

T.C
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOTEKNOLOJİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DEVE WHEY PROTEİNİNİN YARA İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ŞEVİN ECE GÜNDEŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Seda ÖRENAY BOYACIOĞLU
Doç. Dr. Olcay BOYACIOĞLU

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından MF-20007 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım, bilgi ve hoşgörülerini esirgemeyen sevgili danışmanlarım Doç. Dr. Seda ÖRENAY BOYACIOĞLU ve Doç. Dr. Olcay BOYACIOĞLU'na çok teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca desteklerini ve ilgisini esirgemeyen Dr. Burçin İrem ABAS, Dr. Harun ÇİMEN, Dr. Ömer ERDOĞAN, Prof. Dr. Özge ÇEVİK ve Dr. Öğr. Üyesi Selda BULCA'ya çok teşekkür ederim. Her konuda beni destekleyen Moleküler Biyoteknoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN ve Prof. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL'e teşekkür ederim. Yüksek lisansım boyunca, tez çalışmalarım sırasında da elini hiç üstümden çekmeyen; desteğini, ilgisini ve sevgisini esirgemeyen Dr. Mürüvvet ABBAK'a çok teşekkür ederim.

MF-20007 proje numarasıyla tez çalışmamı destekleyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca laboratuvarlarından yararlandığım Adnan Menderes Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi ve ADÜ REDPROM'a teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam süresince desteklerini bir an olsun esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarım; Öyküsu ATILGAN, Seçil TECİMEN, Mustafa Berk DABANCA, Ceylan AK, Merve MEMİŞ, Kübra Sıla VURAL, Gülsu ÖZKAN, Zeynep ERDEM AYNUR, Demet YALÇIN BİNGÜL, Ezgi DÜZTEPE, Abdulkerim KARAYNİR, Melis YALÇIN, Sahd ALİ, Mehmet AYTAR, Yunus DOĞAN ve Rabia YİĞİT'e çok teşekkür ederim.

Bütün okul hayatım boyunca benimle hiç bıkmadan beyin fırtınası yapıp, doğru bilgiye iten ve hep destekleyen arkadaşım Sinem EVLİ'ye çok teşekkür ederim.

Bütün bu süreç boyunca her zaman yanımda olan arkadaşlarım Melike, Günay, Sinem, Ada Hazal, Bahar, Batuğhan, Özlem, Dilruba, Helin ve Ceren'e ayrıca teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi, manevi yanımda ve arkamda duran sevgili anneme ve babama, üç kardeşimin her birine, anneanneme, teyzeme, dayıma, kuzenlerim Emre, Hazal, Dila'ya ve hayat arkadaşım, canım sevgilim Nevzat'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	Error! Bookmark not defined.
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Deve	2
2.1.1. Deve Sütü ve İçeriği	2
2.2. İnek Sütü ve İçeriği.....	6
2.2.1. Su.....	6
2.3. İnek ve Deve Whey Proteinleri.....	9
2.4. Deve Sütü ve Whey Proteininin Sağlık Alanında Kullanımı	10
2.5. Yara İyileşmesi	12
2.5.1. Yara İyileşme Aşamaları	12
2.6. Yara Onarım Tipleri	15
2.7. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	16
2.8. Whey Proteini ile Yapılan Yara İyileşmesi Çalışmaları.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Gereç	19
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Süt Örnekleri.....	19
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	19

3.1.3. Kullanılan Cihazlar	20
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Süt Örneklerinin Alınması ve Kremasından Arındırılması	20
3.2.2. Deve ve İnek Sütünden Asit Whey Eldesi.....	21
3.2.3. Deve ve İnek Sütünden Sweet Whey Eldesi.....	22
3.2.4. Whey Proteinlerinin Diyaliz Edilmesi.....	25
3.2.5. Liyofilizasyon	25
3.2.6. Liyofilizatların Tartımı	26
3.2.7. SDS-PAGE (Sodyum Dodesilsülfat – Poliakrilamid Jel Elektroforez) Uygulaması ...	27
3.2.8. Hücre Kültürü	28
3.2.9. Proteinlerin Hazırlanması	29
3.2.10. Yara İyileşmesi Deneyi.....	30
3.2.11. Yara İyileşmesi Ölçümleri	300
3.2.12. İstatistiksel Değerlendirmeler	300
4. BULGULAR.....	311
5. TARTIŞMA.....	422
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	455
KAYNAKLAR.....	466
BİLİMSEL ETİK BEYANI	555
ÖZ GEÇMİŞ.....	Error! Bookmark not defined. 6

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APS: Amonyum persülfat

Ca: Kalsiyum

CO₂: Karbondioksit

Cu: Bakır

CX3CL1: Fraktalkin

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

ECM: Extra Cellular Matrix

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

Fe: Demir

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

HCl: Hidroklorik asit

I: İyot

Ig: İmmunoglobulin

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IL: İnterlökin

K: Potasyum

KC: Denge sabiti

KDa: Kilodalton

LPS: Lipopolisakkarit

MIP: Makrofaj Enflamatuar Proteinler

Mg: Magnezyum

MMP: Matriks Metalloproteinaz

Mn: Manganez

MS: Multiple Sclerosis

MWCO: Molecular Weight Cut-Off

N₂: Diazot

Na: Sodyum

O: Oksijen

P: Fosfor

PBS: Phosphate Buffered Saline

PDGF: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü

PGRP: Peptidoglikan Tanıma Proteini

RGF: Transforme Edici Büyüme Faktörü

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

S: Kükürt

SOD: Süperoksit Dismutaz

TEMED: Tetrametilendiamin

TGF: Dönüştürücü Büyüme Faktörü

TNF: Tümör Nekroz Faktör

Zn: Çinko

βD: Beta defensin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Deve Sweet Whey ve Yara iyileşmesi Yüzdeleri	333
Şekil 2. Deve Asit Whey ve Yara İyileşme Yüzdeleri	355
Şekil 3. İnek Sweet Whey ve Yara İyileşmesi Yüzdeleri.....	377
Şekil 4. İnek Asit Whey ve Yara İyileşmesi Yüzdeleri.....	39

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Santrifüj işlemi sonrası deve sütünden kremasının ayrıştırılması.	21
Resim 2. Santrifüj işlemi sonrası inek sütünden kremasının ayrıştırılması.	21
Resim 3. Santrifüj sonrası deve ve inek sütünden kazeinin çöktürülmesi.	22
Resim 4. 1 saatlik mayalanma ardından kazeinlerin çökmesi.....	23
Resim 5. Sweet wheylerin filtre kâğıdından süzdürülmesi.	23
Resim 6. Süzmenin ardından elde edilmiş peynir altı suyu.	24
Resim 7. Santrifüj sonrası kazeinden tamamen arındırılmış peynir altı suyu.	24
Resim 8. Whey proteinlerinin diyaliz tüpüne aktarılması.....	25
Resim 9. Liyofilizasyon işlemi.	26
Resim 10. SDS-Page Jel Elektforezi görüntüsü.	311
Resim 11. Altı farklı dozda uygulanmış deve sweet whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.	322
Resim 12. Altı farklı dozda uygulanmış deve asit whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.	344
Resim 13. Altı farklı dozda uygulanmış inek sweet whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.	366
Resim 14. Altı farklı dozda uygulanmış inek asit whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.	38

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Deve sütü whey proteinlerinin bileŒenleri ve biyolojik aktiviteleri	4
Tablo 2. İnek asit whey'in protein içeriği ve moleküler ağırlıkları	9
Tablo 3. Deve ve inek sütünün içerik olarak karŒılaŒtırılması.....	9
Tablo 4. Whey proteinlerinin diyaliz öncesi ve liyofilizasyon sonrası miktarları	26
Tablo 5. Üst ve alt jellerin içerikleri	27
Tablo 6. Hazırlanan proteinler ve medium miktarı ile konsantrasyonları.	29
Tablo 7. Farklı dozlarda 4 farklı whey'in baŒlangı saatine göre gösterdikleri ortalama yara iyileŒme oranları ve standart sapma değerleri.	41

ÖZET

DEVE WHEY PROTEİNİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gündeş Ş.E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoteknoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Whey proteinlerinin yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir. Ancak asit veya enzim (sweet) kullanılarak üretilen whey proteinlerinin yara iyileşmesindeki rolü açık değildir. Bu araştırmada deve asit ve sweet whey proteinlerinin yara iyileşmesi üzerine etkinlikleri araştırılıp inek asit ve sweet whey proteinleri ile karşılaştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Yerli çiftliklerden alınan çığ deve ve inek sütleri kremadan arındırıldı. Elde edilen yağsız süttten HCl kullanılarak asit whey, peynir mayası rennet kullanılarak sweet whey elde edildi. Kazein uzaklaştırıldıktan sonra whey, 72 saat diyaliz edilip dondurularak kurutuldu ve SDS-PAGE ile analiz edildi. Yara iyileşmesi için 96 kuyulu mikropalakaya HT-29 insan kolon kanser hücreleri ekilip 1 gün inkübasyondan sonra hücreler arasına çizik atılarak hücresiz alanlar oluşturuldu. Kuyucuklara deve ve inek sütünden asit ve sweet whey proteinleri (0-1000 µg/ml) eklenerek hücresiz alanlardaki kapanma 48 saate kadar gözlemlendi. Sonuçlar ANOVA ve Bonferroni post-hoc test ile analiz edildi.

Bulgular: Uygulanan whey protein dozları yara iyileşmesini negatif kontrole (0 µg/ml) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($P<0,05$) arttırdı. Fakat uygulanan en yüksek doz (1000 µg/ml) ile negatif kontrol arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($P>0,05$). Asit whey sweet whey'e göre yara iyileşmesini anlamlı derecede ($P<0,05$) arttırdı. En yüksek yara iyileşme yüzdesi (%64,69) 48 saatte 10 µg/ml deve asit whey ile gözlemlendi. İnek sweet whey proteinlerinin deve sweet whey'e göre yara iyileşmesini istatistiksel olarak anlamlı derecede ($P<0,05$) arttırdığı görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada deve ve inek sütü whey proteinlerinin yara iyileşmesini arttırdığı, muamele süresi ile yara iyileşmesi arasında doğru orantı olduğu, deve asit whey'in sweet whey'e göre daha fazla iyileşme sağladığı, inek sweet whey'in deve sweet whey'e göre daha fazla iyileşme sağladığı saptandı. Bu anlamda deve asit whey ve inek sweet whey proteinleri yara iyileşmesini teşvik edici olarak kullanım alanı bulabilir.

Anahtar kelimeler: Deve whey, İnek whey, Kolon kanseri, Yara iyileşmesi, HT-29

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CAMEL WHEY PROTEINS ON WOUND HEALING

Gundes S.E. Aydin Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Molecular Biotechnology Program, Master Thesis, Aydin, 2022.

Objective: Whey proteins are known to accelerate wound healing. However, the role of whey proteins produced using acid or enzyme (sweet) in wound healing is not clear. In this study, the effectiveness of camel acid and sweet whey proteins on wound healing was investigated and compared with cow acid and sweet whey proteins.

Material and Methods: Raw camel and cow milks bought from local farms were freed from cream. Acid whey was obtained from the skimmed milk using HCl, and sweet whey was obtained using rennet. After the casein was removed, the whey was dialyzed for 72 hours, freeze-dried and analyzed by SDS-PAGE. For wound healing, HT-29 human colon cancer cells were seeded in a 96-well microplate and after 1 day of incubation, cell-free areas were created by scratching between the cells. By adding acid and sweet whey proteins (0-1000 µg/ml) from camel and cow's milk to the wells, closure in cell-free areas was observed up to 48 hours. Results were analyzed by ANOVA and Bonferroni post-hoc test.

Results: The applied whey protein doses increased the wound healing statistically significantly ($P < 0.05$) compared to the negative control (0 µg/ml). However, no significant difference was observed between the highest dose administered (1000 µg/ml) and the negative control ($P > 0.05$). Acid whey significantly ($P < 0.05$) increased wound healing compared to sweet whey. The highest wound healing rate (64.69%) was observed with 10 µg/ml camel acid whey in 48 hours. It was observed that cow sweet whey proteins increased wound healing significantly ($P < 0.05$) compared to camel sweet whey.

Conclusion: In this study, it was found that camel and cow's milk whey proteins increased wound healing. There was a direct relationship between treatment time and wound healing. Camel acid whey provided more healing than sweet whey. Cow sweet whey was more effective than camel sweet whey. In this sense, camel acid whey and cow sweet whey proteins can find use as promoting agents in wound healing.

Keywords: Camel whey, Cow whey, Colon cancer, Wound healing, HT-29

1. GİRİŞ

Deve, Camelidae (Devegiller) familyasının *Camelus* cinsini kapsayan iki evcilleştirilmiş hayvan türünün ortak adıdır (Yadav ve diğerleri., 2015) ve yüzyıllardır kurak ve yarı kurak bölgelerde yaşayan toplumlarda sadece taşıma amaçlı değil, iyi bir süt kaynağı olmasıyla da önemli bir hayvandır (Saygılı ve Karagözlü, 2017).

Süt sektöründe peynir atığı olarak bilinen peynir altı proteini olan whey proteini, süt proteinlerinin %20'lik kısmını oluşturan, içerisinde önemli serum proteinlerinden olan β -laktoglobulin, serum albümini, α -laktalbumin, peptitler ve immüoglobulinleri kapsayan kompleks bir proteindir (Korhonen ve diğerleri., 1998).

Özellikle diyabetli hastalarda yara iyileşme süresinde meydana gelen gecikmeler, en ciddi komplikasyonlardan biridir. Bu gecikmeye sebep olan ana unsur uygunsuz ya da yanlış yara iyileşmesinde çoğalan mikroorganizma varlığıdır. Whey proteinleri, diyabetli bireylerde lezyonlu doku hücrelerinin immun yanıtını arttırıp, bazı diyabetik komplikasyonları hafifletip, yara iyileşmesini hızlandırmıştır (Badr, 2013). Streptozotosin kaynaklı diyabetik farelerde yapılan bir araştırmada deve whey proteinlerinin yara boyutunu azalttığı görülmüştür (Al-Ayadhi ve Elamin, 2013; Al-Hashem Fahaid, 2009). Ancak literatürdeki çalışmalar yetersiz olup, deve asit ve sweet whey proteinlerinin yara iyileşmesindeki rolü açık değildir.

Bu çalışmanın amacı deve asit ve sweet whey proteinlerinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak ve bu etkileri inek asit ve sweet whey proteinlerinin etkileri ile karşılaştırmaktır. Elde edilecek sonuçlar ile yara iyileşmesi üzerine etkilerinin belirlenmesi, uygun dozun seçilmesi ve yara iyileşmesi çalışmalarına ışık tutması, deneysel çalışmalara katkıda bulunması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deve

Deve, Camelidae (Devegiller) familyasının *Camelus* cinsini kapsayan iki evcilleştirilmiş hayvan türünün ortak adıdır. Bu iki tür; Hindistan, İran, Suriye, Mısır ve Arabistan gibi Afrika ve Güney Asya'da yetiştirilmekte olan tek hörgüçlü *C. dromedarius* ile Orta Asya'da yetiştirilmekte olan çift hörgüçlü *C. bactrianus*'tur (Yadav ve diğerleri., 2015).

Deve, yüzyıllardır kurak ve yarı kurak bölgelerde yaşayan toplumlarda sadece taşıma amaçlı değil, iyi bir süt kaynağı olmasıyla da önemli bir hayvandır (Saygılı ve Karagözlü, 2017). Su yetersizliği olan sert ve sıcak iklimlerde kısıtlı kaynaklarla yetiştirilmeye uygun, dayanıklı bir hayvan türü olmasından kaynaklı; günümüzde ulaşım, yük taşıma ve ülkemizde sportif amaçlı deve güreşleri için yetiştirilmekte olan bir türdür (Atasoy ve Özbaşer, 2014; Semen ve Arif, 2016).

Küresel düzeyde, deve yetiştiriciliğinin ekonomideki önemi, diğer evcilleştirilmiş hayvanların yetiştiriciliğine kıyasla daha az seviyededir. Bunun sebebi, maliyetinin örneğin süt yetiştiriciliğine kıyasla daha yüksek olmasıdır (Brezovečki ve diğerleri., 2015). Sütü için evcilleştirilmiş olan ilk hayvan olmasıyla birlikte, insan sütüne en yakın süt içeriğine sahip hayvandır (Badr, 2013; Levy ve diğerleri., 2013).

2.1.1. Deve Sütü ve İçeriği

İnek sütünün sahip olduğu tüm besin maddelerine sahip olan deve sütünün bileşimini yem, su tüketimi, hastalık, devenin cinsi ve laktasyon etkilemektedir. Rengi opak beyaz, bazen tuzlu ve keskin, hafif ekşi tattadır (Al haj ve Al Kanhal, 2010; Saygılı ve Karagözlü, 2017)

Deve sütü, su, süt proteinleri, deve sütü lipitleri, süt şekeri laktoz, deve sütü mineralleri ve vitaminlerden oluşur.

2.1.1.1. Proteinler

Deve sütü proteini, farklı niteliklerde proteinlerin bir karışımı olup 30'dan fazla fraksiyondan meydana gelmektedir. Bu proteinler iki ana grupta toplanır. Bunlar kazein ve whey proteinleridir.

2.1.1.1.1. Kazein

Doğada yalnızca sütte bulunan ve süt proteinlerinin en önemli bölümüdür. Süt proteinlerinin %80'ini oluşturur. Sütün içerisinde miseller halinde bulunur. Kazein miseli α -kazein, β -kazein, κ -kazein gibi bileşenlerden meydana gelir. Deve sütündeki toplam proteinin %52-87'si ve sütün %1,60-2,70'i kazeinden oluşmaktadır.

Deve sütündeki kazeinin ana bileşeni α 1-kazein, ardından β -kazein gelmektedir. β -kazein toplam kazein miktarının %20-65'ini oluşturur. Deve sütünün kazein miktarı bakımından da insan anne sütüne benzerlik göstermesinin sebebi yüksek β -kazein içermesidir (Al haj ve Al Kanhal, 2010; D. Kumar ve diğerleri., 2016).

2.1.1.1.2. Deve Whey Proteinleri

Yağsız sütten kazeininin uzaklaştırılmasının ardından geriye kalan kısma whey (serum) proteini denir. Bu serum proteinleri de birçok fraksiyondan meydana gelmektedir ve süt proteinlerinin %20'lik kısmını oluşturmaktadır. Bu %20'lik kısmın %0,7'si proteindir.

Bu serum proteinleri immünoglobülin, lizozim, laktoferrin, laktoperoksidaz, serum albümin ve proteaz-peptonlar gibi proteinleri kapsar. Deve sütü whey proteinlerinin esas bileşimini α -laktoalbmin oluşturmakta, inek sütünün aksine β -laktogloblin bakımından insan anne sütü gibi az miktardadır (Al haj ve Al Kanhal, 2010).

Deve sütünde bulunan laktoferrin pH 3-4'te N-terminal ucunda, pH 6-7'de C-terminal ucundan demir kaybederken; diğer memeli hayvanların sütünde bulunan laktoferrin pH 3-4'te demir tutar (Khan ve diğerleri., 2001).

Deve sütü whey proteinlerinin bileşenleri ve biyolojik aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Deve sütü whey proteinlerinin bileşenleri ve biyolojik aktiviteleri

Bileşen	Biyolojik aktivite
α -laktalbumin	Antijen stimülasyonuna karşı antikor tepkisinin artırılması ve bebek maması üretiminde kullanılır (Bounous ve diğerleri., 1989).
Laktoferrin	Mikroorganizmalara karşı anti mikrobiyal aktiviteler, antikanser ve anti inflamatuvar etkileri mevcuttur (Legrand ve diğerleri., 2008).
Lizozom	Süt, tükürük ve gözyaşında bulunan antibakteriyel protein ve dolayısıyla doğuştan gelen bağışıklığı arttırmakta önemli rol oynar (El-Agamy ve diğerleri., 2009).
İmmüoglobulin	Bağışıklık fonksiyonlarını geliştirir (Laleye ve diğerleri., 2008).
Laktoperoksidaz	Bakteriyel büyümeyi baskılayıcı etkileri mevcuttur (Konuspayeva ve diğerleri., 2007).
Glikomakropeptit	Asit mide salgısı üzerinde engelleyici bir etkiye sahiptir ve sindirim peptitlerini düzenleyen kan konsantrasyonunu değiştirir (El-Hatmi ve diğerleri., 2007).
Peptidoglikan tanıma proteini	Bakteriyel peptidoglikanlara bağlanır (S. R. Kappeler ve diğerleri., 2004).

Deve sütünde bulunan peptidoglikan tanıma proteini (PGRP) yaklaşık 19,11 kDa boyutunda, arginin bakımından zengin, lizin bakımından fakir bir proteindir. Bu protein, deve sütünde laktoperoksidaz, lizozim ve laktoferrin gibi diğer proteinlerden daha yüksek oranda bulunur (Kappeler, 1998; Kappeler ve diğerleri., 2004).

2.1.1.2. Deve Sütü Lipitleri

Deve sütü düşük miktarda kolesterol ve diğer türlere oranla daha fazla doymamış yağ asitlerini, bazı fosfolipitleri içerir (Semen ve Arif, 2016). Deve sütünün içerisinde bulunan süt yağı enerji kaynağı, yağda çözünen vitaminler için çözücü ve ek olarak esansiyel yağ asitleri kaynağı bakımından önem taşır. Süt yağ asitlerinden C16:1 (palmitoleik asit) diğer türlere nazaran, deve sütünde daha fazla miktarda bulunur. Doymamış yağ asitlerinin yüksek miktarı nedeniyle deve sütü yağı mumumsu bir yapı kazanır (Hagrass ve diğerleri., 1987).

2.1.1.3. Laktoz

Deve sütündeki laktoz içeriği %2,4-5,8 değerleri arasında değişir (Konuspayeva ve diğerleri., 2009). Sütteki laktoz miktarı yemlerdeki bitki çeşitliliğine göre değişmektedir. Deve sütündeki laktoz miktarı inek sütüne nazaran daha az miktardadır (Soomro ve diğerleri., 2005).

2.1.1.4. Mineraller

Sütte bulunan anyonlar ve katyonlar tuz dengesini oluşturur. Bunlar; laktasyon periyodu, meme yapısı ve beslenmeyi etkilemektedir. Deve sütü içeriğinde bulunan Ca, Na, P, K gibi makro minerallerin içerdiği miktar bakımından inek sütüyle benzerlik göstermektedir. Deve sütündeki düşük miktarda bulunan sitrat, laktoferrin düzeyinin artmasına yol açmaktadır. Deve sütü ayrıca Fe ve Cu yönünden zengindir. Demir içeriği inek sütünden on kat kadar yüksek miktardadır (Mullaicharam, 2014).

2.1.1.5. Vitaminler

Deve sütü inek sütüne kıyasla yüksek oranda karnitin, niasin ve C vitamini içerir. Vitamin A ve vitamin E'yi düşük oranda içermesi dezavantajdır. İnek sütüyle kıyaslandığında daha düşük oranda vitamin B1, B2, pantotenik asit ve folik asit bulunduran deve sütü, bu vitaminler bakımından insan anne sütüyle kıyaslandığında daha yüksek orandadır (Mullaicharam, 2014).

2.2. İnek Sütü ve İçeriği

Sahip olduğu içerik ve besleyicilik açısından inek sütü, çok uzun senelerdir insanların tükettiği bir hayvansal gıdadır. Farklı toplumda üretim ve tüketim miktarı değişmektedir.

İnek sütü porselen beyazı renginde, kendine has koku ve tada sahip bir sıvıdır. Büyüme ve gelişmenin haricinde; yapısında bulunan ve fizyolojik öneme sahip immünoglobulinler, yağ asitleri, enzimler, büyüme faktörleri, vitamin ve mineral gibi içeriklerinden dolayı yaşam döngüsünde önemli özellikleri vardır. İnek sütünde ayrıca bir miktar N₂, CO₂, ve O₂ gazı bulunmaktadır.

İnek sütünün bileşiminde pek çok madde bulunmaktadır. Bunlar su ve kuru madde olarak iki ayrı grupta incelenebilmektedir.

2.2.1. Su

Sütün bileşiminin yaklaşık %80'ini oluşturmakta ve süt çeşidi, beslenmesi ve laktasyon süresine göre değişiklik göstermektedir.

2.2.2. Kuru Maddeler

Laktoz, yağ, proteinler, mineraller, vitaminler, enzimler ve koruyucu maddelerden oluşur.

2.2.2.1. Laktoz

Sütten başka hiçbir gıdada bulunmayan, hayvanların ve insanların bağırsaklarını yumuşatma özelliğine sahip, karbonhidratların disakkaritler grubuna giren süt şekeridir (Metin, 2005).

2.2.2.2. Yağ

Sütün görünüm, lezzet ve dayanıklılığını etkilemektedir. Meydana getirdiği kalori ve lezzet açısından sütün önemli bir organik maddesidir.

2.2.2.3. Vitaminler

İnek sütü içerisinde vitaminlerin çoğu bulunmaktadır. Süt yağı azaldığında içeriğindeki vitaminler de azalmaktadır (Gregory D. ve diğerleri., 2000; Lindmark-Mnsson ve Åkesson, 2000).

2.2.2.4. Mineraller

Süt yapısındaki tüm minerallerin farklı iŐlevleri vardır. İçerisinde Na, Mg, Fe, P ve az miktarda S, I, Cu, Zn ve Mn vardır (Gregory D. ve diğerleri., 2000; Lindmark-Mnsson ve Åkesson, 2000).

2.2.2.5. Enzimler

Metabolik reaksiyonları yürüten organik ve anorganik bileŐiklerdir. Sütün içerisinde fosfataz, kolesterolaz, laktaz, karotinaz, amilaz, proteaz gibi enzimler bulunmaktadır.

2.2.3. Koruyucu Maddeler

İmmünoglobulin, aglütinin ve antitoksinlerden meydana gelen antikorları taŐıyan süt, hayvanın organizmasında bakterilere ve yabancı proteinlere karşı meydana gelirler. Kan yolu aracılığıyla süte geçerler.

2.2.4. Proteinler

İnek sütü proteinleri kazein ve whey proteinlerinden oluŐmaktadır.

2.2.4.1. Kazein

Sütün içerisinde bulunan proteinlerin yaklaşık %80'lik kısmını oluşturur, sütün içerisinde kalsiyum tuzu halinde bulunurlar.

2.2.4.2. Whey Proteinleri

Süt proteinlerinin %20'lik kısmını oluşturan whey, içerisinde önemli serum proteinlerinden olan β -laktoglobulin, serum albümini, α -laktalbumin, peptitler ve immüoglobulinleri kapsayan kompleks bir proteindir (Korhonen ve diğeri., 1998). Kazein koagülasyon şekline göre asit ve ya sweet olabilmektedir (Tablo 2) (Barukčić ve diğeri., 2014). Whey protein konsantrasyonu ise beslenme, laktasyon zamanı, sütü çeşidi, whey proteininin tipi ve işleme kalitesine göre değişmektedir (Pintado ve diğeri., 2016).

İnek sütündeki serum proteinlerinin yarısını β -laktoglobulin oluşturmakta ve bu özelliğiyle deve sütüyle ayrılmaktadır. Sistein aminoasidi bakımından zengin olan β -laktoglobulin, karaciğer tarafından üretilen üç aminoaside sahip antikanserojenik glutatyon sentezinde görevlidir (De Wit, 1998).

Serum proteinlerinin kazeinden farklı olarak asitle çökmemesi ve kimozin enzimine direnç göstermesi bu proteinlerin serumda çözünür halde bulunmasını sağlar (De Wit, 1998).

α -laktalbumin özellikle yeni doğanlar için önemli bir enerji kaynağıdır ve laktoz biyosentezini desteklemekte, pH 4 değerinde çözünmekte olan bu protein, midede bulunan pepsin enzimine karşı hassasiyeti arttırıp ve sindirimi kolaylaştırmaktadır (Korhonen ve Pihlanto, 2006).

Serum albümin kan serum albüminine benzeyip, süte kılcal damarlardan geçmektedir. Kanda bulunan serbest yağ asitlerini bağlayıp, karaciğerde üretilen glutatyon için elzem bir kaynak oluşturmaktadır.

Laktoferrin ve laktoperoksidaz serumda miktar olarak az bulunmaktadır. Demir içeren protein olan laktoferrin 25 aminoasitten meydana gelmektedir. İki küresel yapıdan oluşan laktoferrinin her parçası Fe^{+3} iyonu taşır ve bağırsaklardaki demir emiliminde rol oynar (De Wit, 1998).

Tablo 2. İnek asit whey'in protein içeriği ve moleküler ağırlıkları (Pedersen ve diğerleri., 2003).

Protein	Moleküler Ağırlık (kDa mol⁻¹)
β- laktoglobulin	18,3
α- laktalbumin	14,2
Serum albümin	66,0
IgG, IgA, IgM	150,0-900,0
Laktoperoksidaz	78,0
Laktoferrin	78
Peptidoglikan tanıma proteini	19,1

2.3. İnek ve Deve Whey Proteinleri

İnek ve deve whey proteinlerinin içeriklerinin karşılaştırılması Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Deve ve inek sütünün içerik olarak karşılaştırılması (Semen ve Arif, 2016).

İçerik	Deve	İnek
Toplam kuru madde	109	108
Yağ	141	129
Protein	163	164
Whey proteini	74	58
Kazein	338	354
Laktoz	72	74

Deve ve inek sütünün pıhtılaştırılmasının ardından elde edilen peynir altı suyunun rengi ve konsantrasyonu süt çeşidine göre değişmektedir. İnek sütünden elde edilen peynir altı suyu yeşilken, deve peynir altı suyu daha beyazdır (Zübeir ve Jabreel, 2008).

Deve ve inek sütündeki lizozimler arasında antijenik bir benzerlik olmadığı gibi, yapıları da birbirinden farklıdır. Memeli hayvanlardaki lizozim derişimi, diğer bileşimlerde de olduğu gibi; laktasyon süresi, tür ve beslenmeye göre değişiklik göstermektedir. Deve sütü, inek sütünden daha fazla miktarda lizozim içermektedir (Barbour ve diğerleri., 1984).

Deve sütü, inek sütüne göre daha az β -laktoglobulin içermekte ve inek sütündeki temel whey proteini β -laktoglobulin iken deve sütünde α -laktalbumindir (Brezovečki ve diğerleri., 2015).

Deve sütünde bulunan laktoferrin konsantrasyonu inek sütünün yaklaşık üç katıdır (S. Kappeler ve diğerleri., 1999). Laktoferrin memelilerden gelen farklı çeşit biyolojik sıvılarda ve nötrofillerde bulunan demir bağlayıcı özellikte bir glikoprotein olup, deve sütünde; inek sütüne kıyasla daha yüksek miktarda laktoferrin, lizozim ve IgG içermektedir (Elagamy, 2000).

2.4. Deve Sütü ve Whey Proteininin Sağlık Alanında Kullanımı

Deve sütünde bulunan immunglobülinler bağışıklık sisteminin etkinliğini arttırmakta, insülin düzeyinin yüksek olması sebebiyle geleneksel diyabet tedavisinde kullanılmaktadır. Laktoferrin içeriği sebebiyle antiviral, antibakteriyel ve antitümör özellikleri bulunmaktadır (Mullaicharam, 2014). Laktoferrin, çocuklarda kulak iltihabına sebebiyet veren *Haemophilus influenza* gibi patojenlere karşı koruyucudur. Laktoferrin'in bu koruyucu antimikrobiyal özelliği esasen serbest demirden kaynaklanmaktadır. Laktoferrin, peptit fragmenti olan laktoferrisin (laktoferrisin B) gibi direkt olarak yapıya zarar verip, hücre membranında gram negatif bakterilerin geçirgenliğini değiştirmektedir. Böylelikle mikrobiyal hücrelerin bütünlüğü bozulup ölmektedir (Harper, 2004; Karagözlü ve Bayarer, 2004). İmmünglobülinler, laktoperoksidaz gibi proteinler de laktoferrin gibi immün düzenleyici ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir (Beaulieu ve diğerleri., 2007).

Bazı araştırmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında deve sütünün multiple sclerosis (MS), lupus, sedef ve alerjik astım (Wernery, 2007); düzenli deve sütü tüketiminin ise Crohn hastalığı üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Yerlikaya ve diğerleri., 2016).

İshal şikâyeti bulunan otistik sendromlu hastaların diyetlerine deve sütü eklendiğinde serebral belirtilerin azaldığı, normal bağırsak hareketlerin oluştuğu gözlenmiştir (Shabo ve diğerleri., 2005).

Deve sütü, inek sütünde bulunan, kazomorfin oluşturan β -kazein ve β -laktoglobulin içermediği için; aktif bağışıklık sistemi elamanlarıyla otoimmün problemlerin çözümüne yardımcı olmaktadır (Al-Ayadhi ve Elamin, 2013; Shabo ve diğerleri., 2005).

İnek sütünde bulunan β -laktoglobulin, deve sütünde bulunmadığı için β -laktoglobulin alerjisi bulunan çocukların deve sütü tüketmesi daha güvenli olmaktadır (Fioocchi ve diğerleri., 2010). Gıda alerjisi olan sekiz çocuğun deve sütüyle beslenmesinin ardından, çocukların tamamının sağlığının hızlıca iyileştiği ve daha sonralarda diğer gıdaların da sindirilmesinde artış gözlenmiştir (Shabo Yosef MD ve diğerleri., 2005).

Whey proteinlerinin bazı kanser türlerine yönelik koruyuculuğu olduğu bildirilmiştir. Whey proteinin antikanserojenik özelliklerini araştıran hayvan çalışmalarında, bu etkinin laktoferrin ve glutasyonun antioksidan, immün düzenleyici ve detoksifiye edici etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Marshall K., 2004). Bir araştırmada, kobaylarda kolon kanserinin oluşumunun whey proteinleriyle beslenen grubun, kazein, soya veya et proteinleriyle beslenen gruba nazaran daha düşük seviyelerde kaldığı gözlenmiştir. Bunun sebebi whey proteinlerinin içeriğinde oksidatif stresi azaltan sistein ve glutamatın oldukça fazla bulunmasıdır. Ayrıca laktoferrinin de serbest demiri ortadan kaldırarak oksidasyonu önlemesi ve bazı bileşiklerin oksidatif reaksiyonlarını katalizleme yeteneklerini sınırlandırma özelliği vardır (Parodi, 1998).

Whey proteinlerinin tamamı antikanserojenik etki göstermektedir. rnek olarak α -laktalbumin iki farklı memeli bağırsak hücresiyle inkübe edildiğinde, hücre bölünmesi azalmaktadır (Ganjam ve diğerleri., 1997). Laktoferrinin varlığında, kolon kanserli sıçanlarda tümör büyümesinin ve primer tümör metastazının baskılandığı bildirilmiştir (Sekine ve diğerleri., 1997; Yoo ve diğerleri., 1998).

Bazı çalışmalarda whey proteini ekstraktlarında çeşitli gelişme faktörlerinin bulunduğu bulunmuştur. Bu faktörler IGF-1, IGF-2, asidik ve bazik FGF, TGF- β 1, TGF- β 2 gibi adlandırılan maddelerden oluşmaktadır. Bu gelişme faktörlerinin, yıpranmış dokuların tamirinde rol aldığı, deney hayvanlarında yapılmış deneylerde bu gelişme faktörlerinin bağırsaktaki yaralanmalara kemoterapik etki göstererek beklenen şekilde azalttığı, yaralı hücrelerin onarımına katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır (Regester ve diğerleri., 1998).

Whey proteinlerinin, yaralı dokulardaki hiperoksit ve ROS düzeylerini azaltarak, hidroksipolin içeriğini geri yükleyerek, glutasyon düzeylerini arttırarak, gen ekspresyonlarını yükselterek diyabetik yaraların iyileşmesini hızlandırdığı bulunmuştur (Badr, 2013).

2.5. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, deri ve deri altındaki dokuların yaralanma sonrasında kendilerini onardığı bir süreçtir. Hasar görmemiş ciltte epidermis (yüzey tabakası) ve dermis (derin tabaka) dış ortama karşı koruyucu bir tabaka oluşturmaktadır. Bu bariyer hasar gördüğünde, hasarı onarabilmek amacıyla düzenlenmiş bir dizi biyokimyasal olay gerçekleşir. Bu süreç birkaç aşamayla gruplandırılmaktadır. Bunlar; hemostaz (kan pıhtılaşması), iltihaplanma, çoğalma (doku büyümesi) ve olgunlaşma (dokunun yeniden şekillenmesi)'dir (Werner, 2003; Werner ve diğerleri., 2007).

2.5.1. Yara İyileşme Aşamaları

Dört aşamadan oluşur. Bu aşamalar hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve olgunlaşma aşamasıdır.

2.5.1.1. Hemostaz

Hemostaz, yara iyileşmesinin ilk aşamasıdır. Bu aşama, ilk yaralanmadan hemen sonra gerçekleşir. Yaralanma anında genellikle kanama meydana gelmektedir. Kanama, hemostazı aktive eder. Vasküler yaralanma bölgesinde, nörojenik mekanizmalar ve endotelin sekresyonu ile vazokonstriksiyon hemen başlatılmaktadır. Bu vazokonstriksiyon, daha fazla kan kaybını önlerken, fibrin pıhtısı yaralanma bölgesi üzerinde geçici olarak bir mühür oluşturmakta ve mikroorganizmaların içeri girmesini önlemektedir.

Bir yaralanmadan sonra trombositler, yaralanma bölgesinde ortaya çıkan ilk hücrelerdir. Yaralanma bölgesi, fibriller kollajen, fibronektin ve trombositlerin yapışmasına ve aktive olmasına izin veren diğer yapışkan proteinler gibi hücre dışı matriks proteinlerini açığa çıkarmaktadır. Yapışma sırasında trombositler agregasyona uğramakta ve aynı zamanda serotonin, adenozin difosfat ve tromboksan gibi birçok aracıyı serbest bırakmaktadır. Ayrıca fibrinojen, fibronektin, trombospondin ve Von Willebrand faktör VIII gibi yapışkan proteinleri serbest bırakmaktadır. Bu araçlar ve lokal olarak üretilen trombin, daha fazla trombosit agregasyonunu ve salgılanmasını indüklemekte ve trombosit tıkaçını oluşturmaktadır. Trombosit agregasyonu sırasında trombin çözünür, dolaşımdaki fibrinojeni

çözünmez fibrine dönüştürür ve bu da hemostaz tıkaçının fiziksel varlığını oluşturmakta ve bu birincil hemostaz sürecini oluşturmaktadır (Li ve diğerleri., 2007; Strodtbeck, 2001).

Kan pıhtılaşma yolları, faktör X'in aktive olduğu yerde birleşen dışsal ve içsel yollara bölünmektedir. Trombosit agregasyonu ayrıca kanda Hageman faktör XII olarak bilinen spesifik bir enzimi tetikleyerek intrinsik pıhtılaşma yolunu başlatmaktadır. Bu basamakta, bazı proenzimlerin aktivasyonu ile protrombin, trombine dönüştürülmektedir. Bu arada, dışsal pıhtılaşma yolu, doku hasarı bölgelerinde açığa çıkan hücrel bir lipoprotein olan doku faktörü tarafından aktive edilmektedir (Li ve diğerleri., 2007). Ek olarak trombositler, hücreleri iyileşmenin sonraki aşamalarına katılmaya çağırarak trombosit kaynaklı büyüme faktörleri gibi sitokinler de üretmektedir. Örneğin kolajen sentezi, fibroblastların içeri akışı ve hücre göçünün düzenlenmesi gibi bazı işlemlerden sorumlu olmaktadır (Barros Almeida ve diğerleri., 2021).

2.5.1.2. Enflamasyon

Yara iyileşmesinin ikinci evresi, hemostazdan hemen sonra başlayan ve yaklaşık 4-6 gün süren inflamatuvar evredir. Vazodilatasyon, histamine yanıt olarak vasküler geçirgenliği artıran ilk vazokonstriksiyonu takip etmektedir. Vazodilatasyon, vasküler sıvının intravasküler boşluktan ekstravasküler kompartmana sızmasına izin vermektedir (Phillips, 2000). Vazodilatasyon ile nötrofiller, lenfositler ve monosit yaralanma bölgesine göç etmektedir (Strodtbeck, 2001). Nötrofiller ilk birkaç gün baskındır ve yara enfekte olmazsa kaybolmaktadırlar. Nötrofil ayrıca lokal fibroblastları ve epitel hücrelerini aktive ederek yara onarımını başlatmaktadır. Daha sonra inflamasyonda monositler makrofajlara farklılaşır ve yaralanma bölgesinde ana fagositik hücre haline gelmektedir (Li ve diğerleri., 2007; Strodtbeck, 2001). Hem nötrofiller hem de makrofajlar, bakteri ve doku artıkları gibi yabancı maddeleri tanımlarına, bağlamalarına ve yutmalarına izin veren yüzey reseptörlerine sahiptirler. Yuttuktan sonra, bakteri ve kalıntılar iltihaplı hücreler tarafından sindirilmektedir.

Makrofajların fagositik özelliğinin yanı sıra hücreler, büyüme faktörleri de dâhil olmak üzere bazı sitokinleri sentezlemektedirler. Bunlar doku onarımı için migrasyon, proliferasyon ve organizasyonla ilgilidir (Monaco ve Lawrence, 2003). Makrofajlar ayrıca yaralı bölgeye kollajenaz ve elastaz gibi matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) adı verilen özel enzimler

üretmektedir. Kollajenaz, yara debrimentinde ve bağ dokusunun şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır (Strodtbeck, 2001).

2.5.1.3. Proliferasyon (yeni doku büyümesi)

Bu evrede fibroblastlar aktive olmakta ve endotel hücreleri çoğalmaktadır. Fibroblastlar yara çevresindeki sağlıklı dokulardan yara içerisine ilerleyerek, yara içinde fibröz bir dolgu şeklinde granülasyon dokusunu oluşturmaktadırlar. Yara bölgesinde bulunan fibroblastlar sağlıklı dokulardakilere göre daha fazla kontraksiyon ve kollajen sentezleme özelliğine sahiptirler. Özellikle TGF- β (Dönüştürücü büyüme faktörü beta) ile aktive olan fibroblastlar daha fazla matriks proteini, matriks proteaz inhibitörü ve integrin reseptörü sentezlemektedirler. Aktive olmuş makrofaj ve trombositlerden salınan sitokinler fibroblast proliferasyonunu artırmaktadır.

İnflamasyon evresinde görevli nötrofillerse bu evrede makrofajlar tarafından fagosite edilerek görevlerini tamamlamaktadırlar. Yine bu evrede, yaradaki hematojen dolgunun içine doğru hasarlı dokunun çevresindeki venüllerde bulunan endotel hücrelerinin çoğalması ve damarlanmayla kapillerleri oluşturmasıyla bir damarlanma artışı görülmektedir. Aynı zamanda yaralanmadan birkaç gün sonra, yara kenarlarındaki ve yara içinde sağlam kalmış cilt eklerindeki (kıl, yağ follikül epitel gibi) epitelyal hücrelerde çoğalmanın tetiklenmesiyle yaranın kapanmasını sağlayan epitelyal hücre örtüsü (epitelizasyon) oluşmaya başlamaktadır.

Epitelizasyonu tetikleyen mekanizmalar tam olarak ortaya konamamış olsa da makrofaj ve epitel hücrelerinden salınan sitokinler ile kontrol edildiklerine dair bulgular vardır. Epitelizasyonu tetikleyen epidermal büyüme faktörü (EGF) trombositlerden salgılanır, ancak kollajenin varlığı da epitelizasyonu tetikler. Epitelizasyon, kontakt inhibisyon ile sona erer (Shakespeare, 2001; Witte ve Barbul, 1997).

2.5.1.4. Olgunlaşma (yeniden şekillenme)

Olgunlaşma ve yeniden şekillenme sırasında, kolajen, gerilim hatları boyunca yeniden hizalanmakta ve artık ihtiyaç duyulmayan hücreler apoptoz ile uzaklaştırılmaktadır (S Werner, 2003; Steintraesser ve diğerleri., 2008; Werner ve diğerleri., 2007). Yeniden

şekillenme süreci, doku hasarı ve onarımı sırasında üretilen, başlıca TGF- β (Dönüştürücü büyüme faktörü beta), PDGF (Platelet kökenli büyüme faktörü) ve FGF (Fibroblast büyüme faktörü) olmak üzere çeşitli büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir. Yara onarımının son fazında yer alan diğer büyüme faktörleri arasında insülin benzeri büyüme faktörleri, interlökin-1, TNF- β (Tümör nekroz faktör beta) ve interferon- γ yer almaktadır.

Gevşek granülasyon dokusu, kararlı hücre dışı matrikse farklılaşmaktadır. Kollajen lifler yeniden organize olur, yeniden şekillenir, olgunlaşır ve yara nihai gerilme mukavemetini kazanır. ECM (Extra cellular matrix) 'ye bağlı büyüme faktörünü ve MMP (Matriks metalloproteinaz)'leri aktive eden makrofajlar ve fibroblastlar bu aşamada hayati bir rol oynar.

Granülasyon aşamasının sonunda miyofibroblastlar (farklılaşmış fibroblastlar) aktive olur ve yara kasılmaya başlamaktadır. Yara kapanması ile Tip III kollajen yıkıma uğramakta ve tip I kollajen sentezi zirveye ulaşmaktadır. Bu süreç, MMP'lerin eylemleriyle yeni kollajenin kontrollü sentezi ve eski kollajenin parçalanmasıdır. MMP'ler metalloproteinazların doku inhibitörleri tarafından kontrol edilmektedir. Yara olgunlaşma sürecinde metalloproteinazların doku inhibitörleri ile MMP'ler arasında bir denge olmalıdır (Li ve diğerleri., 2007). Yeni bağ dokusu oluşumu sırasında, fibronektin ve hyaluronan değiştirilir, yerinde kollajen demetleri büyür, güçlü neovaskülarizasyon durur ve ECM içindeki metabolik aktivite azalır. Makrofajlar, keratinositler, fibroblastlar ve miyofibroblastlar gibi hücrelerin yoğunluğu apoptoz ile azalmaktadır. Yeni kollajenin sentezi ile eskinin bozunması arasındaki denge de yara onarımı ve yeniden şekillenmesi için önemlidir. Yeniden şekillenme evresinin sonunda yeni bağ dokusu olgunlaşmakta ve pembe-kırmızıdan beyaz renge dönüşmektedir (Strodtbeck, 2001).

2.6. Yara Onarım Tipleri

Yara iyileşmesi primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi olarak üçe ayrılır.

Primer yara iyileşmesi, yara oluşması üzerinden 12-24 saat geçmiş, kenarları doku yapıştırıcıları, bantlar, cerrahi dikiş veya mekanik bazı uygulamalarla temiz, enfekte olmayan cerrahi insizyonun iyileşmesidir (V. Kumar ve diğerleri., 2000).

Sekonder yara iyileşmesi, herhangi bir materyal kullanmadan veya işlem yapmada, spontan iyileşmeye bırakılmış yaraları tanımlamaktadır (V. Kumar ve diğerleri., 2000).

Tersiyer yara iyileşmesi, gecikmiş primer kapama olarak da tanımlanabilmektedir. Kontamine olmuş dokuda enfeksiyon riski varlığında bu iyileşme şekline başvurulur. Kontamine olmuş dokunun temizlenmesinin ardından granülasyon dokusunun oluşması beklenir. Yaklaşık yedi gün boyunca sekonder iyileşmeye bırakılır ve daha sonra yara kenarları yaklaştırılır (Köklü, 2003).

2.7. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesi sistemik ve lokal kaynaklı faktörlerden etkilenmektedir. Yaş, ırk, protein eksikliği, karbonhidrat ve yağ eksikliği, eser elementlerin eksikliği, vitamin eksikliği, malnütrisyon ve diyabet sistemik kaynaklı faktörlerden bazılarıdır. Lokal kaynaklı faktörler ise enfeksiyon, ödem, doku perfüzyonu, yara lokalizasyonu, yabancı cisimler ve radyasyondur. Bu sistemik ve lokal kaynaklı tüm faktörler yara iyileşmesini dolaylı ya da direkt olarak etkilemektedir (Bishop, 2013; Campos ve diğerleri., 2008; Clark Richard, 1993; Kim ve Shklar, 1983; V. Kumar ve diğerleri., 2000; Lansdown ve diğerleri., 2007; MacKay ve Miller, 2003; Ozbek ve diğerleri., 2005; Rodriguez ve diğerleri., 2008; Stechmiller, 2010; Thompson ve Fuhrman, 2005).

Yara iyileşmesini etkileyen faktörlerden biri de büyüme faktörleridir. Bu büyüme faktörleri; Trombositlerce salınan büyüme faktörü PDGF, transforme edici büyüme faktörü beta (RGF- β), interlökinler (IL-1, IL-2), EGF (Epidermal büyüme faktörü), TNF- α (Tümör nekroz faktör alfa)'dır (Özkorkmaz ve Özey, 2009).

2.8. Whey Proteini ile Yapılan Yara İyileşmesi Çalışmaları

Beaulieu ve ark. (Beaulieu ve diğerleri., 2007) tarafından yapılmış bir çalışmada, içerisinde whey proteini bulunan, laktik asit bakterisinden elde edilmiş bir jelin, atopik dermatite lokal bir şekilde uygulandığında, steroidlerle karşılaştırılabilecek seviyede iyileşme sağladığı gözlenmiştir.

Badr ve ark. (2013) diyabetik farelerde kusurlu yara onarımının daha düşük hidroksiprolin içeriği ile ilişkili olduğunu gözlemiş, bununla birlikte, whey protein tedavisinden sonra hidroksiprolin içeriğinin arttığını belirtmiştir. Hidroksiprolin, kollajende

bulunan ana bileşendir. İçeriğini yara bölgelerinde tip I kollajen miktarının bir göstergesi olarak kullanır (Badr, 2013).

Zhang ve ark. (2013) diyabetik sıçanlarda bozulmuş yara iyileşmesinin daha düşük hidroksiprolin içeriği ile ilişkili olduğunu gözlemlemiştir. Önceki bir çalışma, tip 1 diyabet hastalarının akut yaralarında bozulmuş kollajen birikiminin potansiyel olarak azalmış fibroblast proliferasyonundan kaynaklandığını göstermiştir. Artan hidroksiprolin seviyesi ve dolayısıyla artan kollajen seviyesi, whey proteini ile takviye edilmiş diyabetik farelerde muhtemelen yenilenen dokuyu güçlendirmiş, yetersiz beslenen farelerde whey proteinin fagositozu önemli ölçüde artırdığı bulunmuştur. Benzer şekilde Michee ve ark. (2013) LPS ve TNF- α 'ya maruz kalan makrofajların fagositozu artırdığını bulmuştur. Normal göç ve makrofajların kemotaksisi için gerekli olan kemokin ifadeleri, yetersiz beslenen farelerde yaralanmadan sonraki ilk iki gün içinde azaldığı bildirilmiştir. Buna karşılık, whey proteininin, yetersiz beslenen farelerde yara iyileşmesinin enflamatuvar aşamasında bu kemokinleri yukarı regüle ettiği bulunmuştur (Abdel-Salam ve diğerleri., 2016).

Diyabetik deneklerde ROS (Reaktif oksijen türleri) üretim hızı artırılarak ve antioksidan savunma azaltılarak oksidatif stres artırılır. Badr ve ark. (2013) diyabetik farelerin whey proteini ile tedavisinin yaralı dokudaki hidroperoksit ve serbest radikal seviyelerini düşürdüğünü gözlemlemiştir. Whey protein tedavisinin diyabetik farelerde yara iyileşmesini iyileştirdiğini gözlemlenmiş, uygulanan tedavi yaralı dokularda uzun süreli inflamasyonu sınırlayan yüksek proinflamatuvar sitokin (IL-6, TGF- β ve TNF- α) seviyelerini düzeltmiştir. Bu bulgu, peynir altı suyu proteini ile takviye edilmiş diyabetik farelerde gözlemlenen gelişmiş bağışıklık tepkisinin ve iyileştirilmiş yara iyileşmesinin altında yatan mekanizmayı göstermektedir. Bu sonuçlar, laktoferrinin inflamasyonu ve mortaliteyi azaltan TNF-a ve IL-6 seviyelerini düzenleyebildiğini gösteren önceki bir çalışma ile desteklenmektedir. Deri yaralanması, özellikle insan β D -2 ve 3 olmak üzere defensinlerin ekspresyonunu etkiler. Deriden türetilen bu defensinler, patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkileri ve yara onarım hücreleri ve bağışıklık hücreleri üzerindeki uyarıcı etkileri nedeniyle yara iyileşmesini etkili bir şekilde destekleyebilir.

Badr (2013) whey proteini takviyesinden sonra yara kapanması ile β -defensin ekspresyonu arasında korelasyonlar göstermiştir. Bu korelasyonlar, diyabetik farelerin whey proteini ile takviyesinin, β D-1(Beta defensin), 2 ve 3'ün mRNA ve protein ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde restore ettiğini göstermektedir. Bu nedenle, whey protein takviyesi yoluyla β -defensin seviyelerini düzenleyerek yara kapanma hızını hızlandırmanın mümkün

olduğunu varsaymaktadır. Bu etki, yara iyileşme döneminde tespit edilen azalmış ROS ve hidroperoksit seviyeleri ile teyit edildiği gibi, daha düşük oksidatif strese atfedilebilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Süt Örnekleri

Çalışmada kullanılan deve sütü örnekleri Aydın ili İncirliova ilçesinde bulunan Kaya Kardeşler Deve Çiftliği'nden, inek sütü örnekleri ise Aydın ili Uyar Çiftliği'nden temin edilmiştir. Süt örnekleri kullanılabildiği kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Akrilamid Bis Akrilamid %30 Mix 29:1	BioFroxx
Amonyum Persülfat	BioFroxx
Asetik Asit (Glacial)	Tekkim
Bromofenol Blue	Merck
Coomassie Brilliant Blue R-250	BioFroxx
DMEM	Sigma
Fetal Bovine Serum (FBS)	Sigma
Glycine	ChemCruz
Gliserol	Merck
Hidroklorik Asit	Tekkim
Metanol	Isolab
PBS	Sigma
Protein Marker 94964 500UL BLUeye	Sigma
RPMI-1640 Medium	Cegrogen
Sodyum Dodesil Sülfat	BioShop
TEMED	BioFroxx
Tripsin	Sigma
Tris Base	ChemCruz

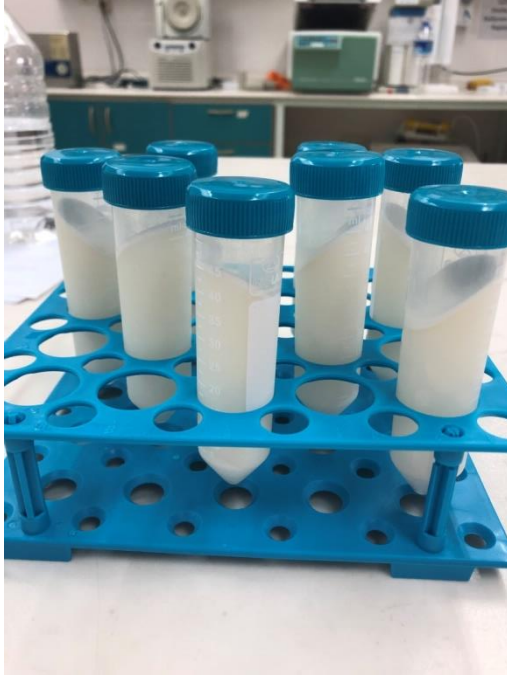
3.1.3. Kullanılan Cihazlar

İnvert Mikroskop	Euromex, Hollanda
CO ₂ İnkübatör	Nüve, Türkiye
Sınıf 2 Biyogüvenlik Kabini	Nüve, Türkiye
Otoklav	Nüve, Türkiye
Saf Su Cihazı	Nüve, Türkiye
Santrifüj Cihazı	Hettich, Almanya
Santrifüj Cihazı	Eppendorf, Almanya
Su banyosu	Nüve, Türkiye
pH Metre	Mettler Toledo, İsviçre
pH Metre	AZ, Tayvan
SDS-Page Görüntüleme Cihazı	Syngene, İngiltere
SDS-Page Yürütme Tankı	BioRad, Amerika
Liyofilizatör	Labconco, Amerika
Tartı	Kern, Almanya
Manyetik Karıştırıcı	Isolab, Almanya

3.2. Yöntem

3.2.1. Süt Örneklerinin Alınması ve Kremasından Arındırılması

Yerli üretici çiftliklerden deve ve inek sütleri alınarak 50 ml'lik falcon tüplere ayrılmış ve kullanılabileceği kadar -20°C'de depolanmıştır. Kazein çöktürme işlemi, yani asit ve sweet whey eldesi öncesinde süt örnekleri 5000 xg +4°C'de 30 dakikalık döngüyle (Akindykova ve diğerleri., 2019) santrifüj edilip kremlerinden arındırılmıştır.



Resim 1. Santrifüj işlemi sonrası deve sütünden kremasının ayrıştırılması.

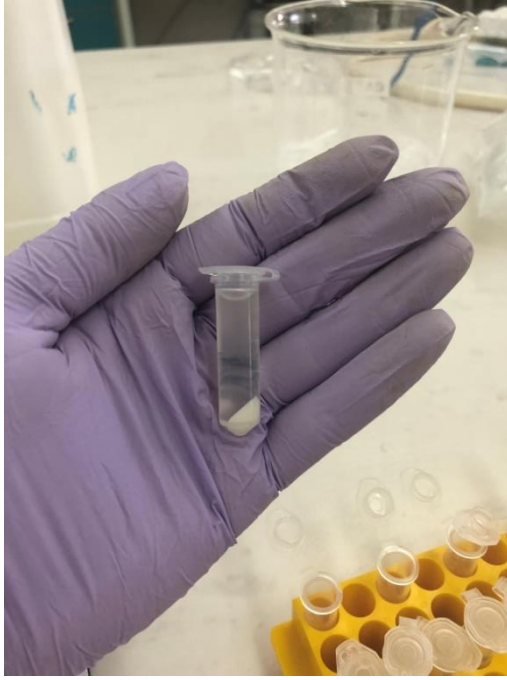


Resim 2. Santrifüj işlemi sonrası inek sütünden kremasının ayrıştırılması.

3.2.2. Deve ve İnek Sütünden Asit Whey Eldesi

Yağlarından arındırılmasının ardından, yağsız deve ve inek sütü örnekleri farklı beherlere alınmış, içerisine manyetik balık koyularak manyetik karıştırıcıya konulmuştur.

Deve ve inek sütü örneklerine oda sıcaklığında yavaşça 1M HCl eklenip, deve sütünün pH derecesi 4,3'e, inek sütünün pH derecesi ile 4,5'e getirilmiştir (Badr, 2013). Asit derecesine gelen süt örnekleri ependorf tüplere alınıp, 30°C 10.000 xg'de 30 dakika santrifüjlenmiştir. Kazeinlerin tamamen arındırılması için santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Santrifüj sonrası asit whey proteinleri süpernatant olarak alınmıştır.



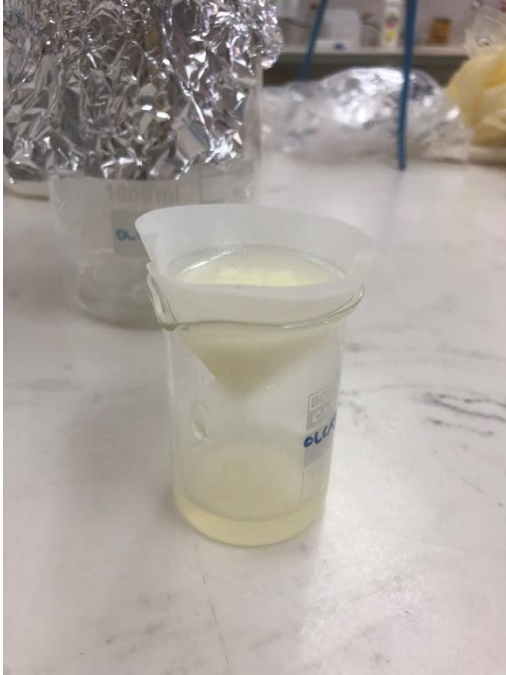
Resim 3. Santrifüj sonrası deve ve inek sütünden kazeinin ktrlmesi.

3.2.3. Deve ve İnek Sütünden Sweet Whey Eldesi

Yağlarından arındırılmış inek ve deve sütü örnekleri farklı beherlere alınmış ve 42°C ısıda sabitlenmiş su banyosuna alınmıştır. Sütlerin sıcaklıkları 42°C'ye ulaştığında 50 ml süt örneklerine 100µl Trakya® Peynir Mayası eklenmiştir. Peynir mayası ekledikten sonra birkaç defa pipetaj yapılmış ve süt örnekleri 42°C'lik su banyosunda 1 saatlik mayalanmaya bırakılmıştır. 1 saatin sonunda beherlerde meydana gelen çökelme gözle görülmüştür. Örnekler filtre kağıdından szlp, yeni beherlere alınmıştır. Ardından ependorf tüplere alınarak 10.000 xg 30°C 30 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır.



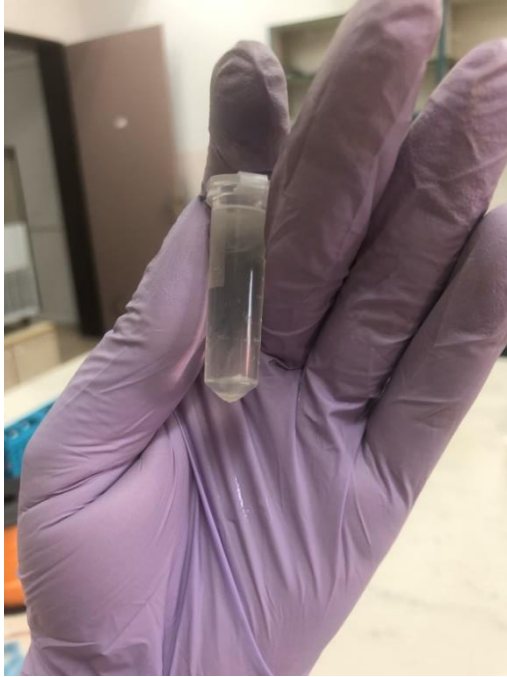
Resim 4. 1 saatlik mayalanma ardından kazeinlerin çökmesi.



Resim 5. Sweet wheylerin filtre kâğıdından süzdürülmesi.



Resim 6. Süzmenin ardından elde edilmiş peynir altı suyu.



Resim 7. Santrifüj sonrası kazeinden tamamen arındırılmış peynir altı suyu.

3.2.4. Whey Proteinlerinin Diyaliz Edilmesi

Proteinlerin membran dışına geçişini engelleyip, örneğin içerisinde bulunan şeker, tuz ve minerallerden kurtulmak amacıyla diyaliz yapılmıştır.

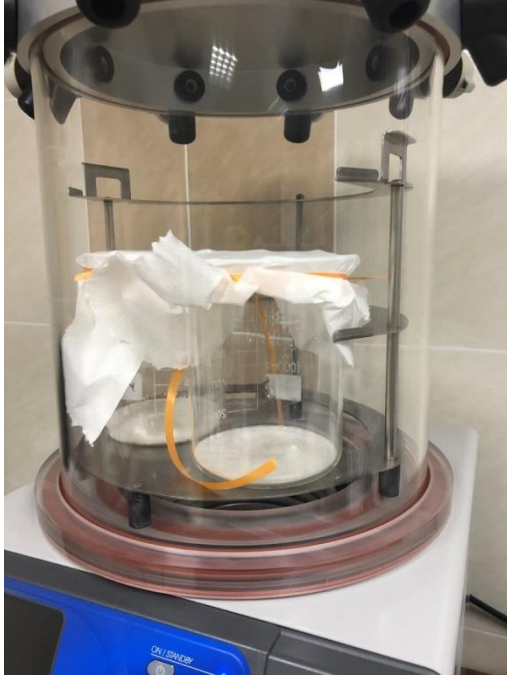
Kazein çöktürme işlemleri ardından elde edilen whey proteinleri ThermoFisher Scientific SnakeSkin 3.5K MWCO 22 mm diyaliz tüpüne alınmıştır (Badr, 2013). Diyaliz tüplerine süt örnekleri konulup, iki ucundan rafya ile bağlanmıştır. Beher içine soğuk steril saf su eklenip diyaliz tüpü yerleştirilmiştir. Manyetik balık da atılan su, üstü alüminyum folyo ile kapatılarak +4°C'ye manyetik karıştırıcı üzerinde koyulmuştur. 3, 24, 27, 48, 51. saatlerde saf su, yeni ve soğuk saf su ile değiştirilmiş, 72. saatte diyaliz işlemi sonlandırılmıştır.



Resim 8. Whey proteinlerinin diyaliz tüpüne aktarılması.

3.2.5. Liyofilizasyon

72 saatlik diyaliz sonrası örneğin stabilizasyonu açısından liyofilizasyon işlemi uygulanmıştır. Diyalizden alınan örnekler liyofilizatöre konulmadan büyük bir behere alınıp -80°C'de dondurulmuştur. Örnekler tamamen donduktan sonra liyofilizatöre alınıp bir gün boyunca -50°C'de 0,366 mbar vakumla dondurularak kurutulmuştur.



Resim 9. Liyofilizasyon işlemi.

3.2.6. Liyofilizatların Tartımı

Liyofilizasyon uygulamasının ardından elde edilen toz whey proteinler tartılmış ve tartım sonuçları Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4. Whey proteinlerinin diyaliz öncesi ve liyofilizasyon sonrası miktarları

Whey Proteini	Başlangıç süt miktarı (ml)	Liyofilizasyon sonrası toz whey miktarı (g)
Deve Asit Whey	48 ml	0,1602 g
Deve Sweet Whey	48 ml	0,2865 g
İnek Asit Whey	48 ml	0,2660 g
İnek Sweet Whey	48 ml	0,1045 g

3.2.7. SDS-PAGE (Sodyum Dodesilsülfat – Poliakrilamid Jel Elektrofrez) Uygulaması

SDS-PAGE, proteinlerin negatif yükle yüklenmiş SDS moleküllerle kaplanıp, moleküler ağırlıklarına göre elektrik alanda poliakrilamid jel ortamında koşması ve boya ile bantların görünür hale getirilmesine dayanan bir yöntemdir.

3.2.7.1. Örnek Hazırlanması

SDS-PAGE işlemi için katı 5 mg whey proteini alınarak 50 µl 2X sample buffer ile seyreltilmiş ve 95°C’de 15 dakika protein denatürasyonu yapılmıştır.

3.2.7.2. Jel Hazırlanması

Jellerin hazırlanma aşamasında %30’luk akrilamid- bisakrilamid karışımı, %10’luk APS, 1,5 M Tris-HCl (pH 8,8), ayrıca 0,5 M Tris-HCl (pH 6,8) kullanılmıştır. Tablo 5’te kullanılan alt ve üst jellerin içerikleri verilmiştir.

Jellerin hazırlanmasının ardından, oluşturulmuş kuyucuklara 5 µl örnek, 1,5 µl protein marker yüklenmiştir. Tank, güç kaynağına bağlanarak sırasıyla 90, 100 ve 120 V akımda yarımşar saat yürütülmüştür.

Tablo 5. Üst ve alt jellerin içerikleri

%11 Alt Jel	1850 µl distile su 1850 µl %30 akrilamid-bisakrilamid 1250 µl seperation buffer (1,5 M Tris-HCl (pH 8,8)) 50 µl %10 SDS 25 µl %10 APS 5 µl TEMED
%4 Üst Jel	3050 µl distile su 650 µl %30 akrilamid-bisakrilamid 1250 µl stacking buffer (0,5 M Tris-HCl (pH 6,8)) 50 µl %10 SDS 25 µl %10 APS 5 µl TEMED

3.2.8. Hücre Kültürü

Bu çalışmada deve whey proteinlerinin yara iyileşme mekanizması üzerine etkilerinin araştırmak üzere HT-29 Kolon kanseri hücre hattı kullanılmıştır.

HT-29 kolon kanseri hücreleri, %10 FBS içerikli RPMI-1640 besiyeri kullanılarak 25 cm²'lik flasklarda steril koşullarda büyütüldü. 37°C sıcaklıktaki %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edildi. Flasktaki hücre yoğunluğu %80'e ulaştığında pasajlama yapılmıştır (Wen ve diğerleri., 2012).

3.2.8.1. Hücre Pasajlanması

Hücreler belirlenmiş yoğunluğa ulaştıktan sonra pasajlanmaması halinde birleşik hücrelerin mitotik aktivitesi azalmakta, hücreler ölebilmektedir.

Flasktaki hücrelerin yoğunluğunun %80'e ulaşmasıyla pasajlama işlemi yapılması gerekmektedir. Doluluğa ulaşmış hücreler kabine alınmış ve hücreleri kaplayan besi ortamı dökülerek uzaklaştırılmıştır. Serum ve hücre artıklarının ortamdaki temizlenmesi amacıyla 1 ml PBS eklenmiş, ardından ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Daha sonradan ortama 2 ml tripsin-EDTA solüsyonu eklenmiş, yüzeye yapışmış hücrelerin kaldırılması amacıyla 4 dakika süresince 37°C'de inkübasyona alınmıştır. Bekleme süresinin ardından kültür plakasını hafifçe vurarak yapışan hücrelerin tamamen kaldırılması hedeflenmiştir. Hücrelerin plakadan ayrıldığından emin olmak için hücreler, invert mikroskopta incelenmiştir. Hücrelerin ayrıldığı görüldüğünde, flaska 2 ml RPMI-1640 eklenerek 15 ml'lik falcona alınıp +4°C'de 5 dakika 1000 rpm hızda santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir (Verhoeckx ve diğerleri., 2015).

Santrifüj öncesinde sayım için, flasktan 50 µl örnek alınıp 50 µl tripan mavisıyla karıştırılmış ve Thoma lamına bir miktar aktarılmıştır. Thoma lamına alınmış örnek mikroskopta incelenmiş, cansız hücrelerin mavi, canlı hücrelerin açık renkli sitoplazmaya sahip oldukları gözlemlenmiştir; canlı hücrelerin sayımları yapılmış ve ardından hücre yoğunluğuyla orantılı yeni besi ortamı flaska eklenmiştir (Kamiloglu ve diğerleri., 2020).

Santrifüj işleminin ardından süpernatant atılmış, pellet kısmına 4 ml yeni medium eklenmiştir. Vorteks işleminden sonra sayım sonucu elde edilen sonuç yardımıyla istenilen miktarda hücre alınıp, yeni flaska ekilmiş ve uygun koşullar sağlanarak hücreler yeniden kültüre alınmıştır.

3.2.8.2. Yara İyileşmesi Deneyi Öncesi Hücre Ekimi

Hücre hattı üzerinde yara oluşturmadan önce kültüre alınmış ve yeterli yoğunluğa ulaşmış hücreler alınıp, 15 ml'lik falcon tüpte homojenizasyonu yapılmıştır. 96 kuyulu plakaya ekilmeden önce sayımı yapıp, her kuyuda 40.000 hücre olacak şekilde RPMI-1640 mediumla karıştırılıp, 200 µl miktarında kuyulara ekim yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra hücreler bir günlük süreyle 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır (Han ve diğerleri., 2015; Oltulu ve diğerleri., 2019).

3.2.9. Proteinlerin Hazırlanması

Elde edilmiş olan deve asit whey, deve sweet whey, inek asit whey ve inek sweet whey proteinlerinden 7,5 mg tartılıp, 1,5 ml saf su içinde çözdürülmüştür. Ardından 0,22 µl'lik şırınga filtreden geçirilip sterilizasyonu sağlanmıştır. Oluşan konsantrasyondan seyreltme yapılarak, proteinlerin diğer dozları elde edilmiştir.

Proteinler ve konsantrasyon miktarları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Hazırlanan proteinler ve medium miktarı ile konsantrasyonları.

Konsantrasyon	Deve Sweet Whey	Deve Asit Whey	İnek Asit Whey	İnek Sweet Whey
(a) 2000 µg/ml	120 µl protein + 180 µl RPMI	120 µl protein + 180 µl RPMI	120 µl protein + 180 µl RPMI	120 µl protein + 180 µl RPMI
(b) 200 µg/ml	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein +270 µl RPMI
(c) 20 µg/ml	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI
(d) 2 µg/ml	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein+ 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI
(e) 0,2 µg/ml	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI
(f) 0,02 µg/ml	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI	30 µl protein + 270 µl RPMI

a'dan f'ye seyreltme yapılarak gidilmiştir. Tüplerdeki konsantrasyonlar, istenilen konsantrasyonların iki katı şeklinde yapılmıştır. Kuyulardaki konsantrasyonların sırayla 1000, 100, 10, 1, 0,1 ve 0,01 µg/ml olması için, whey proteinler kuyulara dağıtıldıktan sonra üzerlerine 100 µl medium eklenmiştir. Negatif kontrolün sağlanması amacıyla 120 µl saf suya 180 µl RPMI eklenerek karışım hazırlanmıştır. Kuyulara 100 µl karışım, 100 µl medium eklenmiştir.

3.2.10. Yara İyileşmesi Deneyi

Bir gün inkübasyonda kalan hücrelerin, plakada %90'lık yoğunluğa ulaşıp ulaşmadığı mikroskopta kontrol edilmiştir. İstenilen yoğunluğa ulaşan hücreler yara iyileşmesi deneyi için kabine alınmıştır. 10 µl'lik pipet ucuyla hücre ekimi yapılmış tüm kuyulara çizik atılmıştır. Çizme işleminin ardından 96'lık plaka dairesel hareketle çevrilip, çizilen hat boyunca kaldırılmış hücrelerin plakadan ayrılması için plaka 2-3 dakikalığına inkübatöre koyulmuştur. Kısa süreli inkübasyonun ardından pipet yardımıyla kuyulardaki tüm medium çekilmiştir. Kuyulara, her protein karışımından hazırlanan 6 farklı konsantrasyon ikişer tekrar olarak 100 µl miktarında eklenmiş, üzerlerine 100 µl medium eklenerek başlangıç saati görüntüleri alınmıştır.

Başlangıç saati görüntüsünün alınmasının ardından hücreler %5 CO₂, 37°C inkübatörde inkübasyona alınmıştır. 4, 24 ve 48. saatlerde yeniden görüntüleri alınmış ve kaydedilmiştir.

3.2.11. Yara İyileşmesi Ölçümleri

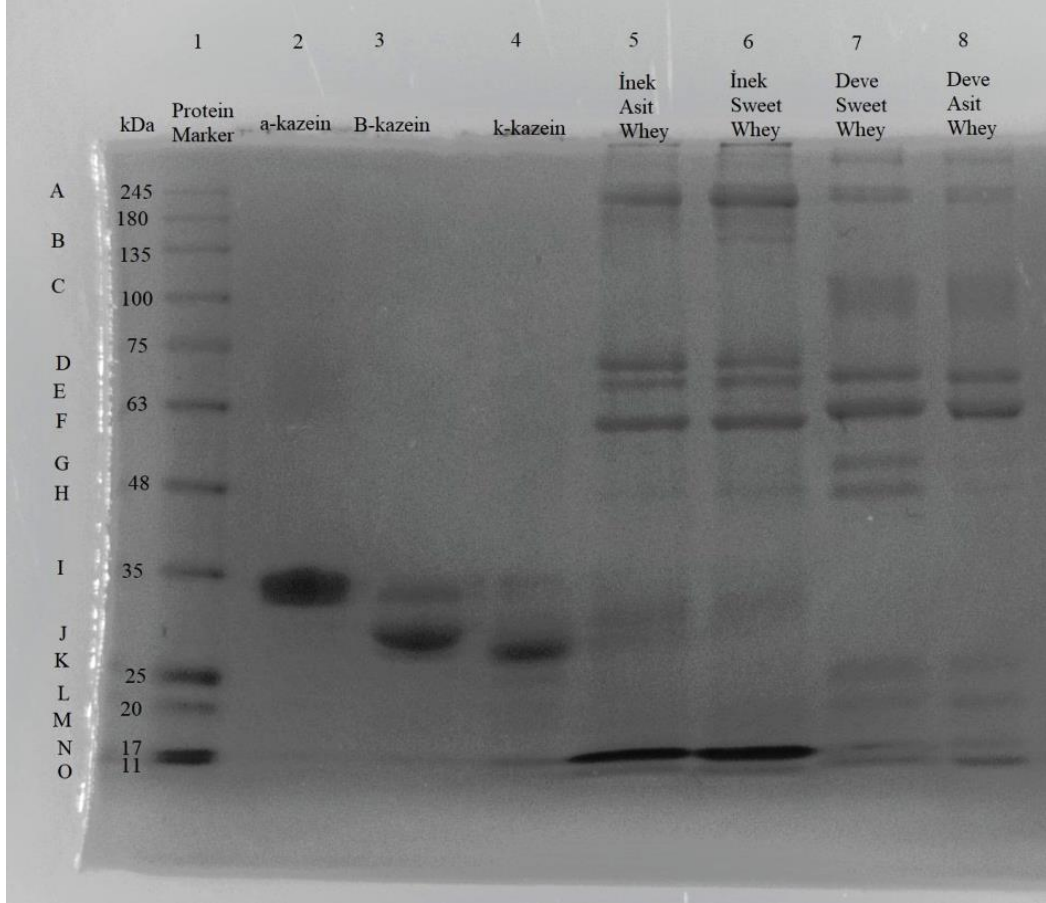
Görüntüler Zeiss AXIO Işık Mikroskobu, AxioCam 305 color kamera kullanılarak alınmış ve ZEN 3.4 Blue Edition programı kullanarak mesafe ölçümleri yapılmıştır.

3.2.12. İstatistiksel Değerlendirmeler

Gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, farkların önem kontrolü ise post-hoc Bonferroni testi ile yapıldı. Yapılan istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlardan p<0,05 olan değerler önemli kabul edildi. Tüm veriler ortalama ve ± standart sapma olarak verildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda deve ve inek süt örneklerimizden kazeinin arındırılması ve asit/sweet whey proteinlerinin elde edilmesiyle ilgili SDS-PAGE görüntüsü Resim 10'da verilmiştir.



Resim 10. SDS-Page Jel Elektrofrez görüntüsü.

A: IgG-IgA-IgM: 190-160-150 kDa (Marshall, 1996), **B: IgG-IgA-IgM:** 190-160-150 kDa (Marshall, 1996), **C: Laktoferrin:** 90 kDa (Ereifej ve diğerleri., 2011), **D: Laktoperoksidaz:** 78 kDa (Marshall, 1996), **E: Serum albümin:** 66,2 kDa (El-Agamy ve diğerleri., 2009; Ereifej ve diğerleri., 2011), **F: α -kazein:** 32 kDa (Farah, 1993), **G: β -kazein:** 28 kDa (Farah, 1993), **H: κ -kazein:** 25 kDa (Farah, 1993), **I: PGRP:** 19,1 kDa (S. R. Kappeler ve diğerleri., 2004), **J: β -laktoglobulin:** 18,3 kDa (Marshall, 1996), **K: α -laktalbumin:** 14,2 kDa (El-Agamy ve diğerleri., 2009; Ereifej ve diğerleri., 2011).

1: Protein Marker 94964 500UL BLUeye (Sigma), **2:** α -kazein, **3:** β -kazein, **4:** κ -kazein, **5:** İnek Asit Whey, **6:** İnek Sweet Whey, **7:** Deve Sweet Whey, **8:** Deve Asit Whey.

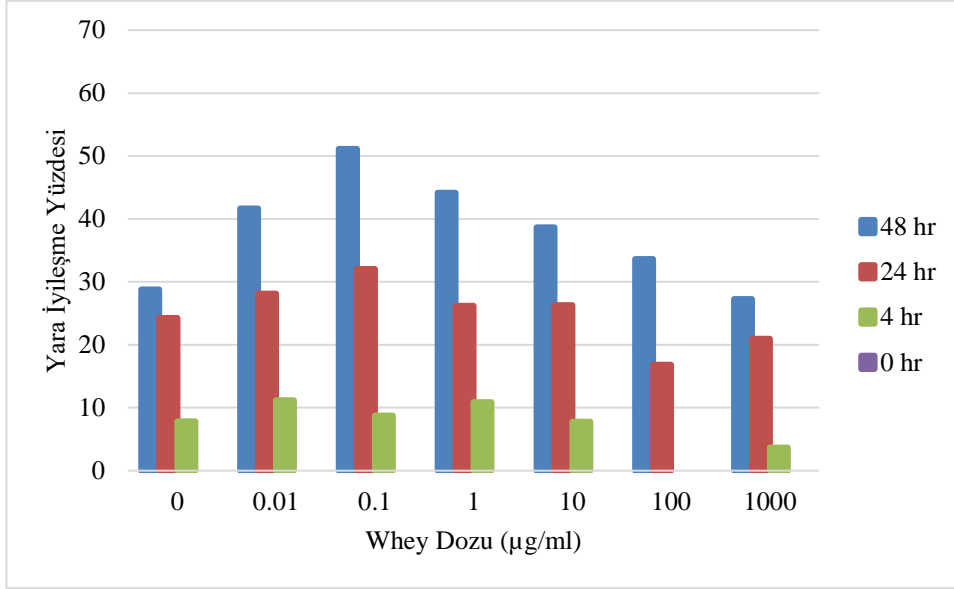
Resim 11’de altı farklı dozda uygulanmış deve sweet whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri verilmiştir. 0’nci saatte çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Işık mikroskobu görüntülerine göre 24’ncü saatte hücre migrasyonunun başladığı ve 48’inci saatte migrasyonun devam ettiği gözlemlenmiştir. Deve sweet whey proteininin uygulanmadığı negatif kontrolde (0 µg/ml) başlangıç saatinde çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Yavaş migrasyon sonucunda 48’nci saatin sonunda, atılan çizik halen görülebilmektedir.

	KONTROL (0 µg/ml)	Doz 1 (0,01 µg/ml)	Doz 2 (0,1 µg/ml)	Doz 3 (1 µg/ml)	Doz 4 (10 µg/ml)	Doz 5 (100 µg/ml)	Doz 6 (1000 µg/ml)
0 Sa							
4 Sa							
24 Sa							
48 Sa							

Resim 11. Altı farklı dozda uygulanmış deve sweet whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.







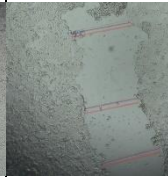


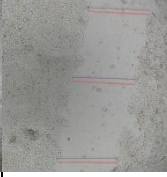
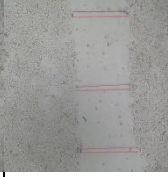

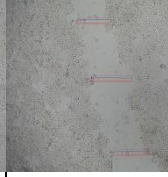









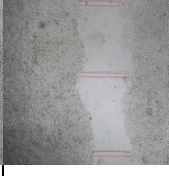
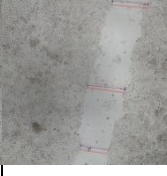




Şekil 1’de dört farklı saat aralığında ölçülmüş altı farklı doz deve sweet whey proteinin yara iyileşme görsellerinden ölçülmüş iyileşme yüzdeleri verilmiştir. Saat uygulaması arttıkça iyileşme yüzdesinin arttığı, 48’nci saatte 0,1 µg/ml deve sweet whey protein uygulamasıyla en

yüksek %51,15 yara iyileşmesinin sağlandığı gözlenirken, negatif kontrolde (0 µg/ml) kuyucukta %28,80 yara iyileşmesi gözlemlenmiştir.



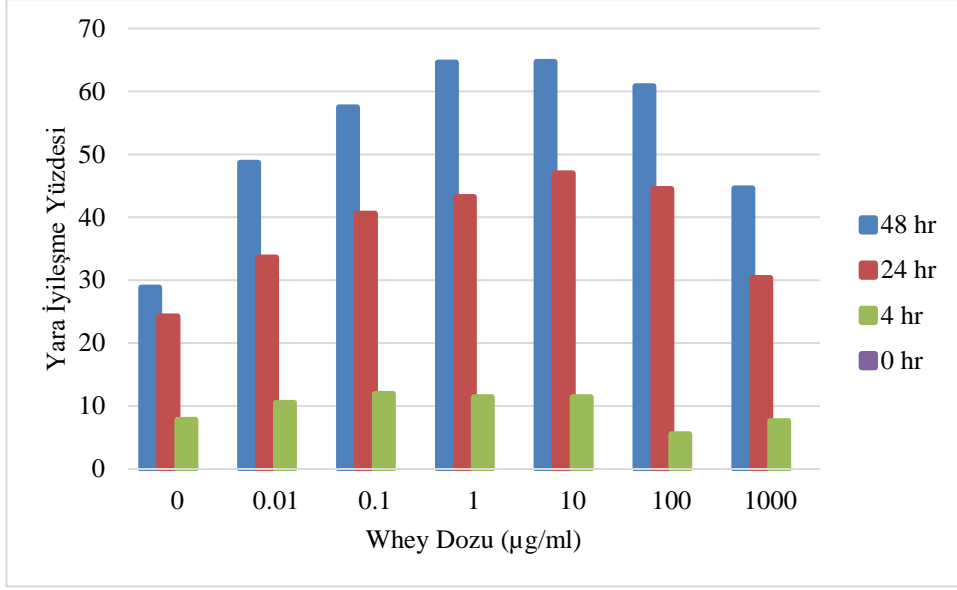
Şekil 1. Deve Sweet Whey ve Yara iyileşmesi Yüzdeleri

Resim 12’de altı farklı dozda uygulanmış deve asit whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri verilmiştir. 0’ıncı saatte çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Işık mikroskobu görüntülerine göre 24’üncü saatte hücre migrasyonunun başladığı ve 48’nci saatte migrasyonun devam ettiği gözlemlenmiştir. Negatif kontrolde (0 µg/ml) başlangıç saatinde çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Yavaş migrasyon sonucunda 48’nci saatin sonunda, atılan çizik halen görülebilmektedir.

	KONTROL (0 µg/ml)	Doz 1 (0,01 µg/ml)	Doz 2 (0,1 µg/ml)	Doz 3 (1 µg/ml)	Doz 4 (10 µg/ml)	Doz 5 (100 µg/ml)	Doz 6 (1000 µg/ml)
0 Sa							
4 Sa							
24 Sa							
48 Sa							

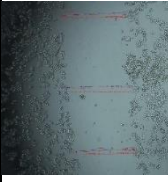

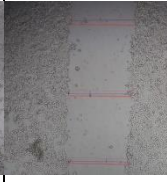
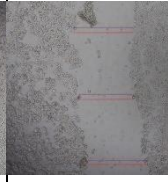
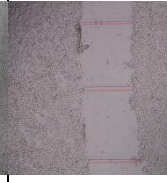
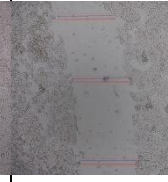

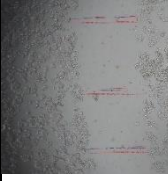
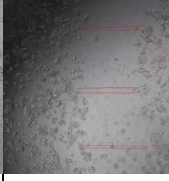




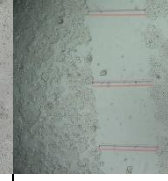
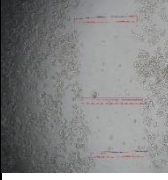

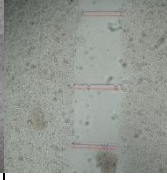
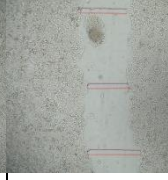
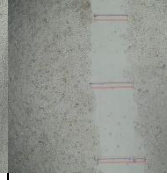


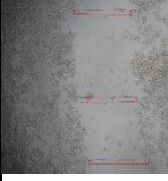
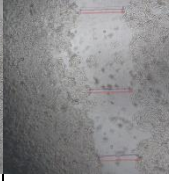

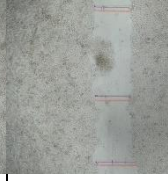
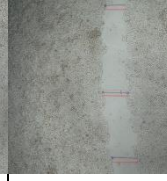
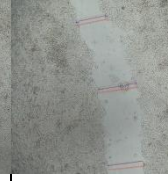

Resim 12. Altı farklı dozda uygulanmış deve asit whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.

Şekil 2’de dört farklı saat aralığında ölçülmüş altı farklı doz deve asit whey proteinin yara iyileşme görsellerinden ölçülmüş iyileşme yüzdeleri verilmiştir. Saat uygulaması arttıkça iyileşme yüzdesinin arttığı, 48’nci saatte 10 µg/ml deve asit whey protein uygulamasıyla en yüksek %64,69 yara iyileşmesinin sağlandığı gözlenirken, negatif kontrolde (0 µg/ml) kuyucukta %28,80 yara iyileşmesi gözlemlenmiştir.



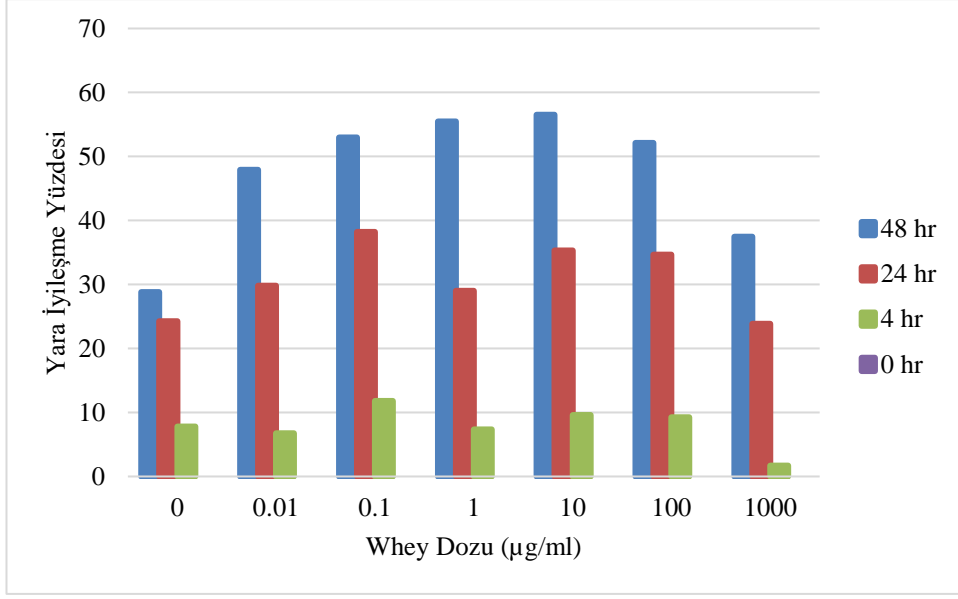
Şekil 2. Deve Asit Whey ve Yara İyileşme Yüzdeleri

Resim 13'te altı farklı dozda uygulanmış inek sweet whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri verilmiştir. 0'ıncı saatte çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Işık mikroskobu görüntülerine göre 24'üncü saatte hücre migrasyonunun başladığı ve 48'inci saatte migrasyonun devam ettiği gözlemlenmiştir. Negatif kontrolde (0 µg/ml) başlangıç saatinde çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Yavaş migrasyon sonucunda 48'nci saatin sonunda, atılan çizik halen görülebilmektedir.

	KONTROL (0 µg/ml)	Doz 1 (0,01 µg/ml)	Doz 2 (0,1 µg/ml)	Doz 3 (1 µg/ml)	Doz 4 (10 µg/ml)	Doz 5 (100 µg/ml)	Doz 6 (1000 µg/ml)
0Sa							
4Sa							
24Sa							
48Sa							

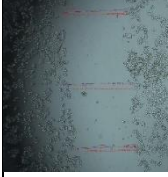
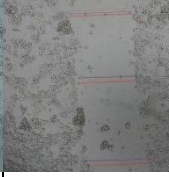


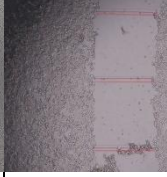
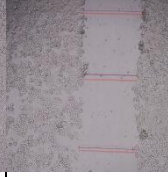




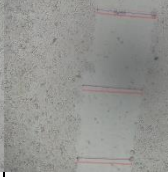

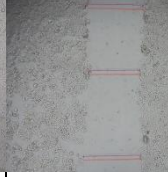

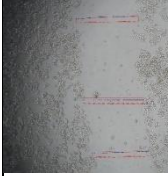






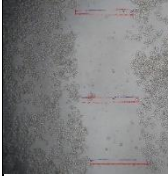






Resim 13. Altı farklı dozda uygulanmış inek sweet whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.

Şekil 3'te dört farklı saat aralığında ölçülmüş altı farklı doz inek sweet whey proteinin yara iyileşme görsellerinden ölçülmüş iyileşme yüzdeleri verilmiştir. Saat uygulaması arttıkça iyileşme yüzdesinin arttığı, 48'inci saatte 10 µg/ml inek sweet whey protein uygulamasıyla en yüksek %56,50 yara iyileşmesinin sağlandığı gözlenirken, negatif kontrolde (0 µg/ml) kuyucukta %28,80 yara iyileşmesi gözlemlenmiştir.



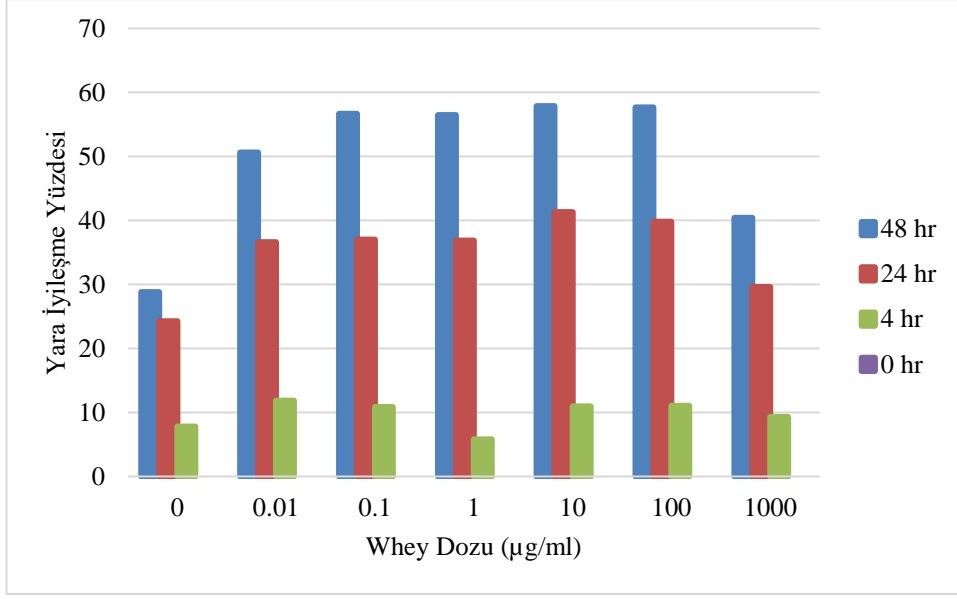
Şekil 3. İnek Sweet Whey ve Yara İyileşmesi Yüzdeleri

Resim 14'te altı farklı dozda uygulanmış inek asit whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri verilmiştir. 0'nci saatte çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Işık mikroskobu görüntülerine göre 24'üncü saatte hücre migrasyonunun başladığı ve 48'nci saatte migrasyonun devam ettiği gözlemlenmiştir. Negatif kontrolde (0 µg/ml) başlangıç saatinde çizik belirgin bir şekilde görülmektedir. Yavaş migrasyon sonucunda 48'nci saatin sonunda, atılan çizik halen görülebilmektedir.

	KONTROL (0 µg/ml)	Doz 1 (0,01 µg/ml)	Doz 2 (0,1 µg/ml)	Doz 3 (1 µg/ml)	Doz 4 (10 µg/ml)	Doz 5 (100 µg/ml)	Doz 6 (1000 µg/ml)
0 Sa							
4 Sa							
24 Sa							
48 Sa							

Resim 14. Altı farklı dozda uygulanmış inek asit whey proteininin dört farklı saatte çekilmiş yara iyileşmesi görselleri.

Şekil 4'te dört farklı saat aralığında ölçülmüş altı farklı doz inek asit whey proteinin yara iyileşme görsellerinden ölçülmüş iyileşme yüzdeleri verilmiştir. Saat uygulaması arttıkça iyileşme yüzdesinin arttığı, 48'nci saatte 10 µg/ml inek asit whey protein uygulamasıyla en yüksek %57,85 yara iyileşmesinin sağlandığı gözlenirken, negatif kontrolde (0 µg/ml) kuyucukta %28,80 yara iyileşmesi gözlemlenmiştir.



Şekil 4. İnek Asit Whey ve Yara İyileşmesi Yüzdeleri

Genel olarak yara iyileşme görsellerinde whey protein uygulamasından sonra whey proteini uygulanmış tüm kuyularda 24 ve 48’nci saatte belirgin bir hücre migrasyonu olduğu görülmektedir. Çizik, 24’üncü saatte belirgin bir şekilde kapanmış ve 48’nci saatte neredeyse tamamen yok olmuştur (Resim 11-12-13-14). Whey proteini uygulanan çizik görüntülerinde 24’üncü saatte hücre migrasyonunun hızlı olduğu saptanmıştır. Çizik izi 48’nci saatin sonunda belli olmayacak şekilde kapanmıştır (Resim 11-12-13-14). Whey proteinleri arasında 48’nci saatte 10 µg/ml deve asit whey protein uygulamasıyla en yüksek (%64,69) yara iyileşme yüzdesi sağlandığı gözlenmiştir.

Dört farklı whey proteini karşılaştırıldığında, asit whey uygulamalarının sweet whey uygulamalarına göre yara iyileştirmesini istatistiksel olarak anlamlı derecede ($P < 0,05$) daha fazla şekilde artırdığı görülmüştür.

Hücre kültürü üzerinde gerçekleştirilen yara iyileşme çalışmalarında uygulanan whey protein dozları gözlemlenen yara iyileşmesini negatif kontrole (0 ug/ml) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($P < 0,05$) farklı şekilde artırmışlardır. Fakat uygulanan en yüksek doz (1000 ug/ml) whey proteini ile negatif kontrol arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($P > 0,05$; ANOVA ve Bonferroni post-hoc test).

Yara iyileşme çalışmalarında muamele süresi ile yara iyileşmesi arasında doğru orantı tespit edilmiştir. Uygulanan 4, 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde gözlemlenen yara iyileşme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklar tespit edilmiştir ($P < 0,05$; ANOVA ve Bonferroni post-hoc test).

Yara iyileşme sonuçlarına göre deve asit ve inek asit wheylerinin gösterdikleri etkiler arasında anlamlı bir fark görülmemekle ($P>0,05$) birlikte diğer tüm ikili karşılaştırmalar (deve sweet ile deve asit, deve sweet ile inek sweet, deve sweet ile inek asit, deve asit ile inek sweet ve inek sweet ile inek asit) arasında anlamlı fark olduğu ($P<0,05$) tespit edilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Farklı dozlarda 4 farklı whey'in başlangıç saatine göre gösterdikleri ortalama yara iyileşme oranları ve standart sapma değerleri.

Doz (µg/ ml)	Deve Sweet Whey			İnek Sweet Whey			Deve Asit Whey			İnek Asit Whey		
	4 sa	24 sa	48 sa	4 sa	24 sa	48 sa	4 sa	24 sa	48 sa	4 sa	24 sa	48 sa
0	7,82 ± 3,14	24,25 ± 15,93	28,80 ± 20,66	7,82 ± 3,14	24,25 ± 15,93	28,80 ± 20,66	7,82 ± 3,14	24,25 ± 15,93	28,80 ± 20,66	7,82 ± 3,14	24,25 ± 15,93	28,80 ± 20,66
0,01	11,21 ± 6,14	28,14 ± 14,71	41,66 ± 15,38	6,77 ± 1,07	29,81 ± 13,94	47,94 ± 8,83	10,50 ± 5,35	33,61 ± 8,56	48,69 ± 5,34	11,84 ± 4,69	36,60 ± 8,58	50,63 ± 11,01
0,1	8,77 ± 2,68	32,06 ± 13,80	51,15 ± 16,69	11,81 ± 1,58	38,23 ± 9,13	52,96 ± 5,54	11,93 ± 4,18	40,59 ± 8,03	57,46 ± 3,76	10,87 ± 5,20	37,02 ± 9,65	56,66 ± 5,76
1	10,90 ± 6,43	26,18 ± 8,13	44,16 ± 10,17	7,34 ± 2,19	28,99 ± 1,73	55,49 ± 4,69	11,45 ± 3,11	43,21 ± 4,73	64,60 ± 7,58	5,79 ± 2,24	36,85 ± 5,58	56,46 ± 8,30
10	7,81 ± 6,00	26,29 ± 3,67	38,66 ± 5,80	9,62 ± 5,47	35,32 ± 10,11	56,50 ± 7,69	11,42 ± 8,01	46,97 ± 9,53	64,69 ± 2,89	10,95 ± 7,86	41,31 ± 11,17	57,85 ± 6,31
100	0,00 ± 8,98	16,83 ± 16,44	33,63 ± 18,29	9,26 ± 4,06	34,68 ± 3,91	52,10 ± 2,82	5,52 ± 4,61	44,48 ± 1,69	60,84 ± 6,92	11,04 ± 6,34	39,83 ± 10,62	57,66 ± 9,56
1000	3,65 ± 3,89	20,95 ± 10,30	27,27 ± 10,75	1,68 ± 6,73	23,84 ± 9,94	37,44 ± 12,14	7,62 ± 5,71	30,34 ± 12,67	44,58 ± 7,92	9,30 ± 4,64	29,62 ± 5,55	40,42 ± 8,53
P<0,05	<i>a</i>			<i>b</i>			<i>c</i>			<i>c</i>		

5. TARTIŞMA

Deve sütü zengin içeriği ile sağlığın birçok alanında kullanım sahası bulmuştur. Bazı araştırmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında deve sütünün diyabet, multiple sclerosis (MS), lupus, sedef ve alerjik astım (Wernery, 2007); Crohn hastalığı üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Yerlikaya ve diğerleri., 2016). İshal Şikâyeti bulunan otistik sendromlu hastaların diyetlerine deve sütü eklendiğinde serebral belirtilerin azaldığı, normal bağırsak hareketlerin olduğu gözlenmiştir (Shabo ve diğerleri., 2005). Whey proteinin antikanserojenik özelliklerini araştıran hayvan araştırmalarında, bu etkinin laktoferrin ve glutasyonun antioksidan, immün düzenleyici ve detoksifiye edici etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Marshall K., 2004).

Literatürde kısıtlı sayıda yapılmış yara iyileşmesi çalışmalarında whey proteinlerinin, yaralı dokulardaki hiperoksit ve ROS düzeylerini azaltarak, hidroksiprolin içeriğini geri yükleyerek, glutasyon düzeylerini arttırarak, gen ekspresyonlarını yükselterek diyabetik yaraların iyileşmesini hızlandırdığı bulunmuştur (Badr, 2013). Zhang ve ark. (2013) diyabetik sıçanlarda bozulmuş yara iyileşmesinin daha düşük hidroksiprolin içeriği ile ilişkili olduğunu gözlemlemiştir. Badr ve ark. (2013) diyabetik farelerin whey proteini ile tedavisinin yaralı dokudaki hidroperoksit ve serbest radikal seviyelerini düşürdüğünü gözlemlemiştir. Whey protein tedavisinin diyabetik farelerde yara iyileşmesini iyileştirdiğini gözlemlemiş, uygulanan tedavi yaralı dokularda uzun süreli inflamasyonu sınırlayan yüksek proinflamatuvar sitokin (IL-6, TGF-β ve TNF-α) seviyelerini düzeltmiştir. Bu bulgu, whey proteini ile takviye edilmiş diyabetik farelerde gözlemlenen gelişmiş bağışıklık tepkisinin ve iyileştirilmiş yara iyileşmesinin altında yatan mekanizmayı göstermektedir. Bu sonuçlar, laktoferrinin inflamasyonu ve mortaliteyi azaltan TNF-a ve IL-6 seviyelerini düzenleyebildiğini gösteren önceki bir çalışma ile desteklenmektedir. Deri yaralanması, özellikle insan βD-2 (Beta defensin) ve 3 olmak üzere defensinlerin ekspresyonunu etkiler. Deriden türetilen bu defensinler, patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkileri ve yara onarım hücreleri ve bağışıklık hücreleri üzerindeki uyarıcı etkileri nedeniyle yara iyileşmesini etkili bir Şekilde destekleyebilir. Badr (2013) whey proteini takviyesinden sonra yara kapanması ile β-defensin ekspresyonu arasında korelasyonlar göstermiştir. Bu korelasyonlar, diyabetik farelerin whey proteini ile takviyesinin, BD-1, 2 ve 3'n mRNA ve protein ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde restore ettiğini göstermektedir. Bu nedenle, whey protein takviyesi yoluyla β-defensin

seviyelerini düzenleyerek yara kapanma hızını hızlandırmanın mümkün olduğunu varsaymaktadır. Bu etki, yara iyileşme döneminde tespit edilen azalmış ROS ve hidroperoksit seviyeleri ile teyit edildiği gibi, daha düşük oksidatif strese atfedilebilir. Ebaid H. (2013) yaptığı bir çalışmada deve whey proteinlerinin yara iyileşmesini sağladığı, diyabetik sıçanlarda serum insülin seviyelerinde artışın olduğunu, yaralı diyabetik sıçanlarda glutatyon seviyesini, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutazın (SOD) aktivitesini artırarak hepatic lipid peroksidasyonunu baskılayıp antioksidan savunma sistemini uyardığını göstermiştir (Ebaid ve diğerleri., 2013).

Badr G. (2012) Diyabetik farelerde yara dokusunda anti-inflamatuar sitokin olan (IL-10)'de önemli bir azalma ve inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) seviyelerinde uzun süreli bir yükselme ile karakterize edilen gecikmiş yara kapanması gözlemlendi. Ayrıca, diyabetik farelerin yara dokusunda kontrol diyabetik olmayan farelere kıyasla, yara iyileşmesini (MIP-1 α , MIP-2, KC ve CX3CL1) ve büyüme faktörlerini (TGF- β) düzenleyen kemokinlerin anormal ekspresyonu gözlemlendi. Tedavi edilmemiş diyabetik farelerle karşılaştırıldığında, whey proteini ile takviye, normal IL-10, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinin restorasyonu yoluyla inflamatuvar uyarıyı sınırlayarak diyabetik yaraların kapanmasını önemli ölçüde hızlandırdı. En önemlisi, diyabetik farelerin whey proteini ile desteklenmesi, tedavi edilmemiş diyabetik farelere kıyasla yara dokusunda MIP-1 α , MIP-2, KC, CX3CL1 ve TGF- β ekspresyonunu önemli ölçüde modüle ettiğini gözlemlemiştir (Badr ve diğerleri., 2012).

İnek sütü ile yapılan bir çalışmada, düşük yağ içerikli inek süt proteinlerinin ve kesik süt suyu proteinlerinin tavşanlarda yara iyileşme hızını arttırdığı bildirilmiştir. İnek sütünün ve bileşenlerinin hücre onarım sürecini hızlandırdığı ve yara iyileştirme üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmüştür (Hemmati ve diğerleri., 2018)

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda deve ve inek whey proteinleriyle yapılmış yara iyileşmesi çalışmalarında diyabetik hayvan modelleri oluşturulmuş ve oral yolla beslenerek whey proteini uygulanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda whey proteinlerinin diyabetik durumu iyileştirerek, uzun süreli inflamasyonu sınırlayarak, oksidatif stresi baskılayarak ve diyabetik sıçanlarda antioksidan savunma sistemini yükselterek yara kapanmasını iyileştirdiği gözlemlendi. Ancak literatürde whey proteinlerinin hücre kültür ortamında yara iyileştirici potansiyelini araştıran, deve whey ve inek whey proteinlerinin yara iyileştirmesindeki etkilerini birbirleri arasında karşılaştıran bir çalışma yoktur. Bu sebeple çalışmamız özgün olup, bu çalışmada literatürdeki mevcut boşluğun doldurulması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda kolon kanser hücre hatlarında yara iyileşme modeli oluşturularak deve ve inek whey proteinlerinin literatürdeki diyabetik hayvan modellerinde yapılan çalışmalara benzer iyileştirici etkisi saptanmıştır. Whey proteininden asit whey proteinlerinin, sweet whey proteinine karşı daha fazla yara iyileştirici etkisi olduğu, inek sweet whey proteinin yara iyileştirmede deve sweet whey proteininden daha etkili olduğu; whey proteinlerinin muamele süresi ile yara iyileşmesi arasında doğru orantı olduğu saptanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışmanın çıktıları, deve ya da inek whey proteinlerinin yara iyileşmesinde ve yaraların kapanmasında fayda sağlayabileceğini desteklemektedir. Özellikle bu çalışma, whey proteininin asit ve sweet whey olarak farklı üretim metodu ile üretilmesinin yara iyileşmesi üzerine olabilecek potansiyel farklılığına değinen ilk çalışmadır. Literatürde bu konuda sınırlı çalışma olduğundan bu çıktılar, literatürdeki boşluğun doldurulmasına katkıda bulunabilecektir. Bu deneylerin hayvan modellerinde tekrarlanarak deve ve inek whey proteinlerinin yara iyileşmesini arttırıcı etkilerinin altında yatan mekanizmalarının aydınlatılması sağlanabilir ve deve ile inek sütlerinin katma değeri yüksek ticari ürüne dönüştürülme potansiyeline katkıda bulunabilir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Salam, B., Ebaid, H., Al-Tamimi, J., ve Alhazza, I. M. (2016). Enhancement of wound healing by un-denatured camel whey proteins in protein malnourished mice. *Pakistan Journal of Zoology*. Vol, 48(1), 1–9.
- Akindykova, A., Cakir-Kiefer, C., Baubekova, A., ve Jurjanz, S. (2019). Isolation and characterization of camel milk proteins. *International Journal of Biology and Chemistry*, 12(1), 5–10. doi:10.26577/ijbch-2019-i1-2
- Al-Ayadhi, L. Y., ve Elamin, N. E. (2013). Camel milk as a potential therapy as an antioxidant in autism spectrum disorder (asd). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. doi:10.1155/2013/602834
- Al-Hashem Fahaid. (2009). Camel's milk protects against aluminum chloride-induced toxicity in the liver and kidney of white albino rats. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 5(3), 98–108.
- Al haj, O. A., ve Al Kanhal, H. A. (2010). Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. in *International Dairy Journal* (Vol. 20, Issue 12, pp. 811–821). doi:10.1016/j.idairyj.2010.04.003
- Atasoy, F., ve Özbaşer, F. (2014). Anadolu'da deve yetiştiriciliği ve deve güreşleri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 54(2), 85–90.
- Badr, G. (2013). Camel whey protein enhances diabetic wound healing in a streptozotocin-induced diabetic mouse model: the critical role of β -defensin-1, -2 and -3. *Lipids in Health and Disease*, 12(1), 1–11. doi:10.1186/1476-511X-12-46
- Badr, G., Badr, B. M., Mahmoud, M. H., Mohany, M., Rabah, D. M., ve Garraud, O. (2012). Treatment of diabetic mice with undenatured whey protein accelerates the wound healing process by enhancing the expression of mip-1 α , mip-2, kc, cx3cl1 and tgf- β in wounded tissue. *BMC Immunology*, 13(1), 1–9. doi:10.1186/1471-2172-13-32/FIGURES/3
- Barbour, E. K., Nabbut, N. H., Frerichs, W. M., ve Al-Nakhli, H. M. (1984). Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk: relation to whey lysozyme and stage of lactation. *Journal of Food Protection*, 47(11), 838–840. doi:10.4315/0362-028x-47.11.838

- Barros Almeida, I., Garcez Barretto Teixeira, L., Oliveira De Carvalho, F., Ramos Silva, É., Santos Nunes, P., Viana Dos Santos, M. R., ve Antunes De Souza Araújo, A. (2021). smart dressings for wound healing: a review. *Advances in Skin and Wound Care*, 34(2). doi:10.1097/01.ASW.0000725188.95109.68
- Barukčić, I., Božanić, R., ve Tratnik, L. (2014). Whey-based beverages- a new generation of dairy products. *Mljekarstvo* 58(3), 257–274.
- Beaulieu, J., Dupont, C., ve Lemieux, P. (2007). Anti-inflammatory potential of a malleable matrix composed of fermented whey proteins and lactic acid bacteria in an atopic dermatitis model. *Journal of Inflammation* 2007 4:1, 4(1), 1–10. doi:10.1186/1476-9255-4-6
- Bishop, A. (2013). Role of oxygen in wound healing. 17(9), 399–402. doi:10.12968/JOWC.2008.17.9.30937
- Bounous, G., Batist, G., ve Gold, P. (1989). Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: role of glutathione. *Clinical and Investigative Medicine*, 12(3), 154–161. https://www.vivetussueñoshoy.com/personal/Research_Article_08.pdf
- Brezovečki, A., Čagalj, M., Filipović Dermić, Z., Mikulec, N., Bendelja Ljoljić, D., ve Antunac, N. (2015). Camel milk and milk products. *Mljekarstvo: Časopis Za Unaprijeđenje Proizvodnje i Prerade Mlijeka*, 65(2), 81–90. doi:10.15567/MLJEKARSTVO.2015.0202
- Campos, A. C. L., Groth, A. K., ve Branco, A. B. (2008). Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11(3), 281–288. doi:10.1097/MCO.0B013E3282FBD35A
- Clark Richard. (1993). Basics of cutaneous wound repair. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 19(8), 693–706. doi:10.1111/J.1524-4725.1993.TB00413.X
- De Wit, J. N. (1998). Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science*, 81(3), 597–608. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(98)75613-9
- Ebaid, H., Ahmed, O. M., Mahmoud, A. M., ve Ahmed, R. R. (2013). Limiting prolonged inflammation during proliferation and remodeling phases of wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats supplemented with camel undenatured whey protein. *BMC Immunology*, 14(1), 31. doi:10.1186/1471-2172-14-31

- El-Agamy, E. I., Nawar, M., Shamsia, S. M., Awad, S., ve Haenlein, G. F. W. (2009). Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children? *Small Ruminant Research*, 82(1), 1–6.
- El-Hatmi, H., Girardet, J. M., Gaillard, J. L., Yahyaoui, M. H., ve Attia, H. (2007). Characterisation of whey proteins of camel (*camelus dromedarius*) milk and colostrum. *Small Ruminant Research*, 70(2–3), 267–271. doi:10.1016/j.smallrumres.2006.04.001
- Elagamy, E. I. (2000). Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cows' and buffalo milk proteins. *Food Chemistry*, 68(2), 227–232. doi:10.1016/S0308-8146(99)00199-5
- Ereifej, K. I., Alu'datt, M. H., Alkhalidy, H. A., Alli, I., ve Rababah, T. (2011). Comparison and characterisation of fat and protein composition for camel milk from eight jordanian locations. *Food Chemistry*, 127(1), 282–289. doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.112
- Farah, Z. (1993). Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 60(4), 603–626. doi:10.1017/S0022029900027953
- Fiocchi, A., Brozek, J., Schünemann, H., Berg, V., Beyer, K., Bozzola, M., Bradsher, J., Compalati, E., Ebisawa, M., Guzman, M. A., Li, H., Heine, R. G., Keith, P., Lack, G., Landi, M., Martelli, A., Rancé, F., Sampson, H., Stein, A., ... Baena-Cagnani, C. (2010). *World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (dracma) Guidelines Revision Panel*.
- Ganjam, L. S., Thornton, W. H., Marshall, R. T., ve Macdonald, R. S. (1997). Antiproliferative effects of yogurt fractions obtained by membrane dialysis on cultured mammalian intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 80(10), 2325–2329. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(97)76183-6
- Gregory D., Miller, J., ve K. Jarvis. (2000). Handbook of Dairy Foods and Nutrition - Gregory D. Miller, Judith K. Jarvis, Lois D. McBean - Google Kitaplar. In *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*.
- Hagrass, A. ., Hassan, A. A., Soryal, K. A., ve Mervat, A. S. ve diğerleri. (1987). Chemical composition of fat and butter of camel's milk [egypt]. 15, 15–25.
- Han, Y. S., Lee, J. H., ve Lee, S. H. (2015). Fucoidan inhibits the migration and proliferation of ht-29 human colon cancer cells via the phosphoinositide-3 kinase/akt/mechanistic target of rapamycin pathways. *Molecular Medicine Reports*, 12(3), 3446–3452.

doi:10.3892/MMR.2015.3804/ABSTRACT

- Harper, W. (2004). Biological properties of whey components. *American Dairy Products Institute*, 7-37.
- Hemmati, A. A., Larki-Harchegani, A., Shabib, S., Jalali, A., Rezaei, A., ve Housmand, G. (2018). Wound healing property of milk in full thickness wound model of rabbit. *International Journal of Surgery*, 54, 133–140. doi:10.1016/J.IJSU.2018.04.030
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., ve Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers*, 1(3), 332–349. doi:10.1002/FFT2.44
- Kappeler, S., Farah, Z., ve Puhan, Z. (1999). Alternative splicing of lactophorin mrna from lactating mammary gland of the camel (*Camelus dromedarius*). *Journal of Dairy Science*, 82(10), 2084–2093.
- Kappeler, S. R., Heuberger, C., Farah, Z., ve Puhan, Z. (2004). Expression of the peptidoglycan recognition protein, pgrp, in the lactating mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2660–2668.
- Kappeler, Stefan. (1998). Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. *Doctoral Thesis* doi:10.3929/ethz-a-002025594
- Karagözlü, C., ve Bayarer, M. (2004). Peyniraltı suyu proteinlerinin fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2), 197–207.
- Khan, J. A., Kumar, P., Paramasivam, M., Yadav, R. S., Sahani, M. S., Sharma, S., Srinivasan, A., ve Singh, T. P. (2001). Camel lactoferrin, a transferrin-cum-lactoferrin: crystal structure of camel apolactoferrin at 2.6 Å resolution and structural basis of its dual role. *Journal of Molecular Biology*, 309(3), 751–761.
- Kim, J. E., ve Shklar, G. (1983). The effect of vitamin e on the healing of gingival wounds in rats. *Journal of Periodontology*, 54(5), 305–308. doi:10.1902/JOP.1983.54.5.305
- Köklü, D. (2003). Yara iyileşmesi ve İyileşmeyi Engelleyen Faktörler Kurt, N. (Editör). *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, 1. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, s. 9– 33.
- Konuspayeva, G., Faye, B., ve Loiseau, G. (2009). The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(2), 95–101. doi:10.1016/J.JFCA.2008.09.008
- Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., ve Levieux, D. (2007). Lactoferrin and

- immunoglobulin contents in camel's milk (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius*, and Hybrids) from Kazakhstan. *Journal of Dairy Science*, 90(1), 38–46.
- Korhonen, H., Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P., ve Tupasela, T. (1998). Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food Science ve Technology*, 9(8–9), 307–319. doi:10.1016/S0924-2244(98)00054-5
- Korhonen, H., ve Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945–960. doi:10.1016/J.IDAIRYJ.2005.10.012
- Kumar, D., Chatli, M. K., Singh, R., Mehta, N., ve Kumar, P. (2016). Antioxidant and antimicrobial activity of camel milk casein hydrolysates and its fractions. *Small Ruminant Research*, 139, 20–25. doi:10.1016/j.smallrumres.2016.05.002
- Kumar, V., Cotran, R. S., ve Robbinson, S. L. (2000). (2000). Temel Patoloji (Çev. S. Tuzlalı,... - Google Akademik. In *Temel Patoloji (Çev.Edt: Çevikbaş U.)* (Yüce Yayınları, pp. 516–549). Yüce Yayınları
- Laleye, L. C., Jobe, B., ve Wasesa, A. A. H. (2008). Comparative study on heat stability and functionality of camel and bovine milk whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4527–4534.
- Lansdown, A. B. G., Mirastschijski, U., Stubbs, N., Scanlon, E., ve Ågren, M. S. (2007). Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair and Regeneration*, 15(1), 2–16. doi:10.1111/J.1524-475X.2006.00179.X
- Legrand, D., Pierce, A., Ellass, E., Carpentier, M., Mariller, C., ve Mazurier, J. (2008). Lactoferrin structure and functions. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 163–194. doi:10.1007/978-0-387-74087-4_6
- Levy, A., Steiner, L., ve Yagil, R. (2013). Camel milk: disease control and dietary laws. *Journal of Health Science*, 1, 48–53.
- Li, J., Chen, J., ve Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 9–18. doi:10.1016/j.clindermatol.2006.09.007
- Lindmark-Månsson, H., ve Åkesson, B. (2000). Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition*, 84(S1), 103–110. doi:10.1017/S0007114500002324
- MacKay, D., ve Miller, A. L. (2003). Nutritional support for wound healing. *Alternative Medicine Review*, 8(4), 359–377.

- Marshall K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 9(2), 139–156.
- Metin, M. (2005). Süt teknolojisi, sütün bileşimi ve işlenmesi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları*, 33, 1–2.
- Monaco, J. A. L., ve Lawrence, W. T. (2003). Acute wound healing: An overview. *Clinics in Plastic Surgery*, 30(1), 1–12. doi:10.1016/S0094-1298(02)00070-6
- Mullaicharam, A. R. (2014). A Review on medicinal properties of camel milk. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 237–242.
- Oltulu, F., Uysal, A., Rouhrazi, H., Kılıç, K. D., Çalık Kocatürk, D., ve Öktem, G. (2019). Zoledronik asit uygulamasının meme kanseri hücre hattı (mcf 7) kanser kök hücrelerinin üzerine otofaji gen seviyesindeki etkilerinin araştırılması. *Ege Tıp Dergisi*. doi:10.19161/etd.417985
- Ozbek, N., Guneren, E., Yildiz, L., Meydan, D., Cakir, S., ve Coskun, M. (2005). The effect of pre-operative conventional and hyperfractionated radiotherapy schedules on wound healing and tensile strength in rats: an experimental study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34(2), 185–192. doi:10.1016/J.IJOM.2004.05.005
- Özkorkmaz, E., ve Özay, Y. (2009). Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Derleme.Gen.Tr*.
- Parodi, P. W. (1998). A Role for milk proteins in cancer prevention. *Australian Journal of Dairy Technology*, 1(53), 37–47.
- Pedersen, L., Mollerup, J., Hansen, E., ve Jungbauer, A. (2003). Whey proteins as a model system for chromatographic separation of proteins. *Journal of Chromatography B*, 790(1–2), 161–173. doi:10.1016/S1570-0232(03)00127-2
- Phillips, S. (2000). Physiology of wound healing and surgical wound care : *ASAIO Journal*, 46(6), 2–5.
- Pintado, M. E., Macedo, A. C., ve Malcata, F. X. (2016). Review: Technology, chemistry and microbiology of whey cheeses:, 7(2), 105–116. doi:10.1177/108201320100700202
- Regester, G. O., Belford, D. A., Goddard, C., Howarth, G. S., Smithers, G. W., Copeland, A. D., De Silva, K. S., Toneman, L. Z., ve Read, L. C. (1998). Prospective clinical applications for a growth factor extract from whey: gut disease and wound repair. *CASA*

Working Papers (92), 44(0), 1–24.

- Rodriguez, P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T., ve Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic Surgery*, 34(9), 1159–1169. doi:10.1111/J.1524-4725.2008.34254.X
- Saygılı, D., ve Karagözlü, C. (2017). Deve sütü ve diyabet tedavisindeki önemi. *Akademik Gıda*, 204–210. doi:10.24323/akademik-gida.333677
- Sekine, K., Watanabe, E., Nakamura, J., Takasuka, N., Kim, D. J., Asamoto, M., Krutovskikh, V., Baba-Toriyama, H., Ota, T., Moore, M. A., Masuda, M., Sugimoto, H., Nishino, H., Kakizoe, T., ve Tsuda, H. (1997). Inhibition of azoxymethane-initiated colon tumor by bovine lactoferrin administration in f344 rats. *Japanese Journal of Cancer Research*, 88(6), 523–526. doi:10.1111/J.1349-7006.1997.TB00413.X
- Semen, Z., ve Arif, A. (2016). Biological and therapeutic effects of dietary camel milk see profile. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi* 2015: 3 - 4, 85-101.
- Shabo, Y., Yagil, R., ve Yagil, R. (2005). Etiology of autism and camel milk as therapy. *International Journal on Disability and Human Development*, 4(2), 67–70. doi:10.1515/IJDHD.2005.4.2.67
- Shabo Yosef , Barzel Reuben , Margoulis Mark , ve Yagil Reuven (2005). Camel milk for food allergies in children. *Immunology and Allergies*, 7, 796–798.
- Shakespeare, P. (2001). Wound healing and skin substitutes. *Burns*, 27(5), 517–522. doi:10.1016/S0305-4179(01)00017-1
- Soomro, A. H., Qureshi, T. A., Khaskheli, M., Arain, M. A., Chaudhry, S., ve Soomro, A. H. (2005). Physico-chemical quality of camel milk host-parasite relationship view project poultry meat products view project physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agriculture ve Social Sciences*, 1813–2235(01–2), 164–166.
- Stechmiller, J. K. (2010). Understanding the role of nutrition and wound healing. *Nutrition in Clinical Practice*, 25(1), 61–68. doi:10.1177/0884533609358997
- Steinstraesser, L., Koehler, T., Jacobsen, F., Daigeler, A., Goertz, O., Langer, S., Kesting, M., Steinau, H., Eriksson, E., ve Hirsch, T. (2008). Host defense peptides in wound healing. In *Molecular Medicine* (Vol. 14, Issues 7–8, pp. 528–537). doi:10.2119/2008-00002.Steinstraesser

- Strodtbeck, F. (2001). Physiology of wound healing. *Newborn and Infant Nursing Reviews*, 1(1), 43–52. doi:10.1053/NBIN.2001.23176
- Thompson, C., ve Fuhrman, M. P. (2005). Nutrients and wound healing: still searching for the magic bullet. *Nutrition in Clinical Practice*, 20(3), 331–347. doi:10.1177/0115426505020003331
- Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D., ve Wichers, H. (2015). The impact of food bioactives on health: in vitro and ex vivo models. In *Springer International Publishing*. doi:10.1007/978-3-319-16104-4
- Wen, C. T. P., Hussein, S. Z., Abdullah, S., Karim, N. A., Makpol, S., ve Yusof, Y. A. M. (2012). Gelam and nenas honeys inhibit proliferation of ht 29 colon cancer cells by inducing dna damage and apoptosis while suppressing inflammation. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(4), 1605–1610. doi:10.7314/APJCP.2012.13.4.1605
- Werner, S., Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83, 835–870.
- Werner, S., Krieg, T., ve Smola, H. (2007). Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(5), 998–1008. doi:10.1038/sj.jid.5700786
- Wernery, U. (2007). Camel milk - New observations. *Proceedings of the International Camel Conference “Recent trends in camelids research and future strategies for saving camels”*, Rajasthan, India, 16-17 February 2007., 200–204.
- Witte, M. B., ve Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 509–528. doi:10.1016/S0039-6109(05)70566-1
- Yadav, A. K., Kumar, R., Priyadarshini, L., ve Singh, J. (2015). Composition and medicinal properties of camel milk: A Review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 34(2), 83. doi:10.5958/0976-0563.2015.00018.4
- Yerlikaya, O., Saygılı, D., ve Karagözlü, C. (2016). Deve sütü bileşimi sağlık üzerine etkileri deve sütü ürünleri. *I. Uluslararası Selçuk-Efes Devecilik Kültürü ve Deve Güreşleri Sempozyumu Bildiriler II. Cilt Fen ve Sağlık Bilimleri*, 31–43.
- Yoo, Y.-C., Watanabe, S., Watanabe, R., Hata, K., Shimazaki, K., ve Azuma, I. (1998). Bovine lactoferrin and lactoferricin inhibit tumor metastasis in mice. *Advances in*

Experimental Medicine and Biology, 443, 285–291. doi:10.1007/978-1-4757-9068-9_35

Zübeir, I. E. M. EL, ve Jabreel, S. O. (2008). Fresh cheese from camel milk coagulated with camifloc. *International Journal of Dairy Technology*, 61(1), 90–95. doi:10.1111/J.1471-0307.2008.00360.X

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Deve Whey Proteininin Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Şevin Ece GÜNDEŞ

06 / 01 / 2022