



**HİPERGLİSEMİK RATLARDA FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN
BAZI SERUM OKSİDATİF PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Esra OĞUZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2019

Esra OĞUZ tarafından hazırlanan “HİPERGLİSEMİK RATLARDA FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN BAZI SERUM OKSİDATİF PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan: Prof. Dr. Nursel GÜL

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Prof. Dr. K. Barbaros BALABANLI

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 17/07/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Esra OĞUZ

17/07/2019

HİPERGLİSEMİK RATLARDA FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN BAZI SERUM OKSİDATİF PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Esra OĞUZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2019

ÖZET

Yara iyileşmesi, birbirini izleyen dönemlerden oluşan dinamik ve kompleks bir süreçtir. Yara iyileşmesinde pek çok büyüme faktörü görev alır. Fibroblast büyüme faktörü (FGF)'nin yara iyileşmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Çalışmada eksojen bFGF uygulanan hiperglisemik ratlarda serum TBARS, RSH ve NOx düzeylerinin zamana bağlı etkileri karşılaştırıldı. Deneylerde 250-300 g ağırlıkta 30 adet wistar-albino rat kullanıldı. Ratlar streptozosin (STZ) (ip, 60 mg/kg) ile hiperglisemik yapılmış ve deney grupları tedavi edilmeyen ve bFGF ile tedavi edilen alt gruplarına ayrılmıştır. Ratların dorsalateral yaralarına topikal bFGF uygulandı (10 ng/ml). Bu uygulamalardan sonra, yara iyileşmesinin 3. ve 7. günlerinde hayvanlar feda edildi. Serum TBARS, RSH ve NOx seviyeleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart sapma olarak ifade edildi. Ortalama farklar Anova Varyans Analizi ile karşılaştırıldı ($p < 0,05$). bFGF uygulaması yapılmış hiperglisemik ratlarda serum TBARS düzeyleri 7.günde 3.güne oranla istatistiksel olarak artmıştır ($p < 0,05$). bFGF uygulaması yapılmış ratların 3.günü ile tedavisiz grubun 3.günü serum RSH düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma görülmüştür. bFGF uygulamasının oksidatif stres üzerine düzenleyici etkisi olduğu gösterilmiştir. Sonraki çalışmalarda diyabetik yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olan bFGF 'nin farklı dozları ve farklı tedavi süreleri kullanılarak oksidatif olaylar üzerindeki etkisi ayrıntılı olarak araştırılabilir.

Bilim Kodu : 20317
Anahtar Kelimeler : bFGF, diyabetik yara iyileşmesi, antioksidan, lipit peroksidasyonu
Sayfa Adedi : 61
Danışman : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

EFFECT OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR (FGF) ON SOME SERUM
OXIDATIVE PARAMETERS IN HYPERGLYCEMIC RATS

(M. Sc. Thesis)

ESRA OĞUZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2019

ABSTRACT

Wound healing is a complex and dynamic process which has some healing periods following each other. Most growth factor responsible for wound healing. Fibroblast growth factor (FGF) is known to play an important role in wound healing. In the present study, we aimed to investigate exogenous effect bFGF supplementation on serum TBARS, RSH and NOx levels in hyperglycemic rats. Experiments were performed on 30 male Wistar albino rats (weight range: 200-250 g). Wistar albino male rats were hyperglycemic with STZ (ip, 60 mg/kg) and the experimental groups were divided into untreated and bFGF-treated subgroups. bGF was applied topically to the dorsalateral wounds of rats (10 ng/ml). After these administrations, on the 3th and 7th days of wound healing, the animals were sacrificed. Serum TBARS, RSH and NOx levels were measured spectrophotometrically. The results were expressed as mean $\pm$ Standard deviation. The mean differences were compared by Anova Variance Analysis ($p<0,05$). When compared with the treatment group, on the 7th day and the 3rd day, it was found that the serum TBARS levels increased statistically in hyperglycemic rats($p<0,05$). Both in the 3rd day of the untreated and 3rd day of the rats treated with bFGF may significant decrease in the serum RSH levels. bFGF application was found both enhancing and reducing effects on oxidative stres. In subsequent studies, the effect of bFGF, which has positive effects on diabetic wound healing, on oxidative events can be investigated in detail using different doses and different treatment periods.

ScienceCode : 20317

KeyWords : bFGF, diabetic wound healing, oxidative stress, diabetes mellitus

PageNumber : 61

Supervisor : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren danışmanım Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e, kıymetli tecrübeleriyle yol gösteren Prof. Dr. K. Barbaros BALABANLI'ya, tez çalışmamı "215Z482" numaralı "Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF-2 ya da bFGF) Uygulamasının Yara Dokusu Oksidan Olaylarına Etkisi" isimli proje kapsamında destekleyerek gerçekleşmesini sağlayan TÜBİTAK'a, desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Yara ve Yara İyileşmesi	5
2.1.1. Yara ve yara iyileşmesi tanımı.....	5
2.1.2. Yara tipleri	5
2.1.3. Yara iyileşmesinin evreleri	7
2.1.4. Yara iyileşmesinin tipleri	13
2.1.5. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler	14
2.2. Büyüme Faktörleri ve Yara İyileşmesi	14
2.3. Bazık Büyüme Faktörü (bFGF)	15
2.3.1. FGF reseptörleri	17
2.3.2. FGF sinyal iletimi	17
2.4. Diyabet	20
2.4.1. Diyabet	20
2.4.2. Diyabet ve komplikasyonları	20

	Sayfa
2.4.3. Diyabet ve yara iyileşmesi	21
2.4.4. Diyabet ve FGF	24
2.5. Serbest Radikaller	26
2.5.1. Serbest radikal ve oksidatif stres tanımı	26
2.5.2. Serbest radikal kaynakları	26
2.5.3. Başlıca serbest radikal kaynakları	29
2.5.4. Serbest radikallerin etkileri	30
2.5.5. Antioksidanlar	31
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	33
3.1. Deney Protokolü	33
3.2. bFGF Hazırlanması	33
3.3. Diyabet Modelinin Oluşturulması	33
3.4. Yara Modelinin Oluşturulması	33
3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması	34
3.6. Yöntemler	35
3.6.1. Plazma TBARS tayini	35
3.6.2. Plazma RSH tayini.....	36
3.6.3. Plazma NOx tayini.....	36
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	37
4. BULGULAR.....	39
4.1. Hiperglisemik Ratlarda Serum TBARS Düzeyleri	41
4.2. Hiperglisemik Ratlarda Serum RSH Düzeyleri.....	42
4.3. Hiperglisemik Ratlarda Serum NOx Düzeyleri.....	43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45

Sayfa

KAYNAKLAR 51

ÖZGEÇMİŞ 61

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Trombositlerden Salgılanan Maddeler	8
Çizelge 2.2. Yara İyileşmesi Fazları ve Bulunan Hücreler	13
Çizelge 2.3. MDA Başlama, İlerleme ve Sonlanma Basamakları	31
Çizelge 4.2. Hiperglisemik Ratlarda Serum TBARS, RSH ve NOx Düzeyleri.....	40

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yara İyileşmesinin Evreleri	7
Şekil 2.2. bFGF (FGF2)'nin 3 Boyutlu Yapısı	16
Şekil 2.3. FGF-FGFR Sinyal Yolağı.....	19
Şekil 2.4. bFGF'nin diyabetik koşullar altında insan dermal fibroblast migrasyonunu teşvik ettiği mekanizma	25
Şekil 4.4. Hiperglisemik Ratlarda Serum TBARS Düzeyleri.....	41
Şekil 4.5. Hiperglisemik Ratlarda Serum RSH Düzeyleri.....	42
Şekil 4.6. Hiperglisemik Ratlarda Serum NOx Düzeyleri.....	43

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Oluşturulan yara modeli	34
Resim 4.1. Hiperglisemik 3 Günlük Tedavisiz ve bFGF 3 Günlük Tedavili Yaraların Morfolojik Görüntüsü.....	39
Resim 4.2. Hiperglisemik 7 Günlük Tedavisiz ve bFGF 7 Günlük Tedavili Yaraların Morfolojik Görüntüsü.....	39
Resim 4.3. Kan örneklerinin alınması	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
cm	Santimetre
Fe	Demir
g	Gram
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H₂SO₄	Sülfürik asit
IP₃	İnositol trifosfat
kg	Kilogram
LH	Yağ asidi
LOO·	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
mg	Miligram
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
O^{2·-}	Süperoksit radikali
O₃	Ozon
OH·	Hidroksil radikali
ONOO-	Peroksinitrit xvi
PIP₂	Fosfatidil inositol bisfosfat
PIP₃	Fosfatidil inositol trisfosfat
rpm	Dakikadaki devir sayısı
U	Ünite
VCl₃	Vanadyum 3 klorür
μmol	Mikromol

Kısaltmalar**Açıklamalar**

AA	Askorbik asit
ADA	Amerikan diyabet derneği
AGE	İleri glikasyon son ürünleri
ATP	Adenozin trifosfat
BHT	Bütil hidroksi toluen
CAT	Katalaz
cGMP	Halkasal guanozin monofosfat
CSF	Serebrospinal sıvı
DAG	Diaçil gliserol
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
ECM	Ekstrasellüler matriks
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EGF	Epidermal büyüme faktörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GDP	Guanozin difosfat
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S transferaz
GTP	Guanozin trifosfat
GÜDAM	Gazi üniversitesi deneysel araştırma merkezi
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
IP3	Inositol trifosfat
JNK	C-JunN terminal kinaz
MAPK	Mitojen ile aktifleşen protein kinaz
MDA	Malondialdehit
MMP	Matriks metallo proteinaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

Kısaltmalar**Açıklamalar**

NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PCA	Perklorik asit
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü
PDGFR	Trombosit kökenli büyüme faktörü reseptörü
PI3K	Fosfatidil inositol 3-kinaz
PKC	Protein kinaz C
PLC-γ	Fosfolipaz C- γ xviii
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
RSH	Total sülfidril grubu
SHP2	Trozin fosfataz
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotosin
T1DM	Tip 1 diabetes mellitus
T2DM	Tip 2 diabetes mellitus
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
TCA	Trikloroasetik asit
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü- β
TNF-α	Tümör nekroz faktör- α
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Dokuda oluşan hasarın, kaybın veya doku devamlılığındaki bozulmanın onarılması organizmanın en önemli işlevlerinden birisidir. Bu onarma işlemin amacı hasarlı organın fonksiyonunun ve doku bütünlüğünün sağlanmasıdır [1]. Hasarlı dokunun iyileşmesi düzenli, sıralı hücrel ve biyokimyasal olaylar zinciri ile sağlanır [2,3].

Yara iyileşmesi doku restorasyonunu amaçlayan, evrimsel olarak korunan karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşmesi süreci birbirinden ayrı ancak iç içe geçmiş inflamasyon, hücrel proliferasyon ve olgunlaşma ve yeniden şekillenme (remodelling) aşamalarını kapsar [4,5]. Her bir basamak; endojen ve eksojen faktör tarafından kontrol edilen bir dizi olayın bütünleşmesi ile gerçekleşir. Bu süreç büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler tarafından düzenlenmektedir [6]. İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotelial büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü (FGF) yara iyileşmesinde önemli rol oynayan büyüme faktörlerindendir [7]. Doku geriliminin az olduğu yara iyileşmesi kısa sürede gerçekleşirken, radyoterapi ve kemoterapi uygulamalarında, genetik ve immunolojik bozukluklarda, diyabetes mellitus'ta, steroid kullanımı sırasında gecikmektedir [8-10].

Diabetes mellitus (DM), genetik, çevresel faktörler ve yaşam tarzı değişikliklerinin etkileşimi nedeniyle insülin salgılanması, insülin etkisi veya her ikisinde meydana gelen fonksiyonel eksikliklerden kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır [11]. Son derece önemli ve ilerleyici bir hastalık olmasının yanı sıra, gerekli kontrol sağlanamadığında akut ve kronik komplikasyonlara yol açıp morbidite ve mortaliteyi olumsuz etkilemesiyle hem birey hem de toplum için büyük bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır [12]. Günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı diyabet prevalansı engellenemeyen bir şekilde artmaktadır. Diyabet tanı kriterleri Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından belirlenmiştir. Buna göre DM'nin en basit tanısı klinik semptom ve bulguları olan kişilerde rastlantısal plazma glukozunun (PG) ≥ 200 mg/dl olması, açlık kan glukozunun ≥ 126 mg/dl olması (farklı zamanda iki kez ölçülen), ağızdan verilen 75 gr'lık glukoz yüklemesini (oral glukoz tolerans testi-OGTT) takiben 2 saat sonraki PG ≥ 200 mg/dl olması ile tanı konulabilir [12]. DM, bütün toplumlarda ve ırklarda görülen bir

hastalıktır. Fakat nüfus yoğunluğu fazla olan Hindistan, Çin ve Amerika Birleşik Devletlerinde daha sık görülmektedir [13].

Serbest radikaller hücresel yapıları etkileyerek lipit, protein, karbonhidrat, DNA ve enzim gibi önemli bileşenlerine etki etmektedirler [14]. Diyabetik vasküler patogenezdaki ROT'un önemli olduğunu vurgulayan ve diyabetik komplikasyonların oksidatif stresle ilişkili olduğunu gösteren pek çok çalışma vardır [15].

Diyabette inflamasyon, anjiyogenezis ve kollajen sentezi bozular. Yara bölgesindeki kan dolanımı diyabetin anjiyopati ve nöropatik etkilerinden negatif yönde etkilenir. Diyabet, kronik hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres tarafından yaratılan periferel doku yaralarını da kapsayan bir hastalıktır. Diyabet ve komplikasyonlarının oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtta bir artışa sebep olduğu bilinmektedir. Gecikmiş yara iyileşmesi hiperglisemi ile uyarılan bir enflamatuvar yanıt ile ilişkilidir ve kan glikoz seviyelerinin, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın seçici modülasyonu yara iyileşmesindeki etkisi diyetlerine antioksidan takviyesi ile olumlu olabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik yara; yapılan hayvan deneylerine göre yara iyileşme sürecinde bir bozukluk ile karakterize edilir, özellikle inflamatuvar ve proliferatif fazlar, patolojik anjiyojenez ve yara iyileşmesi gerilme mukavemetinde önemli bir düşüş gözlenmiştir. Diyabet, lenfositlerin apoptosisini artırır ve ROT üretimi artar, ayrıca apoptozun sinyal yolağını da uyarır [16,17].

Büyüme faktörleri hücrelerin büyümelerini, farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyararak polipeptit yapılı moleküllerdir [18,19]. Kimyasal ileti moleküllerinden biri olup hedef hücrelerin yüzeylerinde bulunan reseptörlere bağlandıktan sonra protein kinazları aktive ederler. Aktifleşen protein kinazlar ile hücre içi sinyal yolu başlar. Büyüme faktörleri hücreleri farklı yollarla ve çeşitli şekillerde etkileyebilmektedir. Bu faktörler hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, migrasyonu artırıcı ya da azaltıcı yönde etkileyebilirler [20].

Son yıllarda yapılan çalışmalar FGF'nin 28 üyeden oluşan büyük bir aile olduğunu göstermiştir. Zebra balıklarından fare ve insana kadar uzanan birçok hayvan türünde bulunan bFGF güçlü heparin afinitesine sahip 140 zincirlik aminoasit dizisi ile yara iyileşmesi üzerinde etkilidir [21,22]. Memeliler filogeniye ve sekans homolojisine dayanan altı ayrı alt aile halinde gruplandırılmış 18 FGF tipini içerirler (FGF1,FGF10,FGF16,FGF23). FGF'ler benzer bir iç çekirdeği paylaşır ve hem heparin hem de fibroblast büyüme faktörü

reseptörleri için karakteristik olarak yüksek bağlanma afinitesine sahiptirler [23]. FGF'ler keratinositler, fibroblastlar, endotelyal hücreler, düz kas hücreleri, kondrositler, mast hücreleri vasıtasıyla üretilir. İn vivo ve in vitro olarak mitogeneze, hücresel göçte, farklılaşma ve anjiogeneze biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Endotelyal hücreler FGF'yi hem sentezleme hem de yanıt verebilme özelliğine sahiptir [24]. bFGF sıklıkla klinik olarak kullanıldığı; kıkırdağın, deri, kornea, kulak zarında ve tükürük bezlerinde yara iyileşmesinde rol oynadığı vurgulanmıştır [25].

Çeşitli büyüme faktörlerinin yara dokusundaki oksidatif olaylar üzerine etkilerini gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen, yara iyileşmesinin çoğu aşamasında önemli rol oynayan bFGF' nin zamana bağlı etkilerini gösteren çalışmaların eksikliği söz konusudur.

Bu çalışmada hiperglisemik ratlarda oluşturulan dorsolateral kesi yaralarına uygulanan bFGF' nin serum oksidatif olaylar üzerine zamana bağlı etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara ve Yara İyileşmesi

2.1.1. Yara ve yara iyileşmesinin tanımı

Dokuda oluşan hasarın, kaybın veya doku devamlılığındaki bozulmanın onarılması organizmanın en önemli işlevlerinden birisidir [1]. Bu onarma işlemin amacı hasarlı organın fonksiyonunun ve doku bütünlüğünün sağlanmasıdır. Hasarlı dokunun iyileşmesi düzenli, sıralı hücrel ve biyokimyasal olaylar zinciri ile sağlanır [2,3].

Yara iyileşmesi doku restorasyonunu amaçlayan, evrimsel olarak korunan karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşmesi süreci birbirinden ayrı ancak iç içe geçmiş epitel dokunun devamlılığını sağlamayı amaçlayan inflamasyon, hücrel proliferasyon ve olgunlaşma ve yeniden şekillenme (remodelling) aşamalarını kapsar [4,5]. Her bir basamak; endojen ve eksojen faktör tarafından kontrol edilen bir dizi olayın bütünleşmesi ile gerçekleşir [6]. Bu süreç büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler tarafından düzenlenmektedir [7].

Dermal doku iyileşmesi; hücre çoğalması, inflamatuvar hücrelerin göçü, pıhtı oluşumu ve kollajen sentezi gibi dinamik bir olay dizisi ile mümkündür [4].

2.1.2.Yara tipleri

Yaralar cildin alt katmanlarının dış ortamla temasına göre açık ve kapalı yaralar olmak üzere iki temel grupta değerlendirilebilir. Yaralar aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır [8]:

A-Yarayı oluşturan etkenlere göre yara tipleri:

1. Travmatik yaralar

- Kesi yaraları
- Laserasyon yaraları
- Delici yaralar
- Abrasyon yaraları

- Silah mermisi yaraları
 - Kırık fragmanlarının ekspozisyonu ile ortaya çıkan yaralar
2. Vasküler nedenli yaralar
- Arteriel yetmezlik yaraları
 - Venöz yetmezlik yaraları
 - Lenfatik yaralar
3. Nörojenik yaralar (trofik bozukluklar sonrası, duyu bozuklukları-nöropatik bozukluklar sonrası gelişen yaralar)
4. Basınç yaraları
- Hava
 - Kimyasal maddeler
5. Termal yaralar
- Yanıklar
 - Donuklar
6. Fiziksel etki ile yaralar
- Isı yaraları
 - Işık yaraları
 - Elektrik yaraları
 - Barotravma yaraları
7. Hayvan ısırıkları ve böcek sokması ile oluşan yaralar
8. Hastalıklar sırasında ortaya çıkan yaralar
- Malign hastalıklar
 - Metabolik hastalıklar
 - Enfeksiyon hastalıkları
 - Hematolojik hastalıklar

B. Yaranın derinliğine göre yara tipleri:

1. Yüzeysel yaralar
2. Derin yaralar

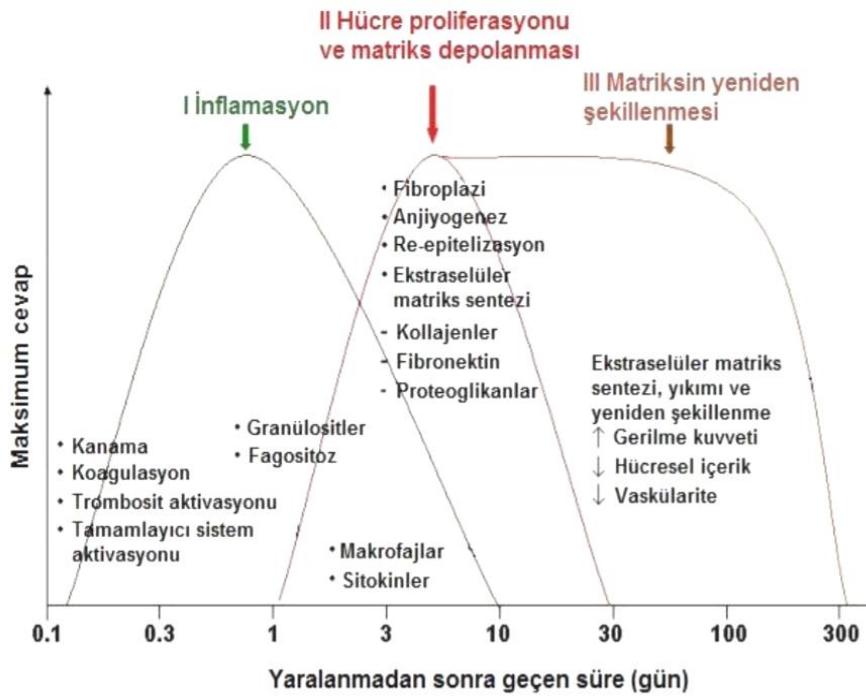
C. Yaranın oluşma zamanına göre yara tipleri:

1. Akut yaralar

2. Kronik yaralar

2.1.3. Yara iyileşmesinin evreleri

Yara iyileşmesi hem katabolik hem de anabolik olayları içeren iç içe geçmiş inflamasyon, hücresel proliferasyon ve olgunlaşma ve yeniden şekillenme (remodelling) aşamalarını kapsar. Bu aşamalar eş zamanlı olmasına rağmen yara iyileşmesinin daha kolay anlaşılabilmesini amacıyla 3 evreye ayrılmıştır [4,8-10].



Şekil 2.1. Yara İyileşmesinin Evreleri [26].

İnflamasyon aşaması

Bu aşama hemostaz ve inflamasyon ile karakterizedir [10]. Hemostaz yaralanma anında meydana gelir ve bu andan itibaren hızlı bir şekilde sonuçlanacak birçok olay gerçekleşir. Kanamanın durdurulması evresi olarak adlandırılan hemostaz, yara iyileşmesinin ilk basamağıdır. Doku ve kan damarlarının bozulmasından sonraki 5-10 dakika içinde hemostazi sağlamak için damarlarda vazokonstriksiyon gelişir. Şekillenen vazokonstriksiyon, kan kaybını önlemek için kan akım miktarını azaltarak hemostazın şekillenmesine katkıda bulunur [4,10]. Kanamanın durması damarlar, kollajen ve trombositlerin fonksiyonları sonucu gerçekleşmektedir. Yaralanan hücrelerin

membranlarından salgılanan *tromboksanA2* ve *prostoglandinF2 α* , hasar gören damarların 5-10 dakika süreyle kontraksiyonunu sağlayarak, kan kaybını önlemekte, hemostazın şekillenmesini sağlamaktadır [4,10]. İyileşme süreci, yaralanmayı takiben trombositlerin kollajenle temas ettikleri anda başlar. Trombosit adhezyonu, agregasyonu ve pıhtılaşma faktörlerinin salınımı sonucunda fibrin pıhtısı oluşur. Fibrin pıhtısı iyileşmenin ileri dönemlerinde geçici ekstrasellüler matriks oluşumuna katkıda bulunur [27]. Trombositlerin endotel altı kollajenle teması granüllerinde bulunan trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), trombosit aktive edici faktör (PAF), serotonin, tromboksan A2, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlekin-1 (IL-1) gibi çeşitli faktör ve sitokinlerin salınımına neden olur [28-30]. Trombositlerden salgılanan Bu maddeler yara iyileşmesini erken ve geç evrelerinde önemli rol oynamaktadır.

Çizelge 2.1. Trombositlerden salgılanan maddeler [31]

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	Trombosit faktör V
Transforme Edici Büyüme Faktörü- Beta (TGF- β)	Fibronektin
von Willebrand Faktör	Fibrinojen
Tümör Nekroz Faktör- Alfa (TNF- α)	Serotonin
Trombosit aktive edici faktör (PAF),	Trombozpondin
İnterlekin-1 (IL-1)	TromboksanA2

İnflamasyon aşamasında; damar genişlemesi (vazodilatasyon) sonucu yara alanındaki kan damarlarının seçici geçirgenliğinin artması ve kemotaktik uyarıların etkileşimi ile bölgeye ilk gelen hücreler nötrofillerdir. Bu olaya diapedez denir [32]. Yaralanmadan sonra 24 ile 48 saat aralığında pik seviyeye ulaşan nötrofiller enfeksiyon karşısındaki ön savunma duvarını oluştururlar. Ana fonksiyonunun bakteriyel büyümeyi kontrol ederek enfeksiyonu baskılamak olduğu düşünülen nötrofiller ilk 3 gün boyunca yara bölgesinde egemen hücre olarak bulunurlar [4,33,34]. Basit yaralarda pik yapan nötrofil miktarı yaralanmadan sonda 3. günde azalmaya başlar. Nonspesifik savunma sistemi elemanı olan nötrofiller yaranın temizlenmesi için ürettikleri enzimler ve serbest radikaller aracılığıyla yara bölgesine giren bakterileri, ölü dokuları ve yabancı maddeleri fagositoz yolu ile ortadan kaldırarak yaranın

sterilizasyonunu sağlamaktadır [35-37]. Aktif nötrofiller, oksidatif patlama olarak adlandırılan Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enziminin kullanıldığı bir reaksiyon ile ROT sentezini gerçekleştirerek bakterilerin yok edilmesini sağlar [38]. 3. günde azalmaya başlayan nötrofil miktarını takiben (48-96 saat aralığında) makrofaj miktarı artar ve 5. günde yara bölgesindeki baskın inflamatuvar hücreler haline gelirler. Makrofajlar, konak savunması, inflamasyonun teşviki ve çözülmesi, apoptotik hücrelerin çıkarılması ve yaralanmayı takiben hücre proliferasyonu ve doku restorasyonunun desteklenmesi gibi birçok fonksiyona sahiptir. Sayıca artan bu hücreler, inflamatuvar yanıtta, başlangıçtaki fibroblast ve kollajen oluşumunda önemli rol oynarlar. Bu hücrelerin görevlerinin ilki fagositoz ve yara enkazının bölgeden kaldırılmasıdır. Makrofajlar bunların dışında yara iyileşmesi için gerekli TGF- β , TNF- α , IL-1, PDGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi başarılı bir iyileşme yanıtında bütünleyici rol üstlenen büyüme faktörlerini salgırlar [33,34,39,40].

Proliferasyon aşaması

Yara iyileşmenin ikinci evresi olan proliferasyon faz, yaralanmadan sonraki 3-5. günlerde nekrotik doku, kan pıhtısı, yabancı cisim ve enfeksiyonun ortadan kalkmasıyla başlar[5]. Proliferasyon aşamasında iyileşme sürecinin ana odağı, yara yüzeyini kaplamak, granülasyon dokusu oluşumunu ve damar ağını restore etmektir [41].

Proliferatif oluşumlar; yaralanmadan sonra 3-5. günlerde yaradaki nekrotik doku ve enfeksiyon gibi bariyer yapıların kalkması ile başlar. Bu evre; epitelyum ve endotel hücrelerinin çoğalması, granülasyon dokunun oluşması ve yara kontraksiyonu ile tanımlanır [42-44]. Proliferasyon evresinde fibroblast sayısı artarken inflamasyon hücrelerinde sayıca azalma gözlenir. Etkin hücreler fibroblast, epitelyum ve endotel hücreler olup, makrofajlar fibroblast hücrelerinin çoğalması için gerekli büyüme faktörlerinin kaynağını oluşturur. FGF, fibroblastlar tarafından sentezlenerek kendi hücre serilerinde proliferasyona neden olmaktadır. Yara fibroblastlarının kaynağı bölgesel konnektif doku fibrositleridir. Fibroblastlar yara iyileşmesi için çok önemli olan kollajen ve glikozaminoglikan (GAG) sentezlerler [45].

Granülasyon dokusu oluşumu yara iyileşmesinin en belirgin göstergesidir [46]. Bu dokunun oluşumu için hücrelerde ve hücreler arası matriks elemanlarında artış gözlenir. Matriks makrofajlar, fibroblastlar, perisitler ve mast hücrelerinden, kapiller damarın içini kaplayan endotel hücrelerinden meydana gelir. Granülasyon dokusu oldukça vasküler bir yapıya sahip olup bu dokunun tek damar tipi kılcal damarlardır [33]. Dokunun gelişimi fibroblastların aktivasyonu olarak tanımlanan fibroplazia ve anjiogenez ile karakterizedir. Bu safhada yaranın gerilme kuvveti önemli bir artış gösterir [4]. Fibroplazia; fibroblastlar makrofajlar tarafından uyarılarak mitoz bölünme geçirir ve yaraya geçişinde PDGF, EGF, TGF- β ve FGF gibi büyüme faktörleri önemli rol oynar. Bu süreçte fibroblastlardan kollajen lifleri üretilmeye başlar ve yara alanında birikir [4,33,47]. Yarada en büyük kollajen kütlesi 3 haftada oluşur. Makrofajların etkisi ile çoğalan, yapısal proteinlerin çoğunluğunun üretilmesi görevini üstlenen onarım sürecinin en önemli hücre tipi fibroblastlardır [45].

Fibroblastlar fibrin pıhtısını geçisi matriks olarak kullanırlar. Geçici matriks glikoprotein, proteoglikan (hiyaluronik asit) ve başlangıçta tip 3'ten tip 1'e dönüşen kollajenden meydana gelen ekstrasellüler matriks ile yer değiştirir [4].

Fibroblast miktarı normal dokuda daha az ve durağan bir haldeyken yara dokularında sayıları zamana bağlı olarak artış gösterir ve aktif hale geçer. Yara bölgesinde fibroblastlar elastin, fibronektin, glikozaminoglikan (GAG) ve kollojen gibi iyileşmede önem taşıyan yapıları sentezler. Glikozaminoglikanların hiyaluronik asit, kondroitin 4 sülfat, dermatan sülfat ve heparan sülfat olmak üzere dört türü vardır. Bu dört formun oluşturduğu yapı "ground sunstance" olarak adlandırılır ve amorf jel yapısındadır. Bu yapı kollajen depolanması ve birikebilmesi için kilit roldedir [45]. Yara onarım sürecinin 4-5. günlerinde kollajen oluşumu şekillenmeye başlar. İlk olarak tropokollajen moleküllerinin ekstrasellüler matrikse bırakılması ile yeni şekillenen olgunlaşmamış kollajen fibrilleri birbirleri ile çapraz bağlanarak olgun kollajeni oluşturur. Kollajen madde miktarı artarken temel madde miktarı azalır. Yaranın erken safhalarında kollajen formasyonu sayesinde gerilim kuvveti artarken sonraki gerilim kuvvetindeki artış skar dokusunun olgunlaşmasına bağlıdır [33].

Proliferasyonun uyarılması ortamın asidikliğine oksijen seviyesindeki miktara bağlı olup fibroblastlar asidik ortam ve düşük oksijen seviyesinde matriks proteinlerini maksimum miktarda üretirler [33].

Anjiyogenez

Proliferasyon süreci ile paralel olarak gelişen anjiyogenez yeni kan damarları oluşumunu kapsar. Ekstrasellüler matriks ile hücreler bileşenlerin etkileşimini içeren yara onarımı için önemli bir olaydır. Oluşan damarlar yarada hasarlanan yapının yerini alıp iyileşen yaraya besin ve oksijen temin eder. Anjiyogenezin aktive edilebilmesi yara bölgesinde bulunan düşük O₂ tansiyonu ve birçok faktör tarafından gerçekleştirilir. Ayrıca bu süreçte hipoksi yeni damarların uyarılmasında ve bazı çözünebilir medyatörler anjiyogenik sinyallerde etkilidir [48-50].

Yaralanma meydana geldikten sonra birçok hücreden salınan sitokinler yeni damarların oluşumunda önem taşır. Bunlardan biri olan bFGF onarım sürecinin 3. günü aktive olur ve proteaz sentezini uyararak endotel hücrelerinin meydana gelmesini sağlar. bFGF endotel hücrelerinin migrasyonunu desteklerken heparin ve fibronektin migrasyonu artırıcı özelliktedir [46,51].

Yara kenarındaki kılcık damarların endotel hücreleri kollajenaz enzimini salgılayarak vasküler bazal membranı parçalar. Bu enzim parçalanmış vasküler bazal membranı damar hücrelerinin (endotel hücre) dallanmasını sağlar. Prolifere olan endotel hücreleri tübüler bir lümen oluşturup yüzeye doğru hızlı bir gelişme sağlar. En uç kısımda dallanma ve birleşme ile fonksiyonel kılcık ağlar oluşur. Yeni damar oluşumu 3 ve 7. günler arasında belirginleşir ve 21. gün itibarıyla azalmaya başlar. Yara olgunlaşmaya kadar bu gerileme devam eder. Geçen bu süre kılcık damarların yeterli olgunluğa ulaşması, yara için yeterli oksijen seviyesinin oluşması ve metabolik ihtiyaçların karşılanması açısından önemlidir [33].

Epitelizasyon

Klinik yaralarda iyileşme epitelizasyon sürecinin tamamlanmış olmasına bakılarak değerlendirilir. Yaralanmadan 12 saat sonra başlar ve 48 saatte maksimum seviyeye ulaşır.

Bu süreç deriye bariyer özelliğinin kazandırılmasını sağlayan epitelyum hücrelerin göç etmesini, çoğalmasını, ayrılmasını ve keratenize olmasını kapsar. Epitelyum hücrelerinin ana kaynağını keratinositler oluşturur. Yara oluşumundan sonraki ilk saatlerde epitelizasyon başlar ve sitokinler tarafından yönlendirilir. Fibroblastlardaki gen etkinliğine bağlı olarak sentezlenen KGF-I, KGF-II ve IL-IV keratinositlerin yara bölgesine göçünü ve çoğalmasını uyarır. Buna ek olarak epitelizasyonda önemli bir görev üstlenen bir diğer molekül NO'dur. Uyarılmış keratinositlerden salgılanan NO diğer keratinositlerin migrasyonunu ve proliferasyonunu sağlamada önemli rol oynar. Keratinosit yoğunluğu artışı ile NO miktarı doğru orantılıdır [39,52].

Derin yaralarda epitel hücrelerinin yara kenarlarından gelmesine karşılık yüzeysel yaralarda deri eklerinden kaynaklanan hücreler tarafından oluşturulur. Yaralanmayı takiben ilk 12 saat sonra epitelizasyon süreci başlar. Tek kat epitel örtü ile birbiri üstüne binecek şekilde ikinci ve üçüncü tabaka oluşur. Epidermisin diğer katlarının gelişimi ve tabakalaşması ile yüzey epiteli sağlamlaşır. Fakat bu sağlamlaşma asla normal bir epitel yapıda değildir [46,51]. İyileşmenin ilk 3 haftası yara gerilim kuvvetinde kollajen sentezi önemlidir. Yaralanmadan 6 hafta sonra birçok doku normal gerilim kuvvetini kazanır fakat hiç yaralanma olmamış derideki kopma kuvvetine erişemez [53].

Remodelling evresi

Yara onarım sürecinin en uzun evresi olan remodelling granülasyon dokusunun skar dokusu ile yer değiştirmesini kapsayan iyileşmenin son safhadır. Bu evrede fibroblast ve makrofaj sayısı azalır, yara rengi soluklaşır ve yara gerilim direnci artar. Bu fazın en önemli özelliği amorf kollajenlerin yara kenarlarında kollajen ağlarına dönüştüğünde aralarında oluşan bağın artmasıdır. Biriken ve düzenlenen kollajen sentezi 4-5 haftaya kadar devam eder. Birkaç ay sonra olgunlaşmış skar doku oluşur. Bu dönemden sonra yara gerilim kuvveti 4. haftada sağlam dokunun % 70'ine ulaşır [4,45]. bFGF remodelling evresinde değişime uğrayan kollajen yapısına katkı sağlamada önemli rol oynar [54].

Çizelge 2.2. Yara iyileşmesi fazları ve bulunan hücreler [55].

İyileşmenin fazı	Yaralanma sonrası zamanı	Fazda bulunan hücreler
Hemostasis	Yaralanmayla birlikte	Plateletler
İnflamasyon	1-4 gün	Nötrofil Makrofaj
Proliferasyon (granulasyon)	4-21 gün	Makrofaj Lenfosit Fibroblast Keratinosit
Remodelling (maturasyon)	21 gün- 2 yıl	Fibrotit

2.1.4. Yara iyileşmesinin tipleri

Primer iyileşme tipi: Doku kaybının en az seviyede olduğu, temiz ve düzgün zedelenen yara kenarlarının cerrahi yöntemler kullanılarak (dikiş, zımba, bant vb.) ile iyileşen yaralarda görülür. Yaranın kapatılması ve doku katmanlarının karşılıklı bir araya gelmesi ile yara onarım süreci hızlı gelişir. Cerrahi yöntemler ile onarım için küçük bir defekt kaldığında granülasyon dokusu matriksi oluşturmak zorunda kalmaz. Makrofajların yara ortamında görülmesi ile kollajen sentezi başlar. Yoğunlaşan kollajen sentezi sonunda iltihap hücresi olmayan skar doku meydana gelir [33,56].

Sekonder iyileşme tipi: Fazla miktarda doku kaybı olan yaralarda iyileşme süreci daha uzun ve karmaşıktır. Bu süre yara derinliğine, kenar uzunluklarının mesafesine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Sekonder yara iyileşmede proliferasyon süresi daha uzun, gerilme kuvveti ise daha düşüktür. Primer iyileşmeye kıyasla daha fazla enerjiye ihtiyaç duyar. Enfeksiyon riski yüksek ameliyat yaralarında, hayvan ısırıklarında ve yanıklarda sekonder iyileşme görülür [57,58].

Tersiyer iyileşme tipi: Yaranın kontamine olduğu durumlarda primer kapatılamayan dokularda uygulanır. Bu yöntem bakteri konsantrasyonunu en aza indirmek için zaman tanır [59].

2.1.5. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Son yıllarda yapılan araştırmalarda yara iyileşmesini olumlu ve olumsuz etkileyen lokal ve sistemik faktörler belirlenmiştir. Bu faktörlerden en önemli ve sıklıkla karşılanlarından bazıları şunlardır [60]:

Enfeksiyon: Yaraya kan yolu vasıtasıyla gelen bakterilerin neden olduğu enfeksiyon önlenemez ise yara doku onarımı gecikir. 1 gram doku 100 000'den fazla bakteri içerdiğinde enfeksiyon ihtimali %50'dir. Yüksek yoğunlukta bakteri içeren dokunun iyileşmesi için direnç göstermesi iyileşme süreci açısından önemlidir [61].

Yaş: Yaşlılarda yaşlılıkla beraber gelen diğer hastalıklar nedeniyle yara iyileşmesi genç bireylere oranla daha uzun sürer [33,62].

Basınç: Yara bölgesindeki basınç aşırı veya sürekli olduğu zaman, kapiller ağa kan desteği bozulabilir. Bu durum çevredeki dokuya kan akımını sekteye uğratır ve iyileşmeyi geciktirir [63].

Oksijenizasyon: Yara iyileşmesinde ortamda oksijen varlığı büyük öneme sahiptir [50]. Yara dokusu normal dokuya kıyasla daha çok oksijene ihtiyaç duyar. Oksijen fagositoz, fibroblast çoğalması, angiogenez gibi iyileşmede hayati öneme sahip metabolik olaylar için gereklidir [65,66].

Sistemik hastalıklar arasında değerlendirilen diyabetik bireylerde yara iyileşmesi uzun sürer. Diyabetin kontrol edilmediği durumlarda, inflamasyon, anjiyogenezis ve kollajen sentezinde aksama görülür. Diyabetin anjiyopati ve nöropatik etkileri sonucu yara bölgesindeki kan dolaşımına etkisi olumsuzdur [67,68].

2.2. Büyüme Faktörleri ve Yara İyileşmesi

Büyüme faktörleri hücrelerin büyümelerini, farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyaran polipeptit yapılı moleküllerdir [18,19]. Kimyasal ileti moleküllerinden biri olup hedef hücrelerin yüzeylerinde bulunan reseptörlere bağlandıktan sonra protein kinazları aktive

ederler. Aktifleşen protein kinazlar ile hücre içi sinyal yolu başlar. Büyüme faktörleri hücreleri farklı yollarla ve çeşitli şekillerde etkileyebilmektedir. Bu faktörler hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, migrasyonu artırıcı ya da azaltıcı yönde etkileyebilirler [20]. Büyüme faktörleri etkilerini genellikle endokrin (kan yoluyla uzaktaki hücrelere etki), parakrin (komşu hücrelere etki) veya otokrin (salgılandığı hücreye etki) yollarla gösterirler [69]. Yara iyileşmesinde etkili olan başlıca büyüme faktörleri; özellikle epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-beta) ailesi, fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF) dir [3].

Genellikle parakrin ve otokrin yolla etki gösteren Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) nin kaynaklandığı hücreler trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri ve düz kaslardır. Hücrelerin kemotaksisi ve proliferasyonunu uyarmada görevlidir. Disülfid kaplı A ve B olmak üzere iki polipeptit zincirini içerir ve ayrıca homodimer (AA, BB), heterodimer (AB) yapısında bulunabilir [70].

Epidermal büyüme faktörü (EGF) reepitelizasyon aşamasında etkin role sahip, proliferasyon ve migrasyonu sağlayan bir ajandır. Yapılan çalışmalarda EGF'nin yara onarımı için uygulanan bölgelerde epitelizasyonu hızlandırdığı yara iyileşmesinde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir [71].

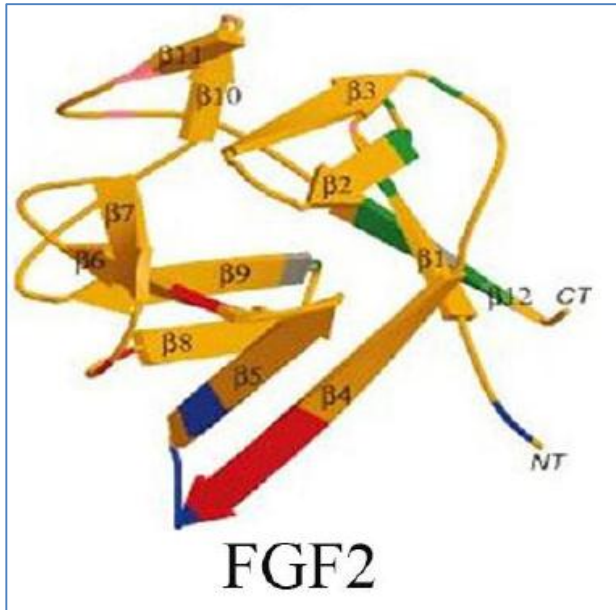
Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-beta) ailesi özellikle trombositler, endotel hücreler, T hücreleri, makrofajlar gibi pek çok hücre ve doku tarafından sentezlenebilir. Çoğu hücrenin TGF-beta'ya özgü reseptörü bulunmaktadır. Temel anlamda yara iyileşmesinin çoğu basamağını etkileyen büyüme faktörlerinin en önemlilerindendir. İyileşmenin ilk dönemlerinde inflamatuvar fazın regülasyonunu sağlamada ve kollajen sentezini uyarmada önemli rol oynar [3].

2.3. Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF)

Son yıllarda yapılan çalışmalar FGF'nin 28 üyeden oluşan büyük bir aile olduğunu göstermiştir. Zebra balıklarından fare ve insana kadar uzanan birçok hayvan türünde

bulunan bFGF güçlü heparin afinitesine sahip 140 zincirlik aminoasit dizisi ile yara iyileşmesi üzerinde etkilidir [21, 22].

Memeliler filogeniye ve sekans homolojisine dayanan altı ayrı alt familya halinde gruplandırılmış 18 FGF tipini içerirler (FGF1,FGF10,FGF16,FGF23). FGF'ler benzer bir iç çekirdeği paylaşır ve hem heparin hem de fibroblast büyüme faktörü reseptörleri için karakteristik olarak yüksek bağlanma afinitesine sahiptirler [23]. FGFRs tirazin kinaz reseptörleri olup heparin bağlı sekans içerirler. Elde edilen birçok bilgi embriyogenez ve organ sistemlerinin gelişimi de dahil olmak üzere temel gelişim yollarında FGF sinyallerinin rolünü göstermiştir. %55 benzerliğe sahip, izoelektrik noktalarının farklı olması nedeni ile asidik ve bazik olmak üzere tanımlanan iki tip FGF tanımlanmıştır. bFGF; FGF ailesinin öne çıkan üyelerinden biridir. 1974 yılında karakterize edilmiş olan bFGF'nin yara iyileşmesinin özellikle 3. gününde etkin bir role sahip olduğu son yıllarda gösterilmiştir [72,73].



Şekil 2.2. bFGF(FGF2) 'nin üç boyutlu yapısı [74]

bFGF'nin bir şerit diyagramı; β iplikçikler 1–12 etiketli olup, heparin bağlayıcı bölge (pembe) β iplikçikler 1 ve 2 ile 10 ve 11 β iplikçikler arasındaki ilmek kısımlarını içerir. FGFR ile temas eden kısımlar yeşil renkte (reseptörün Ig-alanı 2 ile temas eden bölge),

mavi (Ig-alanı 3 ile temas eden) ve kırmızı (Ig-alanı 3'ün alternatif olarak eklenmiş bölgesine temas) gösterilmiştir [74].

FGF'ler keratinositler, fibroblastlar, endotelyal hücreler, düz kas hücreleri, kondrositler, mast hücreleri vasıtasıyla üretilir [3].

İn vivo ve in vitro olarak mitogeneze, hücrel göçte, farklılaşma ve anjiogeneze biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Endotelyal hücreler FGF'yi hem sentezleme hem de yanıt verebilme özelliğine sahiptir [24]. bFGF sıklıkla klinik olarak kullanıldığı; kıkırdağın, deri, kornea, kulak zarında ve tükürük bezlerinde yara iyileşmesinde rol oynadığı vurgulanmıştır [25].

bFGF'nin cilt ülserlerini tedavi etmek için kullanıldığı belirlenen birçok çalışma vardır. Bu çalışmalar yara iyileşmesindeki uyarıcı etkisine ve skar oluşumu üzerindeki stimüle edici özelliğine dikkat çekmektedir [75].

2.3.1. FGF reseptörleri

bFGF'ye ve aFGF'ye yanıt veren hücre tipleri tirozin kinaz aktiviteli özelleşmiş FGF hücre yüzey reseptörü taşırlar. Tirozin kinaz süper familyasına ait 4 farklı FGF reseptörü (FGFR 1-4) vardır. Hücre düşü ligand bağlayıcı kısım, transmembran kısım ve hücre içi tirozin kinaz bölgesi olmak üzere üç komponentten oluşan reseptörler tirozin kinaz transmembran proteinleri ile daha fazla çalışırlar [76].

Yapısal olarak FGFRs ekstrasellüler ligand bağımlı 2 ya da 3 immunoglobulin benzer gruptan meydana gelir. Reseptörler temel işlevlerini heparin gibi proteoglikanlara bağlanıp gerçekleştirir [77].

2.3.2. FGF sinyal iletimi

FGF'ler FGFRleri bağlayan ve aktive eden sinyal molekülleri olarak işlev görür. Aktive edilmiş FGFR'ler ile sinyal kaskadı başlatılır. FGF bağlanmasını takiben ligand bağımlı dimerleşme olayı FGF'lerin 2 heparin sülfat zinciri ve 2 FGFs kapsayan kompleks şekillenmesini içerir. Bir dizi sinyal yolağı spesifik hücrel yanıtı yol açar. Ligandların

spesifik reseptörlerine bağlanması ile D2 domaininde başka bir yolla bağlantı kurar. FGF sisteminde en iyi anlaşılan yollar RAS/MAP kinaz yolağı, PI3 Kinaz/AKT yolağı ve PLC γ yolağıdır [78].

RAS/MAP kinaz yolağı: Mitojenle aktive edilmiş protein (MAP) kinazlar hücre dışı uyarılara cevap veren (mitojen) gen ekspresyonu, mitoz, farklılaşma ve apoptozis gibi çeşitli hücresel aktiviteleri düzenleyen serin/treonine özgü protein kinazlardır. C-Jun Nterminal kinaz (JNK) hücre dışı sinyal düzenlenen kinaz ve p38 mitojen aktive kinazlar efektör MAP kinazların örneğidir. ER1/2 ve p38'in FGF'ye cevabı tüm hücrelerde gözlemlenirken diğer sinyal iletim yollarının aktivasyonu hücre tipine bağlı olarak değişir [78].

FGF sinyal yolağında anahtar olay proteinlerin tirozin kalıntılarının fosforilasyonudur. FGF reseptör substrat 2 α sinyalin hem aktivasyonu hem de zayıflatılmasında sorumlu proteinlerin doğrudan ya da dolaylı alımı için yeni alanlar sağlar. FRS2 α bir adaptör proteini, guanin nükleotid değişim faktör 2, tirozin fosfataz (SHP2) ve yerleştirme proteininden oluşan bir komplekstir. FRS2 sinyal kompleksinin sonuçlarının oluşumu hem RAS/MAP kinaz hem de PI3 kinaz/AKT yolağın aktivasyonudur. RAS/MAP kinaz yolağının birçok çalışmada hücre büyümesi ve farklılaşmasında rol oynadığı gösterilmiştir [23].

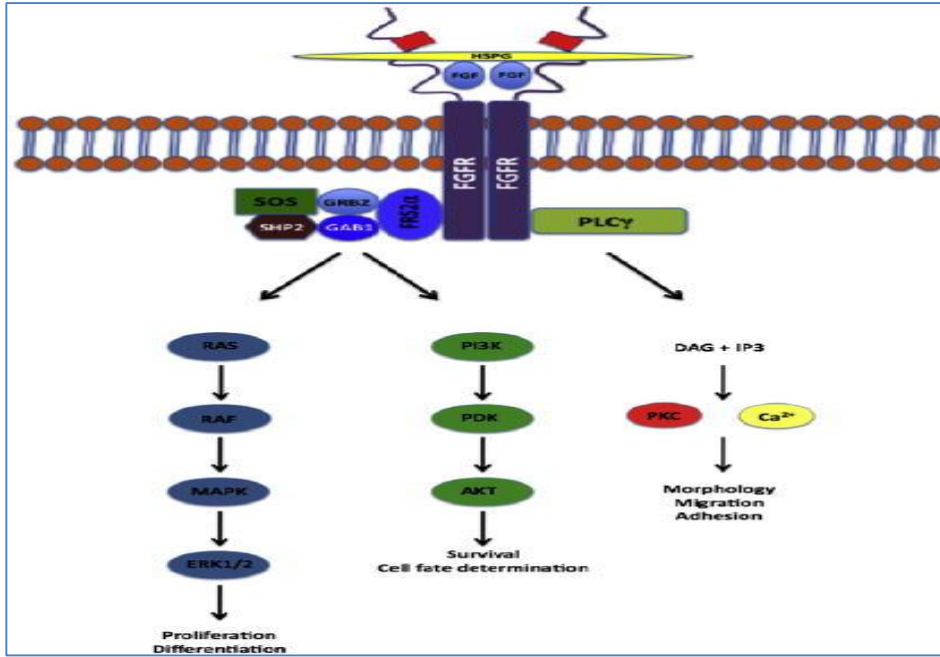
Lax ve ark (2002) yaptığı bir çalışmada FGF sinyalleri FRS2 α treonin fosforilasyonuna neden olan MAP kinaz aracılı negatif geri besleme döngüsünü GRB2 alınımı ve tirozin fosforilasyonunun azalmasına neden olduğunu göstermiştir. FGF sinyalleri hem pozitif hem de negatif mekanizmalarla sinyaldeki ince modülasyonların gelişmesi sırasında biyolojik yanıtların önemli belirleyicileridir [78].

PI3Kinaz/AKT yolağı: RAS/MAP kinaz sinyal yolağına benzer olarak PI3 kinaz/AKT yolağı bir FRS2 sinyal kompleksi oluşturarak başlatır. Daha sonra GAB1 proteini PI3 kinaz ile birlikte aktive edilmiş FGF reseptörlerini bağlar [23,78].

B'ottcher ve diğerleri (2003) FGF aracılığıyla AKT yolağının stimülasyonu için GAB1'in gerekli olduğunu göstermiştir [78].

PLC γ yolağı: Aktif haldeki hedef moleküllerden biri olan fosfolipaz C gama reseptörün fosforile edilmiş Tyr 766'ı, PLC γ 'nın fosforilasyonu ve PLC γ aktivasyonu ile sonuçlanır. İnositol trifosfat (IP3) ve endoplazmik retikulumdan salınan DAG PLC γ 'nın aktifleşmesinin hidrolizi ile oluşur. IP3 endoplazmik retikulumdan kalsiyumun salınımını kolaylaştıran hücresel ikinci bir elçidir. Sitosolde ve DAG'da kalsiyumun yükselen seviyeleri aktif protein kinaz PKC'e yanıt verir [23,78].

PLC γ kinaz yolu hücre morfolojisini, migrasyonu ve adezyonunu etkiler [23].



Şekil 2.3. FGF-FGFR sinyal yolağı [23]

Sinyalizasyon kaskadı, iki FGF ligandı, iki heparin sülfat zinciri ve iki FGFR'den oluşan bir FGF bağlama kompleksinin oluşumunu başlatır. Sinyal transdüksiyonu büyük oranda üç yolağından birini izler. Bir FRS2 kompleksinin oluşması üzerine başlatılan RAS / MAP kinaz yolu, hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını kontrol eder. PI3 / AKT yolu, aynı zamanda bir FRS2 kompleksinin oluşmasıyla başlatılır ve hücre sağkalımını düzenler. Son olarak, PLC γ 'nın aktive edilmiş FGFR'ye bağlanmasının ardından, DAG ve IP3 oluşur ve PKC'yi aktive eder. PLC γ yolu, hücre morfolojisini, göçünü ve yapışmasını etkiler [23].

bFGF'nin PI3k-AKT, ERK ve PKA sinyal yollarındaki etkileri araştırmaya yönelik çalışmalar devam edilmektedir. bFGF'nin sahip olduğu fotoreseptör hücrelerin oksidatif stresten koruma yeteneği olduğu bilinmektedir [78].

FGF ailesinin yara iyileşmesinde kullanılan en önemli üyeleri FGF2, FGF7 ve FGF10'dur [3,73]. FGF'er keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreler, düz kas hücreleri, kondrositler ve mast hücreleri tarafından üretilerek doku şekillenmesine katkı sağlar. Dokunun tamir ve rejenerasyonunda önem taşıyan mezodermal kökenli hücreler üzerinde mitojenik, kemotaktik ve anjiojenik etki gösterirler [3].

Akut yaralarda FGF-2 miktarı artar ve granülasyon doku oluşumu reepitelizasyon ve yeniden şekillenme aşamalarında görev yapar. FGF7 ve FGF10 keratinositlerin uyarılmasında etkindir. Anjiyogenezde asidik FGF'ye göre 10 kat fazla etkili olan bazik FGF bunlara ilaveten, kollajen sentezini, yara kontraksiyonunu, epitelizasyonu, fibronektin ve proteoglikan sentezini uyarmaktadır [3,71].

2.4. Diyabet

2.4.1. Diyabet

Diyabet; tüm dünyada hızla yayılan bir metabolizma hastalığıdır. Yapılan sağlık çalışmalarında gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda diyabetli birey sayısı 415 milyon iken bu sayının önümüzdeki 25 yıl içerisinde 642 milyona ulaşabileceği tahmin edilmektedir [79].

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de özellikle tip 2 diyabet prevalansı hızlı bir şekilde artış göstermektedir. Yakın zamanlarda ülke genelinde yetişkin bireylerde 26.495 incelenmiş ve tip 2 diyabet sıklığının geçmiş yıllara oranla arttığı gözlenmiştir. Ülkemizde diyabet sıklığı ortalama %7 olup beş yaş üzeri grupta ölüm nedenleri arasında beşinci sırada yer aldığı bildirilmektedir [80].

2.4.2. Diyabet ve komplikasyonları

Diyabetes mellitus (DM) genetik ve immün sistemin neden olduğu olaylar sonucu insülin salınımında meydana gelen bozukluklar ile oluşur. Yüksek kan şekeri ile karakterize edilir [80-82].

DM'un bazı tiplerinde insülin eksikliği veya bozuk insülin salgılanması gerçekleşirken, bazı tipleri insüline karşı dirençlidir. Bu işlevsel bozukluklar sonucu hiperglisemi(kan şekeri yüksekliği) kontrol altında tutulamazsa zamana bağlı olarak kronik anjiyopati, kardiyomiyopati: nöropati, cilt, diyabetik ayak, demans, Alzheimer gibi komplikasyonlar hastalığın önemini göstermektedir [80,83].

Tip 1 Diabetes Mellitus: Çocuk ve gençlerde daha sık görülen tip 1 DM; pankreasta bulunan β hücrelerinin harabiyeti ile oluşur ve insüline bağımlıdır. Tip 1 diyabetin klinik ortaya çıkışı ani olmakla birlikte, hastalık aslında beta hücrelerine karşı, hastalık belirgin hale gelmeden yıllar önce başlayan kronik otoimmün saldırının bir sonucudur. Beslenme, fiziksel aktivite ve insülin ile etkileri azaltılmaya çalışılır [84,85].

Tip 2 Diabetes Mellitus: Organizmada üretilen insülin reseptörler tarafından algılanamadığında hücre içersine alınamaz. Bu durumda hücre içersindeki glukoz enerji kullanılamayıp tip 2 diyabete neden olur. Genellikle 30 yaş sonrası ve obez insanlarda görülür [86,87].

İnsülün sekresyonunda meydana gelen bozulmalar ile serbest radikal düzeyi bütün vücutta artar, dokulara zarar verir. Oluşan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmak için antioksidan sentezlenir. Serbest radikallerin etkisini önlemek amacıyla diyabette eksojen antioksidanlar kullanılabilir [88].

2.4.3. Diyabet ve yara iyileşmesi

Dokuların diyabetik şartlara cevapları farklıdır ve birçoğu oksidatif stresle ilişkilendirilir. Hücre hasarı durumlarında oksidatif stres ve antioksidan arasında denge bozulmaktadır [89].

Yara iyileşme esnasında meydana gelen aksaklıklar yetersiz insülin salınımı ve artan kan glikoz seviyesi ile ilgilidir. Kan şekerinin yüksek olması hücrelerin metabolik davranışlarını etkiler [90].

Diyabet ve komplikasyonları oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtta artışı da beraberinde getirir. Kan glikoz seviyelerinin oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtı değerlendirilerek yaralı bölgeye antioksidan takviyesi ile iyileşme sürecine pozitif olarak katkı sağlayacağı düşünülmektedir [20].

Diyabette inflamasyon, anjiyogenezis ve kollajen sentezi bozulur. Yara bölgesindeki kan dolanımı diyabetin anjiyopati ve nöropatik etkilerinden negatif yönde etkilenir. Diyabet, kronik hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres tarafından yaratılan periferel doku yaralarını da kapsayan bir hastalıktır. Diyabet ve komplikasyonlarının oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtta bir artışa sebep olduğu bilinmektedir. Gecikmiş yara iyileşmesi hiperglisemi ile uyarılan bir inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir ve kan glikoz seviyelerinin, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın seçici modülasyonu yara iyileşmesindeki etkisi diyetlerine antioksidan takviyesi ile olumlu olabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik yara; yapılan hayvan deneylerine göre yara iyileşme sürecinde bir bozukluk ile karakterize edilir, özellikle inflamatuvar ve proliferatif fazlar, patolojik anjiyojenez ve yara iyileşmesi gerilme mukavemetinde önemli bir düşüş gözlenmiştir. Diyabet, lenfositlerin apoptosisini artırır ve ROT üretimi artar, ayrıca apoptozun sinyal yolağını da uyarır [16,17].

Bitar ve ark (1999) yapmış oldukları çalışmada glikokortikoid verilen grupta yara iyileşmesinin bozulduğunu ve buna bağlı olarak inflamatuvar hücrelerin baskılandığını, angiogenezisin azaldığını ve kollajen metabolizmasının bozulduğunu; diyabetlilerdeki yara gecikmesinin de buna benzer nedenlerden olabileceğini ortaya koymuşlar ve insülin uygulanan diyabetli hayvanlarda yara iyileşmesinin daha iyi olduğunu gözlemlemişlerdir [91].

Lerman ve ark (2003), hipoksi ve glukoz artışına bağlı olarak anjiogenezisi sağlayan büyüme faktörlerinin ve fibroblastların sayısının azaldığı gözlemlemiştir. Fibroblastların azalmasının; fibroblastlar tarafından salgılanan angiogenezis, proliferasyon ve matriks

depolanmasını sağlayan büyüme faktörlerinin miktarında da azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir [92].

1980’li yıllardan beri diyabette artış gösteren oksidatif stres tartışılan konulardan biridir. Artan glikoz düzeyleri sonucunda mitokondriyumda süperoksit üretimi artar. En önemli mekanizma mitokondriyal elektron taşıma zinciri tarafından süperoksit anyonunun fazla miktarda üretilmesidir. Buna hücre içerdindeki olayların yanıtı antioksidan düzeylerinin azalmasıyla başlatılır [93].

Antioksidan sistem yüksek miktardaki oksijenlenme ya da oksidatif strese maruz kaldığında serbest oksijen radikallerinin indirgenmesini neden olur. Yara bölgesinde nötrofil, makrofaj ve diğer inflamatuvar faktörler oksidatif stresi artırır. Fazla miktardaki oksidatif stres fibroblastlarda yaşlanmaya, fibroblastlardaki kontraksiyon işlevi ve büyüme faktörüne olan yanıtı azaltır [89].

Diyabetik yara yapılan hayvan deneylerinde yara iyileşmesi sürecinde bozukluk tespit edilmiş, inflamatuvar ve proliferatif evrelerinde yara iyileşmesi sürecine etki eden durumlar gözlenmiştir. Diyabette yara iyileşmesinin erken ilk safhalarında lökosit aktivitesinin bozulması daha sonraki safhalara da etki eder. Fibroblast çoğalması ve kollajen sentezini önler. Diyabet yaralarında bozuk granülasyon dokusu oluşur, kollajen sentezi azdır, normal çapraz bağ görülemez ve yara gerilim kuvveti azalır. Kollajen sentezindeki bozulma, fibroblastların çoğalma kapasitelerindeki yetersizliğe, hücrelerin sentez aktivitelerinin bozulmasına ve yeni sentezlenen kollajenin katabolizmasındaki artışa bağlanabilir [63].

Diyabetin yara iyileşmesindeki olumsuz etkilerinin mekanizması üzerindeki çalışmalar hala devam etmektedir. Bununla beraber, büyüme faktörlerinde (dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi) ve kollajen sentezinde azalma, proteazların aşırı etkinleşmesi, enflamasyon yanıtının gecikmesi ve nitrik oksit sentezinin engellenmesi gibi durumların hepsinin diyabetteki yara iyileşmesinde gecikmelere sebep oldukları vurgulanmıştır [94].

2.4.4.Diyabet ve bFGF

Dokuların diyabetik koşullara yanıtları farklıdır. Bu durumu takip eden ve hücrede meydana gelen olaylar oksidatif stresle ilişkilendirilir. bFGF yara iyileşmesinde fibroblastlar üzerinde etkili olup fibroblast hücrelerini yüksek glikozdan korumaktadır. bFGF FGFR1 sinyal yolağının aktivitesi ile glikoz miktarındaki artış engellediği düşünülmektedir [89].

bFGF uygulanan hayvanlarda yara iyileşmesi gözlenmiş, ECM sentezi ve kollajen dağılımı indüklenmiştir. İn vivo ve in vitro da bFGF uygulandığında skar şekillenmesi olumlu anlamda etkilenir. FGF ile yapılan çalışmalarda kronik yanık yarasında, kemik kırıklıkları, periodontal hastalık üzerinde anlamlı etkiler gözlenmiştir. Klinik çalışmaların bazılarında ülser ve peridontal hastalıklar için tedavi uygulamaları devam etmektedir [95].

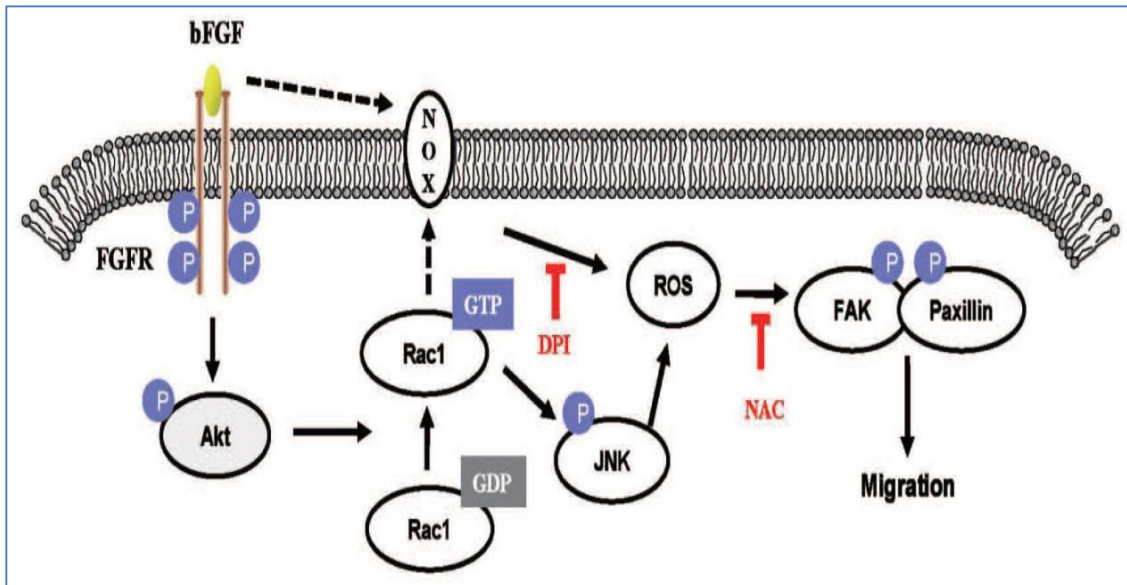
Dokular diyabetik koşullarda oksidatif stresle ilişkilendirilir ve bu koşulların yanıtları farklıdır. Yapılan çalışmalarda diyabet üzerine majör etkisi olduğu vurgulanmıştır. Diyabete bağlı komplikasyonlar oksidatif stresle bağlantılı proteinin nitrasyonları en belirgin etkilerdir. Yüksek kan şekeri angiogenesisin değiştirilmesi ile yara iyileşmesinin inhibasyonu birbiri ile ilişkilidir. bFGF'nin fibroblastlardaki yüksek glikozdan koruduğu gözlemlenmiştir. bFGF, FGFR1 sinyal yolağın aktive olması ile glikoz artışını engeller, yüksek glikoz hücre hasarına etki ederken proliferasyona etki etmez [89].

Uchi ve diğerleri (2009) yaptıkları bir çalışmada bFGF'nin diyabetik ülser tedavi hızını arttırdığını göstermişlerdir [96].

Greenhalgh ve arkadaşları (1990) genetik olarak diyabetli farelerin sırtlarında yaptıkları tam kalınlıktaki deri yaralarına rPDGF, bFGF ve ikisinin birleşimi ile topikal olarak uygulamışlardır. Yalnızca büyüme faktörüyle tedavi edilen yara alanlarında fibroblastlar ve kılcal damarlarda artma ve büyüme faktörlerinin birleşimi ile tedavi edilen yara alanlarında ise 21 gün sonra kayda değer ölçüde daha fazla yara kapanması olduğunu vurgulamışlardır. Diyabetli yaraları normal yaralarla karşılaştırdıklarında ise inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunun geciktiğini, granülasyon dokusu oluşumunun kötüleştiğini ve yara kapanmasının geciktiğini belirtmişlerdir [97].

Ackermann ve arkadaşları (2011 a) diyabetik (STZ) ratların sırtlarında halkasal tam kalınlıktaki punch biyopsi yaralarını PDGF, bFGF ve VEGF'nin birleşimi ve sadece PDGF ile subkütanöz enjeksiyonla yaraya uygulamışlardır. Proangiogenik büyüme faktörü kombinasyonu ile tedavi edilen grup, yalnızca PDGF ile tedavi edilen grup ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha fazla yara kapanma oranına ve damar yoğunluğuna (1,6 kat) sahip olduğunu belirtmişlerdir [98].

Diyabetik koşullar altında bFGF ile tedavi edilen dermal fibroblastlarda reaktif oksijen türleri (ROT) etkili bir artış göstermiştir. bFGF, oksidatif stres altında, PI3K/Akt-Rac1-JNK yollarıyla artış gösteren ROT sayesinde dermal fibroblastlarında migrasyonu teşvik ettiği vurgulanmıştır [99].



Şekil 2.4. bFGF'nin diyabetik koşullar altında insan dermal fibroblast migrasyonunu teşvik ettiği mekanizma [100]

bFGF'nin diyabetik fare modelinde yara iyileşmesini hızlandırdığı, kollajen dağılımı ve p-düz kas aktini (S-SMA) ve TGF- β 1 ekspresyonunu düzenleyerek ECM sentezini ve bozunmasını düzenlediğini bilinmektedir. Daha önce sözü edilen hayvan modellerine dayanarak, insanlarda klinik denemeler yapılarak FGF-1 ve -2, kronik yanık yaralarının tedavisinde kullanılmış ve bazı çalışmalarda iyileşme oranlarını olumlu bir artışla sonuçlandığı belirtilmiştir [100].

2.5. Serbest Radikaller

2.5.1. Serbest radikal ve oksidatif stres tanımı

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kararsız, molekül ağırlığı düşük atom veya moleküllerdir [101,102]. Serbest radikaller hücrede lipit, protein, DNA ve karbonhidrat gibi önemli hücresel yapı ve bileşiklerde etkili olduğundan biyolojik sorunlara neden olabilmektedir [101-103]. Hücreyi ölüme götüren reaksiyonlara karşı hücresel membranlar çok hassastır [104]. Süperoksit gruplarının kısa sürede oluşturduğu yıkım ile hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünleri açığa çıkar [105]. Oluşan bu ürünler ise hücre yırtılmalarına yol açarak membran akışkanlığının ve elastikiyetinin geri dönülenemez hasarına neden olur [104].

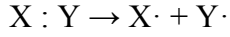
Oksidatif denge serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı arasındaki denge olarak nitelendirilmektedir. Bu denge sayesinde organizma serbest radikallerden etkilenmemektedir. Radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme gözlemlendiğinde denge bozulur. Meydana gelen oksidatif stresle antioksidanların etkisi azalabilmekte ve bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır [106].

2.5.2. Serbest radikal kaynakları

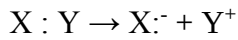
Canlı için hayati önemi sahip olan oksijen ve azot, aynı zamanda en önemli serbest radikal kaynaklarıdır. Oksijen(reactive oxygen species, ROS) ve azot (reactive nitrogen species, RNS) içeren serbest radikaller canlıda fizyolojik düzeyde oluşarak yararlı etkiler gösterirken, bu düzeyin belli bir seviyeye yükselmesiyle zararlı etkiler göstermeye başlarlar [102]. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan serbest radikallerdir [105]. Süperoksit anyonu, hidroksil radikali, lipid peroksit, nitrik oksit en çok bilinen ROS'lardır [107]. Ayrıca, singlet oksijen, hidrojen peroksit ve hipoklorit gibi bazı bileşiklerde kimyasal olarak serbest radikal değildirler fakat onlar gibi yüksek aktiviteye sahiptirler [102].

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler [108,109].

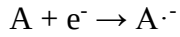
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.

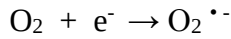


3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi

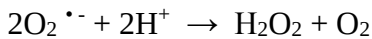
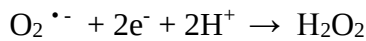
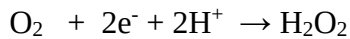


Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Süperoksit Radikali (O_2^-): Süperoksit radikali oksijen molekülüne bir elektron eklenmesi ile oluşur. Süperoksit radikali serbest olmasına rağmen kısa ömrüyle zayıf bir oksidandır. Güçlü bir redüktan ve H_2O_2 kaynağıdır [110].



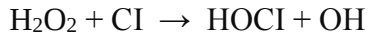
Hidrojen peroksit (H_2O_2): Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron almasıyla meydana gelen peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu oluşur [111].



Serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynayan H_2O_2 hücre membranından kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır.

Hidroksil radikali (OH[•]): Biyolojik sistemlerin en güçlü radikali olan hidroksil radikali suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması ile oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldır ve yarılanma ömrü çok kısa bir moleküldür. Hidroksil radikali ROS'un en güçlülerindendir. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton alarak tiyil radikalleri (RS[•]), karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara sebep olur [110].

Hipokloröz Asit (HOCl): Radikal olmadığı halde ROT arasında yer alan hipokloröz asit fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli bir rol oynar. Aktive edilen monositler, nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlar O₂⁻ üretmektedirler. O₂⁻'nin dismutasyonu ile meydana gelen H₂O₂'i, klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'ye dönüştürürler [110-112].



Nitrik oksit (NO): Tam bir radikal niteliği taşımayan NO tek sayılı elektron taşır ancak nitrojen ve oksijen üzerinde delokalize olur. Yarı ömürlü bir radikal olan NO aynı zamanda antioksidandır. Endojen serbest radikallerle birleşerek peroksit ve hidroksil radikalini oluşturabilir. Lipit peroksidasyonunda NO antioksidan etki yapmaktadır. Koşullara bağlı olarak NO, oksidan ya da antioksidan olarak hareket eder. NO sinyali oksidasyon ve süperoksit radikali ve çözülmemiş gazlarla nitrasyona sebep olur. Dahası, peroksinitrit, peroksinitrat ve esterleri yumuşak dokularda orta seviyede reaktif rol oynarlar [113].

Serbest oksijen radikali olan NO oldukça reaktiftir ve hemoglobin ile hızla etkileşiminden dolayı in vivo olarak oldukça kısa yarılanma ömrüne (1-5 s) sahiptir. NO, kanda hemoglobinin Hem grubu ile etkileşerek hızlı bir şekilde nitrit ve nitrat metabolize olur. NO ayrıca, hem ve demir içeren diğer moleküller ile (örneğin DNA) ve proteinlerin tiyol (-SH) grupları ile de reaksiyona girer. Bu değişiklik organizmada kritik rol oynayan enzim ve iyon kanallarının fonksiyonlarını etkiler. Bu yaygın dağılımı sebebiyle NO'nun vasküler düz kas tonusunu düzenleyici, trombosit kümelenmesini (agregasyon) ve lökositlerin damar dışına çıkmasını (adhezyon) engelleyici, parakrin ve otokrin yollar ile yeniden yapılanmayı (remodelling), ayrıca endotel hücre apoptozisini (kontrollü hücre ölümü) yeni

damar oluşmasını (anjiogenezi), hücre büyümesi ve hücrelerin inflamasyon bölgesine göç etmesini (migrasyon) ve hücre geçirgenliğini regüle edici etkileri bulunmaktadır [114].

2.5.3. Başlıca serbest radikal kaynakları

Mitokondriyal elektron transport zinciri

Süperoksit radikalının in vivo en önemli kaynağı olan mitokondride oksijenin suya indirgenmesi sırasında iç membranda lokalize elektrontransport zincirinde süperoksit radikali oluşur [112].

Endoplazmik retikulum

Membran bağımlı sitokromlar P450 ve b5 endoplazmik retikulumda yer alıp otooksidasyonla da oksijen serbest radikallerini oluştururlar [112].

Peroksizomlar

Peroksizomlar hücre içi H_2O_2 kaynaklarından biridir. Peroksizomlardaki D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden yüksek miktarda H_2O_2 üretimine neden olurlar [112].

Plazma membranları

Plazma membranında bulunan lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda prostoglandinler, tromboksanlar, ve lökotrienler meydana gelir [112].

2.5.4. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller hücresel yapıları etkileyerek lipit, protein, karbonhidrat, DNA ve enzim gibi önemli bileşenlerine etki etmektedirler[14]. Diyabetik vasküler patogenezdaki ROT'un önemli olduğunu vurgulayan ve diyabetik komplikasyonların oksidatif stresle ilişkili olduğunu gösteren pek çok çalışma vardır [15].

Diyabette ROT üretimi artmış ve antioksidan aktiviteleri azalmıştır. Bu durum, lipit peroksidasyonu ve DNA oksidasyonu ile sonuçlanır [115].

Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyona girip lipit peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden oluşmakta olup lipit peroksidasyonu hem lipitlere hem de zar proteinlerine zarar vermektedir. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarı geri dönüşümsüzdür.

Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu yağ asidinin (LH) oksidasyon metilen karbonundan hidrojen atomunun çıkarılmasıyla başlar. Başlangıç aşamasında yağ asidi radikali (L) oluşur. İlerleme aşamasında yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde oksijen eklenerek peroksil radikalini (LOO) oluşturur [110,116-118].

Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir [116-118].

Sonlanma safhası; lipit peroksitler metal iyonlarının etkisiyle yıkılarak daha reaktif olan radikal türlerini oluşturur. Bu yıkım ürünlerinin en önemlilerinden birisi malondialdehit (MDA)'dır [56, 103, 104]. Bu yıkım ürünleride DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Lipit proksidasyonunun son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu

bir dialdehidtir ve oksidatif durumun göstergesi olarak yaygın kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH_2 veya SH gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur [119].

Çizelge 2.3. MDA başlama, ilerleme, sonlanma basamakları [119].

Başlama: $\text{LH} + \text{R} \rightarrow \text{L} \cdot + \text{RH}$
İlerleme: $\text{L} \cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO} \cdot$
$\text{LOO} \cdot + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L} \cdot$
Sonlanma: $\text{LOOH} \rightarrow \text{LO}, \text{LOO}, \text{Malondialdehit (MDA) gibi aldehit}$
$\text{LOOH} + \text{Fe}^{+2} \rightarrow \text{Fe}^{+3} + \text{OH}^- + \text{RO} \cdot$ (Alkoksi radikali)

Serbest radikallerin proteinler üzerine olan etkileri

Peptit bağları ile prolin ve lizin gibi aminoasitler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Proteinlerin serbest radikal hasarına karşı duyarlılığı, aminoasit bileşimine, proteinin aktivasyonundan veya yapısal düzenlenmesinden sorumlu aminoasitlerin yerleşimine ve hasarlı proteinin onarılabilirliğine bağlıdır [112].

Oksidatif stres hem savunma sisteminde hem de yara iyileşmesinde rol oynar. Ancak yara iyileşmesinde ROT etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu nedenler ROT un oluşumu ve oluşan ürünlerin detoksifikasyonu yara iyileşmesinde büyük önem taşır.

Yara iyileşmesinin ilk evresi olan inflamasyon fazında serbest radikallerin üretilmesi, aktif lökositlerce gerçekleştirilmektedir. Üretilen serbest radikaller yara dokusuna zarar verse de, enfeksiyonun önlenmesi için hayati önem taşımaktadır. İnflamasyon fazının geç evresinde, monositlerden köken alan makrojaflar da önemli serbest radikal kaynağıdır [46].

2.5.5. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistem ve moleküllerle korunurlar [46].

ROT'un nötrleştirilmesinde doğrudan rol oynayan başlıca enzimatik antioksidanlar şunlardır: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GRx). Serbest radikallere karşı ilk savunma hattı olan SOD, süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizler. Oluşan oksidan H_2O_2 , suya ve oksijene dönüşür. SOD'un antioksidan etkisi süperoksit ile Fe^{+3} 'ün, Fe^{+2} 'ye indirgenmesi sonucunda hidroksil radikalının oluşmasının engellenmesi şeklindedir. Katalaz (CAT) hayvansal organizmaların aerobik hücrelerinde; özellikle karaciğer ve eritrositlerde yoğun olarak bulunur. Beyin, kalp, iskelet kasları ise düşük miktarlarda CAT içermektedir. CAT ve GSH-Px, hidrojen peroksidi su ve atomik oksijene indirgemektedirler. Glutatyon redüktaz Okside glutatyon (GSSG) NADPH bağlı flavo enzim olan glutatyon redüktaz tarafından redükte formuna (GSH) indirgenir [120].

Abou-Seif ve Youssef (2004) diyabetik bireylerde MDA, SOD ve GSH, NO gibi birçok oksidatif stres ve antioksidan seviyelerini değerlendirdikleri bir çalışmada, MDA düzeyinde ve NO seviyelerinde artma, SOD aktivitesinde azalma, ve GSH miktarında ise çok azalma saptamış, oksidatif stresin diyabetteki önemini vurgulamışlardır [101].

Vücutta serbest radikal hasarına karşı birçok aşamada koruyucu görev yapan antioksidan sistemler vardır. Antioksidanlar serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresten olumsuz etkilenir. Serbest radikallerin etkisini önlemek için kullanılan antioksidanlar özellikle tiyol grupları etkileşimler nedeniyle plazma ve doku düzeyini koruyamamaktadır [121].

Tüm plazma -SH grupları proteinler ile ilişkilidir. Artan oksidatif stresle beraber plazma ve membranlarda bulunan -SH grupları serbest radikal etkisi ile okside olmakta ve indirgenmiş formunda azalma tespit edilemektedir. Okside haldeki tiyol gruplarının tekrar indirgenmiş hale gelmesi ve oksidatif hasarda kullanılması için GSH gereklidir. GSH oksidatif stresten etkilenen tiyol gruplarını etkisiz hale getirirken yetersiz kalmaktadır [121,122].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Protokolü

Çalışmalara Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan izin alınarak başlandı. (G.Ü. ET-15.032) ve doku örneklerinin alımına kadar olan tüm aşamalar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) laboratuvarında yapıldı. Deneylerde GÜDAM'dan sağlanan 170-250 gram ağırlıkta 30 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Deney öncesi ve deney sırasında serbest yem ve su ile beslenen hayvanlar, deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldı. Alınan doku örnekleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında analiz edildi.

3.2. bFGF Hazırlanması

Daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda histolojik olarak yara iyileşmesine bFGF uygulamasının 10ng/ml dozajda katkısının yüksek olduğu belirlenmesi sebebiyle dozaj olarak 10ng/ml belirlenmiştir. bFGF uygulanan gruplardaki ratların yaralarına her gün birer kez topikal yolla içerisinde bFGF (10 ng/ml) yaklaşık olarak aynı saatte uygulandı.

3.3. Diyabet Modelinin Oluşturulması

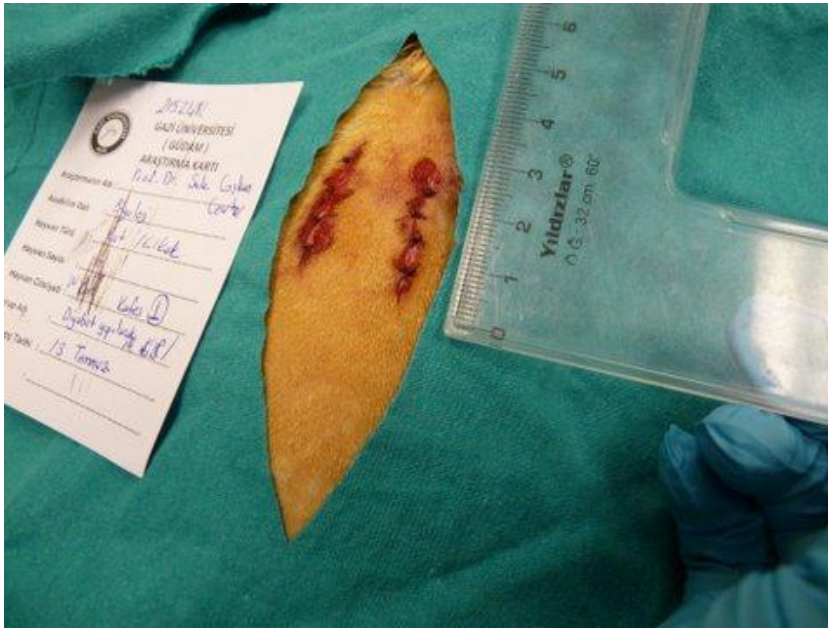
Sağlıklı ve diyabetik hayvanlardaki yara iyileşmesinin kıyaslanması amacıyla oluşturulan gruplarda diyabetik hayvanlara 0.1 M *sitrat buffer* (pH 4.5) tamponuyla çözülen STZ (ip, 60 mg/kg) uygulandı. Bir hafta sonra kan glikoz seviyeleri glikometre ile ölçülerek 300 mg/dl' nin üzerinde olanlar diyabetli olarak kabul edildi. Diyabete dirençli çıkan deney hayvanlarına karşı STZ uygulaması ikinci bir doz halinde yapılarak diyabetik hale getirildi.

3.4. Yara Modelinin Oluşturulması

Deney öncesi enfeksiyon olmaması için yara oluşturulmadan önce hayvanların dorsal bölgelerine batikon uygulanarak hazır hale getirildi.

Deney hayvanları standart terazide tartılıp ağırlıklarına göre intramüsküler olarak ketamin (Alfamanine 50mg/kg) ve ksilazin (Alfazyne 5mg/kg) enjekte edilerek genel anestezi sağlandı.

Hayvanların dorsalinde, omurganın her iki yanında yaklaşık 4 cm uzunluğunda olacak şekilde dorsolateral eksizyonel kesi yaraları yapıldı. Daha sonra yara dudakları sütur ile adapte edildi. Operasyon sonrası analjezinin sağlanması için farmakolojik ajan olan parasetamol içme suyuna 2 mg/ml olacak şekilde kullanıldı.



Resim 3.1. Oluşturulan yara modeli

3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her grupta 6 adet olmak üzere 5 ayrı deney grubu oluşturuldu ve gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı.

Hiperglisemik kontrol grubu

Oluşturulan grupların değerlerini kıyaslamak üzere sadece STZ ile diyabetik yapılan kontrol grubu (n=6)

Hiperglisemik tedavisiz gruplar

STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra sadece yara yapılan grup (iyileşmenin 3.günü feda edildi) (n=6)

STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra sadece yara yapılan grup (iyileşmenin 7.günü feda edildi) (n=6)

Hiperglisemik bFGF uygulanan gruplar

STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara yapılarak, bFGF uygulanan grup (iyileşmenin 3.günü feda edildi) (n=6)

STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara yapılarak, bFGF uygulanan grup (iyileşmenin 7.günü feda edildi) (n=6)

Uygulamalardan sonra kronobiyolojik sıraya uygun bir şekilde 3. ve 7. günlerinde ratlar kalplerinden kan alınarak feda edildi. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilip serumlar endof tüplerine alınarak analiz edileceye kadar -30°C’de saklanmıştır.

3.6. Yöntemler

3.6.1. Plazma TBARS tayini

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA’nın tayini, Kurtel yöntemi kullanılarak tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) oluşumu metoduyla yapıldı [123]. Kullanılan solüsyonlar %15’lik TCA , %0.02’lik BHT (%95’lik etanol içinde) , %0.375’lik TBA ve 0.25 N HCl’tir. 200 µL plazma üzerine 400 µL TBA-TCA-HCl karışımı (eşit miktarlarda) eklenerek vortekslendi. 5 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 5 dakika boyunca 10000 rpm’de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanın tamamı cam tüplere alındı. Süpernatanın üzerine 4 µL BHT eklendikten sonra tüpler 15 dakika boyunca kaynatıldı. Çeşme suyunda soğutulduktan sonra ELISA plağına yerleştirilerek 532 nm dalga boyunda okundu.

3.6.2 Plazma RSH tayini

Antioksidan kapasitenin göstergesi olan plazma total sülfidril gruplarının (RSH) tayini, spektrofotometrik yöntemle yapıldı [123]. Kullanılan solüsyonlar 0,1 M potasyum fosfat tamponu içinde (pH:7) 10 m M DTNB, 100 mM Tris-HCl (pH:8.2), %1 SDS-2 mM EDTA içeren karışım. 500 µL numuneye 1 mL Tris-SDS-EDTA karışımı eklendi. 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra 5 dakika boyunca 10000 rpm’de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatana 40 µL DTNB eklendi. 20 dakika 37°C’de bekletildikten sonra ELISA okuyucusunda 412 nm dalga boyunda okundu.

3.6.3. Plazma Total NOx tayini

Plazma nitrit ve nitrat toplamı olan NOx tayininde modifiye Griess yöntemi kullanıldı [124]. Standart olarak deiyonize su ile hazırlanmış sodyum nitratın (NaNO_3) 0-50 µM dilüsyonları kullanıldı. 0.3 N NaOH 1.2 gr NaOH üzerine deiyonize su eklenerek 100 ml’ye tamamlandı. %10’luk ZnSO_4 10 gr ZnSO_4 üzerine deiyonize su eklenerek 100 ml’ye tamamlandı. VaCl_3 0.4 gr VaCl_3 ’e 4.2 ml HCl eklendi ve bu karışım deiyonize suyla 50 ml’ye tamamlandı. Sülfanolid 2 gr sülfanolid 13.6 ml HCl eklendi ve bu karışım deiyonize suyla 100 ml’ye tamamlandı. -NEDD (N-(1-naphtyl) ethylenediamide dihydrochloride) 0.1 gr NEDD’in üzerine deiyonize su eklenerek 100 ml’ye tamamlandı. 100 µL plazmaya 100 µL 0.3 M NaOH eklenerek oda ısısında 5 dakika süreyle inkübe edildi. Bu karışıma 100 µL %10’luk ZnSO_4 eklendi ve vortekslendi. Elde edilen karışım +4 °C’de 14000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra elde edilen süpernatanın her birinden 100 µL alınarak 96 çukurlu ELISA plağı üzerine yerleştirildi. Numunelere eş hacimde standart solüsyonlardan da çift tekrar olacak şekilde plağa yerleştirildi. Tüm örnekler ve standart solüsyonlara 100 µL VaCl_3 , ardından 50 µL sülfanolid ve 50 µL NEDD eklendi. Plak 37°C’de 30 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda ELISA okuyucusunda 540 nm dalga boyunda okundu.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Bütün değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. Elde edilen değerler Anova varyans analizi (one-way anova) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir (SPSS 16.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, USA). $p < 0,05$ değeri ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Hiperglisemik ratlardan oluşan tedavisiz ve tedavili gruplara ait yaraların morfolojik görüntüleri ve günlere bağlı değişimleri, alınan kan örnekleri Resim 4.1, 4.2 ve 4.3'te verilmiştir.



Resim 4.1. Hiperglisemik 3 günlük tedavisiz ve bFGF 3 gün tedavili yaraların morfolojik görüntüsü



Resim 4.2. Hiperglisemik 7 günlük tedavisiz ve bFGF 7 gün tedavili yaraların morfolojik görüntüsü



Resim 4.3. Kan örneklerinin alınması

Hiperglisemik ratlarda kontrol grubu, tedavili ve tedavisiz gruplar oksidatif parametreler olan TBARS, RSH ve NOx seviyelerine ait bulgular Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Hiperglisemik ratlarda serum TBARS, RSH ve NOx düzeyleri

Gruplar	TBARS (nmol/mL)	RSH (nmol/mL)	NOx (μmol/L)
Kontrol (n=6)	3,12 ± 0,56	135,43 ± 28,28	180,24 ± 9,95
Tedavisiz (n=12)	3 Gün (n=6)	183,21 ± 3,4	121,92 ± 14,21*
	7 gün (n=6)	152,88 ± 14,38 ^a	92,68 ± 6,42*
Tedavili (n=12)	3 Gün (n=6)	128,65 ± 6,06	173,87 ± 6,02*
	7 gün (n=6)	123,79 ± 7,76 ^{b,c}	151,22 ± 23,95*

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

a: p<0,05: 3 günlük tedavisiz grup ile 7 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

b: p<0,05: 3 günlük tedavili grup ile 7 günlük tedavili grup karşılaştırıldığında

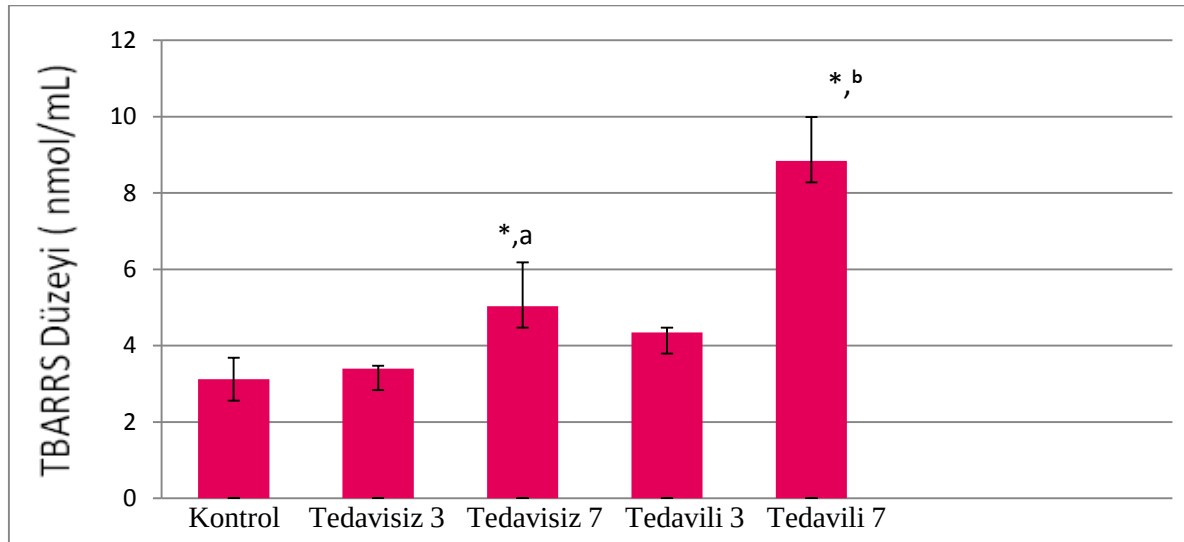
c: p<0,05: 7 günlük tedavisiz grup ile 7 günlük tedavili grup karşılaştırıldığında

4.1. Hiperglisemik Ratlarda Serum TBARS Düzeyleri

7 günlük tedavisiz ve tedavili gruplar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı olarak artış gözlemlenmiştir($p<0,05$)(Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

bFGF uygulaması yapılmış hiperglisemik ratlarda serum TBARS seviyeleri 7.günde 3.güne oranla istatistiksel olarak artmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

bFGF'in lipid peroksidasyonundaki etkisi hiperglisemik ratlarda TBARS düzeyinde gözlenmemiştir. Bunun nedeni diyabete bağlı olarak artan oksidatif stres gösterilebilir. Araştırmamızda diyabetin olumsuz etkisi ile bFGF uygulaması doz olarak hiperglisemik ratlardaki serum lipid peroksidasyonunu ortadan kaldıramamıştır. Yapılan çalışmalarda diyabetle serbest radikal arasında güçlü bir bağ kurulması nedeniyle serbest radikale karşı bFGF uygulamasının daha uygun dozda yapılması gerektiği söylenebilir. Wei ve ark (2009) araştırmalarında FGF ailesinin oksidatif strese bağlı durumlarda antioksidan özelliği gösterdiğini vurgulamıştır [65]. Deneyimizde tedavili 7 günlük gruptaki TBARS seviyelerinin yüksek olması serumda antioksidan etki gösteremediğini söyleyebiliriz.



* $p<0,05$ Kontrol grubu ile kıyaslandığında

a $p<0,05$ 3 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

b $p<0,05$ 3 günlük tedavili grup karşılaştırıldığında

c $p<0,05$ 7 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

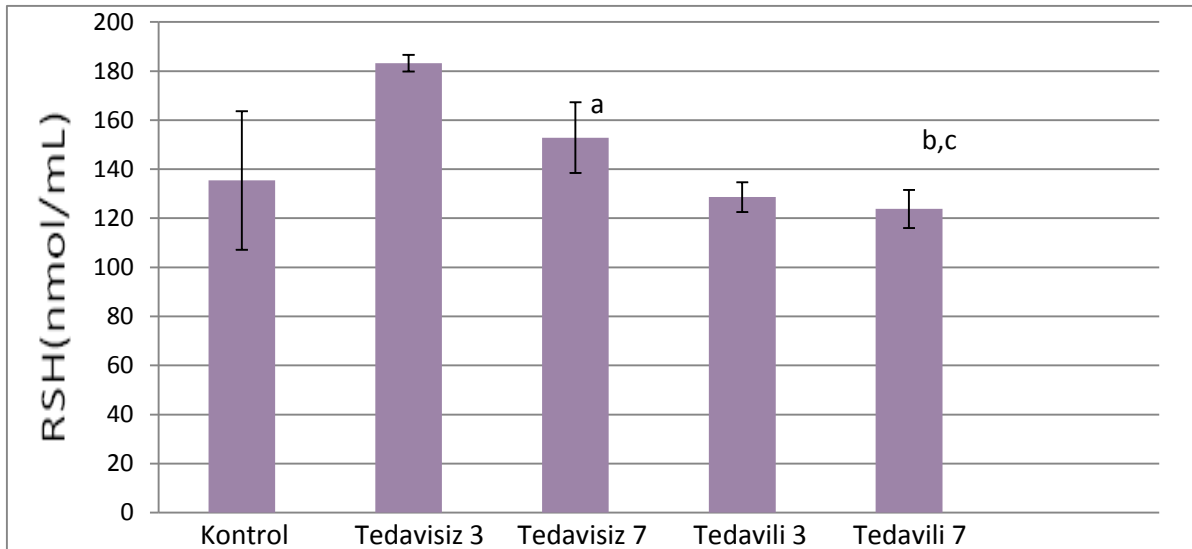
Şekil 4.1 Hiperglisemik ratlarda serum TBARS (nmol/mL) düzeyleri

4.2. Hiperglisemik Ratlarda Serum RSH Düzeyleri

bFGF uygulaması yapılmış ratların 7.günü ile tedavisiz grubun 7.günü serum RSH düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir($p<0,05$)(Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2).

bFGF uygulaması yapılmış ratlarda RSH düzeyleri 3.gün ile 7.gün ile kıyaslandığında azalmıştır.($p<0,05$) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2).

Tedavili diyabet grupların tedavisiz diyabet gruplarına göre RSH düzeylerindeki azalma plazma proteinlerinin özellikle serum albumin yapısındaki serbest sülfidril grupları nedeniyle bFGF'ye karşı hassas olabileceği yönündedir. bFGF'nin moleküler yapısı diyabetle artan oksidatif strese pozitif etki yapamamıştır.



* $p<0,05$ Kontrol grubu ile kıyaslandığında

a $p<0,05$ 3 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

b $p<0,05$ 3 günlük tedavi grup karşılaştırıldığında

c $p<0,05$ 7 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

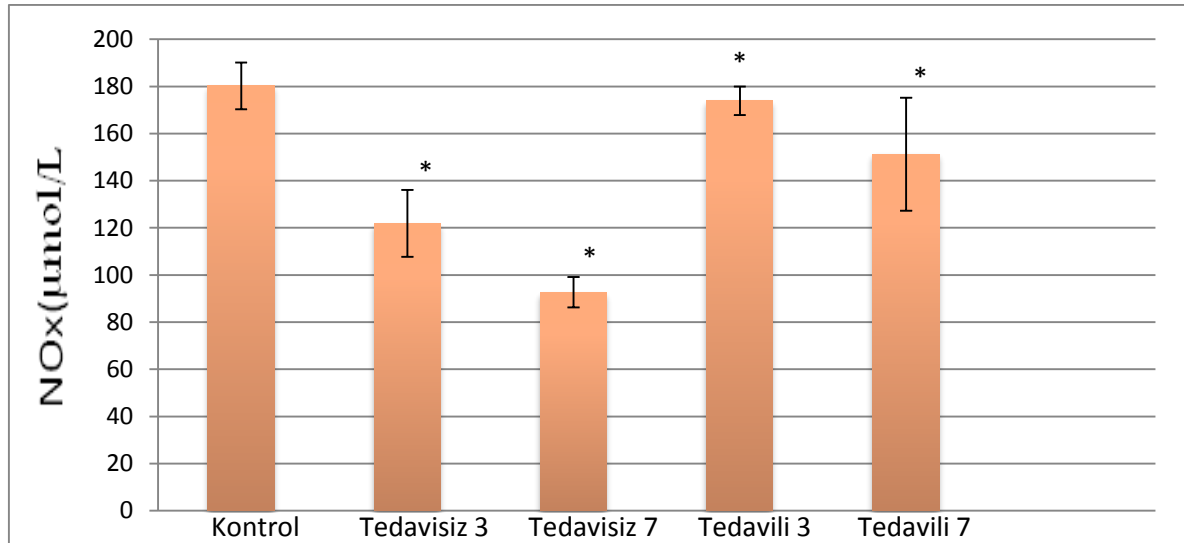
Şekil 4.2. Hiperglisemik ratlarda serum RSH (nmol/mL) düzeyleri

4.3. Hiperglisemik Ratlarda Serum NOx Düzeyleri

Tüm gruplar kontrolle kıyaslandığında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir($p<0,05$)(Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3).

Hiperglisemik bFGF uygulanan ratlarda yara iyileşmesinin 3. günü ile tedavisiz grubun aynı günündeki NOx düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3).

bFGF uygulanan hiperglisemik ratlarda nitrik oksit konsantrasyonunun artması yara iyileşmesinin inflamasyon fazında artmış lökosit aktivasyonu ile lökositlerin damar dışına çıkışını engelleyici etkisi ile açıklanabilir. Bunun da yara iyileşmesi sürecinde endotelial fonksiyonların düzenlenmesine yardımcı olabileceği söylenebilir. Uyguladığımız bFGF tedavisi ile nitrik oksit düzeyleri artmıştır.



* $p<0,05$ Kontrol grubu ile kıyaslandığında

a $p<0,05$ 3 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

b $p<0,05$ 3 günlük tedavili grup karşılaştırıldığında

c $p<0,05$ 7 günlük tedavisiz grup karşılaştırıldığında

Şekil 4.3. Hiperglisemik ratlarda NOx (µmol/L) Düzeyleri serum düzeyleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dokuda oluşan hasarın, kaybın veya doku devamlılığındaki bozulmanın onarılması organizmanın en önemli işlevlerinden birisidir. Bu onarma işlemin amacı hasarlı organın fonksiyonunun ve doku bütünlüğünün sağlanmasıdır [1]. Hasarlı dokunun iyileşmesi düzenli, sıralı hücrel ve biyokimyasal olaylar zinciri ile sağlanır [2,3].

Yara iyileşmesi doku restorasyonunu amaçlayan, evrimsel olarak korunan karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşmesi süreci birbirinden ayrı ancak iç içe geçmiş inflamasyon, hücrel proliferasyon ve olgunlaşma ve yeniden şekillenme (remodelling) aşamalarını kapsar [4,5]. Her bir basamak; endojen ve eksojen faktör tarafından kontrol edilen bir dizi olayın bütünleşmesi ile gerçekleşir. Bu süreç büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler tarafından düzenlenmektedir [6]. İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotelial büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü (FGF) yara iyileşmesinde önemli rol oynayan büyüme faktörlerindendir [7]. Doku geriliminin az olduğu yara iyileşmesi kısa sürede gerçekleşirken, radyoterapi ve kemoterapi uygulamalarında, genetik ve immunolojik bozukluklarda, diyabetes mellitus'ta, steroid kullanımı sırasında gecikmektedir [8-10].

Diabetes mellitus (DM), genetik, çevresel faktörler ve yaşam tarzı değişikliklerinin etkileşimi nedeniyle insülin salgılanması, insülin etkisi veya her ikisinde meydana gelen fonksiyonel eksikliklerden kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır [11]. Diyabette inflamasyon, anjiyogenezis ve kollajen sentezi bozulur. Yara bölgesindeki kan dolaşımı diyabetin anjiyopati ve nöropatik etkilerinden negatif yönde etkilenir. Diyabet ve komplikasyonlarının oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtta bir artışa sebep olduğu bilinmektedir. Gecikmiş yara iyileşmesi hiperglisemi ile uyarılan bir inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir ve kan glikoz seviyelerinin, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın seçici modülasyonu yara iyileşmesindeki etkisi diyetlerine antioksidan takviyesi ile olumlu olabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik yara; yapılan hayvan deneylerine göre yara iyileşme sürecinde bir bozukluk ile karakterize edilir, özellikle inflamatuvar ve proliferatif fazlar, patolojik anjiyogenez ve yara iyileşmesi gerilme mukavemetinde önemli bir düşüş

gözlenmiştir. Diyabet, lenfositlerin apoptosisini artırır ve ROT üretimi artar, ayrıca apoptozun sinyal yolağını da uyarır [16,17].

Büyüme faktörleri hücrelerin büyümelerini, farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyaran polipeptit yapılı moleküllerdir [18,19]. Kimyasal ileti moleküllerinden biri olup hedef hücrelerin yüzeylerinde bulunan reseptörlere bağlandıktan sonra protein kinazları aktive ederler. Aktifleşen protein kinazlar ile hücre içi sinyal yolu başlar. Büyüme faktörleri hücreleri farklı yollarla ve çeşitli şekillerde etkileyebilmektedir. Bu faktörler hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, migrasyonu artırıcı ya da azaltıcı yönde etkileyebilirler [20].

Son yıllarda yapılan çalışmalar FGF'nin 28 üyeden oluşan büyük bir aile olduğunu göstermiştir. Zebra balıklarından fare ve insana kadar uzanan birçok hayvan türünde bulunan bFGF güçlü heparin afinitesine sahip 140 zincirlik aminoasit dizisi ile yara iyileşmesi üzerinde etkilidir [21, 22]. Memeliler filogeniye ve sekans homolojisine dayanan altı ayrı alt familya halinde gruplandırılmış 18 FGF tipini içerirler (FGF1,FGF10,FGF16,FGF23). FGF'ler benzer bir iç çekirdeği paylaşır ve hem heparin hem de fibroblast büyüme faktörü reseptörleri için karakteristik olarak yüksek bağlanma afinitesine sahiptirler [23]. FGFler keratinositler, fibroblastlar, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, kondrositler, mast hücreleri vasıtasıyla üretilir [3]. İn vivo ve in vitro olarak mitogeneze, hücresel göçte, farklılaşma ve anjiogeneze biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Endotelial hücreler FGF'yi hem sentezleme hem de yanıt verebilme özelliğine sahiptir [24]. bFGF sıklıkla klinik olarak kullanıldığı; kıkırdığın, deri, kornea, kulak zarında ve tükürük bezlerinde yara iyileşmesinde rol oynadığı vurgulanmıştır [25].

bFGF'nin cilt ülserlerini tedavi etmek için kullanıldığı belirten birçok çalışma vardır. Bu çalışmalar yara iyileşmesindeki uyarıcı etkisine ve skar oluşumu üzerindeki stimüle edici özelliğine dikkat çekmektedir [125].

Serbest radikaller, oksidatif reaksiyonlar neticesinde lipid, protein, nükleik asit gibi bileşikler etkilemekte ve çeşitli biyolojik soruna neden olmaktadır [126]. Oksidatif denge serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı arasındaki denge olarak nitelendirilmektedir. Bu denge sayesinde organizma serbest radikallerden etkilenmemektedir. Radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir

düşme gözlemlendiğinde denge bozulur. Meydana gelen oksidatif stresle antioksidanların etkisi azalabilmekte ve bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır [106].

bFGF'in oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı ve meydana gelen bu hasarın bastırılmasında önemli rol oynadığı söylenebilir.

Bu çalışmada hiperglisemik ratlarda oluşturulan dorsalateral kesi yaralarına topikal uygulanan bFGF'nin serum oksidatif parametreleri üzerine zamana bağlı etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehitin belirlenmesi için, TBARS seviyesi ölçümü yapılmaktadır.

Çetin ve ark (2004) yaptığı bir çalışmada bFGF'nin yara iyileşmesinde inflamatuvar fazda etkili olan solunumsal patlama ile ortaya çıkan serbest radikaller üzerine süpürücü etki gösterdiğine dikkat çekmişlerdir [73].

Çalışmamızda; hiperglisemik ratlarda 7 günlük tedavisiz ve tedavi grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı olarak artış gözlemlenmiştir ($p<0,05$). bFGF uygulaması yapılmış hiperglisemik ratlarda serum TBARS seviyeleri 7.günde 3.güne oranla istatistiksel olarak artmıştır ($p<0,05$). Bunun nedeni diyabete bağlı olarak artan oksidatif stres gösterilebilir. Diyabetik komplikasyonlar ile lipit peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koyan birçok çalışma vardır. Yapılan çalışmalarda, antioksidan uygulamaların plazma antioksidan düzeylerini kayda değer derecede artırdığı belirtilmiştir [127]. Araştırmamızda diyabetin olumsuz etkisi ile bFGF uygulaması doz olarak hiperglisemik ratlardaki serum lipit peroksidasyonunu ortadan kaldıramamıştır. Yapılan çalışmalarda diyabetle serbest radikal arasında güçlü bir bağ kurulması nedeniyle serbest radikale karşı bFGF uygulamasının daha uygun dozda yapılması gerektiği söylenebilir.

Wei ve ark (2009) araştırmalarında FGF ailesinin oksidatif strese bağlı durumlarda antioksidan özelliği gösterdiğini vurgulamıştır [73].

Vücutta serbest radikal hasarına karşı birçok aşamada koruyucu görev yapan antioksidan sistemler vardır. Antioksidanlar serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresten olumsuz

etkilenir. Serbest radikallerin etkisini önlemek için kullanılan antioksidanlar özellikle tiyol grupları etkileşimler nedeniyle plazma ve doku düzeyini koruyamamaktadır [121].

Tüm plazma -SH grupları proteinler ile ilişkilidir. Artan oksidatif stresle beraber plazma ve membranlarda bulunan -SH grupları serbest radikal etkisi ile okside olmakta ve indirgenmiş formunda azalma tespit edilemektedir. Okside haldeki tiyol gruplarının tekrar indirgenmiş hale gelmesi ve oksidatif hasarda kullanılması için GSH gereklidir. GSH oksidatif stresten etkilenen tiyol gruplarını etkisiz hale getirirken yetersiz kalmaktadır [121,122].

Yapılan çalışmalarda genellikle diyabetli kişilerde RSH düzeylerinin normal bireylere göre anlamlı şekilde düşük olduğu gösterilmiştir [127]. Çalışmamızda hiperglisemik ratların antioksidan kapasitenin göstergesi olan plazma total sülfidril gruplarının (RSH) düzeyleri bFGF uygulaması yapılmış ratların 7.günü ile tedavisiz grubun 7.günü serum RSH düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir($p<0,05$). bFGF uygulaması yapılmış ratlarda RSH düzeyleri 3.gün ile 7.gün ile kıyaslandığında azalmıştır.($p<0,05$). Tedavili diyabet grupların tedavisiz diyabet gruplarına göre RSH düzeylerindeki azalma plazma proteinlerinin özellikle serum albumin yapısındaki serbest sülfidril grupları nedeniyle bFGF'ye karşı hassas olabileceği yönündedir. bFGF'nin moleküler yapısı diyabetle artan oksidatif strese pozitif etki yapamamıştır.

NO endotel kaynaklı vazodilatör bir ajan olup kan basıncının düşürülmesinde etkin rol oynar [128]. Yara iyileşmesi sürecindeki önemli moleküllerden biridir. Fizyolojik dozlarda koruyucu etkisi varken yüksek seviyelerde sitotoksik etki gösterebilmektedir [128]. NO, kanda hemoglobinin Hem grubu ile etkileşerek hızlı bir şekilde nitrit ve nitrata metabolize olur. NO ayrıca, hem ve demir içeren diğer moleküller ile (örneğin DNA) ve proteinlerin tiyol (- SH) grupları ile de reaksiyona girer [114].

Hiperglisemik bFGF uygulanan ratlarda yara iyileşmesinin 3. günü ile tedavisiz grubun aynı günündeki NOx düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,05$). Hiperglisemik ratlarda yara iyileşmesinin inflamasyon fazında artmış lökosit aktivasyonu ile lökositlerin damar dışına çıkışını engelleyici etkisinden dolayı NO üretimi artışı olmuştur. Diyabette görülen endotel fonksiyonların bozukluklarından tartışmalı olmakla birlikte endoteldeki nitrit oksit üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır [7]. Fakat

diyabette NO' nun artmış olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [127]. Uyguladığımız bFGF tedavisi ile nitrik oksit düzeyleri artmıştır. Kontrol grubu ile diğer tüm gruplar kıyaslandığında anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Topikal bFGF uygulaması NOx düzeylerini azaltmış nitrit oksit sentaz enzimi baskılanmıştır. Bu bilgi ışığında diyabetli ratlarda bFGF uygulaması sistemik anlamda yara iyileşmesine katkı sağlamıştır.

Tüm bu bilgiler değerlendirildiğinde çalışmamız hiperglisemik ratlarda oluşturulan dorsolateral kesi yaralarına uygulanan bFGF' nin serum düzeyleri oksidatif olaylar üzerine düzenleyici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu etkinin günlere, yara iyileşmesinin evrelerine ve uygulanan doza bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir. Sonraki çalışmalarda diyabetik yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olan bFGF 'nin farklı dozları ve farklı tedavi süreleri kullanılarak oksidatif olaylar üzerindeki etkisi ayrıntılı olarak araştırılabilir.

KAYNAKLAR

1. Yüceyar, S. (2008). Cerrahi Yaraların Takip ve Tedavisi, *İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, İstanbul. 67, 17-24.
2. Gerald, M.C., Diane, R.K., David, J.M., David, E.P., Roger, R. and Martin, C. (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair and Regeneration*, 2(2), 165–170.
3. Barrientos, S., Brem, H., Canic, M.C., Golinko., M.S. and Stojadinovic, O. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585–601.
4. Karasu, A., Bakır, B. (2008). Yara ve Yara İyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14(1), 36-43.
5. Taşır, S. (2007). *Ekzojen epidermal büyüme faktörü'nün tükürük bezi oksidan olaylarına zaman bağımlı etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
6. Takayama, Y. and Aoki, R. (2012). Roles of lactoferrin on skin wound healing. *Biochemistry and Cell Biology*, 90(3), 497-503.
7. Chin, G. A., Diegelmann, R. F., Schultz, G. S. (2005). Cellular and molecular regulation of wound healing. *Basic and Clinical Dermatology*, 17-37.
8. Orhun, H., Kurt, N. (2003). *Akut ve Kronik Yara Bakımı*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 34-47.
9. Vidinsky, B., Gál, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, L., Bobrov, N., Sabo, J. (2006). Histological Study of the First Seven Days of Skin Wound Healing in Rats. *Acta Veterinaria Brno*, 75, 197-202.
10. Broughton, II, G., Janis, J. E. and Attinger, C. E. (2006). Wound healing: an overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(75), 1e-S.
11. Özler, M., Şimşek, K., Topal, T., Öter, Ş. ve Korkmaz, A. (2010). Pinealektomili Ratlarda Yara İyileşmesi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 52, 181-184.
12. Schäfer, M., Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacological Research*, 58(2), 165-71.
13. Aydoğan, Ü., Akbulut, H. ve Doğaner, Y. Ç. (2010). Diyabetik Ayak. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 9(4), 375-382.
14. Aslan, D., Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E. Y., (2006). *İnsan Biyokimyası* (İkinci Baskı), Ankara: Palme Yayıncılık. 691-699, 714.

15. Pitocco, D., Zaccardi, F., Di Stasio, E., Romitelli, F., Santini, S. A., Zuppi, C., Ghirlanda, G. (2010). Oxidative stress, nitric oxide and diabetes. *The review of Diabetic Studies*, 7(1), 15-25.
16. Baynes, J. W., Thorpe, S. R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1), 1-9.
17. Dandona, P., Thusu, K., Cook, S., Snyder, B., Makowski, J., Armstrong, D. and Nicotera, T. (1996). Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *The Lancet*, 347(8999), 444-445.
18. Anusakthien, O. and Giannobile, W.V. (2002) Growth factor delivery to reengineer periodontal tissues. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 3, 129-139.
19. Jin Lee, S. (2000). Cytokine delivery and tissue engineering. *Yonsei Medical Journal*, 41(6), 704-719.
20. Shimono, M., Ishikawa, T., Ishikawa, H., Matsuzaki, H., Hashimoto, S. and Muramatsu, T. (2003). Regulatory mechanisms of periodontal regeneration. *Microscopy Research and Technique*, 60, 491-502.
21. Ornitz, D. M., Itoh, N. (2001). Fibroblast growth factors. *Genome Biology*, 2(3), 3005-1.
22. Casey-Sawicki, K., Zhang, M., Kim, S., Zhang, A., Zhang, S., Swarts, S., Vidyasagar, S., Zhang, L., Zhang, A., Okunieff, P. (2014). A Basic Fibroblast Growth Factor Analog for Protection and Mitigation against Acute Radiation Syndromes. *Health Physics*, 106(6), 704-712.
23. Teven, C. M., Farina, E. M., Rivas, J., Reid, R. R. (2014). Fibroblast growth factor (FGF) signaling in development and skeletal diseases. *Genes & Diseases*, 1(2), 199-213.
24. Yıldırım, A., Tunik, S., Çetin, Ç. ve Akkuş, M. (2009). Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGF) ve Kemik Morfogenetik Proteinlerin (Kmp) rolü. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 16(2), 135-140.
25. Kobayashi, F., Matsuzaka, K. and Inoue, T. (2015). The effect of basic fibroblast growth factor on regeneration in a surgical wound model of rat submandibular glands. *International Journal of Oral Science*, 8(1), 16-23.
26. İnternet: World Wide Wounds, Phases of repair in acute wound healing, URL:<http://www.worldwidewounds.com/2004/august/Enoch/images/enochfig1.jpg> Son Erişim Tarihi: 21.03.2019.
27. Clark, R.A.F. (2001). Fibrin and wound healing. *National Academy of Science*, 936, 355- 367.

28. Gökşen, S. (2014). *Diyabetik ratlarda topikal trombosit kökenli büyüme faktörü'nün yara dokusu oksidatif olayları üzerine etkisinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
29. Martin, P. and Leibovich, S.J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*, 15(11), 599-607.
30. Hackam, D. J. and Ford, H. R. (2002). Cellular, biochemical, and clinical aspects of wound healing. *Surgical Infections*, 23-35.
31. Çevikel, M. H., Özgün, H., Bolu, Ş., Gülay, H. (2005). *Temel ve Sistemik Cerrahi* (Birinci Cilt). İzmir: İzmir Güven Kitabevi, 227-238.
32. Kotil, T. (2006). *Deneyisel diyabetli sıçanlarda yara iyileşmesinin histopatolojik olarak incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
33. Arslan, M. K. ve Kurt, N. (2003). *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 9-33.
34. Trott, A. T. (1997). Cyanoacrylate tissue adhesives: an advance in wound care. *Jama*. 277(19), 1559-1560.
35. Harper, D., Young, A., McNaught, C.E. (2014). The physiology of wound healing. *Surgery*, 32(9), 445-450.
36. Guo, S. and DiPietro, L.A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229.
37. Falabella, A.F., Kirsner R.S. (Editors). (2005). *Wound Healing*, Boca Raton: Talyor & Francis, 17- 25.
38. Kuş, A.E. (2017). *Diyabetli Ratlarda Dorsolateral Eksizyonel Yaralara Uygulanan İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1'in Oksidatif Parametrelere Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi, Ankara.
39. Oral, B. (2009). *Deneyisel olarak diyabet oluşturulmuş ratlarda düşük molekül ağırlıklı heparin (enoksaparin) uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkisinin histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi*, Doktora Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
40. Nussler, A.K. and Billiar, T. (1993). Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide syntase. *Journal of Leukocyte Biology*, 54, 171-178.
41. Aksoy, H., Özakpınar, Ö.B. (2014). Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18, 153-158.
42. Stashak, T. S. (1991). *Equine Wound Management*, Pensylvania: Lea and Febiger Malvern, 1-15.

43. Beanes, S.R., Dang, C., Soo, C., Ting, K. (2003). Skin repair and scar formation: the central role of TGF- β . *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 5(21), 1-11.
44. Calvin, M. (1998). Cutaneous wound healing. *Wounds* 10(1), 12-32.
45. Stadelmann, W., Digenis, A., Tobin, G. (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*, 176, 26-38.
46. Kalay, Z. (2011). *Topikal EGF Uygulamasının Dorsolateral Eksizyonel Yaralarda Oksidan Olaylara Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
47. Orhun, H. ve Kurt, N. (2003). *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, 34-47.
48. Knighton, D., Hunt, T., Scheuenstuhl, H., Halliday, B., Werb, Z. and Banda, M. (1983). Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science*, 23(221), 1283-1285.
49. Lavan, F., Hunt, T. (1990). Oxygen and wound healing. *Clinics in Plastic Surgery*, 17(3), 463-472.
50. Shweiki, D., Itin, A., Soffer, D. and Keshet, E. (1992). Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 29(359), 843-845.
51. Regan, M.C., Barbul, A. (1994). The cellular biology of wound healing. *Wound Healing*, 3-17.
52. Stallmeyer, B., Kampfer, H., Kolb, N., Pfeilschifter, J., Frank, S. (1999). The function of nitric oxide in wound repair: inhibition of inducible nitric oxide-synthase severely impairs wound reepithelialization. *Journal of Investigative Dermatology*, 113(6), 1090-1098.
53. Singer, A. J., Clark, R. A. F., (2003). The Biology of Wound Healing, Lacerations and Acute Wounds an Evidence-Based Guide, Singer, A. J., Hollander, J. E., F. A. Davis Company, Philadelphia, 1-8.
54. Castelnovo, J., Sonmez, A.B. (2014). Applications of basic fibroblastic growth factor (FGF-2, bFGF) in dentistry, *Dental Traumatology*, 30(2), 107–111.
55. Orsted, H., Keast, D., Forest, L., Françoise, M. (2011). Basic Principles of Wound Healing, *Wound Care Canada*, 9(2), 4-12.
56. Myers, B. A. (2004). *Wound Management: Principles and Practice*, New Jersey: Prentice Hall, 9-36.
57. Eaglstein, W.H., Kirsner, R.S. (1993). The wound healing process, *Dermatologic Clinics*, 11(4), 629-640.

58. Carlson, M. A. (1997). Acute wound healing, *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 607-636.
59. Kasap, Ş. (2013). *Fare embriyonik kök hücrelerinden farklılaştırılan keratinositlerin diyabetik yara iyileşmesi üzerine etkisinin moleküler düzeyde analizi*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Plastik, Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir.
60. Köklü, K.A.H., Çankal U.D.A. (2013). Yara iyileşmesini etkileyen faktörler içerisinde beslenmenin yeri. *The Journal of Faculty of Dentistry of Atatürk University*, 7, 135-141.
61. Şenol, M. (1995). Yara İyileşmesi, *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, 5(1), 49-53.
62. Hess, C. T. (2011). Checklist for Factors Affecting Wound Healing, *Advances Skin Wound Care*, 24(4), 192.
63. Kaltalıoğlu, K. (2012). *Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü' nün Yara Dokusu Oksidatif Olayları Üzerine Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
64. Arab, A., Orakçı, V., Erbilin, M. ve Şahin, M. (1994). Yara iyileşmesi, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 1(2), 160- 166.
65. Trott, A. T. (1997). Cyanoacrylate tissue adhesives: an advance in wound care. *Jama*, 277(19), 1559-1560.
66. Ekmekçi, P., Bostancı, S. (2002). Yara iyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, 12, 114- 120.
67. Guo, S. and DiPietro, L. A. (2010). Factors Affecting Wound Healing, *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229.
68. Parsak, C. K., Sakman, G. and Çelik, Ü. (2007). Yara iyileşmesi, yara bakımı ve komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(2), 145-159.
69. Steenfos, H. H. (1994). Growth factors and wound healing, *Scandinavian Journal of Plastic Reconstructive*, 28(2), 95-105.
70. Dereka, X.E., Markopoulou, C.E. and Vrotsos, I.A. (2006). Role of growth factors on periodontal repair. *Growth Factors*, 24, 260-267.
71. Losi, P., Briganti, E., Errico, C., Lisella, A., Sanguinetti, E., Chiellini, F., Soldani, G. (2013). Fibrin-based scaffold incorporating VEGF and bFGF-loaded nanoparticles stimulates wound healing in diabetic mice. *Acta biomaterialia*, 13, 1742-61.
72. Clark, R.A.F., and Singer, S. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746.

73. Çetin, M. ve Çapan, Y. (2004). Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü ve Formülasyonlarında Yeni Yaklaşımlar, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 24(2), 107-124.
74. Hui, Q., Jin, Z., Li, X., Liu, C. and Wang, X. (2018). FGF Family: From Drug Development to Clinical Application. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1875.
75. Okabe, K., Hayashi, R., Aramaki-Hattori, N., Sakamoto, Y and K. Kishi, Wound Treatment Using Growth Factors. *Modern Plastic Surgery*, 108-112.
76. Aktaş, S. (2007). *İkincil kemikleşme merkezinin oluşumunda etkili faktörlerin immunohistokimyasal yöntemle incelenmesi*, Uzmanlık tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
77. Mori, S., Takada, Y. (2013). Crosstalk between Fibroblast Growth Factor (FGF) Receptor and Integrin through Direct Integrin Binding to FGF and Resulting Integrin-FGF-FGFR Ternary Complex Formation. *Medical Sciences*, 1(1), 20-36.
78. Yun, Y. R., Won, J. E., Jeon, E., Lee, S., Kang, W., Jo, H. and Kim, H. W. (2010). Fibroblast growth factors: biology, function and application for tissue regeneration. *Journal of tissue engineering*, 1(1), 218142.
79. İnternet: International Diabetes Federation. Diabetes Atlas. 2015. 7th edition. Chapter 3, GlobalPicture. URL:<https://idf.org/52-about-diabetes.html> Son Erişim Tarihi: 01.05.2019.
80. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, (2015). Türkiye ve dünyada mevcut durum. *Türkiye Diyabet Programı*, 9-16.
81. Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813.
82. Luft, R. and Minkowski, O. (1989). Discovery of the pancreatic origin of diabetes. *Diyabetologia*, 32(7), 399-401.
83. Yöner, A. (2011). *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*, İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 543-564.
84. Fiallo-Scharer, R., Eisenbarth, G.S. (2004). *Pediatric Endocrinology*, USA: Lippincott Williams and Wilkins, 411-426.
85. Kumar, V., Abbas, K. A., Aster, J. C. (2013). *Temel Patoloji* (çev. Tuzlalı S, Güllüoğlu M, Çevikbaş U.) (Dokuzuncu Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. (Eserin orijinali 2013 yılında yayımlandı), 741-766.

86. Tuomilehto, J., Lindström, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Hämäläinen, H., Ilanne-Parikka, P., Salminen, V. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*, 344(18), 1343-1350.
87. Ward, W.K, Beard, J.C., Porte, D. (1984). Pathophysiology of insulin secretion in non-insulindependent diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 7, 491-502.
88. Memişoğulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 30-39.
89. Xuan, Y. H., Huang, B. B., Tian, H. S., Chi, L. S., Duan, Y. M., Wang, X., Zhu, Z. X., Cai, W. H., Zhu, Y. T., Wei, T. M., Ye, H. B., Cong, W. T., and Jin, L. T. (2014). High-glucose inhibits human fibroblast cell migration in wound healing via repression of bFGF-regulating JNK phosphorylation. *PloS One*, 9(9).
90. Man, L. X., Park, J. C., Terry, M. J., Mason, J. M., Burrell, W. A., Liu, F., Kimball, B. Y., Moorji, S. M., Lee, J. A., Breitbart, A. S. (2005). Lentiviral Gene Therapy with Platelet-Derived Growth Factor B Sustains Accelerated Healing of Diabetic Wounds Over Time, *Annals of Plast Surgery*, 55(1), 81-6.
91. Bitar, M.S., Farook, T., Wahid, S., and Francis, M.S. (1999). Glucocorticoid-dependent impairment of wound healing in experimental diabetes amelioration by adrenalectomy and RU 486. *Journal of Surgical Research*, 82(2), 234-43.
92. Lerman, O.Z., Galiano, R.D., Armour, M., Levine, J.D., Gurtner, G.C. (2003). Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast. *The American Journal of Pathology*. 11, 63-7.
93. Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C. (2006). “Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres”, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(2), 51-56
94. Kuranel, E. (2012). *Plantago Lanceota Bitkisinin Yara İyileştirici Özelliklerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 15-16.
95. Broeckx, S.Y., Borenaa, B.M., Chiers, K., Duchateau, L., Martens, A., Meyer, E., Spaas, J.H. (2015). Regenerative Skin Wound Healing in Mammals: State-of-the-Art on Growth Factor and Stem Cell Based Treatments, *Cell Physiology Biochemistry*, 36(1), 1-23.
96. Uchi, H., Igarashi, A., Urabe, K., Koga, T., Nakayama, J., Kawamori, R., Tamaki, K., Hirakata, H., Ohura, T. and Furue, M. (2009). Clinical efficacy of basic fibroblast growth factor (bFGF) for diabetic ulcer, *European Journal of Dermatology*, 19(5), 461-8.
97. Greenhalgh, D. G., Sprugel, K. H., Murray, M. J., Ross, R. (1990). PDGF and FGF Stimulate Wound Healing in the Genetically Diabetic Mouse, *The American journal of pathology*, 136(6), 1235–1246.

98. Ackermann, M., Wolloscheck, T., Wellmann, A., Li, V. W., Li, W. W., Konerding, M. A. (2011). "Priming with a combination of proangiogenic growth factors enhances wound healing in streptozotocin-induced diabetes in mice. *European Surgical Research*, 47(2), 81-9.
99. Shi, H., Cheng, Y., Ye, J., Cai, P., Zhang, J., Li, R., Yang, Y., Wang, Z., Zhang, H., Lin, C., Lu, X., Jiang, L., Hu, A., Zhu, X., Zeng, Q., Fu, X., Li, X. and Xiao, J. (2015). bFGF Promotes the Migration of Human Dermal Fibroblasts under Diabetic Conditions through Reactive Oxygen Species Production via the PI3K/Akt-Rac1-JNK Pathways. *International Journal of Biological Sciences*, 11(7), 845-859.
100. Borena, B. M., Martens, A., Broeckx, S., Meyer, E., Chiers, K., Duchateau, L., Spaas, J. (2015). Regenerative skin wound healing in mammals : state-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(1), 1-23.
101. Ekici, E., Sağdıç, O. (2008). Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda*, 33(5), 251-260.
102. Erbaş, M., Şekerci, H. (2011). Serbest radikallerin önemi ve gıda işleme sırasında oluşumu. *Gıda*, 36 (6), 349-356.
103. İnternet: Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. (2009). URL: <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf> adresinden 15.03.2019 tarihinde alınmıştır.
104. Gürgöze, S.Y., Şahin, T., Durak, M.H. (2007). Memelilerde ortalama yaşam süresi ve yaşlanma sürecinde serbest radikallerin rolü. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 33(1), 43-49.
105. Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15 (1-2), 91-96.
106. Altan, N., Dinçel, A. S., and Koca, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, *Türkiye Biyokimya Dergisi*, 31(2), 51-56.
107. Ögüt, S., Atay, E. (2012). Yaşlılık ve oksidatif stres. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(2), 68-74.
108. Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A., Öz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats, *Toxicology*, 36(1), 71-76.
109. Miranda, K. M., Espey, M. G., and Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite, *Nitric oxide*, 5(1), 62-71.
110. Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A. (2001). *Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi*. Ankara: GATA Basımevi, 1-62.

111. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 49(3), 577-587.
112. Konukoğlu, D. (Editör). (2004). *Tıbbi Biyokimya* (İkinci baskı). İstanbul: Tumer, 267-272.
113. Davies, K.J., Houk, K.N., Foote, C.S., Fukuto, J.M., Ignarro, L.J., Houk, K.N., Squadrito, G.L. (2006). Free radical biology and medicine: it's a gas, man! . *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291(3), 491-511.
114. Karabağ, F. (2010). *Deneyisel Olarak Hipertiroidizm Oluşturulan Ratlarda Kafeik Asit Fenetil Ester'in Plazma Homosistein, Asimetrik Dimetil Arjinin, Nitrik Oksit ve Lipid Profili Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Afyonkarahisar, 16-17.
115. Musalma, M., Fairuz, A. H., Gapor, M.T., Ngah, W.Z. (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 Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 11, 448-451.
116. Sözman, E.Y., Onat, T., Emerk, K. (2006). *İnsan Biyokimyası*, Ankara: Palme Yayıncılık, 749-758.
117. Lobmann, R., Ambrosch, A., Schultz, G., Waldmann, K., Schiweck, S., and Lehnert, H. (2002). Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients, *Diabetologia*, 45(7), 1011-6.
118. Baker, E. A., Kumar, S., Melling, A. C., Whetter, D., and Leaper, D. J. (2008). Temporal and quantitative profiles of growth factors and metalloproteinases in acute wound fluid after mastectomy, *Wound Repair Regen*, 16(1), 95-101.
119. Liu, Y., Min, D., Bolton, T., Nubé, V., Twigg, S. M., Yue, D. K., McLennan, S. V. (2009). Increased Matrix Metalloproteinase-9 Predicts Poor Wound Healing in Diabetic Foot Ulcers, *Diabetes Care*, 32(1), 117-9.
120. Özler, M., Şimşek, K., Topal, T., Öter, Ş., Korkmaz, A. (2010). Pinealektomili Ratlarda Yara İyileşmesi, *Gülhane Tıp Dergisi*, 52, 181-184.
121. Yazıcı, A. E., Paşaoğlu, H., Yücel, D., Çelebi, N., Bakır, F., Özkaya, M. (2002). Tip II Diabetes Mellituslu Hastalarda Plazma Total Tiyo ve Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22(5), 487-492.
122. Hu, M. L. (1994). Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *In Methods in Enzymology*, 233, 380-385.
123. Kurtel, H., Granger, D. N., Tso, P., Grisham, M. B. (1992). Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 263(4), 573-578.

- 124.Miranda, K. M., Espey, M. G., Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric oxide*, 5(1), 62-71.
- 125.K. Okabe, R. Hayashi, N. Aramaki-Hattori, Y. Sakamoto, K. Kishi. (2013). Wound Treatment Using Growth Factors, *Modern Plastic Surgery*, 108-112.
- 126.Aydemir, B., Sarı, E.K. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi, *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2), 56-60.
- 127.Memişoğulları, R., (2006). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
- 128.Afrasyap, L., Oztürk, G., Erbaş, D. (2004). Serum levels of nitric oxide end products and interactions with lipoproteins in patients with coronary artery disease. *Clinical laboratory*, 50(11-12), 703-707.
- 129.Habib, S., Ali, A. (2011). Biochemistry of Nitric Oxide, *Indian Journal of Clinic Biochemistry*, 26, 3-17.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : OĞUZ, Esra
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 16.09.1989, Yozgat
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 542 284 58 33
 e-mail : esraoguz8916@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2014
Lise	Özel Nene Hatun Anadolu Lisesi	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-2019	Ticaret Odası Ortaokulu	Fen Bilimleri Öğretmenliği
2016-2017	Emin Evim Şirketi	Müşteri Danışmanlığı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Tort, S., Oğuz, E., Özmen, T., Tuğcu Demiröz, F., Coşkun Cevher, Ş., Acartürk, F. (2016). *Effect of doxycycline/collagen coaxial nanofibers on oxidative stress in the wound healing I. malondialdehyde and glutathione levels*. 6th World Congress on Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels, Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi.
2. Oğuz, E., Coşkun Cevher, Ş. (2019). *Fibroblast Büyüme Faktör Uygulamasının Bazı Serum Oksidatif Parametreleri Üzerine Etkisi*. 1st International Ahi Evran Medicine & Health Science Congress, Kırşehir. Ahi Evran Üniversitesi. (Poster Bildirimi).



GAZİ GELECEKTİR...