

**EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN
ORAL SUBMUKOZAL İMPLANTLA
UYGULANMASININ YARA DOKUSU
OKSİDAN OLAYLARINA ETKİLERİ**

Emine Gülçeri GÜLEÇ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2006
ANKARA**

Emine Gülçeri GÜLEÇ tarafından hazırlanan EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ' NÜN ORAL SUBMUKOZAL İMPLANTLA UYGULANMASININ YARA DOKUSU OKSİDAN OLAYLARINA ETKİLERİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim DalındaYüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Zekiye SULUDERE

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN

Üye : Prof. Dr. Bilge GÖNÜL

Üye : Doç. Dr. Yusuf KALENDER

Üye : Yrd. Doç. Dr. Barbaros BALABANLI

Tarih : 31/ 05/ 2006

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Emine Gülçeri GÜLEÇ

**EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN ORAL SUBMUKOZAL
İMLANTLA UYGULANMASININ YARA DOKUSU OKSİDAN
OLAYLARINA ETKİLERİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Emine Gülçeri GÜLEÇ

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Mayıs 2006**

ÖZET

Oksidatif hasar, yara iyileşmesi gibi rejeneratif süreçleri içeren bir olaydır. Etkili bir yara iyileşmesi; inflamasyon, re-epitelizasyon, proliferasyon, matrix oluşumu, anjiogenez ve yara kontraksiyonu gibi yüksek organizasyonlu olaylar serisini içerir. EGF gibi çeşitli büyüme faktörleri yara iyileşmesi sürecinde önemli rol oynarlar. Ağız yaralarına uygulanan EGF' nin yara dokusu oksidatif olaylarına etkilerinin araştırıldığı çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu sebeple oral mukozada cerrahi kesi yarasına EGF uygulamasının yara dokusu oksidatif olayları üzerine etkilerini araştırmayı planladık.

Deneylerde Yeni Zelanda albino tavşanlar (erkek, n=37, 2,5 ± 0,4 kg) kullanıldı. Submukozal kesi yapıldıktan sonra tavşanlar iki eşit gruba ayrıldılar: 1-Tedavi edilmeyen yaralar 2-EGF implante edilmiş yaralar. Yaralanmadan sonraki 1., 3. ve 5. günlerde tavşanlar kulak veninden aşırı dozda sodyum pentobarbital verilerek feda edildiler. Yara dokuları hemen çıkarılarak, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS), önemli antioksidanlar olan glutatyon (GSH), askorbik asit (AA) ve oksijene bağlı defans mekanizmalarında konakçı savunmasında rol alan enzimlerden olan myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi spektrofotometrik

yöntemle ölçüldü. Sonuçlar Anova varyans Analizi ve Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Sonuç olarak eksojen EGF uygulaması yara iyileşmesinin fazları da dikkate alındığında, kontrollerle kıyas edildiğinde TBARS düzeylerinde bir azalmaya neden olurken; MPO aktivitesini arttırmıştır. Bunlara ilaveten enzimatik olmayan antioksidanlardan GSH ve AA düzeylerinde yara iyileşmesinin tüm fazlarında herhangi bir değişmeye neden olmamıştır.

Bilim Kodu	: 203.1.057
Anahtar Kelimeler	: EGF; yara iyileşmesi, lipit peroksidasyonu, antioksidan,MPO
Sayfa Adedi	: 55
Tez Yöneticisi	: Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN

**THE EFFECTS OF ORAL-SUBMUCOSAL IMPLANTED EPIDERMAL
GROWTH FACTOR ON THE OXIDATIVE EVENTS OF WOUND TISSUE
(M.Sc. Thesis)**

Emine Gülçeri GÜLEÇ

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
May 2006**

ABSTRACT

Oxidative injury has been implicated in a wide variety of regenerative processes such as wound healing. Effective wound healing requires a highly organized period of events that comprise inflammation, re-epithelization, proliferation, matrix deposition, angiogenesis and wound contraction. Various growth factors such as EGF play significant roles during the process of wound healing. There are limited numbers of studies on effects of exogenous EGF implantation on oxidative events of wounded oral mucosa. That's why we planned to investigate the effects of oral-submucosal implanted EGF on the oxidative stress of oral submucosal wound strips.

We used New Zeland albino rabbits (male, n=37, $2,5 \pm 0,4$ kg). After sub-mucosal incisions were made the rabbits were divided into two equal groups: 1- Untreated wounds 2- EGF implanted wounds. The rabbits were killed by excess of sodium penthobarbitale anesthesia on the 1st, 3th and 5th days of postwounding. The wound strips were excised immediately. The levels of thiobarbituric acid substances (TBARS) which is the last production of lipid peroxidation; glutathione (GSH) and ascorbic acid (AA) which are an important antioxidants and myeloperoxidase (MPO) activity which is one of enzymes considered to especially in oxygen-mediated host defence mechanisms,

measured by spectrophotometrically. Results were compared by Anova Variance Analysis and Mann Whitney U test.

As a result, while TBARS levels of oral wound strips were decreased with exogenous EGF treatment compared to control, MPO activities were increased. In addition, GSH and AA levels of oral wound strips were not change during all of oral wound healing phases in both groups.

Science Code : 203.1.057

Key Words : EGF, wound healing, lipid peroxidation, antioxidant, MPO

Page Number: 55

Adviser : Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardım ve katkılarıyla bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen, azmi ve sabrı öğreten değerli hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Şule ÇOŞKUN' a sevgi, saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tecrübelerinden faydalandığım hocam Yrd. Doç. Dr. K. Barbaros BALABANLI' ya, EGF formülasyonlarının hazırlanmasındaki katkılarından dolayı, G. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji AbD. Başkanı Prof. Dr. Füsun ACARTÜRK' e ve laboratuvarında görevli tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca beni her zaman destekleyen aileme sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Yara	5
2.1.2. Yara çeşitleri	5
2.2. Yara İyileşmesi	6
2.2.1. Yara iyileşmesinin fazları	7
2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	12
2.3.1. Lokalfaktörler.....	12
2.3.2. Genel (sistemik) faktörler.....	14
2.4. Büyüme Faktörleri.....	17
2.4.1. Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor,).....	18
2.4.2. EGF etkileşimleri.....	21
2.4.3. EGF ve yara iyileşmesi.....	22
2.5. Serbest Radikaller.....	23
2.5.1. Serbest radikallerin kaynakları.....	25

2.5.2. Serbest radikallerin membran lipidlerine etkisi(Lipid peroksidasyonu).....	25
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	26
2.6.1. Glutasyon (GSH).....	27
2.6.2. Askorbik asit (C vitamini).....	28
2.7. Myeloperoksidaz Enzimi ve Aktivitesi.....	30
2.8. Serbest Oksijen Radikallerinin Yara iyileşmesindeki Rollerini.....	32
3. MATERYAL METOT.....	34
3.1. Deney Protokolü.....	34
3.2. EGF Preparatının Hazırlanması.....	34
3.3. Yara Modelinin Oluşturulması.....	34
3.4. Yöntemler.....	35
3.4.1. Dokuda TBARS tayin yöntemi.....	35
3.4.2. Dokuda GSH tayin yöntemi.....	36
3.4.3. Dokuda AA tayin yöntemi.....	36
3.4.5. Dokuda MPO tayin yöntemi.....	36
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	37
4.BULGULAR.....	38
4.1.Kesi Yarası Yapılmış Tedavisiz Gruplara Ait TBARS, GSH, AA Düzeyleri ve MPO Aktivitesi Sonuçları.....	38
4.2.Kesi Yarası Yapılıp Eksojen EGF Uygulanmış Gruplara Ait TBARS, GSH, AA Düzeyleri ve MPO Aktivitesi Sonuçları.....	39
5.SONUÇ.....	44

	Sayfa
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu TBARS, GSH, A.A. düzeyleri ve MPO aktivitesine etkilerini gösteren tablo.....	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yara iyileşmesinin şematik gösterimi	10
Şekil 2.2. Yara iyileşmesinin fazları.....	12
Şekil 2.3. Prepro EGF	19
Şekil 2.4. EGF' nin yapısı	20
Şekil 2.5. EGF reseptörü	21
Şekil 2.6. EGF+Reseptör kompleksinin etki mekanizması.....	22
Şekil 4.1. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu TBARS düzeylerine etkileri.....	42
Şekil 4.2. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu GSH düzeylerine etkileri.....	42
Şekil 4.3. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu MPO aktivitesine etkileri.....	43
Şekil 4.4. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu AA düzeylerine etkileri.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
g	Gram
ng	Nanogram
nmol	Nanomol
nm	Nanometre
mg	Miligram
μmol	Mikromol
μl	Mikrolitre
Da	Dalton
e⁻	Elektron
O₂	Oksijen
O₂⁻	Süperoksit radikali
OH[•]	Hidroksil radikali
H⁺	Hidrojen iyonu
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
Na₂HPO₄	Disodyum monofosfat
H₂SO₄	Sülfürik asit
HCl	Hidroklorik asit

Kısaltmalar	Açıklama
MDA	Malondialdehit
GSH	Glutasyon
MPO	Myeloperoksidaz

Kısaltmalar**Açıklama****AA**

Askorbik Asit

TBARS

Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri

SOD

Süperoksit Dismutaz

CAT

Katalaz

GSH-Px

Glutasyon peroksidaz

EGF

Epidermal Büyüme Faktörü

PDGF

Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü

VEGF

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

TNF

Tümör Nekroz Faktör

bFGF

Basit Fibroblast Büyüme Faktörü

TCA

Triklorasetik Asit

TBA

Tiyobarbitürik Asit

PCA

Perklorasetik Asit

EDTA

Etilendiamin tetra asetikasit

BHT

Bütilhidroksi Toluen

DTNB

5,5 dithiobis 2-nitrobenzoik asit

1. GİRİŞ

Büyüme faktörleri, hücre bölünmesi ve çoğalmasını uyarabilen ve yara iyileşmesinde de etkileri olan proteinlerdir [1]. Normal yara iyileşmesi ve gecikmiş yara iyileşmesi üzerine büyüme faktörlerinin etkilerini gösteren pek çok çalışma mevcuttur [1-4]. Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF)' de yara iyileşmesini hızlandıran önemli bir büyüme faktörüdür [5]. Sistemik ya da topikal olarak EGF uygulanmasının yara iyileşmesine olumlu katkılarının bulunduğunu gösterir pek çok çalışma mevcuttur [3,6-8]. EGF submandibular bezde ve tükürükte yüksek konsantrasyonda bulunur [9]. EGF bir sinyal molekülü olarak ağız yaralarının iyileşmesini promote ederek oral mukozanın devamlılığını sağlayarak da iş görmektedir [9,10]. EGF, ilk kez erişkin erkek fare submandibular bezinin ekstresinden elde edilmiştir [11]. Birçok dokuda reseptörleri olup, epitelyal ve mezotelyal kökenli hücrelerde mitojenik özelliğe sahiptir [12]. İnsanda tükürükte ve idrar sıvısında bulunur. Bunlara ek olarak insanda mide, pankreas sıvısı, serebrospinal sıvı, seminal sıvı, prostat sıvısı, süt ve kanda da bulunmaktadır [13]. EGF' nin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tükürük bezi ekstrelerinin yara iyileşmesini hızlandırıcı etkilerinin olduğu gösterilmiştir [14].

Normal yara iyileşmesi, epitelyal endotelyal ve inflamatuvar hücrelerin, trombosit ve fibroblastların bir araya gelerek normal aktivasyonlarını belli bir sıra ve düzen içinde yapmalarıyla gerçekleşir. Bu aktiviteler fagositoz, kemotaksis, mitogenez, kollajen sentezi ve diğer matriks komponentlerinin sentezidir [15].

Yara iyileşmesi temel olarak tüm dokularda birbirine benzemekle birlikte, gastrointestinal sistemde ve ağız içini döşeyen oral mukozada cilt yaralarına göre daha hızlı gerçekleşmektedir [16].

Yaralanma ile bozulmuş doku bütünlüğünün yeniden tamiri esnasında oksidatif olaylar gelişmektedir. Yaralanma ve bunu takiben tamiri sürecinde artmış bulunan serbest radikaller oksidatif strese neden olmaktadır [17].

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikali ($OH^\cdot$)' dir. Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Serbest radikaller organizmada lipitler üzerine etkili olarak lipit peroksidasyonuna neden olurlar [18].

Lipit peroksidasyonu, hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girmesi ve oksidatif yıkıma uğramasıyla sonuçlanan bir olaydır [19,20]. Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) meydana gelir [17]. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) oksidatif stresin yaygın indikatörü olarak kullanılmaktadır. Yara iyileşmesi gibi dejeneratif süreçler, oksidatif stresin oluşmasına neden olan olaylardır [17]. Yaralanmış dokularda ya da yara yapılmış hayvanların çeşitli dokularında TBARS seviyelerinin artmış bulunduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur [21,22]. Ancak ağız içerisinde submukozal olarak yapılmış yara modelleri çok azdır.

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için organizmada birçok enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Önemli antioksidanlardan biri olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır [18].

Enzimatik olmayan antioksidanlardan olan Askorbik asit (C vitamini, AA), organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kuvvetli indirgen aktivitesinden dolayı, güçlü bir antioksidandır [18]. Askorbik asit antioksidan etkilerini, redükte glutatyon veya E vitamini ile etkileşerek

ya da tek başına gerçekleştirir [23,24]. Süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\bullet$), singlet oksijen ve nötrofillerde H_2O_2 ve Cl^- dan MPO aktivitesi sonucu meydana gelen hipokloroz asit ($HOCl$) gibi reaktif oksijen türevlerinin doğal süpürücüsüdür [25,26]. Eksojen olarak uygulanan AA' in deneysel olarak gastrik ülser yapılmış insan ve hayvan modellerinde koruyucu etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [27,28]. Askorbik asit düzeyinin düşük olması, tüm kronik inflamatuvar hastalıklarda ve lipit peroksidasyonunun artmış olduğu durumlarda önemli rol oynar [29,30].

EGF' nin yara iyileşmesine olumlu katkılarının yanında, oksidatif stres üzerine etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar [8,31-33] bulunmakla beraber, ağız içerisinde yapılmış çok az çalışma bulunmaktadır. EGF' nin stres ülseri oluşturulmuş ratlarda mide dokusunda lipit peroksidasyonunu azalttığı [31], yanık yarası yapılan ratlarda yara dokusu, karaciğer ve ince bağırsak TBARS düzeylerini düşürdüğü [32], karaciğer rezeksiyonu yapılan ratlarda rejenere hepatositlerde GSH üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir [33].

Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazında rol alan nötrofillerin fagositoz sırasında büyük miktarda oksijen kullanmaları nedeniyle ortaya çıkan serbest radikaller, oksidatif hasarın artışına neden olabilmektedir [34]. Nötrofillerin solunum patlaması (respiratory burst) sırasında oluşan süperoksit moleküllerinden, spontan dismutan reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur [35]. Nötrofil lökositlerin primer granüllerinden degranülasyon ile fagozom içine bırakılan MPO enzimi, hidrojen peroksit ve klor (Cl^-) kullanarak hipokloröz asit ($HOCl$) oluşturur [36]. $HOCl$, lökositlerde üretilen ve mikrobisid etkiye sahip en önemli oksidandır [37]. Deneysel olarak yanık yarası yapılan ve EGF uygulanan ratların, yara dokusu, karaciğer ve ince bağırsak MPO enzim düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur [32]. Ligatürle periodontitis yapılan ratlarda dişeti dokusunda MPO enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir [38]. Bu çalışmada da, yara iyileşmesinin tüm fazlarında EGF terapisi ile MPO aktivitesinde değişimlerin olup olmadığı, ağız içerisinde yara modeli oluşturularak belirlenmeye çalışılmıştır.

Tüm bu bilgilerin ışığında, yaraya implante edilen eksojen EGF⁷ nin oksidan olaylara ne gibi etkilerde bulunduğunu göstermek amacıyla yara iyileşmesinin fazlarında lipit peroksidasyonunun son ürünü olan tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) düzeyi, myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ve organizma için önemli antioksidanlar olan ve birlikte etkileşim gösteren glutatyon (GSH) ve askorbik asit (AA) düzeylerini araştırmayı planladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Yara

Yumuşak dokuları oluşturan öğelerin kesici, yaralayıcı veya bunlara benzer araç ve gereçlerle birbirinden ayrılmasına yara denir. Başka bir ifadeyle yara, cilt ve /veya mukozayı oluşturan yapıların farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması ya da kaybı ile varolan fizyolojik özelliklerinin geçici veya tamamen kaybolmasıdır [39,40].

Yara teriminin karşılığı olarak erezyon, ülser ve fissür deyimleri de kullanılır. Erezyon, dermise geçmeyen fekal epidermis kayıplarını belirleyen bir deyimdir. İz bırakmaz, kronik değildir. Fissür, çatlak şeklinde dikey yaraları belirleyen doku kayıplarıdır. Ülser, dermis ve epidermiste doku kayıpları ile seyreden fekal yaralardır [41].

2.1.2.Yara çeşitleri

Kesik yaraları: Bıçak, jilet gibi kesici aletlerin neden olduğu yaralardır. Kesikliğin derinliğine bağlı olarak damarların tahribatı ile kanamalara sinir, kas ve tendonların kesilmesi ile felç hali, his ve hareket bozuklukları görülür. Yara bölgesinde enfeksiyon, fibrozis ve sekonder deformiteyi önlemek için en kısa sürede yaranın kapatılması amaçtır.

Delici yaralar (sivri cisim yaraları): Şiş, çivi gibi delici cisimlerle meydana gelen derin doku ve organlarda tahribat yapabilen bir yara şeklidir. Enfeksiyon gelişimi delici yaralarda daha çabuk ve sık gelişir. Bu yüzden ilk olarak yaranın altında oluşan hasarı ve yabancı cisim varlığını değerlendirmek için explore yapılır.

Yırtık ve parçalı yaralar: Teneke parçası, dikenli tel, vb. cisimlerin etkisi sonucu oluşan yaralardır.

Ezik yaraları: Ağır, künt ve ezici cisimlerle meydana gelen yaralanma şeklidir. Yara kenarları düzensiz olup parçalıdır. Bu tür yaralarda enfeksiyon gelişme riski çok fazla olmaktadır. Bunun için önlemler derhal alınmalıdır.

Ateşli silah yaralanmaları: Tabanca, tüfek gibi ateşli silahlarla meydana gelen yaralanma şeklidir.

Yanıklar: Deride yüksek ısı travmasına bağlı olarak gelişen dermatitlerdir. Yüksek ısı, gaz patlamaları vb. bu tür yaralanmalardan sayabiliriz. Yanıklar deride hücre proteinlerinin denatürasyonuna ve koagülasyonuna, damarların parçalanma veya trombozuna yol açar.

Soğuk yaralar: Derinin veya vücudun 0 derecenin altında soğuması ile oluşan donuklar bu yaralanma çeşidini oluşturur.

2.2.Yara İyileşmesi

Yaralanma olayı bir şekilde lokal ve sistemik immün cevapları aktive etmektedir. Yara iyileşmesi, büyüme ve rejenerasyon fenomenleri ile ilişkili kompleks ve dinamik bir olaydır. Normal yara iyileşmesi, epitelyal endotelyal ve inflamatuvar hücrelerin, trombosit ve fibroblastların bir araya gelerek normal aktivasyonlarını belli bir sıra ve düzen içinde yapmalarıyla gerçekleşir. Bu aktiviteler fagositoz, kemotaksis, mitogenez, kollajen sentezi ve diğer matriks komponentlerinin sentezidir [15].

Yaralanmayı hemen takiben trombositler hasarlanan dokuya yapışıp pıhtılaşma faktörlerini ve granüller içindeki büyüme faktörlerini salgırlar. Fibrin olgunlaştıkça yaralanan bölge kurumuş pıhtı ile hem daha fazla sıvı ve elektrolit kaybını hem de çevreden gelebilecek kontaminasyonu önler. Trombositler tarafından salınan büyüme faktörleri iyileşme olayını başlatır [28-30].

Kısa bir süre içinde polimorf nükleuslu lökositler çevredeki kan damarlarının endoteline yapışmaya (marjinasyon) ve damar duvarı içinden geçmeye (diapedez) başlarlar. Polimorf nükleuslu lökositlerin ana görevi yaralanan bölgeden bakteri ve yabancı cisimleri uzaklaştırıp enfeksiyon gelişimini engellemektir. Bu sırada epitelyal hücreler pıhtının altına doğru hareket eder ve çoğalarak epitel yüzeyini yeniden oluşturmaya başlarlar [41-43].

Bir sonraki aşama makrofajlar ile karakterizedir. Makrofajlar sadece bakteri ve konağın dejenere hücrelerinin ortamdaki uzaklaştırılmasından sorumlu olmayıp ayrıca zengin bir büyüme faktörü kaynağıdır. Makrofajlar yara iyileşmesi olayında hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve matriks komponentlerinin düzenli bir şekilde davranmalarını sağlar [41-43].

Epitelyal köprüler tamamlanınca, epitel hücrelerden enzimler salgınır, epitel hücreler çoğalmaya devam edip epitel katmanı oluşturur. Doku tamirinin son aşaması örneklemedir (Remodeling); yaralanma öncesi doku bütünlüğü sağlanıncaya dek yıllar boyunca sürebilir [41-43].

2.2.1. Yara iyileşmesinin fazları

Yara iyileşmesi birbiriyle bağlantılı dört farklı faza ayrılır.

- a- İnflamasyon
- b- Angiogenezis (Yeniden damarlanma)
- c- Proliferasyon
- d- Olgunlaşma ve Yeniden Şekillenme (Remodeling)

Bu safhalardan birindeki gecikme veya olumsuzluk, yaranın kapanmaması veya iyileşmenin uzaması ile sonuçlanır [44].

İnflamasyon

İnflamasyon normal bir dokunun travmaya karşı verdiği akut cevaptır. İlk olarak yaralanan damarlardan kanama ile hemostatik süreç başlar ve pıhtı ile kanama durdurulur. Travmada yaralanan damarlardan çıkan trombositlerin endotel altı kollajen ile teması sonucu trombositlerin kümeleşmesi başlar ve pıhtılaşma mekanizması harekete geçer. Trombositlerin kollajenle teması ve önceden ortamda bulunan trombin ve fibrinonektin, trombosit alfa granüllerinden sitokin ve büyüme faktörleri salgılanmasına neden olur [41,42].

Trombositlerden salgılanan faktörler; Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF), Transforme Edici Büyüme Faktörü β (TGF- β), Platelet Aktive Edici Faktör (PAF), fibronektin ve serotoninidir. Sitokinler ise İnterlökin-1 (IL-1) ve Tümör Nekroz Faktör α (TNF- α)'dır. Yaralanmadan sonra başlayan geçici vazokonstriksiyon 5-10 dakika sürer. Pıhtı oluşumu ile kanama durdurulduktan sonra, endotel hücrelerinden salgılanan histamin, Prostaglandin E2 (PGE2), prostasiklin, endotelyal büyüme faktörü ile hücre geçirgenliği artar ve vazodilatasyon gelişir [42].

İnflamasyon fazında yaralanma bölgesine ilk gelen hücreler nötrofillerdir. İnflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği, kompleman faktörler, IL-1, TNF- α , TNF- β gibi kemotaktik maddeler nötrofil kemotaksisini uyarır. Travmayı takiben 6 saat sonra yarada görülürler, ilk üç gün boyunca hakim olan hücrelerdir. Nötrofiller nonspesifik savunma sisteminin elemanı olarak, yara yüzeyindeki ana görevi yabancı cisim ve bakterilerin fagositozu ve proteaz salgınımıyla da travmadan zarar gören hücre kalıntılarının yara bölgesinden temizlenmesidir. Nötrofiller görevlerini yaptıktan sonra makrofajlar tarafından fagosit edilirler. Maksimum sayıya 1-2. günlerde ulaşırlar ve yara temizlendikten sonra 2-3. günlerde sayıları azalır [41-43].

Makrofajlar sistemik dolaşımdaki monositlerden veya mevcut dokudaki mononükleer hücrelerden kaynaklanan, fagositoz yapan hücrelerdir. Yaralanmanın 2-3. gününde yara yüzeyinde makrofaj hakimiyeti başlar. Makrofajlar sadece fagositoz

yapmakla kalmaz aynı zamanda çeşitli sitokin, büyüme faktörleri ve nitrik oksit sentezlerini gerçekleştirirler. Aktive olan makrofajlar lenfositleri aktive eder, lenfositler de Interferon (IFN), TNF- α , İnterlökin-1 (IL-1) gibi lenfokinleri salgılar. İnflamatuvar faz boyunca yara, gerilme kuvvetine dayanıklı değildir [41,42].

Makrofajların yara iyileşmesindeki rolü ve etki mekanizması:

<i>Etki</i>	<i>Mekanizma</i>
1- Fagositoz ve antimikrobiyal etki	Oksijen radikalleri Nitrik oksit
2- Yara debridmanı	Fagositoz, Enzimler Kollajenaz, Elastaz
3- Matris sentezi	Büyüme faktörleri, Sitokinler Enzimler, Kollajenaz, Arjinaz Prostaglandinler
4- Hücre aktivasyonu	Büyüme faktörleri Sitokinler, Fibronektin
5- Angiogenez	Büyüme faktörleri Sitokinler

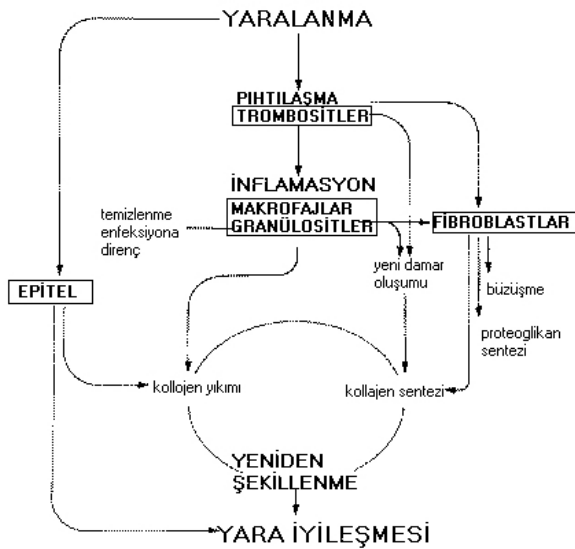
Anjiogenezis (Yeniden damarlanma)

Anjiogenez yeni damar oluşumudur. Bu fazda baskın hücreler endotel hücreleridir. Trombositlerden salınan Platelet Derived Growth Factor (PDGF), makrofajlardan salınan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ve TNF- α anjiogenik maddeler olup, çevre dokulardaki endotel hücrelerini uyarırlar [40,43].

Yara dokusunun çevresindeki mevcut venüllerin anjiogenik uyarıya maruz kalmasıyla, bu damarlardaki endotelial hücreler vasküler bazal membranı parçalayıcı

enzimler sekrete eder. Bu olaydan 24 saat sonra endotel hücreleri anjiogenik uyarı doğrultusunda göç ederler. Bunlar bölünüp farklılaşarak tübüler bir lümen oluşturur ve böylece vasküler ağın dalları meydana gelir. Yeni meydana gelen bu damarların bir bölümü sonradan geriler ve kaybolur [43].

Yara bölgesi normal koşullarda hipoksik olup, düşük oksijen basıncı da anjiogenezis için bir uyarıdır. Neovaskülarizasyon ilerledikçe yara bölgesi hipoksisi ortadan kalkar, bu da anjiogenik uyarıyı azaltır ve ortadan kaldırır [43].



Şekil 2.1. Yara iyileşmesinin şematik gösterimi

Proliferasyon

Bu fazda; fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleri etkindir. Yara gerilme gücünde belirgin bir artış meydana gelir. Fibroblastlar yara dokusuna çevre dokulardan gelir, endotelial hücreler ise yara kenarındaki sağlam venüllerden veya anjiogenezis sonucu oluşan yeni kapillerlerden ortaya çıkar. Fibroblast ve endotelial hücrelerin proliferasyonundan, trombosit ve aktive makrofajlardan kaynaklanan sitokinler ve büyüme faktörleri sorumludur [41,42].

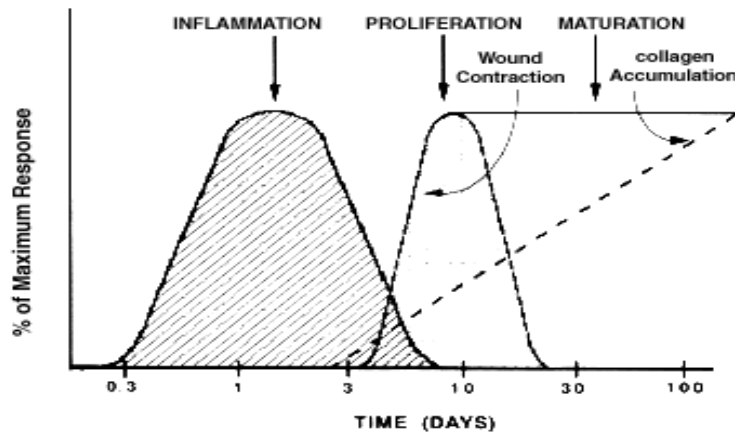
PDGF ve EGF fibroblastların proliferasyonundan sorumlu başlıca büyüme faktörleridir. Doku kaybı olan yaralarda sıvı kaybını engellemede ve enfeksiyon oluşumuna karşı koymada epitelial hücre artışı önemlidir. Yaralanmadan birkaç gün sonra yara kenarındaki veya sağlam bölgedeki epitel, yara içine doğru proliferer olur. Yeni kapillerlerin oluşumu ile yara bölgesi pembe veya kırmızı-mor renkte görülür. Kapiller vaskülarizasyon, fibroblastların yara matrisinde kalıcı destek doku oluşturmaya yardımcı olur. Kalıcı yara matrisindeki temel yapı molekülü kollajendir. Kollajen cilt, kemik ve tüm canlı dokuların başlıca yapı proteini. Kollajen molekülü hidroksiprolin ve hidroksilizin hidrosilasyonundan meydana gelir. Bu amino asitlerin hidrosilasyonu ve kollajen arası bağların sağlamlaştırılması için C vitamini gereklidir. Kollajen fibrilleri arasındaki moleküller içi ve arası bağlar, yaranın gerilim kuvvetine ve sağlamlığına etki eder. Vücutta sentez edildiği bilinen 19 tip kollajen olmasına karşın yarada en yüksek oranda Tip-1 kollajen bulunur. Skar dokusunda da en çok Tip-1, daha az oranda Tip-4 kollajen bulunur [43].

Olgunlaşma ve Remodeling (Yeniden Şekillenme)

Proliferasyon ve neovaskülarizasyonun sona ermesiyle yeniden şekillenme fazı başlar. Yara iyileşmesinde inflamatuvar ve proliferatif fazların içiçe oluşup geliştiği gibi yeniden şekillenme ve proliferasyon fazında da birçok olay içiçe oluşur. Proliferatif fazdan yeniden şekillenme fazına geçiş kollajenin dengeye ulaştığı süreç olarak tanımlanır. Fibroblast ve makrofajlar kaybolur. Kollajen birikimi yaralanmadan 2-3 hafta sonra en yüksek değere ulaşır. Yeniden şekillenme döneminde kollajen sentezi ve yıkımı devam eder, ama kollajen miktarı değişmez. Kollajen senteziyle birlikte kollajen yıkımı yara matriksinin maturasyonu süresince devam eder. Kapillerlerin yoğunluğu ve fibroblastların sayısı azalır. Pembe-mor görünümlü yaranın rengi soluklaşır. Gerilme kuvveti kollajen fibrillerinin yerini daha fazla moleküller arası bantlar içeren organize fibrillerin alması ile yavaş yavaş artar. Gerilme kuvveti ile kollajen fibrillerinin kalınlığı arasında doğru orantı vardır fakat epiderm hiçbir zaman eski şeklini alamaz. Skar dokusu gerilme kuvveti

yaralanmadan bir haftadan sonra yaralanmamış cildin % 3' üne, üç haftadan sonra % 20' sine, üç ay sonra ise % 80' ine ulaşır ve daha fazla artmaz [41,43].

Yara iyileşmesinde bütün bu safhaların sonucunda yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik olan yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur [42].



Şekil 2.2.Yara iyileşmesinin fazları [45]

2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

2.3.1. Lokal faktörler

a) İskemi: Genel hipotansiyon, periferik vasküler hastalıklar, damarların bağlanması, yaşlanma sonucu lokal vaskülarite azlığı, yara dudaklarındaki ölü dokuların varlığı, çok sıkı suture konması gibi nedenlerle dokunun iyileşmesi için gerekli besleyici elemanların yetersiz girişi; lökosit ve fibroblast akımının azalması, oksijen azlığı gibi sonuçlar doğurarak yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler [41].

b) Gerilim: Yara dudaklarının bir araya getirilmesi için aşırı kuvvet sarfediliyorsa yara geriliminden bahsedilir. Bu mekanik gerilme ile doku iskemiye zorlanacak ve

sıkı s t rlerden dolayı doku dış kısımlardan yırtılacak ve derin bölgelerde  l  doku alanları artacaktır [41].

c)  l  Boşluklar: Yara bölgesinde derin kavitelerin varlığı, kan ve seröz materyalin birikimine neden olur. Bu durum bakteriler enfeksiyona yatkınlık açısından uygun bir vasat sağlar [41].

d) Yabancı cisimler ve Kontaminasyon: Özellikle iskemik yaralarda ve hematoma veya sıvı birikimi olan yaralarda enfeksiyon sıklıkla görülür. İmmün yanıtı sağlam olan bireylerde hafif kontaminasyonlar sorun yaratmaz ve yara iyileşmesi etkilenmez. Dışardan yabancı materyalin varlığı (protez, sütur,  l  dokular) enfeksiyon riskini arttırır. Enfekte yaraların iyileşme süreci uzundur [41]

e) Hematom: Yetersiz hemostaz, damarlardaki spazmın üzülmesi nedeniyle oluşan kanamalar, hastanın antikoagülan ilaç kullanması hemorajinin temel sebepleridir. Yara bölgesinde bulunan hematoma iyileşmeyi geciktirir [43].

f) Lokal travma: Dokudaki hasar, onun ezilerek parsiyel veya total olarak iskemik kalmasına yol açar. Lokal travma inflamatuvar yanıtı ve benzer yolla sepsisi arttırır, kollajenolizisi arttırır [43].

g) Kronik doku faktörleri: Kronik lenfödem (venöz yetmezlik), kronik iske mi, venöz hipertansiyon ve önceden skar olması gibi olayların tümü buna katkıda bulunur [41,43].

h) Sütürler: Sıkı atılan aşırı sütürler, iske miye ve yara kenarlarında nekroza sebep olurlar. İpek gibi bazı sütur materyalleri inflamatuvar yanıtı maksimum arttırır ayrıca yara enfeksiyonu oranını ve kollajenolizisi arttırır. Tercih edilen s turde keskin kısım dışat olmalı, düğümler nazıkçe ve sağlam atılmalı, yara gerginliği minimal tutulmalıdır [43].

i) Radyasyon: Tedavi edici radyasyon yara iyileşmesinde çeşitli basamakları değiştirerek etkisini gösterir. Derideki geç radyasyon etkilerinin yara iyileşmesi

üzerinde belirgin engelleyici etkisi bilinmektedir. Ancak latent devrenin uzunluğu nedeniyle hayvan modeli oluşturmada karşılaşılan güçlükler, araştırmacıların çoğunlukla radyasyonun yara iyileşmesine erken etkileri üzerine yoğunlaşmalarına sebep olmuştur [46].

j) Doku tipi: Deri, barsak, mesane gibi organların rejenerasyon yeteneği sinirlere oranla daha yüksektir. Bu dokularda yara iyileşmesi, sinir dokusuna göre daha hızlıdır [43].

k) Çevre ısısı: Lokal olarak arttırılan ısı, vazodilatasyona yol açarak iyileşmeyi hızlandıracağı belirtilmektedir [41].

2.3.2. Genel (Sistemik) faktörler

Sistemik faktörlerin immün fonksiyonlar ve kollajen sentezi üzerinde endojen etkileri olduğu gibi lokal faktörler üzerinde de etkileri vardır, yara iyileşmesini geciktirirler.

a) Büyüme faktörleri: Büyüme faktörleri, hücre bölünme ve çoğalmasını uyarabilen ve organizmada önemli işlevleri bulunan çeşitli proteinlerin sentezine yol açabilen polipeptidlerdir. Normalde sessiz olan hücrelerde mitozisi başlatma yetenekleri vardır. Bu maddeler genel olarak, trombositler, makrofajlar, epitel hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından yapıp, salgılanmaktadır. Hedef organlarda etkilerini özel reseptörleri aracılığı ile başlatmaktadırlar. Son yıllarda büyüme faktörleri, yara iyileşmesini hızlandırıcı etkilerinden yararlanabilmek için yoğun olarak araştırılmaktadır [1].

b) Tıbbi durumlar: Diabetes mellitus, kronik. vasküler hastalıklar, renal yetmezlik, KC yetmezliği, solunum yetmezliği, immün yetmezlikler, obezite, heredite, alkolizm, hemorajik diatez (Hematoma oluşma ve yara enfeksiyonu oranı artar). Diabette yara iyileşmesi kötü olup enfeksiyon oranı da yüksektir. Bunlarda ayrıca periferik vasküler yetmezlik de vardır [43].

c) Anemi/Kan kaybı: Çeşitli sebeplere bağlı olarak kanda eritrosit sayısının azalması, hemoglobin ve hematokrit değerlerinin normalin altına düşmesiyle belirginlik gösteren bir hastalıktır. Yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler. Kanamaya bağlı hipovolemilerde, hipovoleminin plazma ile düzeltildiği örneklerde HCT değerleri %50'den fazla bile düşse TS(yara gerilim kuvveti)sabit kalmaktadır [43].

d) Beslenme: Beslenme eksikliği içerisinde bulunan hastalarda yara iyileşmesi tam olmaz, gecikir ve bu kimselerin enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmaları yeterli olmadığından yara enfeksiyonu gelişmesi riski yüksektir. Deney hayvanlarında normal beslenmenin %60 oranında kısıtlandığı durumlarda bir hafta içinde kollajen çapraz bağlarında bozulma, 4 ay içinde de kollajen sentezinde azalma tespit edilmiştir [47].

Protein eksikliği (malnutrisyon veya kwashiorkor), yara iyileşmesinin gecikmesinde önemli bir rol oynar. Üstelik yara iyileşmesinin tüm boyutları bu durumda aksar. Normal protein sentezi ve hücre proliferasyonu uygun amino asitler olmayınca sağlanamaz. Nitekim proteinsiz bırakılan deney hayvanlarında fibroplazi, matrix formasyonu, anjiogenez ve yara örnekleme defekt gösterir. Protein eksikliğinde konakçının hücresel ve humoral bağışıklık sistemleri de bozulur. Ayrıca hipoalbuminemiye bağlı olarak gelişen ödem, normal yara çevresinde de blokajlar yaratır [48].

Karbonhidrat ve yağ metabolizmasındaki anormallikler ise, yara iyileşmesini direk veya indirek mekanizmalarla bozar. Endojen olarak sentezlenmeyen, bazı doymamış yağ asitleri, yeni hücre membranının oluşumunda ve prostaglandinlerin sentezindeki temel yapı taşlarıdır [48].

Karbonhidrat ve yağ gereksinimleri yeterli olmadığı durumlarda enerji kaynağı olarak aminoasitler oksitlenir. Ve zamanla, aminoasitlerin tüketimi sekonder protein eksikliğine neden olur. Genelde tek başına protein eksikliği (malnutrisyonu) nadir görülür. Hastaların çoğunluğu kombine enerji ve protein malnutrisyonu olarak karşımıza çıkar [48].

Vitamin, iz elementler ve mineral eksiklikleri de yara iyileşmesinin spesifik boyutlarını bozabilir. Keratinizasyon ve fibroblast maturasyonuna olan etkilerinden dolayı, A-vitamini epitelizasyonu, kollajen sentezini ve stabilitesini uyarır. Ayrıca makrofajların çoğalma ve aktivasyonunu da sağlar. A vitamini eksikliğinde yara epitelizasyonu ve kontraktürü gecikir. Enfeksiyon riski artar. Vitamin takviyesinin kortikosteroidler, siklofosamid, radyasyon tedavisi, diabetes ve tümör gibi uygulamalara bağlı istenmeyen etkileri baskıladığı bildirilmektedir. Vit-A 25.000 IU/gün dozlarında, kanserli hastalarda da 100.000 IU/ gün kullanımı tavsiye edilmektedir [48].

Vitamin-C (askorbik asit) demir ve oksijenle beraber kollajen sentezi sırasında, lizin ve prolinin hidrolizasyonu için gereklidir. C-vitamini eksikliğinde kollajen demetler anstabil, ve kolay degrade olduklarından derinin gerginliği ve kapiller frajilite azalır. A vitamini gibi, C vitamini de inflamatuvar cevabı uyarır ve eksikliğinde konakçının enfeksiyonlara direnci düşer. Vitamin eksikliği olmayan hastalarda bu vitaminin ek olarak verilmesi yara iyileşmesinde hızlanmaya neden olmaz. Ancak özellikle ağır yanık yaralarında günde 1-2 g. C vitamini verilmesi yaygın bir pratik uygulamadır [48].

K vitamini pıhtılaşma faktörlerinin üretiminde önemli bir unsur olduğundan, eksikliğinde yetersiz hemostazdan dolayı hematoma oluşumu kaçınılmazdır. Diğer vitaminlerin yara iyileşmesindeki rolleri belirgin değildir. B-kompleks vitaminleri farklı metabolik yollarda kofaktör olarak görev yaparlar. Ve hayvan çalışmalarında protein ve kollajen sentezini azaltabilirler [47].

E vitamini takviyesinin etkileri ise çelişkilidir. Ancak eksikliği yara iyileşmesinde aktif bir rol oynamaz [47].

İz elementler ve mineraller iyileşmede etkili enzimler için kofaktörlerdir. Çinko metalloenzimler, serbest oksijen radikallerini parçalayan superoksit dismutaz, ve protein sentezi ile hücre bölünmesini sağlayan DNA ve RNA polimerazları içerirler. Çinko ayrıca hücre membranını stabilize eder ve retinol taşıyan proteinlerle A-

vitaminin transportunu kolaylaştırır. Diğer elementlerden bakır, kollajenin çapraz bağlanmasını sağlayan lizil oksidaz içinde bulunur. Demir ise, eritrositlerin oksijen taşımalarında gereklidir [49].

Vitamin ve minerallerin aşırı yüklenmesi de bazen yara iyileşmesini geciktirebilir. Nitekim aşırı çinko kemotaksis ve fagositozu bozar ve kollajen sentezi tam sağlanamaz [49].

Şüphesiz yara iyileşmesinin gecikmesinde beslenme sorunları da akla gelmelidir. Tam iyileşme için uygun bir beslenme zorunludur [49].

d)Yaş: Klinik olarak yaşlılarda yara iyileşmesi daha ağır gelişmektedir. Bu yüzden yaşlı bireylerde genç bireylere oranla yara iyileşmesi iyi olmaz. Bunun nedeni, kanlanmanın iyi olmaması, ek hastalıklar, beslenme bozukluğu olabilir. Ayrıca hormonal düzensizlikler, enfeksiyonlara karşı duyarlılık, fibroplazinin azalması gibi faktörlerin de etkisi görülmektedir [41,42].

e) Anestezi şekli: Epidural anestezi alan hastalarda kanlanmanın bozulmadığı, hastanın aktif hareketlere daha erken dönebildiği ve böylece tromboembolik komplikasyonların daha az ve yara iyileşmesinin daha hızlı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca hastanın mental ve fiziksel sağlığı da yara iyileşmesinde çok önemli olan bir faktördür [41,42].

2.4. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, ağırlıkları 4000-60.000 Da arasında değişen, çok az miktarları bile hücrel aktiviteyi etkileyebilen proteinlerdir [50].

Bir dizi çalışmanın sonucunda büyüme faktörlerinin ve bunların reseptörlerinin yara iyileşmesi sürecinin anahtar düzenleyicileri olduğu gösterilmiştir [2]. Büyüme faktörleri, hücrel fonksiyonları endokrin, parakrin veya otokrin mekanizmalarla sağlarlar. Endokrin yolla etkileyen faktörler hücreye kan yoluyla giderler ve uzaktaki

hücreleri de etkilerler. Parakrin yolla etki eden faktörler salgılandıkları bölgede etkilidirler. Otokrin faktörler; tarafından salgılandıkları hücrenin fonksiyonlarını etkilerler [50,51].

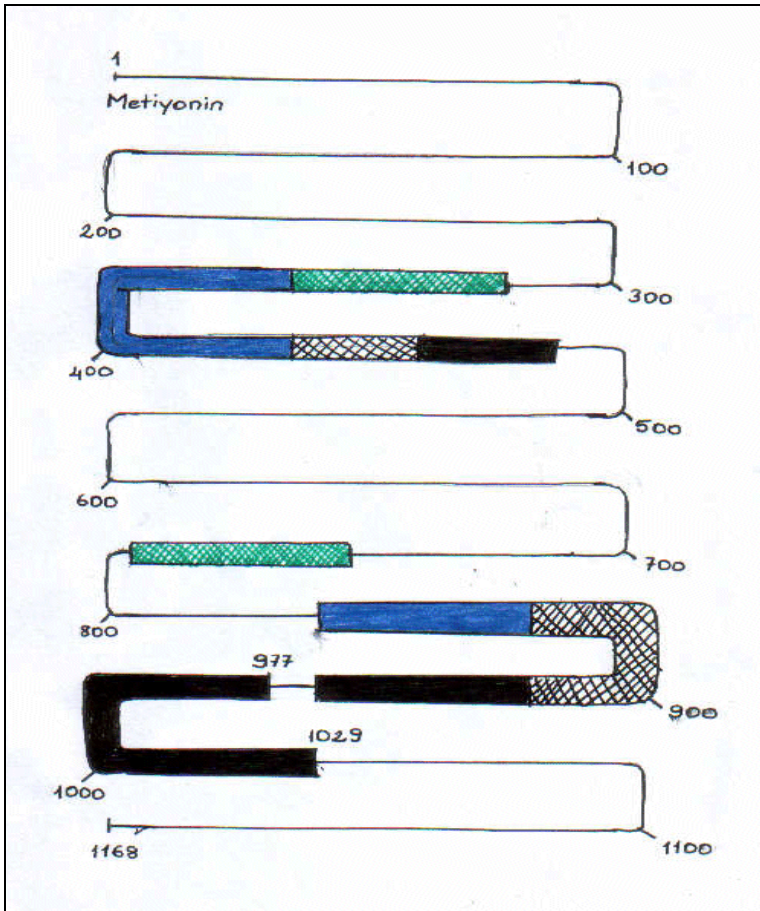
Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin o faktör için reseptöre sahip olup olmamasına bağlıdır. Reseptöre bağlanma sonucunda hücre içinde özgün bir cevaba sebep olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki çoğunlukla, tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörleri bulunur [50, 52]. Büyüme faktörleri, kemotaktik ve hücrel proliferasyonu uyararak, aynı ve farklı tipteki hücreler arasındaki sinyalizasyonu sağlamasıyla, ekstraselüler matriks oluşumu ve angiogenezi kontrol etmesiyle, konsantrasyon sürecini düzenlemesiyle ve doku bütünlüğünü yeniden kurmasıyla iyileşme sürecinde temel bir rol oynarlar. Epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi peptit büyüme faktörleri; fibroblast ve keratinositlerin mitogenezini, keratinositlerin göçmesini, granülasyon ve doku gelişimini uyarırlar [5].

2.4.1. Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor)

EGF amino asit dizisinde lizin, fenilalanin ve alanin bulundurmayan ve 53 amino asitten oluşmuş tek zincirli bir polipeptittir. 6000 Da molekül ağırlığına sahiptir [11]. İlk kez erişkin erkek fare submandibular bezinin ekstresinden elde edilmiştir. Yeni doğan fareye enjekte edildiğinde epiderminin erken keratinizasyonuna sebep olduğu için "Epidermal Growth Factor" adı verilmiştir [11,53]. Molekülün bir ucu NH₂ grubu, diğer ucu ise COOH grubu ile sonlanmaktadır. Polipeptit altı sistein köküne sahiptir ve üç tane disülfid bağı içerir. Bu disülfid bağları molekülün biyolojik aktivitesi için çok gereklidir. EGF'nin prekürsör molekülü ise 1217 amino asit içerir ve prepro EGF olarak adlandırılır (Şekil 2.3) [54].

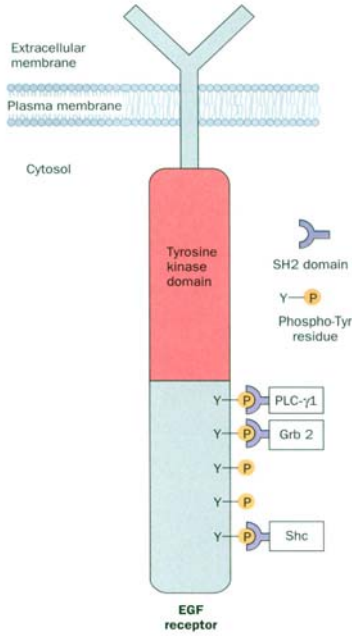
Birçok dokuda reseptörleri olup, epitelyal ve mezotelyal kökenli hücrelerde mitojenik özelliğe sahiptir [12]. İnsanda tükürükte ve idrar sıvısında bulunur. Ayrıca bunlara ek olarak insanda mide, pankreas sıvısı, serebrospinal sıvı, seminal sıvı, prostat sıvısı, süt ve kanda bulunmaktadır [13]. Ayrıca pek çok dokuda da varlığı

gösterilmiştir. Duedonum Brunner bezleri, tiroid, pankreas, adrenal bez, ovaryum, parotis bezi, karaciğer, özofagus, mide, ince bağırsak, kolon, kalp, böbrek, prostat, iskelet kası, düz kas, akciğerler, timus bezi bunlar arasında sayılabilir [55]. Midede asit salgılanmasını önleyici etkidedir. Karaciğer dişi farelerde erkek farelere göre daha az miktarlarda EGF içermektedir. %70 hepatektomiden sonra EGF' nin DNA yapımını uyarıcı etkisi 24 saatte artmaktadır. Serumda da EGF konsantrasyonu 10 haftalık erkeklerde, dişilere oranla çok yüksektir [56].



Şekil 2.3. Prepro EGF [57]

Bunlar karaciğerin serum EGF' si için önemli bir merkez olduğunu düşündürmektedir [56]. İnsanda EGF' nin asıl kaynağı submandibular bez olmayıp parotis bezidir [58].



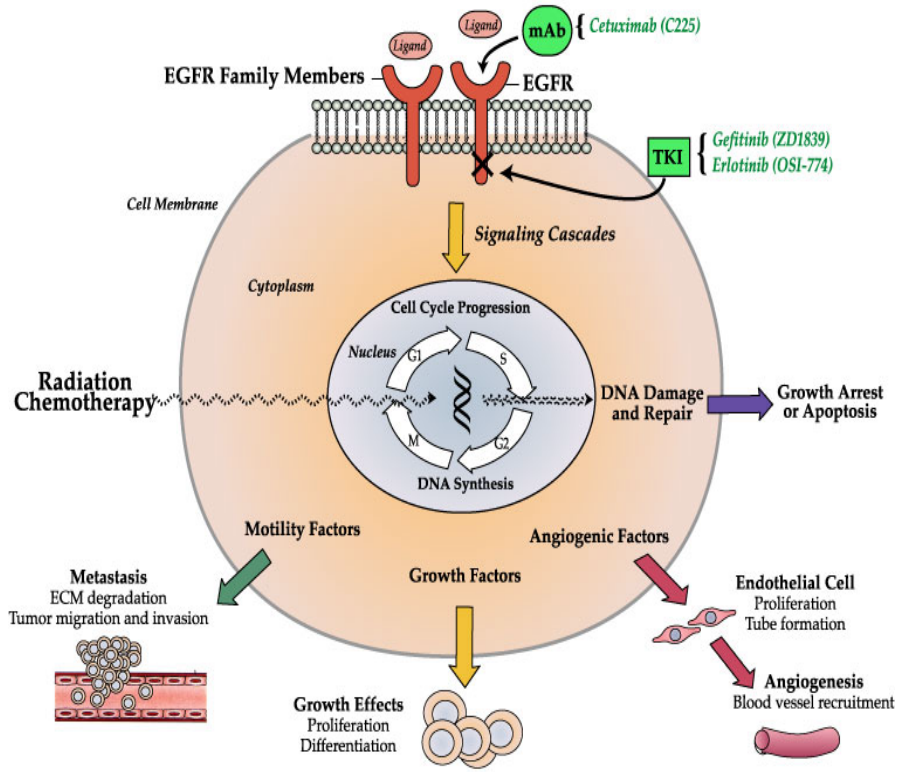
Şekil 2.5. EGF reseptörü

2.4.2. EGF etkileşimleri

EGF pek çok mezodermal ve ektodermal kökenli hücre için mitojenik özelliğindedir. Hücrelerde iyon alınımlı, glikolizis, RNA ve protein sentezi, DNA sentezi artışına sebep olur [64]. EGF' nin içinde bol miktarda bulunduğu submandibular bez ekstreleri yara iyileşmesini hızlandırıcı etki göstermekte [14], serum çinko düzeyini arttırmaktadır [65].

İnsanda tükürük ve serum EGF konsantrasyonları tiroid hormonuna bağlı değildir. İnsan serum EGF' si hipertiroidizmde değişmezken, farede azalma göstermektedir. İnsanda idrar ile atılan EGF tiroid hormonuna bağlıdır. Hipertiroidide artar, hipotiroidide azalır [66]. Epidermin proliferasyonunu ve keratinizasyonunu artırıcı etkidedir. Bu etki tiroid hormonu etkisi ile artar. EGF' nin sentez yeri henüz bilinmemektedir. Tiroid hormonunun EGF sentezini deride lokal olarak arttırdığı sanılmaktadır [67]. Prematüre doğumlarda anne sütündeki EGF miktarı normal

doğumdakine oranla yüksek bulunmuştur. Yeni doğanlarda ağızdan alındığında değişikliğe uğramadan kana geçmektedir [68].



Şekil 2.6. EGF+Reseptör kompleksinin etki mekanizması

2.4.3. EGF ve yara iyileşmesi

Yapılan hayvan çalışmalarında sistemik ya da topikal olarak uygulanan EGF' nin yara iyileşmesine olumlu katkılarının olduğu gösterilmiştir [6,7].

Nazikoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada diyabetik ve normal sıçanlardaki yara iyileşmesi sürecinde EGF içeren jelatin örtülerin yara dokusu üzerine uygulanmasının yara iyileşmesi üzerine oldukça etkin olduğu görülmüştür. Epitelizasyonun tamamlanması ve keratinizasyonun belirginleşmesiyle birlikte granülasyon dokusunun oluşumunun hızlanması, doku dağılımı ve deri eklerinin farklanmasını olumlu yönde etkilemiştir [69].

Dorsolateral yaralara sahip farelerde topikal EGF, PDGF-AB ve PDGF-BB uygulamasının yara yenilenme sürecini hızlandırdığı ve skar dokusu oluşumun arttırdığı gözlenmiştir. PDGF-AA'nın tek başına ya da EGF ile kombine şekilde uygulanmasının iyileşme sürecinde anlamlı bir gelişme kaydetmediği bildirilmiştir. Yara iyileşmesinde alınan en başarılı sonuçlar 10 ng EGF ve 15 ng PDGF-BB kombinasyonunun uygulanmasıyla elde edilmiştir [5].

Diş etlerinde ülserler oluşturulmuş tavşanlardan izole edilen dokuların invitro kültürlerinde EGF ve bFGF'nin fibroblastların proliferasyonunu; sadece EGF'nin de keratinositlerin proliferasyonunu geliştirdiği bildirilmiştir. Tükrük bezleri çıkarılmış, diş etlerinde ülser oluşturulmuş tavşanlarda EGF ve bFGF'nin sistemik enjeksiyonu ve bFGF'nin topikal uygulaması yara iyileşmesini hızlandırmıştır [2].

Karataş'ın çalışmasında, ağız mukozası kesi yaralarına titanyum halka içinde polietilen glikol taşıyıcı içinde uygulanan EGF' nin; yara gerim kuvvetini ve hidroksiprolin düzeyini arttırdığını ve bu sırada histolojik olarak epitelyal gelişimi ve fibroblastik aktiviteyi desteklediği saptanmıştır [70].

EGF'nin domuz yara modelinde ve tavşan korneasında epitelizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, hayvan modellerinde yara gerilim kuvvetini de arttırdığı bildirilmiştir. EGF'nin bu etkisini, fibronektin gibi epitelyal hücre göçünü uyaran maddelerin yapımını arttırarak sağladığı düşünülmektedir [1].

EGF' nin anastomozda makrofaj migrasyonunu ve fibroblast proliferasyonunu arttırdığı, kollajen sentezini uyardığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı saptanmıştır [71,72].

2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlardan dolayı oldukça reaktiftirler [18].

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir [18].

Süperoksit radikali; hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksit, hidrojen peroksitin kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. Süperoksit fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleştiğinde reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece NO etkisi inhibe edilir. Peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır. Süperoksit düşük pH değerlerinde daha reaktiftir [18].

Hidrojen peroksitin oluşması için, moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alarak veya süperoksitin bir elektron alarak peroksitin meydana gelmesi gerekir. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirir. Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir [18].

Hidroksil radikali; hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici reaksiyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Son derece reaktif bir oksidan türüdür. Oluştugu yerde büyük hasara sebep olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur [18].

Singlet oksijen; ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal iyonlarının başlamasına da sebep olur [18].

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller, peroksil radikalleri, alkoksil radikalleri, thiyl radikalleri, gibi önemli serbest radikaller de meydana gelirler [18].

2.5.1.Serbest radikallerin kaynakları

Biyolojik kaynakları

- Aktive olmuş fagositler
- Antineoplastik ajanlar
- Radyasyon
- Alışkanlık yapan maddeler (alkol, uyuşturucular)
- Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)
- Stres [18].

İntraselüler kaynakları

- Küçük moleküllerin otooksidasyonu
- Enzimler ve proteinler
- Mitokondrial elektron transportu
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri
- Peroksizomlar
- Plazma membranı (Lipit peroksidasyonu)
- Oksidatif stres yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon [18].

2.5.2. Serbest radikallerin membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu)

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler [18].

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda

oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

Lipit reaksiyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direk olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskositesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehit, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, malondialdehitin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar [18].

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar Antioksidan Savunma Sistemleri veya kısaca Antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olamayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler [18].

Doğal (endojen) Antioksidanlar

1.Enzimler: Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi, süperoksit dismutaz, katalaz,

glutasyon peroksidaz, glutasyon-S- transferaz, hidroperoksidaz [18].

2.Enzim olmayanlar: Lipit fazda bulunanlar; α - tokoferol (E-vitamini), β -karoten. Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında bulunanlar); askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seroplazmin, transferrin, laktoferrin, miyoglobulin, hemoglobulin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutasyon [18].

Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)

- Ksantin Oksidaz İnhibitörleri
- Soya fasulyesi inhibitörleri
- NADPH Oksidaz inhibitörleri
- Rekombinant Süperoksit dismutaz
- Trolox-C
- Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler
- Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları (Mannitol, albumin, DMSO).
- Demir redoks döngüsünün inhibitörleri
- Nötrofil Adezyon inhibitörleri
- Sitokinler
- Barbitüratlar
- Demir Şelatörleri [18]

Gıda Antioksidanları: Butylated hydroxytoluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA), sodium benzoate, ethoxyquin, propylgalate, Fe-superoxyde dismutase [18].

2.6.1.Glutasyon (GSH)

Karaciğerde, genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptiddir. Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiştir [18].

Çok önemli bir antioksidan olan glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle

reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında, proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membrandan transportunu sağlar. Gliksilaz ve insülin transhidrogenaz gibi bazı enzimlerin koenzimidir. Hemoglobulinin oksijenlenerek methemoglobine dönüşmesini önlemede rol alır [18].

Glutatyon (GSH) peroksinitriti, reaksiyon sonucu oksitlenerek okside glutatyona (GS-SG) dönüştür ve ortamdan uzaklaştır. Okside glutatyon daha sonra NADPH-bağımlı glutatyon redüktaz ile GSH'a dönüştürülür [73].

Redükte glutatyon(GSH), reaksiyon sonucu oksitlenerek okside glutatyona (GSSG) dönüştür. Okside glutatyonun tekrar redükte hale gelmesi NADPH'ın kullanılması ile mümkündür [18].

Glutatyon, eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Eritrosit zarını H_2O_2 ' den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan korur [18].

2.6.2. Askorbik asit (C vitamini, AA)

C vitamini (askorbik asit), kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Suda eriyebilen vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. Isıtmaya dayanıksız, dondurulmaya ise dayanıklıdır. Plazma konsantrasyonu 0,5-1,5 mg/dl kadardır [18].

C vitamini organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. İmmünte ve yara iyileşmesinde etkilidir [18].

Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asit, semidehidroaskorbat radikal ara ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik asite okside olur. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperosit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. C vitaminin diğer bir özelliği, antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de göstermesidir. Çünkü C vitamini, ferri demiri ferro demire indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek selüler ajandır. Bu yolla askorbat, proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan ferro demire dönüştürür. Yani süperoksit üretimine katkıda bulunur [18].

C vitaminin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir. Oksidatif patlama sırasında nötrofiller C vitamini alırlar ve aktivasyonu takiben C vitamini konsantrasyonları azalır. C vitamini eksikliği olan kobayların lökositlerinde, kemotaksis ve bakterisidal aktivitenin depresse olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı kişilerde C vitamini verilmesi kemotaktik cevabı arttırır [18].

Oksidatif patlama sırasında, reaktif moleküller çevreye yayılarak mutasyonlara, hücre hasarına, inflamasyona, koruyucu enzimlerin inaktivasyonuna ve lenfosit proliferasyonunun inhibisyonuna neden olurlar. C vitamini, reaktif bakterisidal moleküllerin intraselüler konsantrasyonlarında azalmaya sebep olmadan oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar verici etkilerini engellerler [18].

Askorbik asit düzeyinin düşük olması, tüm kronik inflamatuvar hastalıklarda ve lipid peroksidasyonunun artmış olduğu durumlarda önemli rol oynar. Kronik inflamasyonlarda vitaminin katabolizması artar. Çünkü bu sırada normal metabolizma sürekli oksidatif stres altındadır. İn vivo olarak glutatyon, askorbatın indirgenmiş durumunu sürdürmek için gereklidir. Askorbik asitin bu koruyucu mekanizmasının etkinliği, glutatyon redüktazının etkinliğine bağlıdır. Kronik inflamatuvar durumlarda intraselüler glutatyonun da azaldığına dair bulgular vardır [18].

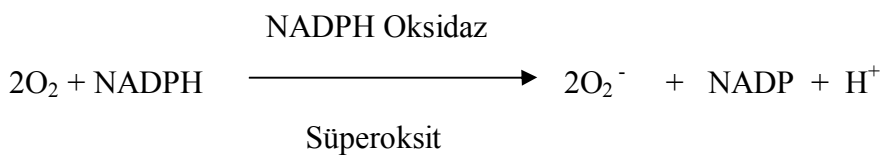
2.7. Myeloperoksidaz Enzimi ve Aktivitesi

Fagositik lökositler çeşitli biyoloji hedeflerin parçalanmasına ve hasarına neden olabilen, enfeksiyona karşı vücudun hücrel cevabını başlatan hücrelerdir. Oksijenin redüksiyon (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri) ve eksitasyon (singlet oksijen) ürünleri, fagositlerin (nötrofiller, eosinofiller, mononükleer fagositler) toksik özelliklerinden sorumludur. Bu toksik maddeler, fagositoz esnasında mikroorganizmaların ve diğer yabancı hücrelerin yıkımında kullanılırlar. Ancak, bunlar hücrelerin antioksidan savunma güçlerini aştıklarında normal konak hücrelerine zarar verirler ve çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynarlar [18].

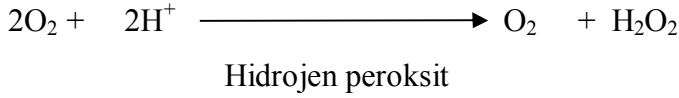
Fagositik lökositler çözünabilir ya da partiküler bir stimulusla uyarıldıktan sonra lizozomal komponentleri dışarı vermeye başlarlar ve reaktif oksijen metabolitleri oluşumuyla birlikte mitokondri dışındaki oksijen tüketiminde bir Solunumsal Patlama gösterirler. Fagosit edilmiş bakteri, solunumsal patlama ürünlerinin toksik etkisiyle öldürülür. Bu oksidan ürünler süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve halid oksidasyon ürünleridir [18].

Solunumsal Patlamadan sorumlu olan enzim NADPH Oksidaz dır. Bu bir ektoenzim olup, plazma membranının dış yüzeyinde bulunur. Fagositik vakuol oluşturmak için plazma membranı invagine olduğunda, enzim iç tarafta kalır ve vakuoler boşluktaki oksijene etki eder [18].

Uygun bir stimulusla fagosit uyarıldıktan sonra NADPH Oksidaz aktive edilir ve indirgenmiş pirimidin nükleotitlerinden iki elektron alınarak iki molekül oksijene transfer edilir. Böylece iki molekül süperoksit oluşturulur [18].



Solunumsal Patlama sırasında tüketilen oksijenin bakterisidal bir ajan olarak kullanıldığı hidrojen peroksit'e dönüştürülür [18].

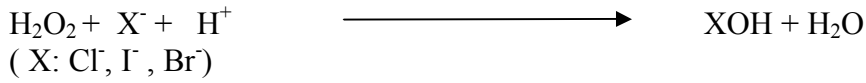


Süperoksitin sınırlı reaktivitesine rağmen, geçiş metalleri iyon komplekslerini indirgeyebilmesi ya da okside edebilmesi, metallerle ligandlar oluşturabilmesi, organik substratları okside edebilmesi ve perhidroksil radikaline protonlanabilmesi bu radikalın fagositoz aracılığıyla olan sitotoksitede önemli bir rol oynamasına sebep olur [18].

Solunumsal Patlamanın amacı; fagositler tarafından mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılabilecek oksidan ajanlar sağlamaktır. Bu oksidan ajanları kullanan mikrobisidal sistemlerden biri de Myeloperoksidaz (MPO) Sistemi dir. Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde bir hem enzimi olan MPO ihtiva ederler. Nötrofilde, antimikrobiyal aktiviteden sorumlu tutulan ilk oksidatif metabolizma ürünü hidrojen peroksittir. H_2O_2 'in MPO ve bir halid ile kombinasyonu güçlü antimikrobial sistem, çeşitli bakteri, mantar, virüs, mikoplazma, çok hücreli organizmalara ve memeli hücrelerine karşı etkilidir. MPO; çeşitli bileşikler okside edebilen bir enzim-substrat kompleksi oluşturabilmek için, substratı olan hidrojen peroksit ile birleşir. Bunlardan oluşan halidlerin oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla mikroorganizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir ve bunlar hücre ölümüne yol açarlar [34,35].

Çeşitli stimulusların etkisiyle fagositler, MPO ihtiva eden granülleri ekstraselüler aralıktaki fagositik vakuol içine boşaltırlar. MPO, hidrojen peroksit varlığında, florür dışında halidlerin (klorür, iyodür ve bromür) oksidasyonunu katalizler. Bu reaksiyonda MPO, halidden hidrojen peroksit'e iki e^- transferi yapar, okside halid meydana gelir [18].

MPO



Hipohalöz asitler olan hipoklorit (HOCl), hipoyodür (HOI) ve hipobromit (HOBr) ile bunların tuzları güçlü oksidanlardır ve biyolojik olarak önemli moleküllerle reaksiyona girerler. H₂O₂ ile reaksiyona girerek singlet oksijeni, glukozamin ve taurin gibi aminlerle reaksiyona girerek kuvvetli oksidanlar olan klorlanmış aminleri oluştururlar [18].

2.8. Serbest Oksijen Radikallerinin Yara İyileşmesindeki Roller

Günümüze değin yapılmış yara iyileşmesiyle ilgili araştırmaların çoğunda yara iyileşmesinde oksijenin yararlı, hipoksinin ise zararlı etkilerinin olduğu sonucuna varılmıştır [74,75]. Yara enfeksiyonun önlenmesinde de oksijenin rolü olduğu bildirilmiştir [37,76,77].

Lökositler fagositoz sırasında büyük miktarda oksijen kullanırlar. Bu sırada “Solunumsal patlama” olarak bilinen bir dizi metabolik reaksiyon gerçekleşir. Oksijenin parsiyel redüksiyonuyla sonuçlanan bu reaksiyonlar ile reaktif oksijen metabolitleri oluşur [78]. Yara iyileşmesinin başlatılması ve yara enfeksiyonunun engellenmesinde oksijenin faydalı olmasına karşın oksijen metabolitlerinin zararlı olduğu anlaşılmıştır [79,80].

Oksijen serbest radikalleri ekstrasellüler matriks içine salındıklarında şu yollarla hücresel zedelenmeye neden olabilirler:

- Hiyalüronik asit ve kollajen yapısının bozulması,
- Fosfolipit membran içerisindeki yağ asitlerinin peroksidasyonu yoluyla hücre membranlarının harap edilmesi,
- Lizozom ve mitokondri gibi organel membranlarının bozulması [81],
- Na⁺-K⁺ATPaz, Ca⁺⁺ATPaz, glutamin sentetaz ve α-1-proteinaz inhibitörü gibi önemli enzim sistemlerinin etkilenmesi [82].

Hiyalüronik asit ve kollajen gibi ekstrasellüler yapıların bozulması doku permeabilitesini ve yapısını belirgin olarak değiştirir [81]. Diğer yandan oksijen radikallerinin artan kollajen sentezi ile ilgili olarak prolin ve lizin gruplarını nonenzimatik yolla hidroksile ettiği görülmüştür [83]. Sonuçta artan kollajen depolanması skar oluşumuyla çeşitli patolojik durumlara yol açar [84]. Çok reaktif bileşikler olan oksijen radikallerinin yara dokusunda oluştukları zaman kollajen hasarı yaparak yara geriminde bir azalmaya neden oldukları da bilinmektedir [85]. Oksijen radikallerinin yol açtığı reaksiyonlar sonucu oluşan lipid peroksit radikalleri, lipid hidroperoksitleri ve malondialdehit (MDA) gibi yıkım ürünleri ekstrasellüler aralığa salınarak vasküler permeability ve lökosit kemotaksisini etkileyebilirler [81].

Oksijen radikallerinin yara iyileşmesindeki rolü muhtemelen inflamatuvar cevapta rol oynayan nötrofiller ile ilgilidir. Nötrofiller ve diğer inflamatuvar hücreler (makrofaj, monosit ve eozinofiller) hücre membranlarında yer alan NADPH^{+} ı NADP^{+} ye okside eden NADPH oksidaz sistemine sahiptirler. Bu hücreler bir uyarı aldıklarında solunumsal patlama denen bir dizi reaksiyon oluşur. Sonuçta hücrede süperoksit gibi oksijen radikalleri meydana gelir ve bu radikaller inflamatuvar cevapta intersellüler öldürme olayının gerçekleşmesinde rol alırlar [19,78,81].

3.MATERYAL-METOT

3.1. Deney Protokolü

Deneylerde 5 aylık $2,5 \pm 0,4$ kg ağırlıkta 37 adet yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar Lemali deney hayvanları yetiştirme çiftliğinden sağlandı ve G.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fizyoloji laboratuvarında bakıldı. Deney öncesi ve deney süresince pelet yem ve su ile beslenen hayvanlar, deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldılar.

3.2. EGF Preparatının Hazırlanması

Deneylerde kullanılan pelet (boncuk) ilaç formu G.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır. Bunun için inert bir madde olan polietilen glikol (PEG) boncuk kullanılmıştır. Bu nedenle yara iyileşmesinde etkili faktörümüzü PEG içerisinde uyguladık. Laboratuvarımızda yaptığımız ön denemelerde PEG; invitro koşullarda 37 °C de 35 dakikada erimiştir ve in vivo koşullarda da en az bu süre içinde yaraya yavaş yavaş serbestlenmektedir.

EGF (Sigma, E-4127 0.1 mg) 1 flakon suda çözülüp polietilen glikol (PEG 4000, ort 0.02 gr) içinde 40 ng olacak şekilde doze edilerek hazırlandı. Uygulamalarda EGF 400 µl distile suda çözünmüştür. Su hacmi vakum altında yeterli miktara kadar 30 °C de steril şartlarda uçurulmuştur. Daha sonra PEG den bir damla sonra EGF çözeltisinden 40 ng eşdeğer EGF çözeltisi hesaplanarak bu miktar damlatılmış ve karıştırılmıştır. Bu şekilde UV lamba altında steril şartlarda hazırlanan PEG+EGF şeklinde formülasyonlar ayrı ayrı flakonlara yerleştirilip ağzı kapatılarak deneylerimizin yapıldığı Fizyoloji Laboratuvarına getirilmiştir [70].

3.3. Yara Modelinin Oluşturulması

Sabah saat 10:00 da hayvanların önce standart terazide ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra ketamin (Ketalar 50 mg/kg) ve ksilazin (Rhompun 5 mg/kg) intramüsküler olarak enjekte edilerek genel anestezi sağlanmıştır. Hayvanın ağzı açılıp, yanak ve dil ekarte edildikten sonra kesici dişler ile azı dişler arasındaki diastema bölgesinin

en derin iç bükey yeri merkez olacak şekilde sağ ve sol çenede kretin tepesine 1.5 cm uzunluğunda postero-anterior yönde insizyon perioste kadar inecek şekilde tek işlemde gerçekleştirilmiştir. İnsizyondan sonra yara dudakları vestibul ve lingual yönde periost elevatörü ile mukoza üzerinde formulasyonlar yerleşecek kadar cerrahi teknikler kullanılarak ekarte edilmiştir. Tüm tavşanların ağız mukozasında insizyon yarası yapılmıştır [70].

I.Gruptaki tavşanlara sadece kesi yarası yapılmıştır.

II.Gruptaki tavşanlara PEG+EGF li kombinasyonları taşıyan boncuk yerleştirilmiştir.

Daha sonra yara dudakları adapte edilip kanama kontrolü yapılarak iki adet sütür atılmıştır. Tavşanlar deney süresince pelet yem ve su ile beslenmişlerdir.

Kesi yarası yapılan ve EGF+PEG kombinasyonlu boncuk uygulanan tavşanlar; kronobiyolojik sıraya uygun olacak şekilde operasyonu izleyen 1., 3. ve 5. günlerde sabah saat 10:00 da ağırlıkları tartılarak aşırı doz Na barbital kulak veninden verilerek feda edilmiştir. Ağızdaki yara dokusu sağlı-sollu hemen çıkarılarak, bulaşmayı önleyecek materyale sarıldıktan sonra sıvı azot içerisine konularak dondurulmuştur.

3.4. Yöntemler

3.4.1. Dokuda TBARS tayin yöntemi

Dokuda TBARS düzeyleri tiyobarbitürik asit reaktif madde oluşumu yöntemiyle çalışıldı [86]. Doku örnekleri tartıldı. Homojenizatör ile soğuk TCA içinde homojenize edildi. Daha sonra süpernatant alınarak üzerine TBA ve BHT eklendi. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 535 nm’de, köre karşı okundu.

3.4.2. Dokuda Glutatyon tayin yöntemi

Dokuda glutasyon tayini için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı [87]. Doku örnekleri TBARS yöntemindeki gibi homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant, NaH_2PO_4 ve DTNB çözeltisi ile karıştırıldı. Oda ısısında 5- 10 dk bekletildikten sonra karışımın absorbansı spektrofotometrede köre karşı 412 nm dalga boyunda ölçüldü.

3.4.3. Dokuda AA tayin yöntemi

Roe ve Kuether'in Berger tarafından modifiye edilmiş metodu kullanıldı [88]. Doku PCA/EDTA karışımı içinde buz soğukluğunda homojenize edildi. Homojenat 15000 g (RCF) devirde 3 dk 4 derecede santrifüj edildi. Bir tüpe standart AA çözeltisi, başka bir tüpe kör için PCA çözeltisi ve örneklerin hazırlanacağı tüplere süpernatant konuldu. Her bir tüpe renk reaktifi eklenip vorteksenerek 3 saat 37 derecede inkübe edildi. Numunelerin ısı 0 dereceye getirilip her bir tüpe H_2SO_4 eklendi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Numuneler 515 dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu.

3.4.5. Dokuda MPO tayin yöntemi

Glowick ve Kaplan' ın yöntemi kullanıldı [89]. Doku sodyum fosfat tamponunda buz soğukluğunda homojenize edildi. Homojenat 3500 RPM devirde 10 dk 4 derecede santrifüj edildi. Süpernatant, sodyum fosfat tamponu, H_2O_2 , ortodianizidin ve su tüplere konularak karıştırıldı. Numuneler 37 °C de 30 dk inkübe edildikten sonra üzerlerine HCl eklenerek, 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Bütün değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Sonuçlar dağılımının homojen olup olmamasına göre Anova Varyans Analizi ve Mann Whitney U test ile değerlendirildi. $P<0,05$ önemli kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Kesi Yarası Yapılmış Tedavisiz Gruplara Ait TBARS, GSH, AA Düzeyleri ve MPO aktivitesi Sonuçları

Yaralanmadan sonraki 1. güne ait sonuçlar

Tedavi edilmeyen ağız yaralarının 1. gününde yara dokularına ait TBARS düzeyleri $67,84 \pm 5,65$ nmol/g, GSH düzeyleri $14,26 \pm 3,41$ μ mol/gr, AA düzeyleri $0,1270 \pm 0,02526$ mg/g doku olarak bulunmuştur. Bu gruba ait MPO aktivitesi ise $0,147 \pm 0,033$ U/g doku olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Yaralanmadan sonraki 3. güne ait sonuçlar

Tedavi edilmeyen ağız yaralarının 3. gününde yara dokularına ait TBARS düzeyleri $45,23 \pm 19,13$ nmol/g, GSH düzeyleri $30,22 \pm 7,34$ μ mol/g, AA düzeyleri $0,2167 \pm 0,06623$ mg/g doku olarak bulunmuştur. Aynı gruba ait MPO aktivitesi ise $0,087 \pm 0,036$ U/g doku olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Yaralanmadan sonraki 3. güne ait TBARS düzeyi, yaralanmadan sonraki 1. gündeki düzeyi ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak ($P<0,05$) azalmış bulunmuştur. MPO aktivitesi de yaralanmadan sonraki 1. günle karşılaştırıldığında anlamlı olarak ($P<0,05$) azalmış bulunmuştur.

Yaralanmadan sonraki 5. güne ait sonuçlar

Tedavi edilmeyen ağız yaralarının 5. gününde yara dokularına ait TBARS düzeyleri $18,87 \pm 8,10$ nmol/g, GSH düzeyleri $25,98 \pm 5,57$ μ mol/g, AA düzeyleri $0,3033 \pm 0,12817$ mg/g doku olarak bulunmuştur. Bu gruba ait MPO aktivitesi $0,108 \pm 0,027$ U/g doku olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Bu grubun yara dokularına ait TBARS düzeyi, tedavi edilmeyen ağız yaralarının 1. ve 3. günündeki yara dokularına ait TBARS düzeyleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($P<0,05$). 5. güne ait AA düzeyi ise yaralanmadan sonraki 1. gündeki düzeyi ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak ($P<0,05$) artmış bulunmuştur.

4.2. Kesi yarası Yapılıp Eksojen EGF Uygulanan Gruplara Ait TBARS, GSH, AA Düzeyleri ve MPO aktivitesi Sonuçları

Yaralanmadan sonraki 1. güne ait sonuçlar

Eksojen olarak EGF uygulanan ağız yaralarının 1. gününde yara dokularına ait TBARS düzeyleri $11,21 \pm 3,51$ nmol/g, GSH düzeyleri $21,51 \pm 4,82$ μ mol/g, AA düzeyleri $0,1933 \pm 0,06831$ mg/g olarak bulunmuştur. Bu gruba ait MPO aktivitesi $0,304 \pm 0,068$ U/g doku olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Kendi kontrolüyle kıyas edildiğinde EGF uygulanan grubun 1. gününe ait TBARS düzeyleri anlamlı olarak azalmış bulunmuşken, MPO aktivitesi ise anlamlı olarak artmış bulunmuştur ($P<0,05$). GSH ve AA düzeyleri kendi kontrolleriyle karşılaştırıldığında ise bir değişiklik tespit edilememiştir.

Yaralanmadan sonraki 3. güne ait sonuçlar

Eksojen olarak EGF uygulanan ağız yaralarının 3. gününde yara dokularına ait TBARS düzeyleri $6,57 \pm 2,17$ nmol/g, GSH düzeyleri $18,35 \pm 6,57$ μ mol/g, AA düzeyleri $0,2043 \pm 0,02573$ mg/g doku olarak bulunmuştur. Aynı gruba ait MPO aktivitesi $0,280 \pm 0,049$ U/g doku olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Kendi kontrolüyle kıyas edildiğinde EGF uygulanan grubun 3. gününe ait TBARS düzeyleri anlamlı olarak azalmış bulunmuşken, MPO aktivitesi ise anlamlı olarak

artmış bulunmuştur ($P<0,05$). GSH ve AA düzeyleri kendi kontrolleriyle karşılaştırıldığında ise bir değişiklik tespit edilememiştir.

Yaralanmadan sonraki 5. güne ait sonuçlar:

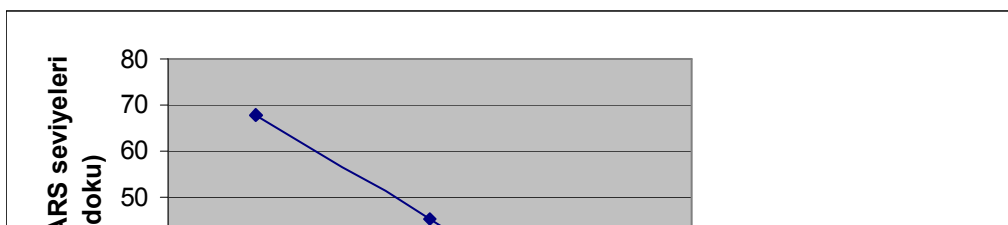
Eksojen olarak EGF uygulanan ağız yaralarının 3. gününde yara dokularına ait TBARS düzeyleri $8,28 \pm 1,56$ nmol/g, GSH düzeyleri $21,63 \pm 3,26$ μ mol/g, AA düzeyleri $0,2533 \pm 0,06563$ mg/g doku olarak bulunmuştur. Bu gruba ait MPO aktivitesi $0,186 \pm 0,078$ U/g doku olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Kendi kontrolüyle kıyas edildiğinde EGF uygulanan grubun 5. gününe ait TBARS düzeyleri anlamlı olarak azalmış bulunmuştur ($P<0,05$). GSH, AA düzeyleri ve MPO aktivitesi kendi kontrolleriyle karşılaştırıldığında ise bir değişiklik tespit edilememiştir

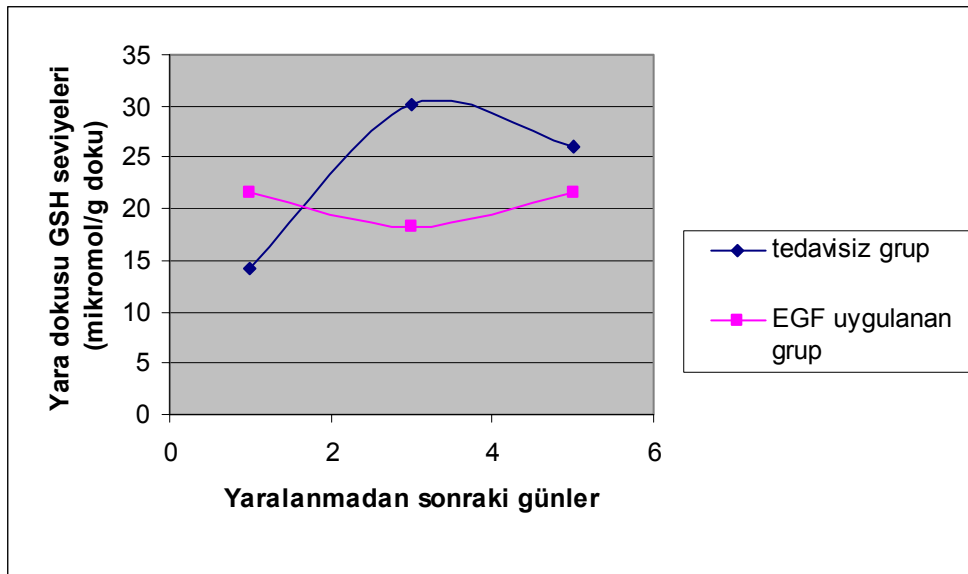
Çizelge 4.1. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu TBARS, GSH, A.A. düzeyleri ve MPO aktivitesine etkilerini gösteren çizelge

GRUPLAR	TBARS (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g doku)	MPO (U/g doku)	A.A. (mg/g doku)
Tedavisiz grup 1. Gün n=6	67,84 $\pm$ 5,6	14,26 $\pm$ 3,41	0,147 $\pm$ 0,033	0,127 $\pm$ 0,025
Tedavisiz grup 3. Gün n=6	45,23 $\pm$ 19,13	30,22 $\pm$ 7,34	0,087 $\pm$ 0,036	0,216 $\pm$ 0,066
Tedavisiz grup 5. Gün n=6	18,87 $\pm$ 8,10	25,98 $\pm$ 5,57	0,108 $\pm$ 0,027	0,303 $\pm$,0128
EGF uygulanan grup 1. Gün n=6	11,21 $\pm$ 3,51*	21,51 $\pm$ 4,82	0,304 $\pm$ 0,068 *	0,193 $\pm$ 0,068
EGF uygulanan grup 3. Gün n=7	6,57 $\pm$ 2,1*	18,35 $\pm$ 6,57	0,280 $\pm$ 0,049 *	0,204 $\pm$ 0,025
EGF uygulanan grup 5. Gün n=6	8,28 $\pm$ 1,56*	21,63 $\pm$ 3,26	0,186 $\pm$ 0,078	0,253 $\pm$ 0,065

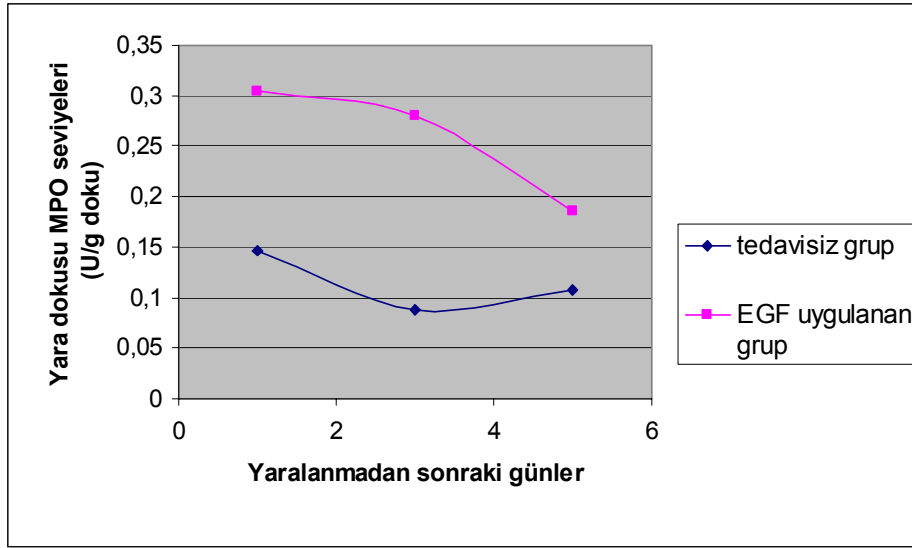
*P< 0,05 kendi kontrolleriyle karşılaştırıldığında



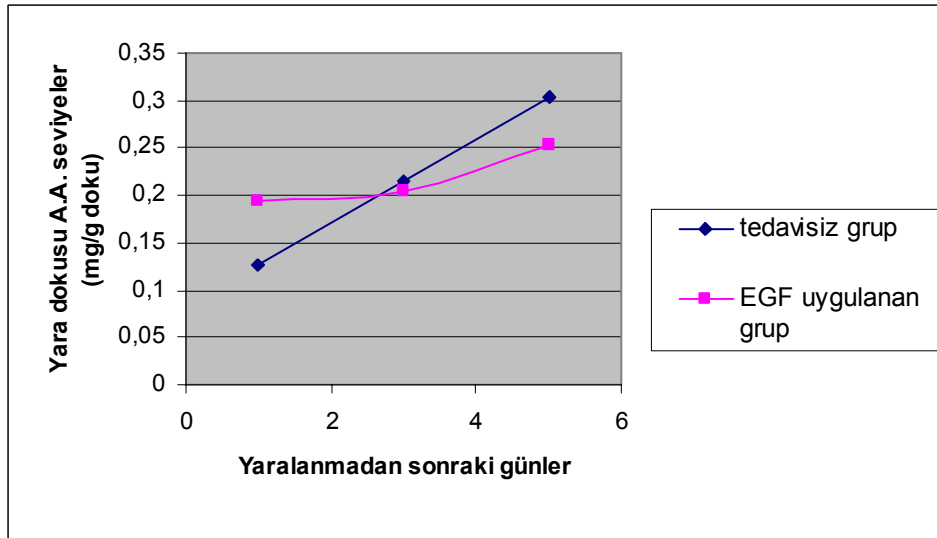
Şekil 4.1. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu TBARS düzeylerine etkileri



Şekil 4.2. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu GSH düzeylerine etkileri



Şekil 4.3. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu MPO aktivitesine etkileri



Şekil 4.4. Eksojen EGF uygulamasının yara dokusu AA düzeylerine etkileri

5.SONUÇ

Büyüme faktörlerinin, yara iyileşmesinin tüm fazlarında önemli rol oynadığı bilinmektedir [42]. Büyüme faktörlerinin normal ve gecikmiş yara iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren pek çok çalışma da mevcuttur [1-4]. EGF, tükürükte yüksek konsantrasyonlarda bulunan; oral mukozanın devamlılığı için gerekli, yara iyileşmesini hızlandıran önemli bir büyüme faktörüdür [5].

Bu çalışmada; eksojen olarak uygulanan EGF' nin yara dokusu oksidan olaylarına etkilerini göstermek amacıyla lipid peroksidasyonunun göstergesi olan TBARS düzeyleri, önemli antioksidanlar olan GSH ve AA seviyeleri ile oksijene bağlı defans mekanizmalarında rol alan bir enzim olan MPO aktivitesi, yara iyileşmesinin fazları da dikkate alınarak tespit edilmiştir.

Bunun için oral mukozalarında kesi yarası yapılan ve kesi yarası yapıldıktan sonra eksojen olarak EGF uygulanan iki deney grubu seçilmiş; her iki grupta da yaralanmadan sonraki 1., 3. ve 5. günlerde yara dokusu oksidan olayları araştırılmıştır.

Oral mukozalarında kesi yaraları yapıp tedavi edilmeyen tavşanların yani bu çalışmadaki kontrol grubunun, yaralanmadan sonraki 1., 3. ve 5. günlerdeki yara dokusu TBARS düzeyleri günlerle orantılı olarak anlamlı ($P<0,05$) bir azalma kaydetmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, deneysel olarak ligatürle periodontitis yapılan ratlarda deneyin 8. gününde diş eti dokusu MDA düzeyleri [38] ve periodontitisli hastaların plazma, eritrosit ve diş eti dokusu TBARS seviyeleri kontrollerine kıyasla artmış bulunmuştur [90].

Eksojen olarak EGF uygulanan grupta ise yara dokusu TBARS seviyeleri kontrolleriyle kıyaslandığında anlamlı ($P<0,05$) azalma göstermiştir.

Akbulut ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada EGF' nin stres ülseri oluşturulmuş ratlarda mide dokusu lipit peroksidasyonunu azalttığı [31] ve etanolle mide ülseri oluşturulmuş ratlarda EGF uygulamasının mide dokusu TBARS düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [91]. Bu bilgiler bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

EGF uygulanan grupta TBARS düzeylerinin, tedavisiz gruba oranla azalma göstermesi, EGF' nin antioksidan etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir.

GSH düzeylerine bakıldığında, gerek tedavisiz grup ile EGF uygulanan grup karşılaştırıldığında, gerekse de gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Stres ülseri oluşturulan ratlarda EGF uygulamasının mide dokusu GSH seviyelerini değiştirmedeğini gösteren bir çalışma literatürde mevcuttur [31].

Bir diğer antioksidan olan AA seviyeleri de, tedavisiz gruba eksojen olarak EGF uygulanan grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Ancak tedavisiz grupta yaralanmadan sonraki 5. günde, 3. güne kıyasla anlamlı ($P<0,05$) bir artış tespit edilmiştir.

Literatürde ağız içinde AA seviyelerinin gösterildiği bir çalışma mevcut değildir. Fakat kimyasal bir ajanla mide ülseri yapılan ve oral olarak AA yüklemesi yapılan ratların, kimyasal uygulamasından 30 dakika sonra mide mukozalarına ait total ve redükte AA seviyelerinde kontrollerine kıyasla bir değişiklik tespit edilememiştir [92].

Bu sonuçlara göre, gerek tedavisiz grupta gerekse de EGF uygulanan grupta yaralanmadan sonraki günlerde azalan TBARS düzeylerine karşın, GSH ve AA düzeylerinin bir değişiklik göstermemesi başka antioksidan savunma sistemlerinin devreye girdiğini düşündürmektedir. Bu nedenle bu deneye paralel olarak yapılacak bir başka çalışmada enzimatik antioksidanlar olan SOD ve CAT aktivitelerinin çalışılması yerinde olacaktır.

MPO aktivitesinde EGF uygulanan grupta yaralanmadan sonraki 1., 3. ve 5. günlerde istatistiksel olarak anlamlı olmayan tedrici bir azalma tespit edilmiştir. EGF tedavisi uygulanan grupta 1. ve 3. günler kontrolleriyle karşılaştırıldığında ise; MPO aktivitesindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($P<0,05$). Tedavisiz grupta enzim aktivitesi, inflamatuvar fazın gerçekleştiği 1. günde, diğer günlerden daha yüksek bulunmuştur. EGF uygulanan grup ve tedavisiz grup karşılaştırıldığında ise EGF uygulanan grupta MPO aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir.

Ağız dokusundaki inflamatuvar hastalıklarda MPO enzim aktivitesinin arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur [93-95]. Sol molar diş çevresinde ligatürle periodontitis yapılan ratlarda, deneyin 8. gününde dişeti dokusunda MPO enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir [38].

Deneysel olarak dorsal yanık yarası yapılan ve EGF uygulanan ratların, yaralanmadan sonraki 5. günde yara dokusu MPO aktivitesinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur [32]. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu bulguyla paralellik göstermektedir.

MPO aktivitesinin EGF uygulanan grupta tedavisiz gruba göre artmış bulunması, EGF' nin nötrofil akümülyasyonunu stimüle edebileceğini düşündürmektedir.

Gerek kontrollerde gerekse EGF tedavisi uygulanan grupta yaralanmadan sonraki ilk günde TBARS düzeylerinin ve MPO aktivitesinin diğer günlere kıyasla yüksek bulunması, inflamatuvar fazda gerçekleşen olayların lipit peroksidasyonunu ve solunumsal patlamayı tetiklediğinin göstergesi olabilir.

KAYNAKLAR

1. Steed, D.L., "Modifying the wound healing response with exogenous growth factors", *Clinics in Plastic Surgery*, 25: 397-405 (1998).
2. Fujisawa, K., Youji, M., Masaru, N., "Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa", *J. Oral Pathol. Med.*, 32: 358-66 (2003).
3. Çelebi, N., Türkyılmaz, A., Gönül, B., Özoğul, C., "Effects of EGF microemulsion formulation on the healing of stress-induced gastric ulcers in rats", *J. Controlled Release*, 83 :197–210 (2002).
4. Gönül, B., Akbulut, K.G., Özer, Ç., Yetkin, G., Çelebi N., "The Role of Transforming Growth Factor Alpha Formulation on Aspirin-Induced Ulcer Healing and Oxidant Stress in the Gastric Mucosa", *Surg. Today*, 34 :1035-1040 (2004).
5. Gope. R., "The effect of epidermal growth factor & platelet derived growth factors on wound healing process", *Indian J. Med. Res.*, 116:201-206 (2002) .
6. Gönül, B., Söylemezoğlu, T., Babül, A., Çelebi, N., "Effects of epidermal growth factor dosage forms on mice full-thickness skin wound zinc levels and relation to wound strength", *J. Pharm. Pharmacol*, 50 (6):641-4 (1998)
7. Gönül, B., Erdoğan, D., Özoğul, C., Koz, M., Babül, A., Çelebi, N., "Effect of EGF dosage forms on alkali burned corneal wound healing of mice", *Burns*, 21 (1): 7-10 (1995) .
8. Sayan, H., Gönül, B., Akbulut, K.G., Türkyılmaz, A., Çelebi, N., "Effects of epidermal growth factor formulations on liver malondialdehyde and reduced glutathione levels in stress ulcer model", *FABAD J. Pharm. Sci.*, 26 :61–6 (2001).
9. Zelles, T., Purushotham, K. R., Macauley, S. P., Oxford, G. E., Humphreys-Beher, M. G., "Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all" *J. Dent. Res.*, 74 (12): 1826-32 (1995).
10. Royce. L. S., Baum, B. J., "Physiologic levels of salivary epidermal growth factor stimulate migration of an oral epithelial cell line" *Biochim. Biophys. Acta.*, 17 (3): 401-403 (1991)
11. Cohen, S., "Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animals", *J. Biochem.*, 207 (5): 1555-1562 (1962).

12. Das, M., "Epidermal growth factor: mechanism of action", *Int. Rev. Cytol.*, 78: 233-236 (1982).
13. Savage, A.P., Chatatterjee, V.K., Gregory, I., "Epidermal growth factor in blood", *Regul. Pep.*, 16 :199-200 (1986).
14. Erbaş, D., Oygür, T., Anıl, A., "Submandibular bez ekstresinin yara iyileşmesine olan etkisi", *G.Ü. Dişhek. Fak. Der.*, 5 (2):139-147 (1988).
15. Dinçer, S., Gönül, B., Dinçer, N., Öz, E., Babül, A., Pınar, L., "Tavşan tam kesi yaralarına lokal olarak uygulanan EGF'nin yara dokusu çinko ve hidroksiprolin düzeylerine etkisi" *SBAD(Sağ. Bil. Arş. Derg.)* , 9 (19): 5-12 (1998)
16. Thorton, F.J., Barbul, A., "Healing in the gastrointestinal tract", *Surg Clin North Am.*, 77 (3): 549-73 (1997)
17. Davies, K.J., "Oxidative stres: the paradox of aerobic life", *Biochem. Soc. Symp.*, 61: 1-31 (1995).
18. Akkuş, İ., "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", *Mimoza Yayınevi.*, Konya, 1-77 (1995).
19. Bassaga, H.S., "Biochemical aspects of free radicals", *Biochem. Cell. Biol.*, 68: 989-998 (1989).
20. Ginsberg, M.D., Watson, B.D., Busto, R., Yashida, S., Prado, R., Nakayama, H., Ikeda, M., Dietrich, W.D. "Peroxidative damage to cell membranes following cerebral ischemia", *Neurochem. Pathol.*, 9: 171-193 (1998).
21. Gupta, A., Singh, R.L., Raghubir, R., "Antioxidant status during cutaneous wound healing in immunocompromised rats", *Mol Cell Biochem.*, 241 (1-2): 1-7 (2002).
22. Rasik, A.M., Shukla, A., "Antioxidant status in delayed healing type of wounds", *Int. J. Exp. Pathol.*, 81 (4): 257-63 (2000).
23. Winkler, B. S., Orselli, S. M., Rex, T. S., "The redox couple between glutathione and ascorbic acid: A chemical and physiological perspective", *Free Radic. Biol. Med.*, 17: 333-349 (1994).
24. Beyer, R. E., "The role of ascorbate in antioxidant protection og biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q", *J. Bioenerg. Biomembranes*, 26: 349-358 (1994).
25. Som, S., Raha, C., Chattarjee, I. B., "Ascorbic acid: A scavenger of superoxide radical", *Acta.Vitaminol. Enzimol.*, 5: 243-250 (1983).

26. Halliwell, B., Wasil, M., Grootveld, M., "Biological significant scavenging of the myeloperoxidase-derived oxidant hypochlorous acid by ascorbic acid", **FEBS. Lett.**, 213: 15-18 (1987).
27. Hung, C. R., Neu, S. L., "Acid-induced gastric damage in rats is aggravated by starvation and prevented by several nutrients", **J. Nutr.**, 127: 677-687 (1997).
28. Pohle, T., Brzozowski, T., Becker, J. C., van der Voort, I. R., Markmann, A., Konturek J. W., "Role of reactive oxygen metabolites in aspirin-induced gastric damage in humans: Gastroprotection by vitamin C" **Aliment. Pharmacol. Ther.**, 15: 677-687 (2001).
29. Halliwell, B., "Current status review: free radicals reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis", **Br.J.Exp.Path.**, 70: 737-757 (1989).
30. Haris, R.A., Carbb, D.W., "Metabolic interrelations, textbook of biochemistry with clinical correlations", Devlin, T.M. ed., , **John Wiley and Sons. Inc., Publication**, New York, Chichester, Brisbane, Toronto; Singapore, 575-606, 1124-1125 (1993).
31. Akbulut, K.G., Gönül, B., Türkyılmaz, A., Çelebi, N., "The role of epidermal growth factor formulation on stres ulcer healing of the gastric mucosa", **Surg. Today**, 32: 880-883 (2002).
32. Jahovic, N., Güzel, E., Arbak, S., Yeğen, B.Ç., "The healing-promoting effect of saliva on skin burn is mediated by epidermal growth factor: role of the neutrophils", **Burns**, 30: 531-538 (2004).
33. Gökçora, N., Gündoğdu, S., Arıcıoğlu, A., Erbaş, D., Durmuş, O., Türkozan, N., "The effect of EGF on liver lipid peroxidation and glutathione levels in lobectomized rats", **Biochem. Cell. Biol.**, 70: 259-272 (1991).
34. Hohn, D. C., Mackay, R .D., Halliday, B., Hunt, T. K., "Effect of O₂ tension on microbicidal function of leucocytes in wounds and in vitro", **Surg. Forum**, 27: 18-20 (1976).
35. Babior, B.M., "Phagocytes and oxidative stres", **Am J Med.**, 109: 33-44 (2000).
36. Thomas, E.L., Bozeman, P.M., Jefferson, M.M., "Oxidation of bromide by the human leukocyte enzymes myeloperoxidase and eosinophil peroxidase, Formation of bromamines", **J Biol Chem**, 270: 2906-2913 (1995).
37. Barrette, W. C., Hannum, D. M., Wheeler, W. D., Hurst, J. K., "General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: Abolition of ATP production", **Biochemistry**, 28: 9172-9178 (1989).

38. Di Paola, R., Marzocco, E., Mazzon, E., Dattola, F., Rotondo, F., Britti, D., De Majo, M., Genovese, T., Cuzzocrea, S., "Effect of aminoguanidine in ligature-induced periodontitis in rats", **J. Det. Res.** 83 (4): 343-348 (2004).
39. Arnold, H.L., Odom, R.B., James, W.D., "Andews disease of the skin", Clinical Dermatology; 8th ed. **WB Saunders Company**, Philadelphia, 15 (1990).
40. Marks, R., Dykes, P., Motley, R., "Clinical sings and procedures in dermatology 1st ed." **Martin Dunitz Ltd.**, London, 35 (1993).
41. Erdem, C.; "Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi", Çelebi C., R. (ed.) **TDD Yayınları**, No 1, Ankara, 1-44 (1996).
42. David, J.H., Henri, F., "Cellular, biochemical and clinical aspects of wound healing", **Surg. Infections**, 3: 23-35 (2000).
43. Engin, A., "Genel cerrahi; tanı ve tedavi ilkeleri", **Atlas Kitapçılık**; Ankara, 131-144 (2000).
44. Witte, M.B., Barbul, A., "General principles of wound healing", **Surg. Clin. North. Am.**, 77: 509-528 (1997).
45. İnternet: Yara iyileşmesinin fazları, [http:// www.orthoteers.org/galleryframe.aspx](http://www.orthoteers.org/galleryframe.aspx) (2003).
46. Bernstein, E. F., Sullivan, F. J., Mitchel, J.B., "Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing", **Clinics in Plastic Surgery**, 20 (3): 435-453 (1993).
47. Reiser, K. M., "Nonenzymatic glycation and enzymatic crosslinking in a model of wound healing; The effects of aging, diet end modulating agents", **J. Ger. Dermatol**, 1: 90-99 (1993).
48. Barbul, A., Purtill, W. A., "Nutrition in wound healing", **Clinics Dematology**, 12:133-140 (1994).
49. David, A. J., "Wound Management: A comprehensive guide to dressing and healing", **Punitz Publ.**, London, 32-33 (1986).
50. Steenfos, H. H., "Growth factors and wound healing", **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.**, 28: 95-105 (1994).
51. Fisher, D. A., Lakshmanan J., "Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals", **Endoc. Rev.**, 11 (3): 418-422 (1990).

52. Lawrence, W. T., Diegelmann, R. F., "Growth factors on wound healing", *Clinics in Dermatology*, 12: 157-169 (1994).
53. Bendypedhyay, C.K., Imagowa, W., Wallace, D.R., Nandi, S., "Proliferative effects of insulin and epidermal growth factor on mouse mommary ephitelial in primary culture", *J. Biol. Chem.*, 263 (16): 7567-73 (1988).
54. Marti, U., Burwen, S. J., Janes, A. L., "Biological effects of epidermal growth factor with emphasis on the gastrointestinal tract on liver", *Ann. Update, Hepatol.*, 9 (1): 126-138 (1989).
55. Hirata, Y., Orth, D. N., "Epidermal growth factor (urogasterone) in human tissues", *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 48: 667-72 (1979).
56. Laborde, P. N., Gradin, M., Buenoflor, G., Brown, P., Fisher, D. A., "Ontogenesis of epidermal growth factor in liver of BALB mice", *Am. J. Physiol.*, 255: E28-E32 (1988).
57. James, R., Bradshaw, R. A., "Polypeptide growth factors", *Ann. Rev. Biochem.*, 53: 259-292 (1984).
58. Thesleff, I., Viinikka, L., Saxen, L., Lehtonen, E., Perheentupa, J., "The parotid gland is in he main source of human salivary epidermal growth factor", *Life Science*, 43: 13-18 (1988).
59. Carpenter, G., Cohen, S., "Epidermal growth factor", *Ann.Rev. Biochem.*, 8: 193-216 (1979).
60. İnternet: EGF' nin yapısı, http://www.ust.hk/roundtable/hi-tech.series/1_b1.jpg (2004).
61. Pratt, R. M., "Role of epidermal growth factor in embriyonic development", *Current Topics in Developmental Biology*, 22 (193) :75 (1987).
62. Schlessinger, J., Ulrich, A., Honnegger, A. M., Moolenean, W. H., "Signal transduction by EGF receptor", *Cold Spring Harbor Symposia an Quantitative Biology*, Cold Spring Laboratory, NY LIII:515-519 (1998).
63. Nanney, L. B., Magid, M., Stoscheck, C. M., King, L. E., "Comparison of epidermal growth factor binding and receptor distribution in normal human epidermis and epidermal appendages", *J. Invest. Dermatol.*, 83: 385-393 (1984).
64. Gönül, B., Güvendik, G., Erbaş, D., Yanıçoğlu, L., "Denerve farelerde epidermal büyüme faktörünün serum çinko düzeylerine etkisi", *Ankara Ecz. Fak. Der.*, 18: 1-7 (1988).

65. Erbaş, D., Güvendik, G., Gönül, B., “Submandibular bez ekstrelerinin serum çinko düzeylerine etkileri”, *Ank. Ecz. Fak. Der.*, 17(1):11-17 (1987).
66. Matilla, A. L., Perheentupa, J., Salmi, J., “Human epidermal growth factor concentrations in urine, but not in saliva and serum depend thyroid state”, *Life Sciences*, 41: 2739-47 (1987).
67. Thornburn, G. L., Dolling, M., “Epidermal growth factor and fetal development, in; the endocrine physiology of pregnancy and periparturient period”, Edited Jaffe, R. B., *Dell’Aqua S.: Serono Symposia Publications From Raven Press*, ISBN:0-88167-096-0, 21: 53-64 (1985).
68. Read, C. L., Geofry, L., Ballard, J. F., “Milk growth factors: Concentrations in human milk and effect of premature birth, In: The Physiological development of the fetus and newborn”, Edited: Jones, C. T., *Nathainelsz P.W. Academic Press*, London, ISBN; 0-12-389080-2, 27-31 (1985).
69. İnternet: EGF içeren jelatin örtülerin yara iyileşmesine etkileri, http://histoloji.mersin.edu.tr/Ozetler/Aysegul_Nazikoglu1.doc, (2004).
70. Karataş F., “EGF’ nin dental implant materyali üzerindeki kesi yarası iyileşmesi üzerine etkisi”. Yüksek Lisans tezi, *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 3- 21 (1998).
71. Mathison, R., “The submandibular glands: A role in homeostasis and allostasis”, *Biomed. Rev.*, 4: 61-69 (1995).
72. Brasken, P., “Healing of experimental colon anastomosis”, *Eur. J. Surg. Suppl.*, 566: 1-51 (1991).
73. Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G., “Free radicals, antioxidants and nutrition”, *Nutrition*, 18: 872-879 (2002).
74. Hunt, T. K., Pai, P. M., “Basic principles of wound healing”, *The Journal of Trauma*, 30 (12): 122-128 (1990).
75. Vihersaari, T., Kivisaari, J., Niinikoski, J., “Effect of changes in inspired oxygen tension on wound metabolism”, *Ann. Surg.*, 179: 889-895 (1975).
76. Hunt, T. K., Linseyi M., Sonei M., Jawetz E., “Oxygen tension and wound infection”, *Surg. Forum*, 23: 47-49 (1972).
77. Knigthon, D. R., Halliday, B., Hunt, T.K., “Oxygen as an antibiotic”, *Arc. Surg.*, 121: 191-195 (1986).
78. Babior, D. M., “Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes”, *N. Engl. J. Med.*, 298: 659-668 (1978).

79. Bergren, C.T., Bodzin, J.H., Cortez, J.A., "Improved survival using oxygen free radical scavengers in the presence of ischemic bowel anastomosis", *The American Surgeon*, 54: 333-336 (1988).
80. Shandall, A. A., Williams, G. T., Hallet, M. B., Young, H .L., "Colonic healing: A role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production", *Br. J. Surg.*, 73: 225-228 (1986).
81. Del Maestro, R. F., "An approach to free radicals in medicine and biology", *Acta Physiol. Scand.*, 492: 153-168 (1980).
82. Weiss, S. J., "Oxygen, ischemia and inflammation", *Acta. Physiol. Scand.*, 548: 9-37 (1986).
83. Treistad, R. L., Lawlet, K. R., Holmes, L. B., "Nonenzymatic Hydroxylations of proline and lysine by reduced oxygen derivatives", *Nature*, 289: 310-312 (1981).
84. White, M. J., Heckler, F. R., "Oxygen free radicals on wound healing", *Clinics in plastic Surgery*, 17(3): 473-484 (1990).
85. Högstrom, H., "Mechanism and prevention of decrease in wound margin strength", *Acta. Chir. Scand.*, 539: 5-63 (1987).
86. Casini, A., Ferrali, M., Pompella, A., "Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissue of bromobenzene intoxicated mice", *Am. J. Pathol.*, 123: 520-531 (1986).
87. Aykaç, A.G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A., Öz, H., "The effect of cronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione tranferase in rats", *Toxicology*, 36: 71-76 (1985).
88. Berger, J., Shepart, D., Morrow, F., Taylor, A., "Relationship between dietary intake and tissue levels reduced and total vitamin C in nonscorbutic guinea pig", *J. Nutr.*, 119: 734-740 (1989).
89. Glowick, S. P., Kaplan, S.D., "Methods in enzymology", *Academic Press.*, New York, 769 (1955).
90. Panjamurthy, K., Manoharan, S., Ramachandran, C. R., "Lipid peroxidation and antioxidants status in patiens with periodontitis", *Cell. Moll. Biol. Let.*, 10: 225-264 (2005).
91. Erkasap, S., Erkasap, N., Aral, E., Köken, T., Kahraman, A., Aydın, Y., Yılmaz, S., Ateş, E., "Mast cell stabilizator and antioxidant effects of epidermal growth factor (EGF) on gastric mucosal injury by ethanol in rats", *Chin. J. Physiol.*, 48 (1): 1-6 (2005).

92. Kamiya, Y., Ohta, Y., Imai, Y., Arisawa, T., Nakano, T., “A critical role of mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesion induced by 48/80 in rats” *World Gastroenterol.*, 11(9): 1324-1332 (2005).
93. Çağlayan, F., Yamalık, N., Kılınç, K., Giray, B., “Erişkin periodontisli hastalara diyeti örneklerinde myeloperoksidaz düzeylerinin incelenmesi”, *H.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 18: 24-27 (1994).
94. Cao, C. F., Smith, Q. T., “Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites”, *J. Clin. Periodontol.*, 16: 17-20 (1989).
95. Dahien, G., Lindhe, J., Sato, K., Hanamura, H., Okamoto, H., “The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbial in subjects with periodontal disease”, *J. Clin. Periodontol.*, 19: 802-809 (1992).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÜLEÇ, Emine Gülçeri
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 07.12.1981 Kayseri
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 280 23 15
e-mail : eggulec@yahoo.co.uk

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Selçuk Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2003
Lise	Eryaman Lisesi	1998

Yabancı Dil

İngilizce