



**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**SÖLÖM KİSİVİNİN STREPTOZOTOS NİLE DİYABET  
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA YARAYİLEMLER ÜZERİNDE  
ETKİLERİ**

**Dr. Ali Hakan HEPOKUR**

**DOKTORA TEZİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**S 17-2017**

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SÖLÖMİK SIVININ STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET  
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**Dr. Ali İhsan HEPOKUR**

**DOKTORA TEZİ**

**FİZYOLOJİ  
ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR**

**SİVAS-2017**

**“Söloomik Sıvının Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi”** adlı **Doktora** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Ana Bilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

Üye (Danışman) \_\_\_\_\_

#### ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Çalışma sırasında bana destek olan eşim Yrd. Doç. Dr. Ceylan HEPOKUR,  
oğullarım Erkan Duha ve Emir TAHA'ya ithaf olunur.



Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
(CÜBAP) Başkanlığı tarafından desteklenmektedir. (CÜBAP proje no: T-619).

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda ve doktora eğitimim boyunca bana yol gösterici ve destek olan değerli hocam Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR'e, katkılarından dolayı istatistik anabilim dalından Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a, fen fakóltesi istatistik bölümünden Arő. Gör. Yener ÜNAL'a bu sürede benden desteğini esirgemeyen eşim Yrd. Doç. Dr. Ceylan HEPOKUR'a ve őahsımı sürekli olarak motive ederek destekledikleri için Sivas Numune Hastanesi Evde Sağlık Hizmetlerindeki mesai arkadaşlarım Bil. İől. Türkan KESTEM Hem. Çiđdem TEMEL, Hem. Özcan TONBUL, Hem. Meral İPEK, Tek. Ümit KOÇ, Tek. Mustafa BOYRAZ, Mem. Yakup DELİCE'ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

# SÖLÖMİK SIVININ STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE

## ETKİSİ

Doktora Tezi: Dr. Ali İhsan HEPOKUR  
Fizyoloji Ana Bilim Dalı  
Danışman: Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR  
2017, 93 sayfa

## ÖZET

Yara iyileşmesi oldukça kompleks ve her basamağı tam olarak açıklanamamış bir süreçtir. Toprak solucanlarından elde edilen sölomik sıvının antibakteriyel ve antiinflamatuvar özellikleriyle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada sölomik sıvının diyabetik yara üzerine etkilerini bazı biyokimyasal parametreler ve histopatolojik sonuçlar üzerinden incelemeyi amaçladık.

Bu çalışmada 300-350 g ağırlığında Wistar albino türü 50 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele seçilerek 5 gruba ayrıldı. Grup I (Kontrol), Grup II (Söloomik sıvı), Grup III (Nitrofurazon), Grup IV (Söloomik sıvı + Nitrofurazon), Grup V (Sham). Sıçanlarda streptozotosin ile diyabet oluşturuldu. Streptozotosin uygulamasının 10. gününde kontrol grubu hariç diğer grupların sırt bölgesine tam kat cilt kesisi yapıldı ve primer olarak kapatıldı. Yara oluşturulan sıçanlara topikal tedavi uygulandı. Tedavinin 7. gününde kan ve doku örnekleri alındı. Kan örneklerinde MDA, SOD, CAT ve GSH-Px seviyeleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü. Doku örneklerinde VEGF, IL-1, TNF $\alpha$  ve neopterin seviyeleri PCR ile tespit edildi. Ödem, makrofaj, fibroblast ve epitelizasyon skorları ise histopatolojik olarak belirlendi. İstatistiksel değerlendirmede SPSS programı (versiyon 22.0) kullanıldı. Verilerin analizi Kuruskal–Wallis ve Man Whitney U Testleri ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edildi.

Söloom grubunun MDA değerleri diğer gruplardan daha düşük bulunurken ( $p<0,05$ ), SOD, CAT ve GSH-Px değerleri ise yüksek ölçüldü ( $p<0,05$ ). VEGF değerlendirmesinde söloomik grubun sonuçları diğer tüm gruplara göre yüksek olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Söloomik grubun IL-1, TNF $\alpha$  ve neopterin seviyeleri ise söloom+nitrofurazon grup ve sham grubundan daha düşük bulunurken ( $p<0,05$ ), nitrofurazon grup ile anlamlı bir fark bulundu



( $p>0,05$ ). Histopatolojik değerlendirmeler sonucunda yara iyileşmesi skorlarına göre sölomik grup epitelizasyon ve fibroblast yönünden diğer tüm gruplardan yüksek olduğu bulundu ( $p<0,05$ ). Sölomik grup makrofaj ve ödem açısından sölom+nitrofurazon grup ve sham gruptan daha düşük ölçülmüş ( $p<0,05$ ), nitrofurazon grup ile benzer özellikte bulundu.

Sonuç olarak deneysel biyokimyasal ve histopatolojik çalışmadan elde edilen veriler sölomik sıvının yara belirteçleri üzerine önemli düzeltilmeler sağladığını göstermiştir. Ancak daha ileri çalışmalar ile bunun desteklenmesi gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Sölomik sıvı, Yara iyileşmesi, Antioksidan, Sitokinler, VEGF

# **EFFECT OF COELOMIC FLUID ON WOUND HEALING IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS**

Dr. Ali İhsan HEPOKUR

Ph.D. Thesis

Department of Physiology

Supervisor: As. Prof. Dr. Ercan ÖZDEMİR,

2017, 93 pages

## **ABSTRACT**

Wound healing is quite complex and each step is a completely unexplained a process. Studies on the antibacterial and antiinflammatory properties of coelomic fluid that is obtained from soil worms are available. In this study, it aimed to investigate the effects of coelomic fluid with some biochemical parameters and histopathologic results on diabetic wound.

In this study, 50 male average weight of 300-350 g Wistar albino rats were performed. The rats were randomly divided into 5 groups. Group I (Control group), Group II (coelomic fluids), Group III (Nitrofurazone), Group IV (coelomic fluids + Nitrofurazone), Group V (Sham group). Rats were created diabetes by streptozotocin (STZ). On the 10th day of streptozotocin application, full thickness skin incisions were made in the dorsal region of the other groups except control group and it was closed primarily with a single suture. Rats that were wounded were treated topically. Blood and tissue samples were taken on the 7th day of treatment. MDA, SOD, CAT and GSH-Px levels in blood samples were measured by ELISA method. Levels of VEGF, IL-1, TNF $\alpha$ , and neopterin in tissue samples were determined by PCR. Edema, macrophage, fibroblast and epithelialization scores were determined histopathologically. SPSS program (version 22.0) was used for statistical evaluation. Kuruskal-Wallis and Man Whitney U Tests evaluated the analysis of the data. Statistical significance was accepted as  $p < 0.05$ .

MDA values of coelomic groups were lower while SOD, CAT and GPx values were higher than the other groups ( $p < 0.05$ ). In the VEGF evaluation, the results of the coelomic group were observed to be higher than the other groups ( $p < 0.05$ ). IL-1, TNF $\alpha$ , and neopterin levels of the coelomic group were lower than the sham group and coelomic+ nitrofurazone groups ( $p < 0.05$ ) and no significant difference was found between the nitrofurazone group ( $p > 0.05$ ). In

terms of wound healing scores that are revealed histopathologic evaluations, epithelialization and fibroblast of coelomic group were higher than the other groups ( $p < 0.05$ ) Coelomic groups in terms of macrophage and edema was found lower than sham group and coelomic + nitrofurazone group and was observed to be similar to nitrofurazone group ( $p < 0,05$ ).

In conclusion; obtained data from studies of experimental, biochemical and histopathology of coelomic fluids have shown significant improvements in wound markers. However, the advance works should be to this support.

**Keywords:** Coelomic fluids, Wound healing, Antioxidant, Cytokines, VEGF



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>İÇ KAPAK</b> .....	i
<b>ONAY</b> .....	ii
<b>YÖNERGE</b> .....	iii
<b>İTHAF</b> .....	iv
<b>CÜBAP DESTEĞİ</b> .....	v
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	vi
<b>ÖZET</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	xiv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xv
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xvi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Yara.....	3
2.1.1. Yara İyileşme Tipleri .....	4
2.1.2. Yara İyileşme Fizyolojisi.....	4
2.1.3. Yara İyileşmesindeki Mekanizmalar.....	15
2.1.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	16
2.1.5. Yara İyileşmesinde Kullanılan Hayvan Modeli.....	18
2.2. Diyabet.....	19
2.2.1. Tip I Diyabet.....	20
2.2.2. Tip II Diyabet.....	22
2.2.3. Diyabet ve Oksitatif Sitres.....	24
2.3. Diyabetik Hayvan Modeli.....	26
2.3.1. Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	26
2.3.2. Diyabet Oluşturmada Kullanılan Yöntemler.....	26
2.3.2.1. Cerrahi Müdahale.....	26
2.3.2.2. Streptozotosin.....	27
2.3.2.3. Alloksan.....	28

2.3.2.4. STZ ve Alloksan Kullanımında Olası Sorunlar...	29
2.4. Antioksidanlar ve Diyabetik Yara.....	30
2.4.1. Antioksidan Etki Mekanizmaları.....	31
2.4.2. Antioksidan Moleküller.....	33
2.5. Yara İyileşmesi ve İnterlökin-1 (IL-1).....	35
2.6. Yara İyileşmesi ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF).....	36
2.7. Yara İyileşmesi ve Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ ).....	36
2.8. Yara İyileşmesi ve Neopterin.....	37
2.9. Söloomik Sıvı.....	38
2.9.1. Genel Özellikleri ve Yapısı.....	38
2.9.2. Hücreyel İmmün Sistem.....	40
2.9.3. Humoral İmmün Sistem.....	41
2.9.4. Toprak Solucanları ve Söloomik Sıvının Tıpta Kullanımları.....	41
2.9.4.1. Kardiyovasküler ve Kan Sistemi Üzerinde Etkileri.....	41
2.9.4.2. Solunum Sistemi Üzerindeki Etkileri.....	41
2.9.4.3. Bacak Ülseri Tedavisindeki Etkileri.....	42
2.9.4.4. Kabakulak Tedavisindeki Etkileri.....	42
2.9.4.5. Egzama ve Ürtiker Hastalıklarındaki Etkileri....	42
2.9.4.6. Yanıkların Tedavisindeki Etkileri.....	43
2.9.4.7. Kırıkların Tedavisindeki Etkileri.....	43
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>44</b>
3.1. Deney Hayvanları.....	44
3.2. Söloom Elde Edilmesi.....	45
3.3. Diyabet Oluşturma.....	46
3.4. Yara Oluşturma.....	46
3.5. Tedavi Uygulama Yöntemi.....	47
3.6. Laba Laboratuvar Çalışmaları.....	47
3.6.1. ELISA Çalışmaları .....	47
3.6.1.1. Malondialdehit (MDA).....	47
3.6.1.2. Katalaz CAT Aktivitesi.....	48
3.6.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	48
3.6.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).....	48

3.6.2. Real Time Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR) Çalışmaları.....	50
3.6.3. Histopatoloji Çalışmaları.....	51
3.7. İstatiksel Yöntem.....	52
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>53</b>
4.1. Grupların Serum MDA Değerleri.....	53
4.2. Grupların Serum Katalaz Değerleri.....	54
4.3. Grupların Serum SOD Değerleri.....	55
4.4. Grupların Serum GSH-Px Değerleri.....	56
4.5. Grupların VEGF Değerleri.....	57
4.6. Grupların IL-1 Değerleri.....	58
4.7. Grupların TNF $\alpha$ Değerleri.....	59
4.8. Grupların Neopterin Değerleri.....	60
4.9. Histopatolojik Bulgular.....	61
4.9.1. Grupların Epitelizasyon Skorları.....	64
4.9.2. Grupların Fibroblast Skorları.....	65
4.9.3. Grupların Makrofaj Skorları.....	66
4.9.4. Grupların Ödem Skorları.....	67
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>68</b>
<b>6. SONUÇLAR.....</b>	<b>76</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>77</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>92</b>
<b>İZİNLER.....</b>	<b>93</b>

## TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Kanda bulunan pıhtılaşma faktörleri.....	7
Tablo 2: Sıçan ve insan derisi arasındaki benzerlikler ve farklılıklar....	19
Tablo 3: Deney ve kontrol grupları.....	44
Tablo 4: Grupların histopatolojik skor ortalamaları .....	59



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Hemostaz evresi hakim hücreleri.....	5
Şekil 2. Yaralanmış damarda pıhtılaşma aşamaları.....	7
Şekil 3. Pıhtılaşmanın ekstrensek basamakları.....	8
Şekil 4. Pıhtılaşmanın intrensek basamakları.....	9
Şekil 5. Protrombinden trombin ve fibrinojenden fibrin iplikçiklerinin Oluşumu.....	10
Şekil 6. İnflamasyon evresi hakim hücreleri.....	12
Şekil 7. Yara iyileşmesi hakimiyetinin günlere göre dağılımı.....	13
Şekil 8. Maturasyon dönemi.....	15
Şekil 9. Hücredeki SOD'un rolü .....	33
Şekil 10. Katalazın kimyasal rolü.....	34
Şekil 11. Glutatyonperoksidazın kimyasal rolü.....	35
Şekil 12. Malondialdehidin kimyasal rolü.....	35
Şekil 13a. Esenia fetida solucan yapısı .....	38
Şekil 13b. Esenia fetida solucandan elde edilen sölomik sıvı.....	38
Şekil 14a. Tam kat kutanöz yara oluşturulmuş sıçan resmi.....	46
Şekil 14b. Primer sütür ile yara yeri kapatılmış sıçan resmi.....	47
Şekil 15. Grupların serum MDA ortalama değerleri.....	53
Şekil 16. Grupların serum CAT aktivitesi ortalama değerleri.....	54
Şekil 17. Grupların serum SOD aktivitesi ortalama değerleri.....	55
Şekil 18. Grupların serum GSH-Px ortalama değerleri.....	56
Şekil 19. Grupların VEGF ortalama değerleri.....	57
Şekil 20. Grupların IL-1 ortalama değerleri.....	58
Şekil 21. Grupların TNF $\alpha$ ortalama değerleri.....	59
Şekil 22. Grupların neopterin ortalama değerleri.....	60
Şekil 23. Söloom grubunda tedavinin 7. günde artmış bağ dokusu.....	62
Şekil 24. Nitrofurazon grubunda 7. gündeki artmış bağ doku oluşumu görüntüleri.....	62
Şekil 25. Söloom+Nitrofurazon uygulanan grupta polimorf nükleer lökosit infiltrasyonu ve Ödem.....	63
Şekil 26. Sham grubun kas dokuya kadar yayılmış polimorf nükleer lökosit infiltrasyonu ve ödem.....	63
Şekil 27. Grupların epitelizasyon skor ortalamaları.....	64
Şekil 28. Grupların fibroblast skor ortalamaları.....	65
Şekil 29. Grupların makrofaj skor ortalamaları.....	66
Şekil 30. Grupların ödem skor ortalamaları.....	67



## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Ac-G</b>	Ac-Globülin;
<b>AHF</b>	Antihemofilik Faktör
<b>BER</b>	Baz Eksizyon Tamir
<b>BMSC</b>	kemik kökenli mezenkimal stromal hücre
<b>CAT</b>	Katalaz
<b>CPPP</b>	3-(2-chlorophenyl)-1-phenyl-propenone
<b>Ct</b>	Threshold Cycle
<b>EGF</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>GLUT2</b>	Glukoz Taşıma Proteini 2
<b>GpIIb/IIIa</b>	Glikoprotein IIb/IIIa
<b>GSH-Px</b>	Glutasyon Peroksidaz
<b>GR</b>	Glutasyon Redüktaz
<b>GSH</b>	Redükte Glutasyon
<b>GST</b>	Glutasyon S-Transferaz
<b>HbA1c</b>	Glikolize hemoglobin
<b>IDDM</b>	İnsüline Bağımlı Diyabet
<b>IFN-<math>\alpha</math></b>	İnterferon Alfa
<b>IGF-1</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
<b>IL-1</b>	İnterlökin-1
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>NAD</b>	Nikotinamid Adenin dinükleotid
<b>NADPH</b>	Nikotinamid Adenin dinükleotid Hidrojen Fosfat
<b>NFkB</b>	Nükleer Faktör Kappa B
<b>NIDDM</b>	İnsüline Bağlı Olmayan Diyabet
<b>OH</b>	Hidroksil İyonu
<b>PARP</b>	Poli ADP-Riboz Polimeraz
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Tepkimesi
<b>PDGF</b>	Trombosit Türevli Büyüme Faktörü
<b>PTA</b>	Plazma Tromboplastin Antesedanı
<b>PTC</b>	Plazma Tomboplastin Komponenti
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD</b>	Süper Oksit Dismutaz
<b>STZ</b>	Streptozotosin
<b>TFPI</b>	Doku Faktörü Yolu İnhibitörü
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta
<b>TNF</b>	Tümör Nekroz Faktör
<b>TXA2</b>	Tromboksan A2
<b>VEGF</b>	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

## 1. G R

Yara olu umu ve olu an yaranın iyile mesi insanlık tarihi kadar eski olmasına ra men halen tam çözümlenememi bir sorundur. Bu uzun tarihsel süreçte, insanlı ın ilgi oda ı olmu tur ve bu ilgi hiç eksilmeden devam etmektedir. Yara iyile mesine yönelik ula ılan en eski kayıtlar MÖ. 6000 yılına aittir ve sirke tedavisi üzerinedir (Ryssel ve Kloeters 2009). MÖ. 5. yüzyılda dünyaya gelmi olan Hipokrat primer ve sekonder yara iyile mesi tanımını yapmı ve hem bitkisel hem de hayvansal kaynaklı içerikler tedavi maksatlı kullanmı tır (Kö lü 1996).

Yara vücudun herhangi bir yerindeki dokunun travma, ameliyat veya ba ka nedenlerle devamlılı ının bozulmasıdır (Yazır ve ark. 2004). Yara iyile mesi ise bu hasarlanan dokunun anatomik ve fizyolojik özelliklerini, normal süreklili ine geri kazandırmak üzere, yaralanma anından itibaren ba layarak iç içe geçmi evrelerden olu an fizyolojik bir onarım sürecidir (Güllü ve Akalın 2005; Shalaby ve ark. 1995). Bu sürecin a amaları ise hemostaz, inflamatuvar infiltrasyon, proliferasyon ve maturasyon (remodellenme) olmak üzere dört kısımdan ibarettir (Karasu ve Bakır 2008).

Yara iyile mesi oldukça karma ık ve halen günümüzde tam olarak açıklanamamı bir süreçtir (Broughton ve ark. 2006). Bu da bilim adamlarını sürekli olarak ısrarlı bir ekilde çalı malara ve yeni materyal arayışına sevk etmektedir. Biyolojik pansuman materyalleri de bunlara örneklerdendir. Yara yerine larva uygulaması geçmi te birçok klinikte kullanılmı tır (Kö lü 1996, Erbil 2002). Yine 1910 yılında Dawis plesantanın amnion ve korion katmanlarını biyolojik pansuman materyali olarak kullanmı tır (George ve ark. 2002). Özellikle Çin ve di er uzak do u ülkelerince çe itli hastalıklarda kullanılmı ve fayda görülmü olan toprak solucanları kutanöz yara iyile mesi üzerine de iyi gelebilme ihtimali olan biyolojik bir pansuman materyalidir. Çünkü bu canlıların yaralandıkları zaman kendilerini iyile tirme süreçleri çok hızlı olmaktadır. Solucanlarda daha önce Kauschke ve arkadaşlarının 1997, Bilej ve arkadaşlarının 2001 de, Wang ve arkadaşlarının 2006 da, Adamomowicz ve Wojtaszek'in, 2011 de yapılan çalı malarda sölomik sıvının

humoral ve hücrel immün sistemde görev aldıkları ortaya konmuştur. Söloomik sıvının savunma sistemine sağladığı bu katkı nedeniyle yara iyileşmesine de olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca modern tıptaki gelişmelerle toprak solucanlarından, tıbbi etkileri kanıtlanmış lumbrofibrin, lumbritin, terrestrolumbrolizin, hipoksantin gibi maddeler izole edilmiştir. Toprak solucanların da riboflavinden kaynaklanan yeşil renkli klorogogen hücreleri ve dokularında yüksek oranlarda karbonhidrat, lipid, protein, pigment ve çeşitli alkalın aminoasitlerin bulunduğu saptanmıştır (Jiangsu, 2011). Bu içeriklerin de yara iyileşmesine pozitif katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. Söloomik sıvı eldesi aynı solucandan birden çok kez mümkün olması üstelik bu solucanların üretiminin maliyetinin ve zahmetinin çok olmaması bir avantaj olarak değerlendirilmiştir.

Hastalarda yaranın iyileşmesini etkileyen gerek sistemik ve gerekse lokal ek bir olumsuz etkenin duruma etkilemesi iyileşmeyi geciktirmektedir (Gurtner ve ark. 2007; Williams ve ark. 2003). Diyabet hastalığında da bu bağlamda yara iyileşmesini olumsuz etkileyen en önemli sistemik faktörler arasında yer almaktadır (Brem ve ark. 2007). Diyabet ve yara günümüz artlarında dahi tüm dünyada yüksek mortalite ve morbitide hızına sahip olup büyük tedavi giderlerine ve iş gücü kaybına neden olmaktadır. Ayrıca hasta açısından ve ülke ekonomileri açısından sorun olmaktadır (Yönem 2011; Tarcan 2003). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre 2030 yılında diyabetin prevalansının ülkemizde 6.422.000 olacağı öngörülmektedir. Bu sebeple yara iyileşmesi ile ilgili olan çalışmalarımız da deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçan modelini kullanmayı tercih ettik.

Bu tez çalışmasında amaç; söloomik sıvının diyabetlilerde yara iyileşmesine katkısının olup olmadığını tespit etmek ve mevcut tedavi yöntemlerinden biriyle kombine edildiğinde etkileşimin ne şekilde olacağını belirlemektir. Böylece elde edilen verilerin yara iyileşmesinde yeni tedavi yöntemleri geliştirilmesinde yol gösterici olacağını ümit ediyoruz.

## 2. GENEL B LG LER

### 2.1. YARA

Vücutun herhangi bir yerindeki dokunun travma, ameliyat veya başka nedenlerle devamlılığının bozulmasına yara denir (Arab ve ark. 1994). Yara iyilemesi ise travmalar ya da cerrahi işlemler sonrasında oluşan fizyolojik bir tamir sürecidir. Yara iyilemesi dört fazdan oluşur. Bu fazlar birbiri içerisine girmiş olup sınırları keskin olarak ayırt edilemez. Bu fazlar hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, maturasyon (remodelleme) fazlarından oluşmaktadır (Broughton ve ark. 2006, Yamaguchi ve Yoshikawa, 2001). Bu evrelerde oluşan bir aksaklık iyileşmenin yetersizliği ile sonuçlanır veya kronikleşmesine neden olur (Gülen ve ark. 2010). İyileşmeyen yara hem hasta için hemde doktor için önemli sorun oluşturur. Yara iyileşmesinde önemli bir basamak olan kollojen sentezi oksijen bağımlı olarak çalışır. Yara dokusunda oksijenlenmenin bozulması yara iyileşmesinin gecikmesine sebep olur. (Isenberg ve ark. 2005). Bir yaranın sebebi ne olursa olsun biyokimyasal olarak oksidatif stres artışı ön plana çıkmaktadır (Lowenstein ve ark. 1994). Yaralarda inflamasyon artışı olmaktadır. İnflamasyon artışı dokuda harabiyete sebep olmaktadır. Sonuç olarak tıpta yara iyileşmesi gecikir veya durabilir. (Özler ve ark. 2009).

Yaralar akut ve kronik olarak ikiye ayrılır. Akut yaraların onarım süreci düzenli ve zamanında gelişir. Anatomik ve fonksiyonel bütünlükün daha iyi kazanıldığı yaralardır. Genel olarak zamanında iyileşmeyen yaralar kronik olarak kabul edilir. Kronik yaralar ise onarım düzenli ve zamanında olmadığı için, yeterli anatomik ve fonksiyonel düzelmenin olmadığı yaralardır. Kronik yaralar; bası yaraları (dekübit), kronik bacak ülserleri, venöz ülserleri ve diyabetik bacak ülserleri bu tanıma giren örneklerdir. Kronik yaralarda büyüme faktörleri azaldığı için proliferasyon evresi gecikir. Bundan dolayı yara iyileşmesi gecikmektedir. Kronik yaraların iyileşmesinde yaş, cinsiyet, iskemi, enfeksiyon, ödem, malnütrisyon ve immün sistemin rolü vardır (Hamaloğlu ve Mersin, 2003).

### 2.1.1. YARA İYİLEME TİPİLERİ

Üç tip yara iyilemesi tipi vardır (Rohrich ve Robinson 1999):

#### a. Primer iyileme

Enfeksiyon ve doku kaybının olmadığı yaralarda yanakların birbirine yaklaştırılarak kapatılması sonucu oluşan iyilemedir. Bu iyilemenin geç kapanan formu da bulunmaktadır. Açık bırakılan yarada anjiyogenez ile doku kanlanması ve oksijenizasyonu artar. Olay yerine gelen lökositler, bakterileri yok ederler ve yara dudakları yakınlara yaklaştırılarak kapatılır.

#### b. Sekonder iyileme

Yara alanında granülasyon dokusunun gelişmesi beklenerek, rejenerasyon ve reepitelizasyon gelişmesinin meydana geldiği iyilemedir. Primer iyilemeye göre enfeksiyon yoktur ve bundan dolayı inflamatuvar evre uzamıdır.

#### c) Tersiyer iyileme:

Sekonder iyilemeye bırakılan yaraların artları uygun hale geldiğinde sütür atılarak kapatılmasıdır.

### 2.1.2. YARA İYİLEME FİZYOLOJİSİ

Yara iyilemesi 4 evreden oluşur. Olaylar birbirinin içerisine girer ve ayırt edilemeyecek durumdadır.

#### **Bu evreler:**

- a) Hemostaz
- b) İnflamasyon
- c) Proliferasyon
- d) Matürasyon (Yeniden modellenme) (Broughton ve ark., 2006).

#### **A) Hemostaz**

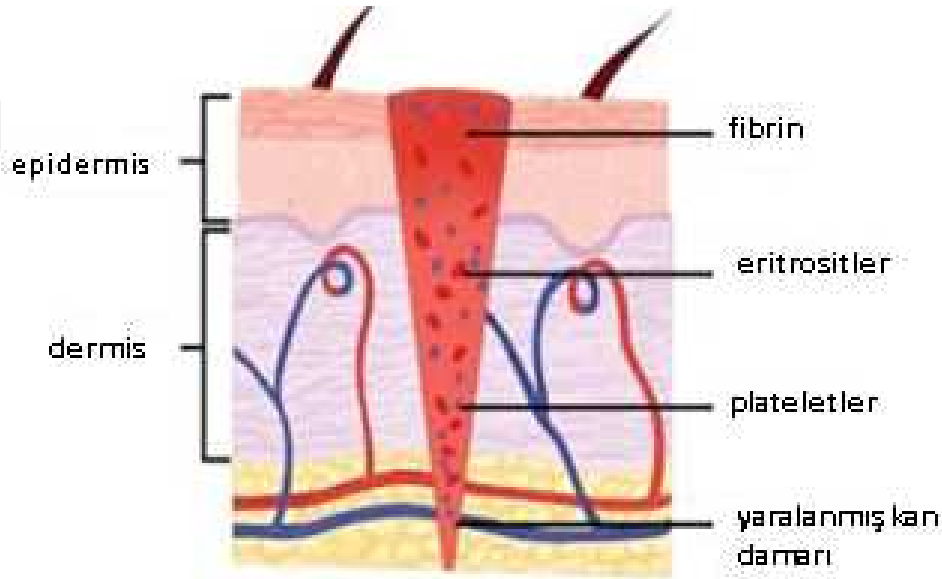
Kan kaybının fizyolojik olarak sistematik bir şekilde durdurulması için hemostaz denir (Roberts 2004). Hemostazda terazinin bir ucunda kanın durdurulması varsa diğer ucunda ise kanın aırı pıhtılaşmasını önlemek vardır (Schenone ve ark. 2004). Hemostazdaki sistematik mekanizmalar zincirinin ana bileşenleridir.

- 1 Vasküler kasılma
- 2 Trombosit tıkaç oluşumu

3 Koagulasyon süreci ve pıhtı oluşumu

4 Hemostazın sonlanması ve fazla gelen pıhtının eritilmesi (Guyton ve Hall, 2011).

Vasküler cevap ile trombosit tıkaç oluşmaları primer hemostaz evresini teşkil ederken koagülasyon aşaması ise sekonder hemostazdır (Atalan, 2013). Günlük yaşamdaki küçük çaplı hasarlanmalarda primer hemostaz ile soruna çözüm aranırken daha büyük hasarlarda sekonder hemostaza daha çok gereksinim duyulur (Morgan ve ark. 2008). Hemostaz evresindeki kütanöz yaradaki hücre hakimiyeti eritrosit ve plateletlerdir ( ekil 1).



ekil 1. Hemostaz evresi hakim hücreleri (Ülger 2015)

### 1. Vasküler Kasılma

Oluşan hasara ilk yanıt geçici vazospazmdir; bu işlem lokal myojenik yolla veya refleks nörojenik mekanizmalarla ya da hormonal faktörler ile sağlanır (Roberts ve ark. 2004). Dokudaki hasar bir taraftan da Hageman faktörü (faktör XII) de uyularak da pıhtılaşma sistemini tetiklemeye olur (Roberts ve ark., 2004).

### 2. Trombosit Tıkaç Oluşumu

Endotel yüzeyinde olmayıp ancak subendotelyal alanda var olan adheziv bazı glikoprotein yapıdaki moleküller endotel bütünlüğünün bozulması ile açığa çıkarlar (Rubin ve ark. 1993). Açığa çıkan bu moleküller trombositlerle temas edince trombositlerde bir takım değişikliklere neden olurlar ve pıhtılaşma

mekanizmasında görev alacak olan moleküllerin birbiri arasındaki bağlantıları sağlarlar (Morgan ve ark. 2008). Trombositler önce ierler, yüzeyleri düzensiz ve psödopodları olurlar sonra kasılma özelli i olan proteinler güçlüce kasılarak aktif faktörler içeren granülleri serbestleştirirler. Daha sonra trombositler yapı ma özelli i kazanırlar ve von willebrand faktörü adı verilen bir proteine tutunurlar. Böylece trombositler hasarlı bölgeye yapışması (adezyon) kolaylaşır, subendotelial bölgeye yapışan trombositlerden ortama granüller salgılanır (sekresyon), granüller ise tromboksan A2 (TXA2) içerir. Glikoprotein IIb/IIIa (GpIIb/IIIa) gibi reseptörlerin varlığında daha önce endotelin ile bağlayan vazokonstriksiyonun devamı sağlanır (Atalan 2013). Bir taraftan kalsiyum varlığında faktör XII ile bağlayan koagülasyon sistemi aktiflerken di er taraftan adenosin di fosfat (ADP) varlığında TXA2 trombosit agregasyonunu uyarır ve endotel üzerinde tıkaç olurlar (Morgan ve ark. 2008).

### **3. Koagülasyon Süreci ve Pıhtı Oluşumu**

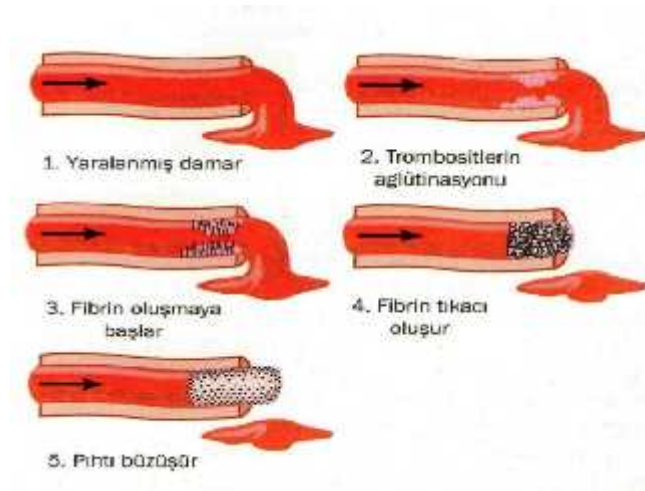
Yaralanmalarda damar hasarı büyükse pıhtılaşma 15-20 saniyede oluşmaya başlarken daha küçük damar duvarı hasarlarında bu süre 1-2 dakikayı bulabilmektedir. Pıhtılaşmanın başlaması çok sayıda inaktif pıhtılaşma faktörünün aktif hale dönüşmesiyle gerçekleşir (Tablo 1). Damar yaralanmasından sonraki pıhtılaşmanın fiziksel olayları ekil 2’de gösterilmiştir. İnaktif komponentlerin aktif hale dönüşümünün her biri bir reaksiyon basamağı olup fosfolipit kompleksinde toplanan enzim substrat ve kofaktörden oluşup kalsiyum iyonuna ihtiyaç duyar. Böylece reaksiyonların etkilenen bölgede sınırlı kalması sağlanmıştır (Bennet 1991).

Pıhtılaşma basamakları 3 ana başlıkta toplanır:

- a- Protrombin aktivatörünün oluşum basamağı
- b- Protrombinin protrombin aktivatörü ile trombine dönüşüm basamağı
- c- Fibrinojenin trombin ile fibrin iplikçiklerine çevrilmesi basamağı

**Tablo 1.** Kanda bulunan pıhtıla ma faktörleri

<b>KANDA BULUNAN PIHTILA MA FAKTÖRLER</b>	
<b>Pıhtıla ma Faktörü</b>	
Faktör I	Fibrinojen
Faktör II	Protrombin
Faktör III	Doku Faktörü; Doku Tromboplastini
Faktör IV	Kalsiyum
Faktör V	Proakseleri = Labil faktör = Ac-globülin = (Ac-G)
Faktör VII	Serum protrombin konversiyon akselaratörü (SPCA)
Faktör VIII	Antihemofilik faktör (AHF) = antihemofilik globülin
Faktör IX	Plazma tomboplastin kompenenti (PTC) = Christmas
Faktör X	Stuart faktörü = Stuart – power faktörü
Faktör XI	Plazma tromboplastin antesedanı (PTA)
Faktör XII	Hageman faktörü
Faktör XIII	Fibrin stabilize edici faktör
Prekallikrein	Fletcher faktörü
Yüksek molekül	fitzgerald faktörü = High - moleküler = weight –
Trombositler	Platelet



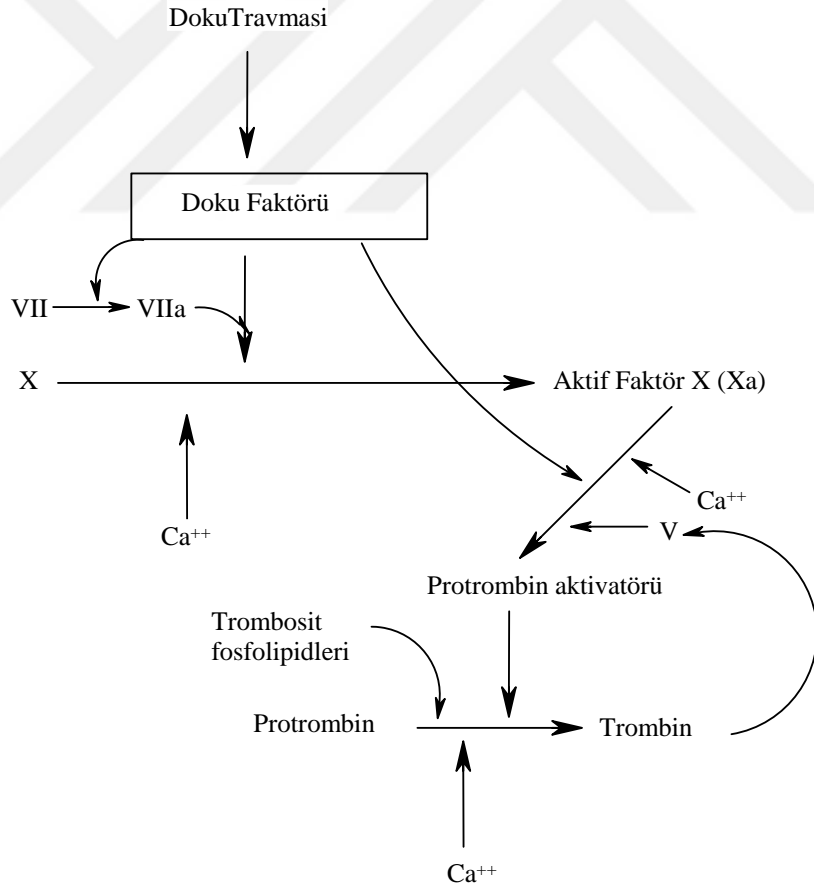
**ekil 2.** Yaralanmı damarda pıhtıla ma a amaları (W.H. Seegers: hemostatik ajanlar. Springfield, III., Charles C Thoas 1948 den modifiye edilmi tir).



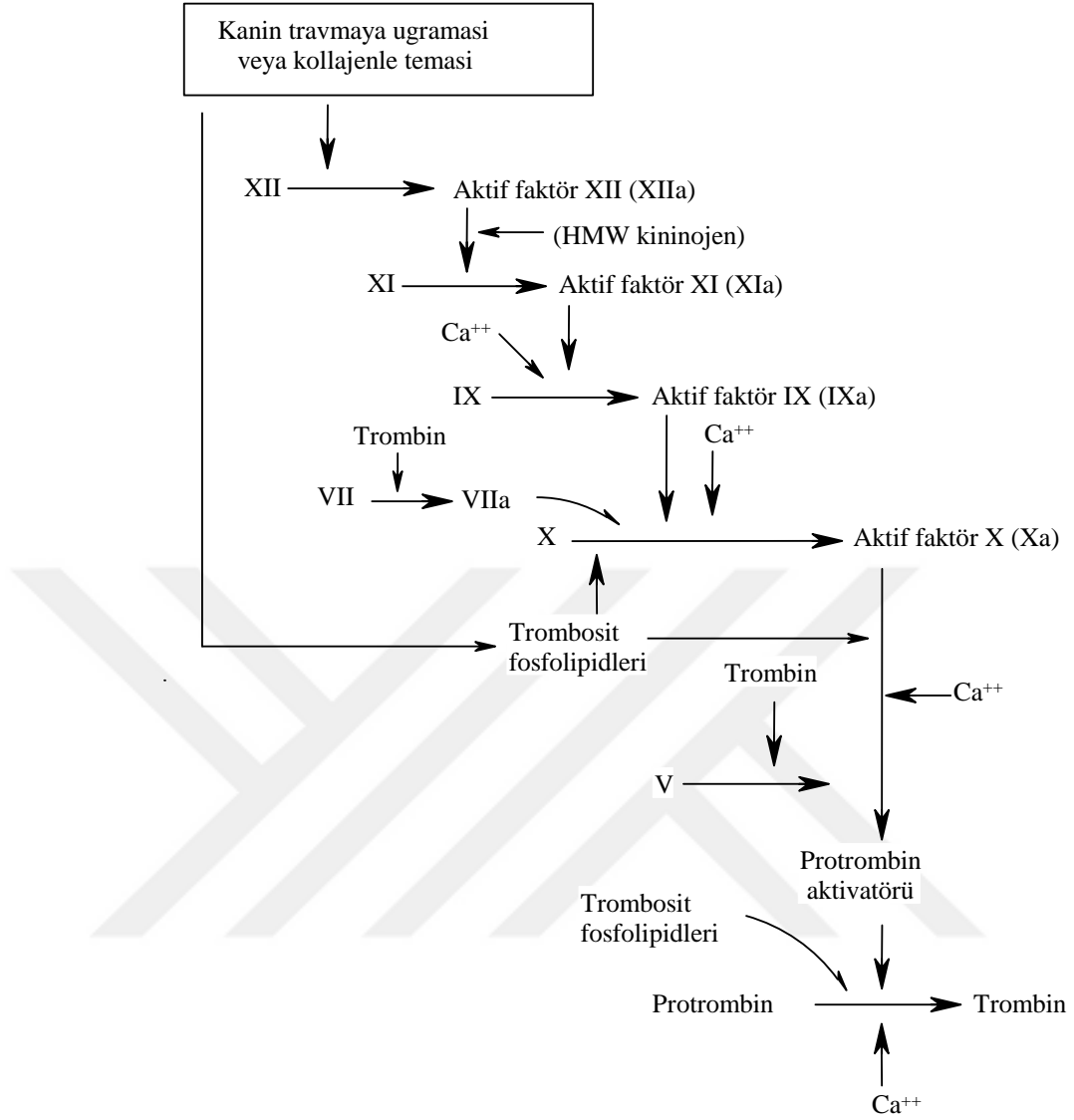
### a. Protrombin Aktivatörünün Yapımı

Yara oluşumunda damar zedelendiği zaman bir taraftan hasarlanan damar ve çevre dokusu içerisindeki moleküllerin aktifleşmesiyle (ekstrensek mekanizma) ve diğer taraftan da kanın içinde bulunan moleküllerin aktifleşmesiyle (intrensek mekanizma) protrombin aktivatörü yapımlaştırılır. Bu mekanizmaların her ikisi de sürekli olarak birbirleriyle etkileşim halindedirler (Szanto ve ark. 2012).

Bu her iki mekanizma pıhtılaşma faktörleri adı verilen bir dizi plazma proteinleri içerir. Bu proteinler çoğunlukla proteolitik enzimlerin inaktif formlarıdır. Ekstrensek yolun ana başlatıcı faktörü faktör III iken intrensek yolun ana başlatıcı faktörü faktör XII dir. Basamak basamak aktif form dönüşümü gerçekleşirken reaksiyonlar zincirleri ve protrombin aktivatörünü oluşturur ( ekil 3 ve ekil 4).



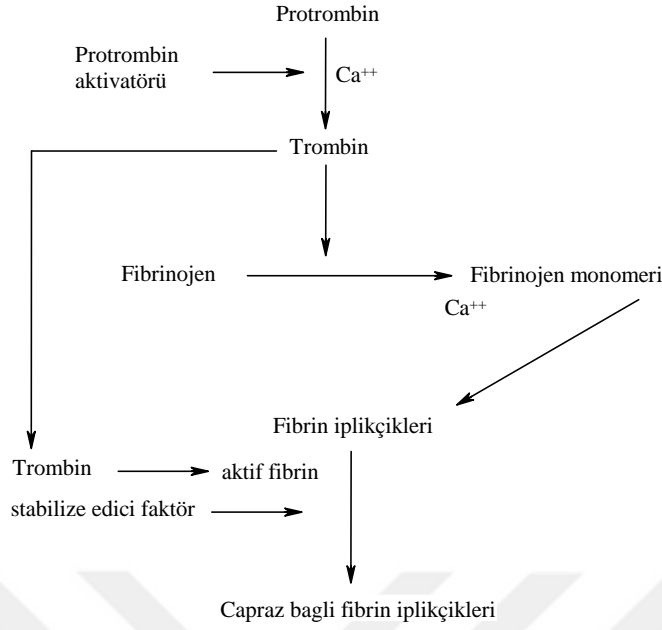
ekil 3. Pıhtılaşmanın ekstrensek basamakları.



ekil 4. Pıhtıla manın intrensek basamakları.

### b. Protrombinin Trombine Dönü ümü

Protrombin aktivatörü olu tuktan sonra ortamdaki kalsiyumunda tepkimeyi katalizlemesiyle protrombin trombine dönü türülür ( ekil 5). Olu an trombin bir yandan faktörlerden V, VIII, IX, XI'i aktive ederken bir yandan da trombositlerin agragasyonunu ve aktivasyonunu uyarır böylece daha çok protrombinden trombin olu turulmu olur (Linden 2013).



**ekil 5.** Protrombinden trombin ve fibrinojenden fibrin iplikçiklerinin oluşumu.

### c. Fibrinojenin Fibrine Dönüşümü ve Pıhtı Oluşumu

Trombin oluşuktan 10-15 saniye sonra fibrinojenlerin fibrin iplikçiklerine polimerizasyonuna neden olur. Trombin, proteolitik etkiye sahip olup her bir fibrinojen molekülünden dört küçük moleküllü peptidi ayırır ve fibrin monomeri oluşturur. Saniyeler içerisinde fibrin monomerleri polimerizasyon ile fibrin iplikçiklerine dönüşür. Fibrin iplikçikleri ise pıhtının retikulumunu oluşturur. Ayrıca trombin faktör XIII ü de aktifleştirerek fibrin iplikçikleri arasında istenilen stabil pıhtıyı oluşturur (Colman ve ark. 2001).

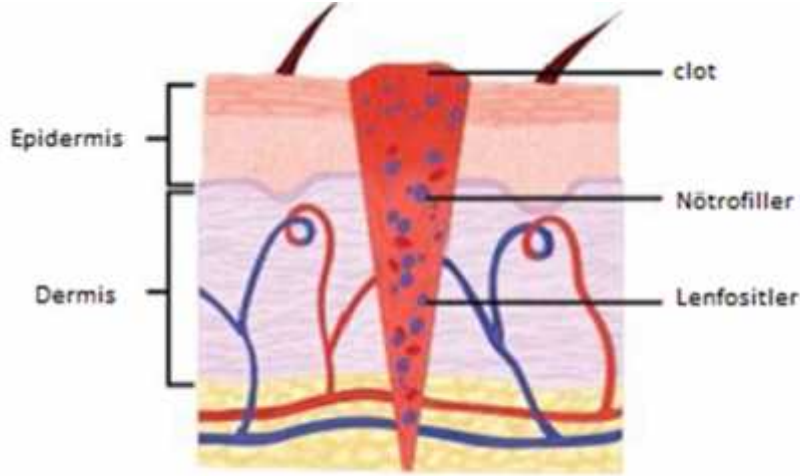
Trombin oluşumu aynı zamanda fibrin stabilize edici faktörü de aktive eder. Trombosit kaynaklı bir madde ile de bu işlem gerçekleştirilir. Fibrin stabilize edici faktör aktifleştirilince fibrin monomerleri arasındaki zayıf nonkovalan hidrojen bağlarının yapısını etkiler ve fibrin monomerleri arasındaki kovalent bağlar ile komşu fibrin iplikçikleri arasında çapraz bağlar oluşmasını sağlar ve böylece fibrin ağının üç boyutlu yapısı kuvvetlendirilir. Böylece oluşan fibrin yumağı her yöne uzanabilen plazmayı, trombositleri ve diğer kan hücrelerini içinde barındıran bir yapı halini almış olur. Bu yapı hasarlanan damarların yüzeyine yapışır yırtılmayı kapatır ve kan kaybını önler.

#### **4. Hemostazın Sonlanması ve Fazla Gelen Pıhtının Eritilmesi**

Pıhtı oluştuktan sonra iki farklı mekanizma ile bunlardan ilki fibroblastlarında etkisiyle ba dokusuna dönüşüm ikincisi ise oluşan pıhtının fazlasının eritmesidir, böylece hemostatik dengenin korunması sağlanır. Yani pıhtılaşma sonsuza dek gidemez bir yerde durdurulması gerekir. Bu da dolağımdaki mevcut antikoagulanlar, endotel kaynaklı moleküller ve karaciğer metabolizasyonu sayesinde sağlanır (Guyton ve Hall, 2011). Dolağımda endojen antikoagulanlara örnek antitrombin III, Protein S, Protein C ve doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI) dır (Clemetson, 2012). Endotel kaynaklı pıhtılaşmayı önleyici moleküller ise heparin benzeri bir molekül olup antitrombin III'ü aktive eder. Bu da koagülasyon sırasında oluşan serin proteazlarını inhibe eden ba lıca moleküldür. (Hathcock 2004). Antitrombin III ayrıca aktif faktörler olan IXa, Xa, XIa, XIIa, TF-VIIa kompleksinin ve trombinin inhibitörüdür. Diğer taraftan antitrombin III Protein S ve Protein C nin aktivasyonunu artırır. Sonuçta koagülasyon sistemi durdurulmuş olur (Adams ve ark. 2007). Hemostaza ihtiyaç bitince sonlandırma kısaca böyle özetlenirken diğer yandan oluşan ihtiyaç fazlası pıhtı ise fibrinolitik sayesinde eritilir. Fibrinolitik; plazmin ile fibrini bir arada fibrin iplikçiklerini eritmesidir ve fibrinin yıkım ürünlerine dönüşmesidir (Diethorn ve Weld 1989).

#### **B) İnflamasyon**

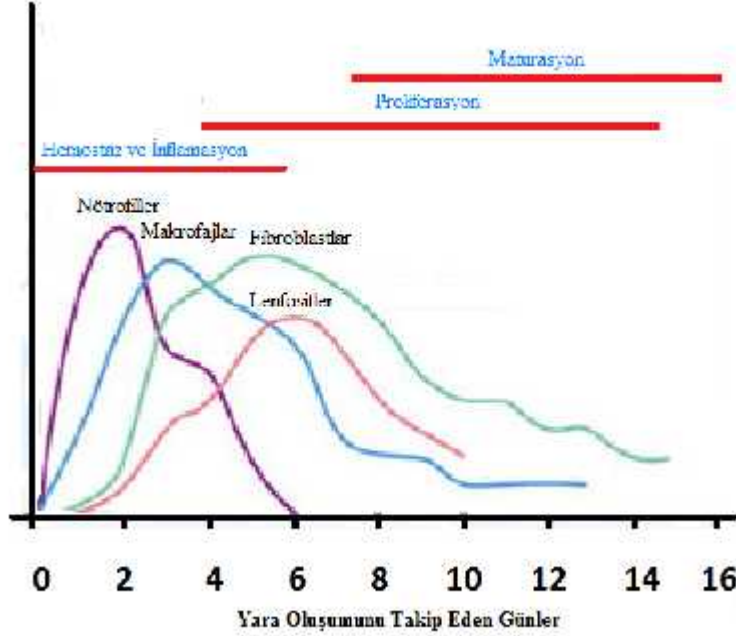
Yaralanmanın erken dönemlerinde vazokonstriksiyon olurken yaklaşık 20 dakika sonrasında serotonin, histaminler ve prostoglandinler aracılığıyla vazodilatasyon gelişir. Yara bölgesinde kırmızımsı bir görünüm olur. Trombositlerden salgılanan faktörler, pıhtılaşma mekanizmasında açığa çıkan bradikinin gibi ürünler ile hasar bölgesinde nekrozdaki kaynaklanan faktörler yara çevresindeki endotel geçirgenliğini artırarak damar dışına plazmanın difüzyonuna ve ödeme sebep olur. İnflamasyonun hakim hücreleri nötrofiller ve lenfositlerdir ( ekil 6).



**ekil 6.** nflamasyon evresi hakim hücreleri (Ülger 2015)

Primer sütür uygulanan cerrahi kesiler de yarayı pıhtı doldurur ve yara da bir dayanıklılık olu turur. Pıhtının dehidre olması ile yara kabu a dönü ür. Olu an kabuk yarayı enfeksiyondan koruyup sekonder kanamayı önler. Pıhtıla mada ilk olarak kan dola ımı yoluyla lökositlerden nötrofiller gelir (Parslow ve Bainton, 1997). İnflamasyonun ilk hücresi nötrofillerdir. Nötrofiller 24 ve 48. saatte maksimum seviyeye olu ur (Brunicardi ve ark., 2005). Nötrofiller savunma sisteminde görev yaparak hücre yıkım ürünlerini, bakterileri ve vücuda giren di er yabancı cisimleri uzakla tırırlar (Regan ve Barbul, 1994). Nötrofiller granüllerden jelatinaz, elastaz, kollajenaz gibi proteazlarla birlikte reaktif oksijen türleri de salınmakta ve bu proteazlarda nekrozu debride etmektedir. Enfeksiyon yok ise yaranın 3. gününden sonra hızla azalır. Görevlerini tamamlayan nötrofiller ölüp o bölgeyi makrofajlarla (sistemik dola ımdaki monositlerden kaynaklanan mononükleer fagositik hücreler) uzkla tırırlar (Erbil, 2002). Yara bölgesine gelen makrofajlar interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-8 (IL-8) gibi proinflamatuvar peptitler ve tümör nekroz faktör (TNF) salınımı ile yara iyile mesinde görev yaparlar (Jones ve ark. 2004). Makrofajlar, TNF , trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF), nsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- ) ve IL-1 salgıladı ı önemli sitokinlerdir. Damar dı na çıkan monositler, interlökin-2 (IL-2) ve interferon alfa (IFN- ) ile aktive olarak TGF- salarlar. TGF- akut inflamasyon hücrelerinin toplanmasını sa lar. Yara

onarımı pıhtı ve nötrofiller tarafından başlatılıp makrofajlar tarafından devam eder. ( ekil 7.) Enfeksiyonlu yaralarda makrofajların maksimum stimülasyonu, inflamatuvar fazın uzamasına ve skar dokusu oluşumuna sebep olabilir.



**ekil 7.** Yara iyilemesi hakimiyetinin günlere göre dağılımı (Sabiston Textbook of Surgery. The Biological Basis of Modern Surgical Practice. 18 th edition. Elsevier Saunders; 2008 den modifiye edilmiştir)

Diyabetiklerde fonksiyonel olarak ayrılan makrofaj alt tiplerinde farklılıklar saptanmıştır. Öldürücü makrofaj miktarı artarken, onarım makrofajları miktarı azalmıştır. Makrofajlardaki degranülasyon miktarını da artırarak, fibroplazi ve anjiyogenezi uyaran ve proliferatif faza geçişini uyaran faktörleri baskılamaktadır. Diyabetiklerde, makrofajlardan PDGF ve IGF-1 salınımı azalırken, inflamatuvar sitokinler artmaktadır.

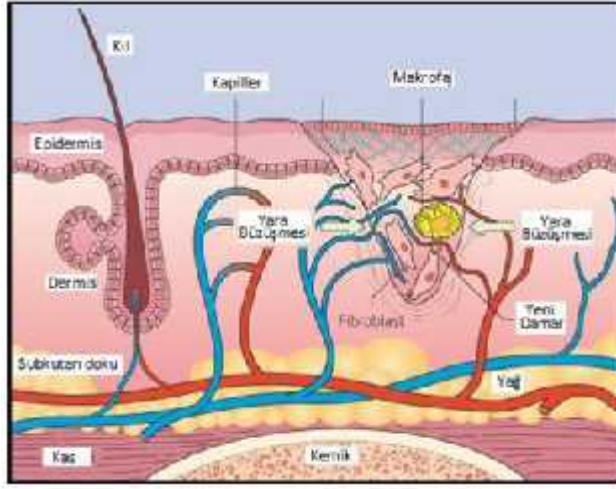
Bir hücreye özgü olan ve bunlar üzerinde büyüme sağlayan protein yapıdaki endokrin sistem molekülleri genel olarak büyüme faktörleri olarak adlandırılır. Hücrenin büyüme ve çoğalmasında büyüme faktörlerinin temel rol oynadığı gözlenmektedir (Burçak ve ark. 2002). Büyüme faktörleri granülasyon dokusunu uyarıp epitelizasyonu hızlandırarak yara iyileşmesinin inflamasyon fazında makrofajların uyarılması ile üretilirler (Broughton ve ark. 2006).

### **C) Proliferasyon**

Bu evre yaralanmanın 5. ve 7. günlerinde kollajen sentezinin artmasıyla pik yaparak 15-21. güne kadar kalırlar. Fibroblastların baskın olmasıyla yara granülasyon dokusu yaralanmanın 3. ve 6. günlerinde başlar. Fibroblastlar mezenimal ve perivasküler adventisyadan köken alarak, yeni gelişen kapiller boyunca sitoplazmik uzantılar oluşturarak yaranın içine doğru hareket ederler. Fibroblastlar onarımın temel elemanlarıdır ve yara onarım sürecinde bazı yapısal proteinlerin üretiminden sorumludur. Granülasyon dokusu fibroblast ve inflamasyon hücrelerinin birleşiminden oluşur. Granülasyon kelimesi yara yüzeyindeki dokunun parlak kırmızı granüller görünümünden gelmiştir. Granülasyon dokusu sistemik yara enfeksiyona bariyer görevi üstlenerek açık yaranın iyileşmesini sağlayarak epitel hücrelerinin göç etmesine zemin sağlar (Kaya ve ark. 2005).

### **D) Matürasyon**

Maturasyon evresi yara iyileşmesinin son basamağı olup remodelling dönemi diye de adlandırılan yaklaşık bir yıl kadar devam eden en uzun süreçtir (Şekil 8). İyileşmenin bu evresinde yara yerindeki fibroblastların sayısı azalmış, epitizasyonun tamamlanmış ve kırmızı yara rengi de soluklaşmıştır (Kaya ve ark., 2005). Hücresel ve vasküler yapıdan zengin granülasyon dokusu daha az hücresel ve vasküler özelliğe sahip olan skar dokusuna dönüşür. Bu dönüşüm kısmen hücrelerin göçüyle kısmen de apoptoz yoluyla olmaktadır. Kollajen yıkım ve sentezi bir dengeye ulaşmıştır (Karasu ve Bakır 2008). Maturasyon döneminde yara gerim kuvveti artar yara gerim kuvveti inflamasyon döneminde % 10 ve proliferasyon döneminde % 45 iken maturasyon döneminin 3. ayında % 80' lere ulaşır. Ancak hiçbir zaman % 100 yara gerim kuvvetine ulaşamaz (Arslan 2003). Bu yara gerim kuvvetinin kollajen fiberlerin kalınlığı ve düzeniyle pozitif bir korelasyonu vardır (Karasu ve Bakır 2008).



**ekil 8.** Maturasyon dönemi (Kirsner R. Wound Healing. In: Bologna J, Jorizzo J, Rapini R, eds. Dermatology. 2nd ed.: Mosby Elsevier, 2008 (vol 2):2147-58)

### **Kollajen Sentezi:**

19 ayrı tip kollajen vardır. Her zincir yüksek frekansla tekrarlayan glisin-prolin-hidroksiprolin sekanslarından oluşur. Normal dermiste %80 tip I kollajen varken, % 20 tip III kollajen bulunur. Yara iyileşmesinin 3-4. günü tip III kollajen fazla iken ilerleyen günlerde tip I kollajen miktarı artar. Yaralanmanın ilk haftasında sentezlenen kollajen, kollajen liflerinin çapraz bağlanması ile yara dokusunu sarar. Ne kadar çapraz bağ fazla ise sarı o kadar fazladır. Kollajen, deri, kemik ve tendon bağta olmak üzere birçok dokunun yapısal proteindir. Kollajenin yapısında en fazla miktarda hidroksiprolin ve hidroksilizin aminoasitleri bulunmaktadır. Kollajenin temel görevi, dokuların deformasyona karşı dirençli olması ve dokuların şekillenmesini sağlamaktır. Yaralanmanın ilk haftasında kollajen sentezi pik seviyeye ulaşır (Karasu ve Bakır 2008).

### **2.1.3.YARA İYİLEŞMESİNDEKİ MEKANİZMALAR**

**Anjiyogenez:** Kan damarlarının embriyonik gelişiminde anjioblast olarak isimlendirilen endotel hücrelerinden primitif bir vasküler ağın oluştuğu vaskülogenez ile oluşur. Kısaca erişkinlerde endotel hücrelerinden yeni kan damarı oluşumu olarak tanımlanabilir. Anjiyogenez kronik inflamasyon ve fibroziste, tümör büyümesinde ve iskemik doku vaskülarizasyonunda çok önemlidir. Yara iyileşmesinde fibroblastların proliferasyon süreci ile anjiyogenez paralel olarak gelişebilir. Yara iyileşmesinde mezenchimal



hücrelerin göçü, proliferasyonu ve sentezi için gerekli oksijen ve enerji, yeni kan damarlarından sağlandı için anjiyogenez yarı iyilemesinde çok önemli rol oynar (Karasu ve Bakır 2008).

**Epitelizasyon:** Çiğ ve dış ortamda epidermis bariyer olarak görev yapar. Epitelizasyon yaralanmadan 1-2 saat sonra başlar. Çiğ ortamdan sıvı ve elektrolit çıkışını engellerken, dış ortamdan yabancı madde girişini engeller. Epitel hücreleri trombositler, büyüme faktörleri ve makrofajların etkisi ile yara alanına göç eder. Epitelizasyon yarı iyilemesi esnasında epitel hücrelerinin çoğalmasını kapsayan bir süreçtir.

**Yara Kontraksiyonu:** Kontraksiyon yaralanmanın 5-12. günlerinde maksimum düzeye ulaşır. Oluşan yaranın kapanması için yara uçlarından merkeze doğru hareket ederek yarayı küçültür ve günlük yaklaşık 0,6 mm ilerler. Granülasyon dokusu deri kenarlarını içe doğru çeker ve böylece epitelizasyon ile kapatılacak alan azalır. Granülasyon dokusu içindeki fibroblastlar, yapı ve fonksiyon olarak farklıdır kontraktil yeteneğine sahip myofibroblast denen düz kas hücrelerine benzeyen bir yapıya dönüşürler. Bu hücreler sadece yara dokusunda bulunur, sağlam baskı dokuda ise bulunmazlar ve aktin-miyozin benzeri yapılar içerirler. Yaraların ekline göre, yara kontraksiyonu ve skar oluşumu da değişir (Karasu ve Bakır 2008).

#### **2.1.4. YARA İYİLEME SINIFLANDIRILAN ETKİLEYEN FAKTÖRLER**

Yarı iyilemesi esnasında gelişen olayların bir kısmı bilinerek, bir kısmı da bilinmeden yarı iyilemesinin gecikmesine neden olmaktadır. Bunlar yarı iyilemesinin kalitesini ve yeterliliğini bozar. Yarı iyilemesinde yaş, anemi, kullanılan ilaçlar, malnutrisyon, diyabet, sarılık, obezite, kompanse oligemi, malign hastalıklar, vitamin ve eser element eksiklikleri, genetik ve immünolojik bozukluklar, enfeksiyon, hormonal faktörler ve sigara oldukça önemli faktörlerdendir (Karasu ve Bakır 2008).

**1.Beslenme:** Yarı iyilemesinde beslenmenin önemi Hipokrat zamanından beri bilinmektedir. Protein yetersizliği vücutta amino asit dengesizliğine neden olacaktır. Protein eksikliğinin neden olduğu immün sistem bozukluğu, ödem sürecinde ve epitelizasyonda (kollajen yapımını inhibe ederek) yara

iyilemesini geciktirir. Askorbik asit ise kollajen sentezinin hidroksilasyon basamağında önemli rol oynar ve eksikliği durumunda yara iyilemesinde gecikmeler olur. Vitamin A ise epitelizasyonda görev alırken eksikliğinde epitelizasyon basamağı gecikir. Vitamin K eksikliğinde ise koagülasyon olur ve kan pıhtılaşma zamanı uzayarak kanama miktarı artar. Yüksek kanama ise enfeksiyona yatkınlığa sebep olur. Çinko vücutta birçok enzimin kofaktörü olarak kullanılan bir mineraldir eksikliğinde enfeksiyonlara yatkınlık görülür. Çinko içeren besinler verilen canlılarda yara iyilemesinin daha hızlı olduğunu göstermektedir.

**2.Anemi:** Anemi eritrosit sayısının azalması veya hemoglobin miktarının azalması veya her ikisinin birlikte olması sonucu oluşan bir hastalıktır. Demir eksikliğinde anemisinde hemoglobinin, oksijeni akciğerlerden kapiller arterlere taşıyamaması nedeniyle anemi, hücre, doku ve organlarda hipoksiye neden olabilir bu da yara iyilemesini geciktirir.

**3.Enfeksiyon:** Yara iyilemesi; derinin mikrobiyolojisi, yaranın tipi, uygulanan tedavinin etkili ve konağın savunması ile ilgili kısımları olan karmaşık bir süreçtir. (Mertz, 1993). Temiz yeni oluşan bir yaranın mikroflorası normal deri mikroflorasına yakın özellik gösterir. Kirli ve kronik yaralarda ise flora farklıdır. Çünkü canlılığı yitirmiş dokular mikroorganizmalar için uygun çoğalma imkanı oluşturmakta ve çoğalan mikroorganizmalar çevredeki canlı dokulara invaze olabilmektedir. (Westaby ve White 1987). Mikroorganizma konağın savunmasını yenip dokuyu istila edebilirse enfeksiyon süreci başlar. Bu süreçte inflamatuvar faz uzar ve yara iyilemesinin gecikmesine sebep olur.

**4.Yaş :** Yara iyilemesinde yaş oldukça önemlidir. Çocuklarda yara iyilemesi hızlı iken yaşın ilerlemesiyle birlikte yara iyileme hızı azalır. Embriyonejik dönemde immün sistemin henüz tam gelişmemiş olması, inflamatuvar yanıtın yetersizliği ve büyüme faktörlerinin miktarının az olması sebebiyle skar dokusu ya hiç oluşmaz ya da en az düzeyde olurken yaş ilerledikçe inflamatuvar yanıt azalarak, epitelizasyon yavaşlar ve aktif proteaz düzeyinde artışı olarak yara iyilemesi gecikir.

**5. İlaç kullanımı:** Bazı ilaçlar yara iyileşmesinin gecikmesine sebep olur. Steroidler immünsüpresif ilaçlar kemotropik ajanlar, kalsiyum ve hemostatik ajanlar örnek olarak verilebilir.

**6. Keloid oluşumu:** Aşırı miktarda kollajen birikimi keloid olarak isimlendirilir ve tümör skorlarının oluşumu ile sonuçlanır.

**7. Hormonal Denge:** Kortizol insülin salgısını azaltırken yara iyileşmesini geciktirir. Östrojen bölgesel enfeksiyonu azaltarak yara iyileşmesini hızlandırırken, testosteron inflamatuvar sinyalleri artırıp iyileşmeyi hızlandırır.

**8. Yetersiz kanlanma:** Arterioskleroz veya venöz anomaliler, kan akımını bozdukları için yara iyileşmesini yavaşlatırlar.

**9. Diyabet:** Yara iyileşmesini diyabetik hastalıklar geciktirir. Diyabetlilerde oluşan kan viskoz miktarındaki artış, hücresel ve humoral immünite zayıflığı, mikrovasküler hasarların varlığındaki artış yara iyileşmesini geciktirir.

#### **2.1.5. YARA İYİLEŞMESİNDE KULLANILAN HAYVAN MODEL**

Yara iyileşmesi oldukça karmaşık olaylar dizisidir. Birçok faktör yara iyileşmesinde aktif olduğundan araştırmacılar için canlı model kullanmak kaçınılmazdır. Deneysel hayvan modeli, insana patolojik süreçlerde en yakın benzerlik gösteren hayvan organizma modeli olarak tanımlanır. Yara iyileşmesinde birçok çalışmada hayvan modeli olarak sıçanlar kullanılmıştır. Çok iyi bilinen bir model olmasından, lezyon oluşturmak için uygun alanı sahip olmasından ve kolayca uygulanabilir modeller olmasından dolayı hayvan modeli seçilirken sıçanların kullanımı yaygındır. Sıçan ve insan derisi arasında benzerlik ve farklılıklar bulunmaktadır (Tablo 2).

İnsan derisi ile sıçan derisi arasında morfolojik olarak farklılıklar ve benzerlikler olması sebebiyle yara iyileşmesi süreci birebir aynı değildir. Sıçanlarda endojen C vitamini kaynağının olması ve pannikulus karnosus denilen kas yapısının bulunması yara kontraksiyonunu hızlandırır. İnsanlarda ise epitelizasyon daha hızlı olmaktadır. Bunda yara yerinin insanlarda sıçanlara göre daha temiz kalmasının rolü vardır (Dorsett-Martin, 2004). Uzun yıllardır araştırmalarda kullanıldığı için çok iyi bilinen bir model olması, lezyon oluşturmak için uygun alan büyüklüğüne sahip olması ve kolayca

denetlenebilir modeller olması sebebiyle sıçanlar çalı malarda tercih edilmektedir.

**Tablo 2.** Sıçan ve insan derisi arasındaki benzerlikler ve farklılıklar (Dorsett-Martin, 2004)

<b>Özellikler</b>	<b>Sıçan</b>	<b>nsan</b>
<b>Epidermis</b>	Evet	Evet
<b>Bazal Membran</b>	Evet	Evet
<b>Dermis</b>	Evet	Evet
<b>Vitamin C Kayna ı</b>	Endojen	Ekzojen

Yapılan birçok ara tırmada sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen yara modellerinde en sık lokalizasyonu sırttır. Bunun nedeni yüzey geni li i olarak açıklanabilir. Cinsiyet seçiminde androjenin yara iyile mesi üzerine olumsuz etkisi sayılabilir. Yara yerinde iyile meyi hızlandırmak amacı ile yara örtüsü kullanılabilir ancak bu tercihe ba lıdır.

## **2.2. D YABET**

Diyabet, insülin salgısı yoklu una veya dokuların insüline duyarlılı nda azalmaya ba lı karbonhidrat, ya ve protein metabolizmalarının bozulmasını kapsayan bir sendromdur. Diyabetin iki tipi vardır: (Baret, 2011).

1.Tip I diyabet; nsülinin üretileniyor olmasına ba lıdır. Burada primer olay otoimmün mekanizmayla beta hücrelerinin harabiyeti olu arak insülin eksikli inin ortaya çıkmasıdır. nsüline ba ımlı diyabet (IDDM) adını da alır (Hirsch ve ark,1991; Cheng ve Larner, 1985; Hutton,1989).

2.Tip II diyabet; hedef hücrede insülinin metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalması sonucu geli ir. Söz konusu olan insülin yoklu u de il var olan insüline kar ı hedef hücrenin duyarlılı ının azalmasıdır. nsüline ba lı olmayan diyabet (NIDDM) denir. Bu duruma insülin direnci de denir (Tüzün, 1995; Taylor ve Agius, 1988).

Diyabet, ana besin maddelerinin metabolizmaları de i mi tir. nsülin yoklu unun veya insülin direncinin glikoz metabolizmasına ba lıca etkisi, glikozun birçok hücre tarafından alınmasının veya kullanılmasının

engellenmesidir. İnsülin vb. ajanlar glikozun dokuların içeri girmesi için gereklidir. İnsülin eksikli inde glikoz kandan hedef hücreye yeterli bir şekilde ulaşamamaya giderek hiperglisemi ve metabolik asidoz (ketoasidoz) gelişir. Kan glikozu artar, glikoz kullanımını giderek azalır ve yağların, proteinlerin kullanımı artar (Guyton ve Hall, 2011).

### **2.2.1.1. TİP I DİYABET**

Çocukluk yaşlarında daha sık görülen pankreasın hücrelerinin otoimmün veya otoimmün dışı nedenlerle hasar görmesi sonucunda insülin miktarındaki azalma olarak tanımlanan hipergliseminin olduğu bir kronik hastalıktır. Pankreasta beta hücreleri hasar gördüğünde veya insülin yapımını engelleyen herhangi bir hastalığın varlığında Tip I diyabet ortaya çıkar. Otoimmün hastalıklar veya çeşitli viral enfeksiyonlar Tip I diyabet yapan hastalıklara örnek olarak verilebilir. Ancak kalıtımda hücrelerin hasara karşı cevabını belirler. Tip I Diyabet dünyada sık olarak rastlanan hastalıklardan birisidir. Herhangi bir yaş grubunda görülmeyle birlikte en sık 7-15 yaş grupları arasında görülür (Yönem ve Özata, 2006; Altun, 2011). Tip I diyabet otoimmünetinin varlığına göre Tip 1a ve Tip 1b olarak ikiye ayrılır. Tip 1a diyabetli olguların % 90'nını oluştururken, çocukluk yaşlarında görülen otoimmünite belirleyicisi negatif olan Tip 1b %10'luk kısmını oluşturur (Inzucchi, 2009). Birkaç gün veya haftatada aniden akut olarak başlayabilir. Üç önemli bulgu vardır: (1) Kan glikozu artar, (2) karaciğerde kolesterol yapımı için yağ kullanımı artar, (3) vücut proteinleri azalır (Guyton ve Hall, 2011).

Diyabette kan glikoz seviyesi yükselmiştir. Kanda insülinin az olması sebebiyle glikoz hücreler tarafından kullanımı azalır. Bir taraftan da glikoneogenez ile glikoz yapımı artar. Böylece kan glikoz seviyesi 300-1200 mg/100ml ye yükselir. Yüksek kan glikoz seviyesi organizmada çeşitli etkilere sebep olur. Kanda glikoz miktarı çok arttığında glomerüler filtrat içinde böbrek tübüllerinden geri emilebilen düzeyi aşan glikoz miktarı, idrar ile atılır. İdrarla glikoz atılımı kan glikoz seviyesinin 180 mg/100 ml üzerine çıktığında başlar. Bu değer ektedir. Glikozun kandaki seviyesi 300-500 mg /100 mL gibi değerlere yükseldiğinde her gün 100 g glikoz idrarla atılır. Kan glikoz

seviyesinin çok yüksek olması hücrede sıvı kaybına neden olur. Bunun sebebi artan osmotik basıncı dengelemek için suyun intraselüler alandan ekstraselüler alana geçmesidir. Glikoz seviyesinin yükselmesine bağlı olarak dehidratasyona ek olarak glikozun idrar ile atılımında osmotik diürece sebep olur ve sonuçta dehidratasyon olur. Hücre zarında fonksiyonları olan sodyum, potasyum, magnezyum ve fosfat gibi birçok iyon su ile beraber atılır. Glikozun renal tübüllerdeki yoğun osmotik basıncı etkilemekte buda sıvının tübüllerden geri emilimini büyük çapta azaltmaktadır. Buda idrarla sıvı kaybına neden olmaktadır. Sonuç olarak dehidratasyona neden olmaktadır. Kan glikoz seviyesinin uzun süreli yüksek kalması doku hasarı sebebidir (Yönem, 2011). Glikozun kanda uzun süreli yüksek seviyede kalması dokularda kan damarlarının içlevlerinin bozulmasına ve yapısal değişikliklere uğramasına sebep olur. Dokuların kanlanması dümesine yol açar. Bu durum ise kalp krizi, inme, böbrek yetmezliği, retinopati, alt ekstremitelerde iskemi ve gangren gibi hastalıkların artmasına neden olabilmektedir. Sonuçta birçok dokuda hasar olmaktadır. Doku hasar mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamış olsa da yüksek glikoz seviyesinin endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde meydana gelen değişiklikler ve protein metabolizmasındaki bozukluklar rol oynamaktadır. Diyabetli hastalardaki renal hasar sekonder hipertansiyona sebep olur. Lipit metabolizmasının bozulması aterosklerotik hastalıkların sıklığının artmasına yol açmaktadır (Tüzün 1995). Diyabette yağların kullanımı artar ve buna bağlı olarak metabolik asidoz olur. Karbonhidrat metabolizmasından yağ metabolizmasına kayma sonucunda plazmada dokuların okside edebileceğinden daha fazla asetoasetik asit ve -hidroksibütirik asit gibi keton bileşiklerinin serbest hale geçmesine yol açar. Buna bağlı olarak hastada metabolik asidoz tablosu olur. İnsülin tedavisi ile tablo düzeltilmezse diyabetik koma gelişir ve bu durum hastanın ölümüyle sonuçlanabilir (Karasu ve Bakır, 2008). Metabolik asidozdaki kompensasyon mekanizmaları diyabetik asidozda da devreye girer. Hızlı soluk alıp verme sonucu CO<sub>2</sub> in solunum yolu ile atılmasına ve ekstraselüler sıvıda bikarbonat seviyesinin belirgin bir şekilde düşmesine sebep olur. Böbrekler bu durumu kompanze etmek için ekstra selüler sıvıdaki bikarbonatı artırmaya

çalı ır. Bahsedilen bu tablo diyabetli ki ilerde kan glikoz seviyesinin uzun süre kontrol altına alınmadı ı durumlarda ortaya ıkar. Kan Ph sı 7'nin altına dü tü ünde birkaç saat içinde asidoz koması ve ölüm gerçekleşebilir. İddetli diyabetik asidozda eloktrolit dengesinde de de i iklikler olu ur (Tüzün, 1995).

Karaci er metabolizmasında uzun süreli olarak ya kullnımı kandaki kollesterol düzeyinin artmasına sebep olur. Kandaki kollesterol seviyesinin artı ı arter duvarlarında ateron plaklarının olu masına ve ateroskleroza sebep olur. Diyabetlilerde ya kullnımı kadar protein kullanımında artar. Protein kaybına yol açar ve neticede kilokayı gözlenir. Diyabet kontrol altına alınmadı ında ciddi metabolik bozukluklara ve buna ba lı geli en mortalite ve morbiditelere sebep olur (Guyton ve Hall, 2011).

### **2.2.2. T P II D YABET**

Tip II diyabet, Tip I ile görülme sıklı ı yönünden kar ıla tırıldı ında 9 a 1 dir. Yani diyabetli hastaların %90 ı Tip II dir (Yönem, 2011). Hastalık 30 lu ya larda ortaya çıkmaya ba lamakla birlikte sıklıkla 50-60 lı ya larda kendini gösterir. Hastalık kronik seyirli olup yava ilerler. Bu nedenle sıklıkla eri kin tip diyabet adı verilir. Son yıllarda Tip II diyabetin görülme ya ı 20 li ya lara kadar dü mü tür. Bunun sebebi yanlı beslenme ve azalan fiziksel aktiviteler sonucu ortaya çıkan obezite oldu u dü ünülmektedir. Obezite metabolik sendrom ve insülin direncine sebep olur. Bu durum ise diyabete zemin hazırlar. Tip I'in aksine Tip II diyabette kandaki insülin seviyesi artmı tır (Do an, 2006). Hedef hücrede insüline kar ı duyarlılık azalmı tır. Sonuç olarak kandaki glikoz hücreye alınamamakta kan glikozunun artı ma sebep olmakta ve pankreasta bu durumu ortadan kaldırmak için daha fazla insülin üretmektedir. Yani insülin direnci geli mekte ve buna ba lı olarak karbonhidrat metabolizması bozulmaktadır. Sonuçta kan glikozu artar ve insülin sekresyonunun kompensatuvar olarak uyarır. Glikolize hemoglobin (HbA1c) kandaki ortalama glikoz konsantrasyonunun göstergesidir. Fazla kilo alımı ve i manlık insülin direncinin geli mesi ve karbonhidrat metabolizmasının bozulmasına yol açar. Obezite ve insülin direnci arasındaki bu ili kinin mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamı tır. Yapılan bazı çalı malarda obez

ki ilerinin iskelet kaslarında, karaciğer ve yağ dokularında zayıflara kıyasla daha az insülin reseptörü olduğunu vurgulamaktadır. Ancak insüline direncin bir kısmı, birçok hücreli etkili reseptörlerle ilişkili sinyal yollarının bozukluğuna bağlı gibi düşünülmektedir. Bozulan insülin sinyali önemli bir sekonder iskelet kası ve karaciğer gibi dokularda lipid toplanmasının toksik etkileriyle doğrudan alakalı değildir. İnsülin direnci sıklıkla “metabolik sendrom” olarak bilinen bozukluğun bir parçasıdır (Nouwen 2010).

Metabolik sendrom ve bazı özellikleri şunlardır:

1. Özellikle karın çevresinde yağ toplanması
2. Hipertansiyon
3. İnsülin direncinin artması
4. Açlıkta hiperglisemi
5. Kan trigliserit seviyesinin yükselmesi yüksek dansiteli lipoprotein kanda düşmesi

Metabolik sendrom; karın bölgesinde ve iç organların çevresinde yağ birikimi ile karakterize kilo artışıyla kendini gösteren bir durumdur. Ortaya çıkan insülin direnci kan glikoz seviyesinin yükselmesinin sebebi olduğunu bilinmekle birlikte metabolik sendromun tüm bileşenlerine etkisi henüz tam açıklanamamıştır. Metabolik sendroma bağlı gelişen kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz ve oluşan organ hasarları istenmeyen sonuçlardır. Bu sendroma sahip kişilerin Tip II diyabete yakınlığı diğer toplum fertlerine göre yüksek bulunmaktadır (Nouwen 2010).

**İnsülin Direnci ve Tip II Diyabet Yapan Diğer Faktörler;** ilişkili karın çevresinde yağ birikimi insülin direnci için risk faktörüdür. Ancak insülin direnci ve sonrasında gelişen Tip II diyabet yapan tek sebep bu değildir. İnsülin direncini oluşturan başka etyolojik faktörler de vardır. Periferik dokularda insülin sinyalinin bozulmasına sebep olan genetik ve edinsel diğer hastalıklar da etyolojide yer almaktadır. Glikokortikoidlerin aşırı kullanımı cushing sendromu, büyüme hormonlarının yüksekliği ile karakterize akromegalide de dokuların insüline duyarlılığı azalmıştır. Gerek ilişkili sebebiyle olsun gerekse diğer sebeplerden olsun bir kişide insülin direnci oluştuğuyorsa bu Tip II diyabet için etyolojik risk faktörüdür (Karasu ve Bakır, 2008). İnsülin



drencinin uzun süredir ve iddetli olması sonucunda kanda insülin seviyesi artar. Ancak artan bu insülin seviyesi kandaki glikoz düzeyinin normal seviyede tutmaya yetemez. Sonuç olarak hastada karbonhidrat alımına ba lı hiperglisemi görülür. Erken evrede bu hiperglisemi orta derecede kalırken ileri evrede daha belirgin bir durum olu turur. Bunun sebebi Tip II diyabette pankreasta -hücrelerinin azalması veya daha ileri dönemde tükenmesidir. Buna ba lı olarak insülin üretiminin azalması olabilece i gibi hücrelerin insülin duyarlılı ındaki azalmaya ba lı olarak kan glikozunun hücreye alınmasında bir direnç olu ması durumudur. Bazı i man ki ilerde ise insülin duyarlılı ında azalma olsada hatta yemeklerden sonra kan glikoz seviyesi normalden fazla artsa bile diyabet olu maz. Muhtemelen bu ki ilerde kan glikoz düzeyini normal seviyede kalmasını sa layacak kadar pankreasdan insülin üretilebiliyor olmasıdır. Bazı çalı malar, Tip II diyabetli ki ilerde pankreasının karbonhidrat metabolizmasındaki bozulmaları tolere edebilecek düzeyde insülin salgılayıp salgılayamayaca mını belirleyen bazı genetik faktörler oldu unu vurgulamaktadır. Tip II diyabetin tedavisinde kalori kısıtlaması ve zayıflama oldukça olumlu sonuçlar vermektedir. Hatta bu ki ilerde dı ardan insülin alımına gerek kalmayacak kadar etkili olmaktadır. Tiazolidinedionlar, metformin ve benzeri di er insüline duyarlılı ı arttıran ilaçlar veya sülfonilüre gibi pankreastan daha fazla insülin sa lanmasını sa layan ilaçlar da kullanılabilir. Ancak, daha ileri evrelerde kan glikozunu kontrol altında tutabilmek için sıklıkla insüline ihtiyaç tekrardan olu abilmektedir (Yönem, 2011).

### **2.2.3. D YABET VE OKS DAT F STRES**

Diyabet ve reaktif oksijen türleri (ROS) arasındaki ili ki yakla ık 1980'li yıllardan beri tartı ılan bir konu olmu tur (Baynes, 1991). Yapılan çalı malarda diyabet ve serbest oksijen radikallerinin diyabetli ili kili oldu u görülmü tür. Diyabetli hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonun artarak oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü oldu u bildirilmi tir (Pitkanen ve ark. 1992). Diyabet ve komplikasyonlarının patogenezinde rol oynayan artmı oksidatif stresin kayna ı olarak; kronik

hiperglisemiye sekonder glikozun otooksidasyonu, sorbitol yolunun aktivitesi ve bu yolda nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) tüketimi, proteinlerin progresif glikasyonu ve buna ba lı dolaylı yoldan hipergliseminin yol açtı ı psödohipoksi hali, protein kinaz C'nin aktivasyonu, enerji metabolizmasındaki de i ikliklerden kaynaklanan metabolik stres gibi çe itli mekanizmalar gösterilmi tir (Engin ve ark.,2005; Hasano lu ve ark, 1994). Antioksidan kapasitede gözlenen de i iklikler ile diyabetin kronik komplikasyonlarına etki edece i ara tırmacılar tarafından gözlenmi tir.

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının ROS ile olan ili kisini gösteren çalı malarda metabolik stres serbest radikal üretimini artırır ve antioksidan savunma sisteminde de i ikli e neden olarak diyabet komplikasyonlarını de i tirir (Elmalı ve ark. 2004).

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-PX), Malondialdehit (MDA) gibi antioksidan enzimlerinin pankreas hücrelerindeki antioksidan kapasitesi di er dokularla kıyaslandı ında dü ük düzeydedir. Beta hücrelerinde olu an hasar hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandı ı dü ünülmektedir. Hücrelerde olu an hidrojen peroksit bir reaktif oksijen türevi olan hidroksil (OH<sup>·</sup>) radikaline dönü erek insülin reseptör sinyal sistemi üzerine etkili olup insülin tarafından reseptör aracılı ıyla sinyal iletim yollarında önemli bir rol oynamaktadır (Kılıç ve ark. 1988).

Serbest oksijen radikal türlerinden süperoksit dismutaz enziminin hücre içinde ilk savunma basama ı olabilece i dü ünülmektedir. SOD enziminin aktivitesinde azalma hiperglisemi ile oldu u dü ünülmektedir. ROS'lar nükleer faktör kappa B (NFkB) üzerinden, SOD'un ekspresyonunu azaltı ı görülmektedir. Ekstraselüler sıvılarda ise oksidatif hasara kar ı ilk savunmada özellikle ürik asit gibi dü ük molekül a ırlıklı antioksidan moleküllerin aracılık etti i bilinmektedir. Birçok ara tırmacı diyabetli hastalarda lipid peroksidasyon düzeyinin ve SOD'un aktivitesinin arttı ı gösterirken, bir kısmında da anlamlı bir artı ı olmadı ı gözlenmi tir. SOD aktivitesinin ba langıçta artmasının, oksijenin O<sub>2</sub> nin artımı üretimine, daha sonraki dü menin ise enzimin glikasyonuna ve/veya hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) birikimine ba lı olabilece i dü ünülmektedir (Kılıç ve ark. 1988).

Oksidatif stres ve hiperglisemi arasındaki ili kiyi ispatlamak için birçok çalı ma yapılmı tır. Yapılan çalı malarda dü ük dansiteli lipoptotein (LDL) oksidasyonunda ve non enzimatik glikasyonunda diyabetli hastaların hiperglisemiye ba lı artı lar oldu u gözlenmi tir. Diyabetik sıçan olu turmak üzere kullanılan streptozotocin oksidan maddeler olu turarak pankreası hasarlamakta ve nitrik oksit (NO)'in diyabeti ba lattı ı dü ünülmektedir (Kılıç ve ark. 1988).

## **2.3. D YABET K HAYVAN MODEL**

### **2.3.1. DENEYSEL D YABET OLU TURULMASI**

Diyabet, pankreasın insülin salınımındaki yetersizli i veya dokuların insüline verdi i cevabın bozulmasıyla meydana gelen ya , protein ve karbonhidrat metabolizmasının etkilendi i kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabetin tedavisi insülin ve di er hipoglisemi olu turan ajanlar üzerine kurulmu tur (Alarcon-Aquilar ve ark., 2000). Ancak son yıllarda bu ilaçların olası bazı yan etkileri sebebiyle bitkisel ve sentetik tedavi yöntemlerine de yönelim olu mamaya ba lamı tır (Marles ve Farnsworth, 1995; Rao ve ark., 2001). Diyabetin metabolizmasının tam ö renilmesi ve yeni tedavi protokolleri geli tirmek üzere hayvan modelleri kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvanlarında ba arılı diyabet olu turmak için cerrahi teknik de dahil olmak üzere birçok metot bulunmaktadır. Çalı maların birço unda hayvanlarda diyabet olu turmak amacıyla alloksan ve streptozotocin (STZ) adı verilen iki tür ilaç kullanılmı tır. Her iki kimyasal madde de oksidan olu turarak ve Langerhans adacıklarını tahrip ederek diyabet olu turmaktadır (Szkudelski, 2001).

### **2.3.2. D YABET OLU TURMADA KULLANILAN YÖNTEMLER**

#### **2.3.2.1. Cerrahi Müdahale**

Pankreas cerrahi olarak çıkarıldı ı yöntemdir ancak pankreasın tamamına yakını alınıp ancak %5'lik kısmı bırakılarak hayvanlarda diyabetin tetiklenmesi sa lanır (Akbarzadeh ve ark., 2007). Bir ba ka yöntem ise anterior hipofiz

eksraktı enjeksiyon yöntemidir ki çalı malarda daha az güvenilir bulunmu tur (Rastellini ve ark., 1997).

### **2.3.2.2. Streptozotocin (STZ; N-nitro glikozamin türevi)**

Streptozotocin do al olarak streptomycetes achromogenes tarafından sentezlenen geni spektrumlu bir antibiyotiktir (Weiss, 1982; Szkudelski, 2001; Hayashi ve ark.,2006; Takeshita ve ark., 2006). STZ, lipofilik yapıya sahip olup pH 4-4.5'te stabildir. Çözeltisi sitrat tamponu içerisinde hazırlanmalı, taze ve ıktan korunarak kullanılmalıdır. STZ enjeksiyonu Langerhans adacıklarının beta hücrelerinin dejenerasyonuna yol açar (Weiss, 1982; Ikebukuro ve ark., 2002). STZ'nin yapısında glikoz bulunmaktadır ve pankreatik beta hücrelerine glikoz taşıma proteini 2 (GLUT2) tarafından taşıtarak hücre içine alınır. STZ'nin pankreas hücrelerini hasarlayarak Tip I ve Tip II diyabete neden olur (Szkudelski 2001). Sıçanlara STZ uygulandıktan 2 saat sonra kan glikoz seviyesinde yükselme görülür. 6. Saatte ise kandaki insülinin artması sonucu hipoglisemi gelişir. İlerleyen saatlerde insülin seviyesinin azalmasına bağlı tekrardan hiperglisemi oluşur. Böylece STZ diyabetik özelliğini göstermektedir (Anderson, 1983; Heineke ve ark., 1993). STZ'nin glikoz oksidasyonunu (Bedoya ve ark., 1996) ve insülinin biyosentezi ve sekresyonunu azalttığı da bildirilmektedir (Nukatsuka ve ark.,1990; Bolaffi ve ark., 1987). STZ bakteri ve memeli hücrelerinde deoksiribonükleik asit (DNA) sentezini önler. Bakteri hücrelerinde STZ, dejenerasyon ve yıkımla sonuçlanan sitozin gruplarıyla özel reaksiyon verir. Memelilerde bu biyokimyasal mekanizma hücre ölümüyle sonuçlanır. STZ'nin hedefi pankreasın beta hücrelerinin DNA'dır. STZ, DNA bazlarında alkilenleme yapar (Yamamoto ve ark., 1981; Uchigata ve ark.,1982). Daha sonra DNA tamiri için görev üstlenen poli ADP-riboz polimeraz (PARP) hücre içerisindeki nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) kullanır NAD tükenmesi ATP içeriğini azaltır. Sonuç olarak hücresel enerji depolarının tükenmesi hücrelerinde nekroza neden olur STZ, DNA'nın substratla ilgili kisini veya DNA sentezinde yer alan enzimlerin birçoğunu engellemek için ihtiyaç duyulan dozdan daha az miktarda doz ile hücresel üretimi önler (Holemans ve ark., 1997). STZ'nin diyabetojenik etkilerine karşı NAD ve

PARP inhibitörleri ile tedavi, koruyucu amaçlı yapılmaktadır (Anderson ve ark., 1974). STZ ile oluşturulan DNA hasarında, NO'nun da etkisinin olduğu vurgulanmaktadır. STZ Beta hücrelerine nüfuz ettikten sonra, NO'nun hücre içinde serbest kalmasına ve DNA'nın ayrılmasına sebep olur. (Kröncke, 1995). STZ'nin doz aralığı alloxana göre daha geniştir. Yapılan çalışmalarda Tip I diyabet oluşturmak için (35-80 mg/kg) gibi geniş doz aralığına sahiptir. Tek doz olarak intraperitoneal STZ uygulanması yeterlidir (Nukatsuka ve ark., 1990; Koh ve ark., 2007; Wong ve ark., 2009; Liu ve ark., 2010). Tip II diyabet oluşturmak için ise yenidoğan hayvanlara ilk haftanın sonunda intraperitoneal olarak 100 mg/kg tek doz uygulaması yeterlidir (Portha ve ark., 1974).

### **2.3.2.3. Alloksan**

Alloksan (2,4,5,6-tetraoksiprimidin) ürik asit türevidir, antineoplastik bir ajandır. Alloksan hidrofilik ve pH 3-4'de stabildir (Szhudelsky 2001, Srinivasan ve Ramarao, 2007, Bell ve Hye, 1983). 37 °C'de yarılanma ömrü 1,5 dakika iken sıcaklık azaldıkça yarılanma ömrü uzar (Csernok ve Alper, 2004). Alloksan kimyasal yapısı glikoza benzediği için beta hücreleri glikoz gibi hücre membranından GLUT2 ile içeriye alırlar. Alloksanın diyabet oluşturmasında iki temel etki mekanizmasından bahsedebiliriz (Lenzen, 2008). Birinci mekanizmada alloksan glukokinaz enzimini inhibe ederek glikozun uyarıcı insülin salınımını durdurur (Lenzen, 2008; Lenzen, 1991). Alloksan, sülfidril ve sistein grupları içeren proteinlere yüksek afiniteye sahip olduğu yapıda -SH grubu içeren glukokinaz enziminin de inhibisyona götürür. Bu inhibisyonun sonucu olarak alloksan glikozun oksidasyonunu ve ATP yapımını azaltır (Lenzen, 1991). Alloksan, glikoz varlığında glukokinaz enzimiyle etkilemez. Böylece GLUT2 glikoz varlığında alloksanın taşınmasında sınırlayıcı etki gösterir (Bell ve Hye, 1983). İkinci mekanizma, alloksanın içerdiği oksijen reaktifleri sayesinde beta hücrelerine seçici nekroz yapmasıdır (Bell ve Hye, 1983). Alloksan son ürüne dönüşürken ortaya çıkan radikaller pankreatik DNA'yı bozarlar (Munday, 1988). Ayrıca yapılan çalışmalarda alloksanın intrasellüler kalsiyum homeostazını bozması ile de diyabetojenik etki yaptığı gösterilmiştir (Howarth ve ark. 2011). Alloksan ile oluşturulan diyabette, hayvanlarda pankreas dejenerasyonuna bağlı hiperglisemiye geri

dönülebilir ve mortalite oranı yüksektir. Bu nedenle Tip II diyabet olu turulacak hayvanlarda STZ alloksana tercih edilmelidir (Srinivasan ve Ramarao, 2007). Alloksan veya STZ uygulamasından sonra 48. veya 72. ölçülen kan glikoz seviyesinin ( $>200$  mg/dl ya da  $> 11.0$  mmol/L) tanımlanmakla birlikte poliüri ( $>25$  ml/gün) de tanı yönünden önemli bir bulgudur(Öntürk ve ark. 2007).

#### **2.3.2.4. STZ ve Alloksan Uygulamasında Kar ıla ılan Olası Sorunlar**

STZ ve alloksan ile diyabet olu turma deneylerinde, diyabetik glikoz seviyelerine ula ma sürecinde hayvanlarda tri fazik veya tetra fazik denilen kan glikozunun dalgalanmalar gösterdi i dönemler olmaktadır. (Lenzen, 2008). Bu fazları özetleyecek olursak

**FAZ-1:** Alloksan uygulamasında yarım saat sonra ba layan ilk hipoglisemi fazı. ATP eldesinde ihtiyaç duyulan glikoz, glukokinaz inhibitörü varlı ında fosforilizasyonun bloke edilmesi sonucu olu maktadır. Bu faz STZ ile diyabet olu turulan sıçanlarda görülmez. Çünkü STZ glikokinazı inhibe etmez. (Lenzen, 2008).

**FAZ-2:** STZ veya alloksan uygulamasından 1 saat sonra ba lar. Kan glikoz seviyesinde geçici bir yükseklik görülür. Bu döneme geçici hiperglisemik faz da denir. 2 ila 4 saat kadar sürer. nsülinin salgılanmasının baskılanması ve karaci er glikojeninin hızlı bir ekilde tüketilmesine ba lı geli ti ine inanılır (Lenzen, 2008).

**FAZ-3:** uygulamadan 4 ila 8 saat sonra ortaya çıkması beklenir. Bu dönem ikinci hipoglisemi fazıdır. Deney hayvanlarındaki ilk 24 saatteki ölümlerin sebebidir. hücrelerinin ölümü ile kana a ırı miktarda insülin karı ması ile olu tu u dü ünülmektedir ( rer ve Alper, 2004).

**FAZ-4:** Uygulamadan 12-48 saat sonra olu aca ı öngörülür. Kalıcı hiperglisemik faz dönemidir. Bir önceki fazda kana karı mı olan insülinlerin ortamdaki temizlenmesiyle hipogliseminin sonlanması ve insülin ortamda hiperglisemi tablosunun olu ması ile karakterizedir. Diyabet semptomlarının oturdu u fazdır (Lenzen, 2008). Uygulama hayvanlara aç iken yapılırsa hipoglisemik fazlar (Faz 1 ve 3) daha belirgin olur. Bu sebeple uygulamanın tokken yapılması tavsiye edilir. Ancak birçok çalı mada faz 2 nin olumsuz

etkilerinden korunmak için 12 ile 18 saat aç aç bırakılan hayvanlarda hayvanlarda uygulamanın yapılması tercih edilmiştir (rer ve Alper, 2004).

Faz 3 teki hipoglisemiden ölümleri önlemek için ilk gün hayvanlara ip. ekerli su (%10-20 glikoz solüsyonu vb) verilmesi ve içme suyuna ekerli sıvı ilavesi (%5 glikoz solüsyonu vb) önerilir (rer ve Alper, 2004). Alloksan uygulamasında hassas olunmalı çünkü STZnin aksine alloksanın toksik dozu ile diyabetojenik dozu birbirine çok yakındır. (Rakieten ve ark., 1963; Lenzen, 1991). Alloksan uygulamasında ideal dozlarda bile hayvanların bir kısmı kaybedilirken bir kısmında ise diyabet geli tirilememektedir. Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda yapılan çalı mada 140 mg/kg ip. alloksanın tek doz uygulaması ile %50 sinde diyabet olu turulabilmi ikinci doz uygulaması sonrası 3. Günde bu oran %90'a yükselmiştir (Musicki ve ark., 2005). Bundan dolayı çalı malarda kullanılacak hayvan sayısı belirlenirken bu durum göz önüne alınmalıdır

Deneysel olarak hayvanlarda olu turulan diyabet tam olarak insandaki diyabete uymasada çalı malarda vazgeçilemez bir olgudur. STZ ve alloksan gibi kimyasal ajanlarla ile yapılan diyabet modellerinin, di er deneysel modellere göre avantajları öyle sıralanabilir; bir daha ucuz iki daha kolay geli tirilebilir üç pankreastaki beta hücrelerini tahrip ederken alfa ve delta hücrelerine zarar vermez. dördüncü olarak ketozis ve mortalite göreceli olarak daha azdır (Srinivasan ve Ramarao, 2007).

#### **2.4. ANT OKS DANLAR ve D YABET K YARA**

Oksidatif stres serbest oksijen türlerinin olu ması ile karakterize bir durumdur ve serbest radikal olu umu ve antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengenin bozuldu u durumda ortaya çıkar (Pitkanem ve ark. 1992). Oksidatif stres, ateroskleroz, diyabet, kanser, kronik inflamasyon hastalıkları, santral sinir sistemi bozuklukları, iskemi reperfüzyon gibi fizyopatolojik olaylarda, hücre ya lanmasında ve dolayısıyla hücresel yıkım, hücre hasarı ve hücre ölümünde rol oynayan önemli bir mekanizma olarak son yıllarda büyük önem kazanmıştır (Van Dam ve ark.,1995; Bukan ve ark. 2003).

ROS oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı engellemek için canlıda antioksidan savunma sistemi adı verilen birçok savunma sistemi gelişmiştir. ROS, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda da oluşan süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), ( $H_2O_2$ ) ve  $OH^\cdot$  dir. ROS, çeşitli serbest radikallerinin oluştuğu serbest radikal zincir tepkimelerini başlatarak hücrede radikallerin oluşmasını sağlar. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sisteminde görev olan enzimatik moleküller bunlardır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), Glutatyon redüktaz (GR), Glutatyon S-transferaz (GST) ve Mitokondrial sitokrom oksidazdır. Enzimatik olmayan moleküller ise Glutatyon,  $\alpha$ -tokoferol (Vit E), Askorbik asit (Vit C), Flavonoidler, Melatonin, Seruloplazmin,  $\beta$ -karoten, Bilirubin, Laktoferrin, Albümin, Transferrin ve Bilirubindir (Baynes, 1991). Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak serbest radikal reaksiyonlarının istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir (Saxena ve ark., 1993).

#### **2.4.1. ANTI OKSİDAN ETKİ MEKANİZMALARI**

Toplayıcı (scavenging) etki: Antioksidan enzimler ve fenolik bileşikler Serbest oksijen radikallerini tutarlar veya daha zayıf bir moleküle çevirirler. Böylece ROS zararlarını önleyici etki yaparlar.

Bastırıcı (quencher) etki: A vitamini ve flavanoidler Serbest oksijen radikallerine H aktararak onların aktivitelerini azaltır veya inaktif hale dönüştürür.

Onarıcı (repair) etki: Antioksidan özelliğe sahip polifenolik bileşiklerin, baz eksizyon tamir (BER) mekanizmasında görevli olan 8-oxoguanin DNA glikosilaz 1, apürinik/apirimidinik endonükleaz ve DNA polimeraz beta gibi DNA tamir enzimlerinin aktivitelerini ve ekspresyonlarını indüklediği ortaya konmuştur.

Zincir kırıcı (Chain breaking) etki: E vitamini, seruloplazmin, hemoglobin ve bazı mineraller Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlarlar ve zincirlerini kırıp yapılarını bozarlar böylece onların zararlı etkilerini önlerler (Altan ve ark.,1994).



Antioksidanlar, kardiyovasküler hastalıklar, eker hastalığı, kanser, Alzheimer gibi birçok hastalıkta önemli rol oynayan (ROS tarafından oluşturulan) hasara karşı vücudu koruyarak insan sağlığında pozitif etki göstermektedirler (Elmalı ve ark. 2004).

Hücreler reaktif oksijen ürünlerinin hasarından antioksidan metabolizma ile kendini korurlar. Ancak denge bozulduğunda hücre hasarı oluşur ve oluşan bu hasar iyileşme sürecini etkiler. Yara iyileşmesine olumsuz etki eden faktörlerden biri olan ROS, NADPH oksidaz enzim kompleksi tarafından üretilir. Bu ürünlerden oluşan  $H_2O_2$  hücreler için çok toksiktir ve şiddetli hücre hasarına neden olur. Yara bölgesinde antioksidanlar, savunma sistemi için gereklidir. ROS, nötrofiller ve makrofajların oksidasyonu sonucu oluşur. Yara yerinde oluşan inflamasyon sonucu endotel hücrelerde sürekli süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) ve  $H_2O_2$  oluşur. Serbest radikaller veya oksidantlar yara yerinin iyileşme sürecini bozarlar. Oluşan  $H_2O_2$  epidermal büyüme faktörü (EGF) sinyalini bozarak fibroblastlarda hasara yol açarken, süperoksit anyonu hidroksprolini parçalayarak fibroblastların adezyon, proliferasyon evresinde etkileyebilir. Yüksek miktarda ROS varlığı, yaralarda güçlü bir inflamatuvar aktivitenin olduğunu ve oksidatif stres varlığını göstermektedir. Bu nedenle yara yerinde ROS'un engellenmesi gerekmektedir. Yara iyileşmesinde en fazla antioksidan miktarı inflamatuvar fazda bulunmaktadır (Elmalı ve ark. 2004).

Diyabetli kişilerde yara iyileşmesi geç olduğundan oksidatif stres bu kişilerde artmıştır. Diyabetli kişilerde hiperglisemi gözlemlendiği için, fazla oluşan glikoz oto oksidasyonu ve protein glikolizasyonunda görevli reseptörlerin sayısı arttığından dolayı proteinlerin oksidatif bozulmasına ve dolayısıyla ROS'un miktarı artmasına sebep olmaktadır. Oksidatif stres diyabetlilerde sürekli fibroblast hasarına yol açarken, kollajen fibrilleri azalır ve oluşan inflamasyondan dolayı antioksidan miktarı azalır. Fibroblastlardan sentezlenen kollajenler ROS'lara karşı hassas olup, kollajen miktarındaki azalma fibroblastların sayısındaki azalmayla ilişkilendirilebilir. Diyabetlilerde yara kontraksiyonu yavaştır. Diyabetlilerde trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) normale göre düşüktür. Yaralanmanın ardından ROS artar ve büyüme

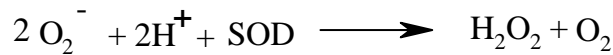
faktörlerinin hasara uğramasına neden olarak fibroblast ve makrofajların sentezi azalır (Elmalı ve ark. 2004).

## 2.4.2. ANT OKSİJEN MOLEKÜLLERİ

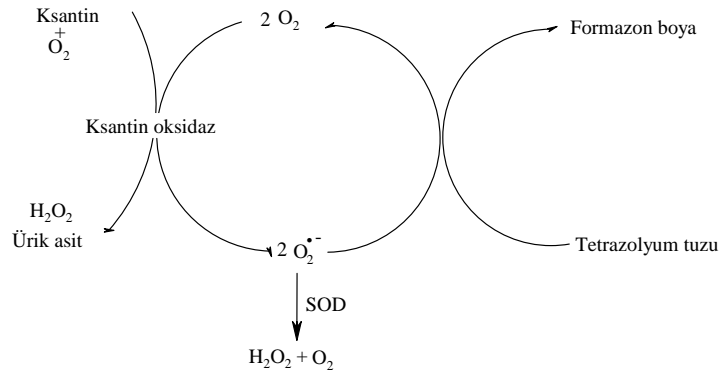
### a) Süperoksit Dismutaz (SOD):

Süperoksit dismutaz (EC. 1.15.1.1, EC-SOD), ökaryotik hücrelerde oksidasyon sonucu NADPH tarafından üretilen süperoksit anyonlarını oksijen ve hidrojen peroksit'e katalizleyen enzimdir (ekil 9) (Siems ve ark., 1994). Üç çeşit SOD enzimi bulunmaktadır. Birincisi, sitoplazmada bulunup, inflamasyon fazının ilk dönemlerinde etkili olarak yara iyileşmesinde görev alır. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dur. SOD, Cu/Zn metallerine bağlı olarak görev yapar (Fridovich,1997; Chiumiento ve ark.,2006). Oksijen tüketimi fazla olan dokularda SOD aktivitesi artar ve oksijen radikalini moleküler oksijen dönüştürerek dokudaki pO<sub>2</sub> yükseltir. Ekstrasellüler alanda SOD aktivitesi çok azdır. Yapılan çalışmalarda topikal olarak uygulandığında yara iyileşme zamanını azalttığı gözlemlenmiştir. İkincisi, Mn bağımlı olarak mitokondride bulunur. Üçüncüsü Cilt yaralanmalarında nötrofiller tarafından yüksek miktarda salgılanmaktadır. SOD tarafından katalizlenen tepkime aırı hızlıdır ve turnoving katsayısı 2 x10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup>sec<sup>-1</sup>'dir. Hücrede ve dokudaki enzimin miktarının yetersiz olması çok düşük süperoksit konsantrasyonunu sağlar (Karasu ve Bakır 2008).

a)



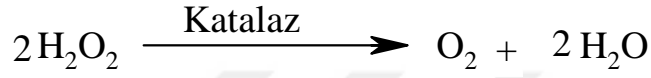
b)



ekil 9. Hücredeki SOD'un rolü

**b) Katalaz (CAT) :**

Katalaz (EC 1.11.1.6) ço u aerobik hücrede bulunan yaygın antioksidan bir enzimdir. Katalaz H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i zehirsizleştirir (Granger ve ark. 1981, Koltuksuz ve ark. 1999). Katalaz iki molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi moleküler oksijen ve iki molekül suya dönü türür ( ekil 10).Yakla ık 240 000 mol kütesini sahip olup peroksizom ve mitokondride bol miktarda bulunur. Yara iyile mesinin proliferasyon fazında katalaz en fazla granülasyon dokusunda bulunur. Katalaz yara yerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yi ortamdan süpürürken bir taraftan da oksijenlenmeyi artırarak yaranın iyile mesini hızlandırır.

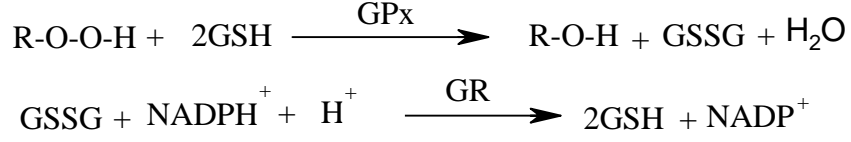


**ekil 10.** Katalazın kimyasal rolü

nsanlarda katalazın yüksek seviyesi böbrek, karaci er ve eritrositlerde bulunur.

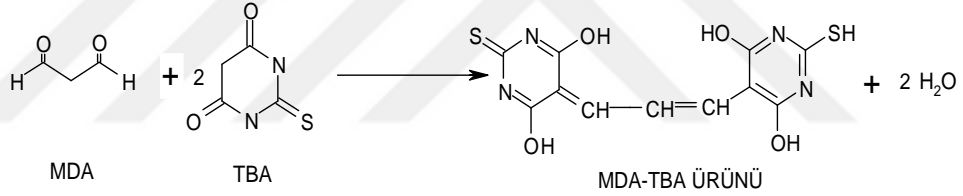
**c) Glutatyon peroksidaz (GSH-Px):** Hücrede sitozol ve mitokondride bulunup H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için önemli bir radikal temizleyici özelli i vardır. Glutatyon peroksidaz dü ük miktarda bulunan hidrojen peroksiti ortamdan temizlemek için görev alır. Bu iki basamaklı bir tepkime zinciri ile sa lanır. Birinci basamak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile Redükte glutatyonun (GSH) tepkimesidir. GSH-Px bu tepkimede enzim olarak kullanılır. Bu basamaktaki tepkimenin ürünleri okside glutatyon (GSSG) ve H<sub>2</sub>O dur. kinci basamakta ise GSSG nin NADPH ve H ile yaptığı ı tepkimedir. Bu tepkimede ise enzim olarak glutatyon redüktaz (GR) kullanılır. Tepkime ürünleri redükte glutatyon (GSH) ve NADP dir. Böylece okside glutatyon redükte glutatyona dönü türülmü olur ( ekil 11). Yara iyile mesinin inflamatuvar döneminde yüksek miktarda bulunur ve oksidatif stresin arttı ı durumlarda ROS ürünlerine kar ı direnç olu turarak keratonisitlerin proliferasyonunu uyarır (Munz ve ark., 1997). Yara iyile mesi

çalı malarında oksidatif stresin artması ile GSH-Px seviyelerinin de arttı 1 gözlenmi tir (Steiling ve ark., 1999).



**ekil 11.** Glutasyon peroksidazının kimyasal rolü

**d) Malondialdehit (MDA):** MDA do al olarak olu an lipid peroksidasyonu ürünüdür. Lipid peroksidasyonu hem bitkilerde hem de hayvanlarda hücrel yaralanmalarda sa lam mekanizmasıdır ve hücrede ve dokuda oksidatif stresin göstergesi olarak kullanılır. Lipid peroksidasyonunun seviyesinin ölçülmesi için en çok kullanılan yöntemdir. MDA seviyesinin tespiti en sık olarak tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi kullanılarak yapılmaktadır ( ekil 12).



**ekil 12.** Malondialdehidin kimyasal rolü

Bazı deneysel çalı malarda TBA metodunun MDA seviyesini ölçtü ü gösterilmi olsada ço u çalı malarda bu yöntemin MDA için spesifik olmadı ı tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler (TBARS) olarak ifade edilmi tir. Saf lipidlerle yapılan çalı malar ile hayvanlar üzerinde yapılan TBARS ölçümleri arasında lipt peroksidasyonu açısından kuvvetli bir korelasyonun oldu u gösterilmi tir. Örnekte var olan veya tepkime sırasında açı a çıkan pigmentler kolorimetrik ölçümleri etkileyebilirler.

**2.5. YARA Y LE MES ve NTERLÖK N-1 (IL-1)**

IL-1, lenfosit proliferasyonu için endojen bir uyaran olarak tanımlanmı tır. Makrofajlar tarafından, bakteriyel ürünler, C5a, immün kompleksler, gama interferon ve prostaglandinler ile salgılanması tetiklenir. Epitel hücreleri, lenfositler, monositler ve polimorf nüveli lökositler için kemotaktiktir.

fibroblastlar için ise kemotaktik de ildir. IL-1; aradionik asit metabolizmasını, fibroblast proliferasyonunu, kollajen sentezini, kollajenaz ve hyalüronidaz aktivitelerini indükler. Vasküler endotel hücrelerinin proliferasyonunu baskılar (Mooney ve ark.1990).

## **2.6. YARA Y İLE MES ve VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF)**

Endotel hücrelerine özgün olup trombosit kökenli büyüme faktörlerinin bir grubudur (Yazır ve ark. 2004). Yara iyilemesinin 4. gününde anjiogenez belirginlemeye başlar anjiogenezi tetikleyen birçok hormon ve diğer faktörlerinde olmasına rağmen ana faktör yara bölgesindeki iskemi ve hipoksidir (Falanga 1993). VEGF glikoprotein yapısındadır ve A,B,C,D,E, ve plesenta büyüme faktörü gibi çeşitleri vardır ve tek başına bahsedildiğinde kastedilen VEGF A olup VEGF endotel hücreleri için büyük bir mitojenik etkiye sahip olup in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir ki iskemik koullar altında salınarak anjiogenezi başlatır ve VEGF etkisini tirozin kinaz yapısındaki vasküler endotel hücreler üzerinde bulunan VEGF-R1 ve VEGF-R2 reseptörler ve lenfatik endotel hücreleri üzerinde bulunan VEGF-R3 reseptörü ile yapar (Turgut ve ark. 2007). Yara yeri çalışmalarında VEGF üretimi artıran etkenler yara iyilemesini hızlandırmı anti VEGF uygulandı nda ise iyilemeyi geciktirmiştir (Bitto ve ark. 2008). VEGF yara iyilemesinde ana görevi endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu tetikleyerek anjiogenezini gerçekleştirmektir (Gürkan ve ark. 2004).

## **2.7. YARA İYİLEME MES ve TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA (TNF )**

Laboratuvar koullarında tümör hücreleri üzerine bakteriyostatik ve bakteriyosidal etkiye sahip olduğundan bu isim verilmiştir. 1975 yılında Carswellin yumuak doku sarkomlarında yaptığı bir çalışması sayesinde dikkatler TNF üzerine yoğunlaşmıştır. Tümör hücrelerindeki gibi sağlıklı hücrelerde de TNF reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Kanser yapan

ka ektin ile idantik olup ate yükseltme özelli ine sahip oldu u gösterilmi tir (Mooney ve ark., 1990).

TNF , 157 aminoasitten olu mu olup TNF- $\beta$  ile uyarılmaktadır. Yapım yeri ise makrofajlardır. Fibroblastların yapımında etkin rol alır. kollojen ve kollajenaz biyosentezi ve prostoglandin E-2 salgılanmasını tetikler. Anjiogenezi uyaran bir etkiye sahip olup bu i i ikinci bir mesajcı molekül ile yaptı ı dü ünülmektedir. Çe itli hücrese l fonksiyonları düzenler ve bunun için çe itli faktörlerin salgılanmasını artırıcı etkiye sahiptir (Mooney ve ark., 1990).

## **2.8. YARA İYİLE MES VE NEOPTERİN**

Neopterin pirazino-pirimidin türevidir ve 2-amino-4-hidroksi (1,2,3'-D-eritro-trihidroksipropil pteridin) olarak adlandırılan bir aromatik proteindir. Guanozin trifosfattan (GTP) GTP siklohidrolaz I enzimi (EC.3.5.4.16) tarafından katalizlenen reaksiyon sonucu sentezlenir. Neopterin hücrese l immün cevap için önemli göstergelerden biridir (Çelik ve ark. 2010). Neopterin, Th-1 tipi sitokinler (IFN- ) ile uyarılan insan monosit tüevli makrofajlar ve dentrik hücreler tarafından salınır. nsan endotel hücreleri ve B-lenfositler gibi di er hücre tiplerinde de küçük miktar neopterin üretilir (Sucher ve ark. 2010).

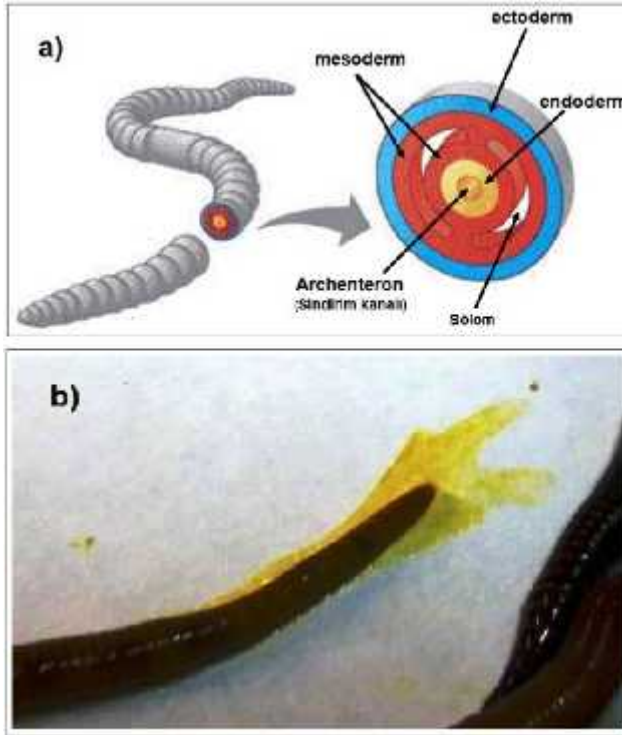
Yüksek neopterin konsantrasyonu güçlü monosit makrofaj aktivitesi varlı nda hastalıklarla ili kilidir (Cesur ve ark. 2014). Viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda, bazı malign hastalıklarda, böbrek, pankreas ve karaci er gibi organ transplantasyonu yapılmı hastalarda neopterin seviyesinde artı gözlenmektedir. Ayrıca endotel hasarı, organ disfonksiyonu, romatoid artrit ve koroner arter hastalı ı ile ili kili olarak da neopterin seviyelerinde artı gözlendi i belirtilmektedir (Lyu ve ark. 2015).

Yara iyile mesinde görev alan makrofajlar neopterin seviyesinde artma meydana getirecektir. Yüksek neopterin seviyesi inflamasyonun varlı nı gösterir ve yara iyile me süresi ile yüksek neopterin seviyesi arasında paralel bir ili ki vardır (Lyu ve ark. 2015).

## 2.9. SÖLÖM K SIVI

### 2.9.1. GENEL ÖZELLİKLER VE YAPISI

Sölömik sıvı *Eisenia fetida* tipi toprak solucanları tarafından yapılır. Toprak solucanları ortalama 5-15 cm boyutunda uzun vücutlu karasal halkalı solucanlardır (Tutar, 2012). Yapıları hemen hemen silindirik ancak son kısımları enine kesitte dörtgen, sekizgen olabilirken, bazılarının da son kısımlarında sırt-karın yönünde yassıla mı ve sırttan daha soluk renklidir (Mısırlıo lu 2011). Solucanlar iskeletsizdirler. Vücutları, segmentli ve renklidir dokuya sahiptir. Kırmızı, kahverengi veya bunların kombinasyon renklerinde olabilir. Kırmızı veya pembe renkli olmalarının sebebi vücut duvarlarına yakın kapiller kan damarlarındaki hemoglobinden kaynaklanır (Edwards ve Bohlen, 1996). Toprak solucanları, esas olarak sölöm adı verilen içi sıvı dolu vücut boşluğunun ayırıcı iki tüp, vücut duvarı ve sindirim sisteminden oluşur. Bu sebeple, solucanların morfolojisi kabaca iç içe girmiş iki boruya benzetilebilir. Ağızdan anüse uzanan bir sindirim sistemi kanalına, su dengesini sağlayan boşaltım sistemine, iki tüp arasında uzanan bir sinir sistemine sahiptirler (ekil 13a ve 13b).



**ekil 13. a)** *Eisenia fetida* solucan yapısı **b)** solucandan elde edilen sölömik sıvı

Toprak solucanları türlerinin, farklı ekolojik ortamlarda yaşıyor olmalarına rağmen fizyolojik özellikleri bakımından benzer oldukları saptanmıştır (Tomlin 200, Hendrix 2000). Diğer halkalı solucan üyelerinde olduğu gibi bunlarda da vücut, ön ucundan arka ucuna kadar hemen hemen birbirine benzeyen segmentlerden oluşmaktadır. Vücutları iç segmentlere uygun olarak dâtan da segmentlere ayrılır. Ergin bir solucan yapı ve ekil olarak birbirine benzeyen 115-200 segmentten oluşur, her segmente “metamer”, bu segmentli yapıya da “metamerizm” denir. Beyni ve ağızta bulunan kısmına “prostomium” ve anüsü taşıyan kuyruk kısmına “periprokt” ya da “anal segment” adı verilir. Anal segment orta hat üzerinde genellikle kısa, dikey yarıklı eklemlerde anüsü taşıır. Yeni segmentler anal segmentten meydana gelir. Buna göre en eski segment başın arkasındaki, en yenisi de anal segmentten öncekidir. Kıllar doğrudan doğruya deri çukurlarından çıkarlar. İlk ve son segment dışında her gövde segmenti, çiftler oluşturacak şekilde 4 demet kıl (seta) içerir. Bu kıllar “S” eklemlerde kıvrık, kitinden oluşmuş iğneler ya da bükülmez dikenler eklemlindedir. Boyları türden türe, aynı türün üyeleri arasında ve hatta aynı bireyde, ön ya da arka bölgede farklılık gösterebilir. Dip kısımları, deriden oluşmuş “kıl folikülü” denen bir kesenin içinde bulunur. Kıllar dışarıya çıkarılır ya da içeriye çekilebilir ve hareket sırasında çapa gibi segmentlerin tutunmasına hizmet ederler. Bazı segmentlerdeki kıl çiftleri, üreme işine hizmet etmek üzere dişi ikli üreme organıdır ve bunlar teker teker ya da çiftler halinde küçük, bezsi yapıları taşıyıcılar üzerinde taşıınır. Mikroskop altında boyuna oluklar eklemlerde görülen bu yapıların kavu mayası sırasında üreme uyarım ve tutma işlevini yaptıkları sanılmaktadır (Mısırlıoğlu, 2011).

Toprak solucanlarının tipik dış görünüşlerine ait diğer bir özellik de, genellikle üreme organları olgunlaşma sırasında, üreme açıklıkları civarındaki segmentlerde üst derinin çok bezli ve iğneli bir durum almasıdır. Vücudu halka ya da seker gibi saran bu iğneli kısma “klitellum” denir. Kavu mayası ve kokon kılıflarının oluşumuna hizmet eden farklı yapıdaki bez hücreleri, proteince zengin bir sıvı salgılar. Bu sıvı, galeri yapımında ve kavu mayası sırasında bireylerin yapımasında kullanılır. Klitellum bölgesinde, karın tarafında,



Çiftle mede rol alan bezsi yapılı ta tepecik ve oyuklar ekinde e eysel tüberküller vardır (Mısırlıo lu, 2011).

Vücut duvarı kütikul, epidermis, sinir doku, boylamsal ve halka ekinde kas tabakası ve sölom epitelinden olu mu tur (Edwards ve Bohlen, 1996). Bu boyuna ve enine kas sistemi üst deri ile birlikte “deri-kas kılıfı” adını alır. Sölom epiteli; kas kılıfının üzerinde ve septumlarda çok ince oldu u halde ba ırsak damarlarının ve damarların üstüne rastlayan yerlerde içlerinde sarı, kahverengi, ye ilimsi taneler bulunan “klorogogen hücrelerinden” olu mu tur. Sölom bo lu u; de i ik ekilli lenfositler, parçalanmı klorogogen hücreleri ve e ey bezlerinin bulundu u renksiz bir sıvı ile doludur. Bazı segmentler sırtın orta hattı boyunca birer delik ta ır. Sölom bo luklarını dı arıya ba layan bu deliklere sırt porları denir. Kuruma tehlikesi oldu u zamanlarda, vücut sıvısının bir kısmının, bu deliklerden dı arı çıkarak, derinin nemlenmesini sa ladı ı saptanmı tır (Mısırlıo lu 2011).

### **2.9.2. HÜCRESEL İMMÜN S STEM**

Toprak solucanlarının savunmayla ilgili hücreleri iki kısımda ele alınır. Bunlardan ilki savunmayla daha az ili kili olan kırmızı kan hücreleri di eri ise sölom sıvısı içeren di er hücre gruplarıdır (Valembois, 1971). Eisenia fetida türü solucanlarında hücreleri morfolojilerine ve sölomositten köken alıp almadıklarına göre sınıflandırmı tır. Ara tırıcı aynı zamanda sölomositleri; “lenfositik sölomosit”, “granülosit sölomosit” ve “fagositik sölomosit” olarak 3 grupta ele almı tır. Bütün bu sölomik hücreler hücreSEL ve hüMORAL İMMÜNİTENİN en önemli unsurlarıdır. İnsan akyuvarları ile benzer ekinde çalı an bu hücrelerin gerekti inde derideki porlardan dı arı salınabildi i saptanmı tır (Adamomowicz ve Wojtaszek, 2011). Hızlı cevap, birkaç gün süren kısa hafızalı ba ı ıklık ve zayıf özgünlük, toprak solucanlarının savunma mekanizmalarının karakteristik özellikleri olarak ifade edilmektedir (Wang ve ark., 2006).

### **2.9.3. HUMORAL İMMÜN SİSTEM**

Toprak solucanlarındaki sölom sıvısı içerisinde sitolitik, mitojenik, proteolitik, aglütinant, hemolitik ve antimikrobiyal özelli i olan 40'ı a kın molekül belirlenmi tir. Bunun yanında antikor ve kompleman tipi faktörler, sıvısal savunmaya destek vermektedirler (Kauschke ve ark., 1997; Bilej ve ark., 2001).

### **2.9.4. TOPRAK SOLUCANLARININ TIPTA KULLANIMLARI**

Toprak solucanlarından elde edilen ekstraktlar Çin tıbbında 2300 yıldan beri kullanılmaktadır. “Qianjinfang”, “Danxifang”, “Jixiaofang” ve “Bencagangmu” isimli Çin tıp kitaplarında solucanlardan elde edilen ekstraktların astım, hipertansiyon, artrit, alerji, yanık, sivilce gibi hastalıklarda antipiretik, antihistaminik ve anestezik etki gösterdi i ifade edilmi tir (Zeng 1982, Reynolds 1972, Wang 1986). Modern tıptaki geli melerle toprak solucanlarından, tıbbi etkileri kanıtlanmı lumbrofibrin, lumbritin, terrestrolumbrolizin, hipoksantin gibi maddeler izole edilmi tir. Toprak solucanlarının riboflavinden kaynaklanan ye il renkli klorogogen hücreleri ve dokularında, yüksek oranlarda karbonhidrat, lipit, protein, pigment ve çe itli alkalin aminoasitlerin bulundu u saptanmı tir (Jiangsu 2011).

#### **2.9.4.1. KARD YOVASKÜLER SİSTEM ÜZER NE ETKİLER**

Zhang ilk kez 1950 yılında toprak solucanlarından elde edilen ekstraktların, kan basıncını azalttı nı bildirmi tir. Shen (1982) solucanlardan elde edilen ekstraktlardan hazırlanan enjeksiyonların (0.5g/ml), aritmi kar ısında frenleyici etkisinin varlı nı bildirmi tir.

#### **2.9.4.2. SOLUNUM SİSTEM ÜZER NDEKİ ETKİLER**

1930 lu yıllarda solucanlardan elde edilen ekstraktların astım sakinle tirici bir bile en olarak kullanılabilce i, bu bile enlerin histamin ve pilokarpinin neden oldu u astım rahatsızlıklarını gidermekte etkili olabildi i ifade edilmi tir (Zhang, 2011).

Solucanların kurutulup toz haline getirilmesi ile hazırlanan ilaç 44 astım hastası üzerinde kullanılmış ve hastaların %84'ünün tedaviye olumlu cevap verdiği saptanmıştır (Ling 1961). Hastaların %78'i çocuk olan 275 astım bronit vakasının tedavisinde yalnız solucan enjeksiyonu kullanılmış ve tedavide çocuk olan hastalarda yeti kinlere oranla daha iyi sonuç alınmıştır raporu edilmiştir (Tutar, 2012).

#### **2.9.4.3 BACAK ÜLSER TEDAVİSİNDEKİ ETKİLER**

Solucan doku parçalarından elde edilen merhem, 50 bacak ülseri rahatsızlığı olan hastada haricen kullanılmıştır. Hastaların 17'sinde tamamen iyileşme görüldüğü, iyileşmenin daha az görüldüğü hastaların ağrılarında azalma, bacaklarındaki kızarıklıklarda gerileme olduğu saptanmıştır (Tutar, 2012).

#### **2.9.4.4. KABAKULAK TEDAVİSİNDEKİ ETKİLER**

Kabakulaklı hastalarda yapılan bir çalışmada, toprak solucanlarını distile su ile yıkadıktan sonra bir kaba koymuş ve üzerine toz ekerek ilave etmiştir. Bir süre sonra solucanların ortama sarı-beyaz renkli bir mucus salgıladıkları görülmüş ve bu madde sargı bezine emdirilerek hastanın lenf bezleri üzerine 2-3 saat süreyle tutulmuştur. Sonuçta, 170 hastada uygulanan bu yöntemle, vakalarda görülen yüksek ateş baskılanmış ve diğer semptomlar kısa sürede ortadan kaldırılmıştır. (Lu, 1961),

#### **2.9.4.5. EGZAMA VE ÜRTİKER HASTALIKLARINDAKİ ETKİLER**

Egzama rahatsızlığı olan 35 hastaya 60 gr solucan ile 30 gr ekerin karışımının tırılması ile elde edilen ekstrakt, günde 4-5 kez semptomların görüldüğü bölgelere uygulanmıştır. Hastaların 14'ü tamamen, 13'ü kısmen iyileşirken 5'i tedaviye olumlu tepki vermiş, yalnızca 3'ünde herhangi bir etki görülmemiştir (Hu, 1980).

Ürtiker rahatsızlığı olan 100 hastaya yapılan bir başka tedavi yönteminde; solucanlardan elde edilen ekstrakt günde 2 ml enjeksiyon yoluyla hastalara verilmiştir. Hastaların % 84'ünde iyileşme gerçekleşmiştir (Li, 1976). Ayrıca aynı yöntemin uygulandığı 50 ürtiker hastasının, 15'inde tamamen iyileşme, 24'ünde semptomlarda gerileme, 9'unda tedaviye tepki

görülürken 2 hastada herhangi bir etkinin görülmedi i rapor edilmi tir (Tutar, 2012).

#### **2.9.4.6. YANIKLARIN TEDAV S NDEK ETK LER**

Allolobophora caliginosa türü toprak solucanları ile tıbbi bitkilerin karı ımından hazırlanan merhem 5011 yanık tedavisi gören hastaya uygulanmı ve % 98,7'sinin tamamen iyile ti i rapor edilmi tir (Li, 1980). Kurutulmu 120 gram toprak solucanının, 60 gram ekerle karı tırılması ile hazırlanan solusyonun, günde 4-6 kez yanık bölgeye uygulanması halinde tedavide ba arılı olundu u ifade edilmektedir (Tutar, 2012).

#### **2.9.4.7 KIRIKLARIN TEDAV S NDEK ETK LER**

Femur kırık ı olan 63 hastada, solucanlar kullanılarak yapılan tedavide, a rının bir saat içinde durdu u, mevcut i liklerin 24 saat içinde kayboldu u ve kemik geli iminin ortalamanın üzerinde bir hızla gerçekleşti i görülmü tür ve bu analjezik ve antiinflamatuvar etkinin toprak solucanlarının yapısında bulunan nükleik asit ve lipitlerden kaynaklanabilece ini ifade etmi tir (Li, 1980). Kırık üzerine yapılan ba ka çalı malarda canlı solucanlarla hazırlanan preparatların kırık vakalarında kullanılması durumunda kemik geli imini hızlandırarak çok daha kısa sürede iyile me sa lanabilece ini açıklamı lardır (Zheng, 1988; Xu, 1984).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalı ma, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan izin alındıktan sonra (No: 06.11.2014/149) ortalama 300-350 g a ırlı ında Wistar albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar büyük kafeslerde 5'er adet olmak üzere rastgele gruplara ayrılarak sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi. Sıçanlar, normal bulunması gereken laboratuvar standartları olan 12 saat aydınlık/karanlık döngünün sa landı ı ve % 55±5 ba ıl nem oranına sahip ortamda tutuldular. Hayvanlar rastgele seçilerek gruplar a a ıdaki gibi olu turuldu (Tablo 3).

#### Çalı ma Gruplarının Olu umu

**Tablo 3.** Deney ve kontrol grupları

Deney ve Kontrol Grupları	Gruptaki hayvan sayısı (n)
Grup I (kontrol Grubu)	10
Grup II (Söloomik sıvı)	10
Grup III (Nitrofurazon) <sub>(krem)</sub>	10
Grup IV (Söloomik sıvı+Nitrofurazon)	10
Grup V (sham Grubu)	10
<b>Toplam Hayvan Sayısı</b>	<b>50</b>

**Grup I (kontrol Grubu):** Sıçanlarda diyabet olu turuldu (Bölüm 3.3'de bahsedilen yöntemeye göre). Sıçanların sırtlarında tam cilt kesisi açılmadı.

**Grup II (Söloomik Sıvı Grubu):** Sıçanlarda diyabet olu turuldu (Bölüm 3.3'de bahsedilen yöntemeye göre). Sıçanların sırtında tam cilt kesisi olu turuldu (Bölüm 3.4'de bahsedilen yöntemeye göre). Pansumanları 50 µL söloomik sıvı ile gazlı bez yardımıyla topikal olarak yapıldı.

**Grup III (Nitrofurazon grubu):** Diyabetik sıçanların (Bölüm 3.3'de bahsedilen yöntemeye göre) sırtında tam cilt kesisi ile yara olu turuldu (Bölüm

3.4’de bahsedilen yöntemle göre). Pansumanları 0,1 mg % 0,2 lik nitrofurazon ile gazlı bez yardımıyla topikal olarak uygulandı.

**Grup IV (Söloomik Sıvı + Nitrofurazon Grubu):** Sıçanlarda diyabet olu turulduktan (Bölüm 3.3’de bahsedilen yöntemle göre)sonra sırt bölgesi tam cilt kesisi ile açıldı(Bölüm 3.4’de bahsedilen yöntemle göre). Pansumanları 50 µL söloomik sıvı ve 0,1 mg % 0,2 lik nitrofurazon karı ımıyla gazlı bez yardımıyla topikal olarak günde bir defa uygulandı.

**Grup V (Sham Grubu):** Sıçanlarda diyabet olu turuldu (Bölüm 3.3’de bahsedilen yöntemle göre). Sıçanların sırtında tam cilt kesisi olu turuldu (Bölüm 3.4’de bahsedilen yöntemle göre). Pansumanları steril distile su ile topikal olarak yapıldı.

Hayvanlardan sıralamaya uygun olacak ekilde operasyonu (Bölüm 3.4’te anlatılmı tır) izleyen 7. günde anestezi altında kardiyak kan alındı. Yara dokusundan örnekler sütür hattını ortayacak ekilde 6 mm eninde 3,6 cm boyunda tam kat olarak deri alındı. Alınan doku örnekleri üç e it parçaya ayrıldı. Bu örneklerin iki parçası PCR için ayrıldı. PCR için ayrılan kısımlar tartıldıktan ve içerisine 1 cc RNA stabilizatör içine konduktan sonra sıvı azot ile dondurularak -80 °C ‘de çalı ma gününe kadar saklandı. Di er yara dokusu da formaldehid içerisine konularak patolojiye gönderildi.

### **3.2. SÖLOM ELDE ED LMES**

Söloomik sıvı eldesinde ülkemizde de kültürü olan Eisenia fetida tipi kültür solucanları kullanıldı. Söloomik sıvı 5V’luk stres uygulanarak elde edildi (Stres altında solucanlar söloomik sıvıyı oka ba landı ı andan itibaren salgırlar. Solucanlar önce yıkandı ve kurulandı. Elektrik okuyla stres uygulanan solucanlar söloomik sıvıyı ter gibi salgıladılar. Bu da bir mikropipet yardımıyla toplandı (Pan ve ark. 2003). Elde edilen söloomik sıvı 4000 rpm’de 4 °C’ta 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan süpernetan kısmı steril ırına uçlu filtre ile süzülerek kullanılmak üzere 4 °C’de saklandı sediment kısmı ise atıldı.

### 3.3.D YABET OLU TURMA

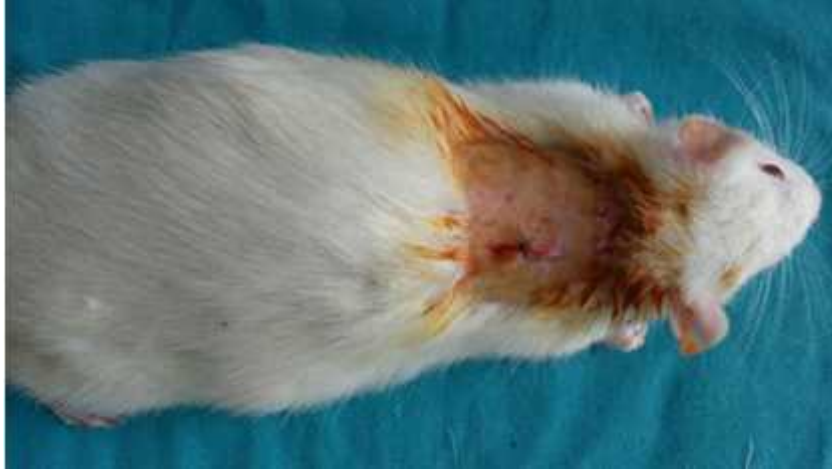
Bütün sıçanların a ırlıkları STZ uygulaması öncesinde kaydedildi ve rastgele hayvanlar seçilerek kuyruklarına verilen i aretlerle (asetat kalemi ile tek çizgi, çift çizgi, üç çizgi, kontrol için K, sham için de S yazıldı ve günlük silinmemesi için tekrar çizildi) 5 gruba ayrılarak gruplandırıldı. STZ 0,1 M pH=4,5 sitrat tamponunda (20 ml/kg) çözüldükten sonra intraperitoneal (i.p.) olarak tek dozda 55 mg/kg olarak enjekte edildi. STZ uygulandıktan 3 gün sonra kan glikoz düzeyi glukometre (Glukotrend/Roche ) ile ölçüldü. Glikoz ölçümü sıçanların kuyruk veninden alınan kan ile yapıldı. Kan ekeri 300 mg/dl olan sıçanlar diyabetik hayvan olarak kabul edildi.

### 3.4.YARA OLU TURMA

Diyabetik oldu una karar verilmi olan sıçanlar bir hafta daha diyabetin klini i oturması beklenildikten sonra yara olu turma i lemine alındı. Sıçanlara intramüsküler yoldan 90 mg/kg ketamin hydrochlorid ve 8 mg/kg Xylazin (Alfazin) yapılarak genel anestezi sa landı. Anestezi yapılan hayvanlar sırtı yukarı getirilecek ekilde (prone pozisyon) yatırılacak ve sırt tüyleri cilde hasar vermemeye özen gösterilerek tra edildi. Her bir sıçanın sırt bölgesi povidon iyot ile temizlendikten sonra kumpasla ölçülüp 15 numara bisturi kullanılarak sırtta (iki skapula arasından, iliak çıkıntısına do ru bisturi ile) 3 cm boyunda tam cilt (full thickness) kesisi olu turuldu ( ekil 14a). Daha sonra yara dudakları 4/0 non-absorbable iplik ile birer sütür olacak ekilde primer olarak kapatıldı ( ekil 14b).



**ekil 14a.** Tam kat kutanöz yara olu turulmu sıçan



**ekil 14b.** Primer sütür ile yara yeri kapatılmış sıçan

### **3.5. TEDAV UYGULAMA YÖNTEM**

Kesi ile yara oluştuğundan sonra günde bir kez yedi gün boyunca, saat 16:00-16:30 arasında topikal olarak uygulama yapıldı. Nitrofurazon (% 0,2'lik) 0,1 mg, solumik sıvı ise saf halde 50 µl kullanılarak 3x3 cm'lik gazlı bez ile sütür hattı boyunca topikal olarak uygulandı.

### **3.6. LABORATUVAR ÇALI MALARI**

#### **3.6.1. ELISA ÇALI MALARI**

Yara çalı masının 7. gününde sıçanlardan kardiyak kan alınmak için kapalı punksiyon yöntemi (ksifoid altından) kullanıldı (Waynforth H.B. ve Flecknell P.A.;1992) Kanlar EDTA'lı tüplere alınarak ve plazma elde edildi. Elde edilen kan örnekleri EL SA kitlerinin (Cayman marka Elisa kitleri) prosedürüne uygun olarak çalı ıldı.

#### **ELISA için Kan Örneklerinden Plazma Eldesi**

Toplanan kan örnekleri EDTA'lı tüpe alındı. 700-1000 g'de 10 dakika 4 °C'de santrifüj edildi. Plazma kısmı alınarak 8 parçaya ayrılıp alikodlandı ve çalı ılmak üzere (-80°C) de saklandı.

#### **3.6.1.1. Malondialdehit (MDA)**

Plazma MDA seviyesinin tespiti tiyobarbitürik asit ile yüksek sıcaklıkta (90-100 °C) tepkimeye girerek oluşan ürünün spektrofotometrik ölçüm ile değerlendirilmesine dayanır. 100 µL örneğe 100 µL SDS çözeltisi ekleyerek karıştırıldı. Üzerine 4 mL Color Reagent ekleyip kaynar suda 1 saat bekletildi.



1 saat sonra acilen su banyosuna aldıktan sonra reaksiyonun durması için 10 dakika bekletildi. 1600 g de 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ında bekletildi. 530-540 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapıldı (Thermo Scientific Multiscan GO).

#### **3.6.1.2. Katalaz (CAT) Aktivitesi**

Katalaz analiz kiti enzim aktivitesinin tayini için katalazın peroksidatik fonksiyonunu kullanır. Bu metot optimal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun varlığı ında metanol ile enzimin tepkimesine dayanır. Üretilen formaldehit kromojen olarak 4-amino-3-hidrazino-5-merkapt-1,2,4-triazol (Purpald) ile kolorometrik ölçümüne dayanır. Purpald özellikle aldehitlerle heterosiklikler ile bir bisiklik oluşur ve oksidasyon ile renksizden mor renge dönüşür.

100 µl analiz tamponuna, 30 µl metanol ve 20 µl standart örnek eklendi. Tepkimeyi başlatmak için 20 µl hidrojen peroksit eklendi. 20 dakika oda sıcaklığı ında çalkalayıcıda inkübe edildi. 30 µl Potasyum hidroksit tepkimeye eklendi ve 30 µl Katalaz Purpald ilave edildi. Oda sıcaklığı ında 10 dakika inkübasyondan sonra her kuyucu başına 10 µl katalaz potasyum periodat ekleyip 5 dakika oda sıcaklığı ında beklenildi. 540 nm’de spektrofotometrik olarak okundu.

#### **3.6.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD aktivitesini ölçmek için ticari deney kiti kullanıldı. SOD’un, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan süper oksit radikallerini ölçmek için; 200 µl radikal detektörüne 10 µl standart veya örnek eklendi. Üzerine 20 µl ksantin oksidaz eklenerek tepkime başlatıldı. 30 dakika inkübe edildikten sonra 440-460 nm dalga boyunda okundu.

#### **3.6.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)**

GSH-Px aktivitesini ölçmek için ticari deney kiti kullanılarak her bir plate kuyucu başına 120 µl analiz tamponu ve 50 µl ko-substrat karışımı eklendi. Pozitif Kontrol: 100 µl assay tamponuna, 50 µl ko-substrat karışımı ve 20 µl örnek katıldı. Tepkimeyi başlatmak için 20 µl Kümen hidroperoksit eklendikten sonra birkaç saniye karıştırıcıda bekletildi. 340 nm’de okundu.

### 3.6.2. PCR (REAL-T ME PCR) ÇALI MALARI

Real time PCR uygulanmadan önce alınan doku örnekleri a a ıdaki yöntem ile homojenize edildi.

#### **Doku Homojenizasyonu**

Doku homejenizasyonu yapmak için sütür hattından sa lı sollu e it uzaklıkta olmak üzere yakla ık 300 mg yara dokusu kesilerek ayrıldı. 1 ml PBS ile 3 kez yıkandı. Örnek dokusunun hacmi kadar çelik bilye 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerle tirildi ve üzerine doku ilave edildi. Doku lizis solüsyonundan (Ripa Buffer) doku miktarını 2 kat boylayana kadar tüpe eklendi. Karı ımın içine doku miktarının 1/25'i kadar proteaz inhibitörü konduktan sonra mikro santrifüj tüpleri kapatılıp cihaza yerle tirildi. Dokular homojenizatörde 5 dak. parçalandı. 5 dak. sonunda halen tam parçalanmamı dokulara tekrar aynı i lem uygulandı. Parçalanmış doku homojenizatları tüp içerisinden alınıp temiz bir tüpe yerle tirildi.

#### **PCR a amalarının kısa özeti;**

Dokudan RNA izole edildi cDNA elde edildi Taqman prob kullanılarak ilgili genlerin ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıklar incelendi

**Serum IL-1, VEGF, TNF ve Neopterin Düzeylerinin PCR ile Belirlenmesi:** IL-1, VEGF, TNF ve Neopterin genlerinin ekspresyon düzeylerini incelemek için doku örneklerinden RNA izole edildi. Bu a ama için hazır ticari spin kolon prensibi ile çalı an kitler kullanıldı. Bunun için 200 µg doku örnekleri önce çok küçük parçacıklara kesilerek daha sonra üzerine digestion tamponu eklendi. Bu tampon hücreler arası ba ı koparan bir sindirim enzimidir. Daha sonra lizis enzimi eklenip spin kolon içine konuldu. Daha sonra doku örneklerini silika membran yapıdaki spin kolon materyaline eklenerek ba lanma tamponu ile ortamın PH'sını de i tirilip nükleik asitler spin kolona ba landı. Örnek üzerine DNase enzimi ekleyip ortamdan DNA ve protein içerikli materyalleri uzakla tırıldı. Alkol içerikli yıkama solüsyonu ile yıkandı. Böylece spin kolona sadece RNA ba landı. Sonra TE (10 mM trisHCL, Ph8,0, 1Mm EDTA) içerikli Elution solüsyonu ile spin kolondan

RNA safla tırıldı. RNA'ların stabil kalması çok zor oldu u için hemen revers transkriptaz enzimi ile RNA'lar cDNA ya dönü türüldü. cDNA'lar çalı ma gününe kadar (-80°C) de saklandı. Çalı ma gününde cDNA'lar IL-1, VEGF, TNF ve neopterin genlerine özgül primer ve Taqman Probları ile Real Time PCR a amasına alındı. Bu a amada Primerler ilgili genlerin promotor bölgelerine ba landı ında Taqman Prob prensibi ile sentezlenmi problemler ise PCR ürününün bir bölgesine ba landı. Taqman Prob çalı ma prensibi parçalanmış Prob tekni i oldu undan kullanaca ımız polymerase 5'-3' exonuclease aktivitesine sahip olmalıdır. Böylece prob ba landıktan sonra taq DNA polymerase probun ı ıması için onu parçalar. Realtime PCR cihazında bu ı ımayı e zamanlı olarak izlenir ve analiz edebilir. Real time PCR'ın çalı ıp çalı madı ı Beta Actin ile kontrol edilir. Böylece elde etti imiz Ct (threshold cycle) (Gerçek zamanlı PCR deneylerinde floresan sinyal miktarının, gözlemlenebilmesi için gereken minimum de eri (e ik de erini) geçti i döngü sayısına (e ik döngüsü) verilen addır.) de erleri B-Actin ile kıyaslanarak de erlendirilir. Kullandı ımız kontrol ve deney gruplarında birbiri içindeki kıyaslamalar sonucunda IL-1, VEGF, TNF ve neopterin genlerinin ekspresyon düzeylerinin artıp azaldı ına dikkat çekerek yara iyile mesi hakkında bilgi edinildi.

**cDNA Eldesi:** mRNA ekspresyon seviyelerini belirlemek için duyarlı bir metottur. Klasik PCR dan farklı olarak ba langıç materyali RNA dır. Ters transkriptaz enzimi, tek iplikli bir RNA molekülü okuyup (transkripsiyonunu yapıp) tek iplikli DNA üreten bir DNA polimeraz enzimidir. Bu enzim, ayrıca, RNA tek iplikli cDNA ekinde okunduktan sonra çift iplikli DNA olu masında da görev alır. Normal transkripsiyon DNA'dan RNA sentezidir dolayısıyla ters transkripsiyon bu sürecin tersidir. mRNA düzeyinde yapılacak analizlerde RNA molekülü ile çalı mak zor oldu u için complementary DNA (cDNA) gibi kararlı bir moleköl ile çalı ılır. Olu an cDNA intron bölgelerini içermez. Sadece Exonları içerir. Bu sayede kodlanan gen bölgeleri hakkında bilgi sahibi olmamızı sa lar. cDNA eldesi yapıldı ve RNAaz ligaz eklenerek -80 °C de saklandı. DNA miktarları ölçülerek ortalama 50 ng olması sa lanıldı. Stok solüsyondan 1/10 oranında olacak ekilde cDNA seyreltildi. Çalı mada

kullanılacak örnek sayısı belirlendi. Buna göre Master Mix hazırlandı. Aynı örnekler iki defa çalışıldı. 0.5 ml lik tüp içine 120 µl TaqMan Gene Expression Master Mix (2x) eklendi. Her örnek için 2 µl olacak şekilde 2x12=24 µl prob 0.5 ml tüp içerisine eklenerek 150 rpm'de 2 dk. vortekslendi. Üzerine cDNA miktarına göre 20 µl'ye tamamlamak için gerekli olan nuclease free su eklenerek tekrar 150 rpm'de 1 dk. vortekslendi. Hazırlanan tüplerden 0,1ml PCR plate içine 10-15 µl eklendi. 4-10 µl cDNA eklendi yavaşça vortekslenerek pleytin üzeri kapatıldı. Pleyt cihaza yerleştirildi. Elde edilen RNA'ların kalitesini görmek için numunelerin herbirinin ölçümü Nanodrop (Thermo Scientific Multiscan GO) cihazında yapıldı.

### **3.6.3. H STOPATOLOJİ ÇALIŞMALARI**

Sıçanların sırtından insizyon hattını ortaya alacak şekilde 6 mm eninde erit ekinde tam kat deri örnekleri alındı. Alınan örnekler % 10 formaldehit içerisinde tespit edilip rutin doku takibi lemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan alınan 5 mikron kalınlığındaki kesitler histopatolojik inceleme için hematoksilin-eozin ile boyandı. Histopatolojik incelemelerde 10 farklı mikroskop sahası taranarak 40x büyütmede ödem, makrofaj infiltrasyonu, fibroblast yoğunluğu ve deri yüzeyindeki yeni epitel oluşumu semikantitatif olarak 0 dan 3 e kadar skorlandı (0 = 40x büyütmede 10 mikroskop alanında herhangi bir yangısal yanıt (ödem, makrofaj ve fibroblast) veya yeni epitel oluşumu yok, 1 = 40x büyütmede 10 farklı mikroskop alanında hafif bir yangısal yanıt (ödem, makrofaj ve fibroblast) veya az yoğunlukta epitel oluşumu, 2 = 40x büyütmede 10 mikroskop alanında orta şiddette yangısal bir yanıt (ödem, makrofaj ve fibroblast) veya orta derecede yeni epitel oluşumu, 3 = 40x büyütmede 10 mikroskop alanında şiddetli bir yangısal yanıt (ödem, makrofaj ve fibroblast) veya yoğun miktarda (kontrollere yakın) yeni epitel oluşumu)

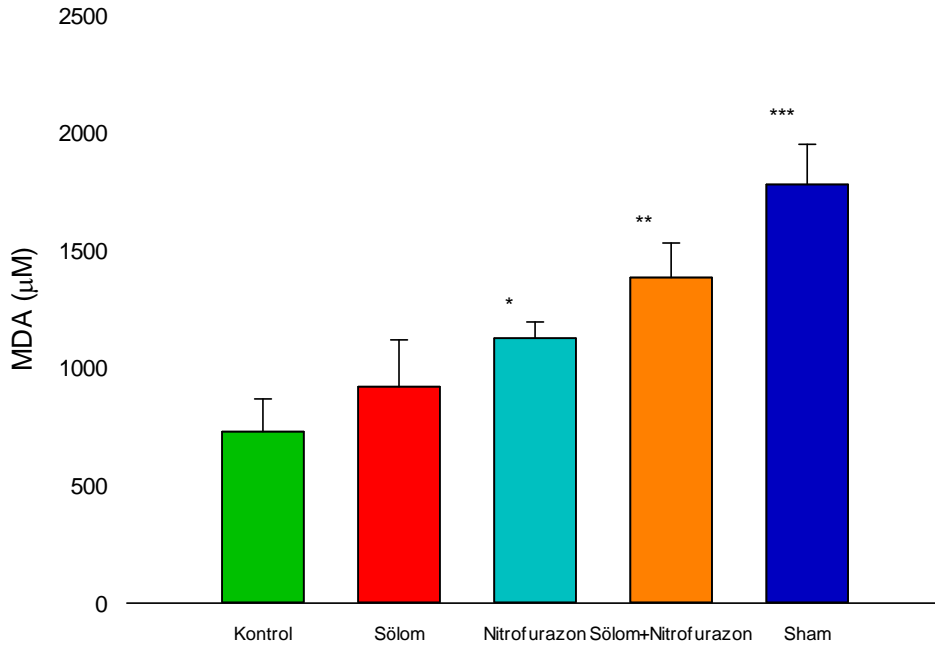
### 3.7. STATİSTİKSEL YÖNTEM

Bu çalışmada 50 sıçan 10'arlı olarak ayrılarak sırasıyla kontrol, sölom, nitro frozen, sölom+nitro frozen ve sham gruplarını oluşturulmuştur. Herbir grup için doku örneklerinden PCR ve patoloji çalışmaları yapılmıştır. Kan örneklerinden ise ELISA çalışmaları yapılmıştır. PCR, patoloji ve ELISA uygulamalarının herbiri için 4'er parametre incelenmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi istatistiksel paket programı olan SPSS 22.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Öncelikle tüm parametreler için ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanarak grafikleri ile birlikte sunulmuştur. Çalışmanın amacı tüm parametrelere göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemektir. Bu amaçla yapılacak olan testlerin parametrik veya non-parametrik olmasına karar vermek için normallik varsayımını ve varyansların homojenliği varsayımını incelemek gerekir. Normallik testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile varyansların homojenliği ise Levene Testi ile test edilmiştir. Her iki varsayımda sağlanmadığı durumlarda gruplar arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için Parametrik bir test olan ANOVA varyans analizi testi. ki varsayımdan en az birinin sağlanmadığı durumlarda ise non-parametrik testlerden Kruskal Wallis Testi uygulanır. ANOVA testinin sonucunda en az bir grubun diğerlerinden farklı çıkması durumunda farklılığın nedenini belirlemek için ikili karşılaştırma testlerinden TUKEY testi uygulanmıştır. Kruskal-Wallis testinin sonucunda en az bir grubun diğerlerinden farklı çıkması durumunda ise farklılığın nedenini belirlemek için Mann-Whitney U testi ikili olarak bütün gruplara uygulanmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. GRUPLARIN SERUM MDA DÜZEYLERİ

Her bir sıçanın MDA de eri ölçülerek grupların ortalama MDA de erleri  $\mu\text{M}$  olarak ifade edildi. Elde etti imiz verilere göre en dü ük MDA ortalaması kontrol grubunda ( $729,00 \pm 139 \mu\text{M}$ ) iken en yüksek MDA ortalamasının ise sham grubunda ( $1780,50 \pm 171 \mu\text{M}$ ) oldu u görüldü. Di er üç grup MDA de erleri küçükten büyü e do ru sölomik grup ( $920,50 \pm 131 \mu\text{M}$ ), nitrofurazon grup ( $1126,20 \pm 69 \mu\text{M}$ ) ve sölom+nitrofurazon grup ( $1385,00 \pm 146 \mu\text{M}$ ) olarak sıralanmı tır. Sölomik grubun MDA seviyesi nitrofurazon grup, sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile kar ıla tırıldı nda üç gruptan da dü ük ölçülmü tür. MDA seviyelerindeki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  de erleri sırası ile  $p=0,023$ ,  $p=0,001$  ve  $p<0,001$  dir. Grupların MDA ortalamaları a a ıda grafiksel olarak gösterilmi tir ( ekil 15).



**ekil 15.** Grupların serum MDA ortalama de erleri

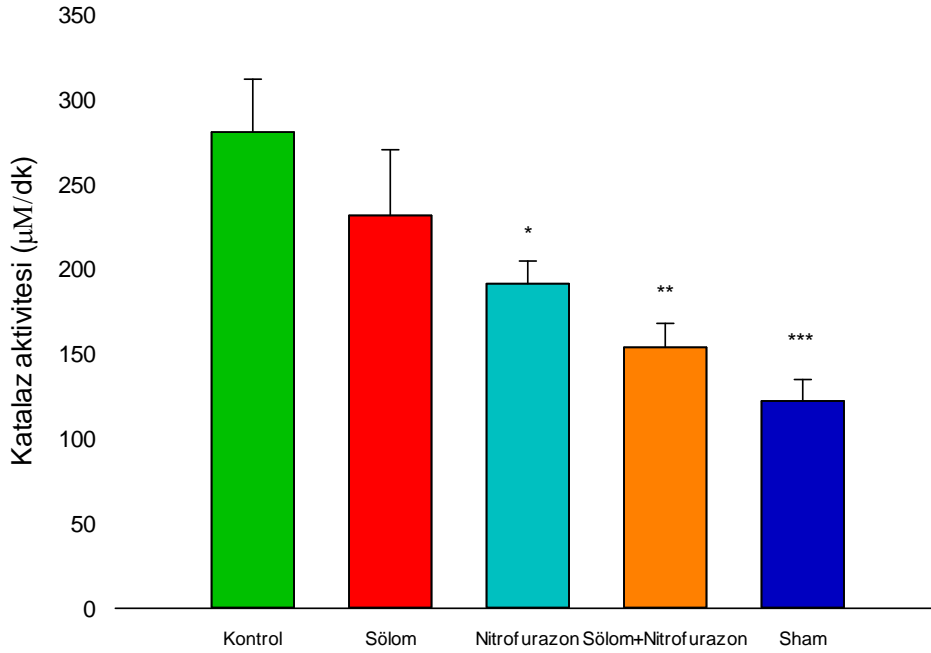
\* ; sölom grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,023$ ).

\*\* ; sölom grubu ile sölom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,001$ ).

\*\*\*; sölom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p<0,001$ ).

## 4.2. GRUPLARIN SERUM KATALAZ DEĞERLERİ

Tüm Gruplardaki sıçanların serum CAT aktivite değerleri ölçüldü ve değerler  $\mu\text{M}/\text{dk}$  olarak kayıt edildi. Grupların katalaz ortalamaları hesaplandı. En yüksek değerlerin kontrol grubunda ( $280,62 \pm 31 \mu\text{M}/\text{dk}$ ) en düşük CAT ortalama değerinin ise sham grubunda ( $122,15 \pm 13 \mu\text{M}/\text{dk}$ ) olduğu görülmüştür. Diğer üç grubun serum CAT aktivite ortalama değerleri büyükten küçüğe doğru şölemik grup ( $231,55 \pm 38 \mu\text{M}/\text{dk}$ ), nitrofurazon grubu ( $191,31 \pm 13 \mu\text{M}/\text{dk}$ ) ve şölem+nitrofurazon grubu ( $153,76 \pm 14 \mu\text{M}/\text{dk}$ ) olarak sıralanmıştır. Şölemik grubun serum CAT seviyesi nitrofurazon grubu, şölem+nitrofurazon grubu ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı. En yüksek ölçümlü gruplardan üç gruptan da yüksek ölçümlü grup. Bu yükseklik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup  $p$  değerleri sırasıyla  $p=0,023$ ,  $p=0,001$  ve  $p<0,001$  dir. Grupların serum CAT ortalamaları aşağıda grafiksel olarak gösterilmiştir (ekil 16).



**ekil 16.** Grupların serum CAT aktivitesi ortalama değerleri

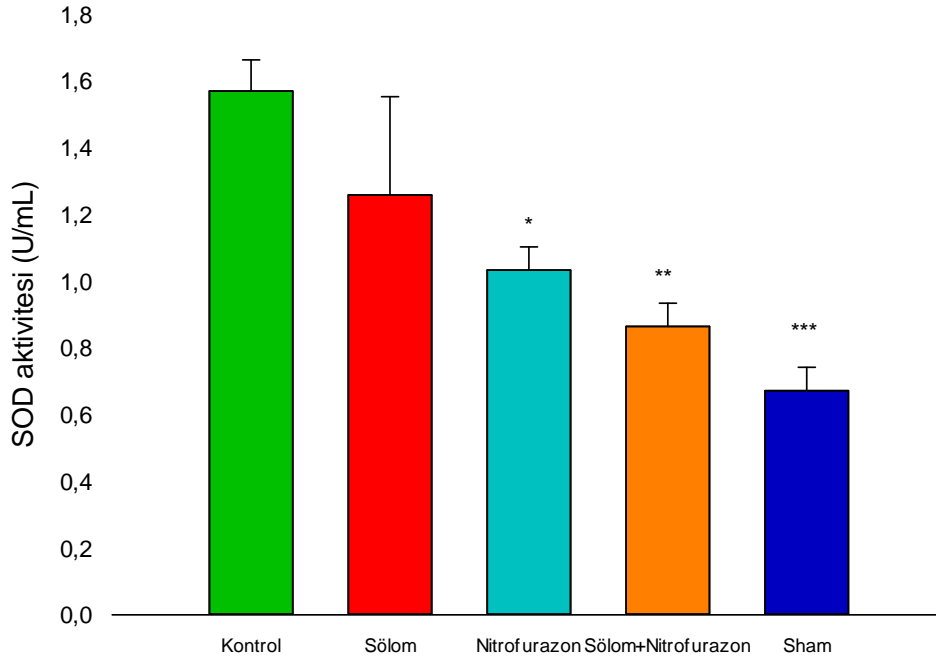
\* ; şölem grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,023$ ).

\*\* ; şölem grubu ile şölem+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ).

\*\*\* ; şölem grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

### 4.3. GRUPLARIN SERUM SOD DE ERLER

Sıçanların serumlarından ölçülen SOD de erleri U/ml olarak kayıt edildi. Grupların SOD ortlamaları hesaplandı nda en yüksek SOD de erin kontrol grubunda ( $1,57\pm 0,09$  U/ml), en dü ük de erinin ise sham grubunda ( $0,67\pm 0,07$  U/ml) oldu u görülmü tür. Di er üç grubun ortalama SOD de erleri büyükten küçü e do ru sölomik grup ( $1,26\pm 0,29$  U/ml), nitrofurazon grup ( $1,03\pm 0,07$  U/ml) ve sölom+nitrofurazon grup ( $0,86\pm 0,07$  U/ml) olarak sıralanmı tır. Söломik grubun SOD seviyesi nitrofurazon grup, sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile kar ıla tırıldı nda üç gruptan da yüksek ölçülmü tür. SOD de erindeki bu yükseklik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  de erleri sırası ile  $p=0,006$ ,  $p=0,002$  ve  $p=0,001$  dir. Grupların SOD ortalamaları a a ıda grafiksel olarak gösterilmi tir ( ekil 17).



**ekil 17.** Grupların serum SOD aktivitesi ortalama de erleri

\* ; söлом grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,006$ ).

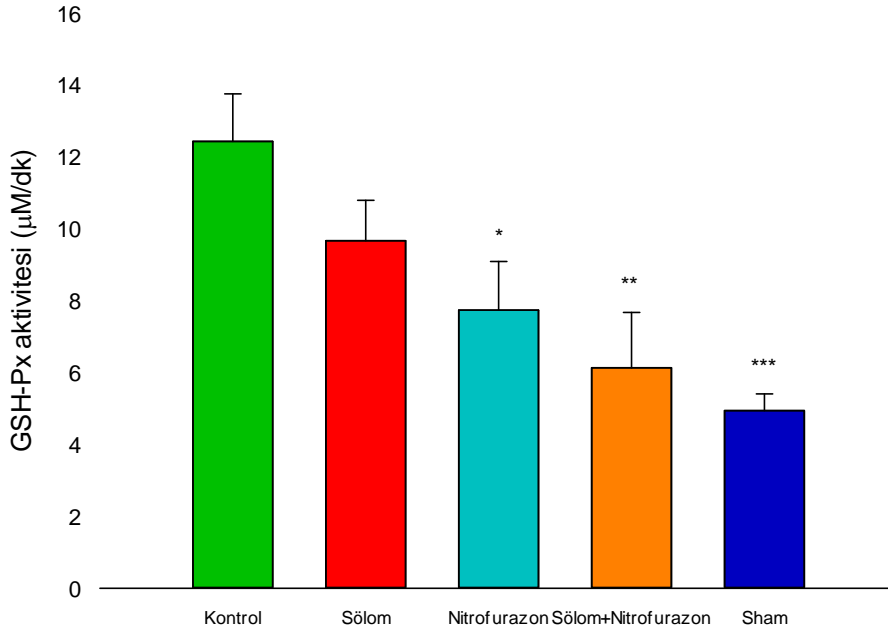
\*\* ; söлом grubu ile söлом+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,002$ ).

\*\*\* ; söлом grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,001$ ).



#### 4.4. GRUPLARIN SERUM GSH-Px DE ERLER

GSH-Px de erleri ölçüldü ve birimi  $\mu\text{M/dk}$  olarak kayıt edildi. Grupların ortalamaları hesaplandı ında en yüksek GSH-Px de erin kontrol grubunda ( $12,43\pm 1,32 \mu\text{M/dk}$ ) en dü ük de erinin ise sham grubunda ( $4,94\pm 0,46 \mu\text{M/dk}$ ) oldu u görülmü tür. Di er üç grubun ortalama GSH-Px de erleri büyükten küçü e do ru sölomik grup ( $9,67\pm 1,12 \mu\text{M/dk}$ ), nitrofurazon grup ( $7,74\pm 1,35 \mu\text{M/dk}$ ) ve sölom+nitrofurazon grup ( $6,13\pm 1,54 \mu\text{M/dk}$ ) olarak sıralanmı tır. Sölomik grubun GSH-Px seviyesi nitrofurazon grup, sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grubu ile kar ıla tırıldı ında kar ıla tırıldı ında üç gruptan da yüksek ölçülmü tür. GSH-Px seviyesindeki bu yükseklik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  de erleri sırası ile  $p=0,013$ ,  $p=0,001$  ve  $p<0,001$  dir. Grupların GSH-Px ortalamaları a a ıda grafiksel olarak gösterilmi tir ( ekil 18).



**ekil 18.** Grupların serum GSH-Px ortalama de erleri

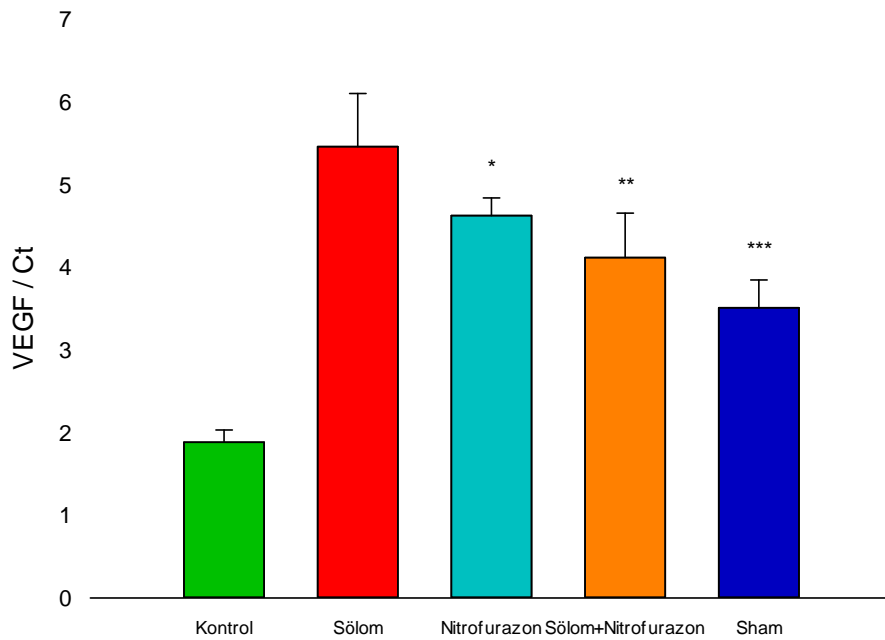
\* ; sölom grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,013$ ).

\*\* ; sölom grubu ile sölom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,001$ ).

\*\*\* ; sölom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p<0,001$ ).

#### 4.5. GRUPLARIN VEGF DE ERLER

Sıçanlardan alınan doku örneklerinde PCR de erleri VEGF/Ct olarak kayıt edildi. Grupların VEGF/Ct de erlerinin ortalaması hesaplandı nda kontrol grubunun de eri en dü ük ( $1,88\pm 0,15$  VEGF/Ct) iken sölom grubunun ( $5,45\pm 0,64$  VEGF/Ct) en yüksek oldu u gözlemlenmiştir. Di er üç grubun VEGF de erlerinin ortalamaları büyükten küçü e do ru nitrofurazon grubu ( $4,62\pm 0,21$  VEGF/Ct), sölom+nitrofurazon grubu ( $4,11\pm 0,53$  VEGF/Ct) ve sham grubu ( $3,51\pm 0,33$  VEGF/Ct) olarak sıralanmıştır. Söломik grubun VEGF/Ct seviyesi nitrofurazon grup, sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile kar ıla tırıldı nda üç gruptan da yüksek ölçülmü tür. Bu yükseklik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  de erleri sırası ile  $p=0,004$ ,  $p=0,003$  ve  $p<0,001$  dir. Grupların VEGF/Ct ortalamaları a a ıda grafiksel olarak gösterilmiştir ( ekil 19).



**ekil 19.** Grupların VEGF ortalama de erleri

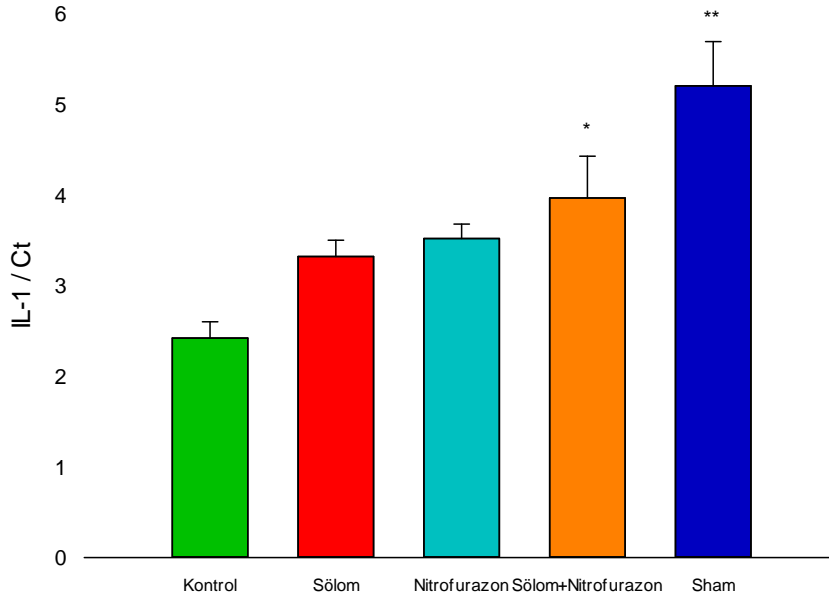
\* ; söлом grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tür ( $p=0,004$ ).

\*\* ; söлом grubu ile söлом+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tür ( $p=0,003$ ).

\*\*\* ; söлом grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tür ( $p<0,001$ ).

#### 4.6. GRUPLARIN IL-1 DE ERLER

IL-1, laboratuvar sonuçları IL-1/Ct olarak kayıt edildi. Grupların ortalama de erleri hesaplandı nda kontrol grubu en dü ük ( $2,42 \pm 0,18$  IL-1/Ct) ortalamaya sahip iken sham grubunun ( $5,20 \pm 0,49$  IL-1/Ct) ortalaması en yüksek bulunmu tur. Di er üç grup küçükten büyü e do ru sölomik grup ( $3,32 \pm 0,18$  IL-1/Ct), nitrofurazon grup ( $3,51 \pm 0,16$  IL-1/Ct), ve sölom+nitrofurazon grup ( $3,96 \pm 0,46$  IL-1/Ct) olarak sıralanmı tur. Gruplara ait de erler iki erli kar ıla tırıldı nda sölom grubunun ortalama de eri nitrofurazon grubunun ortalama de erinden daha dü ük olarak tespit edilmi olsada bu iki grup arasındaki fark istatikselsel olarak anlamlı bulunmamı tur ( $p=0,082$ ). Sölomik grubun IL-1/Ct seviyesi sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile kar ıla tırıldı nda iki gruptan da dü ük ölçülmü tür. Bu ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  de erleri sırası ile  $p=0,001$  ve  $p<0,001$  dir. Grupların IL-1/Ct ortalamaları a a ıda grafiksel olarak gösterilmi tir ( ekil 20).



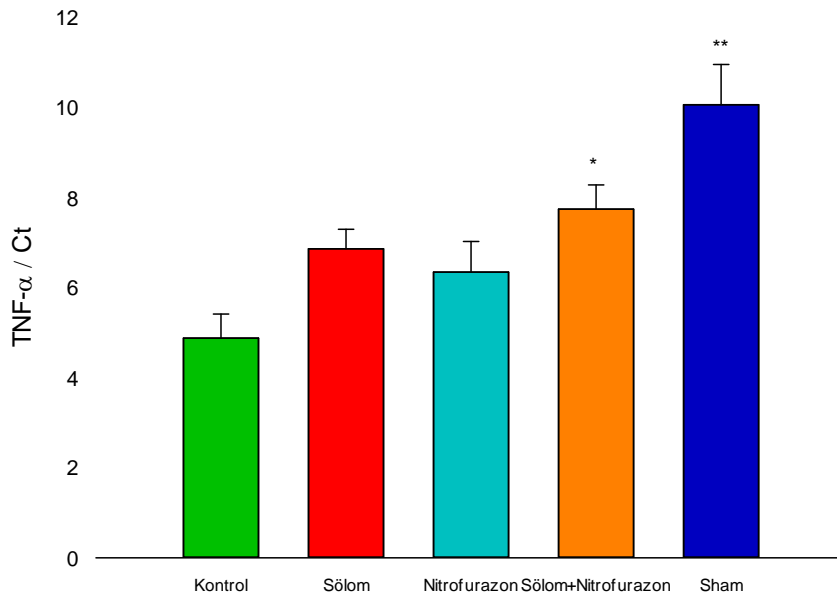
**ekil 20.** Grupların IL-1 ortalama de erleri

\*; sölom grubu ile sölom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,001$ ).

\*\*; sölom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p<0,001$ ).

#### 4.7. GRUPLARIN TNF DE ERLER

Sıçan gruplarının TNF laboratuvar sonuçları TNF /Ct olarak kayıt edildi. kontrol grubu en düşük (4,88±0,53) ortalama de ere sahip olup sham grubu enyüksek de erde bulunmu tur (10,06±0,89). Di er üç grup küçükten büyü e do ru nitrofurazon grup (6,34±0,68), sölomik grup (6,86±0,43), ve sölom+nitrofurazon grup (7,74±0,54) olarak sıralanmı tur. Gruplara ait de erler iki erli kar ıla tırıldı nda sölom grubunun ortalama de eri nitrofurazon grubunun ortalama de erinden daha yüksek olarak tespit edilmi tir. Ancak bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tur p=0,082. Söloomik grubun TNF /Ct seviyesi sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile kar ıla tırıldı nda iki gruptan da düşük ölçülmü ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur. *p* de erleri sırası ile öyledir p=0,002 ve p<0,001. Grupların TNF /Ct ortalamaları a a ıda grafiksel olarak gösterilmi tir ( ekil 21).



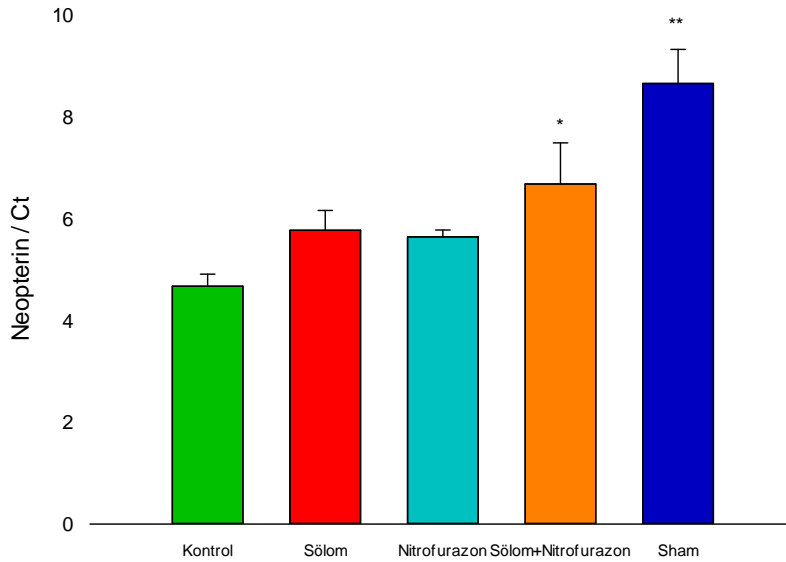
**ekil 21.** Grupların TNF ortalama de erleri

\*; söloom grubu ile söloom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur (p=0,002).

\*\*; söloom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur (p<0,001).

#### 4.8. GRUPLARIN NEOPTERİN DEĞERLERİ

Sıçanların yara yerinden alınan doku örneklerinin PCR ölçümleri neopterin/Ct olarak kayıt edildi. Grupların neopterin/Ct değerlerinin ortalamaları hesaplandı. İnce kontrol grubu en düşük ( $4,67 \pm 0,23$  neopterin/Ct) iken sham grubunun en yüksek ortalama değere sahip olduğu görülmüştür ( $8,64 \pm 0,66$  neopterin/Ct). Diğer üç grup küçükten büyüğe doğru nitrofurazon grubu ( $5,63 \pm 0,13$  neopterin/Ct), sölomik grubu ( $5,76 \pm 0,39$  neopterin/Ct), ve sölom+nitrofurazon grubu ( $6,67 \pm 0,80$  neopterin/Ct) olarak sıralanmıştır. Gruplara ait değerler iki erli karşılaştırıldı. İnce sölom grubunun ortalama değeri nitrofurazon grubunun ortalama değerinden daha yüksek olarak ölçülmüştür. Ancak bu yükseklik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır  $p=0,210$ . Söloomik grubun neopterin/Ct seviyesi sölom+nitrofurazon grubu ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı. İnce iki gruptan da düşük ölçülmüştür. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup  $p$  değerleri sırasıyla şöyledir  $p=0,005$  ve  $p<0,001$ . Grupların neopterin/Ct ortalamaları aşağıda grafiksel olarak gösterilmiştir (ekil 22).



**ekil 22.** Grupların neopterin ortalama değerleri

\*; söloom grubu ile söloom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,005$ ).

\*\*; söloom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

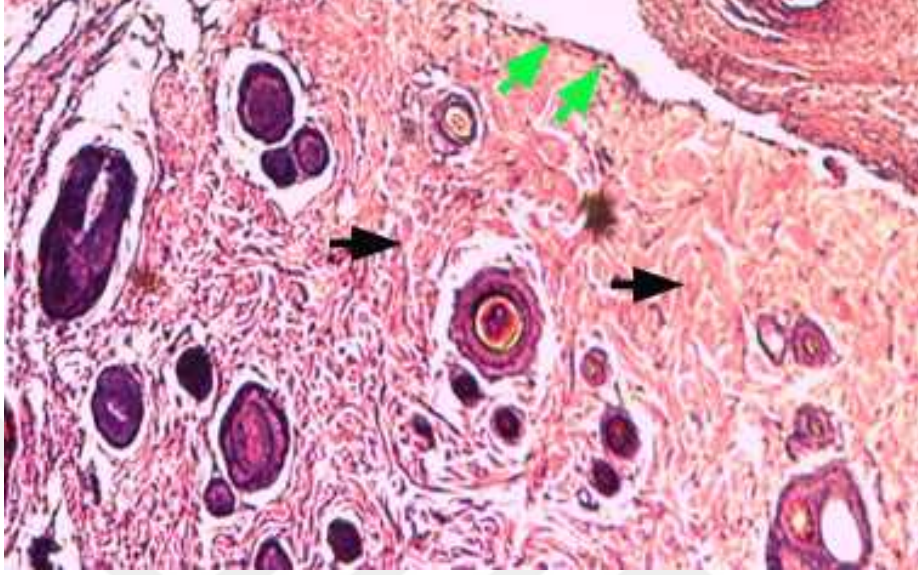
#### 4.9. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Sıçanların sütür hattını ortalayacak şekilde eksizyonel olarak alınan 6 mm enindeki kesi boyunun tamamını içine alan tam kat deri dokularının bir kısmı da histopatolojik incelemeye alındı. Dokulara ait skorlamalar mikroskop altında görülen ilgili hücrelerin sayılarına göre yapılmıştır. (0=yok, 0-1 arası = hafif ıddetten daha az yani yok denecek kadar az, 1 = hafif, 1-2 arası = hafiften orta dereceye de i en ıddette, 2 = orta, 2-3 arası = orta dereceden ıddetliye kadar de i en yo unluk 3 = ıddetli). Her bir sıçanın almış oldu u de erlerle grupların ortalama skorları elde edilmiş olup karşılaştırmalı analizleri Tablo 4 de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

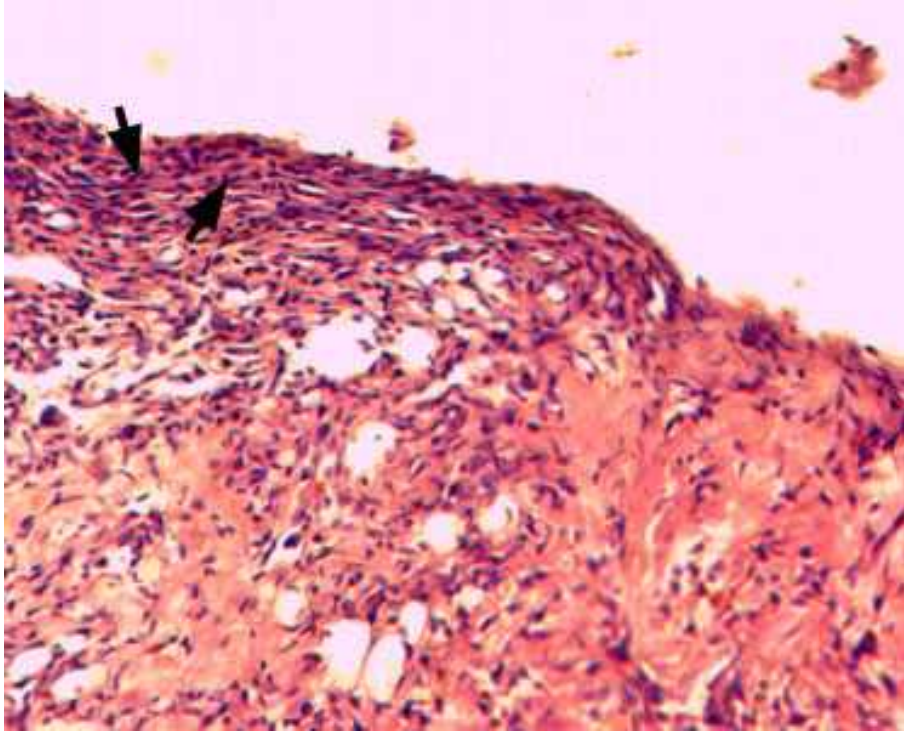
**Tablo 4.** Grupların histopatolojik skor ortalamaları

	Epitelizasyon		Fibroblast		Makrofaj		Ödem	
	ort	ss	ort	ss	ort	ss	ort	ss
<b>Kontrol Grubu</b>	3	0	0	0	0	0	0	0
<b>Söloomik Sıvı Grubu</b>	1,8	0,40	1,8	0,40	0,6	0,49	0,6	0,5
<b>Nitrofurazon Grubu</b>	1,3	0,45	1,3	0,46	0,6	0,49	0,7	0,4
<b>Söloomik Sıvı + Nitrofurazon Grubu</b>	0,8	0,40	0,9	0,3	1,3	0,46	1,4	0,45
<b>Sham Grubu</b>	0,3	0,45	0,4	0,49	1,8	0,4	2,2	0,4
<b>Kruskall Wallis</b>	p < 0,05		p < 0,05		p < 0,05		p < 0,05	

Yara dokusundan alınan numunelerin mikroskop altındaki görüntüleri foto raflanmıştır. Her grup için bir örnek seçilmiştir olup sıçanların mikroskop altındaki görüntüleri ekil (23-26)'de verilmiştir.

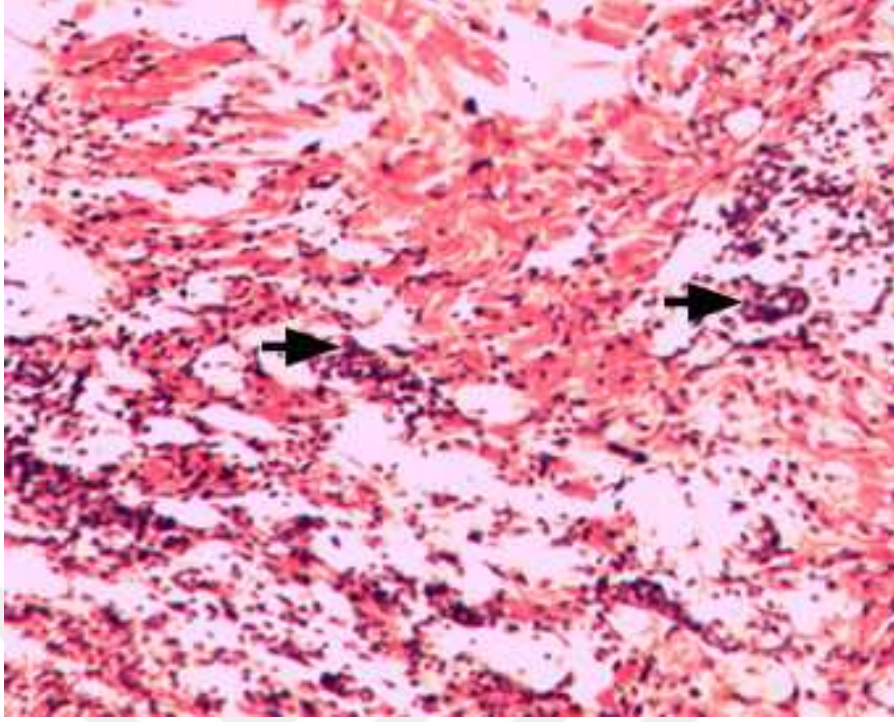


**ekil 23.** Söloom grubunda tedavinin 7. günde artmış bağ dokusu (siyah oklar) görüntüleri, epitelizasyon (kırmızı oklar). Hematoksilen Eozin x200

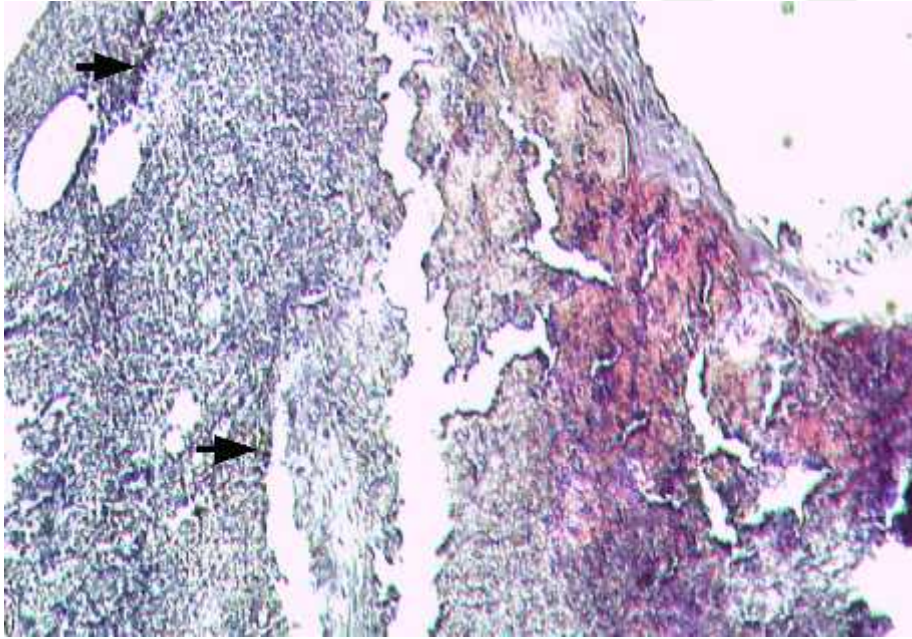


**ekil 24.** Nitrofurazon grubunda tedavinin 7. gündeki artmış bağ dokusu olumu görüntüleri (siyah oklar). Hematoksilen Eozin x200





**ekil 25.** Sölm+ Nitrofurazon uygulanan grupta polimorf nükleer lökosit infiltrasyonu (siyah oklar) hematoksilen eozin x260

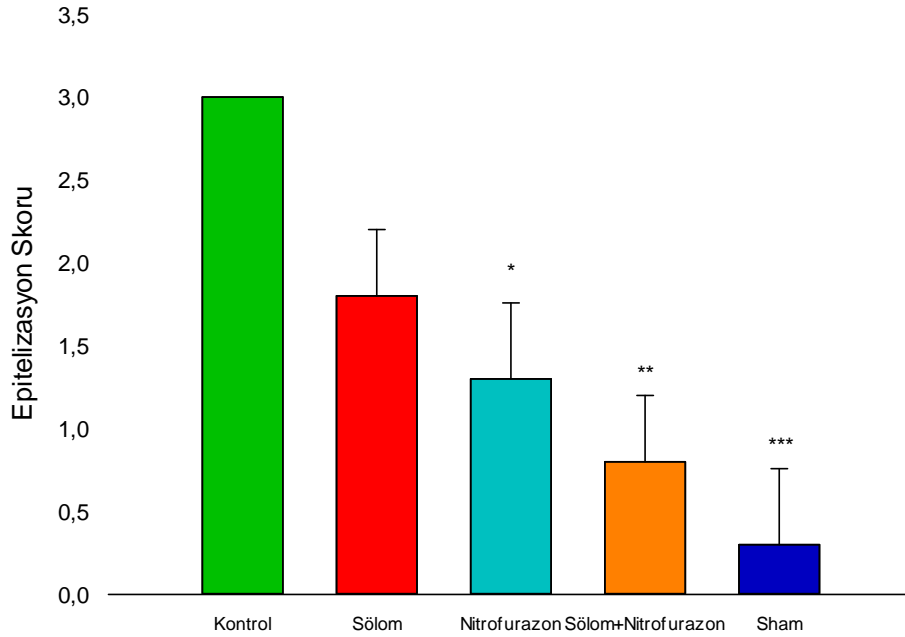


**ekil 26.** Distile su uygulanan (Sham) grubun kas dokuya kadar yayılmış polimorf nükleer lökosit infiltrasyonu (siyah oklar), hematoksilen eozin x160



#### 4.9.1. EPİTELİZASYON BULGULARI

Histopatolojik olarak sıçanların yara yerinde oluşan epitel hücrelerinin yoğunluğuna göre skorlamaları yapıldı. Gruplarının ortalama epitelizasyon skoru hesaplandı. En yüksek skor ortalamasının kontrol grubu ( $3,00 \pm 0,00$ ) ve en düşük skor ortalamasının sham grubu ( $0,30 \pm 0,46$ ) olduğu tespit edilmiştir. Diğer üç grup büyükten küçüğe doğru sölomik grup ( $1,80 \pm 0,40$ ), nitrofurazon grubu ( $1,30 \pm 0,46$ ), ve sölom+nitrofurazon grubu ( $0,80 \pm 0,40$ ) olarak sıralanmıştır. Sölomik grubun epitelizasyon skor ortalamasının nitrofurazon grubu, sölom+nitrofurazon grubu ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında üç gruptan da fazla olduğu görülmüştür. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup  $p$  değerleri sırasıyla şöyledir  $p=0,028$ ,  $p<0,001$  ve  $p<0,001$ . Grupların epitelizasyon skor ortalamaları aşağıda grafiksel olarak gösterilmiştir (ekil 27).



**ekil 27.** Grupların epitelizasyon skor ortalamaları

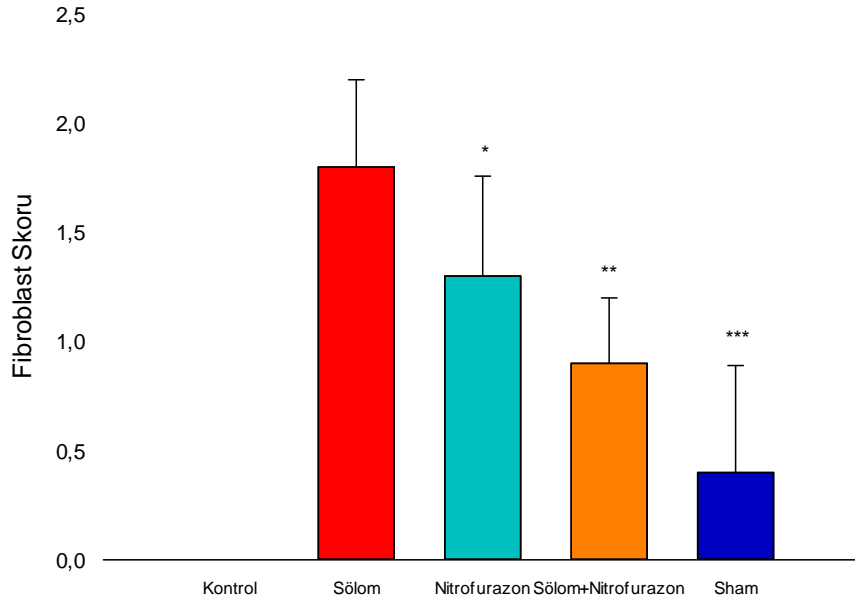
\* ; sölom grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,028$ ).

\*\* ; sölom grubu ile sölom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

\*\*\* ; sölom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

#### 4.9.2. F BROBLAST BULGULARI

Sıçanların deri dokularından alınan örneklerde fibroblastların yoğunluğuna göre skorlamaları yapıldı ve gruplarının ortalama fibroblast skorları hesaplandı. Elde edilen sonuçlar incelendi inde fibroblast yönünden en yüksek skor ortalaması sölom grubunda ( $1,80 \pm 0,40$ ) iken en düşük skor ortalaması ( $0,00 \pm 0,00$ ) kontrol grubunda olmu tur. Diğer üç grup büyükten küçü e do ru nitrofurazon grup ( $1,30 \pm 0,46$ ), sölom+nitrofurazon grup ( $0,90 \pm 0,30$ ) ve sham grup ( $0,4 \pm 0,49$ ) olarak sıralanmı tur. Söломik grubun fibroblast skor ortalamasının istatistiksel olarak nitrofurazon grup, sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile karşılaştırıldı nda üç gruptan da yüksek oldu u görülmü tür. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  değerleri sırası ile  $p=0,028$ ,  $p<0,001$  ve  $p<0,001$  dir. Grupların fibroblast skor ortalamaları aşağıda grafiksel olarak gösterilmiştir ( ekil 28).



**ekil 28.** Grupların fibroblast skor ortalamaları

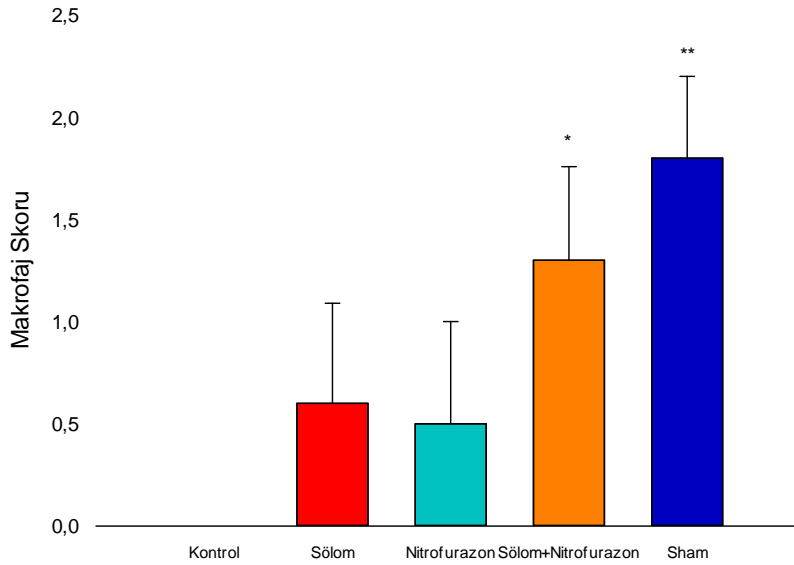
\* ; söлом grubu ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,028$ ).

\*\* ; söлом grubu ile söлом+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p<0,001$ ).

\*\*\* ; söлом grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p<0,001$ ).

### 4.9.3.MAKROFAJ BULGULARI

Sıçanların deri dokularından alınan örneklerde yapılan patolojik inceleme sonucu makrofajların yoğunluğuna göre skorlama yapıldı ve grupların makrofaj ortalamaları hesaplandı. En düşük skor ortalamasının kontrol grubunda ( $0,00\pm 0,00$ ) ve en yüksek skor ortalamasının sham grubunda ( $1,80\pm 0,40$ ) olduğu görülmüştür. Diğer üç grup küçükten büyüğe doğru nitrofurazon grubu ( $0,50\pm 0,50$ ), sölom grubu ( $0,60\pm 0,49$ ) ve sölom+nitrofurazon grubu ( $1,30\pm 0,45$ ) olarak sıralanmıştır. Gruplara ait değerler iki erli karşılaştırıldı. Sölom grubunun makrofaj skor ortalaması nitrofurazon grubunun skor ortalamasından düşük olarak tespit edilmiş olsada bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,661$ ). Söloomik grubun makrofaj skor ortalamasının söloom+nitrofurazon grubu ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı. İki gruptan da düşük bulunmuştur. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup  $p$  değerleri sırası ile  $p=0,010$  ve  $p<0,001$ dir. Grupların makrofaj skor ortalamaları aşağıda grafiksel olarak gösterilmiştir (ekil 29).



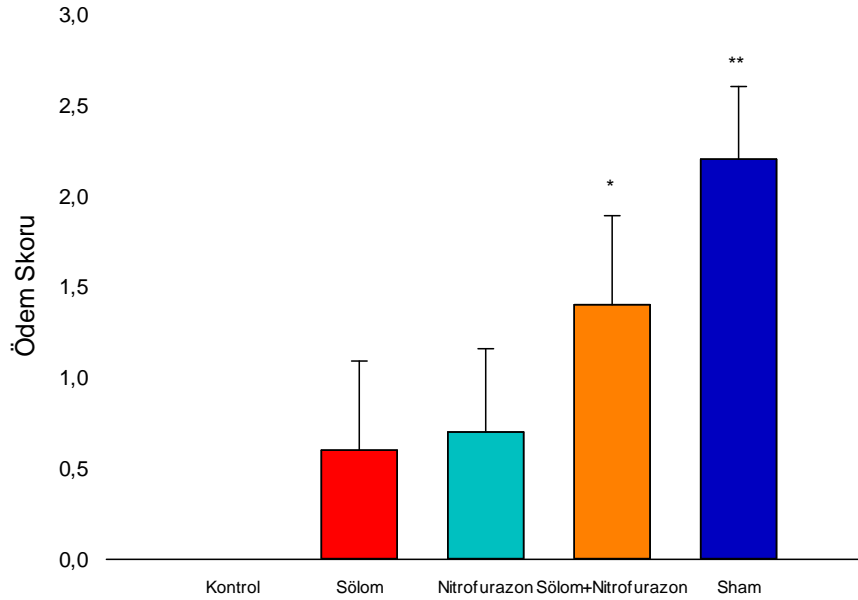
**ekil 29.** Grupların makrofaj skor ortalamaları

\*; söloom grubu ile söloom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,010$ ).

\*\*; söloom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

#### 4.9.4. ÖDEM BULGULARI

Sıçanların deri dokularından alınan örneklerde yapılan patolojik inceleme sonucu ödemin iddetine göre skorlama yapıldı ve gruplarının ödem skorlarının ortalaması hesaplandı. Elde edilen sonuçlar incelendi inde ödem yönünden en dü ük skor ortalaması kontrol grubu ( $0,00\pm 0,00$ ) iken en büyük skor ortalaması da sham grubunda ( $2,20\pm 0,40$ ) olmu tur. Di er üç grup küçükten büyü e do ru sölom grubu ( $0,60\pm 0,49$ ), nitrofurazon grup ( $0,70\pm 0,46$ ), sölom+nitrofurazon grup ( $1,40\pm 0,49$ ), olarak olarak sıralanmı tır. Sölom grubunun skor ortalamasının nitrofurazon grubunundan dü ük olarak tespit edilmi olsada bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tır ( $p=0,648$ ). Sölomik grubun ödem skor ortalaması sölom+nitrofurazon grup ve kontrol grup ile kar ıla tırıldı nda iki gruptan da dü ük bulunmu tur. Ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu olup  $p$  de erleri sırası ile  $p=0,006$  ve  $p<0,001$ dir. Grupların ödem yönünden skor ortalamaları a a da grafiksel olarak gösterilmi tir ( ekil 30).



**ekil 30.** Grupların ödem skor ortalamaları

\*; sölom grubu ile sölom+nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p=0,006$ ).

\*\*; sölom grubu ile sham grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur ( $p<0,001$ ).

## 5. TARTI MA

Yara, yüzyıllardır insano lunun mortalite ve morbitite açısından büyük sorunu olmu tur. Bu sebeple yara iyile mesi üzerine çok fazla sayıda çalı ma bulunmaktadır. Yara iyile me mekanizması son derece karma ık bir yapıya sahip olup antioksidanlar, sitokinler, büyüme faktörleri ve di er moleküllerin de katıldı ı karma ık olaylar zinciridir. Son yıllarda yara yeri üzerine yapılan çalı maların sayısı artmı olsa da yara iyile mesinin tüm basamakları hala tam olarak aydınlatılamamı tır. Bu yüzden tıbbi alanda yara iyile mesi birçok bilim insanının ilgi oda ı olmu tur.

Solucanlar birçok patojen mikroorganizmanın bulundu u ortamlarda ya ayabilmektedirler ve bu tehditlere kar ı iki farklı yoldan kar ı koyabilmektedirler. Bunlardan birincisi sahip oldukları derinin patojen mikro organizmalara kar ı bariyer olu turmasıdır. kincisi ise çe itli zarar veren uyarılara kar ı salgıladıkları sölomik sıvı ile savunma yöntemidir (Tutar, 2012). Sölomik sıvı bu savunmayı antimikrobiyal etkinli i olan lenfositik sölomosit, granulositik sölomosit, fagositik sölomosit hücreler ve lizozomal enzimler ile yapmaktadır (Valenbois, 1971). Sölom sıvısında yer alan bu hücreler insan akyuvarlarına benzer görev üstlenebilmektedirler (Adamomowicz ve Wojtaszek, 2011). Eisenia fetida solucanlarının 42 farklı türünden elde edilen sölomik sıvılarıyla yapılan toksisite deneyleri sonucunda sölomik sıvıların patojen mikroorganizmalar için toksik etki gösterirken, omurgalılar için toksik etkinin olmadığı gösterilmi tir (Kobayashi ve ark., 2001). Bu bilgiler çalı mamızda, yara yeri tedavisinde sölomik sıvının etkisini ara tırma sebebimiz olmu tur. Solucanlar ani sıcaklık de i imi, çe itli kimyasal uyarılar, küçük voltajlı elektriksel uyarı veya herhangi bir zarar verici etkiye kar ı dorsal porlarından sölomik sıvı salgırlar (Shobha ve ark., 2008; Vasanthive ark., 2012). Eisenia fetida solucanlarından elde edilen sölomik sıvı geleneksel tıpta astım, hipertansiyon, artrit, yanık, sivilce gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmı ve bu hastalıklarda antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antipiretik ve anestezik etki gösterdi i çalı malarla ortaya konmu tur (Zeng, 1982; Reynolds, 1972; Wang, 1986). Eisenia fetida tipi solucanlar ile yapılan bir çalı mada, sölomik sıvıdan izole edilen bir proteininin antibakteriyel,

antiviral ve antitümör aktiviteleri in vitro olarak gösterilmiştir (Liu, 2003; Vang ve ark., 2006). Sölmik sıvı proteini (ECFP) izole edilmesi ve saflaştırılması için sırayla ultrafiltrasyon, jel kromatografisi ve iyon değişim kromatografisi kullanılır ve ECFP sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile karakterize edilir. Sölmik sıvının etkin bir antibakteriyal etkiye sahip olduğu, ayrıca insan serviks adenokarsinoma (HeLa) hücreleri ve karaciğer adenokarsinoma (LTEP-A2) hücrelerinde doza bağımlı olarak proliferasyonu inhibe ettiği belirtilmiştir. ECFP, yabancı organizmalara karşı solucanın doğal savunma sisteminin bir bileşenidir. Bu nedenle gelecekte muhtemel farmasötik bir ilaç olabileceği vurgulanmıştır (Hua ve ark. 2011).

Bu çalışmada, sölmik sıvının yara yeri üzerine etkileri kan ve doku örnekleri ile araştırılmıştır. Kan örneklerinde antioksidanlar ve MDA aktivitelerine bakılmıştır. Doku örneklerinde ise PCR ve histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Antioksidan savunma; serbest oksijen radikallerine karşı organizmanın oluşturduğu bir cevap mekanizmasıdır. Antioksidan savunma ile serbest O<sub>2</sub> radikalleri arasında bir denge vardır. Bu dengenin serbest oksijen radikalleri lehine bozulduğu durumlarda oksidatif stres ortaya çıkar (Pitkanem ve ark., 1992). Oksidatif stres, ateroskleroz, diyabet, kanser, enfeksiyon ve inflamasyon hastalıkları, santral sinir sistemi bozuklukları, iskemi reperfüzyon gibi fizyopatolojik olaylarda, hücre yaşlanmasında ve dolayısıyla hücresel yıkım, hücre hasarı ve hücre ölümünde rol oynayan önemli bir mekanizma olarak son yıllarda büyük önem kazanmıştır (Van Dam ve ark., 1995; Bukan ve ark., 2003). Hücreler reaktif oksijen türlerinin hasarından kendilerini antioksidan mekanizma ile korurlar. Ancak denge bozulduğunda hücre hasarı olur ve oluşan bu hasarın iyileştirme sürecini olumsuz etkiler. Çalışmamızda sölmik sıvının diyabetik yara iyileştirme sürecinde antioksidan sistem üzerinden etkisini görebilmek için SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ve hücre hasarı göstergesi olan MDA seviyelerine bakılmıştır. Topikal olarak sölmik sıvı tedavisi uygulanan grubun diğer gruplara göre (kontrol, nitrofurazon, sölmik+nitrofurazon ve sham grupları) CAT, GSH-Px ve SOD aktivitelerinin daha yüksek, MDA seviyesinin ise daha düşük olduğu

bulunmu tur. Bu çalı ma sölomik sıvının antioksidan mekanizmaları düzenleyerek yara iyile mesine olumlu etki sa ladı ını göstermi tir. A a ıda bahsedilen çalı malar da bizim çalı mamızla benzer özellikte olup destekleyici niteliktedir. Yapılan bir iskemik yarada; yara iyile mesi üzerine serbest radikallerin etkisi incelenmi tir. Sıçanların sırtlarında H eklinde yara olu turulmu tur. Sıçanlara allopurinol ve süperoksit verilerek yara iyile tirici mekanizmalar engellenmi tir. Histopatolojik çalı malar ile erken iyile en grubun SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimleri daha yüksek bulunurken MDA seviyesinin daha dü ük oldu u gösterilmi tir. Bu sonuçlar, antioksidanların yarayı iyile tirmede olumlu etkisi oldu unu gösterilmi tir (Senel ve ark., 1997). Bitkisel bir çalı mada Ocimum sanctum Linn'in sulu ve alkolik ekstraktları sıçanlarda yara yerinde kullanılmı ve kontrol grubu olu turularak kıyaslanmı tir. Ekstrakt uygulanan grubun kontrol grubuna göre yara yerinin daha önce iyile ti i görülmü ve bu grubun SOD, CAT, GSH-PX seviyeleri daha yüksek bulunurken MDA seviyesi daha dü ük olarak gözlemlenmi tir (Shetty ve ark., 2006). Centella asiatica bitkisinden elde edilen ekstraktlar ile yapılan bir ba ka çalı mada bir hafta boyunca günde 2 kez kutanöz yaraya topikal olarak uygulanmı tir. SOD, CAT, GSH-PX, vitamin E ve askorbik asit gibi enzimatik ve non-enzimatik antioksidan parametrelerine bakılmı tir. SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri yüksek bulunurken MDA seviyesi dü ük bulunmu tur (Shukla ve ark, 1999). Diyabetli sıçanlarda E vitamini ile yapılan farklı bir çalı mada yara olu turulan sıçanlardan 0, 5 ve 10. günlerde kan alınarak MDA, SOD, CAT ve GSH-Px seviyelerine bakılmı tir. E vitamini uygulanan grupta kontrol grubuna göre MDA seviyesinde azalma, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde artma gözlenmi tir (Musalmah ve ark., 2002).

Deneysel bir çalı mada yaralama ardından dermal dokuda EGF tedavisi ve oksidatif stres arasındaki ba lantı de erlendirilmi tir. Çalı mada 54 Wistar albino türü sıçan kullanılmı tir. Sıçanlar üç gruba ayrılmı tir (kontrol, tedavisiz grup ve topikal EGF'li grup). Sıçanlara 4 cm.'lik dik kesit uygulanıp sütür ile kapatılmı tir. Her gün 1 ml EGF uygulanmı tir. Hayvanlara 1, 5, 7 ve 14. günlerde ötenazi uygulanarak doku toplanılmı tir. MDA, glutatyon (GSH),

reaktif nitrojen oksit türleri (NO<sub>x</sub>), askorbik asit düzeyleri ve SOD aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçülmü tür. EGF uygulanan grup di er gruplardan daha hızlı iyile ti i görülmü ve tedavinin 5. günü MDA seviyesi bu grupta di er gruplara göre daha dü ük bulunurken SOD ve nitrik oksit seviyesinde ise daha yüksek bulunmu tur. GSH seviyesi ise 14. günde kontrol grubuna göre yüksek bulunmu tur. Bu da EGF'nin yara dokusunda antioksidan mekanizmalar üzerinden rol oynayabildi ini göstermi tir (Kalay ve ark., 2012).

Yapılan bir ba ka çalı mada *Plagiochasma appendiculatum*'dan elde edilen sulu ve etanol ekstraktı macun olarak yara yerinde kullanılmı tür. Yara yerini de erlendirmek için gerilme mukavemeti ve SOD ve CAT antioksidan aktivitelerine bakılmı tür. SOD ve CAT aktiviteleri ekstrakt uygulanan grupta daha yüksek oldu u görülmü ve aynı zamanda bu grupta di er gruplardan yara yeri iyile mesi daha hızlı oldu u gözlemlenmi tir (Singh ve ark., 2006).

Yine bitki ekstraktlarıyla yapılan bir çalı mada *Anthocephalus Cadamba*'nın alkolik ve sulu ekstraksiyonları yara yerine uygulanmı ve antioksidan parametreler olan SOD ve CAT aktivitelerine bakılmı tür. SOD ve CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre daha fazla artma görülmü ve eksrakt uygulanan grubun kontrol grubundan daha önce iyile ti i gözlemlenmi tir (Umachigi, 2007).

Sıçanların kullanıldı ı bir ba ka çalı mada, sıçanların ba ı klık sistemi baskılanmı ve kutanöz yara olu turulmu antioksidan seviyelerine bakılmı tür. Yara olu tuktan 2 gün sonra önemli miktarda MDA seviyesinde artma, glutasyon ve vitamin C miktarında azalma gözlenmi tir. Yaranın 2 ve 7. gününde süperoksit miktarında artma gözlenmi tir. Böylece immünitesi baskılanmı sıçanlarda antioksidan düzeyinin yara için önemli bir parametre oldu u belirtilmi tir (Gupta ve ark., 2002).

Yapılan bir ba ka çalı mada mazı me esinin sıçanlarda yara iyile me üzerine etkisine bakılmı tür. Mazı me esinin yapraklarından etanol ile iki farklı deri imde ekstrakt çıkarılarak çalı ılmı tür. Yara yerinde antioksidan enzimlerde (SOD ve CAT) artma görülmü tür. Mazı me esi yapraklarının yara iyile mesine antioksidan mekanizma üzerinden antioksidan enzimleri artırarak yara iyile mesine katkı sa ladı ı gösterilmi tir (Umachigi ve ark., 2008).



Sıçanlarda yapılan bir kutanöz yara iyilemesinde antioksidanlar ve kollajen yapısındaki değişikliklere kurkuminin etkisi araştırılmıştır. Sıçanlarda tam cilt kesisi oluşturulmuş ve yaranın 4, 8 ve 12. günlerinde biyokimyasal ve patolojik değişimlere bakılmıştır. Hücresel DNA düzeyinde, toplam proteinde ve yara dokusundaki tip III kollojende artış görülmüştür. Bu sonuçlar kurkuminin hücresel çoğalma ve kollojen sentez hızını artırdığını göstermektedir. Kurkumin tedavisinde SOD, CAT ve GSH-Px antioksidanları artarken, MDA düzeyinde azalma gözlenmiştir. Patolojik değişimlerde kurkumin tedavisi uygulanan grubun epitelizasyonu daha yüksek bulunmuştur. Sonuçta kurkuminin topikal uygulaması yara iyilemesini hızlandırmıştır (Panchatcharam ve ark., 2006).

Bir deneysel çalışmada da sentetik 3-(2-chlorophenyl)-1-phenyl-propenone (CPPP)'nin jeli yapılarak yara iyilemesi üzerine etkisine bakılmıştır. Çalışma 10 gün sürdürülmüştür. Sıçanlarda histolojik inceleme ve antioksidan parametrelere bakılmıştır. Antioksidan parametrelerden CAT, ve SOD bakılırken lipid peroksidasyonu için MDA bakılmıştır. Sitokinlerden de TNF ve TNF sitokinleri ölçülmüştür. CPPP ile tedavi edilen grubun SOD ve CAT aktivitesi yüksek bulunurken, MDA seviyesi düşük bulunmuştur. Yapılan çalışmada TNF deeri de düşük çıkmıştır (Dhiyaaldeen ve ark., 2013).

Çalışmamızda yara dokusundan alınan örneklerde TNF, IL-1 ve neopterin seviyelerine bakılmıştır. Bu parametreler immün sistem yanıtında rolü olan markırlardır. TNF ve IL-1 sitokin grubundandır. Sitokin, hayvan ve bitki hücrelerince üretilen, hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan proteinlerin bir grubudur. Yara iyileme sürecinde aktive olan enflamasyonun sınırlanması yaranın prognozu ve iyileme süreci açısından önemlidir (Maria ve ark. 2011). Literatürde yara ile ilgili olarak yapılan çeşitli çalışmalarda da TNF ve IL-1 ekspresyon seviyelerinin düşük olduğu belirtilmiştir (Suzuki-Banhese ve ark., 2015; Ying ve ark., 2002). Bu sitokinlerin enfeksiyon veya herhangi bir inflamasyon durumunda salgılanmaları artmaktadır (Werner ve ark., 1991). Çalışmamızda sölomik grubun TNF, IL-1 ve neopterin PCR ekspresyon seviyeleri sham grubu ve sölom+nitrofurazon grubuna göre daha düşük gelmiştir. Bu parametreler

nitrofurazon grubu ile karşılaştırıldı. İncelemede ise birbirine yakın düzeylerde bulunmuştur. Bu veriler bize sölomik sıvının antibakteriyel ve antiinflamatuvar özelliği olduğunu göstermektedir. Histopatolojik olarak yapılmış olan tümuz skorlama çalışmasında da makrofaj ve ödem skorlarının benzer şekilde sölomik grubun skor ortalamasının sham grubundan ve sölom+nitrofurazon grubundan daha düşük ölçülmüştür. Ayrıca sölomik grubun nitrofurazon grubuyla birbirine yakın ortalamalarda olması sölomik sıvının antibakteriyel ve antiinflamatuvar özelliğinin olduğunu desteklemektedir. Ayrıca aynı zamanda yapılan çalışmamıza benzer nitelikteki TNF ve IL-1 ile yapılan diğer çalışmalardan örnekler sunulmuştur.

Atorvastatinin yara iyileşmesi üzerine etkisine bakılan bir çalışmada, topikal atorvastatin, oral atorvastatin, hem topikal hemde oral atorvastatin ve kontrol grubu olmak üzere sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır. Sıçanlar 8 mm dorsal bölgede yara açılıp 0, 1, 3, 7, 10, 12 ve 14. günlerde iyileşme fotoğrafları ve 1, 3, 7 ve 14. günlerde insülin reseptör substrat (IRS-1), fosfatidilinositol 3-kinaz, protein kinaz, glukojen sentaz kinaz, nitrik oksit, IL-1, IL-6, IL-10 ve TNF bakılmıştır. Kontrol grubuna göre, atorvastatin grubunun TNF ve IL-1 ekspresyonu daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Suzuki-Banhese ve ark. 2015). Yapılan bir yara yeri çalışmasında sıçanlarda granülasyon dokusu oluşturmak için TNF'nin etkisi incelenmiştir. Sıçanlar, sadece fosfat tamponu verilen ve TNF 50 ve 200 nanogram miktarlarda verilerek histolojik olarak granülasyon dokusu iç büyüme oranı, TNF 200 ng ile tedavi edilen grupta 7 gün sonra önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlemlenirken 14. veya 21. günlerde bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Rapala ve ark., 1991).

VEGF tanımlanmış en etkili anjiyogenez faktörüdür ve VEGF'nin en önemli özelliği diğer anjiyogenik faktörlerden farklı olarak hedef hücrelerinin sadece endotel hücreleri olmasıdır (Ferrara ve ark., 2001). VEGF'nin erken gelişimde kan damarı oluşumunun potent bir uyarıcısıdır ve yetişkinlerde yeni kan damarlarının büyümesinde merkezi bir rolü vardır (Robins ve Cotran, 2009). Yapılan çalışmada VEGF deşerleri incelendiğinde sölomik grubun VEGF gen ekspresyon seviyesi diğer grupların hepsinden daha yüksek tespit edilmiştir. Bu da anjiyogenezin sölomik grupta daha hızlı olduğunu

göstermektedir. Sölomik sıvı yara iyilemesini bu yoldan da hızlandırmaktadır. Çalı mamızın histopatolojik de erlendirmelerinden elde etti imiz verilere bakıldı ında da sölomik grubun doku örneklerinin epitelizasyon ve fibroblast skor ortalamalarının di er tüm gruplardan yüksek gelmesi de sölomik sıvının bu etkisini desteklemektedir. A a ıdaki VEGF ile yapılan çalı malar da bizim çalı mamızla örtü mekte olup VEGF in yara yeri tedavisindeki önemi ortaya koymaktadır.

VEGF ile ilgili bir çalı mada; STZ ile diyabetik yara olu turulan sıçanlara yara iyilemesini hızlandırmak için kemik ili inden türetilmi mezenkimal stromal hücreler (BMSC) kullanılmı tır. Diyabetik sıçanlarda polimorf hücre infiltrasyonu ile karakterize edilen, granülasyon doku olu umu, kollajen ve TGF-beta, EGF, VEGF aç ının eksikli i PDGF-BB ile keratinosit büyüme faktörü (KGF) yara dokusunda ekspresyon ve yaraların biyomekanik gücü önemli ölçüde azaldı ı, bunun yanında sistemik veya lokal yara yerinde BMSC ile tedavi edilen yüzey yaraların gerilme mukavemeti geli ti i gösterilmı tir. Çekme mukavemeti ile kollajen düzeyleri (tip IV) arasında ili ki bulunmu tur. BMSC ile muamele edilen sıçanlarda yara iyilemesinin artı ı vurgulanmı ve bu grubun TGF-beta, KGF ve kritik büyüme faktörlerinin (EGF, VEGF, PDGF-BB) seviyelerinin daha yüksek oldu u tespit edilmi tir (Kwon ve ark., 2008). Canlı kökenli ba ka bir yara iyile tirme materyali olan *Lucilia Sericata* sine inin larvalarının yara iyilemesi üzerine etkisiin ara tırıldı ı bir çalı mada; Sprague-Dawley sıçanlarında tam kat deri eksizyonu olu turulduktan sonra *L. Sericata* larvaları ile tedavi uygulamı lar ve kontrol grupları ile kar ıla tırılmı lar. *L. Sericata* larvaları ile tedavi edilen gruptaki sıçanların yaraları di er gruplar ile kar ıla tırıldı ında 3 gün tedaviden sonra yarada kılcıl damarlanma yo unlu u, VEGF mRNA ekspresyonu ve VEGF protein ekspresyonunda belirgin bir artı gösterdi i tespit edilmi tir. *L. Sericata* tedavisi uygulanan grubunun daha erken iyile ti i görülmü tür. *L. Sericata*'nın gözlemlenen yara iyile tirme etki yollarından birinin VEGF ekspresyonunu artırarak anjiyogenezi hızlandırdı ı böylece yara yerinin daha erken iyile tirdi i tespit edilmi tir (Zeng Z. 2010). Panç biyopsi ile yara olu turulan sıçanlara doku transglutaminaz (TG) nin yara iyilemesine etkisi

ara tırılmı tır. TG sıçanlara topikal olarak uygulanmı ve tedavini sonunda TGF-beta, TNF , IL-6 ve VEGF de erleri ölçülmü tür. Ölçülen bu moleküller TG uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede oldu u tespit edilmi tir. TG uygulanan grubun yara yerinin daha erken kapandı ı klinik olarak ta gözlemlenmi tir. TG nin yara iyile mesi sırasında anjiyogenezi ve ilgili stokinleri aktive ederek etki gösterdi i ortaya konmu tur (Haroon ve ark.,1999).

Çalı mamızda tam kat cilt dokusu histopatolojik olarak incelendi inde makrofaj ve ödem seviyesinin en dü ük oldu u grup hiç yara olu turulmamı olan kontrol grubudur. Sölomik grup ile nitrofurazon grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tır. Bu sonuç ise yukarıda bahsetti imiz neopterin, TNF ve IL-1 gen ekspresyon seviyeleri ile uyumluluk göstermektedir. Yaptı ımız çalı mada, epitelizasyon skoru en yüksek olan grup kontrol grubu olmu tur. Çünkü bu grupta yara olu turulmadı ından normal bir epitel dokusu incelenmi tir. Sölomik grup epitelizasyon skoru ve fibroblast skoru yönünden nitrofurazon grup, sölom+nitrofurazon grup ve sham grup ile kar ıla tırıldı ında üç gruptan da önemli derecede yüksek bulunmu tur. Sölomik sıvı fibroblast olu umunu ve epitelizasyonu hızlandırarak yarayı daha erken iyile tirmektedir. Histopatolojik olarak inceledi imiz bu de erler VEGF ve antioksidan çalı malarının sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

Sölomik sıvının yara yeri iyile mesi üzerine etkisi antiinflamasyon ve antimikrobiyal yönden nitrofurazon ile benzerlik göstermi tir. Sölomik sıvının en büyük katkısı VEGF ve antioksidanlar üzerinden olmu olup di er gruplara göre VEGF ve antioksidanları artırarak yara iyile medeki farkın önemli olmasını sa lamı tır.

Sölomik sıvı ile nitrofurazonun karı mıyla tedavi edilen gruptaki sıçanların yara yeri iyile mesi hem sölomik gruptan hem de nitrofurazon grubundan daha yava gerçekleşmi tir. Bunun nedeni, sölomik sıvı ile nitrofurazonun antogonistik bir etkile im veya yara yerinden birbirlerinin emilimini azaltıyor olması muhtemeldir. Bu konu daha ileri çalı malar ile aydınlatılabilir.

## 6. SONUÇLAR

Söloomik sıvının yara olu turulmu diyabetik sıçanlarda yara iyile mesi üzerine etkilerini ara tırdı ımız bu tez çalı masında bazı bilimsel sonuçlar ortaya konmu tur. Bu sonuçlar maddeler halinde a a ıda sıralanmı tur.

1. Kan örneklerinde yapılan antioksidan enzimlerinin çalı ılması sonucunda söloomik grubun MDA de eri nitrofurazon, söloom+nitrofurazon ve sham gruplarına göre daha dü ük, SOD, CAT ve GSH-Px de erleri daha yüksek bulunmu tur. Bu sonuçlar, söloomik sıvının yara iyile mesine etkisinin bir kısmının antioksidan mekanizma üzerinden oldu unu gösterir.
2. Doku örneklerinde yapılan PCR çalı masında söloomik grubun TNF , IL-1 ve neopterin de erlerinin söloom+nitrofurazon ve sham grubuna kıyasla daha dü ük düzeyde oldu u görülmü tür.
3. PCR çalı masında ayrıca söloomik grubun TNF , IL-1 ve neopterin de erlerinin nitrofurazon grubu ile birbirine yakın oldu u tespit edilmi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tur.
4. Söloomik sıvı dokuda VEGF de erini anlamlı oranda artırmı tur.
5. Tam cilt kesesi olu turulan sıçanlarda kullanılan söloomik sıvının yara iyile mesi üzerine tek ba ına histopatolojik de erlendirmeler göz önüne alındı ında di er gruplara kıyasla daha hızlı iyile me sa ladı ı tespit edilmi tir.
6. Söloomik sıvının nitrofurazon ile karı tırılarak uygulanması tedavide anti sinerjik etki göstermi olup yaranın iyile mesi hem söloomik sıvı ile hemde nitrofurazon ile tedavi edilen gruplardan yava olmu tur. Bunun sebepleri ayrı bir çalı ma konusu olarak ele alınabilir.
7. Deneysel, biyokimyasal ve histopatolojik çalı ma sonuçları yara iyile mesi için söloomik sıvının potansiyel ajan olarak kullanılabilece ini göstermektedir. Ancak bunun için daha ileri çalı malar gereklidir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adamomowicz, A., Wojtaszek, J., 2011. Morphology and phagocytotic activity of coelomocytes in *Dendrobaena venata* (Lumbricidae), *Zoologica Poloniae*. 46 (1- 4), 91-104.
- Adams, G.L., Manson, R.J., Turner, I., Sindram, D., Lawson, J.H. (2007). The balance of thrombosis and hemorrhage in surgery. *Hematol Oncol Clin North Am* 21:13-24.
- Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mehrabi, M.R., Jamshidi, S., Farhangi, A., Allah, A., Mofidian, S. and Lame Rad, B. (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *IJCB* 22: 60-64.
- Alarcon-Aquilar, F.J., Jimenez-Estrada, M., Reyes –Chilpa, R., Gonzales-Paredes, B., Contreras Weber, C.C. and Roman-Ramos, R. (2000). Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, an one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. *J Ethnopharmacol.* 69:207-15.
- Altan, N., Ongun, C.Ö., Hasano lu, E., Engin, A., Tuncer, C., Sindel, P. (1994). Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Superoxide Dismutase Activity In Alloxan-Induced Diabetic Rat Hepatocytes. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 22(2-3), 95-98.
- Altun, B.U. (2011). “Endokrinolojide Temel ve Klinik Bilgiler”, Nobel Tıp Kitabevleri, stanbul, 101-154.
- Anderson, L.C. (1983). Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on the rat parotid gland. *American Journal of Physiology*, 245: 431-437.
- Anderson, T., Schein, P.S., McMenamin, M.G., Cooney, D.A. (1974). Streptozotocin diabetes. Correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *J Clin Invest* 54:672-7.
- Arab, A., Orakçı, V., Erbilien, M., ahin, M. (1994). “Yara iyile mesi”, *J Turgut ozal med cent* , 1(2): 160-166.
- Arslan, M.K. (2003). “Yara iyile mesi ve iyile meyi Etkileyen Faktörler”, *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, Kurt, N., Nobel Tıp Kitabevleri.
- Atalan, N. (2013). *Hemostaz GKDA Derg* 19(3):109-112, 2013

- Baret K.E., Barman. S.M., Boitano. S., Brooks. H.L. (2011). Ganong'un Tibbi Fizyolojisi,23. Baskı, Nobel tıp kitabevi, stanbul.
- Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40(4), 405-412.
- Bedoya F.J, Solano F, Lucas, M. (1996). N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia* 52:344-7.
- Bell, R.H., Hye, R.J., (1983). Animal models of diabetes mellitus physiology and pathology. *J Surg Res* 35:433-60.
- Bennett J.S. (1991). Disorders of platelet function: Evaluation and treatment. *Cleveland Clin J Med* 58:413-420.
- Bilej, M., Baetselier, P.D., Djck, E.V., Stijlemans B., Colige A. Beschin A., 2001. Distinc carbohydrate recognition domains of intervertebrate defense molecule recognize Gram negative and Gram positive bacteria, *Journal of Biological Chemistry*. 276, (49). 45840-45847.
- Bitto, A., Minutoli, L., Altavilla, D., Polito, F., Fiumara, T., Marini, H., Galeano, M., Calo, M., Lo, C.P., Bonaiuto, M., Migliorato, A., Caputi, A.P. and Squadrito, F. (2008). Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacol Res* 57: 159-169.
- Bolaffi, J.L., Nagamatsu, S., Harris, J., Grodsky, G.M. (1987). Protection by thymidine, an inhibitor of polyadenosine diphosphate ribosylation, of streptozotocin inhibition of insulin secretion. *Endocrinology* 120:2117-22.
- Brem, H., Tomic-Canic M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest*. May;117(5):1219-22. Review.
- Broughton, G., Janis, J.E., and Attinger, C.E. (2006). The basic science of wound healing, *Plast. Reconstr. Surg.* 117(7 Suppl):12S-34S.
- Brunicardi, F.C, Andersen, D.A., Billiar, T.R., Dunn, D.L., Hunter, J.G., Matthews, J.B., Pollock, R.E., Schwartz, I.S. (2005). Wound healing. 8: 310-325.
- Bukan, N., Sancak, B., Yavuz, Ö., Koca, C., Tutkun F., Özçelikay T.A., Altan N (2003) Lipid peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of

- streptozotocin-induced diabetes rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 40(6), 447-450.
- Burçak, G.C. and Abbas, A.K., Onat, T., Emerk, K. and Sözman, E.Y. (2002). İnsan Biyokimyası. hormonların genel özellikleri, Ankara . 437.
- Cesur S., Aslan T., Hoca N.T, Çimen F., Tarhan G., Çiftçi A., Ceyhan ., Sipit T.,2014. Clinical importance of serum neopterin level in patients with pulmonary tuberculosis. *International journal of mycobacteriology*.3,5-8.
- Cheng, K., Larner, J. (1985). Intracellular mediators of insulin action. *Annu. Rev Physiol* 47: 405-424.
- Chiumiento, A., Lamponi, S., Barbucci, R., Dominguez, A., Perez, Y., Villalonga, R. (2006). Immobilizing Cu, Zn- superoxide dismutase in hydrogels of carboxymethylcellulose improves its stability and wound healing properties.*Biochem (Mosc)* 71:1324-1328.
- Clemetson, Kenneth J. (2012). Platelets and primary haemostasis. *Thrombosis Research* 2012;129:220-224.
- Colman RW, Clowes AW, George JN. (2001) Overview of hemostasis. In Colman RW, Hirsh J, Marder VJ: *Hemostasis and Thrombosis*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp 3-16
- Çelik C, Erdem M, Cayci T, Ozdemir B, Ozgur Akgul E, Kurt YG, Yaman H, Isintas M, Ozgen F, Ozsahin A. (2010) The association between serum levels of neopterin and number of depressive episodes of major depression.
- Dhiyaaldeen, S.M., Alshawsh, M.A., Salama, S.M., Alwajeeh, N.S.I., Batran, R.A., Smail, S., Abdullah, M.A. (2013). Potential activity of 3-(2-chlorophenyl)-1-phenyl-propenone in accelerating wound healing in rats, *Biomed Research International*
- Diethorn, M.L., Weld, L.M., (1989). Physiologic mechanism of hemostasis and fibrinolysis. *J Cardiovasc Nurs* 4:1-10.
- Doğan, A., (2006). “böbreküstü bezi korteks hormonları”, *Tıbbi Fizyoloji*, 11. baskı, Çavuşoğlu, H., Çalayan Yeşen B., Nobel tıp kitabevleri, Ankara, 972-975
- Dorsett-Martin WA. (2004) Rat models of skin wound healing: a review. *Wound Repair Regen*: 12:591-9.



- Edwards, C.A., Bohlen, P.J., 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*. 3rd. Ed. Chapman and Hall, New York, 39-40.
- Elmalı, E., Altan, N., Bukan, N. (2004). Effect of sulphonylurea glibenclamide on liver and kidney antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Drugs R.D.* 5(4), 203-8.
- Engin, A., Altan, N. (2005). Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. *Hematologia* 30(2), 91-96.
- Erbil, Y. (2002). Yara iyile mesi Genel Cerrahi. Kalaycı G. Nobel Tıp Kitabevi 51-59.
- Falanga, V., (1993). "Growth Factors and Wound Healing", *J Dermatol Surg Oncol* 19:7: 11-14
- Ferrara N. (2001) Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J. Physiol cell* 280: 1358-66
- Fridovich, I. (1997). Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters, *J. Biochem* 272:18515-7.
- George, B., Jeffrey, E.J., Christopher, E.A. (2002). A Brief History of Wound Care *Plast. Reconstr. Surg.* 117-130
- Granger, D.N., Rutili, G. and Mc Cord J.M. (1981). Superoxide radicals in feline intestinal ischemia, *Gastroenterology*, 81: 22-29.
- Gupta, A., Singh, R.L., Raghubir, R. (2002). Antioksidant status cutaneous wound healing in immunocompromised rats, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 241(1-2):1-7.
- Gurtner, Geoffrey, C. (2007). Wound Healing: Normal And Abnormal. In: Charles H. Thorne, et al. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* 6th Edition. Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins, s. 15-22.
- Guyton ve Hall, (2011). 11. Basım, *Tıbbi Fizyoloji, Çeviri Do an, A., "böbreküstü bezi korteks hormonları" Çavulu, H., Çalayan Ye en B., Nobel tıp kitabevleri, Ankara, 972-975.*
- Gülen, ., Dinçer, S., Erba, D., Lortlar, N., Erdoğan D. (2010). Sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda topikal ve/veya sistemik olarak uygulanan leptinin yara iyile mesi ve yara nitrik oksit düzeylerine etkisi, *Gazi Medical Journal*, 21(2);74-80.

- Güllü, .H. Akalın, ., (2005). “Metastaz Biyolojisi”, Üroonkoloji Bülteni, 4:16-19
- Gürkan E<sup>1</sup>, Tanriverdi K, Ba lami li F. (2004) Clinical relevance of vascular endothelial growth factor levels in sickle cell disease.
- Hamalo lu, E., Mersin, H. (2003). “Cerrahi Sınava Hazırlık 2. Baskı.”Atlas yayıncılık, Ankara, 69-77.
- Haroon, Z.A., Hettasch, J.M., Lai, T.S., Dewhirst, M.W., Greenberg, C.S. (1999). Tissue transglutaminase is expressed, active, and directly involved in rat dermal wound healing and angiogenesis, FASEB J.,13(13):1787-95.
- Hasano lu, E., Altan, N., Sindel, P., Ongun, C.Ö., Bali, M., Altınta , E. (1994). The Relationship Between Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity And Plasma Levels of Some Trace Elements (Al,Cu,Zn) of Dialysis Patients. General Pharmacology 25(1), 107-110.
- Hathcock J. (2004)Vascular biology: The role of tissue factor. Semin Hematol: 41:30-34.
- Hayashi, K., Kojima, R. and Ito, M. (2006). Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice. Biol Pharmaceut Bull 29: 1110-1119.
- Heineke, E.W., Johnson, M.B., Dilbergen, J.E. (1993). Antioxidant MDL29, 311 prevents diabetes in nonobese diabetic and multiple low-dose STZ-injected mice. Diabetes, 42: 1721-1730.
- Hirsch, I.B., Mcgill J.B., Cryer P.E., White, P.F. (1991). Perioperativemanagement of surgical patients with diabetes mellitus. Anesthesiology 74: 346-359.
- Holemans, K., Bree, R. V., Verhaeeghe, J., Meurrens, K., Assche, F.A.V., (1997) Maternal Semistarvation and Streptozotocin-Diabetes in Rats Have Different Effects on the In Vivo Glucose Uptake by Peripheral Tissues in Their Female Adult Offspring<sup>1</sup> J. Nutr. July vol. 127 no. 7 1371-1376
- Howarth, F.C., Hassan, Z., Qureshi, M.A. (2011). The chronic effects of neonatal alloxan-induced diabetes mellitus on ventricular myocyte shortening and cytosolic Ca<sup>2+</sup>. Mol Cell Biochem 347:71-7.

- Hu, D., 1980. The effect of earthworm on eczema. *Guizhou J. of Medicine and Pharmacology*, 3, 46.
- Hua Z., Wang Y.H., Cao H.W., Pu, L.J., Cui, Y.D., (2011). Purification of a protein from coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida* and evaluation of its hemolytic, antibacterial, and antitumor activities, *Pharm Biol.*;49(3):269-75.
- Hutton, J.C. (1989). The insulin secretory granule. *Diabetologia* 32: 271-281.
- Ikebukuro, K., Adachi, Y., Yamada, Y., Fujimoto, S., Seino, Y. and Oyaizu, H. (2002). Treatment of Streptozotocin-induced diabetes mellitus by transplantation of islet cells Plus bone Marrow cells via portal vein in rats. *Transplantation* 73: 512.
- Inzucchi, S.E. (2009). “Diabetes Mellitus El Kitabı”, Demiriz, I. ., Demiriz, B., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1-75.
- Isenberg, J.S., Ridnour L.A., Espey M.G., Wink D.A., Roberts D.D. (2005). Nitric oxide in wound-healing, *Microsurgery*, 25;442-451.
- rer, S.V., Alper, G. (2004). Deneysel diyabet modelleri Türk Klinik Biyokimya Dergisi 2:127-36.
- Jiangsu, J., (2011) New Medical College, 1985. *Dictionary of Materia Medica*, Shanghai Sci. & Tech.
- Jones, S.G., Edwards, R., Thomas, D.W. (2004). Inflammation and wound healing the role of bacteria in the immuno-regulation of wound healing, *Int J Low Extrem Wounds*, 4: 201-208.
- Kalay, Z., Cevher, S.C. (2012). Oxidant and antioxidant events during epidermal growth factor therapy to cutaneous wound healing in rats, *Int Wound J.*,9(4):362-71.
- Karasu, A., Bakır, B., (2008). “Yara ve Yara yile mesi (Wound and Wound Healing)”, *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14 (1): 36-43
- Kauschke, E., Pagliara, P., Stabili L., Cooper, E.L., 1997. Characterization of proteolytic activity in coelomic fluid. *Zoological Science*, 12, 225-230.
- Kaya, E., Ertekin, C., Tavilo lu, K., Gülo lu, R., ve Kurto lu, M. (2005). Yara iyile mesi, *Travma, istanbul, istanbul Medikal Yayıncılık*. 1, 488-501. 2005.

- Kılıç, N., Malhatun, E., Elmalı, E., Altan, N. (1988). An Investigation into the Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Glutathione peroxidase activity in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Muscle Tissue. *General Pharmacology* 30(3), 399-401.
- Kobayashi, H., Ohtomi, M., Sekizawa, Y., Ohta, N., (2001). Toxicity of coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida* to vertebrates but not invertebrates: probable role of sphingomyelin, *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*;128(3):401-11.
- Koh, P.O., Sung, J.H., Won, C.K., (2007). Streptozotocin-induced diabetes decreases placenta growth factor (PlGF) levels in rat placenta. *J Vet Med Sci* 69:877-80.
- Koltuksuz, U., Özen, S., Uz, E., Aydınç, M., Karaman, A., Gültek, A., Akyol Ö., Gürsoy, M.H. ve Aydın, E. (1999). Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats, *Journal of Pediatric Surgery*, 34(10): 1458-1462.
- Kö lü, A. (1996). Yara iyile mesinde tarihsel geli meler. Tüm Yönleriyle Yara yile mesi Ankara.
- Kröncke, K.D., Fehsel, K., Sommer, A., Rodríguez, M.L., Kolb-Bachofen, V., (1995). Nitric oxide generation during cellular metabolism of the diabetogenic N-methyl-N-nitroso-urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage. *Biol Chem Hoppe Seyler* 376:179-85.
- Kwon, D.S., Gao, X., Liu, Y.B., Dulchavsky, D.S., Danyluk, A. L., Bansal, M., Chopp, M., McIntosh, K., Arbab A.S., Dulchavsky, S. A., Gautam, S.C. (2008). Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats, *Int Wound J*
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216-26.
- Lenzen, S., Mirzaie-Petri, M. (1991). Inhibition of glucokinase and hexokinase from pancreatic B-cells and liver by alloxan, alloxantin, dialuric acid, and t-butylhydroperoxide. *Biomed Res* 12:297–307.
- Li, T., (1980) *Research on Chinese Traditional Patent Medicine* 1, 12.
- Li, Z., (1976) *New Traditional Chinese Patent Medicine* 4, 478.

- Linden MD. (2013) Platelet physiology. *Methods Mol Biol*: 992:13-30.
- Ling, X., 1961. The experiment of earthworm for external application on encephalitis B's hyperpyrexia. *Jiangsu J. of Traditional Chinese Medicine*, 3, 41.
- Liu, S.H., Chang, Y.H., Chiang, M.T. (2010). Chitosan reduces gluconeogenesis and increases glucose uptake in skeletal muscle in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Agric Food Chem* 58:5795-800.
- Liu YQ (2003) Antiviral, antitumor activity of coelomic fluid from earthworm (*Eisenia fetida*) in vitro and purification, partial characterization of antibacterial peptide. Phd Thesis, China Agricultural University.
- Lowenstein, C.J., Dinerman, J.L., Snyder, S.H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Medical*, ;120:227-237.
- Lu, H., 1961. *Yunnan J. of Medicine and Pharmacology* 1,10.
- Lyu Y., Jiang X., Dai W., 2015. The roles of a novel inflammatory neopterin in subjects with coronary atherosclerotic heart disease. *International Immunopharmacology*.24, 169–172.
- Maria S. PL, Redmond SL, McInnes RL, Atlas MD, Ghassemifar R. (2011) Tympanic membrane wound healing in rats assessed by transcriptome profiling. *Laryngoscope* oct; 121 (10): 2199-213
- Marles, R.J. and Farnsworth, N.R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*. 2:137-89.
- Mertz, P.M. and Ovington, L.G., (1993). Wound healing microbiology, *Dermatol Clin*, 11 (4),739-747.
- Mısırlıo lu, M., 2011. Toprak Solucanları Biyolojileri, Ekolojileri ve Türkiye Türleri. Nobel Yayınları, No: 1636, 92 s, Ankara
- Mooney DP, O'Reilly, Gamelli RL. (1990) Tumor necrosis factor and wound healing. *Ann Surg*, 211:124-129.
- Morgan, E.G., Mikhail, M.S., Murray, M.J. (2008). *Klinik Anesteziyoloji*. IV. Basım. Ankara: Öncü Basımevi 783-788.
- Munday, R. (1988). Dialuric acid autoxidation. Effects of transition metals on the reaction rate and on the generation of 'active oxygen' species. *Biochem Pharmacol* 37:409-13.

- Munz, B., Frank, S., Hübner, G., Olsen, E., Werner, S. (1997). A novel type of glutathione peroxidase expression and regulation during wound repair. *Biochem J* 326 : 579-585.
- Musalmah, M., Fairuz, A.H., Gapor, M.T., Wan Ngah, W. (2002). Effect of vitamin E on plasma malondialdehyde, antioxidant enzyme levels and the rates of wound closures during wound healing in normal and diabetic rats, *Asia Pac J Clin Nutr.*, 7:S448-51 10.1046/j.1440-6047.11.s.7.6.
- Musicki, B., Kramer, MF., Becker, R.E., Burnett, A.L. (2005). Inactivation of phosphorylated endothelial nitric oxide synthase (Ser-1177) by O-GlcNAc in diabetes-associated erectile dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:11870-5.
- Nouwen, A., Winkley, K., Twisk, J., Lloyd, C.E., Peyrot, smail, M.K., Pouwer, F. (2010). Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for the onset of depression: a systematic review and meta-analysis, December Volume 53, Issue 12, pp 2480-2486.
- Nukatsuka, M., Yoshimura, Y., Nishida, M., Kawada, J. (1990). Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study. *J Pharmacobiodyn* 13:259-62.
- Nukatsuka, M., Yoshimura, Y., Nishida, M., Kawada, J. (1990). Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. *J Endocrinol* 127:161-5.
- Öntürk, H., Özbek, H. (2007). Deneysel diyabet olu turulması ve kan eker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergisi*, 17(4): 231-236.
- Özata, M. ve Yöner, A. (2006). *Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet*, stanbul Medikal Yayıncılık, 1. Baskı, 275-343 s.
- Özler, M., Özkan, C., Erdo an, E., Topal, T., Sadır, S., Uysal, B., ükrü, Ö., Korkmaz, A. (2009). Effects of topical nicotinamide and acetyl cysteine in chronic wound healing model, *Ulusal Cerrahi Dergisi* 25(4): 165-169.
- Pan, W., Liu X., Ge F., Zeng T., (2003). Reconfirmation of antimicrobial activity in the coelomic fluid of the earthworm *esenia fetida andrei*. *Biosci.*, 28(6), 723-731.

- Panchatcharam, M., Miriyala, S., Gayathri, V.S., Suguna, L. (2006). Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species, *Mol Cell Biochem.*;290(1-2):87-96.
- Parslow, T.G. and Bainton, D.F. (1997). Innate immunity. Stites, D.B., Terr, A.I. and Parslow, T.G. *Medical Immunology*. Stamford, Appelton&Lange. 9[2], 25-42.
- Pitkanem, O.M., Martin, J.M., Hallman, M., Akerblom, H.K., Sariola H., Andersson, S.M. (1992). Free radical activity during development of insulin dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Science* 50(5), 335-339.
- Portha, B., Levacher, C., Picon, L., Rosselin, G. (1974). Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* 23:889-95.
- Rakieten, N., Rakieten, M.L., Nadkarni, M.V. (1963). Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep* 29:91-8.
- Rao, B.K., Giri, R., Kesavulu, M.M. and Rao, Ch.A. (2001). Effects of oral administration of bark extracts of *Prerocarpus santalinus* L. On blood glucose level in experimental animals. *J Ethnopharmacol.* 74:69-74.
- Rapala, K., Laato, M., Niinikoski, J., Kujari, H., Söder, O., Mauviel, A., Pujol, J.P., (1991). Tumor Necrosis Factor Alpha Inhibits Wound Healing in the Rat, *Eur Surg Res.*, 23(5-6):261-8.
- Rastellini, C., Shapiro, R., Corry, R., Fung, J.J., Starzl, T.E. and Rao, A.S. (1997). An attempt to reverse diabetes by delayed islet cell transplantation in Humans. *Transplantation* 29: 2238-2239.
- Regan, M.C., Barbul, A. (1994). The cellular biology of wound healing. In: *Wound Healing* . Edited by Schlag, 1: 3-17
- Reynolds, J.W. ve Reynolds, W.M., 1972. Earthworms in medicine. *Am. J. Nurs.*, 72, 1273.
- Robers, H.R., Monroe, D.M., Escobar, M.A. (2004). Current concepts of hemostasis. *Anesthesiology* 100:722-730.
- Robins and Cotran (2009) *Pathologic Basis of Disease - 8th Edition*.
- Rohrich, R. J., Robinson, J.B.(1999). Wound Healing, *Selected Readings in Plastic Surgery*, 9,3.

- Rubin BG, Santoro SA, Sicard GA. (1993). Platelet interactions with the vessel wall and prosthetic grafts. *Ann Vasc Surg*;7:200-207.
- Ryssel, H., Kloeters, O. (2009). The antimicrobial effect of acetic acid—An alternative to common local antiseptics? *Burns* 35(5): 695-70 .
- Saxena, A.K., Srivastava, P., Kale, R.K., Baquer, N.Z. (1993). Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate. *Biochemical Pharmacology* 45(3), 539-542.
- Schenone, M., Furie, B.C., Furie, B. (2004). The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol* 11:272-277.
- Senel, O., Cetinkale, O., Ozbay, G., Ahçio lu, F., Bulan, R. (1997). Oxygen Free Radicals Impair Wound Healing in Ischemic Rat Skin, *Ann Plast Surg.*,39(5):516-23.
- Shalaby, R., Rossant, J., Yamaguchi, T.P., Gertsenstein, M., Wu, X., Breitman, M.L., Schuh, A.C. (1995). “Failure of Blood- sland Formation And Vasculogenesis n Flk-1 Deficient Mice”, *Nature* , 376:62
- Shen, L., 1982. *Hunan Medicine Journal.*, 6, 68.
- Shetty, S., Udupa, S., Udupa, L., Somayaji, N., (2006). Wound healing activity of *Ocimum sanctum* Linn with supportive role of antioxidant enzymes, *Indian J Physiol Pharmacol.*, 50(2):163-8.
- Shobha SV and Radha D. Kale (2008). *In vitro* Studies on Control of Soil-Borne Plant Pathogens by Earthworm *Eudrilus Eugeniae* Exudates.
- Shukla, A., Rasik, A.M., Dhawan, M.N. (1999). Asiaticoside-induced Elevation of Antioxidant Levels in Healing Wounds, *Phytotherapy Research*,13, 50–54.
- Siems, W.G., Van, Kuijk, E.J. and Maas, R. (1994). Uric acid and glutathion levels during short term whole body cold exposure. *Free Rad. Biol. Med.*, 16(3): 299-305.
- Singh M1, Govindarajan R, Nath V, Rawat AK, Mehrotra S. (2006) Antimicrobial, wound healing and antioxidant activity of *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lind. *J Ethnopharmacol.* 2006 Aug 11;107(1):67-72.



- Takeshita, M., Govindarajan, R., Nath, V., Rawat, A.K., Mehrotra S. (2006). Antimicrobial, wound healing and antioxidant activity of *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lind., *Journal of Ethnopharmacology*, 107,(1), 67–72.
- Tutar, U., (2012) *Eisenia fetida* türü toprak solucanlarından elde edilen farklı ekstraktların bitki patojenleri üzerindeki antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin araştırılması.
- Srinivasan, K., Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 Diabetes research: an overview. *Indian J Med Res* 125: 451-72.
- Steiling, H., Munz, B., Werner, S., Brauchle, M., (1999). Different types of ROS-Scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res* 247:484-494.
- Sucher R., Schroecksadel K., Weiss G., Margreiter R., Fuchs D., Brandacher G.,2010. Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. *Cancer Letters*.287,13-22.
- Suzuki-Banhese, V.F., Azevedo, F.F., Araujo, E.P., Amaral, M. E., Caricilli A.M., Saad, M.J., Lima M.H. (2015). Effect of Atorvastatin on Wound Healing in Rats, *Biol Res Nurs*.;17(2):159-68.
- Szanto, T., Joutsu-Korhonen, L., Deckmyn, H., Lassila, R. (2012). New insights into von Willebrand disease and platelet function. *Semin Thromb Hemost* 38(1):55-63.
- Szudelsky, T. (2001). The mechanism of alloxan and STZ action in beta cells of rat pancreas. *Physiol Res* 50:536-46.
- Szudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 50:537-46.
- Takeshita, F., Kodama, M., Yamamoto, H., Ikarashi, Y., Ueda, S., Teratani, T., Yamamoto, Y., Tamatani, T., Kanegasaki, S., Ochiya, T. and Quinn, G. (2006). Streptozotocin-induced partial beta cell depletion in nude mice without hyperglycaemia induces pancreatic morphogenesis in transplanted embryonic stem cells. *Diabetologia* 49:2948-58.
- Tarcan, E., (2003). “Diyabetik Ayak Ülserlerinin Cerrahi Tedavisi”, *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, Kurt, N., Nobel Tıp Kitabevleri, 273-284

- Taylor, R., Agius, L. (1988). The biochemistry of diabetes. *Biochem June* 250 (3): 625-40
- Tomlin, A.D., 2005. Earthworm Biology. Pest Management Research Center.<http://ipm.montana.edu/YardGarden/docs/earthwormbiology.insect.htm>(17.08.2012).
- Turgut, B., Güler, M., Demir, T., Türkçüo lu, P., Çeliker, Ü., (2007). “Oküler Anjiyogenezde Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörünün Rolü”, *T Klin J Ophthalmo*, 16:38-46
- Tüzün M. (1995). Diabetes mellitus. *Endokrinoloji*. zmir, Ege Üniversitesi Yayınevi 4:871.
- Uchigata, Y., Yamamoto, H., Kawamura, A., Okamoto H. (1982). Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly(ADPribose) synthetase inhibitors against alloxan- and streptozotocin induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. *J Biol Chem* 257:6084–8.
- Umachigi, S.P., Jayaveera, K.N., Kumar, C.K., Ashok Kumar G.S., Swamy, B.M., Vrushabendra Kumar, D.V. Kishore, Studies on Wound Healing Properties of *Quercus infectoria*, 2008, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1), 913-919.
- Umachigi, S.P., Kumar, G.S., Jayaveera, K., Kishore, K.D., Ashok K.C., Dhanapal R. (2007). Antimicrobial, Wound Healing And Antioxidant Activities Of *Anthocephalus Cadamba*, *Afr J Tradit Complement Altern Med*.4(4):481-7.
- Valembois, P., 1971. Etude ultrastructurale des coelomocytes du lombricien *Eisenia fetida* (Sav). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 96, 59-72
- Van Dam P.S., Van Asbeck, B.S., Erkelens, D.W., Marx, J.J., Gispen, W.H., Bravenboer, B., (1995). The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metabolism Reviews* 11(3), 181-192.
- Wang, C., Sun, Z-J. ve Zheng D., 2006. Research advance in antibacterial immunity ecology of earthworm. *The journal of applied ecology*, 17(3): 525.
- Wang, K., 1986. Antitumorigenic effect of an extract of earthworm on S180 and H22 cells in mice. *J. of the Fourth Medi. Univ. of PLA*, 7(2), 85.

- Waynforth HB, Flecknell PA. (1992) Experimental and surgical technique in the rat. 2nd ed, San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo: Academic pres.
- Weiss, R.B. (1982). Streptozotocin: A review of its pharmacology, efficacy and toxicity. *Canc Treat Rep* 66: 427-438.
- Werner, S., Heidrun, M., Martin, R. (1991) Lymphocytes play the music but the macrophage calls the tune; *Trends in Immunology* Volume 12, Issue 1, p1-49
- Westaby, S. and White S., (1987). *Wound infection.Wound care.* London. Williams Heinemann Medical Book. 70-83.
- Williams, D.T., Harding, K. (2003). Healing responses of skin and muscle in critical illness *Crit Care Med* 31(Suppl):547-557
- Wong, T.P., Debnam, E.S., Leung P.S. (2009). Diabetes mellitus and expression of the enterocyte renin-angiotensin system: implications for control of glucose transport across the brush border membrane. *Am J Physiol Cell Physiol* 297:601-10.
- Xu, Z., 1984. *Research on Chinese Traditional Patent Medicine*, 3, 42.
- Yamaguchi, Y. ve Yoshikawa, K. (2001). Cutaneous wound healing and update, *J. Dermatol*, 28;521-534.
- Yamamoto, H., Uchigata, Y., Okamoto, H., (1981). Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* 294:284-6.
- Yazır, Y., Gonca, S., Filiz, S., Dalçık H., (2004) “Endotel Hücreleri için Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi”, *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26 (4):181–184
- Ying, Z., Chun-meng, S., CHENG, (2002). Effect of irradiation on the quantity and activity of P65,TNF and IL-1 in rat wounds, *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*,6,(24),3780-3781
- Yönem, A., (2011). “Diabetes Mellitus Fizyoloji, Tanımlama, Sınıflama, Etiyopatogenez, Klinik Özellikler” *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*, Özata, M., İstanbul Tıp Kitabevi , 543-564

Zeng, P., 1982. Earthworm Culture. Hubei People's publishing house, Wuhan, China. 1-146.

Zhang, H., Yan-Hong, W., Hong-Wei, C., Li-Jun, P., Yu-Dong, C., (2011) Purification of a protein from coelomic fluid of the earthworm *Eisenia foetida* and evaluation of its hemolytic, antibacterial and antitumor activities *pharmaceutical biology*, 49:3, 269-275

Zhang Z et al (2010) Fatty acid extracts from *Lucilia sericata* larvae promote murine cutaneous wound healing by angiogenic activity. *Lipids Health Dis* 9:24

Zheng, P., 1988. The treating effect of fresh earthworm on hyperosteogeny. *Fujian J. of Trad.*,10 (3), 23.

## ÖZGEÇM

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı Ali İhsan HEPOKUR  
Doğum Yeri ve Tarihi KONYA-1972  
Medeni Hali Evli ve iki çocuk babası  
Yabancı Dil İngilizce  
İletişim Adresi Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fizyoloji Ana Bilim Dalı, 58140-Sivas  
E-posta Adresi [hepokur@hotmail.com.tr](mailto:hepokur@hotmail.com.tr)



### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise Seydi Şehir Lisesi  
Üniversite Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Ünvan Tıp Doktoru

### Tecrübesi

Hafik Devlet Hastanesi: 2001-2002  
Sivas Verem Savaş Dispanseri 2002-2011  
Özel Sektör 2011-2013  
Sivas Numune Hastanesi  
evde sağlık hizmetleri 2013- Halen bu birimde görev yapmaktadır.