

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
CERRAHİ HASTALIKLARI HEMŞİRELİĞİ
DOKTORA PROGRAMI

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA TRANSKUTANÖZ ELEKTRİKSEL SİNİR
STİMÜLASYONU (TENS)'NUN İNSİZYONEL YARA
İYİLEŞMESİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

NURCAN BOYACIOĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Sultan ÖZKAN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından HF-20008 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen, bilgisi ve tecrübesi ile akademik gelişimime destek olan saygıdeğer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Sultan ÖZKAN'a, tez döneminde görüş ve önerileri ile tezimin bilimsel temellerini oluşturmama destek olan tez izleme komitesinde ki hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Nurdan GEZER ve Prof. Dr. Şadiye KUM'a teşekkür ederim.

Tezimin deneysel aşamasının gerçekleştirilmesinde yardım ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Cerrahi (Veteriner) Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Zeynep BOZKAN'a, Histoloji ve Embriyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Şadiye KUM ve Dr. Öğr. Üyesi Özay GÜLEŞ ile Patoloji (Veteriner) Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Erkmen Tuğrul EPİKMEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Değerli önerileri ile tez savunmama katılarak beni onurlandıran saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Filiz ÖĞCE ve Prof. Dr. Fatma Demir KORKMAZ'a saygı ve minnetlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde üzerimde emekleri yadsınamaz kıymetlilerim annem Nurhan ESER ve babam Hüseyin ESER'e her zaman yanımda oldukları için teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince geçen yoğun günlerimde gösterdikleri sabır, özveri ve destekleri için eşim Prof. Dr. Murat BOYACIOĞLU ile canım çocuklarım Batuhan ve Lara BOYACIOĞLU'na ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi	1
1.2. Araştırmanın Hipotezleri	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Yara İyileşmesi.....	4
2.1.1. Hemostaz-Koagülasyon.....	4
2.1.2. İnflamasyon	6
2.1.2.1. Nötrofil İnfiltrasyonu.....	7
2.1.2.2. Monosit İnfiltrasyonu.....	7
2.1.2.3. Makrofaj İnfiltrasyonu.....	7
2.1.2.4. Lenfosit İnfiltrasyonu.....	8
2.1.2.5. Mast Hücrelerinin Etkileri.....	8
2.1.3. Proliferasyon.....	9
2.1.3.1. Epitelizasyon.....	10
2.1.3.2. Anjiyogenezis.....	10
2.1.3.3. Fibroblast Göçü.....	11
2.1.4. Maturasyon/Yeniden Modellenme	11

2.2. Büyüme Faktörleri ve Sitokinler.....	12
2.2.1. Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGF).....	12
2.2.2. Fibroblast Growth Faktör (FGF)	13
2.3. Diyabetes Mellitus (DM) Tanımı.....	14
2.3.1. Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi.....	14
2.3.2. Diyabetes Mellitus Sınıflandırılması.....	15
2.3.3. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları.....	16
2.3.4. Diyabet ve Cerrahi.....	17
2.3.5. Diyabette Yara İyileşmesi.....	18
2.4. TENS'in Tanımı.....	20
2.4.1. TENS'in Parametreleri.....	22
2.4.2. TENS Uygulamasının Yara İyileşmesine Etkisi	22
2.4.3. Yara İyileşmesi ve TENS Uygulamasında Hemşirenin Rolü.....	26
2.5. Deneysel Yara İyileşmesi Modelleri	28
2.6. Deneysel Diyabet Modelleri	29
2.7. Serbest Radikaller	30
2.7.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNT).....	32
2.8. Oksidatif Stres	33
2.8.1. Diyabet ve Oksidatif Stres	34
2.8.2. Yara ve Oksidatif Stres	35
2.9. Antioksidan Savunma Sistemi.....	36
2.9.1. Diyabetik Yara İyileşmesinde Etkili Bazı Antioksidanlar ve İlaçlar.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Gereç.....	40
3.1.1. Cihazlar ve Laboratuvar Gereçleri.....	40
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	40
3.1.3. Hayvan Materyali.....	41
3.1.4. Deneysel Grupların Oluşturulması.....	42
3.2. Yöntem.....	44

3.2.1. Streptozotosin (STZ) ile Diyabetin İndüklenmesi.....	44
3.2.2. İnsizyonel Yara Oluşturulması.....	44
3.2.3. TENS Uygulaması	45
3.2.4. Yaranın Değerlendirilmesi.....	46
3.2.4.1. Makroskobik Değerlendirme.....	46
3.2.4.2. Mikroskobik Değerlendirme	47
3.2.4.2.1. İmmunohistokimya	48
3.2.5. Kan Dokusu Oksidatif Stres Parametre Analizi.....	50
3.2.5.1. İndirgenmiş GSH Seviyesi Analizi	50
3.2.5.2. SOD Aktivitesi Analizi	51
3.2.5.3. MDA Seviyesi Analizi	52
3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme	52
4. BULGULAR	54
4.1. Canlı Ağırlık	54
4.2. Kan Glukoz	55
4.3. Makroskobik Bulgular	57
4.4. Mikroskobik Bulgular	58
4.4.1. İmmunohistokimya Bulguları	66
4.5. Kan Dokusu Oksidatif Stres Parametre Bulguları	69
5. TARTIŞMA	72
5.1. İnflamatuar Hücre Yoğunluğu.....	74
5.1.1. Nötrofil Hücre Yoğunluğu.....	74
5.1.2. Mast Hücre Yoğunluğu	75
5.1.3. Makrofaj Hücre Yoğunluğu.....	76
5.2. Fibroblast Hücre Yoğunluğu.....	78
5.3. Anjiyogenezis.....	78
5.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF).....	80
5.5. Fibroblast Growth Faktör (FGF).....	82
5.6. Oksidatif Stres.....	84

5.7. Araştırmanın Sınırlılıkları	86
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	87
KAYNAKLAR	89
EKLER	107
Ek 1. ADÜ-HADYEK	107
Ek 2. Denev Hayvanları Kullanım Sertifikası	108
BİLİMSEL ETİK BEYANI	109
ÖZ GEÇMİŞ	110



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

H₂O₂	: Hidrojen peroksit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Growth Faktör
GSH	: Glutasyon
GTP_x	: Glutasyon peroksidaz
LT	: Lökotrien
LPO	: Lipit peroksidasyonu
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Nükleotid Fosfat
Hz	: Hertz
IL	: İnterlökin
MDA	: Malondialdehid
NO	: Nitrik Oksit
OH[·]	: Hidroksil radikali
O₂^{·-}	: Süperoksit radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TENS	: Transkutanöz Elektriksel Sinir Stimülasyonu
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri
VEGF	: Vasküler Endothelial Büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	VEGF'nin yara iyileşmesindeki rolü	13
Şekil 2.	FGF ailesi	13
Şekil 3.	Diyabetik yaraların patofizyolojisi	19
Şekil 4.	Standart bir TENS cihazı	21
Şekil 5.	Yaralanmadan önce ve sonra kutanöz endojen biyoelektrik akımı	23



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Çalışmada kullanılan ratlar, kafesler ve deneysel gruplardan bir görüntü ...	42
Resim 2.	Tam kat deri insizyonu	45
Resim 3.	Sütür uygulaması	45
Resim 4.	File bandaj pansuman	45
Resim 5.	TENS cihazı	46
Resim 6.	TENS uygulamasına ait bir görüntü	46
Resim 7.	Dorsal bölgeden tam katlı deri dokusu örneğinin ektomisi	48
Resim 8.	Ratların dorsal bölgesinden alınan tam katlı deri dokusu örneği	48
Resim 9.	Deneysel gruplarda TENS uygulamasının yara iyileşmesinde zamana bağlı değişimi	57
Resim 10.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki histopatolojik değişiklikler üzerine etkisi (3. gün grupları), H.E.	59
Resim 11.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki makrofaj infiltrasyonuna etkisi (3. gün grupları), İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot	59
Resim 12.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki histopatolojik değişiklikler üzerine etkisi (7. gün grupları), H.E.	61
Resim 13.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki makrofaj infiltrasyonuna etkisi (7. gün grupları), İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot	61
Resim 14.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki FGF immunreaktivitesi (3. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot	66
Resim 15.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki VGEF immunreaktivitesi (3. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot	66
Resim 16.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki FGF immunreaktivitesi (7. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot	67
Resim 17.	TENS uygulamasının insizyon hattındaki VEGF immunreaktivitesi (7. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot	67

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Yara iyileşmesinde rol alan büyüme faktörleri	5
Tablo 2.	Yara iyileşmesindeki önemli hücreler	9
Tablo 3.	Bazı antioksidanlar ve bunların etki mekanizmaları veya görevleri	37
Tablo 4.	Diyabetik yara iyileşmesinde kullanılan antioksidan etkiye sahip bazı antioksidan ve ilaçlar ile bunların etkileri ve etki şekilleri	39
Tablo 5.	Deneysel gruplar ve yapılan uygulamaları gösteren çalışma planı	43
Tablo 6.	Deneysel gruptaki ratların çalışma başlangıcı ile çalışma sonlandırıldıktan sonraki ortalama canlı ağırlıklar	54
Tablo 7.	Çalışma sonlandırıldıktan sonra ratların canlı ağırlıklarına göre gruplar arası farkın testi	55
Tablo 8.	Deneysel gruptaki ratların çalışma başlangıcı ile çalışma sonlandırıldıktan sonraki ortalama kan glukoz değerleri	56
Tablo 9.	Çalışma sonunda kan glukoz değerlerine göre gruplar arası farkın testi	56
Tablo 10.	Deri dokusu insizyon hattına ait histopatolojik bulgular	62
Tablo 11.	Deri dokusu insizyon hattına ait histopatolojik bulgulara göre gruplar arası farkın testi	63
Tablo 12.	Deri dokusu adventisyasına ait histopatolojik bulgular	64
Tablo 13.	Deri dokusu adventisyasına ait histopatolojik bulgulara göre gruplar arası farkın testi	65
Tablo 14.	İmmun belirteçlerin (VEGF ve FGF) insizyon hattı ve adventisyaadaki sonuçları	68
Tablo 15.	İmmun belirteçlerin (VEGF ve FGF) insizyon hattı ve adventisyaya göre gruplar arası farkın testi	69
Tablo 16.	Deneysel gruplara ait ratların kan antioksidan ve oksidan parametre değerleri	70
Tablo 17.	Deneysel gruplara ait ratların kan antioksidan ve oksidan parametre değerlerine göre gruplar arası farkın testi	71

ÖZET

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA TRANSKUTANÖZ ELEKTRİKSEL SİNİR STİMÜLASYONU (TENS)'NUN İNSİZYONEL YARA İYİLEŞMESİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

Boyacıoğlu N. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahi Hastalıkları Hemşireliği, Doktora Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Bu çalışma diyabetik ratlarda TENS uygulamasının insizyon yarasındaki histopatolojik değişiklikler ve antioksidan/oksidan durum üzerine koruyucu etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında 48 adet erkek Wistar albino rat kullanıldı ve ratlar 6 gruba ayrıldı; Kontrol, D, Dİ-3, DİT-3, Dİ-7 ve DİT-7. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Diğer hayvanlarda streptozotosin ile diyabet indüklendi (D). K ve D grupları hariç diğer hayvanlarda insizyonel yara oluşturuldu (Dİ). DİT-3 ve DİT-7 gruplarına sırasıyla 3 ve 7 gün süreyle TENS uygulandı. Yaralı cilt dokularında histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirme yapıldı ve kanda oksidatif stres parametreleri ölçüldü.

Bulgular: DİT-7 grubundaki TENS uygulaması, makroskobik iyileşme sürecini DİT-3 grubuna göre daha olumlu etkiledi. Dİ-7 grubu ile karşılaştırıldığında DİT-7 grubunda mast hücreleri ($p=0,001$) ve fibroblast ($p=0,000$) sayıları ile anjiyogenezis ($p=0,000$) azaldı. VEGF ($p=0,015$) ve FGF ($p=0,004$) DİT-3 grubunda Dİ-3 grubuna göre azaldı. Benzer sonuç Dİ-7 ve DİT-7 grupları arasında da görüldü ($p=0,001$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hem DİT-3 hem de DİT-7 gruplarında anlamlı farklılık bulunamadı ($p<0,05$). DİT-3 grubu ile karşılaştırıldığında DİT-7 grubunda glutasyon düzeyi yüksek bulundu ($p=0,020$). TENS uygulamasından sonra DİT-3 ve DİT-7 gruplarının serumlarındaki yüksek malondialdehit düzeyi, sırasıyla Dİ-3 ($p=0,001$) ve Dİ-7 gruplarına ($p=0,006$) göre anlamlı olarak azaldı.

Sonuç: Bu sonuçlar, diyabetik ratlarda TENS'in insizyonel yara iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, Rat, Streptozotosin, TENS, Yara iyileşmesi.

ABSTRACT

THE EFFECT OF TRANSCUTANEOUS ELECTRICAL NERVE STIMULATION (TENS) ON INCISIONAL WOUND HEALING AND OXIDATIVE STRESS IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC RATS

Boyacioglu N. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Surgical Diseases Nursing Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2022.

Objective: This study was aimed at evaluating the protective effect of TENS application on histopathological changes and antioxidant/oxidant status on incisional wound in diabetic rats.

Material and Methods: Forty eight adult male Wistar albino rats were divided into 6 groups as control, D, DI-3, DIT-3, DI-7 and DIT-7 group. No application was made to the control group. Diabetes induced by streptozotocin in other animals (D). Incisional wound was created in all animals except C and D groups (DI). TENS was applied to DIT-3 and DIT-7 groups for 3 and 7 days, respectively. Histopathological and immunohistochemical evaluation were performed in wounded skin tissues and oxidative stress parameters were measured in blood.

Results: TENS application in the DIT-7 group affected the macroscopic healing process more positively than the DIT-3 group. When compared with the DI-7 group, the numbers of mast cells ($p=0.001$) and fibroblasts ($p=0.000$) and angiogenesis ($p=0.000$) decreased in the DIT-7 group. VEGF ($p=0,015$) ve FGF ($p=0,004$) decreased in DIT-3 group as a compared with DI-3 group. Similar results were observed between DI-7 and DI-7 groups ($p=0,001$). When compared with control group, there was not significantly different in both DIT-3 and DIT-7 groups ($p<0,05$). The glutathione level was increased in DIT-7 grup as compared with DIT-3 group ($p=0,020$). High malondialdehyde level in serum of the DIT-3 and DIT-7 groups were significantly decreased after TENS application as compared with DI-3 ($p=0,001$) ve and DI-7 groups ($p=0,006$), respectively.

Conclusion: These results indicate that TENS has a positive effect on incisional wound healing and oxidative stress in diabetic rats.

Keywords: Diabetes, Rat, Streptozotocin, TENS, Wound healing.

1. GİRİŞ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Diabetes Mellitus (DM) insülin yetersizliği ya da defektleri sonucunda organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik, geniş spektrumlu, akut ve kronik komplikasyonları olan bir metabolizma bozukluğu hastalığıdır (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020).

Dünyada 2019 yılı itibari ile 463 milyon diyabetli yaşamakta olup (dünya nüfusunun %9,3), 2030 yılına kadar 578 milyona (%10,2) ve 2045 yılına kadar 700 milyona (%10,9) yükseleceği ifade edilmekte ve diyabet için yıllık küresel sağlık harcamasının 760 milyar dolar olduğu belirtilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre Avrupa'ya 60 milyon insan içerisinde, 25 yaş üstü erkeklerin %10,3 ve kadınların ise %9,3 DM'tur (Sebranek, Lugli ve Coursin, 2013). Ülkemiz de Avrupa ülkeleri arasında %11'lik oran ile prevalansı en yüksek ülkedir. Ayrıca DM prevalansında yıllık %5'lik bir artışın olması, gelecekte diyabet ve diyabet ilişkili sağlık sorunları açısından ülkemiz için de kaygı verici bir durum oluşturmaktadır (Onat ve diğerleri, 2014).

Diyabete bağlı akut ve kronik komplikasyonlar bir dizi sağlık problemlerine yol açmaktadır. Diyabetli hastaların sahip oldukları komorbiditeler nedeni ile cerrahi insidansı yüksektir. Ayrıca diyabetik hastalar, diyabeti olmayanlara göre daha fazla morbidite, hastanede kalış süresine ve %50 daha fazla mortaliteye sahiptir (Levesque, 2013). Ameliyat dönemi disglisemi (hiperglisemi, hipoglisemi, stres kaynaklı hiperglisemi ve glukoz değişkenliği) cerrahinin başarısını etkileyen faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır (Sebranek ve diğerleri, 2013). DM'ta kan glukoz düzeyinin yüksek olması sonucunda hücrelerin proliferasyonunda ve kollajen üretiminde bozulma, hücrelerin kemotaksisinde gecikme, büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımında azalma nedenleri ile yara iyileşmesi daha olumsuz etkilenmekte ve cerrahi alan enfeksiyonu da diyabet olmayanlara göre 2-3 kat daha fazla olmaktadır (Ahmet, Hüseyin ve Bahadır, 2015; Bamba, Gupta, Shack, Grotting ve Higdon, 2016). Nötrofiller ve makrofajlar, oksidasyon sonucu artan miktarda reaktif oksijen türleri (ROT) oluştururlar ve oluşan ROT yabancı organizmaların ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar. Ancak hiperglisemiye bağlı olarak doğrudan ve serbest yağ asit artışı ile

gelişen ROT artışı ve enzimatik veya non-enzimatik antioksidan yetersizliği ile oluşan oksidatif stres yara iyileşmesini geciktirmektedir (Aksoy ve Özakpınar, 2014).

Yara iyileşmesi bir dizi hücrenin dokuda yaralanmaya karşı organize ve karmaşık hücresel, biyokimyasal ve sitolojik olaylar serisidir. Cerrahi yaralar oluşumunu takiben belirli tekniklerle yara kenarlarının yaklaştırılarak kapatılmasıyla kelime anlamı ile “primer onarım iyileşme” olarak bilinen uygulamayla iyileştirilmeye çalışılır. Primer olarak prensiplerine uygun kapatılan yaralarda komplikasyon gelişme oranı düşüktür (Erdost Kartal ve Çetinkale, 2008). Ancak yara iyileşmesinin erken inflamatuvar dönemlerinde gelişen bir dizi eksiklik ya da yetersizlik nedeni ile klinik uygulamada DM’lu hastalarda cerrahi sonrası yara enfeksiyonları ya da yara ayrılması sorunları ile karşılaşmaktadır.

DM’ta yara iyileşmesinde bozulmaya neden olan faktörler *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla tanımlanmış olup, iyileşmenin hızlandırılması için müdahaleler geliştirmeyi amaçlayan çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar tıbbi bitkiler ve ekstratları ile yapılan uygulamalar, hiper barik oksijen tedavisi, büyüme faktörlerinin lokal uygulamaları, negatif basınç tedavisi ve yara pansuman örtüleridir. Elektrik stimülasyonu uygulaması çok eski zamanlardan günümüze kadar ağrı tedavisinde kullanılan bir noninvaziv terapi yöntemi olmasına karşılık yara iyileşmesi üzerine etkinliği *invitro* ve *invivo* deneysel modellerde çalışılmış ve etkinliği ortaya konmuştur (Hunckler ve de Mel, 2017). Çalışmalarda hücre göçü, proliferasyon, DNA ve protein sentezinde artış, antibakteriyel etkileri ile yara kapanması ve iyileşmesinde pozitif etkileri bildirilmiştir (García-Pérez ve diğerleri, 2018; Machado, Liebano, Furtado, Hochman ve Ferreira, 2016; Ud-Din ve diğerleri, 2015; Yu, Yoo, Yang ve Yoon, 2015).

Elektrik stimülasyonu uygulaması yöntemlerinden biri olan Transkütanöz Elektriksel Sinir Stimülasyonu (TENS) uygulamasının yara iyileşmesine olumlu etkisi ile ilgili çalışmaların olduğu, insanlarda var olan kronik yaralarda TENS uygulamasının etkilerini gösteren çalışmalar bulunmasına karşın, diyabet varlığında cerrahi insizyon gibi akut yaralarda TENS uygulamasının yara iyileşmesine olan etkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Cerrahi prosedürde yara iyileşmesinin tam ve beklenen sürelerde olması cerrahinin başarısını arttırmanın yanısıra mortalite ve morbidite üzerine de etkili olmaktadır. Bu nedenle diyabet varlığında cerrahi yaralanmayı takiben yara iyileşmesi aşamalarında, TENS uygulamasının yara iyileşme sürecine, histopatolojik ve oksidatif strese olan etkisini değerlendirmeyi amaçlayarak bu çalışmayı planladık.

1.2. Araştırmanın Hipotezleri

H₀: Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS)'nun insizyonel yara iyileşmesine etkisi yoktur.

H₁: Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS)'nun insizyonel yara iyileşmesine etkilidir.

H₀: Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS)'nu oksidatif strese etkili değildir.

H₁: Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS)'nu oksidatif strese etkilidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi yaralanmaya tepki olarak trombositler, makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler gibi hücrelerin aktivasyonunu içeren hücreyel olaydır. Hücreler tarafından birçok büyüme faktörü ve sitokinlerin salınımı ile yara iyileşme süreci gerçekleşmektedir (Brem ve Canic Tomic, 2007). Yara iyileşmesi birbirini izleyen 4 fazdan oluşmaktadır; hemostaz-koagülasyon, inflamasyon, proliferasyon ve remodeling.

2.1.1. Hemostaz-Koagülasyon

Pıhtılaşma kaskadını başlatan trombositlerin aktivasyonu ile başlayan ilk fazdır. Yaralanmadan saniyeler/dakikalar sonra başlar ve bir dizi biyolojik enzim öncülerinin salınımı ile trombosit aktivasyonu ve fibrin oluşumu sonucu pıhtı ile sonuçlanır (Ellis, Lin ve Tartar, 2018). Yaralanma sonucu damar duvarı hasarı ile trombositler kollajen ile temas ederek aktive olur, hem birbirlerine hem de damar duvarına yapışırlar ve tromboksan A2'nin aktivasyonu ile geçici pıhtı oluştururlar. Trombosit tıkaçından salınan serotonin ve katekolaminler gibi vazokonstrüktör ajanlar ile lokal vazokonstriksiyon gelişir ve kanama kontrol altına alınır (Gantwerker ve Hom, 2011; Parsak, Sakman ve Çelik, 2007). Trombosit aktivasyonu sadece hemostaz ile sonuçlanmaz, aynı zamanda büyüme faktörlerinin salınımı (Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF), Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa ve Beta (TGF- α ve - β), Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)) ile immün sistem aktivasyonu ve yaranın inflamatuvar faza geçişinden de sorumludur (Ellis ve diğerleri, 2018; Gantwerker ve Hom, 2011; Parsak ve diğerleri, 2007). Trombositler ve diğer hücrelerden salınan diğer büyüme faktörleri ise dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF) (Yussof, Omar, Pai ve Sood, 2012) (Tablo 1).

Yara iyileşmesindeki bir dizi reaksiyonun gerçekleşmesinde öncülük eden büyüme faktörleri ve sitokinler normal veya yaralı dokudan sentezlenen polipeptitlerdir. Büyüme

faktörleri hücrelerin bölünmesi, migrasyonu, farklılaşması, protein ve enzim üretiminde rol alırlar ve yara iyileşmesinin tüm evrelerinde önemli bir yere sahiptirler. Sitokinler ise vücudun farklı dokularındaki hücreler tarafından belli uyarılara karşı salgılan glikoproteinlerdir. Lokal ve hareketli immün hücreler, mezenkimal ve epiteliyal hücrelerde inflamatuvar süreç içinde rol oynarlar. Tüm bu hücrelerin uyarılması, çoğalması, farklılaşması ve birbirleriyle etkileşimini sağlamaktadırlar (Öztopalan, Işık ve Durmuş, 2017).

Tablo 1. Yara iyileşmesinde rol alan büyüme faktörleri (Okonkwo ve Dipietro, 2017; Yussof ve diğerleri, 2012).

Faktör	Kaynağı	Görevi
TGF-α	Makrofaj Trombositler	<ul style="list-style-type: none"> • Granülasyon dokusunun oluşumu • Epitel hücre ve fibroblastlar proliferasyonunu uyarır
TGF-β	Trombositler Nötrofiller Makrofajlar Fibroblastlar	<ul style="list-style-type: none"> • Kemotaksis • Fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşması • Kollajen matris yapısı • Anjiyogenezi uyarır • Yara kontraksiyonu • Diğer büyüme faktörlerinin salınımı • MMP stimülasyonu
PDGF	Trombositler Fibroblastlar Makrofajlar Endotel hücreleri	<ul style="list-style-type: none"> • Kemotaksis(nötrofil ve fibroblast) • Fibroblast proliferasyonu • Kollajen birikimi • Anjiyogenezi uyarmak
FGF	Fibroblast, Makrofaj, Endotel hücreler	<ul style="list-style-type: none"> • Anjiyogenezi uyarmak • Endotel proliferasyonu ve motiliteyi arttırmak • Neovaskülarizasyonu hızlandırmak • Fibroblastların, keratinositlerin, kondrositlerin ve myoblastların uyarılması
VEGF	Makrofajlar Keratinosit Fibroblast, Endotel hücreler	<ul style="list-style-type: none"> • Anjiyogenezi uyarır • Neovaskülarizasyon
Serotonin	Trombositler	<ul style="list-style-type: none"> • Vazokonstrüksiyon • Trombosit agregasyonu • Kemotaksis • Vasküler geçirgenliğin artışı
TNF-α	Trombositler	<ul style="list-style-type: none"> • Kemotaksis • Nikrik oksit (NO) salınımı • Büyüme faktörlerinin aktivasyonu
PGE2	Keratinosit Makrofajlar Endotel hücreleri	<ul style="list-style-type: none"> • Vazodilatasyon • Trombosit agregasyonu • Vasküler geçirgenliğin artışı
Thromboksan A2	Trombositler	<ul style="list-style-type: none"> • Vazokonstrüksiyon • Trombosit agregasyonu
Lökotrienler	Trombositler Lökositler	<ul style="list-style-type: none"> • Vasküler geçirgenliğin artışı • Kemotaksis (nötrofil) • Lökosit adhezyonu

Tablo 1. Yara iyileşmesinde rol alan büyüme faktörleri (Okonkwo ve Dipietro, 2017; Yussof ve diğerleri, 2012) (devam).

Lipoksin	Trombositler Lökositler	• Kemotaksis (nötrofil)
Interferon	Fibroblast Lenfosit	• Makrofaj maturasyonu • NO salınımı
Sitokinler	Kaynağı	Görevi
IL-1, IL-6, IL-8	Makrofaj Keratinosit	Proinflamatuvar (fibroblast ve keratinositler)
IL-2	T-lenfosit	Fibroblast kemotaksisi
IL-4	T-lenfosit	TNF, IL-1, IL-6 ve fibroblast proliferasyonunu inhibe eder

TGF; Dönüştürücü Büyüme Faktörü, PDGF; Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, FGF; Fibroblast Büyüme Faktör, VEGF; Vasküler Endothelial Büyüme faktörü, TNF; Tümör Nekrozis Faktör, PGE2; Prostaglandin E2, EGF; Epidermal Büyüme Faktör, MMP; Matriks metaloproteinaz, IL; interlökin.

2.1.2. İnflamasyon

İnflamasyon fazı, hasarlanmış dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü yeniden sağlamak için vasküler geçirgenliğin arttığı ve hücresel yenilenmenin olduğu fazdır. Bu fazda temel amaç enfeksiyonun önlenmesidir (Okonkwo ve Dipietro, 2017). Hasarlı dokudan salınan serotonin, histamin, PGE1 ve PGE2 etkisi ile başlangıçta gelişen vazokonstrüksiyon yerini vazodilatasyona bırakır ve vasküler permaabilite artarak hücreler arasında inflamatuvar eksuda birikir (Parsak ve diğerleri, 2007). Bu sayede sıvı, kan hücreleri ve proteinler damar lümeninden geçip hasarlı bölgede proteince zengin, lökosit içeren plazma sıvı birikir. Eksudada biriken inflamatuvar hücrelerden salınan enzimler nedeni ile ağrı, kızarıklık, sıcaklık artışı ve şişlik ile karakterize belirtiler vardır. Bu süreçte kilit rol alan hücreler nötrofiller, makrofajlar ve T-lenfositlerdir (Yussof ve diğerleri, 2012). Bu immünolojik hücreler preotolitik enzimleri, serbest radikalleri ve sitokinleri salgılayarak yabancı organizmalara karşı yarayı koruyucu bir görev üstlenirler (Aksoy ve Özakpınar, 2014). İnflamasyon fazı sırası ile nötrofil infiltrasyonu, monosit infiltrasyonu ve makrofaj olarak farklılaşması, lenfosit infiltrasyonu olarak 3 aşamada tanımlayabiliriz (Guo ve DiPietro, 2010).

2.1.2.1. Nötrofil İnfiltrasyonu

Hücre sel yenilenme için prostaglandinlerle birlikte kemotaktik faktörlerin (kompleman, IL-1, TNF, TGF, bakteri yıkım ürünleri) salınması sonucu yaraya çeşitli hücreler göç eder. Bunlardan ilki nötrofillerdir (Singh, Young ve McNaught, 2017; Yussof ve diğerleri, 2012). Nötrofil granüllerinden jelatinaz, kollejenaz, elastaz gibi proteazlar ile birlikte serbest oksijen radikalleride salgılanarak nekrozu debride ederler. İlk 24 saat içinde mikroorganizmalar ve yabancı cisimler yara bölgesinden uzaklaştırılmaya çalışılır (Öztopalan ve diğerleri, 2017). Nötrofiller normal yara iyileşmesinde apoptoza giderler ve apoptotik nötrofiller makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Nötrofil apoptozunda düzensizlikler ya da makrofajlar tarafından temizlenmesindeki bozukluklar sonucu yara iyileşmesinde gecikme, kronik yara gelişir (Tekin, 2015).

2.1.2.2. Monosit İnfiltrasyonu

Kollajen, TGF- β , TNF- α , IL-1, PDGF, lökotrien B4 (LTB4) ve platelet faktörü IV (PF-IV) monositler için en güçlü kemotaktik maddelerdir. Monositler, nötrofiller gibi yara bölgesinde enfeksiyonu önlemek amacı ile mikroorganizmalar ve yabancı cisimlerin fagositozundan sorumludur. Yaralanmadan 48 saat sonra yara makrofajlarını aktive ederler (Diegelmann ve Evans, 2004).

2.1.2.3. Makrofaj İnfiltrasyonu

Yara iyileşmesinde önemli rola sahip olan makrofajlar, dolaşımdaki monositlerden türeyerek yaralanmadan 48-96 saat arasında yara bölgesinde önemli miktara ulaşırlar. İnflamasyon aşamasında patojen ve apoptoza girmiş hücreleri yara yatağından uzaklaştırır. IL-1 ve IL-8 sitokinler ile TNF büyüme faktörü salınımı ile inflamasyonu sürdürürler. Onarım sürecinin ilerleyen aşamalarında inflamasyon sürecini yavaşlatır, keratinosit, fibroblast ve endotelial hücrelerin yaraya göçünü etkileyen faktörleri salgılayarak neovaskülarizasyonu başlatır (Aitchison, Frentiu, Hurn, Edwards ve Murray, 2021). Anjiyogenezisin uyarılması ve granülasyon dokusunun oluşturulması için büyük bir öneme sahip TGF- β ve EGF (endotelial büyüme faktörü) makrofajlardan salınır (Singh ve diğerleri, 2017; Yussof ve diğerleri, 2012).

Makrofajlar yüzey belirteçleri, salgıladıkları sitokinler ve kemokinler nedeniyle farklı alt gruplara ayrılırlar (Aitcheson ve diğerleri, 2021). Bunlardan ilki Doku Uygunluğu Kompleksi (MHC) Sınıf II ifade eden M1 makrofajlardır. M1 makrofajlar nitrik oksit (NO) ve TNF- α , IL1-1 β , IL-6 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinler üreterek antimikrobiyal ve antitümöral özellik gösterirler. M2 tipi hücreler ise yara iyileşmesinin doku onarımı evresinde hakimdirler. Akut yaranın ilk günlerinde izlenen makrofajlar TNF- α ve IL-6 üreten M1 tipinde izlenirken, 7. günde M2 makrofajlara rastlanır (Aitcheson ve diğerleri, 2021; Rodero ve Khosrotehrani, 2010; Sindrilari ve Scharffetter-Kochanek, 2013).

Makrofajlar iyileşmenin proliferatif faza geçişi sağlamak için bazı büyüme faktörleri ve sitokinler salgılar. Bu faktörler: VEGF, PDGF, TGF, FGF, TNF, IL-1 ve IL-6 dır (Yussof ve diğerleri, 2012).

2.1.2.4. Lenfosit İnfiltrasyonu

Yara bölgesine gelen son hücrelerdir ve fibroblastların yara bölgesine gelmesini sağlayan IL-2 üretimini gerçekleştirirler (Yussof ve diğerleri, 2012). Hücre dışı matris yapısı üretimi ve kollajen üretiminin düzenlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. T-lenfositlerin azalması kollajen yetersizliği ve yara gücünün azalması ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Singh ve diğerleri, 2017).

2.1.2.5. Mast Hücrelerinin Etkileri

Yara iyileşmesinin erken dönemlerinde mast hücreleri önemli rolleri bulunmaktadır. Dermis hücrelerinin %8'ini oluşturan mast hücreleri yaralanma ile birlikte proinflamatuvar ve immünomodüler aracılardan salınımını gerçekleştirir (Komi, Khomtchouk ve Santa Maria, 2020). TNF- α salınımı yoluyla dermal dentositlerde faktör XIIIa'nın ekspresyonunu artırarak hemostaz ve pıhtı oluşumuna katkı sağlar. Kimaz ve triptaz ekstrasellüler matriks dokusunu parçalayarak diğer evrelere hazırlık sürecinde önemlidirler. Kimaz epidermis bazal membranını parçalar. Triptaz vasküler geçirgenliği arttıran kinin salınımını uyarır. Fibroblast ve endotel çoğalması için yara yatağını hazırlarlar (Tekin, 2015). Mast hücreleri aynı zamanda TGF- β , VEGF, FGF-2 gibi büyüme faktörleri ve IL1, IL-6, TNF gibi sitokinlerin salınımını ile neovaskülarizasyon, fibrinogenez ve re-epitelizasyona katkı sağlar (Erol, Uzunköy

ve Özdemir, 2010; Komi ve diğerleri, 2020). Başta proliferatif evre olmak üzere mast hücreleri yara iyileşmesinin her evresinde rol alırlar (Tekin, 2015). İmmünolojik hücrelerin sayısının azalmasıyla birlikte endotel hücreleri ve fibroblastlar yara bölgesinde ortaya çıkarak proliferatif fazı başlatırlar (Tablo 2).

Tablo 2. Yara iyileşmesindeki önemli hücreler(Singh ve diğerleri, 2017).

Hücre tipi	Aktif zaman	Görevi
Trombositler	Saniyeler içinde	<ul style="list-style-type: none"> • Trombus formasyonu • Koagülasyon kaskadı oluşumu • İnflamatuvar mediatörler salınımı(PDGF, TGF-β, FGF, EGF, histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin, tromboksan A2.
Nötrofiller	24 saatte en yüksek	<ul style="list-style-type: none"> • Bakterilerin fagositozu • Yaranın debridmanı • Proteolitik enzimlerin salınımı • Vasküler geçirgenliği artışı
Keratinositler	8 saat	<ul style="list-style-type: none"> • İnflamatuvar mediatörlerin salınımı • Neovaskülarizasyon
Lenfositler	72-120 saat	<ul style="list-style-type: none"> • Proliferatif fazı düzenler • Yara iyileşmesindeki rolü net değildir • Kollajen birikimi
Fibroblastlar	120 saat	<ul style="list-style-type: none"> • Granülasyon dokusunun sentezi • Kollajen sentezi • Hücre dışı matris bileşenlerini üretmek • Proteazların salınımı • Enflamatuvar araçların salınımı

2.1.3. Proliferasyon

Yaralanmadan sonraki 3-5.günlerde inflamasyon evresinin sonlanması ile proliferasyon evresi başlamaktadır. Bu aşamada baskın hücreler fibroblastlardır (Diegelmann ve Evans, 2004). Proliferasyon fazı granülasyon dokusu oluşumu, re-epitelizasyon, anjiyogenezis, kollajen sentezi olarak 4 aşamada gerçekleşmektedir ve bu aşamalar aynı anda birbirini destekleyecek şekilde gerçekleşmektedir (Guo ve DiPietro, 2010; Okonkwo ve diğerleri, 2020).

Granülasyon dokusu oluşumu: yaralanmayı izleyen 3-6. günlerde başlamaktadır. Kapiller ve kollajenlerin matriksi ile hücreler yeni bağ doku ile yara boşluğunu doldurmaya başlar. Fibroblastlar kollajen sentezini yapar, makrofajlar yarayı debride eder ve anjiyogenezisi uyarır. Yara kırmızı, pürtüklü, kapiller damarlarla dolmuştur (Tohumat, Türkmen ve Kanan, 2017).

2.1.3.1. Epitelizasyon

Granülasyon dokusunun oluşumundan sonra epitelizasyon başlar. Re-epitelizasyonu başlatan hücreler keratinositlerdir. Epitel hücreleri yaralanmadan kısa bir süre sonra yara kenarlarından KGF (Keratinosit growth faktör) ve TGF- α büyüme faktörlerinin etkisi ile göç etmeye başlar (Yussof ve diğerleri, 2012). Sitokin konsantrasyonundaki değişiklikler epitel hücrelerini hareketli fenotipten proliferatif fenotipe geçmesine neden olur (Singh ve diğerleri, 2017). Epitel oluşumu dermisteki kıl folikülleri boyunca tomurcuklanma yaparak oluşur. Epitel doku gelişimi yarayı dış etkenlerden korur, elektrolit, sıvı kaybını ve bakteri girişini engeller. Bu dönemde yara dokusu parlak kırmızı, kalın, basınçla solan özelliindedir (Aksoy ve Özakpınar, 2014). Primer olarak kapatılmış yaralarda bu faz 24 saatte tamamlanmaktadır (Singh ve diğerleri, 2017).

2.1.3.2. Anjiyogenezis

Anjiyogenez, yeni kan damarlarının büyümesi veya neovaskülarizasyonu içeren fizyolojik süreci gösteren küresel bir terimdir. Hemostatik süreç olduğu anda tetiklenir (Singh ve diğerleri, 2017). Bu, embriyonun biyolojik büyümesi, doku gelişimi ve hasarlı dokularda yara iyileşmesi için hayati bir süreçtir (Erdem ve Gündoğdu, 2005; Kolluru, Bir ve Kevil, 2012).

Anjiyogenez yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Yetersiz anjiyogenez, yara iyileşmesinin bozulmasına ve kronik yara oluşumuna neden olabilir (Ud-Din ve diğerleri, 2015). Anjiyogenezde, epitel hücrelerden yeni kan damarları oluşturularak yeni hücreler için besin ve oksijen sağlanmış olur . Bu süreçte bir çok anjiyogenik faktör (VEGF, FGF, Anjiyopietinler, PDGF, MCP-1, TGF) yeni kan damarlarını uyarması, desteklenmesi ve stabilizasyonunda rol oynar (Aksoy ve Özakpınar, 2014; Kolluru ve diğerleri, 2012). En çok dikkat çeken büyüme faktörü VEGF'dür (Erdem ve Gündoğdu, 2005). Yaralanma ile oluşan hipoksik ortam VEGF indüklenmesi için bir nedendir (Okonkwo ve Dipietro, 2017).

Anjiyogenez iki yolla kapiller bölünme ve anjiyogenik tomurcuklanma ile meydana gelir. Kapiller bölünmede, anjiyogenezde temel oluşum mekanizması olup aktive olmuş endotel hücresi; kapiller oluşumunu temelde etkileyen yapı olup kapiller damarın lümenal

kısmından bölünerek iki yeni kapiller damar oluşması ile meydana gelir (Güzel, 2015). Anjiyogenik tomurcuklanma ise daha karmaşık ve daha az gerçekleşen bir oluşumdur. Keratinosit, endotel hücreleri, fibroblast ve makrofajlardan salınan VEGF kapillerin endotel hücrelerini uyararak yara içine doğru, art arda dizilerek kapiller tomurcuklanmalarını sağlamakta ve diğer tomurcuklar ile birleşerek kapiller ağı şekillendirmektedir (Dindar, 2015). Yeni kılcal damarlar dokuların oksijen ve besin gereksinimlerini karşılarken epitelyum hücreleri yaralanma bölgesindeki oksijen seviyeleri normale dönene kadar kılcal büyümeyi desteklemek için VEGF üretir (Okonkwo ve Dipietro, 2017).

2.1.3.3. Fibroblast Göçü

Fibroblastlar yara hasarını takiben hemostatik tıkaçtan salınan büyüme faktörleri (TGF- β ve PDGF) tarafından uyarılarak yaraya göç eder ve çoğalırlar. 3. gün yara fibroblastlarca zengindir. Hücre dışı matris proteinlerini (hyaluronan, fibronektin ve proteoglikanlar), kollajen ve fibronektin üretirler. Fibroblastlar yara bölgesinde miyofibroblastlara dönüşerek çoğalırlar, kollajen ve fibronektini salgılayarak geçici ekstraselüler matriksi oluşturmak için yeni bağ dokusu şeklini oluştururlar. Primer kapatılan yaralarda kollajen birikimi 5. günde maksimumdur ve genellikle derinin altında elle palpe edilebilir. Eksik üretiminde yaranın ayrılma riski, aşırı üretiminde hipertrofik skar gelişimi söz konusudur (Singh ve diğerleri, 2017).

2.1.4. Maturasyon/Yeniden Modellenme

Keratonositlerin farklılaşarak dermisi oluşturmasıyla yeniden modellenme (remodelling) fazı başlar. Yaralanmadan itibaren 2 yıla kadar sürebilir. Skar dokusu ve normal epitel gelişimi ile sonuçlanır. Bu fazda kollajen ve diğer proteinler depolanma, sentez ve yıkılmaları bir denge halinde olduğu bir süreçtir (Singh ve diğerleri, 2017). Bu dönemde skar dokusu yeniden şekillenir, kapiller oluşumlar kaybolur ve skar dokusu orijinal gücünün 2/3'ünü yeniden kazanır. Gerilme gücü kollajen liflerinin yerini daha fazla moleküller arası bantlar içeren organize liflerin alması ile yavaş yavaş artar. Başlangıçta kırmızı, kalın

görünümlü skar dokusu giderek daha ince ve daha açık bir renk alır (Tohumat ve diğerleri, 2017).

2.2. Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

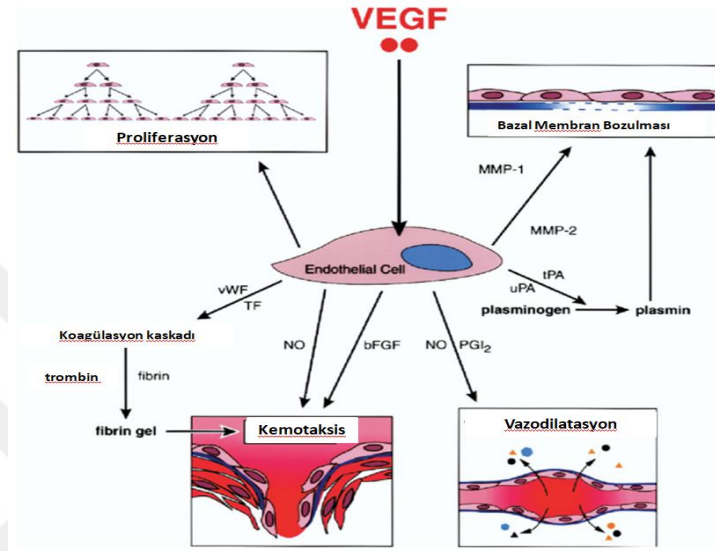
2.2.1. Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF)

Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) ailesi, 1980'lerde keşfedilen endotel hücreleri için özgül ve önemli etkileri olan büyüme faktörüdür. Organizmada hem fizyolojik olaylarda, hem de tümör büyümesi ile yayılmasını da içeren patolojik olayların etiolojisinde yer alır. VEGF vücutta, akciğer alveolar hücreleri, renal glomerül visseral epitel hücreleri, korpus luteum böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteksin tüm hücreleri, aktive makrofajlar, ovaryum follikülleri, arteriollerini çevreleyen fibroblastlar, bronşiyal ve koroid pleksus epitel hücreleri, hepatositler gibi birçok farklı hücreden sentezlenir (Yazır, Gonca, Filiz ve Dalçık, 2004).

Hipoksi, onkogenler, siklooksijenaz-2, nitrik oksit, endotelial büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), trombosit büyüme faktörü (PDGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) gibi çeşitli büyüme faktörlerinin ve tümör nekroz faktörü- α (TNF α), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) gibi çeşitli sitokinler VEGF ekspresyonunu arttırmaktadır (Vural, 2018).

Yeni kan damarı oluşumu veya neovaskülarizasyon, yara onarımı sırasında başarılı doku restorasyonu için önemlidir. Yara iyileşmesi sırasında oluşan yeni kan damarları, hasarlı cilde kandan oksijen ve besin sağlamaktadır. Neovaskülarizasyon, vaskülo-genez (yeni kan damarlarının denovoformasyonu) veya anjiyogenez (mevcut damarlardan yeni kan damarlarının oluşturulması) yoluyla meydana gelebilir. Vaskülogenez ve anjiyogenezi stimüle eden VEGF, derideki en önemli proanjiyogenik faktörlerden biridir. Kutanöz yaralarda yüksek seviyelerde bulunan VEGF, yaralanmaya tepki olarak keratinositler, makrofajlar ve fibroblastlar dahil olmak üzere birçok hücre tipi tarafından üretilir (K. E. Johnson ve Wilgus, 2014).

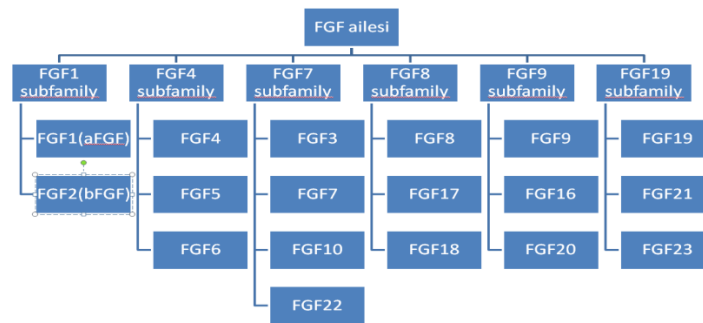
VEGF koagülasyon katkısından ve birçok hücre tarafından salgılanan bir yarada sadece anjiyogenezisi stimüle etmez, aynı zamanda epitelizasyon ve kollajen birikimine de etkisi olan büyüme faktörüdür (Bao ve diğerleri, 2009). Yaralanmadan sonraki 3. ve 7. günlerde en yüksek seviyede bulunur (Bao ve diğerleri, 2009; Frank ve diğerleri, 1995). VEGF'in yara iyileşmesindeki rolleri vazodilatasyon, endotelial hücre göçü için kemotaksis, endotelial hücre proliferasyonu ve son olarak yeni bazal membran oluşumudur (Şekil 1).



Şekil 1. VEGF'nin yara iyileşmesindeki rolü (Bao ve diğerleri, 2009).

2.2.2. Fibroblast Growth Faktör (FGF)

Fibroblast büyüme faktörleri, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının güçlü düzenleyicileridir. Somatik kök hücrelerde normal gelişim, doku bakımı, yara onarımı ve anjiyogenez için kritik öneme sahiptirler. İnsan FGF ailesi FGF1 ile FGF23 (FGF 15 hariç) olarak adlandırılan 22 üye içerir (Şekil 2).



Şekil 2. FGF ailesi (Yun ve diğerleri, 2010).

FGF1 ve FGF2 çoğu hücrenin çekirdeğinde bulunur. Ancak FGF2, hücre proliferasyonu, hücre göçü, hücre farklılaşması ve anjiyogenezis gibi fonksiyonların hepsine sahiptir. FGF2 “bFGF” olarak da isimlendirilmektedir (Ornitz ve Itoh, 2015). Endotelial hücre proliferasyonu ve endotel hücrelerin organizasyonu ile anjiyogenezi teşvik eder (Yun ve diğerleri, 2010).

2.3. Diyabetes Mellitus (DM) Tanımı

Diyabet; Amerikan Diyabet Derneği (American Diabetes Association, 2014) tarafından insülin salgılanması, insülin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıklar grubu olarak tanımlanmaktadır. Diyabet, pankreasın artık insülin üretmediği veya vücudun ürettiği insülini yeterince kullanamadığı durumlarda ortaya çıkan kronik bir hastalıktır. Ayrıca insülin yetersizliği ya da defektleri sonucunda organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik, geniş spektrumlu, akut ve kronik komplikasyonları olan bir metabolizma bozukluğu hastalığıdır (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020)

2.3.1. Diyabetes Mellitus Epidemiyolojisi

2019 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu tarafından yayınlanan ‘Dokuzuncu Diyabet Atlası’ verilerine göre 2019 yılı itibari ile dünyada 463 milyon diyabetli yaşamakta (Dünya nüfusunun %9,3), 2030'a kadar 578 milyona (%10.2) ve 2045'e kadar 700 milyona (%10.9) yükseleceği tahmin edilmektedir (International Diabetes Federation, 2019). Diyabet için yıllık küresel sağlık harcaması 760 milyar dolar olduğu tahmin ediliyor. Uluslararası Diyabet Federasyonu atlasına göre Türkiye Avrupa ülkeleri arasında %11,1 prevalansı ile en yüksek ülke olarak bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan diyabet prevalans çalışmalarından TURDEP-I (Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması, 1998)'de 20 yaş üzeri yetişkinlerde DM prevalansı %7.2 iken TURDEP-II (2010)'ye göre Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığı %13.7'ye ulaşmış, 12 yılda DM sıklığı %90 oranında artış göstermiştir (Türkiye Diyabet Programı, 2014). TEKHARF 2013 kohort çalışmada Türkiye'de diyabet genel prevalansı

1998'i izleyen 12 yıl içerisinde %80 oranında yükseldiği ve yıllık %5 artışa denk düşen bu gelişmenin ileri derecede kaygı verici olduğu bildirilmiştir (Onat ve diğerleri, 2014).

Ülkemizde diyabet, yılda 240 bin kişiye tekabül eden %6 oranındaki bir hızla artmaktadır. Yeni diyabet gelişme insidansının yılda 360 bin olduğunu da tahmin edilmektedir. Bundan, nüfus artışı ve nüfusun yaşlanmasının dışında, obezite, sedanter yaşam tarzı ve eşlik eden kan proteini işlev bozuklukları ile otoimmün etkileşim sorumludur (Onat ve Can, 2017).

2.3.2. Diyabetes Mellitus Sınıflandırılması

Amerikan Diyabet Derneği 2020 diyabet sınıflandırmasına göre (American Diabetes Association, 2020);

1) Tip 1 Diyabet: Otoimmün beta hücre hasarından kaynaklanan, genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açar

2) Tip 2 Diyabet: Sıklıkla altta yatan insülin direnci ile beta hücrelerinden insülin sekresyonunun ilerleyici kaybı

3) Gestasyonel Diyabet: Gestasyon öncesi aşikar diyabet mevcut olmayan, gebeliğin 2. veya 3. trimesterinde tanı konan diyabet

4) Diğer nedenlere bağlı spesifik tipler: Monojenik diyabet sendromları (yenidoğan diyabeti ve gençlerin olgunluk başlangıçlı diyabeti gibi), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibroz ve pankreatit gibi), ilaç ve kimyasal maddelere bağlı diyabet (örneğin glukokortikoid kullanımı, HIV/AIDS veya organ nakli sonrası gibi).

Tip 1 Diyabet'te mutlak insülin eksikliği vardır. Hastaların çoğunluğu (yaklaşık %90) otoimmün, %10 kadarında ise non-otoimmün β -hücre yıkımı söz konusudur. Genetik yatkınlığı (riskli doku grupları) bulunan kişilerde çevresel tetikleyici faktörlerin (virüsler, toksinler, emosyonel stres) etkisiyle otoimmünite tetiklenir, β -hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkar. Genellikle 30 yaşından önce başlar. Okul öncesi (6 yaş civarı), puberte (13 yaş civarı) ve geç adolesan dönemde (20 yaş civarı) üç pik görülür (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020).

Tip 2 diyabette, hücre-reseptör defektine (post-reseptör düzeyde) bağlı olarak organizmanın ürettiği insülinin kullanılmaması sonucu gelişen insülin direnci, pankreasın yeteri kadar insülin salgılayamaması, gastrointestinal sistemdeki özel hücrelerden salgılanan insülin sekresyonunu stimüle eden inkretin hormonunun yetersizliği diyabetin patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca pankreas adacık hücrelerinden glukagon salınımının artması, lipolizin artması, glukoz geri emiliminin artması ve nörotransmitter disfonksiyonu da patofizyolojide rol oynar. Gestasyonel diyabet, genetik yatkınlığı olan kişilerde gebeliğe bağlı gelişen insülin direnci sonucu hiperglisemi gelişmesidir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020).

2.3.3. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

Diyabetli kişilerde bir dizi ciddi sağlık sorunları gelişebilmektedir. Sürekli yüksek kan şekeri seviyeleri, kalbi ve kan damarlarını, gözleri, böbrekleri, sinirleri ve dişleri etkileyen ciddi hastalıklara yol açabilir. Neredeyse tüm yüksek gelirli ülkelerde diyabet, kardiyovasküler hastalık, körlük, böbrek yetmezliği ve alt ekstremitte amputasyonunun önde gelen nedenidir (International Diabetes Federation, 2019). DM akut komplikasyonları ve kronik komplikasyonları bulunmaktadır.

Akut komplikasyonlar; diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar hiperglisemik durum, laktik asidoz, hipoglisemidir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020).

Kronik komplikasyonları makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayıracak olursak;

Makrovasküler değişiklikler; koroner arter hastalıkları, hipertansiyon, inme, dislipidemi, periferik arter hastalıkları gibi durumların gelişmesine yol açmaktadır (American Diabetes Association, 2021; Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020). Hiperglisemiye bağlı olarak doğrudan ve serbest yağ asit artışı ile gelişen oksidatif stres ve sonrasında gelişen endotel disfonksiyonu, renin anjiyotensin aldosteron sistem (RAAS) aktivitesinde artış ve aterosklerozun makrovasküler komplikasyonlarda temel mekanizmayı oluşturduğu düşünülmektedir (Feldman, 2003; Fowler, 2008; Giacco ve Brownlee, 2010).

Mikrovasküler değişiklikler; retinopati (gözün retina katmanındaki küçük damarların hasarı ve makülo ödem nedeni ile gelişen görme kaybı), diyabetik nefropati

(mikroalbüminemi ile başlayan makrovasküler komplikasyonların tetiklediği böbrek yetmezliği), diyabetik nöropati (glikolizasyon ürünlerinin aktivasyonu ve oksidatif stres ile sinir liflerinin hasar görmesi) DM'de görülen mikrovasküler komplikasyonlardır (American Diabetes Association, 2021; Feldman, 2003; Fowler, 2008; Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020).

2.3.4. Diyabet ve Cerrahi

Diyabetli hastalarda cerrahi, diyabeti olmayanlara göre daha sık uygulanmaktadır. Cerrahi planlanan hastaların yaklaşık %25'ini diyabetli hastalar oluşturmaktadır (Türkiye Diyabet Vakfı, 2021). Ayrıca diyabetik hastalar, diyabeti olmayanlara göre daha fazla morbidite, hastanede kalış süresi ve %50 daha fazla mortaliteye sahiptir (Levesque, 2013). Yara iyileşmesi daha kötüdür ve cerrahi alan enfeksiyonu da diyabet olmayanlara göre 2-3 kat daha fazladır (Bamba ve diğerleri, 2016; Türkiye Diyabet Vakfı, 2021; Wukich, Lowery, McMillen ve Frykberg, 2010).

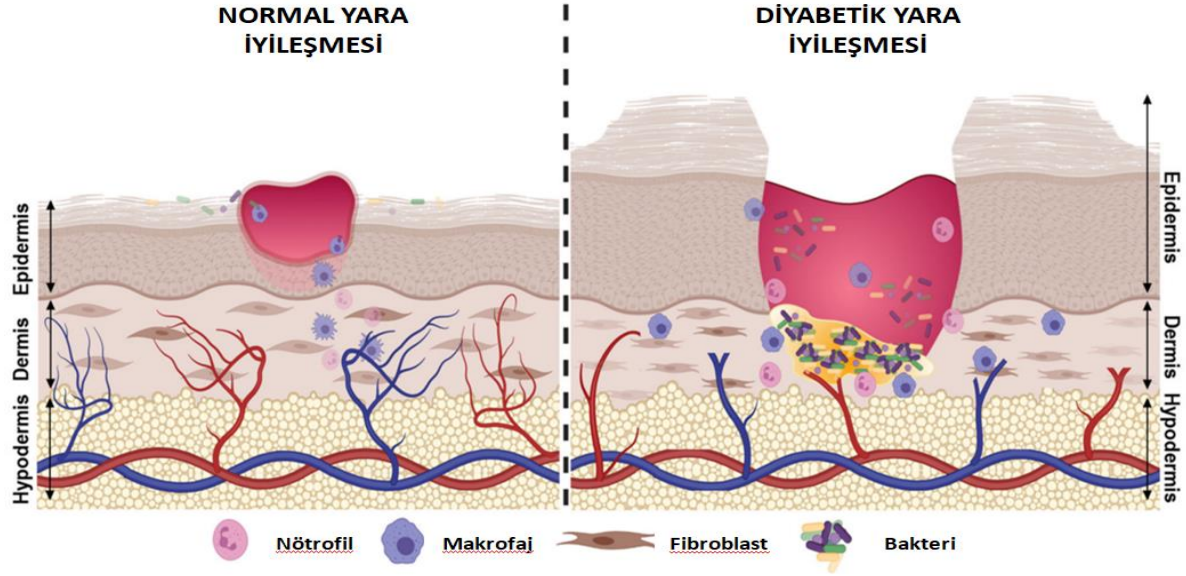
Cerrahi, vücut için bir stresir ve metabolik, hormonal, nöroendokrin, inflamatuvar yanıt oluşturmaktadır. Stres yanıtla birlikte insülin, testosteron, östrojen ve T3 azalırken, ACTH, kortizol, vazopressin, aldosteron, glukagon, büyüme hormonu, katekolaminler, prolaktin, betaendorfin artmaktadır. Cerrahiye stres yanıt olarak glukoz üretiminde artış, lipolizde artış, glukoz kullanımında azalma, insülin üretiminde azalma, insülin direnci sonucu hiperglisemi meydana gelmektedir (Türkiye Diyabet Vakfı, 2021). Hiperglisemi ile birlikte lökosit fonksiyonunda bozulma, fagositozda, bakteriyel öldürmede ve kemotaksiste azalma, kolajen sentezinde bozulma, platelet agregasyonunda gecikme gibi nedenler ile cerrahi sonrası yara bölgesinde enfeksiyon ve yara iyileşmesinde gecikme önemli cerrahi komplikasyonlar arasındadır (Beyene, Derryberry ve Barbul, 2020; Greenhalgh, 2003; Türkiye Diyabet Vakfı, 2021). Yara iyileşmesinde gecikme yara ayrılması ile sonuçlanabilir. Yara kenarlarında kısmi ya da tam açılma genellikle cerrahi sonrası ilk 1 haftada meydana gelir (Yazar ve Karaca, 2016). Bu nedenle yaralanma sonrası ilk 1 hafta yara iyileşmesinin hızlandırılması, iyileşmeyi etkileyen faktörlerin elimine edilmesi için önemli bir süredir.

2.3.5. Diyabette Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler bulunmaktadır. Lokal faktörler mekanik stres enfeksiyon, yabancı cisimler, hematoma, iskemik ve nekrotiktir. Sistemik faktörler ise hipoalbuminemi, beslenme bozukluğu, anemi, diyabetes mellitus, immün sistem zayıflığı ve kortikosteroidler gibibazı ilaçlardır (Anderson ve Hamm, 2012; Erdost Kartal ve Çetinkale, 2008). Yara iyileşmesi etkileyen sistemik faktörlerden olan DM’da birçok faktör etkili olmaktadır. Bunlar diyabetik bir hastanın ateroskleroz veya böbrek hastalığı gibi hastalıklara yatkınlığı, nöropati gelişimi, hem makrovasküler hem de mikrovasküler hastalıklara yatkınlıklar ile doku onarımına katkısı olan biyokimyasal faktörlerin yetersizliğidir (Brem ve Canic Tomic, 2007; Greenhalgh, 2003; Okonkwo ve DiPietro, 2017). Ayrıca DM arter duvarı bütünlüğü ve yeni damar oluşumu fonksiyonlarını olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden biridir (Tchaikovski, Olieslagers, Böhmer ve Waltenberger, 2009). Kollajen birikimi, anjiyogenez, epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumunda da değişiklikler görülmektedir (Beyene ve diğerleri, 2020). DM varlığında fibroblast aktivasyonunun incelendiği bir çalışmada diyabetik ratlarda TNF- α düzensizliği olduğu, fibroblastların proliferasyonunun azaldığı ve apoptozunun arttığı bildirilmiştir (Siqueira ve diğerleri, 2010). Diyabetik ratlarda yapılan başka bir deneysel çalışmada yara iyileşmesinin 4-5 gün daha geç olduğu, IL-6 seviyelerinin öglisemiklere göre daha yüksek olduğu, histolojik incelemede granülasyon dokusunun oluşumunda azalma, keratinosit göçünde yetersizlik bildirilmiştir (Lee ve diğerleri, 2019).

Yara iyileşmesi sitokinler ve büyüme faktörlerinin koordineli çalışması ile fibroblast göçü, keratinositlerden geçici granülasyon dokusu oluşumu ve yeniden damarlanma sonucu gerçekleşmektedir. Ancak DM kan glukoz düzeyinin sürekli yüksek olması sonucu yeniden damarlanmada (anjiyogenez) bozulma, yara gücünün azalması ve yara iyileşmesinin bozulmasına neden olmaktadır (Beyene ve diğerleri, 2020; Francis-Goforth, Harken ve Saba, 2010; Gantwerker ve Hom, 2011). Hiperglisemi, hücre proliferasyonunda bozulma, kollajen yapımında yetersizlik, fibroblast oluşumu ve büyüme faktörlerinin azalması, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu, kemotaksi ve fagositozu azaltması ile birlikte enfeksiyon oluşumuna neden olarak yara iyileşmesini etkilemektedir (Şekil 3) (Blakytyn ve Jude, 2006; Guo ve DiPietro, 2010; Qing, 2017). Hiperglisemi bakterilerin çoğalması için uygun bir ortam hazırlarken lökositlerin fonksiyonlarını bozar. Sonuçta yetersiz immün yanıt ile enfeksiyon gelişebilmektedir (Greenhalgh, 2003). DM ülser yaralarının incelendiği bir çalışmada DM

grupta anjiyogenik ve lökosit kemotaktik faktörlerin yetersizliği, dolayısıyla bağışıklık hücrelerinde azalma, zayıf granülasyon dokusu ve ülser epitelizasyonunun oluştuğu bildirilmiştir (Galkowska, Wojewodzka ve Olszewski, 2006).



Şekil 3. Diyabetik yaraların patofizyolojisi. Diyabetik yaralar; düzensiz anjiyogenez, etkin olmayan uzamış inflamatuvar yanıt, artan reaktif oksijen türleri seviyeleri ve kalıcı bakteri kolonizasyonu ile tedavisi zor bir süreç izler (Burgess, Wyant, Abujamra, Kirsner ve Jozic, 2021).

Yara iyileşmesinde anahtar geçiş noktası inflamatuvar ve proliferatif fazlar arasında yer alır. Bu fazlar arasında geçişte yara yatağında var olan nötrofillerin apoptozu ve fagositozundan çok sayıda sinyal sorumludur. Yara inflamatuvar fazdan geçemezse proinflamatuvar makrofajlar devam eder ve yara iyileşmesi gecikecektir (Ellis ve diğerleri, 2018). Makrofajlar normal yara iyileşmesinde VEGF ve proanjiyogenik faktörlerin salınımı ile anjiyogenezde etkili olan en önemli hücrelerdir. Ancak DM’da makrofajların sayı ve aktivitelerinin yetersizliği ve dolayısıyla granülasyon ve epitelizasyon dokusunun gelişmesinde yetersizlik olmaktadır (Beyene ve diğerleri, 2020; Khanna ve diğerleri, 2010). Diyabetli bireylerde makrofajlar inflamatuvar uyarıcılara karşı aşırı tepki verir (Miao ve diğerleri, 2012). Ayrıca makrofajların apoptoza uğramış patojenleri ve hücreleri fagosite etme yetenekleri de azalır (Aitchison ve diğerleri, 2021; Khanna ve diğerleri, 2010). Farklı fenotiplere sahip olan makrofajlardan M1 makrofajlar; proinflamatuvar aktiviteler gösterir ve Tip 1 immün yanıtları uyarır. M2 makrofajlar ise proinflamatuvar uyarılara düşük yanıt verir

ve debrilerin temizlenmesi, anjiyogenez, dokunun yeniden modellenmesi ve inflamasyonun giderilmesinde rol alır. Tip 2 diyabet hastalarında oluşan kronik yaralarda M1 hücrelerinin M2 hücrelere dönüşmez ve inflamasyon azalmadan devam etmektedir (Bannon ve diğerleri, 2013; Tekin, 2015). Hiperglisemik yara ortamında ileri glikasyon son ürünleri (AGE) M1 makrofajlarına bağlanarak fagosite etme yeteneklerini azaltır, dolayısıyla apoptoze olmuş hücrelerin fagositozu (efferositoz) gerçekleşmez (Aitcheson ve diğerleri, 2021) M2 fenotipine geçiş için aktive edici süreç olan efferositoz DM varlığında yara bölgesinde M1 makrofajların M2 makrofajlara geçiş olasılığı düşük olacaktır. Fagositik ve efferositoz yetenekleri azalmış, M2 fenotipine geçme olasılığı düşük M1 makrofajlar yaranın inflamasyon fazında uzamaya yol açacaktır (Aitcheson ve diğerleri, 2021). Bu da yarada enfeksiyon oluşmasına ve iyileşmede gecikmelere neden olan faktörlerden birisidir (Aitcheson ve diğerleri, 2021). Diyabetik fare çalışmalarında hem M1 hem M2 hücre tipinin belirteçlerini bulandıran mikst hücreler dikkat çekmektedir (Wicks, Torbica ve Mace, 2014). DM'ta aşırı M1 ve M2 polarize hücreler üreten değişiklikler, hem proinflamatuvar hem de anti-inflamatuvar uyarılara aşırı duyarlı bir fenotipe yol açar. Sonucunda da patolojik doku onarımı şekillenir (Aitcheson ve diğerleri, 2021; Bannon ve diğerleri, 2013).

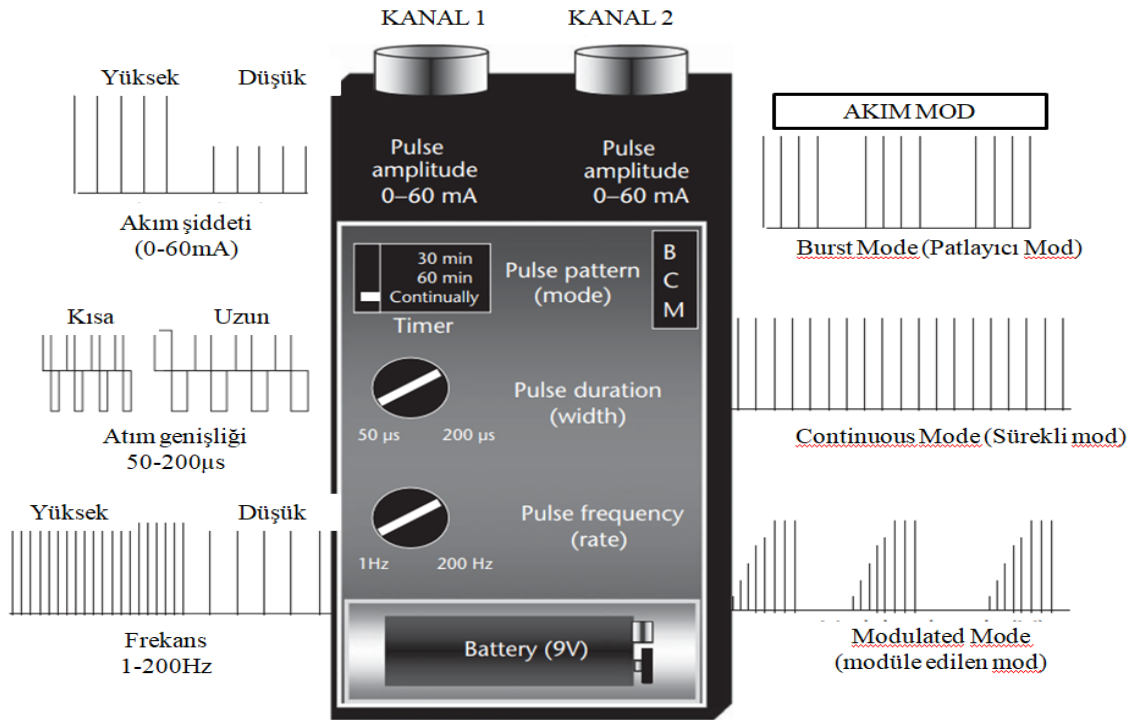
DM'ta olası makrovasküler ve mikrovasküler hastalıklara yatkınlık yetersiz anjiyogenezin en önemli nedenidir (Okonkwo ve DiPietro, 2017). İyi perfüze edilmiş vasküler yatak yara iyileşmesi için gereklidir. Ancak diyabet varlığında anjiyogenezisi düzenleyen ya da başlatan faktör olarak bilinen VEGF sekresyonunda yetersizlik ve kılcal damar sayısında yetersizlik vardır. Bu da kapiller yatağın perfüzyonunu engellemektedir (Okonkwo ve diğerleri, 2020). Ayrıca makrovasküler ve mikrovasküler hastalıklar nedeni ile yaralanma bölgesinde ki hipoksi erken inflamatuvar süreci uzatabilir, serbest oksijen radikallerinin seviyelerini arttırarak iyileşme sürecini uzatabilir (Guo ve DiPietro, 2010).

2.4. TENS'in Tanımı

TENS periferik sinirleri aktive etmek için cilt yüzeyinden elektrotlar aracılığı ile darbeli elektrik akımı uygulamasıdır. Kullanımı kolay, noninvaziv ve ucuz bir teknik olan TENS 19. yüzyıl sonlarına kadar ağrı tedavisinde popülerdi. 1965 yılında Melzack ve Walls'ın "kapı kontrol teorisi" deri altı elektrik stimülasyonunu daha da popüler hale getirdi (M. I. Johnson, 2012).

TENS endikasyonları; akut ve kronik ağrılar, dismonere, periferel nöropatiler, akut ameliyat sonrası ağrı, ilerlemiş malignensi ile ilişkili ağrı, trigeminal nevralji ağrılarında endikedir. Uygulama sıklığı ve uygulama parametreleri ağrı uzmanı ya da fizik tedavi uzmanı tarafından belirlenmektedir. Kardiyak hastalığı olan ve kalp pili takılmış kişilerde uygulanmamalıdır. Göz içi basıncı artışına neden olabileceği için göz ve mukozalar üzerine, larenks iç kaslarına zarar verebileceği için boyun iç tarafına uygulamaktan kaçınılmalıdır. Ayrıca boyun bölgesine uygulamak karotis sinüs stimülasyonu ile hipotansiyona ve larengeal sinir stimülasyonu ile larinks spazmına neden olabilir. Embriyo üzerine etkili üzerine yeterince çalışma olmadığı için gebeliği ilk 3 ayındaki kişilerde kullanılmamalıdır (Erden ve Çelik, 2015; M. Johnson ve Martinson, 2007).

Standart bir TENS cihazı cilt yüzeyine yerleştirilmiş yapışkanlı elektrod aracılığı ile darbeleri elektrik akımları üreten cihazdır. Kullanıcı tarafından akım özellikleri ayarlanabilen cihazda farklı parametreler ile elektrik akımı uygulanabilir. Bu parametreler, akım modu, akım şiddeti, atım genişliği ve frekanstır (Şekil 4).



Şekil 4. Standart bir TENS cihazı (M. I. Johnson, 2012).

2.4.1. TENS'in Parametreleri

TENS uygulamasında farklı modeller bulunmaktadır. Bu modellerin daha iyi anlaşılması için TENS değişkenleri bilinmelidir. Bu değişkenler amplitüd, frekans ve atım süresi olup, tanımları aşağıda yer almaktadır (Erden ve Çelik, 2015; M. I. Johnson, 2012).

Amplitüd (akım şiddeti); akım dalgasının yüksekliğini göstermektedir. Miliamper (mA) ile ölçülmektedir. Amplitüd yükseltildiğinde uyarılan sinir liflerinin sayısı artmaktadır.

Frekans; bir saniyede üretilen elektriksel uyaran sayısı olup, Hertz (Hz) ile ölçülmektedir. Frekans, 1-200 Hz arasında ayarlanabilmektedir.

Atım süresi (atım genişliği); akımın süresini ifade etmektedir. Genellikle 50-250 milisaniye (msn) arasında ayarlanmaktadır.

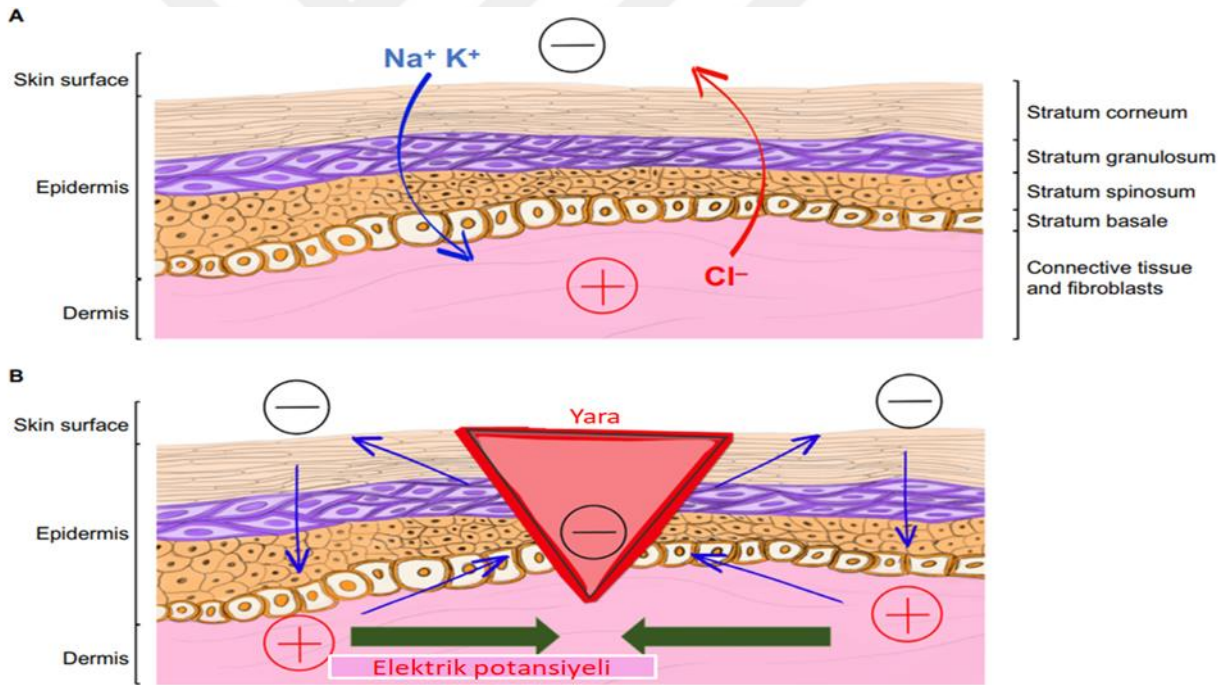
Günümüzde kullanılan TENS aletleri amplitüd 0-80 mA, frekans 1-150 Hz ve atım genişliği 10-300 msn arasında değişen uyarı akımları vermektedir.

2.4.2. TENS Uygulamasının Yara İyileşmesine Etkisi

Deriye uygulanan elektriksel stimülasyonların inflamatuvar hücrelerin hareketini sağlayarak aktive ettiği bildirilmiştir (Hoare, Rajnicek, McCaig, Barker ve Wilson, 2016; Zhao, Bai, Wang, Forrester ve McCaig, 2004). Bu sonuçlar doğrultusunda uzun yıllardır ağrı tedavisinde kullanılan TENS uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkisini belirlemek için deneysel çalışmalar planlanmış ve sonuçların etkili olduğu görülmüştür. Diyabetik ülserler, cilt fleplerinin dayanıklılığı, omurilik yaralanmasının neden olduğu basınç ülserleri, kronik venöz ülserler, major alt ekstremitte amputasyon sonrası güdük iyileşmesi için yapılan çalışmalarda TENS uygulamasının yara iyileşmesinde pozitif etkisi olduğu bildirilmiştir. (Atalay, Koçkaya, Çetin, Kismet ve Turan Akay, 2003; García-Pérez ve diğerleri, 2018; Machado, Santana, Tacani ve Liebano, 2012; Miller ve diğerleri, 2017; Ogrin, Darzins ve Khalil, 2005; Thakral ve diğerleri, 2013).

İnsan derisi Na^+/K^+ -ATPaz olarak adlandırılan, negatif ve pozitif yüklü farklı iyon konsantrasyonlarının hücreleri saran plazma zarları boyunca hareket eden elektrik potansiyeli vardır. Yaralanma ile bozulan doğal elektrik akımı yerini epitelyum hücre göçünü başlatan

yeni ve farklı bir yaralanma akımına bırakır (Şekil 5). Fizyolojik akım yetersizliğinde yara iyileşmesinde bozulma meydana gelmektedir. Elektroterapi elektrik akımı üreten bir cihaz aracılığı ile yara iyileşmesini hızlandırmak için fizyolojik akımı taklit ederek yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. Elektriksel stimülasyon DNA ve protein sentezini geliştirir, antibakteriyel etkisi vardır ve anjiyogenezi artırarak kaskadı geliştirmektedir (Palmieri, Vadalà ve Laurino, 2020). Büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisi ile başlayan anjiyogenezis yara iyileşmesinde oldukça önemlidir. Elektriksel stimülasyon, VEGF aracılığı ile vasküler endotel hücrelerde pre-anjiyogenik tepkileri indüklemektedir. Hücre kültürü denemelerinde elektrik akımının (1,5-2Hz) başlamasından 4 saat sonra endotel hücre göçünün başladığı, kültürdeki endotel hücrelerinin VEGF üretimini doğrudan uyardığı bildirilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2004). Ayrıca periferik sinirlerin stimülasyonu ile kan akış hızını artırarak iyileşmeyi hızlandırmaktadır (Hunckler ve de Mel, 2017).



Şekil 5. Yaralanmadan önce ve sonra kutanöz endojen biyoelektrik akımı. A: Epidermis ve derisinin kırılmamış cilt katmanları, Na⁺,K⁺ ve Cl⁻ iyonik hareketleri B: Yaralanma sonrası oluşan endojen elektrik potansiyeli (Hunckler ve de Mel, 2017).

Elektriksel stimülasyonu düşük maliyetli, ağrısız, kullanımı kolay, ucuz ve güvenli bir uygulamadır (Hunckler ve de Mel, 2017; Palmieri ve diğerleri, 2020). Akut yara iyileşmesinin inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamalarında farklı işleve sahiptir.

İnflamasyon aşamasında kan akışını ve cilt ısısını artırır, vazodilatasyon sağlar. Proliferasyon fazında kollajen matris oluşumunu destekler, keratinosit proliferasyonunu ve yara kontraksiyonunu artırır. Yeniden şekillenme aşamasında ise re-epitelizasyonu ve yeniden şekillenmeyi destekler (H. Demir, Balay ve Kirnap, 2004; Hunckler ve de Mel, 2017; Ud-Din ve Bayat, 2014). Yara iyileşmesinde elektriksel stimülasyon etkinliğini değerlendiren randomize kontrollü çalışmaların analiz edildiği bir çalışmada yaralı dokuya uygulandığında nötrofillerin, makrofajların ve nötrofillerin göçünü arttırdığı, yara iyileşmesinde olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir (Thakral ve diğerleri, 2013). Elektriksel stimülasyonun inflamatuvar fazı kısaltmakta ve proliferatif faz üzerinde olumlu etkisi bulunmaktadır (H. Demir ve diğerleri, 2004; Yu ve diğerleri, 2015).

Yara iyileşmesinde kullanılan TENS ana parametreleri değişkenlik göstermekle birlikte 2 Hz ile 80-100 Hz arasında, amplitüd ise 0-70 mA arasında değişmektedir (Machado ve diğerleri, 2012; Ud-Din ve Bayat, 2014). Literatürde farklı yara modellerinde farklı frekanslar ve süreler uygulandığı görülmüştür. Düşük frekanslı TENS uygulamasının yüksek frekanslı TENS uygulamasına göre yara iyileşmesi üzerine pozitif etkiye sahip olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Khalil ve Merhi, 2000; Liebano, Abla ve Ferreira, 2008; Machado ve diğerleri, 2016; Ogrin ve diğerleri, 2005; Ud-Din ve Bayat, 2014).

Sağlıklı gönüllülerde gerçekleştirilen deneysel çalışmada düşük (2 Hz) ve yüksek frekanslı (100 Hz) TENS uygulamasında sağlıklı dokuda ve yaralı dokuda düşük frekanslı TENS uygulamasının periferik dolaşımı uyardığı ve kan akış hızında daha fazla artışa yol açtığı bildirilmiştir (Wikström, Svedman, Svensson ve Tanweer, 1999). Yine benzer bir çalışmada düşük frekanslı TENS (4Hz) uygulaması ile yüksek frekanslı TENS (110Hz) uygulamasının insanlarda cilt ısısı üzerine etkisi değerlendirilmiş ve 15 dk düşük frekanslı TENS uygulamasının lokal kan akış hızını arttırdığı bildirilmiştir (Cramp, Gilsenan, Lowe ve Walsh, 2000). Düşük frekanslı TENS (5Hz) uygulamasının yara iyileşmesi aşamasında mikrovasküler tepkiyi indüklediği, yaralanma bölgesinde kan akımında artışı sağladığı bildirilmiştir (Khalil ve Merhi, 2000).

ES, kronik yaralarda, flep- replantasyon ve greft sağ kalımını iyileştirir, bakteriyel enfeksiyonu azaltır, lokal perfüzyonu artırır. Basit, ucuz ve yan etkisi olmayan uygulama, cerrahi sonrası yara komplikasyonlarını önlemede etkili olabilecek yardımcı terapi yöntemlerindedir (Thakral ve diğerleri, 2013). Flep yaralarının iyileşmesi üzerine farklı frekansların etkisinin değerlendirildiği çalışmada düşük frekanslı (2 Hz) ve 15 mA TENS uygulamasının iskemik yaralarda cilt flebinin canlılığının sürdürülmesinde daha etkili olduğu

sonucuna varılmıştır (Liebano ve diğerleri, 2008). Yüksek frekanslı (80 Hz) TENS uygulamasında iskemik cilt fleplerinde etkinliği kanıtlanmış, flep nekroz alanın küçülttüğü bildirilmiştir (Atalay ve diğerleri, 2003).

Akut insizyonel yaralarda düşük ve yüksek frekanslı TENS uygulamasının anjiyogenezis ve myofibroblast proliferasyonunun incelendiği deneysel çalışmada, düşük frekanslı (5Hz) TENS uygulamasının ameliyat sonrası 3.günde anjiyogenezisi uyardığı, akut iyileşmede etkili olabileceği bildirilmiştir (Machado ve diğerleri, 2016). Önemli bir anjiyogenik faktör olan VEGF salınımı üzerine ES'in etkisini değerlendiren başka bir çalışmada insizyonel yarada kas ve deriye uygulanan stimülasyonun VEGF artırdığı ve 7. günde pik seviyede olduğu bulunmuştur. Yara iyileşmesine olumlu etkisi olacağı sonucuna varılmıştır (Asadi, Torkaman ve Hedayati, 2011). İnsan dokusunda ES'in yara iyileşme hızı ve anjiyogenezis üzerine etkinliğinin araştırıldığı çalışmada 7. günde yara hacminde önemli azalma olduğu, anjiyogenik belirteçlerde artış olduğu (VEGF, PLGF) ve anjiyogenezisi pozitif yönde regüle ettiği bildirilmiştir (Ud-Din ve diğerleri, 2015).

TENS uygulamasının büyüme faktörleri ve sitokinlere olan etkisinin değerlendirildiği insizyonel yara iyileşmesinde yara kenarlarının yakınlaşması, granülasyon dokusunda azalma ve re-epitelizasyonu hızlandırdığı, proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) seviyelerinde belirgin azalma ile inflamasyon fazını inhibe ederek yara iyileşmesi sürecini hızlandırdığını bildirmişlerdir (Gürgen, Sayın, Çetin ve Tuç Yücel, 2014). Kocakutlu ve diğerleri (2013), düşük frekanslı (2 Hz, 15 dk) TENS uyguladıkları insizyonel yarada iyileşmenin daha hızlı olduğunu, epidermal büyüme faktörünün (EGF), trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF)-A ve fibroblast büyüme faktörü (FGF)-2 ekspresyonunun diğer gruplara göre anlamlı yüksek olduğu sonucunu bulmuşlardır. TENS uygulamasının topikal büyüme faktörü uygulamalarına göre daha hızlı yara iyileşmesini sağladığını bildirmişlerdir (Koca Kutlu, Çeçen, Gürgen, Sayın ve Çetin, 2013).

Kutanöz sinirler dermis ve epidermis boyunca uzanır, cildin hem fonksiyonel hemde onarıcı kapasitesi kontrol eder. Derinin yaralanması kutanöz iyileşmeyi bozar (Emmerson, 2017). Kutanöz sinirlerin innervasyonu yara iyileşmesine aracılık eder. Diyabette normal ciltten farklı olarak daha az sinir bulunur ve daha az nöropeptit üretir. Diyabette sinirlerin ve nöromedyatörlerin yetersizliği gecikmiş yara iyileşmesine neden olmaktadır (Ashrafi, Baguneid ve Bayat, 2016; Emmerson, 2017). Kutanöz iyileşmenin desteklenmesi için elektriksel stimülasyon uygulamasının etkinliğinin de insan dokusunda yaralanmadan 3,7,10 ve 14. günlerde yapılan histopatolojik analizler ile kutanöz yara iyileşmesinde anjiyogenezisi

artırdığı, keratinosit proliferasyonu ve re-epitelizasyonu güçlendirerek yara iyileşmesini hızlandırdığı belirtilmiştir (Sebastian, Iqbal, Colthurst, Volk ve Bayat, 2015).

2.4.3. Yara İyileşmesi ve TENS Uygulamasında Hemşirenin Rolü

Yara bakımında hemşirelerin görevleri yönetmelikle de tanımlanmış olup, önemli rolleri bulunmaktadır. Yönetmeliğe göre; hemşire yarayı değerlendirir, yaranın temizliğini ve yara pansumanını yapar. Hemşireler yara, yaraya ilişkin ürünler ve yara bakım uygulamalarını değerlendirerek etkili ürüne karar verir, bakım verdiği bireyi, aileyi ve ekip üyelerini yönlendirir. Ayrıca cerrahi sonrası insizyon yeri bakımı hem “Hemşirelik kararı ile uygulanır” hem de “hekim kararı ile uygulanır” olarak bildirilmiştir (Resmi Gazete, 2011). Cerrahi hemşirelerinin yaklaşık %62’si ameliyat sonrası hastanın yara bakımını gerçekleştirdiği, bu bakımların %70’inin cerrahi yara olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre hemşireler yara bakımında yaygın olarak serum fizyolojik ile ıslak pansuman yaptığı, güncel yara bakım önerilerini uygulamadıkları bildirilmiştir (Rizalar, Tural Büyük, Kaplan Uzunkaya, Şahin ve As, 2019). Cerrahi hemşirelerinin ameliyat sonrası hastaları için planlayıp uyguladıkları bakım planlarının içerisinde yara bakımı da yer almaktadır. Bu nedenle hemşireler, hemşirelik uygulamalarına dahil yara bakım uygulamaları konusunda güncel gelişmeleri takip etmeli ve hastalarına özel yara bakım uygulamalarını planlamalıdır.

Gelişen tıp ve teknolojik gelişmeler hemşirelik biliminde de beklentilerin artmasına yol açmıştır. Günümüzde hemşirelik mevcut araştırma sonuçları doğrultusunda bakımını planlamak ile birlikte yeni ve kanıt düzeyi yüksek araştırmalar ile bilime katkı sağlaması beklenmektedir. Bunun için hemşirelik araştırmalarında tanımlayıcı ve yarı deneysel tipte yürütülen çalışmalara ek olarak deneysel araştırmalarında yapılarak hemşirelik bilimine katkı sağlanması gerekmektedir. Ancak diğer alanlarda olduğu gibi hemşirelik alanında da insanlarda denenmesi mümkün olmayan girişimler mevcuttur. Bunun için gerekli eğitimin alınması ve etik kurallar çerçevesinde bir çok müdahale deney hayvanlarında yapılabilmektedir. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda laboratuvar ortamında bir çok faktör kontrol altına alınarak gerçekleştirilebilmesi deney hayvanı çalışmalarının olumlu yanlarından biridir. Yani deney grupları arasındaki değişkenliğin azaltılması, çevresel etkilerin kontrol edilemesi, standartlaştırılmış bakım, diyet uygulamaları ve genetik farklılıkların karıştırıcı etkileri nedeni ile deney hayvanları ile prelinik çalışmalar avantajlı olmaktadır.

Hemşirelik alanında deney hayvanları ile hemşirelik bakım alanlarında problemlerin çözümüne yönelik bilimsel bilgi birikimine katkıda bulunan deneysel çalışmalar yürütülmüştür. Bunlar ağrı, enfeksiyon, yara iyileşmesi, beslenme, boyutsal ve mekansal öğrenme, barsak motilitesi, ergonomi, stres çalışmalarıdır (Osier, Pham, Savarese, Sayles ve Alexander, 2016; Özsoy ve Yıldırım, 2012; Page, 2004). Yara bakımında önemli rollere sahip hemşirelerin yara bakımında güncel gelişmeleri yakından takip etmesi, bakımın kalitesini de olumlu yönde etkileyecektir (Mutlu ve Yılmaz, 2019). Ayrıca hemşirelerin yara bakımında ki uygulayıcı rolleri nedeni ile de deneysel çalışmalara aktif katılmalıdırlar (Sançar B, Canbulat Ş, 2019). Çünkü hayvan modelleri, hemşirelere araştırmaları için daha geniş bir bilgi tabanı geliştirmelerinde yardımcı olmaktadır (Osier ve diğerleri, 2016). Bu araştırma ile hemşirelerin yara iyileşmesinde yeni gelişmelerin etkilerini bilimsel düzeyde ortaya koymaları, yeni ve etkili uygulama yöntemler geliştirmelerine katkı sağlayacağı ümit edilmektedir.

Hemşirelerin çalışma alanlarından olan yara bakım uygulamaları son yıllarda gelişen tıp ve teknoloji ile birlikte çeşitlilik göstermektedir. Bu uygulamalara topikal ajanlar, büyüme faktörleri, bitkisel yöntemler, kök hücre tedavisi, elektrik stimülasyonu, negatif basınçlı yara tedavisi, hiperbarik oksijen tedavisi, ultrason, lazer, maggot terapi, ozon tedavisi, bal kullanımı gibi alternatif yara bakımı yaklaşımları olarak örnek verilebilir (Mutlu ve Yılmaz, 2019; Qaseem, Humphrey, Forcica, Starkey ve Denberg, 2015; Sançar B, Canbulat Ş, İlhan SE, 2019).

Güncel yara bakım uygulamalarından olan TENS uygulaması, yara iyileşmesi modellerinde prelinik çalışmalar ile etkinliği kanıtlanmış uygulamalardandır. Bu uygulama ile ilgili ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından hemşirelik pratiğinde kullanımı üzerine öneriler sunulmuştur. New York Hemşireler Derneği (New York State Nurses Association) tamamlayıcı ve alternatif terapilerinde TENS uygulamasını tanımlamışlardır ve hemşirelerin rolü hakkında yaptıkları açıklamada hemşirelerin uygun eğitim ve klinik deneyimi edinmeleri halinde bu terapiyi kullanabileceği bildirilmiştir (New York State Nurses Association, 2018). Ülkemizde T.C.Sağlık Bakanlığı Hemşirelik Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelikte (2011) hemşirelerin rolleri belirlenmiştir (Resmi Gazete, 2011). Bu yönetmeliğe göre, TENS uygulaması “hekim kararı ile uygular” ve “hekim ile birlikte yapar” olarak belirtilmektedir. YÖK Ulusal Tez Merkezinde hemşirelik alanındaki tezlerde TENS uygulamasının kullanıldığı ve bunların cerrahi sonrası ağrı kontrolü kapsamında yapılan çalışmalar olduğu belirlenmiş, ancak yara iyileşmesi ile ilgili herhangi bir lisansüstü teze rastlanmamıştır (Ulusal Tez Merkezi, 2020).

2.5. Deneysel Yara İyileşmesi Modelleri

Yara iyileşme modelleri *in vitro* ve *in vivo* yara modellemesi ile değerlendirilmektedir. *In vitro* modeller hücrelerarası ve hücre içi sinyal mekanizmasını değerlendirmek için hücre ve doku kültürleri ile 3D matrisleri kapsar. Ancak *in vitro* modellerde yeterli fizyolojik koşullar sağlanamadığı için kısıtlı sayıda uyarana kısıtlı sayıda hücre tipinin verdiği yanıtlar incelenebilmektedir (Aydın, Tan, Çinal, Kara ve Çakmak, 2014; Baktir, 2020). *In vivo* (deney hayvanı) yara modelleri ise, yara oluşumunu ve doku onarımını fizyolojik yönden en iyi taklit edebilen kompleks koşulları sağladıkları için halen yara iyileşmesini incelemede kullanılan en fazla tercih edilen modellerdir (Baktir, 2020). İnsanlarda herhangi bir girişimin etik kaygılara yol açması nedeni ile hayvan modellemeleri kullanılmaktadır. Hayvan modellemeleri günümüzde hemşirelik araştırmalarında da aktif olarak kullanılmaya başlamıştır.

Kemirgenler, köpek, tavuk, koyun, domuz bu modellemede kullanılacak hayvanlardır. Deri anatomisi bakımından insana en yakın hayvan domuz olmasına rağmen, daha dayanıklı, çalışılması pratik ve çeşitli genetik modelleme yapılabildiği için kemirgenler daha çok tercih edilmektedir (Baktir, 2020; Sanapalli, Yele, Singh, Thaggikuppe Krishnamurthy ve Karri, 2021). Ayrıca kemirgenler için üretilmiş hormon, büyüme faktörleri ve inceleme kitlerine ulaşım kolaylığı da bir diğer tercih nedenidir (Aydın ve diğerleri, 2014).

Yara iyileşmesini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerin yara iyileşmesini nasıl etkilediğini belirleyebilmek için deney hayvanlarında cerrahi, fizyolojik ve mekanik bazı müdahaleler ile planlanan çalışma gerçekleştirilebilir. *In vivo* deney modellemelerinde yara iyileşmesini değerlendirmek için kullanılan modeller; granuloma modelleme, insizyonel yara modelleme, eksizyonel yara modelleme, yanık modelleri kullanılmaktadır (Baktir, 2020; Sanapalli ve diğerleri, 2021).

İnsizyonel yara modellemede yara gerim gücünün değerlendirilmesi, histopatolojik incelemelerin yapılması, topikal uygulamalarının etkinliğinin değerlendirilmesi için kullanılan yöntemdir. Modelde tam kat cilt insizyonunun ardından yara ya açık bırakılır ya da primer suture edilir (Sanapalli ve diğerleri, 2021), işlem sonrasında insizyon bölgesi en blok olarak çıkarılarak histopatolojik inceleme gerçekleştirilebilir (Aydın ve diğerleri, 2014).

2.6. Deneysel Diyabet Modelleri

Diyabet modelleri deney hayvanlarına ilaçlar uygulayarak ya da genetik değişiklikler yoluyla insüline bağımlı (Tip 1) veya insüline dirençli (Tip 2) diyabet olarak geliştirilebilmektedir. Ancak başlıca dezavantajlar, hiperglisemi derecesinin hayvandan hayvana değişmesi ve kullanılan ilaçların T hücre fonksiyonunda değişme ve fagositozda azalma gibi yara iyileşmesinde bozulmaya yol açabilen diğer etkenlere yol açabilmesidir (Baktir, 2020).

Tip 1 diyabet modelleri; Kimyasal yolla oluşturulan modeller (Alloksan ve streptozotosin), spontan Tip 1 diyabet modelleri (diyabete yatkınlığı olan deney hayvanlarının kullanımı), virüsle oluşturulan modeller (Ensefalomiyokardit (EMC) virüsünün M varyantı ve Kilham Rat Virus (KRV)), Transgenik Tip 1 diyabet modelleri (fertilize fare yumurtasının pronükleusuna yabancı bir DNA'nın aşılması ile doğuştan Tip 1 diyabetli fare) ile oluşturulmaktadır (Çiçek, Koçaklı, Akıllıoğlu ve Doğan, 2018; İrer ve Alper, 2004; King, 2012).

Kimyasal modelleme alloksan ve streptozotosin gibi kimyasal ajanların enjeksiyonu ile pankreasın langerhans adacıklarında β hücrelerinde toksik etkiye yol açarak insülin salınımının engellenmesi ile oluşturulan modeldir (Erbaş, 2015; İrer ve Alper, 2004; King, 2012).

Alloksan ürik asit türevi, antineoplastik bir ajandır. Toksik etkisi özellikle pankreas β hücrelerine özgüdür. Glukozla uyarılan insülin salınımını inhibe eder. Yüksek dozlarda diğer organlarda toksik etki oluşturabilir. Damar içi dozu 65 mg/kg, intraperitoneal dozu 150 mg/kg'dır. Uygulama doz aralığı çok dar olması nedeni ile yüksek dozda böbrek tübüllerinde nekroz ve böbrek yetmezliğine neden olur (Erbaş, 2015). Uzun süreli diyabet oluşturulması ya da diyabetin kronik komplikasyonlarının değerlendirilmesi gerektiğinde alloksan tercih edilmektedir (İrer ve Alper, 2004).

Streptozotosin (STZ) kimyasal olarak 2-deoksi-2-(3-metil-3-nitrozoüreido)-D-glukopiranozdur. Neoplastik, antineoplastik ve diyabetojenik özellikleri olan geniş spektrumlu antibiyotiktir (Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Pankreas β -hücrelerine direkt toksik etkilidir. Pankreas hücrelerine sitotoksik etkili olup doza bağlı olarak uygulamadan 72 saat sonra etkilerini göstermektedir (Çiçek ve diğerleri, 2018). STZ -20°C'de ışıktan korunarak saklanmalıdır. Çözeltisi uygulanmadan hemen önce pH=4 sitrat tampon içinde çözülerek hazırlanmalıdır. Hazırlandıktan sonra 4°C'de ışıktan korunarak hemen kullanılmalıdır (İrer ve

Alper, 2004; Kurçer ve Karaoğlu, 2012). Ratlarda 50-100 mg/kg dozunda damar içi veya periton içi uygulanabilir (Erbaş, 2015; İrer ve Alper, 2004). Ratlarda diyabet oluşturmak için en çok kullanılan STZ dozu 60-80 mg/kg'dır (Çiçek ve diğerleri, 2018). Ayrıca STZ ile oluşturulan DM, insan DM'siyle daha fazla örtüşmektedir. Bu nedenlerden dolayı, diyabet modeli oluşturmada alloxan yerine STZ'nin tercih edilmesi önerilir (İrer ve Alper, 2004).

Kimyasal yolla oluşturulan diyabette 3 farklı faz gelişir (Çiçek ve diğerleri, 2018; İrer ve Alper, 2004; Kurçer ve Karaoğlu, 2012);

1-Geçici hiperglisemi fazı; ilk 2 saatte karaciğerde glikojenin ani yıkımına bağlı olarak hiperglisemi gelişir. Uygulamadan önce hayvanlar 12-18 saat aç bırakılırsa hiperglisemi azaltılabilir.

2-Şiddetli hipoglisemi fazı; uygulamadan yaklaşık 6 saat sonra, beta hücre hasarı ile birlikte depolanmış insülin salgısı arttığından, akut dönemde hipoglisemi ve mortaliteye yol açabilir. İndüksiyon sonrası ilk 24 saatlik dönemde hayvanlara şekerli sıvı (%5-10 dekstroz) verilerek önlenebilir

3-Kalıcı hiperglisemi; indüksiyon sonrası 10-12 saat sonra başlar aylarca plazma insülin düzeyi düşük seyrederek.

Streptozotosin veya alloxan uygulamasından sonraki 2-3 gün içerisinde kan glukozu 200-300 mg/dl ya da 11.0 mmol/l'nin üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edilmektedir (Çiçek ve diğerleri, 2018; Erbaş, 2015).

Cerrahi modelleme: hayvanda pankreasın tam rezeksiyonu ile gerçekleştirilen modeldir. Riskli ve zor bir tekniktir. Malabsorbsiyona yol açabildiği için çok kullanılmamaktadır (Baktir, 2020; Erbaş, 2015).

Genetik spontan diyabet modelleri de bulunmaktadır. Genetik olarak diyabetik olan farelerin birçok suşu vardır. En sık kullanılan tür, diyabetik "db / db" farelerdir (C57BL / KsJdb /db veya C57BL / KsJ). Bu farelerde leptin reseptörü yoktur. Leptine yanıt alınmadığından bu hayvanlarda Tip 2 diyabet gelişir. Ob/ob farelerinde de leptin geni yoktur. Ancak db/db farelerine göre daha zayıf derecede diyabet gelişir (Baktir, 2020).

Tip 2 diyabet modelleri; cerrahi olarak parsiyel pankreotektomi, düşük ve tekrarlayan dozlarla kimyasal diyabetik ajan enjeksiyonu, diyet düzenlemesi ile, obez diyabetik fareler ile geliştirilebilir.

Sonuç olarak, hayvanlarda oluşturulan diyabet modellerinin hiçbiri insan diyabetine tam olarak eşdeğer tutulmasa da; araştırmacıların insülin bağımlı Tip 1 ve insülin bağımlı

olmayan Tip 2 diyabet tedavisi üzerindeki çalışmaları için deneysel diyabet modelleri vazgeçilemez unsurlardır. Kimyasal ajanlarla oluşturulan (STZ ve allokstan gibi) diyabet modellerinin, diğer deneysel modellere göre daha ucuz olması; daha kolay geliştirilebilmesi; pankreastaki beta hücrelerin tahrip ederken alfa ve delta hücrelerine zarar vermemesi; ketozis ve mortalitenin göreceli olarak daha az olması gibi çok sayıda avantajı bulunması nedeni ile tercih edilmektedir.

2.7. Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde patolojik reaksiyonlar sonucu oluşan ama fizyolojik işlevlere de sahip olan serbest radikaller, dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, kararsız yapıya sahip, oldukça reaktif ve enerjileri yüksek moleküller veya atomlardır (Lushchak, 2014). Kararsız olduklarından ve eşleşmemiş elektron içermelerinden dolayı, serbest radikaller kendilerini daha stabil hale getirebilmek için ya diğer atomlardan elektron alırlar ya da hücrelere saldırarak hasara yol açarlar. Elektronları iftler halinde olan ve serbest olmayan radikaller olarak da bilinen non-radikaller ise kararlı yapıya sahiplerdir (Halliwell, 2006).

Serbest radikallerin canlılardaki kaynağı moleküler oksijendir. Çünkü bütün canlılar için vazgeçilmez bir elementtir ve hücre solunumu da dahil, organizmada gerçekleşen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında fizyolojik görevleri bulunmaktadır. Vücuttaki moleküler oksijenin çok büyük bir kısmı enzimatik yollarla suya çevrilirken, geriye kalan %1-3'lük kısmı ise mitokondriyal elektron transportu sırasında oluşan elektron kaçaklarına bağlı olarak süperoksit radikaline ($O_2^{\cdot-}$) dönüştürülür. Bu radikal normal Őartlarda süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından indirgenir (zcan, Erdal ve Yönden, 2015).

Oksijen eşleşmemiş iki elektron barındırdığı için diradikal olarak adlandırılır ancak serbest radikallerle kolayca reaksiyona girebilmektedir. Serbest radikaller bu Şekilde oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak oluşmaktadır. Bu nedenle serbest radikaller fizyolojik sınırlar dahilinde hücre metabolizması sırasında immun sisteminin stimle edilmesi, elektron taşıma sistemi, lipit peroksidasyonu ve mikroorganizmaların fagositoz yoluyla bertarafı gibi farklı süreçler sonucu meydana gelmektedir. Sonuçta oksijeni kullanan tüm canlılarda, normal metabolik işlemler sırasında oksidan ve redüktan reaksiyonlar sonucu açığa çıkan serbest radikaller doğal olarak Őekillenmektedir. Ayrıca antineoplastik ilaçlar, evre kirleticileri,

radyasyon, hipoksi, aşırı egzersiz, stres ve travmanın da etkisiyle oluşabilmektedir. Hücrelerde oluşan serbest radikaller hücre hasarına veya ölüme neden olabilmektedir. Ancak meydana gelen hasar, antioksidanlar ile önlenabilir veya azaltılabilir (Kandemir, Abuhandan, Aksoy, Savik ve Kaya, 2013; Mandal, Yadav, Yadav ve Nema, 2009).

Serbest radikallerin kaynaklarını endojen ve ekzojen kaynaklar oluşturur. Endojen kaynaklar fizyolojik koşullarda hücresel aktivite sonucu meydana gelir (Niki, 1987; Peng ve diğerleri, 2006).

- Mitokondriyal elektron transportu
- Enzimler ve proteinler
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda elektron transport sistemleri
- Araşidonik asit metabolizması
- Peroksizomlar
- Fagositoz ve solunumsal patlama
- Plazma membranları
- Otoksidasyon
- Geçiş metalleri aracılığı ile oluşurlar.

Ekzojen kaynaklar ise canlıların maruz kaldıkları ve dışardan vücuda giren kaynaklardır. Stres, sigara dumanı, radyasyon, tarım ilaçları, gıdalarda üreyen mikotoksinler, ilaçlar da dahil vücuda giren her türlü ksenobiyotik gibi birçok faktör serbest radikallerin artışına neden olmaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2008).

2.7.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)

Serbest radikallerin başlıcaları reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT)'dir. Önemli olan bazı ROT'ların başlıcaları süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), singlet oksijen (1O_2), peroksil (ROO^{\cdot}) ve lipid peroksil (LOO^{\cdot}) ile non-radikaller içerisinde yer alan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve ozon (O_3) bulunmaktadır. Önemli olan bazı RNT'lerin başlıcaları ise nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot})'tir (Dizdaroglu, 2015).

Serbest radikallerden ROT'ların meydana geliş şekilleri değerlendirildiğinde, moleküler O_2 'nin çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron alarak indirgenmesiyle $O_2^{\cdot-}$ radikali oluşur. Moleküler O_2 'ye iki elektron eklenmesiyle veya $O_2^{\cdot-}$ radikaline bir

elektron aktarılmasıyla H_2O_2 meydana gelir. Fakat H_2O_2 'in canlılardaki en önemli kaynağı, hücre içi enzimatik bir antioksidan olan SOD enzimidir. Çünkü bu enzim O_2^- radikaline etki ederek H_2O_2 'nin oluşmasına neden olur. H_2O_2 serbest radikal olmamasına rağmen reaktivitesi fazladır. Kaldı ki, OH^\cdot radikalinin oluşumuna yol açması nedeniyle önemli bir oksidan olarak etkir. En güçlü ve en zararlı radikaller arasında yer alan OH^\cdot radikali ise hücrelerde Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile oluşur. Fenton reaksiyonu iki değerlikli demirin (Fe^{+2}) H_2O_2 ile reaksiyona girmesi ile üç değerlikli demirin (Fe^{+3}) ve OH^\cdot radikalinin oluşması esasına dayanır. Haber-Weiss reaksiyonu ise O_2^- radikalinin H_2O_2 ile reaksiyona girmesi ve OH^\cdot radikalini oluşturmasıdır. Serbest radikallerden biri olan 1O_2 ise elektron dağılımının yeniden düzenlenmesine neden olan enerji girişi ile oluşabileceği gibi, O_2^- radikalinin elektromanyetik radyasyona maruz kalması sonucu da oluşabilir. Diğer bir serbest radikal türlerinden olan RNT'ler içerisinde ise en önemlisi NO'dur. Moleküler O_2 ile azotun (N) birleşmesi ile NO meydana gelir. NO'nun O_2^- radikali ile tepkimeye girmesi sonucu peroksinitrit anyonunu (ONOOH) şekillenir. Peroksinitrit bir non-radikal olmasına rağmen OH^\cdot radikalinin oluşumuna yola açar (Halliwell, 1995; Halliwell, 2006).

Sonuç olarak birçok ROT ve RNT, hücrelerde lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. Bunlar aynı zamanda hücre proteinlerin yapısında bulunan sülfhidril gruplarını oksitleyerek hasara yol açarken, OH^\cdot radikali ise aminoasitlerin yapısını bozarak etki gösterir. OH^\cdot radikali aynı zamanda DNA'nın bütün komponentlerine etki ederken, ONOOH DNA'nın parçalanmasına, 1O_2 ise genellikle guanin nükleotidinde hasara yol açar (Halliwell, 2011).

2.8. Oksidatif Stres

Serbest radikaller, organizmada hücrel aktivitesinin sürecinde sürekli olarak doğal bir şekilde meydana gelirler. Fizyolojik konsantrasyonlarda hücrelerde büyüme, çoğalma, farklılaşma ve adaptasyonun düzenlenmesinde görev alırlar. Oksidatif stres, serbest radikallerin fizyolojik üretimi ile hücrelerin onları temizleme yeteneği arasındaki dengenin bozulmasıdır (Scicchitano, Pelosi, Sica ve Musarò, 2018). Bir başka deyişle oksidatif stres, serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması sonucu oluşur. Bunun nedeni serbest radikal miktarındaki artış veya antioksidan seviyelerindeki azalmadır. Böylece serbest radikaller hücrelerin yapısını ve fizyolojik işlevini bozarak etki gösterirler. Bu etkilerin başlıcaları hücre proteini ve karbonhidrat yapısının

bozulması, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve hücre ölümleridir. İmmün sistemin baskılanması, kardiyovasküler hastalıklar, alzheimer, multipl skleroz ve parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar, otoimmün hastalıklar, diyabet, katarakt, kanser, artrit, diyabetik retinopati ve solunum yolu rahatsızlıkları (KOA) gibi birçok sağlık problemlerinin muhtemel nedenleri arasında serbest radikaller yer almaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2008; Barry Halliwell, 2011). Oksidatif stresin kaynaklarının endojen ve ekzojen olduğu bildirilmiştir. Endojen kaynaklar içerisinde mitokondri (elektron taşıma sistemi), peroksisomlar (güçlü H₂O₂ kaynağıdır), sitokinler ve inflamasyon yer alır. Ksenobiyotikler, radyasyon, kemoterapötikler ve patojenler ise ekzojen kaynaklardır (Klaunig ve Wang, 2018).

2.8.1. Diyabet ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres diyabetin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Diyabetik hastalarda aşırı ROT ve RNT'lerin neden olduğu oksidatif stres, doku hasarına yol açan kronik inflamasyonla yakından ilişkilidir. Bu durum retinopati, nefropati, nöropati, iskemik kalp hastalığı ve periferik vaskülopati gibi diyabet komplikasyonlarına neden olmaktadır (Rochette, Zeller, Cottin ve Vergely, 2014; Tangvarasittichai, 2015). Diyabet durumunda hiperglisemiye bağlı olarak mitokondriyal solunum, oto-oksidadasyon yolağı, poliol yolağı, heksozamin yolağı ve ileri glikasyon son ürünleri değışikliklerinden kaynaklanan metabolik stres, hipoksi ve iskemik reperfüzyon doku hasarına neden olmakta ve bu da serbest radikal üretimini arttırmaktadır (Giacco ve Brownlee, 2010). Diyabet ve dolayısıyla hiperglisemi aracılı serbest radikal üretimi aşağıda yer alan mekanizmalara dayanmaktadır.

- Mitokondriyal solunum: Hiperglisemi sonucu oluşan serbest radikallerin başlıca kaynağı mitokondriyal solunumdur. Çünkü yüksek glukoz konsantrasyonu mitokondride bir koenzim olan nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) birikimine neden olur. Mitokondri içerisinde artan NADH konsantrasyonunu azaltmak için, NADH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi sırasında oluşan elektron kaçakları sonucunda serbest oksijen radikalleri oluşur (Yan, 2014).

- Gliseraldehit oto-oksidadasyon yolağı: Glikoliz sırasında 1,6 fosfattan oluşan Gliseraldehit 3-fosfatın oksidadasyonu sonucunda H₂O₂ oluşur. Bu ise Haber-Weiss ve Fenton tepkimeleri aracılığı ile OH[•] radikalinin meydana gelmesine neden olur (Çetiner ve Rakıcıoğlu, 2020).

- Poliöl yolağı:Yüksek glukoz konsantrasyonu bu yolağı aktif hale getirir. Poliöl yoluyla glukozdan sorbitol oluşur. Bu reaksiyon hız sınırlayıcı bir enzim olan aldoz redüktaz aracılığında nikotinamid adenin dinükleotit fosfatı (NADPH) kullanılmasıyla gerçekleşir. Sorbitolise fruktoza metaboliz edilir. Her ikisi de ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumuna neden olarak oksidatif strese neden olurlar. NADPH, yükseltgenmiş glutasyondan (GSSG) indirgenmiş glutasyon (GSH) oluşumunda rol oynar. Ancak buradaki kullanımı, hücre içi bir antioksidan olan GSH'ın oluşumunu engeller. Sorbitölün fruktoza indirgenmesi sırasında kofaktör olarak NAD'ın kullanması sonucunda NADH oluşur ve NADH'ın oksidasyonu ile serbest oksijen radikalleri meydana gelir (Manna, Sinha ve Sil, 2009; Tang, Martin ve Hwa, 2012).

- Heksozamin yolağı: NADPH'ın azalması ve böylece oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına yol açan bu yolak, hiperglisemi sonucu oluşan glikozamin-6-fosfattan kaynaklanır. Çünkü bu, pentoz fosfat oluşumunda görev yapan glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim aktivitesini baskılar. Fakat pentoz fosfat yolağı NADPH'ın üretim yeridir. NADPH eksikliğinde ise kofaktör olarak görev yaptığı hücre içi antioksidanlar olan katalaz ve GSH oluşumu engellenir (Horal, Zhang, Stanton, Virkamäki ve Loeken, 2004).

- İleri glikasyon son ürünleri: Diyabetin patofizyolojisinde dolayısıyla oksidatif streste önemli rol oynayan ileri glikasyon son ürünleri, enzimatik ve non-enzimatik olarak oluşurlar. Örneğın hemoglobın bu son ürünlerin oluşumuna katılır. Bu nedenle HbA1c seviyelerinin artışı diyabet ile ilişkilendirilir (Lind, Odén, Fahlén ve Eliasson, 2009).

2.8.2. Yara ve Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikelleri diyabet, ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetmezliği ve iskemi reperfüzyon hasarı gibi patolojik durumlarda endotel hücre fonksiyon bozukluğu, hücre çoğalması, hücre göçü, fibrozis ve anjiyogenezin yeniden şekillenmesine aracılık eder (Kolluru ve diğerleri, 2012). Ancak dokularda yara oluşuma bağlı olarak oluşan perfüzyonun bozulması sonucunda, endotel altındaki kollajen trombositleri aktive eder. Trombositlerden sentezlenen tromboksan A₂ trombosit kümeleşmesini sağlarken, PGE₂ ise vazokonstrüksiyona neden olur. İnflamatuvar cevap olarak bölgede nötrofil infiltrasyonu oluşur. Bu duruma makrofajlar, lenfositler ve diğer pro-inflamatuvar mediyatörler eşlik eder. Sonuç olarak yangının ana semptomları olan kızarıklık, ağrı, şişkinlik ve sıcaklık ortaya çıkar.

Nötrofil kaynaklı kemotaksis ile yara bölgesindeki hasarlı hücrelerde IL-1, lökotrienler, O_2^- radikali ve H_2O_2 artışı görülür. Yara iyileşmesinin bazı aşamalarında ROT'lar düzenleyici olarak görev alırlar ve fizyolojik olarak düşük seviyelerde gereklidirler. Ancak, diyabete bağlı oksidatif stres artışı ve enzimatik veya non-enzimatik antioksidan yetersizliği yara iyileşmesini geciktirmektedir. Bu durum yara dokusunda oksidatif strese neden olmaktadır (Özcan ve diğerleri, 2015; Sanchez, Lancel, Boulanger ve Nevriere, 2018). İn vivo çalışmalarda sürekli ROT üretimi sonucu gelişen oksidatif stres kronik ve iyileşmeyen yaralar ile ilişkilendirilmektedir (Aksoy ve Özakpınar, 2014; Dunnill ve diğerleri, 2017).

Hem endotel hücreleri hem de damar düz kas hücreleri, çeşitli enzimatik kaynaklardan serbest oksijen radikalleri üretirler. Diyabet durumunda ise bu üretim önemli ölçüde artar. Diyabetik yaralarda ROT'ların meydana geliş şekilleri ile ilgili olarak birçok enzimin (NADPH oksidaz, aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz gibi) aracılık ettiği mekanizmalar vardır.

NADPH'nın NADPH oksidaz (NOX) aracılığı ile NADP'ye indirgenmesi sırasında O_2^- radikalleri meydana gelir. Fakat yara ve dolayısıyla iskemi durumlarında NOX aktivasyonu artar. O_2^- radikalleri SOD aracılığıyla H_2O_2 'ye dönüştürülür, H_2O_2 de Fenton reaksiyonu ile OH \cdot dönüştürülür. Aldehit oksidaz ise aldehitlerden O_2^- radikali ile H_2O_2 üretimine neden olur (Kolluru ve diğerleri, 2012). Yara dokusunda meydana gelen iskemiye bağlı olarak mitokondrial ATP üretimi durur. Oluşan anaerobik ortama bağlı olarak hücre içi hidrojen yükünü dengelemek için önce sodyum-hidrojen pompası devreye girer ve hidrojen dışarı atılır. Hücre içerisinde sodyum yoğunluğunun artmasıyla da sodyum-kalsiyum pompası aracılığı devreye girer ve bu sefer hücre için kalsiyum yoğunluğu artar. Kalsiyum kendisine bağımlı proteazları etkinleştirir. Bunlar ksantin dehidrojenazı ksantin oksidaza çevirirler. Ksantin oksidaz ise ara ürün olarak reaktif oksijen türlerinden O_2^- radikallerini oluşturur (Baines, 2009; Bravard ve diğerleri, 2011).

2.9. Antioksidan Savunma Sistemi

Organizmanın serbest radikallerin oluşmasını ve meydana getirdikleri hasarı önleyen çeşitli savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bu mekanizmalardan biri de antioksidan savunma sistemidir. Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu önleyerek veya bunları etkisiz hale getirerek etkilerini gösterirler. Oksijeni uzaklaştırıcı ve konsantrasyonunu azaltıcı etki serbest radikal oluşumunun önlenmesine örnek gösterilebilir. Antioksidanlar serbest

radikalleri zayıf etkili başka bir moleküle çevirerek, onların zincirlerini kırarak, onlara hidrojen veya proton aktararak onları etkisiz hale getirebildikleri gibi onların oluşturduğu hasarı onararak da etki getirirler.

Antioksidanlar doğal (endojen) ve sentetik (eksojen) kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler gibi, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilirler (Mandal, Yadav, Yadav ve Nema, 2009; Ziech ve diğerleri, 2010). Enzimatik antioksidanlar içerisinde superoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glukoz 6-fosfat dehidrojenaz yer alır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise mineraller vitaminler (A, C ve E vitamini), (selenyum ve çinko), karotenoidler (β -karoten, lutein, likopen), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (ürk asit ve glutatyon) antioksidan kofaktörler (koenzim Q10) ve polifenollerdir. Polifenoller de flavonoidler (kuersetin, kaemferol, kateşin, hesperidin) ve fenolik asitler (kumarik asit, ellajik asit ve gallik asit) olarak ikiye ayrılmaktadır (Ratnam, Ankola, Bhardwaj, Sahana ve Kumar, 2006). Bazı antioksidanlar ile bunların hücrelerdeki etki şekilleri Tablo 3'te gösterildiği gibidir.

Tablo 3. Bazı antioksidanlar ve bunların etki mekanizmaları veya görevleri (Ratnam ve diğerleri, 2006; Scicchitano ve diğerleri, 2018).

Antioksidanlar	Etki Şekli/Görevi
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikaline ($O_2^{\cdot-}$) karşı ilk savunma hattını oluşturan bu enzim, bu radikali H_2O_2 ve O_2 oluşumuna yol açar.
Katalaz (CAT)	H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye ayrılmasını katalize eder.
Glutatyon peroksidaz (GTPx)	H_2O_2 'nin H_2O 'ya ve organik hidroperoksidin (ROOH) alkole (ROH) indirgenmesini katalize eder.
Glutatyon (GSH)	Enzimatik olmayan hücre içi indirgeyici ajandır.
Likopen	Singlet oksijenin (1O_2) yakalayarak etkisizleştirir.
Ellajik asit	Hücrelerden H_2O_2 'yi uzaklaştırır.
Koenzim Q10	Lipid peroksidasyonunun inhibe eder ve mitokondriyal oksidatif stresi azaltır.
Vitamin C	GSH tarafından indirgenen semidehidroaskorbat radikali oluşturarak süperoksit anyonunun temizler.
Vitamin E	Süperoksit radikalini temizler, antioksidan enzimleri upregüle eder ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

2.9.1. Diyabetik Yara İyileşmesinde Etkili Bazı Antioksidanlar ve İlaçlar

Diyabetik yara iyileşmesinde antioksidan etkileriyle ön plana çıkanlar; antimetabolik dengesizliği düzenleyenler, bitkisel kaynaklı antioksidanlar, diyabetik yaralarda kullanılan potansiyel antioksidanlar ile diyabetik nöropati, anjiyopati ve deri rahatsızlığında kullanılanlardır. Bunların etkileri ve etki mekanizmaları Tablo 4’te sunulmuştur (Deng ve diğerleri, 2021).



Tablo 4. Diyabetik yara iyileşmesinde kullanılan antioksidan etkiye sahip bazı antioksidan ve ilaçlar ile bunların etkileri ve etki şekilleri (Deng ve diğerleri, 2021).

Antioksidanlar/İlaçlar	Endikasyonları	Etkileri	Etki Şekilleri
Metformin	Antimetabolik dengesizlik	Endotel hücrelerin anjiyogenik fonksiyonların iyileşmesi	Nitrik oksit sentetaz aktivasyonu
Sodyum glikoz ko-transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri		Yangı hücrelerinin infiltrasyonunun engellenmesi ve endotel fonksiyonun iyileşmesi	TNF- α ve IL-6 üretimini baskılanması
Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri		Antioksidatif stres	Nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2 yolağı
Ferulik asit	Bitkisel kaynaklı antioksidanlar	Antioksidatif stres	Lipid peroksidasyonunu önler, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon ekspresyonunu artırır
Klorojenik asit		Antioksidatif stres	Malondaldehid seviyesini düşürür, glutatyon seviyesini artırır
Deferoksamin	Potansiyel antioksidanlar	Neovaskülarizasyon ve rejenerasyon	Faktör-1 α aktivasyonunu sağlar
Propolis		Antioksidatif stres	Glutatyon ve IL-10 seviyesini artırır
α -lipoik asit	Diyabetik nöropati	Endojen ve eksojen antioksidanların rejenerasyonunu	ROT'ların yıkımlanması
Aldoz redüktaz inhibitörleri		Antioksidatif stres	Poliolyolağı
Koenzim Q10		Mitokondriyal antioksidan aktivite ve apoptozisi iyileştirir	ATP üzerinden enerji oluşumunu artırır ve mitokondriyal oksidatif stresi azaltır
Silostazol	Diyabetik anjiyopati	Fosfodiesteraz enzim inhibitörü	ROT'ların yıkımlanması
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Diyabetik deri rahatsızlığı	Antioksidatif stres	Hücre farklılaşması ve proliferasyonu

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar ve Laboratuvar Gereçleri

Çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Patoloji Anabilim Dalı ile Farmakolojive Toksikoloji Anabilim Dalında bulunan doku takip cihazı (Leica TP1020), parafin dispenser (Shandon), mikrotom (Leica RM 2135), ışık mikroskopunda (Olympus BX-51), dijital fotoğraf makinesi (Olympus SC180-Tokyo, Japonya), su banyosu (Memmert WNB 10),buzdolabı/derin dondurucu (Samsung RL62ZBSW), spektrofotometre (Shimadzu UV-1601), dijital pH metre (Denver Instrument, Model 225), distile su cihazı (Nüve NS 112), etüv (Nüve FN 500), santrifüjcihazı (Nüve, NF 800R), soğutmalı santrifüj cihazı (Hettich Zentrifugen, Universal 320 R), inkübatör (Nüve, ES 110)vortex (Nüve NM 110), terazi (Shimadzu EB-2200 HU), hassas terazi (Shimadzu, AX 120), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (IKA, RH Basic 2) ile laboratuvar gereçleri olarak kuartz küvetler (Hellma Analytics, 104 - QS ve 100 - QS, 10 mm), polietilen enjektör (Ayset 2,5 ml) ve insülin enjektörü (Ayset), glukometre (Optima), laboratuvar eldiveni (Isolab), cerrahi makas, steril bistüri ucu (plusmed), pens, 3/0 ipek sütün, steril spanç, mikropipetler (Ependorf, Brand, Biohit marka 10 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl ve 1000-5000 µl'lik), deney tüpleri (Isolab 5, 10, 15 ml), balon joje (Isolab 10, 25, 50, 100 ml), beher glas (Isolab 10, 25, 50, 100 ml), lam (Isolab 24x24 mm ile 24x60 mm), lamel (Isolab, 24x24 mm ile 24 x 60 mm) mikrosantrifüj tüpü (Isolab), serum tüpü (BD Vacutainer) ve EDTAlı tüplerden (BD Vacutainer) yararlanılarak gerçekleştirildi.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma kapsamında deneysel diyabeti indüklemek için streptozotosin (Sigma S0130), histopatolojik analizler kapsamında Anti-VEGFA antibody (ABCAM ab231260), FGF-2 antibody (Santa Cruz SC 74412), HRP Polymer/DAB Plus Chromogen (Thermo TP-015-

HD), 3-Aminopropil (trietoksilan) (Sigma A3648), trizma base (Sigma T1503), fuksin asit (Isolab 924.D01.0050), etanol (Merck 100971), %96, absolut etanol (Merck 100983), fosfotungustik asit hidrat (Sigma 455970), neutral red (Sigma N4638), hematoksilin kristalize (Sigma Aldrich 104302), formaldehit (Sigma Aldrich 47608), paraffin 56-58 (Merck 107337), ksilol (Merck 108297), basik fuksin (Sigma Aldrich 857343), paraffin 46-48 (Sigma Aldrich 8002-74-2), antioksidan ve oksidan parametreler içintotal protein kiti (Archem Diagnostik, A2301), EDTA (Sigma E5134), metafosforik asit (Merck 100546), 5,5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) Sigma D-8130, sodyum sitrat tribazik dihidrat (Sigma Aldrich S4641), trikloro asetik asit (Sigma S-27242), tiobarbiturik asit (Sigma T-5500), n-butanol (Sigma Aldrich 24124), hidroklorik asit (Sigma 30721), ksantin oksidaz (Sigma X-1875), ksantin (Sigma X-0626), nitrotetrazolium blue (Sigma N-6876), kloroform (Sigma Aldrich 24216), amonyum sülfat (Merck 101217), bakır klorür (Sigma Aldrich 222011), sodyum karbonat (Sigma S5761), sığır albümini (Sigma A-7906) kullanıldı.

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmanın deneysel aşaması Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada bu merkezden temin edilen 250-300 gr ağırlığında 12-14 haftalık toplam 48 adet erkek Wistar albino rat (*Rattus rattus norvegicus*) kullanıldı. Çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 09.07.2020 tarih ve 2020/031 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Hayvanların önceden herhangi bir araştırmada kullanılmamış olmasına ve sağlık durumlarının iyi olmasına dikkat edildi. Ayrıca kuyruk veninden alınan venöz kan ile ratların kan glukoz düzeyleri glukometre ile ölçüldü ve glukoz değeri 250 mg/dl'nin altında çıkan ratlar çalışmada kullanıldı.

Ratlar deney süresi boyunca 12/12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, sıcaklığı $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve nemi ise %50-55 olarak ayarlanmış odalarda ve polietilen şeffaf kafeslerde barındırıldı (Resim 1). Kafeslerde altlık olarak talaş kullanıldı. Standart yem ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Gruplar, ratların ortalama ağırlıkları birbirine yakın olacak ve istatistiksel fark olmayacak şekilde ayarlandı. Ratlar 14 günlük adaptasyon süresinin ardından rastgele 6 gruba ayrıldı (n=8). Toplamda her grupta 8 rat ve her kafeste 4 rat olacak şekilde 48

rat kafesler yerleştirildi. Hayvanlarının bakımına ilişkin ‘‘Hayvan Etik Kurulu’’ uygulamalarına zen gösterildi.



Resim 1. Çalışmada kullanılan ratlar, kafesler ve deneysel gruplardan bir görüntü (n=48).

3.1.4. Deneysel Grupların Oluşturulması

Çalışmada kullanılan ratlar aşağıda belirtilen şekilde gruplandırılarak oluşturuldu.

Kontrol grubu (K): İnsizyon yarası oluşturulmamış ve 3. günde ötenazisi yapılan sağlıklı grup olup, diğer deneysel gruplarla karşılaştırmak amacıyla oluşturulmuş negatif kontrol grubudur.

Diyabet grubu (D): İnsizyon yarası oluşturulmamış ve 7. günde ötenazisi yapılan diyabetli grup olup, diğer deneysel gruplarla karşılaştırmak amacıyla oluşturulmuş pozitif kontrol grubudur.

Diyabet+İnsizyon-3 (Dİ-3): Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda insizyon yarası oluşturulduktan sonra herhangi bir müdahalenin yapılmadığı ve DİT-3 grubu ile karşılaştırma yapmak amacıyla 3. günde ötenazisi yapılan gruptur.

Diyabet+İnsizyon+TENS-3 (DİT-3): Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda insizyon yarası oluşturulduktan 24 saat sonra başlamak üzere 3 gün boyunca günde 15 dk TENS uygulamasının yapıldığı ve son TENS uygulamasından 24 saat sonra ratların ötenazisinin gerçekleştirildiği gruptur.

Diyabet+İnsizyon-7 (Dİ-7): Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda insizyon yarası oluşturulduktan sonra herhangi bir müdahalenin yapılmadığı ve DİT-7 ile karşılaştırma yapmak amacıyla 7. günde ötenazisi yapılan gruptur.

Diyabet+İnsizyon+TENS-7 (DİT-7): Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda insizyon yarası oluşturulduktan 24 saat sonra başlamak üzere 7 gün boyunca günde 15 dk TENS uygulamasının yapıldığı ve son TENS uygulamasından 24 saat sonra ratların ötenazisinin gerçekleştirildiği gruptur.

İnsizyon yarası diyabet oluşturulduktan 7 gün sonra gerçekleştirildi ve insizyon yarasının yapıldığı gün, tüm deneysel gruplar için çalışmanın başlangıç günü olarak kabul edildi. TENS uygulamasına ise insizyon yarası oluşturulduktan 24 saat sonra başlandı. Çalışma dizaynını içeren deneysel gruplar ve yapılan uygulamalar Tablo 5.'te gösterilmiştir;

Tablo 5. Deneysel gruplar ve yapılan uygulamaları gösteren çalışma planı.

Gruplar	Yapılan uygulama			
	Diyabet	İnsizyon yarası	TENS uygulaması	Ötenazi günü
K	yok	yok	yok	3. gün
D	var	yok	yok	7. gün
Dİ-3	var	var	yok	3. gün
DİT-3	var	var	var	3. gün
Dİ-7	var	var	yok	7. gün
DİT-7	var	var	var	7. gün

K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.

3.2. Yöntem

3.2.1. Streptozotosin (STZ) ile Diyabetin İndüklenmesi

İki haftalık uyum süresinin sonunda kontrol grubu hariç diğer gruptaki ratlara pH'sı 4,5 olan sodyum sitratlı tampon (0,01 molar) içerisinde taze hazırlanmış STZ çözeltisinden 0.5 ml içinde 60 mg/kg tek doz intraperitoneal enjeksiyonla verilerek deneysel diyabet oluşturuldu (Alhaider ve diğerleri, 2011; Wu ve Yan, 2015). STZ uygulamasından yaklaşık 6 saat sonra pankreas dokusundaki beta hücrelerinin hasarı sonucu depolanmış insülinin neden olduğu şiddetli hipoglisemi gelişir. Hipoglisemiyi ve neden olabileceği mortaliteyi önlemek amacıyla enjeksiyondan 2 saat sonra ve 24 saat süre ile ratların içme sularına %5 glukoz ilave edildi (İrer ve Alper, 2004; Shivananjappa ve Muralidhara, 2012). Enjeksiyondan 72 saat sonra restainer kullanılarak sabitlenen ratların kuyruk veninden alınan kan örneğinden glukometre ile kan glukoz düzeyi ölçüldü. Kan glukoz düzeyi 250 mg/dl ve üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi (Roy, Metya, Sannigrahi, Rahaman ve Ahmed, 2013). Çalışmada K, Dİ-3 ve DİT-3 gruplarındaki ratların 3. günde, diğer deneysel gruplarda ki ratların ise 7. günde kan glukoz değerleri ölçülerek diyabetin devamlılığı kontrol edildi.

3.2.2. İnsizyonel Yara Oluşturulması

Deneysel diyabet oluşturulmuş çalışmalarda insizyonel yara oluşturma sürelerinin STZ uygulamasından 5 gün (Dwita ve diğerleri, 2019) ve 7 gün (Jarad ve diğerleri, 2020) sonra gerçekleştirildiği belirtilmiştir. Bu nedenle ilgili literatür değerlendirildiğinde çalışmamızda insizyon yarası oluşturma günü, diyabet oluşturulduktan 7 gün sonra yapılması olarak planlandı ve Dİ-3, DİT-3, Dİ-7 ve DİT-7 gruplarında insizyonel yara oluşturuldu.

Yara oluşturulmadan önce, ratlar intraperitoneal 5 mg/kg ksilazin (Atafen Alfazyne %2, Alfason) ve 50 mg/kg ketamin (Alfamine %10) ile anesteziye alındı. Cerrahi girişim öncesi anestezi derinliği ratlara uygulanan ayak, pençe ve kulak sıkıştırma yöntemleri ile kontrol edildi. Ratlar sedatize edildikten sonra, dorsal bölge tüyleri elektrikli tıraş makinesi ile temizlendikten sonra, bölgenin lokal saha temizliği %1 polivinilpirolidon-iyot ile yapıldı. Sırtın sefalik bölgesine literatürde belirtildiği gibi (Gürgen ve diğerleri, 2014; Koca Kutlu ve

diğerleri, 2013) 15 no'lu bistüri kullanılarak 3 cm uzunluğunda tam kat deri insizyonu uygulandı. İnsizyonel kesinin standardizasyonunu sağlamak amacıyla ölçüm aracı olarak cetvel kullanıldı. Cetvel uygulama esnasında ratların dorsal bölgesine yerleştirildi ve insizyonel kesi cetvelde ki kılavuz çizgiye göre uygulandı (Resim 2). Daha sonra Resim 3'te görüldüğü gibi 2 adet 3/0 ipek dikiş materyali ile suture edildi (Biondo-Simões ve diğerleri, 2010). Cerrahi insizyon ve suture uygulamasının ardından yara bölgesi steril spanç ile kapatıldı ve ratlar yara bölgesine zarar vermesin diye file bandaj pansuman materyali ile korumaya alındı (Resim 4).



Resim 2. Tam kat deri insizyonu.



Resim 3. Suture uygulaması.



Resim 4. File bandaj pansuman.

3.2.3. TENS Uygulaması

İnsizyon yarasının oluşumundan 24 saat sonra DİT-3 ve DİT-7'de bulunan ratlara TENS uygulamasına başlandı (Asadi, Torkaman, Hedayati ve Mofid, 2013). Uygulama kolaylığı açısından hayvanlara intraperitoneal 50 mg/kg ketamin+10 mg/kg ksilazin ile anestezi uygulandı ve ardından TENS uygulamasına gerçekleştirildi. Silikon kaplı iki elektrot, insizyon yarasından 1-1,5 cm uzağa yerleştirilip kendinden yapışkan malzeme ile tespit edildi. Çalışmada kullanılan elektriksel stimülatör cihazı (Transkutanöz Elektriksel Sinir Stimülasyon, TENS 3000) ve ratlara uygulanmasıyla ilgili görüntü sırasıyla Resim 5 ve 6'da gösterilmiştir. Üretilen akım genellikle bifazik dalga şeklinde olup sıfır elektrik yüküne sahiptir. Bu şekilde iyonizasyonun neden olduğu deri irritasyonu engellenmektedir. Güç

kaynağında üretilen akım ampifikatörde arttırılarak elektrotlara ulaşmaktadır. Çalışmada TENS uygulamasının frekans, akım ve süresi literatür doğrultusunda belirlendi. Akut yaralarda etkili olabilecek TENS ayarları düşük frekansta (2Hz) ve 15mA akım genişliğinde (Liebano ve diğerleri, 2008) DİT-3 grubuna 3 gün ve DİT-7 grubuna 7 gün boyunca (Machado ve diğerleri, 2016) günde 15 dk (Cramp ve diğerleri, 2000) olarak uygulandı.



Resim 5. TENS cihazı.



Resim 6. TENS uygulamasına ait bir görüntü.

3.2.4. Yarannın Değerlendirilmesi

3.2.4.1. Makroskobik Değerlendirme

Yara iyileşmesinin değerlendirilmesi makroskobik ve mikroskobik olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirildi. Makroskobik incelemede her gün yara iyileşme süreci gözlemlendi. Digital kamera ile insizyon bölgesi çalışma süresi boyunca fotoğraflanarak kayıt altına alındı. Yarannın fotoğrafları çekilirken uygun ışıklandırma ortamı hazırlandı. Fotoğraflama yöntemi Tıbbi İllüstratörler Enstitüsü Yara Yönetimi Fotoğrafçılığı (Institute of Medical Illustrators, 2019) tarafından yayınlanan kılavuzun önerisi doğrultusunda yapıldı. Bu öneriler doğrultusunda ardışık görüntüler için aynı dijital kamera ve aynı görüntü çözünürlüğü

ayarları kullanıldı. Bu amaçla kamera merceği zoomu aynı büyüklükte olacak şekilde, yarıdan aynı açı ve yükseklikte tutuldu. Ayrıca takip fotoğraflarını objektif olarak değerlendirebilmek için her bir fotoğraf önceki fotoğraflara benzer bir pozisyonda, benzer açıdan ve mesafeden çekildi. Mikroskopik değerlendirme ise histopatolojik olarak gerçekleştirildi.

3.2.4.2. Mikroskopik Değerlendirme

Çalışmanın başlangıcı olarak kabul insizyon yarasının oluşturulduğu günden 3 gün sonra K, Dİ ve Dİ-3 grupları ve 7 gün sonra ise diğer deneysel gruplarda bulunan ratlar 5 mg/kg ksilazin (Atafen Alfazyne %2, Alfason) ve 50 mg/kg ketamin (Alfamine %10) ile anesteziye alınarak deneysel çalışma sonlandırıldı.

Anestezi altındaki ratların kardiyak ponksiyon ile kanları alındı. Ortalama 4-5 ml miktarında alınan kanlar antioksidan ve oksidan parametre analizleri için kullanıldı. Ayrıca alınan kanlardan glukometre ile kan glukoz düzeyi ölçüldü. Kan örnekleri alındıktan sonra anestezi altındaki ratlar servikal dislokasyon ile ötenazi edildi.

Histopatolojik inceleme amacıyla; çalışmanın 3. ve 7. günlerinde sakrifiye edilen ve deneysel olarak insizyonel yara oluşturulmuş ratlar (Dİ-3, DİT-3, Dİ-7 ve DİT-7 grupları) ile sağlıklı grup (K) ve yara oluşturulmamış diyabet (D) grubundaki ratların dorsal bölgesinin tüm epitel ve dermal bölmelerinden tam katlı (yara marjları, granülasyon dokusu, kas ve deri altı yağ dokusu) doku örnekleri alındı (Resim 7 ve 8) (Machado ve diğerleri, 2016). Deri örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 24 saat tespit edildi ve rutin doku takip işlemi uygulandı. Bu amaçla trimlenen dokular doku takip cihazında değişen derecelerde alkol serileri ile ksilolden geçirilerek parafinde bloklandı. Parafin bloklardan sırasıyla Hematoksilen-Eozin, Toluidin Mavisi, Kongo Kırmızısı ve immunohistokimyasal boyamalar için her bir bloktan mikrotom aracılığı ile 5-6 µm kalınlığında seri ikişer kesit alınarak rutin doku takip sürecine başlandı. Bu amaçla; tüm parafin kesitler ksilen ve konsantrasyonu giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek distile suya alındı.



Resim 7. Dorsal bölgeden tam katlı deri dokusu örneğinin ektomisi.



Resim 8. Ratların dorsal bölgesinden alınan tam katlı deri dokusu örneği.

Hematoksilen-Eozin için; kesitler önce 5 dakika boyunca Harris Hematoksilende, ardından yine 5 dakika boyunca %70'lik alkolde sulandırılmış %1'lik Eozinde boyandı. Toluidin Mavisi için; kesitler 10 dakika süre ile %0.1'lik toluidin mavisi solüsyonuna daldırılarak boyandı. Kongo Kırmızısı için; kesitler 5 dk Gill's hematoksilen solüsyonuna daldırıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 15 dakika boyunca %70'lik alkolde sulandırılmış %5'lik Kongo kırmızısı solüsyonu ile boyandı. Daha sonra %75'lik alkol solüsyonuna daldırılarak farklılaştırıldı (Song ve diğerleri, 2018).

Hazırlanan tüm preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. 40x'lik mikroskop büyütmesinde her bir 10 ayrı sahada gerekli görülenlerden mikrofotograflar alındı.

Yapılan incelemede yangısal hücre infiltrasyonu (makrofaj, nötrofil ve eozinofil yoğunluğu), mast hücresi ve fibroblast hücre yoğunlukları ile anjiyogenezis (neovaskülarizasyon) değerlendirildi. Araştırmanın mikroskopik inceleme aşaması veteriner histolog ve patolog tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2.1. İmmunohistokimya

İnsizyon bölgesinden alınan dokuların immunohistokimyasal analizleri kapsamında, anjiyogenezisi direkt etkileyen anjiyogenik faktörlerden olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF)'nin dokudaki boyanma yoğunlukları değerlendirildi. Bunların yanı sıra dokuda makrofajların immuno reaktivitesini belirlemek için

Iba-1 antikorunu kullanıldı. VEGF, FGF ve Iba-1 immunoreaktivitesi semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme iki farklı patoloğun farklı zamanlarda yaptığı sayımlar ile gerçekleştirildi. Bunun için, incelenen alanlardaki pozitif hücre sayısı baz alındı ve analiz için yüksek yoğunlukta reaksiyon belirlenen alanlar seçildi. Işık mikroskopunda her örnek için, toplam 40x'lik mikroskop büyütmesinde 5 ayrı saha incelendi. Her sahadaki immunopozitif hücre verileri toplanarak ortalaması alındı ve o dokunun verisi olarak değerlendirildi.

Strept avidin-biyotin kompleks (strept avidinbiotin complex, sABC) boyama metoduna göre VEGF ve FGF için immunohistokimya analizi aşağıda yer alan protokole göre gerçekleştirildi.

1) Parafin bloklardan 6-7 µm kalınlığında alınan deri kesitleri, organasilane ile kaplanmış lamlara alındı ve 37°C'de bir gece kurutuldu.

2) Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemleri yapıldı (kesitler sırasıyla ksilol-I ve ksilol-II'de beşer dakika, absolute alkol-I, absolute alkol-II, %96 alkol ve %80 alkollerde üçer dakika tutuldu. Daha sonra kesitler 5 dk akan çeşme suyunda yıkandı).

3) Kesitler, önceden hazırlanmış 37°C'lik distile su içinde, 37°C'lik etüvde beş dakika bekletildi. Daha sonra 70°C ye kadar ısıtılmış 10 mM tri-sodyum sitrat (pH 6.0) içine alınarak 70°C'lik etüv içinde 30 dk tutuldu.

4) Preparatlar hızlıca distile sudan geçirilerek Thermo Scientific Sekonder Antikor Kiti (Thermo TP-015-HD) içinden çıkan hidrojen peroksit blokiçinde 10-15 dk inkübe edildi.

5) Kesitler pipet yardımıyla PBS ile yıkandı ve 5 dk PBS'te bekletildi.

6) Daha sonra Thermo Scientific Sekonder Antikor Kiti içinden çıkan Ultra V Block ile oda sıcaklığında nemli ortamda 5 dk inkübe edildi ve üzerindeki Ultra V Blok döküldü.

7) Kesitlerin üzerine yaklaşık 50 µl sulandırılmış PBS (1/500) VEGF (ABCAM ab231260) / FGF-2 primer antikor (Santa Cruz SC74412) uygulanarak bir gece boyunca +4°C'de inkübe edildi.

8) Preparatlar daha sonra dik şale içerisine alınarak oda sıcaklığında TBS ile yıkandı ve 5 dk bu solusyonda bekletildi.

9) Thermo Scientific Sekonder Antikor Kiti içinden çıkan Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (sekonder antikor) uygulandı ve 10 dk inkübe edildi.

10) TBS içerisinde çalkalandı ve burada 5 dk tutuldu.

11) Thermo Scientific Sekonder Antikor Kiti içinden çıkan Streptavidin Peroxidase uygulandı ve 10 dk inkübe edildi.

12) Tekrar içerisinde çalkalandı ve burada 5 dk tutuldu.

13) Kesitler taze hazırlanmış substrat- kromojen (DAB) solüsyonunda 3 dk bekletildi. DAB; 1 damla (40 µl) DAB Plus Chromogen+2 ml DAB Plus Substrate karıştırılarak hazırlandı.

14) Distile suda yıkandı. Harris hemotoksilin ile 30 saniye zıt boyama yapıldı. Faromount ile kapatıldı ya da distile sudan ve %96'lık alkolden hızlıca geçirilerek çıkış alkol ve xylollerden geçirilerek entellan ile kaplandı.

Araştırmanın immunohistokimyasal inceleme aşaması veteriner patolog tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Kan Dokusu Oksidatif Stres Parametre Analizi

3.2.5.1. İndirgenmiş GSH Seviyesi Analizi

İndirgenmiş GSH seviyesinin hesaplanabilmesi için önce tam kanda hemoglobin tayini yapıldı. Bu amaçla önce Drabkin çözeltisi hazırlandı. Bu çözelti için 0,052 g KCN, 1 g NaHCO_3 ve 0,198 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ balon jöjeye tarılarak konuldu ve distile su ile 1 litreye tamamlandı. Cam tüplere drabkin çözeltisi (5 ml) tam kan (20 µl) ilave edildi ve vortekslenildikten sonra 10 dk oda sıcaklığında beklendi. Spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda drabkin çözeltisi kör olarak kullanılarak okuma yapıldı. Sonuçlar g Hb/100 ml kan olarak ifade edildi.

İndirgenmiş GSH analizi ise literatürde belirtilen yöntemle göre yapıldı (Beutler, Duron ve Kelly, 1963). Analizin prensibi disülfid bir kromojen yapıda olan DTNB (5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit) ile sülfidril gruplu bileşiklerinin GSH'ı indirgeme prensbine dayanmaktadır. Meydana gelen rengin yoğunluğu ile GSH seviyesi arasında doğru orantı bulunmaktadır.

Analiz için 3 adet reaktif hazırlandı. Bunlar presipitasyon solüsyonu olarak kullanılan reaktif 1 (100 ml distile suda 1,67 g glasial metafosforik asit, 30 g NaCl ve 0,2 g disodyum

EDTA), fosfat tamponu olarak kullanılan reaktif 2 (42,59 g Na₂HPO₄/1000 ml distile su) ve reaktif 3 (40 mg DTNB/100 ml distile su ve üzerine 1g/dl olacak şekilde sodyum sitrat ilave edildi) olup hazırlandıktan sonra buzdolabında saklandı.

Mikrosantifüj tüplerine tam kan (50 µl), distile su (450 µl) ve reaktif 1 (750 µl) koyulduktan sonra vortekslendi ve 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Ayrı bir cam tüpe üstte kalan süpernatanttan 500 µl, 2 ml reaktif 2 ve 250 µl reaktif 3 eklendi ve karıştırıldı. Küvete konulan örnekler spektrofotometrede distile suya karşı 412 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen analiz sonuçları µM/g Hb biriminden gösterildi.

3.2.5.2. SOD Aktivitesi Analizi

Serum SOD aktivitesi literatürde belirtilen yöntemle göre ölçüldü (Y. Sun, Oberley ve Li, 1988). Bu analize göre O₂[•]radikallerinin üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülür. Üretilen O₂[•]radikalleri nitrotetrazolium blue (NTB) ile reaksiyona girer ve NTB'nin indirgenmesi sonucunda formazon açığa çıkar. Formazon 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Numunede bulunan SOD enzimi ortamdaki O₂[•] radikallerini H₂O₂'e dönüştürerek formazon oluşumunu azaltır. Böylece NTB redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve spektrofotometrede okunan absorbans değeri azalır. Bu çalışmada da süreç bu şekilde ilerledi ve formazon oluşumunu inhibe eden değerin belirlenmesiyle SOD aktivitesi ölçüldü.

Analiz amacıyla reaktif karışımı, EDTA (0,249 g/1000 ml distile su), NTB (12,3 mg/100 ml distile su), Na₂CO₃ (4,2 g/100 ml distile su), sığır albümini (100 mg/100 ml distile su) ve ksantin stok çözeltisini içermektedir. Bu stok çözeltisi hazırlanırken 23 mg ksantin üzerine 5 ml 0,1 N NaOH ve 45 ml distile su ilave edildi ve analiz günü 10 kat sulandırılarak kullanıldı. Bunlarla birlikte ksantin oksidaz çözeltisi (2 ml 2 M amonyum sülfat içerisinde 20 U olacak şekilde hazırlandı) ve CuCl₂ (10,7 mg/100 ml distile su) çözeltisi hazırlandı.

Mikrosantrifüj tüplerine 0,5 ml serum konulduktan sonra, üzerine etil alkol (250 µl) ve kloroform (150 µl) ilave edildi ve karıştırıldı. Tüpler 12000 rpm'de 4°C'de 10 dk santrifüj edildi. 5 ml'lik cam tüplere reaktif karışımı (1225 µl) ve tüplerde bulunan numuneden 250 µl eklendi. Blank (kör) için aynı miktarda reaktif karışımı ve aynı miktarda distile su kullanıldı. Tüpler vortekslendikten sonra üzerlerine ksantin oksidaz (25 µl) eklendi ve 20 dk süreyle 25°C'de su banyosunda bekletildi. CuCl₂ ilavesinden sonra (0,5 ml) numunelere köre karşı

560 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu ve sonuçlar U/mg protein olarak gösterildi.

3.2.5.3. MDA Seviyesi Analizi

MDA serbest radikallerin hücre zarında lipit peroksidasyonuna yol açması sonucunda meydana gelen bir son üründür ve oldukça reaktiftir. MDA analizi ise, ortamdaki MDA seviyesini ölçmek amacıyla yapılan ve tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyon sonucunda ortamda oluşturduğu rengin 535 nm'de dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmesi prensbine göre yapıldı (Yoshioka, Kawada, Shimada ve Mori, 1979).

Analiz amacıyla cam tüplere 1250 µl TCA (%20'lik), 500µl TBA (%0,67'lik) ve 250 µl serum örnekleri aktarıldı. Tüplerin ağzı kapatılarak 30 dk süreyle 95°C'de kaynatıldı ve ardından soğumaya bırakıldı. Kapaklar açılarak n-butanol (2 ml) eklendi ve vortekslendi. Tüpler daha sonra 10 dk süreyle 3000 rpm'de santrifüj edildi ve üstteki tabaka küvetlere eklenerek havaya karşı 535 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar absorbans katsayısı ($E=1,56 \times 10^5 / M/cm$) ile çarpıldı ve nmol/mg protein olarak gösterildi.

Kan örneklerinde SOD atıvitesi ve MDA seviyesinin hesaplanmasında kullanılan serum total protein analizi ise, Biüret metoduna göre ticari test kiti (Archem Diagnostik, A2301) aracılığı ile spektrofotometrede 546 nm dalga boyunda ölçümü yapılarak gerçekleştirildi ve sonuçlar g/dl olarak alındı.

Araştırmanın oksidatif stres belirteçlerinin değerlendirilme aşaması veteriner farmakolog tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizi amacıyla verilerin değerlendirilmesi SPSS (Statistical Packag for Social Sciences-22) programı kullanıldı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Shapiro Wilk testi ile verilerin normal dağılıma uygunluğu değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen gruplar arası farklılık Kruskall Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, farkların önem kontrolü ise

post hoc Duncan testi ile yapıldı. Farkın hangi grup veya gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney *U* testi yapıldı. Grupların çalışma başlangıç ve sonundaki canlı ağırlıkları ile kan glukoz seviyelerinin istatistiksel değerlendirilmesinde Wilcoxon testinden yararlanıldı (Conover, 1999). Yapılan istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlardan $p < 0,05$ olan değerler önemli kabul edildi. Tüm veriler ortalama ve \pm standart hata olarak verildi.



4. BULGULAR

4.1. Canlı Ağırlık

Deneyssel gruplar canlı ağırlıklar yönünden istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, çalışma başlangıcında anlamlı bir fark saptanmazken, çalışma sonlandırıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu belirlendi (Tablo 6). Bu farkın K ile DİT-3 grubunda ($p=0,018$), K ile DİT-7 grubunda ($p=0,002$), D ile DİT-3 ($p=0,05$) ve D ile DİT-7 grubunda ($p=0,006$) olduğu görüldü (Tablo 7).

Tablo 6. Deneyssel gruptaki ratların çalışma başlangıcı ile çalışma sonlandırıldıktan sonraki ortalama canlı ağırlıkları.

Gruplar	Başlangıç canlı ağırlık (g)	Çalışma sonu canlı ağırlık (g)	p**
K	266,00±11,66	296,75±14,70 ^a	0,012
D	276,00±14,51	284,62±10,67 ^a	AD
Dİ-3	269,00±9,37	270,75±13,42 ^{a,b,c}	AD
DİT-3	268,50±10,84	252,25±9,68 ^{b,c}	0,017
Dİ-7	266,37±9,66	265,00±12,39 ^{a,b,c}	AD
DİT-7	266,75±10,06	242,87±8,57 ^c	0,012
p*	0,586	0,028	

*; Kruskal Wallis. **; Wilcoxon.K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.^{a, b, c}; Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 7. Çalışma sonlandırıldıktan sonra ratların canlı ağırlıklarına göre gruplar arası farkın testi.

Gruplar	p	Gruplar	p	Gruplar	p
K ve D	0,667	D ve Dİ-3	0,344	Dİ-3 ve Dİ-7	0,717
K ve Dİ-3	0,172	D ve DİT-3	0,050*	Dİ-3 ve DİT-7	0,061
K ve DİT-3	0,018*	D ve Dİ-7	0,194	DİT-3 ve Dİ-7	0,488
K ve Dİ-7	0,087	D ve DİT-7	0,006*	DİT-3 ve DİT-7	0,396
K ve DİT-7	0,002*	Dİ-3 ve DİT-3	0,293	Dİ-7 ve DİT-7	0,127

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * $p < 0,05$.

K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.

4.2. Kan Glukoz

Çalışma başlangıcında deneysel gruplara ait kan glukoz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen, çalışma sonunda kontrol grubuyla kıyaslandığında diyabet oluşturulan gruplarda kan glukoz değerlerinin anlamlı olarak ($p=0,001$) yüksek olduğu belirlendi (Tablo 8).

Tablo 8. Deneysel gruptaki ratların çalışma başlangıcı ile çalışma sonlandırıldıktan sonraki ortalama kan glukoz değerleri.

Gruplar	Başlangıç kan glukoz (mg/dl)	Streptozotosin uygulaması sonrası 72. saat kan glukoz (mg/dl)	Çalışma sonu kan glukoz (mg/dl)	p**
K	128,87±6,89	151,37±7,17	144,62±10,34 ^b	AD
D	140,87±6,22	486,87±26,41	464,62±22,22 ^a	0,012
Dİ-3	144,62±7,94	468,75±31,86	482,37±43,37 ^a	0,012
DİT-3	148,25±4,89	462,62±29,10	452,00±22,21 ^a	0,012
Dİ-7	132,37±4,21	407,25±29,47	514,50±19,90 ^a	0,012
DİT-7	147,37±6,71	520,75±20,13	532,37±29,01 ^a	0,012
p*	0,160	0,001	0,001	

*; Kruskal Wallis veya ANOVA. **; Wilcoxon (çalışma başlangıç ve bitiş kan glukoz değerleri karşılaştırılmıştır). K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.^{a,b}; Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Çalışma sonlandırıldıktan sonra gruplar arası farkın istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 9'daki gibi olduğu görüldü. Özellikle kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, DİT-3 grubu hariç (p=0,002), tüm diyabetik gruplarla olan fark p=0,000 olarak belirlendi.

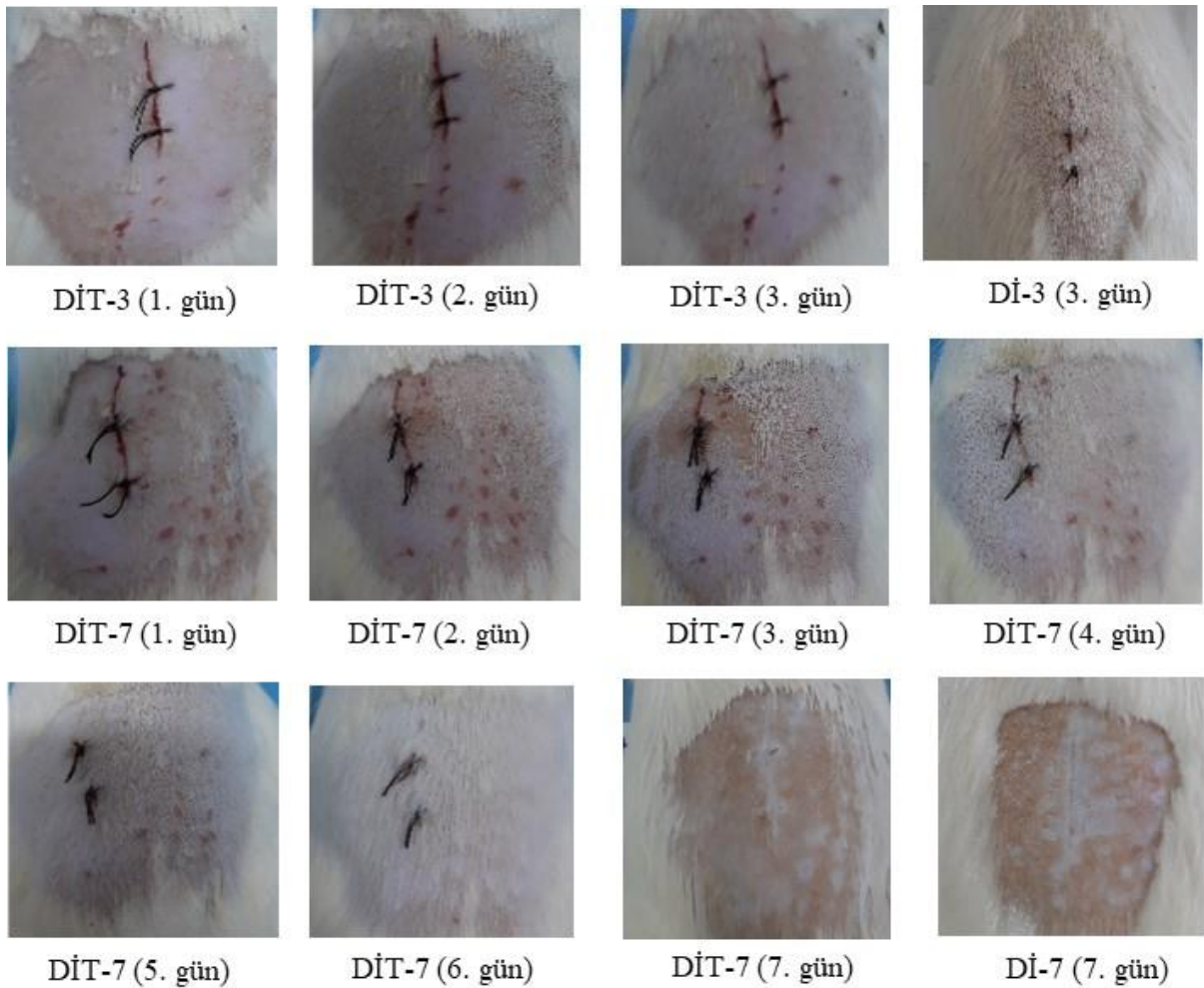
Tablo 9. Çalışma sonunda kan glukoz değerlerine göre gruplar arası farkın testi.

Gruplar	p	Gruplar	p	Gruplar	p
K ve D	0,000*	D ve Dİ-3	0,263	Dİ-3 ve Dİ-7	0,683
K ve Dİ-3	0,000*	D ve DİT-3	0,603	Dİ-3 ve DİT-7	0,193
K ve DİT-3	0,002*	D ve Dİ-7	0,130	DİT-3 ve Dİ-7	0,045*
K ve Dİ-7	0,000*	D ve DİT-7	0,018*	DİT-3 ve DİT-7	0,005*
K ve DİT-7	0,000*	Dİ-3 ve DİT-3	0,105	Dİ-7 ve DİT-7	0,368

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * p<0,05. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.

4.3. Makroskobik Bulgular

TENS uygulamasının zamana bağlı olarak deneysel grupların insizyon hattında meydana getirdiği değişim Resim 9’da gösterildiği gibidir. Burada özellikle DİT-3 grubunun 1-3. günleri ile Dİ-3 grubunun 3. gün ve DİT-7 grubunun 1-7. günleri ile Dİ-7 grubunun 7. günlerine ait makroskobik görüntüler karşılaştırılarak verilmiş olup, 7 günlük TENS uygulaması 3. günlük uygulamaya göre makroskobik iyileşme sürecini daha olumlu etkilediği görüldü.



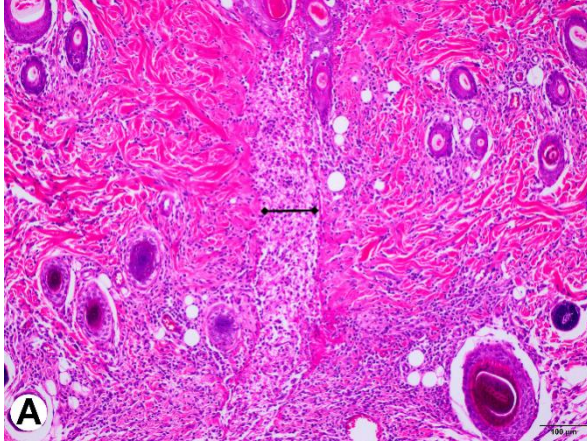
Resim 9. Deneysel gruplarda TENS uygulamasının yara iyileşmesinde zamana bağlı değişimi.

4.4. Mikroskopik Bulgular

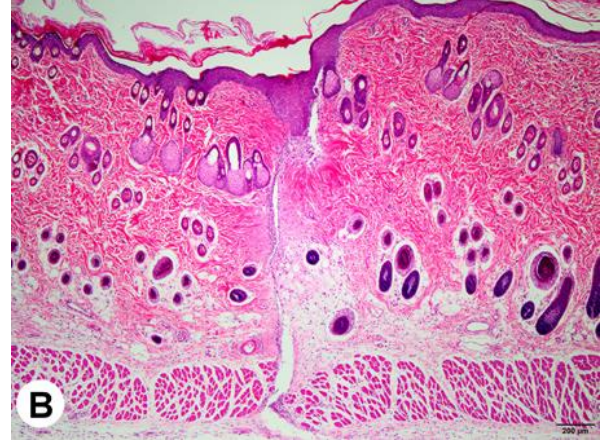
Mikroskopik bulgular kapsamında K ve D grupları karşılaştırıldığında, insizyon hattında D grubunda mast hücre sayısında anlamlı bir artış görüldü ($p=0,005$). Her iki grubun adventisyası değerlendirildiğinde ise, D grubunda makrofaj ($p=0,001$) ve fibroblast ($p=0,028$) sayılarında anlamlı bir azalmanın olduğu belirlendi.

Dİ-3 grubundaki ratların derilerinin histopatolojik incelemesinde tüm olgularda insizyon hattında dermis ve kas tabakasının bütünlüğünün bozulduğu ve epidermisin kalınlaştığı görüldü. İnsizyon sahasında fibrinden zengin ödem, nötrofil lökosit ve makrofaj (IHC Iba-1 pozitif) infiltrasyonlarından oluşan eksudasyon görüldü (Resim 10 ve 11). Dİ-3 grubundaki ratların ikisinde (1 ve 7 nolu rat) insizyon hattında epitelizasyonun gerçekleşmediği belirlendi. Bu alanların yüzeyinin çok sayıda nötrofil lökosit, yoğun fibrin ve doku artıklarından oluşan psödomembran ile örtüldüğü tespit edildi. İnsizyon oluşturulan bölgenin sınırında fibroblastlarda sayıca artış ve yeni damar oluşumları göze çarptı. Dermiste insizyon hattı komşuluğundaki dokuda yer alan damar ve ter bezlerinin çevresinde eozinofil lökosit ve mast hücrelerine rastlandı. Genel olarak; adventisyada gevşek, ödemli stroma içine gömülü halde konumlanmış fibroblastlarda artış ile çoğunlukla makrofajlardan oluşan (IHC Iba-1 pozitif), bunun yanı sıra nötrofil ve eozinofil lökositler ile mast hücrelerini de içeren hücre infiltrasyonu ve anjiyogenezis görüldü. Dİ-3 grubundaki bazı ratlarda (5 ve 7 nolu rat) bu lezyonların şiddetinin arttığı ve granülasyon dokusunun şekillendiği dikkati çekti.

DİT-3 grubundaki ratların derilerinin histopatolojik incelemesinde elde edilen verilere göre; insizyon hattı ele alındığında bu grupta Dİ-3 grubuna kıyasla damar sayısında belirgin azalma saptandı ($p=0,018$) (Tablo 10). Nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonunun şiddetinin azaldığı ancak bu durumun istatistikî açıdan önemli olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Mast hücresi, eozinofil lökosit ve fibroblast sayısı daha fazla bulunmuşken bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Adventisya değerlendirildiğinde, Dİ-3 grubuna kıyasla; TENS uygulamasının (DİT-3 grubu) makrofaj sayısını belirgin olarak azalttığı ve benzer şekilde yeni oluşan damar ve fibroblast sayısı ile nötrofil lökosit infiltrasyon şiddeti üzerine de azaltıcı etkisi olduğu görüldü (Tablo 11). Ancak istatistiksel olarak değerlendirildiğinde yalnızca makrofaj verileri Dİ-3 grubuyla karşılaştırıldığında DİT-3 grubunda anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,022$).

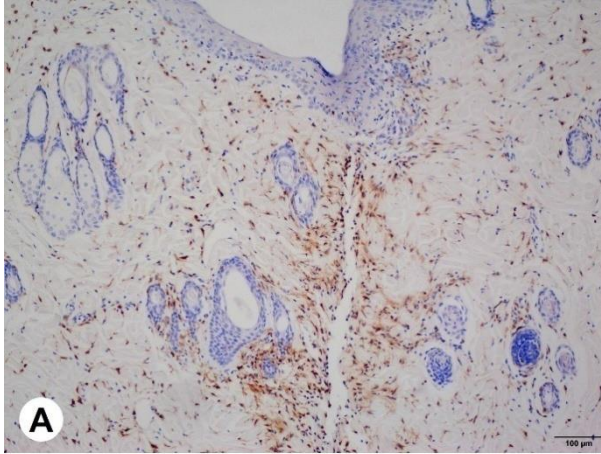


A. Dİ-3 grubu insizyon hattında fibrinden zengin ödem, nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonlarından oluşan eksudasyon (ucu sonlu bar), (5 nolu rat).

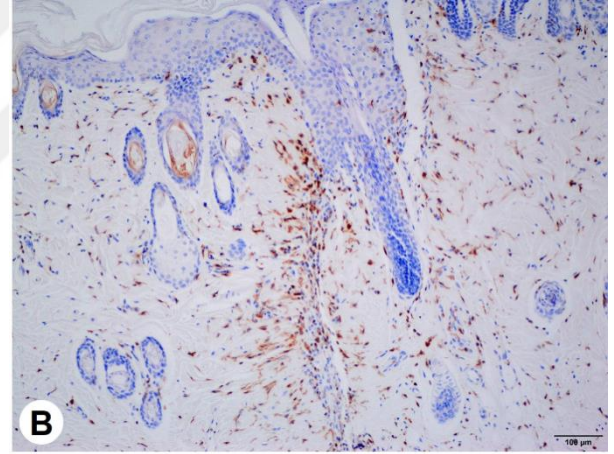


B. DİT-3 grubunda Dİ-3 grubuna kıyasla insizyon hattında yangısal hücre infiltrasyon şiddetindeki azalma (3 nolu rat).

Resim 10. TENS uygulamasının insizyon hattındaki histopatolojik değişiklikler üzerine etkisi (3. gün grupları), H.E.



A. Dİ-3 grubu insizyon hattında Iba-1 immunpozitif hücreler (3 nolu rat).



B. DİT-3 grubunda insizyon hattında TENS uygulaması ile sayıca azalan Iba-1 immunpozitif hücreler (3 nolu rat).

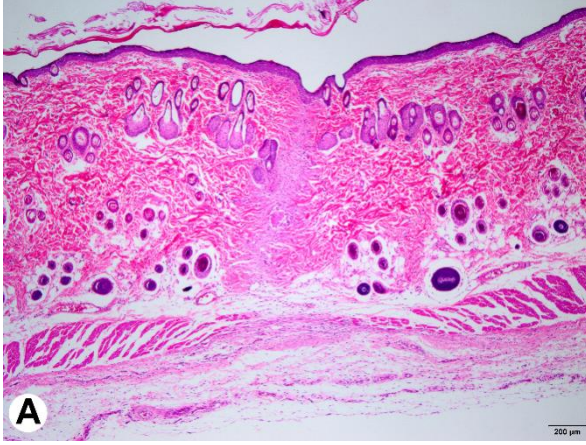
Resim 11. TENS uygulamasının insizyon hattındaki makrofaj infiltrasyonuna etkisi (3. gün grupları), İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot.

Histopatolojik olarak Dİ-7 grubundaki ratların derileri değerlendirildiğinde, 2 ve 6 numaralı ratların insizyon hattındaki reaksiyonların gerçekleştiği dokunun genişliği Dİ-3 grubundaki ratlara kıyasla daha fazlaydı (Resim 12 ve 13). Bu hattın sıkı olmayan, düzensiz dağılım/dizilim gösteren fibroblast proliferasyonu, anjiyogenezis ve yangısal hücrelerden oluşan granülasyon dokusuyla doldurulduğu görüldü. Geri kalan 6 rata ait deri örneğinde ise, insizyon bölgesinin genişliğinin Dİ-3 grubundaki ratlarla karşılaştırıldığında daha dar bir hat

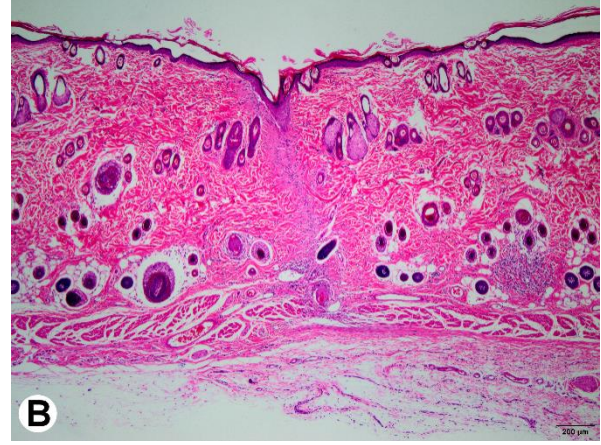
görüntüsü verdiği belirlendi. Bu bölgenin birbirine paralel dizilmiş ve iyi organize olan bağ doku hücreleri ve kollajen demetleriyle doldurulduğu görüldü. Ayrıca bağ doku hücrelerinin aralarında yeni damar oluşumlarına ve yangısal hücelere rastlanıldı.

Dİ-7 grubundaki ratların derilerinin histopatolojik incelmesinde elde edilen verilere göre; insizyon hattı ele alındığında bu grupta Dİ-3 grubuna kıyasla istatistiksel olarak fibroblast sayısında belirgin artış saptandı ($p=0,000$) (Tablo 11). Nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonunun şiddetinin azaldığı ancak bu durumun istatistiki açıdan sadece nötrofil lökosit bakımından anlamlı olduğu belirlendi ($p=0,005$). Anjiyogenezis ve eozinofil lökosit bakımından iki grup arasında farklılık bulunamamasına rağmen, Dİ-7 grubunda mast hücresi ($p=0,000$) ve fibroblast ($p=0,000$) artışının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Adventisya ele alındığında ise, Dİ-3 ve Dİ-7 grupları karşılaştırıldığında, Dİ-7 grubunda nötrofil makrofaj ($p=0,012$) ve lökosit ($p=0,013$) sayılarında istatistiksel olarak belirgin azalma saptandı. Fibroblast sayısında artış görülmesine rağmen, bu artışın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Her iki grup eozinofil lökosit bakımından karşılaştırıldığında farklılık bulunamadı, fakat istatistiksel olarak mast hücresinde artma ($p=0,035$) ve anjiyogeneziste azalma ($p=0,045$) olduğu görüldü.

Histopatolojik verilere göre Dİ-7 ve DİT-7 grupları istatistiksel yönden değerlendirildiğinde, TENS uygulanan grupta insizyon hattında nötrofil lökosit ve makrofaj sayılarının azaldığı görülürken, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Mast hücreleri ($p=0,001$) ile anjiyogenezis ($p=0,000$) ve fibroblast ($p=0,000$) sayılarında ise istatistiksel olarak belirgin bir şekilde azalma saptandı. Adventisya yönünden ise TENS uygulamasının makrofaj sayısını istatistiksel yönden belirgin olarak azalttığı belirlendi ($p=0,001$). Benzer şekilde yeni oluşan damarlaşma ve fibroblast sayısı ile nötrofil lökosit infiltrasyon şiddeti üzerine de azaltıcı etkisinin olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0,05$). Buna karşılık DİT-7 grubunda mast hücrelerinde ($p=0,016$) ve eozinofil lökositlerde ($p=0,033$) anlamlı bir artışın olduğu saptandı.

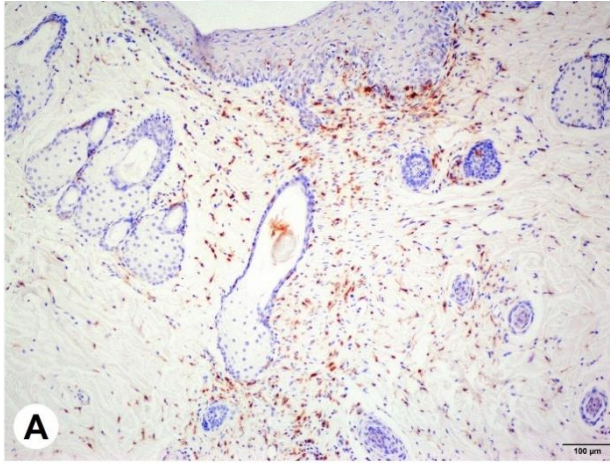


A. Dİ-7 grubu insizyon hattında yangısal hücreler, neovaskülarizasyon, fibroblast proliferasyonu ve kollajen (3 nolu rat).

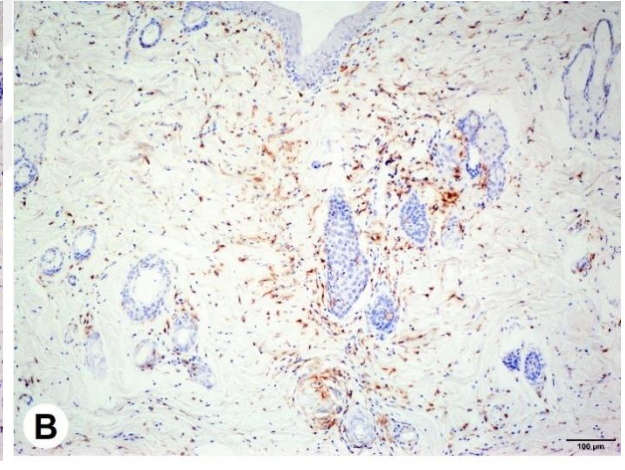


B. DiT-7 grubunda insizyon hattında yangısal infiltrasyon, anjiyogenezis ve fibroblast aktivasyonunda belirgin azalma (4 nolu rat).

Resim 12. TENS uygulamasının insizyon hattındaki histopatolojik değişiklikler üzerine etkisi (7. gün grupları), H.E.



A. Dİ-7 grubu insizyon hattında Iba-1 immunpozitif hücreler (6 nolu rat).



B. DiT-7 grubunda insizyon hattında TENS uygulaması ile sayıca azalan Iba-1 immunpozitif hücreler (6 nolu rat).

Resim 13. TENS uygulamasının insizyon hattındaki makrofaj infiltrasyonuna etkisi (7. gün grupları), İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot.

Tablo 10.Deri dokusu insizyon hattına ait histopatolojik bulgular.

Gruplar	Parametreler					
	Mast	Makrofaj	Anjiyogenezis	Nötrofil	Fibroblast	Eozinofil
K	3,50±0,42 ^d	15,87±1,73 ^c	3,50±0,32 ^c	0,00±0,00 ^c	23,00±0,56 ^b	0,20±0,05
D	6,87±0,44 ^c	6,25±1,23 ^c	3,00±0,26 ^c	0,00±0,00 ^c	25,00±0,73 ^b	0,17±0,04
Dİ-3	8,20±0,89 ^{b,c}	74,81±8,85 ^a	7,82±0,22 ^a	1,62±0,26 ^a	12,87±1,94 ^c	0,11±0,04
DİT-3	8,96±0,40 ^b	58,91±5,91 ^{a,b}	6,67±0,43 ^b	1,37±0,18 ^a	13,00±0,62 ^c	0,23±0,06
Dİ-7	14,85±0,83 ^a	55,11±1,82 ^{a,b}	6,88±0,43 ^{a,b}	0,75±0,25 ^b	42,75±4,01 ^a	0,15±0,06
DİT-7	10,02±1,24 ^b	42,55±9,64 ^b	3,36±0,55 ^c	0,37±0,18 ^{b,c}	20,87±1,95 ^b	0,15±0,04
p*	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,672

*; Kruskall Wallis veya ANOVA. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7. ^{a, b, c, d};Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 11. Deri dokusu insizyon hattına ait histopatolojik bulgulara göre gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	Parametreler					
	Mast	Makrofaj	Anjiyogenezis	Nötrofil	Fibroblast	Eozinofil
K ve D	0,005*	0,054	0,384	1,000	0,075	0,801
K ve Dİ-3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,273
K ve DİT-3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,709
K ve Dİ-7	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,000*	0,441
K ve DİT-7	0,000*	0,000*	0,737	0,075	0,510	0,591
D ve Dİ-3	0,079	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,397
D ve DİT-3	0,002*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,533
D ve Dİ-7	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,001*	0,603
D ve DİT-7	0,002*	0,000*	0,591	0,075	0,017*	0,774
Dİ-3 ve DİT-3	0,135	0,167	0,018*	0,639	0,840	0,145
Dİ-3 ve Dİ-7	0,000*	0,066	0,105	0,005*	0,000*	0,741
Dİ-3 ve DİT-7	0,127	0,008*	0,000*	0,000*	0,000*	0,573
DİT-3 ve Dİ-7	0,001*	0,631	0,431	0,015*	0,000*	0,255
DİT-3 ve DİT-7	0,974	0,182	0,000*	0,000*	0,000*	0,364
Dİ-7 ve DİT-7	0,001*	0,388	0,000*	0,124	0,000*	0,815

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * $p < 0,05$. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.

Tablo 12.Deri dokusu adventisyasına ait histopatolojik bulgular.

Gruplar	Parametreler					
	Mast	Makrofaj	Anjiyogenezis	Nötrofil	Fibroblast	Eozinofil
K	4,62±0,37 ^c	17,00±0,70 ^d	4,00±0,32 ^d	0,00±0,00 ^d	22,00±0,59 ^{a,b}	0,30±0,04 ^{d,c}
D	5,12±0,44 ^{b,c}	6,75±1,14 ^e	3,75±0,45 ^d	0,00±0,00 ^d	18,00±0,70 ^c	0,22±0,04 ^d
Dİ-3	5,00±0,36 ^c	99,18±12,10 ^a	15,37±1,40 ^a	1,50±0,18 ^a	27,62±5,10 ^{b,c}	0,62±0,15 ^{b,c}
DİT-3	4,98±0,14 ^{b,c}	62,57±17,11 ^b	11,95±1,95 ^{a,b}	1,25±0,16 ^{a,b}	17,37±1,60 ^c	0,66±0,15 ^{b,c}
Dİ-7	7,13±0,88 ^b	46,65±1,87 ^{b,c}	10,73±2,21 ^b	1,00±0,00 ^{b,c}	32,00±2,95 ^{a,b}	0,60±0,08 ^b
DİT-7	10,70±1,18 ^a	25,70±7,23 ^d	7,01±0,61 ^{b,c}	0,87±0,12 ^c	27,37±5,04 ^{b,c}	1,25±0,21 ^a
p*	0,001	0,001	0,001	0,001	0,014	0,001

*; Kruskall Wallis veya ANOVA. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.^{a, b, c, d}; Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

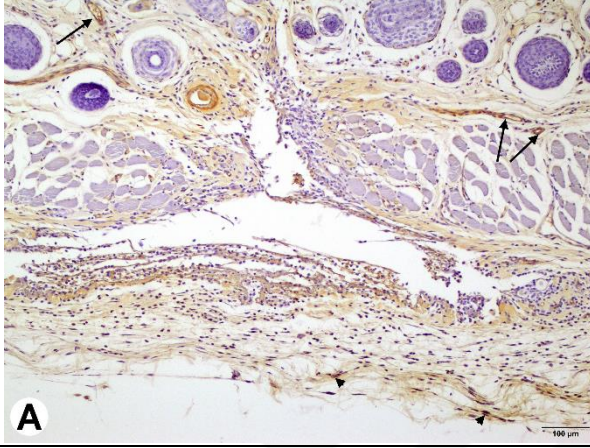
Tablo 13. Deri dokusu adventisiyasına ait histopatolojik bulgulara göre gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	Parametreler					
	Mast	Makrofaj	Anjiyogenezis	Nötrofil	Fibroblast	Eozinofil
K ve D	0,279	0,001*	0,811	1,000	0,028*	0,426
K ve Dİ-3	0,595	0,000*	0,000*	0,000*	0,695	0,078
K ve DİT-3	0,368	0,000*	0,000*	0,000*	0,030*	0,076
K ve Dİ-7	0,010*	0,000*	0,000*	0,000*	0,227	0,047*
K ve DİT-7	0,000*	0,694	0,001*	0,000*	0,540	0,000*
D ve Dİ-3	0,579	0,000*	0,000*	0,000*	0,067	0,012*
D ve DİT-3	0,853	0,000*	0,000*	0,000*	0,976	0,012*
D ve Dİ-7	0,113	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,007*
D ve DİT-7	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,104	0,000*
Dİ-3 ve DİT-3	0,711	0,022*	0,089	0,203	0,071	0,991
Dİ-3 ve Dİ-7	0,035*	0,012*	0,045*	0,013*	0,113	0,816
Dİ-3 ve DİT-7	0,000*	0,000*	0,001*	0,001*	0,825	0,019
DİT-3 ve Dİ-7	0,078	0,798	0,743	0,203	0,001*	0,824
DİT-3 ve DİT-7	0,000*	0,000*	0,084	0,036*	0,111	0,020*
Dİ-7 ve DİT-7	0,016*	0,001*	0,157	0,386	0,072	0,033*

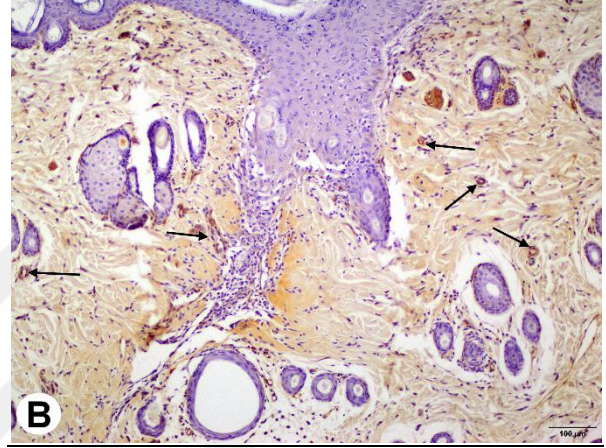
Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * $p < 0,05$. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7.

4.4.1. İmmunohistokimya Bulguları

İmmunopozitif reaksiyonlar her iki immün belirteç (VEGF ve FGF) için de endotel, fibroblast ve makrofaj hücre sitoplazmalarında görüldü (Resim 14-17). İmmunohistokimyasal boyamalar sonucunda incelenen preparatlardan elde edilen veriler Tablo 14'te gösterilmiş olup, insizyon hattı ve adventisyada gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p=0,001$).

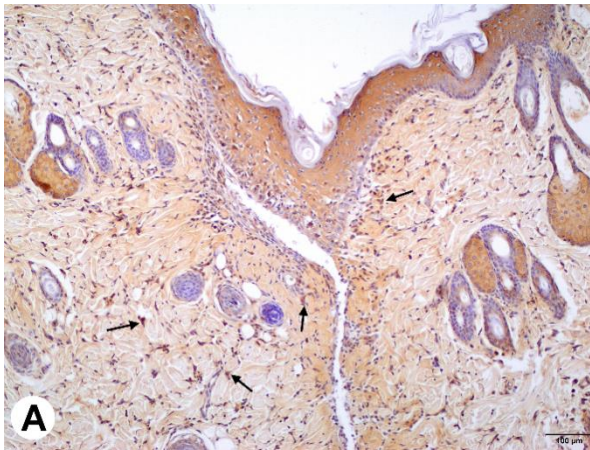


A. Dİ-3 grubu insizyon hattındaki çok sayıda damarın endotel hücrelerinde (oklar) ve adventisyadaki bağ doku hücrelerinde (ok başları) şiddetli FGF immunpozitiflik, (3 nolu rat).

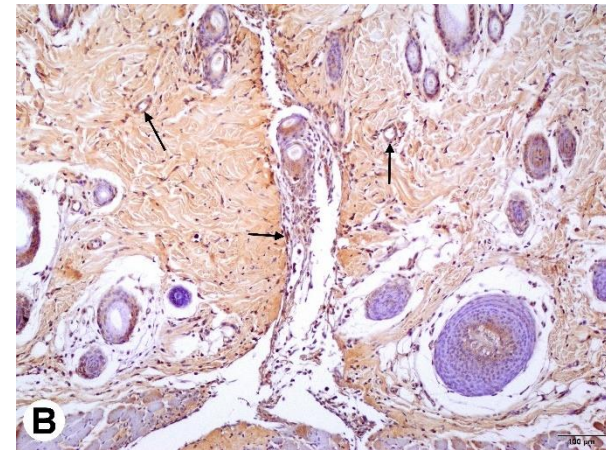


B. DİT-3 grubunda insizyon hattında TENS uygulaması ile FGF immunpozitif hücrelerde sayıca azalma, oklar (2 nolu rat).

Resim 14. TENS uygulamasının insizyon hattındaki FGF immün reaktivitesi (3. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot.

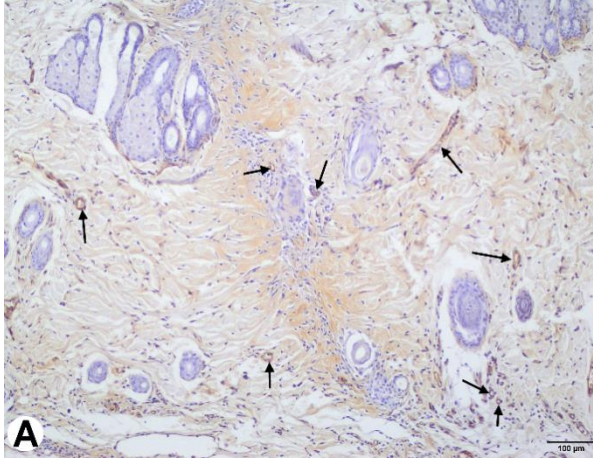


A. Dİ-3 grubu insizyon hattındaki VEGF immunpozitif hücreler (makrofaj, fibroblast ve endotel hücreleri) oklar (7 nolu rat).

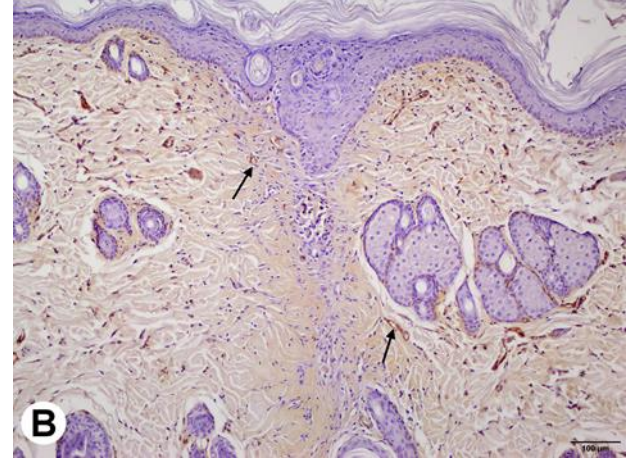


B. DİT-3 grubunda insizyon hattında TENS uygulaması ile VEGF immunpozitif hücrelerde sayıca azalma, oklar (7 nolu rat).

Resim 15. TENS uygulamasının insizyon hattındaki VEGF immün reaktivitesi (3. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot.

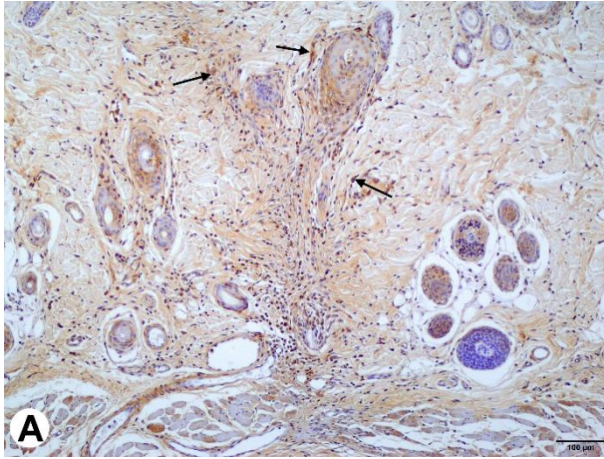


A. Dİ-7 grubu insizyon hattındaki endotel hücrelerinde (oklar) FGF immunpozitiflik, oklar (6 nolu rat).

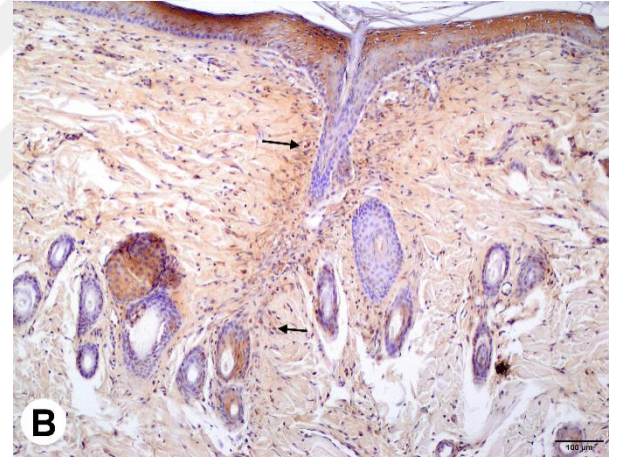


B. DİT-7 grubunda insizyon hattında TENS uygulaması ile FGF immunpozitif hücrelerde sayıca azalma, oklar (3 nolu rat).

Resim 16. TENS uygulamasının insizyon hattındaki FGF immunreaktivitesi (7. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot.



A. Dİ-7 grubu insizyon hattında VEGF immunpozitif hücreler, oklar (4 nolu rat).



B. DİT-7 grubunda insizyon hattında TENS uygulaması ile VEGF + hücrelerde sayıca azalma, oklar (8 nolu rat).

Resim 17. TENS uygulamasının insizyon hattındaki VEGF immunreaktivitesi (7. gün grupları) üzerine etkisi, İmmunohistokimyasal boyama, ABC metot.

Tablo 14. İmmun belirteçlerin (VEGF ve FGF) insizyon hattı ve adventisyadaki sonuçları.

Gruplar	Parametreler			
	VEGF		FGF	
	İnsizyon	Adventisya	İnsizyon	Adventisya
K (yara yok)	2,00±0,00 ^c	2,00±0,00 ^d	2,00±0,00 ^c	2,00±0,00 ^d
D (yara yok)	2,00±0,00 ^c	2,00±0,00 ^d	3,00±0,00 ^b	2,00±0,00 ^d
Dİ-3	5,25±0,36 ^a	8,25±0,49 ^a	5,00±0,37 ^a	7,87±0,54 ^a
DİT-3	3,75±0,45 ^b	7,75±0,52 ^{a,b}	3,37±0,32 ^b	6,87±0,47 ^{a,b}
Dİ-7	4,25±0,59 ^{a,b}	6,87±0,47 ^b	4,00±0,53 ^b	6,37±0,37 ^b
DİT-7	2,00±0,00 ^c	4,50±0,62 ^c	2,00±0,00 ^c	4,25±0,59 ^c
p*	0,001	0,001	0,001	0,001

*; Kruskal Wallis veya ANOVA. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7. VEGF =Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü; FGF= Fibroblast Büyüme Faktörü. ^{a, b, c, d}; farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Bu sonuçlara göre, Dİ-3 grubu ile karşılaştırıldığında, TENS uygulamasının hem insizyon hattı hem de adventisyada VEGF ve FGF'yi azalttığı belirlendi ve insizyon hattındaki bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (VEGF için p=0,015 ve FGF için p=0,004). Dİ-7 grubu ile karşılaştırıldığında ise, TENS uygulamasının hem insizyon hattı (VEGF ve FGF için p=0,000) hem de adventisyada (VEGF ve FGF için p=0,001) her iki immün belirteci istatistiksel olarak belirgin bir şekilde azalttığı görüldü. Kontrol grubu ile DİT-7 grubundaki bu azalma göz önüne alındığında, insizyon hattı açısından değerlendirildiğinde kontrol grubu ile arasında istatistiksel fark olmadığı (p>0,05), ancak adventisyada anlamlı bir fark olduğu (VEGF için p=0,001 ve FGF için p=0,000) saptandı. Her iki büyüme faktörü açısından K ve DİT-3 grubu karşılaştırıldığında ise insizyon hattı ve adventisyada p=0,000 düzeyinde istatistiksel fark belirlendi (Tablo 15).

Tablo 15. İmmun belirteçlerin (VEGF ve FGF) insizyon hattı ve adventisyaya göre gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	(VEGF)		(FGF)	
	İnsizyon	Adventisya	İnsizyon	Adventisya
	p			
K ve D	1,000	1,000	0,001*	1,000
K ve Dİ-3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K ve DİT-3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K ve Dİ-7	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K ve DİT-7	1,000	0,001*	1,000	0,000*
D ve Dİ-3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
D ve DİT-3	0,000*	0,000*	0,426	0,000*
D ve Dİ-7	0,000*	0,000*	0,091	0,000*
D ve DİT-7	1,000	0,001*	0,001*	0,000*
Dİ-3 ve DİT-3	0,015*	0,395	0,004*	0,189
Dİ-3 ve Dİ-7	0,065	0,042*	0,036*	0,026*
Dİ-3 ve DİT-7	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
DİT-3 ve Dİ-7	0,524	0,222	0,359	0,340
DİT-3 ve DİT-7	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Dİ-7 ve DİT-7	0,000*	0,001*	0,000*	0,001*

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * p<0,05.

K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7, VEGF =Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü; FGF= Fibroblast Büyüme Faktörü

4.5. Kan Dokusu Oksidatif Stres Parametre Bulguları

Bir antioksidan enzim olan serum SOD aktivitesi yönünden gruplar karşılaştırıldığında, K grubunda enzim aktivitesinin anlamlı olarak en yüksek olduğu (Tablo 16), K grubu ile D ve Dİ-3 grupları karşılaştırıldığında sırasıyla p=0,020 ve p=0,002 düzeyinde anlamlı fark olduğu

belirlendi (Tablo 17). Gruplar içerisinde enzim aktivitesi en düşük olan grubun Dİ-3 grubunun olduğu ve bunun D grubu hariç, diğer deneysel gruplardan istatistiksel olarak farklı olduğu bulundu. D grubu SOD aktivitesinin DİT-3 ve DİT-7 grubundan daha düşük olmasına rağmen, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0,05$).

Deneysel gruplar enzimatik olmayan bir antioksidan olan tam kan GSH yönünden değerlendirildiğinde ise, gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark görülemedi ($p=0,062$). Ancak K ile Dİ-3 ve DİT-3 grupları kıyaslandığında, GSH seviyesinin K grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu, K ile Dİ-3 ($p=0,042$) ve K ile DİT-3 ($p=0,015$) grupları arasında fark olduğu belirlendi. Bununla birlikte GSH seviyesinin DİT-3 grubunda anlamlı olarak düşük olduğu, bu grupla Dİ-7 ($p=0,028$) ve DİT-7 ($p=0,020$) grupları karşılaştırıldığında istatistiksel fark olduğu görüldü.

Oksidan bir parametre olan serum MDA düzeyi K grubu ve D grubu ile karşılaştırıldığında diyabet grubunda anlamlı yüksek olduğu ($p=0,012$), TENS uygulanan gruplar olan DİT-3 ve DİT-7 gruplarında ise TENS uygulanmayan Dİ-3 ve Dİ-7 gruplarına göre düşük olduğu belirlendi. Dİ-3 ve DİT-3 ile Dİ-7 ve DİT-7 grupları arasındaki istatistiksel farkın sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,006$ anlamlılık düzeyinde olduğu saptandı.

Tablo 16. Deneysel gruplara ait ratların kan antioksidan ve oksidan parametre değerleri.

Gruplar	Parametreler		
	SOD (U/mg protein)	GSH ($\mu\text{M/g Hb}$)	MDA (nmol/mg protein)
K	1,65±0,22 ^a	0,22±0,00	6,87±0,32 ^{b,c}
D	1,02±0,09 ^{b,c}	0,21±0,00	10,47±0,95 ^a
Dİ-3	0,91±0,13 ^c	0,19±0,01	8,79±0,89 ^{a,b}
DİT-3	1,42±0,17 ^{a,b}	0,19±0,00	5,54±0,42 ^c
Dİ-7	1,35±0,08 ^{a,b}	0,22±0,00	9,28±1,04 ^a
DİT-7	1,48±0,15 ^{a,b}	0,24±0,02	6,28±0,57 ^c
p*	0,022	0,062	0,001

*; Kruskal Wallis veya ANOVA. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7. SOD; süperoksit dismutaz, GSH; glutatyon, MDA; malondialdehid.^{a, b, c}; Farklı harfler aynı sütunda istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 17. Deneysel gruplara ait ratların kan antioksidan ve oksidan parametredeğerlerine göre gruplar arası farkın testi.

Karşılaştırılan Gruplar	Parametreler		
	SOD (U/mg protein)	GSH (μ M/g Hb)	MDA (nmol/mg protein)
	p		
K ve D	0,020*	0,238	0,012*
K ve Dİ-3	0,002*	0,042*	0,125
K ve DİT-3	0,466	0,015*	0,064
K ve Dİ-7	0,454	0,797	0,046*
K ve DİT-7	0,650	0,909	0,400
D ve Dİ-3	0,409	0,373	0,299
D ve DİT-3	0,099	0,187	0,000*
D ve Dİ-7	0,102	0,353	0,579
D ve DİT-7	0,056	0,285	0,001*
Dİ-3 ve DİT-3	0,015*	0,662	0,001*
Dİ-3 ve Dİ-7	0,016*	0,073	0,625
Dİ-3 ve DİT-7	0,008*	0,054	0,020*
DİT-3 ve Dİ-7	0,984	0,028*	0,000*
DİT-3 ve DİT-7	0,782	0,020*	0,299
Dİ-7 ve DİT-7	0,767	0,886	0,006*

Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi. Gruplar arası istatistiksel farkın önemliliği; * $p < 0,05$. K; Kontrol, D; Diyabet, Dİ-3; Diyabet+İnsizyon-3, DİT-3; Diyabet+İnsizyon+TENS-3, Dİ-7; Diyabet+İnsizyon-7, DİT-7; Diyabet+İnsizyon+TENS-7. SOD; süperoksit dismutaz, GSH; glutatyon, MDA; malondialdehid.

5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi doku hasarına karşı verilen bir dizi hücrel cevaptır ve birçok hücre, büyüme faktörü ve sitokinler bu cevapta etkilidir. Çağımızın önemli kronik hastalıklarından olan DM ve buna bağlı komplikasyonlar nedeni ile mortalite ve morbidite yüksek olup, tedavi maliyetleri de oldukça yüksektir (International Diabetes Federation, 2019). DM ile ilişkili komplikasyonlardan biri de yara iyileşmesinde gecikme ve yaranın kronikleşmesidir (Türkiye Diyabet Vakfı, 2021).

Bu araştırmada, DM hastalarında cerrahi sonrası klinikte karşımıza sıklıkla çıkan yara iyileşmesinde gecikme ve yara ile ilişkili komplikasyonları önlemeye yönelik TENS uygulamasının yara iyileşmesindeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Diyabetle ilişkili hiperglisemi, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar ile ilişkili hücre proliferasyonunda bozulma, kollajen yapımında yetersizlik, fibroblast oluşumu ve büyüme faktörlerinin azalması, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu, kemotaksis ve fagositozun azalması sonucunda yara iyileşmesi etkilenmekte ayrıca serbest oksijen radikallerinin artması ile de oksidatif stres meydana gelmektedir (Beyene ve diğerleri, 2020; Guo ve DiPietro, 2010). Bu nedenle yara iyileşmesinde önemli olan ve literatür incelemesi sonrasında diyabetle birlikte sayı ve etkinliğini kaybeden inflamatuvar hücreler, kan damarları sayısı ve anjiyogenezis histopatolojik olarak değerlendirildi. VEGF ve FGF seviyelerinin belirlenmesi için ise immunohistokimyasal analizler gerçekleştirildi.

Günümüzde sağlık merkezlerinde yara bakım üniteleri kurulmakta, bu merkezlerde yaraların önlenmesi ve oluşması durumunda da iyileşmeyi hızlandıran müdahalelerde bulunmaktadır. Bilim dünyası daha etkin, ekonomik ve kullanımı kolay uygulamaların arayışı içerisinde. TENS uygulaması da son yıllarda deneysel çalışma modellerinde kullanılmaya başlanmış olup, kullanımı kolay, ucuz ve maliyet düşük uygulamalardan birisidir. Bu uygulamanın etkinliğini değerlendirmek için *in vitro* ve *in vivo* modeller kullanılmıştır. Hücre modellemesi ile elektriksel stimülasyonun inflamatuvar hücreleri ve büyüme faktörlerini aktive ettiği yara iyileşmesinde olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir (Hoare ve diğerleri, 2016; Zhao ve diğerleri, 2004). *In vivo* modellerde insan dokusu ve hayvan dokusunda yara iyileşmesi değerlendirilmiştir. İnsan dokusunda iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Cramp ve diğerleri, 2000; A. Demir, Kelahmetoğlu ve Kemal Keleş, 2010; Garcíá-Pérez ve diğerleri, 2018; Ogrin ve diğerleri,

2005; Sebastian ve diğeri, 2015; Ud-Din ve diğeri, 2015; Wikström ve diğeri, 1999). Literatür incelendiğinde TENS uygulamasının diyabetik hastaların yaralarında etkisinin değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamış olup, sadece venöz ülserli hastalarda 100 Hz TENS uygulamasının ağrı üzerine etkisini değerlendiren çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda da hastalarda ağrı düzeyine olumlu etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (Pranata, Nugroho ve Sujianto, 2016). Hayvan dokusunda iyileşme üzerine TENS uygulamasının değerlendirildiği çalışmaların sonucunda uygulamanın etkin olduğu ve yara iyileşmesini desteklediği bildirilmiştir (Asadi ve diğeri, 2011, 2013; Atalay ve diğeri, 2003; Borba, Hochman, Liebano, Enokihara ve Ferreira, 2011; Cramp ve diğeri, 2000; H. Demir ve diğeri, 2004; Gürgen ve diğeri, 2014; Khalil ve Merhi, 2000; Koca Kutlu ve diğeri, 2013; Liebano ve diğeri, 2008; Machado ve diğeri, 2016; Yu ve diğeri, 2015). Ancak bu çalışmalar incelendiğinde, diyabet modelindeki etkinliğinin değerlendirilmesi ile ilgili herhangi bir veriye ulaşılamamıştır. Bu nedenle çalışmamızda TENS uygulamasının diyabet modelindeki yara iyileşmesi üzerine etkinliği değerlendirildi.

Bu amaçla araştırmamızın başlangıcında kontrol grubu hariç diğer gruplarda diyabet oluşturuldu ve çalışmanın sonunda diyabetin devamlılığı kontrol edildi. Çalışmanın başlangıcında tüm ratların kan glukoz düzeyi 200 mg/dl altında olduğu için non diyabetik olarak kabul edildiler. Kontrol grubu hariç diğer ratlara diyabet oluşturmak amacıyla STZ enjeksiyonu gerçekleştirildi ve uygulama sonrası kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'nin üzerinde olan ratlar diyabetik kabul edildi (Çiçek ve diğeri, 2018; Erbaş, 2015). Çalışma sonlandırılırken tekrar kan glukoz değeri ölçüldü ve kontrol grubunun 200 mg/dl altında, diğer grupların ise 300 mg/dl'nin üzerinde bulundu, böylece diyabetin çalışma süresince devam ettiği belirlendi.

Çalışma başlangıcında ratların canlı ağırlıkları alındı ve gruplar arasında canlı ağırlığı bakımından farklılık bulunmadı. Çalışmanın sonunda kontrol grubunun canlı ağırlığında anlamlı artış olduğu belirlendi. Bu da doğaları gereği zamanla ilişkili beslenme, büyüme-gelişme davranışı olarak değerlendirildi. Ratlarda diyabet oluşturulduktan sonra canlı ağırlık kaybı gelişmezken, TENS uygulanan grupta çalışma sonunda anlamlı kilo kaybı tespit edildi. Bu durumun olası nedeni, müdahale grubundaki ratların her gün anesteziyeye alınması ve TENS uygulanması ile kasların enerji harcanması ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

5.1. İnflamatuvar Hücre Yoğunluğu

İnflamatuvar hücrelerin (nötrofiller, mast hücreleri, makrofajlar, keratinositler, endotelial hücreler ve plateletler) yaralanma bölgesine infiltrasyonu yara iyileşmesi açısından oldukça önemlidir (Singh ve diğerleri, 2017; Yussuf ve diğerleri, 2012). Yara iyileşmesinin doğal seyrinde ilk 3 gün inflamatuvar hücre artışı olmaktadır. Diyabetin yara iyileşmesine yönelik olumsuz etkilerinden biri de inflamatuvar hücre göçünün yavaş olması ve inflamatuvar hücrelerin etkisiz fonksiyonu sonucunda yara iyileşmesinde meydana gelen bozulmadır (Ellis ve diğerleri, 2018). Diyabet ilişkili inflamatuvar hücrelerinin yetersiz fonksiyonu bölgede sitokin salınımının devam etmesi yara iyileşmesi için geciktirici bir unsur olmakta, yangı hücrelerinin aktif görevlerinin devam etmesi diğer proliferatif evreye geçişi zorlaştırmaktadır. İnflamatuvar hücrelerin kemotaksisinde ve büyüme faktörleri ile sitokinlerin ekspresyonunu elektriksel stümulasyonun pozitif yönde etkilediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Koca Kutlu ve diğerleri, 2013). Araştırmamızda insizyonel yara oluşturulması sonrası 3. günde mast hücresi, makrofaj ve nötrofil sayılarında kontrol grubuna göre insizyon oluşturulan gruplarda anlamlı artışın olduğu , inflamasyon sürecinin beklenen şekilde geliştiği görülmüştür.

5.1.1. Nötrofil Hücre Yoğunluğu

Nötrofiller kemotaktik ajanların etkisi ile yaralanma bölgesine 24-36 saatte çekilirler. Yaralanma sonrası 2. günde yerini makrofajlara bırakırlar. Hücre kalıntıları ve apoptotik cisimler de son olarak makrofajlar tarafından fagosite edilerek ortamdan uzaklaştırılırlar. Aşırı nötrofil aktivasyonu ya da apoptozisinin engellenmesi durumunda inflamasyon süresi uzar ve kronik yara şekillenir (Tekin, 2015). İnflamasyonun erken fazında nötrofiller baskın hücrelerken, proliferatif faza geçerken artan makrofajlar ve T lenfositler, nötrofillerin sayılarını hızla düşürmektedir (Yazar ve Karaca, 2016). Çalışmamızda insizyon sonrası hem Dİ-3, hem de DİT- 3 grubunda nötrofil sayılarında belirgin artış saptanırken, 7. günde Dİ-7 ve DİT-7 grubunda düşme tespit edildi. TENS uygulanan grup ile uygulanmayan diyabet grupları arasında nötrofil infiltrasyonu bakımından anlamlı fark bulunmamasına rağmen DİT- 3 grubunda Dİ-3 grubuna kıyasla histopatolojik incelemede TENS uygulamasının nötrofil infiltrasyon şiddeti üzerine azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca TENS uygulamasının

7.günün de DİT-7 grubunda Dİ-7 grubuna kıyasla nötrofil sayılarında belirgin azalma olduğu görüldü. Bu sonuçlar doğrultusunda, TENS uygulaması inflamatuvar fazın şiddetini azaltarak yara iyileşmesine olumlu katkı sağlamaktadır.

Çalışmamız ile benzer şekilde TENS uygulaması ile yaralanmadan sonraki 5. günde proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, TNF α) ekspresyonunda azalma olduğu ve TENS uygulamasının inflamatuvar fazı kısalttığı bildirilmiştir (Gürgen ve diğerleri, 2014). Bu sitokinler makrofaj ve nötrofiller tarafından eksprese edilirler ve yara iyileşmesinde birincil proinflamatuvar sitokinler olarak görev yaparlar. Proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun azalması, onu eksprese eden hücrelerin inflamasyon görevinin tamamlandığının ve iyileşmenin diğer aşamasına geçtiğinin göstergesidir. Araştırmamızda proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu sağlayan makrofaj ve nötrofil sayıları değerlendirildiğinde yaralanma ile birlikte hem Dİ-3 hem de DİT-3 grubunda 3. günde nötrofiller ve makrofajlarda artış olduğu, ancak bir diğer çalışma ile benzer şekilde TENS uygulanan DİT-3 grubunda yangı hücrelerinin sayısının daha az olması ile inflamatuvar fazı Dİ-3 grubuna kıyasla kısalttığı sonucuna varılmıştır (Gürgen ve diğerleri, 2014).

Çalışmanın 7. gününde nötrofil lökosit sayısının Dİ-7 grubunda DİT-7 grubuna kıyasla anlamlı yüksek olması yangı sürecinin proliferasyon aşamasına geçişi engelleyerek yangı sürecinin uzadığını göstermektedir. Çalışmanın 7.günün de, diğer gruplara göre TENS uygulanan grupta nötrofil sayılarındaki anlamlı düşüş olması ve sağlıklı kontrol grubu ile benzer sonuçlar çıkması ile, TENS uygulamasının inflamatuvar süreci kısaltarak iyileşme sürecine katkıda bulunduğunu göstermiştir.

5.1.2. Mast Hücre Yoğunluğu

Mast hücreleri dermiste bulunur ve yaralanmanın erken dönemlerinde iyileşmede etkili hücrelerden biridir. Yaralanma ile birlikte proinflamatuvar ve immünomodüler aracılının salınımını gerçekleştirirler (Komi ve diğerleri, 2020). Yaralanmadan sonraki erken inflamatuvar fazda önemli role sahip olan mast hücrelerin inflamatuvar fazın sonlanması ile sayıları giderek azalır. Mast hücre sayısı üzerine elektriksel stimülasyonun etkinliğinin değerlendirdiği çalışmalarda, uygulamanın mast hücre sayısını azalttığı ve inflamatuvar fazı kısalttığı bildirilmiştir (Asadi ve diğerleri, 2013; Demir ve diğerleri, 2004). Duyusal ve motor TENS uygulamasının yaralanmanın 3. gününde mast hücre sayısında artışa ve 7. gününde ise

azalmaya neden olduğu ifade edilmektedir (Asadi ve diğerleri, 2013). Yine başka bir çalışmada elektriksel stimülasyonun yaralanmanın 4. gününde mast hücre sayısında anlamlı azalmaya yol açtığı ve uygulamanın inflamatuvar süreci kısalttığı bildirilmiştir (Demir ve diğerleri, 2004). Bu çalışmalara benzer şekilde çalışmamızın 3. gününde TENS uygulanan DİT-3 grubunda anlamlı artış görülmemesine karşılık, 7. günde TENS uygulanan DİT-7 grubunda mast hücre sayısını anlamlı olarak azaldığı görüldü. Uygulama süresine bağlı olarak TENS'in mast hücre sayısı üzerindeki etkileri literatür ile uyumlu olup, yaranın inflamatuvar fazınının kısalmasına neden olduğu sonucuna ulaşabilir.

Duyusal elektriksel stimülasyon uygulamasının yaralanma sonrası erken aşamada inflamatuvar süreci azalttığı ve anjiyogenik faktörlerin salınımı arttırdığı bildirilmiştir (Asadi ve diğerleri, 2013). Araştırmamızda 7. günde TENS uygulanan grupta nötrofil, makrofaj ve mast hücre sayılarındaki azalma, TENS uygulamasının erken evrede inflamatuvar süreci azaltığının göstergesi olabilir.

5.1.3. Makrofaj Hücre Yoğunluğu

Makrofajlar yara iyileşmesinin tüm aşamalarında önemli role sahip hücrelerden biridir. Geç inflamatuvar fazda 48-72 saat sonra makrofajlar görülür ve fagositoz işlemine devam edilir (Tepebaşı, 2017). İnflamatuvar fazda patojen mikroorganizmaları ve hücreleri fagosit ederler. Ayrıca doku iyileşmesinin diğer fazı olan proliferasyon faza geçiş için keratinositler, fibroblastlar ve endotel hücrelerinin farklılaşma, çoğalma ve göçü için sitokin ve büyüme faktörlerinin sekresyonunu sağlarlar (Aitchison ve diğerleri, 2021). Yaralanmadan 2-3 gün sonra monositlerin farklılaşması ile yaralanma bölgesinde yer alırlar. Yara makrofajlarının varlığı, inflamatuvar faz için sona yaklaşıldığının ve proliferatif faz başlangıcının göstergesidir (Berdal, 2017; Diegelmann ve Evans, 2004). Çalışmamızda da DİT-3 grubunda Dİ-3 grubuna kıyasla makrofaj sayısı yönünden belirgin azalmanın TENS uygulaması ile yangı şiddetinin daha az olduğu ve daha erken sürede proliferasyon fazına geçişi kolaylaştırdığı görülmüştür.

Yara iyileşmesinin farklı aşamalarında rol alan makrofajların etkilerini değerlendirmek amacıyla makrofajların koşullu tükenmesine izin veren deneysel eksizyonel fare modeli yara çalışmasında, inflamatuvar fazda makrofaj sayısındaki yetersizlik nedeniyle vaskülarize granülasyon dokusu oluşumunun önemli ölçüde azaldığı, epitelizasyonu bozduğu, yetersiz skar oluşumuyla ve kanamayla sonuçlandığı bildirilmiştir (Lucas ve diğerleri, 2010). Bu

koşullar, doku olgunlaşmasının sonraki aşamasına geçişi engellemiş ve yara kapanması gerçekleşmemiştir. Çalışmanın sonucunda yaralanmanın erken aşamalarında (yaralanmadan yaklaşık 3 gün sonra) makrofaj hücre sayısında düşme, granülasyon doku onarımında azalma, yara kapanmasında gecikme ve vaskülarizasyonun olumsuz etkilendiği ifade edilmektedir (Lucas ve diğerleri, 2010). Makrofajların işlevleri sitokinler ve metabolik faktörler gibi biyolojik ve kimyasal uyaranların sinyalleri ile belirlenmektedir. Makrofajların işlevini koordine eden yaralanmış dokuda doğal olarak üretilen ve yara iyileşmesini hızlandıran elektrik alanlarının olduğu bilinmektedir. Canlı hücre çalışmasında makrofaj göçünün 5mV/mm kadar düşük elektrik alanları tarafından yönlendirildiği bildirilmiştir ve bu sonuçlar makrofaj fonksiyonlarının düzenlenmesinde elektrik sinyallerinin katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Hoare ve diğerleri, 2016). Elektrik stimülasyonunun ratlarda yara iyileşmesine etkisinin incelendiği bir çalışmada, stimülasyon uygulanan grupta mast hücre, makrofaj ve fibroblast sayılarının 4. günden sonra düştüğü, müdahalenin inflamatuvar fazı kısalttığı ve proliferasyon fazı üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Demir ve diğerleri, 2004). Bu çalışmanın sonuçları, çalışmamızın bulgularını desteklemektedir ve TENS uygulaması yara iyileşmesini olumlu etkilemektedir.

Diyabette yara iyileşmesini içeren güncel çalışmalar ortaya çıkarmıştır ki diyabetli bireylerde makrofajlar inflamatuvar uyarıcılara aşırı tepki vermekte ve fagosite etme yetenekleri azalmaktadır. Ayrıca hiperglisemik ortam, inflamasyonda etkili M1 makrofajlarının inflamasyonun sonlandırılması ve anjiyogenezisi başlatmakta etkili M2 makrofajlarına dönüşmesine engel olmaktadır. Bunun da diyabetli bireylerde geç yara iyileşmesi ve kronikleşmesinin nedenlerinden biri olabileceği olarak belirtilmektedir (Aitcheson ve diğerleri, 2021; Beyene ve diğerleri, 2020). Bu nedenle TENS uygulanan 3.gün ve 7.gün grup ile uygulanmayan grupların makrofaj sayıları değerlendirildiğinde, TENS uygulanan gruplardaki makrofaj sayısındaki azalma belki de inflamasyonun kısalması ve yaranın proliferasyon aşamasına daha erken geçmesiyle açıklanabilir. Çalışmamızda M2 makrofajlarının değerlendirmedeğini düşünürsek, ileride ki çalışmalarda hem M2 makrofajlarının değerlendirilmesi hem daha uzun sürelerde yaranın izlenmesi ile TENS uygulamasının inflamatuvar faz üzerine etkisi ile ilgili bir sonuca varılabilir.

5.2. Fibroblast Hücre Yoğunluğu

Yaralanma sonrası ilk üç gün dokunun etrafındaki fibroblast ve myofibroblastlar çoğalmaları için uyarılırlar (Tepebaşı, 2017). Araştırmamızda Dİ-3 ve DİT-3 grubunda fibroblast yoğunluğu açısından fark olmadığı bulunmuştur. Ameliyat öncesi pozitif polariteli elektrik stimülasyonunun, postoperatif 7. ve 14. günlerde gruplar arasında lenfosit, eozinofil, nötrofil ve mast hücrelerinin sayısında önemli bir farklılığa yol açmadığı, ancak 7. günde skar bölgesindeki fibroblast ve kan damarı sayısını artırdığı bildirilmiştir (Borba ve diğerleri, 2011). Demir ve diğerleri (2004) çalışmasında 300 mA amplitüde 30 dakika TENS uygulaması ile fibroblast sayılarında uygulanmayan gruplara göre anlamlı artış bildirmişlerdir. Çalışmamızda TENS uygulanan 7. Gün grubunda uygulanmayan gruba kıyasla fibroblastların düşük olması uygulamanın frekansının daha düşük olması ile ilişkili olabilir.

Yaralanma sonrası fibroblastların uyarılması ve ardından myofibroblastlara dönüşerek ekstra cellüler matrix (ECM) oluşumuna katkı sağladığı bilinmektedir (Li ve Wang, 2011). Çalışmanın 7. gününde fibroblast sayısında Dİ-7 grubunda DİT-7 grubuna kıyasla anlamlı artış olduğu görülmüştür. TENS uygulanan gruptaki fibroblast sayılarının daha az olması iyileşmeye olumlu katkı sağlayıp myofibroblastlara dönüşmüş olabilecekleri ile açıklanabilir. Ancak ileri çalışmalarda fibroblast ile myofibroblastların birlikte değerlendirilmesi ile çalışmamızın bulgusu desteklenebilir. Granülasyon dokusu şekillendiğinde de fibroblastlar kaybolur ve yarada büyük ölçüde tip kollajen yer alır (Bao ve diğerleri, 2009). Bu da çalışmamızda granülasyon dokusu gelişmeye başladığı için fibroblast sayısının TENS uygulamasında daha düşük olmasının nedeni olabilir. Fibroblast yoğunluğu bakımından kararlı bir artış göstererek TENS uygulamasının olumsuz etkisinin olmadığını söylemek doğrudur. Olumlu etkisini söyleyebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5.3. Anjiyogenezis

Anjiyogenezis epitel hücrelerden yeni kan damarlarının oluşması ve iyileşme döneminde yeni hücreler için besin ve oksijen sağlanmasıdır (Aksoy ve Özakpınar, 2014). Sağlıklı dokuda yara iyileşmesinde kılcal damar sayılarında artış, diğer deyişle anjiyogenezin pik yaptığı dönem yaralanmadan sonraki 7-10. günlerdir. Ancak diyabet varlığında anjiyogenezi

düzenleyen ya da başlatan faktör olarak bilinen VEGF ve kılcal damar sayısında yetersizlik vardır. Diyabetik farelerde kılcal damar sayısındaki artışta gecikme olduğu, yaralanmadan sonraki 10. günde normal dokudaki kılcal damar sayısındaki artışın diyabetik farelerdekine kıyasla yaklaşık 4 katı kadar olduğu bulunmuştur. Bu da kapiller yatağın perfüzyonunu engellemekte, yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır (Okonkwo ve diğerleri, 2020).

TENS uygulamasının kılcal damar sayısı üzerine etkinliğinin incelendiği çalışmalar değerlendirildiğinde düşük frekanslı (5Hz) elektrik stimülasyonu uygulamasının akut insizyonel yaralarda 3. günde kılcal damar sayısında artışa yol açtığı bildirilmiştir (Machado ve diğerleri, 2016). Araştırmamızda yaralanma sonrası hem Dİ-3 hem de DİT-3 grubunda kılcal damar sayısında artış ile anjiyogenezin başladığı, ancak gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. Yine çalışmamızla benzer şekilde akut eksizyonel yarada düşük frekanslı (5 Hz) TENS uygulamasının anjiyogenez üzerine etkinliğinin değerlendirilmesi sonucunda, yaralanma sonrası 3. günde kan damarları sayısında belirgin artış olduğu, 7. günde bu farkın olmadığı bildirilmiştir. 3. günden sonra kan damarları sayısının kontrol grubuna benzer olmasını, ratlarda iyileşme sürecini etkileyecek patolojinin olmaması neden olarak gösterilmiştir (Machado ve diğerleri, 2016). Deneysel olarak ratlarda sekonder iyileşmeye bırakılmış basınç yarasında iyileşmenin gözlemlendiği bir çalışmada, elektriksel stimülasyon uygulanan grupta (2 Hz, 200 mikrosaniye, 15mA, günde 4 kez, 30dk, 3 hafta süreyle) yara iyileşmesinin hızlandığı sonucuna varılmıştır. TENS uygulanan grupta vaskülaritenin kontrol grubuna göre 7.günde ve daha sonraki günlerde daha düşük olduğu, bu da yaranın daha erken dönemde iyileştiğinin göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (Yu ve diğerleri, 2015). Yaralanma sonrası gelişen inflamatuvar fazda makrofajların proangiogenik faktörlerin salınımı ile anjiogenez artmaktadır. Bu da inflamasyon şiddeti ne kadar fazla ise anjiogenez o kadar fazla olacaktır. Bu nedenle hem azalmış inflamasyon hem de azalmış anjiogenez optimal iyileşme için gerekli unsurlardır (DiPietro, 2016). Araştırmamızda da anjiogeneziste 7 gün TENS uygulanan DİT-7 grubunda TENS uygulanmayan Dİ-7 grubuna kıyasla belirgin azalma olduğu bulunmuştur. Granülasyon dokusu şekillendiğinde anjiyogenez durur, yeni kan damarları apoptoze olur, fibroblastlar kaybolur ve yarada büyük ölçüde tip kollajen yer alır (Bao ve diğerleri, 2009). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızın anjiogenezis sonuçları, TENS uygulamasının proliferasyon aşamasının hızlıca şekillenmesine ve yara iyileşmesine katkı sağlayabileceği şeklinde yorumlanabilir.

5.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF anjiyogenezisin stimülasyonu, epitelizasyon ve kollajen birikimine etkisi olan büyüme faktörüdür. Yaralanmadan sonraki 3. ve 7. günlerde en yüksek seviyede bulunur. VEGF'nin yara iyileştirmedeki rolleri vazodilatasyon, endotelial hücre göçü için kemotaksis, endotelial hücre proliferasyonu ve son olarak yeni bazal membran oluşumudur (Bao ve diğerleri, 2009; Frank ve diğerleri, 1995). Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda yaralanma sonrası 3. günde hem Dİ-3 hem de DİT-3 grubunda kontrol grubuna kıyasla VEGF' de anlamlı artış olduğu ve yangısal sürecin geliştiği, damarlanma ve yeniden şekillenme sürecinin başladığı görülmektedir.

İnsan dokusunda oluşturulan kutanöz yara iyileşmesinde elektriksel stimülasyonun etkinliğinin incelendiği randomize kontrollü bir çalışmada, VEGF sekresyonu 3. günde anlamlı bir artış olmadığı, ancak 7.,10. ve 14. günlerde belirgin artış olduğu ve VEGF'ün anjiyogenezisi olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Ud-Din ve diğerleri, 2015).

Diyabetik yaralarda anjiyogenezisteki yetersizliğin, azalmış VEGF sekresyonu ile ilişkili olabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Frank ve diğerleri, 1995; Okonkwo ve diğerleri, 2020). Diyabetik ratlarda tam kat insizyonel yara iyileşmesinde, VEGF seviyeleri yaralanmadan sonraki 3. ve 7. günlerde en yüksek seviyede bulunduğu belirtilmiştir (Frank ve diğerleri, 1995). Diyabette azalmış VEGF ekspresyonunun, yara iyileşmesindeki kusurların nedeni olabilmektedir. Yine benzer bir şekilde, Okonkwo ve diğerleri (2020) diyabetik insizyonel yaralar ile normal dokuda yara iyileşmesini karşılaştırdıkları çalışmalarında, diyabetik farelerin yara bölgesinde 7. ve 10. günde sağlıklı farelere kıyasla VEGF sekresyonunun anlamlı azaldığını bildirmişlerdir. VEGF mutant farelerle yapılmış başka bir çalışmada yara iyileşmesinin geciktiği bildirilmiş, iyileşmedeki bu gecikme epidermal hücrelerin yanı sıra dermal hücrelerin sayısında azalma ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca VEGF eksikliğinde yaralanma bölgesinde %50 daha az kılcal damar olduğu ve revaskülarizasyonun yetersiz olduğu bildirilmiştir (Stockmann ve diğerleri, 2011). Diyabetik farelerde yapılan başka bir deneysel çalışmada 3. ve 6. günlerde VEGF mRNA seviyelerinin sağlıklı farelere kıyasla düşük olduğu belirtilmiştir (Altavilla ve diğerleri, 2001). Çalışmamızda VEGF seviyesi yara oluşturulmuş gruplarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış olup, diyabetin VEGF salınımı üzerine olumsuz etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Elektrik stimülasyonunun doku kültüründe endotel hücrelerinden VEGF salınımı üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada elektrik stümülasyonunun VEGF salınımını arttırdığını bildirmişlerdir. Elektrik stimülasyonunun doğrudan endotel hücrelerini uyarak VEGF üretimini başlattığı ve hücre iskeletinin yeniden şekillenmesini sağladığı sonucuna varmışlardır (Zhao ve diğerleri, 2004). Duyusal yüksek frekanslı (100Hz) elektrik stimülasyonunun 7 gün süreyle günde 1 saat olarak uygulanmasının VEGF salınımı üzerine etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada 7. günde VEGF salınımında artış olduğu ve yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyeceği gösterilmiştir (Asadi ve diğerleri, 2011). Çalışmamız verilerinde VEGF salınımında TENS uygulanan gruplarda (DİT-3 ve DİT-7) TENS uygulanmayan gruplara kıyasla daha düşük bulunmuştur. Asadi ve diğerlerinin (2011) çalışması ile araştırmamız arasındaki farklılık, uygulama frekansındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda uygulanan düşük frekanslı elektrik stimülasyonu VEGF’de azalmaya neden olmuş olabilir. Ayrıca VEGF faktör salınımı fibroblastlar, makrofajlar ve endotel hücreleri tarafından salınmaktadır (Singh ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda DİT-3 ve DİT-7 gruplarındaki VEGF’deki anlamlı azalma yine DİT-3 ve DİT-7 grubundaki fibroblast ve makrofaj sayılarındaki azalma ile ilişkili olabilir.

Elektrik stimülasyonu uygulaması yaralanma sonrası VEGF ve FGF sayısında önemli bir artış sağlamasına rağmen, 3. ve 7 günlerde yeni damar oluşumunda bir farklılık yaratmamıştır (Asadi ve diğerleri, 2013). Çalışmamızda bu verilerden farklı olarak TENS uygulanan DİT-7 grubundaki VEGF salınımındaki azalma anjiyogenezde de paralel şekilde azalmaya yol açmıştır. Ancak bu azalmanın yara iyileşmesi üzerine olumlu ya da olumsuz etkisinin olup olmadığını söylemek zordur ve ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü anjiyogenezin inhibe edilmesinin yara kapanması üzerinde hiçbir etkisi olmadığını veya orta düzeyde etkilerinin olabileceğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Bao ve diğerleri, 2009; Jacobi ve diğerleri, 2004; Roman ve diğerleri, 2002). Diyabetik farelerde yara vaskülaritesindeki azalmaya bağlı olarak oluşan anjiyogenezdeki bozulma sonucunda yara kapanmasında gecikme olmadığı bildirilmiştir. Yara anjiyogenezi için VEGF fonksiyonunun gerekli olduğu, ancak yaranın kapanması için gerekli olmadığı ifade edilmektedir (Jacobi ve diğerleri, 2004). Roman ve diğerleri (2002), antianjiyogenik faktör uygulanan farelerde, postoperatif yara iyileşmesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yara iyileşmesi ve enfeksiyon açısından farklı olmadığını bildirmişlerdir. Altavilla ve diğerleri (2001), sağlıklı ve diyabetik ratlarda VEGF sekresyonu ve yara iyileşmesi üzerine etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, 12. günde sağlıklı farelerde VEGF mRNA saptanmazken

diyabetik farelerde VEGF mRNA sekresyonunun bulunması gecikmiş yara iyileşmesini gösterdiğini bildirmişlerdir. Yani iyileşme fazlarının ikinci aşamasında VEGF'nin olumsuz etkilerinin olabileceği sonucuna varılmıştır. Çünkü yangı süreci ilk aşamada oluşması gereken ancak bir süre sonra gerilemesi gereken bir süreçtir. Bu sonuçlar doğrultusunda VEGF, yangı sürecinin ilerleyen dönemlerinde düşmesi beklenmektedir. Çalışmamız verilerinde de TENS uygulaması, DİT-7 grubunda Dİ-7 grubuna kıyasla VEGF düşüktür. Bu da DİT-7 grubunda aktif yangı sürecinin sonlandığı ve dolayısıyla TENS uygulamasının yara iyileşmesine olumlu katkısı olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda TENS uygulanan 7. gün grubunda VEGF seviyelerinde kontrol grubu ile benzer olması TENS uygulamasının iyileşmeyi olumlu etkileyebileceği yönünde bir sonuca varmamıza neden olmaktadır. Ayrıca granülasyon dokusu şekillendiğinde anjiyogenez durur, yeni kan damarları apoptoze olur, fibroblastlar kaybolur ve yarada büyük ölçüde tip kollajen yer alır. VEGF sekresyonundaki azalmanın hipersellüler granülasyon dokusundan hiposellüler skar dokusu oluşumuna geçişe katkısı olacağı belirtilmektedir (Bao ve diğerleri, 2009). Çünkü yangı bir noktadan sonra durmaz ise yangısal hücrelerden salınan kimyasal mediyatörler ve yangı hücreleri doku hasarına neden olacaktır. Ayrıca hipoksi VEGF ekspresyonu için stimülandır. Hipoksi gerilediğinde VEGF' de azalma olacaktır (Vural, 2018). Çalışmamızda TENS uygulama sonrası DİT-7 grubundaki VEGF ve anjiyogenezisteki azalma, damarlaşıma olması ve akabinde yangının sonlanıp geri çekilmesi olarak değerlendirilip, yara iyileşmesinde diğer faza daha hızlı geçiş olduğunun bir göstergesi olabilir.

5.5. Fibroblast Growth Faktör (FGF)

FGF, trombositler ve makrofajlar tarafından salınarak fibroblast ve endotel hücreleri üzerinde etkili büyüme faktörüdür (Singh ve diğerleri, 2017). Anjiyogenez indüksiyonu olarak önemli bir faktör olan bFGF endotel hücre çoğalması, göçü ve vasküler damar oluşumunu uyarır. Endotel proliferasyonu ve motiliteyi arttırmak, neovaskülarizasyonu hızlandırmak, Fibroblastların, keratinositlerin, kondrositlerin ve myoblastların uyarılması gibi yara iyileşmesinde rolleri de bulunmaktadır (Okonkwo ve Dipietro, 2017; Yussos ve diğerleri, 2012).

Yaralanma sonrası 2. günde çoğalmaya başlayan 4. ve 7. günlerde pik yapan yeni damar yapısının, endotelyal bazal hücrelerde baskın görülen bFGF ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Kibe, Takenaka ve Kishimoto, 2000).

Yaralanma sonrası 3. günde duyuşsal elektrik stimölasyonu uygulanan grupta FGF seviyelerinde anlamlı bir artış olduğu belirtilmiştir (Asadi ve diğerleri, 2013). 5 gün düşük frekanslı TENS (2 Hz) uygulamasının kontrol grubuna göre FGF sekresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Koca Kutlu ve diğerleri, 2013). Ancak araştırmamızda yaralanma ile birlikte FGF seviyelerinde artış gelişmiş, ancak bu artış TENS uygulanan DİT-3 grubunda Dİ-3 grubuna kıyasla daha az olmuştur. FGF seviyeleri aynı şekilde TENS uygulanan DİT-7 grubunda Dİ-7 grubuna kıyasla daha düşük izlenmiştir. Literatürdeki çalışmaların aksine FGF’ de ki azalma çalışmamızda diyabet modelin kullanılması ve diyabet ile ilişkili olabileceği düşünölmüştür. Çünkü genetik olarak diyabetik farelerde yara iyileşmesinin değerlendirildiği deneysel çalışmada FGF seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla diyabetik farelerde daha düşük seviyelerde olduğu bulunmuştur (Werner, Breeden, Hübner, Greenhalgh ve Longaker, 1994). Bu da diyabet ilişkili yara iyileşmesinde ki gecikmelerin nedenlerinden biri olarak FGF seviyelerinde ki azalma olduğu bildirilmiştir (Badiu, Vasile ve Teren, 2011). Çalışmamızda da FGF seviyelerinin azlığı diyabet ilişkili olabileceği gibi, FGF salınımında önemli rolü olan makrofajların TENS uygulanan grupta bir miktar düşük olması ile de ilişkili olabilir. Yani inflamasyon sürecinin yavaşlaması ile inflamatuvar hücrelerin stimöle ettiği büyüme faktörlerinde de azalma olacaktır. Makrofajlarda ki azalma ve yaranın yangı sürecinin gerilemesi ile TENS uygulanan 7. gün grubunda FGF azalması açıklanabilir.

FGF’ün yara iyileşmesinin erken dönemlerinden ziyade daha geç evrelerde yükseldiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Akut eksizyonel yara oluşturulan ve anjiyogenezisin değerlendirildiği deneysel bir çalışmada, düşük frekanslı (5Hz) TENS uygulamasında cerrahi sonrası myofibroblast sayısı ile ilgili olarak 3,7 ve 14. günde azalma olmuştur. FGF’in ekspresyonu yara iyileşmesinin proliferasyon aşamasında artış gösterir ve takip eden remodeling aşamasında düşmeye başlar. (Machado ve diğerleri, 2016). Çalışmamızda Dİ-7 ile karşılaştırıldığında DİT-7’de yara bölgesinde FGF ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir. Bu durum, TENS uygulamasının inflamasyon sürecinin yavaşlaması ile birlikte proliferasyon aşamasının hızlıca şekillenmesi ve remodeling aşamasına geçişin kolaylaşması ile yara iyileşmesine olumlu katkı yapabileceği şeklinde yorumlanabilir.

5.6. Oksidatif Stres

Oksidatif stres sonucu artan ROT'lar diyabet gibi kronik hastalıklar için belirgin bir özelliktir. Oksidatif stres durumunu izlemenin yolu ise antioksidanların yani ROT'lara karşı birincil savunmanın ölçülmesidir. Oksidatif stres, antioksidanlar ve oksidanlar arasında meydana gelen bir dengesizliktir. Bu nedenle oksidatif stres parametreleri olarak antioksidan enzimlerden SOD ve enzimatik olmayan GSH ile oksidasyon ürünlerinden MDA biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Kochlik, Grune ve Weber, 2017; Kooter, 2004). Çalışmamızda diyabet ve insizyonel yara oluşturulmuş ratlarda antioksidan parametreler olan serum SOD aktivitesi ve tam kan GSH seviyesi ile oksidan parametre olan serum MDA seviyesini analiz ederek değerlendirdik ve insizyonel yara oluşumuna TENS uygulamasının bu parametrelere yönelik etkisini araştırdık.

Oksidatif stres durumunda ROT'lara karşı ilk savunma hattı, bir metaloprotein yapıda enzim olan SOD'dur. Bu enzim antioksidan yanıt olarak O_2^- radikalini katalize eder ve reaksiyon sonunda H_2O_2 'nin oluşmasına neden olur (Alkadi, 2018). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda diyabetik yara durumunda SOD aktivitesinin azaldığına dair literatür bulunmaktadır (Sarandy ve diğerleri, 2017; Sun ve diğerleri, 2020). Çalışmamızda SOD aktivitesinin istatistiksel olarak en yüksek K grubunda olduğu ve bu grupla DİT-3 ve DİT-7 grupları karşılaştırıldığında aralarında fark olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Bu sonuca göre TENS uygulamasının diyabetik ratlarda doku hasarına bağlı üretimi artan serbest radikal üretimini (O_2^- radikalleri) azaltmada etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Deride meydana gelen yaralanmalarda SOD enziminin, granülasyon dokusu nötrofilleri tarafından yüksek seviyede sentezlendiği bildirilmiştir (Steiling, Munz, Werner ve Brauchle, 1999). Çalışmamızda da benzer şekilde, insizyonel yara oluşumuna bağlı olarak gerek deri dokusu insizyon hattı gerekse adventisyada, nötrofil sayısının K ve D gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi. Ancak 7 günlük TENS uygulanan insizyonel yara oluşturulmuş diyabetik ratlarda (DİT-7), insizyon hattındaki nötrofil sayılarının azaldığı ve bu grup ile K ve D grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

İndirgenmiş glutatyon olarak bilinen GSH ise enzimatik olmayan hücre içi indirgeyici ajandır ve en önemli hücre içi antioksidan olarak kabul edilmektedir (Scicchitano ve diğerleri, 2018). GSH birçok biyolojik fonksiyona sahiptir. Bunlar arasında gen ekspresyonu, DNA ve protein sentezi, hücre çoğalması, apoptoz, sinyal iletimi ve sitokin üretimi yer almaktadır

(Kakkar, 2017). Ancak hipergliseminin neden olduğu serbest radikal üretimi ile hücre içi GSH üretimini engellenir (Tang ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda Dİ-3 ve DİT-3 grupları ile Dİ-7 ve DİT-7 grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen ($p>0,05$), 7 günlük TENS uygulamasının (DİT-7) 3 günlük TENS uygulanmasına (DİT-3) göre, diyabetik ratlarda GSH seviyesini artırdığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p=0,020$). GSH seviyesinde ki artış, hiperglisemi ve yara oluşumu nedeniyle üretilen serbest oksijen radikallerine karşı koymak veya hücreleri bu radikallerden korumak amacıyla olduğu düşünülmektedir. Çalışmamıza benzer şekilde, STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde ratların dorsal bölgesinde yara oluşturulmuş ve diyabetik ratların yara dokusu (Kumawat ve diğerleri, 2019) ve serum (Ahmed ve diğerleri, 2018) GSH seviyelerinin anlamlı olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Hücre içi antioksidan olan GSH, diyabette düşük seviyelerdedir. Ancak çalışmamız bulgularına göre TENS uygulamasının, GSH seviyesinde artışa yol açarak oksidan dengeye olumlu katkısı olmuştur.

Hücrelerin lipid kısmı fosfolipitlerden oluşmaktadır. Fosfolipitler içerisinde ise doymuş ve doymamış yağ asitleri bulunur. ROT'lar ($OH\cdot$, $O_2\cdot^-$, 1O_2) hücrede yer alan bu yapılara etki ederek lipid peroksidasyonu reaksiyonunu başlatırlar. Lipid peroksidasyonu ise lipoproteinlerde veya hücre zarında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur. Bu durum hücrede yapı ve görev yönünden hasara yol açar. Kollajen ve fibroblast metabolizması ile keratinosit kapiller geçirgenlik ve endotel hücrelerin bozulmasından sorumlu olabileceği düşünülen lipid peroksidasyonu, diyabetik farelerde yara iyileşmesini geciktiren önemli faktör olduğu bildirilmiştir (Altavilla ve diğerleri, 2001). ROT'ların direkt ölçümü zor olduğu için oksidanların doku ve kandaki düzeyleri oksidatif durumu yansıtmaktadır (Ayala, Muñoz ve Argüelles, 2014; Ho, Karimi Galougahi, Liu, Bhindi ve Figtree, 2013; Sezer ve Keskin, 2014). Bu nedenle lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA seviyeleri değerlendirilmiştir. Ratlarda STZ ile indüklenmiş diyabetik yara modelinde MDA seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (Ebaid, Salem, Sayed ve Metwalli, 2011; Hashemnia, Nikousefat, Mohammadalipour, Zangeneh ve Zangeneh, 2019). Araştırmamızdan elde edilen sonuçlar da literatür ile uyum göstermektedir. Özellikle diğer deneysel gruplarla karşılaştırıldığında, serum MDA seviyesi istatistiksel yönden D grubunda en yüksek bulundu ($p=0,001$). Fakat insizyonel yara oluşturulan DİT-3 ve DİT-7 grubunda TENS uygulamasının MDA seviyelerini anlamlı olarak azalttığı belirlendi.

5.7. Araştırmanın Sınırlılıkları

Yara iyileşmesini etkileyen bir çok predispozan faktör bulunmaktadır. Bu nedenle bu faktörlerin kontrol altına alınması amacıyla çalışmamız deney hayvanlarında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca yara iyileşmesini mikroskopik boyutta değerlendirebilmek için doku örnekleri alınması gerekmektedir. Bu da deney hayvanlarında çalışmayı zorunlu kılmaktadır. Ratlar düşük maliyetli, yaygın bulunabilen, bakımı ve kullanımı rahat olması nedeni ile deneysel araştırmalarda tercih edilen hayvanlardır (Grada, Mervis ve Falanga, 2018; Sanapalli ve diğerleri, 2021). Ayrıca kapsamlı araştırmalarda kullanılması neticesinde geniş bilgi tabanına sahip olması da diğer tercih nedenlerinden biridir. Ancak rat derisi ve insan derisi arasındaki farklılıklar çalışmanın sınırlılıklarından biridir. Çünkü ratlar gevşek bir cilt yapısına sahiptirler ve kasılma ile iyileşme gösterirler. İnsanlardan farklı olarak hipertrofik yara izleri ve kelloid oluşturmazlar. Kıl folikülü sayısı nedeni ile de insan derisi ile farklılık göstermektedir.

Akut yaralarda doğal iyileşme süreçleri tüm memelilerde benzer şekilde olmaktadır. Pıhtılaşma, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenmeyi içeren 4 aşamadan oluşmaktadır. Bu da insan derisi ile benzer yara iyileşmesi aşamaları gösterdiği için deneysel yara modellerinde ratlar tercih edilmektedir (Grada ve diğerleri, 2018). Ancak ratlar ve insanlar benzer deri katmanlarına sahip olsalarda, kalınlıkları arasında fark vardır ve insan derisi daha kalındır. İnsan epidermisi 5-10 hücre katmanından oluşurken ratların derisi daha kırılgan ve gevşektir. İnsanlarda tam kat yaralar, granülasyon ve re-epitelizasyon ile iyileşirken ratlarda *panniculus carnosus* tabakası kasılmayı teşvik ederek iyileşmeyi destekler. Gevşek cilt yapısı ve kasılma ile iyileşme gibi deri farklılıkları olmasına rağmen, bu farklılıklar yara iyileşmesi modellerinde ratların kullanılmasına engel değildir. Sadece sonuçları yorumlarken bu farklılıkların göz önüne alınması gerekmektedir (Sanapalli ve diğerleri, 2021).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda TENS uygulamasının akut insizyonel yara iyileşme sürecine ve oksidatif strese olan etkisini değerlendirmeyi amaçlayarak planlanan çalışmadan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

1. Streptozotosinin diyabetik hayvan modelleri oluşturulmasında etkili bir ajan olduğu,
2. Diyabet geliştiğinde inflamatuvar hücre sayılarında değişiklik olduğu, mast hücre sayısında artış ve makrofaj sayısında düşme meydana geldiği,
3. İnsizyonel yara oluşturulması sonrası 3. günde hem diyabetik hem nondiyabetik grupta mast hücre, makrofaj ve nötrofil sayılarında artış olduğu ve inflamasyon sürecinin geliştiği,
4. İnsizyon sonrası 7 gün TENS grubunda nötrofil seviyelerinde düşme ile inflamasyonun şiddetinin azaldığı,
5. 7. gün TENS uygulanan grupta makrofaj ve mast hücre sayılarındaki azalma, TENS uygulamasının erken evrede inflamatuvar süreci kısalttığı,
6. TENS uygulanan gruplarda anjiogenezisin zamanında yavaşladığı,
7. 7 gün TENS uygulamasının fibroblast sayısını düşürdüğü,
8. TENS uygulamasının VEGF ve FGF salınımını azalttığı, ancak bu azalmanın zamanında gerçekleşmesi ile uzamış inflamatuvar fazın engellendiği,
9. Diyabetin SOD aktivitesinde azalmaya, MDA aktivitesinde artışa neden olarak oksidatif strese yol açtığı,
10. TENS uygulamasının SOD aktivitesinde artış, MDA aktivitesinde azalmaya neden olarak oksidatif stresi engellediği sonucuna varılmıştır.

Araştırmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda;

Diyabetli kişilerde oluşan yaralarda inflamatuvar fazın uzaması yaranın iyileşmesinde gecikmeye neden olan faktörlerdendir. Araştırmamızda yaranın 3 gün uygulanan TENS uygulaması ile inflamatuvar hücrelerde artış, 7. günde inflamatuvar hücrelerde azalma olması inflamatuvar sürecin kısılması ve inflamasyonunun şiddetinin azaldığı yönünde yorumlanabilir. Erken dönemde TENS uygulaması ratlarda insizyonel yaranın inflamasyon süreci üzerine olumlu etkisi olup kısalmaya yol açmıştır. Bu nedenle diyabetli kişilerde yaranın 3 gün uygulanan TENS uygulamasının yaranın iyileşmesine katkı

sağlayabilir. Çünkü diyabetli bireylerde yara iyileşmesinin gecikmesindeki önemli nedenlerden biri olan uzamış inflamatuvar süreç, TENS uygulaması ile kısılacaktır. İnflamasyon sürecindeki kısıalma ile yara iyileşmesindeki gecikmeler engellenecek, yaranın kronikleşmesinin önüne geçilmiş olacaktır. Bu nedenle diyabetli kişilerin yaralanma bölgesinde TENS uygulamasının hastaların yararına olabileceği yönünde düşünülmektedir.

Yara iyileşmesinin desteklenmesi için bir çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemleri uygularken maliyet etkin bir yöntem olması tercih sebebidir. TENS kolay uygulanabilen, yan etkisi olmayan ve ucuz bir uygulama olması nedeni ile maliyet-etkin bir uygulamadır. Diyabetik ülserler, basınç ülserleri, kronik venöz ülserlerde etkinliği kanıtlanmış olan düşük frekanslı TENS uygulaması çalışmamız sonuçlarına göre akut insizyonel yaralarda da etkili olduğu sonucuna varılmıştır. İleri klinik araştırmalar ve insan dokusu üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Yara iyileşmesinde düşük seviyelerde ROT üretimi anjiyogenezin ve hücre kemotaksisinin başlatılabilmesi için gereklidir. Ancak aşırı ROT üretimi ile hücre içi enzimatik veya non-enzimatik antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda oksidatif strese neden olarak yara iyileşmesini olumsuz etkileyen bir faktördür. Araştırmamızın verilerine göre TENS uygulaması ile SOD aktivitesinin arttığı ve MDA seviyesinin azaldığı, bozulmuş olan oksidatif dengenin antioksidan lehine kaydığı bulunmuştur. Diyabetik yaralarda yara iyileşmesinde bozulmadan sorumlu olduğu bilinen oksidatif stres üzerine TENS uygulamasının etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak dokuda oksidan-antioksidan parametrelerinin değerlendirilmesi ile çalışmamızın verileri desteklenmiş olacaktır ve ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Deneysel çalışma modelimiz, gelişen tıp ve teknolojik uygulamalar doğrultusunda yeni yöntemler geliştirme veya uygulamaların bilimsel veriler doğrultusunda kanıtlanması için hemşireler için yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmed, O. M., Mohamed, T., Moustafa, H., Hamdy, H., Ahmed, R. R. ve Aboud, E. (2018). Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 101(2017), 58–73. doi:10.1016/j.biopha.2018.02.040
- Ahmet, B., Hüseyin, D. A. ve Bahadır, K. M. (2015). Wound healing and medicinal plants used in the treatment of diabetic wounds. *Journal of Health Sciences*, 24, 185–192.
- Aitcheson, S. M., Frentiu, F. D., Hurn, S. E., Edwards, K. ve Murray, R. Z. (2021). Skin wound healing: Normal macrophage function and macrophage dysfunction in diabetic wounds. *Molecules*, 26(16), 1–11. doi:10.3390/molecules26164917
- Aksoy, H. ve Özakpınar, Ö. B. (2014). Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18(3), 153–158. doi:10.12991/mpj.2014187243
- Alhaider, A. A., Korashy, H. M., Sayed-Ahmed, M. M., Mobark, M., Kfoury, H. ve Mansour, M. A. (2011). Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chemico-Biological Interactions*, 192(3), 233–242. doi:10.1016/j.cbi.2011.03.014
- Alkadi, H. (2018). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *Infectious Disorders - Drug Targets*, 20(1), 16–26. doi:10.2174/1871526518666180628124323
- Altavilla, D., Saitta, A., Cucinotta, D., Galeano, M., Deodato, B., Colonna, M., ... Squadrito, F. (2001). Inhibition of lipid peroxidation restores impaired vascular endothelial growth factor expression and stimulates wound healing and angiogenesis in the genetically diabetic mouse. *Diabetes*, 50(3), 667–674. doi:10.2337/diabetes.50.3.667
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37, 81–90. doi:10.2337/dc14-S081
- American Diabetes Association. (2020). Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*, 43, 14–31. doi:10.2337/dc20-S002
- American Diabetes Association. (2021). Standarts of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*, 44, 40–52. doi:10.2337/dc17-S008

- Anderson, K. ve Hamm, R. L. (2012). Factors that impair wound healing. *Journal of the American College of Clinical Wound Specialists*, 4(4), 84–91. doi:10.1016/j.jccw.2014.03.001
- Asadi, M. R., Torkaman, G. ve Hedayati, M. (2011). Effect of sensory and motor electrical stimulation in vascular endothelial growth factor expression of muscle and skin in full-thickness wound. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 48(3), 195–201. doi:10.1682/JRRD.2009.11.0182
- Asadi, M. R., Torkaman, G., Hedayati, M. ve Mofid, M. (2013). Role of sensory and motor intensity of electrical stimulation on fibroblastic growth factor-2 expression, inflammation, vascularization, and mechanical strength of full-thickness wounds. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 50(4), 489–498. doi:10.1682/JRRD.2012.04.0074
- Ashrafi, M., Baguneid, M. ve Bayat, A. (2016). The role of neuromediators and innervation in cutaneous wound healing. *Acta Dermato-Venereologica*, 96(5), 587–597. doi:10.2340/00015555-2321
- Atalay, C., Koçkaya, E. A., Çetin, B., Kismet, K. ve Turan Akay, M. (2003). Efficacy of topical nitroglycerin and transcutaneous electrical nerve stimulation on survival of random-pattern skin flaps in rats. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery*, 37(1), 10–13. doi:10.1080/alp.37.1.10.13
- Ayala, A., Muñoz, M. F. ve Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 360438, 31. doi:10.1155/2014/360438
- Aydın, O. E., Tan, Ö., Çinal, H., Kara, M. ve Çakmak, M. A. (2014). Deneysel yara modelleri. *Türkiye Klinikleri Plastic Surgery - Special Topics*, 4(1), 5–11.
- Badiu, D., Vasile, M. ve Teren, O. (2011). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Wound Healing: Process, Phases and Promoting*, 73–93.
- Baines, C. P. (2009). The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology*, 104, 181–188. doi:10.1007/s00395-009-0004-8
- Baktir, G. (2020). Wound repair and experimental wound models. *Experimed*, 9(3), 130–137. doi:10.26650/experimed.2019.19023
- Bamba, R., Gupta, V., Shack, R. B., Grotting, J. C. ve Higdon, K. K. (2016). Evaluation of

- diabetes mellitus as a risk factor for major complications in patients undergoing aesthetic surgery. *Aesthetic Surgery Journal*, 36(5), 598–608. doi:10.1093/asj/sjv241
- Bannon, P., Wood, S., Restivo, T., Campbell, L., Hardman, M. J. ve Mace, K. A. (2013). Diabetes induces stable intrinsic changes to myeloid cells that contribute to chronic inflammation during wound healing in mice. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 6(6), 1434–1447. doi:10.1242/dmm.012237
- Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M. S., Ehrlich, H. P. ve Brem, H. (2009). The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Journal of Surgical Research*, 153(2), 347–358. doi:10.1016/j.jss.2008.04.023
- Berdal, M. (2017). Wound Healing in Diabetes. *An intervention study in db/db mice*. The Arctic University of Norway.
- Beutler, E., Duron, O. ve Kelly, B. M. (1963). Improved methods for determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory Clinics Medicine*, 61, 882–888.
- Beyene, R. T., Derryberry, S. L. ve Barbul, A. (2020). The effect of comorbidities on wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 100(4), 695–705. doi:10.1016/j.suc.2020.05.002
- Biondo-Simões, M. de L. P., Zammar, G. R., Fernandes, R. dos S., Simões, R. B., de Mello, F. S. R. ve de Noronha, L. (2010). Wound healing obesity and abdominal wound healing in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 25(1), 86–92.
- Blakytyn, R. ve Jude, E. (2006). The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabetic Medicine*, 23(6), 594–608. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.01773.x
- Borba, G. C., Hochman, B., Liebano, R. E., Enokihara, M. M. S. S. ve Ferreira, L. M. (2011). Does preoperative electrical stimulation of the skin alter the healing process? *Journal of Surgical Research*, 166(2), 324–329. doi:10.1016/j.jss.2009.08.018
- Bravard, A., Bonnard, C., Durand, A., Chauvin, M. A., Favier, R., Vidal, H. ve Rieusset, J. (2011). Inhibition of xanthine oxidase reduces hyperglycemia-induced oxidative stress and improves mitochondrial alterations in skeletal muscle of diabetic mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 300(3), 581–591. doi:10.1152/ajpendo.00455.2010
- Brem, H. ve Canic Tomic, M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in

- diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(5), 1219–1222. doi:10.1172/JCI32169.Despite
- Burgess, J. L., Wyant, W. A., Abujamra, B. A., Kirsner, R. S. ve Jozic, I. (2021). Diabetic Wound-Healing Science. *Medicina*, 57(1072), 1–24.
- Çetiner, Ö. ve Rakıcıoğlu, N. (2020). Hiperglisemi, oksidatif stres ve tip 2 diyabette oksidatif stres belirteçlerinin tanımlanması. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity*, 4(1), 60–68. doi:10.25048/tudod.638744
- Çiçek, Z., Koçaklı, Z. G., Akıllıoğlu, K. ve Doğan, A. (2018). Diyabetik hayvan modelleri ve önemi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 27(3), 311–327. doi:10.17827/aktd.357580
- Conover WJ. (1999). Practical nonparametric statistics (3 ed., ss. 272–288). New York: John Wiley & Sons. doi:10.1080/00401706.2000.10486067
- Cramp, A. F. L., Gilsenan, C., Lowe, A. S. ve Walsh, D. M. (2000). The effect of high- and low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation upon cutaneous blood flow and skin temperature in healthy subjects. *Clinical Physiology*, 20(2), 150–157. doi:10.1046/j.1365-2281.2000.00240.x
- Demir, A., Kelahmetoğlu, O. ve Kemal Keleş, M. (2010). Applying of electrical stimulation in wound healing. *Journal of Experimental and Clinical Medicine (Turkey)*, 27(4), 160–163.
- Demir, H., Balay, H. ve Kirnap, M. (2004). A comparative study of the effects of electrical stimulation and laser treatment on experimental wound healing in rats. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 41(2), 147–153. doi:10.1682/JRRD.2004.02.0147
- Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D. G. ve Deng, W. (2021). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 8852759, 11. doi:10.1155/2021/8852759
- Diegelmann, R. F. ve Evans, M. C. (2004). Departments of Biochemistry, Anatomy, Emergency Medicine and Virginia Commonwealth University, Richmond Virginia. *Frontiers in Bioscience*, (4), 283–289.
- Dindar, B. (2015). *Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF) ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünün (VEGF) Ratlarda Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- DiPietro, L. A. (2016). Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. *Journal of Leukocyte Biology*, 100(5), 979–984. doi:10.1189/jlb.4mr0316-102r
- Dizdaroglu, M. (2015). Oxidatively induced DNA damage and its repair in cancer. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 763, 212–245. doi:10.1016/j.mrrev.2014.11.002
- Dunnill, C., Patton, T., Brennan, J., Barrett, J., Dryden, M., Cooke, J., ... Georgopoulos, N. T. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. *International Wound Journal*, 14(1), 89–96. doi:10.1111/iwj.12557
- Dwita, L. P., Hasanah, F., Srirustami, R., Repi, Purnomo, R. ve Harsodjo, S. (2019). Wound healing properties of *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw. leaf extract in streptozotocin-induced diabetic mice by topical application. *Wound Medicine*, 26(1), 100160. doi:10.1016/j.wndm.2019.100160
- Ebaid, H., Salem, A., Sayed, A. ve Metwalli, A. (2011). Whey protein enhances normal inflammatory responses during cutaneous wound healing in diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 235. doi:10.1186/1476-511X-10-235
- Ekici, L. ve Sağdıç, O. (2008). Serbest Radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda Dergisi*, 33(5), 251–260. <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/gidader/article/view/5000096999> adresinden erişildi.
- Ellis, S., Lin, E. J. ve Tartar, D. (2018). Immunology of wound healing. *Current Dermatology Reports*, 7(4), 350–358. doi:10.1007/s13671-018-0234-9
- Emmerson, E. (2017). Efficient healing takes some nerve : electrical stimulation enhances innervation in cutaneous human wounds. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(3), 543–545. doi:10.1016/j.jid.2016.10.018
- Erbaş, O. (2015). Experimental diabetes model. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine*, 1(1), 40–42. doi:10.5606/fng.btd.2015.008
- Erdem, F. ve Gündoğdu, M. (2005). Anjiyojenesis ve anti-anjiyojenik tedavi. *Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 37, 1–6.
- Erden, S. ve Çelik, S. Ş. (2015). Bir elektro analjezi yöntemi: Transkütan elektriksel sinir stimülasyonu ve hemşirenin rolleri. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, 2(1), 50–60.

- Erdost Kartal, Ş. ve Çetinkale, O. (2008). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, Yara Bakımı ve Tedavisi. *Yara İyileşmesi ve Bakımında Temel İlkeler* içinde (ss. 11–15). <http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/67/6701.pdf> adresinden erişildi.
- Erol, A. Y. G., Uzunköy, A. ve Özdemir, Ö. (2010). Mast hücrelerinin cerrahi sonrası yara iyileşmesi ve adezyon oluşumunda yeni tanımlanan rolleri. *Cerrahi Sanatlar Dergisi*, 2, 1–10.
- Feldman, E. L. (2003). Oxidative stress and diabetic neuropathy: A new understanding of an old problem. *Journal of Clinical Investigation*, 111(4), 431–433. doi:10.1172/JCI200317863
- Fowler, M. J. (2008). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical Diabetes*, 26(2), 77–82. doi:10.1016/j.med.2020.09.012
- Francis-Goforth, K. N., Harken, A. H. ve Saba, J. D. (2010). Normalization of diabetic wound healing. *Surgery*, 147(3), 446–449. doi:10.1016/j.surg.2009.04.038
- Frank, S., Hubner, G., Breier, G., Longaker, M. T., Greenhalgh, D. G. ve Werner, S. (1995). Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *Journal of Biological Chemistry*, 270(21), 12607–12613. doi:10.1074/jbc.270.21.12607
- Galkowska, H., Wojewodzka, U. ve Olszewski, W. L. (2006). Chemokines, cytokines, and growth factors in keratinocytes and dermal endothelial cells in the margin of chronic diabetic foot ulcers. *Wound Repair and Regeneration*, 14(5), 558–565. doi:10.1111/j.1743-6109.2006.00155.x
- Gantwerker, E. A. ve Hom, D. B. (2011). Skin: histology and physiology of wound healing. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 19(3), 441–453. doi:10.1016/j.fsc.2011.06.009
- García-Pérez, S., García-Riós, M. C., Pérez-Mármol, J. M., Tapia-Haro, R. M., Albornoz-Cabello, M., Valenza, M. C. ve Aguilar-Ferrándiz, M. E. (2018). Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation energy in older adults: A pilot clinical trial. *Advances in Skin and Wound Care*, 31(10), 462–469. doi:10.1097/01.ASW.0000544614.18501.b4
- Giacco, F. ve Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation*

Research, 107(9), 1058–1070. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.223545

- Grada, A., Mervis, J. ve Falanga, V. (2018). Research techniques made simple: animal models of wound healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 138(10), 2095-2105.e1. doi:10.1016/j.jid.2018.08.005
- Greenhalgh, D. G. (2003). Wound healing and diabetes mellitus. *Clinics in Plastic Surgery*, 30(1), 37–45. doi:10.1016/S0094-1298(02)00066-4
- Guo, S. ve DiPietro, L. A. (2010). Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229. doi:10.1177/0022034509359125
- Gürgen, S. G., Sayın, O., Çetin, F. ve Tuç Yücel, A. (2014). Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) accelerates cutaneous wound healing and inhibits pro-inflammatory cytokines. *Inflammation*, 37(3), 775–784. doi:10.1007/s10753-013-9796-7
- Güzel, D. (2015). Damar oluşum fiziolojisi ve vasküler endotelial büyüme faktörü. *Journal of Human Rhtim*, 1(2), 42–45.
- Halliwell, B. (1995). Oxygen radicals, nitric oxide and human inflammatory joint disease. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 54(6), 505–510. doi:10.1136/ard.54.6.505
- Halliwell, Barry. (2006). Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141, 312–322. doi:10.1104/pp.106.077073.312
- Halliwell, Barry. (2011). Free radicals and antioxidants - Quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(3), 125–130. doi:10.1016/j.tips.2010.12.002
- Hashemnia, M., Nikousefat, Z., Mohammadalipour, A., Zangeneh, M. M. ve Zangeneh, A. (2019). Wound healing activity of Pimpinella anisum methanolic extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Wound Care*, 28(10), S26–S36. doi:10.12968/jowc.2019.28.sup10.s26
- Ho, E., Karimi Galougahi, K., Liu, C. C., Bhindi, R. ve Figtree, G. A. (2013). Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology*, 1(1), 483–491. doi:10.1016/j.redox.2013.07.006
- Hoare, J. I., Rajnicek, A. M., McCaig, C. D., Barker, R. N. ve Wilson, H. M. (2016). Electric fields are novel determinants of human macrophage functions. *Journal of Leukocyte Biology*, 99(6), 1141–1151. doi:10.1189/jlb.3a0815-390r

- Horai, M., Zhang, Z., Stanton, R., Virkamäki, A. ve Loeken, M. R. (2004). Activation of the hexosamine pathway causes oxidative stress and abnormal embryo gene expression: Involvement in diabetic teratogenesis. *Birth Defects Research Part A - Clinical and Molecular Teratology*, 70(8), 519–527. doi:10.1002/bdra.20056
- Hunckler, J. ve de Mel, A. (2017). A current affair: electrotherapy in wound healing. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*, 10, 179–194. doi:10.2147/JMDH.S127207
- Institute of Medical Illustrators. (2019). New Wound Management Photography Guidelines. *Imi*. https://www.imi.org.uk/wp-content/uploads/2019/04/2019_Apr_IMINatGuidelines_Wound-Management.pdf adresinden erişildi.
- International Diabetes Federation. (2019). *International Diabetes Federation*. (S. Karuranga, B. Malanda, P. Saeedi ve P. Salpea, Ed.) *Diabetes Atlas* (9. bs.). doi:10.1016/S0140-6736(55)92135-8
- İrer, S. V ve Alper, G. (2004). Experimental Models of Diabetes Mellitus. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 127–136.
- Jacobi, J., Tam, B. Y. Y., Sundram, U., von Degenfeld, G., Blau, H. M., Kuo, C. J. ve Cooke, J. P. (2004). Discordant effects of a soluble VEGF receptor on wound healing and angiogenesis. *Gene Therapy*, 11(3), 302–309. doi:10.1038/sj.gt.3302162
- Jarad, A. S., Jumaa, A. H., Hasan, M. S., Shwaish, M. M., Farhan, W. H., Ibrahim, Z. Y., ... Hussein, M. A. (2020). Diabetic wound healing enhancement by tadalafil. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(3), 841–847. doi:10.31838/ijpr/2020.12.03.121
- Johnson, K. E. ve Wilgus, T. A. (2014). Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Advances in Wound Care*, 3(10), 647–661. doi:10.1089/wound.2013.0517
- Johnson, M. I. (2012). Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS). *eLS*, 1–13. doi:10.1002/9780470015902.a0024044
- Johnson, M. ve Martinson, M. (2007). Efficacy of electrical nerve stimulation for chronic musculoskeletal pain : A meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain*, 130, 157–165. doi:10.1016/j.pain.2007.02.007
- Kakkar, S. S. (2017). Oxidative stress biomarkers in evaluation of therapeutic potential of Ascorbic acidin poultry under hot Climate. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary*

Science, 10(07), 41–44. doi:10.9790/2380-1007024144

- Kandemir, H., Abuhandan, M., Aksoy, N., Savik, E. ve Kaya, C. (2013). Oxidative imbalance in child and adolescent patients with obsessive compulsive disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 47(11), 1831–1834. doi:10.1016/j.jpsychires.2013.08.010
- Khalil, Z. ve Merhi, M. (2000). Effects of aging on neurogenic vasodilator responses evoked by transcutaneous electrical nerve stimulation: Relevance to wound healing. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 55(6), 257–263. doi:10.1093/gerona/55.6.B257
- Khanna, S., Biswas, S., Shang, Y., Collard, E., Azad, A., Kauh, C., ... Roy, S. (2010). Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS ONE*, 5(3). doi:10.1371/journal.pone.0009539
- Kibe, Y., Takenaka, H. ve Kishimoto, S. (2000). Spatial and temporal expression of basic fibroblast growth factor protein during wound healing of rat skin. *British Journal of Dermatology*, 143(4), 720–727. doi:10.1046/j.1365-2133.2000.03824.x
- King, A. J. F. (2012). The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*, 166(3), 877–894. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x
- Klaunig, J. E. ve Wang, Z. (2018). Oxidative stress in carcinogenesis. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 116–121. doi:10.1016/j.cotox.2017.11.014
- Koca Kutlu, A., Çeçen, D., Gürgen, S. G., Sayın, O. ve Çetin, F. (2013). A comparison study of growth factor expression following treatment with transcutaneous electrical nerve stimulation, saline solution, Povidone-iodine, and lavender oil in wounds healing. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 361832, 1–9. doi:10.1155/2013/361832
- Kochlik, B., Grune, T. ve Weber, D. (2017). New findings of oxidative stress biomarkers in nutritional research. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 20(5), 349–359. doi:10.1097/MCO.0000000000000388
- Kolluru, G. K., Bir, S. C. ve Kevil, C. G. (2012). Endothelial dysfunction and diabetes: Effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *International Journal of Vascular Medicine*, 918267, 1–30. doi:10.1155/2012/918267
- Komi, D. E. A., Khomtchouk, K. ve Santa Maria, P. L. (2020). A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. *Clinical*

- Reviews in Allergy and Immunology*, 58(3), 298–312. doi:10.1007/s12016-019-08729-w
- Kooter, I. (2004). Inventory of biomarkers for oxidative stress. *RIVM report*, 630111001, 1–30.
- Kumawat, S., Verma, S., Singh, R., Sadam, A., Patel, M., Lingaraju, M. C., ... Kumar, D. (2019). Antioxidant potential of *Shorea robusta* resin-accelerated cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 1145–1150.
- Kurçer, Z. ve Karaoğlu, D. (2012). Deneysel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullanımı. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(2), 34–40.
- Lee, E. G., Luckett-Chastain, L. R., Calhoun, K. N., Fremph, B., Bastian, A. ve Gallucci, R. M. (2019). Interleukin 6 function in the skin and isolated keratinocytes is modulated by hyperglycemia. *Journal of Immunology Research*, 2019. doi:10.1155/2019/5087847
- Levesque, C. M. (2013). Perioperative Care of Patients with Diabetes. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, 25(1), 21–29. doi:10.1016/j.ccell.2012.11.007
- Li, B. ve Wang, J. H. C. (2011). Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: Force generation and measurement. *Journal of Tissue Viability*, 20(4), 108–120. doi:10.1016/j.jtv.2009.11.004
- Liebano, R. E., Abla, L. E. F. ve Ferreira, L. M. (2008). Effect of low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on the viability of ischemic skin flaps in the rat: An amplitude study. *Wound Repair and Regeneration*, 16(1), 65–69. doi:10.1111/j.1524-475X.2007.00332.x
- Lind, M., Odén, A., Fahlén, M. ve Eliasson, B. (2009). The true value of HbA1c as a predictor of diabetic complications: Simulations of HbA1c variables. *PLoS ONE*, 4(2), 1–6. doi:10.1371/journal.pone.0004412
- Lucas, T., Waisman, A., Ranjan, R., Roes, J., Krieg, T., Müller, W., ... Eming, S. A. (2010). Differential Roles of Macrophages in Diverse Phases of Skin Repair. *The Journal of Immunology*, 184(7), 3964–3977. doi:10.4049/jimmunol.0903356
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164–175. doi:10.1016/j.cbi.2014.10.016

- Machado, A. F. P., Liebano, R. E., Furtado, F., Hochman, B. ve Ferreira, L. M. (2016). Effect of High-and Low-Frequency Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Angiogenesis and Myofibroblast Proliferation in Acute Excisional Wounds in Rat Skin. *Advances in Skin and Wound Care*, 29(8), 357–363. doi:10.1097/01.ASW.0000488721.83423.f3
- Machado, A. F. P., Santana, E. F., Tacani, P. M. ve Liebano, R. E. (2012). The effects of transcutaneous electrical nerve stimulation on tissue repair: A literature review. *Canadian Journal of Plastic Surgery*, 20(4), 237–240. doi:10.1177/229255031202000415
- Mandal, S., Yadav, S., Yadav, S. ve Nema, R. K. (2009a). Antioxidants: A review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1(1), 102–104. doi:10.3233/JPB-130084
- Mandal, S., Yadav, S., Yadav, S. ve Nema, R. K. (2009b). \376\377\000J\000C\000P\000R\000-\0001\0003\0009. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1(1), 102–104. doi:1872-2121/08
- Manna, P., Sinha, M. ve Sil, P. C. (2009). Prophylactic role of arjunolic acid in response to streptozotocin mediated diabetic renal injury: Activation of polyol pathway and oxidative stress responsive signaling cascades. *Chemico-Biological Interactions*, 181(3), 297–308. doi:10.1016/j.cbi.2009.08.004
- Miao, M., Niu, Y., Xie, T., Yuan, B., Qing, C. ve Lu, S. (2012). Diabetes-impaired wound healing and altered macrophage activation: A possible pathophysiologic correlation. *Wound Repair and Regeneration*, 20(2), 203–213. doi:10.1111/j.1524-475X.2012.00772.x
- Miller, C., McGuinness, W., Wilson, S., Cooper, K., Swanson, T., Rooney, D., ... Woodward, M. (2017). Venous leg ulcer healing with electric stimulation therapy: A pilot randomised controlled trial. *Journal of Wound Care*, 26(3), 88–98. doi:10.12968/jowc.2017.26.3.88
- Mutlu, S. ve Yılmaz, E. (2019). Yara Yönetiminde Güncel Yaklaşımlar. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(4), 481–494.
- New York State Nurses Association. (2018). Position Statement on the Use of Complementary and Alternative Therapies in the Practice of Nursing. <https://www.nysna.org/position-statement-use-complementaryand-alternative->

- therapiespractice-nursing#.XvChf2gzbIU adresinden erişildi.
- Niki, E. (1987). Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44(2–4), 227–253. doi:10.1016/0009-3084(87)90052-1
- Ogrin, R., Darzins, P. ve Khalil, Z. (2005). Use of the sensory nerve stimulator to accelerate healing of a venous leg ulcer with sensory nerve dysfunction: A case study. *International Wound Journal*, 2(3), 242–251. doi:10.1111/j.1742-4801.2005.00122.x
- Okonkwo, U. A., Chen, L., Ma, D., Haywood, V. A., Barakat, M., Urao, N. ve DiPietro, L. A. (2020). Compromised angiogenesis and vascular Integrity in impaired diabetic wound healing. *PLoS ONE*, 15(4), 1–17. doi:10.1371/journal.pone.0231962
- Okonkwo, U. A. ve Dipietro, L. A. (2017). Diabetes and wound angiogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1–15. doi:10.3390/ijms18071419
- Onat, A., Çakir, H., Karadeniz, Y., Dönmez, I., Karagöz, A., Yüüksel, M. ve Can, G. (2014). TEKHARF 2013 taraması ve diyabet prevalansında hızlı artış. *Türk Kardiyoloji Dernegi Arsivi*, 42(6), 511–516. doi:10.5543/tkda.2014.27543
- Onat, A. ve Can, G. (2017). *Erişkinlerimizde Kalp Hastalıkları Prevalansı, Yeni Koroner Olaylar ve Kalpten Ölüm Sıklığı*. (O. Altan, Ed.)Logos Yayıncılık Tic. A.Ş. <http://file.tkd.org.tr/PDFs/TEKHARF-2017.pdf> adresinden erişildi.
- Ornitz, D. M. ve Itoh, N. (2015). The fibroblast growth factor signaling pathway. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 4(3), 215–266. doi:10.1002/wdev.176
- Osier, N. D., Pham, L., Savarese, A., Sayles, K. ve Alexander, S. A. (2016). Animal models in genomic research: Techniques, applications, and roles for nurses. *Applied Nursing Research*, 32, 247–256. doi:10.1016/j.apnr.2016.07.016
- Özcan, O., Erdal, H. ve Yönden, Z. (2015). İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Oksidatif Stress İlişkisine Biyokimyasal Bakış. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 6(23), 27–33. doi:10.17944/mkutfd.54113
- Özsoy, S. ve Yıldırım, J. G. (2012). Hemşirelikte Hayvan Araştırmaları. *Hemşirelikte Araştırma Geliştirme Dergisi*, 1, 56–69.
- Öztopalan, D. F., Işık, R. ve Durmuş, A. S. (2017). Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinlerin Rolü. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10(1), 83–88.

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/duvetfd/issue/32735/363538> adresinden erişildi.

- Page, G. G. (2004). The importance of animal research to nursing science. *Nursing Outlook*, 52(2), 102–107. doi:10.1016/j.outlook.2003.10.011
- Palmieri, B., Vadalà, M. ve Laurino, C. (2020). Electromedical devices in wound healing management: A narrative review. *Journal of Wound Care*, 29(7), 408–418. doi:10.12968/jowc.2020.29.7.408
- Parsak, C. K., Sakman, G. ve Çelik, Ü. (2007). Yara İyileşmesi, Yara Bakımı ve Komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(2), 145–159. doi:10.17827/aktd.64247
- Peng, T. I., Yu, P. R., Chen, J. Y., Wang, H. L., Wu, H. Y., Wei, Y. H. ve Jou, M. J. (2006). Visualizing common deletion of mitochondrial DNA-augmented mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis upon oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1762(2), 241–255. doi:10.1016/j.bbadis.2005.10.008
- Pranata, M. S., Nugroho, D. K. H. ve Sujianto, D. U. (2016). The Effect Of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (Tens) Towards Pain Level Of Patients With Diabetes Mellitus (Dm) With Peripheral Neuropathy In Diabetic Foot Ulcer Treatment In Yogyakarta General Hospital Indonesia. *IOSR Journal of Nursing and Health Science*, 5(5), 76–80. doi:10.9790/1684-0505037680
- Qaseem, A., Humphrey, L. L., Forciea, M. A., Starkey, M. ve Denberg, T. D. (2015). Treatment of pressure ulcers: A clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Annals of Internal Medicine*, 162(5), 370–379. doi:10.7326/M14-1568
- Qing, C. (2017). The molecular biology in wound healing & non-healing wound. *Chinese Journal of Traumatology - English Edition*, 20(4), 189–193. doi:10.1016/j.cjte.2017.06.001
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K. ve Kumar, M. N. V. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113(3), 189–207. doi:10.1016/j.jconrel.2006.04.015
- Resmi Gazete. (2011). Resmî Gazete. *Hemşirelik Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik*, s. 27910. Türkiye. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110419-5.htm> adresinden erişildi.
- Rizalar, S., Tural Büyük, E., Kaplan Uzunkaya, G., Şahin, R. ve As, T. (2019). Hemşirelerin

- yara bakım uygulamaları; Üniversite hastanesi örneği. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi* 2019, 12 (3), 163-169, 12(3), 163–169.
- Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y. ve Vergely, C. (2014). Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1840(9), 2709–2729. doi:10.1016/j.bbagen.2014.05.017
- Rodero, M. P. ve Khosrotehrani, K. (2010). Skin wound healing modulation by macrophages. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 3(7), 643–653.
- Roman, C. D., Choy, H., Nanney, L., Riordan, C., Parman, K., Johnson, D. ve Beauchamp, R. D. (2002). Vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis inhibition and postoperative wound healing in rats. *Journal of Surgical Research*, 105(1), 43–47. doi:10.1006/jsre.2002.6444
- Roy, S., Metya, S. K., Sannigrahi, S., Rahaman, N. ve Ahmed, F. (2013). Treatment with ferulic acid to rats with streptozotocin-induced diabetes: Effects on oxidative stress, pro-inflammatory cytokines, and apoptosis in the pancreatic β cell. *Endocrine*, 44(2), 369–379. doi:10.1007/s12020-012-9868-8
- Sanapalli, B. K. R., Yele, V., Singh, M. K., Thaggikuppe Krishnamurthy, P. ve Karri, V. V. S. R. (2021). Preclinical models of diabetic wound healing: A critical review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 142, 111946. doi:10.1016/j.biopha.2021.111946
- Sançar B, Canbulat Ş, İ. S. (2019). Yara Bakımında Kullanılan Bitkisel Yöntemler ve Hemşirelik. *Türkiye Klinikleri J Intern Med Nurs-Special Topics*, 3(2)(August 2017), 116–124.
- Sanchez, M. C., Lancel, S., Boulanger, E. ve Neviere, R. (2018). Targeting oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the treatment of impaired wound healing: A systematic review. *Antioxidants*, 7(8), 1–14. doi:10.3390/antiox7080098
- Sarandy, M. M., Novaes, R. D., Xavier, A. A., Vital, C. E., Leite, J. P. V., Melo, F. C. S. A. ve Gonçalves, R. V. (2017). Hydroethanolic Extract of *Strychnos pseudoquina* Accelerates Skin Wound Healing by Modulating the Oxidative Status and Microstructural Reorganization of Scar Tissue in Experimental Type i Diabetes. *BioMed Research International*, 9538351, 11. doi:10.1155/2017/9538351
- Scicchitano, B. M., Pelosi, L., Sica, G. ve Musarò, A. (2018). The physiopathologic role of oxidative stress in skeletal muscle. *Mechanisms of Ageing and Development*, 170, 37–44.

doi:10.1016/j.mad.2017.08.009

- Sebastian, A., Iqbal, S. A., Colthurst, J., Volk, S. W. ve Bayat, A. (2015). Electrical Stimulation Enhances Epidermal Proliferation in Human Cutaneous Wounds by Modulating p53-SIVA1 Interaction. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(4), 1166–1174. doi:10.1038/jid.2014.502
- Sebranek, J. J., Lugli, A. K. ve Coursin, D. B. (2013). Glycaemic control in the perioperative period. *British Journal of Anaesthesia*, 111(S1), i18-34. doi:10.1093/bja/aet381
- Sezer, K. ve Keskin, M. (2014). Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi*, 28(1), 49–56.
- Shivananjappa, M. M. ve Muralidhara. (2012). Taurine attenuates maternal and embryonic oxidative stress in a streptozotocin-diabetic rat model. *Reproductive BioMedicine Online*, 24(5), 558–566. doi:10.1016/j.rbmo.2012.01.016
- Sindrilaru, A. ve Scharffetter-Kochanek, K. (2013). Disclosure of the Culprits: Macrophages—Versatile Regulators of Wound Healing. *Advances in Wound Care*, 2(7), 357–368. doi:10.1089/wound.2012.0407
- Singh, S., Young, A. ve McNaught, C. E. (2017). The physiology of wound healing. *Surgery (United Kingdom)*, 35(9), 473–477. doi:10.1016/j.mpsur.2017.06.004
- Siqueira, M. F., Li, J., Chehab, L., Desta, T., Chino, T., Krothpali, N., ... Graves, D. T. (2010). Impaired wound healing in mouse models of diabetes is mediated by TNF- α dysregulation and associated with enhanced activation of forkhead box O1 (FOXO1). *Diabetologia*, 53(2), 378–388. doi:10.1007/s00125-009-1529-y
- Song, Y., Yin, J., Chang, H., Zhou, Q., Peng, H., Ji, W. ve Song, Q. (2018). Comparison of four staining methods for detecting eosinophils in nasal polyps. *Scientific Reports*, 8(1), 1–5. doi:10.1038/s41598-018-36102-y
- Steiling, H., Munz, B., Werner, S. ve Brauchle, M. (1999). Different types of ROS-scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Experimental Cell Research*, 247(2), 484–494. doi:10.1006/excr.1998.4366
- Stockmann, C., Kirmse, S., Helfrich, I., Weidemann, A., Takeda, N., Doedens, A. ve Johnson, R. S. (2011). A Wound Size–Dependent Effect of Myeloid Cell–Derived Vascular Endothelial Growth Factor on Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*,

131(3), 797–801. doi:10.1038/jid.2010.339

Sun, X., Wang, X., Zhao, Z., Chen, J., Li, C. ve Zhao, G. (2020). Paeoniflorin accelerates foot wound healing in diabetic rats through activating the Nrf2 pathway. *Acta Histochemica*, 122(8), 151649. doi:10.1016/j.acthis.2020.151649

Sun, Y., Oberley, L. W. ve Li, Y. (1988). A simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497–500.

Tang, W. H., Martin, K. A. ve Hwa, J. (2012). Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 1–8. doi:10.3389/fphar.2012.00087

Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456. doi:10.4239/wjd.v6.i3.456

Tchaikovski, V., Olieslagers, S., Böhmer, F. D. ve Waltenberger, J. (2009). Diabetes mellitus activates signal transduction pathways resulting in vascular endothelial growth factor resistance of human monocytes. *Circulation*, 120(2), 150–159. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.817528

Tekin, İ. Ö. (2015). Yara İyileşmesinde İmmünolojik Mekanizmalar. *Türkiye Klinikleri*, 4(1), 20–26.

Tepebaşı, Y. M. (2017). Yara iyileşmesinin hücrel ve moleküler mekanizması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 23(4), 140–146.

Thakral, G., LaFontaine, J., Najafi, B., Talal, T. K., Kim, P. ve Lavery, L. A. (2013). Electrical stimulation to accelerate wound healing. *Diabetic Foot and Ankle*, 4, 1–9. doi:10.3402/dfa.v4i0.22081

Tohumat, Ş. G., Türkmen, A. ve Kanan, N. (2017). Hipertermik İntraperitoneal Kemoterapi Uygulaması ve Hemşirelik Bakımı. *International Mediterranean Congress on Natural Sciences and Engineering (MENSEC)* içinde (ss. 121–130). Podgorica, Montenegro.

Türkiye Diyabet Programı. (2014). *Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu*. Ankara. <https://www.diyabetimben.com/wp-content/uploads/2014/11/turkiyedyabetprogrami.pdf> adresinden erişildi.

Türkiye Diyabet Vakfı. (2021). *Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi* (10. bs.). İstanbul. https://www.turkdiab.org/admin/PICS/webfiles/Diyabet_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_2021.pdf adresinden erişildi.

- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. (2020). *TEMĐ Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu* (14. bs.). Ankara. https://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf adresinden erişildi.
- Ud-Din, S. ve Bayat, A. (2014). Electrical stimulation and cutaneous wound healing: A review of clinical evidence. *Healthcare (Switzerland)*, 2(4), 445–467. doi:10.3390/healthcare2040445
- Ud-Din, S., Sebastian, A., Giddings, P., Colthurst, J., Whiteside, S., Morris, J., ... Bayat, A. (2015). Angiogenesis is induced and wound size is reduced by electrical stimulation in an acute wound healing model in human skin. *PLoS ONE*, 10(4), 1–22. doi:10.1371/journal.pone.0124502
- Ulusal Tez Merkezi. (2020). YÖK Ulusal Tez Merkezi. *Yükseköğretim Kurulu Başkanlığı*. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp> adresinden erişildi.
- Vural, P. (2018). Fizyolojik ve Patolojik Anjiogenezde Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörünün Rolü. *Türk Klinikleri Biyokimya Dergisi*, 16(1), 53–62.
- Werner, S., Breeden, M., Hübner, G., Greenhalgh, D. G. ve Longaker, M. T. (1994). Induction of keratinocyte growth factor expression is reduced and delayed during wound healing in the genetically diabetic mouse. *Journal of Investigative Dermatology*, 103(4), 469–473. doi:10.1111/1523-1747.ep12395564
- Wicks, K., Torbica, T. ve Mace, K. A. (2014). Myeloid cell dysfunction and the pathogenesis of the diabetic chronic wound. *Seminars in Immunology*, 26(4), 341–353. doi:10.1016/j.smim.2014.04.006
- Wikström, S. O., Svedman, P., Svensson, H. ve Tanweer, A. S. (1999). Effect of transcutaneous nerve stimulation on microcirculation in intact skin and blister wounds in healthy volunteers. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery*, 33(2), 195–201. doi:10.1080/02844319950159451
- Wu, J. ve Yan, L. J. (2015). Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 8, 181–188. doi:10.2147/DMSO.S82272
- Wukich, D. K., Lowery, N. J., McMillen, R. L. ve Frykberg, R. G. (2010). Postoperative infection rates in foot and ankle surgery: A comparison of patients with and without

- diabetes mellitus. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A*, 92(2), 287–295. doi:10.2106/JBJS.I.00080
- Yan, L. J. (2014). Pathogenesis of chronic hyperglycemia: From reductive stress to oxidative stress. *Journal of Diabetes Research*, 2014. doi:10.1155/2014/137919
- Yazar, H. ve Karaca, R. İ. (2016). Yumuşak Dokuda Yara İyileşmesi, Etkileyen Faktörler ve Skar Revizyonu. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 15, 152–161.
- Yazır, Y., Gonca, S., Filiz, S. ve Dalçık, H. (2004). Endotel Hücreleri İçin Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), Ailenin Üyeleri , Yapısı ve Sentezi. *Cumhuriyet Üniv. Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(4), 181–184.
- Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T. ve Mori, M. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 135(3), 372–376. doi:10.1016/0002-9378(79)90708-7
- Yu, K. P., Yoo, S. B., Yang, S. J. ve Yoon, Y. S. (2015). The effect of electrical stimulation combined with foam dressing on ulcer healing in rats with spinal cord injury. *Advances in Skin and Wound Care*, 28(11), 495–502. doi:10.1097/01.ASW.0000470553.85257.84
- Yun, Y. R., Won, J. E., Jeon, E., Lee, S., Kang, W., Jo, H., ... Kim, H. W. (2010). Fibroblast growth factors: Biology, function, and application for tissue regeneration. *Journal of Tissue Engineering*, 1(1), 1–18. doi:10.4061/2010/218142
- Yussof, S. J. M., Omar, E., Pai, D. R. ve Sood, S. (2012). Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 45(2), 220–228. doi:10.4103/0970-0358.101282
- Zhao, M., Bai, H., Wang, E., Forrester, J. V. ve McCaig, C. D. (2004). Electrical stimulation directly induces pre-angiogenic responses in vascular endothelial cells by signaling through VEGF receptors. *Journal of Cell Science*, 117(3), 397–405. doi:10.1242/jcs.00868
- Ziech, D., Franco, R., Georgakilas, A. G., Georgakila, S., Malamou-Mitsi, V., Schoneveld, O., ... Panayiotidis, M. I. (2010). The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-Biological Interactions*, 188(2), 334–339. doi:10.1016/j.cbi.2010.07.010