogenezi uyardığı histopatolojik olarak gösterilmiştir.

İnsizyonel yara iyileşmesini deneysel olarak en iyi gösteren yöntem, yara kopma kuvvetinin değerlendirilmesidir (22). Çalışmamızda lokal nar çekirdeği yağının kopma kuvvetini DKG ve OTG'na göre anlamlı bir biçimde arttırdığı ve KG kopma kuvvetine yaklaştığı gözlenmiştir. Diyabet durumunda kolajen lifler enzimatik olmayan reaksiyon ile ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) tarafından çapraz bağlanır ve bir çok fiziksel ve kimyasal değişikliğe uğrayarak esnekliğini kaybetmiş, sert, kolay parçalanabilen bir yapıya dönüşürler (136). Bu çalışmada nar çekirdeği yağının kolajen maturasyonunu arttırdığı da düşünülebilir. Ancak, literatürde bu düşünceyi açıklığa kavuşturacak herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle nar çekirdeği yağının kolajen maturasyonuna olan etkilerinin gösterilebilmesi için daha ileri çalışmalarla ihtiyaç vardır.

Her ne kadar CLnA içeren çekirdek yağlarının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışma literatürde mevcut olmasa da, diyetle alınan CLA takviyesinin yara iyileşmesinin erken enflamatuvar dönemi üzerine etkileri Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmaya göre diyetlerine CLA eklenen farelerin karaciğer dokularındaki MDA düzeyleri ve yara dokusundaki COX-2 miktarları kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca oluşturulmuş olan eksizyonel yara kontraksiyonları CLA tedavisi ile anlamlı bir şekilde artmıştır. Yazarlar, yara kontraksiyonundaki bu artışın, NF-κB düzeyinin azalması sonucu antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmaların aktive olması ile ilişkilendirmiştir (138).

Çalışmamızda Park ve arkadaşlarının çalışması ile benzer bir şekilde tedavi gruplarının NF-κB düzeylerinde azalma olduğu gözlendi ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu azalmanın sebebinin, literatürdeki diğer çalışmalar da göz önüne alındığında, pünisik asidin doğrudan PPAR reseptör uyarıcı etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çalışmamızda lokal nar çekirdeği yağının eksizyonel yara alanlarındaki küçülmeyi DKG'na göre anlamlı olarak arttırdığı gözlendi. Oral uygulanan nar çekirdeği yağının eksizyonel yara alanı küçülme yüzdeleri DKG ile karşılaştırıldığında istatistiksel

olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Pünisik asidin oral olarak uygulandığında CLA'ya metabolize olduğu düşünüldüğünde OTG yara alanı küçülme bulguları Park ve arkadaşlarının çalışmasındaki bulgular ile uyuşmamaktadır. Park ve arkadaşlarının çalışmasında diyabetik değil normal yara iyileşmesi modelinin çalışılmış olmasının, bulgular arasındaki farklılığın sebebi olduğu düşünülebilir. Darby ve arkadaşlarının çalışmasında  $\alpha$ -düz kas aktin proteininin diyabetik yaralarda daha geç gözlendiği ve normal yara iyileşmesindeki aksine uzaysal bir dağılım göstermediği belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak da diyabetik yara kontraksiyonunun geç ve yetersiz olduğu vurgulanmıştır (139). Bizim çalışmamızda da eksizyonel yara alanlarındaki küçülme DKG'nda KG'na göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Yapılan korelasyon analizleri sonucu IL-1 ve COX-2 seviyeleri ile epitelizasyon, fibroblast ve kolajen yoğunluğu bulguları arasında pozitif yönde bir korelasyon çalışmamızda gösterilmiştir. Ayrıca COX-2 seviyesi ile anjiyogenez arasında da pozitif yönde bir korelasyon saptanmıştır. Nar çekirdeği yağının literatürdeki antiinflamatuvar özellikleri göz önüne alındığında çalışmamızda beklenenin aksine IL-1 ve COX-2 düzeylerinde artış meydana gelmiştir. Sitokinlerin farklı fazlarda yara iyileşmesini farklı şekillerde etkiledikleri bilinmektedir. Öncül ve arkadaşlarının çalışmasında bir proenflamatuvar sitokin olan IL-1, diyabetik ayak ülserinde artmış konsantrasyonlarda gözlenmiş ve ülserin iyileşmesi ile konsantrasyonları da düşmüştür (139). Ancak, bu çalışmada sitokin seviyeleri yara iyileşmesinin erken enflamatuvar döneminde değil, uzamış yara iyileşmesinin geç dönemlerinde değerlendirilmiştir. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda diyabetik yara iyileşmesinin erken dönemlerinde IL-1 ve diğer proenflamatuvar sitokinlerin düşük seviyede izlendiği belirtilmiştir (140,141). Bunun sebebi de diyabet durumunda enflamasyon fazının geç başlamasıdır. Çalışmamızda da bu sonuçlara benzer bir şekilde enflamasyon belirteçleri DKG'da düşük değerlerde saptanmıştır. İnterlökin-1'in, COX yolu ile eikazanoïd sentezini ve salınımını arttırdığı bilinmektedir (142). Ayrıca IL-1'in ve COX-2 enzimatik aktivitesi sonucu artmış prostoglandin E2 sentezinin keratinosit ve fibroblast proliferasyonunu ve anjiyogenezi uyardığı da bildirilmiştir. (143-148). Literatürdeki bu bilgilerin ışığında çalışmamızda nar çekirdeği yağının özellikle lokal uygulanması sonucu histopatolojik olarak gözlenen düzelenin yara iyileşmesinin erken dönemlerinde artmış IL-1 ve COX-2 seviyeleri sonucu geliştiğini düşünmekteyiz. Yapılan korelasyon testleri ile de bu düşüncemiz

desteklenmiştir. Sonuç olarak nar çekirdeği yağı tedavisi ile diyabetik yara iyileşmesinde gözlenen gecikmiş enflamatuvar yanıt düzeltilmiştir. Enflamasyonu düzenleyici etkisi sonucunda yara iyileşmesinin proliferasyon fazı da olumlu yönde etkilenmiştir. Kronik, iyileşmeyen diyabetik yaralarda nar çekirdeği yağı veya pünisik asidin geç dönem enflamasyon belirteçleri üzerine etkileri, yapılacak ileri klinik çalışmalarla belirlenebilir.

Yapılan deneysel ve klinik toksisite çalışmalarında nar çekirdeği yağı ve pünisik asidin kullanımının güvenilirliği gösterilmiştir. Meerts ve arkadaşlarının çalışmasında in vitro olarak Ames testi ve kromozom aberasyon testinde, nar çiçeği yağının mutajenik ve klastojenik özelliğinin olmadığı görülmüştür. Aynı çalışmada nar çekirdeği yağının in vivo olarak dişi Wistar sıçanlarda akut toksisitesi değerlendirilmiş ve 2000 mg/kg doza kadar toksisite gözlenmemiştir. OECD 423 (Organisation for Economic Co-operation and Development) testine göre, nar çekirdeği yağının LD50 (%50 öldürücü doz) değerinin 5000 mg/kg dozun üzerinde olduğu düşünülmüştür (149). Yuan ve arkadaşlarının çalışmasında sağlıklı genç bireyler 28 gün boyunca günlük 3 gr pünisik asit içeren *Trichosanthes kirilowii* çekirdeği ile beslenmişlerdir. Deney grubundaki bireylerin plazma ve eritrosit membran pünisik asit miktarlarının arttığı gösterilirken deneklerin hiçbirinde yan etki gözlenmemiştir (150).

Çalışmamızda bazı kısıtlı yönler yer almaktadır. Tip-II diyabet hastalarının klinikte daha sık gözlenmesine ve diyabete bağlı yara iyileşme problemlerinin sıklıkla bu hasta grubunda tespit edilmesine rağmen çalışmamızda tip-I diyabet modeli kullanılmıştır. Ancak, yara iyileşme problemlerinin tip-I diyabette de gözlendiği yadsınamaz bir gerçek olup (151), literatürde tip-I ve tip-II diyabet arasında yara iyileşmesi açısından herhangi bir farklılık olup olmadığını araştıran deneysel ya da klinik çalışma yer almamaktadır. Ayrıca, çalışmamızın yapıldığı zaman dilimi içerisinde genetik olarak tip-II diyabet oluşturulmuş deney hayvanlarının Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi bünyesinde üretilmesi ve deney modelimizde kullanılması mümkün değildi. Çalışmamızın diyabetik kontrol grubunda, STZ ile indüklenmiş tip-I diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesinin araştırıldığı diğer çalışmalara benzer şekilde sonuçlar elde ettik (152, 153). Çalışmamızda histopatolojik olarak enflamatuvar hücre yoğunluğu diyabet durumunda değişmezken, moleküler düzeyde incelenen enflamatuvar belirteçler enflamasyon fazının geç başladığını ve daha uzun süre devam ettiğini göstermektedir.

Diyabet durumunda kolajen yoğunluğundaki azalma da doku hidroksprolin miktarlarının ölçülmesi ile gösterilmiştir. Kolajen yoğunluğundaki bu azalma sonucu diyabetik sıçanlarda yara kopma kuvvetinde azalma meydana gelmiştir. Ayrıca çalışmamızda diyabet durumunda yara alanında daha az oranda küçülmenin gözleendiği de gösterilmiştir. Çalışmamızda, kontrol ve diyabetik kontrol grubunda yer alan sıçanlarda yara iyileşmesi açısından gözlenen bu farklılıkların, kullandığımız diyabet modelinin yara iyileşmesinin araştırılması açısından uygun bir model olduğunu ve elde edilen sonuçların tip-II diyabete uyarlanabileceğini göstermektedir.

Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen nar meyvesinin endüstriyel olarak işlendikten sonra açığa çıkan artık kısmının büyük bir bölümünü nar çekirdeği oluşturmaktadır. Bu artık ürünün işlenmesi sonucu ortaya çıkan çekirdek yağı, içerdiği biyoaktif bileşenler sebebi ile bir çok bilim dalının büyük ilgisini çekmektedir. Çalışmamızda özellikle lokal olarak uygulanan nar çekirdeği yağının diyabet durumunda yara iyileşmesi üzerine olumlu etki ettiği gösterilmiştir. Nar çekirdeği yağı oral olarak uygulandığında pünisik asidin belli miktarlarda CLA'ya metabolize olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiş olsa da, diyabet durumunda pünisik asidin metabolizmasının nasıl etkileneceği hakkında literatürde yeterli bilgi yoktur. Bu konu hakkında yapılacak olan ileri çalışmalar, çalışmamızda oral uygulanan tedavinin neden etkisiz kaldığını gösterecektir. Nar çekirdeği yağının ilk defa yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağını ve özellikle bozulmuş yara iyileşmesinin gözleendiği diyabet durumunda klinikte kullanımının önünü açacağını düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR

1. Tek doz 55 mg/kg intraperitoneal STZ enjeksiyonu ile KG haricindeki tüm sıçanlar diyabetize edilebildi.
2. Lokal nar çekirdeği yağı tedavisi ile insizyonel yara IL-1 ve COX-2 düzeyleri arttı.
3. Lokal nar çekirdeği yağı tedavisinin keratinosit ve fibroblast proliferasyonunu IL-1 ve COX-2 düzeylerini arttırarak uyardığı düşünüldü.
4. Lokal nar çekirdeği yağı tedavisinin anjiyogenezi COX-2 düzeylerini arttırarak uyardığı düşünüldü.
5. Oral ve lokal nar çekirdeği yağı tedavisi ile diyabetik yara iyileşmesinde gözlenen gecikmiş enflamatuvar yanıt düzeltildi.
6. Lokal nar çekirdeği yağı tedavisi ile eksizyonel yara alanı küçülme yüzdesinde artış gözlendi.
7. Oral ve lokal nar çekirdeği yağı tedavisi ile insizyonel yara kolajen yoğunluğu arttı.
8. Lokal nar çekirdeği yağı tedavisi ile insizyonel yara kopma kuvvetinde artış gözlendi.
9. Lokal olarak uygulanan nar çekirdeği yağı ile diyabetik yara iyileşmesi olumlu yönde etkilenirken, oral uygulanan tedavi etkisiz kaldı.
10. Oral nar çekirdeği yağı tedavisinin diyabetik yara iyileşmesinde etkisiz kalmasının, diyabet durumunda pünisik asit metabolizmasında meydana gelen değişiklikler sonucu olabileceği düşünüldü.

## KAYNAKLAR

1. Gurtner GC, Wong VW. Wound Healing: Normal And Abnormal. In: Thorne CH (eds), Grabb and Smith's Plastic Surgery (7 th ed). Lippincott-Williams and Wilkins, Philadelphia 2014, pp. 13-19.
2. Hom DB. Wound healing in relation to scarring. *Facial Plast Surg Clin North Am* 1998;6:11.
3. Satman I, Omer B, Tutuncu Y et al. TURDEP-II Study Group. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol* 2013;28(2):169-180.
4. Scherer-Pietramaggiore SS, Pietramaggiore G, Orgill DP. Skin graft. In: Neligan PC (eds), *Plastic Surgery* (3 rd ed). Elsevier, Philadelphia 2013, pp. 319-338 .
5. Langøen A, Bianchi J. Maintaining Skin Integrity. In: Flanagan M (eds), *Wound healing and Skin Integrity*. Wiley-Blackwell, Chichester 2013, pp. 18-32.
6. Lazar AJF. The skin. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R (eds), *Robbins Basic Pathology* (8 th ed). Elsevier, Philadelphia 2017, pp. 843-844.
7. Krawczyk WS, Wilgram GF. Hemidesmosome and desmosome morphogenesis during epidermal wound healing. *J Ultrastruct Res* 1973;45(1):93-101.
8. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: Histology and physiology of wound healing. *Clin Plastic Surg.* 2012;39:85-97.
9. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7 Suppl):1-32.
10. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7 Suppl):12-34.
11. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing: An overview. *Clin Plastic Surg* 2003;30:1-12.



12. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am* 1997;77(3): 509-528.
13. Sen CK, Roy S. Wound healing. In: Neligan PC (eds), *Plastic Surgery* (3 rd ed). Elsevier, Philadelphia 2013, pp. 240-266.
14. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem* 2009;78:929-958.
15. Anttinen H, Orva S, Ryhanen L, Kivirikko KI. Assay of procollagen lysyl hydroxylase activity in the skin of human subjects and changes in the activity with age. *Clin Chem Acta* 1973;47:289-294.
16. Mirastschijski U, Jokuszies A, Vogt PM. Skin wound healing: Repair biology, wound and scar treatment In: Neligan PC (eds), *Plastic Surgery* (3 rd ed). Elsevier, Philadelphia 2013, pp. 267-296.
17. Akhavan MA, Sivakumar B, Palelog EM, Kang N. Angiogenesis and plastic surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61(12):1425-1437.
18. Ferrara N. Vascular Endothelial Growth Factor: Basic Science and Clinical Progress. *Endocr Rev* 2004;25(4):581-611.
19. Wipff PJ, Rifkin DB, Meister JJ, Hinz B. Myofibroblast contraction activates latent TGF- $\beta$ 1 from the extracellular matrix. *J Cell Biol* 2007;179(6):1311-1323.
20. Kang AH, Gross J. Relationship between the intra and intermolecular cross-links of collagen. *Proc Natl Acad Sci* 1970;67(3):1307-1314.
21. Schneider SL, Kohn RR. Effects of age and diabetes mellitus on the solubility of collagen from human skin, tracheal cartilage and dura mater. *Exp Gerontol* 1982;17(3):185-94.
22. Savunen TJA, Viljanto JA. Prediction of wound tensile strength: an experimental study. *Br J Surg* 1992;79(5):401-403.

23. Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *J Am Acad Dermatol* 2016;74(4):589-605.
24. Robson MC, Heggers JP. Delayed wound closure based on bacterial counts. *J Surg Oncol* 1970;2(4):379-83.
25. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010;89(3):219-229.
26. World Health Organization, Global Report on Diabetes. [Internet] Geneva, 2016 [cited 2017 Mar 8] available from: <http://www.who.int/diabetes/publications/grd-2016/en/>
27. Amputee Coalition of America. National Limb Loss Information Fact Sheet; Diabetes and Lower Extremity Amputations. [Internet] U S A, 2008. [cited 2017 Mar 8] available from: [http://amputee-coalition.org/fact\\_sheets/diabetes\\_leamp.html](http://amputee-coalition.org/fact_sheets/diabetes_leamp.html)
28. Loots MA, Kenter SB, Au FL, et al. Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGFI, bFGF and PDGF-AB compared to controls. *Eur J Cell Biol* 2002; 81:153-60.
29. Loots MA, Lamme EN, Zeegelaar J, Mekkes JR, Bos JD, Middelkoop E. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 850–57.
30. Vracko R, Benditt EP. Capillary basal lamina thickening. Its relationship to endothelial cell death and replacement. *J Cell Biol* 1970;47(1):281-285.
31. Alba-Loureiro TC, Hirabara SM, Mendonça JR, Curi R, Pithon-Curi TC. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *J Endocrinol* 2006;188(2):295-303.
32. Spanheimer RG. Direct inhibition of collagen production in vitro by diabetic rat serum. *Metabolism*. 1988;37(5):479-85.

33. Andreassen TT, Seyer-Hansen K, Oxlund H. Biomechanical changes in connective tissues induced by experimental diabetes. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1981;98(3):432-436.
34. Andreassen TT, Oxlund H. The influence of experimental diabetes and insulin treatments on the biochemical properties of rat skin incisional wounds. *Acta Chir Scand* 1987;153(7-8):405-409.
35. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, Levine JP, Gurtner GC. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: Impairment in migration, vascular endothelial growth factor production and response to hypoxia. *Am J Pathol* 2003;162(1):303–312.
36. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, Waldmann K, Schiweck S, Lehnert H. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia* 2002;45(7):1011-1016.
37. Wall SJ, Sampson MJ, Levell N, Murphy G. Elevated matrix metalloproteinase-2 and -3 production from human diabetic dermal fibroblasts. *Br J Dermatol* 2003;149(1):13-16.
38. Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes: Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 1995;270(21):12607-12613.
39. Morita K, Urabe K, Moroi Y, et al. Migration of keratinocytes is impaired on glycosylated collagen I. *Wound Repair Regen* 2005;13(1):93-101.
40. Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res* 2004;94:1168-1178.
41. Kota BP, Huang THW, Roufogalis BD. An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacol Res* 2005;51:85-94.
42. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990;347:645-650.

43. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPAR $\alpha$  activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation* 1999;99(24):3125-3131.
44. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000;405(6785):421-424.
45. Michalik L, Desvergne B, Tan TG, et al. Impaired skin wound healing in peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) $\alpha$  and PPAR $\beta$  mutant mice. *J Cell Biol* 2001;154(4):799-814.
46. Wahli W. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): from metabolic control to epidermal wound healing. *Swiss Med Wkly* 2002;132(7-8):83-91.
47. Goren I, Allmann N, Yogev N, et al. A transgenic mouse model of inducible macrophage depletion: effects of diphtheria toxin-driven lysozyme M-specific cell lineage ablation on wound inflammatory, angiogenic, and contractive processes. *Am J Pathol* 2009;175(1):132-147.
48. Rodero MP, Hodgson SS, Hollier B, Combadiere C, Khosrotehrani K. Reduced IL17a expression distinguishes a Ly6clo MHCIIhi macrophage population promoting wound healing. *J Invest Dermatol* 2013;133(3):783-792.
49. Bannon P, Wood S, Restivo T, Campbell L, Hardman MJ, Mace KA. Diabetes induces stable intrinsic changes to myeloid cells that contribute to chronic inflammation during wound healing in mice. *Dis Model Mech* 2013;6(6):1434-1447.
50. Mirza RE, Fang MM, Ennis WJ, Koh TJ. Blocking interleukin-1 $\beta$  induces a healing-associated wound macrophage phenotype and improves healing in type 2 diabetes. *Diabetes* 2013;62(7):2579-2587.
51. Mirza RE, Fang MM, Haus EMW, Ennis WJ, Koh TJ. Sustained inflammasome activity in macrophages impairs wound healing in type 2 diabetic humans and mice. *Diabetes* 2014;63(3):1103-1114.

52. Mirza RE, Fang MM, Novak ML, et al. Macrophage PPAR $\gamma$  and impaired wound healing in type 2 diabetes. *J Pathol* 2015;236(4):433-44.
53. Ke J, Long X, Liu Y, et al. Role of NF-kappaB in TNF-alpha-induced COX-2 expression in synovial fibroblasts from human TMJ. *J Dent Res* 2007;86(4):363-367.
54. Hatano E, Bennett BL, Manning AM, Qian T, Lemasters JJ, Brenner DA. NF-kappaB stimulates inducible nitric oxide synthase to protect mouse hepatocytes from TNF-alpha- and Fas-mediated apoptosis. *Gastroenterology* 2001;120(5):1251-62.
55. Li C, Browder W, Kao LR. Early activation of transcription factor NF-kB during ischemia in perfused rat heart. *Am J Physiol* 1999;276:543-552.
56. Beauparlant P, Hiscott J. Biological and biochemical inhibitors of the NF-kappa B/Rel proteins and cytokine synthesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996;7(2):175-190.
57. Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa-B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J* 1995;9(10):899-909.
58. Shoelson SE, Lee J, Yuan M. Inflammation and the IKK beta/I kappa B/NF-kappa B axis in obesity and diet induced insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27(Suppl 3):S49-52.
59. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, et al. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science* 2001;293(5535):1673-1677.
60. Cai D, Yuan M, Frantz DF, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med* 2005;11(2):183-190.
61. Pickup JC, Williams G. *Textbook of Diabetes* 2nd ed. Volume 1. Blackwell Science, Inc; 2002.

62. Lukaszuk M. Diabetic rat model. In: Siemionow MZ (eds), Plastic and Reconstructive Surgery: Experimental models and research designs. Springer-Verlag, London 2015, pp. 533-540.
63. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes*. 1976;25(7):595-603.
64. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008;51(2):216-226.
65. Varva JJ, Deboer C, Dietz A, Hanka LJ, Sokolski WT. Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. *Antibiot Annu* 1959-1960;7:230-235.
66. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep* 1963;29:91-8.
67. Tous J, Ferguson L. Mediterranean fruits. In: Janick J (edS), Progress in new crops. ASHS Press, Arlington, 1996, pp. 416-430.
68. Larrosa M, Sarrías AG, Gascón MJY, et al. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *J Nutr Biochem* 2010;21(8):717-25.
69. Mudzhiri MS. Punica granatum bark extract as a therapeutic agent in tapeworm infection. *Meditainskaia Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni* 1954;4:311-313.
70. Raj RK. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides*: Part-II. *Indian J Physiol Pharmacol* 1975;19(1):47-49.
71. Kahramanoğlu İ, Usanmaz S. Pomegranate production and marketing. CRC press, Boca Raton (FL) 2016.
72. Türkiye İstatistik Kurumu [Internet]. Ankara: Bitkisel üretim istatistikleri [Cited 2017 Mar 8]. Available from: <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
73. Kurt H, Şahin G. Bir ziraat coğrafyası çalışması: Türkiye’de nar (*Punica granatum L.*) tarımı. *Marmara Coğrafya Dergisi* 2013;27:551-574.

74. Jurenka JS. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. *Altern Med Rev* 2008 Jun;13(2):128-144.
75. Goldberg I. Functional foods, designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. Chapman & Hall, London 1994.
76. Luthria DL. Significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods. *J Sci Food Agric* 2006;86:2266-2272.
77. Martos MV, Lopez JF, Alvarez JAP. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. 2010; 9:635-654.
78. Çam M, Hıslı Y, Durmaz G. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chem* 2009;112:721-726.
79. Tezcan F, Özgüven GM, Diken T, Özçelik B, Erim FB. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chem* 2009;115(3):873-877.
80. Li Y, Guo C, Yang J, Wei J, Xu J, Cheng S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem* 2006;96(2):254-260.
81. Hamad AW, Al-Momene W. Separation and purification of crude ellagic acid from white flesh of pomegranate fruits as a potent anti-carcinogenic. *New Biotechnol* 2009;25(1):286.
82. Celik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed rats. *Food Chem Toxicol* 2009;47(1):145-149.
83. Duman AD, Ozgen M, Dayisoğlu KS, Erbil N, Durgac C. Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules* 2009;14:1808-1817.

84. Lee CJ, Chen LG, Liang WL, Wang CC. Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne in vitro and in vivo. *Food Chem* 2010;118:315-322.
85. Haidari M, Ali M, Casscells SW, Madjid M. Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicine* 2009;6(12):1127-1136.
86. Xu KZY, Zhu C, Kim MS, Yamahara J, Li Y. Pomegranate flower ameliorates fatty liver in an animal model of type 2 diabetes and obesity. *J Ethnopharmacol* 2009;123(2):280-287.
87. Lansky E, inventor; Rimonest Ltd., assignee. Methods of using pomegranate fractions for skin repair. WO patent WO 2007004229 A3. 2006 Jul 6.
88. Commo S, inventor; L'oreal, assignee. Use of a *punica granatum* extract to fight against the whitening of the hair. WO patent WO 2011051633 A2. 2010 Sep 29.
89. Dreher M, Anderson S, inventor; Pom Wonderful, Llc., assignee. Pomegranate based skin protectant and topical application. US patent US 8263140 B1. 2009 Apr 16.
90. Murthy KN, Reddy VK, Veigas JM, Murthy UD. Study on wound healing activity of *Punica granatum* peel. *J Med Food* 2004;7(2):256-259.
91. Fahy E, Subramaniam S, Murphy RC, et al. Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res* 2009;50:9-14.
92. Subramaniam S, Fahy E, Gupta S, et al. Bioinformatics and systems biology of the lipidome. *Chem Rev* 2011;111(10):6452-6490.
93. Yang L, Leung LK, Huang Y, Chen ZY. Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. *J Agric Food Chem* 2000;48(8):3072-3076.
94. Lobb K, Chow CK. Fatty acid nomenclature and classification. In: Chow CK (eds), *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications* (2nd ed) Marcel Dekker, New York 2000, pp.1-15.



95. Carvalho EBT, Melo ILP, Filho JM. Chemical and physiological aspects of isomers of conjugated fatty acids. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2010;30(2):295-307.
96. Yuan GF, Wahlqvist ML, Yuan JQ, Wang QM, Li D. Effect of punicic acid naturally occurring in food on lipid peroxidation in healthy young humans. *J Sci Food Agric* 2009;89(13):2331-2335.
97. Yuan GF, Yuan JQ, Li D. Punicic acid from *trichosanthes kirilowii* seed oil is rapidly metabolized to conjugated linoleic acid in rats. *J Med Food* 2009;12(2):416-422.
98. Cao Y, Gao HL, Chen JN, Chen ZY, Yang L. Identification and Characterization of Conjugated Linolenic Acid Isomers by Ag<sup>+</sup>-HPLC and NMR. *J Agric Food Chem* 2006;54(24):9004-9009.
99. Tran HN, Bae SY, Song BH, et al. Pomegranate (*punica granatum*) seed linolenic acid isomers: concentration-dependent modulation of estrogen receptor activity. *Endocr Res* 2010;35(1):1-16.
100. Boussetta T, Raad H, Letteron P, et al. Punicic acid a conjugated linolenic acid inhibits TNF $\alpha$ -induced neutrophil hyperactivation and protects from experimental colon inflammation in rats. *PLoS One* 2009;4(7):e6458.
101. Nagao K, Yanagita T. Bioactive lipids in metabolic syndrome. *Prog Lipid Res* 2008;47(2):127-46.
102. Koba K, Imamura J, Akashoshi A, et al. Genetically modified rapeseed oil containing cis-9,trans-11,cis-13-octadecatrienoic acid affects body fat mass and lipid metabolism in mice. *J Agric Food Chem* 2007;55(9):3741-3748.
103. Yang L, Cao Y, Chen JN, Chen ZY. Oxidative stability of conjugated linolenic acids. *J Agric Food Chem* 2009;57(10):4212-4217.
104. Tsuzuki T, Tokuyama Y, Igarashi M, et al. Alpha-eleostearic acid (9Z11E13E-18:3) is quickly converted to conjugated linoleic acid (9Z11E-18:2) in rats. *J Nutr* 2004;134(10):2634-2939.

105. Yuan GF, Sinclair AJ, Zhou CQ, Li D.  $\alpha$ -Eleostearic acid is more effectively metabolized into conjugated linoleic acid than punicic acid in mice. *J Sci Food Agric* 2009;89(6):1006-1011.
106. Yücel SÖ. Determination of conjugated linolenic acid content of selected oil seeds grown in Turkey. *J Amer Oil Chem Soc* 2005;82(12):893-897.
107. Wang RF, Xie WD, Zhang Z, et al. Bioactive compounds from the seeds of *Punica granatum* (pomegranate). *J Nat Prod* 2004;67:2096-2098.
108. Kiralan M, Gölükçü M, Tokgöz H. Oil and conjugated linolenic acid contents of seeds from important pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *J Am Oil Chem Soc* 2009;86:985-990.
109. Koba K, Belury MA, Sugano M. Potential health benefits of conjugated trienoic acids. *Lipid Technology* 2007;19:200-203.
110. Hontecillas R, O'Shea M, Einerhand A, Diguardo M, Riera BJ. Activation of PPAR gamma and alpha by punicic acid ameliorates glucose tolerance and suppresses obesity-related inflammation. *J Am Coll Nutr* 2009;28(2):184-195.
111. Riera BJ, Diguardo M, Climent M, et al. Activation of PPAR $\gamma$  and  $\delta$  by dietary punicic acid ameliorates intestinal inflammation in mice. *Br J Nutr* 2011;106:878-886.
112. Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol* 1999;66(1):11-17.
113. Saha SS, Ghosh M. Antioxidant and anti-inflammatory effect of conjugated linolenic acid isomers against streptozotocin-induced diabetes. *Br J Nutr* 2012;108(6):974-83.
114. Mollazadeh H, Sadeghnia HR, Hoseini A, Farzadnia M, Boroushaki MT. Effects of pomegranate seed oil on oxidative stress markers, serum biochemical parameters and pathological findings in kidney and heart of streptozotocin-induced diabetic rats. *Ren Fail* 2016;38(8):1256-1266.

115. McFarlin BK, Strohacker KA, Kueht ML. Pomegranate seed oil consumption during a period of high-fat feeding reduces weight gain and reduces type 2 diabetes risk in CD-1 mice. *Br J Nutr* 2009;102(1):54-59.
116. Hora JJ, Maydew ER, Lansky EP, Dwivedi C. Chemopreventive effects of pomegranate seed oil on skin tumor development in CD1 mice. *J Med Food* 2003;6(3):157-161.
117. Gasmi J, Sanderson JT. Growth inhibitory, antiandrogenic, and pro-apoptotic effects of puniceic acid in LNCaP human prostate cancer cells. *J Agric Food Chem*. 2010;58(23):12149-12156.
118. Wang L, Li W, Lin M, et al. Luteolin, ellagic acid and puniceic acid are natural products that inhibit prostate cancer metastasis. *Carcinogenesis* 2014;35(10):2321-2330.
119. Kohno H, Suzuki R, Yasui Y, Hosokawa M, Miyashita K, Tanaka T. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Sci* 2004;95(6):481-486.
120. Grossmann ME, Mizuno NK, Schuster T, Cleary MP. Puniceic acid is an omega-5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. *Int J Oncol* 2010;36(2):421-426.
121. Costantini S, Rusolo F, DeVito V. Potential anti-inflammatory effects of the hydrophilic fraction of pomegranate (*Punica granatum L.*) seed oil on breast cancer cell lines. *Molecules* 2014;19(6):8644-8660.
122. Tesch GH, Allen TJ. Rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2007;12(3):261-266.
123. Altıparmak M, Eskitaşçıoğlu T. Comparison of systemic and topical hypericum perforatum on diabetic surgical wounds. *J Invest Surg* 2017;20:1-9.
124. Stadler I, Lanzafame RJ, Evans R. 830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model. *Lasers Surg Med* 2001;28(3):220-226.

125. Banihani S, Swedan S, Alguraan Z. Pomegranate and type 2 diabetes. *Nutr Res* 2013;33(5):341-348.
126. Arao K, Yotsumoto H, Han SY, Nagao K, Yanagita T. The 9cis,11trans,13cis isomer of conjugated linolenic acid reduces apolipoprotein B100 secretion and triacylglycerol synthesis in HepG2 cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004;68(12):2643-2645.
127. Arao K, Wang YM, Inoue N, et al. Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis, 11trans, 13cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF Rats. *Lipids Health Dis* 2004;3:24.
128. Fu Y, Luo N, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res* 2005;46(7):1369-1379.
129. Saha SS, Ghosh M. Antioxidant and anti-inflammatory effect of conjugated linolenic acid isomers against streptozotocin-induced diabetes. *Br J Nutr* 2012;108(6):974-83.
130. Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol* 1999;66(1):11-17.
131. Elbandy MA, Ashoush IS. Phytochemicals in pomegranate seeds and their effect as hypolipidemic agent in hypercholesterolemic rats. *World J Dairy Food Sci* 2012;7(1):85-92.
132. Aslam MN, Lansky EP, Varani J. Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *J Ethnopharmacol* 2006;103(3):311-318.
133. Seifter E, Rettura G, Padawer J, et al. Impaired wound healing in streptozotocin diabetes. Prevention by supplemental vitamin A. *Ann Surg* 1981;194(1):42-50.

134. Reddy GK, Enwemeka CS. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clin Biochem* 1996 ;29(3):225-229.
135. Ye X, Cheng X, Liu L, Zhao D, Dang Y. Blood glucose fluctuation affects skin collagen metabolism in the diabetic mouse by inhibiting the mitogen-activated protein kinase and Smad pathways. *Clin Exp Dermatol* 2013;38(5):530-537.
136. Reddy GK. AGE-related cross-linking of collagen is associated with aortic wall matrix stiffness in the pathogenesis of drug-induced diabetes in rats. *Microvasc Res* 2004;68(2):132-142.
137. Park NY, Valacchi G, Lim Y. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation on early inflammatory responses during cutaneous wound healing. *Mediators of Inflammation*, 2010;(2010):1-8.
138. Darby IA, Bisucci T, Hewitson TD, MacLellan DG. Apoptosis is increased in a model of diabetes-impaired wound healing in genetically diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29(1):191-200.
139. Oncul O, Yildiz S, Gurer US, et al. Effect of the function of polymorphonuclear leukocytes and interleukin-1 beta on wound healing in patients with diabetic foot infections. *J Infect* 2007;54(3):250-256.
140. Zykova SN, Jensen TG, Berdal M, Olsen R, Myklebust R, Seljelid R. Altered cytokine and nitric oxide secretion in vitro by macrophages from diabetic type II-like db/db mice. *Diabetes*. 2000;49(9):1451-1458.
141. Doxey DL, Nares S, Park B, Trieu C, Cutler CW, Iacopino AM. Diabetes-induced impairment of macrophage cytokine release in a rat model: potential role of serum lipids. *Life Sci* 1998;63(13):1127-1136.
142. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996;87(6):2095-2147.
143. Futagami A, Ishizaki M, Fukuda Y, Kawana S, Yamanaka N. Wound healing involves induction of cyclooxygenase-2 expression in rat skin. *Lab Invest* 2002;82(11):1503-1513.

144. Pentland AP, Needleman P. Modulation of keratinocyte proliferation in vitro by endogenous prostaglandin synthesis. *J Clin Invest* 1986;77(1): 246–251.
145. Finetti F, Solito R, Morbidelli L, Giachetti A, Ziche M, Donnini S. Prostaglandin E2 regulates angiogenesis via activation of fibroblast growth factor receptor-1. *J Biol Chem* 2008;283(4):2139-2146.
146. Form DM, Auerbach R. PGE2 and angiogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1983;172(2):214-218.
147. Schmidt JA, Mizel SB, Cohen D, Green I. Interleukin 1, a potential regulator of fibroblast proliferation. *J Immunol* 1982;128(5):2177-2182.
148. Szabowski NM, Stark HJ, Fusenig NE. Keratinocyte growth regulation in defined organotypic cultures through IL-1-induced keratinocyte growth factor expression in resting fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 2000;114(6):1075-1084.
149. Meerts IA, Rip VCM, Buskens CA. Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. *Food Chem Toxicol* 2009;47(6):1085-1092.
150. Yuan G, Sinclair AJ, Xu C, Li D. Incorporation and metabolism of punicic acid in healthy young humans. *Mol Nutr Food Res* 2009;53(10):1336-1342.
151. Jeffcoate WJ, Harding KG. Diabetic foot ulcers. *Lancet* 2003;361(9368):1545-1551.
152. Goodson WH, Hung TK. Studies of wound healing in experimental diabetes mellitus. *J Surg Res* 1977;22(3):221-227.
153. Seifter E, Rettura G, Padawer J, Stratford F, Kambosos D, Levenson SM. Impaired wound healing in streptozotocin diabetes. Prevention by supplemental vitamin A. *Ann Surg* 1981;194(1):42-50.

T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Ahmet AYDIN'a ait "Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Nar Çekirdeği Yağının Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri" adlı çalışma jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilimdalı Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih 24/4/2017

JÜRİ

İmza

Başkan

: Prof. Dr. Galip Kemal Öner

Üye

: Prof. Dr. Yavuz Demir

Üye

: Doç. Dr. Beamer Ekutaşoğlu