



**ELAJİK ASİT VE KARNOSİK ASİT UYGULAMASININ
YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Elif Naz ALVER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2023

ETİK BEYAN

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

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

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

Elif Naz ALVER

27/04/2023

ELAJİK ASİT VE KARNOSİK ASİT UYGULAMASININ YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Elif Naz ALVER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2023

ÖZET

Diyabetin en yaygın komplikasyonlarından olan iyileşmeyen veya geç iyileşen yaralar, diyabetik hastaların yaşam kalitesini düşürmekle beraber sağlık harcamalarının da artışına neden olan temel faktörlerden birisidir. Bu çalışmada, yüksek antioksidan özelliğe sahip oldukları bilinen fenolik bileşiklerden Elajik asit ve Karnosik asit kombinasyonunun diyabetik ratlardaki yara iyileşmesi ve oksidatif parametreler üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Deneylerde kullanılan Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetli 54 adet Wistar albino ırkı dişi rat: kontrol grubu, tedavi edilmeyen, Carbopol 974P ile tedavi edilen, topikal tedavi grubu ve oral tedavi grubu olarak 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu dışındaki tüm hayvanların dorsal bölgesinde omurganın her iki yanında birbirine paralel olacak şekilde 6 mm punch biyopsi aleti ile 6 adet tek tip tam kat eksizyonel yara oluşturulmuştur. Tedavi edilen gruplarda, yaralar, yaralamadan sonra %2'lik Carbopol 974P içerisinde Elajik asit ve Karnosik asit (10 mg/kg) içeren jel ile topikal, Elajik asit ve Karnosik asit (10 mg/kg) ile oral gavaj olarak uygulandı. %2'lik Carbopol 974P uygulanan gruplarda yaralar eşit miktarda Carbopol jel ile topikal olarak tedavi edilmiştir. Kontrol gruplarında ise herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. 3 ve 7. günlerde ratların yara dokuları alınarak analizler gerçekleştirilmiştir. Oksidatif olayları incelemek amacıyla, alınan yara dokularındaki Malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) ve nitrik oksit (NOx) düzeyleri spektrofotometrik olarak belirlenirken, yara dokusunda Matriks Metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışılmıştır. Elajik asit ve Karnosik asit ile tedavi edilen grupların yara dokusu MDA ve NOx düzeylerinin istatistiksel olarak azaldığı, GSH düzeylerinde ise anlamlı artış olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Çalışma sonucunda MMP-2 seviyelerinde gruplar arası anlamlı bir farklılık olmamasına karşın, tedavili grupların MMP-9 seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Elde edilen veriler göz önüne alındığında ilk kez birlikte uygulanan Elajik asit ve Karnosik asit kombinasyonunun diyabetik ratlarda yara iyileşmesini geliştirdiği, hızlandırdığı ve oksidatif olayları etkilediği söylenebilir.

Bilim Kodu : 20317
Anahtar Kelimeler : Yara iyileşmesi, diyabet, oksidatif stres, elajik asit, karnosik asit
Sayfa Adedi : 74
Danışman : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

EFFECT OF APPLICATION OF ELLAGIC ACID AND CARNOSIC ACID ON WOUND HEALING

(M. Sc. Thesis)

Elif Naz ALVER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

April 2023

ABSTRACT

Non-healing or delayed-healing wounds, one of the most common complications of diabetes, are one of the main factors that decrease the quality of life of diabetic patients and increase health expenditures. This study, it was aimed to investigate the effects of the combination of Ellagic acid and Carnosic acid, which are known to have high antioxidant properties, on wound healing and oxidative parameters in diabetic rats. The study was performed on 54 Wistar albino female rats with Streptozotocin (STZ)-induced diabetes and they were divided into 5 groups as the control group, untreated, treated with Carbopol 974P, topical treatment group, and oral treatment group. In the dorsal region of all animals except the control group, 6 full-thickness excisional wounds were created with a 6 mm punch biopsy tool parallel to each other on both sides of the spine. In the treated groups, the wounds were applied topically with a gel containing Ellagic acid and Carnosic acid (10 mg/kg) in 2% Carbopol 974P, and oral gavage with Ellagic acid and Carnosic acid (10 mg/kg) after injury. In the groups treated with 2% Carbopol 974P, the wounds were treated topically with an equal amount of Carbopol gel. No treatment was applied in the control groups. On the 3rd and 7th days, the scar tissues of the rats were taken and analyzed. To examine the oxidative events, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), and nitric oxide (NOx) levels in the wound tissues were determined spectrophotometrically, while matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels in the wound tissue were determined which was studied by ELISA method. It was observed that the wound tissue MDA and NOx levels of the groups treated with Ellagic acid and Carnosic acid were statistically decreased, while GSH levels were significantly increased ($p < 0.05$). As a result of the study, although there was no significant difference between the groups in MMP-2 levels, it was determined that there was a decrease in the MMP-9 levels of the treated groups ($p < 0.05$). Considering the data obtained, it can be said that the combination of Ellagic acid and Carnosic acid applied together for the first time improves and accelerates wound healing in diabetic rats and affects oxidative events.

Science Code : 20317

Key Words : Wound healing, diabetes, oxidative stress, ellagic acid, carnosic acid

Page Number : 74

Supervisor : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi, beceri ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan, desteğini ve güvenini her zaman hissettiğim çok kıymetli danışmanım Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e; tez sürecimin tüm alanlarında bilgi ve görüşleriyle bana destek olan Prof. Dr. K. Barbaros BALABANLI' ya; tezime katkı sağlayan Doç. Dr. Fatma Nur TUĞCU DEMİRÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli laboratuvar ekip arkadaşlarım ve çalışmalarım boyunca yardımları eksik etmeyen GÜDAM ekibine en içten saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Yüksek Lisans sürecimde her daim manevi desteklerini esirgemeyen, tüm nazımı çeken can dostlarım Arş. Gör. Kübra ŞENER, Şebnem DÖNMEZ, Özge ÇELİK, Gülcan OCAKLI ESEN, Psk. Murat ÇATI, Arş. Gör. Büşra SABAH, İlayda Sezin YALÇINKAYA'ya ve bu süreçte her konuda fikir danıştığım ve yardımlarını asla esirgemeyen Dr. Öğr. Üye. Betül AYDIN, Dr. Öğr. Üye. Meryem Burcu KÜLAHCI hocalarıma çok teşekkür ederim.

Uzun soluklu bir süreç olan yüksek lisans eğitim süreci benimle birlikte yaşayan ve tüm başarılarımda büyük emekleri olan, maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan canım ailem Şükran ALVER, Ümit ALVER, Eşref Efe ALVER'e ve hayat arkadaşım Salim GÜRSOY'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına maddi destek sağladığı için Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim (Proje No: 05/2020-07).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Yara ve Yara İyileşmesi.....	7
2.1.1. Yara tipleri	7
2.1.2. Yara iyileşmesi aşamaları	8
2.1.3. Yara iyileşme tipleri.....	11
2.1.4. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler	13
2.2. Diyabet.....	16
2.2.1. Diyabet tanımı ve türleri	16
2.2.2. Diyabet ve komplikasyonları	18
2.2.3. Diyabet ve yara iyileşmesi	19
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri.....	20
2.3.1. Reaktif oksijen türleri.....	21
2.3.2. Antioksidan savunma sistemleri	23
2.3.3. Reaktif oksijen türleri ve yara iyileşmesi.....	25
2.4. Matriks Metalloproteinazlar	27

	Sayfa
2.4.1. Matriks metalloproteinazlar ve yara iyileşmesi	28
2.5. Polifenoller ve Yara İyileşmesi.....	29
2.5.1. Elajik asit.....	30
2.5.2. Karnosik asit	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Elajik asit ve Karnosik asit jel formülasyonun hazırlanması.....	33
3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması	34
3.3. Yara Modelinin Oluşturulması	34
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	35
3.5. Tedavi	35
3.6. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini	36
3.6.1. Dokuda MDA tayini.....	36
3.6.2. Dokuda GSH tayini.....	36
3.6.3. Dokuda NOx tayini	37
3.6.4. Dokuda MMP-2 tayini	37
3.6.5. Dokuda MMP-9 tayini	37
3.7. İstatistiksel Analizlerin Değerlendirilmesi	38
4. BULGULAR	39
4.1. Yara Dokusu MDA Düzeyleri	39
4.2. Yara Dokusu GSH Düzeyleri	40
4.3. Yara Dokusu NOx Düzeyleri.....	41
4.4. Yara Dokusu MMP-2 Düzeyleri.....	43
4.5. Yara Dokusu MMP-9 Düzeyleri.....	44
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ	73
----------------	----

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Yara tipleri	7
Çizelge 3.1. Deney Grupları	35
Çizelge 4.1. Elajik asit ve Karnosik asit uygulamalarının yara dokusundaki MDA, GSH, NOx düzeylerine etkisi	39
Çizelge 4.2. Elajik asit ve Karnosik asit uygulamalarının yara dokusundaki MMP-2 ve MMP-9 düzeylerine etkisi	43

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yara iyileşme aşamaları	8
Şekil 2.2. Yara iyileşme sürecinde gerçekleşen olaylar	9
Şekil 2.3. Yara iyileşme tipleri	12
Şekil 2.4. Yara iyileşmesini etkileyen lokal faktörler	14
Şekil 2.5. Yara iyileşmesini etkileyen sistemik faktörler	16
Şekil 2.6. Diyabetik yara iyileşme döngüsü	20
Şekil 2.7. Reaktif oksijen türleri	21
Şekil 2.8. Antioksidanlar sınıflandırılması	24
Şekil 2.9. Antioksidan süreç	25
Şekil 2.10. Matriks metalloproteinazların sınıflandırılması	28
Şekil 2.11. Elajik asit kimyasal yapısı	31
Şekil 2.12. Karnosik asit kimyasal yapısı	32
Şekil 3.1. a. Diyabet modelinin oluşturulması; b. Yara modelinin oluşturulması; c. Tedavi	36
Şekil 4.1. Yara dokusu MDA düzeyleri	40
Şekil 4.2. Yara dokusu GSH düzeyleri	41
Şekil 4.3. Yara dokusu NOx düzeyleri	42
Şekil 4.4. Yara dokusu MMP-2 düzeyleri	43
Şekil 4.5. Yara dokusu MMP-9 düzeyleri	44

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Yara modelinin oluşturulması (a) 6-mm punch biyopsi (b) yara modelinin oluşturulması	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
dL	Desilitre
Fe	Demir
g	Gram
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipokloröz asit
KCl	Potasyum klorür
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
Na_2CO_3	Sodyum karbonat
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$	Sodyum fosfat
NaNO_2	Sodyum nitrit
NaOH	Sodyum hidroksit
nm	Nanometre
NO	Nitrik oksit
O_2	Singlet oksijen
O_3	Ozon
OH	Hidroksil
ONOO	Peroksinitrit
VCl_3	Vanadyum Klorür

Kısaltmalar	Açıklamalar
CA	Karnosik Asit
CAT	Katalaz
DFU	Diyabetik ayak ülseri
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPN	Diyabetik periferik nöropati
DTNB	5,5 ditibios 2-nitrobenzoik asit
EA	Elajik Asit
ECM	Ekstrasellüler matriks
EPC	Endotelial progenitör hücre
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GDM	Gestasyonel diabetes mellitus
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Okside glutasyon
HIP-1	Hipoksi indüklenebilir faktör-1
IL	İnterlökin
IM	İntramüsküler
IP	İntraperitoneal
KGF	Keratinosit büyüme faktörü
MDA	Malondialdehit
MMPs	Matriks metalloproteinazları
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NOx	Nitrik oksit türevleri
NRF2	Nükleer faktör-eritroid 2
PDGF	Trombosit kökenli büyüme faktörü
RNT	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotosin
T1DM	Tip 1 Diabetes mellitus

Kısaltmalar**Açıklamalar****T2DM**

Tip 2 Diabetes mellitus

TBA

Tiyobarbitürik asit

TBARs

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri

TCA

Trikloroasetik asit

TGF- β Transforme edici büyüme faktörü- β **VEGF**

Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Dokunun normal anatomik yapısının birbirini takip eden fonksiyon kayıplarıyla bozulması yara olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi, yaralanmadan hemen sonra başlayan hücresel, fizyolojik ve moleküler mekanizmaların dinamik ve yüksek düzeyde düzenlendiği süreçtir (Reinke ve Sorg, 2012). Doku harabiyeti ile tetiklenen yara iyileşme süreci, hemostaz, inflammatuar, proliferasyon ve yeniden şekillenme olmak üzere birbirini takip eden dört farklı fazdan oluşmaktadır (Witte ve Barbul, 1997)

Yaralanmadan hemen sonra hemostatik süreç, trombosit hücreler tarafından fibrin pıhtı oluşumu ile başlar. Hemostazda öncelik damarları daraltmak ve damarı kapatmak için kan pıhtısının oluşturulmasıyla kan kaybını önlemektir. Kan pıhtısı aynı zamanda mikrobiyal istilaya karşı savunma ve inflammatuar hücrelerin toplanmasına yönelik geçici bir matris görevi görür (Chandan K. Sen ve Roy, 2012). Trombositler kemotaktik faktörlerin salınımı ile lökositlerin infiltrasyonunu etkilemektedir (Werner ve Grose, 2003). Pıhtıdaki trombositler, inflammatuar hücreler için dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF - β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi güçlü kemotratif maddeleri serbest bırakırlar. Trombositler tarafından salgılanan trombin, interlökin 6 (IL-6), interlökin 8 (IL-8) gibi proinflammatuar sitokinlerin salınımını indükler ve bu sitokinler monosit kemotaksisini uyarır. Fibrin bozulması ve kompleman sistem aktivitesi, inflammatuar sürecin kurulmasında ve yara anjiyogenezini ve stromal hücrelerin çoğalmasında rol oynar. Fibrin, yara dokusunun vaskülerleşmesine yardımcı olan fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ve VEGF' ye bağlanır. Ayrıca fibrin insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF1) bağlanır ve stromal hücre proliferasyonunu desteklemektedir (Sahni ve diğerleri, 1998; Tuan ve diğerleri, 2003).

İnflammatuar süreç, nötrofillerin, makrofajların ve lenfositlerin toplanmasını içermektedir. Kan damarı geçirgenliği artmasıyla nötrofiller ve monositler yara bölgesine geçmektedir ve lokal endotel hücreler hücre-hücre etkileşimlerini kırarak geçirgenliği arttırmaktadır. Yaradaki ilk beyaz kan hücre popülasyonu nötrofillerden oluşmaktadır (Petreaca ve diğerleri, 2007). Yara içinde nötrofiller proteazların ve antimikrobiyal peptitlerin salgılanmasından sorumludur ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu ile yarayı mikrobiyal kontaminasyondan korumak için çeşitli stratejiler uygulamaktadır (Wilgus ve diğerleri, 2013).

Yaralanmayı takip eden iki ila üç gün içerisinde monositler, yaradaki baskın inflamatuvar hücre popülasyonu haline gelmektedir. Yara bölgesine monositlerin kemotaksisi, kemokinler aracılığı ile olmaktadır. Kemokinler, nötrofiller, monositler ve farklı iyileşme aşamalarındaki keratinositler tarafından salgılanırlar(Gillitzer ve Goebeler, 2001; Wetzler ve diğerleri, 2000). Yara içerisindeki monositler makrofajlara farklılaşır. Makrofajlar, apoptik nötrofilleri ve diğer ölü hücreleri uzaklaştırır. Ayrıca antijen sunan hücreler olarak görev alırlar. Sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasından sorumludurlar(Novak ve Koh, 2013). Bu büyüme faktörleri, TGF - β , bazik fibroblast büyüme faktörü (b-FGF), VEGF ve PDGF'dir. Büyüme faktörleri endotel hücrelerini, fibroblastları ve keratinositleri aktive eder. Fibroblastlar ve keratinositler hücre proliferasyonunu ve VEGF ise anjiyogenezi uyararak yara iyileşmesini mümkün kılar (Eming ve diğerleri, 2007). Lenfositler, yara bölgesine ulaşan son lökosit tipidir. Lenfositler, yaradaki mikroplara ve diğer yabancı maddelere karşı spesifik tepki gösterirler (Martins-Green ve diğerleri, 2013).

Proliferasyon fazı fibroblast ve endotel hücrelerin yara bölgesine gelmesi ile başlamaktadır (Lund ve diğerleri, 1999). Serin, sistein ve matriks metalloproteinazlar (MMP) ailelerinin proteazları, fibrin pıhtı ve geçici matris yoluyla hücrelerel göçü kolaylaştırmak için salgılanır. Bu evrenin ana olayları, fibroblast girişi, hücre dışı matriks (ECM) birikimi, yeni kan damarı oluşumu ve yeniden epitelizasyon olarak sıralanabilir (Brix ve diğerleri, 2008).

Fibroblastlar iyileşme evresindeki kilit hücre tipidir ve ECM ve keratinosit oluşumu için yardımcı fibronektin, hyaluronik asit, kolajen ve proteoglikan çoğalması ve üretilmesinden sorumludurlar (Paul Martin ve Leibovich, 2005). Oluşan geçici fibrin matrisi, granülasyon doku ile yer değiştirir. Granülasyon dokusu, gevşek bir fibronektin, hyaluronik asit ve kolajen matriksi içinde gömülü kan damarları, makrofajlar ve fibroblastların yoğun birleşiminden oluşmaktadır. Granülasyon dokusu oluşumu sırasında, önceden var olan damarlardan yeni kan damarları gelişir (anjiyogenez). Anjiyogenik faktörler, fibroblastlar ve makrofajlar, keratinositler ve endotelial hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Y.-J. Li ve diğerleri, 2014).

Yara iyileşmesinin son fazı olan yeniden şekillenme fazı hem yara kasılması hem de kolajen yeniden şekillenmesi ile karakterize edilir. Kolajen metabolizmasının dengesi MMP aktivitesinin düzenlenmesi ile belirlenir. MMP, keratinositler tarafından salgılanmaktadır ve matris yoluyla keratinositlerin göç etmelerine ve yeniden epitelizasyonun geliştirilmesine

yardımcı olmaktadır (Mott ve Werb, 2004). Yara iyileşmesinde kritik öneme sahip olan MMP'ler, proteazlardan ECM'nin çeşitli makromoleküler bileşenlerini parçalayabilen çinko bağımlı endopeptidazlar ailesini oluştururlar. MMP'ler, proteoglikanlar, kolajen gibi bir dizi ECM ile ilgili proteinleri bozar ve yara bölgesinde genel bir proteolitik aktivite gösterir (Saboo ve diğerleri, 2016). Epitel tabakasının tekrar kurulmasından sonra, keratinositler ve fibroblastlar bazal membran oluşturmak için tip IV kolajen salgırlar (Wojtowicz ve diğerleri, 2014). Kolajen dengesinin kurulmasıyla birlikte yara kasılma süreci, yara miyofibroblastları tarafından belirlenmektedir (Toriseva ve Kähäri, 2009). Yara gerilme kuvveti, yaralanmadan 1 ila 8 hafta sonra hızla artmaktadır (Lau ve diğerleri, 2006). Skar oluşumu çocuklarda ve yetişkinlerde yara iyileşmesinin sonucu olarak ifade edilmektedir.

Yara iyileşme süreçlerini etkileyen çok sayıda faktör bulunmaktadır. Yara bölgesinde enfeksiyon, yetersiz kan dolaşımı, hipoksi, doku nekrozu, yabancı partiküllerin varlığı, tekrarlayan travmalar ve yara bölgesinin hareketliliği gibi lokal faktörler yara iyileşme sürecini etkilemektedir. Ayrıca beslenme yetersizliği, diyabet, kronik renal yetmezlik, immün sistem rahatsızlıkları gibi hastalıklar, kortikosteroid kullanımı, hastanın yaşı ve genetik yapısı gibi sistemik faktörler de yara iyileşme sürecinin aksamasına neden olmaktadır (Robson ve diğerleri, 2001; Viera ve diğerleri, 2012).

Sistemik faktörler içerisinde yer alan ve dünya çapında en yaygın hastalıklardan biri olan Diabetes Mellitus (DM), iyileşmeyen kronik yaraların oluşumunda oldukça etkilidir (Burgess ve diğerleri, 2021). DM, kandaki glikoz seviyesinin fazlalığı ve endojen insülin sekresyonun veya etkisinin yetersizliği ile karakterize olan metabolik bir rahatsızlıktır (Maritim ve diğerleri, 2003). Dünya Sağlık Örgütü diyabeti 21. yüzyılın en önemli toplum sağlığı sorunlarından biri olarak tanımlarken, Enternasyonal Diyabet Federasyonunun (IDF) verilerine göre; 2021 yılı itibarıyla dünyada 537 milyon diyabet hastası vardır ve 6,7 milyon kişi diyabet yüzünden hayatını kaybetmiştir. Diyabetli kişi sayısının 2030'da 643 milyona, 2045'te ise 784 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (Sun ve diğerleri, 2022).

Diyabetin oluşumu birçok patojenik süreç içermektedir. Bu süreçler, pankreas hücrelerinin otoimmün yıkımına bağlı olarak insülin eksikliğine bağlı olarak insülin etkisine dirençle sonuçlanan anormalliklere kadar uzanır. β -hücreleri tarafından salgılanarak kan dolaşımındaki glikozun hücre içine alınmasını sağlayan insülin hormonu, β -hücrelerinin fonksiyonun bozulmasıyla sekresyonun etkilenmesi ve insülin direncinden kaynaklanan

insülin eksikliği kanda yüksek glikoz seviyelerine yani hiperglisemiye neden olmaktadır (P. Zhang ve diğerleri, 2020). Gecikmeli tedavi olmadan diyabet, nöropati, retinopati, nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonlara yol açarken, anjina, felç, miyokard enfarktüsü, koroner arter hastalıkları, konjestif kalp yetmezliği gibi makrovasküler komplikasyonlara da neden olmaktadır (Calcutt ve diğerleri, 2009; Heinonen ve diğerleri, 2015). Ayrıca hem mikro hem de makrovasküler komplikasyonlar, diyabetik ayak gibi iyileşmeyen kronik yaraların oluşmasına yol açmaktadır (Burgess ve diğerleri, 2021).

Komplikasyonlar sonucu meydana gelen kronik yaraların iyileşme fazları, akut yara iyileşme fazlarından farklılık göstermektedir. Kronik yaralar, iyileşmenin belirli bir aşamasında kalır ve bu aşama genellikle inflamatuvar aşamasıdır (Diegelmann ve Evans, 2004). İnflamatuvar aşamasının uzamasında ve yarayı kronikleştiren önemli faktörlerden birisi, nötrofillerin yara uzun süreli varlıklarıdır (Conus ve diğerleri, 2008). Makrofaj fonksiyonunun da yara bölgesinde bozulması durumunda uzamış inflamatuvar durumlar oluşur. (Egozi ve diğerleri, 2003). Diyabetik yaralarda, makrofajlar aşırı düzeyde pro-inflamatuvar sitokinleri üretir (Boniakowski ve diğerleri, 2017). Diyabetteki inflamatuvar yanıt tipik olarak pro-inflamatuvar sitokinlerin kronik artışı ile karakterize edilir (Bogdanski ve diğerleri, 2007; Tilg ve Moschen, 2008). Pro-inflamatuvar aracılara ek olarak diyabetik yara iyileşmesinde büyüme faktörleri de inflamasyon mekanizmasında önemli rol oynamaktadır. Büyüme faktörleri, iyileşme sürecinin tüm aşamalarında yer alan biyolojik olarak aktif polipeptitlerdir (Patel ve diğerleri, 2019). Doku oluşumunun granülasyon fazı sırasında erken inflamatuvar fazı desteklerler (Barrientos ve diğerleri, 2008). VEGF, IGF, TGF- β , keratinosit büyüme faktörü (KGF), PDGF, EGF ve FGF yara iyileşmesinin inflamasyon aşamasında rol alan en önemli büyüme faktörlerinden bazılarıdır.

Akut inflamasyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir diğer faktör lipoksinler, çözücüler, proteazlar gibi lipid mediatörlerinin aktivasyonudur. Akut yara iyileşmesinde sıkıca düzenlenmiş olan metalloproteinazlar, serin proteinazlar ve nötrofil elastazları dahil olmak üzere çeşitli proteaz üretimi ve aktivasyonu kronik yaralarda değişmektedir (Mirastschijski ve diğerleri, 2002). Kronik yaralar, bağ dokusunun parçalanmasını daha da artıran proteazlar (kolajenaz ve elastaz dahil) içeren salgılayan bol miktarda proteaz ve nötrofil seviyeleri ile karakterizedir. Bu durum kalıcı bir iltihaplanma durumuna neden olur. Kronik yaraların proteolitik ortamı açısından, yara dokularının proinflamatuvar sitokinlere uzun süre maruz kalması, metalloproteinazların doku inhibitörlerinin (TIMP'ler) sentezini inhibe ederken,

MMP'lerin üretimini uyarabilmektedir (Trenrove ve diğerleri, 1999). Ek olarak, diyabete bağlı olarak yara iyileşme sürecini etkileyen önemli faktörlerden biri de reaktif oksijen türevleridir (Deng ve diğerleri, 2021). Diyabetle birlikte artan ROT oksidatif stresin varlığını göstermektedir (Kunkemoeller ve Kyriakides, 2017).

Doğa, binlerce yıldır tıbbi tedavilerin kaynağı olmuştur. Günümüzde giderek yaygınlaşan yeşil biyoteknoloji kapsamında tıbbi tedavilere alternatif olarak doğal şifalı bitkilere yönelim oldukça artmıştır. Artan kronik yara koşulları insidansı ile birlikte doğal bitkilerin tıbbi özelliklerinin kullanılmasının araştırılması, yara koşullarını iyileştiren özellikleri nedeniyle büyük araştırma ilgisi kazanmaktadır (Hamdan ve diğerleri, 2017; Ibrahim ve diğerleri, 2018). Bu alanda doğal polifenoller üzerine yapılan çalışmalarda, polifenollerin potansiyel faydaları giderek daha fazla dikkat çekmiştir (Bahadoran ve diğerleri, 2013). Polifenoller, meyvelerde, sebzelerde, tahıllarda büyük ölçüde doğal olarak bulunan bileşiklerdir (Pandey ve Rizvi, 2009). Tanenler, saponinler, flavonoidler gibi biyoaktif fitokimyasal bileşenler, fenolik bileşiklerin yara iyileştirici özelliklerine katkıda bulunabilirler (Morgan ve Nigam, 2013).

Yara iyileşme sürecinin bir veya daha fazla fazının fitokimyasallar tarafından modüle edilebileceği ve cildin dış tabakasına kolayca nüfuz edebildikleri literatür tarafından açıkça görülmüştür. Bu özellikler, doğal bileşikler kronik yaralar da dahil olmak üzere çeşitli kritik hastalıkları tedavi etmek için önemli bir terapötik kategori haline getirir (Khalil ve diğerleri, 2021).

Elajik asit (EA), polifenolik bileşiklerden flavonoidlerin (C₁₄H₆O₈; MW: 302.202; 3,7,8-tetrahidroksi-benzopiran-5,4,3-c-debenzopiran-5,10-dion) bir üyesidir. Genellikle bitkiler tarafından üretilir ve ellagitanninler olarak bilinen tanen olarak oluşur. Elajik asit doğal olarak birçok meyve (nar, böğürtlen, ahududu), fındık, ceviz, badem ve tohumlarda bulunur (Derosa ve diğerleri, 2016). Elajik asit antidiyabetik aktivite, anti-inflamatuar, antioksidan aktiviteler gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahiptir (Ahad ve diğerleri, 2014; Baek ve diğerleri, 2016; García-Niño ve Zazueta, 2015; Uzar ve diğerleri, 2012).

Karnosik asit (CA), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) gibi Lamiaceae familyasının bitki türlerinde bulunan bir labdan tipi fenolik diterpendir (Loussouarn ve diğerleri, 2017). CA, anti kanser, anti inflammatuar ve antioksidan özellikleri

dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir (Moore ve diğerleri, 2016; Sahu ve diğerleri, 2011; Yang ve diğerleri, 2017). Karnosik asit, yağda çözünen bir bileşiktir ve bir katekol kısma sahiptir. Sahip olduğu ketokol kısmından dolayı antioksidan özellik gösterdiği düşünülmektedir. Bu özelliğinden dolayı gıda, kozmetik, sağlık alanları gibi birçok endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır (Loussouarn ve diğerleri, 2017).

Doğal antioksidan özelliğe sahip oldukları bilinen Elajik asit ve Karnosik asit 'in oksidatif olaylar üzerine etkileri, anti-inflamatuar ve anti kanserojenik etkileri birçok çalışmada ele alınmıştır. Ancak yara iyileşme sürecinde, yara dokusundaki oksidatif olaylar ve anti-inflamatuar etkileri üzerine yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada Elajik asit ve Karnosik asit kullanılarak, diyabetik yaraların iyileşme sürecinde meydana gelen oksidatif olaylar üzerine fenolik ve diterpen bileşiklerin sinerjik etki gösterip göstermediklerini biyokimyasal parametreler ile ortaya konulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara ve Yara İyileşmesi

Fiziksel, kimyasal veya termal hasarlar sonucu canlı dokusunun hücresel, anatomik ve fonksiyon bütünlüğünün bozulması yara olarak tanımlanmaktadır (Nagle ve diğerleri, 2022). Doku bütünlüğünün bozulmasını takiben dokunun eski formuna dönmesinde birden fazla hücre tipinin ve sinyal yollarının ardışık aktivasyonunu içeren karmaşık bir süreçtir (Oliveira ve diğerleri, 2022). Yara iyileşme sürecinin farklı biyolojik fonksiyonlar nedeniyle yaralar kronik ve akut yaralar olarak kategorize edilirler. Kronik yaralar, fiziksel ağrı ve sosyo-ekonomik komplikasyonlarda artış ile ilişkili olduğundan hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir. Ayrıca, kronik yaraların insidansı ve prevalansının artması sağlık sistemleri için artan maliyetlerle neden olmaktadır (M. Olsson ve diğerleri, 2019).

2.1.1. Yara tipleri

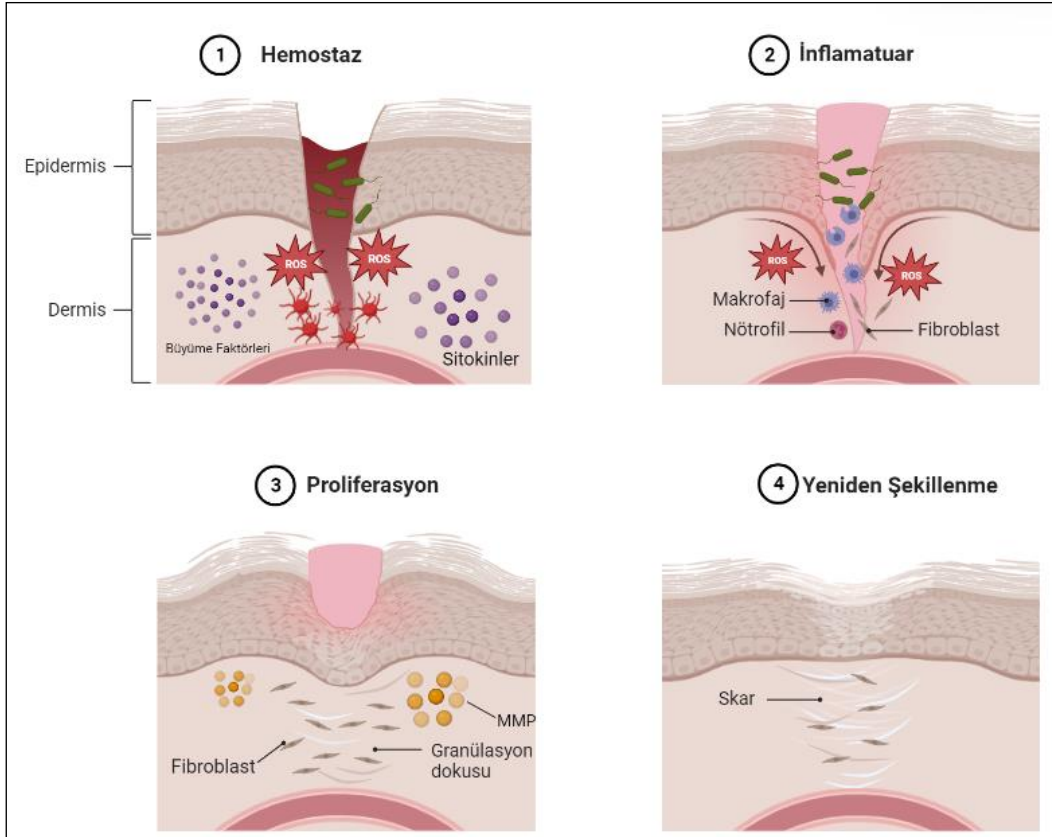
Yara tipleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 2.1. Yara tipleri

YARA TİPLERİ		
Mekanik Travmalara Bağlı Yaralar	Künt travmatik yaralar	Abrazyon / sıyrık
		Kontüzyon / bere
		Laserasyon / yırtık
		Kemik kırıkları
	Kesici alet yaraları	
	Kesici-delici alet yaraları	
	Kesici-ezici alet yaraları	
	Delici alet yaraları	
Fiziksel Travmalara Bağlı Yaralar	Ateşli silah yaraları	
	Isı yaraları	
	Işık yaraları	
	Elektrik yaraları	
Kimyasal Travmalara Bağlı Yaralar	Barotravma yaraları	
	Asit	
Biyolojik Etkilere Bağlı Yaralar	Baz	
	Hayvan ısırık yaraları	
	Böcek sokmalarına bağlı yaralar	
	Toksinler	
İyileşme Süresine Bağlı Yaralar	Akut yaralar	
	Kronik yaralar	
Vasküler Kaynaklı Yaralar	Arteriyel dolaşım bozukluğu yaraları	
	Venöz dolaşım bozukluğu yaraları	
Hastalıklar Sırasında Ortaya Çıkan Yaralar	Metabolik hastalıklar	
	Hematolojik	
	Malign hastalıklar	
	Enfeksiyon hastalıkları	

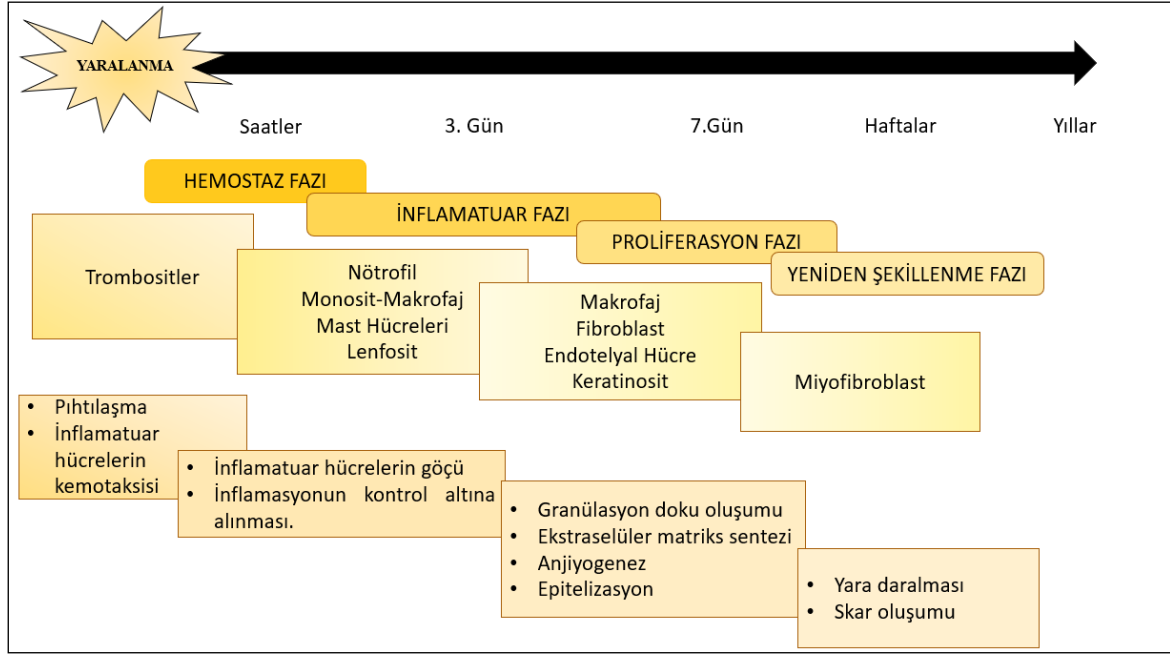
2.1.2. Yara iyileşmesi aşamaları

Yara iyileşme süreci ardışık olarak devam eden hemostaz fazı, inflamatuvar faz, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme aşamaları olmak üzere genellikle 4 aşamada incelenmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Yara iyileşme aşamaları

İlk aşama olan hemostaz, yaralanma anından hemen sonra başlar ve genellikle saatler içinde tamamlanır. İkinci aşama, inflamatuvar, hemostazdan kısa bir süre sonra başlar ve genellikle yaralanmadan sonraki ilk 24 ila 72 saat içinde tamamlanır; bununla birlikte, yaralanmadan sonra 5 ila 7 gün kadar sürebilir (Strodtbeck, 2001). Üçüncü aşama, proliferasyon, tipik olarak yaralanmadan 1 ila 3 hafta sonra ortaya çıkmaktadır. Dördüncü ve son aşama olan yeniden şekillenme, yaralanmadan yaklaşık 3 hafta sonra başlayıp, ancak fizyolojik tamamlamanın sağlanması aylar, hatta birkaç yıl arasında değişen sürelerde gerçekleşebilmektedir (Russell, 2000) (Şekil 2.2). Bu nedenle, bir yaralanmadan sonraki günler ila birkaç hafta içinde cilt sağlam görünmesine rağmen alttaki doku yara iyileşmesinin son aşamalarından geçtiği için hala hasara karşı savunmasızdır.



Şekil 2.2. Yara iyileşme sürecinde gerçekleşen olaylar (Baltzis ve diğerleri, 2014)

Hemostaz

Fizyolojik yara iyileşmesinin ilk aşaması olan hemostaz, yaralanmadan hemen sonra meydana gelmekte ve yaralanmadan birkaç saat sonra geçici bir yara matrisinin oluşmasını sağlamaktadır (Reinke ve Sorg, 2012). Bu evre aynı zamanda iyileşme süreci için birçok hücre ve faktörün toplanmasını yönetmek zorunda olduğu 'gecikme evresi' olarak da tanımlanmaktadır (Robson ve diğerleri, 2001).

Cilt yaralanması sırasında, genellikle kanama meydana gelir. Bu kanama sadece mikroorganizmaları veya antijenleri yaradan temizlemeye hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda hemostazı da aktive eder. Hemostaz çeşitli faktörler tarafından başlatılmaktadır. Hemostazda öncelik, kan kaybını önlemek amacıyla, kan damarlarını daraltmak ve kan pıhtısı oluşturmaktır. Kan pıhtısı ayrıca mikrobiyal istilaya ve inflammatuar hücrelerin toplanmasına karşı savunma için geçici bir matris görevi de görmektedir (C. K. Sen ve Roy, 2008).

İlk olarak yaralı cilt hücreleri tarafından pıhtılaşma faktörleri salınır ve dış pıhtılaşma kaskadı aktive edilir (Cooper, 1999). Trombosit agregasyonu ve hasarlı derilerden kolajenin açığa çıkması, intrinsik pıhtılaşma kaskadını başlatır ve trombosit aracılı vazokonstriksiyonu tetikler. Bu vazokonstriksiyon, daha fazla kan kaybını önlerken, fibrin pıhtısı yaralanma

bölgesi üzerinde geçici bir matriks oluşturur ve mikroorganizmaların içeri girmesini önler(Sinno ve Prakash, 2013).

Hemostaz yara iyileşmesi içinde kritik bir öneme sahiptir (P. Martin, 1997). Fibrin pıhtısı, fibroblast ve keratinositlerin akışını yönlendiren ve destekleyen geçici bir matris veya yapı iskelesidir (Clark, 1988). Bu geçici matris, fibrin ve fibrine afinitesi olan çok amaçlı bir adezyon proteini olan fibronektinden oluşur. Fibronektin, yara iyileşmesinde birçok rolü vardır. Yara onarım hücrelerinin göçü için bir kemo-çekici olarak görev alırken aynı zamanda kolajen liflerinin birikmesi için bir şablon oluşturmaktadır. Ayrıca hücre dışı matris (ECM) kalıntılarını parçalayarak ve makrofajların fagositik özelliklerini aktive etmektedir(Clark, 1988).

Trombosit aktivasyonu, degranülasyona ve doku onarımı sürecini indükleyen ve aynı zamanda bağışıklık savunmalarını aktive eden çeşitli güçlü sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınmasına neden olur. Trombositler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), epidermal büyüme faktörü (EGF), dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF - β), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerini salgılayan alfa granüllerini degranüle eder ve serbest bırakır. Serbest kalan granüller, fibroblastları, endotel hücrelerini ve makrofajları çekerek ve aktive ederek yara iyileşme sürecini başlatır.

Bu büyüme faktörleri, fibroblastların ve keratinositlerin akışı, kolajen ve diğer ECM proteinlerinin sentezi, yara mikro çevresindeki hücre hareketinin düzenlenmesi, yeni kılcal damarların ve vasküler yatakların yönlendirilmiş büyümesi dahil olmak üzere çeşitli moleküler işlemlerden sorumludur. Trombositler tarafından salgılanan trombin, IL-6, IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını indükler bu sitokinler monosit kemotaksisini uyarır. Fibrin, yara dokusunun vaskülerleşmesine yardımcı olan FGF-2 ve VEGF' ye bağlanır. Ayrıca fibrin IGF-1 bağlanır ve stromal hücre proliferasyonunu desteklemektedir (Sahni ve diğerleri, 1998; Tuan ve diğerleri, 2003).

İnflamatuvar

İnflamatuvar yanıt, hasarlı doku hücreleri ve kılcal damarlardan, aktive trombositlerden ve bunların salgılamış olduğu sitokinler tarafından tetiklenir. İnflamatuvar faz, nötrofillerin,

makrofajların ve lenfositlerin toplanmasını içeren bir süreçtir. Yaralanmadan birkaç dakika sonra, yara bölgesindeki ilk kan hücre popülasyonunu nötrofiller oluşturmaktadır (Petreaca ve diğerleri, 2007). Nötrofiller lokal fibroblastları ve epitel hücrelerini aktive ederek yara onarımını başlatır(Wilgus ve diğerleri, 2013). Yara içinde nötrofiller proteazların ve antimikrobiyal peptitlerin salgılanmasından sorumludur ayrıca ROT oluşumu ile yarayı hücrelere ve yeni kan damarlarına destek veren yeni hücre dışı matrisi sentezler ve biriktirirler.

Yeniden şekillenme

Yara iyileşmesinin yeniden şekillenmesi süreci, fibrin pıhtısının birikimi ile başlayan ve birkaç yıl sonra olgun, tip I kolajenden zengin bir skar oluşumu ile biten tüm yaralanma yanıtını kapsamaktadır (J. Li ve diğerleri, 2007). Yara ECM'sinin yeniden şekillenmesinden, ilk fibrin , sinyal molekülleri olarak işlev gören elastin fragmanlarının veya elastokinlerin salınmasına neden olmaktadır (Duca ve diğerleri, 2004). Elastin, öncüsü olan tropoelastin'den oluşur ve iyileşmenin erken dönemlerinde anormal düzenleme gösterir. Aslında, olgun elastin lifleri genellikle yaralanmadan aylar sonra yara dokusunda görüldükçe hızla artmaktadır (Lau ve diğerleri, 2006). Skar oluşumu çocuklarda ve yetişkinlerde yara iyileşmesinin sonucu olarak ifade edilmektedir.

2.1.3. Yara iyileşme tipleri

Yara iyileşmesi 3 farklı tipte meydana gelebilir (şekil 2.3).

Primer yara iyileşmesi

Bir yara oluşturulduktan sonraki 12-24 saat içinde kapatıldığı yara iyileşme tipidir. Yara kapanmaya doğru ilerler (Enoch ve Leaper, 2008; Strodbeck, 2001).

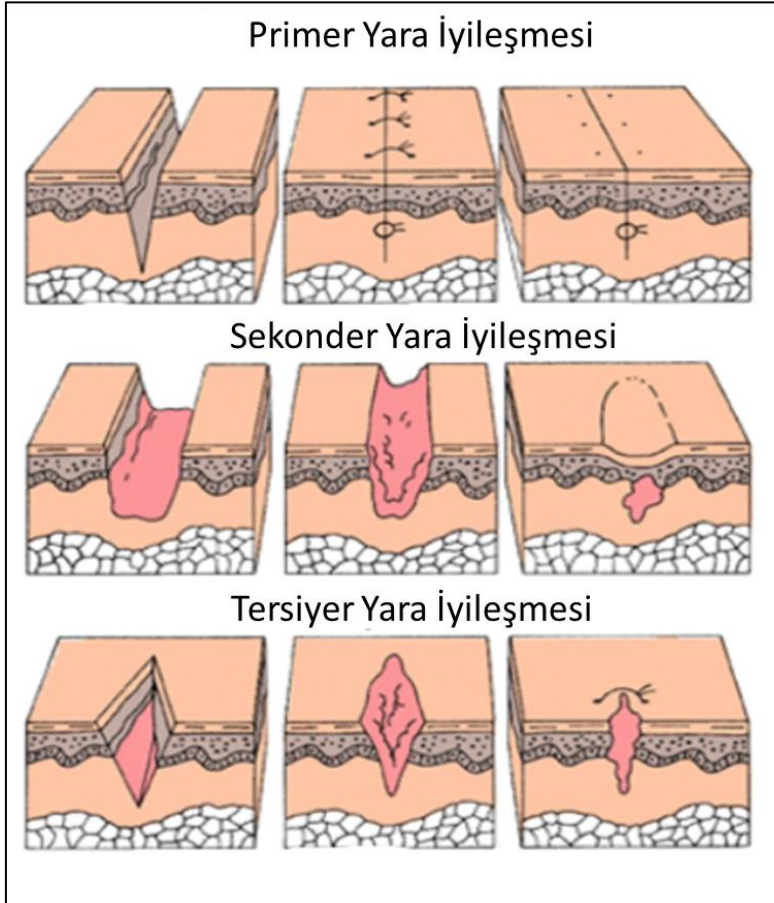
Sekonder yara iyileşmesi

Doku kenarlarının yakınlaştırılmadığı büyük veya derin bir yara ile ilişkili iyileşme tipi sekonder iyileşme olarak tanımlanır. Epitel hücrelerinin rejenerasyonu dokuyu orijinal dokusunun içe doğru büyümesi ve ardından kolajenin döşenmesiyle hücre dışı matrisin birikmesi gelir. Bu tür iyileşmede anahtar rol oynayan hücre topluluğunun miyofibroblastları

olduğu düşünülmektedir. Yaralanmadan yaklaşık üç gün sonra yarada belirirler ve onuncu ile yirmi birinci günler arasında maksimum düzeye çıkarlar. Normal bir yara iyileşme sürecinde yara gerilme kuvvetini kolajen oluşturmaktadır. Ancak sekonder yara iyileşmede süreç yavaş ilerlemekte ve epitelizasyonun gelişmesi 4-8 hafta arasında değişmektedir (Enoch ve Leaper, 2008; Strodtbeck, 2001).

Tersiyer (gecikmiş) yara iyileşmesi

Genellikle enfekte veya açılmış cerrahi olan yaralarla ilişkili iyileşme; iyileşme, kontaminasyonu veya enfeksiyonu tedavi etmek ve birincil kapatma için cilt kenarlarına yaklaştırmadan önce yeni dokunun büyümesine izin vermek için yaranın önceden belirlenmiş.



Şekil 2.3. Yara iyileşme tipleri (Shyam Bass, 2021)

2.1.4. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Yara iyileşmesi dinamik bir hücrel sinyalleşme ve davranışsal olaylar dizisidir. Birden fazla faktör yara iyileşme sürecinin bozulmasına neden olabilir. Yara iyileşmesinde onarımı etkileyen faktörler lokal ve sistemik faktörler olarak kategorize edilebilir. Lokal faktörler, Sistemik faktörler ise iyileşme yeteneğini etkileyen genel sağlık veya hastalık durumlarıdır (Şekil 2.5). Bu faktörlerin çoğu birbiriyle yakından ilişkilidir ve sistemik faktörlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri lokal etkiler yoluyla gerçekleşir (Guo ve Dipietro, 2010).

Lokal faktörler

Enfeksiyon

İnflamasyon, yara iyileşme sürecinin normal bir parçasıdır. Ancak kontamine mikroorganizmaların yara bölgesinden uzaklaştırılması önemlidir. Yara ortamında bakterilerin ve endotoksinlerin yüksek seviyelerde olması, interlökin-1 (IL-1) ve TNF- α gibi fazın uzamasına ve yara iyileşme sürecinin aksamasına yol açar. Uzun süreli iltihaplanma, ECM'yi bozabilen bir proteaz ailesi olan MMP seviyesinin artmasına da yol açar. Artmış proteaz içeriği ile paralel olarak, doğal olarak oluşan proteaz inhibitörlerinin seviyesinde bir azalma meydana gelir. Bu sürecin uzaması yara iyileşmesini kronik bir duruma getirebilir ve iyileşmeyen yaraların oluşmasına neden olur (Menke ve diğerleri, 2007).

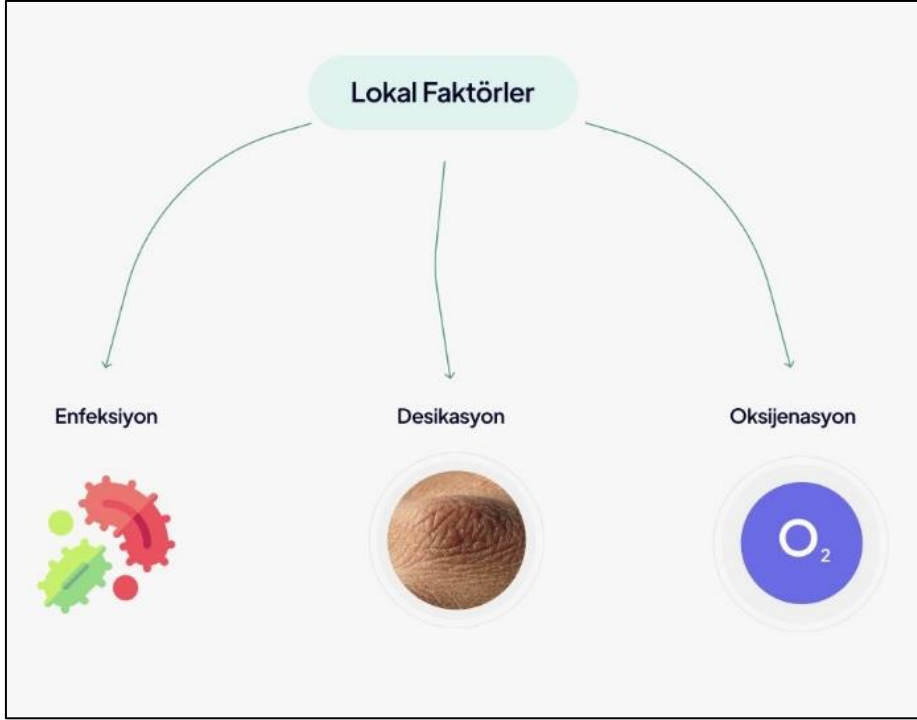
Desikasyon

Yara iyileşmesi, hücrelerin susuz kaldığı ve öldüğü kuru bir ortamdan ziyade nemli bir bölgesinde iyileşmeyi engelleyen bir kabuk veya kabuk oluşmasına neden olur. Yara iyileşme sürecinde yara ortamı nemli tutulduğunda epidermal hücre migrasyonu artar ve epitelizasyon teşvik edilir (Thomas Hess, 2011).

Oksijenasyon

Oksijen, enerji üretiminde temel olarak hücre metabolizmasında oldukça önemlidir ve neredeyse tüm yara iyileştirme süreçleri için kritiktir. Oksijen, yara iyileşme aşamalarında migrasyon ve anjiyogenezin de önemli destekleyicileridir (Rodríguez ve diğerleri, 2010).

Normal olarak iyileşen yaralarda, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit (O_2) gibi ROT'un hücre hareketliliği, sitokin etkisi dahil olmak üzere yara iyileşmesiyle ilişkili anahtar hipoksi hem de hiperoksi, ROT üretimini artırır, ancak artan bir ROT seviyesi, yararlı etkiyi aşar ve ek doku hasarına neden olur (Rodríguez ve diğerleri, 2010) . Bu aşama 2.3.3'te daha detaylı olarak ele alınmıştır.



Şekil 2.4. Yara iyileşmesini etkileyen lokal faktörler (Guo ve Dipietro, 2010)

Sistemik faktörler

Beslenme

Yeni doku oluşumunu içeren yara iyileşme süreci, metabolik ve kalori gerektiren bir süreçtir. Yara mikro çevre açısından bakıldığında, hücresel onarım mekanizmalarını, kemotaktik tepkileri (büyüme faktörleri ve sitokin tepkisi), hücre motilitesini, bölünmesini ve farklılaşmasını mümkün kılmak için enerji üretilmesi gerekmektedir. Yara makro çevre ölçeğinde bakıldığında ise iyileşmeyen yaraları olan hastalar sıklıkla beslenme yetersizliklerinden mustarıptır. Beslenme eksikliği olanlar, olmayanlara kıyasla iyileşmesi daha yavaş olan kronik yaralar geliştirme olasılığı daha yüksektir (Chandan K Sen, 2019).

Diyabet

Kandaki glikoz seviyesinin fazlalığı ve endojen insülin sekresyonun veya etkisinin yetersizliği ile karakterize metabolik bir hastalık olan diyabet yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Diyabetli bireylerde meydana gelen bozulmuş iyileşmesi, hipoksi, fibroblastlar ve epidermal hücrelerde işlev bozukluğu, bozulmuş anjiyogenez, yüksek MMP ve ROT seviyeleri, azalmış konakçı bağışıklık direnci ve nöropatiyi içerir (Burgess ve diğerleri, 2021; Woo ve diğerleri, 2007). Diyabet ve yara iyileşmesi 2.2.3'te detaylı olarak açıklanmıştır.

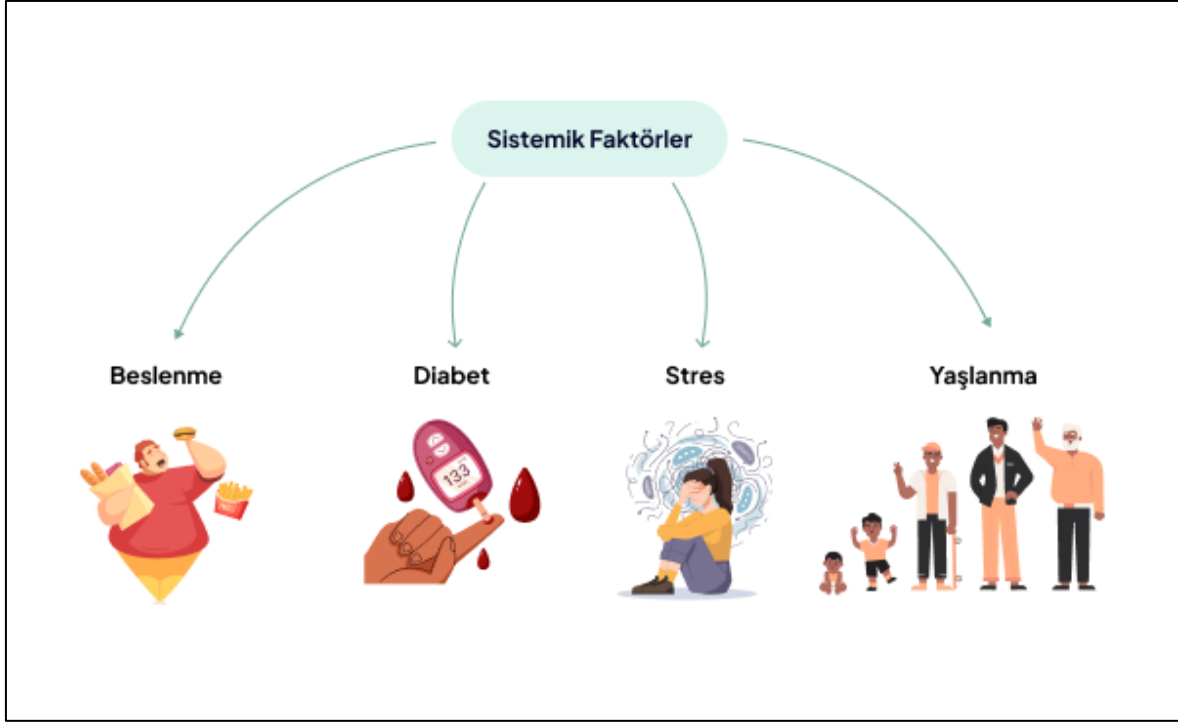
Stres

İnsan sağlığı ve sosyal davranışları üzerinde stresin büyük etkisi vardır. Kardiyovasküler hastalık, kanser, sorunlu yara iyileşmesi ve diyabet gibi birçok hastalık stresle ilişkili olduğu bilinmektedir. Yapılan hem insan hem de hayvan çalışmalarıyla psikolojik stresin yara iyileşmesinde önemli bir gecikmeye neden olduğu gösterilmiştir (Marucha ve diğerleri, 1998). Stres, glukokortikoid seviyesinin yükselmesine sebep olur. Glukokortikoid farklılaşmayı ve proliferasyonu baskılayarak, gen transkripsiyonunu düzenleyerek ve immün hücre kaçakçılığında yer alan hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak immün hücreleri etkiler (Sternberg, 2006). Stres, yara bölgesinde proinflatuar sitokinlerin seviyelerini azalmasına yol açar (Godbout ve Glaser, 2006). Böylece psikolojik stres, yara bölgesindeki normal hücre aracılı bağışıklığı bozarak iyileşme sürecinde önemli bir gecikmeye neden olmaktadır.

Yaşlanma

Artan yaşla birlikte meydana gelen yapısal ve mekanik değişiklikler, cildin yaralanmaya duyarlılığı ve ardından gelen yara iyileşme süreci üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Hücresel ve moleküler seviyedeki birçok klinik ve hayvan çalışması göstermiştir ki yaşa bağlı değişikliklerin yara iyileşmesindeki gecikmelere neden olmaktadır. Sağlıklı yaşlı yetişkinlerde, yaşlanmanın etkisinin yara iyileşmesinde geçici bir gecikmeye neden olduğu, ancak iyileşme kalitesinde gerçek bir bozulmaya neden olmadığı yaygın olarak kabul edilmektedir (Keylock ve diğerleri, 2008). İyileşme kapasitesindeki yaşa bağlı değişiklikler gözden geçirildiğinde, trombosit agregasyonu, inflammatuar mediatörlerin salgılanmasının

artması, makrofajların ve lenfositlerin gecikmiş infiltrasyonu, bozulmuş makrofaj fonksiyonu, büyüme faktörlerinin salgılanmasının azalması, gecikmiş yeniden epitelizasyon, gecikmiş anjiyogenez ve kollajen birikimi, azalmış kollajen devri ve yeniden şekillenmesi ve yara mukavemetinin azalması dahil iyileşmenin her aşamasının yaşa bağlı karakteristik değişikliklere uğradığı gözlemlenmiştir (Gosain ve Dipietro, 2004).



Şekil 2.5. Yara iyileşmesini etkileyen sistemik faktörler (Guo ve Dipietro, 2010)

2.2. Diyabet

2.2.1. Diyabet tanımı ve türleri

Diabetes mellitus (DM) kandaki glikoz seviyesinin fazlalığı ve endojen insülin sekresyonun veya etkisinin yetersizliği ile karakterize olan metabolik bir rahatsızlıktır (Maritim ve diğerleri, 2003). Diyabetin oluşumu birçok patojenik süreç içermektedir. Bu süreçler, pankreas hücrelerinin otoimmün yıkımına bağlı olarak insülin eksikliğine bağlı olarak insülin etkisine dirençle sonuçlanan anormalliklere kadar uzanır. β -hücreleri tarafından salgılanarak kan dolaşımındaki glikozun hücre içine alınmasını sağlayan insülin hormonu, β -hücrelerinin fonksiyonun bozulmasıyla sekresyonun etkilenmesi ve insülin direncinden

kaynaklanan insülin eksikliği kanda yüksek glikoz seviyelerine yani hiperglisemiye neden olmaktadır (P. Zhang ve diğerleri, 2020).

Type 1 diabetes mellitus (T1DM)

Pankreas β hücrelerinin kaybı ile insülin hormonu eksikliğine bağlı kan glikoz seviyesinin artmasıyla oluşan hiperglisemik durumla karakterize olan, insüline bağımlı diabetes mellitus olarak da adlandırılan otoimmün bir hastalıktır (Atkinson ve diğerleri, 2014). Özellikle çocukluk ve ergenlik dönemlerinde en sık görülen endokrin ve metabolik bir rahatsızlıktır (Gale, 2005). Pankreas β hücrelerinin kaybı, otoantikorların oluşumu ile birlikte gerçekleştiğinde tip 1a diabetes mellitus olarak ifade edilmektedir. Ayrıca T hücreleri tarafından β hücrelerinin yıkım mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte genetik yatkınlık ve viral enfeksiyonlar, toksinler gibi çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülmekte ve bu diyabete idiopatik tip 1 diabetes mellitus denilmektedir. Type 1 diabetes mellitusta meydana gelen hiperglisemi ROT üretiminin artırmasına ve buna bağlı insülin sekresyonunun ve etkisinin azalmasına neden olmaktadır (Katsarou ve diğerleri, 2017; Sakurai ve Tsuchiya, 1988; P. Zhang ve diğerleri, 2020).

Type 2 diabetes mellitus (T2DM)

Diyabet türleri arasında en yaygın gözükten türdür. Azalan insülin sekresyonu, insülin direnci ve aşırı glukagon üretimi gibi birçok patolojik sürecin neden olduğu hiperglisemi ile karakterizedir. İnsülin bağımsız diabetes mellitus olarak da bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte nedeni, genellikle iskelet kası, karaciğer ve yağ dokusunda önceden var olan insülin direncinin arka planına bağlı olarak pankreas β -hücreleri tarafından kademeli olarak bozulmuş insülin sekresyonudur (DeFronzo ve diğerleri, 2015). İnsülin direncinin üstesinden gelmek için kan şekeri seviyesini korumak için insülin üretimi artırılır, artan insülin sekresyonu insülin direncini dengeleyememektedir (Rochette ve diğerleri, 2014). Tip 2 diyabet oluşumunun faktörleri obezite, fazla kilo, genetik bileşen (miyozin ağır zincir genleri), hareketsiz yaşam tarzı ve yaşlılık olarak bildirilmiştir (Gerstein ve diğerleri, 2007; A. H. Olsson ve diğerleri, 2011). Yapılan birçok çalışmada oksidatif stresin tip 2 diyabeti hem insülin sekresyonunu hem de fonksiyonunu etkileyerek şiddetini arttırdığı ve ayrıca DNA, protein ve lipidlerin zarar görmesi nedeniyle birçok mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyona neden olduğu gösterilmiştir (Ayepola ve diğerleri, 2014).

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)

Gebelik döneminde başlayan, karbonhidrat intoleransla ilişkilenen diyabet türüdür (Kühl, 1991). Gebelik komplikasyonları arasında bilinmesine rağmen epidemiyolojisi tam olarak çalışılmamıştır ve oluşma insidansı çok düşüktür (King, 1998). İnsüline karşı artan doku direncine bağlı olarak insülin ihtiyacı açığa çıkar, gebelerin büyük bir çoğunluğunda oluşan insülin direnci ve insülin miktarı arasındaki denge kolaylıkla korunur. Ancak bu denge korunamaz ise bireyde hiperglisemi meydana gelir. Bu durumla genellikle gebeliğin son yarısında karşılaşılmaktadır. İnsülin direnci doğum zamanına kadar giderek artar ve sonrasında çoğu zaman hızla normal döner (Ben-Haroush ve diğerleri, 2004).

2.2.2. Diyabet ve komplikasyonları

DM, tüm dünyada yaygın olarak görülen kronik bir rahatsızlıktır. Dünya Sağlık Örgütü diyabeti 21. yüzyılın en önemli toplum sağlığı sorunlarından biri olarak tanımlarken, Enternasyonal Diyabet Federasyonunun (IDF) verilerine göre; 2021 yılı itibarıyla dünyada 537 milyon diyabet hastası vardır ve 6,7 milyon kişi diyabet yüzünden hayatını kaybetmiştir. Diyabetli kişi sayısının 2030'da 643 milyona, 2045'te ise 784 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (Federation, 2021). Dünyada hızla yükseliş gösteren diyabet, ciddi oranda morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. Yüksek maliyetli tedaviler, iş gücü kayıpları nedeniyle hem hastayı hem de toplumu büyük ölçüde etkilemektedir. Hastalığın hem hasta hem de toplumsal boyutu ele alındığında etkilerini en aza indirmek amacı ile hastalığın erken tespiti oldukça önemlidir.

Gecikmeli tedavi olmadan diyabet, nöropati, retinopati, nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonlara, anjina, felç, koroner arter hastalıkları, miyokard enfarktüsü, konjestif kalp yetmezliği gibi makrovasküler komplikasyonlara neden olmaktadır (Calcutt ve diğerleri, 2009; Heinonen ve diğerleri, 2015) (Şekil 2.6). Ayrıca hem mikro hem de makrovasküler komplikasyonlar diyabetik ayak gibi iyileşmeyen kronik yaraların oluşmasına yol açmaktadır (Burgess ve diğerleri, 2021). Hipertansiyon ve lipoprotein metabolizma anormallikleri yanı sıra diyabetli kişilerin kanser, tüberküloz ve depresyon gibi rahatsızlıklara yakalanma riskinin daha fazla olduğu düşünülmektedir (Gong ve diğerleri, 2006; Roy ve Lloyd, 2012). Diyabetik ayak ülseri (DFU), diyabetik periferik nöropatinin (DPN) en karmaşık komplikasyonudur. DPN'nin içsel ve dışsal faktörleri, ayakları

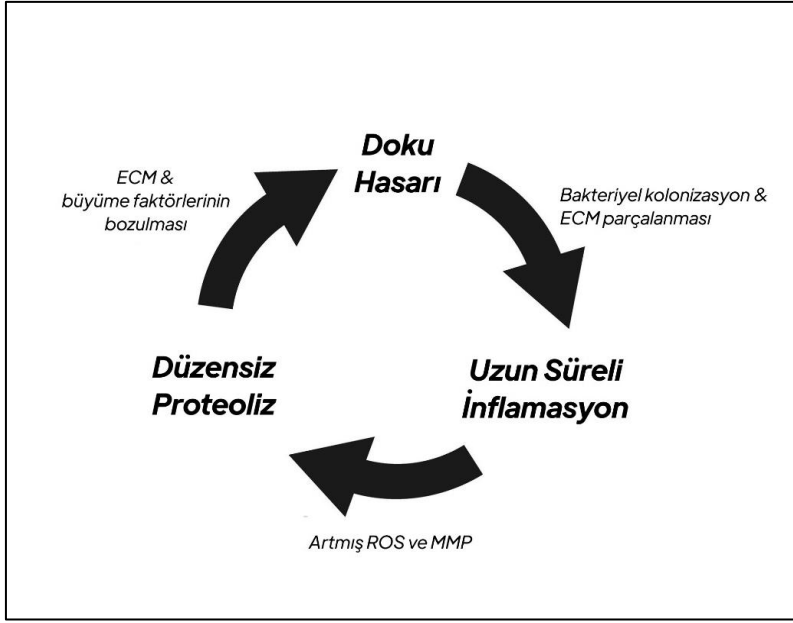
yaralanmalara ve doku hasarına karşı savunmasız hale getirerek kronik yara veya ülser neden olmaktadır (Karkada ve diğerleri, 2022). DM'de gecikmiş yara iyileşmesi, sıklıkla uzuv kaybı ve sakatlık ile sonuçlanan majör bir ikincil komplikasyondur.

2.2.3. Diyabet ve yara iyileşmesi

Zayıf ve gecikmiş yara iyileşmesi, diyabetin ayırt edici özelliklerinden biridir ve iyileşmeyen kronik yaraların yönetimi, etkilenen bireyler ve sağlık sistemleri üzerinde devasa bir yük oluşturur (Cho ve diğerleri, 2019). Normal bir yara iyileşmesi fiziksel ve biyokimyasal olayları kapsayan hemostaz, inflamatuvar, proliferasyon ve yeniden şekillenme olmak üzere birbirini takip eden 4 fazdan oluşmaktadır (Lindley ve diğerleri, 2016). DM'de bu fazlar, yara iyileşme sürecini geciktiren altta yatan aşırı doku hasarı, doku perfüzyonu ve oksijenasyon eksikliği nedenleriyle uzar ve genellikle inflamasyon aşamasında kalır (Den Dekker ve diğerleri, 2019).

Diyabetik yaralarda iyileşme, proinflamatuvar sitokinlerin, proteazların ve reaktif oksijen türlerinin yanı sıra hücresel işlev bozukluklarının da etkisiyle inflamatuvar fazda durur (Frykberg ve Banks, 2015). Diyabetik yaralar enfeksiyona daha yatkındır. Granülositlerin kusurlu fagositik ve kemotaktik aktiviteleri gibi bozulmuş bağışıklık tepkileri ve bununla beraber ROT üreten ve ECM yapısal elemanlarına zarar veren inflamatuvar hücrelerin aşırı toplanması bu durumu tetiklemektedir (Demidova-Rice ve diğerleri, 2012). Proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerindeki artışla birlikte ROT, serin proteazların ve MMP'lerin ekspresyonunu indükleyerek ECM ve büyüme faktörlerinin yanı sıra proteinaz inhibitörlerinin degradasyonuna yol açar ve bu da yaranın yeterli bir inflamatuvar yanıt oluşturmasını daha da bozar. Bu duruma ek olarak, artan hipoksi daha fazla ROT salınımına yol açmakta ve proteinlerin proteolitik degradasyona duyarlılığını artmaktadır (Chandan K. Sen, 2009). Bu proteolitik saldırılar, yara onarımı için gerekli olan normal matris-hücre etkileşimlerini önleyen ciddi ECM bozulmasına neden olmaktadır (Birben ve diğerleri, 2012).

Sonuç olarak, yara, uzun süreli inflamatuvar fazı ile tanımlanan ve normal iyileşme tepkilerine elverişli olmayan, düzensiz bir moleküler ve hücresel yara mikro ortamı ile karakterize edilen bir kısır döngüye girmektedir (Şekil 2.6) (Cho ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.6. Diyabetik yara iyileşme döngüsü (Cho ve diğerleri, 2019)

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlar olarak tanımlanmaktadır. Eşlenmemiş elektronların bulunması genellikle bir serbest radikal üzerinde önemli derecede reaktivite sağlar (M. Valko ve diğerleri, 2006). Serbest radikallerden oksijen türevi olanlar reaktif oksijen türleri (ROT), nitrojen türevi serbest radikaller ise reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak adlandırılır. ROT ve RNT, normal hücre metabolizma ürünleridir.

Serbest radikallerin potansiyel biyolojik hasara neden olduğu zararlı etkileri, oksidatif stres ve nitrosatif stres olarak adlandırılır (Ridnour ve diğerleri, 2005). Bu zararlı etkiler biyolojik sistemlerde meydana gelen ROT/RNT üretimi ve enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkar. Farklı bir deyişle, oksidatif stres, oksijen kullanan metabolik reaksiyonlardan kaynaklanır ve canlı organizmalarda pro-oksidan/antioksidan reaksiyonların denge durumundaki bir bozukluğu temsil etmektedir. Aşırı serbest radikal üretimi, normal fonksiyonlarını engelleyen hücresel lipidlere, proteinlere veya deoksiribonükleik asite (DNA'ya) zarar verebilir. Bu nedenle, oksidatif stres, bir dizi insan hastalığına da neden olmaktadır. Serbest radikallerin yararlı ve zararlı etkileri arasındaki hassas denge "redoks düzenlemesi" adı verilen mekanizmalarla

sağlanmaktadır ve canlı organizmalar için bu dengenin kurulması oldukça önemlidir (Dröge, 2002).

2.3.1. Reaktif oksijen türleri

Reaktif oksijen türleri, moleküler oksijenin eksik indirgenmesiyle oluşan küçük moleküllerdir. ROT, sepsisin patogeneğinde rol oynar. Bununla birlikte, ROT ayrıca normal metabolizma sırasında üretilir ve enzimatik reaksiyonlarda, mitokondriyal elektron taşınmasında, sinyal iletiminde, nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda, gen ekspresyonunda ve nötrofillerin ve makrofajların antimikrobiyal etkisinde yer alır (Bayr, 2005). Reaktif oksijen türleri, radikaller ve radikal olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. (Şekil 2.7). Vaskülerdeki hücreler tarafından üretilen başlıca ROT, süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil anyon ($OH^{\bullet}$) ve nitrik oksittir (NO) (Sies, 1991)

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($OH^{\bullet}$)	Hipoklorik Asit (HOCl)
Peroksil ($RO_2^{\bullet}$)	Ozon (O_3)
Alkoksil ($RO^{\bullet}$)	Singlet Oksijen
Hidroperoksil ($HOO^{\bullet}$)	Peroksinitrit ($ONOO^{\bullet}$)
Nitrik Oksit (NO)	Nitroz Asit (HNO_2)

Şekil 2.7. Reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerde endojen ve eksojen kaynaklardan serbest radikaller üretilmektedir. Bağışıklık hücresi aktivasyonu, infeksiyon, stres, aşırı egzersiz, iskemi, iltihaplanma, kanser ve yaşlanmadan kaynaklı endojen serbest radikaller üretilmektedir. Serbest radikallerin üretiminde eksojen kaynaklar ise, hava kirliliği, sigara dumanı, alkol, ağır veya geçiş

metalleri, bazı ilaçlar, endüstriyel çözücüler, pişirme kaynaklı et ürünleri (tütsüleme vb.), radyasyondur. Vücuda farklı yollardan girdikten sonra, bu eksojen bileşikler parçalanır veya serbest radikallere metabolize edilir (Marian Valko ve diğerleri, 2007; M. Valko ve diğerleri, 2006).

Hücrelerde serbest radikallerin oluşumu enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar olmak üzere iki farklı şekilde meydana gelmektedir. Serbest radikal üreten enzimatik reaksiyonlar, solunum zinciri, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P450 sistemini içirmektedir. Örneğin, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NADPH oksidaz), ksantin oksidaz, peroksizomlar gibi birkaç hücresel oksidaz sistemi aracılığıyla süperoksit anyon radikali üretilmektedir. Oluştuktan sonra hidrojen peroksit, hidroksil radikali, peroksi nitrit, hipokloröz asit (HOCl) oluşumu gibi çeşitli reaksiyonlara katılır. Radikal olmayan hidrojen peroksit, amino asit oksidaz ve ksantin oksidaz dahil olmak üzere oksidaz enziminin etkisiyle üretilmektedir. İn vivo ortamda en reaktif serbest radikal olan hidroksil radikali, Fe^{2+} veya Cu^{+} (katalizör) varlığında süperoksitin hidrojen peroksit ile reaksiyonu ile oluşmaktadır. Bu reaksiyon, Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir. Serbest radikaller ayrıca, oksijenin organik bileşiklerle enzimatik olmayan reaksiyonlarından da üretilir. Enzimatik olmayan süreç, mitokondride oksidatif fosforilasyon (yani aerobik solunum) sırasında da meydana gelmektedir (Dröge, 2002; Genestra, 2007; Marian Valko ve diğerleri, 2007).

Yüksek düzeyde serbest radikallerin varlığı hücre zarı, proteinler, lipidler, lipoproteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) üzerine ciddi şekilde hasara yol açmaktadır (Dröge, 2002; Young, 2001). Hücrelerde oluşan fazla serbest radikaller yok edilemediğinde serbest radikal oluşumu ve nötralizasyonu arasındaki dengesizlik meydana gelir ve oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Fazla miktarda hidroksil radikali ve peroksinitrit (ONOO), lipid peroksidasyona neden olur. Lipit peroksidasyonu sonucu hücre zarı ve lipoproteinler zarar görmektedir. Bu reaksiyon, sitotoksik ve mutajenik olan Malondialdehit (MDA) ve konjuge bileşiklerinin oluşumuna yol açmaktadır. Lipit peroksidasyonu radikal bir zincir reaksiyonu ile oluşmakta, başladıktan sonra hızla yayılmaktadır ve çok sayıda lipid molekülünü etkilemektedir (Frei, 1994). Proteinler de serbest radikaller tarafından hasar görebilir, bu da yapısal değişikliklere ve enzim aktivitesinde kayba yol açmaktadır (Halliwell, 2007). DNA'daki oksidatif hasar, mutasyonlara neden olabilen farklı oksidatif DNA lezyonlarının oluşumuna yol açmaktadır. Vücut, DNA onarım enzimlerini ve/veya antioksidanları

kullanarak bu saldırılara karşı koymak için çeşitli mekanizmalara sahiptir (Willcox ve diğerleri, 2004). Oksidatif stres, uygun şekilde düzenlenmediği takdirde, çeşitli kronik ve dejeneratif hastalıkların yanı sıra yaşlanma sürecini ve bazı akut patolojileri (travma, inme) tetikleyebilmektedir (Pham-Huy ve diğerleri, 2008).

2.3.2. Antioksidan savunma sistemleri

Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu ve meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifiye etmek için vücutta savunma görevi yapan maddelerdir. Hücre, önleyici mekanizmaları, onarım mekanizmaları, fiziksel savunmaları ve antioksidan savunmaları ile aşırı serbest radikallere karşı savunma üretir. Antioksidanlar, tekli serbest radikallerle reaksiyona girerek, kendi elektronlarından birini verir ve serbest radikalleri nötralize ederler. Böylelikle hücre ve doku hasarlarını önlerler (Karabulut ve Gülay, 2016; S. Sen ve diğerleri, 2010).

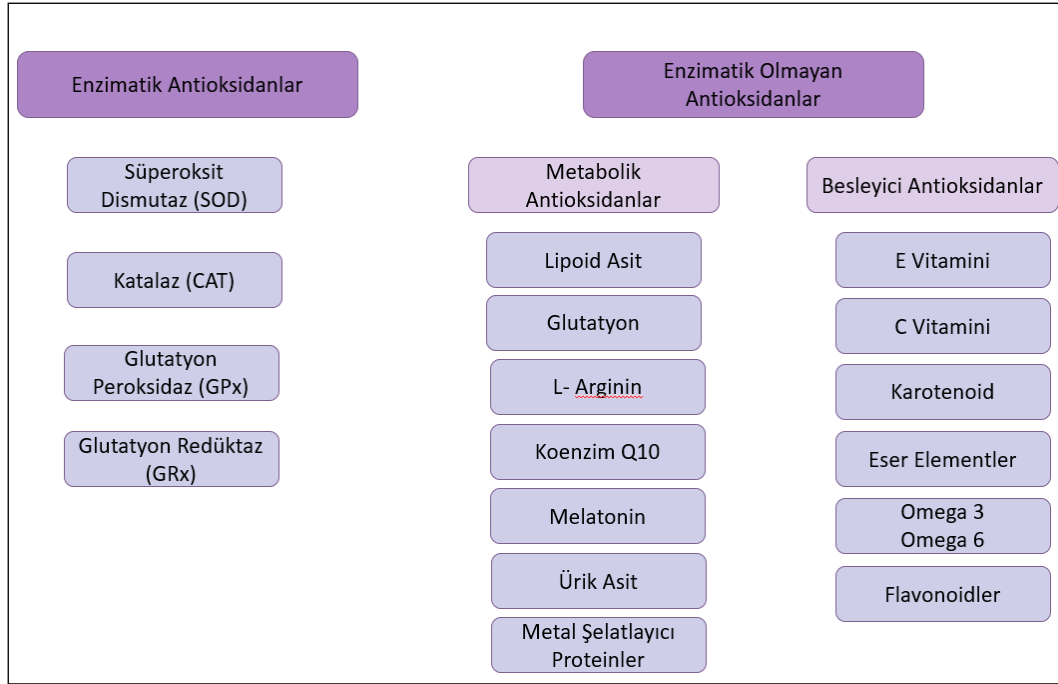
Vücut, doğal olarak yerinde üretilen (endojen antioksidanlar) veya dışarıdan gıdalar yoluyla sağlanan (eksojen antioksidanlar) antioksidanlar üreterek oksidatif strese karşı koymak için çeşitli mekanizmalara sahiptir (Pham-Huy ve diğerleri, 2008).

Antioksidan sınıflandırması

Hücrelerdeki endojen bileşikler, enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir: ROT ve RNT nötralizasyonunda doğrudan yer alan başlıca antioksidan enzimler şunlardır: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GRx) (Willcox ve diğerleri, 2004). Serbest radikallere karşı ilk savunma hattı olan SOD, indirgeme yoluyla süperoksit anyon radikalının hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize etmektedir. Oluşan hidrojen peroksit, CAT veya GPx tarafından su ve oksijene dönüştürülür. GPx enzimi hidrojen peroksiti uzaklaştırır indirgenmiş glutatyonu (GSH) oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oksitlemek için kullanır. Bir flavoprotein enzimi olan glutatyon redüktaz, indirgeme gücü kaynağı olarak NADPH ile GSSG'den GSH'yi yeniden oluşturmaktadır. (Baharun ve diğerleri, 2006).

Enzimatik olmayan antioksidanlar ayrıca metabolik antioksidanlar ve besleyici antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlara ait metabolik antioksidanlar, lipoid asit, glutatyon, L-ariginin, koenzim Q10, melatonin, ürik asit,

bilirubin, metal şelatlayıcı proteinler, transferrin vb. gibi vücutta metabolizma tarafından üretilmektedir (Dröge, 2002; Willcox ve diğerleri, 2004). Eksojen antioksidanlara ait besleyici antioksidanlar, vücutta üretilemeyen ve besinlerle veya takviyelerle alınması gereken E vitamini, C vitamini, karotenoidler, eser metaller (selenyum, manganez, çinko), flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleridir (Pham-Huy ve diğerleri, 2008) (Şekil 2.8).

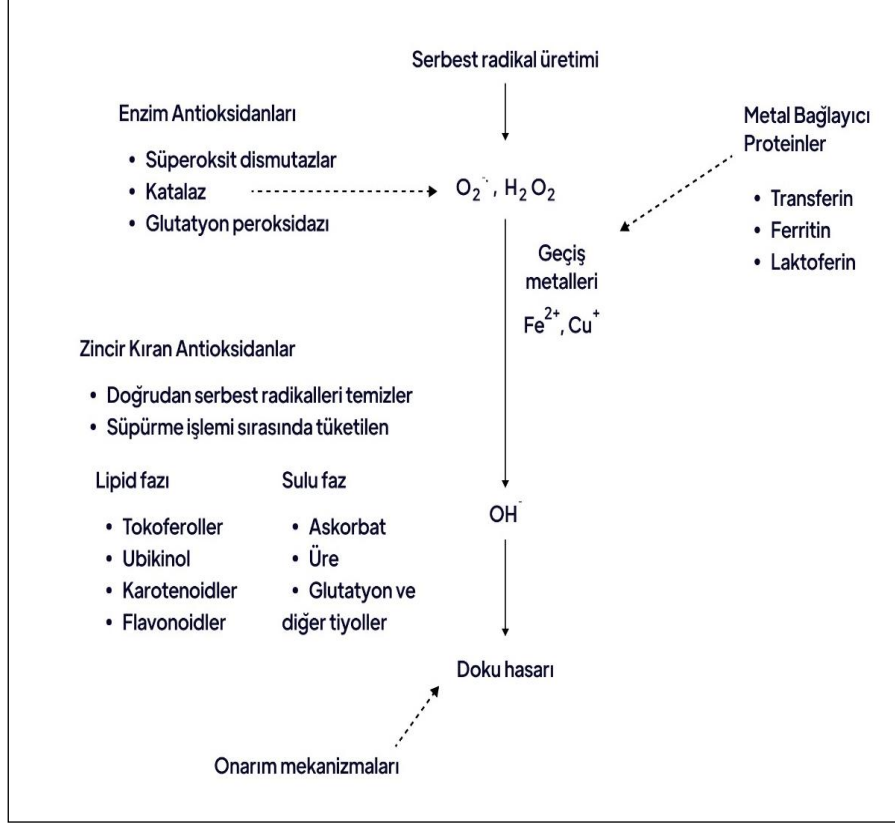


Şekil 2.8. Antioksidanlar sınıflandırılması

Bir antioksidan bir serbest radikali yok ettiğinde, bu antioksidanın kendisi okside olur. Bu nedenle, antioksidan kaynakların vücutta sürekli olarak yenilenmesi gerekmektedir. Belirli bir sistemde bir antioksidan serbest radikallere karşı etkiliyken, diğer sistemlerde aynı antioksidan etkisiz hale gelebilir. Ayrıca, belirli durumlarda, bir antioksidan bir pro-oksidan gibi davranabilir, örneğin toksik ROT/RNT üretebilir (Young, 2001).

Antioksidan süreç iki yoldan biriyle işleyebilir: zincir kırma veya önleme. Zincir kırılması için, bir radikal bir elektronu serbest bıraktığında veya çaldığında, ikinci bir radikal oluşur. Sonrasında, başka bir molekül üzerinde aynı eylemi uygular ve oluşan serbest radikal zincir kırıcı bir antioksidan (C, E vitamini, karotenoidler vb.) tarafından stabilize edilene veya basitçe zararsız bir ürüne parçalanana kadar devam eder. Böyle bir zincir reaksiyonun klasik örneği lipid peroksidasyonudur. Önleyici bir şekilde, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz gibi bir antioksidan enzim, başlatıcı serbest radikalleri temizleyerek

veya bakır ve demir gibi geçiş metali radikallerini stabilize ederek zincir başlatma hızını azaltarak oksidasyonu önleyebilir (Şekil 2.9) (Young, 2001).



Şekil 2.9. Antioksidan süreç (Young, 2001)

2.3.3. Reaktif oksijen türleri ve yara iyileşmesi

Yara iyileşmesinde redoks sinyallerinin temelini oluşturan ROT, yara iyileşmesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. ROT, yara iyileşme süreçlerinin birçok aşamasında çok önemli düzenleyicilerdir (Schafer ve Werner, 2008). ROT, yara iyileşmesi, hücrelerin göçü ve çoğalması, skar dokusunun patojenlerden temizlenmesi ve skar dokusunun kapanması sırasında hücre içi sinyalleşmede yer alır. ROT'un bu olumlu etkilerine ek olarak yara bölgesindeki yüksek ROT konsantrasyonu oksidatif stres oluşumuna neden olarak ciddi hücre hasarı, erken yaşlanma ve hatta neoplastik transformasyona neden olur. Bu, iyileşme sürecini etkiler ve genellikle iyileşmeyen kronik yaralara yol açar (Chandan K. Sen, 2009).

ROT yara iyileşme aşamalarının tümünde önemli role sahiptir. Hemostaz aşamasında trombositler tarafından üretilen ROT ikincil haberciler olarak görev almaktadır (C. K. Sen

ve Roy, 2008). Yara bölgesinde istilacı patojenlere karşı savunmada, nötrofiller ve makrofajlar, yara bölgesini mikrobiyal kontaminasyondan korumak için büyük miktarda süperoksit radikal anyonu üretirler bu olay doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçasıdır ve “solunum patlaması” olarak ifade edilmektedir. Hücrelerin plazma zarında bulunan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAPH), NADPH aktivasyonu ile hücreler yüksek derecede süperoksit radikal anyon üretirler. Oluşan süperoksit radikal anyonları hızlı bir reaksiyon ile SODlar tarafından hidrojen peroksit ve moleküler oksijene parçalanır. H_2O_2 radikal grup içerisinde yer almamasına karşın demir veya bakır iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin üretilmesinde rol oynar ve bu durum ciddi hücre hasarlarına yol açar. (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikalleri oldukça agresiftir ve hücresel makromoleküllerin oksidasyonu ile sonuçlanır (Smith ve diğerleri, 2017). Bu nedenle, yaralarda üretilen ROT, süperoksit dismutazlar, peroksidazlar gibi ROT tutucu enzimler ve ayrıca E vitamini ve glutatyon gibi küçük molekülli antioksidanlar tarafından detoksifiye edilirler (Zinkevich ve Gutterman, 2011). Detoksifiye edilemediği takdirde artan ROT seviyeleri, iyileşmenin inflamasyon fazında kalmasına neden olmaktadır (Fitzmaurice ve diğerleri, 2011).

Proliferasyon fazının tüm kilit noktalarında görev alan ROT, fibroblast aktivasyonun bir diğer uyarıcısı ise büyüme faktörlerinin salgılanmasında da sorumludur. ROT, fibroblast proliferasyonunu ve göçünü teşvik ederek kollajen ve fibronektin gibi hücre dışı matriks elemanlarının üretimine aracılık eder (Görlach, 2005). Yara dokusundaki konsantrasyonun artması ile yara iyileşmesini engellemektedir. Oksidatif stres fibroblastlarda şiddetli hasarlar oluşturur, bu durum yara iyileşmesinde kollajen fibrillerin yapımını azaltır. Fibroblastlar ROT a karşı çok hassas olduğundan dolayı yüksek konsantrasyonlarda ROT bulunan ortamlarda, fibroblastların sayıları azalır ve buna bağlı olarak kollajen içeriği azalır (Kaltalioglu ve Coskun-Cevher, 2015). ROT, yeniden şekillenmede görev almaktadır. Yara bölgesinde artan ROT konsantrasyonu ile, skar dokularının proinflamatuvar sitokinlere uzun süre maruz kalması MMP üretimi artırmaktadır. Artan MMP seviyesi ECM yıkımını artırır ve yaranın kapanmasını engelleyerek iyileşmeyen yaralara neden olur (Trengeve ve diğerleri, 1999).

ROT'un olumlu etkilerinin yanı sıra, yara bölgesindeki yüksek ROT konsantrasyonu, bozulmuş detoksifikasyon dolayı oksidatif strese neden olmaktadır. Bu durum yara iyileşme sürecini arttırmakta, iyileşmeyen yaraların oluşmasına yol açmaktadır. Yara iyileşme süresinin gecikmesi veya iyileşmeyen yaraların oluşması insan hayatını olumsuz yönde

etkilemektedir. Bu bağlamda, yara iyileşmesinin normal onarım sürecinin gerçekleşmesi için ROT üretiminin ve detoksifikasyonunun sıkı bir şekilde denetlenmesi gerekmektedir (Alver ve diğerleri, 2021).

2.4. Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar, nötr pH'ta hücre dışı matris ve bazal membran proteinlerini toplu olarak parçalayabilen kalsiyum bağımlı çinko içeren endopeptidazlar ailesinin bir üyesidir (Wall ve diğerleri, 2002). Çinko bölgesinde korunan üç histidinin yanı sıra aktif bölgenin altında korunmuş bir metiyoninden oluşurlar. MMP'ler hem hücre-hücre hem de hücre-hücre dışı matris etkileşimlerinin düzenlenmesinin kilit molekülleri olarak kabul edilmektedir.

Şu anda insan vücudunda bulunması muhtemel 24 bilinen MMP vardır (Abou-El-Hassan ve diğerleri, 2020). ECM genel olarak hücre yapışması, hücre göçü ve doku yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere yara iyileşmesi sürecindeki tüm hücresel tepkileri teşvik etmektedir. ECM içindeki tüm hasarlı proteinlerin ve hücrelerin çıkarılması, MMP'lerin ana görevidir. Substrat özgüllüklerine dayalı MMP ailesi, kolajenazlar, jelatinazlar, stromelisinler, membran tipi metalloproteinazlar, matrilisinler ve diğerleri olmak üzere 6 gruba ayrılmaktadırlar (Şekil 2.10) (Steffensen ve diğerleri, 2001).

Alt Grup	MMP
Kolajenazlar	MMP-1 MMP-8 MMP-13
Jelatinazlar	MMP-2 MMP-9
Stromelisinler	MMP-3 MMP-10 MMP-11 MMP-12
Matrilisinler	MMP-7 MMP-26
Memran tipi MMP	MMP-14 MMP-15 MMP-16 MMP-17 MMP-24 MMP-25 MMP-23
Diğerleri	MMP-18 MMP-19 MMP-20 MMP-21 MMP-22 MMP-27 MMP-28

Şekil 2.10. Matriks metalloproteinazların sınıflandırılması (Steffensen ve diğerleri, 2001)

Doku inhibitörleri (TIMP) dört farklı alt tipi bulunmaktadır; TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4. TIMP'ler, MMP'lerin alternatif veya aktif bölgelerine bağlanır ve afinite seviyeleri farklı olabilse de, tüm MMP'leri inhibe etme yeteneğine sahiptirler (Yadav ve diğerleri, 2014).

2.4.1. Matriks metalloproteinazlar ve yara iyileşmesi

Yara iyileşmesinin sağlıklı ilerlemesi için ECM'nin verimli bir şekilde yeniden modellenmesi gerekmektedir. ECM içinde, matriks proteinlerinin ve bunların inhibitörlerinin dengesizliği, matriksin bozulmasına neden olmakta ve hastalık gelişimine dahil olan çeşitli gruplarda dağıtılan proteolitik enzimlerle ilişkilidir (Overall ve López-Otín,

2002). Matriks proteinleri ve bunların inhibitörleri arasındaki dengesizlik, büyüme faktörü ve TIMP seviyelerini düşürmektedir. Ayrıca proteazların ve MMP'lerin, özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve MMP-9'un ve proinflatuar sitokinlerin seviyesini artırmaktadır. Bu dengesizliğe neden olan diyabet ve diğer vasküler komplikasyonlar anormal yara iyileşmesi koşulları ile yakından ilişkilidir (Gharagozlian ve diğerleri, 2009).

Yara iyileşmesinin ilerlemesi için ECM'nin uygun şekilde yeniden modellenmesi gerekmektedir. MMP'ler gibi endopeptidazlar bu yeniden biçimlendirme sürecine katkıda bulunmaktadır. MMP etkileşimleri, yara iyileşmesinin tüm aşamalarında aktif rol oynamaktadır. İnflatuar faz sırasında, hasarlı proteinleri uzaklaştırma ve geçici bir ECM oluşturma yeteneğine sahiptirler (Levi ve diğerleri, 1996). Proliferasyon aşaması olan ikinci aşamada, kılcak bazal zarın bozulmasına yardımcı olurlar. MMP'ler ayrıca yara iyileşmesi sırasında anjiyogenezi de teşvik etmektedir.

Kronik yaralarda, akut yaralara kıyasla MMP'lerin ve TIMP'lerin ekspresyonunu karakterize eden bir dizi çalışma yapılmıştır. Kronik yaraların yüksek kolajenolitik aktiviteye, yüksek jelatinaz ve stromelinin seviyelerine ve TIMPS düşük ekspresyonuna sahip olduğu gösterilmiştir (Trengove ve diğerleri, 1999; Yager ve diğerleri, 1996). Kronik yaralarından türetilen fibroblastlarla ilgili çalışmalarda, kronik yara fibroblastları tarafından artan TIMP-1 ve TIMP-2 üretiminden kaynaklanan azalmış MMP-2 aktivitesi seviyeleri de dikkat çekmektedir (Cook ve diğerleri, 2000). Tüm bu çalışmalar, normal yara onarımının ilerlemesi için MMP/TIMP dengesinin önemine işaret etmekte ve gelecekteki yara iyileştirme terapilerinin MMP ekspresyon modülatörlerini içerebileceğini göstermektedir.

2.5. Polifenoller ve Yara İyileşmesi

Polifenoller, aromatik halkalara bağlı çok sayıda hidroksil grubuna sahip, doğal olarak oluşan bileşiklerin bir sınıfıdır (Balasundram ve diğerleri, 2006). Fenolik bileşikler, bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid yollarının türevleri olan ikincil metabolitlerdir. Flavonoid ve flavonoid olmayan bileşiklere ayrılırlar. Flavonoidler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavan-3-oller, izoflavonlar ve antosiyanidinlerden oluşmaktadır. Flavonoid olmayan metabolitler arasında fenolik asitler, lignanlar, stilbenler, tanenler ve ligninler bulunur (Arct ve Pytkowska, 2008). Fenolik bileşikler, anti-alerjenik, anti-arterojenik, anti-inflatuar, anti-mikrobiyal, antioksidan, anti-trombotik,

kardiyoprotektif ve damar genişletici etkiler gibi çok çeşitli fizyolojik özellikler sergilemektedir (Balasundram ve diğerleri, 2006; Manach ve diğerleri, 2005; Middleton ve diğerleri, 2000).

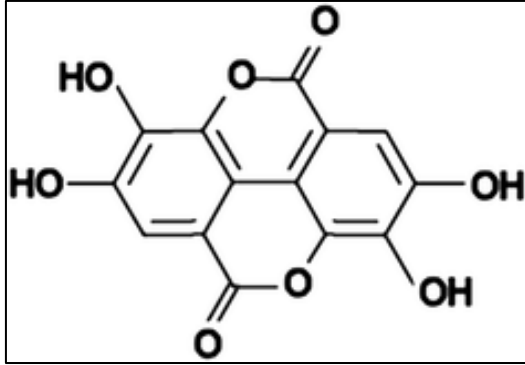
Polifenoller, Tip 2 diyabet, obezite ve metabolik sendrom gibi hastalıkların tedavisi için büyük bir potansiyele sahip, geniş ve çeşitli biyolojik özellikler sergilemektedir (Carrera-Quintanar ve diğerleri, 2018). Ayrıca yaşlanma, Alzheimer, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser çalışmalarında da kullanıldıkları bildirilmiştir (Cipolletti ve diğerleri, 2018; Ma ve diğerleri, 2014). Polifenollerin en yaygın özellikleri olan antioksidan, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal, bunların yaralar ve yanıklar gibi çeşitli cilt hasarlarının tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir (Guimarães ve diğerleri, 2021; Mahata ve diğerleri, 2018).

2.5.1. Elajik asit

Elajik asit (EA), 350°C'lik bir erime noktasına, 302.19 g/mol'lük bir moleküler ağırlığa sahip, suda hemen hemen çözünmez ve alkolde idareli bir şekilde çözünen termostabil bir moleküldür (Bala ve diğerleri, 2006). Kimyasal açıdan Elajik asit, C₁₄H₆O₈; 3,7,8-tetrahidroksi-benzopiran-5,4,3-c-debenzopiran-5,10-dion olarak tanımlanır. Elajik asit, doğal olarak birçok meyve (nar, böğürtlen, ahududu), fındık, ceviz, badem ve bazı ağaç türlerinin odun ve kabuklarında bulunan ikincil metabolit olarak oluşan biyoaktif bir polifenolik bileşiktir (Derosa ve diğerleri, 2016). Yapısal olarak Elajik asit, dimerik bir gallik asit türevidir olan heksahidroksidifenik asidin (HHDP) bir dilaktonudur ve esas olarak yaygın bir ikincil metabolitler grubu olan ellagitanninlerin hidrolizi ile üretilmektedir (Sharifi-Rad ve diğerleri, 2022).

Elajik asitte iki grup lakton ve dört hidroksil grup bulunur (Şekil 2.11). Elajik asit'in sahip olmuş olduğu hidroksil gruptan dolayı antioksidan özelliğe sahiptir. Elajik asit bu özelliğinden dolayı ayrıca lipid peroksidasyonu inhibe eder ve doku hasarını oksidatif strese karşı korur (Primarizky ve diğerleri, 2017). Al-Obaidi ve ark. (2014) yapmış oldukları çalışmada Elajik asit'in süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) antioksidan parametrelerini arttırdığını, MDA seviyesini ise azaltarak dokuyu oksidatif stresten koruduğunu göstermiştir (Al-Obaidi ve diğerleri, 2014). Ayrıca Elajik asit endotelial ROT seviyesini azaltmaktadır. Elajik asit antioksidan etki ile diyabetik koşullar altında vasküler

koruma etkisi olduğu bilinmektedir (Rozentsvit ve diğerleri, 2017). Elajik asit'in iyileşme sürecini hızlandıran PDGF ve VEGF ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir (Labrecque ve diğerleri, 2005). Elajik asit MMP-2, MMP-9 ekspresyon seviyelerini kademeli olarak azaltarak, hücre proliferasyon ve göçünü düzenlemeye yardımcı olmaktadır (Yeye Wang ve diğerleri, 2019).



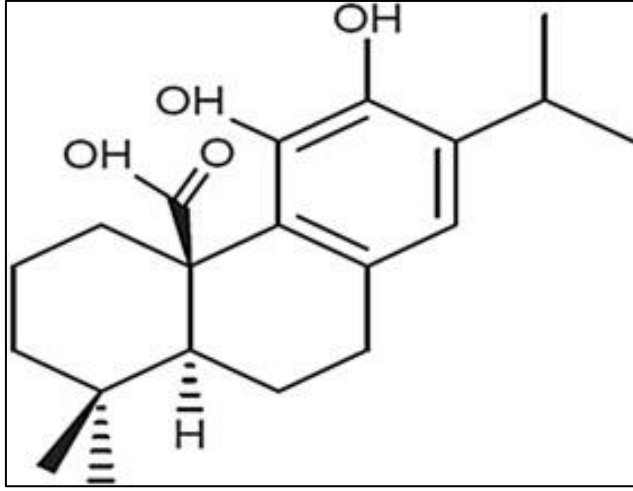
Şekil 2.11. Elajik asit kimyasal yapısı (Derosa ve diğerleri, 2016)

Son yıllarda EA, belirgin antioksidan (Devipriya ve diğerleri, 2007; Priyadarsini ve diğerleri, 2002), anti-inflamatuar (Gil ve diğerleri, 2021; Rogerio ve diğerleri, 2006) ve antiproliferatif özellikleri (Duan ve diğerleri, 2020; Yizi Wang ve diğerleri, 2019) ve terapötik potansiyeli nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Çok sayıda çalışma, EA'nın kardiyovasküler (Larrosa ve diğerleri, 2010) ve nörodejeneratif hastalıklar (Jha ve diğerleri, 2018; Kiasalari ve diğerleri, 2017), diyabet (Malini ve diğerleri, 2011) ve kanser (Liu ve diğerleri, 2017; Yizi Wang ve diğerleri, 2019) dahil olmak üzere kronik bozuklukların ilerlemesini önlemek, hafifletmek veya ilerlemesini yavaşlatmak için bir dizi hücresel sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu bileşiğin ayrıca, cilt koruyucu (Bae ve diğerleri, 2010; Ortiz-Ruiz ve diğerleri, 2016), yara iyileştirici (Mo ve diğerleri, 2014; Primarizky ve diğerleri, 2017) etkileri de bulunmaktadır.

2.5.2. Karnosik asit

Karnosik asit (CA), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve yalancı salvia (*Salvia officinalis*) gibi Lamiaceae familyasının bitki türlerinde bulunan labdan tipi bir diterpendir (Birtić, 2015) (Şekil 2.12). Yağda çözünen bileşik, yiyecek ve içecek, kişisel bakım, beslenme ve sağlık alanlarında birçok endüstriyel uygulamaya yol açan yüksek antioksidan kapasiteleriyle tanınmaktadır (Birtić, 2015). Karnosik asit yüksek antioksidan özelliğe sahiptir ve bu

özelliği bir katekol parçasının varlığından kaynaklanmaktadır (Loussouarn ve diğerleri, 2017). Karnosik asit ayrıca hidroksil ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikallerinin temizleyicisi olarak tarif edilmiştir (Luis ve Johnson, 2005). Karnosik asidin potansiyel antioksidan aktivitesi iyi belgelenmiş olsa da tam etki mekanizması kapsamlı bir şekilde çalışılmamıştır.



Şekil 2.12. Karnosik asit kimyasal yapısı (Bahri ve diğerleri, 2016)

Karnosik asit ROT'a karşı yüksek reaktivite göstermektedir. Ayrıca lipid bileşenlerini de oksidasyondan korumaktadır. Özellikle mikrozomal ve lipozomal sistemlerde güçlü bir lipid peroksidasyon inhibitörüdür (Yu ve diğerleri, 2008). Lipid peroksidasyonunu engelleyerek dokuyu oksidatif strese karşı korur ve bunun yanı sıra Karnosik asit nükleer faktör-eritroid 2 (Nrf2) indükleyerek ve NF-kB sinyal yolunu baskılayarak oksidatif stresi zayıflatır ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını engelleyerek anti-inflamatuvar etki gösterir (Das ve diğerleri, 2018; Sahu ve diğerleri, 2011). Karnosik asit MMP -9, MMP-2 ve ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPa) salınımını azaltarak (ECM) degradasyonunu önlemektedir (Barni ve diğerleri, 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmalar için gerekli etil kurul izini Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan (G.Ü. ET-20.012) alınarak çalışmalara başlandı. Deney hayvanlarının temini ve çalışmaları Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) laboratuvarında gerçekleştirildi. Deneylerde GÜDAM'dan sağlanan 54 adet yetişkin Wistar albino ırkı dişi rat (200-250 g) kullanıldı. Hayvanların beslenme düzeni hem deney öncesi hem de sonrasında serbest yem ve su olarak ayarlandı. Hayvanlar deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldı. Deney sonunda alınan doku örneklerinin analizleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Elajik asit ve Karnosik asit jel formülasyonunun hazırlanması

Elajik asit ve Karnosik asit içeren jel formülasyonu Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında hazırlandı. Topikal jel hazırlanırken %2 oranında Carbopol 974P kullanıldı. Karnosik asit içeren 98 g distile suda disperse edilerek 800 rpm'de 60 dakika karıştırıldı. Bu karışımın üzerine %10 NaOH çözeltisi damla damla ilave edilerek transparan jel oluşması sağlandı. Bu NaOH çözeltisi Elajik asit içermektedir çünkü Elajik asit'in çözünürlüğü NaOH ile artmaktadır ve pH'ya bağlıdır. (Kim ve diğerleri, 2010) Elajik asit ve Karnosik asit dozu 10 mg/kg olacak şekilde ayarlandı. Jelde oluşan hava kabarcıklarının çıkması için +4 °C'de 24 saat bekletildikten sonra UV altında sterilize edilerek topikal in vivo uygulama için hazır hale getirildi.

Elajik asit ve Karnosik asit içeren jel formülasyonu ince bir tabaka halinde petri kabına serildi ve laminar akış kabininde (Euroflow Class IIA, Clean Air Techniek, Holland) UV lambası (254 nm) altında 2 saat sterilize edildi. Ayrıca hazırlanan jel formülasyonunun tüm farmasötik karakterizasyon çalışmaları sterilizasyon işleminden önce ve sonra değerlendirildi (viskozite, akış, pH, yapı profil analizi vb).

3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması

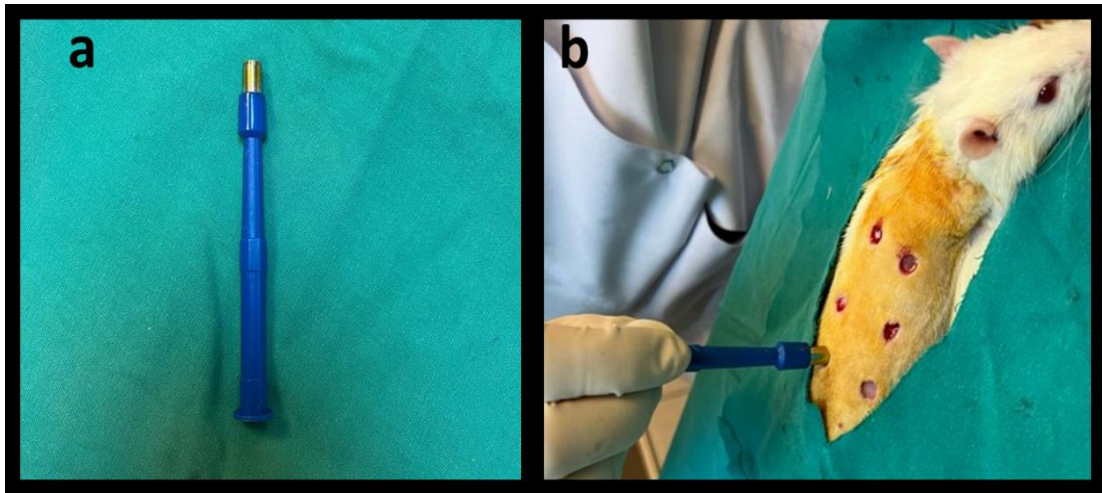
Diyabet modeli oluşturmak üzere STZ (S0130, Sigma) 0.1 M *sitrat buffer* (pH 4.5) tamponunda çözdürölerek, bütün gruplardaki deney hayvanlarına 60 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulandı (şekil 3.1.a).

Kan glukoz seviyeleri uygulamadan bir hafta sonra glikometre ile ölçölerek kan glukoz düzeyleri 250 mg/dL'nin üzeri olan hayvanlar diyabetli olarak kabul edilerek çalışmaya alındı. Diyabete karşı dirençli hayvanlara karşı ikinci bir doz halinde STZ uygulaması yapılarak diyabetik hale getirildi.

3.3. Yara Modelinin Oluşturulması

Uygulama öncesi deney hayvanlarının ağırlıkları standart terazi ile tartılarak belirlendi. Ağırlıklarına göre intramüsküler olarak ketamin (Alfamanine 50mg/kg) ve ksilazin (Alfazyne 5mg/kg) enjekte edilerek genel anestezi sağlandı.

Deney hayvanlarının infeksiyon olmaması için yara oluşturmadan önce hayvanların dorsal bölgelerine batikon uygulandı. Tüm hayvanların dorsal bölgesinde omurganın her iki yanında birbirine paralel olacak şekilde 6 mm punch biyopsi (Acu-Punch, Acuderm, USA) ile 6 adet tek tip tam kat eksizyonel yara oluşturuldu (Resim 3.1.).



Resim 3.1. Yara modelinin oluşturulması (a) 6-mm punch biyopsi (b) yara modelinin oluşturulması

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

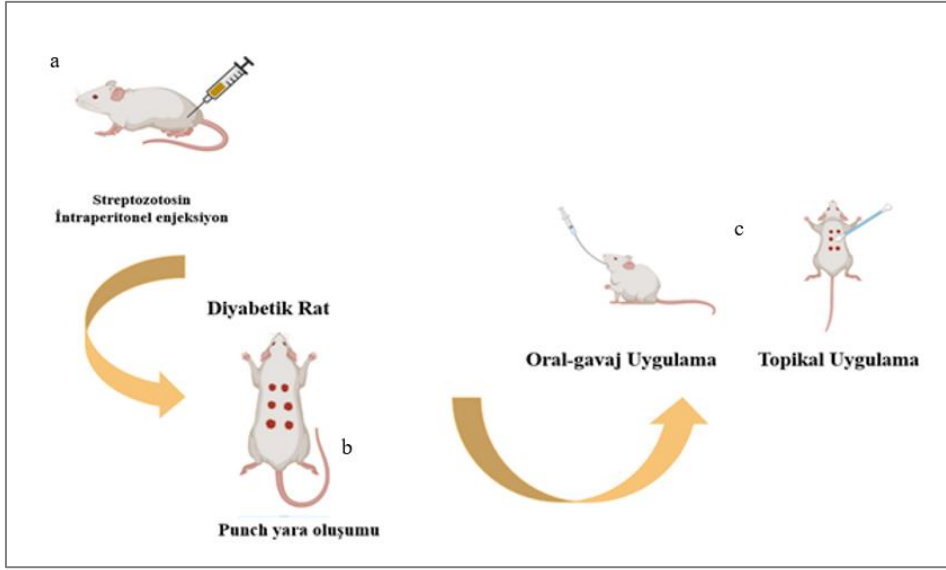
Her grupta 6 adet olmak üzere 9 ayrı deney grubu oluşturuldu ve gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı.

Çizelge 3.1. Deney Grupları

GRUPLAR	UYGULAMALAR
KONTROL GRUP	Oluşturulan grupların değerlerini kıyaslamak üzere sadece STZ ile diyabet yapılan kontrol grubu (n=6).
3 GÜNLÜK TEDAVİSİZ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturuldu ve iyileşmenin 3. günü feda edilen tedavisiz grup (n=6)
7 GÜNLÜK TEDAVİSİZ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturuldu ve iyileşmenin 7. günü feda edilen tedavisiz grup (n=6)
3 GÜNLÜK CARBOPOL TEDAVİLİ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturulan ve %2 oranında Carbopol 974P ile topikal olarak tedavi edilerek iyileşmenin 3.günü feda edilen grup (n=6)
7 GÜNLÜK CARBOPOL TEDAVİLİ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturulan ve %2 oranında Carbopol 974P ile topikal olarak tedavi edilerek iyileşmenin 7.günü feda edilen grup (n=6)
3 GÜNLÜK TOPİKAL TEDAVİLİ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturulan ve %2 oranında Carbopol 974P içerisinde EA ve CA ile topikal olarak tedavi edilerek iyileşmenin 3.günü feda edilen grup (n=6)
7 GÜNLÜK TOPİKAL TEDAVİLİ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturulan ve %2 oranında Carbopol 974P içerisinde EA ve CA ile topikal olarak tedavi edilerek iyileşmenin 7.günü feda edilen grup (n=6)
3 GÜNLÜK ORAL- GAVAJ TEDAVİLİ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturulan ve EA ve CA ile oral gavaj yolu ile tedavi edilerek iyileşmenin 3.günü feda edilen grup (n=6)
7 GÜNLÜK ORAL- GAVAJ TEDAVİLİ GRUP	STZ ile diyabetik yapıldıktan sonra yara oluşturulan ve EA ve CA ile oral gavaj yolu ile tedavi edilerek iyileşmenin 7.günü feda edilen grup (n=6)

3.5. Tedavi

Topikal ve oral gavaj tedavi grupları olarak ayrılan gruplara uygulamalar her gün 10:00-10:30 saatleri arasında ve aynı koşullarda gerçekleştirildi. Topikal tedavili gruplara %2 oranında Carbopol 974P içerisinde Elajik asit ve Karnosik asit içeren jel formülasyonu yara bölgesine günlük 10 mg/kg dozunda olacak şekilde topikal olarak uygulandı. Oral gavaj tedavili gruplara, distile su içerisinde hazırlanan Elajik asit ve Karnosik asit günlük 10 mg/kg olarak gavaj enjeksiyonu ile uygulandı (Şekil 3.1.c).



Şekil 3.1. a. Diyabet modelinin oluşturulması; b. Yara modelinin oluşturulması; c. Tedavi (BioRender, 2021)

3.6. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini

Alınan yara dokusu örneklerinde spektrofotometrik olarak günlere bağlı değişen MDA, GSH, NOx, MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri belirlendi.

3.6.1. Dokuda MDA tayini

Yara dokularında MDA düzeylerinin belirlenmesinde Buege ve Aust'un yöntemi modifiye edilerek kullanıldı. Yara dokusu ilk olarak tartılarak 150 mM potasyum klorür (KCl) (1:9) içerisinde homojenize edildi. Elde edilen homojenat numunelerinde proteini çöktirmek (deproteinize) için soğuk %15 TCA ile karıştırıldı. Homojenat yeniden santrifüj edilerek oluşan süpernatant alındı. Süpernatant üzerine %0,67 TBA ve %1 BHT (%95 Ethanol) eklenerek benmari usulü 10 dakika kaynar su banyosunda reaksiyona sokuldu. Soğutma işlemi yapılarak, absorbans 535 nm'de spektrofotometrik olarak okuma gerçekleştirildi. Elde edilen verilerde doku MDA konsantrasyonu nmol/g doku olarak hesaplandı. (Buege ve Aust, 1978).

3.6.2. Dokuda GSH tayini

Yara dokularında glutatyon seviyelerinin belirlenmesinde modifiye Ellman metodu kullanıldı. Yara dokusu tartılarak 150 mM KCl (1:9) içerisinde homojenize edildi.

Deproteinizasyon işlemi için, homojenat reaktif karışımıyla (meta-fosforik asit / etilendiamintetraasetik asit / sodyum klorid) ile reaksiyona sokuldu. Santrifüj işlemi gerçekleştirildikten sonra 0,5 ml süpernatant alınarak 2 mL 0.3 M disodyum hidrojen fosfat ve 0.2 mL solüsyon dithiobisnitrobenzoate (0,4 mg/mL %1 sodyum sitrat) ilave edildi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra absorbans 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen verilerde yara dokularındaki GSH konsantrasyonu $\mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplandı.(Aykac ve diğerleri, 1985)

3.6.3. Dokuda NOx tayini

Yara dokularında NOx düzeylerinin belirlenmesinde Griess yöntemi kullanıldı. Tartılan dokulara 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH:7) ile (1:9) eklenerek homojenize edildi. Homojenat 3500 rpm’ de 15 dakika santrifüj edildi. Sonrasında elde edilen süpernatandan alınarak, ortamdaki nitratı nitrite indirgemek amacıyla eşit miktarda VCl3 eklendi ve 37 °C’ de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası numunelere, eşit miktarlarda karıştırılmış olan Griess I+II reaktifleri ve sodyum fosfat tamponu eklendi. 37 °C’ de 10 dakika inkübasyondan sonra numunelerin absorbansları 540 nm de spektrofotometrede ölçüldü. Elde edilen verilerde yara dokularındaki NOx konsantrasyonu $\mu\text{mol/L}$ olarak hesaplandı.(Miranda ve diğerleri, 2001)

3.6.4. Dokuda MMP-2 tayini

Dokuda MMP-2 tayini ELISA yöntemi ile çalışıldı. Yara dokuları tartılarak, lizis tamponu (1:50) ile homojenize edildi. Homojenatlar 3000 g 5 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar, çalışma kapsamında hizmet alımı yapılarak Cloud-Clone (Uscn) Matrix Metalloproteinase 2 (MMP2) Rat ELISA Kit ile çalışıldı. Doku MMP-2 düzeyleri ng/ml olarak hesaplandı.

3.6.5. Dokuda MMP-9 tayini

Dokuda MMP-9 tayini ELISA yöntemi ile çalışıldı. Yara dokuları tartılarak, lizis tamponu (1:50) ile homojenize edildi. Homojenatlar 3000 g 5 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar, çalışma kapsamında hizmet alımı yapılarak Cloud-Clone (Uscn) Matrix Metalloproteinase 9 (MMP 9) Rat ELISA Kit ile çalışıldı. Doku MMP-9 düzeyleri ng/ml olarak hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analizlerin Değerlendirilmesi

Elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizlerinde ve grafiklerin çizilmesinde Graphpad Prism 8.4.2. programı kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama değer $\pm$ standart sapma ($\pm$ SD) olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırma ve deneylerin günler arası tekrarlarının karşılaştırılması tek yönlü ANOVA ve ardından Post-Hoc Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir. $p \leq 0,05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Alınan yara dokularında yapılan biyokimyasal tayinlerin sonucu belirlenen MDA, GSH, NOx, MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri Çizelge 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Elajik asit ve Karnosik asit uygulamalarının yara dokusundaki MDA, GSH, NOx düzeylerine etkisi

GRUPLAR	MDA Değerleri (nmol/g)	GSH Değerleri (μ mol/g)	NOx Değerleri (μ mol/L)
Kontrol Grup (n=6)	27,94 $\pm$ 2,90	2,84 $\pm$ 0,24	19,14 $\pm$ 0,51
3 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	15,53 $\pm$ 1,32*	1,17 $\pm$ 0,23*	31,00 $\pm$ 5,92*
7 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	19,03 $\pm$ 0,95*, a	2,21 $\pm$ 0,47 *,a	23,10 $\pm$ 2,85 ^a
3 Günlük Carbopol Tedavili Grup(n=6)	22,32 $\pm$ 1,84 *, a, b	2,48 $\pm$ 0,11 ^a	14,37 $\pm$ 1,50*, a, b
7 Günlük Carbopol Tedavili Grup(n=6)	23,04 $\pm$ 0,55*, a, b	2,46 $\pm$ 0,06 ^a	16 $\pm$ 1,13 ^{a, b}
3 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	13,68 $\pm$ 1,92*, b, c, d	2,92 $\pm$ 0,72 ^{a, b}	13,62 $\pm$ 0,70*, a, b
7 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	14,84 $\pm$ 0,26*, b, c, d	1,20 $\pm$ 0,20*, b, c, d, e	5,92 $\pm$ 1,11*, a, b, c, d, e,
3 Günlük Oral- Gavaj Tedavili Grup(n=6)	16,28 $\pm$ 1,93*, c, d	0,92 $\pm$ 0,20*, b, c, d, e	17,91 $\pm$ 0,71 ^{a, b}
7 Günlük Oral Gavaj Tedavili Grup(n=6)	14,64 $\pm$ 0,98*, b, c, d	1,01 $\pm$ 0,09*, b, c, d, e	4,81 $\pm$ 1,68*, a, b, c, d, e

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

a: 3 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

b: 7 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında (p<0,05)

c: 3 Günlük Karbopol Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

d: 7 Günlük Karbopol Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

e: 3 Günlük Topikal Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

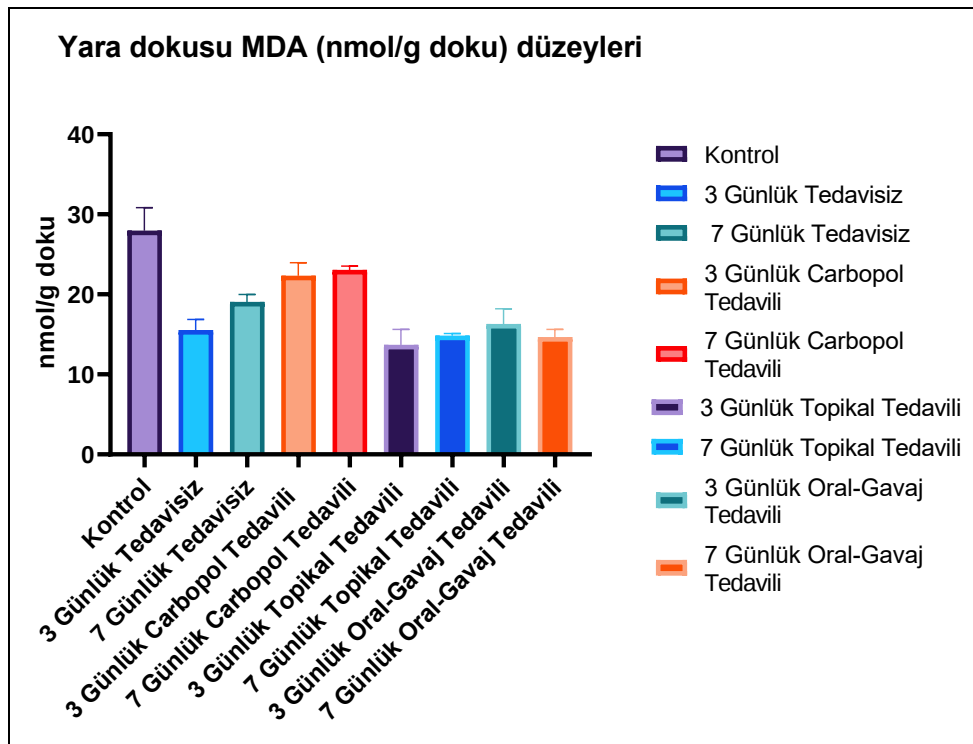
4.1. Yara Dokusu MDA Düzeyleri

Kontrol grubu tüm gruplar kıyaslandığında, tedavisiz ve tedavili grupların MDA düzeylerinde anlamlı düşüş gözlemlenmiştir (p<0.05). Karbopol uygulanan grupların tedavisiz ve tedavili gruplara kıyasla MDA değerlerinde anlamlı bir yükseliş belirlenmiştir (p<0.05).

Yara dokusu MDA düzeyleri tedavisiz grupta 7. günde 3. güne oranla istatistiksel olarak artmıştır (p<0.05). Tedavisiz gruplar ile topikal ve oral gavaj tedavili gruplar kıyaslandığında tedavili grupların MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (p<0,05).

3 günlük tedavi grupları kendi aralarında kıyaslandığında, topikal tedavi grubun MDA düzeyleri oral gavaj tedavi grubu göre istatistiksel olarak düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$)

7 günlük tedavi grupları kendi aralarında kıyaslandığında, topikal ve oral gavaj tedavi grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).



Şekil 4.1. Yara dokusu MDA düzeyleri

4.2. Yara Dokusu GSH Düzeyleri

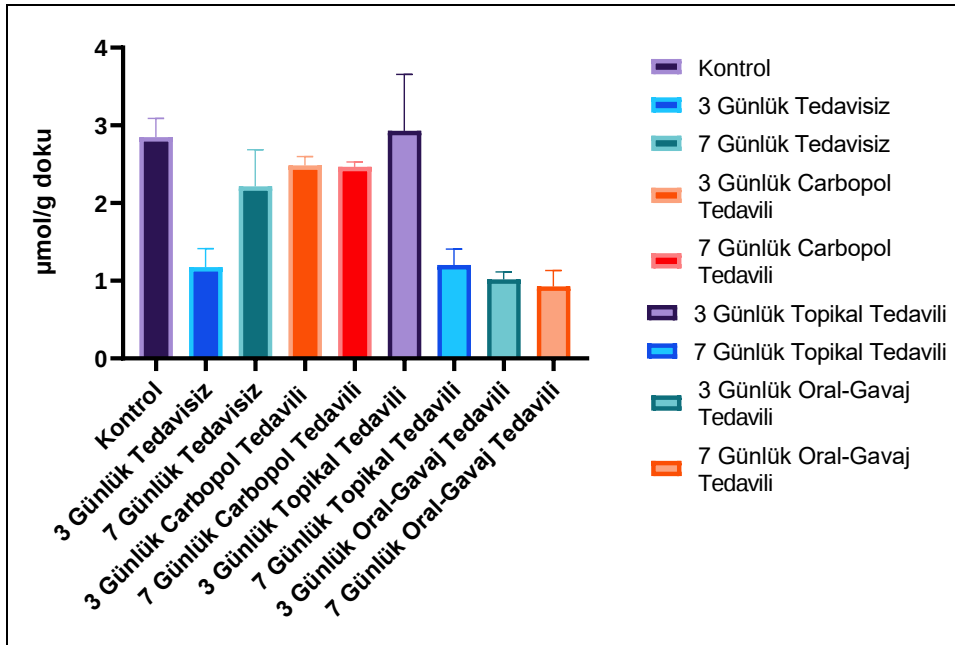
Gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında, kontrol grubu ile diğer tüm deney grupları arasında GSH seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,05$). Yara dokusu GSH düzeyleri tedavisiz grupta 7. günde 3. güne oranla istatistiksel olarak artmıştır ($p<0,05$).

3 günlük uygulama grupları aralarında karşılaştırıldığında Karbopol uygulanan gruplarda tedavisiz ve tedavi gruplarına göre GSH değerinde anlamlı bir artış söz konusudur ($p<0,05$). 3 günlük tedavisiz grup ile 3 günlük tedavi grupları kıyaslandığında topikal tedavi grubunda

GSH düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenirken, oral gavaj tedavili gruplarda GSH düzeylerinde istatistiksel olarak düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$).

7 günlük uygulama grupları arasında karşılaştırma yapıldığında hem topikal tedavili hem de oral gavaj tedavili grupların tedavisiz gruba kıyasla GSH değerlerinde anlamlı düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Topikal olarak Elajik asit ve Karnosik asit uygulamaları yapılmış ratlarda yara dokusu GSH düzeyleri 3. günde 7. günle kıyas edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0,05$). 3 günlük topikal tedavili grup diğer tüm tedavili gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmektedir ($p<0,05$).



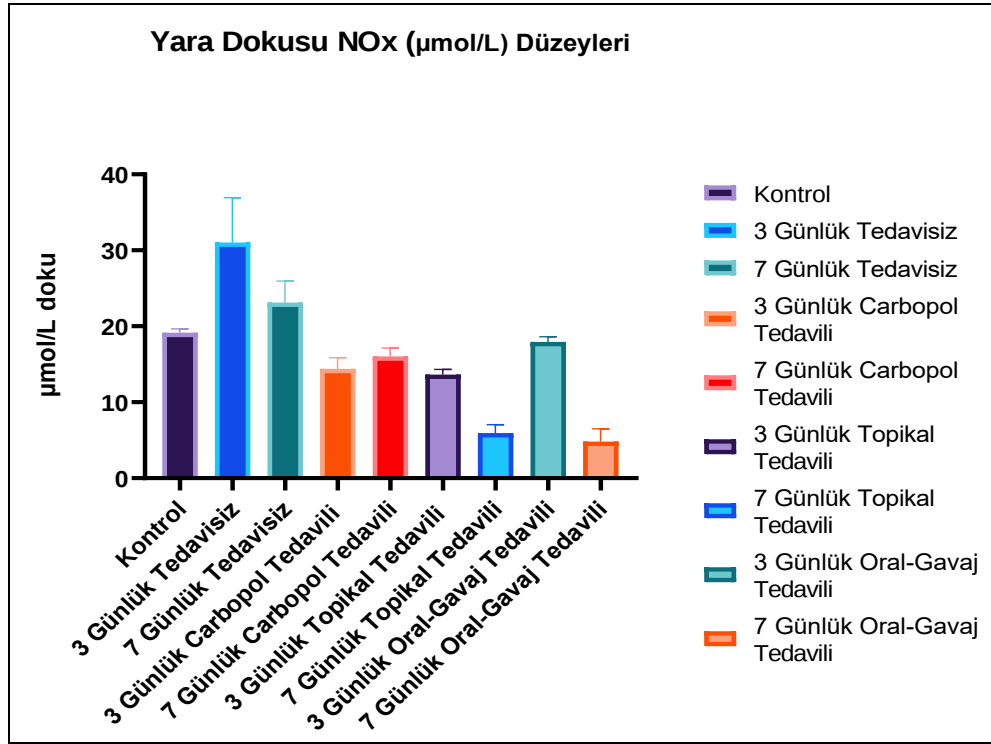
Şekil 4.2. Yara dokusu GSH düzeyleri

4.3. Yara Dokusu NOx Düzeyleri

Kontrol grubu ile tedavili gruplar kıyaslandığında tedavili gruplarda NOx düzeylerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Tedavisiz gruplarda 3. günde 7. güne oranla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

3 günlük gruplar kendi aralarında kıyaslandığında uygulama yapılan gruplarda tedavisiz gruba göre anlamlı azalma tespit edilmiş olup, uygulama grupları arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$).

7 günlük gruplar kendi aralarında kıyaslandığında uygulama yapılan gruplarda tedavisiz gruba göre anlamlı azalma tespit edilmiş ($p<0,05$). Karbopol tedavili gruba kıyasla topikal ve oral olarak tedavi edilen gruplar anlamlı bir azalma tespit edilmiş olup ($p<0,05$), 7 günlük oral gavaj tedavili grubun diğer tedavili gruplara göre NOx değerlerinden istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.3. Yara dokusu NOx düzeyleri

Çizelge 4.2. Elajik asit ve Karnosik asit uygulamalarının yara dokusundaki MMP-2 ve MMP-9 düzeylerine etkisi

GRUPLAR	MMP-2	MMP-9
Kontrol Grup (n=6)	2,58 ±0,70	8,47 ±0,39
3 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	2,12 ±0,42	10,29 ± 0,56*
7 Günlük Tedavisiz Grup(n=6)	2,64 ±0,81	9,67 ±0,29*
3 Günlük Carbopol Tedavili Grup(n=6)	1,98 ±0,24	9,19 ± 0,42
7 Günlük Carbopol Tedavili Grup(n=6)	2,29 ±0,33	9,04 ±0,71 ^a
3 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	2,11 ±0,15	7,98 ±0,38 ^{a, b, c}
7 Günlük Topikal Tedavili Grup(n=6)	2,02 ± 0,29	7,50 ±0,71 ^{a, b, c, d}
3 Günlük Oral- Gavaj Tedavili Grup(n=6)	2,45 ±0,37	8,84 ±0,53 ^a
7 Günlük Oral Gavaj Tedavili Grup(n=6)	1,97 ±0,32	8,12 ±0,61 ^{a, b, d}

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

a: 3 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

b: 7 Günlük Tedavisiz Grup ile kıyaslandığında (p<0,05)

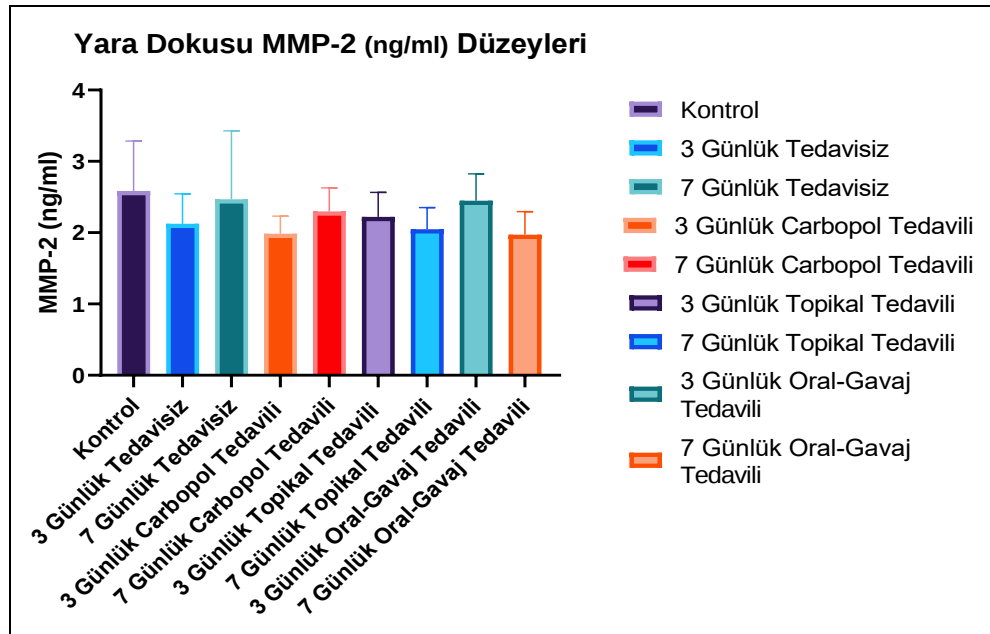
c: 3 Günlük Carbopol Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

d: 7 Günlük Carbopol Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

e: 3 Günlük Topikal Tedavili Grup ile kıyaslandığında (p <0,05)

4.4. Yara Dokusu MMP-2 Düzeyleri

Elajik asit ve Karnosik asit uygulamalarında kontrol, tedavisiz ve tedavili gruplar arasında MMP-2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).



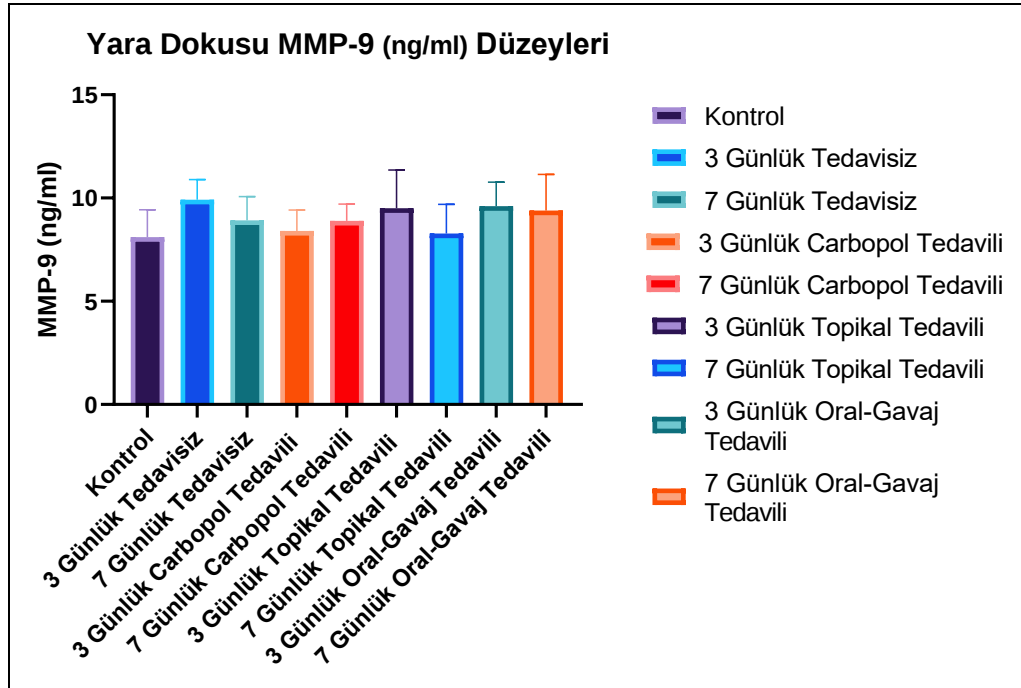
Şekil 4.4. Yara dokusu MMP-2 düzeyleri

4.5. Yara Dokusu MMP-9 Düzeyleri

Kontrol grubu ile tedavisiz gruplar karşılaştırıldığında, tedavisiz gruplarda MMP-9 düzeylerinde anlamlı artış tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tedavisiz gruplar ile tedavi grupları karşılaştırıldığında, Karbopol tedavi gruplarında anlamlı farklılık gözlenmemektedir ($p>0,05$), topikal ve oral gavaj tedavi gruplarının MMP-9 seviyelerinde anlamlı düşüş gözlemlenmektedir ($p<0,05$).

Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, Karbopol tedavi grupları ile topikal ve oral gavaj tedavi gruplarının MMP-9 seviyelerinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.5. Yara dokusu MMP-9 düzeyleri

5. TARTIŞMA

Kazalar, yangınlar ve çeşitli hastalıklar nedeniyle meydana gelen yaralar insan yaşamını etkileyen olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Yara meydana geldikten hemen sonra dokunun eski formuna dönmesi için başlayan yara iyileşme süreci, birbirini takip eden ve birbiri içine geçmiş hemostaz, inflamatuvar, proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamalarından oluşmaktadır (G. Broughton, 2nd ve diğerleri, 2006). Yara iyileşmesi insan hayatını önemli ölçüde etkileyen bir süreçtir. Özellikle diyabette, serbest radikaller ve antioksidan dengesinin bozulmasıyla birlikte artan oksidatif stres yara iyileşmesini geciktirmekte, ileri düzeylerde ise iyileşmeyen kronik yaraların oluşmasına yol açmaktadır. Gelişen teknolojiyle birlikte geleneksel olarak kullanılan bu bitkilerin içerik analizleri yapılarak etki mekanizmaları açıklanmaya çalışılmaktadır. Son zamanlarda bitki içeriklerinde polifenoller potansiyel etkileriyle dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, iki farklı fenolik bileşik olan Elajik asit ve Karnosik asit kombinasyonunun hiperglisemik ratlarda yara iyileştirmesinde kullanılabilirlikleri değerlendirmek ve yara iyileşmesinde meydana gelen oksidatif hasarlara karşı olarak sinerjik etki gösterip göstermedikleri yara dokularında MDA, GSH, NOx, MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin araştırılarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

Oksijen kaynaklı serbest radikallerin neden olduğu hücrel hasarlar açığa çıkan oksidasyon ürünleri ile belirlenmektedir (Urso ve Clarkson, 2003). Lipit peroksidasyonun son ürünü olarak ortaya çıkan sitotoksik aldehit olan MDA, oksidatif stresin belirteçleri arasında yer almaktadır. Artan diyabet durumuyla birlikte MDA düzeyleri artmakta olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Halifeoğlu ve diğerleri, 2005; Matteucci ve Giampietro, 2000).

Çalışmamızda diyabetik rat yara dokularında MDA düzeyleri tedavisiz gruplarda 7. günde 3. güne oranla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Tedavisiz gruplar ile hem topikal hem de oral gavaj tedavili gruplar kıyaslandığında tedavili grupların MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$). 3 günlük topikal tedavi grubu MDA düzeyleri oral-gavaj tedavili gruba kıyasla daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Elajik asidin iyi bir lipofilik antioksidan görevi görebileceği düşünülmektedir. Bu özellik, peroksil radikallerini temizleme yeteneği ile, onu zincir kırıcı antioksidan için olası bir aday yapmaktadır. Son çalışmalar, Elajik asidin düzlemsel yapısı nedeniyle küçük oluk ile araya girerek DNA'ya bağlandığını göstermektedir. Elajik asidin tüm bu önemli ve benzersiz

özellikleri, lipid peroksidasyonunu E vitamininden çok daha düşük konsantrasyonlarda engellediği gözlemlenen gerçeğini desteklemektedir(Priyadarsini ve diğerleri, 2002).

Primarizky ve diğerleri (2017) çalışmalarında EA uygulamasının erkek albino sıçanlarda kesik yaranın iyileşme sürecinde, iyileşme sürecini hızlandırıcı bir aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir (Primarizky ve diğerleri, 2017).

Al-Obaidi ve diğerleri (2014) yapmış oldukları çalışmada EA'nın diyabetik sıçanlarda diş çekiminin neden olduğu kemik kaybını önlemede etkili olan doğal bir bileşik olduğunu tespit etmiş olup, ayrıca diyabetik sıçanların dişeti dokusunun EA ile tedavi edildikten sonra antioksidan durumun düzeldiğini, bu da oksidatif stres göstergesi olarak MDA seviyelerinin düştüğünü bildirmiştir (Al-Obaidi ve diğerleri, 2014).

Mansouri ve diğerleri (2015) çalışmalarında Elajik asidin anti inflamatuvar etkisinin altında yatan mekanizmaların araştırmış ve EA'in proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL1- β) ve NO aşırı üretimini baskılanması yoluyla ödem pençesindeki MDA seviyesindeki azalma ile ilişkili olabileceğini ifade etmiştir (M. T. Mansouri ve diğerleri, 2015).

Aruoma ve diğerleri (1992) Karnosik asitin lipit peroksidasyonu üzerine etkilerini çalışmış ve mikrozomal ve lipozomal sistemlerde lipid peroksidasyonunun güçlü inhibitörü olabileceğini bildirmiştir. Karnosik asitin lipit peroksidasyonuna etkisiyle ilgili literatürde yeterli çalışmama bulunmamaktadır. Ancak, bitki ekstraksiyonları ile yapılan çalışmalarda Abd El Kader ve diğerlerinin (2012) yapmış oldukları çalışmada biberiye yaprağı tozunun MDA seviyesindeki düşüşe neden olarak lipit peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (Abd El Kader ve diğerleri, 2012).

Labban ve diğerlerinin (2014) yapmış oldukları çalışmada da Biberiye özütünün MDA içeriğini önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir(Labban ve diğerleri, 2014).

Mabrouk (2016) diyabetik erkek ratlar üzerine yapmış olduğu çalışmada biberiye yaprağı ekstresi, lipid metabolizmasını iyileştirmenin yanı sıra kan glukoz seviyesini düşürerek anti-diyabetik bir ajan olarak yararlı bir etkiye sahip olduğunu bildirmiştir(Mabrouk Gabr, 2016).

Çalışmamızda iki farklı uygulamada da tedavi gruplarında MDA düzeylerindeki anlamlı düşüş gözlemlenmiştir. MDA seviyelerindeki bu düşüşler Elajik asit ve Karnosik asitin

sinerjik etki göstererek, sahip oldukları yüksek antioksidan özelliklerine bu da reaktif radikalleri stabilize ederek lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir.

Glutasyon redoks döngüsü, antioksidanlara karşı hücresel savunma mekanizmalarının ana bileşenidir. Artan total GSH seviyeleri ve GSH ile ilişkili enzimler, serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hasara karşı en önemli biyokimyasal koruyucu sistemlerdir (Adamson ve diğerleri, 1996). Diyabetik yaralarda ROT seviyesindeki artış, GSH gibi iyi bilinen bazı antioksidan moleküllerin tüketimine ve CAT ve SOD gibi antioksidan enzimlerin tükenmesine neden olmaktadır (Kopal ve diğerleri, 2007).

Çalışmamızda diyabetik rat yara dokularında 3 günlük tedavisiz grup ile 3 günlük tedavili gruplar karşılaştırıldığında topikal tedavili grupların GSH değerlerinde anlamlı artışlar gözlemlenmiş olup, oral gavaj tedavili gruplarda istatistiksel olarak düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$). 7 günlük tedavisiz grup ile tedavili gruplar kıyas edildiğinde hem topikal tedavili hem oral gavaj tedavili grupların GSH değerlerinde anlamlı düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$). Topikal olarak Elajik asit ve Karnosik asit uygulamaları yapılmış ratlarda yara dokusu GSH düzeyleri 3. günde 7. günle kıyas edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0,05$). 3 günlük topikal tedavili grup diğer tüm tedavili gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmektedir ($p<0,05$).

Chen ve diğerleri (2007) yapmış oldukları çalışmada insan fibroblast (IMR-90) hücrelerinde, hidrojen peroksidin neden olduğu oksidatif stresi tedavi etmek için EA kullanılmıştır. DNA hasarı ve lipid peroksidasyonunun EA ile önemli ölçüde azaldığı, hücre içi GSH'nin arttığı bulunmuştur. EA ve diğer polifenollerin hücreleri hidrojen peroksit tarafından indüklenen oksidatif stresten koruduğunu öne sürülmüştür (Chen ve diğerleri, 2007).

Khanduja ve diğerleri (2006), normal insan periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC'ler) hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif stresin etkisini bildirilmiştir. EA ile muamele edilmiş hücrelerde süperoksit anyonlarının ve hidroksil radikallerinin oluşumunu hem enzimatik hem de enzimatik olmayan şekilde inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. ROT oluşumu, GSH'nin tükenmesi ve hücrelerin hayatta kalma yüzdesindeki azalma, EA tedavisi ile inhibe edildiği gözlemlenmiştir (Khanduja ve diğerleri, 2006).

Sahu ve diğerkleri (2011) CA'nın diyabetik nefropati üzerindeki terapötik etkilerini araştırdığı çalışmada, hem tedavi öncesi hem de sonrası Karnosik asitin GSH seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğunu tespit etmiştir (Sahu ve diğerkleri, 2011).

Literatürdeki bulguların kısıtlı olmasının karşın mevcut çalışmalar ele aldığında her iki bileşiğinde GSH düzeyleri üzerinde arttırıcı etkileri bulunmaktadır. Ancak yara dokusu MDA değerkleriyle birlikte değerklendirildiğinde artmış lipit peroksidasyonunu ortadan kaldırmak için GSH'ın tüketildiğı sonucu desteklemektedir.

Nitrik oksit, birçok önemli biyolojik fonksiyonda yer alan kısa ömürlü bir serbest radikaldır (Koshland Jr, 1992). NO sentazları üç farklı izoformda bulunmaktadır; iki kurucu (endotelyal ve nöronal) ve bir indüklenebilir izoform. Kurucu izoformlar, düşük konsantrasyonlarda NO üreten aktif izoformlardır (Knowles ve Moncada, 1994). Bunların enzimatik aktiviteleri, hücre içi kalsiyum akışları veya eksojen kalmodulin tarafından düzenlenmektedir. Uyarılabilir izoformun (iNOS) ekspresyonu, transkripsiyonu ve işlevi, çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri ve hedef hücreler üzerindeki inflamatuvar uyaranlar tarafından indüklenir ve bu yapıcı izoformlar tarafından üretilen miktarlara kıyasla yüksek seviyelerde NO salınımına yol açmaktadır. İndüklenebilir izoform tarafından oluşturulan yüksek miktarlarda NO, sepsis gibi inflamatuvar durumlarda bazı zararlı etkilerinden sorumludur (Tsukahara ve diğerkleri, 1998). iNOS ayrıca yara iyileşmesi, yanık yaralanması, endotoksin maruziyeti, artrit ve inflamatuvar barsak hastalıkları sırasında da salınır (Witte ve Barbul, 2002).

Uyarılabilir izoform (iNOS), yara iyileşmesinin erken evresinde başta makrofajlar olmak üzere inflamatuvar hücreler tarafından sentezlenmektedir. Bununla birlikte, yaralanmadan sonraki proliferatif faz sırasında birçok hücre NO sentezine katılır. iNOS yoluyla salınan NO, hayvan yara iyileşmesi modellerinde kollajen oluşumunu, hücre çoğalmasını ve yara kasılmasını farklı şekillerde düzenlenmektedir(Witte ve Barbul, 2002). Yara iyileşmesinin erken evrelerinde iNOS ekspresyonu yüksek olmasına rağmen, iyileşmenin sonraki evrelerinde yara bölgesinde iNOS aktivitesinin aşağı regülasyonu hakkında çok az şey bilinmektedir. Muhtemelen iNOS aktivitesi, inflamatuvar yanıtın çözülmesi veya sitokin sinyali ile aşağı regüle edilebilir. Devam eden inflamatuvar yanıtları olan kolonize veya enfekte yaraların büyük miktarlarda NO üretmeye devam etmesi muhtemeldir (Witte ve Barbul, 2002).

Çalışmamızda diyabetik rat dokularında NOx seviyelerinde, tedavisiz gruplarda 3. günde 7. güne oranla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Yara iyileşmesinin inflamasyon fazında artmış lökosit aktivasyonu ile iNOS gen ekspresyonunun arttığı ve sonuçta da NO üretimin arttığı bilinmektedir. 3 günlük gruplar kendi aralarında kıyaslandığında tedavi grupların NOx düzeylerinde tedavisiz gruba göre anlamlı azalma tespit edilmiş olup, uygulama grupları arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). 7 günlük gruplar kendi aralarında kıyaslandığında uygulama yapılan gruplarda tedavisiz gruba göre anlamlı azalma tespit edilmiş ($p<0,05$). Karbopol tedavili gruba kıyasla topikal ve oral gavaj tedavili grupların NOx seviyelerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmiş olup ($p<0,05$), 7 günlük oral gavaj tedavili grubun diğer tedavili gruplara göre NOx değerlerinden istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Priyadarsini ve diğerlerinin (2001) yılında yapmış oldukları çalışmada Elajik asidin hidroksil radikalleri, NO gibi ROT ve NOS'u temizlediği ve E vitamini ve C vitamini gibi iyi bilinen birçok antioksidanla karşılaştırılabilir etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir (Priyadarsini ve diğerleri, 2002). Umesalma ve diğerlerinin (2010) yapmış olduğu çalışmada EA'nın iNOS'u aşağı doğru düzenleyerek NO salınımını engellediği belirtilmiştir (Umesalma ve Sudhandiran, 2010).

Mansouri ve diğerleri (2015) EA'nın iNOS ve ürünü NO üretimini baskıladığını öne sürmüşlerdir ve bu anti inflamatuvar mekanizmasının EA'nın L-arginin-NO yolu aracılığıyla olabileceğini açıklamışlardır (M. T. Mansouri ve diğerleri, 2015). Ayrıca Mansouri ve diğerlerinin (2013) yapmış oldukları bir çalışmada da asetik asitle indüklenen visseral ağrıda EA'nın anti-nosiseptif etkisine L-arginin-NO yolunun dahil olduğunu daha önce gösterilmiştir (Mohammad Taghi Mansouri ve diğerleri, 2013).

Dhingra ve diğerleri (2012) çalışmalarında stresli farelerde Elajik asidin antidepresan benzeri aktivitesi, indüklenebilir NOS'un inhibisyonu yoluyla olabilir (Dhingra ve Chhillar, 2012).

Karnosik asit'in NOx seviyeleri üzerine etkileri ile yapılan çalışmalara bakıldığında Kuo ve diğerleri (2011) *R. officinalis* yapraklarından ve CA'dan elde edilen süperkritik karbon dioksit ekstraktının, LPS'nin neden olduğu NO üretimini ve makrofaj hücrelerinde iNOS ekspresyonunu önemli ölçüde baskıladığını göstermişlerdir (Kuo ve diğerleri, 2011).

Xiang ve diğerlerinin (2012) yapmış olduğu çalışmada CA'nın muhtemelen serbest oksijen radikalleri, NO ve sitokinlerin sitotoksik etkilerini önlediğini bildirmiştir. Sıçan karaciğerdeki total NOS ve iNOS aktiviteleri test edilmiş ve LPS yüklemesinden sonra karaciğerdeki serum NO içeriğinin ve iNOS aktivitesinin önemli ölçüde yükseldiğini, CA uygulamasıyla önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (Xiang ve diğerleri, 2013).

Dokudaki düşük NO konsantrasyonu koruyucu etki göstermesine karşın yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermektedir (Habib ve Ali, 2011). Yara iyileşmesine katkılarının yanı sıra tüm serbest radikaller gibi yüksek düzeylerde üretildiğinde hücre hasara neden olabilmektedir. Çalışmamızın sonucunda NOx düzeyleri ele alındığında, sonuçlarımız literatürle paralel olup, tedavisiz diyabetik yaralarda artan NOx düzeyleri hem topikal hem de oral gavaj EA ve CA uygulamalarıyla baskılanmıştır.

Matriks metalloproteinazlar (MMP) yara iyileşme sürecinin çeşitli aşamalarında önemli bir rol oynayan ECM yeniden modelleme proteinleridir (Gill ve Parks, 2008). Etkili bir yara kapanması için yaralanmanın ardından metalloproteinazlar aktif rol oynamaktadır (Grzela ve diğerleri, 2016). Yara iyileşmesi sırasında, MMP'ler keratinositler, fibroblastlar ve inflamatuvar hücreler gibi farklı hücre tipleri tarafından farklı aşamalarda ve lokasyonlarda salgılanır, böylece bu süreci çok koordineli ve kontrollü bir şekilde düzenler (Bauvois, 2012).

Şimdiye kadar, bir dizi çalışma, kronik iyileşmeyen yaralarda yükselmiş MMP ekspresyonlarını göstermiştir. MMP-2 ve MMP-9, yara iyileşmesi sırasında hücre büyümesi, hücre göçü, inflamasyon ve anjiyogeneze görev alırlar. Son zamanlarda, MMP-2'nin anjiyogeneze ve uzun süreli matris yeniden şekillenmesi için gerekli olduğu gösterilmiştir. Yara iyileşmesinde, MMP-9'un keratinosit göçü ve granülasyon dokusunun yeniden şekillenmesinde rol oynadığı öne sürülmektedir (Krejner ve Grzela, 2015; Salo ve diğerleri, 1994). Akut yaralarda MMP aktivitesi faydalı olsa da kronik yaralarda muhtemelen hücre dışı matriks ultra strüktürünün ve doku fonksiyonunun bozulmasına yol açtığı düşünülmektedir. Bu nedenle, kronik yaralarda, MMP aşırı ekspresyonu yara iyileşmesinde zararlı olacaktır (Chung ve diğerleri, 2017).

Çalışmamızda diyabetik yara dokusunda MMP-2 ve MMP-9 seviyelerine bakıldığında, MMP-2 seviyelerinde gruplar arası anlamlı bir farklılık gözlemlenmemektedir ($p>0,05$). Kontrol grubu ile tedavisiz gruplar karşılaştırıldığında, tedavisiz gruplarda MMP-9

düzeylerinde anlamlı artış tespit edilmiştir ($p<0,05$). Tedavisiz gruplar ile tedavi gruplar kıyaslandığında, Karbopol tedavi gruplarında anlamlı farklılık gözlenmemektedir ($p>0,05$), topikal ve oral gavaj tedavi grupların MMP-9 seviyelerinde anlamlı düşüş gözlemlenmektedir ($p<0,05$). Tedavi gruplar kendi aralarında kıyaslandığında, Karbopol tedavi gruplar ile topikal ve oral gavaj tedavi grupların MMP-9 seviyelerinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Dai J. ve ark. (2021) yaptıkları diyabetik yara çalışmasında MMP2 ve MMP9 protein ekspresyonlarının, diyabetik olmayan yaralarla karşılaştırıldığında diyabetik yara örneklerinde anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Dai ve diğerleri, 2021). Chung ve ark. (2017) çalışmalarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diyabetli hastaların yırtık tendonlarında MMP-2'nin değil ancak MMP-9'un aşırı eksprese edildiği sonucuna varılmışlardır (Chung ve diğerleri, 2017). Ayrıca, Polat ve ark. (2014) tedavi edilen yaralarda MMP-9'un aşağı regüle edildiğini iddia etmektedir (Polat ve diğerleri, 2014).

Normal yara iyileşme sürecinde ve ilerleyici doku dejenerasyonunda, artan MMP-9 ekspresyonu, cildin bütünlüğünü bozulmalarla önemli ölçüde tehlikeye atabilir ve bu da iyileşmeyen yaralara neden olabilir (Hariono ve diğerleri, 2018). Birkaç çalışma daha, diyabetin serum veya dokudaki up-regüle MMP ekspresyonları ile ilişkisini ortaya konmuştur. Bununla birlikte, MMP'ler ve diyabet arasındaki ilişki hakkında hala çok fazla belirsizlik bulunmaktadır. Artan dolaşım ve doku glikoz seviyesi ile arttırılmış monosit ve makrofaj aktivasyonunun, inflamatuvar sitokinleri indükleyebileceği ve MMP'lerin, özellikle MMP-9'un artan aktivasyonuna ve ekspresyonuna yol açabileceğidir. Ek olarak, kronik hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres, ROT duyarlılık yoluyla MMP-9'un aktivasyonunun ve ekspresyonunun artmasına neden olabilir (Shiau ve diğerleri, 2006).

Wu ve ark. (2007) MMP-9'un diyabetik ayak ülserlerinde zayıf iyileşme ile ilişkili olduğunu bildirmektedir (Wu ve diğerleri, 2007). Tombultürk ve ark. diyabetik tedavi görmemiş sıçanların, yara iyileşme sürecinin 3. ve 14. günlerinde normal kontrol sıçanlarından daha yüksek MMP-9 reaktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir (Tombulturk ve diğerleri, 2019).

Elajik asit pH 7'de çözünmez, ancak fizyolojik pH'da çözünür kalır. pH 7'de, EA, Zn₂, Ca₂, Fe₂, Cd₂, Cu₂ ve diğerleri gibi iki değerlikli katyonları şelatlar; ve bu özellik, MMP-1, MMP-2, MMP-9 ve diğerleri gibi MMP'leri inaktive etme kabiliyetini artırır (Losso ve diğerleri, 2004). Bu yargıyı destekler nitelikte Liu ve diğerleri (2017) Elajik asit ile yapılan kanser çalışmalarında, Elajik asit'in MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini kademeli olarak azalttığını tespit etmiştir (Liu ve diğerleri, 2017).

Karnosik asit, antioksidandır ve lipid peroksidasyonunu ve biyolojik membranların bozulmasını önler (Y. Zhang ve diğerleri, 2010). Ayrıca Karnosik asidin, spesifik Keap1 sistein kalıntılarına bağlanarak Keap1/Nrf2 transkripsiyonel yolunu aktive eden ve böylece oksidatif strese koruyan katekol tipi bir elektrofilik molekül olduğu bildirilmiştir (Satoh ve diğerleri, 2008). Karnosik asit nükleer faktör-eritroid 2 (Nrf2) indükleyerek ve NF-kB sinyal yolunu baskılayarak oksidatif stresi zayıflatır ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını engelleyerek anti inflamatuvar etki gösterir (H. Li ve diğerleri, 2016). Karnosik asitin bu inhibe edici mekanizmalarının, NF-kB'nin MMP-9 transkripsiyon aracılı aktivasyonunu içeren bir sinyalleşme olayını kesintiye uğratabileceği ve bu sonuca dayanarak, CA'nın MMP-9 ekspresyonu ve NF-kB aktivasyonu üzerindeki inhibitör etkisinin antioksidan ve anti inflamatuvar özelliklerinden kaynaklanabileceğini önerilmektedir (Yu ve diğerleri, 2008).

Çalışma sonucunda, tedavisiz diyabetik yara gruplarımızda MMP-9 seviyelerindeki yükselme, EA ve CA uygulamalarıyla baskılanmış olup, diyabetik yaralarda EA ve CA birlikte uygulamasının ROT araçlı MMP ekspresyonunu azaltarak yara iyileşme sürecini desteklediği düşünülmekte ve elde edilen sonuçlar literatür bilgilerini desteklemektedir.

Bu tez çalışması kapsamında Elajik asit ve Karnosik asit kombinasyonun topikal ve oral olmak üzere farklı uygulama şekilleriyle hiperglisemik ratlarda yara iyileşmesi üzerine etkileri oksidatif olaylar üzerinden incelenmiştir. Elajik asit ve Karnosik asit 'in ayrı ayrı kullanımlarının yara iyileşmesi üzerine etkilerini ele alan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte kombine kullanımları ilk kez ele alınmıştır. Elde edilen veriler, literatürde yer alan Elajik asit ve Karnosik asitin oksidatif olaylar üzerine etkileri ile paralel olup, yara iyileşme üzerine sinerjik etki gösterdiklerini destekler niteliktedir. İlerleyen çalışmalarda farklı doz ve farklı tedavi süreleri kullanılarak yara tedavisindeki potansiyel etkileri daha detaylı olarak araştırılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yara iyileşme süreci içerisinde fizyolojik, hücresel ve biyokimyasal olayları barındıran kompleks bir süreçtir. Yara iyileşmesinin aksamaması, geç iyileşen ya da iyileşmeyen yaraların oluşması insan hayatını fizyolojik, psikolojik ve sosyo-ekonomik yönlerden etkilemektedir. Yara iyileşmesini etkileyen en önemli faktörlerden biri olan diyabet, gecikmiş ya da iyileşmeyen yaralara neden olmaktadır (Burgess ve diğerleri, 2021). Yara iyileşme sürecini etkileyen bir diğer önemli faktörlerden biri ROT 'tur. Yüksek miktardaki ROT oksidatif stresin varlığını göstermektedir. Yüksek miktarlarda oluşan ROT, sitotoksikteyse neden olarak yara iyileşmesini geciktirmektedir (Wynn ve Barron, 2010). Bu durum nedeni ile iş gücü kaybı sorunu ve bu iş gücü kaybıyla ortaya çıkan ekonomik sorunlar, uzun tedavi süreleri ve uzun süre hastanede yatma ile ortaya çıkan psikolojik sorunlar hastaları zor duruma düşürmektedir.

Günümüzde yara iyileşme sürecini desteklemek amacıyla birçok yeni stratejiler geliştirilmektedir. Bu stratejiler arasında antioksidan özellikteki maddelerin yara iyileşme sürecine katkıları oldukça dikkat çekicidir. Bu tez çalışmasında da yüksek antioksidan özellikleri iyi bilenen Elajik asit ve Karnosik asitin birlikte kullanarak sinerjik etkilerinin diyabetik yara iyileşmesi üzerindeki oksidatif olaylara etkileri ele alınmıştır.

Çalışma doğrultusunda 54 adet wistar albino ırkı dişi rata STZ uygulaması ile diyabetik hayvan modeli oluşturulmuştur. Kontrol grubu dışındaki diğer hayvanların dorsal bölgesinde omurganın her iki yanında birbirine paralel olacak şekilde 6 mm punch biyopsi (Acu-Punch, Acuderm, USA) ile 6 adet tek tip tam kat eksizyonel yara oluşturulmuştur. Oluşturulan yaralara, %2 oranında Carbopol 974P içerisinde Elajik asit ve Karnosik asit içeren jel formülasyonu yara bölgesine günlük 10 mg/kg dozunda olacak şekilde topikal olarak, distile su içerisinde hazırlanan Elajik asit ve Karnosik asit günlük 10 mg/kg dozda oral olarak 3 ve 7 günlük periyotlarda uygulanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen yara dokularında EA ve CA sinerjik etkilerinin oksidatif olaylara etkisi MDA, GSH, NOx, MMP-2 ve MMP-9 seviyelerine bakılarak değerlendirilmiştir.

Yara dokusu MDA düzeyleri değerlendirildiğinde, tüm tedavi grupların MDA düzeylerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$). GSH düzeylerine bakıldığında kontrol grubuna en yakın GSH düzeyinin 3 günlük topikal tedavili grup olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$). NOx

düzeylerine bakıldığında, tüm tedavili gruplarda NOx düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. MMP-2 seviyelerinde anlamlı farklılık tespit edilememiş olup ($p>0,05$), MMP-9 seviyelerinin tedavili grupların tümünde tedavisiz gruplara kıyasla anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Elajik asit, ikincil metabolit olarak oluşan biyoaktif bir polifenolik bileşiktir (Derosa ve diğerleri, 2016). Yapısal olarak Elajik asit, dimerik bir gallik asit türevi olan heksahidroksidifenik asidin (HHDP) bir dilaktonudur (Sharifi-Rad ve diğerleri, 2022). EA iki grup lakton ve dört hidroksil grubuna sahiptir ve sahip olmuş olduğu hidroksil gruptan dolayı antioksidan özelliğe sahiptir. EA bu özelliğinden dolayı ayrıca lipid peroksidasyonu inhibe eder ve doku hasarını oksidatif strese karşı korur (Primarizky ve diğerleri, 2017). Karnosik asit, labdan tipi bir diterpendir (Birtić, 2015). CA sahip olmuş olduğu bir katekol parçasının varlığından dolayı yüksek antioksidan özelliğe sahiptir (Loussouarn ve diğerleri, 2017). CA ayrıca hidroksil ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikallerinin temizleyicisi olarak da tarif edilmiştir (Luis ve Johnson, 2005). Her iki bileşiğinde yüksek antioksidan özellikleri bilinmekte ve literatürde bu özellikleri ile ilgili birçok farklı çalışma bulunmaktadır. Ancak bu bileşiklerin yara iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren çok kısıtlı çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada biyokimyasal incelemeler ile literatür karşılaştırıldığında, EA ve CA'nın birlikte kullanımının diyabetik yara iyileşmesinde yara iyileşmesini geliştirdiği, hızlandırdığı ve oksidatif olayları etkilediği, ilk kez, söylenebilir. Sahip oldukları antioksidan özelliklere göre benzer serbest radikalleri temizlerinin yanı sıra farklı serbest radikaller üzerine de etki göstermeleri birbirlerinin etkilerini desteklediklerini gösterebileceği düşünülmektedir. EA ve CA'nın farklı uygulamalar ile yara iyileşmesi üzerine etkileri incelendiğinde hem lokal hem de sistemik olarak etki göstererek oksidatif olayların azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen verilerimizin gelecek çalışmalara ışık tutabileceğini düşünmekteyiz. EA ve CA'nın etkileşimlerini ve yara iyileşmesi üzerinde potansiyel faydalarının daha detaylı anlaşılabilmesi adına farklı doz ve tedavi süreleri kullanılarak çalışmalar geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Abd El Kader, M., El-Sammad, N. and Taha, H. (2012). The protective role of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in lead acetate induced toxicity in rats. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(6), 3071-3082.
- Abou-El-Hassan, H., Bsat, S., Sukhon, F., Assaf, E. J., Mondello, S., Kobeissy, F., Wang, K. K., Weiner, H. L. and Omeis, I. (2020). Protein degradome of spinal cord injury: Biomarkers and potential therapeutic targets. *Molecular Neurobiology*, 57(6), 2702-2726.
- Adamson, B., Schwarz, D., Klugston, P., Gilmont, R., Perry, L., Fisher, J., Lindblad, W. and Rees, R. (1996). Delayed repair: the role of glutathione in a rat incisional wound model. *Journal of Surgical Research*, 62(2), 159-164.
- Ahad, A., Ganai, A. A., Mujeeb, M. and Siddiqui, W. A. (2014). Ellagic acid, an NF- κ B inhibitor, ameliorates renal function in experimental diabetic nephropathy. *Chemico-Biological Interactions*, 219, 64-75.
- Al-Obaidi, M. M. J., Al-Bayat, F. H., Al Batran, R., Hussaini, J. and Khor, G. H. (2014). Impact of Ellagic Acid in Bone Formation after Tooth Extraction: An Experimental Study on Diabetic Rats. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-14.
- Alver, E. N., Kaltalioglu, K. and Coskun-Cevher, S. (2021). Reactive Oxygen Species And Wound Healing. *Research & Reviews in Science and Mathematics*, 65.
- Amadeu, T. P., Braune, A. S., Porto, L. C., Desmoulière, A. and Costa, A. M. (2004). Fibrillin-1 and elastin are differentially expressed in hypertrophic scars and keloids. *Wound Repair and Regeneration*, 12(2), 169-174.
- Arct, J. and Pytkowska, K. (2008). Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology*, 26(4), 347-357.
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S. and Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69-82.
- Ayepola, O. R., Brooks, N. L. and Oguntibeju, O. O. (2014). Oxidative stress and diabetic complications: the role of antioxidant vitamins and flavonoids. *Antioxidant-antidiabetic agents and human health*, 923-931.
- Aykac, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A. and Öz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36(1), 71-76.
- Bae, J. Y., Choi, J. S., Kang, S. W., Lee, Y. J., Park, J. and Kang, Y. H. (2010). Dietary compound ellagic acid alleviates skin wrinkle and inflammation induced by UV-B irradiation. *Experimental Dermatology*, 19(8), e182-e190.

- Baek, B., Lee, S. H., Kim, K., Lim, H.-W. and Lim, C.-J. (2016). Ellagic acid plays a protective role against UV-B-induced oxidative stress by up-regulating antioxidant components in human dermal fibroblasts. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 20(3), 269.
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P. and Azizi, F. (2013). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 12(1), 1-9.
- Bahorun, T., Soobrattee, M., Luximon-Ramma, V. and Aruoma, O. (2006). Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet Journal of Medical Update*, 1(2), 25-41.
- Bahri, S., Jameleddine, S. and Shlyonsky, V. (2016). Relevance of carnosic acid to the treatment of several health disorders: Molecular targets and mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 569-582.
- Bala, I., Bhardwaj, V., Hariharan, S. and Kumar, M. R. (2006). Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40(1), 206-210.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Baltzis, D., Eleftheriadou, I. and Veves, A. (2014). Pathogenesis and Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus: New Insights. *Advances in Therapy*, 31(8), 817-836.
- Barni, M. V., Carlini, M. J., Cafferata, E. G., Puricelli, L. and Moreno, S. (2012). Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells. *Oncology Reports*, 27(4), 1041-1048.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H. and Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585-601.
- Bauvois, B. (2012). New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: Outside-in signaling and relationship to tumor progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1825(1), 29-36.
- Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, 33(12).
- Ben-Haroush, A., Yogev, Y. and Hod, M. (2004). Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*, 21(2), 103-113.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Birtić, S., Dussort, P., Pierre, F.-X., Bily, A.C., Roller, M. (2015). Carnosic acid. *Phytochemistry*, 115, 9-19.

- Bishop, A. (2008). Role of oxygen in wound healing. *Journal of Wound Care*, 17(9), 399-402.
- Bogdanski, P., Pupek-Musialik, D., Dytfeld, J., Jagodzinski, P., Jablecka, A., Kujawa, A. and Musialik, K. (2007). Influence of insulin therapy on expression of chemokine receptor CCR5 and selected inflammatory markers in patients with type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 45(10), 563-567.
- Boniakowski, A. E., Kimball, A. S., Jacobs, B. N., Kunkel, S. L. and Gallagher, K. A. (2017). Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing. *The Journal of Immunology*, 199(1), 17-24.
- Brix, K., Dunkhorst, A., Mayer, K. and Jordans, S. (2008). Cysteine cathepsins: cellular roadmap to different functions. *Biochimie*, 90(2), 194-207.
- Broughton, G., 2nd, Janis, J. E. and Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7 Suppl), 12S-34S.
- Broughton, G. I., Janis, J. E. and Attinger, C. E. (2006). Wound Healing: An Overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7S), 1e-S-32e-S.
- Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In S. Fleischer ve L. Packer (Eds.). *Methods in Enzymology* (Vol. 52). Academic Press, s. 302-310.
- Burgess, J. L., Wyant, W. A., Abdo Abujamra, B., Kirsner, R. S. and Jozic, I. (2021). Diabetic Wound-Healing Science. *Medicina*, 57(10), 1072.
- Calcutt, N. A., Lopez, V. L., Bautista, A. D., Mizisin, L. M., Torres, B. R., Shroads, A. L., Mizisin, A. P. and Stacpoole, P. W. (2009). Peripheral neuropathy in rats exposed to dichloroacetate. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 68(9), 985-993.
- Carrera-Quintanar, L., Lopez Roa, R. I., Quintero-Fabián, S., Sánchez-Sánchez, M. A., Vizmanos, B. and Ortuño-Sahagún, D. (2018). Phytochemicals that influence gut microbiota as prophylactics and for the treatment of obesity and inflammatory diseases. *Mediators of Inflammation*, 2018.
- Chen, C.-H., Liu, T.-Z., Chen, C.-H., Wong, C. H., Chen, C.-H., Lu, F.-J. and Chen, S. C. (2007). The efficacy of protective effects of tannic acid, gallic acid, ellagic acid, and propyl gallate against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and DNA damages in IMR-90 cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(8), 962-968.
- Chiquet, M., Gelman, L., Lutz, R. and Maier, S. (2009). From mechanotransduction to extracellular matrix gene expression in fibroblasts. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1793(5), 911-920.
- Cho, H., Blatchley, M. R., Duh, E. J. and Gerecht, S. (2019). Acellular and cellular approaches to improve diabetic wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 146, 267-288.

- Chung, S. W., Choi, B. M., Kim, J. Y., Lee, Y. S., Yoon, J. P., Oh, K. S. and Park, K. S. (2017). Altered Gene and Protein Expressions in Torn Rotator Cuff Tendon Tissues in Diabetic Patients. *Arthroscopy*, 33(3), 518-526.e511.
- Cipolletti, M., Solar Fernandez, V., Montalesi, E., Marino, M. and Fiocchetti, M. (2018). Beyond the antioxidant activity of dietary polyphenols in cancer: the modulation of estrogen receptors (ERs) signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2624.
- Clark, R. A. (1988). Wound repair. *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*, 3-50.
- Conus, S., Perozzo, R., Reinheckel, T., Peters, C., Scapozza, L., Yousefi, S. and Simon, H.-U. (2008). Caspase-8 is activated by cathepsin D initiating neutrophil apoptosis during the resolution of inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(3), 685-698.
- Cook, H., Stephens, P., Davies, K. J., Thomas, D. W. and Harding, K. G. (2000). Defective extracellular matrix reorganization by chronic wound fibroblasts is associated with alterations in TIMP-1, TIMP-2, and MMP-2 activity. *Journal of Investigative Dermatology*, 115(2), 225-233.
- Cooper, D. M. (1999). Wound healing: new understandings. *Nurse Practitioner Forum*, 10(2), 74-86.
- Çorakçı, A., Kaya, A., Uysal, A., Tuzcu, A., Sönmez, A. and Kut, A. (2017). Diabetes mellitus tanı, sınıflama ve izlem ilkeleri. In M. Yılmaz, A. Kaya, M. Balcı, F. Bayraktar, S. Dağdelen, S. M ve Ş. İ (Eds.). *TURKDIAB Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi*.
- Dai, J., Shen, J., Chai, Y. and Chen, H. (2021). IL-1 β Impaired Diabetic Wound Healing by Regulating MMP-2 and MMP-9 through the p38 Pathway. *Mediators of Inflammation*, 2021, 1-10.
- Darby, I. A., Laverdet, B., Bonté, F. and Desmoulière, A. (2014). Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 7, 301.
- Das, S., Joardar, S., Manna, P., Dua, T. K., Bhattacharjee, N., Khanra, R., Bhowmick, S., Kalita, J., Saha, A., Ray, S., De Feo, V. and Dewanjee, S. (2018). Carnosic Acid, a Natural Diterpene, Attenuates Arsenic-Induced Hepatotoxicity via Reducing Oxidative Stress, MAPK Activation, and Apoptotic Cell Death Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-24.
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A. and Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews Disease Primers*, 1(1), 15019.
- Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R. and Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Advances in Skin & Wound Care*, 25(7), 304.

- Den Dekker, A., Davis, F. M., Kunkel, S. L. and Gallagher, K. A. (2019). Targeting epigenetic mechanisms in diabetic wound healing. *Translational research*, 204, 39-50.
- Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D. G. and Deng, W. (2021). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 1-11.
- Derosa, G., Maffioli, P. and Sahebkar, A. (2016). Ellagic Acid and Its Role in Chronic Diseases. *Anti-Inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases*, 473-479.
- Devipriya, N., Srinivasan, M., Sudheer, A. and Menon, V. (2007). Effect of ellagic acid, a natural polyphenol, on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose dependent study. *Singapore Medical Journal*, 48(4), 311.
- Dhingra, D. and Chhillar, R. (2012). Antidepressant-like activity of ellagic acid in unstressed and acute immobilization-induced stressed mice. *Pharmacological Reports*, 64(4), 796-807.
- Diegelmann, R. F. and Evans, M. C. (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci*, 9(1), 283-289.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*.
- Du Cheyne, C., Tay, H. and De Spiegelaere, W. (2020). The complex TIE between macrophages and angiogenesis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 49(5), 585-596.
- Duan, J., Li, Y., Gao, H., Yang, D., He, X., Fang, Y. and Zhou, G. (2020). Phenolic compound ellagic acid inhibits mitochondrial respiration and tumor growth in lung cancer. *Food & Function*, 11(7), 6332-6339.
- Duca, L., Floquet, N., Alix, A. J., Haye, B. and Debelle, L. (2004). Elastin as a matrikine. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 49(3), 235-244.
- Eelen, G., de Zeeuw, P., Simons, M. and Carmeliet, P. (2015). Endothelial cell metabolism in normal and diseased vasculature. *Circulation Research*, 116(7), 1231-1244.
- Egozi, E. I., Ferreira, A. M., Burns, A. L., Gamelli, R. L. and Dipietro, L. A. (2003). Mast cells modulate the inflammatory but not the proliferative response in healing wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 11(1), 46-54.
- Eming, S. A., Krieg, T. and Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514-525.
- Enoch, S. and Leaper, D. J. (2008). Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)*, 26(2), 31-37.

- Fantin, A., Vieira, J. M., Gestri, G., Denti, L., Schwarz, Q., Prykhozhij, S., Peri, F., Wilson, S. W. and Ruhrberg, C. (2010). Tissue macrophages act as cellular chaperones for vascular anastomosis downstream of VEGF-mediated endothelial tip cell induction. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 116(5), 829-840.
- Federation, I. (2021). IDF Diabetes Atlas, tenth. *International Diabetes*.
- Fitzmaurice, S., Sivamani, R. K. and Isseroff, R. R. (2011). Antioxidant therapies for wound healing: a clinical guide to currently commercially available products. *Skin Pharmacology and Physiology*, 24(3), 113-126.
- Frei, B. (1994). Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *The American Journal of Medicine*, 97(3), S5-S13.
- Frykberg, R. and Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, 4(9), 560-582.
- Gale, E. (2005). Type 1 diabetes in the young: the harvest of sorrow goes on. *Diabetologia*, 48(8), 1435-1438.
- García-Niño, W. R. and Zazueta, C. (2015). Ellagic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in liver protection. *Pharmacological Research*, 97, 84-103.
- Genestra, M. (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, 19(9), 1807-1819.
- Gerstein, H. C., Santaguida, P., Raina, P., Morrison, K. M., Balion, C., Hunt, D., Yazdi, H. and Booker, L. (2007). Annual incidence and relative risk of diabetes in people with various categories of dysglycemia: a systematic overview and meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 78(3), 305-312.
- Gharagozlian, S., Svennevig, K., Bangstad, H.-J., Winberg, J.-O. and Kolset, S. O. (2009). Matrix metalloproteinases in subjects with type 1 diabetes. *BMC Clinical Pathology*, 9(1), 7.
- Gil, T.-Y., Hong, C.-H. and An, H.-J. (2021). Anti-inflammatory effects of ellagic acid on keratinocytes via MAPK and STAT pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1277.
- Gill, S. and Parks, W. (2008). Metalloproteinases and their inhibitors: Regulators of wound healing. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(6-7), 1334-1347.
- Gillitzer, R. and Goebeler, M. (2001). Chemokines in cutaneous wound healing. *Journal of Leukocyte Biology*, 69(4), 513-521.
- Godbout, J. P. and Glaser, R. (2006). Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 1(4), 421-427.

- Gong, Z., Neuhouser, M. L., Goodman, P. J., Albanes, D., Chi, C., Hsing, A. W., Lippman, S. M., Platz, E. A., Pollak, M. N. and Thompson, I. M. (2006). Obesity, diabetes, and risk of prostate cancer: results from the prostate cancer prevention trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 15(10), 1977-1983.
- Gosain, A. and Dipietro, L. A. (2004). Aging and Wound Healing. *World Journal of Surgery*, 28(3), 321-326.
- Görlach, A. (2005). Redox regulation of the coagulation cascade. *Antioxidants & Redox Signaling*, 7(9-10), 1398-1404.
- Graf, B. A., Milbury, P. E. and Blumberg, J. B. (2005). Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *Journal of Medicinal Food*, 8(3), 281-290.
- Greaves, N. S., Ashcroft, K. J., Baguneid, M. and Bayat, A. (2013). Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *Journal of Dermatological Science*, 72(3), 206-217.
- Grzela, T., Krejner, A. and Litwiniuk, M. (2016). Matrix metalloproteinases in the wound microenvironment: therapeutic perspectives. *Chronic Wound Care Management and Research*, 29.
- Guimarães, I., Baptista-Silva, S., Pintado, M. and L. Oliveira, A. (2021). Polyphenols: A Promising Avenue in Therapeutic Solutions for Wound Care. *Applied Sciences*, 11(3), 1230.
- Guo, S. and Dipietro, L. A. (2010). Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229.
- Habib, S. and Ali, A. (2011). Biochemistry of nitric oxide. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 26(1), 3-17.
- Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R., Canatan, H., Telo, S. and Kimya, F. Ü. F.-E. F. (2005). Oxidant and antioxidant status in type 2 diabetic patients before and after therapy. *Firat Tıp Dergisi*, 10(3), 117-122.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147-1150.
- Hamdan, S., Pastar, I., Drakulich, S., Dikici, E., Tomic-Canic, M., Deo, S. and Daunert, S. (2017). Nanotechnology-driven therapeutic interventions in wound healing: potential uses and applications. *ACS Central Science*, 3(3), 163-175.
- Hariono, M., Yuliani, S. H., Istyastono, E. P., Riswanto, F. D. O. and Adhipandito, C. F. (2018). Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in wound healing of diabetic foot ulcer: Molecular target and structure-based drug design. *Wound Medicine*, 22, 1-13.
- Heinonen, S. E., Genové, G., Bengtsson, E., Hübschle, T., Åkesson, L., Hiss, K., Benardeau, A., Ylä-Herttuala, S., Jönsson-Rylander, A.-C. and Gomez, M. F. (2015). Animal models of diabetic macrovascular complications: key players in the development of new therapeutic approaches. *Journal of Diabetes Research*, 2015, 14.

- Ibrahim, N. I., Wong, S. K., Mohamed, I. N., Mohamed, N., Chin, K.-Y., Ima-Nirwana, S. and Shuid, A. N. (2018). Wound healing properties of selected natural products. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(11), 2360.
- Jha, A. B., Panchal, S. S. and Shah, A. (2018). Ellagic acid: insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic Alzheimer's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 175, 33-46.
- Kaltalioglu, K. and Coskun-Cevher, S. (2015). A bioactive molecule in a complex wound healing process: platelet-derived growth factor. *International Journal of Dermatology*, 54(8), 972-977.
- Karabulut, H. and Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karkada, G., Maiya, G. A., Arany, P., Rao, M., Adiga, S. and Kamath, S. U. (2022). Effect of Photobiomodulation Therapy on Oxidative Stress Markers in Healing Dynamics of Diabetic Neuropathic Wounds in Wistar Rats. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 80(1), 151-160.
- Katsarou, A., Gudbjörnsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A. and Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 1-17.
- Keylock, K. T., Vieira, V. J., Wallig, M. A., DiPietro, L. A., Schrementi, M. and Woods, J. A. (2008). Exercise accelerates cutaneous wound healing and decreases wound inflammation in aged mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(1), R179-R184.
- Khalil, E. A., Abou-Zekry, S. S., Sami, D. G. and Abdellatif, A. (2021). Natural products as wound healing agents. *Wound Healing Research: Current Trends and Future Directions*, 77-94.
- Khanduja, K. L., Avti, P. K., Kumar, S., Mittal, N., Sohi, K. K. and Pathak, C. M. (2006). Anti-apoptotic activity of caffeic acid, ellagic acid and ferulic acid in normal human peripheral blood mononuclear cells: A Bcl-2 independent mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1760(2), 283-289.
- Kiasalari, Z., Heydarifard, R., Khalili, M., Afshin-Majd, S., Baluchnejadmojarad, T., Zahedi, E., Sanaierad, A. and Roghani, M. (2017). Ellagic acid ameliorates learning and memory deficits in a rat model of Alzheimer's disease: an exploration of underlying mechanisms. *Psychopharmacology*, 234(12), 1841-1852.
- Kim, S., Nishimoto, S. K., Bumgardner, J. D., Haggard, W. O., Gaber, M. W. and Yang, Y. (2010). A chitosan/ β -glycerophosphate thermo-sensitive gel for the delivery of ellagic acid for the treatment of brain cancer. *Biomaterials*, 31(14), 4157-4166.
- King, H. (1998). Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes Care*, 21, B9.
- Knowles, R. G. and Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*, 298(Pt 2), 249.

- Kopal, C., Deveci, M., Öztürk, S. and Sengezer, M. (2007). Effects of Topical Glutathione Treatment in Rat Ischemic Wound Model. *Annals of Plastic Surgery*, 58(4).
- Koshland Jr, D. E. (1992). The molecule of the year. *Science*, 258(5090), 1861-1861.
- Krejner, A. and Grzela, T. (2015). Modulation of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 activity by hydrofiber-foam hybrid dressing – relevant support in the treatment of chronic wounds. *Central European Journal of Immunology*, 3, 391-394.
- Kunkemoeller, B. and Kyriakides, T. R. (2017). Redox Signaling in Diabetic Wound Healing Regulates Extracellular Matrix Deposition. *Antioxidants & Redox Signaling*, 27(12), 823-838.
- Kuo, C. F., Su, J. D., Chiu, C. H., Peng, C. C., Chang, C. H., Sung, T. Y., Huang, S. H., Lee, W. C. and Chyau, C. C. (2011). Anti-inflammatory effects of supercritical carbon dioxide extract and its isolated carnosic acid from *Rosmarinus officinalis* leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3674-3685.
- Kühl, C. (1991). Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM: implications for diagnosis and management. *Diabetes*, 40(Supplement_2), 18-24.
- Labban, L., Mustafa, U. E.-S. and Ibrahim, Y. M. (2014). The Effects of Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i>) Leaves Powder on Glucose Level, Lipid Profile and Lipid Peroxidation. *International Journal of Clinical Medicine*, 05(06), 297-304.
- Labrecque, L., Lamy, S., Chapus, A., Mihoubi, S., Durocher, Y., Cass, B., Bojanowski, M. W., Gingras, D. and Béliveau, R. (2005). Combined inhibition of PDGF and VEGF receptors by ellagic acid, a dietary-derived phenolic compound. *Carcinogenesis*, 26(4), 821-826.
- Larrosa, M., García-Conesa, M. T., Espín, J. C. and Tomás-Barberán, F. A. (2010). Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 31(6), 513-539.
- Lau, Y.-K. I., Gobin, A. M. and West, J. L. (2006). Overexpression of lysyl oxidase to increase matrix crosslinking and improve tissue strength in dermal wound healing. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(8), 1239-1246.
- Levi, E., Fridman, R., Miao, H. Q., Ma, Y. S., Yaron, A. and Vlodavsky, I. (1996). Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(14), 7069-7074.
- Li, H., Sun, J.-J., Chen, G.-Y., Wang, W.-W., Xie, Z.-T., Tang, G.-F. and Wei, S.-D. (2016). Carnosic acid nanoparticles suppress liver ischemia/reperfusion injury by inhibition of ROS, Caspases and NF- κ B signaling pathway in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 237-246.
- Li, J., Chen, J. and Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 9-18.

- Li, Y.-J., Li, X.-H., Wang, L.-F., Kuang, X., Hang, Z.-X., Deng, Y. and Du, J.-R. (2014). Therapeutic efficacy of a novel non-peptide $\alpha\beta 3$ integrin antagonist for pathological retinal angiogenesis in mice. *Experimental Eye Research*, 129, 119-126.
- Lindley, L. E., Stojadinovic, O., Pastar, I. and Tomic-Canic, M. (2016). Biology and Biomarkers for Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 138, 18S-28S.
- Liu, H., Zeng, Z., Wang, S., Li, T., Mastriani, E., Li, Q.-H., Bao, H.-X., Zhou, Y.-J., Wang, X., Liu, Y., Liu, W., Hu, S., Gao, S., Yu, M., Qi, Y., Shen, Z., Wang, H., Gao, T., Dong, L., Johnston, R. N. and Liu, S.-L. (2017). Main components of pomegranate, ellagic acid and luteolin, inhibit metastasis of ovarian cancer by down-regulating MMP2 and MMP9. *Cancer Biology & Therapy*, 18(12), 990-999.
- Losso, J. N., Bansode, R. R., Trappey II, A., Bawadi, H. A. and Truax, R. (2004). In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(11), 672-678.
- Loussouarn, M., Krieger-Liszkay, A., Svilar, L., Bily, A., Birtić, S. and Havaux, M. (2017). Carnosic Acid and Carnosol, Two Major Antioxidants of Rosemary, Act through Different Mechanisms. *Plant Physiology*, 175(3), 1381-1394.
- Luis, J. and Johnson, C. (2005). Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their in vitro antiradical activity. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 3(1), 106-112.
- Lund, L. R., Rømer, J., Bugge, T. H., Nielsen, B. S., Frandsen, T. L., Degen, J. L., Stephens, R. W. and Danø, K. (1999). Functional overlap between two classes of matrix-degrading proteases in wound healing. *The EMBO Journal*, 18(17), 4645-4656.
- Ma, T., Tan, M.-S., Yu, J.-T. and Tan, L. (2014). Resveratrol as a therapeutic agent for Alzheimer's disease. *BioMed Research International*, 350516.
- Mabrouk Gabr, N. (2016). Effects of the aqueous extract of rosemarinus officinalis l. (rosemary) leaves on lipid profile of diabetic adult male albino rats. *Al-Azhar Medical Journal*, 45(1), 185-194.
- Mahata, D., Nag, A., Nando, G. B., Mandal, S. M. and Franco, O. L. (2018). Self-assembled tea tannin graft copolymer as nanocarriers for antimicrobial drug delivery and wound healing activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(4), 2361-2369.
- Malini, P., Kanchana, G. and Rajadurai, M. (2011). Antibabetic efficacy of ellagic acid in streptozotocin-induced diabetes mellitus in albino wistar rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4(3), 124-128.
- Manach, C., Mazur, A. and Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16(1), 77-84.
- Mansouri, M. T., Hemmati, A. A., Naghizadeh, B., Mard, S. A., Rezaie, A. and Ghorbanzadeh, B. (2015). A study of the mechanisms underlying the anti-inflammatory effect of ellagic acid in carrageenan-induced paw edema in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(3), 292-298.

- Mansouri, M. T., Naghizadeh, B., Ghorbanzadeh, B. and Farbood, Y. (2013). Central and peripheral antinociceptive effects of ellagic acid in different animal models of pain. *European Journal of Pharmacology*, 707(1-3), 46-53.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A. and Watkins, J. B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17(1), 24-38.
- Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81.
- Martin, P. and Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*, 15(11), 599-607.
- Martins-Green, M., Petreaca, M. and Wang, L. (2013). Chemokines and their receptors are key players in the orchestra that regulates wound healing. *Advances in Wound Care*, 2(7), 327-347.
- Marucha, P. T., Kiecolt-Glaser, J. K. and Favagehi, M. (1998). Mucosal wound healing is impaired by examination stress. *Psychosomatic Medicine*, 60(3), 362-365.
- Matteucci, E. and Giampietro, O. (2000). Oxidative stress in families of type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*, 23(8), 1182-1186.
- Menke, N. B., Ward, K. R., Witten, T. M., Bonchev, D. G. and Diegelmann, R. F. (2007). Impaired wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 19-25.
- Middleton, E., Kandaswami, C. and Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Miranda, K. M., Espey, M. G. and Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5(1), 62-71.
- Mirastschijski, U., Impola, U., Jahkola, T., Karlsmark, T., Ågren, M. S. and Saarialho-Kere, U. (2002). Ectopic localization of matrix metalloproteinase-9 in chronic cutaneous wounds. *Human Pathology*, 33(3), 355-364.
- Mo, J., Panichayupakaranant, P., Kaewnopparat, N., Nitiruangjaras, A. and Reanmongkol, W. (2014). Wound healing activities of standardized pomegranate rind extract and its major antioxidant ellagic acid in rat dermal wounds. *Journal of Natural Medicines*, 68(2), 377-386.
- Moore, J., Yousef, M. and Tsiani, E. (2016). Anticancer effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract and rosemary extract polyphenols. *Nutrients*, 8(11), 731.
- Morgan, C. and Nigam, Y. (2013). Naturally derived factors and their role in the promotion of angiogenesis for the healing of chronic wounds. *Angiogenesis*, 16(3), 493-502.
- Mott, J. D. and Werb, Z. (2004). Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Current Opinion in Cell Biology*, 16(5), 558-564.

- Movahhedini, N., Zengin, G., Bahadori, M. B., Sarikurkcu, C., Bahadori, S. and Dinparast, L. (2016). *Ajuga chamaecistus* subsp. *scoparia* (Boiss.) Rech.f.: A new source of phytochemicals for antidiabetic, skin-care, and neuroprotective uses. *Industrial Crops and Products*, 94, 89-96.
- Nagle, S. M., Stevens, K. A. and Wilbraham, S. C. (2022). Wound assessment *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Novak, M. L. and Koh, T. J. (2013). Phenotypic transitions of macrophages orchestrate tissue repair. *The American Journal of Pathology*, 183(5), 1352-1363.
- Oliveira, A., Simões, S., Ascenso, A. and Reis, C. P. (2022). Therapeutic advances in wound healing. *Journal of Dermatological Treatment*, 33(1), 2-22.
- Olsson, A. H., Rönn, T., Elgzyri, T., Hansson, O., Eriksson, K.-F., Groop, L., Vaag, A., Poulsen, P. and Ling, C. (2011). The expression of myosin heavy chain (MHC) genes in human skeletal muscle is related to metabolic characteristics involved in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Molecular Genetics and Metabolism*, 103(3), 275-281.
- Olsson, M., Järbrink, K., Divakar, U., Bajpai, R., Upton, Z., Schmidtchen, A. and Car, J. (2019). The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. *Wound Repair and Regeneration*, 27(1), 114-125.
- Ortiz-Ruiz, C. V., Bernal, J., Tudela, J., Varon, R. and Garcia-Canovas, F. (2016). Action of ellagic acid on the melanin biosynthesis pathway. *Journal of Dermatological Science*, 82(2), 115-122.
- Overall, C. M. and López-Otín, C. (2002). Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 657-672.
- Pandey, K. B. and Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Pari, L. and Sivasankari, R. (2008). Effect of ellagic acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 22(4), 395-401.
- Patel, S., Srivastava, S., Singh, M. R. and Singh, D. (2019). Mechanistic insight into diabetic wounds: Pathogenesis, molecular targets and treatment strategies to pace wound healing. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108615.
- Petreaca, M. L., Yao, M., Liu, Y., DeFea, K. and Martins-Green, M. (2007). Transactivation of vascular endothelial growth factor receptor-2 by interleukin-8 (IL-8/CXCL8) is required for IL-8/CXCL8-induced endothelial permeability. *Molecular Biology of the Cell*, 18(12), 5014-5023.
- Pham-Huy, L. A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 4(2), 89.

- Poché, R. A., Hsu, C.-W., McElwee, M. L., Burns, A. R. and Dickinson, M. E. (2015). Macrophages engulf endothelial cell membrane particles preceding pupillary membrane capillary regression. *Developmental Biology*, 403(1), 30-42.
- Polat, E., Aksöz, İ., Arkan, H., Coşkunpınar, E., Akbaş, F. and Onaran, İ. (2014). Gene expression profiling of *Lucilia sericata* larvae extraction/secretion-treated skin wounds. *Gene*, 550(2), 223-229.
- Potente, M., Gerhardt, H. and Carmeliet, P. (2011). Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*, 146(6), 873-887.
- Primarizky, H., Yuniarti, W. M. and Lukiswanto, B. S. (2017). Ellagic Acid Activity in Healing Process of Incision Wound on Male Albino Rats (*Rattus norvegicus*). *KnE Life Sciences*, 3(6).
- Priyadarsini, K. I., Khopde, S. M., Kumar, S. S. and Mohan, H. (2002). Free Radical Studies of Ellagic Acid, a Natural Phenolic Antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 2200-2206.
- Reinke, J. M. and Sorg, H. (2012). Wound Repair and Regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35-43.
- Ridnour, L. A., Isenberg, J. S., Espey, M. G., Thomas, D. D., Roberts, D. D. and Wink, D. A. (2005). Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(37), 13147-13152.
- Robson, M. C., Steed, D. L. and Franz, M. G. (2001). Wound healing: Biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current Problems in Surgery*, 38(2), A1-140.
- Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y. and Vergely, C. (2014). Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(9), 2709-2729.
- Rodríguez, E. M., Blázquez, J. L. and Guerra, M. (2010). The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: the former opens to the portal blood and the latter to the cerebrospinal fluid. *Peptides*, 31(4), 757-776.
- Rogério, A. P., Fontanari, C., Melo, M. C., Ambrosio, S. R., de Souza, G. E., Pereira, P. S., França, S. C., da Costa, F. B., Albuquerque, D. A. and Faccioli, L. H. (2006). Anti-inflammatory, analgesic and anti-oedematous effects of *Lafoensia pacari* extract and ellagic acid. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58(9), 1265-1273.
- Rousselle, P., Braye, F. and Dayan, G. (2019). Re-epithelialization of adult skin wounds: Cellular mechanisms and therapeutic strategies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 146, 344-365.
- Roy, T. and Lloyd, C. E. (2012). Epidemiology of depression and diabetes: a systematic review. *Journal of Affective Disorders*, 142, S8-S21.

- Rozentsvit, A., Vinokur, K., Samuel, S., Li, Y., Gerdes, A. M. and Carrillo-Sepulveda, M. A. (2017). Ellagic acid reduces high glucose-induced vascular oxidative stress through ERK1/2/NOX4 signaling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(3), 1174-1187.
- Russell, L. (2000). Understanding physiology of wound healing and how dressings help. *British Journal of Nursing*, 9(1), 10-21.
- Saboo, A., Rathnayake, A., Vangaveti, V. N. and Malabu, U. H. (2016). Wound healing effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: An emerging concept in management of diabetic foot ulcer—A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 10(2), 113-119.
- Sahni, A., Odrlić, T. and Francis, C. W. (1998). Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. *Journal of Biological Chemistry*, 273(13), 7554-7559.
- Sahu, B. D., Rentam, K. K. R., Putcha, U. K., Kuncha, M., Vegi, G. M. N. and Sistla, R. (2011). Carnosic acid attenuates renal injury in an experimental model of rat cisplatin-induced nephrotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3090-3097.
- Sakurai, T. and Tsuchiya, S. (1988). Superoxide production from nonenzymatically glycated protein. *FEBS Letters*, 236(2), 406-410.
- Salazar, J. J., Ennis, W. J. and Koh, T. J. (2016). Diabetes medications: Impact on inflammation and wound healing. *Journal of Diabetes and its Complications*, 30(4), 746-752.
- Salo, T., Mäkelä, M., Kylmäniemi, M., Autio-Harmainen, H. and Larjava, H. (1994). Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 during early human wound healing. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 70(2), 176-182.
- Satoh, T., Izumi, M., Inukai, Y., Tsutsumi, Y., Nakayama, N., Kosaka, K., Shimojo, Y., Kitajima, C., Itoh, K. and Yokoi, T. (2008). Carnosic acid protects neuronal HT22 cells through activation of the antioxidant-responsive element in free carboxylic acid- and catechol hydroxyl moieties-dependent manners. *Neuroscience Letters*, 434(3), 260-265.
- Schafer, M. and Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacological Research*, 58(2), 165-171.
- Schultz, G. S. and Wysocki, A. (2009). Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 17(2), 153-162.
- Sen, C. K. (2009). Wound healing essentials: Let there be oxygen. *Wound Repair and Regeneration*, 17(1), 1-18.
- Sen, C. K. (2019). Human wounds and its burden: an updated compendium of estimates. *Advances in Wound Care*, 8(2), 39-48.
- Sen, C. K. and Roy, S. (2008). Redox signals in wound healing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1780(11), 1348-1361.

- Sen, C. K. and Roy, S. (2012). Wound healing. In E. D. Rodriguez, J. E. Losee ve P. C. Neligan (Eds.). *Plastic Surgery E-Book: Volume 3: Craniofacial, Head and Neck SurgeryPediatric Plastic Surgery (Expert Consult-Online)* (Vol. 1). Elsevier Health Sciences, 240-266.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.
- Shao, N., Mao, J., Xue, L., Wang, R., Zhi, F. and Lan, Q. (2019). Carnosic acid potentiates the anticancer effect of temozolomide by inducing apoptosis and autophagy in glioma. *Journal of Neuro-Oncology*, 141(2), 277-288.
- Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Castillo, C. M. S., Caroca, R., Lazo-Vélez, M. A., Antonyak, H., Polishchuk, A., Lysiuk, R., Oliynyk, P., De Masi, L., Bontempo, P., Martorell, M., Daştan, S. D., Rigano, D., Wink, M. and Cho, W. C. (2022). Ellagic Acid: A Review on Its Natural Sources, Chemical Stability, and Therapeutic Potential. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 1-24.
- Shaw, T. J. and Martin, P. (2016). Wound repair: a showcase for cell plasticity and migration. *Current Opinion in Cell Biology*, 42, 29-37.
- Shiau, M.-Y., Tsai, S.-T., Tsai, K.-J., Haung, M.-L., Hsu, Y.-T. and Chang, Y.-H. (2006). Increased circulatory MMP-2 and MMP-9 levels and activities in patients with type 1 diabetes mellitus. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 73(7), 1024-1028.
- Shyam Bass, S., Asees kaur. (2021). Key Advancements in The Treatment Strategies To Accelerate Wound Healing. *Modern Phytomorphology*, 15(3).
- Sies, H. (1991). Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klinische Wochenschrift*, 69(21), 965-968.
- Sinno, H. and Prakash, S. (2013). Complements and the Wound Healing Cascade: An Updated Review. *Plastic Surgery International*, 2013, 1-7.
- Smith, K. A., Waypa, G. B. and Schumacker, P. T. (2017). Redox signaling during hypoxia in mammalian cells. *Redox Biology*, 13, 228-234.
- Stadelmann, W. K., Digenis, A. G. and Tobin, G. R. (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*, 176(2), 26S-38S.
- Stefater III, J. A., Lewkowich, I., Rao, S., Mariggi, G., Carpenter, A. C., Burr, A. R., Fan, J., Ajima, R., Molkentin, J. D. and Williams, B. O. (2011). Regulation of angiogenesis by a non-canonical Wnt–Flt1 pathway in myeloid cells. *Nature*, 474(7352), 511-515.
- Steffensen, B., Häkkinen, L. and Larjava, H. (2001). Proteolytic events of wound-healing—coordinated interactions among matrix metalloproteinases (MMPs), integrins, and extracellular matrix molecules. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 12(5), 373-398.

- Sternberg, E. M. (2006). Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nature Reviews Immunology*, 6(4), 318-328.
- Strodtbeck, F. (2001). Physiology of wound healing. *Newborn and Infant Nursing Reviews*, 1(1), 43-52.
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., Stein, C., Basit, A., Chan, J. C. N., Mbanya, J. C., Pavkov, M. E., Ramachandaran, A., Wild, S. H., James, S., Herman, W. H., Zhang, P., Bommer, C., Kuo, S., Boyko, E. J. and Magliano, D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 183, 109119.
- Thomas Hess, C. (2011). Checklist for Factors Affecting Wound Healing. *Advances in Skin & Wound Care*, 24(4).
- Tilg, H. and Moschen, A. R. (2008). Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Molecular Medicine*, 14(3), 222-231.
- Tombulturk, F. K., Soydas, T., Sarac, E. Y., Tuncdemir, M., Coskunpinar, E., Polat, E., Sirekbasan, S. and Kanigur-Sultuybek, G. (2019). Regulation of MMP 2 and MMP 9 expressions modulated by AP-1 (c-jun) in wound healing: improving role of *Lucilia sericata* in diabetic rats. *Acta Diabetologica*, 56(2), 177-186.
- Toriseva, M. and Kähäri, V.-M. (2009). Proteinases in cutaneous wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(2), 203-224.
- Trengove, N. J., Stacey, M. C., Macauley, S., Bennett, N., Gibson, J., Burslem, F., Murphy, G. and Schultz, G. (1999). Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair and Regeneration*, 7(6), 442-452.
- Tsukahara, Y., Morisaki, T., Horita, Y., Torisu, M. and Tanaka, M. (1998). Expression of inducible nitric oxide synthase in circulating neutrophils of the systemic inflammatory response syndrome and septic patients. *World Journal of Surgery*, 22(8), 771-777.
- Tuan, T.-L., Wu, H., Huang, E. Y., Chong, S. S., Laug, W., Messadi, D., Kelly, P. and Le, A. (2003). Increased plasminogen activator inhibitor-1 in keloid fibroblasts may account for their elevated collagen accumulation in fibrin gel cultures. *The American Journal of Pathology*, 162(5), 1579-1589.
- Umesalma, S. and Sudhandiran, G. (2010). Differential inhibitory effects of the polyphenol ellagic acid on inflammatory mediators NF- κ B, iNOS, COX-2, TNF- α , and IL-6 in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 107(2), 650-655.
- Urso, M. L. and Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1-2), 41-54.
- Uzar, E., Alp, H., Cevik, M. U., Fırat, U., Evliyaoglu, O., Tufek, A. and Altun, Y. (2012). Ellagic acid attenuates oxidative stress on brain and sciatic nerve and improves histopathology of brain in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurological Sciences*, 33(3), 567-574.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
- Viera, M. H., Vivas, A. C. and Berman, B. (2012). Update on keloid management: clinical and basic science advances. *Advances in Wound Care*, 1(5), 200-206.
- Wager, L. and Leavesley, D. (2015). MicroRNA regulation of epithelial-to-mesenchymal transition during re-epithelialisation: assessing an open wound. *Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association*, 23(3), 132-142.
- Wall, S. J., Bevan, D., Thomas, D. W., Harding, K. G., Edwards, D. R. and Murphy, G. (2002). Differential Expression of Matrix Metalloproteinases During Impaired Wound Healing of the Diabetes Mouse. *Journal of Investigative Dermatology*, 119(1), 91-98.
- Wang, Y., Ren, F., Li, B., Song, Z., Chen, P. and Ouyang, L. (2019). Ellagic acid exerts antitumor effects via the PI3K signaling pathway in endometrial cancer. *Journal of Cancer*, 10(15), 3303.
- Wang, Y., Wu, Y., Liang, C., Tan, R., Tan, L. and Tan, R. (2019). Pharmacodynamic effect of ellagic acid on ameliorating cerebral ischemia/reperfusion injury. *Pharmacology*, 104(5-6), 320-331.
- Werner, S. and Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870.
- Wetzler, C., Kämpfer, H., Pfeilschifter, J. and Frank, S. (2000). Keratinocyte-derived chemotactic cytokines: expressional modulation by nitric oxide in vitro and during cutaneous wound repair in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 274(3), 689-696.
- Wilgus, T. A., Roy, S. and McDaniel, J. C. (2013). Neutrophils and wound repair: positive actions and negative reactions. *Advances in Wound Care*, 2(7), 379-388.
- Willcox, J. K., Ash, S. L. and Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 275-295.
- Witte, M. B. and Barbul, A. (1997). General Principles of Wound Healing *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 509-528.
- Witte, M. B. and Barbul, A. (2002). Role of nitric oxide in wound repair. *The American Journal of Surgery*, 183(4), 406-412.
- Wojtowicz, A. M., Oliveira, S., Carlson, M. W., Zawadzka, A., Rousseau, C. F. and Baksh, D. (2014). The importance of both fibroblasts and keratinocytes in a bilayered living cellular construct used in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 22(2), 246-255.

- Wong, B. W., Marsch, E., Treps, L., Baes, M. and Carmeliet, P. (2017). Endothelial cell metabolism in health and disease: impact of hypoxia. *The EMBO Journal*, 36(15), 2187-2203.
- Woo, K., Ayello, E. A. and Sibbald, R. G. (2007). The edge effect: current therapeutic options to advance the wound edge. *Advances in Skin & Wound Care*, 20(2), 99-117; quiz 118-119.
- Wu, S. C., Driver, V. R., Wrobel, J. S. and Armstrong, D. G. (2007). Foot ulcers in the diabetic patient, prevention and treatment. *Vascular Health and Risk Management*, 3(1), 65.
- Wynn, T. A. and Barron, L. (2010). Macrophages: Master Regulators of Inflammation and Fibrosis. *Seminars in Liver Disease*, 30(03), 245-257.
- Xiang, Q., Liu, Z., Wang, Y., Xiao, H., Wu, W., Xiao, C. and Liu, X. (2013). Carnosic acid attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in rats via fortifying cellular antioxidant defense system. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 1-9.
- Yadav, S. S., Singh, M. K., Dwivedi, P., Mandal, R. K., Usman, K., Khattri, S. and Pant, K. K. (2014). Significance of impaired serum gelatinases activities in metabolic syndrome. *Toxicology International*, 21(1), 107.
- Yager, D. R., Zhang, L.-Y., Liang, H.-X., Diegelmann, R. F. and Cohen, I. K. (1996). Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *Journal of Investigative Dermatology*, 107(5), 743-748.
- Yang, N., Xia, Z., Shao, N., Li, B., Xue, L., Peng, Y., Zhi, F. and Yang, Y. (2017). Carnosic acid prevents dextran sulfate sodium-induced acute colitis associated with the regulation of the Keap1/Nrf2 pathway. *Scientific Reports*, 7(1), 1-12.
- Young, I. S. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- Yu, Y.-M., Lin, H.-C. and Chang, W.-C. (2008). Carnosic acid prevents the migration of human aortic smooth muscle cells by inhibiting the activation and expression of matrix metalloproteinase-9. *British Journal of Nutrition*, 100(4), 731-738.
- Zhang, P., Li, T., Wu, X., Nice, E. C., Huang, C. and Zhang, Y. (2020). Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Frontiers of Medicine*, 14(5), 583-600.
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. and Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118(3), 656-662.
- Zinkevich, N. S. and Gutterman, D. D. (2011). ROS-induced ROS release in vascular biology: redox-redox signaling. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301(3), H647-H653.



Gazili olmak ayrıcalıktır