



***LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* GD2 KAYNAKLI LİYOFİLİZE  
PARAPROBİYOTİĞİNİN (PRB-LP<sub>GD2</sub>) YARA İYİLEŞME ÜZERİNDE ANTI-  
OKSİDAN VE ANTI-İNFLAMATUAR AKTİVİTESİNİN ANALİZİ**

**Betül YILDIRIM**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKİM 2024**

## ETİK BEYAN

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

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

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

Betül YILDIRIM

25/10/2024

*LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* GD2 KAYNAKLI LİYOFİLİZE  
PARAPROBİYOTİĞİNİN (PRB-LP<sub>GD2</sub>) YARA İYİLEŞME ÜZERİNDE ANTİ-  
OKSİDAN VE ANTİ-İNFLAMATUAR AKTİVİTESİNİN ANALİZİ  
(Yüksek Lisans Tezi)

Betül YILDIRIM

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2024

ÖZET

Gelişmiş ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olarak görülen ve nüfusunun büyük bir kısmını etkileyen kronik yaralar, iyileşme hızının genellikle yavaş olduğu ve iyileşme eğiliminin olmadığı yaralar olarak bilinmektedir. Yara iyileşmesinde önemli faktör olarak kabul edilen diyabet hastalığı ve yaşlı nüfus, kronik yaralara sahip hasta sayısının artmasına sebep olmaktadır. Aynı zamanda yaşam kalitesini bozan bu yaraların tedavi maliyetleri, gelişmiş ülkelerdeki yıllık olarak hesaplanan sağlık bütçelerinin %2 ila %3'ünü oluşturduğu tahmin edilmektedir. Yara tedavi sürecinin uzaması sonucunda artan maliyetinin yanı sıra, tedaviye herhangi bir şekilde cevap alınmazsa organ kaybı ve hatta ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Bunun yanında, yara iyileşmesinde kullanılan mevcut yaklaşımlar her yara tipinde etkili olmamaktadır. Kronik yaraları hedef alacak ve yara iyileşme sürecini hızlandırabilecek yeni potansiyel terapötik ajanlara ve bu ajanların yara iyileşmesi tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılması için yeni stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla kullanılan paraprobiyotiklerin, yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri çalışmalarla birlikte belirlenmiş olsa da paraprobiyotiklerin terapötik bir ajan olarak kronik yaralar üzerindeki etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir. Yara iyileşme sürecinin her fazında etkili olan serbest radikallerin seviyesinde artış meydana gelmesi, yara iyileşmesini olumsuz etkileyerek kronik yaraya sebep olabilmektedir. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar maddeler, kronik yaraların iyileşmesinde umut verici stratejiler olarak ifade edilmektedir. Bu yüksek lisans tez çalışmasında, kronik yaraların tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılma potansiyeli olan *Lactiplantibacillus plantarum* GD2 kaynaklı liyofilize paraprobiyotiğinin (PRB-LP<sub>GD2</sub>) anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktiviteleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, standart maddelerle kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, *L. plantarum* GD2 kaynaklı liyofilize paraprobiyotiğinin (PRB-LP<sub>GD2</sub>) düşük dozda anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivite gösterebileceği belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 20349  
Anahtar Kelimeler : Paraprobiyotik, yara iyileşmesi, anti-oksidan, anti-inflamatuar  
Sayfa Adedi : 81  
Danışman : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ

ANALYSIS OF ANTI-OXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF  
*LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* GD2 INDUCED LYOPHILIZED  
PARAPROBIOTIC (PRB-Lp<sub>GD2</sub>) ON WOUND HEALING

(M. Sc. Thesis)

Betül YILDIRIM

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2024

ABSTRACT

Chronic wounds, seen as an important health problem in developed countries and affect a large part of the population, are known as wounds where the healing rate is generally slow and there is no tendency to heal. Diabetes and the elderly population, which are considered to be important factors in wound healing, cause an increase in the number of patients with chronic wounds. The treatment costs of these wounds, which also impair quality of life, are estimated to account for 2% to 3% of the annual health budgets in developed countries. In addition to the increased cost of prolonged wound treatment, failure to respond to treatment in any way can result in organ loss and even death. In addition, current approaches to wound healing are not effective in all wound types. There is a need for new potential therapeutic agents that can target chronic wounds and accelerate the wound healing process and new strategies for the successful use of these agents in wound healing treatment. Although the positive effects of paraprobiotics used for this purpose on wound healing have been determined by studies, the effects of paraprobiotics on chronic wounds as a therapeutic agent are not yet fully known. Increased levels of free radicals, which are effective in every phase of the wound healing process, may adversely affect wound healing and cause chronic wounds. Anti-oxidant and anti-inflammatory substances have been reported as promising strategies for healing chronic wounds. In this master's thesis study, the anti-oxidant and anti-inflammatory activities of lyophilized paraprobiotic (PRB-Lp<sub>GD2</sub>) from *Lactiplantibacillus plantarum* GD2, which has the potential to be used as a therapeutic agent in the treatment of chronic wounds, were investigated. The results obtained were evaluated in comparison with standard substances. As a result, it was determined that lyophilized paraprobiotic from *L. plantarum* GD2 (PRB-Lp<sub>GD2</sub>) may show anti-oxidant and anti-inflammatory activity at low doses.

Science Code : 20349  
Key Words : Paraprobiotic, wound healing, anti-oxidant, anti-inflammatory  
Page Number : 81  
Supervisor : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteğini, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Mine TÜRKTATŞ'a en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Belma ASLİM'a teşekkür ederim. Deneysel çalışmalarım boyunca yardımını eksik etmeyen Arş. Gör. Zehra Kübra YILMAZ'a teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi bu dönemde de her zaman beni destekleyen, yanımda olan annem Hatice YILDIRIM, babam Ali YILDIRIM, kardeşim Abdulkadir YILDIRIM, ablam Büşra UÇAK ve abim Ömer UÇAK'a en içten duygularıyla sonsuz teşekkür ederim.

Proje Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2023-8945 no'lu proje kapsamında tamamlanmıştır.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                    | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|
| ÖZET .....                                                         | iv           |
| ABSTRACT.....                                                      | v            |
| TEŞEKKÜR.....                                                      | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....                                                  | vii          |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                          | x            |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....                                            | xii          |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....                                           | xiii         |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                       | xiv          |
| 1. GİRİŞ .....                                                     | 1            |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....                                         | 5            |
| 2.1. Deri ve Yapısı .....                                          | 5            |
| 2.2. Yara.....                                                     | 6            |
| 2.2.1. Yara ve yara iyileşmesi tanımı.....                         | 6            |
| 2.2.2. Yaraların sınıflandırılması .....                           | 6            |
| 2.2.3. Kronik yaraların ekonomi üzerindeki etkisi .....            | 8            |
| 2.2.4. Yara iyileşmesi fazları .....                               | 9            |
| 2.2.5. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler .....                 | 14           |
| 2.3. Probiyotikler .....                                           | 15           |
| 2.4. Paraprobiyotikler .....                                       | 16           |
| 2.5. Paraprobiyotiklerin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi .....   | 17           |
| 2.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres .....                   | 19           |
| 2.7. Yara İyileşmesi ve Reaktif Oksijen Türleri .....              | 21           |
| 2.7.1. Normal yara iyileşmesi ve serbest radikallerin etkisi ..... | 21           |
| 2.7.2. Kronik yara iyileşmesi ve oksidatif stresin etkisi .....    | 23           |

|                                                                                        | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 2.8. Doğal Ürünlerin Yara İyileşmesindeki Etki Mekanizmaları .....                     | 24           |
| 2.8.1. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar moleküller.....                                | 24           |
| 2.9. Anti-Oksidan ve Anti-İnflamatuar Aktivitesi Tayin Metotları.....                  | 26           |
| 2.9.1. DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi .....                                | 27           |
| 2.9.2. ABTS <sup>•+</sup> serbest radikalini giderme aktivitesi.....                   | 27           |
| 2.9.3. FRAP (Demir (III) indirgeyici anti-oksidan güç) aktivitesi testi.....           | 28           |
| 2.9.4. Fosfomolibdat testi .....                                                       | 29           |
| 2.9.5. Metal şelatlama aktivitesi .....                                                | 30           |
| 2.9.6. Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi .....                                 | 30           |
| 2.9.7. Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi .....                                     | 32           |
| 3. MATERYAL VE METOT .....                                                             | 33           |
| 3.1. Materyal.....                                                                     | 33           |
| 3.1.1. Kullanılan maddeler.....                                                        | 33           |
| 3.1.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler .....                                            | 33           |
| 3.2. Metot.....                                                                        | 35           |
| 3.2.1. Çalışmada kullanılan bakteri ve liyofilize paraprobiyotiklerin hazırlanışı..... | 35           |
| 3.2.2. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivitelerin belirlenmesi .....               | 35           |
| 3.2.3. İstatistiksel analiz.....                                                       | 39           |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....                                                           | 41           |
| 4.1. Paraprobiyotik Eldesi Sonuçları .....                                             | 41           |
| 4.2. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Sonuçları.....                      | 41           |
| 4.3. ABTS <sup>•+</sup> Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Sonuçları .....          | 42           |
| 4.4. Fosfomolibdat Testi Sonuçları.....                                                | 43           |
| 4.5. FRAP Aktivitesi Sonuçları .....                                                   | 44           |
| 4.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Sonuçları .....                                        | 45           |

|                                                                | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------|--------------|
| 4.7. Lipid Peroksidasyon İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları ..... | 47           |
| 4.8. Ksantin Oksidaz İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları.....      | 49           |
| 5. TARTIŞMA.....                                               | 51           |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                     | 63           |
| KAYNAKLAR .....                                                | 65           |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                 | 81           |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                                                                                                                             | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 2.1. Dünya çapında yara bakım hizmetinde en çok harcama yapan 10 ülke ....                                                                                                                                  | 9     |
| Çizelge 2.2. Yara iyileşmesinde rol alan bazı büyüme faktörleri, sitokinlerin görevleri ve kaynakları .....                                                                                                         | 14    |
| Çizelge 2.3. Serbest radikallerin sınıflandırılması .....                                                                                                                                                           | 20    |
| Çizelge 3.1. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivite tayinlerinde kullanılan kimyasal maddeler .....                                                                                                              | 33    |
| Çizelge 3.2. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler..                                                                                                                            | 33    |
| Çizelge 3.3. ABTS <sup>++</sup> serbest radikalin giderme aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler .....                                                                                                        | 34    |
| Çizelge 3.4. FRAP (Demir (III) indirgeyici anti-oksidan güç) aktivitesi için kullanılan çözeltiler .....                                                                                                            | 34    |
| Çizelge 3.5. Fosfomolibdat testi için kullanılan çözeltiler .....                                                                                                                                                   | 34    |
| Çizelge 3.6. Metal şelatlama aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler.....                                                                                                                                      | 34    |
| Çizelge 3.7. Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler .....                                                                                                                      | 34    |
| Çizelge 3.8. Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi için kullanılan çözeltiler.....                                                                                                                                  | 35    |
| Çizelge 4.1. Paraprobiyotiğin ve BHA'nın DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % DPPH ile serbest radikali giderme aktivitesi $\pm$ SD olarak verildi .....                                   | 41    |
| Çizelge 4.2. Paraprobiyotiğin ve troloksun ABTS <sup>++</sup> serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % ABTS ile serbest radikali giderme aktivitesi $\pm$ SD olarak verildi .....                   | 43    |
| Çizelge 4.3. Paraprobiyotiğin ve askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi $\pm$ SD olarak verildi..... | 44    |
| Çizelge 4.4. Paraprobiyotiğin ve troloksun FRAP aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % FRAP aktivitesi $\pm$ SD olarak verildi .....                                                                                      | 45    |
| Çizelge 4.5. Paraprobiyotiğin ve EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Metal şelatlama aktivitesi $\pm$ SD olarak verildi .....                                                                 | 46    |
| Çizelge 4.6. Paraprobiyotiğin ve askorbik asitin lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi $\pm$ SD olarak verildi .....                            | 47    |

| <b>Çizelge</b>                                                                                                                                                     | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.7. Paraprobiyotığın ve allopurinolün ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Ksantin oksidaz inhibisyon $\pm$ SD olarak verildi .... | 49           |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                                                                    | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Farklı deri katmanları ve bileşenlerini gösteren temel insan deri anatomisi..                                 | 5     |
| Şekil 2.2. Yaraların sınıflandırılması.....                                                                              | 6     |
| Şekil 2.3. Akut ve kronik yaraların karşılaştırılması.....                                                               | 7     |
| Şekil 2.4. Akut ve kronik yaralarda aktif süreçler.....                                                                  | 8     |
| Şekil 2.5. Yara iyileşme fazlarının şematik gösterimi .....                                                              | 13    |
| Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin kaynakları ve yüksek seviyede ROS sonucunda oluşan oksidatif stresin etkileri..... | 21    |
| Şekil 2.7. Normal yara iyileşmesinde rol oynayan ROS .....                                                               | 23    |
| Şekil 2.8. DPPH serbest radikalın anti-oksidanlar ile reaksiyon mekanizması.....                                         | 27    |
| Şekil 2.9. ABTS•+ serbest radikal oluşumu .....                                                                          | 28    |
| Şekil 2.10. FRAP reaksiyon mekanizması .....                                                                             | 29    |
| Şekil 2.11. Fosfomolibdat reaksiyon mekanizması.....                                                                     | 29    |
| Şekil 2.12. Tiyobarbitürik asit reaktif madde reaksiyonu .....                                                           | 31    |
| Şekil 2.13. XO enziminin UA ve süperoksit radikali meydana getirmesi.....                                                | 32    |

## RESİMLERİN LİSTESİ

| Resim                                                                                              | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Resim 4.1. Paraprobiyotiğin elde edilmesi.....                                                     | 41    |
| Resim 4.2. Paraprobiyotiğin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları.....                 | 42    |
| Resim 4.3. Pozitif kontrolün DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları.....                | 42    |
| Resim 4.4. Paraprobiyotiğin ABTS <sup>++</sup> serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları.....   | 43    |
| Resim 4.5. Pozitif kontrolün ABTS <sup>++</sup> serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları ..... | 43    |
| Resim 4.6. Paraprobiyotiğin fosfomolibdat testi sonuçları .....                                    | 44    |
| Resim 4.7. Pozitif kontrolün fosfomolibdat testi sonuçları.....                                    | 44    |
| Resim 4.8. Paraprobiyotiğin FRAP aktivitesi sonuçları.....                                         | 45    |
| Resim 4.9. Pozitif kontrolün FRAP aktivitesi sonuçları .....                                       | 45    |
| Resim 4.10. Paraprobiyotiğin metal şelatlama aktivitesi sonuçları.....                             | 46    |
| Resim 4.11. Pozitif kontrolün metal şelatlama aktivitesi sonuçları .....                           | 47    |
| Resim 4.12. Paraprobiyotiğin sıcak su banyosundan çıkarıldıktan sonra elde edilen sonuç.....       | 48    |
| Resim 4.13. Paraprobiyotiğin lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi sonuçları .....             | 48    |
| Resim 4.14. Pozitif kontrolün lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi sonuçları .....            | 49    |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

| <b>Simgeler</b> | <b>Açıklamalar</b> |
|-----------------|--------------------|
| %               | Yüzde              |
| °               | Derece             |
| °C              | Santigrat derece   |
| µg              | Mikrogram          |
| µl              | Mikrolitre         |
| µM              | Mikromolar         |
| g               | Gram               |
| M               | Molar              |
| m <sup>2</sup>  | Metrekare          |
| mg              | Miligram           |
| ml              | Mililitre          |
| mM              | Milimolar          |
| N               | Normal             |
| nm              | Nanometre          |
| α               | Alfa               |
| β               | Beta               |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>                                  |
|--------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>4-HNE</b>       | 4-hidroksinonenal                                   |
| <b>AA</b>          | Araşidonik asit                                     |
| <b>ABD</b>         | Amerika Birleşik Devletleri                         |
| <b>ABTS</b>        | 2,2'-azinobis (3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit) |
| <b>AP-1</b>        | Aktivatör protein-1                                 |
| <b>BHA</b>         | Bütillenmiş hidroksianisol                          |
| <b>BHT</b>         | Bütillenmiş hidroksitoluen                          |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>                       |
|--------------------|------------------------------------------|
| <b>CAT</b>         | Katalaz                                  |
| <b>Cd</b>          | Kadmiyum                                 |
| <b>Co</b>          | Karbon                                   |
| <b>COX</b>         | Siklooksijenaz                           |
| <b>Cr</b>          | Krom                                     |
| <b>Cu</b>          | Bakır                                    |
| <b>DPPH</b>        | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil             |
| <b>ECM</b>         | Ekstrasellüler matriks                   |
| <b>EDTA</b>        | Etilendiamin tetraasetikasit             |
| <b>EGF</b>         | Epidermal büyüme faktörü                 |
| <b>FAO</b>         | Gıda ve Tarım Örgütü                     |
| <b>Fe</b>          | Demir                                    |
| <b>FGF</b>         | Fibroblast büyüme faktörü                |
| <b>FRAP</b>        | Demir (III) indirgeyici anti-oksidan güç |
| <b>GMSC</b>        | Mezenkimal kök hücreleri                 |
| <b>GPx</b>         | Glutasyon peroksidazlar                  |
| <b>GR</b>          | Glutasyon redüktaz                       |
| <b>HAT</b>         | Hidrojen atom transferine dayanan metot  |
| <b>HCl</b>         | Hidrojen klorür                          |
| <b>Hg</b>          | Civa                                     |
| <b>IL-1</b>        | İnterlökin 1                             |
| <b>IL-10</b>       | İnterlökin 10                            |
| <b>IL-12</b>       | İnterlökin 12                            |
| <b>IL-6</b>        | İnterlökin 6                             |
| <b>IL-8</b>        | İnterlökin 8                             |
| <b>iNOS</b>        | İndüklenebilir nitrik oksit sentaz       |
| <b>KGF</b>         | Keratinosit büyüme faktörü               |
| <b>LAB</b>         | Laktik asit bakterileri                  |
| <b>LC-MS</b>       | Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi |
| <b>LOX</b>         | Lipooksijenaz                            |
| <b>LPO</b>         | Lipid peroksidasyon                      |
| <b>LTs</b>         | Lökotrienler                             |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>                     |
|--------------------|----------------------------------------|
| <b>MDA</b>         | Malondialdehit                         |
| <b>MMP</b>         | Matris metalloproteinaz                |
| <b>Mn</b>          | Magnezyum                              |
| <b>NaOH</b>        | Sodyum hidroksit                       |
| <b>NADPH</b>       | Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat  |
| <b>NF-κB</b>       | Nükleer faktör kappa B                 |
| <b>NOX</b>         | NADPH oksidaz                          |
| <b>Pd</b>          | Paladyum                               |
| <b>PDGF</b>        | Trombosit kaynaklı büyüme faktörü      |
| <b>PGs</b>         | Protraglandinler                       |
| <b>PUFA</b>        | Çoklu doymamış yağ asitleri            |
| <b>RNS</b>         | Reaktif azot türleri                   |
| <b>ROS</b>         | Reaktif oksijen türler                 |
| <b>RSS</b>         | Reaktif sülfür türleri                 |
| <b>SET</b>         | Tek elektron transferine dayanan metot |
| <b>SOD</b>         | Süperoksit dismutaz                    |
| <b>TBA</b>         | 2-tiyobarbitürik asit                  |
| <b>TBARS</b>       | Tiyobarbitürik asit reaktif türleri    |
| <b>TCA</b>         | Trikloroasetik asit                    |
| <b>TEAC</b>        | Troloks Eşdeğer Anti-oksidan Kapasite  |
| <b>TGF-β1</b>      | Dönüştürücü büyüme faktörü beta1       |
| <b>TNF- α</b>      | Tümör nekrozis faktör alfa             |
| <b>TPTZ</b>        | 2,4,6 Tripridil-S-Triazin              |
| <b>UA</b>          | Ürik asit                              |
| <b>UV</b>          | Ultraviyole                            |
| <b>UVB</b>         | Morötesi ışın                          |
| <b>VEGF</b>        | Vasküler endotelial büyüme faktörü     |
| <b>WHO</b>         | Dünya Sağlık Örgütü                    |
| <b>X</b>           | Ksantin                                |
| <b>XO</b>          | Ksantin oksidaz                        |
| <b>XOI</b>         | Ksantin oksidaz inhibitörü             |
| <b>Zn</b>          | Çinko                                  |

## 1. GİRİŞ

Deri, insan vücudundaki en büyük organdır. İç dokuları mekanik hasardan, ultraviyole (UV) radyasyondan, mikrobiyal enfeksiyondan ve aşırı sıcaktan koruyan kritik bir yapıdır. Bariyer görevi görmesi, deriyi hem bireysel hastalıklara hem de sağlık ekonomisi üzerinde önemli etkisi olan yaralanmalara karşı oldukça hassas hale getirmektedir (Rodrigues ve diğerleri, 2019). Fiziksel, kimyasal veya mekanik faktörler sonucunda meydana gelen yaralar, cildin yapısını ve işlevini tehlikeye atmaktadır. Fonksiyon kaybına, ağrı ve iltihaplanmaya sebep olan yara, hastanın yaşamını ve tedavi sürecinde finansal durumunu etkilemektedir. Yaralar, oluşum türüne ve iyileşme süresine bağlı olarak akut ve kronik olarak isimlendirilmektedir. Akut yaralar, iki ile üç hafta içerisinde yapısal bütünlüğün yeniden kazanılması ile sonuçlanan bir dizi moleküler olaya uğramaktadır. Kronik yaralar ise temel ve düzensiz bir iyileşme süreci sebebiyle, inflamasyon sürecinin uzamasına bağlı olarak iyileşmenin diğer aşamalarının tamamlanmaması sonucunda, anatomik ve işlevsel bütünlüğün yeniden kazanılamadığı yaralar olarak ifade edilmektedir (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023; Dai ve diğerleri, 2020; Guo ve DiPietro, 2010; Joorabloo ve Liu, 2024; Lopes ve diğerleri, 2024; Miranda ve diğerleri, 2024; Raziyeve ve diğerleri, 2021). Bir cilt dokusunun işlevinin ve normal anatomik yapısının bozulmasına sonucunda meydana gelen yara iyileşmesi, karmaşık ancak dinamik, düzenli ve hassas bir süreçtir. Aynı zamanda bu süreç, cilt bütünlüğünün geri kazanılması için bir araya gelmesi gereken bir dizi farklı ancak örtüşen aşamayı içermektedir: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme. Bir yaranın başarılı bir şekilde iyileşmesi için dört aşamanın da doğru sırayla ve zaman diliminde gerçekleşmesi gerekmektedir. Birçok faktör, bu yara iyileşme sürecinin bir veya daha fazla aşamasına müdahale edebilir. Böylece, bu faktörler yüksek düzeyde düzenlenmiş sürecin bozulmasına ve gecikmeler meydana gelmesine sebep olmaktadır. Yaranın kapanmasındaki gecikmeler, enfeksiyon riskine maruz bırakabilir (Aitchison ve diğerleri, 2021; Comino-Sanz ve diğerleri, 2021; Guo ve DiPietro, 2010; Ibrahim ve diğerleri, 2018). Buna ek olarak, yaranın doku nekrozu, hematomlar, osteomyelit (kemik iltihabı) ve hatta anksiyete, depresyon gibi zihinsel sağlık sorunları komplikasyonları ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, yara yönetimi klinikte bir zorluk olmaktadır. Kronik yaraların iyileşmesinde mevcut tedaviler, yara iyileşmesini teşvik etse de her yara tipinde etkili olmamaktadır. Mevcut tedavilerin yetersiz kalması sebebiyle, özellikle kronik yaraları hedef alacak yara iyileştirme potansiyeli olan yeni terapötik ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte, doğal ve doğal olmayan kaynaklardan elde edilen yara iyileştirici olarak kullanılan terapötik

ajanlara ilgi artmaktadır. Probiyotikler de yara iyileştirici doğal ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Probiyotiklerin insan sağlığına çok sayıda faydası olmasına rağmen, suşa özgü davranışları, kısa ömürlülükleri, stabiliteleri ve depolama koşulları, gelişen antibiyotik direnci, virülans gen transferi, inflamatuvar yanıt gibi birtakım olumsuz etkilere sahip oldukları belirtilmektedir. Bu sebeple, probiyotik kullanımı prematüre bebeklerde, bağışıklığı zayıf olan insanlarda kullanımının tehlikeli olabileceği ifade edilmektedir. Probiyotiklerin bu eksikliklerini gidermek için probiyotik kaynaklı inaktif ürünlerden biri olan paraprobiyotiklere yönelim artmıştır. Yeterli miktarlarda uygulandığında vücuda faydalı etkiler sağlayan inaktif (cansız) mikrobiyal hücreler olarak tanımlanan paraprobiyotikler ile ilgili günümüze kadar yapılan çeşitli çalışmalarda, sağlığa faydalı olduklarının ve yaralar üzerindeki olumlu etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, paraprobiyotiklerin doğrudan veya dolaylı olarak anti-mikrobiyal, anti-oksidan, anti-inflamatuvar ve immünomodülatör aktiviteler gibi çeşitli biyoaktif özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Batista ve diğerleri, 2020; Chaiyasut ve diğerleri, 2022; Danladi ve diğerleri, 2022; França, 2021; Goh ve diğerleri, 2022; Lee ve diğerleri, 2024; Martyniak ve diğerleri, 2021; Nam ve diğerleri, 2021; Nobre ve diğerleri, 2023; Norouzi ve diğerleri, 2019; Pramanik ve diğerleri, 2023; Russo ve diğerleri, 2019).

İnflamasyon ve redoks reaksiyonunun bir parçası olan oksidasyonun düzenlenmesi, yara iyileşmesinde önemli faktörler arasında sayılmaktadır. Aşırı inflamatuvar reaksiyonlar, yara izi ve yara iyileşmesinin engellenmesi dahil olmak üzere ciddi patolojik değişikliklere sebep olabilmektedir. Yaraların kronikleşmesinde ana faktör olarak kabul edilen bozulmuş hücre altı redoks sinyali ve serbest radikallerin fazla üretimi sonucunda oluşan oksidatif stres, yara iyileşme fazlarında ve yara kapanmasında kritik bir rol oynamaktadır (Atayık ve Çakatay, 2023; Cano Sanchez ve diğerleri, 2018). Özellikle inflamatuvar hücrelerden nötrofiller, serbest radikaller türlerinden biri olan reaktif oksijen türleri (ROS) üretme kapasitesine sahiptir. Patojenler, yarada enfeksiyonuna sebep olduğundan, fagositik hücreler anti-mikrobiyal bir durum sağlamaktadır. Bu sebeple, patojenlerin ve yara kalıntılarının uzaklaştırılmasını hızlandırmak, konakçı savunmasını geliştirmek için sitokinler ve ROS üretilmektedir. Savunma mekanizması olarak faydalı etkilere sahip olan ROS gibi biyolojik oksidanlar, uygun dozda yara iyileşmesi gibi normal vücut fonksiyonlarının sürdürülmesinde gerekli olduğu gibi, sıklıkla yara iyileşmesini bozabilecek zararlı etkilere de sahip olduğu belirtilmiştir. Yüksek dozda ve kontrolsüz oksidatif stres, kronik yaraların patogenezinde merkezi bir rol oynayan inflamasyon sürecinin uzamasına ve deregülasyona

katkıda bulunmaktadır (Cano Sanchez ve diğerleri, 2018; Fadilah ve diğerleri, 2023; Ibrahim ve diğerleri, 2018; Joorabloo ve Liu, 2024). Bu nedenle, yara iyileşmesi için yüksek ve düşük ROS seviyesi arasında uygun bir denge şarttır. Bu dengelemeye yönelik anti-oksidan ve anti-inflamatuar tedavi stratejileri ortaya çıkmaktadır. Anti-inflamatuar tedaviler inflamasyonu azaltarak etki gösterirken, anti-oksidan tedaviler ROS'u aşağı regüle etmede ve oksidatif stresi baskılamada merkezi rol oynamaktadır. Bunlar stratejiler, kronik yara iyileşmesinde umut verici olarak kabul edilmektedir (Joorabloo ve Liu, 2024; Xu ve diğerleri, 2024).

Biyolojik sistemlerdeki anti-oksidanların temel rolü, biyolojik moleküllerin oksidasyonunu engellemek veya geciktirmektir. Oksidatif stresin seviyesini baskılayarak biyolojik moleküllerin oksidatif kaynaklı hasarını hafifleten anti-oksidanlar, sentetik ve doğal anti-oksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Son yıllarda sentetik anti-oksidanların kullanımı ile ilgili olumsuz etkiler, doğal anti-oksidanlara olan ilgiyi artırmıştır. Bunun yanında, doğal anti-oksidanların yara tedavisi sırasında oksidatif stresi baskılamada bazı olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir (Jomova ve diğerleri, 2024; Vougiouklaki ve diğerleri, 2023).

Ayrıca, yara iyileştirme tedavilerinde kullanılan doğal ürünlerin terapötik potansiyellerinde rol oynayan mekanizmalar arasında anti-mikrobiyal, anti-inflamatuar ve anti-oksidan aktiviteler olduğu ifade edilmektedir. Bu aktivitelere sahip olan doğal ürünlerin enfeksiyon önleme, inflamasyonu azaltma ve hücre koruma özellikleri göstererek yara iyileşmesini destekledikleri ortaya çıkarılmaktadır. Hem *in-vitro* hem de *in-vivo* olarak yapılan birçok çalışmada, bu özelliklerin ikiden fazlasına sahip olup olmadıkları gösterilen doğal ürünler, sahip oldukları anti-oksidan, anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal aktiviteleri sayesinde daha etkili tedavi yöntemi geliştirmeyi amaçlayan araştırmaların hedefi haline getirilmektedir (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023).

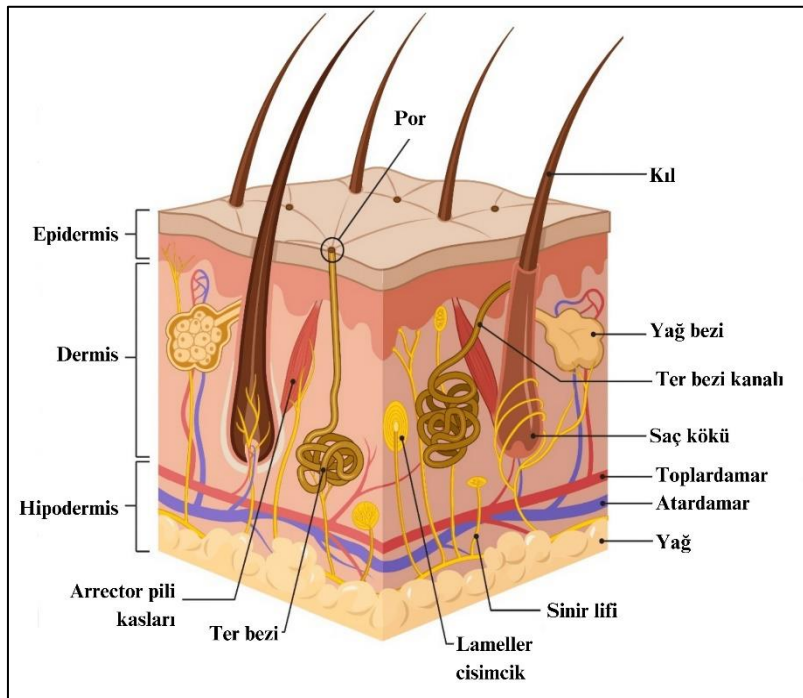
Günümüzde yara tedavisi için çeşitli anti-inflamatuarlar ve anti-oksidanlar kullanılmaktadır. Bu çalışmada da ekibimizce yüksek oranda yara kapatma özelliği olduğu belirlenmiş olan *Lactiplantibacillus plantarum* GD2 kaynaklı liyofilize paraprobiyotisinin (PRB-LpGD2), anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkileri araştırılarak, yara tedavi süresince bu özelliklerinin terapötik hedef olma potansiyelindeki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, DPPH ve ABTS<sup>•+</sup> serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, demir (III) indirgeyici anti-oksidan gücü aktivitesi (FRAP), fosfomolibdat aktivitesi, lipid

peroksidasyon inhibisyonu, ksantin oksidaz (XO) inhibisyonu gibi farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışma, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğinin anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkinliklerinin araştırıldığı ilk araştırma özelliği taşımaktadır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Deri ve Yapısı

Deri, ortalama 1,85 m<sup>2</sup>'lik bir yüzey alanı kaplayarak toplam vücut ağırlığının yaklaşık %16'sını oluşturmaktadır. İnsan vücudunun en büyük organı olan deri epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.1). Epidermis, keratinositler, melanositler ve *Langerhans* hücrelerini içermektedir. Dermis ise mast hücrelerine, fibroblastlara, makrofajlara, ekstraselüler matriks bileşenlerine (ECM), kan damarlarına, kıl foliküllerine, ter bezlerine ve sinir uçlarına sahip bir bağ dokusudur. Bu tabaka cilde esneklik sağlar ve vücudu aşınmalardan korur. Derinin en derin bölgesinde bulunan hipodermis ise enerji deposu görevi görür ve yağ dokusu, damarlar, sinirler içermektedir. Deri patojenlere, fiziksel hasara, aşırı sıvı kaybına karşı vücut ile dış ortam arasında koruyucu bir bariyer görevi görmektedir. Bu yüzden deride oluşabilecek bir hasar yaşamı tehdit edebilir. Derinin işlevini sürdürebilmesi ve sağlıklı kalabilmesi için yaralanmadan hemen sonra cilt bütünlüğünün sağlanması gerekmektedir (Baali ve diğerleri, 2024; Cañedo-Dorantes ve Cañedo-Ayala, 2019; Dai ve diğerleri, 2020; Katiyar ve diğerleri, 2022; Kolimi ve diğerleri, 2022; Tottoli ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.1. Farklı deri katmanları ve bileşenlerini gösteren temel insan deri anatomisi (Kolimi ve diğerleri, 2022)

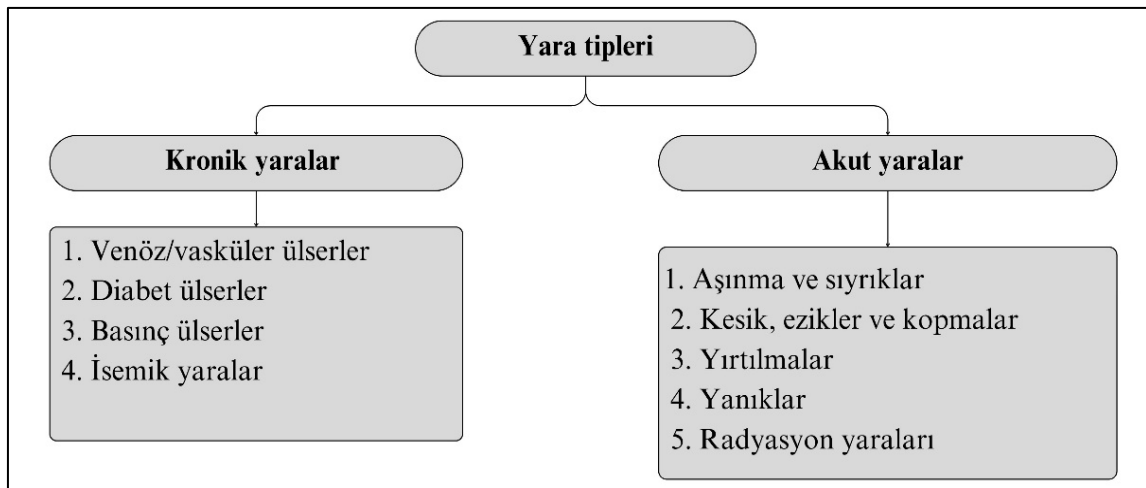
## 2.2. Yara

### 2.2.1. Yara ve yara iyileşmesi tanımı

Yara, travmalar, ameliyatlara veya hastalık gibi faktörler sonucunda cildin bütünlüğünün ve fizyolojik işlevlerinin kaybı olarak tanımlanmaktadır. Deri bütünlüğünün kaybı ile yara yatağı ve alttaki doku mikrobiyal kontaminasyona karşı savunmasız hale gelir ve bu da enfeksiyona sebep olmaktadır. Cilt, hasar gördüğünde hızlı ve verimli bir şekilde onarılması hayati önem taşıdığından, cilt yaralanmasından hemen sonra yara iyileşme süreci başlamaktadır. Doku hasarına karşı doğal bir fizyolojik reaksiyon olan yara iyileşmesi, hasarlı dokuyu verimli bir şekilde onarmak ve işleyişin yeniden sağlanabilmesi için sıkı bir şekilde düzenlenmesi gereken sayısız hücresel olay tarafından desteklenen karmaşık ve dinamik bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Optimal yara onarımı, birbirinden ayrı ancak örtüşen bir olay dizisini takip eder ve yara kapanışı 3-14 gün içinde sağlanmaktadır. Bu dizinin düzensizliği, iyileşmenin gecikmesine ve kronik bir yaranın gelişmesine neden olabilir. Bağışıklığı baskılanmış bireyler, diyabet, nöropati veya arteriyel hastalık gibi altta yatan rahatsızlıkları olanlar, gecikmiş iyileşmeye özellikle duyarlıdır (Baali ve diğerleri, 2024; Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023; Piipponen ve diğerleri, 2020; Uberoi ve diğerleri, 2024; Wilkinson ve Hardman, 2020).

### 2.2.2. Yaraların sınıflandırılması

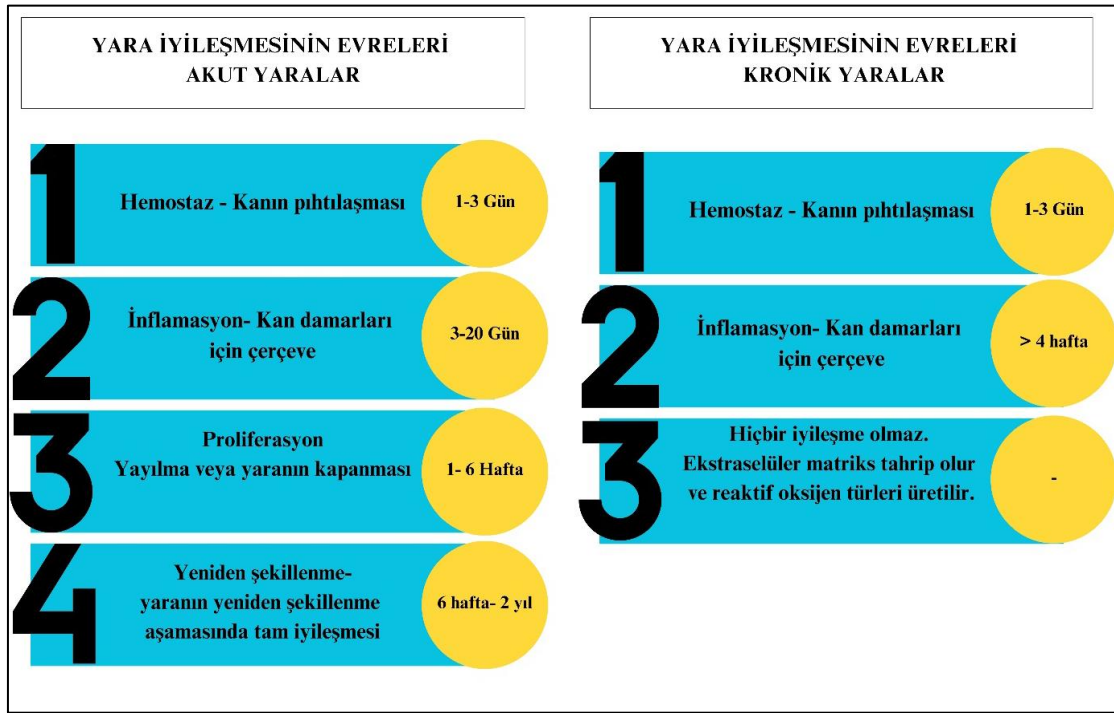
Yaralar, klinik olarak akut ve kronik olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Yaraların sınıflandırılması (Irfan-Maqsood, 2018)

### Akut ve kronik yaralar

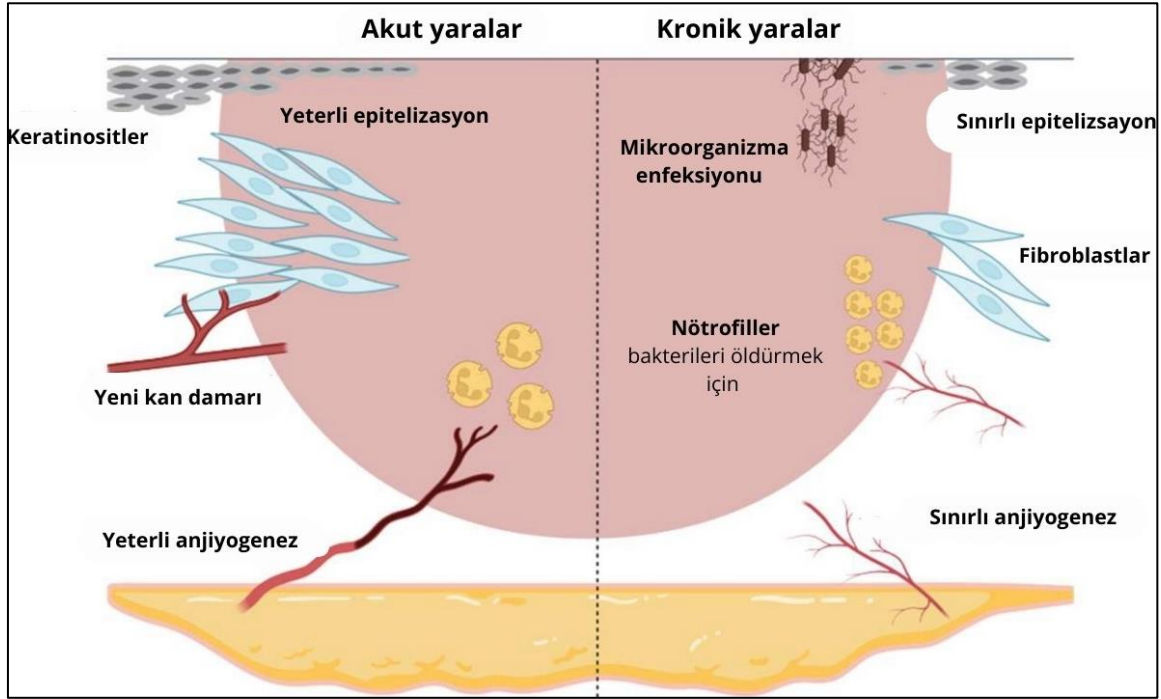
Normal yaralar olarak da bilinen akut yaralar, genellikle travmatik veya cerrahi yaralanmalar sonucunda oluşmaktadır. Akut yaralarda yara iyileşme süreci sıralı, sinerjik ve kesintisiz olarak meydana gelmektedir (Duarte ve diğerleri, 2024) (Şekil 2.3). Bu yaralarda kısa sürede küçük yara izi ile tamamen iyileşme meydana gelmektedir.



Şekil 2.3. Akut ve kronik yaraların karşılaştırılması (Gounden ve Singh, 2024)

Kronik yaralar ise kesintili yara iyileşme süreci sebebiyle fonksiyonel bütünlüğünün geri getirilmesinin birkaç ay sürdüğü veya asla tamamen iyileşemediği yaralar olarak ifade edilmektedir. Ayrıca, beklenen zaman diliminde iyileşmeyen kronik yaralar, iyileşme sürecinin inflamatuvar fazında duran yaralanmalardır. Yaraların geç iyileşmesinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamış olsa da, kalıcı inflamasyon sebepleri arasında oksidatif stres, bozulmuş anjiyogenez, proinflamatuvar sitokinler ve bakteriyel enfeksiyon sayılmaktadır. Kronik yaralar, iyileşme sürecinin koordinesiz bir şekilde ilerlemesi ve fonksiyonel, anatomik sonuçların kötü olması sebebiyle sıklıkla nükseder. Ayrıca, bu kronik yaralarda yeni kan damarı oluşumunda başarısızlık, fibroblast proliferasyonunda azalma ve nötrofillerin anti-enfeksiyon aktivitelerinin zayıf anjiyogenez tarafından engellenmesi görülmektedir (Şekil 2.4). Kronik yaraların tedavisinde karşılaşılan bazı zorluklar arasında

enfeksiyon veya biyofilm oluşumu, enfeksiyon sonucunda amputasyon meydana gelmesi, hastanın hayatını tehdit etmesi, yaranın beslenme kaybına sebep olarak tüm vücudun beslenme durumunu kötüleştirebilmesi, nekrotik dokular, zayıf farmakokinetik ve hücrel anormallikler yer almaktadır. Bu durum, yara bakım uzmanlarına ve birçok sağlık kaynağına yüksek talep meydana getirmektedir (Attinger ve diğerleri, 2006; Huang ve diğerleri, 2024; Joorabloo ve Liu, 2024; Polaka ve diğerleri, 2022; Vitale ve diğerleri, 2022; Wang ve diğerleri, 2023; Xu ve diğerleri, 2020; Yaşayan ve diğerleri, 2023). Sürekli tedavi gerektiren kronik yaralar, yüksek oranda bireylerde hareketsizliğe ve ağrıya sebep olarak hem hastanın yaşam kalitesini hem de finansal kaynağını olumsuz yönde etkileyen, sağlık çalışanları ve tüm sağlık sistemi için önemli bir yük oluşturan küresel bir sağlık sorunudur (Falanga ve diğerleri, 2022; Ferreres ve diğerleri, 2024; Monika ve diğerleri, 2022).



Şekil 2.4. Akut ve kronik yaralarda aktif süreçler (Vitale ve diğerleri, 2022)

### 2.2.3. Kronik yaraların ekonomi üzerindeki etkisi

Her yıl milyonlarca insan, çeşitli nedenlerle yaralanmaktadır. Dünya çapında yara bakımı hizmetinde en çok harcama yapan ülkeler arasında Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Çin, Japonya, Almanya, Fransa, Birleşik Krallık, Kanada, Brezilya, İtalya ve Avustralya bulunmaktadır (Queen ve Harding, 2024) (Çizelge 2.1). Ciddi mali yük oluşturan yaralar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, ABD'de kronik yaraların tüm insan deri hastalıkları

içinde maliyeti en yüksek olduğu ve kronik yaraların 6 milyondan fazla insanı etkilediği belirtilmektedir. Nüfus yaşlanmaya devam ettikçe, obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalık oranları arttıkça ve bu tür bir durum için teşhis-tedavi araçlarının henüz tam olarak tanımlanamadıkça, dünya çapında potansiyel olarak kronik yaralardan etkilenen insanların sayısı kontrolsüz bir şekilde artmaya devam edeceği tahmin edilmektedir. Yaraları tedavi etmek için birçok yöntem bulunmaktadır. Ancak, bu yöntemler her yara tipinde etkili değildir. Sadece bazılarını etkilediklerinden mevcut tedaviler yetersiz kalmaktadırlar. Bu durum göz önüne alınarak, yara onarımını teşvik etmek, özellikle kronik yaraların deri rejenerasyonunu hızlandırmak, hastanın yaşam kalitesini artırmak ve sağlık hizmet maliyetini azaltmak için etkili terapötik ajanlara ve tedaviye yönelik yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Yara evresinin teşhis edilmesi, yara onarımının temelini oluşturan mekanizmaları biyolojik ve klinik olarak daha iyi anlaşılması, uygun tedavinin geliştirilmesi ve yara bakımının iyileştirilmesi açısından önemli olduğu bilinmektedir (Cañedo-Dorantes ve Cañedo-Ayala, 2019; Joorabloo ve Liu, 2024; Las Heras ve diğerleri, 2024; Mascharak ve diğerleri, 2022; Mota ve diğerleri, 2024; Nouri ve diğerleri, 2024).

Çizelge 2.1. Dünya çapında yara bakım hizmetinde en çok harcama yapan 10 ülke (Queen ve Harding, 2024)

|                  | 2022 yılında tahmini yara bakım maliyetleri (milyar) |
|------------------|------------------------------------------------------|
| ABD              | 148,65 dolar                                         |
| ÇİN              | 42,78 dolar                                          |
| JAPONYA          | 22,91 dolar                                          |
| ALMANYA          | 23,33 dolar                                          |
| FRANSA           | 14,74 dolar                                          |
| BİRLEŞİK KRALLIK | 13,31 dolar                                          |
| BREZİLYA         | 11,18 dolar                                          |
| KANADA           | 9,34 dolar                                           |
| İTALYA           | 8,84 dolar                                           |

#### 2.2.4. Yara iyileşmesi fazları

Yara iyileşmesinin önemi amacı, enfeksiyonları engellemektir. Ayrıca, cilt dokusunun fonksiyonunu ve gücünü geri kazandırmaktır. Yaralanmayı takiben farklı hücre tiplerini, büyüme faktörlerini ve sitokinleri içeren fizyolojik bir süreç olan yara iyileşmesi

başlamaktadır (Çizelge 2.2). Bu süreç, yaralanmanın boyutuna ve mekanizmasına da bağlıdır (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023). Yara iyileşme süreci dört aşama ile karakterize edilir:

#### Hemostaz fazı

İlk aşama olan hemostaz fazı, kanamayı durdurmak için vazokonstriksiyonun ardından trombositlerin aktive olduğu, pıhtılaşmanın ve fibrin pıhtısı oluşumunun başladığı süreci ifade etmektedir. Yaralanmadan hemen sonra hasarlı kan damarında hızlı bir şekilde büzülme meydana gelir ve vasküler hasardan kaynaklanan kan kaybını önleyen bir kan pıhtısı oluşur. Fizyolojik olarak, yüksek kesme kuvveti olmadan trombositler inaktif durumdadır ve damar duvarlarına yapışmaz. Hemostaz ve pıhtılaşmaya temel katkıda bulunan trombositler, vasküler subendotelyal matris ile karşılaştıklarında aktive olurlar. Trombosit reseptörleri (glikoprotein VI), ECM proteinleri ile etkileşime girerek kan damarı duvarına yapışmayı teşvik etmektedir. Aktif olan trombositler, granüllerini serbest bırakarak daha fazla trombositin yara bölgesine yapışmasını sağlayarak trombosit tıkaçı meydana getirir (birincil hemostaz). Pıhtılaşma faktörlerinin aktif olması sonucunda, fibrinojen fibrine dönüştürülerek pıhtı meydana gelmektedir. Fibrin, fibronektin, vitronektin ve trombospondinden oluşan pıhtı, yarayı tıkayarak kanamayı önlemektedir. Yeterli pıhtı oluştuğunda, pıhtılaşma süreci sonlandırılır ve aşırı tromboz önlenir. Bu sürecin fizyolojik önemi, yara iyileşmesi için gerekli olan diğer hücrelerin göçü ve çoğalması için bir iskele oluşturmaktır. Ayrıca, hasarlı kan damarlarının geçici olarak kapanması, dokuların bakteriyel kontaminasyondan ve vücut sıvılarının kaybından kurtulma yeteneğini de güçlendirebilir (Şekil 2.5A) (Las Heras ve diğerleri, 2024; Wilkinson ve Hardman, 2020).

#### İnflamasyon fazı

Hemostaz sağlandıktan sonra, savunma aşaması olan inflamasyon fazı başlamaktadır. Trombositlerden salınan kemotaktik faktörler ve kan akımı sonucunda, yara bölgesine inflamatuvar hücreler göç eder. Yaralanmadan birkaç dakika sonra başlayan inflamasyon fazında, yara bölgesine gelen nötrofiller, makrofajlar ve lenfosit hücreleri hasarı azaltmaya başlar ve mikroorganizmalara karşı bir bağışıklık bariyeri kurulur. İnflamasyon fazı, erken ve geç olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. İlk birkaç gün nötrofiller baskın olur. Nötrofiller, inflamatuvar bir yanıt olarak proinflamatuvar sitokinler salgılar ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu teşvik etmektedir. Daha sonra, yara enfekte olmadıkça

nötrofiller kaybolmaktadır. Bu durum, erken faz olarak ifade edilmektedir. Geç fazda ise enfeksiyon yokluğunda monositler, makrofajlara farklılaşarak inflamatuvar fazın sonuna kadar varlığını sürdürmektedir. Makrofajlar, yara iltihabı ve yara onarımı arasındaki geçiş hücresidir. Aynı zamanda, makrofajlar hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar özelliklere sahip oldukları için yara iyileşmesi için hayati önem taşımaktadır. Yara iyileşmesinin bu aşamasının sonunda, kanamanın kontrol altına alınması ve yara yatağının temiz olması, hücre çoğalması ve onarımının bir sonraki aşaması için mükemmel bir ortam oluşturmaktadır. Yaralanma sonrasında zarar görmüş bölümlerden giren her bakteri, interlökin-1(IL-1) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi inflamatuvar sitokinlerin uzun süreli bir şekilde salınımına yol açarak inflamatuvar sürecinin uzamasına ve yaranın kronikleşmesine sebep olmaktadır (Şekil 2.5 B). Yara enfeksiyonundan büyük oranda sorumlu olan türler arasında *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer *Streptococci* türleri sayılmaktadır (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023; Gushiken ve diğerleri, 2021; Hart, 2002; Mohan ve diğerleri, 2024; Tottoli ve diğerleri, 2020; Wang ve diğerleri, 2023).

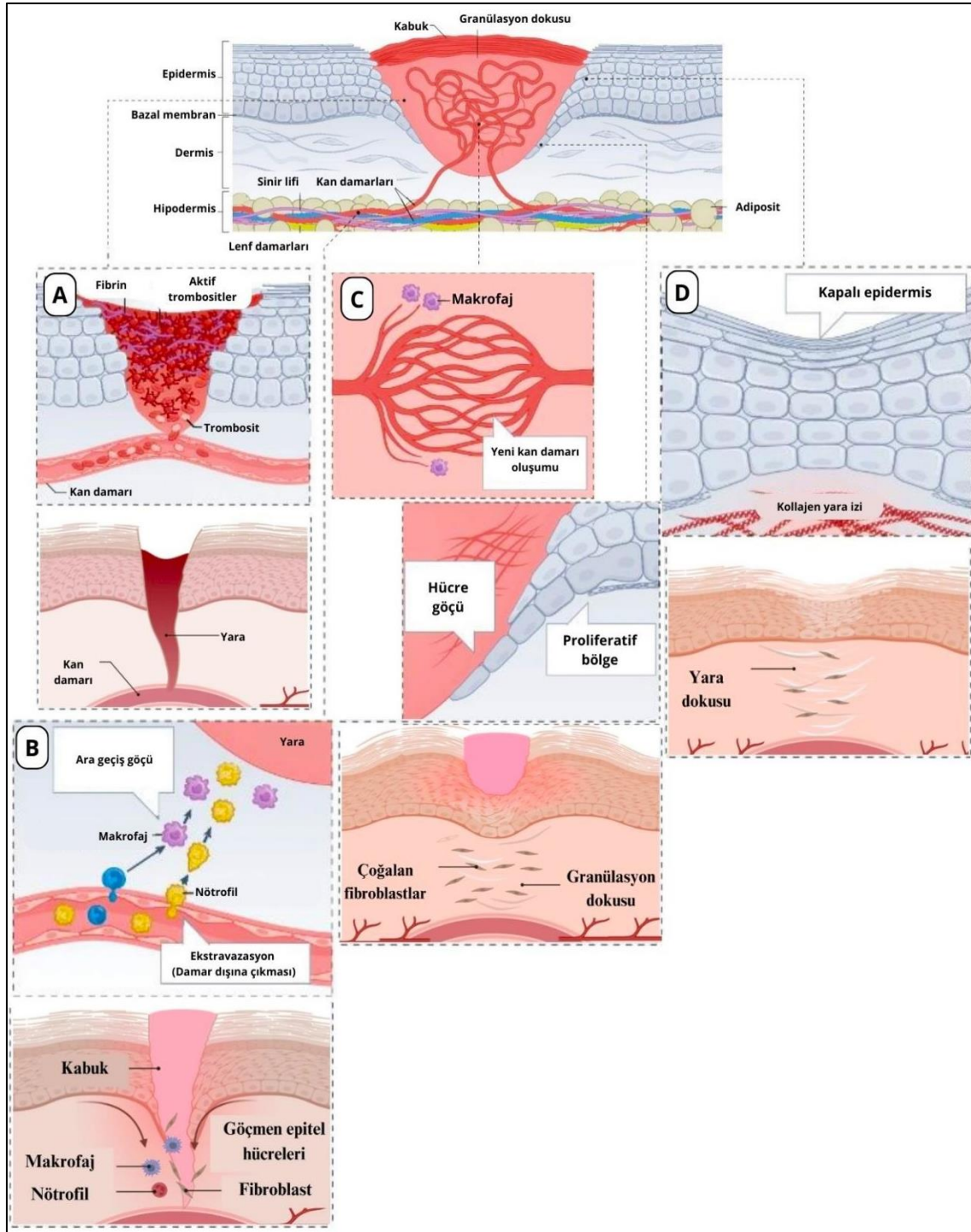
### Proliferasyon fazı

Birkaç gün ila haftalar süren yara iyileşmesinin proliferatif fazı, lezyonlu doku alımını azaltmayı amaçlamaktadır. Bu faz, fibroblast göçü, bölgedeki yeni kan damarı oluşumu ile vasküler bütünlüğünün sağlanması (neovaskülarizasyon veya anjiyogenez), yara yatağının yeni bağ dokusu ile doldurularak yapı bütünlüğünün sağlanması (granülasyon) ve yara yüzeyinin yeni deri ile kapanması (epidermal rejenerasyon) ile karakterize edilir. Proliferasyon aşamasının anahtar hücresi fibroblasttır. Yaralanmadaki hücreler, keratinositlerin, fibroblastların ve endotel hücrelerinin proliferasyonunu teşvik etmek için epidermal büyüme faktörleri (EGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) salgılar. İlk olarak aktive edilmiş fibroblastlar, yaraya göç eder ve fibrin pıhtılarının yerini almak için ECM proteinleri oluşturur. Ardından, dokuya güç sağlamak için kolajen sentezlenir. Kolajen, özellikle onarımın proliferatif ve yeniden şekillendirme aşamalarında doku bütünlüğünü ve gücünü kazandırmak için anahtar bir rol oynar. Yeni hücre dışı matriks oluşumunda iskele görevi gören granülasyon dokuda, tip III kolajen daha baskındır. Aynı zamanda, bu aşamada sitokinler yeniden epitelizeasyonu teşvik etmektedir. Epitel hücreleri (keratinositler) çoğalmakta ve yeni bir epidermal bariyer meydana getirmek için yara bölgesine göç etmektedir. Son olarak, fibroblastlar miyofibroblastlara farklılaşır,

proliferasyonu azaltır ve kolajen sentezini artırır. Bu durum ise yara kasılmasına ve yara boyutunda küçülmeye sebep olur. Epitel boşluğunu kapatmak için meydana gelen yara epitelizasyonu ile bu faz sonlanmaktadır (Şekil 2.5C) (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023; Diegelmann ve Evans, 2004; Gushiken ve diğerleri, 2021; Wang ve diğerleri, 2023).

#### Yeniden şekillenme (Remodelling) fazı

İyileşmenin son aşaması olan yeniden şekillendirme, iki yıla kadar sürebilmektedir. Ayrıca, bu aşamanın temel amacı yeni epitel hücrelerinin oluşması ve dayanıklılığın artırılmasıdır. Hücre dışı matriksin yavaş yavaş olgun bir yara izine dönüştüğü bu faz, granülasyon doku gelişimi ile eş zamanlı olarak başlamaktadır ve granülasyon doku bir yara izi ile değişmektedir. ECM tarafından üretilen kolajen tip III, kolajen tip I ile değiştirilerek düzenli bir şekilde parçalanır ve yeniden hizalanılır. Bu değişim, yaranın kapanması ile gerçekleşmektedir. Sonuç olarak, rejene cilt daha yüksek direnç ve esneklik sağlamaktadır. ECM elemanlarının parçalanmasından sorumlu olan matris metalloproteinaz (MMP) enzimleri, makrofaj, nötrofiller ve fibroblastlar tarafından üretilmektedir. Fibroblastlar, ECM proteinlerini salgılayan miyofibroblastlara dönüşür ve yaranın kapatılmasına yardımcı olur. Bu aşama, normal iyileşme sürecinde sentez ve bozulma arasında hassas dengeyi korumak için düzenleyici mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (Şekil 2.5 D) (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023; Gushiken ve diğerleri, 2021; Mohan ve diğerleri, 2024; Ramasastry, 2005; Raziyeve ve diğerleri, 2021).



Şekil 2.5. Yara iyileşme fazlarının şematik gösterimi A. Hemostaz fazı. B. İnflamasyon fazı C. Prolifasyon fazı D. Yeniden şekillendirme (Remodelling) fazı (Kolimi ve diğerleri, 2022; Peña ve Martin, 2024)

Çizelge 2.2. Yara iyileşmesinde rol alan bazı büyüme faktörleri, sitokinlerin görevleri ve kaynakları (Barrientos ve diğerleri, 2008; Negut ve diğerleri, 2020)

|                                                    | Kaynakları                                                                                                  | Görevleri                                                                                                     |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EGF<br>(Epidermal büyüme faktörü)                  | Trombositler<br>Makrofajlar Fibroblastlar                                                                   | Proliferasyon aşaması<br>Epitelizasyon                                                                        |
| FGF<br>(Fibroblast büyüme faktörü)                 | Keratinositler<br>Mast hücreleri<br>Fibroblastlar<br>Endotel hücreleri<br>Düz kas hücreleri<br>Kondrositler | Granülasyon doku oluşumu<br>Epitelizasyon<br>Anjiyogenez<br>Yeniden şekillendirme                             |
| TGF- $\beta$<br>(Dönüştürücü büyüme faktörü- beta) | Trombositler<br>Keratinositler<br>Makrofajlar<br>Lenfositler<br>Fibroblastlar                               | Granülasyon doku oluşumu<br>Epitelizasyon<br>Kolajen sentezini uyarma<br>Anjiyogenez<br>Yeniden şekillendirme |
| PDGF<br>(Trombosit kaynaklı büyüme faktörü)        | Trombositler<br>Keratinositler<br>Makrofajlar<br>Fibroblastlar<br>Endotel hücreleri                         | İnflamasyon<br>Granülasyon doku oluşumu<br>Epitelizasyon<br>Anjiyogenez<br>Yeniden şekillendirme              |
| VEGF<br>(Vasküler endotelial büyüme faktörü)       | Trombositler<br>Nötrofiller<br>Makrofajlar<br>Düz kas hücreleri<br>Fibroblastlar<br>Endotel hücreleri       | Granülasyon doku oluşumu                                                                                      |
| IL-1<br>(İntelökin-1)                              | Nötrofiller<br>Makrofajlar<br>Monositler<br>Keratinositler                                                  | İnflamasyon<br>Epitelizasyon                                                                                  |
| IL-6<br>(İntelökin-6)                              | Nötrofiller<br>Makrofajlar                                                                                  | İnflamasyon<br>Epitelizasyon                                                                                  |
| TNF- $\alpha$<br>(Tümör nekrosiz faktör- alfa)     | Nötrofiller<br>Makrofajlar                                                                                  | İnflamasyon<br>Epitelizasyon                                                                                  |

### 2.2.5. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Yara iyileşme sürecinin sabit bir şekilde ilerlemesini etkileyen faktörler bulunmaktadır. İnsan vücudu, çeşitli mekanizmalar yoluyla cilt onarımını olumsuz yönde etkileyecek ve iyileşme sürecinde gecikmelere yol açabilecek çok sayıda lokal ve sistemik duruma karşı hassastır. Enfeksiyon ve oksijenasyon gibi yara özelliklerini doğrudan etkileyen faktörler, lokal faktörler olarak tanımlanmaktadır. İyileşme yeteneğini, genel sağlık veya hastalık durumuna göre etkileyen faktörler ise sistemik faktörler olarak adlandırılmaktadır. Bunlar yetersiz beslenme, stres, yaş, cinsiyet, kronik hastalıklar, ilaçlar, sigara ve alkol kullanımıdır (Bishop, 2008; Guo ve Dipietro, 2010; Gupta ve diğerleri, 2022; Monika ve diğerleri, 2022; Rodriguez ve diğerleri, 2008; Togo ve diğerleri, 2021). Bu faktörler sonucunda yara iyileşme süresinde meydana gelen bozulma, doku nekrozuna, enfeksiyona sebep olduğundan, doğal

ve doğal olmayan kaynaklardan elde edilen yara iyileştirici olarak kullanılan terapötik ajanlara olan ilgi artmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda, yara kapanmasını hızlandırmada, yara boyutunu küçültmede, enfeksiyonu azaltmada, yara izi oluşumunu kontrol etmede kullanılan doğal ajanlar bulunmaktadır. Bunlar arasında başta tıbbi bitkiler olmak üzere ghee, bal ve solucan sayılabilmektedir. Aynı zamanda probiyotikler de doğal yara iyileştirici ajan olarak öne çıkmaktadırlar (Akhtari ve diğerleri, 2024; Budovsky ve diğerleri, 2015; Lin ve diğerleri, 2017; Swamy ve diğerleri, 2016; Udwadia, 2011).

### 2.3. Probiyotikler

Probiyotikler, bilim insanları tarafından 1908 yılında keşfedilmiştir (Luo ve diğerleri, 2024). Probiyotikler, geleneksel olarak fermente edilmiş gıdalarda, anne sütünde, insan ve hayvan bağırsaklarında, deniz ve tatlı su balıklarının bağırsak yollarında bulunmaktadır (Abouelela ve Helmy, 2024). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ‘yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık faydası sağlayan canlı mikroorganizmalar’ olarak tanımlanmaktadır (Maftai ve diğerleri, 2024). Probiyotik mikroorganizmalar, laktik asit bakterileri (LAB), mayaları, *Bifidobacterium* türlerini ve bazı gram negatif suşları içermektedir. Genellikle tek veya karışık canlı mikroorganizmalar kültürü olan probiyotikler ile ilgili günümüze kadar yapılan çalışmalar otoimmün hastalık, obezite, inflamatuvar bağırsak hastalığı, ishal, gastrointestinal bozukluklar, alerjiler, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, tip 2 diyabet, diş sağlığı, beyin sağlığı, kanser ve osteoporoz gibi sorunların tedavisinde fayda sağladığı ortaya konulmaktadır. Ayrıca, probiyotiklerin cilt hastalıklarının tedavisinde etkili olabileceği ve yara iyileşmesini teşvik etmekte umut verici bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir. *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. cilt hastalıklarını tedavi etmek için en çok kullanılan probiyotikler olarak belirtilmektedir. Probiyotikler, iyileşme sürecinin bozulmasında büyük ölçüde rol alan inflamatuvar fazı etkileyerek yara iyileşmesini indükleyebilmesi ve patojenler üzerinde anti-mikrobiyal etki oluşturması sebebiyle, yara iyileşmesinde terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. Terapötik etki yanında, besleyici faydaları olan probiyotiklerin son yıllarda kullanımlarıyla ilgili çeşitli endişeler bulunmaktadır. Bunlar arasında suşa özgü davranışları, gelişen antibiyotik direnci, kısa ömürlülükler, stabilite ve depolama koşulları bulunmaktadır. Probiyotik ürünlerin, endüstriyel olarak işlenmesi ve depolanması sürecinde hücre canlılığını ciddi şekilde bozabileceğinden teknolojik zorluklar oluşmaktadır. Öte yandan, probiyotiklerin güvenliği özellikle yaşlı ve immün yetmezliğe sahip olan bireyler için önemlidir. Bu dezavantajlar

sonucunda, paraprobiyotikler gibi canlı olmayan probiyotiklere dayanan yeni ürünlere olan ilgiyi artmaktadır. İnaktif probiyotiklerin de probiyotikler gibi yararlar sağlayabileceği çalışmalarla kanıtlanmıştır (Akter ve diğerleri, 2020; Chaiyasut ve diğerleri, 2022; Goh ve diğerleri, 2022; Gonzalez ve diğerleri, 2016; Hyun ve diğerleri, 2023; Lee ve diğerleri, 2024; Saarela ve diğerleri, 2000; Suez ve diğerleri, 2019; Togo ve diğerleri, 2021).

#### **2.4. Paraprobiyotikler**

Paraprobiyotikler, adaptif ve doğuştan gelen bağışıklık sistemlerini düzenleme, anti-inflamatuar, immünomodülatör, anti-proliferatif, anti-oksidan ve anti-mikrobiyal aktivite gibi çeşitli özelliklere ve patojenlere karşı antagonistik etki gösterme yeteneğine sahiptirler. Bunun yanında, paraprobiyotikler gelişmiş güvenlik sergileme, teknolojik ve pratik faydalar sağlama özelliklerine ek olarak, bağışıklığı zayıf olan insanlar ve yaşlılar için uygun ürünlerde kullanılabilir durumdadırlar. İlk olarak Taverniti ve Guglielmetti tarafından 2011 yılında önerilmiş olan paraprobiyotikler, Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) probiyotik tanımına benzer bir şekilde, küçük değişikliklerle ‘yeterli miktarlarda uygulandığında vücuda yarar sağlayan inaktif (cansız) mikrobiyal hücreler’ olarak tanımlanmakta ve aynı zamanda canlı olmayan probiyotikler, hayalet probiyotikler veya inaktif edilmiş probiyotikler olarak da adlandırılmaktadır. Probiyotikler ile aynı fonksiyonel özelliklere sahip olduğu gösterilmiş olan paraprobiyotikler ısıtma, yüksek basınç, sonikasyon ve UV gibi farklı yöntemler kullanılarak elde edilmektedir (Akter ve diğerleri, 2020; Chaiyasut ve diğerleri, 2022; Goh ve diğerleri, 2022; Gonzalez ve diğerleri, 2016; Hyun ve diğerleri, 2023; Lee ve diğerleri, 2024; Martyniak ve diğerleri, 2021; Nobre ve diğerleri, 2023; Pramanik ve diğerleri, 2023; Siciliano ve diğerleri, 2021; Togo ve diğerleri, 2021).

Enfekte ve enfekte olmayan yaralar, diyabetik ve diyabetik olmayan ülserler, intestinal mukozit, deri, bağırsak yaralanmaları, solunum yolu hastalıkları, diş çürümesi, kanser tedavisi gibi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu çalışmalarla birlikte bildirilmiş olan paraprobiyotikler, canlı mikrobiyal hücreler olmadıklarından ürün haline getirildiklerinde canlılık ve stabilitesi için soğuk zincir, gelişmiş güvenlik önlemlerine gerek duyulmaması sebebiyle uzun raf ömrüne sahip olmaktadır. Aynı zamanda, antibiyotikler veya antifungal ajanlarla kombinasyon halinde uygulandığında biyoaktivite kaybı görülmemektedir. Bu sebeple, paraprobiyotikler daha çok tercih edilebilir duruma

gelmektedir. Bilimsel kanıtlar ile birlikte, paraprobiyotiklerin hücre yüzeylerinde bulunan teikoik asit, hücre duvarı polisakkaritleri, peptidoglikan, hücre yüzeyi ile ilişkili proteinler gibi moleküllerin paraprobiyotikler ve konakçı arasındaki ilk etkileşim hattını oluşturabileceğini ve böylece yararlı etkilere aracılık edebileceği ortaya konulmaktadır (Batista ve diğerleri, 2020; Cuevas-González ve diğerleri, 2020; França, 2021; Nam ve diğerleri, 2021; Nobre ve diğerleri, 2023; Russo ve diğerleri, 2019; Sharma ve diğerleri, 2022; Siciliano ve diğerleri, 2021; Varian ve diğerleri, 2017).

## 2.5. Paraprobiyotiklerin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi

Sağlık için faydalı etkileri olduğu belirlenen paraprobiyotiklerin, yara iyileşmesinde de büyük oranda olumlu etkiler gösterdiği bazı çalışmalarla desteklenmektedir (Jung ve diğerleri, 2019; Venosi ve diğerleri, 2019). Paraprobiyotiklerin koruyucu/terapötik etkisini destekleyen birçok bilimsel kanıt bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada paraprobiyotiğin NIH-3T<sub>3</sub> hücrelerinde ve ayrıca cilt yaralarının iyileşme sürecinde inflamatuvar, anti-oksidan yanıtının potansiyeli ve özgünlüğü araştırılmıştır. Paraprobiyotik suşlarının, NIH-3T<sub>3</sub> hücrelerinin yeniden epitelizasyonunu uyarladığı, inflamatuvar yanıtı ve oksidatif stresi azalttığı ve böylece yara iyileşmesini hızlandırdığı bulunmuştur (Michels ve diğerleri, 2023). HaCaT keratinositlerinde cilt nemlendirici aktiviteyi arttırmak için Kimchi kaynaklı *Lactobacillus plantarum* (yeni isimlendirilmesiyle *Lactiplantibacillus plantarum*) K8'den paraprobiyotiklerin hazırlanmasında en uygun yöntem incelenmiş ve nemlendirici etkilerin altında yatan moleküler mekanizmalar ortaya çıkartılmıştır (Kim ve diğerleri, 2020). Diğer bir çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* (yeni isimlendirilmesiyle *Lacticaseibacillus rhamnosus*) paraprobiyotiğinin içeriğinin yeniden yapılandırılmış bir insan epidermis modelinde cilt bariyer fonksiyonunu iyileştirdiği ve topikal olarak uygulanan çok suşlu probiyotik formülasyonunun, enfekte kronik iskemik yara lezyonunu iyileştirdiği de ifade edilmektedir (Knackstedt ve diğerleri, 2020; Nole ve diğerleri, 2014). Bunun yanında, *Lactobacillus reuteri* (yeni isimlendirilmesiyle *Limosilactobacillus reuteri*) DSM 17938 lizatinin interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-8 (IL-8) ekspresyonunu azaltarak, morötesi ışın (UVB) stresli deri epidermal eksplantlarında anti-inflamatuvar etki gösterdiği bulunmuştur (Khmaladze ve diğerleri, 2019). Singh ve ekibinin (2017) yapmış olduğu bir çalışmada, enteropatojenlere karşı paraprobiyotiklerin (ısıyla inaktif edilmiş form) oldukça etkin bir antagonistik yeteneği olduğunu ortaya konulmuştur (Singh ve diğerleri, 2017). Yapılan bir diğer çalışmada, *L. rhamnosus* RW-9595M kaynaklı paraprobiyotiklerin, yüksek

seviyelerde interlökin-10 (IL-10) ve düşük seviyelerde TNF- $\alpha$ , IL-6 ve interlökin-12 (IL-12) tetikleyerek makrofajlar üzerinde immünmodülatör etki oluşturduğu bulunmuştur (Bleau ve diğerleri, 2010). Yapılan bir *in-vivo* çalışmasında, yüksek immünomodülatör aktiviteye sahip olduğu bilinen keçi sütünden probiyotik bakterileri izole edilmiş ve eksizyon yara modeli oluşturulmuş olan sıçanlar probiyotik jel ile tedavi edilerek kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha iyi yara iyileşmesi gösterdiği ifade edilmiştir (Sinha ve diğerleri, 2019). Diş eti yarası bulunan fare modellerinde, *L. reuteri* ekstraktlarının diş eti mezenkimal kök hücrelerinin (GMSC) göç yeteneklerini destekleyerek ve PI3K/AKT/ $\beta$ -katenin/TGF- $\beta$ 1 yolu aracılığıyla yara iyileşmesini destekleyebileceği ortaya konulmuştur (Han ve diğerleri, 2019). Probiyotik süpernatant kompleksi (*Basillus subtilis* sp., *Lactobacillus fermentum* (yeni isimlendirilmesiyle *Limosilactobacillus fermentum*) ve *L. reuteri* suşları) içeren yeni bir kitosan geliştirilerek yapılan bir çalışmada, eksizyon yara modeli oluşturulmuş sıçanlarda yara iyileşmesi değerlendirilmiş ve sonuç olarak tüm probiyotik lizat formülasyonlarının yara iyileşme sürecine göre avantajlarının olduğu bulunmuştur (Ashoori ve diğerleri, 2020). Çeşitli hastalıklarda yararlı rolleri olduğu bilinen *L. plantarum* probiyotiğinin yara iyileşmedeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada ise Lp2621 hücresiz süpernatantının anti-oksidan, anti-bakteriyel ve yara iyileştirici özellikleri, *in-vitro* ve farelerde eksizyon yara modeli oluşturularak değerlendirilmiştir (Dubey ve diğerleri, 2021). Aynı zamanda, başka bir çalışmada paraprobiyotik içeren nemlendirici ürünün aktivitesini doğrulamak için insan denekler üzerinde çalışmalar yapılarak, *Bifidobacterium lactis* (yeni isimlendirilmesiyle *Bifidobacterium animals subsp. lactis*) ve *L. plantarum* paraprobiyotikleri içeren nemlendiricinin sağlıklı deneklerde cilt hidrasyonu ve cilt mikrobiyomu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Dört haftalık tedavi sonucunda, sağlıklı insan deneklerinde başlangıç değerlerine kıyasla önemli ölçüde UV kaynaklı cilt hasarı, akne, cilt yaşlanması, cilt lezyonları ve cilt hastalıkları ile ilişkili cilt mikrobiyotasını arttırdığı ifade edilmiştir (Chaiyasut ve diğerleri, 2022).

Ek olarak, Prof. Dr. Belma ASLİM danışmanlığında yapılan bir tez çalışmasında, probiyotik *L. plantarum* GD2 suşundan elde edilen paraprobiyotik ve postbiyotiklerin birçok mekanizma üzerinden deri yaralarının iyileşmesindeki potansiyel rolleri araştırılmıştır (İçin, 2023). Çalışma sonucunda, probiyotik *L. plantarum* GD2 suşundan elde edilen paraprobiyotik (PRB-Lp<sub>GD2</sub>) 'nin uygulandığı gruplarda kontrol grubuna kıyasla %99-100 arasında yara kapatma oranı tespit edilerek, PRB-Lp<sub>GD2</sub>'nin önemli bir yara kapatma ajanı olma potansiyeli üzerinde durulmuştur. Ayrıca, PRB-Lp<sub>GD2</sub>'nin immünmodülatör etkisinin

olabileceğini ve buna bağlı olarak yaradaki yoğun inflamasyonu baskılayarak özellikle kronik yara iyileşmesinde etkili olabileceği ifade edilmiştir.

İnflamasyon ve oksidasyon seviyelerinin düzenlenmesi de yara iyileşmesinde önemli faktörler arasında sayılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, yara iyileşmesinde kullanılan doğal bileşiklerin biyoaktiviteleri arasında en çok anti-inflamatuar, anti-oksidan, anti-bakteriyel ve kolajen teşviğinin incelendiği belirtilmektedir. Sahip oldukları bu özellikler sayesinde, yara iyileşmesinde etkili tedavi geliştirmede umut verici bir alternatif haline gelebiliyorlar (Trinh ve diğerleri, 2022).

## 2.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

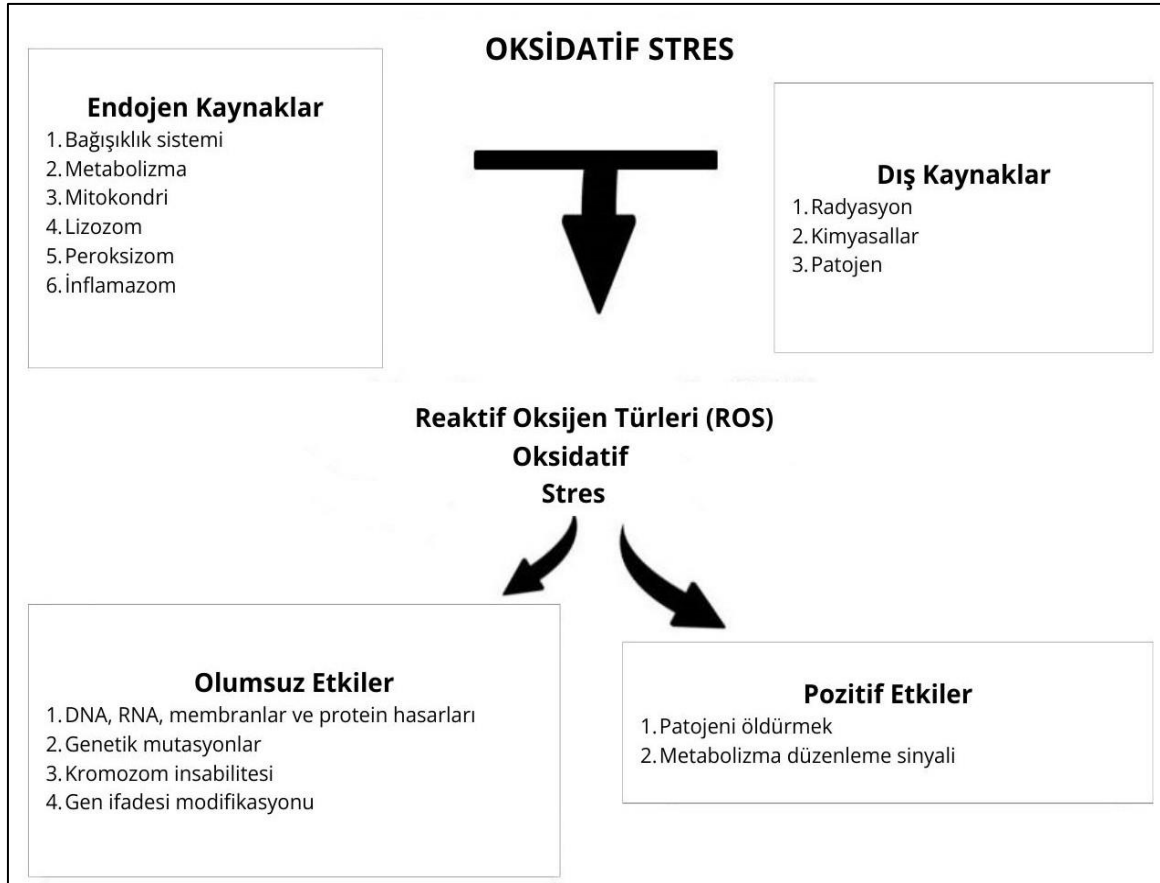
Birçok biyolojik ve kimyasal sürecin ayrılmaz bir parçası olan serbest radikaller, atomik yörüngelerinde eşlenmemiş elektron taşıyan kararsız atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır. Bir bileşik, elektron kaybederek veya bir elektron alarak serbest radikal oluşturabilir. Kısa sürede bulunan kararsız ve reaktif olan serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip olduklarından reaksiyona girme yetenekleri radikal olmayan bileşiklerden daha fazladır. Bunların boyutları küçük olduğundan hücre membranından kolayca geçebilirler. Ayrıca, serbest radikaller oksidatif reaksiyonlar sonucunda protein, lipid ve nükleik asit gibi bileşikleri olumsuz etkileyerek geri dönüşü olmayan hasarlar meydana getirmektedir. Serbest radikallerin oksijen, sülfür ve azot kaynaklı oldukları bilinmektedir (Çizelge 2.3) (Alfei ve diğerleri, 2024; Chaudhary ve diğerleri, 2023; Kıran ve diğerleri, 2023).

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller, hücre içi ve hücre dışı kaynaklardan oluşmaktadır (Şekil 2.6). Hücre dışı serbest radikal kaynakları arasında UV ışığı, iyonlaştırıcı radyasyon, sigara, yoğun alkol tüketimi, sağlıksız yiyecekler ve bazı ilaçlar sayılmaktadır. Hücre içi kaynaklar arasında ise mitokondri, endoplazmik retikulum, peroksizom, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve diğer kaynaklar bulunmaktadır (Şekil 2.6) (Jomova ve diğerleri, 2024). Reaktif azot türleri (RNS) ve oksijen türleri (ROS), organizmanın sisteminde hem toksik hem de faydalı bileşikler olarak iki yönlü rol oynamaktadır. Redoks reaksiyonlarının ara ürünleri olan ROS, daha düşük konsantrasyonlarda faydalı etkilere sahiptirler. Ancak daha yüksek dozda ROS, oksidatif stres meydana getirmektedir (Touyz ve Camargo, 2023).

Çizelge 2.3. Serbest radikallerin sınıflandırılması (Christodoulou ve diğerleri, 2022)

|                 | Reaktif oksijen türleri (ROS)                                                                                                                                                                                                         | Reaktif azot türleri (RNS)                                                                                                                                                                                                                                                                            | Reaktif sülfür türleri (RSS)                                                                                                                  |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Radikal         | Peroksil ( $\text{ROO}^\bullet$ )<br>Alkoksil ( $\text{RO}^\bullet$ )<br>Hidroksil ( $\text{OH}^\bullet$ )<br>Süperoksit ( $\text{O}_2^\bullet$ )<br>Bikarbonat ( $\text{HCO}_3^\bullet$ )<br>Lipid peroksil ( $\text{LOO}^\bullet$ ) | Nitrik oksit ( $\text{NO}^\bullet$ )<br>Nitrojen dioksit ( $\text{NO}_2^\bullet$ )                                                                                                                                                                                                                    | Sülfat anyonu ( $\text{SO}_4^{\bullet-2}$ )<br>Sülfinil ( $\text{RSO}^\bullet$ )<br>Sülfonil ( $\text{RS(O)}_2^\bullet$ )                     |
| Radikal olmayan | Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )<br>Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ )<br>Ozon ( $\text{O}_3$ )<br>Alkol ( $\text{ROH}$ )<br>Perokside ( $\text{R}_2\text{O}_2$ )                                                         | Nitrik asit ( $\text{HNO}_2$ )<br>Nitrosil katyonu ( $\text{NO}^+$ )<br>Nitroksil anyonu ( $\text{NO}^-$ )<br>Dinitrojen tetroksid ( $\text{N}_2\text{O}_4$ )<br>Dinitrojen trioksit ( $\text{N}_2\text{O}_3$ )<br>Peroksinitrit asit ( $\text{ONOO}^-$ )<br>Nitril klorid ( $\text{NO}_2\text{Cl}$ ) | Sülfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ )<br>Sülfit ( $\text{SO}_3^{2-}$ )<br>Hidrojen sülfür ( $\text{H}_2\text{S}$ )<br>Sülfenik asit ( $\text{RSOH}$ ) |

Ayrıntılı olarak ilk kez 1985 yılında Prof. Sies tarafından oksidatif stres, oksidanlar ve anti-oksidanlar arasındaki oksidanların lehine, redoks sinyalizasyonunun ve kontrolünün bozulmasına ve/veya moleküler hasara sebep olan dengesizlik olarak tanımlanmıştır. Oksidatif stresin kardiyovasküler hastalık, kanser, otoimmün hastalıklar, romatoid artrit ve nörolojik bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu ve bu hastalıklara yakalanma olasılığında da artış meydana getirdiği gözlemlenmiştir (Şekil 2.6) (Biller ve Takahashi, 2018; Jomova ve diğerleri, 2023; Touyz ve Camargo, 2023).



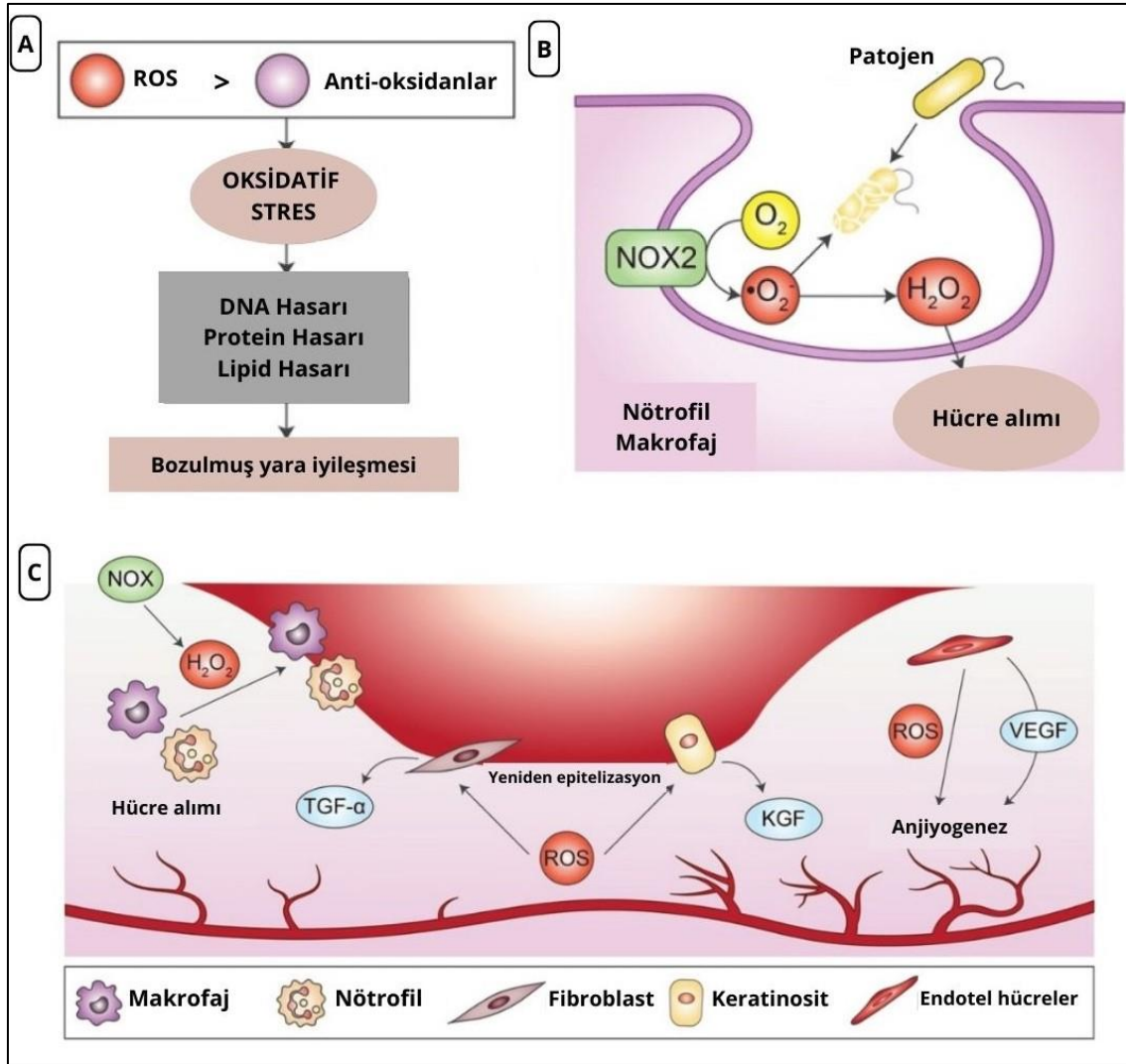
Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin kaynakları ve yüksek seviyede ROS sonucunda oluşan oksidatif stresin etkileri (Biller ve Takahashi, 2018)

## 2.7. Yara İyileşmesi ve Reaktif Oksijen Türleri

### 2.7.1. Normal yara iyileşmesi ve serbest radikallerin etkisi

Oksijen, yaraları dezenfekte etmek, iyileşme ve yeterli enerji sağlamak için gereklidir. ROS, esas olarak mitokondri solunum zinciri tarafından üretilen küçük oksijen türevi moleküller olarak ifade edilmektedir. Fizyolojik olarak hidrojen peroksit ve süperoksit, hücre alımı, sitokin üretimi, anjiyogenez dahil olmak üzere, yara iyileşmesinin farklı aşamalarını düzenleyen hücre içi haberciler olarak görev almaktadır. Normal yaralarda hidrojen peroksit (en yaygın ROS) düşük konsantrasyonlarda (100-250  $\mu$ M) bulunmaktadır (Comino-Sanz ve diğerleri, 2021; Jooreabloo ve Liu, 2024). ROS hemostaz, yeniden epitelizasyon ve anjiyogenez dahil olmak üzere, yara iyileşmesinin çoklu aşamalarında yer aldığı öne sürülmüştür. Hemostaz fazında ROS, trombositler tarafından salgılanan faktörlerin bir sonucu olarak vasküler hücrelerde NADPH oksidaz (NOX) enzimleri tarafından üretilmektedir ve vazokonstriksiyon, trombüs oluşumu yoluyla lokal kan akışını

azaltmaktadır. İnflamasyon aşamasında, yüksek seviyelerde süperoksit ve hidrojen peroksit NADPH oksidaz yoluyla nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilmektedir. Bu olay oksidatif patlama olarak adlandırılmakta ve bakterilerin öldürülmesinde, yara enfeksiyonunun önlenmesinde çok önemli bir rolü bulunmaktadır (Şekil 2.7B). Proliferasyon aşamasında, ROS TGF- $\beta$ 1 sinyaline aracılık ederek fibroblast büyüme faktörü (FGF) ekspresyonunu, fibroblastların proliferasyonunu ve göçünü, aynı zamanda kolajen, fibronektin sentezini ve göçünü teşvik etmektedir. Ek olarak, anjiyogenez, endotel hücre bölünmesi ve göçünü uyararak vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) ekspresyonu yoluyla kan damarı oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Son aşama olan yeniden şekillendirme fazında, ROS keratinosit büyüme faktörü (KGF) reseptör aktivasyonunu tetikleyerek keratinositlerin büyümesini ve göçünü teşvik etmektedir (Şekil 2.7C). Bununla birlikte, kontrolsüz reaktif oksijen türleri üretimi sonucu meydana gelen oksidatif stres, doku hasarına sebep olarak yara iyileşme sürecini bozmaktadır (Şekil 2.7A) (Joorabloo ve Liu, 2024; Cano Sanchez ve diğerleri, 2018; Fadilah ve diğerleri, 2023).



Şekil 2.7. Normal yara iyileşmesinde rol oynayan ROS (Fadilah ve diğerleri, 2023)

### 2.7.2. Kronik yara iyileşmesi ve oksidatif stresin etkisi

Reaktif oksijen türlerinin üretimi yara onarımını başlatmak için gerekli iken, aşırı miktarda ROS üretimi yara iyileşmesinde zararlıdır. İnsan vücudu bir anti-oksidan sistemine sahip olmasına rağmen, bazı patolojik durumların altında yatan bazı uyarılar aşırı oksidan üretimine sebep olabilmektedir. İnflamatuvar dokularda ROS seviyesi 500  $\mu\text{M}$ 'ı aşabilir, bu da normal dokuya kıyasla daha yüksek seviyede bulunmaktadır. Anormal seviyede ROS üretimi ve anti-oksidan savunma sisteminin arızalanması sonucunda meydana gelen aşırı ve kontrolsüz oksidatif stres, hücrelerin normal işlevini bozarak kronik iyileşmeyen yaraların patogeneğinde merkezi bir rol oynayan inflamasyon süreçlerinin sürdürülmesine ve deregülasyonuna katkıda bulunmaktadır. Böylece normal yara iyileşmesi süreci bozulmakta ve iyileşme gecikmektedir (Accipe ve diğerleri, 2023; Cano Sanchez ve diğerleri, 2018;

Fadilah ve diğerkleri, 2023). Kronik yaraların oluşmasında önemli rol oynayan serbest radikaller, sadece inflamasyon fazını değil tüm yara iyileşme fazlarını olumsuz etkilemektedir. Serbest radikallerden biri olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), cildin en dış tabakasının ana hücresi olan keratinositlerin göçünü inhibe ederken, aynı zamanda hücrenin büyümesi, çoğalması ve farklılaşmasında rol oynayan EGF'nin sinyal iletişimini de inhibe ederek fibroblastlar için büyük hasar oluşturmaktadır. Ek olarak, serbest radikaller, kolajen yapısında bulunan amino asitleri (prolin ve hidroksiprolin) parçalayarak fibroblastların adezyonunu (yara bölgesine yapışma yeteneğini), proliferasyonunu (çoğalmasını) ve canlılığını etkilemektedir (Aksoy ve Özakpınar, 2014). Ayrıca, ROS, yaralı cilt dokusunda transkripsiyon faktörleri üzerinde önemli etkilere sahiptir. ROS, yaralı cilt dokusunda nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) ve aktivatör protein (AP-1) transkripsiyon faktörlerini aktive ederek inflamasyon, proliferasyon süreçlerini etkilemektedir. Aynı zamanda, NF- $\kappa$ B ve AP-1 aktivasyonu MMP seviyesini artırarak ECM proteinlerinin bozulmasına ve yavaş yara iyileşme sürecine neden olabilir. Bunlar göz önüne alındığında, molekül oksidasyonunu inhibe etmek ve normal fizyolojik ROS seviyesini geri kazandırarak bu sınırlamaların üstesinden gelmek için anti-oksidanlar ve anti-inflamatuar tedaviler önerilmektedir (Joorabloo ve Liu, 2024; Fadilah ve diğerkleri, 2023).

## 2.8. Doğal Ürünlerin Yara İyileşmesindeki Etki Mekanizmaları

Yara iyileşme tedavisinde kullanılan doğal ürünlerin potansiyelinde rol alan ana mekanizmalar olarak anti-oksidan, anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal aktiviteler sayılmaktadır. Hem *in-vitro* hem de *in-vivo* olarak yapılan birçok çalışmada, anti-oksidan, anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal özelliklerin ikiden fazlasına sahip doğal ürünlerin gelecekteki araştırmaların hedefi haline gelebileceği belirtilmektedir (Criollo-Mendoza ve diğerkleri, 2023).

### 2.8.1. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar moleküller

İnsan vücudu, içsel olarak veya çevresel kirleticilerden kaynaklanan sonsuz oksidatif zararlarla mücadele etmek için kapsamlı bir anti-oksidan savunma ile donatılmıştır. Anti-oksidanlar, elektronlarını ROS gibi diğer moleküllere vererek protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi biyolojik olarak önemli diğer moleküllerden serbest radikallerin elektron alımlarını önleyen moleküllerdir (Comino-Sanz ve diğerkleri, 2021). Anti-oksidanlar, doğal ve sentetik anti-

oksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Doğal anti-oksidanlar, etki mekanizmasına bağlı olarak kendi aralarında enzimatik ve enzimatik olmayan anti-oksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidazlar (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimatik anti-oksidanlar olarak ifade edilirken, enzimatik olmayan anti-oksidanlar ise C vitamini (askorbik asit), E vitamini (alfa-tokoferol), glutatyon ve flavonoidler gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerdir. Serbest radikallerin artması sonucunda endojen anti-oksidanların etkisi azalabilmektedir. Bu durum, hücresel hasara sebep olabileceğinden, oksidan ve anti-oksidan dengesinin tekrar sağlanabilmesi için ekzojen anti-oksidanların alınması gerekebilmektedir. Sonuç olarak, anti-oksidanlar, ROS'u dihidrojen monoksit ( $H_2O$ ) ve dioksijen ( $O_2$ ) gibi daha kararlı moleküllere dönüştürmektedir. Bu nedenle, anti-oksidanlar ROS temizleyicileri olarak adlandırılmaktadır (Shalaby ve Azzam, 2018; Comino-Sanz ve diğerleri, 2021; Jaffri, 2023).

Anti-oksidan ajanların kullanımı, etkili bir şekilde enzim onarımını ve metabolik iyileşmeyi sağlayarak hücre sağlığını tekrar kazandırabilir. Son yıllarda sentetik anti-oksidanların toksisite gösterebileceği ve doğal anti-oksidanlara göre daha az etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu sebeple, hem daha fazla anti-oksidan aktivite gösterdiğinden hem de ekonomik, terapötik ve sağlığı teşvik edici yetenekleri nedeniyle insanlar doğal anti-oksidanlara yönelmiştir. Doğal anti-oksidanların bitkisel, hayvansal ürünlerde, enzimlerde ve mikroorganizmalarda bulunduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda, doğal olarak elde edilen anti-oksidanların, yara iyileşmesinin farklı aşamalarını etkin bir şekilde teşvik ettiğini ve yara iyileşmesi uygulamalarında yararlı rolleri olduğunu gösteren güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Vougiouklaki ve diğerleri, 2023).

İnflamasyon, vücudun koruyucu bir savunma tepkisidir. Mikrobiyal enfeksiyonu önlemek ve ölü hücreler ile hücresel kalıntıları uzaklaştırmak için önemli rolü bulunan inflamatuvar fazda interlökinler, TNF- $\alpha$ , indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve kemokinler gibi proinflamatuvar mediatörler üretilmektedir. Ayrıca, inflamatuvar fazda üretilen sitokinler, hücresel reseptörlere bağlanarak hücre içi sinyalleşmeyi tetiklemektedir. Bunlar, transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonundan ve nükleer translokasyonundan sorumludur. İnflamatuvar tepkiler, şiddetli bir şekilde olursa dokulara zarar vermekte ve patojenlerin ortadan kaldırılmamasına sebep olmaktadır. İnflamasyon sürecinin uzaması sonucunda skarlaşma, fibrozis ve iyileşme sürecinde gecikme meydana gelmektedir. Anti-inflamatuvar etki, merkezi sinir sistemini etkileyen inflamasyonu azaltarak tedaviyi olumlu yönde

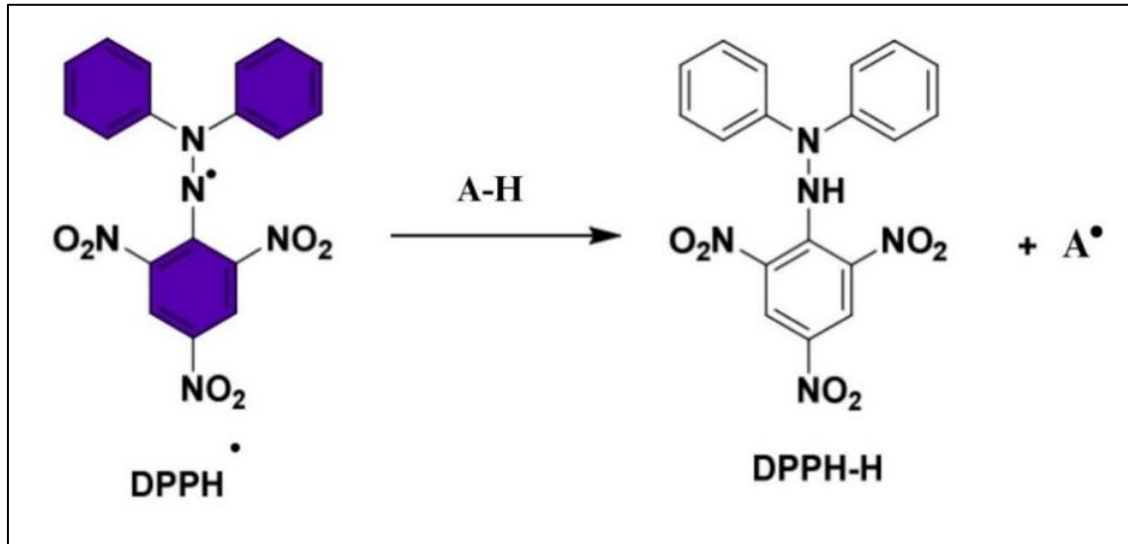
etkilemeyi amaçlamaktadır. Güçlü anti-inflamatuar aktiviteye sahip ilaçlar veya doğal bileşikler, patojenlerin hayatta kalma süresini kısaltır ve organ hasarını önler. Bu sebeple, özellikle kronik yaraların tedavisi için anti-oksidan ve anti-inflamatuar fonksiyonlara sahip terapötik ajanların kullanımı dikkat çekmektedir (Criollo-Mendoza ve diğerleri, 2023; Hadagali ve Chua, 2014; Joorabloo ve Liu, 2024; Polaka ve diğerleri, 2022; Ustuner ve diğerleri, 2019; Xu ve diğerleri, 2020).

## 2.9. Anti-Oksidan ve Anti-İnflamatuar Aktivitesi Tayin Metotları

Günümüzde gıda, ilaç, tıbbi ve biyolojik materyallerin anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivitelerinin ölçülmesi ve araştırılması için çeşitli testleri bulunmaktadır. Anti-oksidan aktivite analizleri, kimyasal reaksiyon mekanizmalarına göre tek elektron transferine dayanan metot (SET) ve hidrojen atom transferine dayanan metot (HAT) olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. SET, potansiyel anti-oksidanların elektron transfer etmesi ile metal, karbonil ve radikal içeren birleştikleri indirgenmesine dayanan metottur. SET tabanlı reaksiyon mekanizmalarının hâkim olduğu testler, bir elektronun ( $ROO\cdot$ ) salınmasını ölçer ve onu bir anyona ( $ROO^-$ ) dönüştürür. Buna karşılık, HAT ise anti-oksidan kapasitesi serbest radikallerin, anti-oksidan maddenin hidrojeni ile etkisiz hale gelmesinin ölçülmesi ile tayin edilir. Hidrojen atomlarını bağışlama (yani radikal zinciri kırma) kabiliyeti ile ROS'u temizlemek için anti-oksidan potansiyelini değerlendir (Platzer ve diğerleri, 2021; Siddeeg ve diğerleri, 2021). Yöntemlerin çoğunda aynı prensip kullanılır. Bir redoks aktif bileşik veya sentetik renkli radikal üretilir. Daha sonra, bir biyolojik numunenin redoks aktif bileşikleri temizleme veya azaltma yeteneği, anti-oksidan yeteneğini ölçmek için uygun bir standart uygulanarak bir spektrofotometre ile ölçülür (Gulcin ve Alwase, 2022). *İn-vitro* ve *in-vivo* anti-inflamatuar aktivite analizde kullanılan testleri arasında ise siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX), TNF- $\alpha$  inhibisyon testleri, NO testi ve XO inhibisyon aktivite analizi sayılmaktadır. Bu analizler, anti-inflamatuar aktiviteye sahip bileşiğin sitokin seviyelerinde meydana getirdiği azaltma veya enzim inhibe etme kabiliyetleri belirlenmektedir (Dekebo ve diğerleri, 2024; Osman ve diğerleri, 2016; Nile ve diğerleri, 2016; Ustuner ve diğerleri, 2019).

### 2.9.1. DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodu ilk kez Blois (1958) tarafından açıklanmıştır. Bu yöntemde koyu mor renkli, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılarak anti-oksidan kapasite belirlenir. Yöntem temel olarak, metanol veya etanol ile hazırlanan DPPH• radikal çözeltisi ile hidrojen atomu verebilen anti-oksidanın karıştırılması sonucunda, radikal çözeltisinin renginde meydana gelen açılmanın spektrometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır. DPPH• radikali, anti-oksidan bileşik ortama bir hidrojen atomu verdiğinde stabil, radikal olmayan DPPH radikalinin (DPPH-H) indirgenmiş formuna dönüşecektir ve bu dönüşümle eş zamanlı olarak mor renk kaybolacaktır (Şekil 2.8). Mor rengin kaybolma seviyesi, anti-oksidanın konsantrasyonuna bağlıdır. En eski ve en sık kullanılan yöntemlerden biri olan DPPH yönteminin avantajları arasında düşük maliyetli, hassas, tekrarlanabilir, oda sıcaklığında uygulanabilir, kolay ve hızlı olması sayılmaktadır. Dezavantajı ise organik çözücülerde çözünmesi, sulu ortamda çözünmemesidir (Bedlovičová ve diğerleri, 2020; Gulcin ve Alwasel, 2023; Krishnaiah ve diğerleri, 2011; Munteanu ve Apetrei, 2021).

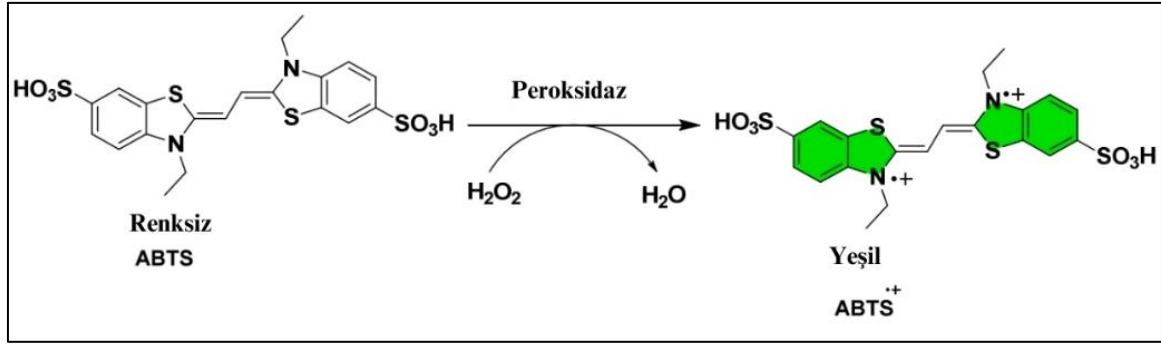


Şekil 2.8. DPPH serbest radikalın anti-oksidanlar ile reaksiyon mekanizması (Girish ve diğerleri, 2023)

### 2.9.2. ABTS<sup>•+</sup> serbest radikalini giderme aktivitesi

ABTS/TEAC (2,2'-azinobis (3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik Asit)) /Troloks eşdeğer anti-oksidan kapasitesi) testi, ilk olarak Miller ve ekibi (1993) tarafından basit ve kullanışlı bir

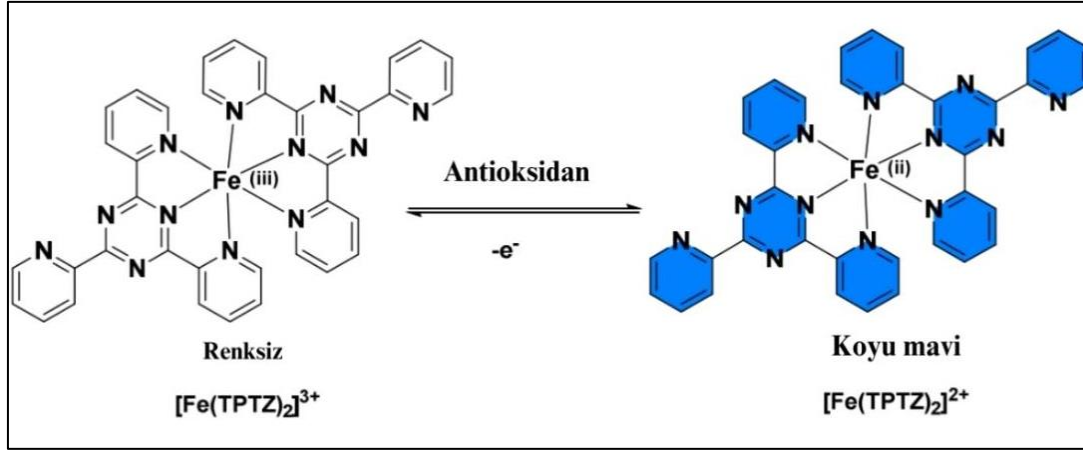
yöntem olarak geliştirilmiştir. Bu yöntemde, ABTS oksidanlar tarafından yoğun bir şekilde mavi-yeşil renkte olan radikal katyonu  $ABTS^{•+}$ ya oksitlenir (Şekil 2.9). Anti-oksidan kapasitesi, nitrojen atomu tarafından bir elektron kaybedilerek oluşan ABTS radikali, anti-oksidan ile direkt reaksiyona girerek 734 nm 'de mavi-yeşil rengin renk solma derecesi ölçülerek belirlenir. Potasyum persülfat,  $ABTS^{•+}$  üretimi için ABTS ile reaksiyona giren en yaygın oksidan olarak ifade edilmiş.  $ABTS^{•+}$  radikali hem sulu hem de organik çözücülerde çözünmektedir. Bunun sonucunda bu yöntem, hidrofilik ve lipofilik bileşiklerin anti-oksidan kapasitesinin belirlenmesini sağlamaktadır. Ayrıca, bu metot geniş pH aralığında çalışmaktadır (Munteanu ve Apetrei, 2021; Xiao ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.9.  $ABTS^{•+}$  serbest radikal oluşumu (Girish ve diğerleri, 2023)

### 2.9.3. FRAP (Demir (III) indirgeyici anti-oksidan güç) aktivitesi testi

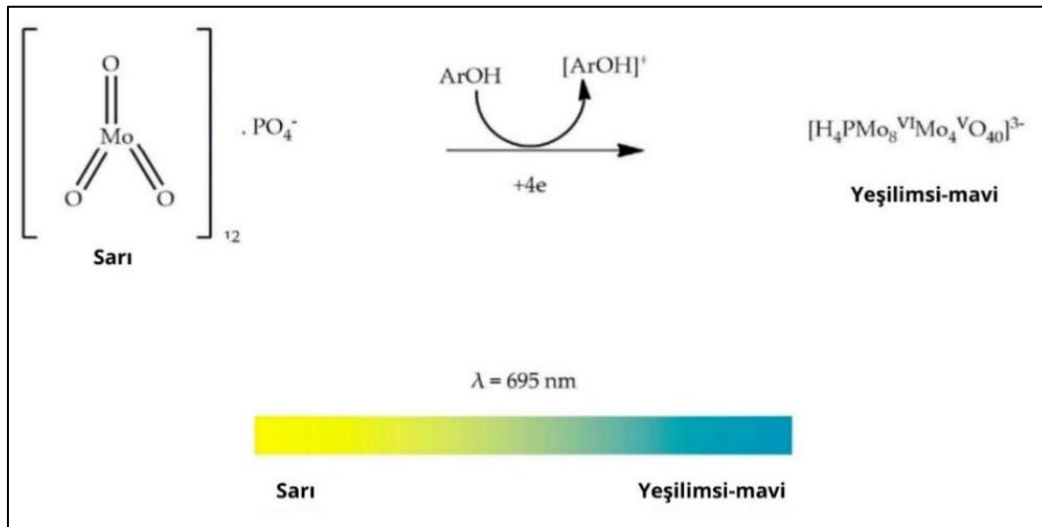
FRAP analizi ilk kez Benzei ve Strain (1996) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem, toplam anti-oksidan seviyelerini ölçen basit ve ucuz bir yöntemdir. Testin temeli, renksiz ferrik iyonlar ( $Fe^{3+}$ )-TPTZ (2,4,6 tripridil-s-triazin) (ligand) kompleksinin anti-oksidan ile etkileşime girmesi sonucunda, yoğun mavi renkli ferroz ( $Fe^{2+}$ )-TPTZ kompleksine indirgemesine dayanmaktadır (Şekil 2.10). FRAP testi, demir çözünürlüğünü korumak için asidik pH koşullarında (pH = 3.6) gerçekleştirilir. Orijinal FRAP testinde demir iyonuna bağlanma ligandı olarak TPTZ kullanılmaktadır. Son zamanlarda ise potasyum ferrisiyanür, FRAP testlerinde en yaygın ferrik reaktifi olarak kullanılmaktadır (Munteanu ve Apetrei, 2021; Griffin ve Bhagooli, 2004; Ivanova ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.10. FRAP reaksiyon mekanizması (Girish ve diğerleri, 2023)

#### 2.9.4. Fosfomolibdat testi

Prieto ve arkadaşları (1999) tarafından geliştirilen fosfomolibdat yöntemi, asidik ortamda anti-oksidan ajan tarafından molibden (VI)'yı molibden (V)'e indirgemesi temeline dayanmaktadır. Numuneler, amonyum molibdat, sülfürik asit ve sodyum fosfat içeren çalışma reaktifi ile karıştırılır. Ardından, reaksiyonun hızını arttırmak için su banyosunda 90-100°C sıcaklıkta 60-90 dakika inkübe edilmektedir. İnkübasyon sırasında, kararlı yeşil renkli indirgenmiş fosfomolibdat kompleksi meydana gelmektedir (Şekil 2.11). Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra, bir spektrofotometre ile 695 nm'de ölçülen yoğunlukları numunenin total anti-oksidan kapasitesine bağlı olduğu ifade edilmektedir (Asomadu ve diğerleri, 2024; Okafor ve diğerleri, 2024; Vasylijev ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.11. Fosfomolibdat reaksiyon mekanizması (Sadeer ve diğerleri, 2020)

### 2.9.5. Metal şelatlama aktivitesi

Metal iyonları canlı organizmaların yaşamsal fonksiyonları için gereklidir. Bunlar arasında krom (Cr), paladyum (Pb), kadmiyum (Cd), civa (Hg), bakır (Cu) ve çinko (Zn) en yaygın bulunanlardır. Demir (Fe), karbon (Co) ve magnezyum (Mn) ise daha az yaygın ağır metaller olarak ifade edilmektedir. Fe, günlük hayatımızda aşırı derecede alınan veya maruz kalınan metaldir. Ağır metaller düşük miktarlarda daha az etkili veya nispeten zararsızken yüksek konsantrasyonlarda toksik olmaktadır. Fe ve Cu gibi geçiş metalleri Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarında rol alarak hidroksil ( $\text{OH}\cdot$ ) gibi ROS oluşumunu tetiklemektedir (Gulcin ve Alwasel, 2022).

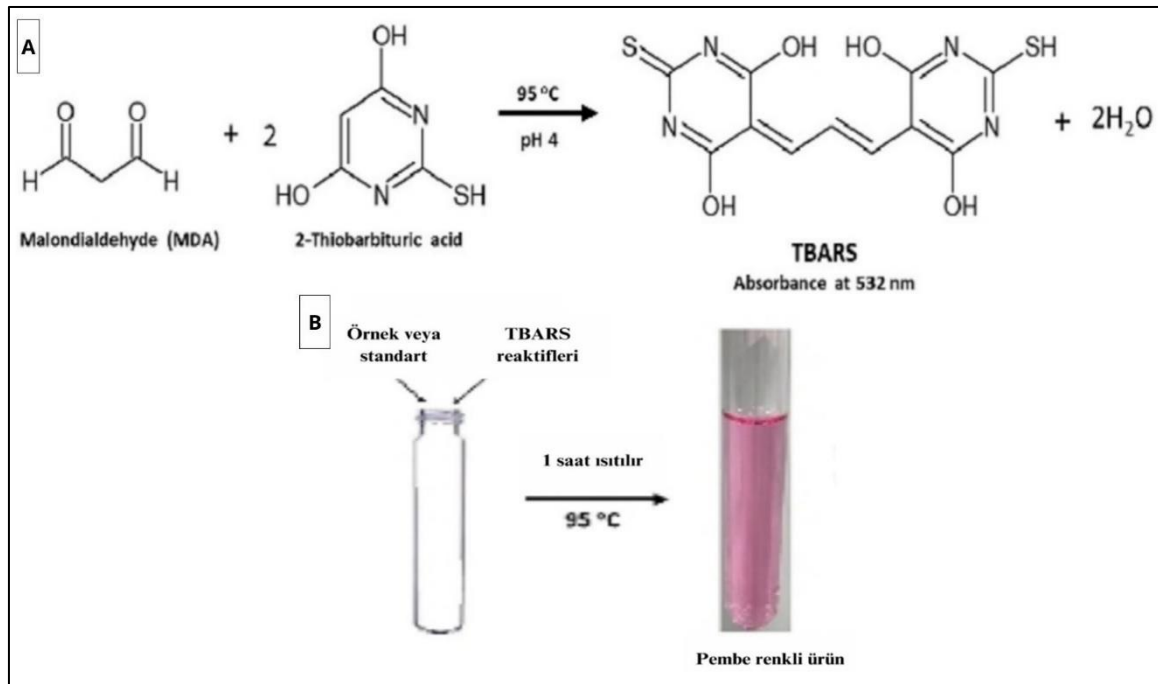
Ferröz iyonları ( $\text{Fe}^{+2}$ ) şelatlama aktivitesi Re ve arkadaşlarının (1999) belirledikleri metoda göre yapılmaktadır. Demir, hidroperoksitleri şelatlar ve bir peroksidan olarak oksidasyonu yoğunlaştırır.  $\text{Fe}^{+2}$  vücutta tehlikeli radikallerin üretimine yol açmaktadır. Reaktör olarak ferrozin veya 2,2'-bipridil çözeltisi kullanılmaktadır. Reaktör ve  $\text{Fe}^{+2}$  birleşimi sonucunda oluşan renkli komplekste anti-oksidan varlığında azalma meydana gelmektedir. Bu renk azalmasının ölçümü, molekülün şelat oluşturma aktivitesini belirlemek için kullanılmaktadır (Shirkhan ve diğerleri, 2024; Suliman ve diğerleri, 2021).

### 2.9.6. Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi

Lipidlerin ciltte birçok önemli rolü bulunmaktadır. Bunlar arasında hücre zarlarının yapısal bileşenleri olarak görev yapmaları, enerji depoları olarak işlev görmeleri ve yara iyileşmesi de dahil olmak üzere cilt homeostazını düzenlemek için sinyal molekülleri olarak hareket etmeleri sayılmaktadır (Choudhary ve diğerleri, 2024). Serbest radikallerin hücresel hasar oluşturma mekanizmalarından biri ve en önemlisi, hücre membranında meydana gelen lipid peroksidasyonudur. Biyolojik moleküller arasında lipidler, oksidatif hasara veya peroksidasyona karşı en hassas olanlardır. ROS/RNS gibi serbest radikallerin seviyelerinin aşırı olması, hücresel zarlarda bol miktarda bulunan kolesterol, glikolipitler, fosfolipitler ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) gibi karbon-karbon çift bağ içeren lipidlere doğrudan zarar vermektedir. Membranda meydana gelen lipid peroksidasyon (LPO), membran yapısında ve fonksiyonunda bozukluklara yol açacaktır. Sonuç olarak, hücrede hasar veya yıkım meydana gelmektedir. Hücre zarında bol miktarda bulunan PUFA'nın oksidatif bozulması, MDA (malondialdehit), 4-HNE (4-hidroksinonenal) vb. gibi çeşitli sitotoksik

ürünler üreten, kendi kendine devam eden zincirleme bir reaksiyon başlatmaktadır (Catalá ve Díaz, 2016; Gallelli ve diğerleri, 2018; Niki ve diğerleri, 1991; Repetto ve diğerleri, 2012).

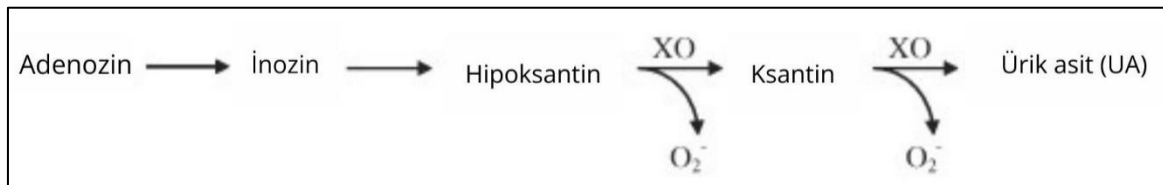
Ruberto ve arkadaşları (2000) tarafından ifade edildiği üzere, lipid açısından zengin ortam olarak karaciğer, beyin veya yumurta sarısı homojenatları kullanılarak lipid peroksitini ölçmek için modifiye edilmiş bir tiyobarbitürik asit reaktif türleri (TBARS) testi kullanılmaktadır (Badmus ve diğerleri, 2011). TBARS testinde kullanılan lipid substratı olan yumurta sarısında, PUFA olan linoleik asit ve linolenik asit bulunmaktadır. Oksijen ile reaksiyona girdiğinde, bu yağ asitleri MDA üretmektedir. MDA, asidik bir çözelti içinde ısıtıldığında (pH = 4 ve 95°C) TBA (2-tiyobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek pembe bir renk oluşturmaktadır (Şekil 2.12). Bu test, yumurta sarısı substratında örnek ilavesi sonucunda TBA ile düşük renk üretimiyle gösterilen lipid peroksidasyon inhibisyonu temeline dayanmaktadır (Abeyrathne ve diğerleri, 2021; Badmus ve diğerleri, 2011; De Leon ve Borges, 2020; Dissanayake ve diğerleri, 2009).



Şekil 2.12. Tiyobarbitürik asit reaktif madde reaksiyonu (De Leon ve Borges, 2020)

### 2.9.7. Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi

Bakterilerden insana kadar çeşitli organizma türlerinde, özellikle bağırsak sistemi ve karaciğerde yaygın olarak bulunan XO, ürik asit (UA) oluşumundan sorumludur. Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi, ksantin (X) ile XO arasındaki enzim-substrat etkileşimi sonucunda oluşan UA miktarının spektrofotometrik olarak belirlenmesidir. İnsanlarda pürin metabolizmasının son aşamasında önemli rol oynayan XO, hipoksantini ksantine ve ardından ksantin ürik aside oksidasyonunu katalize etmektedir (Şekil 2.13). UA öncelikle karaciğerde üretilir, ardından böbrekler tarafından idrar ile atılmaktadır. Karaciğer ve bağırsakta dağılan XO'nun aşırı üretimi kan dolaşımındaki UA seviyesinin artmasına ve hiperürisemiye sebep olmaktadır. Bu durum sonucunda meydana gelen UA birikimi eklemlerde ve böbreklerde ağırlı inflamasyona yol açmaktadır. Bunun yanında, XO inflamasyon, kanser, yaşlanma ve ateroskleroz gibi çeşitli patolojik durumlar altında doku hasarını şiddetlendirebilen ve yara iyileşmesini bozabilen önemli bir hücre içi ROS kaynağıdır. Bu nedenle, ksantin oksidaz inhibisyonu, eklemlerde UA birikimi sonucu oluşan gut ve diğer ksantin oksidaz kaynaklı hastalıkların tedavisinin yanı sıra ROS aşırı üretimini önlemek için önemli bir strateji olarak ifade edilmektedir. Gut tedavisinde klinik olarak kullanılan ksantin oksidaz inhibitörü (XOI) olan allopurinol ateş, deri döküntüsü, hepatotoksisite, gastrointestinal sıkıntı ve epidermal nekroliz dahil olmak üzere istenmeyen birçok yan etkilere sebep olmaktadır. Bu sebeple, daha etkili ancak daha az toksik yan etkiye sahip yeni XOI'lere acil ihtiyaç duyulmaktadır (Abdulhafız ve diğerleri, 2020; Aladdin ve diğerleri, 2020; Bustanji ve diğerleri, 2011; Hsu ve diğerleri, 2021; Nguyen ve diğerleri, 2024; Sweeney ve diğerleri, 2001).



Şekil 2.13. XO enziminin UA ve süperoksit radikali meydana getirmesi (Fernandez ve diğerleri, 2011)

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan maddeler

Çizelge 3.1. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivite tayinlerinde kullanılan kimyasal maddeler

| Kimyasal Maddeler                                                  | Firma         |
|--------------------------------------------------------------------|---------------|
| 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik-asit) (ABTS)         | BLDpharm      |
| 6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox)    | Sigma-Aldrich |
| Amonyum molibdat                                                   | Carloerba     |
| Askorbik Asit                                                      | Fluka         |
| BHA                                                                | Sigma-Aldrich |
| Bütanol                                                            | Merck         |
| Demir 2 klorür (FeCl <sub>2</sub> )                                | Sigma-Aldrich |
| 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)                                | Sigma-Aldrich |
| Demir 2 sülfat (FeSO <sub>4</sub> )                                | Sigma-Aldrich |
| Dipotasyum fosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )               | Serva         |
| Monopotasyum fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )             | Merck         |
| Ksantin                                                            | Sigma-Aldrich |
| Ksantin oksidaz                                                    | Sigma-Aldrich |
| Sodyum hidroksit (NaOH)                                            | BLD           |
| Potasyum persülfat (K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> ) | Sigma-Aldrich |
| Sodyum asetat trihidrat (CH <sub>3</sub> COONa.3H <sub>2</sub> O)  | Sigma-Aldrich |
| Sodyum dodesil sülfat                                              | Serva         |
| Sodyum fosfat                                                      | Sigma-Aldrich |
| TBA                                                                | Sigma-Aldrich |
| Trikloroasetik asit (TCA)                                          | Carloerba     |
| Tripridil-s-triazin (TPTZ)                                         | Sigma-Aldrich |
| 2,2-Bipyridin                                                      | Merck         |
| Troloks                                                            | Sigma-Aldrich |

##### 3.1.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler

Çizelge 3.2. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler

|                      |   |                                                            |
|----------------------|---|------------------------------------------------------------|
| 0,1mM DPPH çözeltisi | : | 4 mg DPPH reaktifi tartılarak 100 ml etil alkolde çözüldü. |
| BHA (1mg/ml)         | : | 0,01 g BHA reaktifi tartılarak 10 ml metanolle çözüldü.    |

Çizelge 3.3. ABTS<sup>•+</sup> serbest radikalın giderme aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler

|                                                      |   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------------------|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7 mM ABTS                                            | : | 0,038 g ABTS radikali tartılarak 6 ml saf su içinde çözüldü.                                                                                                                                                                                                                                         |
| 2.45 mM K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> | : | 0.0066 g potasyum persülfat tartılarak 4 ml saf su içinde çözüldü.                                                                                                                                                                                                                                   |
| ABTS radikal çözeltisi                               | : | 7 mM ABTS ve 2,45 mM K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> çözeltileri karıştırılarak 16 saat karanlıkta bekletildi ve ABTS katyonik radikalının oluşumu sağlandı. ABTS <sup>•+</sup> çözeltisi 734 nm'de 0.7 absorbans vermek üzere distile su ile seyreltildikten sonra deneyde kullanıldı. |
| Troloks (1mg/ml)                                     | : | 0,01 g troloks reaktifi tartılarak 10 ml metanolle çözüldü.                                                                                                                                                                                                                                          |

Çizelge 3.4. FRAP: Demir (III) indirgeyici anti-oksidan güç aktivitesi için kullanılan çözeltiler

|                                 |   |                                                                                                                             |
|---------------------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Asetat Tamponu (300 mM, pH 3.6) | : | 3,1 g sodyum asetat trihidrat tartılarak üzerine 16 ml glasiyal asetik asit ilave edildi ve son hacim 1 litreye tamamlandı. |
| HCl (40 mM)                     | : | 82 µL HCl (%37) alınarak son hacim 25 ml'ye tamamlandı.                                                                     |
| TPTZ (10 mM)                    | : | 0,031 g TPTZ tartılarak üzerine 10 ml seyreltik HCl (40 mM) ilave edildi. Karışım 50°C'de su banyosunda çözdürüldü.         |
| FeCl <sub>3</sub> (20 mM)       | : | 0,054 g FeCl <sub>3</sub> tartılarak 10 ml saf su içinde çözüldü.                                                           |
| FRAP Reaktifi                   | : | 300 mM pH 3.6 asetat tamponu: 20 mM FeCl <sub>3</sub> : 10 mM TPTZ (10:1:1) oranında karıştırılarak taze olarak hazırlandı. |
| Troloks (1mg/ml)                | : | 0,01 g troloks reaktifi tartılarak 10 ml metanolle çözüldü.                                                                 |

Çizelge 3.5. Fosfomolibdat testi için kullanılan çözeltiler

|                        |   |                                                                                                                                             |
|------------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Reaktif çözelti        | : | 0,6719 g sodyum fosfat ve 0,9887 g amonyum molibdat üzerine 6720 µl sülfürik asit ilave edildi. Ardından ve son hacim 200 ml'ye tamamlandı. |
| Askorbik Asit (1mg/ml) | : | 0,01 g askorbik asit tartılarak 10 ml saf su çözüldü.                                                                                       |

Çizelge 3.6. Metal şelatlama aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler

|                        |   |                                                                                                                                                  |
|------------------------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0,2 M Tris-HCL         | : | 4,8456 g Tris tartılarak 80 ml distile suda çözüldü. HCl kullanılarak pH'sı 7,4'a ayarlandı ve toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. |
| 2 mM FeSO <sub>4</sub> | : | 0,017 g FeSO <sub>4</sub> tartılarak 30 ml dsu içinde çözüldü.                                                                                   |
| %0,2'lik bipiridil     | : | 0,2 g 2,2-Bipyridin tartılarak 100 ml 0,2 M HCl içinde çözüldü.                                                                                  |
| EDTA (1mg/ml)          | : | 0.01 g EDTA tartılarak 10 ml saf su çözüldü.                                                                                                     |

Çizelge 3.7. Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler

|                                               |   |                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Homojenat (%10 v/h)                           | : | Bir beher içerisine 10 ml yumurta sarısı alınarak dsu ile 100 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.                                                                                                 |
| FeSO <sub>4</sub> (0.07 M)                    | : | 0,194 g FeSO <sub>4</sub> tartılarak 10 ml dsu içinde çözüldü.                                                                                                                                                       |
| %20'lik Asetik Asit                           | : | 20 ml asetik asit alınarak dsu ile 100 ml'ye tamamlandı.                                                                                                                                                             |
| %8 'lik TBA (%1,1 sodyum dodesil sülfat için) | : | 1,1 g sodyum dodesil sülfat tartıldı. 100 ml dsu içinde çözüldü. Daha sonra 8 gram TBA tartıldı. Bir miktar %1,1 sodyum dodesil sülfat içinde çözüldü. Ardından %1,1 sodyum dodesil sülfat ile 100 ml'ye tamamlandı. |
| %20 'lik TCA                                  | : | 20 g TCA tartılarak 100 ml dsu içinde çözüldü.                                                                                                                                                                       |
| Askorbik Asit (1mg/ml)                        | : | 0.01 g askorbik asit tartılarak 10 ml saf su çözüldü.                                                                                                                                                                |

Çizelge 3.8. Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi için kullanılan çözeltiler

|                                      |   |                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------------|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| %20 'lik TCA                         | : | 20 g TCA tartılarak 100 ml dsu içinde çözüldü.                                                                                                                         |
| 1 M K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  | : | 17,4 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> tartılarak 100 ml saf su çözüldü.                                                                                               |
| 1M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>   | : | 13,6 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> tartılarak 10 ml saf su çözüldü.                                                                                                |
| Sodyum Fosfat Tamponu (0.1M, pH 7.5) | : | 1 M K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 80,2 ml ve 1M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 19.8 ml karıştırılarak taze olarak hazırlandı.                                       |
| NaOH (1M)                            | : | 2 g NaOH tartılarak 50 ml dsu içinde çözüldü.                                                                                                                          |
| Ksantin (1 mM)                       | : | 0,0091 g tartılan ksantin, 1ml NaOH (1M) içinde iyice çözüldü. Ardından 59 ml sodyum fosfat tamponu (0.1M, pH 7.5) ilave edildi. Kullanılacağı ana kadar 4°C saklandı. |
| Ksantin Oksidaz                      | : | 40 ml enzim alınarak üzerine 960 ml sodyum fosfat tamponu (0.1M, pH 7,5) ilave edildi. Kullanılacağı ana kadar buzdolabında (+4°C) muhafaza edildi.                    |
| HCl (1 N)                            | : | 8,3 ml HCl alınıp son hacim 100 ml'ye tamamlandı.                                                                                                                      |
| Allopurinol (1mg/ml)                 | : | 0,001 g allopurinol reaktif tartılarak 1 ml sodyum fosfat tamponu (0.1M, pH 7.5) ile çözüldü.                                                                          |

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Çalışmada kullanılan bakteri ve liyofilize paraprobiyotiklerin hazırlanışı

Çalışmada kullanılan paraprobiyotiğin (PRB-Lp<sub>GD2</sub>) kaynağı olan bakteri kültürü; Prof Dr. Belma ASLİM tarafından önceki çalışmalarında sağlıklı bebek gaitasından izole edilmiş, fizyolojik, biyokimyasal ve 16S rRNA'ya göre moleküler düzeyde gerçekleştirilmiş ve *Lactobacillus plantarum* olarak tanımlanan (yeni isimlendirilmesiyle *Lactiplantibacillus plantarum*) GD2 suşunun probiyotik özellikleri kanıtlanmıştır. Bu çalışmada paraprobiyotik hazırlaması kısaca şu şekildedir:

37°C'de 18 saat inkübe edilen 1. aktiften steril MRS'lere %2'lik ekim yapıldıktan sonra, 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Daha sonra, Prof. Dr. Belma ASLİM danışmanlığında tamamlanan Merve İÇİN'in yüksek lisans tezine göre hazırlanan örnekler liyofilize (Christ Alfa 2-4LD Plus) edildi. Örnekler kullanılana kadar +4°C'de muhafaza edildi (İçin, 2023).

#### 3.2.2. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivitelerin belirlenmesi

##### DPPH serbest radikalini giderme aktivitesinin tayini

PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin serbest radikal giderme aktivitesi DPPH radikali kullanılarak belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 1 ml alınarak üzerine 1 ml DPPH çözeltisi (4 mg/100 ml) ilave

edildi ve karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, sırasıyla 96'lık mikropate aktarılan örneklerin 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikropate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) körve karşı okundu. Pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksianisol (BHA) kullanıldı ve deney 4 tekrarlı olarak yapıldı (Yılmaz ve diğerleri, 2021). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

İnhibisyon (%) = ((Ac-As) / Ac) x 100 (Ac: kontrolün, yani referans maddenin absorbansı, As: örneğin, yani paraprobiyotiğin absorbansı)

#### ABTS<sup>•+</sup> serbest radikal giderme aktivitesinin tayini

Bu yöntemde, 7 mM ABTS ve 2,45 mM potasyum bisülfat karıştırılarak ABTS<sup>•+</sup> radikali elde edildi. Ardından, karanlık ortamda 12-16 saat bekletildi. Kullanmadan önce saf su ile 734 nm dalga boyunda 0.700±0.01 absorbans değerine ulaşacak şekilde seyreltilti. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 1ml alınarak absorbansı 0.700'ye ayarlanan ABTS<sup>•+</sup> den her birine ayrı ayrı 3ml ilave edildi ve karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, sırasıyla 96'lık mikropate aktarılan örneklerin 734 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikropate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) körve karşı okundu. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı ve deney 4 tekrarlı olarak yapıldı (Jaffri, 2023; Qiao ve diğerleri, 2021). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, ABTS<sup>•+</sup> serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

İnhibisyon (%) = ((Ac-As) / Ac) x 100 (Ac: kontrolün, yani referans maddenin absorbansı, As: örneğin, yani paraprobiyotiğin absorbansı)

#### Fosfomolibdat testi

PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin total anti-oksidan kapasitesi, fosfomolibdat yöntemi ile belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 300 µl alınarak, sodyum fosfat (28 mM), amonyum molibdat (4 mM) ve sülfürik asit (0.6 M) içeren reaktif çözeltisinden 3 ml ilave edilerek karıştırıldı. Reaksiyon karışımı su banyosunda 95°C'de 90 dakika inkübe edildi ve oda sıcaklığında soğutuldu. Daha sonra, sırasıyla 96'lık mikropate aktarılan örneklerin absorbansları,

mikroplate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) 695 nm'de dalga boyunda okundu. Pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanıldı ve deney 4 tekrarlı olarak yapıldı (Okafor ve diğerleri, 2024; Yılmaz ve diğerleri, 2021). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, indirgeme gücü aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

İndirgeme gücü (%) = ((As-Ac) / As) x 100 (Ac: kontrolün, yani referans maddenin absorbansı, As: örneğin, yani paraprobiyotiğin absorbansı)

#### FRAP (Demir (III) indirgeyici anti-oksidan güç) aktivitesi testi

FRAP analizi için öncelikle asetat tamponu (300 mM, pH 3.6), TPTZ (10 mM) ve FeCl<sub>3</sub> (20mM) hazırlanarak sırasıyla 10:1:1 oranında karıştırıldı ve FRAP çözeltisi elde edildi. Kullanılacağı ana kadar buzdolabında (+4°C) saklandı. Kullanılmadan önce, elde edilen bu çözelti 37°C'de su banyosunda bekletildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 150 µl alınarak 2850 µl FRAP karışımı ile karıştırıldı ve karanlıkta oda sıcaklığında 4 dakika inkübe edildi. Daha sonra, sırasıyla 96'lık mikroplate aktarılan örneklerin 593 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikroplate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) okundu. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı ve deney 4 tekrarlı olarak yapıldı (Danna ve diğerleri, 2022; Thaipong ve diğerleri, 2006). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, FRAP aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

FRAP Aktivitesi (%) = ((As-Ac)/As) x 100 (Ac: kontrolün, yani referans maddenin absorbansı, As: örneğin, yani paraprobiyotiğin absorbansı)

#### Metal şelatlama aktivitesi tayini

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 0,250 ml alınarak üzerine 0,250 ml FeSO<sub>4</sub> (2 mM) eklendi. Daha sonra, 1 ml Tris-HCl (pH 7,4) (0,2 M) ve hidrojen klorür (HCl) (0,2 M) içinde çözündürülen 1,5 ml %0,2'lik bipiridin solüsyonu sırasıyla karışımlara aktarıldı. Çözelti 30 dakika karanlıkta inkübe edildikten sonra, 2,5 ml etil alkol ve 0,63 ml distile su ilave edildi. Daha sonra, sırasıyla 96'lık mikroplate aktarılan örneklerin 522 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikroplate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) körve karşı okundu. Pozitif kontrol olarak etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) kullanıldı ve deney 4 tekrarlı olarak yapıldı (Gulcin ve

Alwasel, 2023; Naji ve diğerleri, 2020; Suliman ve diğerleri, 2021). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, metal şelatlama aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

Şelatlama aktivitesi (%) = ((Ac-As) /Ac) x 100 (Ac: kontrolün, yani referans maddenin absorbansı, As: örneğin, yani paraprobiyotiğin absorbansı)

#### Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesinin tayini

Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu LPO'nun son ürünlerinden olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu, MDA'nın TBA ile verdiği tepkimeyi temel almaktadır. Bir molekül MDA, iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere tepkimeye girmektedir. LPO ölçümü, MDA'nın asidik ortamda TBA ile oluşturduğu rengin 532 nm'de ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı. Her bir deney tüpüne, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 0.1 ml alındı. Her bir tüpün üzerine 0.5 ml homojenizat ve 0.07 M'lık 0.05 ml FeSO<sub>4</sub> eklenerek 30 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 1,5 ml %20'lik asetik asit, 1,5 ml %8'lik TBA (%1,1 sodyum dodesil sülfat içinde) ve %20'lik TCA eklenerek vortekslendi. 60 dakika 95°C'de sıcak su banyosunda tüpler inkübe edildi ve oda sıcaklığında soğutuldu. Soğuduktan sonra, karışımların üzerlerine 5 ml bütanol eklenerek 3000 rpm'de santrifüj edildi ve üst tabakaları sırasıyla 96'lık mikropate aktarılan örneklerin absorbansı 532 nm'de dalga boyunda mikropate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) okundu. Pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanıldı ve deney 4 tekrarlı olarak yapıldı (Badmus ve diğerleri, 2011; Ruberto ve diğerleri, 2000). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

İnhibisyon (%) = ((Ac-As) /Ac) x 100 (Ac: kontrolün, yani referans maddenin absorbansı, As: örneğin, yani paraprobiyotiğin absorbansı)

#### Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesinin tayini

ROS üreten XO, hipoksantini ksantine ve sonunda ürik aside oksitleyerek pürin metabolizmasında yer alan endojen bir enzimdir. PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, XO enzimini inhibitör aktivitesi, ürik asit oluşumundaki azalma ölçülerek, spektrofotometrik olarak belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml) paraprobiyotik örneklerinden 1 ml alınarak üzerine 2,9 ml fosfat tamponu ve 0,1 ml XO

enzimini içeren bir karışım hazırlandı. Ardından, 25°C'de 15 dakika ön inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, reaksiyon 2 ml ksantin çözeltisi ilave edilerek başlatıldı. Reaksiyon, 1 ml 1 N HCl ile durduruldu. Daha sonra, sırasıyla 96'lık mikropate aktarılan örneklerin 290 nm dalga boyunda absorbans değerleri mikropate okuyucuda (Epoch, Biotek, ABD) okundu. Reaktif çözeltisi örnek karışımı olmadan kontrol olarak, allopurinol ise pozitif kontrol olarak kullanıldı ve deney 3 tekrarlı olarak yapıldı (Abdullahi ve diğerleri, 2012; Alsayari ve diğerleri, 2021). PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, XO'nun yüzde inhibisyonu aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

XO inhibisyon (%) =  $(1 - [B/A]) \times 100$  (A: Paraprobiyotik olmadan XO aktivitesi, B: Paraprobiyotik varlığında XO aktivitesi)

### 3.2.3. İstatistiksel analiz

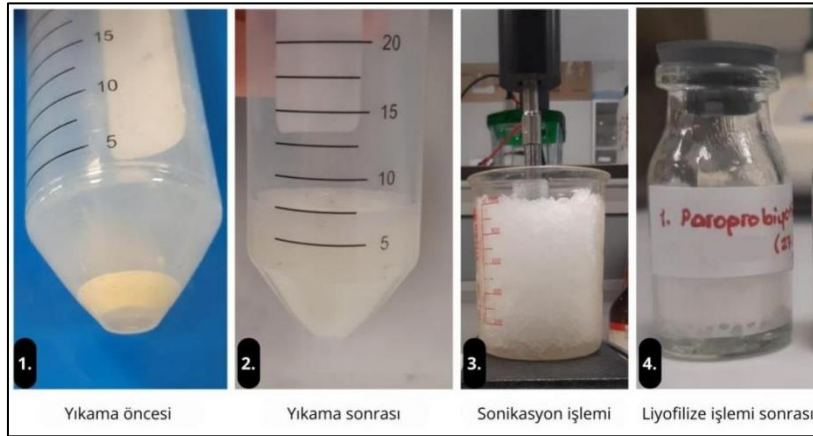
İstatistiksel analizler SPSS 22.0 programı kullanılarak istatistiksel ve ortalama değer  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verildi. Verilerin ortalamaları arasındaki anlamlı farklılık, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılarak Tamhane testi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık %95 anlamlılık düzeyinde  $p < 0,05$  olarak belirlendi. Tüm anti-oksidan ve anti-inflamatuar testler en az 3 tekrarda gerçekleştirildi.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Paraprobiyotik Eldesi Sonuçları

Herhangi bir işlem yapılmayan pelet, kutulduktan sonra 87 miligram olarak elde edilirken, yapılan işlemler sonucunda 40ml kültürden 908,7 miligram paraprobiyotik elde edildi. Bu sonuçlara göre, sıvı kültür hacminden elde edilen paraprobiyotik miktarı 23 mg/ml'dır.



Resim 4.1. Paraprobiyotiğin elde edilmesi

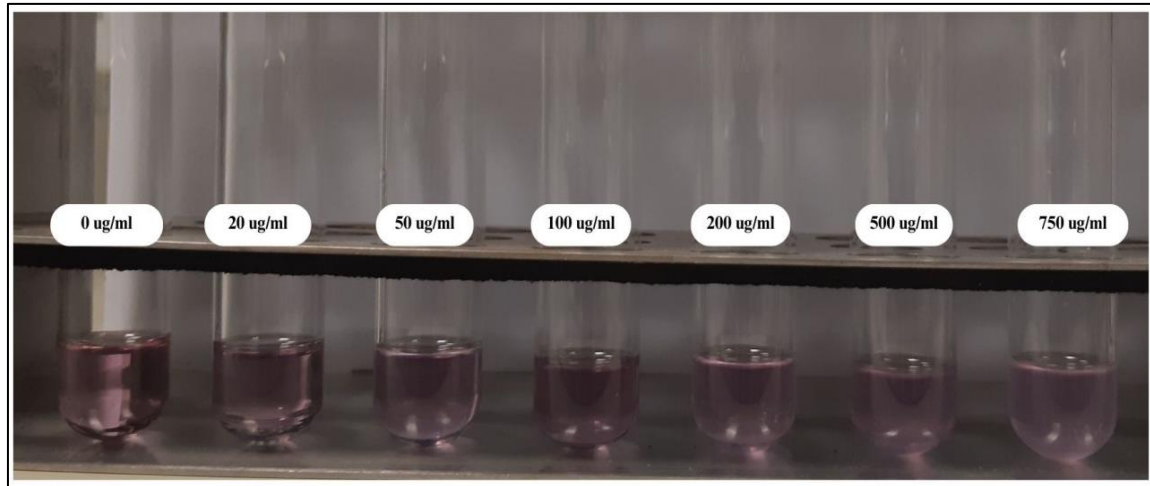
### 4.2. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Sonuçları

PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, DPPH serbest radikalini giderme aktiviteleri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Pozitif kontrol olarak BHA kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin konsantrasyona bağlı olarak serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğunu gösterir (\*p<0,05). Sonuçlar Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

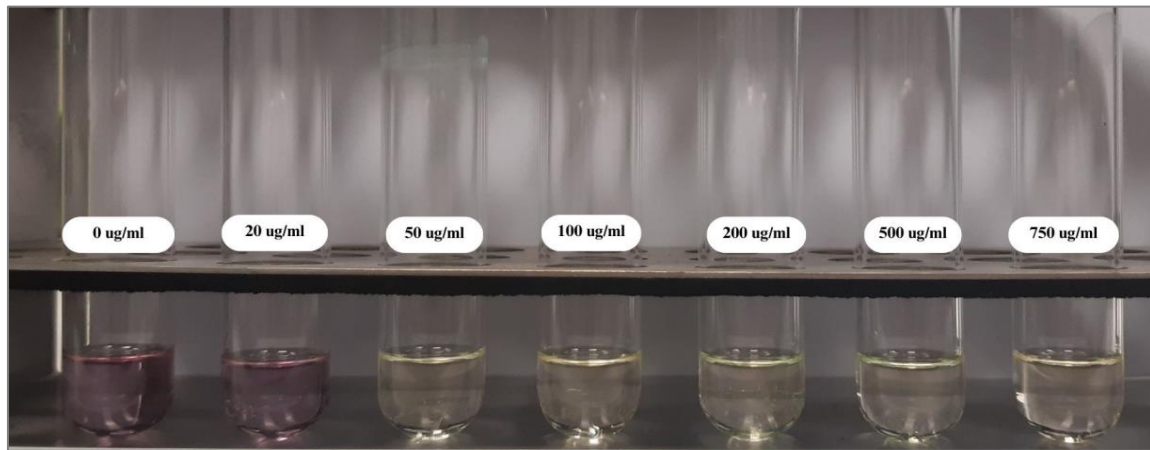
Çizelge 4.1. Paraprobiyotiğin ve BHA'ın DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % DPPH ile serbest radikali giderme aktivitesi  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % DPPH ile serbest radikali giderme aktivitesi $\pm$ SD |               |                |                |                |                |
|----------------|---------------------------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | 20 $\mu$ g/ml                                           | 50 $\mu$ g/ml | 100 $\mu$ g/ml | 200 $\mu$ g/ml | 500 $\mu$ g/ml | 750 $\mu$ g/ml |
| Paraprobiyotik | 10* $\pm$ 0                                             | 18* $\pm$ 1   | 30* $\pm$ 2    | 37* $\pm$ 1    | 79* $\pm$ 1    | 100* $\pm$ 3   |
| BHA            | 23 $\pm$ 3                                              | 56 $\pm$ 2    | 75 $\pm$ 1     | 81 $\pm$ 1     | 87 $\pm$ 1     | 89 $\pm$ 1     |

\*p<0,05



Resim 4.2. Paraprobiyotiğin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları



Resim 4.3. Pozitif kontrolün DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları

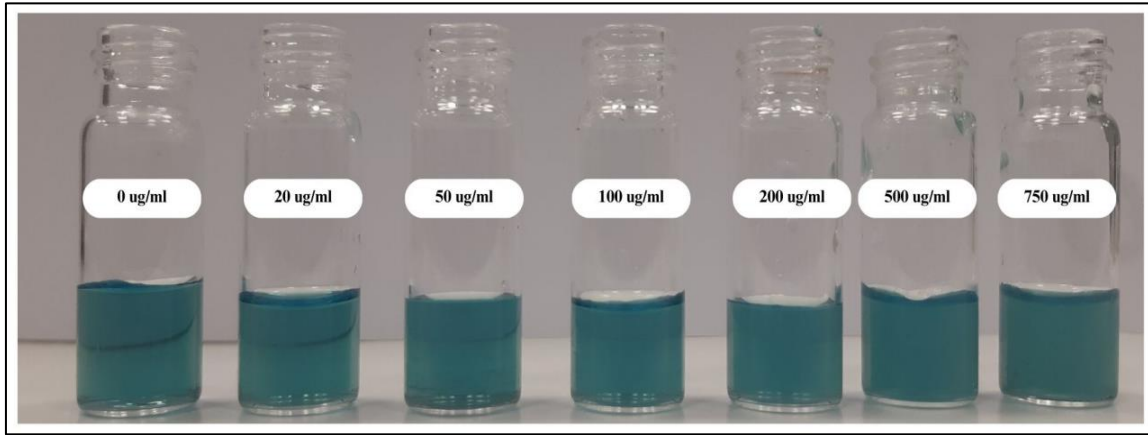
### 4.3. ABTS<sup>•+</sup> Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Sonuçları

PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, anti-oksidan etkisi ABTS<sup>•+</sup> serbest radikalini giderme aktivitelerine göre spektrofotometrik olarak tayin edildi. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin konsantrasyona bağlı olarak serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğunu gösterir (\*p<0,05). Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı. Sonuçlar Çizelge 4.2’te gösterilmiştir.

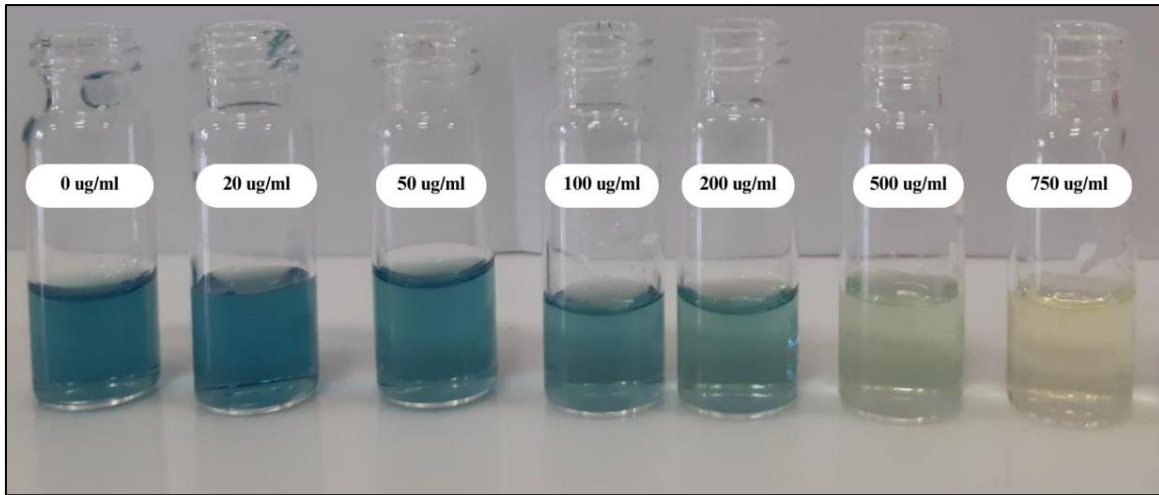
Çizelge 4.2. Paraprobiyotiğin ve troloksun ABTS<sup>•+</sup> serbest radikalini giderme aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % ABTS ile serbest radikali giderme aktivitesi  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % ABTS <sup>•+</sup> serbest radikalini giderme aktivitesi $\pm$ SD |               |                |                |                |                |
|----------------|---------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | 20 $\mu$ g/ml                                                       | 50 $\mu$ g/ml | 100 $\mu$ g/ml | 200 $\mu$ g/ml | 500 $\mu$ g/ml | 750 $\mu$ g/ml |
| Paraprobiyotik | 20 $\pm$ 1                                                          | 21 $\pm$ 0    | 26 $\pm$ 1     | 44 $\pm$ 0     | 86 $\pm$ 1     | 100 $\pm$ 1    |
| Troloks        | 19 $\pm$ 2                                                          | 27 $\pm$ 0    | 53 $\pm$ 3     | 64 $\pm$ 1     | 91 $\pm$ 0     | 100 $\pm$ 0    |

\*p<0,05



Resim 4.4. Paraprobiyotiğin ABTS<sup>•+</sup> serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları



Resim 4.5. Pozitif kontrolün ABTS<sup>•+</sup> serbest radikal giderme aktivitesi sonuçları

#### 4.4. Fosfomolibdat Testi Sonuçları

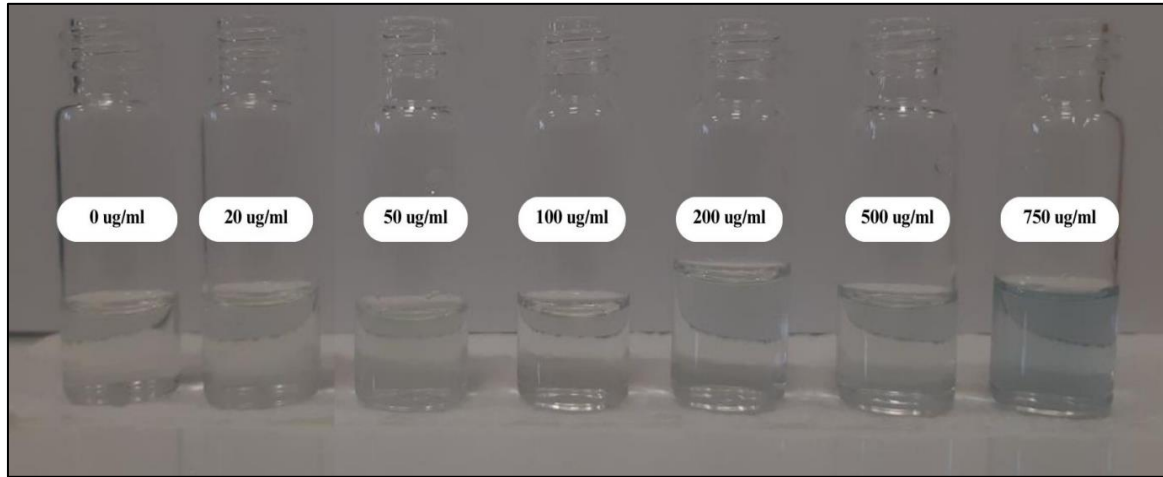
PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak indirgeme gücünün arttığı ve total anti-oksidan

aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (\* $p<0,05$ ). Pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanıldı. Sonuçlar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

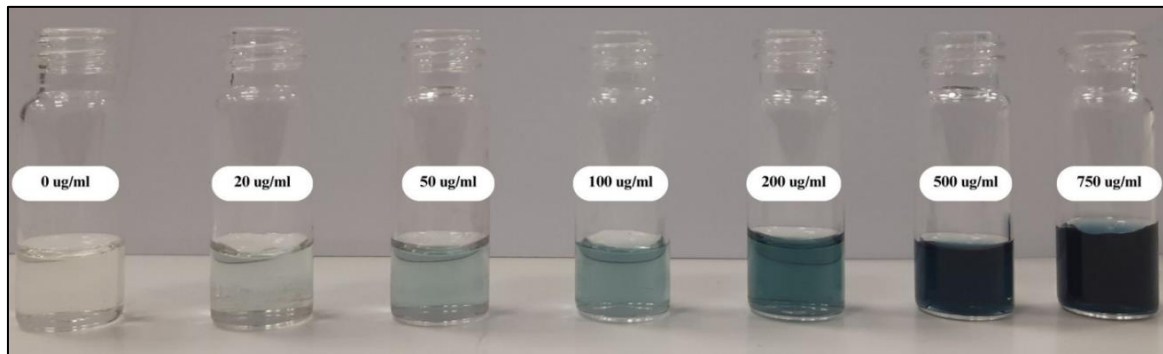
Çizelge 4.3. Paraprobiyotiğin ve askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % Fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi $\pm$ SD |               |                |                |                |                |
|----------------|--------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | 20 $\mu$ g/ml                                                      | 50 $\mu$ g/ml | 100 $\mu$ g/ml | 200 $\mu$ g/ml | 500 $\mu$ g/ml | 750 $\mu$ g/ml |
| Paraprobiyotik | 12 $\pm$ 1                                                         | 29 $\pm$ 0    | 32 $\pm$ 1     | 41 $\pm$ 1     | 60 $\pm$ 1     | 68 $\pm$ 0     |
| Askorbik asit  | 39 $\pm$ 1                                                         | 65 $\pm$ 1    | 79 $\pm$ 2     | 88 $\pm$ 1     | 96 $\pm$ 0     | 97 $\pm$ 0     |

\* $p<0,05$



Resim 4.6. Paraprobiyotiğin fosfomolibdat testi sonuçları



Resim 4.7. Pozitif kontrolün fosfomolibdat testi sonuçları

#### 4.5. FRAP Aktivitesi Sonuçları

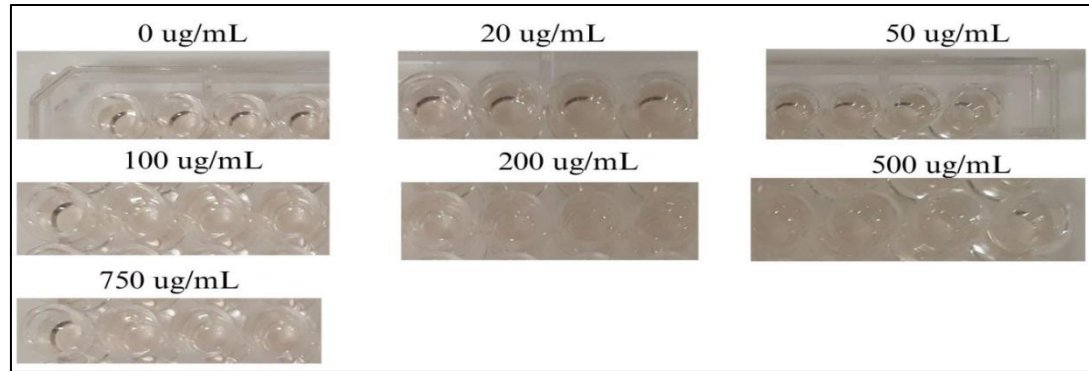
PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, demir (III) indirgeme etkileri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin

konsantrasyonu artışına bağlı olarak demir indirgeme gücünün arttığı ve anti-oksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (\* $p<0,05$ ). Sonuçlar Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

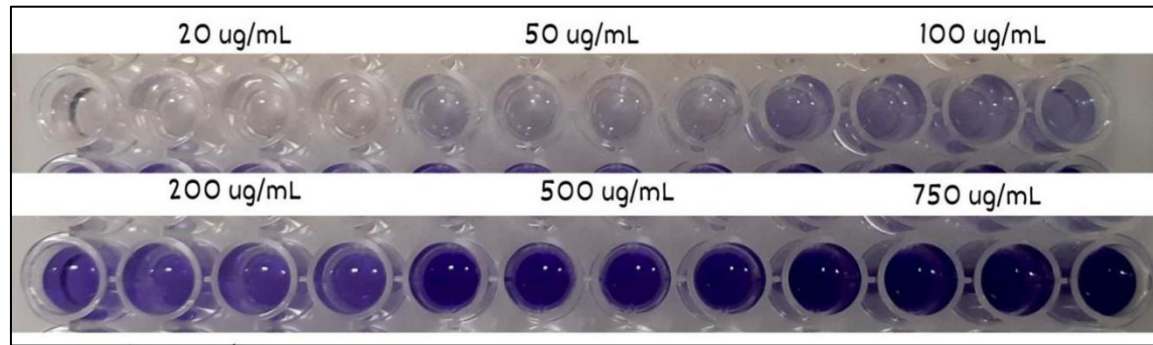
Çizelge 4.4. Paraprobiyotiğin ve troloksun FRAP aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % FRAP aktivitesi  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % FRAP aktivitesi $\pm$ SD |               |                |                |                |                |
|----------------|----------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | 20 $\mu$ g/ml              | 50 $\mu$ g/ml | 100 $\mu$ g/ml | 200 $\mu$ g/ml | 500 $\mu$ g/ml | 750 $\mu$ g/ml |
| Paraprobiyotik | 5* $\pm$ 1                 | 14* $\pm$ 2   | 27* $\pm$ 2    | 38* $\pm$ 2    | 66* $\pm$ 1    | 76* $\pm$ 1    |
| Troloks        | 39 $\pm$ 1                 | 66 $\pm$ 1    | 75 $\pm$ 0     | 87 $\pm$ 1     | 93 $\pm$ 1     | 95 $\pm$ 1     |

\* $p<0,05$



Resim 4.8. Paraprobiyotiğin FRAP aktivitesi sonuçları



Resim 4.9. Pozitif kontrolün FRAP aktivitesi sonuçları

#### 4.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Sonuçları

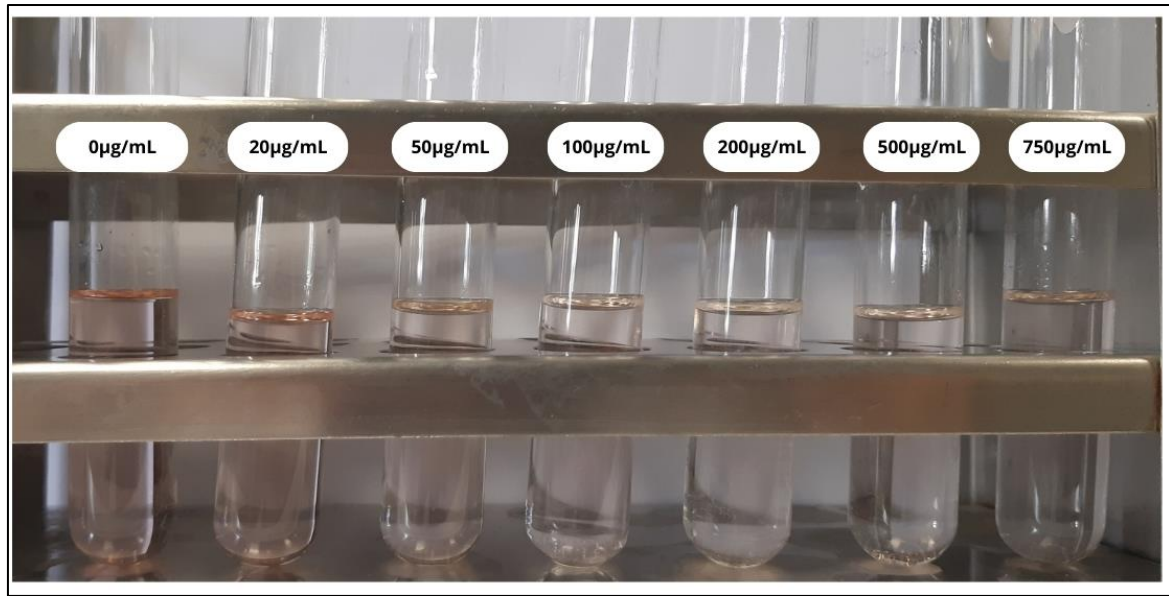
PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, metal şelatlama aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Pozitif kontrol olarak EDTA kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin konsantrasyona bağlı olarak 2,2-Bipyridin ve demir kompleksini etkilediğini ve bu nedenle

şelatlama aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir (\* $p<0,05$ ). Sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Paraprobiyotiğin ve EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Metal şelatlama aktivitesi  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % Metal şelatlama aktivitesi $\pm$ SD |               |                |                |                |                |
|----------------|---------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | 20 $\mu$ g/ml                         | 50 $\mu$ g/ml | 100 $\mu$ g/ml | 200 $\mu$ g/ml | 500 $\mu$ g/ml | 750 $\mu$ g/ml |
| Paraprobiyotik | 64* $\pm$ 0                           | 79* $\pm$ 3   | 84* $\pm$ 1    | 86* $\pm$ 1    | 89* $\pm$ 1    | 100* $\pm$ 1   |
| EDTA           | 73 $\pm$ 1                            | 91 $\pm$ 2    | 92 $\pm$ 0     | 93 $\pm$ 1     | 94 $\pm$ 0     | 95 $\pm$ 1     |

\* $p<0,05$



Resim 4.10. Paraprobiyotiğin metal şelatlama aktivitesi sonuçları



Resim 4.11. Pozitif kontrolün metal şelatlama aktivitesi sonuçları

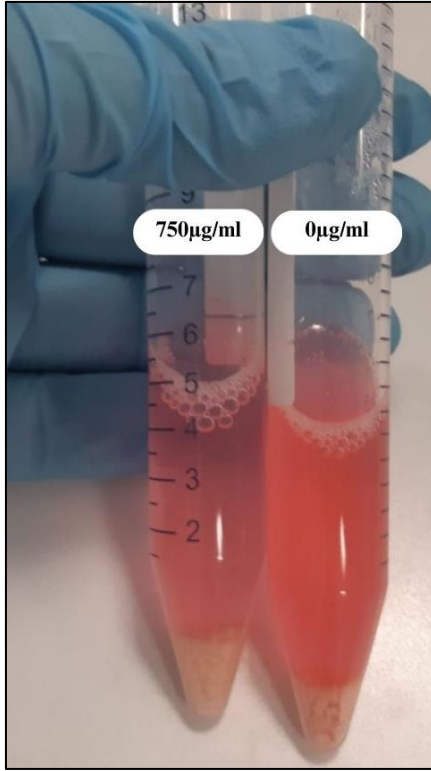
#### 4.7. Lipid Peroksidasyon İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları

PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanıldı. Sonuçlar Çizelge 4.6’da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitesinin arttığını ve lipid peroksidasyon inhibisyon kapasitesine sahip olduğunu gösterir (\*p<0,05).

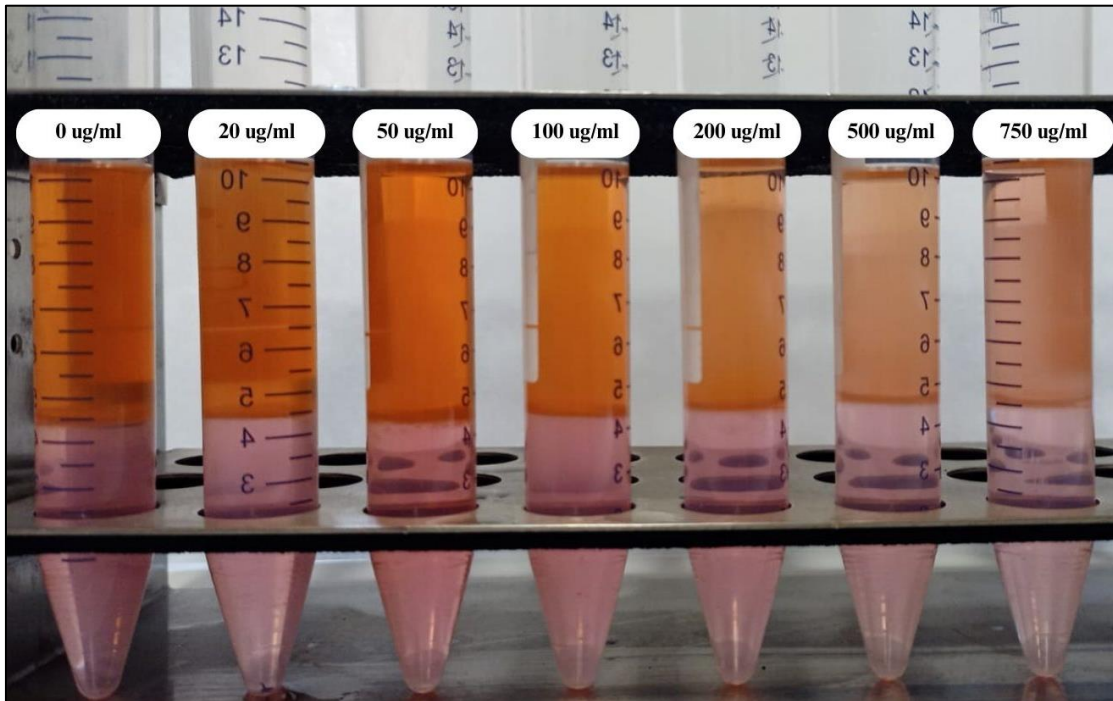
Çizelge 4.6. Paraprobiyotiğin ve askorbik asitin lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % Lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi $\pm$ SD |             |             |             |             |             |
|----------------|------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                | 20µg/ml                                              | 50µg/ml     | 100µg/ml    | 200µg/ml    | 500µg/ml    | 750µg/ml    |
| Paraprobiyotik | 4* $\pm$ 0                                           | 24* $\pm$ 0 | 34* $\pm$ 0 | 38* $\pm$ 0 | 43* $\pm$ 0 | 71* $\pm$ 2 |
| Askorbik asit  | 18 $\pm$ 0                                           | 22 $\pm$ 0  | 29 $\pm$ 1  | 49 $\pm$ 2  | 78 $\pm$ 2  | 91 $\pm$ 1  |

\*p<0,05



Resim 4.12. Paraprobiyotiğin sıcak su banyosundan çıkarıldıktan sonra elde edilen sonuç



Resim 4.13. Paraprobiyotiğın lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi sonuçları



Resim 4.14. Pozitif kontrolün lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi sonuçları

#### 4.8. Ksantin Oksidaz İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları

PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Pozitif kontrol olarak allopurinol kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, paraprobiyotiğin konsantrasyona artışına bağlı olarak aktivitesinin arttığını ve ksantin oksidaz inhibisyon kapasitesine sahip olduğunu gösterir (\*p<0,05). Sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Paraprobiyotiğin ve allopurinolün ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi sonuçları. Sonuçlar % Ksantin oksidaz inhibisyon  $\pm$  SD olarak verildi

| Kompleksler    | % Ksantin oksidaz inhibisyon $\pm$ SD |               |                |                |                |                |
|----------------|---------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | 20 $\mu$ g/ml                         | 50 $\mu$ g/ml | 100 $\mu$ g/ml | 200 $\mu$ g/ml | 500 $\mu$ g/ml | 750 $\mu$ g/ml |
| Paraprobiyotik | 40* $\pm$ 0                           | 52* $\pm$ 1   | 55* $\pm$ 0    | 58* $\pm$ 0    | 60* $\pm$ 1    | 68* $\pm$ 1    |
| Allopurinol    | 51 $\pm$ 0                            | 52 $\pm$ 1    | 57 $\pm$ 1     | 61 $\pm$ 1     | 78 $\pm$ 1     | 82 $\pm$ 1     |

\*p<0,05



## 5. TARTIŞMA

Fibroelastik bir zar olarak ifade edilen deri, fiziksel bir bariyer görevi görmektedir. Dış saldırılara maruz kalmak, organ bütünlüğünü tehlikeye atan yaralanmalara karşı duyarlı hale getirmektedir. Yaralanmadan sonra başlayan fizyolojik bir tepki olan yara iyileşmesi, hemostaz, inflamasyon, matriks sentezi ve birikimi, anjiyogenez, fibroplazi, reepitelizasyon, kasılma ve yeniden şekillenme gibi birçok mekanizmayı içermektedir. Bu olaylarda herhangi bir değişiklik, doku hasarını uzatacak ve onarım sürecini geciktirecektir (Balderas-Cordero ve diğerleri, 2023). Akut yaralar, herhangi bir komplikasyon olmadan kısa sürede iyileşme gösteren yaralardır. İyileşmenin daha uzun sürdüğü kronik yaralarda ise bazı komplikasyonlar meydana gelebilmektedir. İyileşmesinin normal olarak ilerlemediği kronik yaralar, özellikle artan yaşlı nüfus ile hem hasta hem de sağlık sistemleri için büyük zorluk teşkil etmektedir. 2060 yılına gelindiğinde, ABD hükümeti yaşlı nüfusun 77 milyonun üzerinde olacağı ve kronik yaraların bu nüfusta giderek artan kalıcı bir sorun olmaya devam edeceği tahmin edilmektedir. Moleküler düzeyde etiyolojideki farklılıklara rağmen, kronik yaralar kalıcı enfeksiyon varlığı, aşırı düzeyde proinflamatuvar sitokinler, proteazlar ve ROS gibi bazı ortak özellikleri paylaşmaktadırlar. Yara iyileşmesinin ekonomik ve hasta bakımı üzerindeki etkileri sebebiyle, yara iyileştirme araştırmaları oldukça aktiftir (Han ve Ceilley, 2017; Wlaschek ve diğerleri, 2019).

Yara iyileşmesinde uygulanan tedavilerin yetersizliği ve şu an yara iyileşmesi üzerine standart bir tedavi yönteminin uygulanmaması, bu konu üzerinde daha kapsamlı çalışmalar yapılmasının gerekliliğini göstermektedir. Enfeksiyonu kontrol etmek, klinik ve ekonomik yükü azaltmak için çok disiplinli ve kurumsal bir strateji benimsenmelidir. Bu sayede hastalar, klinisyenler ve sağlık sistemleri için faydalar sağlanabilir. Özellikle son dönemde, kronik yaraları hedefleyen, terapötik doğal biyoaktif bileşiklere yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (Lo ve diğerleri, 2020; Lopes ve diğerleri, 2024).

Yara iyileşmesinde kullanılan doğal biyoaktif bileşiklere örnek olarak verilen probiyotiklerin, bir takım olumsuz etkilerinin olması sebebiyle probiyotik kaynaklı inaktif ürünlere ilgi artmıştır. Sağlık için faydalı etkileri bulunan paraprobiyotiklerin, yara iyileşmesinde de büyük oranda olumlu etkiler gösterdiği bazı çalışmalar ile desteklenmektedir (Jung ve diğerleri, 2019; Venosi ve diğerleri, 2019). Son zamanlarda

yapılan bir çalışmada, paraprobiyotik'in inflamatuvar yanıtı ve oksidatif stresi azalttığı ve böylece yara iyileşmesini hızlandırdığı bulunmuştur (Michels ve diğerleri, 2023).

Oksidatif stres, savunma sisteminde ve yara iyileşme sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Serbest radikaller, oksidatif reaksiyon sonucunda lipid, protein, nükleik asit gibi birleşikleri olumsuz etkilemektedir. Aynı zamanda, çeşitli biyolojik soruna sebep olmaktadır. Oksidatif stres ve inflamasyon bir arada var olmaktadır. ROS üretiminin artmasına bağlı olarak redoks homeostazının bozulması, hücresel düzeyde oksidatif hasara neden olmaktadır. Aşırı ve kontrol edilemeyen oksidatif stres, kronik yaraların patogenezinde önemli rol oynayan inflamasyon sürecinin sürmesine sebep olmaktadır ve yara iyileşmesini engellemektedir (Accipe ve diğerleri, 2023; Lopes ve diğerleri, 2024).

Çoğu canlı organizma, onları oksidatif strese karşı korumak için evrimleşmiş enzimatik ve enzimatik olmayan anti-oksidan savunma ve onarım sistemlerine sahiptir. Ancak, bu doğal anti-oksidatif sistemler genellikle canlı organizmaların oksidatif hasarını önlemek için yeterli değildir. Hücresel substratların oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddeler olarak kullanan anti-oksidan tedaviler, insan vücudunun oksidatif hasarı azaltmasına yardımcı olma potansiyelini göstermiştir (Li ve diğerleri, 2012).

Anti-oksidanların yara oksidatif stresini kontrol etmeye yardımcı olduğu ve böylece yara iyileşmesini hızlandırdığı varsayılmaktadır. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve BHA gibi sentetik anti-oksidanlar ilaç, kozmetik ve gıda sektörü tarafından yaygın olarak kullanıldığı ve lipid oksidasyonunu geciktirdiği, serbest radikallerin bu sentetik anti-oksidanlar tarafından temizlendiği bilinmektedir. Ancak sentetik oksidanların karaciğer hasarına ve kanserojenliğe yol açması sebebiyle, daha güvenli doğal anti-oksidanların kullanılması büyük ilgi görmüştür (Doğan, 2019; Li ve diğerleri, 2012).

Bitkisel, hayvansal ürünlerden, enzimlerden ve mikroorganizmalardan elde edilen doğal anti-oksidanların, yara iyileşmesinde yararlı etkilerinin olduğunu gösteren güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Vougiouklaki ve diğerleri, 2023). Yapılan çalışmalarda, yara iyileşmesini kolaylaştırmak, popülasyondaki gereksiz amputasyon, hasta sayısını ve ölüm sayısını azaltmak için anti-oksidan geliştirilmesine ve test edilmesine odaklanılmıştır (Deng ve diğerleri, 2021). Ayrıca, cilt hasarı sonucunda genellikle iltihaplanma ve enfeksiyon meydana gelmektedir. Bu sebeple, uygun tedavi yöntemleri hızlı iyileşmeyi desteklemekle

kalmamalı, aynı zamanda anti-inflamatuar işlev göstermelidir (Balderas-Cordero ve diğerleri, 2023).

Mevcut literatürde, paraprobiyotikğin yara iyileşmesinde kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmasına rağmen, *L. plantarum* GD2 suşu ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkinin değerlendirilmesi, farklı durumlarda farklı mekanizmaların aydınlatılmasına dayanmaktadır. Bu yüksek lisans tez çalışmasında, Prof. Dr. Belma ASLİM danışmanlığında yapılan bir tez çalışmasında uygulama grubunda %99-100 arasında yara kapatma oranı tespit edilen PRB-Lp<sub>GD2</sub>'nin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, ABTS serbest radikal giderme aktivitesi, FRAP aktivitesi, fosfomolibdat yöntemi ile total anti-oksidan aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi ve ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi tayin metotlarıyla anti-oksidan ve anti-inflamatuar kapasitesi incelenmiştir ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Yara iyileştiriciler, doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaktadır. Yara iyileşmesinde sentetik olanlara kıyasla biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyouyumluluk ve biyolojik aktivite gibi birçok avantajlara sahip doğal terapötik ajanlar, uygun dozlarda kullanıldığında toksik etki göstermemektedirler. Probiyotiklerin birçok durum için potansiyel fayda sağladığı iddiaları, birçok insanı bu ürünleri düzenli olarak tüketmeye yöneltmiştir. Ancak, sağlık için kesin bir ölçüt bulunmamaktadır. Probiyotik kullanımı yan etkileri arasında sistemik enfeksiyonlar, gastrointestinal yan etkiler, cilt komplikasyonları, endokard iltihabı, normal mikrobiyal flora gen transferi, metabolik zararlı etkileri ve bağışıklık sistemi uyarımı bulunmaktadır. En riskli gruplar ise bebekler, yaşlılar, hastanede yatan hastalar ve immün yetmezliği bulunan kişilerdir. Probiyotiklerin güvenliği, tüketici veya hastanın potansiyel hassasiyeti, tüketim dozu, süresi, uygulama şekli ve sıklığına bağlıdır. Probiyotiklerin olumsuz etkilerini en aza indirme yollarından bir de düşük dozda kullanmaktır (Akhtari ve diğerleri, 2024; Senok ve diğerleri, 2005; Sotoudegan ve diğerleri, 2019). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, NIH-3T<sub>3</sub> hücreleri 0,01 ve 0,1 g/ml olmak üzere iki konsantrasyonda paraprobiyotik suşları ile muamele edilerek etkileri incelenmiştir (Michels ve diğerleri, 2023). Yapılan bir diğer araştırmada, paraprobiyotik etkisi araştırılırken 100-1000 µg/ml arasında değişen konsantrasyonlar kullanılmıştır (Kim ve diğerleri, 2020). Han ve ekibinin (2019) yaptığı çalışmada, *L. reuteri* örneklerinin 50 µg/ml konsantrasyonunda yara iyileşmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Han ve diğerleri, 2019). Aynı zamanda, yara iyileşmesinde etkili doğal terapötik ajanların anti-oksidan aktiviteleri

değerlendiren çalışmalarda, güvenli ve toksik etki yaratmayan olarak ifade edilen 10-1000 µg/ml konsantrasyonlar aralığı incelenmiş (Akhtari ve diğerleri, 2024; Liu ve diğerleri, 2022; Venkadassalapathy ve diğerleri, 2023).

Yapılan bu tez çalışmasında, literatürde kullanılan konsantrasyonlar dikkate alınarak, *L. plantarum* GD2 suşundan elde edilen paraprobiyotığın (PRB-Lp<sub>GD2</sub>) anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivite analizleri 0, 20, 50, 100, 200, 500 ve 750 µg/ml konsantrasyonlarında incelenmiştir.

Literatürde, probiyotiklerin serbest radikal giderme aktivitesini incelemiş birkaç çalışma bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalardan birinde, beyaz peynirden izole edilen laktik asit bakterilerin *in-vitro* probiyotik ve anti-oksidan aktiviteleri değerlendirilmiş. Sonuçlar, pozitif kontrol C vitamini (1000 µg/ml) ile karşılaştırılmış. Dört izolat arasında radikal giderme potansiyeli açısından daha umut verici olduğu ifade edilen ED25 izolatının, DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %49-%37 olarak bulunmuş (Daşdemir ve diğerleri, 2024). 15 gıda kaynaklı bakteri suşunun ve askorbik asitin (10µg/ml) anti-oksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS serbest radikal giderme yöntemi ile ölçülen bir çalışmada, laktik asit bakterilerin DPPH serbest radikal giderme sonuçları %2,55 ila %6,88 arasında bulunurken, ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri %19,69 ila %86,26 arasında bulunmuştur. Askorbik asitin ise DPPH ve ABTS sonuçları sırasıyla %37,15 ve %66,93 olarak ifade edilmiş. Bu sonuçlar dikkate alındığında, tüm izole edilen laktik asit bakterilerin DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğu belirtilmiş (Kim ve diğerleri, 2022). Kim ve ekibi (2021) tarafından bebek dışkılarından izole edilen *Lactobacillus* türlerinin obeziteye karşı potansiyeli incelenirken, ABTS ve DPPS serbest radikal giderme aktivite testleri yapılmış ve askorbik asit (100µg/ml) ile karşılaştırılmış. Yapılan analiz sonucunda, elde edilen *Lactobacillus* türlerinin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri %21,6-%27,5 arasında ve ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri %40,9-%44,9 arasında sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir (Kim ve diğerleri, 2021). Bir diğer çalışmada, *in-vitro* anti-diyabetik, anti-oksidan ve probiyotik aktiviteleri incelenen *L. platarum* ve *Lactocaseibacillus paracasei* (yeni isimlendirilmesiyle *Lactocaseibacillus paracasei*) probiyotik suşlarının ve askorbik asitin (50 µg/ml) anti-oksidan aktivitesi için DPPH ve ABTS serbest radikal giderme analizleri kullanılmıştır. Bu çalışmada, askorbik asitin DPPH ve ABTS serbest radikal giderme sonuçları sırasıyla %68,1 ve %30,1 bulunmuştur. Seçilen suşların ise %25- %32,6- %44,3- %47- %60,8- %63,4- %66- %66,7

ve %75,8 DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri, %41,3- %43,1- %47,1- %50,7- %50,8- %53,4 ve %60,4 ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri gösterdiği bulunarak, bu suşların güçlü anti-oksidan aktiviteye sahip oldukları ifade edilmiştir (Won ve diğerleri, 2021). İnsan kaynaklı olarak izole edilen laktobasil ve bifidobakterilerin *in-vitro* anti-oksidan ve probiyotik özelliklerinin araştırılan bir çalışmada, pozitif kontrol olarak askorbik asit (100 µg/ml, 10 µg/ml) ile karşılaştırılmış. Sonuç olarak, laktobasillerin (*L. rhamnosus* MG316, *L. reuteri* MG505) DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %22,2- %33,5 iken ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %50,0- %55,9 olarak bulunmuştur. Bifidobakterilerin (*Bifidobacterium breve* MG729, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* MG741) sırasıyla %35,4 ve %38,2 DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gösterdiği bulunurken, ABTS radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %86,4 ve %93,6 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, askorbik asit (10 µg/ml için DPPH: %27,9 ABTS: %76,7 ve 100 µg/ml için DPPH: %38,2 ve ABTS: %93,3) kontrolü ile karşılaştırılarak dört suşunda yüksek anti-oksidan aktivite gösterdiği ve seçilen bu suşların ROS'u azaltma yeteneği olduğu ifade edilmiştir (Kim ve diğerleri, 2020). Geleneksel el yapımı süt peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerin anti-oksidan aktiviteleri ve probiyotik özellikleri araştırılan bir çalışmada, DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri %2,79 ila %39,3 arasında bulunurken, ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri %15,38 ila %55,38 arasında değişti ifade edilmiştir (Shi ve diğerleri, 2019).

Aynı zamanda, sağlam ve inaktif probiyotiklerin giderme aktivitelerini karşılaştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar, anti-oksidan etki biçimlerinin hücre bileşenlerine göre değiştiği gösterilmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, fermente süttten izole edilen *Lactobacillus gasseri* (yeni isimlendirilmesiyle *Ligilactobacillus gasseri*) suşları anti-oksidan aktivitesi incelenmiş ve sağlam hücrelerin sırasıyla %58, %65, %71, %79,8 ve %81 DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri gösterirken sonikasyon işlemine tabi tutularak hazırlanan hücre içi hücresiz ekstraktlar ise sırasıyla %29, %30, %33, %36 ve %45 oranlarında daha az serbest radikal giderme aktivitesi gösterdikleri belirtilmiştir (A. Sellam ve diğerleri, 2024). Shirkhan ve ekibi (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, geleneksel fermente süt ürünlerinden izole edilen 10 doğal LAB suşundan elde edilen hücre serbest süpernatantının (CFS), ultrasonikasyon ile elde edilen hücre serbest ekstraktın (CFE) ve askorbik asitin (0,5 mg/ml) DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri incelenmiş. Yapılan araştırma sonucunda, CFE ve CFS örneklerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %6,33 ile %15,72 ve %37,84 ile %76,03 arasında değiştiği bulunurken,

askorbik asitin (0,5 mg/ml) %95,13 bulunmuştur. CFE ve CFS örneklerin ABTS serbest radikal giderme aktivitesi sırasıyla %13,91 ile %38,14 ve %28 ile %95,63 arasında değiştiği bulunurken, askorbik asitin (0,5 mg/ml) %82,34 giderme aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Shirkhan ve diğerleri, 2024). Ali ve ekibi (2023) tarafından LAB'nin anti-oksidan aktivitesi inceleyen bir diğer çalışmada, sağlam hücreler DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %34,31 ve 17,84 bulunmuş. Aynı zamanda, hücre içi hücre dışı ekstraktlarının DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri ise sırasıyla %6,86 ve %24,04 olarak bulunmuş (Ali ve diğerleri, 2023). Yapılan bir başka çalışmada, ilaç üretiminde kullanılan önemli bir probiyotik *Bifidobacterium* bebek dışkılarından izole edilmiştir. Sağlam hücreler ve düşük sıcaklıkta ultrasonik parçalama sonucunda elde edilen hücre içi hücre dışı ekstraktları için radikal giderme aktiviteleri incelenmiş ve hücre içi ekstraktların %30-43,11 arasında, sağlam hücrelerin ise %11,44 en düşük serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğu bulunmuş (Cai ve diğerleri, 2022). LAB'nin anti-oksidan aktivitesi inceleyen bir diğer çalışmada, sağlam hücrelerin ve hücre içi hücre dışı ekstraktlarının sırasıyla %4,50 ile %19,66 ve %8,23 ile %26,37 arasında değişen serbest radikal giderme aktivitesi gösterdikleri bulunmuştur. Ayrıca *L. plantarum*'un sağlam hücreleri %8,15 ve hücre içi hücre dışı ekstraktları %18,46 serbest radikal giderme aktivitesi gösterilmiştir (Wang ve Li, 2022). Bir diğer çalışmada, LAB'nin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri %58,38 ile %90,34 arasında değiştiği bulunurken, pozitif kontrol olarak askorbik asit ve BHA'nın (1mg/ml) serbest radikal giderme oranları sırasıyla %94,34 ve %85,79 olarak bulunmuştur (Düz ve diğerleri, 2020). Ramalho ve ekibinin (2019) yapmış olduğu çalışmada, gram pozitif laktik asit bakterilerin bir cinsi olan *Lactococcus lactis* subsp. cremoris LL95'in probiyotik özelliklerinin yanı sıra sağlam, ısı ile inaktif hale getirilmiş ve liyofilize edilen üç farklı anti-oksidan aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda, sağlam, ısı ile inaktif hale getirilmiş ve liyofilize edilen hücrelerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %1,30- %6,85- %9 olarak bulunurken, ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %56,50- %32,34- %79 olarak bulunduğu ifade edilmiştir (Ramalho ve diğerleri, 2019). Yapılan bir diğer çalışmada, izole edilen laktik asit bakterilerin ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda, bozulmamış hücreler %42,4- %40,1- %38,5 ile en yüksek ABTS serbest radikal temizleme aktivitesi gösterirken, hücre içi hücre dışı özütler yani ultrasonikasyon ile inaktif hale getirilen örnekler arasında en yüksek %36,7 ve %22,6 ABTS serbest radikal giderme aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (Han ve diğerleri, 2017). Isı ile öldürülmüş 12 tane laktik asit bakteri suşunun anti-oksidan aktivitelerini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada,

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %14, %81 ile %32,92 arasında değiştiği ve pozitif kontrol olarak BHA'nın (1 mg/ml) DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %100 olarak bulunmuştur (Liu ve Pan., 2010).

Literatür incelendiğinde, yara iyileşmesinde etki gösteren inaktif probiyotiklerin serbest radikal giderme aktiviteleri ile ilgili çalışma bulunmazken yara iyileşmesinde etkili probiyotiklerin serbest radikal giderme aktivite analizlerini inceleyen çalışma sayısı sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada, yara iyileştirici özellik gösteren *Pediococcus pentosaceus* AF2 suşunun %56 DPPH giderme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuca göre, anti-oksidan aktivite yeteneğinin yeterli olduğu ifade edilmiştir (Ugras ve diğerleri, 2024).

FRAP ve fosfomolibdat yöntemi, total anti-oksidan aktiviteyi analizi için tercih edilmektedir. Bu yöntemler, bir maddenin anti-oksidan kapasitesini değerlendirmek için kullanılan yaygın yöntemlerdir. Literatürde, probiyotik ve inaktif probiyotiklerin total anti-oksidan aktivitelerini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, yara iyileşmesinde kullanılan probiyotik ve inaktif probiyotiklerin total anti-oksidan aktivitesini ortaya koyan çalışma bulunmamaktadır. Ali ve ekibi (2023) tarafından LAB ile yapılan bir çalışmada, sağlam hücrelerin hücre içi hücresiz ekstraktlarına göre daha yüksek FRAP aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Ali ve diğerleri, 2023). Yapılan bir diğer çalışmada, LAB'nin hücre içi hücresiz ekstraktlarının %1,03 ile %1,28 arasında değişen total anti-oksidan aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Wang ve Li, 2022). Bir diğer çalışmada, gram pozitif LAB'ın bir cinsi olan *L. lactis* subsp. *cremoris* LL95'in FRAP aktivitesi, sağlam, ısı ile inaktif hale getirilmiş ve liyofilize edilen üç farklı örneklerde incelenmiş ve sırasıyla %22,40- %13,49 ve %45,04 bulunarak, liyofilize örneklerinin diğer örneklere göre daha yüksek FRAP aktivitesi gösterdiği ifade edilmiştir (Ramalho ve diğerleri, 2019). FRAP aktivitesinin hücre bileşenlerine göre değiştiği gsterilmeyi amaçlayan çalışmalardan birinde, probiyotik olan *Bifidobacterium* suşlarının hücre dışı süpernatantın ve hücre içi hücre ekstraktları incelenmiştir. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, hücre dışı süpernatantın hücre içi hücresiz ekstraktları ve sağlam hücrelere göre daha yüksek toplam indirme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Cai ve diğerleri, 2022). Yapılan bir diğer çalışmada, hücresiz süpernatantlar, bozulmamış hücreler ve ultrasonikasyon ile muamele sonucunda elde edilen hücre içi hücresiz özütlerin FRAP aktivitesi sonuçları incelenmiştir. Bu sonuçlara göre, hücre içi hücresiz ekstraktların hücresiz spernatatlardan ve sağlam hücrelerden daha az

demir indirgeme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Han ve diğerleri, 2017). Isı ile öldürülmüş 12 tane laktik asit bakteri suşunun total anti-oksidan aktivitesi ise %2,76 ile 78,78 arasında bulunurken, pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'nın 1 mg/ml konsantrasyonda total anti-oksidan aktivitesi %100 bulunmuştur (Liu ve Pan, 2010). Bir diğer çalışmada, potansiyel probiyotik olan *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013'ün anti-mikrobiyal ve anti-oksidan aktivitesi incelenmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre, 2,5-6,5 mg/ml konsantrasyonları arasında %13,84 ila %33,77 arasında FRAP aktivitesi gösterirken, pozitif kontrolün 2,5-6,5 mg/ml konsantrasyonları arasında %47,86 ila %91,25 arasında FRAP aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (Fakruddin ve diğerleri, 2017).

Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonun son ürünlerinden olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğunda, MDA'nın TBA ile verdiği tepkime temel alınmaktadır. Literatürde, probiyotik ve inaktif probiyotiklerin lipid peroksidasyon inhibisyon oranlarını inceleyen çalışmalar bulunsada, yara iyileşmesinde kullanılan probiyotik ve inaktif probiyotiklerin lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesini ortaya koyan çalışma bulunmamaktadır. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, fermente sütten izole edilen *L. gasseri* suşlarının sağlam hücrelerin %44, %45, %53, %61 ve %66 anti-lipid peroksidasyon aktiviteleri gösterirken, sonikasyon işlemine tabi tutularak hazırlanan hücre içi hücresiz ekstraktlar %30, %32, %40 %48 ve %49 arasında değişen anti-lipid peroksidasyon seviyeleri gösterdiği bulunmuştur (A. Sellam ve diğerleri, 2024). Rwubuzizi ve ekibi (2023) tarafında yapılan bir çalışmada, potansiyel probiyotik olarak ifade edilen suşların %26,15 ve %69,43 arasında lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi gösterdiklerini belirtilmiştir (Rwubuzizi ve diğerleri, 2023). Düz ve ekibi (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, LAB'ın lipid peroksidasyon inhibisyon oranı %40,18 ile %63,29 arasında değiştiği bulunmuştur (Düz ve diğerleri, 2020). Yapılan bir diğer çalışmada, hücre içi hücresiz ekstraktların lipid peroksidasyon inhibisyon değerleri %33,6 ila %41,7 arasında değişirken sağlam hücreler için en yüksek inhibisyon oranı %23,3 ve hücresiz üst sıvılar için ise inhibisyon oranı %11,4'ten %16,8'e kadar çıktığı belirtilmiştir (Han ve diğerleri, 2017). Lee ve ekibinin (2005) yapmış olduğu bir çalışmada, bir süt ürününden izole eden 4 *Lactobacillus casei* KCTC 3260'ın hem hücre içi hem de hücresiz ekstraktların lipid peroksidasyonunu sırasıyla %46,2 ve %72,9 oranında inhibe ettiği ortaya konulmuş (Lee ve diğerleri, 2005).

Metal şelatlama aktivitesi ile kullanılan ligandın serbest demir iyonlarına bağlanarak protein, karbonhidrat, lipid gibi biyomoleküllere zarar verebilecek ROS üretimini ne kadar engellediği ölçülmektedir. Bu ligandlara, şelatlama ajanları veya şelatör adı verilmektedir (Gulcin ve Alwasel, 2022). Literatürde, yara iyileşmesinde kullanılan probiyotik ve inaktif probiyotiklerin metal şelatlama aktivitesini ortaya koyan çalışma bulunmamaktadır. Buna ek olarak, probiyotiklerin ve inaktif probiyotiklerin metal iyonunu şelatlama aktivitelerini inceleyen çalışmalarda yetersiz sayılmaktadır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, geleneksel fermente süt ürünlerinden izole edilen 10 doğal LAB suşundan elde edilen hücre serbest süpernatantının (CFS) ve ultrasonikasyon ile elde edilen hücre serbest ekstrakt (CFE) şelatlama gücü ise sırasıyla %7-21 ve %21-26 arasında değiştiği bulunurken, EDTA'nın (1 mg/ml) şelatlama gücü %82 olarak ifade edilmiştir (Shirkhan ve diğerleri, 2024). Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada, *L. gasseri* suşlarının metal şelatlama aktivitesi incelenmiş ve sağlam hücrelerin sırasıyla %33, %43, %52, %82, %88 oranında demir iyon şelatlama aktiviteleri gösterirken, sonikasyon işlemine tabi tutularak hazırlanan hücre içi hücre dışı ekstraktlar ise %22, %25, %31, %44, %56 oranında demir iyon şelatlama aktiviteleri gösterdiği bulunmuştur (A. Sellam ve diğerleri, 2024). Bir diğer çalışmada, kullanılan probiyotiklerin demir şelatlama aktivitesi en yüksek %98,2 en düşük %71,5 olarak bulunurken, EDTA'nın (1 mg/ml) demir şelatlama aktivitesi %93,8 olarak bulunmuştur (Rwubuzizi ve diğerleri, 2023). Düz ve ekibi (2020) tarafından yapılan çalışmada, probiyotik LAB'nin demir şelatlama aktivitesinin sırasıyla %20 ile %75 arasında değiştiği bulunurken, EDTA'nın (1 mg/ml) demir şelatlama aktivitesi %87 olarak ifade edilmiştir (Düz ve diğerleri, 2020).

İnflamasyon, vücudun bağışıklık sisteminin zararlı uyarılara karşı sağlanan koruyucu fizyolojik bir savunma sistemidir. Kalıcı veya tedavi edilmemiş inflamasyon, birçok hastalığın gelişmesine yol açabilir. Bu nedenle, anti-inflamatuar ajanlar inflamatuvar bozuklukların yönetimine yardımcı olabilir. Anti-inflamatuar etkinin biyolojik değerlendirilmesinde, inflamasyon ve/veya hücre sinyal yollarında yer alan bazı kilit enzimleri inhibe etme kabiliyetleri incelenmektedir (Bošković ve diğerleri, 2023; Nile ve diğerleri, 2016). Ksantin oksidaz inhibisyon analizi, enzim inhibisyonunu temel alan bir metottur. XO, ksantini süperoksit radikalleri ve UA üretmek üzere katalize etmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda ürik asidin, artan yara şiddeti ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Ding ve diğerleri, 2022; Fernandez ve diğerleri, 2011; Lee ve diğerleri, 2020). Allopurinol ve febuksoat, UA oluşumunda anahtar enzim olan ksantin oksidazı inhibe ederek

hiperürisemiye kontrol eden ilaçlardır. Ancak, zararlı yan etkileri olması sebebiyle daha etkili ve daha güvenli tedavilere odaklanılmıştır. Yapılan *in-vivo* çalışmalar, probiyotiklerin hiperürisemiye etkili bir şekilde hafiflettiğini belirtmektedir (Zou ve diğerleri, 2024). Ancak, literatürde probiyotiklerin *in-vitro* ksantin oksidaz inhibisyon aktivite çalışmaları yetersizken, inaktif probiyobiyotikler ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Aynı zamanda, yara iyileşmesinde kullanılan probiyotik ve inaktif probiyotiklerin ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesini ortaya koyan çalışma bulunmamaktadır. Zhao ve ekibi (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, sekiz izolatin XO'nun aktivitesini inhibe etme yeteneği test edilmiş. Pozitif kontrol (allopurinol), %33,80'lik bir inhibisyon oranı gösterdiği bulunurken, sekiz LAB suşunun XO'nun inhibisyon oranlarını %6,68 ile %20,87 arasında bulunmuş. Bu sonuçlara göre, probiyotik potansiyeline sahip seçilmiş LAB suşlarının memelilerde hiperürisemiye hafifletmek için umut verici bir strateji sağlayabileceği ifade edilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2023).

Ksantin oksidaz inhibisyon analizinde, bir bileşiğin XO enzimini inhibe etmesi sonucunda meydana gelen UA miktarındaki azalma, dolaylı olarak XO aktivitesini yavaşlattığını göstermektedir. Bu UA oluşumundaki önemli azalma, anti-inflamatuar aktivite ile de ilişkilendirilmektedir. Bu ilişkiyi doğrulamak için COX ve LOX inhibisyon analizi gibi daha kapsamlı analizlere ihtiyaç vardır. Anti-inflamatuar ajanların analizinde kullanılan iki önemli metot, LOX ve COX inhibisyon testleri, ksantin oksidaz inhibisyon aktivite analizinin olduğu gibi enzim inhibisyonunda dayanan yöntemlerdir. Bu COX ve LOX enzimler, inflamasyon sürecinde araşidonik asit (AA)'i ağrı, iltihaplanmaya sebep olan pro-inflamatuar mediatörlere (lökotrienler (LTs) ve protaglandinler (PGs)) dönüştürmektedir. Yapılan çalışmalarda, COX ve LOX inhibisyon metotları kullanılarak bir bileşiğin, AA'nın güçlü pro-inflamatuar mediatörlere dönüşümündeki azalma göz önünde bulundurularak anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu ve inflamatuvar aktiviteyi azaltacağı ortaya konulmaktadır (Bošković ve diğerleri, 2023; Ding ve diğerleri, 2022; Fernandez ve diğerleri, 2011; Lee ve diğerleri, 2020; Ketha ve diğerleri, 2020; Nile ve diğerleri, 2016). Benzer şekilde, ksantin oksidaz aktivitesinin olması anti-inflamatuar aktiviteye dair veri sunmakla birlikte, ksantin oksidazın direkt olarak kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (Osman ve diğerleri, 2016).

Ek olarak, yapılan çalışmalarda probiyotiklerde ve inaktif probiyotiklerde metabolitler, enzimler, hücre duvarından bulunan polisakkarit, lipoteikoik asit, teikoik asit ve

peptidoglikanların anti-oksidan özellik gösterdiği ifade edilmiştir (Aguilar-Toalá ve diğerleri, 2019; Blazheva ve diğerleri, 2022).

Yapılan bu tez çalışması sonucunda, paraprobiyotiğin 20 µg/ml konsantrasyonunda %50'den daha fazla metal şelatlama aktivitesi, 50 µg/ml konsantrasyonunda %50'den daha fazla ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi, 500 µg/ml konsantrasyonunda %50'den daha fazla serbest radikal giderme ve toplam anti-oksidan aktivitesi, 750 µg/ml konsantrasyonda %50'den daha fazla lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi gösterdiği bulundu ve sonuçlar literatüre göre değerlendirildi.

DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitesi analizinde, absorbans konsantrasyon artışına bağlı olarak azalmaktadır. Bu sonuçlar, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin güçlü serbest radikal giderme aktivitesi olduğunu göstermektedir. Bu aktiviteler literatüre göre değerlendirildiğinde PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, konsantrasyon artışı ile anlamlı derecede inaktif ve aktif probiyotiklerden daha yüksek giderme aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin ve inaktif probiyotiklerin %50 değerinin aşağısında serbest radikali giderme aktivitesi gösteren konsantrasyonları yeterli görülmüştür. Bunlar göz önünde bulundurulduğunda, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin 20-500 µg/ml konsantrasyonu aralığında serbest radikal giderme aktivitesi yeterli olduğu ifade edilebilir.

FRAP ve fosfomolibdat analizinde, absorbans konsantrasyon arttıkça artmaktadır ve bu sonuçlar, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin güçlü indirgeme potansiyeli olduğunu göstermektedir. Total anti-oksidan kapasitesini değerlendirmek için yapılan FRAP ve fosfomolibdat yöntemi sonuçları literatüre göre değerlendirildiğinde, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin inaktif probiyotikler ile benzer sonuçlar gösterdiği görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, kullanılan probiyotik türüne ve inaktif probiyotik elde etmek için yapılan işleme göre total anti-oksidan aktiviteleri değişmektedir. Bu koşullara bağlı olarak aktif probiyotikler, inaktif probiyotiklerden daha yüksek veya daha düşük toplam anti-oksidan aktivite göstermektedir. Doğru olarak değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ek olarak, literatürde elde edilen hücre dışı süpernatantların, probiyotiklerin gelişimi sırasında salınan antioksidan bileşikler açısından zengin olması sebebiyle hem aktif hem de inaktif probiyotiklerden daha yüksek toplam anti-oksidan aktivitesi göstermektedir (Cai ve diğerleri, 2022; Han ve diğerleri, 2017; Zolotukhin ve diğerleri, 2018).

Lipid peroksidasyonun analizinde, absorbans konsantrasyon artışına bağlı olarak azalmaktadır. Bu sonuçlar, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA seviyesinin azalmasını yani lipid peroksidasyonun azaldığını ve PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, güçlü inhibisyon aktivitesi olduğunu göstermektedir. PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, literatürde çalışılan aktif ve inaktif probiyotiklerin lipid peroksidasyon inhibisyon oranlarına göre daha yüksek veya benzer sonuçlar gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda, literatürde lipid peroksidasyon inhibisyon oranının %20 üzerinde olduğunda anti-oksidan suş olarak kabul edileceği belirtilmektedir (Han ve diğerleri, 2017). Bunlar göz önünde bulundurulduğunda, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin %24 inhibisyon aktivitesi gösterdiği 50 µg/ml konsantrasyonun oksidatif stresi azaltmak ve hücre zarında meydana getireceği hasarı engellemek için yeterli olduğu ifade edilebilir.

Metal şelatlama aktivite analizinde, absorbans konsantrasyon arttıkça metal iyonlarına daha fazla bağlanma gösterdiğinden azalmaktadır. Bu sonuçlar, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin güçlü metal şelatlama potansiyeli olduğunu göstermektedir. PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin metal şelatlama aktivitesi literatürde göre değerlendirildiğinde, probiyotiklerden, inaktif probiyotiklerden ve pozitif kontrol olarak kullanılan maddelerden daha fazla olduğu saptanmıştır. Bunun sebebi, fizyolojik şelatlayıcılar bulundurması ve bunların metal iyonlarına bağlanma kapasitesinin daha yüksek olması gösterilebilir. Ancak, bu hipotezin kesin olarak ifade edilebilmesi için daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır (Blazheva ve diğerleri, 2022; Lin ve Yen, 1999).

Anti-inflamatuvar aktivite analizi ile ilgili bilgi edinmek için kullanılan ksantin oksidaz inhibisyon analizinde, absorbans konsantrasyon arttıkça azalmaktadır ve bu sonuçlar, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin güçlü inhibisyon potansiyeli olduğunu göstermektedir. PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin, ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi sonuçları literatürdeki çalışma ile karşılaştırıldığında daha yüksek inhibisyon aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Ancak, doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için daha fazla ve daha kapsamlı analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Elde edilen bu sonuçlar ışığında, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin düşük dozda infamatuvar yanıtı ve oksidatif stresi azaltarak yara iyileşmesini hızlandırabileceği ve oksidatif strese ilişkili diğer hastalıkların önlenmesine ve kontrolüne katkıda bulunarak, ekonomi açısından fayda sağlayabileceği ifade edilebilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, yüksek oranda yara kapatma özelliği bulunan probiyotik *Lactiplantibacillus plantarum* GD2 suşundan elde edilen paraprobiyotiğin *in-vitro* anti-oksidan ve anti-inflamatuar analizler kapsamında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde aşağıdaki çıkarımlar ve öneriler yapılmıştır:

1. Bu çalışmada, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin güvenilir olarak ifade edilen konsantrasyon aralığında analiz edildiğinde ve istatistiksel olarak değerlendirildiğinde düşük konsantrasyonlarda güçlü anti-oksidan aktiviteye sahip olabileceği saptanmıştır.
2. Bu paraprobiyotiğin hem yara kapatma hem de oksidatif stres azaltma kapasitesi sayesinde etkili yara iyileştirici tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yol açabilir. Yaraların hızlı ve etkili bir şekilde iyileşmesini destekleyerek sağlık sisteminde faydalı etkiler sağlamasına ek olarak, oksidatif stres ile ilişkili çeşitli hastalıkların tedavisinde de rol oynayabilir. Böylece, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotik sentetik ilaçlara alternatif olarak sunulabilir ve kullanım potansiyelinin artması ile ekonomi açısından fayda sağlayabilir.
3. Bu çalışmada, kullanılan PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin ksantin oksidaz inhibisyon sonuçları dikkate alınarak ROS üretimini azalttığı ve dolaylı olarak inhibisyon üzerinde etkili olabileceği söylenebilir. Elde edilen bu sonuçlar, PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu sonuçları doğrulamak ve anti-inflamatuar aktiviteyi kapsamlı değerlendirmek adına COX, LOX ve TNF- $\alpha$  inhibisyon gibi *in-vitro* testler ve *in-vivo* çalışmalar önerilebilir.
4. Elde edilen bu paraprobiyotiğin anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivite gösteren hücre yapılarının detaylı analizi için LC-MS (Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi) gibi içerik analizleri önerilmektedir.
5. PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin anti-oksidan aktivitesini artırmak adına, anti-oksidan aktiviteye sahip başka ajanlar ile kombine tedavi stratejileri veya biyoyararlılığın artırılması için taşıyıcı sistemler kullanımı ile ilgili çalışmalar önerilmektedir.
6. PRB-Lp<sub>GD2</sub> paraprobiyotiğin anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivite analizinde kullanılan konsantrasyonlarının aktivitesinin doğrulamak ve optimal dozunun belirlenmesi adına *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalar önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- A. Sellam, Y. Z., Maleb, A., Khalid, I., Hamdaoui, N., Hammouti, B., ve Meziane, M. (2024). In vitro antioxidant properties of *Lactobacillus gasseri* isolated from fermented milk: Isolation and preparation of strains and intracellular cell-free extracts, chemical testing (hydrogen peroxide, superoxide, hydroxyl radical, DPPH, ferrous ion chelatin. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 9(3), 611-622.
- Abdulhafiz, F., Mohammed, A., Kayat, F., Bhaskar, M., Hamzah, Z., Podapati, S. K., ve Reddy, L. V. (2020). Xanthine Oxidase Inhibitory Activity, Chemical Composition, Antioxidant Properties and GC-MS Analysis of Keladi Candik (*Alocasia longiloba* Miq). *Molecules*, 25(11), 1-14.
- Abdullahi, A., Hamzah, R. U., Jigam, A., Yahya, A., Kabiru, A., Muhammad, H., Sakpe, S., Adefolalu, F.S., Isah, M. C., ve Kolo, M. Z. (2012). Inhibitory activity of xanthine oxidase by fractions *Crateva adansonii*. *Journal of Acute Disease*, 1(2), 126-129.
- Abeyrathne, E. D., Nam, K., ve Ahn, D. U. (2021). Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems. *Antioxidants*, 10(10), 1-19.
- Abouelela, M. E., ve Helmy, Y. A. (2024). Next-Generation Probiotics as Novel Therapeutics for Improving Human Health: Current Trends and Future Perspectives. *Microorganisms*, 12(3), 1-28.
- Accipe, L., Abadie, A., Nevriere, R., ve Bercion, S. (2023). Antioxidant Activities of Natural Compounds from Caribbean Plants to Enhance Diabetic Wound Healing. *Antioxidants*, 12(5), 1079.
- Aguilar-Toalá, J., Estrada-Montoya, M., Liceaga, A., Garcia, H. S., González-Aguilar, G., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A. F., ve Hernández-Mendoza, A. (2019). An insight on antioxidant properties of the intracellular content of *Lactobacillus casei* CRL-431. *Lwt-Food Science and Technology*, 102, 58-63.
- Aitcheson, S. M., Frentiu, F. D., Hurn, S. E., Edwards, K., ve Murray, R. Z. (2021). Skin Wound Healing: Normal Macrophage Function and Macrophage Dysfunction in Diabetic Wounds. *Molecules*, 26(16), 1-11.
- Akhtari, N., Ahmadi, M., Vaghe, Y. K., Asadian, E., Behzad, S., Vatanpour, H., ve Ghorbani-Bidkorpeh, F. (2024). Natural agents as wound-healing promoters. *Inflammopharmacology*, 32(1), 101-125.
- Aksoy, H., ve Özakpınar, Ö. B. (2014). Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18(3), 153-158.
- Akter, S., Park, J.-H., ve Jung, H. K. (2020). Potential Health-Promoting Benefits of Paraprobiotics, Inactivated Probiotic Cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(4), 477-481.
- Aladdin, N.-A., Husain, K., Jalil, J., Sabandar, C. W., ve Jamal, J. A. (2020). Xanthine oxidase inhibitory activity of a new isocoumarin obtained from *Marantodes pumilum* var. *pumila* leaves. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 1-12.

- Alfei, S., Schito, G. C., Schito, A. M., ve Zuccari, G. (2024). Reactive Oxygen Species (ROS)-Mediated Antibacterial Oxidative Therapies: Available Methods to Generate ROS and a Novel Option Proposal. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 1-56.
- Ali, M. S., Lee, E. B., Lim, S. K., Suk, K., ve Park, S. C. (2023). Isolation and Identification of *Limosilactobacillus reuteri* PSC102 and Evaluation of Its Potential Probiotic, Antioxidant and Antibacterial Properties. *Antioxidants*, 12(2), 1-20.
- Alsayari, A., Asiri, Y. I., Muhsinah, A. B., ve Hassan, M. Z. (2021). Anticancer Properties of Pyrazole Derivatives Acting through Xanthine Oxidase Inhibition. *Journal of Oncology*, 2021(1), 1-5.
- Ashoori, Y., Mohkam, M., Heidari, R., Abootalebi, S. N., Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Golkar N., ve Gholami, A. (2020). Development and In Vivo Characterization of Probiotic Lysate-Treated Chitosan Nanogel as a Novel Biocompatible Formulation for Wound Healing. *BioMed Research International*, 2020 (1), 1-9.
- Asomadu, R. O., Ezeorba, T. P., Ezike, T. C., ve Uzoechina, J. O. (2024). Exploring the antioxidant potential of endophytic fungi: a review on methods for extraction and quantification of total antioxidant capacity (TAC). *3 Biotech*, 14(5), 1-18.
- Atayık, M. C., ve Çakatay, U. (2023). Redox signaling in impaired cascades of wound healing: promising approach. *Molecular Biology Reports*, 50(8), 6927-6936.
- Attinger, C. E., Janis, J. E., Steinberg, J., Schwartz, J., Al-Attar, A., ve Couch, K. (2006). Clinical Approach to Wounds: Débridement and Wound Bed Preparation Including the Use of Dressings and Wound-Healing Adjuvants. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7S), 72-109.
- Baali, F., Boudjelal, A., Smeriglio, A., Righi, N., Djemouai, N., Deghima, A., Bouafia, Z., ve Trombetta, D. (2024). *Phlomis crinita* Cav. From Algeria: A source of bioactive compounds possessing antioxidant and wound healing activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 331, 1-13.
- Badmus, J. A., T. O., Adegbite, V. A., Adaramoye, O. A., ve Odunola, O. A. (2011). Lipid peroxidation inhibition and antiradical activities of some leaf fractions of *Mangifera indica*. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 68(1), 23-29.
- Balderas-Cordero, D., Canales-Alvarez, O., Sánchez-Sánchez, R., Cabrera-Wrooman, A., Canales-Martinez, M. M., ve Rodriguez-Monroy, M. A. (2023). Anti-Inflammatory and Histological Analysis of Skin Wound Healing through Topical Application of Mexican Propolis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14), 1-19.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., ve Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585-601.
- Batista, V. L., Silva, T. F., Jesus, L. C., Coelho-Rocha, N. D., Barroso, F. A., Tavares, L. M., Azevedo V., Mancha-Agresti P., ve Drumond, M. M. (2020). Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Paraprobiotics as a Therapeutic Alternative for Intestinal Mucositis. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1-17.

- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., ve Salayová, A. (2020). A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(14), 1-24.
- Biller, J. D., ve Takahashi, L. S. (2018). Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(4), 3403-3414.
- Bishop, A. (2008). Role of oxygen in wound healing. *Journal of Wound Care*, 17(9), 399-402.
- Blazheva, D., Mihaylova, D., Averina, O. V., ve Slavchev, A. (2022). Antioxidant Potential of Probiotics and Postbiotics: A Biotechnological Approach to Improving Their Stability. *Russian Journal of Genetics*, 58(9), 1036-1050.
- Bleau, C., Monges, A., Rashidan, K., Laverdure, J.-P., Lacroix, M., Calsteren, M.-R. V., Millette, M., Savard, R., ve Lamontagne, L. (2010). Intermediate chains of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M increase IL-10 production by macrophages. *Journal of Applied Microbiology*, 108(2), 666-675.
- Bošković, J., Dobričić, V., Mihajlović, M., Kotur-Stevuljević, J., ve Čudina, O. (2023). Synthesis, Evaluation of Enzyme Inhibition and Redox Properties of Potential Dual COX-2 and 5-LOX Inhibitors. *Pharmaceuticals*, 16(4), 1-18.
- Budovsky, A., Yarmolinsky, L., ve Ben-Shabat, S. (2015). Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 23(2), 171-183.
- Bustanji, Y., Hudaib, M., Tawaha, K. A., Mohammad, M., Almasri, I. M., Hamed, S. H., ve Oran, S. (2011). In Vitro Xanthine Oxidase Inhibition by Selected Jordanian Medicinal Plants. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 29-34.
- Cai, J., Bai, J., Luo, B., Ni, Y., Tian, F., ve Yan, W. (2022). In vitro evaluation of probiotic properties and antioxidant activities of *Bifidobacterium* strains from infant feces in the Uyghur population of northwestern China. *Annals of Microbiology*, 71(1), 1-14.
- Cañedo-Dorantes, L., ve Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. *International Journal of Inflammation*, 2019(1), 3706315.
- Cano Sanchez, M., Lancel, S., Boulanger, E., ve Nevriere, R. (2018). Targeting Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in the Treatment of Impaired Wound Healing: A Systematic Review. *Antioxidants*, 7(8), 1-14.
- Catalá, A., ve Díaz, M. (2016). Editorial: Impact of Lipid Peroxidation on the Physiology and Pathophysiology of Cell Membranes. *Frontiers in Physiology*, 7, 1-3.
- Chaiyasut, C., Sivamaruthi, B. S., Tansrisook, C., Peerajan, S., Chaiyasut, K., ve Bharathi, M. (2022). Influence of Paraprobiotics-Containing Moisturizer on Skin Hydration and Microbiome: A Preliminary Study. *Applied Sciences*, 12(23), 1-17.
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., ve Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1-24.

- Choudhary, V., Choudhary, M., ve Bollag, W. B. (2024). Exploring Skin Wound Healing Models and the Impact of Natural Lipids on the Healing Process. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 1-29.
- Christodoulou, M. C., Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Moreno, A., ve Hadidi, M. (2022). Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. *Antioxidants*, 11(11), 1-33.
- Comino-Sanz, I. M., López-Franco, M. D., Castro, B., ve Pancorbo-Hidalgo, P. L. (2021). The Role of Antioxidants on Wound Healing: A Review of the Current Evidence. *Journal of Clinical Medicine*, 10(16), 1-22.
- Criollo-Mendoza, M. S., Contreras, L., Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Ortega, L. A., ve Heredia, J. B. (2023). Wound Healing Properties of Natural Products: Mechanisms of Action. *Molecules*, 28(2), 1-18.
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A., University, P., ve Aguilar-Toalá, J. (2020). Postbiotics and Paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Research International*, 136, 1-12.
- Dai, C., Shih, S., ve Khachemoune, A. (2020). Skin substitutes for acute and chronic wound healing: an updated review. *Journal of Dermatological Treatment*, 31(6), 639-648.
- Danladi, Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Akit, H., Tamrin, N. A., ve Naeem, A. M. (2022). Impact of Feeding Postbiotics and Paraprobiotics Produced From *Lactiplantibacillus plantarum* on Colon Mucosa Microbiota in Broiler Chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1-13.
- Danna, C., Bazzicalupo, M., Ingegneri, M., Smeriglio, A., Trombetta, D., Burlando, B., ve Cornara, L. (2022). Anti-Inflammatory and Wound Healing Properties of Leaf and Rhizome Extracts from the Medicinal Plant *Peucedanum ostruthium* (L.) W. D. J. Koch. *Molecules*, 27(13), 1-16.
- Daşdemir, E., Arslan, N. P., Ortucu, S., Aykutoğlu, G., Özkan, H., Adıgüzel, A., ve Taşkın, M. (2024). In vitro evaluation of probiotic ve antioxidant potential of *Lactocaseibacillus paracasei* ED25. *Biologia*, 79, 1-15.
- De Leon, J. A., ve Borges, C. R. (2020). Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. *Journal of Visualized Experiments*, (159), 1-22.
- Dekebo, A., Geba, C., Bisrat, D., Jeong, J. B., ve Jung, C. (2024). Wound Healing, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities, and Chemical Composition of Korean Propolis from Different Sources. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), 1-23.
- Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D. G., ve Deng, W. (2021). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1), 1-11.

- Diegelmann, R. F., ve Evans, M. C. (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience*, 9(1), 283-289.
- Ding, C., Hao, M., Ma, S., Zhang, Y., Yang, J., Ding, Q., ve Liu, W. (2022). Identification of peptides with antioxidant, anti-lipoxygenase, anti-xanthine oxidase and anti-tyrosinase activities from velvet antler blood. *LWT- Food Science and Technology*, 168, 1-9.
- Dissanayake, D., Abeytunga, T. U., Vasudewa, N., ve Ratnasooriya, W. D. (2009). Inhibition of lipid peroxidation by extracts of *Pleurotus ostreatus*. *Pharmacognosy Magazine*, 4(19), 266-271.
- Doğan, K. H. (2019). *Wound Healing: Current Perspectives*. İstanbul, Türkiye: IntechOpen, 1-4. doi:10.5772/intechopen.84494
- Duarte, J., Mascarenhas-Melo, F., Pires, P. C., Veiga, F., ve Paiva-Santos, A. C. (2024). Multifunctional hydrogels-based therapies for chronic diabetic wound healing. *European Polymer Journal*, 211, 1-24.
- Dubey, A. K., Podia, M., Singh, P., Raut, S., Singh, S., Pinnaka, A. K., ve Khatri, N. (2021). Insight Into the Beneficial Role of *Lactiplantilacillus plantarum* Supernatant Against Bacterial Infections, Oxidative Stress, and Wound Healing in A549 Cells and BALB/c Mice. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1-14.
- Düz, M., Doğan, Y. N., ve Doğan, İ. (2020). Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sake* and *Lactobacillus curvatus* strains isolated from fermented Turkish Sucuk. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92(4), 1-13.
- Fadilah, N. I., Phang, S. J., Kamaruzaman, N., Salleh, A., Zawani, M., Sanyal, A., Maarof, M., ve Fauzi, M. B. (2023). Antioxidant biomaterials in cutaneous wound healing and tissue regeneration: A critical review. *Antioxidants*, 12(4), 1-35.
- Fakruddin, M., Hossain, M. N., ve Ahmed, M. M. (2017). Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1-11.
- Falanga, V., Isseroff, R. R., Soulika, A. M., Romanelli, M., Margolis, D., Kapp, S., Granick, M., ve Harding, K. (2022). Chronic wounds. *Nature Reviews Disease Primers*, 8(1), 1-46.
- Fernandez, M. L., Upton, Z., Edwards, H., Finlayson, K., ve Shooter, G. K. (2011). Elevated uric acid correlates with wound severity. *International Wound Journal*, 9(2), 139-149.
- Ferreres, G., Pérez-Rafael, S., Palacios, Ò., Todorova, K., Hinojosa-Caballero, D., Torrent-Burgués, J., ve Tzanov, T. (2024). Cobalt-phenolic nanoparticles-driven self-assembly of hyaluronic acid hydrogels providing a multifactorial approach for chronic wound management. *Chemical Engineering Journal*, 494, 1-14.
- França, K. (2021). Topical Probiotics in Dermatological Therapy and Skincare: A Concise Review. *Dermatology and Therapy*, 11(1), 71-77.

- Gallelli, C. A., Calcagnini, S., Romano, A., Koczwara, J. B., Ceglia, M. d., Dante, D., Villani, R., Giudetti, A. M., Cassano, T., ve Gaetani, S. (2018). Modulation of the Oxidative Stress and Lipid Peroxidation by Endocannabinoids and Their Lipid Analogues. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 7(7), 1-44.
- Girish, Y. R., Kumar, K. S., Prashantha, K., Rangappa, S., ve Sudhanva, M. S. (2023). Significance of antioxidants and methods to evaluate their potency. *Materials Chemistry Horizons*, 2(2), 93-112.
- Goh, J. X., Tan, L. T.-H., Law, J. W.-F., Ser, H.-L., Khaw, K.-Y., Letchumanan, V., Lee, L. ve Goh, B.-H. (2022). Harnessing the potentialities of probiotics, prebiotics, synbiotics, paraprobiotics, and postbiotics for shrimp farming. *Reviews in Aquaculture*, 14(3), 1478-1557.
- Gonzalez, A. C., Costa, T. F., Andrade, Z. D., ve Medrado, A. R. (2016). Wound healing- A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), 614-620.
- Gounden, V., ve Singh, M. (2024). Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects. *Gels (Basel, Switzerland)*, 10(1), 1-21.
- Griffin, S. P., ve Bhagooli, R. (2004). Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 302(2), 201-211.
- Gulcin, İ., ve Alwase, S. H. (2022). Metal Ions, Metal Chelators and Metal Chelating Assay as Antioxidant Method. *Processes*, 10(1), 1-20.
- Gulcin, İ., ve Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Guo, S., ve Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229.
- Gupta, S., Mujawdiya, P., Maheshwari, G., ve Sagar, S. (2022). Dynamic Role of Oxygen in Wound Healing: A Microbial, Immunological, and Biochemical Perspective. *Archives of Razi Institute*, 77(2), 513-523.
- Gushiken, L. F., Beserra, F. P., Bastos, J. K., Jackson, C. J., ve Pellizzon, C. H. (2021). Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(7), 1-15.
- Hadagali, M. D., ve Chua, L. S. (2014). The anti-inflammatory and wound healing properties of honey. *European Food Research and Technology*, 239, 1003-1014.
- Han, G., ve Ceilley, R. (2017). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in Therapy*, 34(3), 599-610.
- Han, N., Jia, L., Su, Y., Du, J., Guo, L., Luo, Z., ve Liu, Y. (2019). *Lactobacillus reuteri* extracts promoted wound healing via PI3K/AKT/ $\beta$ -catenin/TGF $\beta$ 1 pathway. *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1), 1-11.

- Han, Q., Kong, B., Chen, Q., Sun, F., ve Zhang, H. (2017). In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*, 32, 391-400.
- Hart, J. (2002). Inflammation. 1: Its role in the healing of acute wounds. *Journal of Wound Care*, 11(6), 205–209.
- Hsu, S.-J., Verpoorte, R., Lin, S.-M., ve Lee, C.-K. (2021). Fast dereplication of xanthine oxidase-inhibiting compounds in alfalfa using comparative metabolomics. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 141, 110-170.
- Huang, J., Fan, Q., Shi, L., Shen, J., ve Wang, H. (2024). A novel chlorin derivative Shengtaibufen (STBF) mediated photodynamic therapy combined with iodophor for the treatment of chronic superficial leg wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A retrospective clinical study. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 48, 1-9.
- Hyun, J.-H., Woo, I.-K., Kim, K.-T., Park, Y.-S., Kang, D.-K., Lee, N.-K., ve Paik, H.-D. (2023). Heat-Treated Paraprobiotic *Latilactobacillus sakei* KU15041 and *Latilactobacillus curvatus* KU15003 Show an Antioxidant and Immunostimulatory Effect. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2), 358–366.
- Ibrahim, N. I., Wong, S. K., Mohamed, I. N., Mohamed, N., Chin, K.-Y., Ima-Nirwana, S., ve Shuid, A. N. (2018). Wound Healing Properties of Selected Natural Products. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(11), 1-23.
- Irfan-Maqsood, M. (2018). Classification of Wounds: Know before Research and Clinical Practice. *Journal of Genes and Cells*, 4(1), 1-4.
- Ivanova, A., Gerasimova, E., ve Gazizullina, E. (2020). Study of Antioxidant Properties of Agents from the Perspective of Their Action Mechanisms. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(18), 1-27.
- İçin, M. (2023). *Probiyotik Kaynaklı Paraprobiyotik ve Postbiyotiğin Yara İyileşmesi ve Moleküler İnflamasyon Mekanizmasındaki Rolü*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Jaffri, J. M. (2023). Reactive Oxygen Species and Antioxidant System in Selected Skin Disorders. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 30(1), 7-20.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., ve Valko, M. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Archives of Toxicology*, 98(5), 1323–1367.
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., ve Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, 97(10), 2499–2574.
- Joorabloo, A., ve Liu, T. (2024). Recent advances in reactive oxygen species scavenging nanomaterials for wound healing. *Exploration (Beijing, China)*, 4(3), 1-23.

- Jung, Y.O., Jeong, H., Cho, Y., Lee, E. O., Jang, H. W., Jinwook Kim 3, K. N., ve Lim, K.-M. (2019). Lysates of a Probiotic, *Lactobacillus rhamnosus*, Can Improve Skin Barrier Function in a Reconstructed Human Epidermis Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 1-12.
- Katiyar, S., Singh, D., Kumari, S., Srivastava, P., ve Mishra, A. (2022). Novel strategies for designing regenerative skin products for accelerated wound healing. *3 Biotech*, 12(11), 1-30.
- Ketha, A., Vedula, G. S., ve Sastry, A. (2020). In vitro antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of methanolic extract and its metabolites of whole plant *Cardiospermum canescens* Wall. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6, 1-10.
- Khmaladze, I., Butler, É., Fabre, S., ve Gillbro, J. M. (2019). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938-A comparative study on the effect of probiotics and lysates on human skin. *Experimental Dermatology*, 28(7), 822–828.
- Kıran, T. R., Otlı, O., ve Karabulut, A. B. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1), 1-11.
- Kim, H., Jeon, B., Kim, W. J., ve Chung, D. K. (2020). Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte. *Journal of Functional Foods*, 75, 1-7.
- Kim, H., Jeong, Y., Kim, J. E., Kim, Y., Paek, N. S., ve Kang, C. H. (2021). Anti-obesity potential of *Lactobacillus* spp. isolated from infant feces. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 26(4), 575-585.
- Kim, H., Kim, J. S., Kim, Y., Jeong, Y., Kim, J. E., Paek, N. S., ve Kang, C. H. (2020). Antioxidant and probiotic properties of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* of human origins. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 25(3), 421-430.
- Kim, S., Lee, J. Y., Jeong, Y., ve Kang, C. H. (2022). Antioxidant Activity and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria. *Fermentation*, 8(1), 1-9.
- Knackstedt, R., Knackstedt, T., ve Gatherwright, J. (2020). The role of topical probiotics in skin conditions: A systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. *Experimental Dermatology*, 29(1), 15-21.
- Kolimi, P., Narala, S., Nyavanandi, D., Youssef, A. A., ve Dudhipala, N. (2022). Innovative Treatment Strategies to Accelerate Wound Healing: Trajectory and Recent Advancements. *Cells*, 11(15), 1-46.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., ve Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89(3), 217-233.
- Las Heras, K., Garcia-Orue, I., Rancan, F., Igartua, M., Santos-Vizcaino, E., ve Hernandez, R. M. (2024). Modulating the immune system towards a functional chronic wound healing: A biomaterials and Nanomedicine perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 210, 1-20.

- Lee, H.-J., Tran, M. T., Le, M. H., Justine, E. E., ve Kim, Y.-J. (2024). Paraprobiotic derived from *Bacillus velezensis* GV1 improves immune response and gut microbiota composition in cyclophosphamide-treated immunosuppressed mice. *Frontiers in Immunology*, 15, 1-15.
- Lee, J. S., Wang, R. X., Goldberg, M., Clifford, G. P., Kao, D. J., ve Colgan, S. P. (2020). Microbiota-sourced purines support wound healing and mucous barrier function. *IScience*, 23(6), 1-24.
- Lee, J., Hwang, K.-T., Chung, M.-Y., Cho, D.-H., ve Park, C.-S. (2005). Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to Reactive Oxygen Species (ROS): Role for a Metal Ion Chelating Effect. *Journal of Food science*, 70(8), 388-391.
- Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., Niu, C., Yang, Z., ve Wang, Q. (2012). Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food Chemistry*, 135(3), 1914-1919.
- Lin, M.Y., ve Yen, C. L. (1999). Antioxidative Ability of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1460-1466.
- Lin, P.-H., Sermersheim, M., Li, H., Lee, P. H., Steinberg, S. M., ve Ma, J. (2017). Zinc in wound healing modulation. *Nutrients*, 10(1), 1-20.
- Liu, C.-F., ve Pan, T.-M. (2010). In Vitro Effects of Lactic Acid Bacteria on Cancer Cell Viability and Antioxidant Activity. *Journal of Food and Drug Analysis*, 18(2), 77-86.
- Liu, E., Gao, H., Zhao, Y., Pang, Y., Yao, Y., Yang, Z., Ma, X., Zeng J., ve Guo, J. (2022). The potential application of natural products in cutaneous wound healing: A review of preclinical evidence. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 1-18.
- Lo, Z. J., Lim, X., Eng, D., Car, J., Hong, Q., Yong, E., Zhang, L., Chandrasekar, S., Tan, G. W. L., Chan, Y. M., Sim, S. C., Oei, C. W., Zhang, X., Dharmawan, A., Ng, Y. Z.; Harding, K., Upton, Z., Yap, C. W., ve Heng, B. H. (2020). Clinical and economic burden of wound care in the tropics: a 5-year institutional population health review. *International Wound Journal*, 17(3), 790-803.
- Lopes, F. B., Sarandy, M. M., Novaes, R. D., Valacchi, G., ve Gonçalves, R. V. (2024). OxInflammatory Responses in the Wound Healing Process: A Systematic Review. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 13(7), 1-23.
- Luo, S.-C., Wei, S.-M., Luo, X.-T., Yang, Q.-Q., Wong, K.-H., Cheung, P. C., ve Zhang, B.-B. (2024). How probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics prevent dental caries: an oral microbiota perspective. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 10(1), 1-15.
- Maftai, N. M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., ve Lisa, E. L. (2024). The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*, 12(2), 1-29.
- Martyniak, A., Medyńska-Przęczek, A., Wędrychowicz, A., Skoczeń, S., ve Tomasik, P. J. (2021). Prebiotics, Probiotics, Synbiotics, Paraprobiotics and Postbiotic Compounds in IBD. *Biomolecules*, 11(12), 1-24.

- Mascharak, S., Talbott, H. E., Januszyk, M., Griffin, M., Chen, K., Davitt, M. F., Michael, F., Demeter, J., Henn, D., Bonham, C., A, Foster, D. S., Mooney, N., Cheng, R., Jackson, P. K., Wan, D. C., Gurtner, G. C., ve Longaker, M. T. (2022). Multi-omic analysis reveals divergent molecular events in scarring and regenerative wound healing. *Cell Stem Cell*, 29(2), 315-327.
- Michels, M., Córneo, E., Rocha, L. B., Dias, R., Voytena, A. P., Rossetto, M., Ramlov, F., Dal-Pizzol F., ve Jesus, G. F. (2023). Paraprobiotics strains accelerate wound repair by stimulating re-epithelialization of NIH-3T3 cells, decreasing inflammatory response and oxidative stress. *Archives of Microbiology*, 205(4), 1-9.
- Miranda, L. L., Sarandy, M. M., Altoé, L. S., Bastos, D. S., Melo, F. C., Novaes, R. D., Esposito, D. A., ve Gonçalves, R. V. (2024). Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Brassica oleracea Accelerates Third-Degree Burn Healing in Rats. *Cosmetics*, 11(1), 1-14.
- Mohan, S., Kumar, S., Hariharan, N., Shun, T. J., Sakthivel, N., ve Muthulakshmi, L. (2024). Neoteric Design of Natural Polymers for Smart Wound-Healing Materials. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 10(4), 1-16.
- Monika, P., Chandraprabha, M. N., Rangarajan, A., Waiker, P. V., ve Murthy, K. N. (2022). Challenges in Healing Wound: Role of Complementary and Alternative Medicine. *Frontiers in Nutrition*, 8, 791-899.
- Mota, F. A., Passos, M. L., Santos, J. L., ve Saraiva, M. L. (2024). Comparative analysis of electrochemical and optical sensors for detection of chronic wounds biomarkers: A review. *Biosensors & Bioelectronics*, 251, 1-18.
- Munteanu, I. G., ve Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 1-30.
- Naji, K. M., Thamer, F. H., Numan, A. A., Dauqan, E. M., Alshaibi, Y. M., ve D'souza, M. R. (2020). Ferric-bipyridine assay: A novel spectrophotometric method for measurement of antioxidant capacity. *Heliyon*, 6(1), 1-6.
- Nam, Y., Kim, J., Baek, J., ve Kim, W. (2021). Improvement of Cutaneous Wound Healing via Topical Application of Heat-Killed *Lactococcus chungangensis* CAU 1447 on Diabetic Mice. *Nutrients*, 13(8), 26-66.
- Negut, I., Dorcioman, G., ve Grumezescu, V. (2020). Scaffolds for Wound Healing Applications. *Polymers*, 12(9), 1-19.
- Nguyen, D. K., Liu, T. W., Hsu, S. J., Huynh, Q. D. T., Duong, T. L. T., Chu, M. H., Wang, Y. H., Vo, T. H., ve Lee, C.K. (2024). Xanthine oxidase inhibition study of isolated secondary metabolites from Dolichandrone spathacea (Bignoniaceae): In vitro and in silico approach. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 32(4), 1-10.
- Niki, E., Yamamoto, Y., Komuro, E., ve Sato, K. (1991). Membrane damage due to lipid oxidation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(1), 201-205.

- Nile, S. H., Ko, E. Y., Kim, D. H., ve Keum, Y.-S. (2016). Screening of ferulic acid related compounds as inhibitors of xanthine oxidase and cyclooxygenase-2 with anti-inflammatory activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(1), 50-55.
- Nobre, L. M., Fernandes, C., Florêncio, K. G., Alencar, N. M., Wong, D. V., ve Lima-Júnior, R. C. (2023). Could paraprobiotics be a safer alternative to probiotics for managing cancer chemotherapy-induced gastrointestinal toxicities? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 55, 1-9.
- Nole Baquerizo, K. L., Yim, E., ve Keri, J. E. (2014). Probiotics and prebiotics in dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 71(4), 814-821.
- Norouzi, S., Pourjafar, H., Ansari, F., ve Homayouni, A. (2019). A Survey on the survival of *Lactobacillus paracasei* in fermented and non-fermented frozen soy dessert. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 1-6.
- Nouri, S., Shokraneh, S., Shalamzari, P. F., Ahmed, M. H., Radi, U. K., Idan, A. H., Ebrahimi, M. J., Moafi M., ve Gholizadeh, N. (2024). Application of Mesenchymal Stem Cells and Exosome alone or Combination Therapy as a Treatment Strategy for Wound Healing. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1-14.
- Okafor, C. E., Ijoma, I. K., Igboamalu, C. A., Ezebalu, C. E., Eze, C. F., Osita-Chikeze, J. C., Uzor, C. E., ve Ekwuekwe, A. L. (2024). Secondary metabolites, spectra characterization, and antioxidant correlation analysis of the polar and nonpolar extracts of *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken. *Biotechnologia*, 105(2), 121-136.
- Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A., ve Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4), 1-7.
- Peña, O. A., ve Martin, P. (2024). Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(8), 599–616.
- Piipponen, M., Li, D., ve Landén, N. X. (2020). The Immune Functions of Keratinocytes in Skin Wound Healing. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 1-26.
- Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U., Miesbauer, O., ve Eisner, P. (2021). Common Trends and Differences in Antioxidant Activity Analysis of Phenolic Substances Using Single Electron Transfer Based Assays. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(5), 1-17.
- Polaka, S., Katare, P., Pawar, B., Vasdev, N., Gupta, T., Rajpoot, K., Sengupta, P., ve Tekade, R. K. (2022). Emerging ROS-Modulating Technologies for Augmentation of the Wound Healing Process. *American Chemical Society (ACS) Omega*, 7(35), 30657–30672.
- Pramanik, S., Venkatraman, S., Karthik, P., ve Vaidyanathan, V. K. (2023). A systematic review on selection characterization and implementation of probiotics in human health. *Food Science and Biotechnology*, 32(4), 423–440.

- Qiao, Z., Han, L., Liu, X., Dai, H., Liu, C., Yan, M., Li, W., Han, W., Li, X., Huang S., ve Gao, B. (2021). Extraction, Radical Scavenging Activities, and Chemical Composition Identification of Flavonoids from Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Receptacles. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(2), 1-18.
- Queen, D., ve Harding, K. (2024). Estimating the cost of wounds both nationally and regionally within the top 10 highest spenders. *International Wound Journal*, 21(2), 1-5.
- Ramvalho, J. B., Soares, M. B., Spiazzi, C. C., Bicca, D. F., Soares, V. M., Pereira, J. G., Silva, W., Sehn, C., ve Cebin, F. W. (2019). In Vitro Probiotic and Antioxidant Potential of *Lactococcus lactis* subsp. cremoris LL95 and Its Effect in Mice Behaviour. *Nutrients*, 11(4), 1-17.
- Ramasasthy, S. S. (2005). Acute wounds. *Clinics in Plastic Surgery*, 32(2), 195–208.
- Raziyeva, K., Kim, Y., Zharkinbekov, Z., Kassymbek, K., Jimi, S., ve Saparov, A. (2021). Immunology of Acute and Chronic Wound Healing. *Biomolecules*, 11(5), 1-25.
- Repetto, M., Semprine, J., ve Boveris, A. (2012). Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. *Lipid Peroxidation*, 1, 3-30.
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., ve Gurtner, G. C. (2019). Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665-706.
- Rodriguez, P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T., ve Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic surgery: official publication for American Society for Dermatologic Surgery*, 34(9), 1159-1169.
- Ruberto, G., Baratta, M. T., Deans, S. G., ve Dorman, H. J. (2000). Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Medica*, 66(8), 687–693.
- Russo, E., Giudici, F., Fiorindi, C., Ficari, F., Scaringi, S., ve Amedei, A. (2019). Immunomodulating Activity and Therapeutic Effects of Short Chain Fatty Acids and Tryptophan Post-biotics in Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Immunology*, 10, 1-10.
- Rwubuzizi, R., Kim, H., Holzapfel, W., ve Todorov, S. (2023). Beneficial, safety, and antioxidant properties of lactic acid bacteria: A next step in their evaluation as potential probiotics. *Heliyon*, 9(4), 1-12.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., ve Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215.
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., ve Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety-Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(8), 1-39.

- Senok, A., Ismaeel, A., ve Botta, G. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(12), 958-966.
- Shalaby, E., ve Azzam G. M. (2018). *Antioxidants in Foods and Its Applications*. London: United Kingdom: IntechOpen, 1-26. doi: 10.5772/intechopen.72008
- Sharma, N., Kang, D. K., Paik, H. D., ve Park, Y. S. (2022). Beyond probiotics: a narrative review on an era of revolution. *Food Science and Biotechnology*, 32(4), 413-421.
- Shi, Y., Cui, X., Gu, S., Yan, X., Li, R., Xia, S., Chen, H., ve Ge, J. (2019). Antioxidative and Probiotic Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Artisanal Milk Cheese from Northeast China. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4), 1086–1099.
- Shirkhan, F., Mirdamadi, S., Mirzaei, M., Akbari-adergani, B., ve Nasoohi, N. (2024). The  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Effects and Antioxidant Properties of Native *Lactobacilli* Strains Isolated from Traditional Fermented Dairy Products. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 60(2), 331-346.
- Siciliano, R. A., Reale, A., Mazzeo, M. F., Morandi, S., Silvetti, T., ve Brasca, M. (2021). Paraprobiotics: A New Perspective for Functional Foods and Nutraceuticals. *Nutrients*, 13(4), 1-19.
- Siddeeg, A., AlKehayez, N. M., Abu-Hiamed, H. A., Al-Sanea, E. A., ve Al-Farga, A. M. (2021). Mode of action and determination of antioxidant activity in the dietary sources: An overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1633-1644.
- Singh, T. P., Kaur, G., Kapila, S., ve Malik, R. K. (2017). Antagonistic Activity of *Lactobacillus reuteri* Strains on the Adhesion Characteristics of Selected Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-8.
- Sinha, A., Sagar, S., M, M., ve Osborne, W. J. (2019). Probiotic Bacteria in Wound Healing; An In-Vivo Study. *Iranian Journal of Biotechnology*, 17(4), 1-5.
- Sotoudegan, F., Daniali, M., Hassani, S., Nikfar, S., ve Abdollahi, M. (2019). Reappraisal of probiotics' safety in human. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 22-29.
- Suez, J., Zmora, N., Segal, E., ve Elinav, E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25(5), 716-729.
- Suliman, S. N., Elnaggar, M. H., Elsbaey, M., El-Gamil, M. M., ve Badria, F. A. (2021). Bio-guided Isolation of Natural Iron Chelators from *Mangifera indica* Leaves and their Comparative Study to Desferal. *Natural Product Sciences*, 27(2), 78-85.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., ve Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2016(1), 1-21.
- Sweeney, A. P., Wyllie, S. G., Shalliker, R. A., ve Markham, J. L. (2001). Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 273–277.

- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., ve Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- Togo, C., Zidorio, A. P., Gonçalves, V., Botelho, P., Carvalho, K. d., ve Dutra, E. (2021). Does Probiotic Consumption Enhance Wound Healing? A Systematic Review. *Nutrients*, 14(1), 1-13.
- Tottoli, E. M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S., ve Conti, B. (2020). Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. *Pharmaceutics*, 12(8), 1-30.
- Touyz, R. M., ve Camargo, L. L. (2023). Reactive oxygen species and oxidative stress. *Primer on the Autonomic Nervous System*, 345-352.
- Trinh, X.-T., Long, N.-V., Anh, L. T., Nga, P. T., Giang, N. N., Chien, P. N., Nam S. Y., ve Heo, C.-Y. (2022). A Comprehensive Review of Natural Compounds for Wound Healing: Targeting Bioactivity Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 1-29.
- Uberoi, A., McCready-Vangi, A., ve Grice, E. A. (2024). The wound microbiota: microbial mechanisms of impaired wound healing and infection. *Nature Reviews Microbiology*, 22(8), 507-521.
- Udwadia, T. E. (2011). Ghee and honey dressing for infected wounds. *The Indian Journal of Surgery*, 73(4), 278-83.
- Ugras, S., Fidan, A., ve Yoldas, P. A. (2024). Probiotic potential and wound-healing activity of *Pediococcus pentosaceus* strain AF2 isolated from *Herniaria glabra* L. which is traditionally used to make yogurt. *Archives of Microbiology*, 206(3), 1-14.
- Ustuner, O., Anlas, C., Bakirel, T., Ustun-Alkan, F., Sigirci, B. D., Ak, S., Akpulat H. A., Donmez, C., ve Koca-Caliskan, U. (2019). In Vitro Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Thymus Sipyleus* Boiss. Subsp. *Rosulans* (Borbas) Jalas. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(18), 1-21.
- Varian, B. J., Poutahidis, T., DiBenedictis, B. T., Levkovich, T., Ibrahim, Y., Didyk, E., Shikhman L., Cheung, H. K., Hardas, A., Ricciardi, C. E., Kolandaivelu, K., Veenema, A. H., Alm, E. J., ve Erdman, S. E. (2017). Microbial lysate upregulates host oxytocin. *Brain, Behavior, and Immunity*, 61, 36-49.
- Vasyliiev, G. S., Vorobyova, V. I., ve Linyucheva, O. V. (2020). Evaluation of Reducing Ability and Antioxidant Activity of Fruit Pomace Extracts by Spectrophotometric and Electrochemical Methods. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-16.
- Venkadassalapathy, S. D., Ramasamy, M., Balashanmugam, Victor, D. J., Subramanian, S., Praveen, J. A., ve Akbar, M. A. (2023). In Vitro Antibacterial, Cytotoxicity and Wound Healing Activities of Methanol and Aqueous Extracts from *Achyranthes aspera*. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 15(1), 764-770.

- Venosi, S., Ceccarelli, G., Angelis, M. d., Laghi, L., Bianchi, L., Martinelli, O., Maruca, D., Cavallari, E. N., Toscanella, F., Vassalini, P., Trinchieri, V., Oliva, A., ve d'Ettorre, G. (2019). Infected chronic ischemic wound topically treated with a multi-strain probiotic formulation: a novel tailored treatment strategy. *Journal of Translational Medicine*, 17(1), 1-9.
- Vitale, S., Colanero, S., Placidi, M., Emidio, G. D., Tatone, C., Amicarelli, F., ve D'Alessandro, A. M. (2022). Phytochemistry and Biological Activity of Medicinal Plants in Wound Healing: An Overview of Current Research. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(11), 1-30.
- Vougiouklaki, D., Tsironi, h., Tsantes, A. G., Tsakali, E., Impe, J. F., ve Houhoula, D. (2023). Probiotic Properties and Antioxidant Activity In Vitro of Lactic Acid Bacteria. *Microorganisms*, 11(5), 1-13.
- Wang, G., Yang, F., Zhou, W., Xiao, N., Luo, M., ve Tang, Z. (2023). The initiation of oxidative stress and therapeutic strategies in wound healing. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 157, 1-12.
- Wang, H., ve Li, L. (2022). Comprehensive Evaluation of Probiotic Property, Hypoglycemic Ability and Antioxidant Activity of Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 11(9), 1-14.
- Wang, Y., Pi, Y., Hu, L., Peng, Z., Hu, H., Zhao, J., Zhou, Y., ve Wang, D. (2023). Proteomic analysis of foot ulcer tissue reveals novel potential therapeutic targets of wound healing in diabetic foot ulcers. *Computers in Biology and Medicine*, 159, 1-8.
- Wilkinson, H. N., ve Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open biology*, 10(9), 1-14.
- Wlaschek, M., Singh, K., Sindrilaru, A., Crisan, D., ve Scharffetter-Kochanek, K. (2019). Iron and iron-dependent reactive oxygen species in the regulation of macrophages and fibroblasts in non-healing chronic wounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 133, 262–275.
- Won, G., Choi, S. I., Park, N., Kim, J. E., Kang, C. H., ve Kim, G. H. (2021). In Vitro Antidiabetic, Antioxidant Activity, and Probiotic Activities of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactocaseibacillus paracasei* Strains. *Current Microbiology*, 78(8), 3181–3191.
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., ve Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69.
- Xu, Z., Han, S., Gu, Z., ve Wu, J. (2020). Advances and Impact of Antioxidant Hydrogel in Chronic Wound Healing. *Advanced Healthcare Materials*, 9(5), 1-11.
- Xu, Z., Liang, B., Tian, J., ve Wu, J. (2024). Chitosan-Based Hydrogels as Antibacterial/Antioxidant/Anti-Inflammation Multifunctional Dressings for Chronic Wound Healing. *Advanced Healthcare Materials*, 1-24.

- Yaşayan, G., Nejati, O., Ceylan, A. F., Karasu, Ç., Ugur, P. K., Bal Öztürk, A., Zarepou, A., Zarrabi, A., ve Mostafavi, E. (2023). Tackling chronic wound healing using nanomaterials: advancements, challenges, and future perspectives. *Applied Materials Today*, 32, 1-20.
- Yılmaz, Z. K., Aslım, B., ve Özdemir, Ö. (2021). In vitro antioxidant properties of 2-(4-(2-hydroxybenzylideneamino) benzylideneamino) benzoic acid. *Icontech International Journal*, 5(3), 7-12.
- Zhao, X., Peng, F., Liu, Z., Peng, Z., Guan, Q., Cai, P., Xiong, S., Yu, Q., Xie, M., ve Xiong, T. (2023). Lactic acid bacteria with anti-hyperuricemia ability: Screening in vitro and evaluating in mice. *Food Bioscience*, 52, 1-7.
- Zolotukhin, P. V., Prazdnova, E. V., ve Chistyakov, V. A. (2018). Methods to Assess the Antioxidative Properties of Probiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(3), 589–599.
- Zou, Y., Ro, K.-S., Jiang, C., Yin, D., Zhao, L., Zhang, D., Du, L., ve Xie, J. (2024). The anti-hyperuricemic and gut microbiota regulatory effects of a novel purine assimilatory strain, *Lactiplantibacillus plantarum* X7022. *European Journal of Nutrition*, 63(3), 697–711.



*Gazili olmak ayrıcalıktır*