



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA PROGRAMI

**LAPAROTOMİ UYGULANAN SIÇANLARDA CERRAHİ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE KALKON-İMİD TÜREVİNİN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan

Leyla AYDOĞAN

Danışman

Doç. Dr. Köksal DEVECİ

TOKAT - 2024



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA PROGRAMI

**LAPAROTOMİ UYGULANAN SIÇANLARDA CERRAHİ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE KALKON-İMİD TÜREVİNİN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. Leyla AYDOĞAN

Danışman: Doç. Dr. Köksal DEVECİ

TOKAT -2024

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Köksal DEVECİ danışmanlığında hazırlamış olduğum “Laparotomi Uygulanan Sıçanlarda Cerrahi Yara İyileşmesi Üzerine Kalkon İmid Türevinin Etkisinin Araştırılması” adlı Doktora tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

28/08/2024

Leyla AYDOĞAN

JÜRİ KABUL VE ONAY SAYFASI

Leyla AYDOĞAN tarafından hazırlanan “**Laparotomi Uygulanan Sıçanlarda Cerrahi Yara İyileşmesi Üzerine Kalkon İmid Türevinin Etkisinin Araştırılması**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı (28.03.2024) tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Prof. Dr. Sevtap Bakır

.....

Üye : Prof. Dr. Hüseyin Aydın

.....

Üye : Doç. Dr. Köksal Deveci (Danışman)

.....

Üye : Doç. Dr. Muzaffer Katar

.....

Üye : Doç. Dr. Zeliha Cansel Özmen

.....

ONAY

...../...../.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Biyokimya Bölümü tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ile Deneysel Tıp Araştırma Birimi (DETAB) Laboratuvarında, Organik Kimya Sentez Laboratuvarında sentezlenmiş olan kalkon-imid türevinin laparotomi uygulanan sıçanlarda cerrahi yara iyileşmesi üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmaya katkılarından dolayı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (Proje No: 2019/52) ayrıca teşekkür ederim.

TEŞEKKÜR

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirdiğim doktora eğitimim süresince bilgi birikimlerini, tecrübe ve öngörülerini, anlayış ve sabır içinde benden esirgemeyen, danışman hocam Doç. Dr. Köksal DEVECİ başta olmak üzere tez izleme komitemde yer alan ve değerli görüşleriyle doktora çalışmama katkı sağlayan sayın Doç. Dr. Zeliha Cansel ÖZMEN'e ve Doç. Dr. Muzaffer KATAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda kullandığım organik maddenin sentez aşamasında ve tez yazım aşamasında hem bilimsel hem de manevi olarak her zaman katkı ve desteğini gördüğüm değerli hocam Fen Edebiyat Fakültesi, Organik Kimya AD. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Meliha Burcu GÜRDERE'ye ve değerli hocalarım Prof. Dr. Mustafa CEYLAN'a, Prof. Dr. Yakup BUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında yardımcı olan Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nin saygıdeğer çalışanlarına, Genel Cerrahi AD. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet Fatih DAŞIRAN'a, Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya AD. Asistanları Dr. Ziya HOPA'ya ve Dr. Samet ÇAM'a, Fizyoloji AD. Öğr. Gör. Dr. Şeyma ÖZSOY'a, Histoloji ve Emb. AD. Dr. Öğr. Üyesi Seda OCAKLI'ya ve Tıbbi Biyokimya laboratuvarının değerli çalışanlarına, histopatolojik inceleme aşamasında desteklerini esirgemeyen Patoloji AD. Öğretim Üyesi Dr. Faik Alev DERESoy'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca motivasyon ve desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen aileme ve değerli arkadaşlarıma ayrıca teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Dr. Leyla AYDOĞAN

ÖZET

LAPAROTOMİ UYGULANAN SIÇANLARDA CERRAHİ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE KALKON-İMİD TÜREVİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Aydoğan, Leyla
Doktora, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Köksal Deveci
Ağustos 2024, xv + 89 sayfa

Yara iyileşmesi organizmanın travmatik bir hasar nedeni ile oluşan yarayı onarması için verdiği yanıtı denir. Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş olan Kalkon-imid türevinin laparotomi uygulanan sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışma için 48 adet sağlıklı erkek wistar albino sıçan kullanılmıştır. Deneyde kontrol grubuna herhangi bir deneysel işlem uygulanmamıştır. 1. ve 2. Şam grubuna %1 oranında DMSO IP yolla verilirken sıçanlar sırasıyla 7. ve 14. günde sakrifiye edilmiştir. Diğer gruplarda batin duvarı laparotomi ile açılmış ve 25-50 mg/kg-kalkon uygulanmış ve 7. ve 14. günün sonunda sakrifiye edilmiştir. Sıçanların serumlarında Toplam Antioksidan Seviyesinin ve Toplam Oksidan Seviyesinin ölçümü yapılmıştır. Periton dokusundan MDA düzeyi, SOD ve GSH-Px enzim aktivitesi çalışılmıştır. IGF-I, EGF, FGF, TGF- β doku ve serum düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Doku örnekleri immünohistokimyasal boyama yöntemi ile histolojik olarak değerlendirilmiştir. Grupların serum protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin karşılaştırdığımızda; grup-2 ve grup-3 GSH-PX serum düzeylerinin grup-4 GSH-PX serum düzeylerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (sırasıyla: $p<0.001$ ve $p<0.05$). Doku protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin karşılaştırıldığında; grup 2 ve grup 3 doku MDA değerlerinin Şam-2 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulundu ($P<0.05$). Grup-4 doku GSH-PX değerleri Şam-2 ve grup-2 doku GSH-PX değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.001$). Grupların doku TGF- β , IGF, FGF ve EGF düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0.05$). Sonuç olarak yara iyileşmesinde kalkon uygulamasının oksidatif stres ve sistemik inflamasyonu arttırmakta ve serbest oksijen radikallerinin aşırı oluşumuna cevap olarak antioksidan kapasitede önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Kalkon türevinin laparotomi uygulanan sıçanlarda erken dönem yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve antioksidan kapasiteyi artırarak olumlu yönde değiştirdiği bulundu.

Anahtar Kelimeler: Yara iyileşmesi, Kalkon, Oksidatif Stres, ELISA

(*) Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2019/52).

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CHALCON-IMIDE DERIVATIVE ON SURGICAL WOUND HEALING IN RATS UNDERGOING LAPAROTOMY.

Aydogan, Leyla

Postgraduate, Department of Medical Biochemistry

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Köksal Deveci

August 2024, xv + 89 pages

Wound healing is the response of the organism to repair the wound caused by a traumatic injury. In this study, it was aimed to evaluate the effect of newly synthesized chalcone-imide derivative on wound healing in rats undergoing laparotomy. For this purpose, 48 healthy male wistar albino rats were used for the study. In the experiment, no experimental procedure was applied to the control group. The 1st and 2nd sham groups were given 1% DMSO by IP and the rats were sacrificed on the 7th and 14th days, respectively. In other groups, the abdominal wall was opened by laparotomy and 25-50 mg/kg-calcone was administered and sacrificed at the end of the 7th and 14th days. Total Antioxidant Level and Total Oxidant Level were measured in the serum of rats. MDA level, SOD and GSH-Px enzyme activity were studied from peritoneal tissue. Tissue and serum levels of IGF-I, EGF, FGF, TGF- β were determined by ELISA method. Tissue samples were evaluated histologically by immunohistochemical staining method. When we compare the serum protein MDA, SOD, GSH-PX levels of the groups; group-2 and group-3 GSH-PX serum levels were significantly higher than group-4 GSH-PX serum levels ($p<0.001$ and $p<0.05$) respectively. When the levels of tissue protein MDA, SOD, GSH-PX were compared; group 2 and group 3 tissue MDA values were found to be significantly lower than sham-2 group ($P<0.05$). Group-4 tissue GSH-PX values were found to be significantly lower than sham-2 and group-2 tissue GSH-PX values ($p<0.001$). A significant difference was found between the tissue TGF- β , IGF, FGF and EGF levels of the groups ($p<0.05$). As a result, chalcone application in wound healing increases oxidative stress and systemic inflammation and significant changes occur in antioxidant capacity in response to excessive formation of free oxygen radicals. It was found that chalcone derivative positively altered early wound healing in rats undergoing laparotomy by increasing growth factors and antioxidant capacity.

Key Words: Wound healing, Chalcone, Oxidative Stress, ELISA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME.....	iii
JÜRİ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iv
ÖNSÖZ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara İyileşmesi.....	3
2.2. Yara iyileşme Fazları	3
2.2.1. Hemostaz ve İnflamasyon Evresi	4
2.2.2. Proliferasyon Fazı (Kollajen Sentezi Fazı).....	6
2.2.3. Yeniden Şekillenme (Remodelizasyon) Fazı	7
2.3. Yara İyileşmesinin Moleküler Mekanizması	8
2.4. Geç Yara İyileşmesi	9
2.5. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	10
2.5.1. Serbest Radikaller.....	11
2.5.2. Hücrelerde ROS oluşumu.....	11
2.5.3. Malondialdehit (MDA).....	12
2.6. ROS' a Karşı Antioksidanlar ve Yara İyileşmesindeki Rollerini	12
2.6.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	13
2.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)	14
2.6.3. Glutasyon (GSH)	15
2.6.4. Toplam Antioksidan ve Oksidan Seviye Testleri.....	15
2.7. Sitokinler ve Yara İyileşmesindeki Rollerini	16
2.7.1. Transforme Edici Büyüme Faktör- β (TGF- β)	18
2.8. Büyüme Faktörleri ve Yara İyileşmesindeki Rollerini	18
2.8.1. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)	19
2.8.2. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)	21

2.8.3. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	21
2.9. Kalkonların Genel Yapısı ve Önemi	22
2.9.1. Kalkonların Doku Düzeyinde Etkileri	25
2.9.2. Kalkonların Farmokolojik Etkileri	26
3. MATERYAL VE METOD.....	29
3.1. Kullanılan Malzemeler.....	29
3.1.1. Kimyasal Maddeler	29
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	30
3.2. Kalkon-imid Sentezi.....	30
3.3. Hayvan Grupları.....	31
3.4. Cerrahi İşlemler.....	32
3.5. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması	33
3.6. Biyokimyasal İnceleme	34
3.6.1. Periton Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi	34
3.6.2. Doku Protein Miktarının Belirlenmesi	35
3.6.3. Malondialdehit Düzeylerinin Belirlenmesi	35
3.6.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	36
3.6.5. GlutatyonPeroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi	37
3.7. IGF-I, EGF, FGF, TGF- β Doku ve Serum Düzeylerinin ELISA Yöntemiyle Belirlenmesi	38
3.7.1. ELISA Ölçüm Yöntemi	38
3.8. Toplam Antioksidan Seviyesinin (TAS) ve Toplam Oksidan Seviyesinin (TOS) Ölçümü.....	42
3.9. Histolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme	42
3.9.1. İmmunohistokimyasal BoyamaYöntemi	42
3.10. İstatistik	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Deney Hayvanları.....	46
4.2. İmmunohistokimyasal Boyama Sonuçları	54
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	62
KAYNAKÇA.....	73
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2. 1. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinler	20
Tablo 3. 1. Hematoksilen ve Eozin Boyalı Preparatlarda Histopatolojik İnceleme İçin Kullanılan Semikantitatif Skolama Sistemi.....	44
Tablo 3. 2. Quickscore Hesaplanmasında Kullanılan Parametreler ve Semi Kantitatif Skolama Tablosu	45
Tablo 4. 1. Grupların Serum Protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin Karşılaştırılması	46
Tablo 4. 2. Grupların Doku Protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin Karşılaştırılması	47
Tablo 4. 3. Grupların Serum Büyüme Faktörleri Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	48
Tablo 4. 4. Grupların Doku Büyüme Faktörleri Düzeylerinin Karşılaştırılması	49
Tablo 4. 5. Grupların Doku TAS, TOS ve OSI Seviyelerinin Karşılaştırılması.....	53
Tablo 4. 6. Grupların Serum TAS, TOS ve OSI Seviyelerinin Karşılaştırılması	53
Tablo 4. 7. İmmünohistokimyasal Boyama Uygulanan Preparatlarda İse, Semi Kantitatif Quick Score Yöntemi Kullanılarak Yapılan Skolam Sonuçları	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1. Yara İyileşme Aşamalarının Zaman İçindeki Değişimi	4
Şekil 2. 2. Yara İyileşmesinde Makrofajların Rolü	6
Şekil 2. 3. Kalkonun Yapısı ve Gösterimi	22
Şekil 2. 4. Flavonoid Yapı İskeletleri ve Numaralandırma Sistemi.....	22
Şekil 2. 5. Claisen-Schmidt Kondenzasyonu ile Kalkonların Sentezi	23
Şekil 2. 6. Heteroatom İçeren İsoindol (1), Pirazol (2) Ve İsoksazol (3) Çekirdekleri.....	23
Şekil 2. 7. Flavonoidlerin yapısı	24
Şekil 2. 8. Kalkonların bazı hücrel aktivitei	25
Şekil 2. 9. Biyolojik Özelliklere Sahip Kalkon Türevlerinin Ticari Formülasyonları.....	26
Şekil 2. 10. Amino Kalkon Türevi.....	27
Şekil 3. 1. Kalkon-imid Türevi (E)-1-(4-(3-(2-klorofenil)akriloil)fenil)-1H-pirol-2,5- dion (5) Bileşiminin Claisen-Schmidt Yöntemiyle Sentezi.....	31
Şekil 3. 2. Karın Ön Duvarı Açılarak Kalkon Uygulaması Yapılan Sıçanlar.....	33
Şekil 3. 3. Sıçanların 7. Ve 14. Günde İyileşme Durumu.....	33
Şekil 3. 4. ELISA Ölçüm Yöntemi	39
Şekil 3. 5. TMB'nin Oksidasyonu	40
Şekil 3. 6. Standart Solüsyonlarının Seri Dilüsyon İle Hazırlanması	41
Şekil 4. 1. Grupların Ortalama Doku TGF- β Düzeylerinin Değişimi.....	50
Şekil 4. 2. Grupların Ortalama Doku IGF Düzeylerinin Değişimi	51
Şekil 4. 3. Grupların Ortalama Doku FGF Düzeylerinin Değişimi	51
Şekil 4. 4. Grupların Ortalama Doku EGF Düzeylerinin Değişimi	52
Şekil 4. 5. İmmünohistokimyasal Boyama Uygulanan Kontrol Grubu	56
Şekil 4. 6. Grup 4'e Ait Preparatta İnflamasyon ve Ödem (Büyütme X10)	56
Şekil 4. 7. Follikül Hasarı	57
Şekil 4. 8. Fokal Follikül ve Sebasegland Hasarı	57
Şekil 4. 9. İnflamasyon ve Kas Atrofisi	58
Şekil 4. 10. Kolajen Demetlerinde Düzensizlik ve Diskolorizasyon.....	59
Şekil 4. 11. Lokalize Vasküler Yapılar	59
Şekil 4. 12. Gruplar Arasında İmmünohistokimyasal Olarak EGF Ekspresyon Farkı	60
Şekil 4. 13. Gruplar Arasında FGF Ekspresyon Farkları	60
Şekil 4. 14. Gruplar Arasında TGF- β Ekspresyon Farklılıkları.....	61

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simgeler

μ l	Mikrolitre
L	Litre
μ mol	Mikromol
dl	Desilitre
ng	Nanogram
pg	Pikogram
mg	Miligram
U	Ünite

Kisaltmalar

Açıklama

ANOVA	Varyans Analizi
bFGF	bazık Fibroblast Büyüme Faktörünün
CTGF	Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
CuCl ₂	Bakır Klorür
CuSO ₄	Bakır Sülfat
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DMSO	Dimetil sülfoksit
ECM	Hücre Dışı Matriks
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ELISA	Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testi
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	İndirgenmiş Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz

GSSG	Okside Glutasyon
GST	Selenyuma Bağımlı Olmayan Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HRP	Yaban Turpu Peroksidazı
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGFBP-1	IGF Bağlayıcı Protein-1
IL	İnterlökin
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
IP	Periton içi
KGF	Keratinosit Büyüme Faktörü
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
MDA	Malondialdehit
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
NAC	N-Asetil Sistein
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NaN ₃	Sodyum Azid
(NH ₄) ₂ SO ₄	Amonyum Sülfat
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
OD	Optik Dansite
OSI	Oksidatif Stres İndesi
PBS	Fosfat Tampon Solüsyonu
PDGF	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörünü
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROOH	Hidroperoksit
ROS	Reaktif Oksijen Ürünleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Durum
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TCA	Trikloro Asetik Asit
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktör-β

TMB	Tetrametil Benzidine
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü- α
TOS	Toplam Oksidan Durum
TP	Total Protein
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
XO	Ksantin Oksidaz



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara, cilt veya mukozayı oluşturan dokuların, travma, cerrahi müdahale veya hastalıklar gibi çeşitli etkenler nedeniyle hasar görmesi veya bütünlüğünün geçici veya kalıcı olarak bozulması durumunda ortaya çıkar (Değim, 2008; Kılıcoglu ve ark., 2009). Yara oluşumu hem akut hem de kronik olarak meydana gelebilir. Akut yaralar genellikle cerrahi, patolojik, iskemik veya travmatik olaylar sonucunda oluşur. Cerrahi yaraların ameliyathane ortamında oluşturulması, anatomik bölgeye ve bölgenin mikrobiyal florasına bağlı olarak farklı düzeylerde kontaminasyon riski taşır (Yazar, 2015). Dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulması neticesinde başlayan; düzenli ve sıralı şekilde, hücresel ve biyokimyasal olayların sonucunda yeni doku oluşumu yara iyileşmesi olarak tanımlanmaktadır (Bekem ve ark., 2014). Yara iyileşmesi, inflamasyon, hücresel göç, re-epitelizasyon ve doku yeniden yapılanması gibi aşamaları içeren kompleks bir biyolojik süreçtir. Bu süreç, farklı hücre tiplerinin ve biyokimyasal olayların uyumlu etkileşimlerini gerektirir (Gurtner ve ark., 2008). Bu süreç epitelyal, endotelial ve inflamatuvar hücrelerin, trombositlerin ve fibroblastların kısa bir süre olağan alanlarının dışında bir araya geldiği, etkileşime girdiği, daha sonra normal işlevlerine geri döndüğü sürekli bir sinyal ve yanıt dizisidir (Hunt, 1990). Cilt yaralanması, yara bölgesinde pıhtı oluşumunu takiben inflamatuvar hücrelerin akınına ve ardından pıhtı içinde fibroblastların ve kılcal damarların oluşumuna yol açarak geçici bir tamir mekanizması oluşturur. Bu süreçte, kesilmiş epidermal kenarlar yara yüzeyini örtmek için ileri doğru göç ederler (Robson ve ark., 2001). Yara iyileşmesi sürecinde, transglutaminaz enzimleri (TG'ler) cildin epidermis, dermis ve pannikulus karnozus gibi tüm tabakalarında aktive olur (Haroon ve ark., 1999). Faktör XIII, trombin tarafından aktive edildikten sonra fibrin ağının stabilizasyonuna katkıda bulunur ve bu sayede pıhtının mekanik dayanıklılığını artırır (Smith ve Morrissey, 2015).

Yara iyileşmesinde rol alan faktörleri (inflamatuvar hücreler, trombositler, mediatörler, hücre dışı matriks v.b. gibi) etkileyerek, bu süreci kısaltmayı ve ideal skar oluşumunu sağlamayı hedefleyen yeni yöntemler ve yeni moleküller araştırılmaktadır. Flavonoidler, birçok bitkisel üründe bulunan ikincil metabolitlerdir ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra anti-inflamatuvar etkilere de sahiptirler (Pietta, 2000; Yao ve ark., 2004). Kalkonlar, hem doğal hem de sentetik olarak bulunan flavonoid bileşenleridir ve sahip oldukları

geniş biyolojik aktiviteler sayesinde, kanser tedavisinde potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirilmektedir (Nowakowska, 2007). Kalkonlar yenilebilir bitkilerde bol miktarda bulunan flavonoid ve izoflavonoidlerin öncüsü olarak kabul edilmektedir (Rao ve ark., 2004). Literatür araştırmasına göre, sentezlenen kalkon türevlerinin çoğunun antiinflamatuvar (Herencia ve ark., 1998), antitüberküloz, antioksidan (Rao ve ark., 2004) antibakteriyel aktivite (Satyanarayana ve ark., 2004), antikanserojen (Boulamwini ve ark., 2005) etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, son yıllarda kalkon ve türevleri üzerine yapılan çalışmalar artmış ve özellikle biyolojik aktivite konusundaki yoğun ilgi dikkat çekmiştir.

Hipotez; kalkon-imid laparotomi uygulanan sıçanlarda hemostaz ve proliferatif fazdaki yara iyileşmesini büyüme faktörlerini arttırarak ve oksidatif stresi azaltarak düzeltmektedir. Çalışmamızın amacı, yeni sentezlenmiş olan kalkon-imid türevinin laparotomi uygulanan sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine biyokimyasal ve histolojik etkilerini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

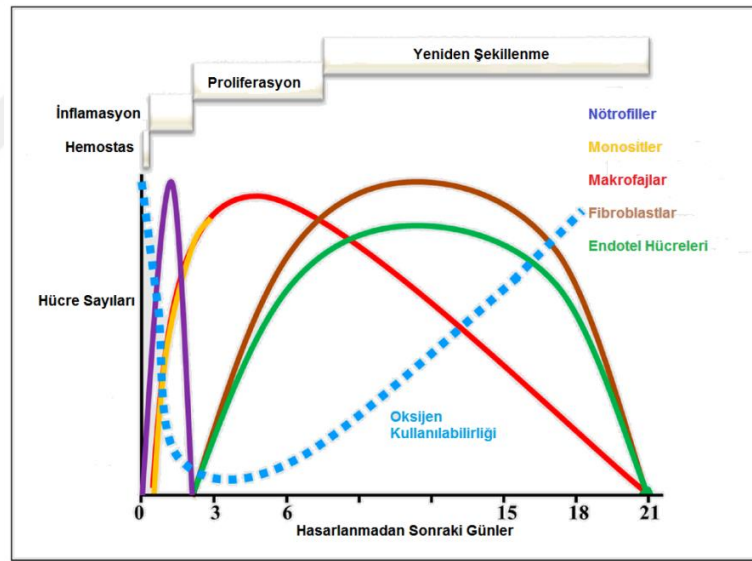
Yara iyileşmesi, insan vücudundaki en karmaşık süreçlerden biridir. Bu süreç, hemostaz, enflamasyon, büyüme, yeniden epitelizasyon ve yeniden şekillenme aşamalarında farklı roller üstlenen çeşitli hücre tiplerinin uzamsal ve zamansal olarak senkronize olmasını içerir. Gelişen tek hücre teknolojileri sayesinde, bu hücre tiplerinin fenotipik ve işlevsel heterojenliği ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca, yaralanmamış durumda tek kutuplu olan fakat cilt hasarı sonrasında çok potansiyelli hale gelen nadir kök hücre alt kümeleri de keşfedilmiştir. Bu hücre tiplerinin rollerini ve birbirleriyle olan etkileşimlerini anlamak, normal yara iyileşme mekanizmalarını çözmek açısından büyük önem taşır. Yara oluşumunu takiben kompleks ve organize biyokimyasal olaylar ile hücresel süreçler gerçekleşir (Witte ve Barbul, 1997). Yara iyileşmesinde kimyasal ve doğal ajanların kullanımıyla birçok teknolojik ve klinik ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen, bu ajanların yara iyileşme sürecindeki etki mekanizmaları hala araştırılmaktadır (Madhyastha ve ark., 2011). Yara iyileşmesi, doku zedelenmesiyle başlayan ve hasarlı dokunun temizlenmesi, yeni dokunun oluşması ve dokunun fonksiyonlarını geri kazandıracak şekilde yeniden modellenmesini içeren dinamik bir süreçtir (Guo ve Dipietro, 2010; Pekmezci ve Akyol Mutlu, 2019).

2.2. Yara iyileşme Fazları

Yara iyileşme süreci sırasında hücre dışı matriks, biyolojik tepkileri art arda gerçekleşen 3 aşamada yönetir. Bunlar; hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenmedir (Dhiyaaldeen ve ark., 2014).

2.2.1. Hemostaz ve İnflamasyon Evresi

Yaralanmanın hemen ardından 4. ila 6. günler arasında devam eden hemostaz, iyileşme süreci için başlangıç adımı ve temel görevi görür. İnflamasyon, vazodilatasyon ve artmış vasküler geçirgenlikle sonuçlanır (Broughton ve ark., 2006). Yaralanma doku ve damarlara zarar verir ve bu nedenle ilk aşama hemostaz adı verilen lokal kanamayı hemen kontrol etmeyi amaçlar (yaralanmadan sonra saniyeler ile saatler sonra) (Nauta ve ark., 2014) (Şekil 2.1). Yaralanan kan damarları vazokonstriksiyon yapar ve endotel hücreleri ile trombositler pıhtılaşma sürecini başlatır. Bu süreçte oluşan pıhtı, kollajen, trombositler, trombin ve fibronektinden oluşur ve bu bileşenler, inflamatuvar yanıtın başlamasını sağlayan sitokinler ve büyüme faktörlerini serbest bırakır (Rodrigues ve ark., 2019).



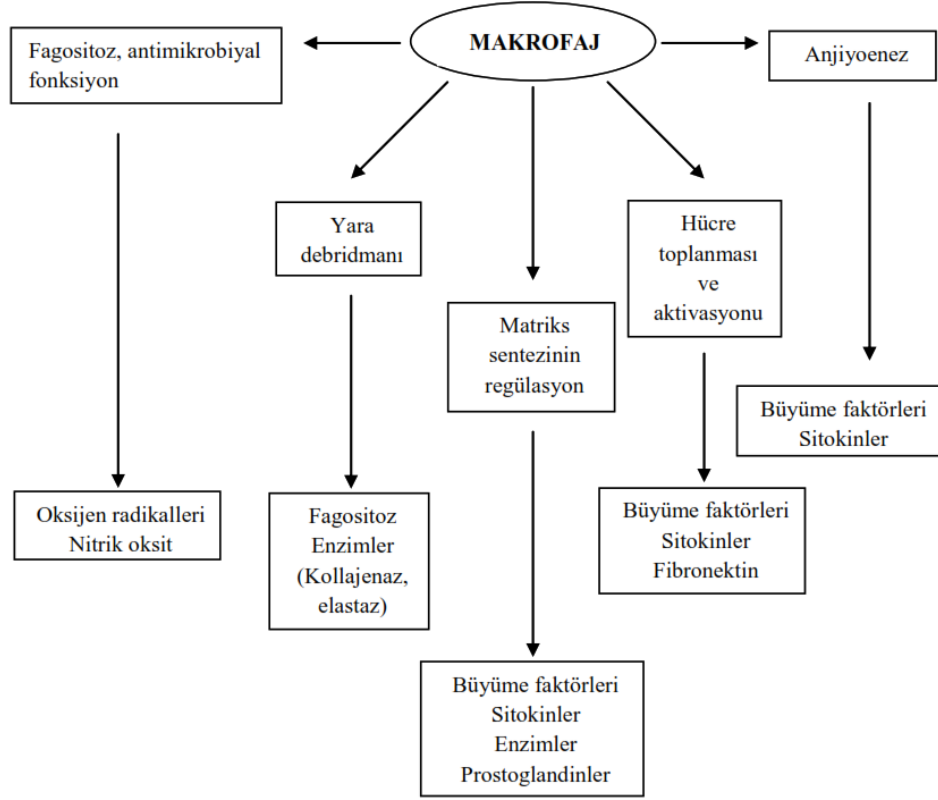
Şekil 2. 1. Yara İyileşme Aşamalarının Zaman İçindeki Değişimi

(Nauta ve ark., 2014).

Yara iyileşme aşamalarının zaman içindeki değişimine şematik bir genel bakış. İlk hemostaz aşamasından sonra, iltihaplanma aşamasına nötrofiller ve makrofajlar hakim olurken, proliferasyon aşamasında fibroblastlar ve endotel hücreleri baskındır. Yeniden şekillenme aşamasında, fibroblastlar ve endotel hücreleri apoptoza uğrar veya yaradan çıkar. Son aşamada, granülasyon dokusu ve vasküler ağ yeniden şekillenir ve olgunlaşır,

bu aşama yıllar alabilir. Noktalı mavi çizgi, oksijen mevcudiyetinin zaman sürecini gösterir (Nauta ve ark., 2014).

Sitokinler, doku hasarını takiben hemen salınarak iyileşme sürecinin başlamasını sağlarlar. Trombositler, zedelenen damar duvarındaki kollajene temas ettiğinde geçici bir pıhtı oluşturur ve böylece hemostaz sağlanır. Aynı zamanda inflamatuvar hücreler yara bölgesine göç ederek apoptotik hücreleri ve mikroorganizmaları ortadan kaldırmaya başlarlar ve böylece inflamasyonun klinik belirtileri olan ödem, ağrı, kızarıklık ve sıcaklık yara alanında gözlenir (Baktır, 2020). Yaralı bölgeye doğru başlayan lökosit göçü kompleman faktörler, elastin yıkım ürünleri ile tümör nekroz faktör- α (TNF- α), TGF- β , lökotrien B₄, interlökin-1 (IL-1), faktör IV ve Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörünü (PDGF) içeren immünomodülatör faktörler tarafından uyarılarak yara bölgesindeki kılcal damarların üzerindeki endotel hücrelere yapışır. Burada bakterileri yok ederek, ölmekte olan hücrelerdeki kalıntıları ortadan kaldırır ve hasar görmüş matriksi onarırlar (Monaco ve Lawrence, 2003). Yara iyileşmesi süresince Makrofajlaryara iyileşmesinde kritik bir role sahiptirler ve yara bölgesindeki Makrofajların miktarı artarak 5. günde yara bölgesindeki baskın enflamatuvar hücre haline gelmektedir. Makrofajlar bu evrede fagositoz ve antimikrobiyal savunma rolü üstlenirler. Makrofajlar aktive olarak matriks sentezi, angiogenez ve fagositik aktivelerde bulunurlar (Kim ve ark., 2008) (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2. Yara İyileşmesinde Makrofajların Rolü

(Uzun, 2013)

2.2.2. Proliferasyon Fazı (Kollajen Sentezi Fazı)

Yaralanma durduğunda, kanama kontrol altına alındığında ve etkili bir bağışıklık yanıtı gerçekleştiğinde, akut yara iyileşme süreci başlar ve doku onarımına geçilir (Velnar ve ark., 2009). Yaralanma sonrası inflamasyon aşamasının ardından, yaklaşık olarak üçüncü günden itibaren, yarada bulunan nekrotik dokular ve kan pıhtıları kaybolmaya başlar. Bu süreçte, yara iyileşmesinin temel belirtisi olan granülasyon dokusunun gelişimi görülür (Karasu ve Bakır, 2008).

Yara iyileşmesinin çoğalma evresi, yaralanmanın ardından üçüncü günde başlayıp, sonraki 2 ila 3 hafta boyunca devam eder. Bu süreçte, fibroblastların göç etmesi ve yeni üretilen hücre dışı matrisin toplanmasıyla, fibrin ve fibronektin içeren geçici yapı yerini alır (Velnar ve ark., 2009). Bu aşamada, yara yüzeyinde geçirgen bir bariyer oluşur, re-epitelizasyon ve kontraksiyon süreçleri tamamlanır, yeni kan damarları gelişerek dokuya

yeterli kan akışı sağlanır ve böylece doku güçlendirilir (Rodrigues ve ark., 2019). Makroskopik olarak bakıldığında, yara iyileşmesinin bu evresi, yoğun granülasyon dokusunun oluşumu ile karakterize edilir. Proliferasyon fazında meydana gelen çeşitli işlemler aşağıda sıralanmıştır (Hunt, 1990).

2.2.3. Yeniden Şekillenme (Remodelizasyon) Fazı

Yara iyileşme sürecinin son aşaması olan yeniden şekillenme (remodeling) aşaması, granülasyon dokusunun oluşumuyla eşzamanlı olarak gerçekleşir. Yeniden şekillenme aşaması boyunca fibroblastlar, kollajen liflerini parçalar ve yeniden hizalar. Fibroblastların kollajen liflerini hizalayıp yerleştirmesiyle birlikte, her bir lifin fibril yoğunluğunun arttığı gözlenir; bu da daha büyük çaplı ve daha yüksek mekanik özelliklere sahip kollajen liflerinin oluşmasına yol açar (Chester ve ark., 2019). Bu aşamada yumuşak ve jelatinöz yapıdaki tip III kollajen daha sıkı olan tip I kollajene dönüşür. Kontraksiyonun bir kısmı da bu aşamada gelişir. Yara yaklaşık 6 hafta sonra başlangıçtaki gücünün % 80-95 ini kazanır. Yara alanının renginin soluklaştığı, yara gerilim direncinin arttığı ve skar dokusunun oluştuğu bu evre 6-12 ay, hatta 24 ay devam eder (Gence, 2008). Yeniden şekillenme (remodeling) aşaması, aynı zamanda olgunlaşma olarak da bilinir. Bu aşamada yaranın su içeriği azalır ve proliferasyon sırasında oluşan kollajen, daha stabil ve iç içe geçmiş tip III kollajen ile kademeli olarak yer değiştirir. Bağ dokusu ve kılcal damarların miktarı azalırken, yara büzülmesi ve skar oluşumu meydana gelir (Cundell, 2016). Yaralanmayı takip eden 2 yıla kadar sürebilen bu süreçte, fibroblastların neden olduğu kollajen sentezi, kollajenazlar tarafından yıkım ve inflamatuvar hücrelerin geri çekilmesi devam eder ve bu süreç, yarayı kademeli olarak olgun bir skara dönüştürür (Cundell, 2016). Bu aşamanın sonunda, yüksek çekme mukavemetine sahip, minimal hücre ve damar içeren yeni bir doku oluşur (Monaco ve Lawrence, 2003).

2.3. Yara İyileşmesinin Moleküler Mekanizması

Yara iyileşmesi sürecinde görev alan moleküler mekanizmalar birçok farklı hücre ve molekülün etkileşimini içerir. Yara iyileşmesi, hücre proliferasyonu, migrasyonu, matriks sentezi, kasılma gibi farklı aşamalardan oluşur ve büyüme faktörleri ile matriks sinyalleri gibi moleküler sinyallerin varlığıyla kontrol edilir (Martin, 1997).

Büyüme faktörlerinden transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β), yara iyileşmesinde en önemli büyüme faktörlerinden biridir. TGF- β , hücre proliferasyonunu, matriks sentezini ve hücre migrasyonunu uyarır (Martin, 1997). Bunun yanı sıra, epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), platelet türevli büyüme faktörü (PDGF), Transforme Edici Büyüme Faktörü-alfa (TGF- α), gibi diğer büyüme faktörleri de yara iyileşmesinde önemli roller oynar (Martin, 1997).

Sitokinler ise yara iyileşmesinde önemli bir rol oynayan diğer moleküllerdir. Sitokinler, hücreler arasında iletişimi sağlar ve bağışıklık sistemi yanıtlarını düzenler. İnflamasyon, angiogenez, matriks birikimi ve hücre rekrütasyonu gibi yara iyileşmesinin sağlıklı doku onarım yanıtlarının düzenlenmesinde sitokinlerin rolü vardır (Eming ve ark., 2014). Örneğin, IL-6 sitokini, inflamasyon sürecinde önemli bir rol oynar ve yara iyileşmesinde etkili olabilir (Babacan ve ark., 2023).

Yara iyileşmesini etkileyen çeşitli faktörler arasında yaranın konumu ve o bölgedeki kan dolaşımı, sitokinler ve büyüme faktörlerinin varlığı, genetik ve immünolojik durumlar, diyabet hastalığı, radyo ve kemoterapi tedavileri, yetersiz beslenme ve steroid bazlı ilaçların kullanımı sayılabilir (Baktir, 2020). Yeniden şekillenme süreci, doku yaralanması ve onarımı sırasında uyarılan çeşitli büyüme faktörleri, özellikle TGF- β , PDGF ve FGF tarafından düzenlenir. Büyüme faktörlerinin skar oluşumundaki rolü tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, TGF- β 'nin önemli olduğu düşünülmektedir (Cundell, 2016). Stromal fibroblastlar tarafından salgılanan Keratinosit Büyüme Faktörü (KGF), yara iyileşmesine yardımcı olan önemli bir faktördür ve yara bölgesindeki dermal dokudan yoğun bir şekilde salınır, keratinositlerdeki özgül reseptörlere bağlanır ve bu bölgeye hücrelerin göçünü teşvik eder (Önal ve ark., 2023). Yara iyileşmesinde etkili olan bir başka unsur da kullanılan yara kapatma materyalidir. Bu örtüler, yarayı enfeksiyonlardan korumanın yanı sıra, iyileşmeyi destekleyici ideal bir çevre de sunar (Karaman ve Erdogan, 2021). Ayrıca, yara örtüleri hücre yenilenmesini desteklemek

üzere oksijenin etkin bir şekilde dolaşımını sağlamalıdır (Kurtoğlu ve Karataş, 2009). Yakın zamanda, 3D baskı teknolojisinin gelişimiyle birlikte, hastalar için özelleştirilmiş yara örtüleri üretimi mümkün hale gelmiştir (Demiral ve Mert, 2022). Bu özelleştirilmiş örtüler, hastalara yönelik tedavi seçeneklerini genişleterek mevcut kısıtlılıkları aşmaktadır (Demiral ve Mert, 2022). Yara iyileşmesi üzerinde beslenmenin de büyük bir etkisi bulunmakta ve yanık tedavisinde anabolik metabolizmayı teşvik etmek, stres yanıtını düzenlemek ve hastanın yeterli beslenmesini garanti altına almak kritik öneme sahiptir (Karahana ve ark., 2021). Bu faktörlere dikkat etmek, etkili bir yara iyileşme sürecinin gerçekleşmesi açısından önem taşır. İlk fonksiyonel veriler, farklı yara modellerinde çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve bunların reseptörlerinin ekspresyon analizine odaklanmış ve yaralara nötralize edici antikorlar uygulanarak elde edilmiştir. Son birkaç yılda, genetik olarak modifiye edilmiş farelerin kullanılabilirliği, iyileşme sürecinde çeşitli genlerin işlevinin aydınlatılmasına izin vermiş ve bu çalışmalar, büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve bunların efektörlerinin yara onarımındaki rolüne ışık tutmuştur.(Werner ve Grose, 2003). Doku onarımı ve iyileşememesinin altında yatan hücresel ve moleküler mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır ve mevcut tedaviler sınırlıdır. Travma, ameliyat, akut hastalık veya kronik hastalık durumlarından sonra kötü yara iyileşmesi her yıl dünya çapında milyonlarca insanı etkilemektedir ve inflamasyon, anjiyogenez, matris birikimi ve hücre alımı dahil olmak üzere sağlıklı doku onarım yanıtının kötü düzenlenmiş unsurlarının bir sonucudur. Bu hücresel süreçlerden birinin veya birkaçının başarısızlığı genellikle vasküler hastalık, diyabet veya yaşlanma gibi altta yatan klinik bir durumla bağlantılıdır ve bunların hepsi sıklıkla iyileşme patolojileriyle ilişkilidir (Eming ve ark., 2014; Werner ve Grose, 2003).

2.4. Geç Yara İyileşmesi

Geç yara iyileşmesinin tedavisi, altta yatan nedenlere bağlı olarak değişir ve uygun yara bakımı, hijyen, beslenme ve gerekli tedavileri içerir (Altan ve ark., 2015). Yara iyileşmesi, doku bütünlüğünü sağlamayı, patojen istilasını ortadan kaldırmayı ve doku homeostazını teşvik etmeyi amaçlayan en karmaşık süreçlerden biridir. Çok hücreli organizmalarda, bu süreç moleküler sinyallerle koordine edilen bir dizi bağışıklık hücrelerini içerir. Yaralanma sonrasında, trombositler kan pıhtıları oluşturmak ve vasküler

dokularda aşırı kan kaybını önlemek için bir araya gelir (Shannon, 2020; Golebiewska ve Poole, 2015). Nötrofil sayısı genellikle yaralanma bölgesinde yaklaşık 24 saat boyunca sürekli olarak artar ve apoptozise uğramadan önce 5-6 saat içinde zirveye ulaşır (Herrero-ve ark., 2022; Kim ve ark., 2008). Geç yara iyileşmesi, yaranın normalden daha uzun sürede iyileşmesi durumunu ifade eder. Bu durum, birçok faktörün etkileşimi sonucunda ortaya çıkabilir. Yara iyileşmesi süreci, genellikle üç aşamadan oluşur: hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon ve yeniden modellenme (Aksoy ve Ozakpinar, 2014). Geç yara iyileşmesi, bu aşamalardan herhangi birinde veya birkaçında bozulma veya gecikme olduğunda ortaya çıkabilir. Hypericum perforatum (sarı kantaron) bitkisinin yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri için yara iyileşmesini hızlandırmakta yaygın olarak kullanılmaktadır (Altan ve ark., 2015). Ayrıca, vitamin E gibi antioksidanlar da yara iyileşmesini destekleyebilir ve oksidatif stresi azaltabilir (Aksoy ve Özakpinar, 2014).

2.5. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

İnsan vücudu doğumla birlikte kazanılmış bir dengeye sahiptir ve fizyolojik aktiviteler sonucu ortaya çıkan serbest radikaller bu denge aracılığıyla kontrol altında tutulur (Bloomer ve Goldfarb, 2004). Reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinen serbest radikaller, antioksidan savunma mekanizmaları sayesinde etkisiz hale getirilir. Ancak, bu savunma sisteminin yetersiz kalması durumunda oksidatif stres olarak bilinen durum ortaya çıkar (Aruoma, 1998). Bu durum, organizmayı serbest radikallere karşı koruyan antioksidan sistemin dengesinin bozulması anlamına da gelebilir. Serbest radikallerin ve oksidatif stresin oluşumunda birçok farklı etken rol oynar. Serbest radikal biyolojisinin önemi, in vivo oksidatif stresi ölçmeye yönelik yeni tekniklerin geliştirilmesi, oksidatif stresin enflamasyonla sıkı bir şekilde bağlantılı olması ve bazı ROS'un enflamatuar sinyalleri ileten haberci moleküller olarak işlev görmesinin keşfi ile büyük ilgi uyandırmıştır (Hensley ve ark., 2000). Oksidatif stres koşullarında, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitelerinde bir artış gözlemlenmektedir (Mate's, 2000). Farelerde yürütülen yara iyileşmesi çalışmasında, yara dokusunda oksidatif stresin varlığında SOD ve GSH-Px enzimlerinin seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir (Steiling ve ark., 1999). Buna ek olarak, iyileşme sürecinde

antioksidan enzimlerin ekspresyonundaki artışın, artan oksidatif strese adaptasyon amacı taşıdığı değerlendirilmiştir (Steiling ve ark., 1999).

2.5.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, yüksek derecede reaktif moleküller olup yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulundurlar ve kimyasal sembollerde bir nokta veya çizgi ile gösterilirler (Southorn ve Powis, 1988). Bu moleküller, genellikle çok reaktiftir ve diğer moleküllere elektron verip alabilirler; bu sebeple, hem oksidan hem de indirgeyici olarak hareket edebilirler. Yüksek reaktivitelerinden dolayı, biyolojik sistemlerdeki yarı ömürleri oldukça kısadır (Halliwell, 1991). Serbest radikallerin oluşumu, kovalent bağların homolizi ($x \rightarrow x^* + y^*$), nötr atomlara elektron eklenmesi ($x + e^- \rightarrow x^-$), veya nötr atomlardan elektron kaybı ($x \rightarrow x^+ + e^-$) ile gerçekleşir (Southorn ve Powis, 1988). Serbest radikaller organizmada çeşitli eksojen ve endojen faktörlere bağlı olarak oluşabilir (Halliwell, 1996).

2.5.2. Hücrelerde ROS oluşumu

Hücrelerdeki normal metabolik süreçlerde meydana gelen enzimatik reaksiyonlar sırasında, enzimlerin aktif bölgelerinde sürekli olarak serbest radikaller ortaya çıkabilir. Ara sıra bu serbest radikaller, enzimlerin aktif bölgelerinden dışarı sızabilir ve moleküler oksijenle etkileşime girerek serbest oksijen radikallerine dönüşebilir. Genellikle hücrelerdeki en büyük serbest oksijen radikal kaynağı, mitokondriyal elektron taşıma zincirinden sızan serbest radikallerdir. Mitokondriyal iç membranda yer alan oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenlerinin önemli ölçüde azalması, mitokondriyal süperoksit radikal üretimini artırır (Tirichen ve ark., 2021). Hücre içindeki ROS ve serbest radikal düzeylerinin yükselmesi, hücre hasarının başlıca nedenlerinden biridir. Özellikle iskemi sonrası gerçekleşen reperfüzyon, ROS seviyelerindeki artış nedeniyle iskeminin neden olduğu hücre hasarını daha da şiddetlendirir. Bu süreç, hücre ortamda daha fazla hasarın meydana gelmesine yol açar (Valdez et al., 2000). Serbest radikaller, karbonhidratlarla etkileşime girerek farklı ürünler oluşturur ve bu ürünler çeşitli patolojik

süreçlerde önemli bir rol oynar. Diyabet ve komplikasyonları, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, Behçet hastalığı, deri ve göz hastalıkları, romatoid artrit ve kanser gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının bu artışa karşı yetersiz kaldığı belirlenmiştir (Abramson ve ark., 2005).

2.5.3. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA) yaygın olarak bilinen bir oksidatif stres belirticidir ve genellikle serbest radikallerin hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağlara saldırdığı bir süreç olan lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için kullanılır. Yapılan çalışmalar MDA'nın sadece bir biyobelirteç olarak değil, aynı zamanda DNA ve proteinlerle etkileşime girerek mutajenik ve aterojenik etkilere yol açabilen potansiyel olarak toksik bir yan ürün olarak rolünü vurgulamaktadır (Singh ve ark., 2014). MDA seviyeleri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve kardiyovasküler koşullar gibi çeşitli hastalık durumlarında yükselir ve dokulardaki oksidatif hasarı gösterir (Antus ve ark., 2014). Floresan probalar da dahil olmak üzere MDA'nın in vivo ölçümü için yenilikçi teknikler, hücresel oksidatif süreçler hakkında değerli bilgiler sağlayarak varlığını gerçek zamanlı olarak izleme yeteneğini geliştirmiştir (Chen ve ark., 2015). Çok sayıda patolojik durumla bağlantısı göz önüne alındığında, MDA oksidatif stresle ilgili araştırmalar ve klinik teşhis için çok önemli bir gösterge olmaya devam etmektedir.

2.6. ROS' a Karşı Antioksidanlar ve Yara İyileşmesindeki Roller

Vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu durdurmak, bu maddelerin neden olduğu zararları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak için görev yapan sistemler, “antioksidanlar” olarak adlandırılır. Antioksidanlar, ROS oluşumunu ve neden oldukları hasarı önlemek için var olan savunma mekanizmalarıdır (Karabulut ve Gülay, 2016). Antioksidanların oksidatif stresi azaltarak ve ROS dengesini sağlayarak yaraların iyileşmesinde önemli bir rol oynadığına dair son yıllarda yapılan birçok çalışma mevcuttur. Antioksidanlar, oksijen radikallerinin neden olduğu hasarı azaltarak enfekte ve enfekte olmayan yaraların iyileşmesini hızlandırır. E vitamini, sodyum piruvat ve belirli yağ asitleri bu süreci desteklemekte ve iyileşmeyi artırmaktadır (Martin, 1996). ROS seviyelerinin düşük tutulması yara iyileşmesini desteklerken, aşırı seviyelerde ROS

hücre hasarına ve iyileşme sürecinin yavaşlamasına neden olabilir. Curcumin, N-Asetil Sistein (NAC), kitosan ve kuersetin gibi antioksidanların yara iyileşmesini hızlandırdığına dair kanıtlar bulunmaktadır (Comino-Sanz ve ark., 2021). Oksidatif stres, diyabetik yaraların iyileşmesinde önemli bir faktördür. Antioksidanlar, ROS seviyelerini azaltarak bu süreci iyileştirebilir. Diyetle alınan bioaktif bileşikler, yara iyileşmesinde önemli bir role sahiptir (Deng ve ark., 2021). Glutasyon, glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptit olup, biyolojik sistemlerde başlıca antioksidan görevini üstlenir. Glutasyonun yara iyileşmesinde oksidatif stresin yönetilmesinde çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bir çalışma, sıçan modellerinde glutasyonun tükenmesinin, yara gücünün azalması ve hidroksprolin birikiminin değişmesiyle birlikte yara iyileşmesinde gecikmeye yol açtığını göstermiştir. Bu durum, yara onarımının erken aşamalarında yeterli glutasyon seviyelerinin korunmasının önemini vurgulamaktadır (Adamson ve ark., 1996). Glutasyonun biyomateriyallere dahil edilmesinin yara iyileşmesini artırmada etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bir çalışmada, glutasyonun dinitrosil demir kompleksleri ile kolajen matriksinde uygulanması, sıçanlarda deri yarasının kapanmasını önemli ölçüde hızlandırmıştır. Bu kombinasyon granülasyon dokusu gelişimini ve epitelizasyonunu geliştirmiştir (Shekhter ve ark., 2015). Antioksidan enzimler, ROS'un temizlenmesinde merkezi bir rol oynar ve yara iyileşmesini destekler. Bununla birlikte, aşırı antioksidan kullanımı iyileşme sürecini olumsuz etkileyebilir, bu yüzden kontrollü kullanım önemlidir (Kurahashi ve Fujii, 2015).

2.6.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, aktif bölgesinde seleno-sistein bulunduran tetramerik bir selenoprotein olup oksidoredüktaz ailesinin bir üyesidir. İndirgenmiş glutasyon (GSH) eş-substratını kullanarak organik hidroperoksitleri (-ROOH) alkol ve suya dönüştürme reaksiyonunu katalize eder. Ek olarak, hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksitlerin varlığında, Hidrojen peroksitin (H_2O_2) suya indirgenmesini ve glutasyonun oksidasyonunu katalize etme yeteneğine sahiptir (Zhao ve ark., 2019). Lipid hidroperoksitler, bu enzim için substrat işlevi görerek lipid peroksidasyonunun neden olduğu membran hasarının onarılmasında önemli bir rol oynayabilir. Ayrıca, sitozol ve mitokondride hidrojen peroksiti etkisiz hale getiren ana antioksidan olarak görev yapar (Pei ve ark., 2023). Bu enzim, aktif bölgesinde

selenyum barındırır ve selenyum eksikliği durumunda aktivitesi düşer. Okside glutatyon (GSSG), NADPH (Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat)'ı indirgeyici substrat olarak kullanan GSH redüktaz (GR) enzimi tarafından tekrar GSH'a indirgenebilir. Böylece, GSH-Px oksidatif hasara karşı koruma sağlarken hidrojen peroksite detoksifikasyonunda da önemli bir rol oynar (Townsend ve ark., 2003).



2.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksitin hidrojen peroksite dönüşümünü katalize eden ve H_2O_2 katalaz ve glutatyon peroksidaz reaksiyonu ile ortadan kaldırılan bir metaloproteindir (Fridovich, 1978).



SOD'lar, süperoksit radikallerinin oksijen ve hidrojen peroksite dönüşümünü katalize ederek oksidatif strese karşı savunmada kritik enzimlerdir. Bu dönüşüm, hücre solunum ve diğer metabolik süreçlerin yan ürünleri olarak üretilen ROS ürünlerinin neden olduğu hücre hasarı azaltmaya yardımcı olur (Zelko ve ark., 2002). Üç ana SOD türü -sitozolik Cu/ZnSOD (SOD1), mitokondriyal MnSOD (SOD2) ve hücre dışı SOD (SOD3)- oksidatif stresi yönetmek için farklı hücre bölümlerinde çalışır. Mitokondride bulunan MnSOD, solunum sırasında bu organelde yüksek süperoksit üretimi nedeniyle özellikle önemli bir rol oynar (Fattman ve ark., 2003). Son çalışmalar, MnSOD'un sadece süperoksit radikallerini temizlemede değil, aynı zamanda redoks sinyalini modüle etmede ve özellikle nörodejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler koşullarda hücreleri oksidatif hasardan korumadaki rolünü vurgulamıştır (Bresciani ve ark., 2015; Fukai ve Ushio-Fukai, 2011). Ayrıca, SOD aktivitesi ile glutatyon peroksidaz gibi diğer antioksidan sistemler arasındaki denge, hücre homeostazın korunması ve dismutasyon işlemi sırasında üretilen aşırı hidrojen peroksite zararlı etkilerinin önlenmesi için çok önemlidir (Montllor-Albalade ve ark., 2018).

2.6.3. Glutasyon (GSH)

Bir tripeptit olan Glutasyon (GSH) glutamat, sistein ve glisinden oluşan ve vücuttaki en önemli hücre içi antioksidanlardan biridir. ROS'un nötralize edilmesinde, zararlı bileşiklerin detoksifiye edilmesinde ve hücresel redoks dengesinin korunmasında kritik bir rol oynar. Glutasyon indirgenmiş (GSH) ve oksitlenmiş (GSSG) formlarda bulunur ve bu formlar arasındaki oran hücrelerdeki oksidatif stres için bir belirteç görevi görür (Lu, 2013). GSH ayrıca DNA sentezi ve onarımı, protein sentezi ve bağışıklık tepkisinin düzenlenmesi dahil olmak üzere çeşitli metabolik ve biyokimyasal süreçlerde de işlev görür. (Wu ve ark., 2004). Hücresel korumadaki merkezi rolü nedeniyle, glutasyon seviyelerindeki değişiklikler kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilidir (Townsend ve ark., 2003).

2.6.4. Toplam Antioksidan ve Oksidan Seviye Testleri

Toplam Antioksidan Seviye (TAS) ve Toplam Oksidan Seviye (TOS), özellikle klinik ve araştırma ortamlarında biyolojik sistemlerdeki genel oksidatif ve antioksidatif dengeyi değerlendirmek için kullanılan kapsamlı ölçümlerdir. Bu ölçümler, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser ve nörodejeneratif bozukluklar da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara katkıda bulunan bir faktör olan vücuttaki oksidatif stres seviyesini anlamak için çok önemlidir (Erel, 2005). TAS, bir numunede mevcut olan antioksidanların toplam seviyesini ölçer ve antioksidan savunma sisteminin genel bir değerlendirmesini sunar. TAS, troloks eşdeğeri antioksidan seviye veya ferrik indirgeyici antioksidan güç gibi kimyasal deneyler kullanılarak spektrofotometrik yöntemlerle ölçülebilir (Erel, 2004).

TOS, biyolojik bir numunedeki toplam oksidan seviyelerini ölçerek, oksidan yükünü belirler. TOS, sistemdeki oksidanların kümülatif varlığını veya toplam oksidatif stresin seviyesini değerlendirmeyi sağlar (Erel, 2005). Araştırma ve klinik uygulamalarda sıklıkla tercih edilen bu test, gözyaşı ve sulu mizaç gibi çeşitli biyolojik sıvıların oksidatif durumunu spektrofotometrik olarak değerlendirme imkanı sunmaktadır.

Oksidatif Stres İndeksi (OSI), Oksidatif stresin derecesini doğru bir şekilde belirleyen TOS ve TAS seviyelerinin oranından elde edilen bir yüzde olarak tanımlanır.

Günümüzde, genel oksidatif stres durumunu değerlendirmede sağladıkları önemli bilgilerle TAS, TOS ve özellikle OSI indeksi geniş bir kullanım alanı bulmaktadır.

2.7. Sitokinler ve Yara İyileşmesindeki Roller

Sitokinler, özellikle bağışıklık tepkileri, enflamasyon ve doku onarımında hücreler arası iletişimi düzenleyen çeşitli protein ve polipeptit gruplarıdır. Hücrelerin yüzeyindeki spesifik yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak etki ederler, bu da bağışıklık tepkileri, hücre büyümesi ve farklılaşma gibi çeşitli biyolojik süreçleri kontrol etmelerini sağlar (Trotta, 1991). Bu proteinler interlökinleri, interferonları, koloni uyarıcı faktörleri ve büyüme faktörlerini içerir. Sitokinler, embriyonik gelişim, bilişsel işlevler ve bağışıklık savunma mekanizmaları gibi süreçlerde yer alarak hem sağlık hem de hastalıkta önemli bir rol oynar (Dinarello, 2007). Sitokinler ayrıca dejeneratif hastalıkların ilerlemesini ve enfeksiyonlara verilen yanıtı etkileyerek hem bağışıklık modülatörleri hem de hastalık patogeneze katkıda bulunanlar olarak hareket eder (Corwin, 2000). Hastalık yönetimindeki önemleri, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi durumlar için terapötik hedefler olarak kullanılmalarıyla daha da kanıtlanmıştır (Schaue ve ark., 2012). Bununla birlikte, sitokin ağlarının karmaşıklığı, örtüşen işlevleri ve fazlalıkları, terapötik kullanımı zor ama umut verici hale getirmektedir. Sitokinler, büyüme, farklılaşma ve hareket dahil olmak üzere hücrelerin davranışlarını etkileyerek bağışıklık tepkilerinin yoğunluğunu ve süresini düzenler. Bağışıklık, enflamasyon, enfeksiyon, travma, sepsis, kanser ve üreme gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde rol oynarlar (Jin ve ark., 2007). Sitokinler, interlökinler, interferonlar, tümör nekroz faktörleri, kemokinler ve koloni uyarıcı faktörler dahil olmak üzere, her biri belirli işlevlere sahip çeşitli aileler halinde sınıflandırılır. Örneğin, interlökinler öncelikle beyaz kan hücreleri arasındaki iletişimde rol oynarken, interferonlar antiviral özelliklere sahiptir. Tümör nekroz faktörleri enflamasyon ve apoptozda rol oynar ve kemokinler hücrelerin enfeksiyon veya yaralanma bölgelerine göçünü yönlendirir (Turner ve ark., 2014). Sitokinler, hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak, değişen gen ifadesine yol açan hücre içi sinyal yollarını tetikleyerek işlev görür. Bu, bağlama bağlı olarak hücrelerin aktivasyonu, farklılaşması veya çoğalması ile sonuçlanabilir (Hoffman ve ark., 2001) Sitokin üretiminin veya sinyalizasyonunun düzensizliği, otoimmün bozukluklar, kronik

inflamasyon ve kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açabilir. Bu nedenle, sitokin biyolojisini anlamak, çeşitli hastalıklarda bağışıklık tepkilerini modüle etmek için terapötik stratejiler geliştirmek için çok önemlidir (Turner ve ark., 2014). Yara İyileşme süreci, yıllarca devam edebilen bir dizi ardışık ve örtüşen fizyolojik aşamalardan oluşur. Lineer bir süreç değildir ve büyüme faktörleri ve sitokinler gibi çeşitli dışsal ve içsel faktörlere bağlı olarak, aşamalar boyunca hem geriye hem de ileriye doğru ilerleyebilir (Arribas ve ark., 2021). Yara iyileşmesi sorusunu ele alan ilk yaklaşımlar, farklı yara modellerinde çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve bunların reseptörlerinin ekspresyon analizine odaklanmış ve ilk fonksiyonel veriler yaralara nötralize edici antikorlar uygulanarak elde edilmiştir (Werner ve Grose, 2003). Büyüme faktörlerini ve reseptörlerini deri yaralarında lokalize etmek için kemirgenlerde, domuzlarda ve insanlarda ekspresyon çalışmaları yapılmıştır (Werner ve Grose, 2003). Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinler önemli bir rol oynamaktadır. Büyüme faktörleri, hücrelerin büyümesini, çoğalmasını ve doku onarımını teşvik eden proteinlerdir. Sitokinler ise hücreler arasında iletişimi sağlayan ve bağışıklık sistemi yanıtlarını düzenleyen proteinlerdir (Özgül Önal ve ark., 2023). Birçok çalışma, yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin etkisini incelemiştir. Werner ve arkadaşları yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin düzenleyici rolünü inceleyerek farklı yara modellerinde büyüme faktörleri, sitokinler ve reseptörlerinin ifade analizlerini yapmış ve büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin yara iyileşmesindeki rolüne dair bilgiler sunmuştur (Werner ve Grose, 2003). Ayrıca, genetik çalışmalar da endojen büyüme faktörlerinin yara iyileşme sürecindeki işlevlerini araştırmıştır (Werner ve Grose, 2003). Büyüme faktörleri ve sitokinler, yara iyileşmesinin farklı aşamalarında önemli roller oynar. Proliferasyon evresinde, büyüme faktörleri ve sitokinler fibroblast göçünü, kollajen sentezini, anjiyogenez ve granülasyon dokusunun oluşumunu etkiler (Martin, 1997). Epitelizasyon evresinde ise büyüme faktörleri ve sitokinler keratinositlerin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyarır, büyüme faktörleri ve sitokinlerin kullanımı, yara iyileşmesini hızlandırmak ve iyileşme sürecini iyileştirmek için potansiyel bir tedavi stratejisi olarak araştırılmaktadır (Martin, 1997; Eming, 2014). Bu faktörler, hücrelerin büyümesini, çoğalmasını ve doku onarımını teşvik ederken, yara iyileşmesinin farklı aşamalarında inflamasyonu düzenler ve doku rejenerasyonunu destekler.

2.7.1. Transforme Edici Büyüme Faktör- β (TGF- β)

Transforme edici büyüme faktör- β , hücre çoğalması, farklılaşması, apoptozisi ve göçü gibi çeşitli hücresel süreçlerde rol alan çok işlevli bir sitokindir. TGF- β sinyalizasyonu, öncelikle Smad proteinlerinin çekirdeğe taşındığı ve gen transkripsiyonunu düzenlediği Smad-bağımlı yol aracılığıyla iletilir (Feng ve Derynck, 2005). Son araştırmalar, hücresel bağlama bağlı olarak TGF- β 'nin hem tümör baskılanmasında hem de ilerlemesindeki rolünü vurgulamaktadır. Kanser erken evrelerinde, TGF- β hücre çoğalmasını inhibe ederek ve apoptozu indükleyerek bir tümör baskılayıcı olarak etki ederken, sonraki evrelerde hücre invazyonunu ve metastazı artırarak tümör ilerlemesini teşvik eder (Syed, 2016). Dahası, TGF- β sinyal yolu, etkilerini düzenleyen MAPK ve PI3K/Akt gibi diğer yollarla etkileşime girerek onu bağlama bağımlı ve karmaşık hale getirir (Zhao ve Chen, 2014).

2.8. Büyüme Faktörleri ve Yara İyileşmesindeki Roller

Büyüme faktörleri, çoğalma, farklılaşma, göç ve hayatta kalma dahil olmak üzere çok çeşitli hücresel süreçleri düzenleyen sinyal molekülleridir. Bu proteinler normal gelişim, doku onarımı ve yara iyileşmesi için gereklidir. Büyüme faktörleri etkilerini, hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak ve çeşitli hücresel tepkilere yol açan hücre içi sinyal kaskadlarını tetikleyerek gösterirler (Moreira ve Marques., 2022). Gelişmiş terapötik ajanların bir sınıfı, fibroblastların ve keratinositlerin büyümesini uyarak akut yaralarda yara iyileşmesini desteklediği gösterilen rekombinant insan büyüme faktörleridir. Ek olarak, EGF, temel FGF-2, TGF- β , PDGF ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi büyüme faktörü seviyeleri kronik yaralarda normal iyileşen akut yaralara kıyasla azalır (Barrientos ve ark., 2008).

Son araştırmalar, büyüme faktörlerinin sağlık ve hastalıktaki çeşitli rollerini keşfetmeye devam ediyor. Örneğin, VEGF ve FGF gibi büyüme faktörleri, doku rejenerasyonu ve kanser ilerlemesi için çok önemli olan yeni kan damarlarının oluşumu olan anjiyogeneizde çok önemlidir. Benzer şekilde, TGF- β hem yara iyileşmesini teşvik etmede hem de düzensiz olduğunda fibrozis ve skarlaşmaya katkıda bulunmada ikili bir rol oynar

(Mitchell ve ark., 2016). Rejeneratif tıp alanındaki gelişmeler de büyüme faktörlerinin terapötik potansiyelinin altını çizmiştir. Örneğin, kronik yaralar, kemik kırıkları ve kardiyovasküler hastalıklar gibi durumlarda doku onarımını artırmak için rekombinant büyüme faktörlerinin verilmesi araştırılmaktadır (Mao ve Mooney, 2015). Biyolojik yara ürünleri, yara iyileşme yanıtının ayrıntılarına ilişkin anlayışımız arttıkça muazzam bir büyüme alanı olmuştur. Normal yara iyileşmesinde, inflamatuvar, proliferasyon ve yeniden şekillenme/olgunlaşma aşamalarından geçen düzenli, öngörülebilir bir sıra vardır. Bu süreç, eikosanoidler, sitokinler, nitrik oksit ve çeşitli büyüme faktörleri dahil olmak üzere çok sayıda hücreyel aracı tarafından yürütülür. Biyolojik yara ürünleri alanı, bu inflamatuvar mediatörleri artırarak veya modüle ederek iyileşmeyi hızlandırmayı amaçlar (Murphy ve Evans, 2012). Yara iyileşmesi aşamalarında önemli görevleri olan faktörler bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri TGF-alfa, FGF, VEGF, İnterlökin (IL) ailelerine aşağıda tabloda yer verilmiştir (Tablo 2.1) (Shah ve ark., 2012). Yara iyileşmesi sürecindeki eksikliklerin giderilmesi ve iyileşme sürecinin hızlandırılmasını teşvik etmek için biyolojik yara ürünleri kullanılmaktadır. Bu ürünler genellikle büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer biyolojik bileşenler içerir. Örneğin, L-prolin içeren topikal krem, basınç ülserlerinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabilir (Şahiner ve Kendirci, 2020). Ayrıca, ozon gazının hastane atık su sistemlerinde dezenfeksiyon için etkili ve güvenilir bir yöntem olduğu gösterilmiştir (Gürsoy ve Özerol, 2018).

2.8.1. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

IGF, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve doku yenilenmesini teşvik ederek yara iyileşmesinde kritik bir rol oynar. Özellikle IGF-I'in, yara onarımında çok önemli süreçler olan keratinosit göçünü, yara kasılmasını ve epitelizasyonu artırdığı gösterilmiştir (Garoufalia ve ark., 2021). Son araştırmalar, IGF'nin kolajen sentezini uyarma ve IGFBP-1 gibi bağlayıcı proteinlerle birlikte kullanıldığında yara kırma gücünü artırma yeteneğini de vurgulamaktadır (Jyung ve ark., 1994). Ayrıca, IGF sinyali sadece akut yaraların iyileşmesini hızlandırmakla kalmaz, aynı zamanda anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumunu teşvik ederek diyabetik ülserler gibi kronik ve iyileşmeyen yaraların tedavisi için de umut vaat eder (Tsuboi ve ark., 1995). Bununla birlikte, klinik ortamlarda IGF

tedavileri için en uygun dozaj ve dağıtım yöntemlerini tam olarak anlamak için ek çalışmalar gereklidir.

Tablo 2. 1. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinler

(Shah ve ark., 2012)

İsim	Kısaltma	Sınıf	Üretim	Etkinlik
İnterlökinler 1, 6, 8	IL 1, 6, 8	Sitokin	Makrofajlar, keratinositler	Proinflamatuar; fibroblastları ve keratinositleri toplar
İnterlökin 2	IL2	Sitokin	T lenfositler	Fibroblastları harekete geçirir
İnterlökin 4	IL4	Sitokin	T lenfositler	TNF, IL1, IL6'yı inhibe eder, fibroblast proliferasyonunu inhibe eder
Tümör nekroz faktörü alfa	TNF- α	Sitokin	Makrofajlar	Proinflamatuar; kolajen sentezine yardımcı
Epidermal büyüme faktörü	EGF	Büyüme faktörü	Trombositler, makrofajlar, keratinositler	Keratinosit ve fibroblast proliferasyonunu, keratinosit göçünü ve granülasyon dokusu oluşumunu destekler
Fibroblast büyüme faktörleri asidik ve bazik	FGF-a ve b	Büyüme faktörü	Endotel hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar, T lenfositleri	Anjiyogenez, fibroblast kemotaksisine ve proliferasyona neden olur
Keratinosit büyüme faktörleri 1, 2	KGF	Büyüme faktörü	Fibroblastlar	Keratinosit bölünmesini ve farklılaşmasını uyarır
Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF: AA, BB, AB)	PDGF	Büyüme faktörü	Trombositler, makrofajlar; fibroblastlar, endotel hücreleri	Nötrofil ve fibroblast kemotaksisine neden olur; fibroblast proliferasyonu ve matris proteinlerinin, metalloproteinazların sentezi, anjiyogenezi uyarır
Büyüme faktörlerini dönüştürme (alfa ve beta)	TGF- α ve β	Büyüme faktörü	Trombositler, makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler, T lenfositler	Fibroblast ve keratinosit kemotaksisine, anjiyogeneze neden olur; TIMP'yi yukarı düzenler; MMP'lerin ve keratinosit proliferasyonunun üretimini engelleyerek, TGFb üretimini indükler
Vasküler endotelial büyüme faktörleri (peptitlerin bir ailesi)	VEGF	Büyüme faktörü	Endotel hücreleri, keratinositler, trombositler, makrofajlar, fibroblastlar	Anjiyogeneze neden olur (endotel hücreleri için mitojeniktir). Hipoksi varlığında ifade artar
Metalloproteinazın doku inhibitörü	TIMP	Enzim	Çoğu mezenkimal hücre	MMP'leri inhibe eder
Matriks metalloproteinazlar	MMPs	Enzimler	Monositler, makrofajlar, endotel hücreleri	Ekstraselüler matrisi bozar

2.8.2. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF), doku onarımı için gerekli olan hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve göçünü teşvik ederek yara iyileşme sürecinde çok önemli bir rol oynar. Özellikle, bazik fibroblast büyüme faktörünün (bFGF) anjiyogenezi, granülasyon dokusu oluşumunu ve yeniden epitelizasyonu önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir; bunların tümü etkili yara iyileşmesi için hayati önem taşımaktadır. Son çalışmalar, bFGF'nin diyabet ve yetersiz beslenme gibi koşullar nedeniyle bozulmuş olanlar da dahil olmak üzere çeşitli yara modellerinde iyileşmeyi hızlandırabileceğini göstermektedir (Okumura ve ark., 1996; Sato ve ark., 2020). Ek olarak, bFGF hem akut hem de kronik yaralarda başarılı bir şekilde uygulanmıştır ve özellikle sürekli salınımlı formülasyonlar gibi gelişmiş ilaç dağıtım sistemleri aracılığıyla verildiğinde iyileşme sürelerini azaltma ve doku kalitesini iyileştirme konusunda umut vaat etmektedir (Akita ve ark., 2013). Bu da FGF'yi, özellikle iyileşme bozukluğu olan hastalarda yara iyileşmesini arttırmak için değerli bir terapötik ajan haline getirmektedir.

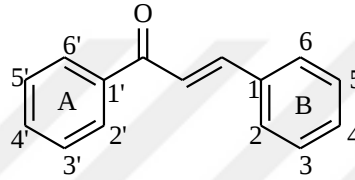
2.8.3. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) keşfedilen ilk büyüme faktörleri arasındadır ve EGF daha büyük bir öncülden proteoliz yoluyla türetilen 53 amino asitli bir polipeptittir (Leahy, 2004). Epidermal büyüme faktörü (EGF), yeniden epitelizasyon ve yeni bağ dokusu oluşumunun anahtarı olan keratinositlerin ve fibroblastların çoğalmasını uyararak yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir. Dahası, son çalışmalar EGF'nin topikal olarak uygulandığında hem akut hem de kronik yaralarda iyileşmeyi artırabileceğini göstermiştir, ancak kısa yarı ömrü klinik ortamlardaki etkinliğini sınırlamıştır (Wöltje ve ark., 2018). EGF'nin yara bölgelerindeki stabilitesini ve biyoyararlanımını iyileştirmek için EGF fonksiyonlu malzemeler ve sürekli salınımlı formülasyonlar gibi yeni ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Bu gelişmeler, iyileşmeyi hızlandırma, yara izi oluşumunu azaltma ve karmaşık yaraları olan hastalar için genel sonuçları iyileştirme konusunda umut verici sonuçlar ortaya koymuştur (Wei ve ark., 2022). Gentamisin ve EGF ile modifiye edilmiş nanofiröz iskelelerden salınan EGF, diyabetik fare modelinde daha hızlı yara iyileşmesine neden olmuştur (Dwivedi ve ark., 2018).

2.9. Kalkonların Genel Yapısı ve Önemi

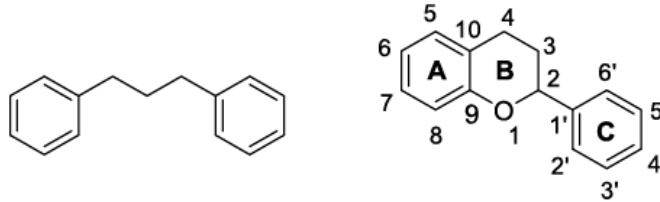
α , β doymamış karbonil bağlantısından oluşan doğal ürünlerin sentezini ilk kez Kostanecki ve Tambor, bildirdiler ve bunlara "kalkonlar" adını verdiler (Kostanecki ve Tambor, 1899).

Kalkon ifadesi 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısı içeren bütün bileşikler için kullanılır. Kalkon yapısındaki iki halkadan keton grubuna komşu olanı A simgesi ile gösterilir ve karbonlar numaralandırılırken üssü (') numaralar verilir. Diğer aromatik halka ise B ile simgelenir ve normal numaralandırma yapılır. (Şekil 2.3) (Narwal, 2021).



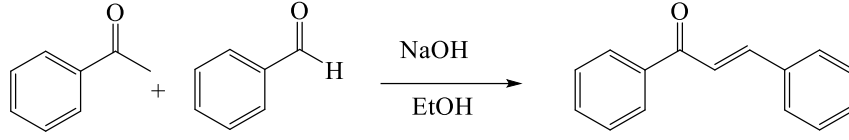
Şekil 2. 3. Kalkonun Yapısı ve Gösterimi

Flavonoid bileşenleri, iki fenil halkasının bir propan zinciri aracılığıyla birleşmesi sonucu oluşan 15 karbonlu 1,3-difenilpropan iskeletine sahiptir. Bu iskelet yapısı, propan zincirinin oksijen atomu aracılığıyla fenil halkalarından birine bağlanmasıyla heterosiklik bir yapıya dönüşebilir. Oluşan bu yapıda fenil halkaları A ve B harfleriyle gösterilirken, hetero halka ise C harfi ile temsil edilmektedir (Şekil 2.4) (Gacche ve ark., 2015).



Şekil 2. 4. Flavonoid Yapı İskeletleri ve Numaralandırma Sistemi

Kalkonların sentezinde en sık kullanılan yöntem, Claisen-Schmidt kondenzasyonudur. Bu yöntemin temeli bazik ortamda asetofenon ve benzaldehit türevlerinin etkileşmesine dayanır (Gürdere, 2021; Narwal, 2021) (Şekil 2. 5).

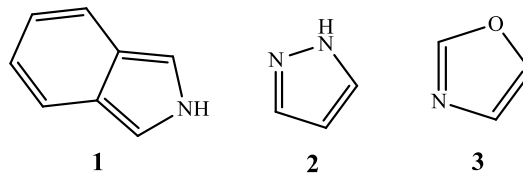


Şekil 2. 5. Claisen-Schmidt Kondenzasyonu ile Kalkonların Sentezi

Literatürde kalkonların sentezi için farklı katalizörler ve yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiş sentezlerde bulunmaktadır (Babu ve Perumal, 1997; Sebti ve ark., 2001). Kalkonlar, çeşitli fonksiyonel grupların (ariller, halojenler, hidroksiller, karboksil, fenil vb.) eklenmesiyle biyolojik olarak daha etkili, geniş bir ilaç tasarım spektrumu sergilemektedir (Gomes ve ark., 2017).

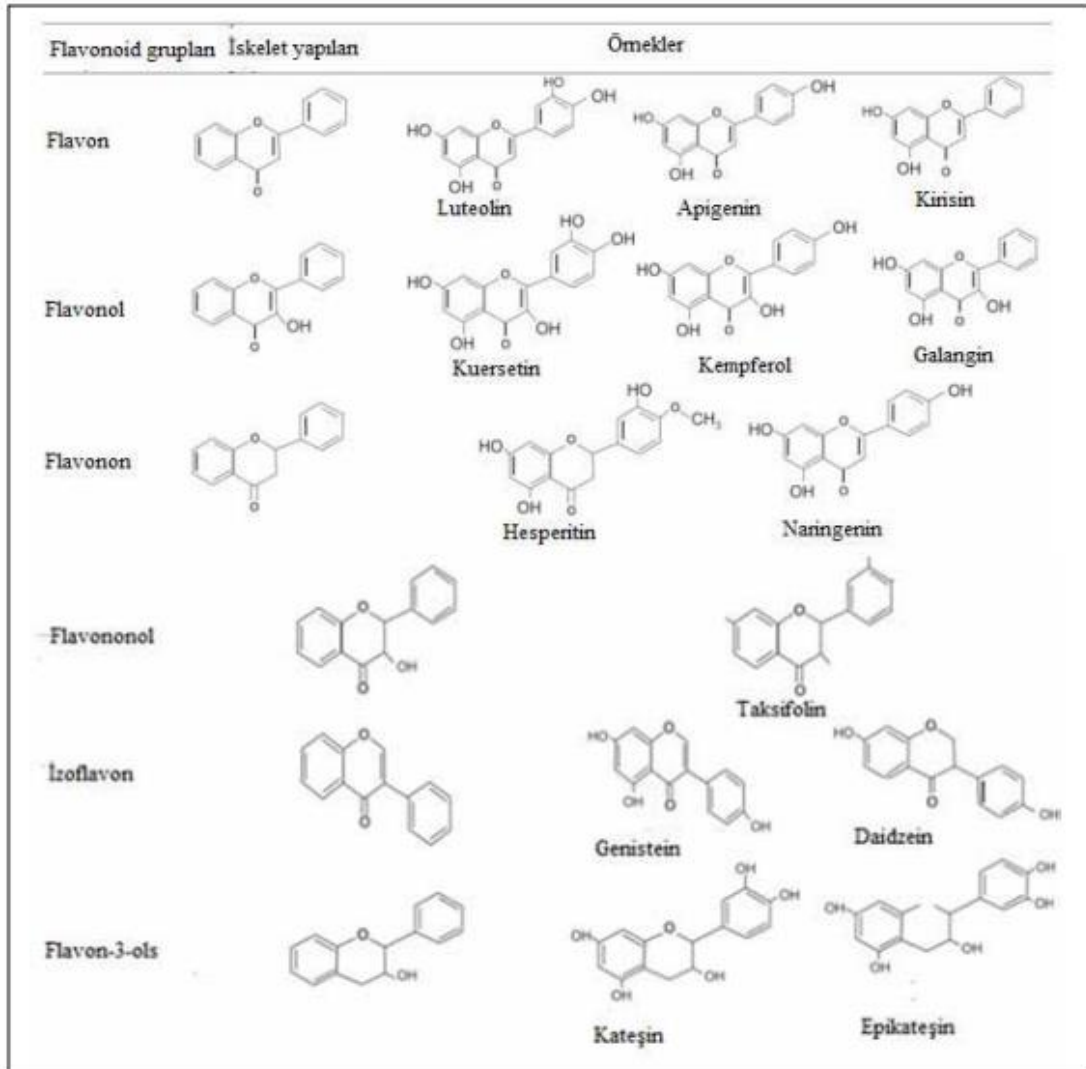
Kalkonlar, çeşitli fonksiyonel grupların (ariller, halojenler, hidroksiller, karboksil, fenil vb.) eklenmesiyle biyolojik olarak daha etkili, geniş bir ilaç tasarım spektrumu sergilemektedir (Gomes ve ark., 2017).

Heteroatom içeren isoindol (1), pirazol (2) ve isoksazol (3) çekirdekleri (Şekil 2.6), biyolojik ve fizyolojik etkileri nedeniyle sağlıkla ilgili ürünlerin üretiminde, kozmetik sektöründe ve tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu moleküler yapılar, çeşitli biyolojik aktiviteleri sayesinde çok çeşitli alanlarda uygulama bulmaktadır (Ertürk, 2014). Kalkonlara katılmalar ile bu bileşikler kolayca sentezlenebilmektedir



Şekil 2. 6. Heteroatom İçeren İsoindol (1), Pirazol (2) Ve İsoksazol (3) Çekirdekleri

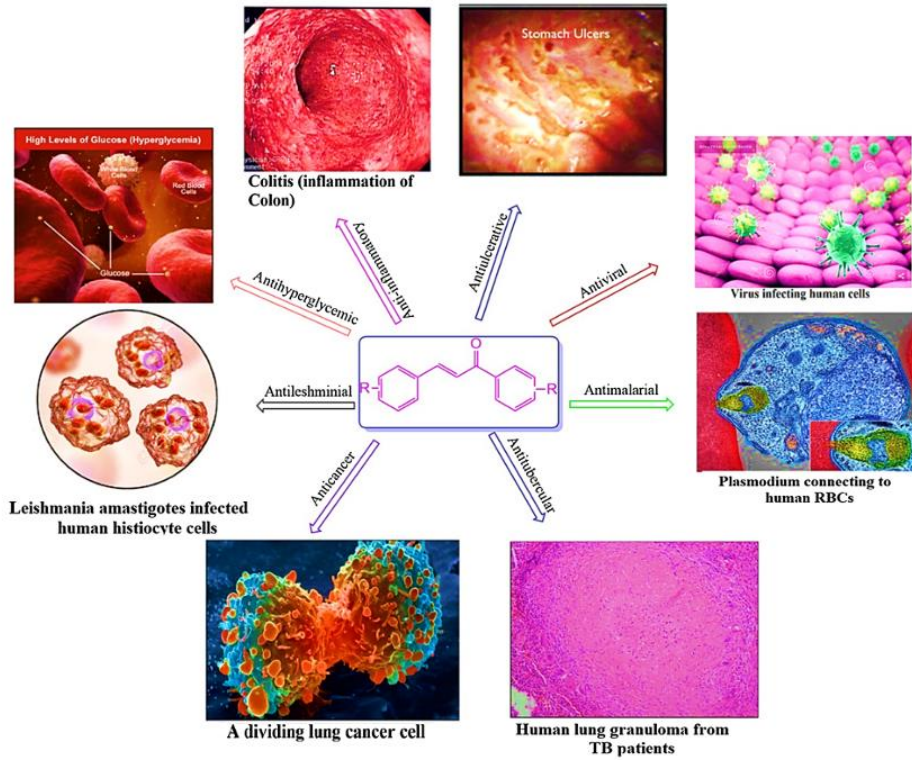
Flavonoidler, yapısal değişikliklere bağlı olarak kalkonlar, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyanidinler ve izoflavonoidler gibi çeşitli alt tiplere ayrılabilirler. Bu yapıların farklı şekillerde düzenlenmesi ve halkalara farklı substitüentlerin bağlanması sonucunda flavonoidlerin başlıca üyeleri ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.7) (Yadav ve ark., 2011). Doğal olarak bulunan kalkonların çoğunda aril halkalarında polihidroksil gruplar bulunmaktadır. Bu fenolik gruplar, kalkonların veya kalkon bakımından zengin bitki ekstraktlarının antioksidan özellikleri nedeniyle ilaç veya gıda olarak potansiyel kullanımını artırmıştır (Narwal ve ark., 2024).



Şekil 2. 7. Flavonoidlerin yapısı
(Kumar ve Pandey, 2013)

2.9.1. Kalkonların Doku Düzeyinde Etkileri

Kalkon ailesinin üyeleri aynı zamanda anti-kanser (Burmaoglu ve ark., 2016, Kocyigit ve ark., 2019) dâhil olmak üzere anti-inflamatuar (Mahapatra ve ark., 2017), antihipertansif (Bonesi ve ark., 2010), anti-diyabetik (Fernandes ve ark., 2020), kanser kemopreventif (Chen ve ark., 2015), anti-oksidan (Chen ve ark., 2019), antiülser (Sashidhara ve ark., 2015), anti-mikrobiyal (Henry ve ark., 2020), anti-leishmanial (de Mello ve ark., 2018) ve anti-malaryal (Cheng ve ark., 2020) antiviral (Shi ve ark., 2016, Mahapatra ve ark., 2015), antioksidan (Shenvi ve ark., 2013), antigut (Mahapatra ve ark. 2019), antianjiyojenik (Mahapatra ve ark. 2020) gibi biyolojik aktiviteleri nedeniyle de oldukça önemli fitokimyasallardır (Gao ve ark., 2020). Bu türevler, benzer kimyasal yapıya sahip olmalarına rağmen, hücresel aktivitelerinin mekanizmaları önemli ölçüde farklılık gösterir (Yadav ve ark., 2011; Dimmock ve ark., 1999; Go ve ark., 2005) (Şekil 2.8). Nowakowska'ya göre, bazı kalkon türevleri, ksantin oksidaz, aldoz redüktaz, epoksit hidrolaz, protein tirozin kinaz ve kinon redüktaz gibi önemli enzimleri inhibe etme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Nowakowska, 2006).

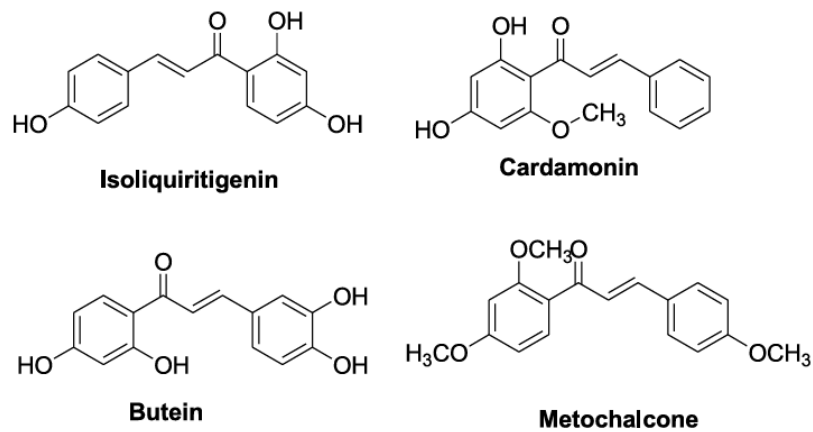


Şekil 2. 8. Kalkonların bazı hücresel aktiviteleri (Rashid ve ark., 2019)

Kalkon, biyoaktif doğal ürünlerde ve farmasötiklerde sıklıkla görüldüğünden, büyük terapötik etkiye sahip ilaç geliştirmede en popüler yaklaşımlardan biri haline gelmiştir (Iqbal ve ark., 2014; Narwal ve ark.,2017). Daha da önemlisi, birkaç kalkon bileşiği, çeşitli sağlık koşulları için klinik kullanım için onaylanmıştır (Örneğin, metokalkon-koleretik/diüretikler olarak; kanepelkon bazlı ülser önleyici/mukoprotektifler; ve kalkonların klinik potansiyelini örnekleyen hesperidin metilkalkon-vasküler koruyucular) (Jandial ve ark., 2014; Zhou, 2015; Andrade ve ark., 2017; Miao ve ark., 2017).

2.9.2. Kalkonların Farmokolojik Etkileri

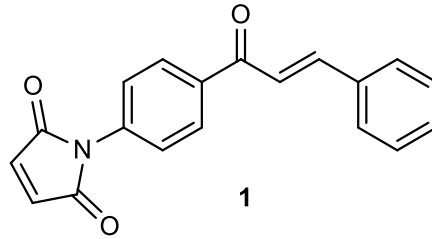
İyi bilinen doğal kalkon içeren ilaçlardan bazıları Butein (Antikanser ve anti-inflamasyon özelliği), Xanthohumol (antibakteriyel, antikanser ve anti-HIV ajanı), Isoliquiritigenin (Anti-kanser, kemoprotektif, anti-inflamatuvar ve antioksidan özellik), Kardamonin (ATP difosfohidrolaz), likokalkon (Anti-inflamatuvar, Anti-kanser aktivitesi), Metokalkon (koleretik ajan), sofalkon (anti-ülser ajan), Hesperidin trimetilkalkon (kronik venöz lenfatik yetmezliği tedavi etmek için kullanılır) ve hesperidin metilkalkon (dal veya gövde varikozu incelenir) (Şekil. 2.9) (Iqbal, ve ark., 2014; Gomes, ve ark., 2017).



Şekil 2. 9. Biyolojik Özelliklere Sahip Kalkon Türevlerinin Ticari Formülasyonları.

Kortikosteroidler, antikoagülanlar, antineoplastik ilaçlar, penisilamin ve siklosporin-A gibi ilaçlar yara iyileşmesini negatif yönde etkileyebilir. Özellikle kortikosteroidler, enflamasyonu ve protein ile kollajen sentezini azaltmanın yanı sıra epidermal proliferasyonu da engelleyebilir; ayrıca vazokonstrüktif etkileri nedeniyle doku iskemisine yol açabilirler (Aygin ve ark., 2021). Maleimid ve dibromomaleimid bazlı kalkonlar sentezlenmiş ve antibakteriyel özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca, kalkonlar çeşitli kanser türlerine karşı sitotoksik aktiviteleri açısından araştırılmıştır (Radwan ve ark., 2021). Koçyigit ve grubu çalışmalarında, sentezledikleri kalkon ve kalkon imid türevlerinin iyi sitotoksik özellikler, anti-bakteriyel aktiviteler ve hCA I, hCA II ve AChE inhibitör etkileri gösterdiğini açıkça göstermişlerdir (Kocuyigit, 2018). Kemoterapi ilaçlarının normal hücrelere karşı sitotoksik etkileri nedeniyle güçlü yan etkiler oluşturması üzerine, maleimid içeren çeşitli sitotoksik bileşikler sentezlenmiş olup, bu bileşikler arasında kalkon-imid türevlerinin insan CEM T lenfositleri, Molt 4/C8 ve fare L1210 hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktiviteleri belirlenmiş ve tanımlanmıştır (Jha A., 2007).

Jha ve arkadaşları bir dizi (4-((E)-3-arylakrilil) fenil)-1H-pirol-2,5-dion türevi sentezlemiş ve bu amino kalkon türevlerinin sitotoksik özelliğinin olduğunu fareler üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda kanıtlamıştır (Jha, 2007). (Şekil. 2.10).



Şekil 2. 9. Amino Kalkon Türevi

Son yıllarda, kalkon ve türevleri, büyük ilgi görmüş ve özellikle biyolojik etkileri üzerinde araştırmalar yürütülmüştür. Bir ketovinil grubuna sahip olan birçok bileşiğin önemli biyolojik aktivite gösterdiği bilinmektedir, bu da geniş bir araştırma alanı

oluşturur. Kalkonlar da bu tür bileşikler arasında yer alır ve sergiledikleri biyolojik etkiler sayesinde bu alandaki araştırmaların hızla artmasına yol amaktadır.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Malzemeler

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalarımızda kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, genel olarak Sigma-Aldrich ve Merck şirketlerinden tedarik edilmiştir.

- DMSO (SigmaAldrich)
- Etanol (SigmaAldrich)
- Tiyobarbitürik asit (SigmaAldrich)
- Etil asetat (SigmaAldrich)
- 2,4 DNPH (SigmaAldrich)
- % 30 H₂O₂ (Merck)
- HCl (Merck)
- Na₂CO₃ (SigmaAldrich)
- NaOH (SigmaAldrich)
- %20“lik Asetik Asit (Merck)
- Bütanol (SigmaAldrich)
- Cd Granülleri(SigmaAldrich)
- Sodyum Azid (SigmaAldrich)
- Tris-Baz (SigmaAldrich)
- Tris-HCl (SigmaAldrich)
- Na₂ EDTA (Merck)
- Ksantin (SigmaAldrich)
- CuSO₄ (SigmaAldrich)
- Ksantinoksidaz (SigmaAldrich)
- N-naftiletilendiamine (NNDA)- (SigmaAldrich))

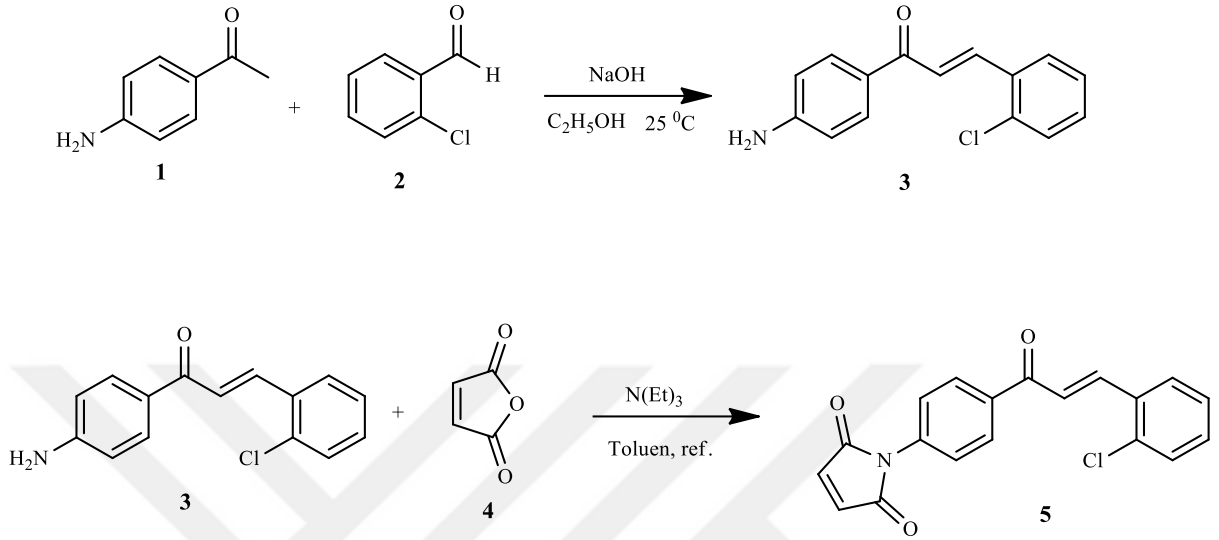
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Otomatik pipet (Gilson)
- Pastör pipeti (isolab)
- Pipet uçları (1000 ve 100)
- Spektrofotometre (Techcomp UV-1000)
- Cam kalemi
- Enjektör
- Mezür (25ml,50 ml,100 ml,250 ml,500 ml)
- Fotoğraf makinesi
- Hassas terazi (Denver instrument)
- Homojenizatör düzeneği (ika t18 basic ultra turraxhomogenizer)
- HettichRotanto 460 R santrifüj cihazı
- Hettichuniversal 32R santrifüj cihazı
- Kronometre (Clip)
- Manyetik karıştırıcı (Velp)
- Su banyosu (Medingen SWB 200)
- Vorteks (Velp)
- Buzdolabı (Vestel)
- Distile su ve ultra saf su cihazı (PURELAB Option-QMilliporeElga DV25)
- pH metre (Templog)
- Organon Teknika Microwell System (ELISA)

3.2. Kalkon-imid Sentezi

İlk olarak çalışmada kullanacağımız kalkon-imid türevi olan (E)-1-(4-(3-(2-klorofenil)akriloil)fenil)-1H-pirol-2,5-dion (5) bileşiğinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Çalışmanın ilk aşamasında kalkon ve isoindol (1) birimlerini içeren bileşikler sentezleyebilmek için çıkış bileşikler sentezlenmiştir. Deneyde p-aminoasetofenon ile o-klorbenzaldehit Claisen-Schmidt yöntemiyle katılarak kalkon sentezi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen kalkon (3) bileşiği maleik anhidritle (4) tepkimeye sokularak kalkon-imid bileşiğinin (5) sentezi yapılmıştır. Yara iyileşmesi aşamasında kullanılan kalkon-imid bileşiğinin sentezi Organik Sentez ve Kataliz Laboratuvarı

tarafından gerçekleştirildi (Kocyigit ve ark., 2018). Sentezlenen bileşiklerin yapı tayini ¹H- ve ¹³C-NMR spektrumları yardımıyla yapılmıştır.



Şekil 3. 1. Kalkon-imid Türevi (E)-1-(4-(3-(2-klorofenil)akriloil)fenil)-1H-pirol-2,5-dion (5) Bileşiğinin Claisen-Schmidt Yöntemiyle Sentezi

3.3. Hayvan Grupları

Bu çalışma TOGÜ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deneysel Tıp Araştırma Birimi (DETAB) Laboratuvarında, Üniversitemizin Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne uygun olarak deney hayvanları bakım ve kullanım kurallarına bağlı kalınarak Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nden Etik Kurul onayı (2019 HADYEK-03) alınarak veteriner hekim kontrolünde yapılmıştır.

Çalışma için 220-250 gr ağırlığında sağlıklı erişkin minimum 4 aylık (n= 49 adet) sağlıklı erişkin erkek wistar albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar plastik kafeslerde, her kafeste 7 hayvan bulunacak şekilde barındırılmıştır. Bütün hayvanlar standart laboratuvar diyeti ile beslenmiştir ve içme suyu isteklerine göre her zaman içebilecekleri şekilde bulundurulmuştur. Kafeslerde normal aktivitelerini yapabilen sıçanlar 22 ± 2°C, nem (%50-70) ve 12 saat gece/gündüz olarak ayarlanmış odalarda tutulmuştur. Tüm hayvanlar

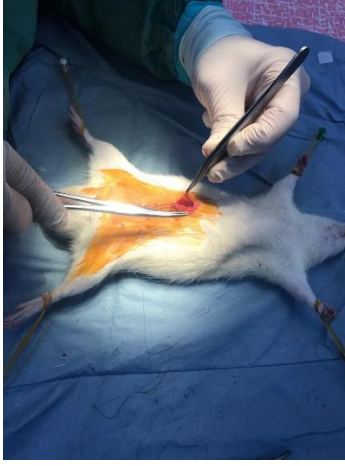
araştırma öncesi birkaç gün sağlıklı olup olmadıklarını gözlemlemek açısından gözlem altında tutulmuştur.

Çalışmaya başlamadan önce sıçanlar rastgele yöntemle yapılacak işlemlere göre 7 gruba ayrılmıştır.

- **Kontrol grubu.** Herhangi bir deneysel işlem uygulanmamıştır.
- **Grup 2 (1.Şam grubu):** Çözücü olarak kullanılan DMSO %1 oranında sıçanlara IP (intraperitoneal) yolla verilip 7.günün sonunda sakrifiye edilmiştir.
- **Grup 3 (2.Şam grubu):** Çözücü olarak kullanılan DMSO %1 oranında sıçanlara IP yolla verilip 14.günün sonunda sakrifiye edilmiştir.
- **Grup 4:** Batın duvarı laparotomi ile açılmış ve 25 mg/kg-Kalkon uygulanmış ve 7.günün sonunda sakrifiye edilmiştir.
- **Grup 5:** Batın duvarı laparotomi ile açılmış ve 50 mg/kg-Kalkon uygulanmış ve 7.günün sonunda sakrifiye edilmiştir.
- **Grup 6:** Batın duvarı laparotomi ile açılmış ve 25 mg/kg-Kalkon uygulanmış ve 14.günün sonunda sakrifiye edilmiştir.
- **Grup 7:** Batın duvarı laparotomi ile açılmış ve 50 mg/kg-Kalkon uygulanmış ve 14.günün sonunda sakrifiye edilmiştir.

3.4. Cerrahi İşlemler

Cerrahi teknikler tamamen steril koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Tüm denekler cerrahi girişimden önceki 12 saat boyunca aç bırakılmıştır. Deneklere 90 mg/kg subkutan ketamin-ksilazin anestezisi uygulandıktan sonra karın ön duvarı tıraşlanıp povidoniod ile temizlenmiştir. Ardından steril örtü ile kapatılıp ksifoidden başlayan 3 cm'lik orta hat insizyonu ile batın açılmış ve kalkon uygulanmıştır (Şekil 3.2). Şam grupları aynı işlemlerden sonra laparotomi yapılmış ve %1 DMSO uygulanmıştır. İşlem sonrası Laparotomi ve şam gruplarında batın 3/0 ipek ip ile devamlı olarak kapatılarak işleme son verilmiştir.



Şekil 3. 2. Karın Ön Duvarı Açılarak Kalkon Uygulaması Yapılan Sıçanlar



A



B

Şekil 3. 3. Sıçanların 7. Ve 14. Günde İyileşme Durumu

Sıçanlar 7. gün (A) ve 14. günün (B) sonunda anestezisi altında, intrakardiyak yolla kanları alınarak feda edildi.

3.5. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması

Tüm araştırma gruplarında Histolojik ve Biyokimyasal incelemeler için doku örnekleri batın duvarı, batın duvarı skarı, kolon duvarı ve kolon duvarı skarı bölgelerinden alındıktan sonra intrakardiyak olarak yaklaşık 5 mL kan alarak hayvanlara ötenazi yapılmıştır (Şekil 3.3). Histolojik inceleme için alınan doku örnekleri %10 formaldehit

içinde saklanmıştır. Diğer doku örnekleri sıvı azot ile dondurularak -80°C'de saklanmıştır. Kan örnekleri plazmaları elde edilerek -80°C'de saklanmıştır. 7. günün sonunda ilk grupların ve 14. günün sonunda da diğer grupların çalışması sonlandırılmıştır. Sıçanlar ketamin-ksilazin anestezisi altında, intrakardiyak yolla kanları alınarak feda edilmiştir. Alınan kan örnekleri 4000xg de 5 dk santrifüj edilerek serum elde edilmiştir. Ayrıca sıçanların periton dokuları alınmıştır. Alınan örnekler biyokimyasal analiz için en kısa sürede biyokimya laboratuvarına ulaştırılarak çalışma zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Alınan periton dokusunun homojenizasyonu sonucu elde edilen homojenatlardan MDA düzeyi, santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlardan ise SOD ve GSH-Px enzim aktivitesi çalışılmıştır. Enzim Bağlantılı İmmüno-sorbent Yöntem Testi (ELISA) ile çalışmak için ayrılan doku örnekleri homojenizasyon işlemine geçmeden önce dokulara 0,5 gr/10 hacim (ağırlık/hacim 1: 10) 0,01 N pH= 7,2-7,4 fosfat tamponu eklenmiştir. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dk. boyunca homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenatlar 3208xg de +4 °C de 20 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar alınmıştır. Bu süpernatantlardan IGF-I, EGF, FGF, TGF- β doku ve serum düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

3.6. Biyokimyasal İnceleme

3.6.1. Periton Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi

Periton doku örnekleri 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl (pH= 7,4) tampon kullanılarak, buz içinde, soğuk ortamda homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojenatlarda MDA düzeyi belirlenmiştir. Homojenatların bir kısmı ise, soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 2456xg'de 30 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiştir. Elde edilen süpernatantlardan GSH-Px düzeyi belirlenmiştir. SOD aktivitesini belirlemek için süpernatantın bir kısmı, kloroform/etanol karışımıyla (1/1, v/v) homojenize edilmiş ve 1372xg hızında +4°C'de 40 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üstte oluşan etanol fazı, protein düzeyleri ve SOD enzim aktivitesi için analiz edilmiştir, protein tayini ise Lowry yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Sun Y. ve ark., 1988; Lowry O. H., ve ark., 1951).

3.6.2. Doku Protein Miktarının Belirlenmesi

Bakır-protein kompleksi, alkali çözelti içinde fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifi) indirgeyerek yoğun koyu mavi bir renk oluşturur. Oluşan bu renk, çözeltideki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Folin reaktifi asidik ortamlarda stabil olmakta ancak bahsedilen redüksiyon işlemi alkali pH'de (pH=10) gerçekleşmektedir. Bu sebeple Folin reaktifi, alkali bakır-protein çözeltisine hızla eklenmeli ve iyice karıştırılmalıdır, böylece reaktifin parçalanmadan önce redüksiyon olayı tamamlanmış olur (Lowry ve ark., 1951).

Kimyasallar: Bovine serum albumin, Folin-Ciocalteu's fenol reaktifi, Na₂CO₃, NaOH, CuSO₄.

Yöntem: Bilinen konsantrasyondaki bovine serum albumin çözeltilerinden elde edilen standart bir grafiği kullanarak, optik dansite (OD) değerleri ile mg/ml protein konsantrasyonu arasında bir ilişki belirlenmiştir. Örnek tüplerine 0,01 mL numune eklenmiş ve üzerlerine 0,49 mL distile su ilave edilmiştir. Kör tüpüne ise 0,5 mL distile su eklenmiştir. Hazırlanan ölçüm reaktifi 2,5 mL olarak deney tüplerine dağıtılmış ve tüpler iyice karıştırılmıştır. Karıştırılan tüpler 10 dakika boyunca inkübasyona alındıktan sonra, deney tüplerine 0,25 mL hazırlanan Folin-Ciocalteu fenol reaktifi eklenmiş ve tekrar 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin sonunda, standartlar ve örnekler 700 nm dalga boyunda, kör karşısında ölçülmüştür (Mertoğlu., 2013).

Hesaplama Protein (mg protein/ml) = grafikten okunan değer x faktör F (faktör) = standart hacmi (0,5 ml)/ numunenin hacmi (0,010 ml) = 50

Not: Faktör değeri kullanılan numune miktarına göre değişir. Numune miktarı değişirse, distile su hacmi ile ters orantılı olarak tüpe ilave edilir.

3.6.3. Malondialdehit Düzeylerinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA'dır ve tiyobarbitürik asit (TBA) ile 90°C'de reaksiyona girerek renk değiştirir ve pembe renkli bir kromojen oluşturur. Oluşan pembe

renkli bileşiğin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçümü yapılarak MDA düzeyi belirlenmiştir (Mertoğlu, 2013; Esterbaue ve Cheeseman, 1990).

Kimyasallar: %0,675'lik (ağırlık/hacim) Tiyobarbitürik asit (TBA), %10'luk (ağırlık/hacim) trikloro asetik asit (TCA), stok standart solüsyonu (1,1,3,3 tetrametoksipropan)

Yöntem: Cam deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA konulduktan sonra üzerlerine 0,5 ml numune ilave edilerek vorteksle karıştırılmıştır. Elde edilen karışımların kapakları kapatılarak 15 dk. Boyunca 90 °C'de inkübasyonda bırakıldıktan sonra soğuk suda soğutulularak 1800 x g'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlardan ayrı tüplere 2 ml alınarak üzerlerine %0,675'lik TBA ilave edilmiş ve tekrar 15 dakika 90 °C'de inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon süresi dolduktan sonra soğuk su altında soğutulan numuneler, 532 nm'de köre karşı okutulmuştur. Kör tüpüne numune yerine 0,5 ml distile su konularak aynı işlemler yapılmıştır.

Hesaplama MDA (nmol/ g.yaş doku) = (Örnek OD/Standart OD) x Standart Konsantrasyonu

3.6.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Sun ve diğerleri tarafından geliştirilen yöntemle dayanarak, Durak ve meslektaşlarının yaptığı modifikasyonlarla belirlenmiştir. (Sun ve ark., 1988; Mertoğlu, 2013; Durak ve ark., 1993).

Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantinoksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin, nitro blue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanarak tespit edilmektedir. Oluşan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon bileşiğini oluşturur. Meydana gelen kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Ortamda enzim yoksa bu indirgenme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. SOD varlığında NBT'nin indirgenmesi gerçekleşmez ve dolayısıyla mavi-mor renk oluşmaz; bu reaksiyon enzim miktarı ve aktivitesine bağlı olarak açık bir renk oluşturur. Bu bağlamda, SOD enzim aktivitesi, NBT'nin indirgenmesini %50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

Kimyasallar: 400 mmol/L Na₂CO₃, 1 g/L bovine serum albumin, 2 M (NH₄)₂SO₄, 0,8 mmol/L CuCl₂, 150 µmol/L NBT, 0,3 mmol/L xanthine, Xanthineoxidase (XO), 0,6 mmol/L EDTA(2 Na tuzu).

Yöntem: Deney tüplerine başlangıçta 2,85 mL SOD reaktifi eklenmiştir. Üzerlerine 0,1 mL numune ekstraktı ilave edilmiş, kör tüpüne ise 0,1 mL distile su eklenmiştir. Ardından, tüm karışımlara 0,05 mL ksantinoksidaz eklenmiş ve hızlıca karıştırılmıştır. Bu karışımlar oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyona alınmıştır. Inkübasyon süresi sonunda, tüpler hemen stop solüsyonu olarak 0,1 mL bakır klorür ile durdurulmuş ve numuneler 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Hesaplama:

% inhibisyon = [(Absorbans kör (K) - Absorbans Örnek {Ö}) / K x 100

% 50'lik inhibisyona 1 U denildiği için

Aktivite (U/ml) = [(% inhibisyon/50) x (1 /0,1)] ml.

U/ml = [(K-Ö) / K] x 20 x 5 (dilüsyon faktörü)

Spesifik aktivite (U/ mg protein) = [U/mL/ mg/ml protein]

3.6.5. GlutasyonPeroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

GSH-Px enzim aktivitesi, hidrojen peroksit bulunan bir ortamda GSH'ın oksidatif glutasyon (GSSG) haline dönüşümünü katalizler. Oluşan GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a indirgenir. Bu redüksiyon sürecinde NADPH'ın NADP⁺ forma oksitlenmesi, 340 nm dalga boyunda ölçülen absorbans seviyesinde bir azalmaya neden olur ve bu azalma, GSH-Px aktivitesinin bir göstergesi olarak değerlendirilir. GSH-Px aktivitesi, Paglia ve arkadaşının yöntemine göre belirlenmiştir (Paglia ve Valentine, 1967).

Enzim Ünitesi: NADPH'ın birim zamanda okside olan mikromol miktarıdır.

Kimyasallar: 50 mM H₂O₂, fosfat tamponu (pH = 7,50 mM), GSH-Redüktaz, 3,2 M (NH₄)₂SO₄, 150 mM redükte GSH, 8 mM NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum azid)

Ölçüm Yöntemi: Deney tüplerine 2,650 mL EDTA'lı fosfat tamponu, 0,1 mL redükte glutasyon (GSH), 0,1 mL NADPH, 0,01 mL glutasyon redüktaz, 0,01 mL NaN₃, ve 0,02 mL numune karışımları eklenerek hazırlanmış ve 30 dakika inkübasyona alınmıştır. Ardından, deney tüplerine 0,1 mL hidrojen peroksit eklenmiş ve bu karışımlar 5 dakika boyunca 340 nm dalga boyunda ayarlanmış spektrofotometrede ölçülmüş, numunelerin

absorbans değerleri kaydedilmiştir. Aktivite azalışının lineer olduğu absorbans aralığının 1 dakikalık süresi kullanılarak hesaplama yapılmıştır.

$$\text{Hesaplama (U/L)} = [(\Delta A/t)/6,22 \times 10^{-6}] \times (1 / 0,02)$$

$$\text{Spesifik aktivite U/mg protein} = (U/L) / (1000 \times w)$$

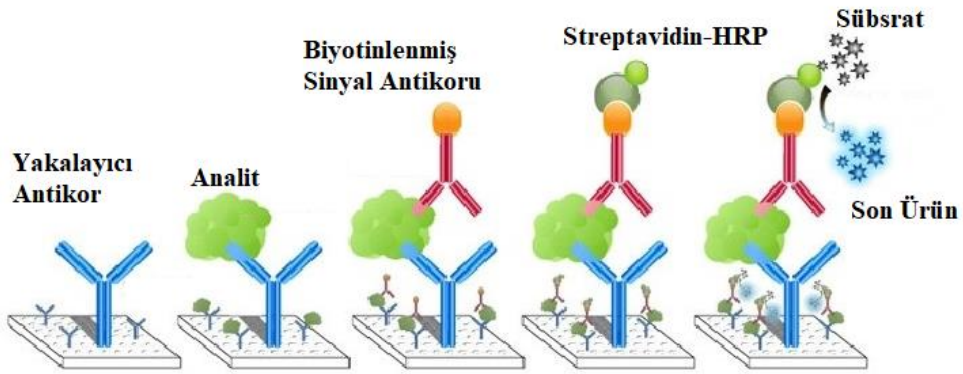
3.7. IGF-I, EGF, FGF, TGF- β Doku ve Serum Düzeylerinin ELISA Yöntemiyle Belirlenmesi

Sıçanların hem periton dokusundan hem de serumlarından IGF-I, EGF, FGF ve TGF- β doku ve serum düzeyleri ELISA kiti kullanılarak sandwich ELISA metodu ile, Organon Teknika Microwell System cihazında üretici firmanın test prosedürüne göre tespit edilmiştir. ELISA kitleri BioassayTechnologyLaboratory'den (China) temin edilmiştir. Kitlerin %CV değerleri 10'un altındadır.

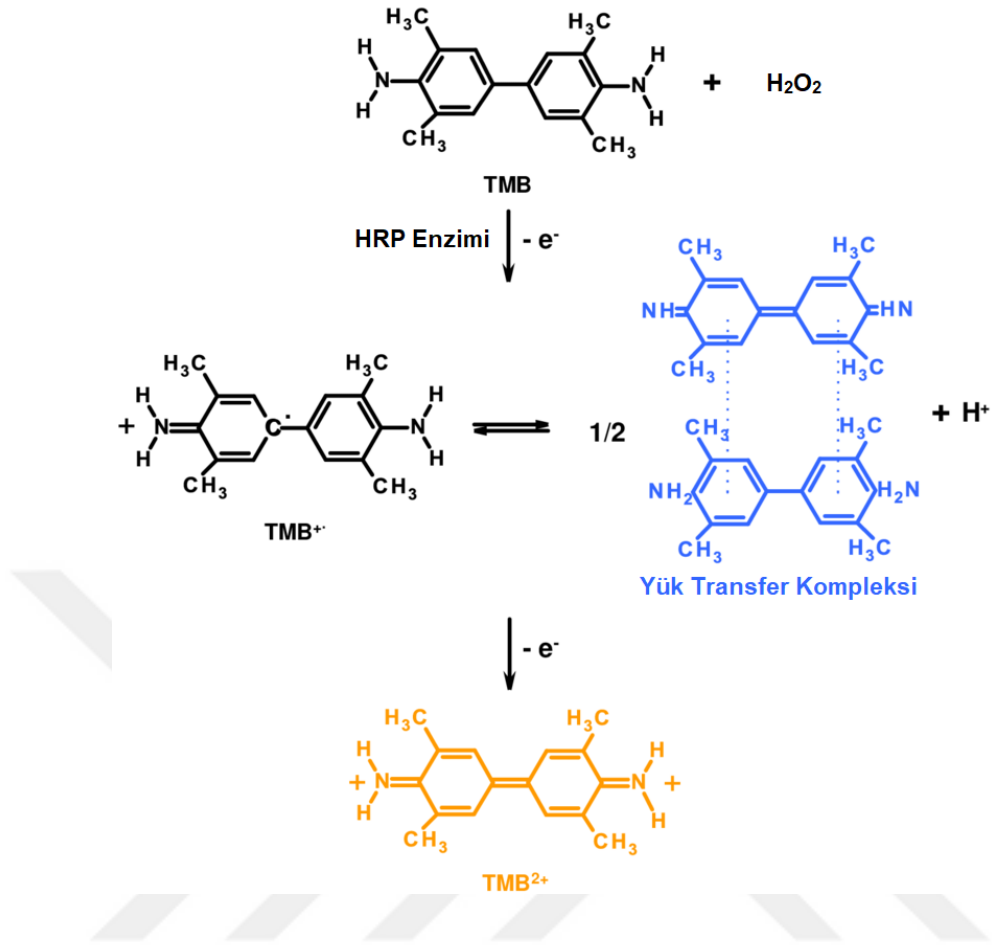
3.7.1. ELISA Ölçüm Yöntemi

IGF-I, EGF, FGF ve TGF- β doku ve serum düzeyi konsantrasyonlarının ölçümünde ELISA yöntemi kullanılmıştır. IGF-I konsantrasyonu Rat Insulin-like GrowthFactor 1 ELISA Kiti (BioassayTechnologyLaboratory (China) Cat. No: E0709Ra) ile, EGF konsantrasyonu Rat Epidermal Growth Factor ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory (China) Cat. No: E0152Ra) ile, FGF konsantrasyonu Rat Fibroblast Growth Factor 1 ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory (China) Cat. No: E2102Ra), TGF- β konsantrasyonu Rat Transforming Growth factor Beta ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory (China) Cat. No: E0778Ra) ile Organon Teknika Microwell System cihazında üretici firmanın test prosedürüne göre tespit edilmiştir. ELISA yöntemi, antijen-antikor etkileşimine dayanır. Bu yöntemde, ELISA mikroploğındaki kuyucukların tabanına, analite özğü yakalayıcı antikorlar bağlanır. Serum veya doku örneği eklendiğinde, analit bu yakalayıcı antikorlarla bağlanır ve ardından yıkama işlemi ile bağlı analit kuyucuklarda tutulur (şekil 3.4). Sonraki aşamada, biyotin ile konjuge edilmiş sinyal antikoru eklenir ve inkübe edilir. İnkübasyonun ardından, analit molekülleri hem yakalayıcı antikorlarla hem de sinyal antikorlarıyla bağlanmış olur; bu komplekse "sandviç kompleksi" denir. Ardından, streptavidin ile bağlı horseradish

peroxidase (HRP) enzimi eklenir. Streptavidin, biyotinle bağlı sinyal antikoruna bağlanarak sandviç kompleksine tutunur, bağlanmayan HRP-streptavidin molekülleri ise yıkama ile uzaklaştırılır. HRP enzimi, 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidine (TMB) ve H₂O₂ ile reaksiyona girerek renkli bir ürün oluşturur. TMB, oksidatif reaksiyon sonucunda mavi renkte bir TMB radikali ve yük transfer kompleksi meydana getirir. Sandviç kompleksinin analit miktarıyla doğru orantılı olduğu düşünüldüğünde, ELISA sonuçlarındaki absorbands değeri analit konsantrasyonunu yansıtır. Bu ilişki, standart  zeltiiler kullanılarak elde edilen absorbands-konsantrasyon grafiğinin denklemi ile belirlenebilir. Bu denklem kullanılarak, bilinmeyen bir örneğin absorbandsı ölçülerek analit konsantrasyonu hesaplanabilir (Crowther, 2009).



şekil 3. 4. ELISA  l m Yöntemi

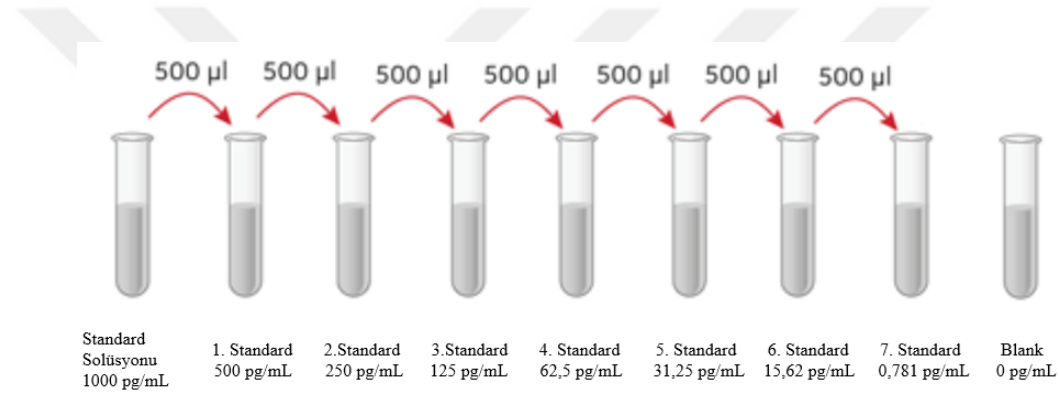


Şekil 3. 5. TMB'nin Oksidasyonu

(Frasca, 2012).

IGF-I, EGF, FGF ve TGF- β ölçümlerinin prosedürleri aynıdır. Ölçüm öncesi yıkama solüsyonu distile su ile 1:25 oranında sulandırılarak hazır hale getirildi. Numunelerin oda sıcaklığına gelmesi sağlanır. Katı haldeki standarda 1 mL standard dilüenti katılarak rekonstrükte edilir ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilip hafifçe çalkalandı. Standart solüsyonu Şekil 3. 6'da ki örnekte olduğu gibi seri dilüsyon standart dilüenti kullanılarak yarı yarıya sulandırılarak 5 farklı konsantrasyonda standartlar elde edildi. Standart dilüenti aynı zamanda blank solüsyonu olarak kullanıldı. 5 standart solüsyonu, blank solüsyonu ve numuneler analite özgü antikorlarla kaplı mikropiğin kuyularına aktarıldı (standart solüsyonu ve blank 50 μ L, numune 40 μ L). Numunelerin üzerine 10 μ L antibody eklendi (standartlar biyotinlenmiş antibody içerdiğinden standartlara eklenmedi). Numune ve standartların üzerine 50 μ L streptavidin-HRP ilave edildi (blank

hariç). Plağın üstü şeffaf yapışkan kağıt (seal) ile kapatıldı ve 37 C°'ta 1 saat inkübasyona bırakıldı. 1 saat sonunda seal kaldırıldı ve kuyuların içindeki sıvı boşaltıldı. Her kuyucuk 0,35 ml yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkandı. Yıkama sonunda kuyuların içinde yıkama solüsyonu kalmadığına emin olundu. Ardından kuyulara 50 µL substrat reaktifi A (Detection Reagent A) ve 50 µL substrat reaktifi B eklendi ve 10 dakika 37 C°'ta karanlıkta mavi renk oluşumu tamamlanana kadar tekrar inkübe edildi. Renk oluştuğunda 50 µL durdurma solüsyonu (Stop Solution) eklendikten sonra sarı renk oluşumu gözlemlendi. Mikroplakta 450 nm dalga boyunda ışık kullanılarak absorbans ölçüldü. Standart konsantrasyonları ve absorbansları kullanılarak standart eğrisi oluşturuldu. Numune konsantrasyonları bu eğrinin denklemi kullanılarak hesaplandı.



Şekil 3. 6. Standart Solüsyonlarının Seri Dilüsyon İle Hazırlanması

Neopterin ölçüm prosedürü diğer ölçümlere benzerdir. Bu prosedürde farklı olarak 5 standart solüsyonu hazırlanır ve kullanılır. Standartlar, blank ve numuneler konulduktan sonra üzerlerine biyotinlenmiş antikor ve streptavidin-HRP katılıp 1 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama işlemini takiben substratlar (Chromogen A ve Chromogen B) katılır ve en az 10 dakika tekrar inkübe edilir. Renk oluştuğunda stop solüsyonu eklenir ve 450 nm dalga boyunda ışık kullanılarak absorbans ölçümü yapılır.

3.8. Toplam Antioksidan Seviyesinin (TAS) ve Toplam Oksidan Seviyesinin (TOS) Ölçümü

Sıçanların serumlarında TAS ve TOS ölçümü, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda 'Beckman Coulter Unicell DxC 800 Synchron Clinical System' cihazında çalışılmıştır.

TAS ve TOS ölçümleri spektrofotometrik yöntem ile Total Antioxidant Status Assay Kit (RelAssay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye, Lot no: AK20113A) ve Total Oxidant Status Assay Kit (RelAssay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye, Lot no: AK201250) kullanılarak yapılmıştır. TOS ölçümünde numunede bulunan oksidanlar, reaktiflerden gelen ferröz iyon (Fe^{+2}) o-dianisidin kompleksini ferric iyon (Fe^{+3}) oksitler. Ferrik iyon, asidik ortamda ksilenol turuncusuyla renkli kompleks oluşturur. 560 nm dalga boyundaki ışıktaki ölçülen absorbans, numunede bulunan oksidan moleküllerinin ferröz iyonu oksitleme kapasitesi ile doğru orantılıdır. Test kalibrasyonu H_2O_2 ile yapılır. Numunedeki oksidan moleküllerin toplam oksitleyici etkisi H_2O_2 'nin oksitleyici etkisi ile karşılaştırılmış olur. Bu nedenle numunenin TOS değeri litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ($\mu mol H_2O_2$ Eşdeğeri / L) birimiyle ifade edilir (Erel, 2005).

TAS ölçümünde numunedeki antioksidan molekülleri reaktifteki koyu mavi-yeşil renkte olan 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) katyon radikalini ($ABTS^{+}$), renksiz olan redükte $ABTS$ 'ye indirger. Test kalibratörü olarak bir vitamin E analogu olan Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) kullanılır. Numunedeki antioksidan moleküllerin toplam redükte edici etkisi Trolox'un antioksidan etkisi ile karşılaştırıldığı için TAS litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri (mmol Trolox Eşdeğeri / L) birimiyle ifade edilir (Erel, 2004).

Oksidatif Stres İndeksi (OSI) ise TOS değeri ile TAS değerinin oranı olan "TOS/TAS" formülü ile hesaplanır. TOS/TAS oranındaki değişikliklerin karşılaştırılması, antioksidan reaktif yanıtların etkilerini ortadan kaldırarak, oksidatif hasarın daha doğru bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanır (Sırmatel ve ark. 2007).

3.9. Histolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme

3.9.1. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Doku örnekleri alındıktan sonra %10'luk nötral tamponlu formalin solüsyonuna konarak 48 saat fiksasyonu sağlanarak örneklendi ve doku takibine alındı. Daha sonra karın duvarı tam kat görüntülenebilecek şekilde parafine gömülerek 4µ kalınlığında kesitler alınıp histokimyasal olarak hematoksilin ve eozin boyaları uygulandı. Kesitler ışık mikroskobu ile incelendi (NikonCi-L©). İmmünohistokimyasal analiz yapılacak kesitler ise deparafinize edildikten sonra Periton dokusu parafin bloklarından lamlara kesitler alınarak aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu.

1. Kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra, 3x10 dakika ksilole alınarak deparifinizasyonları sağlandı.
2. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip Rehidrate (%100, %96, %80, %70) edildi.
3. Kesitleri alkolden arındırılmak amacıyla iki kez 1'er dakika distile sudan geçirildi.
4. Antigen maskesini kaldırmak için 1/10 dilue EDTA tamponu (pH:8) (AP-9004-999 Thermo scientific) PT Modülü (A80400012 LabVision) ile uygulandı.
5. IHC Boyama cihazında rack yuvalarına lamlar coverplate ile birlikte takıldı. PBS (Phosphate buffered saline- Fosfat tamponlu tuzlu su) ile 5 dakika yıkama yapıldı.
6. 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit (TA-125-HP Thermo Scientific) ile etkin bırakılan periton dokularının endojenperoksidaz aktivitesi bloke edildi. PBS ile yıkanan dokular 10 dakika Protein Bloke (TA-125-PBQ Thermo Scientific) edildi. Primary Antibody ile 60 dakika inkube edildi.
7. Amplifier Quanto (TL-125-QPB ThermoScientific) 20 dakika bekletildi.
8. HRP Polimer Quanto (TL-125-QPH ThermoScientific) 30 dakika bekletildi. Her aşamada PBS ile yıkama yapıldı.
9. Pozitif hücreleri belirleyebilmek için 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) kromojen ile boyama yapıldı.
10. Zemin boyaması için 30 saniye süreyle Hematoksilin (HHS32 Sigma) uygulandı.
11. Boyanan Periton dokuları; artan alkol serilerinden geçirilerek suyu alındıktan sonra 5 dakika şeffaflaştırmak için ksilolde bekletildiler.
12. Ardından entellan (C1795 Merck) ile kapatıldı.

İmmunhistokimyasal Boyama: Shandon/Thermo marka, Sequenza model IHC cihazında yapılmıştır (Sequenza Immuno staining Center Each73300001 Shandon/Thermo).

Hematoksilen ve eozin boyalı preparatlarda, kesi ve sütürasyon yapılan alanlarda epidermis ve dermis, hipodermal alanlar, müsküler tabakalar, subperitoneal ve peritoneal alanlar incelendi. Özellikle kesi alanlarında olmak üzere ödem ve inflamasyon odakları değerlendirildi. Dermal mesafelerde kıl follikül hasarı, sebasegland ler hasar varlığı ve vasküler hasar durumu ile kollajen demetlerinin boyanma durumu incelendi. Buna göre, kesi ve sütür uygulanan alanlar x40 büyütme ile en az 20 alan değerlendirilerek ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonları değerlendirildi. Takiben vasküler hasar, kıl follikül hasarı ve sebasegland hasarı varlığında, yaygınlık ve şiddetine göre 0 ve 3 arasında skorlandı ve kaydedildi.

Tablo 3. 1. Hematoksilen ve Eozin Boyalı Preparatlarda Histopatolojik İnceleme İçin Kullanılan Semikantitatif Skorlama Sistemi.

Boyanma Yaygınlığı	Skor
%1-10 hücre	1
%11-24 hücre	2
%25-50 hücre	3
%51 ve üzeri hücre	4
Ödem, inflamasyon, vasküler hasar, kıl follikül hasarı, sebasegland hasarı	Skor
Yok	0
Hafif, fokal	1
Orta şiddette	2
şiddetli ve yaygın	3

İmmünohistokimyasal boyama uygulanan preparatlarda ise, semi kantitatif quick score yöntemi kullanılarak skorlama yapıldı. Bu yönteme göre, preparatlar önce boyanma olup olmamasına göre değerlendirildi. İncelenen alanlarda %1 ve üzeri boyanma varsa, boyanma pozitif olarak kabul edilerek boyanma yaygınlığı ve şiddeti değerlendirildi. Her ikisi için de iki ayrı skor elde edilerek çarpıldı ve elde edilen skor, quickscore olarak kaydedildi.

Tablo 3. 2. Quickscore Hesaplanmasında Kullanılan Parametreler ve Semi Kantitatif Skorlama Tablosu

Boyanma Yoğunluğu	Skor
Zayıf	1
Orta	2
Şiddetli	3

3.10. İstatistik

Sonuçların istatistiksel analizi ‘SPSS 21.0 for Windows paket programıyla yapılmıştır. Parametrik test varsayımları sağlandığında, tanımlayıcı istatistikler; dağılımı normal olan değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkların önemliliği Varyans Analizi (ANOVA) testiyle araştırılmıştır. ANOVA testinde, gruplar arasındaki farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını bulabilmek için “post-hoc” testlerinden Tukey yöntemi kullanılmıştır. Deney başlangıcındaki ve sonundaki, grup içi zamanlar arasında fark araştırılırken karşılaştırma yöntemi olarak Paired t testi uygulanmıştır. Parametreler arasında ilişki olup olmadığını anlamak için Pearson Korelasyon analizi yapılmıştır. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda her kafeste 7 adet sıçan olmak üzere toplam 49 sıçan kullanılmıştır. Deney öncesi ve sonrası sıçanların kiloları alınmıştır. Pazartesi günleri 1 haftalık sabit standart yem konulmuştur. Bütün hayvanlar standart laboratuvar diyeti ile beslenmiştir ve içme suyu isteklerine göre her zaman içebilecekleri şekilde bulundurulmuştur. Grupların serum protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin karşılaştırdığımızda; Grup-2 (50 mg 7.gün) ve Grup-3 (25mg 14. Gün) GSH-PX serum düzeylerinin Grup-4 (50 mg 14. Gün) GSH-PX serum düzeylerinden anlamlı düzeyde yüksekti (sırasıyla: $p<0.001$ ve $p<0.05$). Bununla birlikte gruplar arası total protein (TP), MDA ve SOD serum düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 4. 1. Grupların Serum Protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin Karşılaştırılması

Test	Kontrol	Şam -1 7. gün	Şam-2 14. gün	Grup-1 25mg 7.gün	Grup-2 50 mg 7.gün	Grup-3 25mg 14.gün	Grup-4 50 mg 14.gün	P değeri
TP g/dL	5.8±0.6	6±0.3	5.7±0.2	5.9±0.2	5.7±0.2	5.5±0.1	6.2±0.6	0.062
MDA (ng/mg protein)	2.31±0.6 8	1.87±0.3 1	2.14±0.7 3	2.05±0.2 6	1.83±0.5 0	1.84±0.1 8	1.49±0.50	0.102
SOD (ng/mg protein)	10.06±0. 84	9.70±0.9 0	9.79±0.7 6	8.69±4.1 8	10.69±0. 67	10.41±0. 57	10.23±0.68	0.45
GSH-PX (ng/mg protein)	155.5±13 .23	158.99±8 .91	168.49±9 .82	164.08±1 8.76	241.0±82 .3	196.8±49 .19	108.4 ^{a,b} ±108.5	<0.001

Post Hoc Tests Oneway ANOVA, Tukey HSD

^agrup-2 den $p<0.001$ anlamlı farklılık

^bgrup-3 den $p<0.05$ anlamlı farklılık

Tablo 4. 2. Grupların Doku Protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin Karşılaştırılması

Test	Kontrol	Şam -1 7. gün	Şam-2 14. gün	Grup-1 25mg 7.gün	Grup-2 50 mg 7.gün	Grup-3 25mg 14. gün	Grup-4 50 mg 14. gün	P değeri
TP g/dL	0.24±0.0 6	0.28±0.0 4	0.22±0.0 5	0.026±0.0 08	0.19±0.0 7	0.20±0.0 9	0.27±0.0 4	0.100
MDA(ng/ mg protein)	9.46±2.4 6	10.68±2. 47	12.94±2. 89	11.45±3. 11	7.64 ^{a,b} ±1.17	7.61 ^b ±2.0 6	10.06±4. 68	0.012
SOD (pg/mg protein)	23±0.01	8,7±0.00 07	7,9±0.01 2	6,5±0.00 5	15,4±0.0 11	10,6±0.0 08	9,7±0.00 7	0.098
GSH-PX (ng/mg protein)	9.94±4.1 1	5.57±4.9 4	19.35±9. 28	9.43 ^a ±7.0 5	17.72±3. 91	12.1±11. 07	1.77 ^{c,d} ±0. 7	<0.001

Post Hoc Tests Oneway ANOVA, Tukey HSD

^a şam-1 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^b şam-2 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^c şam-2 grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^d grup-2 grubundan p<0.01 anlamlı farklılık

Doku protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin karşılaştırıldığında; grup 2 ve grup 3 doku MDA değerlerinin Şam-2 grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu bulundu (P<0.05). Ayrıca grup-2 doku MDA değerleri şam-1 doku MDA değerlerinden de anlamlı düzeyde düşüktü (p<0.05). Doku GSH-PX değerleri ise grup-1 de şam-1 grubundan anlamlı düzeyde yüksekti (p<0.05). grup-4 doku GSH-PX değerleri şam-2 ve grup-2 doku GSH-PX değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulundu (p<0.001).

Tablo 4. 3. Grupların Serum Büyüme Faktörleri Düzeylerinin Karşılaştırılması

Test	Kontrol	Şam -1 7.G	Şam-2 14.G	Grup-1 25mg 7.g	Grup-2 50 mg 7.g	Grup-3 25mg 14.g	Grup-4 50 mg 14.g	P değeri
TGF- β (ng/L)	452.0 $\pm$ 3 7.1	315.6 $\pm$ 3 9.7 ^a	380.7 $\pm$ 3 4.1 ^b	226.8 $\pm$ 2 5.1 ^{a,c,d}	162.8 $\pm$ 2 3.3 ^{a,c,d}	401.2 $\pm$ 1 8.9 ^{b,c,e}	395.9 $\pm$ 2 1.0 ^{b,c,f,g}	<0.001
IGF (ng/L)	225.8 $\pm$ 1 6.3	166.8 $\pm$ 3 7.8	202.2 $\pm$ 1 6.9 ^b	94.3 $\pm$ 13. 5 ^{a,c,d}	62.1 $\pm$ 13. 4 ^{a,c,d}	189.4 $\pm$ 1 4.8 ^{b,f,h}	174.1 $\pm$ 1 8.2 ^{a,f,h}	<0.001
FGF (ng/L)	212.8 $\pm$ 1 4.8	124.5 $\pm$ 3 0.5 ^a	179.6 $\pm$ 2 1.7	87.1 $\pm$ 20. 3 ^{a,d}	57.9 $\pm$ 8.7 a,c,d	170.6 $\pm$ 3 1.0 ^{b,j,h}	154.6 $\pm$ 3 1.3 ^{b,h}	<0.001
EGF (ng/L)	688.7 $\pm$ 4 9.4	413.7 $\pm$ 1 11.2 ^a	610.7 $\pm$ 1 09.9	255.3 $\pm$ 2 9.3 ^{a,k}	212.6 $\pm$ 4 9.9 ^{a,c,d}	603.2 $\pm$ 7 9.9 ^{k,f}	527.6 $\pm$ 5 9.3 ^{a,f,g}	<0.001

Post Hoc Tests Oneway ANOVA, Tukey HSD

^a kontrol grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^b kontrol grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^c şam-1 grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^d şam-2 grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^e grup-1 den p<0.05 anlamlı farklılık

^f grup-2 den p<0.001 anlamlı farklılık

^g grup-3 den p<0.001 anlamlı farklılık

^h grup-1 den p<0.001 anlamlı farklılık

^j şam-2 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^k şam-1 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

Grupların serum büyüme faktörleri düzeylerinin karşılaştırdığımızda; Şam-1 ve Şam-2 grubunun serum TGF- β düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük bulundu. Grup-1 ve grup-2 TGF- β serum düzeyleri kontrol grup, şam-1 ve şam-2 grup serum TGF- β değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulundu. Grup-3 ve grup-4 serum TGF- β değerleri kontrol ve şam-1 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunurken grup-4 değerleri ise grup-2 ve grup-3 den anlamlı düzeyde düşük bulundu (Şekil 4. 1). Bununla birlikte grup-3 değerleri grup-1 değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Gruplar arası IGF düzeylerini karşılaştırdığımızda ise şam-2, grup-1, grup-2, grup-3 ve grup-4 IGF değerlerinin kontrol grup değerlerinden anlamlı düzeyde düşük olduğu bulundu. Grup-1 ve grup-2 IGF değerleri şam-1 ve şam-2 IGF değerlerinden anlamlı düzeyde

düşüktü. Grup-3 ve grup-4 IGF değerleri ise grup-1 ve grup-2 IGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Şekil 4. 2). Gruplar arası FGF değerleri karşılaştırıldığında; şam-1, grup-1, grup-2, grup-4 serum FGF değerleri kontrol grubu değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulundu. Şam-1 ve şam-2 gruplarının serum FGF değerlerini grupların serum FGF değerleri ile karşılaştırdığımızda ise; grup-1 FGF değerleri Şam-1 den, grup-2 FGF değerleri şam-1 ve Şam-2 den anlamlı düzeyde düşük bulunurken, grup-3 FGF değerleri ise şam-1 FGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Grup-3 ve grup-4 serum FGF değerleri grup-2 serum FGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Şekil 4. 3).. Aynı zamanda grup-4 serum FGF değerleri de grup-3 FGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Tablo 4. 3).

Tablo 4. 4. Grupların Doku Büyüme Faktörleri Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Şam-1 7.G	Şam-2 14.G	Grup-1 25mg 7.g	Grup-2 50 mg 7.g	Grup-3 25mg 14.g	Grup-4 50 mg 14.g	P değeri
TGF-β (ng/L)	608.1±30.8	610.3±31.1	630.9±70.9	621.5±35.8	676.4±23.1 ^{a,d}	713.9±11.8 ^a ,c,e, k	<0.001
IGF (ng/L)	323.9±20.1	324.2±29.0	324.0±33.7	338.3±7.2	335.3±21.1	355.7±16.3	0.088
FGF (ng/L)	320.7±15.1	311.3±12.6	309.1±39.5	358.1±19.0 ^{d,e}	342.3±31.3	336.6±22.9	0.005
EGF (ng/L)	1030.7±45.2	938.0±27.4 ^a	1012.5±66.5	1058.6±30.8 ^c	1078.7±80.9 ^c	1168.1±31.6 ^{b,c,f, k,m}	<0.001

Post Hoc Tests Oneway ANOVA, Tukey HSD

^aşam-1 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^bşam-1 grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^cşam-2 grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^dşam-2 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^egrup-1 den p<0.05 anlamlı farklılık

^f grup-1 den p<0.001 anlamlı farklılık

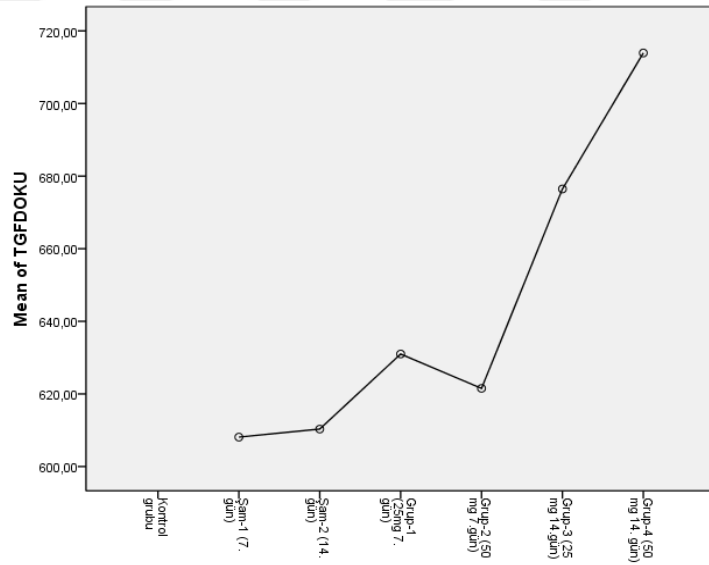
^j grup-2 den p<0.05 anlamlı farklılık

^k grup-2 den p<0.001 anlamlı farklılık

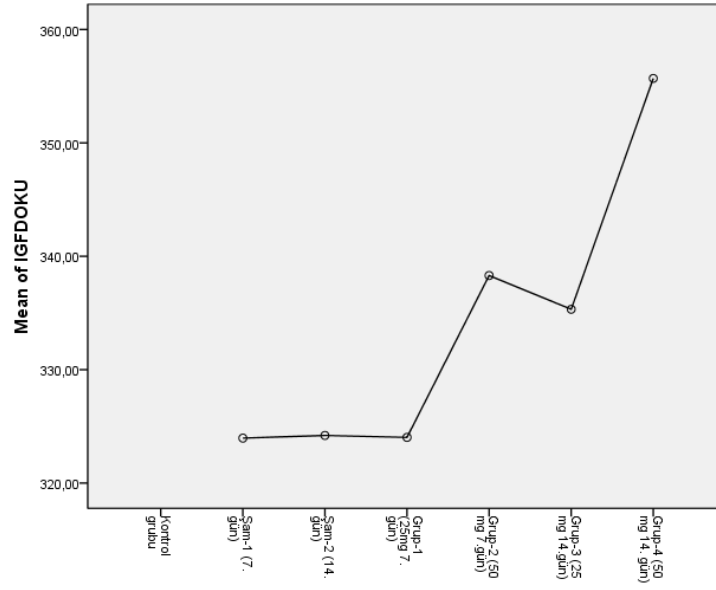
^m grup-3 den p<0.001 anlamlı farklılık

Grupların doku büyüme faktörleri düzeyleri çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında; gruplar arası doku TGF-β, FGF ve EGF değerleri arasında anlamlı

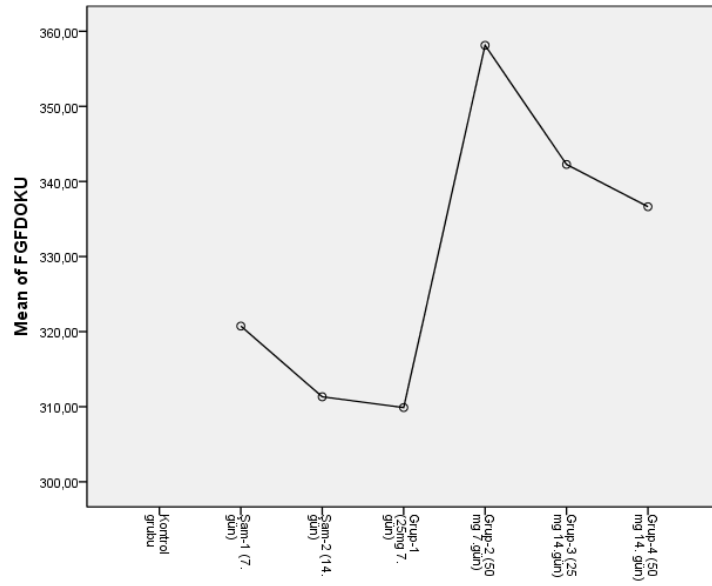
fark bulunurken, doku IGF değerleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı. Gruplar arası doku TGF- β düzeylerini çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırdığımızda; Grup-3 ve grup-4 doku TGF- β değerleri, şam-1 ve şam-2 doku TGF- β değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Ayrıca grup-4 doku TGF- β değerleri grup-1 ve grup-2 doku TGF- β değerlerinden de anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Şekil 4. 1). Gruplar arası doku FGF düzeylerini çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırdığımızda; grup-2 doku FGF değerleri şam-2 ve grup-1 doku FGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamadı. Gruplar arası doku EGF düzeylerini çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırdığımızda ise; şam-2 grubu doku EGF değerleri kontrol grubu değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulunurken, grup-2 ve grup-3 doku EGF değerleri ise şam-2 grubu doku EGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Şekil 4. 4). Grup-4 doku EGF değerleri ise şam-1, şam-2, grup-1, grup-2 ve grup-3 doku EGF değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Tablo 4.4).



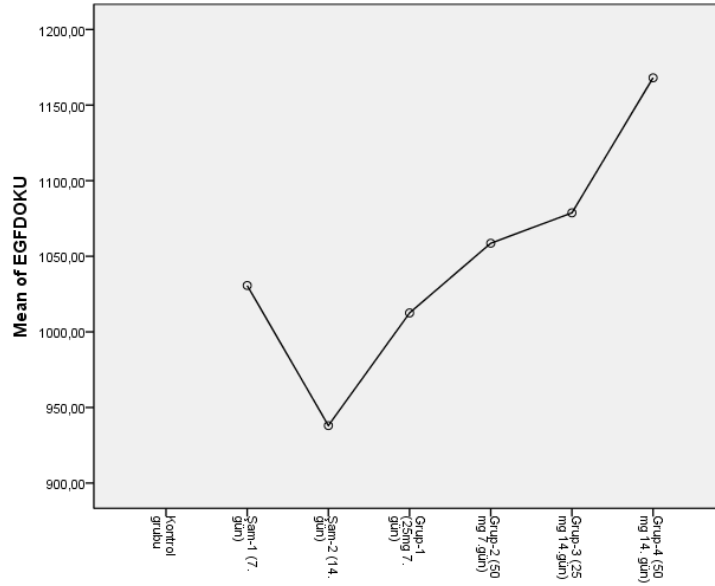
Şekil 4. 1. Grupların Ortalama Doku TGF- β Düzeylerinin Değişimi



Şekil 4. 2. Grupların Ortalama Doku IGF Düzeylerinin Değişimi



Şekil 4. 3. Grupların Ortalama Doku FGF Düzeylerinin Değişimi



Şekil 4. 4. Grupların Ortalama Doku EGF Düzeylerinin Değişimi

Grupların doku TAS, TOS ve OSI Seviyeleri karşılaştırıldığında; doku TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.001$). Bununla birlikte, gruplar arası doku TAS değerleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($p > 0.05$). Gruplar arası doku TOS değerleri çoklu karşılaştırma Tukey testi ile karşılaştırıldığında; ŞAM-2 doku TOS değerleri şam-1 doku TOS değerlerinden anlamlı yüksek bulundu. Grup 2 ve grup-3 doku TOS değerleri ise şam-2 TOS değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulundu. Doku OSI değerleri gruplar arası çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırdığımızda; şam-1 doku OSI değerleri kontrol grubu doku OSI değerlerinden anlamlı yüksek bulunurken, şam-2 doku OSI değerleri şam-1 doku OSI değerlerinden anlamlı düzeyde düşük bulundu. Grup-2 doku OSI değerleri şam-1 doku OSI değerlerinden anlamlı düşük bulunurken, grup-3 ve grup-4 doku OSI değerleri şam-2 doku OSI değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Tablo 4.5).

Tablo 4. 5. Grupların Doku TAS, TOS ve OSI Seviyelerinin Karşılaştırılması

Test	Kontrol	Şam -1 7.G	Şam-2 14.G	Grup-1 25mg 7.g	Grup-2 50 mg 7.g	Grup-3 25mg 14.g	Grup-4 50 mg 14.g	P değeri
TAS (mmol trolox Equiv./L)	4.87±2.2	5.09±0.8	5.71±0.4	5.15±1.6	5.86±1	5.6±0.9	4.88±0.4	>0.05
TOS (µmol H ₂ O ₂ equiv./L)	48.5±19.1	29.4±7.9	67.9±20.6 ^b	45.5±17.2	46.8±14.7	38.53±1.6 ^c	31.5±5.1 ^c	<0.001
OSI (TOS/TAS Oranı)	10.4±4.6	18.1±4.5 ^a	9.40±3.9 ^b	11.6±2.7	12.9±1.6 ^a	15.1±2.6 ^c	15.8±2.4 ^c	<0.001

Post Hoc Tests Oneway ANOVA, Tukey HSD

^a şam-1 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

^b şam-1 grubundan p<0.001 anlamlı farklılık

^c şam-2 grubundan p<0.05 anlamlı farklılık

Grupların serum TAS, TOS ve OSI seviyeleri karşılaştırıldığında; gruplar arası serum TAS, TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.6).

Tablo 4. 6. Grupların Serum TAS, TOS ve OSI Seviyelerinin Karşılaştırılması

Test	Kontrol	Şam -1 7.g	Şam-2 14.g	Grup-1 25mg 7.g	Grup-2 50 mg 7.g	Grup-3 25mg 14.g	Grup-4 50 mg 14.g	P değeri
TAS (mmol troloxEquiv./L)	1.21±0.12	1.32±0.38	1.14±0.10	1.17±0.07	1.050.05	1.15±0.06	1.28±0.015	0.095
TOS (µmol H ₂ O ₂ equiv./L)	9.12±0.12	12.8±3.8	14.0±6.4	15.8±13.1	18.9±8.8	14.7±9.3	21.7±16.2	0.362
OSI (TOS/TAS Oranı)	16.0±7.2	11.2±4.2	9.1±2.5	11.7±7.4	6.6±3.0	10.8±5.8	8.8±5.4	0.095

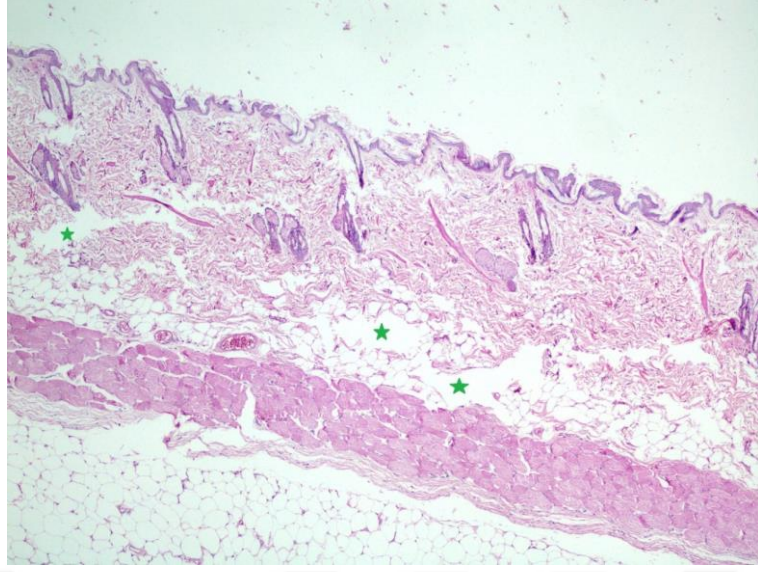
Post Hoc Tests Oneway ANOVA

4.2. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları

Hematoksilen ve eozin boyalı preparatlarda, kesi ve sütürasyon yapılan alanlarda epidermis ve dermis, hipodermal alanlar, müsküler tabakalar, subperitoneal ve peritoneal alanlar incelendi. Özellikle kesi alanlarında olmak üzere ödem ve inflamasyon odakları değerlendirildi. Dermal mesafelerde kıl follikül hasarı, sebaseglandüler hasar varlığı ve vasküler hasar durumu ile kollajen demetlerinin boyanma durumu incelendi. Buna göre, kesi ve suture uygulanan alanlar x40 büyütme ile en az 20 alan değerlendirilerek ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonları değerlendirildi. Takiben vasküler hasar, kıl follikül hasarı ve sebasegland hasarı varlığında, yaygınlık ve şiddetine göre 0 ve 3 arasında skorlandı ve kaydedildi (Tablo 4.7). İmmünohistokimyasal boyama uygulanan preparatlarda ise, semi kuantitatif quick score yöntemi kullanılarak skora yapıldı. Bu yöntemle göre, preparatlar önce boyanma olup olmamasına göre değerlendirildi. İncelenen alanlarda %1 ve üzeri boyanma varsa, boyanma pozitif olarak kabul edilerek boyanma yaygınlığı ve şiddeti değerlendirildi. Her ikisi için de iki ayrı skor elde edilerek çarpıldı ve elde edilen skor, quickscore olarak kaydedildi (Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14).

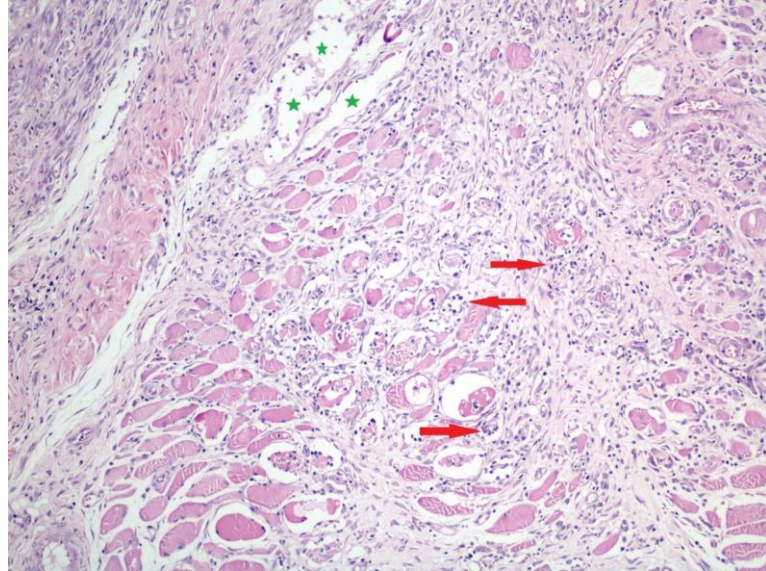
Tablo 4. 7. İmmünohistokimyasal Boyama Uygulanan Preparatlarda İse, Semi Kantitatif Quick Score Yöntemi Kullanılarak Yapılan Skorlama Sonuçları

	Şam -1	Şam-2	Grup-1 25mg7	Grup-2 50mg7	Grup-3 25mg-14	Grup-4 50mg-14	P değeri
Adezyon şiddeti							
0	2 (%6.1)	6 (%18.2)	7(%21.2)	5(%15.2)	6(%18.2)	7(%21.2)	>0.05
1	4 (%50.0)	1 (%12.5)	0(%0)	2(%25.0)	1(%12.5)	0(%0)	
2	1(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	
Ödem							
1	4 (%36.4)	0 (%0)	1 (%9.1)	3 (%27.3)	0 (%0)	3 (%27.3)	>0.05
2	2 (%5.7)	7 (%20.0)	5 (%14.3)	4 (%11.4)	7 (%20.0)	4 (%11.4)	
3	1 (%50.0)	0 (%0)	1 (%50.0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
İnflamasyon							
0	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
1	0 (%0)	6 (%33.3)	0 (%0)	0 (%0)	5 (%27.8)	4 (%22.2)	<0.001
2	5(%26.3)	1(%5.3)	4 (%21.1)	4 (%21.1)	2 (%10.5)	3(%15.8)	
3	2 (%25.0)	0 (%0)	3 (%37.5)	3 (%37.5)	0 (%0)	0 (%0)	
Kollejendiskolor							
0	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	2 (%22.2)	1 (%11.1)	0 (%0)	<0.001
1	1 (%5.0)	6 (%30.0)	0 (%0)	3 (%15.0)	4 (%20.0)	6 (%30.0)	
2	6(%31.6)	1 (%5.3)	7 (%36.8)	2 (%10.5)	2 (%10.5)	1 (%5.3)	
Vasküler hasar							
0	0 (%0)	3 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	3 (%18.8)	4 (%25)	
1	3 (%18.8)	4 (%18.8)	0 (%0)	3 (%18.8)	3 (%18.8)	3 (%18.8)	<0.001
2	4(%28.6)	0 (%28.6)	5 (%35.7)	4(%28.6)	1 (%7.1)	0 (%0)	
3	0 (%0)	0 (%0)	2 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
Kıl folikül hasarı							
0	4 (%11.4)	7 (%20.0)	4 (%11.4)	4 (%11.4)	5 (%14.3)	5 (%14.3)	
1	3(%25.0)	0(%0)	3(%25.0)	2(%16.7)	2(%16.7)	2 (%16.7)	>0.05
2	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	
GL sebace hasarı							
0	4 (%9.1)	7 (%15.9)	7 (%15.9)	7 (%15.9)	6 (%13.6)	7 (%15.9)	0.026
1	3(%75.0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	1(%25.0)	0(%0)	



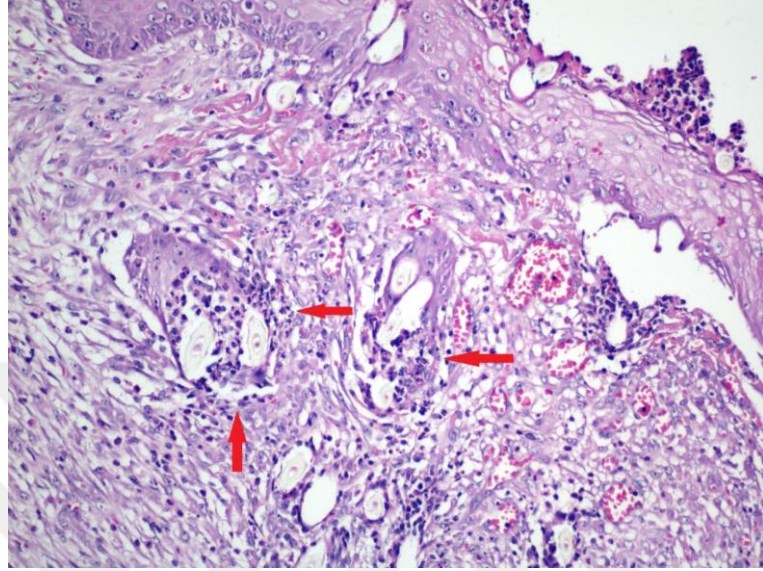
Şekil 4. 5. İmmünohistokimyasal Boyama Uygulanan Kontrol Grubu

Kesitlerde sadece hafif ödem (yeşil yıldızlar) mevcut olup, inflamasyon, adneks hasarı veya kollajen bozuklukları izlenmemektedir (Büyütme x4).



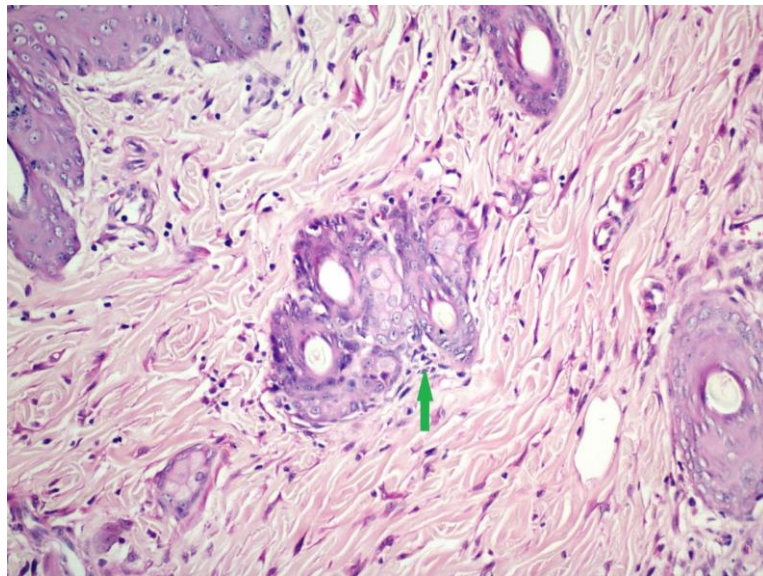
Şekil 4. 6. Grup 4'e Ait Preparatta İnflamasyon ve Ödem (Büyütme X10)

Orta kısımda atrofik çizgili kas demetleri etrafında ödem (yeşil yıldızlar) ve mikst tipte inflamatuvar hücre infiltrasyon odakları (kırmızı oklar) izlenmektedir.



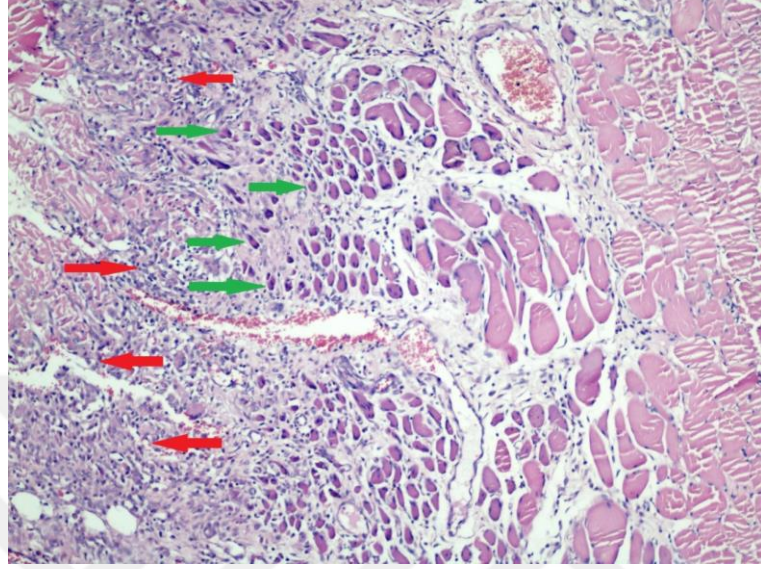
Şekil 4. 7. Follikül Hasarı

Grup 5 deneğinde folliküler yapıları atake eden inflamatuvar hücreler görülmektedir (kırmızı oklar) (Büyütme x20).



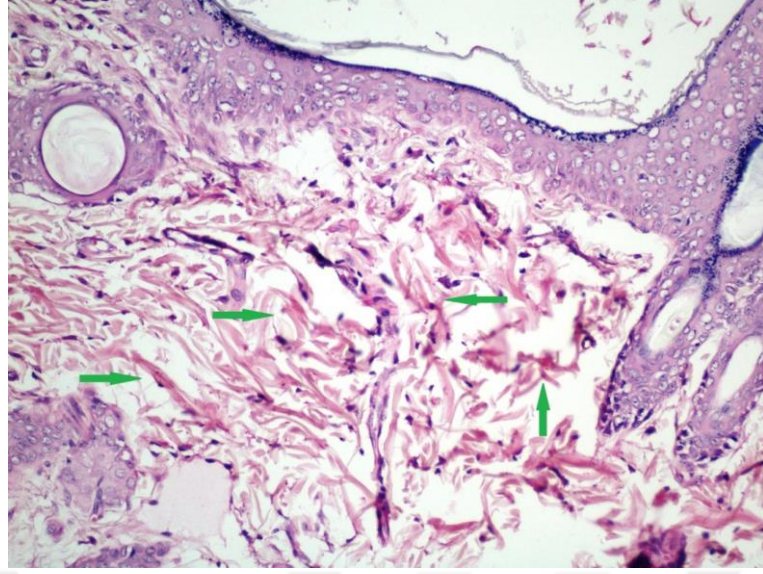
Şekil 4. 8. Fokal Follikül ve Sebasegland Hasarı

Grup 2’de inflamatuvar hücrelerin küçük bir odakta sebaseglandları çevrelediği görülmektedir (yeşil ok) (Büyütme x20).



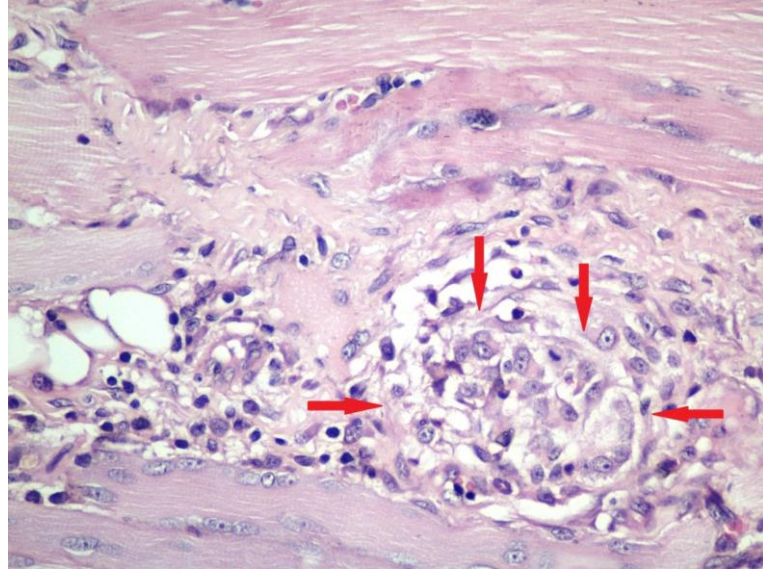
Şekil 4. 9. İnflamasyon ve Kas Atrofisi

4.Grupta abdominal kasları çevreleyen inflamatuvar hücre infiltrasyonu (kırmızı oklar) ve bu alanda atrofiye gitmiş çizgili kas demetleri (yeşil oklar) izlenmektedir. Fotoğrafın sağında sağlıklı çizgili kas demetleri mevcuttur (Büyütme x10).



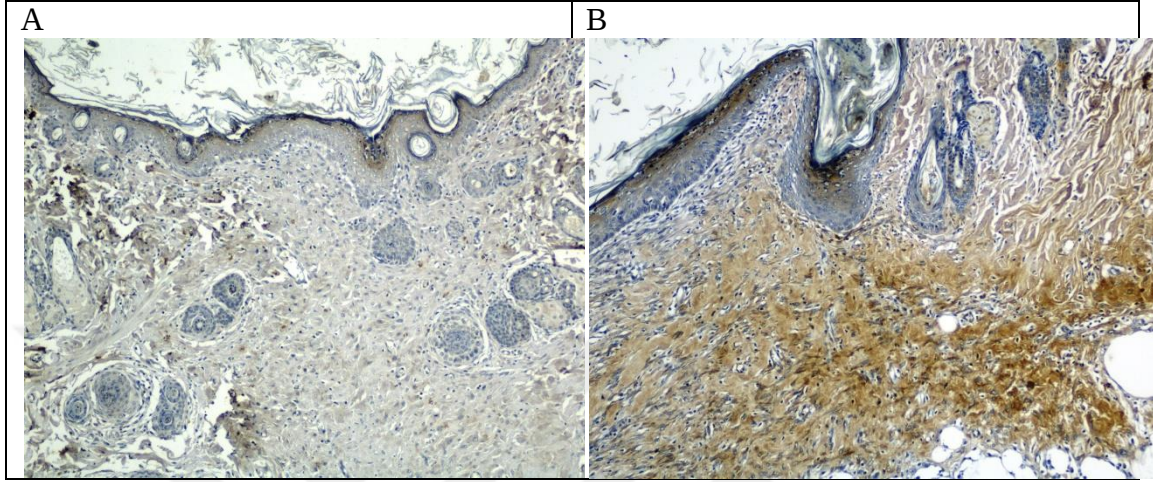
Şekil 4. 10. Kolajen Demetlerinde Düzensizlik ve Diskolorizasyon

2.Grupta insizyon hattı dermal mesafelerde kollajen demetlerinde düzensizlik, kalınlaşma ve diskolorizasyon izlenmektedir (yeşil oklar) (Büyütme x10).



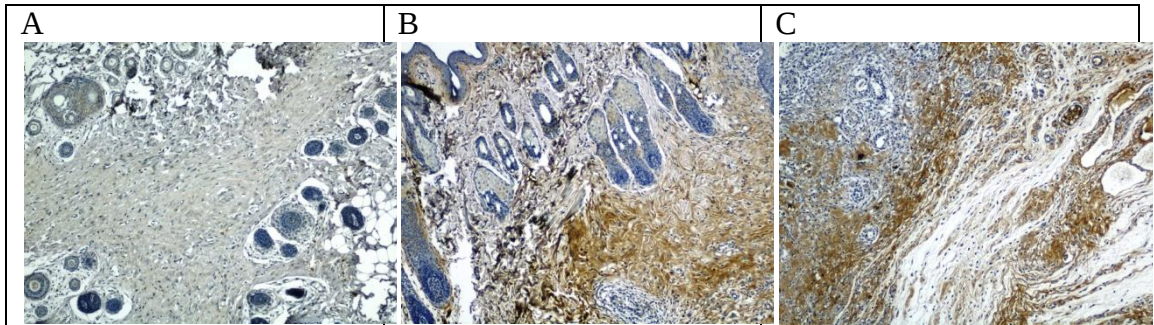
Şekil 4. 11. Lokalize Vasküler Yapılar

Grup 4'te insizyon hattında abdominal çizgili kas demetleri arasında lokalize damar paketinde inflamatuvar hücrelerce atake edilen ve obliterasyon gösteren vasküler yapı izlenmektedir (kırmızı oklar) (Büyütme x20).



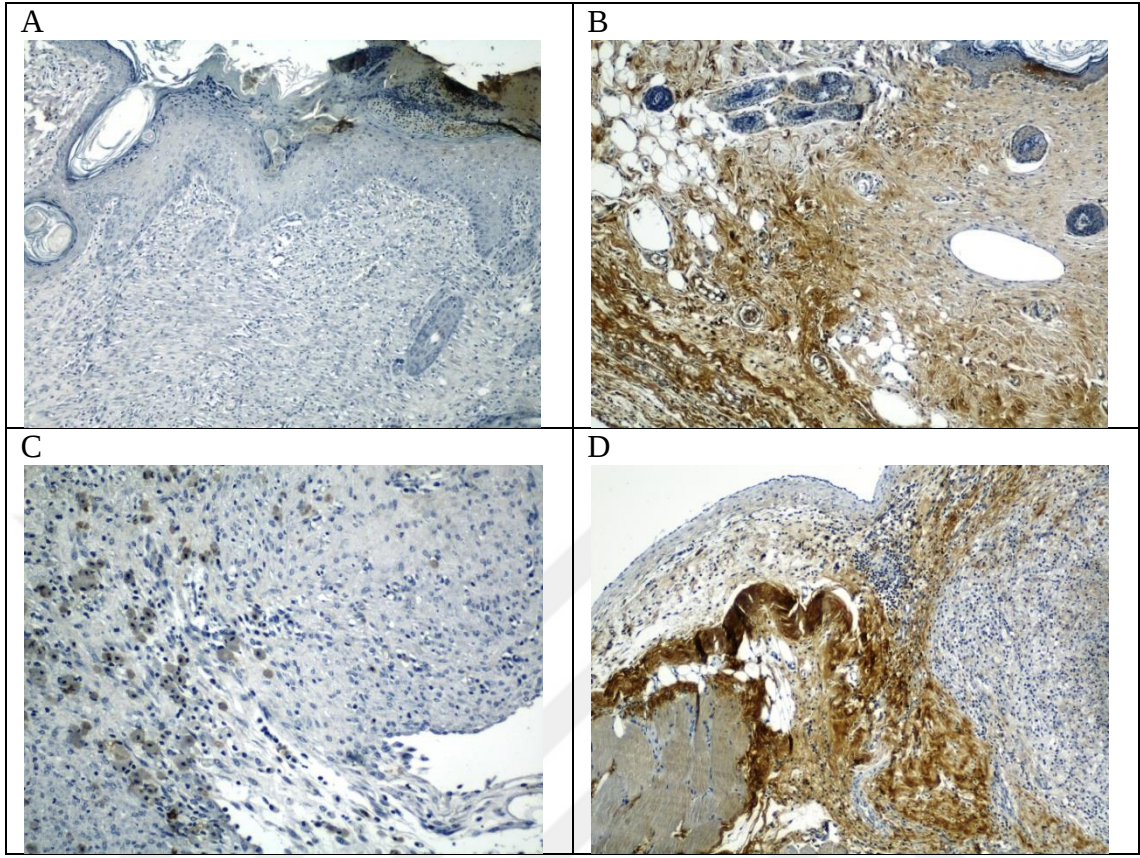
Şekil 4. 12. Gruplar Arasında İmmünohistokimyasal Olarak EGF Ekspresyon Farkı

A: Grup 3'te insizyon hattında dermal mesafelerde zayıf ve sınırlı EGF ekspresyonu mevcutken, B: Grup 4'te dermal alanlarda belirgin olmak üzere hipodermal alanlara uzanım gösteren, yaygın ve orta kuvvette EGF ekspresyonu izlenmektedir (Büyütme x10).



Şekil 4. 13. Gruplar Arasında FGF Ekspresyon Farkları

A:Grup 3'te dermiste deri ekleri çevresinde zayıf FGF ekspresyonu, B:Grup 5'te dermiste deri ekleri etrafında ve C:İnsizyon hattı derin alanlarda abdominal kaslar çevresinde kuvvetli ve yaygın FGF ekspresyonu görülmektedir (Büyütmeler: x10).



Şekil 4. 14. Gruplar Arasında TGF- β Ekspresyon Farklılıkları

A ve C: Grup 2’de epidermal, dermal alanlarda ve derin subperitoneal sahalarda çok zayıf ve fokal TGF- β ekspresyonu mevcutken, B ve D: Grup 7’de hem epidermal ve dermal alanlarda, hem de derin subperitoneal mesafelerde kuvvetli TGF- β ekspresyonu izlenmektedir (Büyütmeler: x10).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yara iyileşmesi sürecinde hücre çoğalması ve yeni doku oluşumu, malign tümörlerden daha hızlı gerçekleşir. Son yıllarda, yara iyileşmesinin mikroskopik bulgularının yanı sıra, iyileşme sürecine etki eden biyolojik moleküllerin tanımlanmasıyla bu mekanizma daha detaylı olarak anlaşılmıştır. Bu çalışmalar, yara iyileşmesini etkileyen birçok sistemik ve lokal faktörün belirlenmesine olanak sağlamıştır (Köklü ve Çankal, 2013). Kortikosteroidler, antikoagülanlar, antineoplastik ilaçlar, penisilamin ve siklosporin-A gibi ilaçlar yara iyileşmesini negatif yönde etkileyebilir. Özellikle kortikosteroidler, enflamasyonu ve protein ile kollajen sentezini azaltmanın yanı sıra epidermal proliferasyonu da engelleyebilir; ayrıca vazokonstriktif etkileri nedeniyle doku iskemisine yol açabilirler (Aygin ve ark., 2021). Kalkon iskeleleri, (1,3-diaril-2-propen-1-on gibi), bitkilerde flavonoidlerin ve izoflavonoidlerin belirgin ikincil metabolit öncülleri olup, yapısal olarak iki aromatik halkayı üç karbonlu a,b-doymamış karbonil sistemiyle birleştiren açık zincirli flavonoidler olarak kabul edilirler; kalkonlar asetofenonların ikame edilmiş benzaldehitlerle (E)-seçici yoğunlaşma reaksiyonu ile kolayca sentezlenebilir ve geniş bir farmakolojik etki spektrumu göstererek antikanser, anti-inflamatuar, immünomodülatör, antibakteriyel, antiprotozoan, tripanosidal, leishmanisidal, antimalaryal aktiviteler sergilemekte ve P-glikoprotein aracılı çoklu ilaç direncinin modülasyonunu sağlayabilmektedirler (Kamal ve ark., 2013). Kar Mahapatra ve arkadaşları çalışmalarında, kalkon bazlı bileşiklerin antiproliferatif, antidiyabetik, antiinfektif, antiinflamatuar, antioksidan, yaşlanma karşıtı, nöroprotektif ve kardiyoprotektif ajan olarak en güncel terapötik uygulamalarını sunmakta ve kalkon iskeletindeki substituentlerin türü, konumu ve sayısının, moleküler hedeflerle (reseptör, enzim ve/veya kanal) etkileşime girerek biyolojik yanıtları ifade etmede kritik bir rol oynadığını vurgulamaktadır (Kar Mahapatra ve ark., 2019). Maleimid ve dibromomaleimid bazlı kalkonlar sentezlenmiş ve antibakteriyel özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca, kalkonlar çeşitli kanser türlerine karşı sitotoksik aktiviteleri açısından araştırılmıştır (Radwan ve ark., 2021). Kocyigit ve grubu çalışmalarında, sentezledikleri kalkon ve kalkon imid türevlerinin iyi sitotoksik özellikler, anti-bakteriyel aktiviteler ve hCA I, hCA II ve AChE inhibitör etkileri gösterdiğini açıkça göstermişlerdir (Kocyigit, 2018). Kemoterapi ilaçlarının normal hücrelere karşı sitotoksik etkileri

nedeniyle güçlü yan etkiler oluşturması üzerine, maleimid içeren çeşitli sitotoksik bileşikler sentezlenmiş olup, bu bileşikler arasında kalkon-imid turevlerinin insan CEM T lenfositleri, Molt 4/C8 ve fare L1210 hucre hatları uzerindeki sitotoksik aktiviteleri belirlenmiş ve tanımlanmiştır (Jha, 2007). Welay Kahssay ve grubu çalışmalarında ele alınan kalkon turevlerinin, diyabet tedavisinde etkili ilaçların keşfinde potansiyel çocu bileşikler olarak kullanılabileceği sonucuna varmıştır (Welay Kahssay ve ark., 2021).

Bu alışmada, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Organik Kimya Sentez Laboratuvarında sentezlenmiş olan kalkon-imid turevinin laparotomi uygulanan sıçanlarda cerrahi yara iyileşmesi uzerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla, kullanılan sıçanlar çalışmaya başlamadan önce rastgele yöntemle yapılacak işlemlere göre 7 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir deneysel işlem uygulanmadı. 1. şam grubuna çözücü olarak kullanılan DMSO %1 oranında sıçanlara IP yolla verilip 7.günün sonunda sakrifiye edildi. 2. şam grubuna çözücü olarak kullanılan DMSO %1 oranında sıçanlara IP yolla verilip 14.günün sonunda sakrifiye edildi. 4. grubun batın duvarı laparotomi ile açıldı ve 25 mg/kg-kalkon uygulandı ve 7.günün sonunda sakrifiye edildi. 5. grup batın duvarı laparotomi ile açıldı ve 50 mg/kg-kalkon uygulandı ve 7.günün sonunda sakrifiye edildi. 6. grup batın duvarı laparotomi ile açıldı ve 25 mg/kg-kalkon uygulandı ve 14.günün sonunda sakrifiye edildi. 7. grup ise batın duvarı laparotomi ile açıldı ve 50 mg/kg-kalkon uygulanarak ve 14.günün sonunda sakrifiye edildi. Cerrahi teknikler tamamen steril koşullar altında gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan sıçanların serumlarında Toplam Antioksidan Seviyenin ve Toplam Oksidan Seviyesinin lm yapıldı. Sıçanlardan alınan Periton dokusundan MDA düzeyi, SOD ve GSH-Px enzim aktivitesi çalışıldı. IGF-I, EGF, FGF, TGF-β doku ve serum düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Doku rnekleri İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemi ile Histolojik olarak değerlendirildi. Grupların serum protein MDA, SOD, GSH-PX Düzeylerinin karşılaştırması yapıldı. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) ařırđ üretimine bağlı oksidatif stres, yara iyileşmesi uzerinde zararlı etkilere sahip olabilir ve kronik, iyileşmeyen yaralarda bozulmuş yara iyileşmesi, kalıcı yüksek ROS seviyeleriyle ilişkilendirilmiştir (Schafer ve Werner 2008). Ařırđ ROS ve RNS, hucre dışı matriks (ECM) proteinlerini doğrudan ve dolaylı olarak bozabilir, dermal fibroblast ve keratinosit fonksiyonunu bozabilir, hucrel hasara ve yara iyileşmesinin bozulmasına neden olabilir (Ponugoti ve ark., 2013). Bununla birlikte, ROS aracılı transkripsiyonun sürekli proinflamatuvar sitokin

salgılanmasından ve matriks metaloproteazların indüksiyonundan sorumlu olması nedeniyle düşük ROS seviyeleri yara iyileşmesinin uyarılması için çok önemlidir (Rodriguez ve ark., 2008). Bu nedenle, düşük ve yüksek ROS seviyeleri arasındaki belirgin denge hayati öneme sahiptir ve sürdürülmelidir. Öte yandan cilt hücreleri, yara iyileşmesi sürecinde ROS'un detoksifikasyonunda önemli rol oynayan SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi çeşitli antioksidan enzimler sayesinde kendilerini bu radikallerden koruma yeteneğine sahiptir. Çoğu flavonoid gibi antioksidanların kullanımının yaradaki oksidatif stresi azaltarak yara iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir (Bolton ve ark., 2017). Birçok hastalığın patogeneğinde ROS ölçülerek dokudaki hasarın şiddeti belirlenmektedir. Yara iyileşmesinde oksidanlar iyileşmenin her evresinde rol oynamakla beraber ROS miktarının inflamatuvar fazda en yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (Aksoy ve Özakpınar, 2014). Antioksidan enzimler inflamatuvar dönemde yara bölgesinde yüksek seviyede bulunmaktadır. GSH-Px yara iyileşmesinin inflamatuvar fazında bütün izoformlarıyla yoğun bir biçimde ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stresin yoğun olduğu durumlarda ROS ürünlerine karşı direnç oluşturarak keratinositlerin proliferasyonunu uyarmaktadır. Steiling ve arkadaşları tarafından yapılan yara iyileşmesi çalışmasında, yara dokusunda oksidatif stresle birlikte GPx seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Steiling, 1999). Ayrıca iyileşme esnasında artan antioksidan enzim ekspresyonunun artan oksidatif strese uyum amacıyla arttığı ileri sürülmüştür (Munz, 1997). Chiumiento, ve arkadaşları çalışmalarında, karboksimetilselüloz (CMC) hidrojelieri ile birleştirilen Cu, Zn-süperoksit dismutaz (SOD) enziminin, doğal enzimden daha fazla H₂O₂ inaktivasyonuna karşı direnç gösterdiğini ve sıçanların sırt derisindeki açık yaraların iyileşme süresini kısaltarak insan fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu artırdığını tespit etmiştir (Chiumiento ve ark., 2006). Steiling ve arkadaşları, çalışmaları sonucunda, yara iyileşme sürecinde MnSOD, Cu/ZnSOD ve SeGPx enzimlerinin ekspresyon seviyelerinin özellikle yara sonrası ilk 1. ve 7. günlerde belirgin şekilde arttığı ve bu enzimlerin inflamatuvar hücrelerden kaynaklanan ROS'u detoksifiye etmede önemli bir rol oynadıklarını bulmuştur (Steiling ve ark., 1999). Diyabetik yaralarda Mepenzolat bromürün H₂O₂ ve MDA seviyelerini önemli ölçüde azalttığı bulunmuş. Diğer deneyler, H₂O₂'nin H₂O'ya dönüşümünü kolaylaştıracak GSH-Px ve CAT aktivitelerinin mepenzolat grubunda kontrol grubuna kıyasla arttığını gösterdi (Zheng ve ark., 2016). Bir lipid peroksidasyon ürünü olan

malondialdehit (MDA), hidrokortizon tedavisi uygulanan ve iyileşme süreci bozulmuş sıçanlarda, kontrol gruplarına kıyasla belirgin şekilde daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir ancak akut ve kronik insan yaralarından elde edilen yara sıvıları arasında MDA seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmediği bildirilmiştir (Schäfer ve Werner, 2008). Steiling ve arkadaşlarının farelerde gerçekleştirdiği yara iyileşmesi çalışmasında, yara dokusunda oksidatif stresle birlikte SOD ve GPx seviyelerinin yükseldiği bulunmuştur. Steiling ve arkadaşlarının laboratuvar verileri, interlökin-1b ve tümör nekroz faktörü-a'nın keratinositlerde MnSOD mRNA ekspresyonunu artırdığını ve yaralı ciltte yüksek reaktif oksijen türleri seviyelerinin hidrojen peroksit tarafından pozitif olarak düzenlendiği ve MnSOD ekspresyonunu daha da artırabileceğini göstermektedir (Steiling ve ark., 1999). Demirkaya ve arkadaşları akut inmeli hastalarda inmenin birinci ve yedinci günlerinde RBC-SOD, GSH-PX ve MDA aktiviteleri ölçerek, kısa dönem prognoz, nörolojik bozukluk şiddeti ve inme enfarktüsü ile ilişkileri değerlendirdiği çalışmalarında, antioksidan tedavilerin, inme sonrası infarkt hacmini ve kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azaltmada etkili bulunduğunu, bunun da erken dönem antioksidan tedavisinin potansiyel yararlarını desteklediği sonucuna ulaşmıştır (Demirkaya ve ark., 2001). Baydaş ve arkadaşları, pinealektomi yapılmış sıçanların beyin ve karaciğerinde MDA seviyelerinin yükseldiğini ve GSH-Px seviyelerinin azaldığını rapor etmişlerdir (Baydaş ve ark., 2002). Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile hücrelerin bunları temizleme yeteneği arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkar (Pizzino ve ark., 2017). Oksidatif süreçler sırasında nötrofiller ve makrofajlar, büyük miktarda reaktif oksijen türleri (ROT) üretir ve bu ROT'ler, patojenlerin temizlenmesinde kritik bir rol oynar. Ancak, bu fagositik hücrelerden salınan ROT'ler, çevre dokularda doku hasarına yol açarak ilave yaralanmalara neden olabilir (Bayır, 2005). Kirklin ve arkadaşlarının yaptığı araştırma, kardiyak cerrahisi sonrası sistemik enflamasyon ve oksidatif stresin şiddetinin arttığını ve doğuştan gelen antikorların bu oksidatif stresin yol açtığı hasarı yeterince önleyemediğini ortaya koymuştur (Kirklin ve ark., 1997). Demirkol ve arkadaşlarının çalışma sonuçlarında, oksidatif stres olarak tanımlanan oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengesizliğin Karpal tünel Sendromunun patogenezinde ana rol oynadığını göstermektedir (Demirkol ve ark., 2012). Çalışmada karpal tünel sendromlu hastalarda serum TOS ve OSI değerlerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek, TAS düzeylerinin ise daha düşük olduğu bulunmuş (Demirkol ve ark., 2012).

Tugrul ve arkadaşları tekrarlayan aftöz stomatit (RAS) hastalarında antioksidan uygulamalarıyla DNA hasarının iyileştirilebileceğini öngörürken, kontrol çalışmasında oksidatif stres parametreleri ile anlamlı bir korelasyon bulunmadığını ortaya koymaktadır. Bu çalışmada oksidatif durum, literatürdeki en güncel yöntem olan Oksidatif Stres İndeksi (OSI) ile değerlendirilmiş olup, RAS grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlemlenmiş ve bu durum, dengeyi oksidan taraf lehine kaydıran bir değişimi göstermiştir (Tuğrul ve ark., 2016).

Bu çalışmada ise 25 mg ve 50 mg kalkon-imid kullanılan gruplarda şam gruplarına göre serum protein MDA, SOD, GSH-PX düzeylerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi. Sadece 25 mg kalkon-imid kullanılan grubun 14. Gün serum GSH-PX düzeyleri 50 mg kalkon-imid kullanılan grubun 14. Gün düzeylerinden yüksek bulundu. Yara iyileşmesi üzerine etkili olduğu ileri sürülen bu faktörlerin serum düzeyleri üzerine kalkon-imid kullanımının bir etkisi olmadığı görüldü. Bununla birlikte sistemik oksidatif durumu değerlendirmekte kullanılan TAS, TOS ve OSI düzeyleri üzerine kalkon-imid kullanımının etkilerinin değerlendirilmesi bu konuda daha doğru sonuçlara ulaşmamızı sağlayacaktır. Bu amaçla grupların serum TAS, TOS ve OSI düzeyleri karşılaştırılmış ve serum TAS, TOS ve OSI değerlerinin değişmediğini bulunmuştur. Bu sonuçlar kalkon-imid kullanımının yara iyileşmesinde sistemik oksidatif stres üzerine bir etkisi olmadığı yönünde yapılan çalışmaları desteklemektedir. Bununla birlikte kalkon-imidin farklı dozlarda ve uzun süreli kullanımının kısa süreli yara iyileşmesinde oksidatif sistemin rolüne ait yapılacak çalışmalar bu konuda daha kapsamlı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir. Oksidatif stresin yara iyileşmesi üzerine lokal etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda vardır. Bitkisel merhem tedavisi uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerinin artmış olması, doku hasarını temizleme aktivitesinin onarıcı rol oynadığını ve hücre dışı oksijen türevi serbest radikallere karşı koruma sağlayan bir refleks mekanizma gibi işlediğini gösterirken, bu durumun gelişmiş yara iyileşmesi ve granülasyon dokusunda yüksek antioksidan enzim seviyeleri ile ilişkili olabileceğini öne sürmektedir (Gunasekaran ve ark., 2020). Özturan ve arkadaşlarının çalışmalarında 14. gününde, artmış TAS, TOS, OSI, MDA ve GPx düzeylerinin, topikal Aynısefa bitkisi çiçeği ekstraktının yara iyileşmesinin proliferasyon ve remodelleme aşamalarında oksidatif stres belirteçleri üzerinde olumlu etkiler yaratarak iyileşmeye pozitif katkıda bulunduğunu göstermektedir (Özturan, 2024). Kalkon-imid türevi bileşikler yara

dokusunda MDA düzeylerini azaltıp, SOD, GSH-PX düzeylerini artırarak kısa süreli yara iyileşmesinde olumlu etkileri olabilir. Bu çalışmada 25 mg kalkon-imid türevi bileşikler kullanılan deney hayvanlarında şam-2 grubuna göre 14. günde doku MDA düzeylerinin daha düşük olduğu bulunmuştur. 50 mg kalkon-imid kullanılan grubun ise 7. Gün MDA düzeyleri şam gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Doku GSH-PX düzeyleri ise 50 mg kalkon-imid kullanılan grubun 14. Gün değerleri şam-2 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar kalkon-imid kullanımının yara iyileşmesinin erken döneminde MDA düzeylerini azaltarak oksidatif strese bağlı inflamasyonu azaltabileceğini, bununla birlikte yüksek dozda kullanıldığında yara iyileşme fazında GSH-PX düzeylerini azaltarak yara bölgesinde oksidatif stresi tetikleyebileceğini düşündürmüştür. Burada kalkon-imid türevi bileşiklerin kullanımının yara iyileşmesinin farklı fazlarında yara dokusunda oksidatif stres üzerine farklı etkiler de gösterebileceğini düşündürmektedir. Yara dokusunda oksidatif stresin değişimini incelemek için doku TAS, TOS ve OSİ değerleri de değerlendirilmiştir. Burada batına kesi yapıp batın içi %1 DMSO verilen deney hayvanlarının 14. Gün doku TOS ve OSİ değerleri (Şam-2) aynı uygulamaların yapıldığı hayvanların 7. Gün değerlerine (Şam-1) göre TOS değerlerinin yüksek olmasına bağlı OSİ'nin düşük olduğu bulundu. Bu sonuç batın içi DMSO uygulamasının yara iyileşmesinin hemostaz fazında oksidatif stresi artırabileceğini düşündürdü. Batın içi kalkon-imid uygulanan hem yara iyileşmesinin hemostaz fazını gösteren 7. Günde hem de poliferatif fazını gösteren 14. Günde TOS düzeylerinin daha az artması ve antioksidanların daha fazla artmasına bağlı OSİ değerlerinin daha düşük olduğu görüldü. Bu sonuçlar kalkon-imid türevi bileşiklerin doku oksidatif stresini yara iyileşmesinin hemostazis ve poliferatif fazlarında daha az artırarak yara iyileşmesine olumlu etkisi olabileceğini düşündürdü. Bu durum yara iyileşmesinde aşırı gelişen lokal oksidatif stresinin fibroblastlar, epitel hücreler gibi hücresel elemanlar ve bunlardan salınan büyüme faktörlerinin üzerine oluşturabileceği olumsuz etkileri azaltabilir. Büyüme faktörleri, hücrelerin yaraya yönelmesini sağlayarak ve yara bölgesinde hücre göçünü teşvik ederek, epitel hücrelerinin ve fibroblastların çoğalmasını uyarır. Ayrıca, yeni kan damarlarının oluşumunu başlatır ve matriks oluşumu ile yara izinin yeniden şekillenmesi üzerinde derin bir etkiye sahiptirler (Degim, 2008). Cooper ve arkadaşlarının 1994 yılında yaptığı çalışmalar, büyüme faktörlerinin in vitro ve in vivo olarak yara iyileşmesinin önemli aşamalarını düzenlediğini ve iyileşme süreçlerinin

çoğunu kontrol ettiğini göstermiştir (Cooper ve ark. 1994). Bu keşiften sonra, araştırmacılar çeşitli büyüme faktörlerini yara bölgesinde belirleyip ölçmüşlerdir. Elde edilen bulgular, büyüme faktörlerinin klinik uygulamaları için büyük bir ilgi uyandırmış ve özellikle cilt yaralarının iyileşmesi üzerinde detaylı bir şekilde araştırılmıştır (Ferguson 1996; Greenhalgh 1996; Gönül ve ark. 2004). PDGF, VEGF, EGF, FGF, bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF), TGF- β 1 dahil olmak üzere büyüme faktörleri ve sitokinler, IGF, IL-1 a ve b, IL-10 ve TNF- α , çeşitli etki biçimlerine sahiptir ve onarım sırasında indüklenir (Kapoor ve ark. 2006). Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme yara iyileşmesinin ardışık adımlarıdır. Bu aşamaların her biri, yara iyileştirme aktivitesini destekleyen sinyal yollarındaki farklı büyüme faktörleri, araçlar, bağışıklık hücreleri ve metabolitler tarafından yönetilir. Çok sayıda in vitro ve in vivo araştırma, flavonoidlerin yara iyileştirici etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Ali-Sayed ve Ayesha, 2020).

Kalkon-imid türevi bileşiklerin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada büyüme faktörlerinin sistemik ve doku düzeyleri de değerlendirilmiştir. Serum büyüme faktörleri yara dokusunda iyileşme döneminin erken fazlarında bölgeye göç eden epitalyal hücreler ve fibroblastlardan salınan ve kana geçen invitro değişkenlerdir. Bu faktörlerin serum düzeylerindeki artış yara iyileşmesinin erken fazlarında yara iyileşmesinin seyrini takipte yol gösterici olabilir. Özellikle kullanılan tedavi ajanlarının yara iyileşmesinde etkilerinin değerlendirmesinde fibroblastik aktiviteye bağlı kollejen sentezinin bir göstergesi olan OH-Prolin düzeyleri ile birlikte değerlendirildiğinde, serum TGF- β , IGF, FGF ve EGF düzeyleri önemli parametrelerdir. Yara iyileşmesinin 7. günü olan hemostazis fazında batında abdominal kesi yapılan ve batın içi DMSO verilen şam-1 grubunda kontrol grubuna göre serum TGF- β , FGF ve EGF düzeyleri düşük bulundu. Yara iyileşmesini poliferatif fazı olan 14. Gündeki şam-2 grubunda ise kontrol gruna göre serum TGF- β ve IGF düzeyleri düşük bulundu. Bu sonuçlar yara iyileşmesinin erken fazlarında serum büyüme faktörlerinin azalabileceğini gösterdi. Kalkon-imid kullanılan gruplarda ise 25mg kalkon-imid verilen ve 7. gün serum büyüme faktörleri değerlendirilen grup-2 TGF- β , IGF, FGF ve EGF değerleri kontrol grubundan yine düşük bulundu. Ayrıca, 25mg ve 50 mg kalkon-imid kullanılan 7. Gün grup-2 ve grup-3 serum TGF- β , IGF, FGF ve EGF değerleri şam-1 ve şam-2 grubundan daha düşük bulundu. Bununla birlikte, 25mg ve 50 mg kalkon-imid kullanılan ve 14. gün yara iyileşmesi

değerlendirilen grup-3 ve grup-4 serum TGF- β , IGF, FGF ve EGF değerleri şam-1, şam-2, grup-1 ve grup-2 değerlerine göre yüksekti. Bu sonuçlar bize yara iyileşmesinin başlangıç fazında büyüme faktörlerinin serum düzeylerinin azalabileceğini, kalkon-imid kullanımının ise yara iyileşmesinin poliferatif fazında serum büyüme faktörlerini artırabileceğini düşündürdü. Yara iyileşmesinin 7-14. gününde büyüme faktörleri üretimi artar. Bu artış kalkon-imid kullanılması durumunda daha fazla olabilir. Bu durum kalkon-imid kullanımının yara üzerine olumlu etkilerini takipte serum büyüme faktörlerinin kullanılabileceğini düşündürmüştür. Çeşitli çalışmalar, yara sıvısının analizi yoluyla yara iyileşme sürecinde yer alan spesifik büyüme faktörlerinin azaldığını tespit etmiştir. 1987'de Cromack, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β düzeylerinin başlangıçta arttığını ve daha sonra yaranın kapanmasıyla yavaş yavaş azaldığını gösterdi (Cromack ve ark., 1987). Cooper ve meslektaşları ayrıca kronik yaralarda, akut yaralarla karşılaştırıldığında trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), temel fibroblast büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü (EGF) ve TGF- β düzeylerinin daha düşük olduğunu gösterdi (Cooper, D. M., ve ark.1994). Endotel hücreleri, anjiyogenez süreci için iyileşmenin çoğalma aşaması sırasında çoğalır. Anjiyogenez, bozulmamış yarada önemli bir bileşendir ve granülasyon dokusunun oluşumuyla yakından ilişkilidir. Besinlerin taşınması ve atık ürünlerin uzaklaştırılması için yara bölgesinde hayati öneme sahiptir ve VEGF, TGF- β 1 vb. büyüme faktörlerinin reseptörlerine bağlanmasıyla başlayan karmaşık hücreler, humoral ve moleküler olaylar dizisi ile oluşur. Arızalı anjiyogenez, yara iyileşmesinin gecikmesine ve bozulmasına katkıda bulunan en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilir. VEGF ve TGF- β 1 sıklıkla anjiyogenezin meydana geldiği dokularda birlikte eksprese edilir. VEGF endotelial hücre proliferasyonunu teşvik eder ve anjiyogenez süreci için apoptozu önler (Ferrara,N., 2001). Oysa TGF- β 1, VEGF'nin Akt ve ERK yolları yoluyla sentezini artırarak (ten Dijke ve Arthur, 2007) veya VEGF tarafından eksprese edilen hematopoietik efektör hücrelerin toplanmasıyla (Fang ve ark., 2012) anjiyogenezi indükler. Bununla birlikte, çeşitli gözlemler TGF- β 'nın aynı zamanda aktivin reseptörü benzeri kinaz reseptörleri yoluyla yeni damar büyümesini uyararak da doğrudan etki gösterebileceğini göstermektedir (Mallet ve ark., 2006).

Yapılan araştırmalar, flavonoidlerin, 24 saatlik tedaviyi takiben kollajen yıkımını ve MMP-2 aktivitesini etkileyerek yara iyileşme süresini kısaltmadaki etkinliğini göstermiştir (Saini, P. ve ark., 2012). Hafif TGF- β üretimi ve MMP-9 salınımı ile en

yüksek konsantrasyonu olan 1 μ M'lik quercetin-3-oleat ile tedavi edildikten sonra yara iyileşme oranı %51 arttırmıştır (Carullo, G., ve ark., 2019). Her ne kadar TGF- β 'nın yukarı regülasyonu önemli ölçüde indüklenmiş olsa da, HaCaT hücre kültürlerinde MMP-9'un bulunmaması, bu hücrelerin yara iyileştirme kapasitesinin farklı sinyal yollarıyla yönetilebileceğini düşündürmektedir. Çeşitli in vivo test kaynakları ve metodolojileri ile yapılan birçok çalışma, yara iyileşmesinin geciktiğini göstermiştir. Bu konu şu anda küresel olarak sağlık çalışanları ve bireyler için büyük bir endişe kaynağıdır (Kumar, S., ve ark., 2019). Bu nedenle flavon glikozitlerden biri olan Hesperidin, diyabetik ayak ülserleri üzerindeki etkileri açısından test edildi. Kontrol fareleriyle karşılaştırıldığında, kronik diyabetik ayak ülserinde yaranın kapanma oranı 21 günden azdı. VEGF-c, Ang-1/Tie-2, TGF- β ve Smad-2/3 mRNA'nın ekspresyonunu artırarak anjiyogenezi hızlandırmanın yanı sıra, yara kapanmasında da önemli bir artış gözlemlenmiştir (Li, W. ve ark., 2018). Anjiyogenez, yeni doku ve organ gelişiminin rejenerasyonunu teşvik ederken aynı zamanda yaralara besin ve yeni hücreler sağlayan çok önemli bir süreçtir (Yeh, C.-J. ve ark., 2018; Heinke, J. ve ark., 2012). Ek olarak flavonoidler tarafından desteklenen epitelizasyon hızı, diğer antimikrobiyal özellikleriyle de desteklenmektedir (Soni ve ark., 2012).

TGF- β sinyal yolu, hücre bölünmesi, proliferasyon, ölüm, plastisite ve göç gibi bir dizi biyolojik fonksiyonu kontrol eder (Süntar, I. ve ark., 2021). Bu yol, inflamasyon, anjiyogenezin teşviki, fibroblast büyümesinin artırılması, kollajen sentezi ve birikmesi ve yeni hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere çeşitli yara iyileşme süreçleriyle ilişkilidir (Emiroglu, G. ve ark., 2017). Hesperidin, kersetin, glisin, naringin ve genistein, bu yol aracılığıyla yaraların iyileşmesiyle bağlantılı olan flavonoidlerdir (Carvalho ve ark., 2021). Çeşitli hücre fonksiyonları için dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) sinyali gereklidir. Yara iyileşmesine potansiyel katkıda bulunanlar olarak birçok farklı büyüme faktörünün araştırılmasına rağmen, TGF- β 'nın en geniş kapsamlı etkilere sahip olduğu genel olarak kabul edilmektedir. TGF- β , hücre çoğalması ve farklılaşması, ECM oluşumu ve immünolojik düzenleme üzerindeki pleiotropik etkilerinden dolayı yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar. TGF- β sinyal sistemini hedef alan terapötik ilaçların, klinik öncesi araştırmalarda yara iyileşmesini artırma ve/veya skarlaşmayı azaltma konusunda ümit verici olduğu gösterilmiştir (Mi ve ark., 2018). EGF, FGF, VEGF ve TGF- β 1 dahil olmak üzere beş büyüme faktörü,

insanlarda yara iyileşmesinde hücre sinyalleşmesinin birincil düzenleyicileri olarak çalışır. FGF, VEGF, PDGF ve TGF-1 bileşikleri, anjiyogenezi, keratinosit göçünü ve çoğalmasını, fibroblast göçünü ve farklılaşmasını ve kollajen üretimini teşvik eden hücrel tepkileri uyarır. Kurkumin TGF-1 sinyal yollarını desteklediğinde VEGF ekspresyonu artar (Yeh ve ark. 2017).

Bu çalışmada kalkon-imidin yara iyileşmesindeki moleküler düzeyde etkileri yara dokusunda ölçülen büyüme faktörleri ile değerlendirildi. Özellikle TGF- β sinyal yolu aracılığıyla yara iyileşmesinin hemostazis ve poliferasyon evrelerinde gelişen moleküler değişiklikler ve buna eşlik eden immünohistokimyasal bulgular birlikte değerlendirildi. Yara iyileşmesinin poliferatif dönemi olan 14. gündeki 25 ve 50 mg kalkonimid verilen sıçanlarda doku TGF- β düzeylerinde artış görüldü. Aynı zamanda immünohistokimyasal olarakta bu grupların TGF- β düzeyleri değerlendirildiğinde hem epidermal ve dermal alanlarda, hem de derin subperitoneal mesafelerde kuvvetli TGF- β ekspresyonu izlendi. Büyüme faktörlerinin doku düzeyleri değerlendirildiğinde ise kalkon-imid verilen gruplarda doku FGF ve EGF düzeylerinin şam gruplarına göre daha yüksek olduğu bulundu. Ayrıca immünohistokimyasal incelemede özellikle 50 mg kalkon-imid verilen grupta dermal alanlarda belirgin olmak üzere hipodermal alanlara uzanım gösteren, yaygın ve orta kuvvette EGF ekspresyonu izlendi. Yine dermiste deri ekleri etrafında ve insizyon hattı derin alanlarda abdominal kaslar çevresinde kuvvetli ve yaygın FGF ekspresyonu da görüldü. Literatür taraması yapıldığında bir flavanoid olan kalkon-imidin yara iyileşmesi üzerine olan etkisini değerlendiren daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanamadı. Bununla birlikte diğer flavanoid türevlerinin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerine benzer şekilde büyüme faktörlerinin yara dokusunda artışına benzer sonuçlar elde edildi. Yara dokusu histolojik incelemesinde ise şam grubunda görülen doku hasarı bulgularının kalkon-imid verilen gruba göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar bir flavanoid olan kalkon-imidin TGF- β yolu aracılığı ile büyüme faktörlerini artırarak yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olabileceğini düşündürdü.

SONUÇ:

Çalışmamızın sonuçları, kalkon-imid türevinin laparotomi uygulanan sıçanlarda erken dönemde yara iyileşmesini belirgin olarak olumlu yönde etkilediği, erken dönemde büyüme faktörleri ve antioksidan kapasiteyi artırarak yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunduğunu düşündürdü. Kalkon türevleri kullanılarak yapılan bu çalışma, yapılacak diğer çalışmalar için örnek teşkil etmesi niteliğinde olması yönünden önemlidir. Benzer çalışmalar ile farklı dozlarda kalkon türevi kullanılarak ilgili çalışmaların artması ileride yara iyileşme süreci ile ilgili olan birçok sorunun cevaplandırılmasını mümkün kılacaktır.

Bu inceleme kalkon-imidin yara iyileşme sürecinde kullanımına ilişkin kapsamlı bir bilgi sunmaktadır. Bu, yara iyileşme mekanizmasının anlaşılmasına yönelik bir temel görevi görür ve böylece cilt yaralarını tedavi edecek yeni ilaçlarında geliştirilmesini kolaylaştırır. Bu çalışmaya göre kalkon-imid yara onarımında umut verici bir potansiyele sahip olduğundan, flavonoidlerin ek doğal bazlı ekstraktların anlaşılması ve diğer aktif bileşenlerin yardımıyla en son teknolojiyle entegre edilmesi faydalı bir yol olabilir.

KAYNAKÇA

- Abramson, J. L., Hooper, W. C., Jones, D. P., Ashfaq, S., Rhodes, S. D., Weintraub, W. S., Harrison, D. G., Quyyumi, A. A., Vaccarino, V. (2005). Association between novel oxidative stress markers and C-reactive protein among adults without clinical coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 178(1), 115–121.
- Akita, S., Akino, K., Hirano, A. (2013). Basic fibroblast growth factor in scarless wound healing. *Advances in Wound Care*, 2(2), 44-49. <https://doi.org/10.1089/wound.2011.0324>
- Aksoy, H., Özakpınar, Ö. B. (2014). Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18(3), 153-158.
- Ali-Seyed, M., Ayesha, S. (2020). Calotropis-A multi-potential plant to humankind: Special focus on its wound healing efficacy. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28, 101725.
- Altan, A., Damlar, İ., Aras, M., Alpaslan, C. (2015). Sarı kantaronun (hypericum perforatum) yara iyileşmesi üzerine etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(4), 578-591.
- Antus, B., Harnasi, G., Drozdovszky, O., Barta, I. (2014). Monitoring oxidative stress during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations using malondialdehyde. *Respirology*. <https://doi.org/10.1111/resp.12155>
- Arribas-López, E., Zand, N., Ojo, O., Snowden, M. J., Kochhar, T. (2021). The effect of amino acids on wound healing: a systematic review and meta-analysis on arginine and glutamine. *Nutrients*, 13(8), 2498.
- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199-212.
- Aygin, D., Yılmaz, A. Ç., Sert, N. (2021). Yara iyileşmesini etkileyen komorbiditeler, genetik ve sistemik faktörler. *Journal of Human Rhythm*, 7(1), 28-42.
- Babacan, D., Türkoğlu, S. A., Köçkar, F. (2023). Kolon Kanserinde IL-6 Sitokinin Karbonik anhidraz III Gen İfadesi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(1), 102-111.
- Babu, G., Perumal, P. T. (1997). Convenient Synthesis of α , α 1-bis (Substituted Furfurylidene) Cycloalkanones and Chalcones Under Microwave Irradiation. *Synthetic Communications*, 27(21), 3677-3682.
- Baktır, G. (2019). Wound repair and experimental wound models. *Experimed*, 9(3), 130-137.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*:

official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society, 16(5), 585–601. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x>

- Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. (2002). Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin E on streptozocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Pineal Research*; 32: 225–230.
- Bayır, H. (2005). Reactive oxygen species. *Critical care medicine*, 33(12), S498-S501.
- Bekem, A., Ünal, A., Aydın, H., Tüzün, İ. S., Karşıdağ, T. (2014). Deri İyileşmesinin Mekanik Olarak İncelemesi. *Suleyman Demirel University Journal of Engineering Sciences and Design*, 2(3), 141–145.
- Bloomer, R. J., Goldfarb, A. H. (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 29(3), 245-263.
- Bolton, J. L., Dunlap, T. (2017). Formation and biological targets of quinones: cytotoxic versus cytoprotective effects. *Chemical Research in Toxicology*, 30(1), 13-37.
- Bonesi, M., Loizzo, M. R., Statti, G. A., Michel, S., Tillequin, F., Menichini, F. (2010). The synthesis and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitory activity of chalcones and their pyrazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(6), 1990-1993.
- Bresciani, G., Cruz, I. D. da, González-Gallego, J. (2015). Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Advances in Clinical Chemistry*, 68, 87-130. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2014.11.001>
- Broughton, G., 2nd, Janis, J. E., Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 12S–34S.
- Buolamwini, J. K., Addo, J., Kamath, S., Patil, S., Mason, M., Ores, M. (2005). Small molecule antagonists of the MDM2 oncoprotein as anticancer agents. *Current Cancer Drug Targets*, 5(1), 57-68.
- Burmaoglu, S., Algul, O., Anıl, D. A., Gobek, A., Duran, G. G., Ersan, R. H., Duran, N. (2016). Synthesis and anti-proliferative activity of fluoro-substituted chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(13), 3172-3176.
- Carullo, G., Governa, P., Leo, A., Gallelli, L., Citraro, R., Cione, E., Caroleo, M. C., Biagi, M., Aiello, F., Manetti, F. (2019). Quercetin-3-Oleate contributes to skin wound healing targeting FFA1/GPR40. *ChemistrySelect*, 4(29), 8429-8433.
- Carvalho, M. T., Araújo-Filho, H. G., Barreto, A. S., Quintans-Júnior, L. J., Quintans, J. S., Barreto, R. S. (2021). Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153636.
- Chen, J., Zeng, L., Xia, T., Li, S., Yan, T., Wu, S., Liu, Z. (2015). Toward a biomarker of oxidative stress: A fluorescent probe for exogenous and endogenous malondialdehyde in living cells. *Analytical Chemistry*, 87(16), 8052-8056. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b02032>

- Chen, C., Lin, Y., Lu, Q., Wu, J., Xie, J., Zhang, M. (2019). A novel chalcone derivative exerts anti-inflammatory and anti-oxidant effects after a cute lungin jury. *Aging* (Albany NY), 11(18), 7805-7816.
- Cheng, P., Yang, L., Huang, X., Wang, X., Gong, M. (2020). Chalcone hybrids and their antimalarial activity. *Archiv der Pharmazie*, 353(4), 1900350.
- Chester, D., Marrow, E. A., Daniele, M. A., Brown, A. C. (2019). Wound healing and the host response in regenerative engineering. Editor(s): Roger Narayan, *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, 1-12.
- Chiumiento, A., Lamponi, S., Barbucci, R., Dominguez, A., Perez, Y., Villalonga, R. (2006). Immobilizing Cu, Zn-superoxide dismutase in hydrogels of carboxymethylcellulose improves its stability and wound healing properties. *Biochemistry (Moscow)*, 71, 1324-1328.
- Comino-Sanz, I. M., López-Franco, M. D., Castro, B., Pancorbo-Hidalgo, P. L. (2021). The Role of Antioxidants on Wound Healing: A Review of the Current Evidence. *Journal of clinical medicine*, 10(16), 3558. <https://doi.org/10.3390/jcm10163558>
- Cooper, D. M., Erik, Z. Y., Hennessey, P., Ko, F., Robson, M. C. (1994). Determination of endogenous cytokines in chronic wounds. *Annals of Surgery*, 219(6), 688-692.
- Corwin, E. J. (2000). Understanding cytokines part I: Physiology and mechanism of action. *Biological Research for Nursing*, 2(1), 30-40. <https://doi.org/10.1177/109980040000200105>
- Cromack, D. T., Sporn, M. B., Roberts, A. B., Merino, M. J., Dart, L. L., Norton, J. A. (1987). Transforming growth factor β levels in rat wound chambers. *Journal of Surgical Research*, 42(6), 622-628.
- Crowther, J. R. (2009). *The ELISA guidebook* (2nd ed.). Chapter 2: Application Protocols of ELISA, Humana Press.
- Cundell, J. (2016). Diabetic foot ulcers: assessment, treatment, and management. *Smart Bandage Technol*, 2016, 37-61.
- de Mello, M. V. P., de Azevedo Abrahim-Vieira, B., Domingos, T. F. S., de Jesus, J. B., de Sousa, A. C. C., Rodrigues, C. R., de Souza, A. M. T. (2018). A comprehensive review of chalcone derivatives as antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 150, 920-929.
- Değim, Z. (2008). Use of microparticulate systems to accelerate skin wound healing. *Journal of Drug Targeting*, 16(6), 437-448.
- Demiral, A., Mert, F. (2022). Polimerik Yara Örtülerinde 3B Baskı Teknolojisi Uygulamaları. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology*, 10(2), 348-359.

- Demirkaya, S., Topcuoglu, M. A., Aydin, A., Ulas, U. H., Isimer, A. I., Vural, O. (2001). Malondialdehyde, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in peripheral blood erythrocytes of patients with acute cerebral ischemia. *European journal of neurology*, 8(1), 43–51. <https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2001.00166.x>
- Demirkol, A., Uludag, M., Soran, N., Aksoy, N., Gun, K., Incebiyik, S., Gorgen, I., Vural, M., Altun, Y., Kesiktas, F. N. (2012). Total oxidative stress and antioxidant status in patients with carpal tunnel syndrome. *Redox report : communications in free radical research*, 17(6), 234–238. <https://doi.org/10.1179/1351000212Y.0000000027>
- Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D., Deng, W. (2021). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. 8852759. <https://doi.org/10.1155/2021/8852759>
- Dhar, D. N., Barton, D. H. R. (1981). *The Chemistry of Chalcones and Related Compounds*, John Wiley, Print Book, p.285, New York.
- Dhiyaaldeen, S. M., Alshawsh, M. A., Salama, S. M., Alwajeeh, N. S., Al Batran, R., Ismail, S., Abdulla, M. A. (2014). Potential Activity of 3-(2-Chlorophenyl)-1-phenyl-propenonein Accelerating Wound Healing in Rats. *BioMed Research International*, 2014(1), 792086.
- Dimmock, J. R., Elias, D. W., Beazely, M. A. and Kandepu, N. M. (1999). Bioactivities of Chalcones. *Current Medicinal Chemistry*, 6, 1125-1149.
- Dinarello, C. A. (2007). Historical insights into cytokines. *European Journal of Immunology*, 37(S1), S34-S45. <https://doi.org/10.1002/eji.200737772>
- Durak, I., Yurtarslanl, Z., Canbolat, O., Akyol, Ö. (1993). A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clinica Chimica Acta*, 214(1), 103-104.
- Dwivedi, C., Pandey, I., Pandey, H., Patil, S., Mishra, S. B., Pandey, A. C., Zamboni, P., Ramteke, P. W., Singh, A. V. (2018). In vivo diabetic wound healing with nanofibrous scaffolds modified with gentamicin and recombinant human epidermal growth factor. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 106(3), 641–651.
- Eckert, R. L., Kaartinen, M. T., Nurminskaya, M., Belkin, A. M., Colak, G., Johnson, G. V., Mehta, K. (2014). Transglutaminase regulation of cell function. *Physiological Reviews*, 94 (2), 383-417.
- Eming, S. A., Martin, P., Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6(265), 265sr6-265sr6.
- Emiroglu, G., Ozergin Coskun, Z., Kalkan, Y., Celebi Erdivanli, O., Tumkaya, L., Terzi, S., Özgür, A., Demirci, M. ve Dursun, E. (2017). The effects of curcumin on wound healing in a rat model of nasal mucosal trauma. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017(1), 9452392.

- Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37(2), 112-119.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111
- Ertürk, F. (2014). 6-(4-(1-asetil-5-aril-4, 5-dihidro-1H-pirazol-3-il) fenil)-3-metil-4, 4a, 8, 8a-tetrahidro-3ah-4, 8-methanoisoksazol [4, 5-f] isoindol-5, 7 (6h, 7ah)-dion türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Kimya A.D , Tokat.
- Fang, S., Pentinmikko, N., Ilmonen, M., Salven, P. (2012). Dual action of TGF- β induces vascular growth in vivo through recruitment of angiogenic VEGF-producing hematopoietic effector cells. *Angiogenesis*, 15, 511-519.
- Fattman, C. L., Schaefer, L. M., Oury, T. D. (2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology & Medicine*, 35(3), 236-256. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00275-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00275-2)
- Feng, X. H., Derynck, R. (2005). Specificity and versatility in tgfbeta signaling through Smads. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21(1), 659-693.
- Fernandes, E., Freitas, M., Ribeiro, D., Rocha, S. (2020). A Systematic review on anti-diabetic properties of chalcones. *Current Medicinal Chemistry*, 27(14), 2257-2321.
- Ferrara, N. (2001). Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 280(6), C1358-C1366.
- Frasca, S. (2012). Biocatalysis on nanostructured surfaces: investigation and application of redox proteins using spectro-electrochemical methods, Thesis for: PhD, Universität Potsdam Institut für Biochemie und Biologie, Potsdam, 2011
- Fridovich, I. (1978). Superoxide radicals, superoxide dismutases and the aerobic lifestyle. *Photochem Photobiol*, 28(4-5), 733-741.
- Fukai, T., Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide dismutases: Role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(6), 1583-1606. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3999>
- Gacche, R. N., Meshram, R. J., Shegokar, H. D., Gond, D. S., Kamble, S. S., Dhabadge, V., Utage, B., Patil, K., More, R. A. (2015). Flavonoids as a scaffold for development of novel anti-angiogenic agents: an experimental and computational enquiry. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 577-578, 35-48. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.04.009>
- Gao, F., Huang, G., Xiao, J. (2020). Chalcone hybrids as potential anti-cancer agents: Current development, mechanism of action, and structure-activity relationship. *Medicinal Research Reviews*, 40(5), 2049-2084.

- Garoufalia, Z., Papadopetraki, A., Karatza, E., Vardakostas, D., Philippou, A., Kouraklis, G., Mantas, D. (2021). Insulin-like growth factor-I and wound healing, a potential answer to non-healing wounds: A systematic review of the literature and future perspectives. *Biomedical Reports*, 15(2), 66. <https://doi.org/10.3892/br.2021.1442>
- Gence, H. (2008). Fötal yara iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 61(3), 171-179.
- Go, M. L., Wu, X., Liu, X. L. (2005). Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Current Medicinal Chemistry*, 12(4), 483-499.
- Golebiewska, E. M., Poole, A. W. (2015). Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Reviews*, 29(3), 153-162.
- Gomes, M. N., Muratov, E. N., Pereira, M., Peixoto, J. C., Rosseto, L. P., Cravo, P. V. L., Andrade, C. H., Neves, B. J. (2017). Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(8), 1210.
- Gunasekaran, S., Nayagam, A. A. J., Natarajan, R. (2020). Wound healing potentials of herbal ointment containing *Calendula officinalis* Linn. on the alteration of immunological markers and biochemical parameters in excision wounded animals. *Clinical Phytoscience*, 6, 1-8.
- Guo, S., ve Di Pietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321. <https://doi.org/10.1038/nature07039>.
- Gürdere, M. B., Budak, Y., Kocyigit, U. M., Taslimi, P., Tüzün, B., Ceylan, M. (2021). ADME properties, bioactivity and molecular docking studies of 4-amino-chalcone derivatives: new analogues for the treatment of Alzheimer, glaucoma and epileptic diseases. *In Silico Pharmacology*, 9(1), 34.
- Gürsoy, N., Özerol, İ. (2018). The Effects of Negative Ions and Ozone on Various Bacteria and The Evaluation of Their Use in Hospital Wastewater Disinfection Flora. *The Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology* 23 (4).
- Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, 91(3), S14-S22.
- Halliwell, B. (1996). Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie-biologie*, 44(1), 6-13.
- Haroon, Z. A., Hettasch, J. M., Lai, T. S., Dewhirst, M. W., Greenberg, C. S. (1999). Tissue transglutaminase is expressed, active, and directly involved in rat dermal wound healing and angiogenesis. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 13(13), 1787–1795. <https://doi.org/10.1096/fasebj.13.13.1787>

- Heinke, J., Patterson, C., Moser, M. (2012). Life is a pattern: vascular assembly within the embryo. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 4, 2269.
- Henry, E. J., Bird, S. J., Gowland, P., Collins, M., Cassella, J. P. (2020). Ferrocenyl chalcone derivatives as possible antimicrobial agents. *The Journal of Antibiotics*, 73(5), 299-308.
- Hensley, K., Robinson, K. A., Gabbita, S. P., Salsman, S., Floyd, R. A. (2000). Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(10), 1456-1462.
- Herencia, F., Ferrandiz, M. L., Ubeda, A., Domínguez, J., Charris, J. E., Lobo, G. M., Alcaraz, M. J. (1998). Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8(10), 1169-1174.
- Herrero-Cervera, A., Soehnlein, O., Kenne, E. (2022). Neutrophils in chronic inflammatory diseases. *Cellular & Molecular Immunology*, 19(2), 177-191.
- Hoffman, H. M., Mueller, J. L., Broide, D. H., Wanderer, A. A., Kolodner, R. D. (2001). Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat. Genet.* 29: 301–305.
- Hunt, T. K. (1990). Basic principles of wound healing. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 30, 122-128.
- Iqbal, H., Prabhakar, V., Sangith, A., Chandrika, B., Balasubramanian, R. (2014). Synthesis, anti-inflammatory and antioxidant activity of ring-A-monosubstituted chalcone derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 23, 4383-4394.
- Jandial, D. D., Blair, C. A., Zhang, S., Krill, L. S., Zhang, Y. B., Zi, X. (2014). Molecular targeted approaches to cancer therapy and prevention using chalcones. *Current cancer drug targets*, 14(2), 181–200. <https://doi.org/10.2174/1568009614666140122160515>
- Jha, A., Mukherjee, C., Rolle, A. J., De Clercq, E., Balzarini, J., Stables, J. P. (2007). Cytostatic activity of novel 4'-aminochalcone-based imides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17(16), 4545-4550.
- Jin, Y., Mailloux, C. M., Gowan, K., Riccardi, S. L., LaBerge, G., Bennett, D. C., Fain, P. R. Spritz, R. A. (2007). NALP1 in vitiligo-associated multiple autoimmune disease. *N. Engl. J. Med.* 356: 1216–1225.
- Jyung, R., Mustoe, J. A., Busby, W., Clemmons, D. (1994). Increased wound-breaking strength induced by insulin-like growth factor I in combination with insulin-like growth factor binding protein-1. *Surgery*, 115(2), 233-239. https://consensus.app/papers/increased-strength-induced-growth-factor-combination-jyung/bbc562332ea75aa98bc5c2b25492245c/?utm_source=chatgpt
- Kamal, A., Kashi Reddy, M., Viswanath, A. (2013). The design and development of imidazothiazole-chalcone derivatives as potential anticancer drugs. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 8(3), 289–304.

- Kar Mahapatra, D., Asati, V., Bharti, S. K. (2019). An updated patent review of therapeutic applications of chalcone derivatives (2014-present). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 29(5), 385-406.
- Karabulut, H., Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg*, 1(1), 65-76. Retrieved from <https://dergipark.org.tr>
- Karaca, İ. (2016). Yumuşak dokuda yara iyileşmesi etkileyen faktörler ve skar revizyonu. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 15, 152–161.
- Karahan, S., Sezer, R. E., Ünsaldi, M. (2021). Yanık Hastasının Beslenme Gereksinimi: Güncel Öneriler. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(3), 249-258.
- Karaman, D. Ş., Erdogan, N. (2021). Döndürmeli Kaplama Yöntemi ile Kurkumin Kaplanmış Polikaprolakton Nanolif Yara Örtülerinin Hazırlanması ve in vitro Etkinliğinin İncelenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (25), 715-720.
- Karasu, A., Bakır, B. (2008). Yara ve yara iyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14(1), 36-43.
- Kılıçoğlu, B., Kılıçoğlu, S., & Göçen, V. (2005). Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 12(1), 67-76.
- Kim, M. H., Liu, W., Borjesson, D. L., Curry, F. R. E., Miller, L. S., Cheung, A. L., Simon, S. I. (2008). Dynamics of neutrophil infiltration during cutaneous wound healing and infection using fluorescence imaging. *Journal of Investigative Dermatology*, 128(7), 1812-1820.
- Kirklin, J. K., Kirklin, J. W., Pacifico, A. D. (1985). Deep hypothermia and total circulatory arrest. *Pediatric cardiac surgery*. Chicago: Year Book Medical Publishers.
- Kocyigit, U. M., Budak, Y., Gürdere, M. B., Ertürk, F., Yencilek, B., Taslimi, P., Gülçin, İ., Ceylan, M. (2018). Synthesis of chalcone-imide derivatives and investigation of their anticancer and antimicrobial activities, carbonic anhydrase and acetylcholinesterase enzymes inhibition profiles. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 124(1), 61-68.
- Kocyigit, U. M., Budak, Y., Gürdere, M. B., Dürü, N., Taslimi, P., Gülçin, İ., Ceylan, M. (2019). Synthesis and investigation of anticancer, antibacterial activities and carbonic anhydrase, acetylcholinesterase inhibition profiles of novel (3a R, 4 S, 7 R, 7a S)-2-[4-[1-acetyl-5-(aryl/heteroaryl)-4, 5-dihydro-1 H-pyrazol-3-yl] phenyl]-3a, 4, 7, 7a-tetrahydro-1 H-4, 7-methanoisoindole-1, 3 (2 H)-diones. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 150, 721-731.
- Kostanecki, S.V., Tambor, J. (1899). Ueber die sechs isomeren Monooxybenzalacetophenone (Monooxychalkone). *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 32(2), 1921-1926.

- Köklü, A. K., Çankal, D. A. U. (2013). Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler İçerisinde Beslenmenin Yeri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 23(7), 135-141.
- Kumar, S., Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. The Scientific World Journal, 2013(1), 162750.
- Kumar, S., Lakshmi, P. K., Sahi, C., Pawar, R. S. (2019). Sida cordifolia accelerates wound healing process delayed by dexamethasone in rats: Effect on ROS and probable mechanism of action. Journal of Ethnopharmacology, 235, 279-292.
- Kurahashi, T., Fujii, J. (2015). Roles of antioxidative enzymes in wound healing. Journal of Developmental Biology, 3(57-70).
- Kurtoğlu, A. H., Karataş, A. (2009). Current Approaches to Wound Therapy: Modern Wound Dressings. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University, 38(3), 211-232.
- Leahy, D. J. (2004). Structure and function of the epidermal growth factor (EGF/ErbB) family of receptors. Advances in Protein Chemistry, 68, 1-27. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394448-1.00007-9>
- Li, W., Kandhare, A. D., Mukherjee, A. A., Bodhankar, S. L. (2018). Hesperidin, a plant flavonoid accelerated the cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats: Role of TGF- β /Smads and Ang-1/Tie-2 signaling pathways. EXCLI journal, 17, 399.
- Lin, Y., Zhang, M., Lu, Q., Xie, J., Wu, J., Chen, C. (2019). A novel chalcone derivative exerts anti-inflammatory and anti-oxidant effects after acute lung injury. Aging (Albany NY), 11(18), 7805.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J biol Chem, 193(1), 265-275.
- Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 1830(5), 3143-3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
- Lunardi, F., Guzela, M., Rodrigues, A. T., Corrêa, R., Eger-Mangrich, I., Steindel, M., Santos, A. R. (2003). Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution-containing chalcones. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47(4), 1449-1451.
- Madhyastha, H., Madhyastha, R., Nakajima, Y., Maruyama, M. (2011). Role of Plasminogen Activators and Phycocyanin in Dermal Wound Healing. In J. E. Middleton (Ed.), Human Anatomy and Physiology (pp. 137–143).
- Mahapatra, D. K., Asati, V. I. V. E. K., Bharti, S. K. (2019). Recent therapeutic progress of chalcone scaffold bearing compounds as prospective anti-gout candidates. J. Crit. Rev, 6(1), 1-5.

- Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., Asati, V. (2015). Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 101, 496-524.
- Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., Asati, V. (2017). Chalcone derivatives: anti-inflammatory potential and molecular targets perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(28), 3146-3169.
- Mahapatra, D. K., Asati, V., Bharti, S. K. (2020). Natural and synthetic prop-2-ene-1-one scaffold bearing compounds as molecular enzymatic targets inhibitors against various filarial species. In *Biochemistry, Biophysics, and Molecular Chemistry* (pp. 183-194). Apple Academic Press.
- Mallet, C., Vittet, D., Feige, J. J., Bailly, S. (2006). TGF β 1 induces vasculogenesis and inhibits angiogenic sprouting in an embryonic stem cell differentiation model: respective contribution of ALK1 and ALK5. *Stem Cells*, 24(11), 2420-2427.
- Mao, A. S., & Mooney, D. J. (2015). Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(47), 14452-14459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508520112>
- Martin, A. J. (1996). The use of antioxidants in healing. *Dermatologic Surgery*, 22(156-160).
- Martin, P. (1997). Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81.
- Mates, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104.
- Mertoğlu, C. (2013). Yüksek Doz Metilprednizolonun Tavşan Kalp Dokusunda Oluşturduğu Hasar Üzerine Melatoninin Koruyucu Etkileri. Uzmanlık Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D , Tokat.
- Mi, B., Liu, J., Liu, G., Zhou, W., Liu, Y., Hu, L., Wu, Y. (2018). Icariin promotes wound healing by enhancing the migration and proliferation of keratinocytes via the AKT and ERK signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, 42(2), 831-838.
- Miao, Z., Sheng, C., Xing, C., Zhang, W., Zhang, W., Zhuang, C. (2017). Chalcone: A Privileged structure in medicinal chemistry. *Chemical Reviews*, 117(12), 7762-7810.
- Mitchell, A. C., Briquez, P. S., Hubbell, J. A., Cochran, J. R. (2016). Engineering growth factors for regenerative medicine applications. *Acta Biomaterialia*, 30, 1-12.
- Monaco, J. L., & Lawrence, W. T. (2003). Acute wound healing: an overview. *Clinics in Plastic Surgery*, 30(1), 1-12.
- Montllor-Albalade, C., Colin, A. E., Chandrasekharan, B., Bolaji, N., Andersen, J., Outten, F. W., Reddi, A. R. (2018). Extra-mitochondrial Cu/Zn superoxide dismutase (Sod1) is dispensable for protection against oxidative stress but mediates peroxide

- signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Redox Biology*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.11.022>
- Moreira, H. R., Marques, A. P. (2022). Vascularization in skin wound healing: Where do we stand and where do we go? *Current Opinion in Biotechnology*, 73, 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.08.019>
- Murphy, P. S., Evans, G. R. (2012). Advances in wound healing: a review of current wound healing products. *Plastic Surgery International*, 2012(1), 190436.
- Narwal, S., Kumar, S., Verma, P. K. (2017). Synthesis and therapeutic potential of quinoline derivatives. *Research on Chemical Intermediates*, 43, 2765-2798.
- Narwal, S., Kumar, S., Verma, P. K. (2021). Synthesis and biological activity of new chalcone scaffolds as prospective antimicrobial agents. *Research on Chemical Intermediates*, 47(4), 1625-1641.
- Narwal, S., Devi, B., Dhanda, T., Kumar, S., Tahlan, S. (2024). Exploring chalcone derivatives: synthesis and their therapeutic potential. *Journal of Molecular Structure*, 137554.
- Nauta, T. D., van Hinsbergh, V. W. M., Koolwijk, P. (2014). Hypoxic signaling during tissue repair and regenerative medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 19791–19815.
- Nowakowska, Z. (2007). A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42(2), 125-137.
- Okumura, M., Okuda, T., Nakamura, T., Yajima, M. (1996). Effect of basic fibroblast growth factor on wound healing in healing-impaired animal models. *Arzneimittel-Forschung*, 46(5), 547-551. https://consensus.app/papers/effect-fibroblast-growth-factor-wound-healing-okumura/96cb069395e25818896c9335a27c6454/?utm_source=chatgpt
- Ozdemir, H., Şeker, B. (2020). Capparis spinosa'nın yara iyileşmesi üzerindeki etkisi: Sıçanlarda klinik ve histomorfometrik bir çalışma. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(1), 13-23.
- Önal, M. Ö., Elbe, H., Yiğittürk, G., Yaşar, V., Öztürk, F. (2023). Leptinin yara iyileşmesi üzerine in vitro etkisinin büyüme faktörleri üzerinden incelenmesi. *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi*, 10(1), 19-28.
- Özbay, İ., Topuz, M. F., Kucur, C., Oğhan, F., Ceyhan, A., Metineren, H. (2019). Parotis bezi tümörü nedeniyle ameliyat edilen olgularımızın retrospektif analizi. *Genel Tıp Dergisi*, 29(4), 163-168.
- Özturan, Y. A., (2024). Farelerde Aynısefa Çiçeği (*Calendula Officinalis*) Ekstraktının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması. *Doktora Tezi*, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Cerrahisi, Aydın.

- Paglia, D. E., Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158-169.
- Patel, J. R., Dholakiya, B. Z. (2011). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of 4'-aminochalcone-based dibromomaleimides. *Der Pharma Chemica*, 3, 458-466.
- Pei, J., Pan, X., Wei, G., Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxiation. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1147414. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>
- Pekmezci, D., Akyol Mutlu, A. (2019). Yara İyileşmesinde Güncel Yaklaşımlar: Makro Besin Ögelerinin Rolü. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 6(1), 1–16.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(1), 8416763.
- Ponugoti, B., Xu, F., Zhang, C., Tian, C., Pacios, S., Graves, D. T. (2013). FOXO1 promotes wound healing through the up-regulation of TGF- β 1 and prevention of oxidative stress. *The Journal of Cell Biology*, 203(2), 327.
- Radwan, M. A., Alminderej, F. M., Tolan, H. E., Awad, H. M. (2021). Synthesis and Antiproliferative Activity of Chalcone-Imide Derivatives Based on 3, 4-Dichloro-1H-Pyrrole-2, 5-dione. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(1), 1-9.
- Rao, Y. K., Fang, S. H., Tzeng, Y. M. (2004). Differential effects of synthesized 2'-oxygenated chalcone derivatives: modulation of human cell cycle phase distribution. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(10), 2679-2686.
- Rashid, H., Xu, Y., Ahmad, N., Muhammad, Y., Wang, L. (2019). Promising anti-inflammatory effects of chalcones via inhibition of cyclooxygenase, prostaglandin E2, inducible NO synthase and nuclear factor κ b activities. *Bioorganic Chemistry*, 87, 335-365.
- Robson, M. C., Steed, D. L., Franz, M. G. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current problems in surgery*, 38(2), 72–140. <https://doi.org/10.1067/msg.2001.111167>
- Rodriguez, P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T., Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic Surgery*, 34(9), 1159-1169.
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., Gurtner, G. C. (2019). Wound healing: A cellular perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>

- Saini, P., Al-Shibani, N., Sun, J., Zhang, W., Song, F., Gregson, K. S., Windsor, L. J. (2012). Effects of *Calendula officinalis* on human gingival fibroblasts. *Homeopathy*, 101(02), 92-98.
- Sashidhara, K. V., Avula, S. R., Mishra, V., Palnati, G. R., Singh, L. R., Singh, N., Bhatta, R. S. (2015). Identification of quinoline-chalcone hybrids as potential antiulcer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89, 638-653.
- Sato, K., Asai, T. T., Jimi, S. (2020). Collagen-derived di-peptide, prolylhydroxyproline (Pro-Hyp): A new low molecular weight growth-initiating factor for specific fibroblasts associated with wound healing. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 548975. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.548975>
- Satyanarayana, M., Tiwari, P., Tripathi, B. K., Srivastava, A. K., Pratap, R. (2004). Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(5), 883-889.
- Schäfer, M., Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacological Research*, 58(2), 165–171.
- Schaue, D., Kachikwu, E. L., McBride, W. H. (2012). Cytokines in radiobiological responses: A review. *Radiation Research*, 178(6), 505-523. <https://doi.org/10.1667/RR3031.1>
- Sebti, S., Solhy, A., Tahir, R., Boulaajaj, S., Mayoral, J. A., Fraile, J. M., Kossır, A., Oumimoun, H. (2001). Calcined Sodium Nitrate/Natural Phosphate: An Extremely Active Catalyst for the Easy Synthesis of Chalcones in Heterogeneous Media. *Tetrahedron Letters*, 42, 7953-7955.
- Shah, J. M., Omar, E., Pai, D. R., Sood, S. (2012). Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*, 45(2), 220–228.
- Shannon, O. (2021). The role of platelets in sepsis. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 5(1), 27-37.
- Shenvi, S., Kumar, K., Hatti, K. S., Rijesh, K., Diwakar, L., Reddy, G. C. (2013). Synthesis, anticancer and antioxidant activities of 2, 4, 5-trimethoxy chalcones and analogues from asaronaldehyde: Structure–activity relationship. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 62, 435-442.
- Shi, F., Fang, H., Xu, W. (2016). Design, synthesis and biological activity of novel chalcone derivatives as anti-influenza agents. *Chemical Research in Chinese Universities*, 32(1), 28-34.
- Silvestre, J. S., Mallat, Z., Duriez, M., Tamarat, R., Bureau, M. F., Scherman, D., Levy, B. I. (2000). Antiangiogenic effect of interleukin-10 in ischemia-induced angiogenesis in mice hindlimb. *Circulation Research*, 87(6), 448-452.

- Singer, A. J., Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746.
- Singh, Z., Karthigesu, I. P., Singh, P., Kaur, R. (2014). Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: A review. *Iranian Journal of Public Health*, 43(7), 7-16. <https://consensus.app/papers/malondialdehyde-biomarker-assessing-oxidative-stress-singh/547055373a46573ba25402410f56dd83>
- Sirmatel, Ö., Sert, C., Sirmatel, F., Selek, S., Yokus, B. (2007). Total antioxidant capacity, total oxidant status and oxidative stress index in the men exposed to 1.5 T static magnetic field. *General Physiology and Biophysics*, 26(2), 86.
- Smith, S. A., ve Morrissey, J. H. (2015). Factor XIII: Structure, function, and regulation. *Thrombosis Research*, 136(3), 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2015.06.035>
- Soni, H., Singhai, A. K. (2012). A recent update of botanicals for wound healing activity. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(7), 1-7.
- Southorn, P. A., Powis, G. (1988). Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, 63(4), 381-389.
- Steiling, H., Munz, B., Werner, S., Brauchle, M. (1999). Different types of ROS-scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Experimental Cell Research*, 247(2), 484-494.
- Sun, Y. I., Oberley, L. W., Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
- Süntar, I., Çetinkaya, S., Panieri, E., Saha, S., Buttari, B., Profumo, E., Saso, L. (2021). Regulatory role of Nrf2 signaling pathway in wound healing process. *Molecules*, 26(9), 2424.
- Syed, V. (2016). TGF- β signaling in cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 117(7), 1279–1287. <https://doi.org/10.1002/jcb.25496>
- Şahiner, Y., Kendirci, M. (2020). Comparison of traditional dressing and topical L-proline administration on pressure ulcers in palliative care and intensive care units' patients. *Journal of Anesthesiology and Reanimation Specialists' Society* . 28(1): 32-38.
- Ten Dijke, P., Arthur, H. M. (2007). Extracellular control of TGF β signalling in vascular development and disease. *Nature reviews Molecular Cell Biology*, 8(11), 857-869.
- Tirichen, H., Yaigoub, H., Xu, W., Wu, C., Li, R., Li, Y. (2021). Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Their Contribution in Chronic Kidney Disease Progression Through Oxidative Stress. *Front Physiol*, 12, 627837.
- Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.

- Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(03\)00043-X](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00043-X)
- Trotta, P. P. (1991). Cytokines: An overview. *American Journal of Reproductive Immunology*, 25(3), 124-129. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1991.tb00629.x>
- Tsuboi, R., Shi, C., Sato, C., Cox, G. N., Ogawa, H. (1995). Co-administration of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-1 stimulates wound healing in animal models. *The Journal of Investigative Dermatology*, 104(2), 199-203. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.EP12612755>
- Tugrul, S., Koçyiğit, A., Doğan, R., Eren, S. B., Senturk, E., Ozturan, O., Ozar, O. F. (2016). Total antioxidant status and oxidative stress in recurrent aphthous stomatitis. *International Journal of Dermatology*, 55(3), e130-e135.
- Turner, M. D., Nedjai, B., Hurst, T., Pennington, D. J. (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1843(11), 2563-2582. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.05.014>
- Uyar, A. (2017). A Histopathological and Biochemical Investigation of the Wound Healing and Oxidative Stress Effect on the Wound Model of the *Achillea millefolium* in Rats. *Van Veterinary Journal*, 28(3), 157–163.
- Uzun, E. (2013). Diyabetik Ratlarda Topikal Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) Uygulamasının Yara Dokusundaki Oksidatif Olaylar Üzerine Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans, Biyoloji, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Valdez, L. B., Lores Arnaiz, S., Bustamante, J., Alvarez, S., Costa, L. E., Boveris, A. (2000). Free radical chemistry in biological systems. *Biological Research*, 33(2), 65-70.
- Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542.
- Wei, Y., Li, J., Huang, Y., Lei, X., Zhang, L., Yin, M., Deng, J., Wang, X., Fu, X., Wu, J. (2022). The clinical effectiveness and safety of using epidermal growth factor, fibroblast growth factor and granulocyte-macrophage colony stimulating factor as therapeutics in acute skin wound healing: A systematic review and meta-analysis. *Burns & Trauma*, 10. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkac002>
- Welday Kahssay, S., Hailu, G. S., Taye Desta, K. (2021). Design, synthesis, characterization and in vivo antidiabetic activity evaluation of some chalcone derivatives. *Drug Design, Development and Therapy*, 3119-3129.
- Werner, S., Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870.

- Witte, M. B., Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 509–528.
- Wöltje, M., Böbel, M., Bienert, M., Neuss, S., Aibibu, D., Cherif, C. (2018). Functionalized silk fibers from transgenic silkworms for wound healing applications: Surface presentation of bioactive epidermal growth factor. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 106(10), 2643-2652. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36458>
- Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *Journal of Nutrition*, 134(3), 489-492. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489>
- Xu, S., Chen, M., Chen, W., Hui, J., Ji, J., Hu, S., Liang, G. (2015). Chemopreventive effect of chalcone derivative, L2H17, in colon cancer development. *BMC Cancer*, 15, 1-14.
- Yadav, V. R., Prasad, S., Sung, B., Aggarwal, B. B. (2011). The role of chalcones in suppression of NF- κ B-mediated inflammation and cancer. *International Immunopharmacology*, 11(3), 295-309.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59, 113-122.
- Yeh, C. J., Chen, C. C., Leu, Y. L., Lin, M. W., Chiu, M. M., Wang, S. H. (2017). The effects of artocarpin on wound healing: in vitro and in vivo studies. *Scientific Reports*, 7(1), 15599.
- Yussof, S. J. M., Omar, E., Pai, D. R., Sood, S. (2012). Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 45(02), 220-228.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(3), 337-349. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00905-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00905-X)
- Zhao L., Zong W., Zhang H., Liu R. (2019). Kidney toxicity and response of selenium containing protein-glutathione peroxidase (Gpx3) to CdTe QDs on different levels. *Toxicol. Sci.* 168 (1), 201–208. [10.1093/toxsci/kfy297](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy297)
- Zhao, B., Chen, Y.-G. (2014). Regulation of TGF- β signal transduction. *Scientifica*, 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/874065>
- Zheng, Y., Wang, X., Ji, S., Tian, S., Wu, H., Luo, P., Fang, H., Wang, L., Wu, G., Xiao, S., Xia, Z. (2016). Mepenzolate bromide promotes diabetic wound healing by modulating inflammation and oxidative stress. *American Journal of Translational Research*, 8(6), 2738–2747.
- Zhou, B. (2015). Diverse molecular targets for chalcones with varied bioactivities. *Medicinal Chemistry*, 5(8), 388-404.

ÖZGEÇMİŞ

