

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULACAK CERRAHİ YARALARDA DOKU  
TRANSGLUTAMİNAZİ ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**Orçun İŞLER ÖZGÜN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2018**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Orçun İŞLER ÖZGÜN tarafından hazırlanan “Sıçanlarda Oluşturulacak Cerrahi Yaralarda Doku Transglutaminazı Etkisinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 08/10/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Suna CEBESÖY



### Jüri Üyeleri:

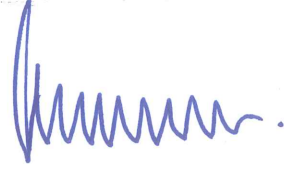
**Başkan:** Prof. Dr. Zekiye SULUDERE  
Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : Prof. Dr. Suna CEBESÖY  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : Prof. Dr. Nesrin ÖZSOY ERDAŞ  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : Prof. Dr. Selami CANDAN  
Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN**  
Enstitü Müdürü

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

08.10.2108



Orçun İŞLER ÖZGÜN

## ÖZET

Doktora Tezi

### SIÇANLARDA OLUŞTURULACAK CERRAHİ YARALARDA DOKU TRANSGLUTAMİNAZİ ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Orçun İŞLER ÖZGÜN

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Suna CEBESÖY  
Eş Danışman: Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

TG2; hücre dışında yara iyileşmesi, anjiyogenez ve kemik onarımında önemli olan matriks stabilizasyonunda, hücre içinde ise apoptozis sırasında ve proteinlerin çapraz bağlanmasında rol oynayan transglutaminaz ailesinin en ilgi çekici üyelerinden biridir. Yaptığımız çalışmada; cerrahi kesi yöntemi ile yara oluşturulan sağlıklı ratlarda derialtı TG2 uygulamasının yara iyileşmesi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Wistar Albino erkek ratlar; 8 adedi sağlıklı, 8 adedi kontrol cerrahi kesi grubu ve 8 adedi TG2 uygulanan cerrahi kesi grubu olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Gruptaki kontrol cerrahi kesi grubu ve TG2 uygulanan cerrahi kesi grubu hayvanların sırt bölgelerine anestezi altında cerrahi kesi yara oluşturulmasının ardından sütür atılmıştır. Yara oluşumundan sonra ratların derisindeki fiziksel bazı değişiklikler 3., 5., 7., 10., 12. ve 15. günlerde fotoğraflanarak makroskobik olarak gözlenmiştir. 15. günde ratlar ötenazi edilerek sütürlü bölgeleri çıkarılarak bir kısmı homojenizasyona kadar -80 °C’de muhafaza edilmiştir, bir kısmı ise % 4’lük paraformaldehidde tespit edilerek parafine gömülmüştür. Daha sonra -80 °C’de muhafaza edilen dokular homojenize edilip süpernatantları alınarak ELISA yöntemi kullanılarak Sitokrom c (apoptozis değerlendirmesi), kollajen-1, EGF (Epidermal Büyüme Faktörü), FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü), VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü), İnterlökin-8 ve -10 ölçümleri yapılmıştır. Parafine gömülen dokular ise mikrotomla kesitleri alınıp deparafinize edilerek Hematoksilen Eozin boyama yöntemi ve Masson’un Trikom boyama kiti ile boyanıp mikroskopta histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Yara bölgesinin hem makroskobik olarak değerlendirildiğinde, hem ELISA sonuçları değerlendirildiğinde, hem de mikroskobik olarak değerlendirildiğinde yara iyileşmesi açısından derialtı TG2 uygulanan grubun diğer gruplara göre daha iyi iyileşme gösterdiği görülmüştür. Sonuç olarak TG2’nin haricen olarak uygulandığında yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür.

**Ekim 2018, 98 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Yara iyileşmesi, Doku Transglutaminazı, Cerrahi yara, Sıçan, Büyüme faktörü, İnflamasyon

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### DETERMINATION OF TISSUE TRANSGLUTAMINASE EFFECT TO BE CREATED IN SURGICAL WOUND MODELS IN RATS

Orçun İŞLER ÖZGÜN

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Suna CEBESÖY  
Co-Supervisor: Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

TG2; is one of the most interesting members of the transglutaminase family, which plays a role in matrix stabilization important for wound healing, angiogenesis and bone repair outside the cell, during apoptosis in the cell and for cross-linking proteins. In our work; the effectiveness of subcutaneous TG2 administration on wound healing was investigated in healthy rats that were wounded by surgical incision method. Male Wistar albino rats are divided three groups as 8 healthy tissue groups, 8 surgical incision groups and 8 TG2 treated surgical groups. Sutures were made to the dorsal regions of animals in the last two groups following surgical incision under anesthesia. Some physical changes in the skin of the rats after wound formation were macroscopically observed on the 3rd, 5th, 7th, 10th, 12th and 15th days by photography. At day 15 rats were euthanized and suture zones were removed. Some of the removed areas were kept at -80 °C until homogenization and the other part was fixed in paraformaldehyde at 4 % and embedded in paraffin. The tissues at -80 °C were homogenized and supernatants were obtained. And then Cytokrom c (apoptosis assessment), collagen-1, EGF (Epidermal Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), Interleukin-8 and -10 measurements were performed in the supernatants by ELISA method. The paraffin embedded tissues were sectioned by microtome and then they were deparaffinized. The deparaffinized tissues was stained with Hematoxylin Eosin staining method and Masson's Tricrom staining kit and histopathologically evaluated in the microscope. When the wound area was assessed macroscopically, when ELISA results were assessed and when microscopically assessed, the group treated with subcutaneous TG2 in terms of wound healing showed better recovery than the other groups. As a result, TG2 when applied externally had been seen to accelerate wound healing.

**October 2018, 98 pages**

**Key Words:** Wound healing, Tissue transglutaminase, Surgical wound, Rat, Growth factors, Inflammation

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yaralanan bölgenin eski özelliklerini kazanabilmesi, yaranın estetik açıdan kusursuz ve hızlı bir şekilde kapanmasının sağlanması klinik açıdan önem arz etmektedir. Bu deneysel çalışmada doku transglutaminazının haricen yara bölgesine uygulanması ile yaranın normale en yakın ve en hızlı şekilde kapanması amaçlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında bana karşı ilgisini ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Suna CEBESÖY'a, çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen eş danışmanım Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyopatoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nuray YAZIHAN'a, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Oya EVİRGEN'e, Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktor Öğretim Üyesi Emine Nazlı HAYIRLI'ya, ODTÜ Biyolojik Bilimler Bölümü Arş. Gör. Didem MİMİROĞLU'na, Yüksek Gıda Mühendisi Şeyma AĞIRAL'a; maddi ve manevi olarak yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Ramazan ÖZGÜN'e, annem Ayşegül İŞLER'e, babam Ömür İŞLER'e, kardeşim Tuğçe İŞLER'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması; Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, Bilim ve Teknoloji Genel Müdürlüğü SAN-TEZ (Sanayi Tezleri) "Midkin uygulamasının sıçanlarda oluşturulacak yara modellerinde etkisinin belirlenmesi: Farklı modellerde uygulanabilir yeni bir yara örtüsü geliştirilmesi (0443-STZ.2013-2)" başlıklı proje kapsamında desteklenmiştir.

Orçun İŞLER ÖZGÜN

Ankara, Ekim 2018

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEZ ONAY SAYFASI                                                                         |     |
| ETİK.....                                                                                | i   |
| ÖZET.....                                                                                | ii  |
| ABSTRACT.....                                                                            | iii |
| ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....                                                                   | iv  |
| SİMGELER DİZİNİ.....                                                                     | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                     | ix  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                                                   | xi  |
| 1. GİRİŞ.....                                                                            | 1   |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ.....                                                                  | 5   |
| 2.1 Deri.....                                                                            | 5   |
| 2.2 Yara.....                                                                            | 6   |
| 2.2.1 Yara tanımı.....                                                                   | 6   |
| 2.2.2 Yara çeşitleri .....                                                               | 7   |
| 2.2.3 Yara iyileşmesi.....                                                               | 9   |
| 2.2.3.1 İnflamasyon fazı.....                                                            | 11  |
| 2.2.3.2 Proliferasyon fazı.....                                                          | 13  |
| 2.2.3.3 Maturasyon fazı.....                                                             | 17  |
| 2.3 Transglutaminazlar.....                                                              | 19  |
| 2.3.1 Transglutaminazların sınıflandırılması.....                                        | 24  |
| 2.3.1.1 Transglutaminaz 1.....                                                           | 24  |
| 2.3.1.2 Transglutaminaz 3.....                                                           | 24  |
| 2.3.1.3 Transglutaminaz 4.....                                                           | 25  |
| 2.3.1.4 Transglutaminaz 5.....                                                           | 25  |
| 2.3.1.5 Transglutaminaz 6.....                                                           | 26  |
| 2.3.1.6 Transglutaminaz 7.....                                                           | 26  |
| 2.3.1.7 Plazma Transglutaminazı (Faktör XIIIa, FXIIIa) .....                             | 26  |
| 2.3.1.8 Eritrosit membran protein band 4.2 (Band 4.2) .....                              | 27  |
| 2.3.1.9 Transglutaminaz 2.....                                                           | 27  |
| 2.3.2 Yara iyileşmesinde transglutaminazlar.....                                         | 34  |
| 2.3.3 Kütanöz yara iyileşmesi ve cilt morfogenezisinde<br>transglutaminazların rolü..... | 35  |
| 2.3.4 Matriks sentezinde ve degradasyonda TG2'nin rolü.....                              | 37  |
| 2.3.5 Yara iyileşmesinde TG2'nin rolü.....                                               | 39  |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....                                                               | 43  |
| 3.1 Hayvan Materyali.....                                                                | 43  |

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.1 Deney gruplarının oluşturulması.....                                                                                                                                    | 43 |
| 3.1.2 Deney gruplarında yara oluşturulması.....                                                                                                                               | 44 |
| 3.1.3 TG2'nin uygulamaya hazır hale getirilmesi.....                                                                                                                          | 44 |
| 3.1.4 Yara bölgesine TG2 uygulaması.....                                                                                                                                      | 44 |
| 3.1.5 Deney gruplarındaki ratlardan deri materyalinin toplanması.....                                                                                                         | 45 |
| 3.1.6 Deri materyalinin ELISA kitleri için hazırlanması.....                                                                                                                  | 45 |
| 3.2 Yöntem.....                                                                                                                                                               | 45 |
| 3.2.1 Doku örneklerinden sitokrom c, FGF, EGF, VEGF, TNF- $\alpha$ ,<br>kollajen tip I, IL-8, IL-10 düzeylerinin ölçümü için kullanılan<br>ELISA kitlerinin hazırlanması..... | 45 |
| 3.2.2 Deri materyalinin histopatolojik inceleme yöntemi için<br>hazırlanması.....                                                                                             | 47 |
| 3.2.3 Deri materyalinin histopatolojik inceleme için boyanması.....                                                                                                           | 48 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....                                                                                                                                                   | 50 |
| 4.1 İn Vivo Doku Transglutaminazı Uygulamasının Cerrahi Kesi Yara<br>Modelinde Etkisinin Değerlendirilmesi.....                                                               | 53 |
| 4.1.1 Apoptozis değerlendirilmesi.....                                                                                                                                        | 53 |
| 4.1.2 Tip 1 kollajen.....                                                                                                                                                     | 54 |
| 4.1.3 EGF (Epidermal Büyüme Faktörü) .....                                                                                                                                    | 54 |
| 4.1.4 FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü) .....                                                                                                                                   | 55 |
| 4.1.5 VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) .....                                                                                                                         | 55 |
| 4.1.6 TNF- $\alpha$ (Tümör Nekrozis Faktör) .....                                                                                                                             | 56 |
| 4.1.7 IL-8 (İnterlökin-8) .....                                                                                                                                               | 56 |
| 4.1.8 IL-10 (İnterlökin-10) .....                                                                                                                                             | 57 |
| 4.2 Mikroskopik İnceleme Sonuçları.....                                                                                                                                       | 58 |
| 4.3 Yara İyileşmesi Skorları.....                                                                                                                                             | 63 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....                                                                                                                                                     | 65 |
| KAYNAKLAR.....                                                                                                                                                                | 83 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                                                                                                 | 98 |

## SİMGELER DİZİNİ

|                                |                    |
|--------------------------------|--------------------|
| kg                             | Kilogram           |
| m <sup>2</sup>                 | Metrekare          |
| mm                             | Milimetre          |
| cm <sup>2</sup>                | Santimetre kare    |
| Ca <sup>+2</sup>               | Kalsiyum           |
| γ                              | Gama               |
| kDa                            | Kilo Dalton        |
| NH <sub>2</sub>                | Amin               |
| COOH                           | Karboksil          |
| kb                             | kilobaz            |
| bç                             | baz çifti          |
| °C                             | Santigrad          |
| HCl                            | Hidroklorik asit   |
| M                              | Molar              |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Sülfürik asit      |
| g                              | Gram               |
| mg/kg                          | Miligram/Kilogram  |
| NaCl                           | Sodyum Klorür      |
| ng/ml                          | Nanogram/Mililitre |
| nm                             | Nanometre          |
| μg                             | Mikrogram          |
| cm                             | Santimetre         |
| μl                             | Mikrolitre         |
| μm                             | Mikrometre         |

## **Kısaltmalar**

|                |                                                         |
|----------------|---------------------------------------------------------|
| Asp            | Asparagin                                               |
| Cys            | Sistein                                                 |
| ECM            | Ekstrasellüler matriks                                  |
| EDTA           | Etilen Diamin Tetra Asetik Asit                         |
| EGF            | Epidermal Büyüme Faktörü                                |
| FGF            | Fibroblast Büyüme Faktörü                               |
| FN             | Fibro Nektin                                            |
| GTP/ATP        | Guanozin Trifosfat/ Adenozin Trifosfat                  |
| His            | Histidin                                                |
| Hox            | Homeobox                                                |
| IGF            | İnsülin benzeri Büyüme Faktörü                          |
| IL             | İnterlökin                                              |
| LTBP           | Latent Transforme Edici Büyüme Faktörü Bağlama Proteini |
| MMP            | Matriks Metallo Proteinaz                               |
| NF- $\kappa$ B | Nüklear faktör kappa-B                                  |
| Obj            | Objektif                                                |
| PAI            | Plazminojen Aktivatör İnhibitör                         |
| PDGF           | Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü                        |
| PDI            | Protein Disülfid İzomeraz                               |
| PEG            | Polietilen Glikol                                       |
| TG             | Transglutaminaz                                         |
| TGF- $\beta$   | Transforme edici Büyüme Faktörü- Beta                   |
| TIG            | Taratozen İndüklenmiş Gen                               |
| TMB            | 3-3'-5-5' Tetra Metil Benzidin                          |
| TNF- $\alpha$  | Tümör Nekroz Faktör- Alfa                               |
| VEGF           | Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü                      |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1 Epitel dokuyu oluşturan 5 tabakalı epidermis tabakası.....                                                                    | 6  |
| Şekil 2.2 Yara iyileşme evreleri ve görev alan hücreler.....                                                                            | 10 |
| Şekil 2.3 Kütanöz yara iyileşmesinin fazları.....                                                                                       | 19 |
| Şekil 2.4 Transglutaminaz 2 (TG2) proteininin yapısal ve fonksiyonel alanlarının şematik resmi.....                                     | 28 |
| Şekil 2.5 GDP bağlı kompakt inaktif TG2.....                                                                                            | 32 |
| Şekil 2.6 TG2 ekspresyonunu ve / veya aktivitesini düzenleyen stres, yaralanma ve inflamatuvar yanıt yolları.....                       | 33 |
| Şekil 4.1 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 3. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri.....               | 50 |
| Şekil 4.2 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 5. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri.....               | 51 |
| Şekil 4.3 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 7. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri.....               | 51 |
| Şekil 4.4 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 10. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri.....              | 52 |
| Şekil 4.5 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 12. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri.....              | 52 |
| Şekil 4.6 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 15. gündeki (kesim günü) yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri..... | 53 |
| Şekil 4.7 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının sitokrom C düzeyine etkisi.....                                           | 53 |
| Şekil 4.8 Cerrahi kesi modelinde TG 2'nin direkt uygulamasının tip 1 kollajen düzeyine etkisi.....                                      | 54 |
| Şekil 4.9 Cerrahi kesi modelinde TG 2'nin direkt uygulamasının EGF düzeyine etkisi.....                                                 | 54 |
| Şekil 4.10 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının FGF düzeyine etkileri.....                                               | 55 |
| Şekil 4.11 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının VEGF düzeyine etkileri.....                                              | 55 |
| Şekil 4.12 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının TNF- $\alpha$ düzeyine etkileri.....                                     | 56 |
| Şekil 4.13 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının IL-8 düzeyine etkileri.....                                              | 56 |

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.14 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının IL-10 düzeyine etkileri..... | 57 |
| Şekil 4.15 Sağlıklı doku grubu.....                                                         | 58 |
| Şekil 4.16 Cerrahi kesi kontrol grubu.....                                                  | 59 |
| Şekil 4.17 TG2 grubu.....                                                                   | 59 |
| Şekil 4.18 Cerrahi kesi kontrol grubu.....                                                  | 60 |
| Şekil 4.19 Cerrahi kesi kontrol grubu.....                                                  | 60 |
| Şekil 4.20 TG2 grubu.....                                                                   | 61 |
| Şekil 4.21 TG2 grubu.....                                                                   | 61 |
| Şekil 4.22 Cerrahi kesi kontrol grubu.....                                                  | 62 |
| Şekil 4.23 TG2 grubu.....                                                                   | 62 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 2.1 Transglutaminaz enzim ailesinin üyeleri, isimlendirmeleri,<br>doku dağılımı, biyolojik fonksiyonları ve patolojik ilişkisi..... | 22 |
| Çizelge 4.1 Yara iyileşmesinin histolojik açıdan değerlendirme parametreleri.....                                                           | 63 |
| Çizelge 4.2 Cerrahi kesi kontrol ve TG2 gruplarında ortalama<br>yara iyileşmesi skoru.....                                                  | 64 |



## 1. GİRİŞ

Yara, fiziksel veya kimyasal bir etkenin vücut bütünlüğünü bozarak meydana getirdiği her türlü hasardır. Operatif veya travmatik olarak dokunun hasar görmesinin ardından, her organizmanın; kanamayı durdurma, enfeksiyonu önleme, bozulan anatomik bütünlük ile fonksiyonel yapıyı onarma gibi görevleri bulunmaktadır (Regan ve Barbul 1994, Küçük 2010).

Yara iyileşmesinin temel prensibi; doku hasarını minimuma indirmek, dokunun yeteri kadar perfüzyon ve oksijenleşmesini, düzgün beslenmesini ve nemlenmesini sağlamaktır (Gökalp-Özkorkmaz ve Özay 2009).

Yara iyileşmesi; hasarlanmadan itibaren başlayıp, aylar hatta yıllar süren bir dizi karmaşık olay dizisinden oluşur. Deride yaralanma; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hücre proliferasyonu ile yeni doku oluşumu, matriks ve dokunun yeniden şekillenmesini içeren bir dizi olayı başlatır. Bu süreç, yaralanmış bölgede kısmi yenilenmeye neden olur (Alpsoy vd. 2012).

Reepitelizasyon, kütanöz yaralanmadan sonra epidermisin tam olarak onarılma işlemidir. Mikroskobik düzeyde reepitelizasyon ise; geçici yara yatağı matriksi oluşumu, epitel keratinositlerin yara kesisi uçlarından göçü, epitel matriks gelişimi ve göçünü sağlayan keratinositlerin çoğalması, yeni epitel tabakalanması (stratifikasyon) ve farklılaşması, bazal membran bölgesinin yeniden oluşumu gibi pek çok süreç içerir (Li vd. 2007).

Yara oluşumundan sonra reepitelizasyonun en erken bulgusu keratinositlerin kesinin kenarından 24-48 saat içinde yara yatağı boyunca göç etmeye başlamasıdır (Li vd. 2007). Bazal keratinositler bazal membrana yakın yerleşirler. Keratinosit laminin izoformları, tip IV kollagen ve tip VII kollajen içeren kendi bazal membranının çoğunu salgılar. Yara iyileşmesi sırasında intakt taban zarı kaybolduğunda, göç eden keratinositler; fibronektin, fibrin, vitronektinden zengin olan, yaranın geçici matriksini

kullanırlar. Yeniden epitelizasyon sırasında keratinositler; plazma zarı taban membranı kollajenleri (tip IV ve VII) ve interstitial (doku arası) kollajenler (tip I, III, VI) ile ilişki kurarlar (Kadler vd. 1996).

Yaralanmadan yaklaşık 12 saat sonra, keratinositlerin düzleşmesi ve uzaması, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşiminin kaybı, hücre içi tonofilamanların geri çekilmesi ve kenarda aktin filamentlerin oluşumu gibi bir dizi olay meydana gelir. Hücre dışı matriks, integrin reseptörleri, matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve büyüme faktörleri dahil olmak üzere keratinosit göçünde birçok element rol oynamaktadır. Fibrin, fibronektin ve tip V kollajen tarafından oluşturulan geçici bir matriks, keratinositlerin göç edebilmesini sağlar (Li vd. 2007).

Kollajen, özellikle memelilerde çeşitli mekanik fonksiyonları yerine getiren ve en bol bulunan fibröz proteinler arasındadır. Tendon ve ligamentlerin çoğunu, deride, arterlerde, kıkırdakta ve hücre dışı matrikste bulunan dentini ve kemikteki organik matriksin büyük bölümünü oluşturur (Fratzl 2008).

Kollajenler alfa zincir üçlü heliksi oluşturan, glikoprotein içeren, hücre dışı matrikste bulunan protein ailesidir. Bulunan 22 farklı alfa zincirinin en az 17 tanesi deride bulunur. Her alfa zincirde bulunan tekrarlanan Gly-Xaa-Yaa motifi, üçlü heliks yapısının oluşmasını sağlar (Engel ve Bächinger 2005). Tip I kollajen, deri kollajeninin % 80'ini oluşturur ve deri gerilmesinde esnekliği sağlar. Yara iyileşmesinin başlangıcında tip III kollajen ve fibronektin birikir ve sonra tip III kollajenin yerini tip I kollajen alır. Yaralanma sonrasının ilk 24 saatinde tip I kollajen granüle dokunun yalnız derin tabakalarında bulunur. Yaralanma sonrasında 6-13 gün içinde transkriptler granüle dokunun daha üst tabakalarında da bulunur. Tip I kollajen insan keratinositlerinin göçünü in vitro koşullarda belirgin biçimde artırır. Tip IV kollajen taban membran bölgesindeki lamina densa içinde 3 boyutlu kafese benzer bir yapı oluşturur. Tip IV kollajen; helikal yapısı içindeki Hep III domain sülfat proteoglikanlara bağlanarak hücreye tutunma bölgesi oluşturur ve tip IV kollajen üzerinde keratinosit göçünü sağlar. Tip IV kollajen ve tip I kollajen keratinosit göçünü in vitro artırır (Kadler vd. 1996, Abreu-Velez ve Howard 2012). Tutunma fibrilleri olarak da adlandırılan kollajen VII

proteinleri, lamina densadan üst papiller dermise kadar uzanırlar ve burada tutunma plakası olarak bilinen bir yapı oluştururlar. Papiller dermisteki taban membran adaları; tutunma plakları, tip IV kollajen ve laminin 1 ile bağlantı kurarlar (Li vd. 2007). Tip VII kollajen ifadesi ve tutunma fibrili oluşumu insan yaralarında görülen geç etkilerdendir. Bu geç ifadeye paralel olarak, yeniden epitelizasyon tamamlandıktan sonra iyileşmiş yarada uzun bir süre (aylar, yıllar) boyunca epidermal-dermal adezyon zayıf olmaktadır. Genel olarak yara iyileşme modellerinde diğer kollajen tipleri de rol alıyor olsa da tüm süreçler göz önünde tutulduğunda tip I, III, IV, V, VI, VII kollajenlerinin olaya daha aktif olarak katıldığı görülmektedir (Clark 1996).

Araştırmacılar 1959'da, düşük moleküler ağırlıklı birincil aminlerin proteinlere katılmasını katalize edebilmesine bağlı olarak TG2 olarak adlandırılan ilk transglutaminazı (TG'yi), kobay karaciğerinden elde ettiler. Transglutaminazlar; serbest amin grupları ve peptid bağlı glutaminlerin  $\gamma$ -karboksamid grupları arasında kovalent bağlar oluşturarak proteinlerin  $Ca^{+2}$ 'ye bağımlı posttranslasyonel modifikasyonunu katalize eden bir protein ailesidir (Eckert vd. 2014).

İnsanlarda 9 tane TG geni bulunmaktadır (Eckert vd. 2014). Transglutaminazların; hemostazda fibrin pıhtı stabilizasyonu, semen koagülasyonu, keratinizasyonda keratinize hücre zarı oluşumu ve hücrelerarası matriks yapılarının stabilizasyonu gibi fonksiyonları bulunmaktadır (Aeschlimann ve Thomazy 2000, Eckert vd. 2014). Eksikliklerine bağlı olarak yara iyileşmesinde ve keratinizasyonda ciddi şekilde bozulmalar görülmektedir (Board vd. 1993, Mehta ve Eckert 2005).

TG2; TG süper ailesinin en ilgi çekici üyesidir. Yara iyileşmesi, anjiyogenez ve kemik onarımında önemli olan matriks stabilizasyonunda hücre dışı ve apoptozis sırasında proteinlerin çapraz bağlanmasında ise hücre içi bir rol oynamaktadır (Iismaa vd. 2009). TG2 nakavt farelerde yapılan bir çalışmada yara iyileşmesinin bozulduğunun saptanması ile TG2'nin doku onarımı için gerekliliği anlaşılmıştır (Mearns vd. 2002, Stephens vd. 2004). TG2'nin çeşitli yara iyileşmesi ile ilgili süreçlerdeki rolleri iyileşmenin çeşitli aşamaları sırasında meydana gelen matriks stabilitesinin, yara izinin trombosit agregasyonunun ve anjiyogenezin düzenlenmesini içermektedir (Verderio vd.

2004). TG2'nin endojen olarak yara iyileşmesine pozitif yönde etkisi olmasının yanısıra haricen olarak uygulanmasının da yarada yeni ve yararlı bir tedavi yaklaşımı olabileceğini düşündürmektedir.

Deride TG2, yara iyileştirme programının temel bir bileşenidir ve fonksiyonel dermo-epidermal birleşme aparatının yeni oluşumu için hücre dışı bileşenlerin transamidasyonu gereklidir (Mearns vd. 2002, Stephens vd. 2004).

Bu çalışmada, sağlıklı Wistar Albino ırkı erkek ratlarda TG2'nin 10 IU/kg dozunda gūnaşırı yara bölgesine subkutan uygulamasının; makroskopik, bazı büyüme faktörleri ve histopatolojik açıdan yara iyileşmesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

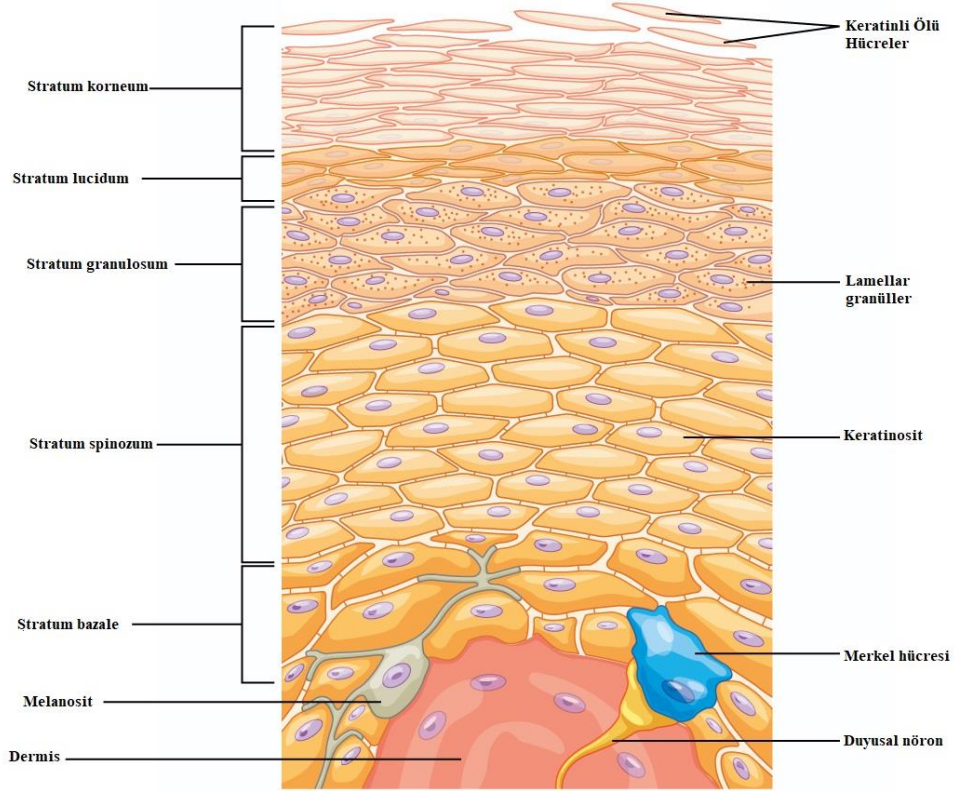
## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Deri

Vücutun en büyük organı olan deri, 70 kg ağırlığındaki bir insanda yaklaşık 1,8 m<sup>2</sup> yüzey alanı kaplar (Anonymous 2006). Derinin temel görevi; çevresel etmenlere, toksik maddelere, endojen sıvı ve besinlerin kaybına karşı canlıyı korumaktır (Singer ve Clark 1999, Anonymous 2006). Terleme ve ısıнын düzenlenmesi ile beden ısısının korunmasında da önemli rol oynayan deri, yaralanma ve yanık gibi olaylarda deri turnoveri ile kendini otomatik olarak onarmakta ve bu mekanizma sitokin salınımı ile daha da hızlanmaktadır (Anonymous 2006). Ayrıca, bazı omurgalı hayvanlarda solunumu da üstlenmektedir (Kuru 1994).

Yaşama ortamlarına, canlıların türüne ve vücutta bulunduğu bölgelere göre yapısal farklılıklar gösteren bu yapı; en dış tabakası ektodermden köken alan epidermis ve alt katmanı ise mezodermden köken alan dermis olmak üzere temel olarak iki büyük bölüme ayrılmaktadır (Anonymous 2006). Hipodermis ise, cildi bağ dokusuna bağlayan ve gevşek bağ dokusu ağı arasında gözlenebilen yağ hücreleri ile karakterize edilen alt tabakadır (Tuncer vd. 2016).

Epidermis; dıştan içe stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve bazal tabaka (stratum germinativum) olarak 5 temel bölüme ayrılır. Epidermiste en yoğun bulunan hücre tipi ise keratinositlerdir (Anonymous 2006). Burada bulunan keratinositlerin temel görevi; canlıyı yabancı cisimler, mikroorganizmalar ve dehidrasyona karşı korumaktır (Wiegand ve Hipler 2008).



Şekil 2.1 Epitel dokuyu oluşturan 5 tabakalı epidermis tabakası (Anonymous, 2018)  
(1-stratum korneum, 2-stratum lucidum, 3-stratum granulosum, 4-stratum spinosum, 5-stratum bazale ve dermis tabakasının şematik görüntüsü)

Dermis; damarsız olan epidermise besin desteği sağlayan katmandır, gerilme-esneme fonksiyonları ile enfeksiyon etkenlerine karşı bariyer görevi üstlenir ve su deposu olarak işlev görür. Yaklaşık 2-3 mm kalınlığındaki bu tabaka; yapısında fibröz protein matriks, kollajen ve elastin içerir. Ayrıca; kan damarları, basınç, sıcaklık ve ağrıyı algılayan duyu sinirleri, lenf damarları, ter bezleri ve pilosebace (kıl follikülü+yağ bezi) üniteler içermektedir (Anonymous 2006, Dik 2015).

## 2.2 Yara

### 2.2.1 Yara tanımı

Yara, fiziksel veya kimyasal bir etkenin vücut bütünlüğünü bozacak şekilde oluşturduğu her türlü hasar olarak tanımlanmaktadır (Soysal ve Çakalır 1999, Kahya 2005). Bir

başka ifade ile yumuşak dokuların normal fonksiyonlarının ve anatomik yapısının bozulması da yara olarak tanımlanmaktadır (Karasu ve Bakır 2008).

### **2.2.2 Yara çeşitleri**

#### **1) Sıyrık yarası (Abrazyon)**

Derinin sürtünmesi sonucu oluşan yüzeysel yaralanmalardır. Derinin epidermis tabakasında meydana gelir. Derinliğine göre kapiller damarlardaki harabiyet sonucu dışarıya serum ve kan sızar, kabuklaşma görülür, genellikle iz bırakmadan iyileşir (Şener ve Set 2013).

#### **2) Kesik yarası (Laserasyon)**

Bıçak, çakı, makas vb. cisimlerden kaynaklanan yaralardır. Derinin tüm katlarının hasar gördüğü doku yaralanmasıdır. Laserasyonların yara kenarları düzensiz ve kirlidir. Deri altındaki damar ve sinirler kesildiği için ağrı ve kanama meydana gelir. Yara ağzları birbirinden uzaklaşmıştır (Şener ve Set 2013).

#### **3) Ezik yarası (Kontüzyon)**

Genellikle kapalı yaralardır. Taş, sopa, yumruk gibi etkenlerin şiddetli olarak çarpması sonucu şekillenirler. Yara kenarları eziktir. Bazen de büyük damarların yırtılması sonucu kan toplanması (hematom) görülebilir. Kazalarda en çok karşılaşılan yara çeşididir. Deri bütünlüğü bozulmamış ancak deri altında harabiyet vardır (Şener ve Set 2013).

#### **4) Ekimoz**

Hasarlanan damardan doku içine kanın sızması ile oluşur. Ekimozlar sıklıkla cilt altında, iç organlarda ve kaslarda yerleşim gösterirler. Cilt altı yerleşim gösteren

ekimozlar cilt seviyesinde kalır ve genellikle şekilsizdirler. Cilt altına yerleşim gösteren ekimozların aksine, derin dokulara yerleşim gösteren ekimozlar dıştan gözükmebilirler. Ekimoz oluştuğu andan itibaren zamanla hemoglobinin içeriğindeki hemosiderin, biliverdin ve bilirubin etkisi ile sırasıyla mor-kahverengi, yeşil-kahverengi ve yeşil-sarı renk değişimleri göstererek kaybolur (Şener ve Set 2013).

#### 5) Delici (Penetre) yara

Uzun kesici ve sivri aletlerden kaynaklanan yaralardır. İç dokulara ulaştığı zaman sinir, damar ve kas kesiklerine neden olurlar. Dış kanama yok denecek kadar az, iç kanama riski yüksektir (Şener ve Set 2013).

#### 6) Kesici alet yaraları

Keskin bir yüzeyi olan ve bu yüzeyin dokulara sürtülmesi ya da bastırılması ile dokunun kesilmesine neden olan aletlerle meydana gelen yaralanmalardır. Kesici aletlerle oluşturulan yaralar temizdir ve yara dudakları oldukça düzgün ayrılmıştır. Yara etrafında ekimoz ve abrazyon (sıyrık) yoktur. Kemik dokusuna ulaşmış ise kemik üzerinde çizgisel ya da kıymık (talaşlanma) gibi hasar olur (Polat vd. 1997, Şener ve Set 2013).

#### 7) Parçalı yaralar

Derinin bir parçası kopmuştur ya da küçük bir yerinden bağlı kalmış şekildedir. Oldukça kanamalı yaralanmalardır. Hayvan ısırması neticesinde oluşan yaralar da bu kısım içinde ele alınmaktadır (Şener ve Set 2013).

#### 8) Ateşli silah yaraları

Mermi çekirdeğinin ya da saçmaların silah namlusundan çıkarak vücuda girmesi ile ortaya çıkan yaralanmalardır. Giriş yarası sıklıkla yuvarlaktır. Ancak giriş yara

özellikleri atış mesafesi, atış yönü, merminin bir yere çarparak vücuda girmesi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilir (Şener ve Set 2013).

### 2.2.3 Yara iyileşmesi

Yara iyileşmesi; hücre çoğalması, hücre hareketi, kollajen sentezi ve kollajen çarpaz bağ oluşumu gibi ahenk içindeki ardışık, birbiri ile bağlantılı, karmaşık, biyokimyasal ve hücrel olayların bütünüdür.

Lokal yaralanmalarda vücudun tepkisi inflamasyon süreci ile başlayıp rejenerasyon ve reperasyon ile sonuçlanır. Rejenerasyon, yara bölgesindeki iyileşmenin yaralanan dokunun kendi parankimal hücreleri ile gerçekleşmesidir ve iyileşme sonucunda yara bölgesinde hemen hemen hiç iz kalmamaktadır. Reperasyon ise, yara bölgesinin bağ doku hücreleri ile kapanması ile doku devamlılığının sağlanmasıdır (Şenol 1995, Vidinsky vd. 2006).

Yara iyileşmesi, klinik olarak yaralı deri bölgesindeki kapanmanın tamamlanması olarak da tanımlanır. Yara iyileşmesi klinik olarak; hemostaz, inflamasyon, hücrel proliferasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve anjiyogenezis, matriks sentezi ve yeniden şekillenme safhalarını içeren; yaralı deri bölgesindeki kapanmanın tamamlanması olarak tanımlanır (Alpsoy vd. 2012).

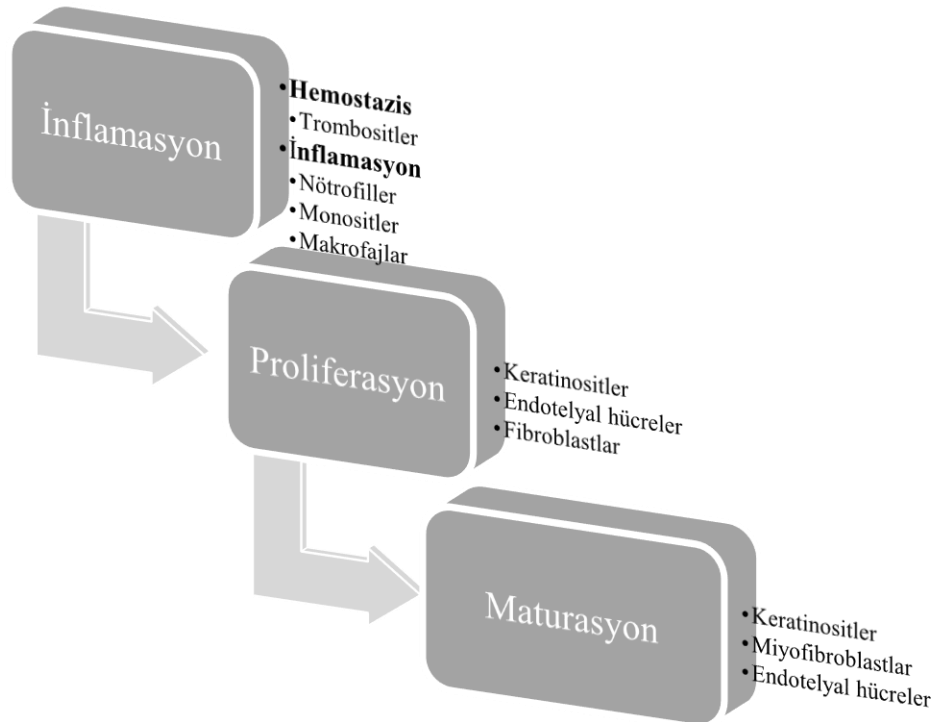
Yara iyileşmesi sürecinde; çeşitli aracı maddeler (büyüme faktörleri, kemotaktik faktörler, vazoaktif aminler), parankimal hücreler (fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler, endotel hücreleri), kanın şekilli elemanları (trombositler, nötrofiller, monositler) ve ekstraselüler matriks elemanları (kollajen, elastin, glikoproteinler ve glikozaminoglikanlar) görev almaktadırlar (Şenol 1995, Diegelmann ve Evans 2004, Dik 2015).

Cerrahi kesi ile oluşturulan tam kat deri yaralanmaları dermis ve epidermisten oluşan tüm deri tabakalarını kapsamaktadır. Epidermis, damarsız bir yapıya sahip olması

nedeni ile epitelizasyon olayı ile iyileşirken; yapısında damarlar bulunan dermis, granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen sentezi ile iyileşir (Calvin 1998, Karasu ve Bakır 2008). Sadece epidermal yaralanmalarda epidermal rejenerasyon, keratinositlerin yara yüzeyinde çoğalmasıyla oluşur (Şenol 1995).

Epitelizasyon, yaralanmadan sonra derinin dış ortama karşı engel olma özelliğini yeniden kazandırmak için epitel hücrelerinin göç etmesini, çoğalmasını ve keratinize olmasını içeren bir süreçtir (Karasu ve Bakır 2008).

Yara iyileşmesi; hemostaz ve inflamasyon (substrat-hazırlık fazı), hücresel proliferasyon (kollajen yapım fazı) ve maturasyon (remodelizasyon) olmak üzere üç evrede incelenmektedir (Şekil 2.2) (Ekmekçi ve Bostancı 2002, Verderio vd. 2004, Karasu ve Bakır 2008, Aksoy ve Bingöl-Özarpınar 2014). Sağlıklı bir canlıda inflamasyon (hazırlık fazı) evresi yaklaşık 3 gün, proliferasyon (kollajen yapım fazı) evresi yaklaşık 10 gün ve maturasyon (remodelizasyon fazı, rejeneratif faz) evresi yaklaşık 2 yıl sürmektedir (Ekmekçi ve Bostancı 2002).



Şekil 2.2 Yara iyileşme evreleri ve görev alan hücreler

### 2.2.3.1 İnflamasyon fazı

Cerrahi müdahale ya da travma sonrasında başlayan organizmayı kan kaybına karşı koruyarak doku hasarını önleyen, yabancı maddelerin yayılımını önleyen ve yarayı onarım için hazır hale getiren aşamadır (Karasu ve Bakır 2008, Küçük 2010). Dokunun yaralanması ile damarlar açılır ve trombositler yara bölgesinde hücrel bir plak oluşturarak hemostazı başlatır (Aksoy ve Bingöl Özakpınar 2014). İnflamatuvar evrede yanıt; damarsal ve hücrel cevap olarak ikiye ayrılmaktadır. Yaralanmanın erken safhasında; lokal vazodilatasyon, ekstravasküler boşluğa kan ve sıvı sızıntısı, kızarıklık, şişlik ve ısı artışı ile karakterize lenfatik drenajın engellenmesi süreçleri meydana gelir. Bu akut inflamasyon cevabı genellikle 24 ve 48 saat arasında sürer ancak bazı vakalarda 2 haftaya kadar sürebildiği bildirilmektedir. Bu evrede yarayı takiben arteriol ve kapillerde vazokonstriksiyon, bununla eş zamanlı olarak trombositlerin endotelin altında bulunan kollajen ile temas etmesi neticesinde trombositlerin kümelenmesi ve kümelenen trombositlerin agregasyonu (damarı tıkanması- pıhtılaşma) gerçekleşir (Singer ve Clark 1999, Karasu ve Bakır 2008, Küçük 2010). Süturlu yaralarda oluşan pıhtı yara bölgesini tamamen doldurarak yara dudaklarını yapıştırır ve yaraya kısmen direnç kazandırır (Karasu ve Bakır 2008).

Trombositler yara oluştuğunda ilk aktifleşen hücrelerdir (Ekmekçi ve Bostancı 2002). Trombositlerin kollajen ile temas etmesi sonucu kollajenin yapısındaki prolin ve hidroksiprolin aminoasitleri trombositleri aktifleştirirler. Aktifleşen trombositler; sadece damar tıkanmasını sağlamakla kalmayıp, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), TGF- $\beta$  (transforme edici büyüme faktörü- beta), makrofajları ve fibroblastları etkinleştiren trombosit kökenli büyüme faktörü, trombosit faktör IV, fibrinojen gibi yara iyileşmesini sağlayan ve başlatan birçok mediatör salgırlar (Singer ve Clark 1999, Küçük 2010). Bu mediatörler ve lokal olarak yara bölgesinde salgılanan trombin; trombositlerin kümeleşerek pıhtı oluşturmalarını uyarır. Trombin tarafından fibrinojenin fibrine dönüştürülmesi sonucu oluşan pıhtı ile kanama durdurulmuş olur. Pıhtılaşma, hücrelerin göçü için geçici bir matriks iskeleti oluşturur (Li vd. 2007). Fibrin ve fibronektinin birlikte oluşturduğu bu geçici matriks; monosit, fibroblast ve endotel hücrelerinin akıtılması için işlev görür. Göç eden bu hücreler, pıhtı matriksi ile

etkileşime girmek için fibrin, fibronektin ve vitronektini tanıyan integrin reseptörlerini kullanırlar (Clark 2001).

Prostaglandinler (PGE ve PGE<sub>2</sub>); inflamasyon alanında salınan inflamasyon son medyatörleri olup, lökositler ve fibroblastlar için hemeostatik rol oynarlar (Gökalp-Özkorkmaz ve Özay 2009).

İnflamatuvar evrenin erken dönemindeki baskın hücreler nötrofil ve makrofajlardır (Li vd. 2007). Doku travmasının oluşumundan hemen sonra yara bölgesine ilk olarak inflamatuvar lökositlerden nötrofiller gelerek kısa sürede sayılarını arttıırırlar. Yara bölgesine giren mikroorganizmaları ve ölü dokuları fagosit etmektedirler (Clark 2001, Ekmekçi ve Bostancı 2002, Karasu ve Bakır 2008). Yara bölgesinde bulunan aktive makrofajlar, birkaç önemli büyüme faktörlerinin ve granülasyon dokusunun oluşumunu sağlayan sitokinlerin salınımını sağlar (Li vd. 2007, Küçük 2010). Ayrıca fibroblastların yara bölgesine göçünü sağlayan fibronektinin salınımını sağlarlar. Aktif makrofajların en önemli görevleri; inflamatuvar ve proliferasyon evresi arasında geçiş görevi üstlenmesi; epitelizasyon, anjiyogenezis ve fibroplaziyi içeren mezenşimal hücrelerin aktivasyonu ve yara iyileşmesi için gerekli PDGF, TGF- $\beta$ , tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), interlökin-1 (IL-1), FGF gibi faktörleri salgılamalarıdır (Ekmekçi ve Bostancı 2002, Karasu ve Bakır 2008). Makrofajlar herhangi bir nedenle baskılanırsa; kollajen sentezi, neovaskülarizasyon (yeni damar oluşumu), fibroblastların proliferasyonu ve migrasyonunda gecikmeye bağlı olarak yara iyileşmesinde bozulma gözlenir (Karasu ve Bakır 2008). Nötrofillerin tersine, makrofajların yara bölgesinde bulunmasının ve aktivitelerinin yara iyileşmesi için hayati önemde olmasının, hem yara debridmanı hem de yara onarımı için zorunlu olduğu ifade edilmiştir (Steven 2000, Karasu ve Bakır 2008). Aşırı kontamine yaralarda makrofajların fazla miktarda baskılanması, inflamatuvar fazın uzamasına ve skar dokunun artmasına neden olabilmektedir (Karasu ve Bakır 2008).

Bu fazın son kısmında immünolojik hücrelerin sayısının azalmaya başlamasıyla; endotel hücreleri ve fibroblastlar yara bölgesinde ortaya çıkarak proliferatif fazı başlatırlar (Aksoy ve Bingöl-Özakpınar 2014).

### 2.2.3.2 Proliferasyon fazı

Proliferatif faz; anjiyogenezis, kollagen üretimi ve depolanması ve yara kontraksiyonu ile karakterizedir (Aksoy ve Bingöl-Özakupınar 2014). Proliferasyon fazı; inflamasyon fazının ardından yaralanmadan sonraki yaklaşık 3-5. günlerde yaradaki nekrotik doku, kan pıhtısı ve enfeksiyon kalktıktan sonra başlamaktadır. Yara bölgesine gelen monositler makrofajlara dönüşerek inflamatuvar fazın ortadan kaldırılıp proliferasyon fazının devamını sağlarlar (Şenol 1995, Küçük 2010). Bu dönemde fibroblastların baskınlaşması, yarada granülasyon dokusunun oluşumu, reepitelizasyon ve yara kontraksiyonu işlemleri gerçekleşmektedir. Normal yara iyileşmesi sürecindeki en önemli işaret granülasyon dokusunun oluşumudur ve yaralanmadan sonra yaklaşık 3.-6. günlerde başlar (Karasu ve Bakır 2008, Küçük 2010). Granülasyon dokusunu; fibronektin, kollajen, hyaluronik asit, yeni kan damarları, fibroblast ve inflamasyon hücrelerinin birleşimi oluşturmaktadır. Granülasyon dokusu özellikle açık yaraların iyileşmesinde, enfeksiyonlara karşı engel görevi üstlenmektedir. Ayrıca bu dokunun yapısındaki fibronektin ve hyaluronik asit; fibroblast ve makrofaj hücrelerinin göç etmesi için bir iskelet vazifesi görmektedir.

İnflamatuvar fazda oluşan geçici matriks, sitokinler ve büyüme faktörleri de granülasyon dokusu oluşumuna destek vermektedir. Granülasyon dokusunun gelişimi; fibroblastların aktive edilmesi (fibroplazi) ve yeni damarlaşma süreci olan anjiyogenezis ile karakterizedir. Granülasyon döneminde önce fibronektin sonra tip I ve tip III kollajen üreten fibroblastların yara kenarından yaraya migrasyonu ile kollajenin sentezi ve birikimi gerçekleşmektedir (Ekmekçi ve Bostancı 2002, Verderio vd. 2004, Karasu ve Bakır 2008). Granülasyon dokusundaki fibroblastların çoğunluğu miyofibroblast tipinde olup kapsadıkları filamentler sayesinde yara kontraksiyonunu sağlarlar (Şenol 1995). Fibroblastlar tarafından sentezlenen kollajenin yapısındaki hidroksiprolin derinin tekrar elastikiyetini ve direnç kazanmasını sağlamaktadır (Karasu ve Bakır 2008, Dik 2015).

Fibroplazi; fibroblastların çoğaldığı ve fibrin pıhtı içindeki lifler boyunca ve yeni gelişen kılcallar boyunca yaranın içine doğru göç ettiği ayrıca granülasyon dokusunun

oluşumuna katkı sağlayan yeni kollajen ve matriks proteinlerinin üretiminin sağlandığı süreçtir (Li vd. 2007, Karasu ve Bakır 2008). Fibroblastlar yaralanmadan sonra 3-4. günlerde görülüp, 7. günde en yüksek seviyeye ulaşırlar. 15-21. güne kadar yara bölgesinde aktif olarak görev alırlar (Karasu ve Bakır 2008). Fibroblastlar yara alanına göç edip çoğalırken kasılabilir özellik kazanarak miyofibroblastlara dönüşürler. Yapılarındaki aktin mikrofilamanları sayesinde yara büzüşmesini sağlarlar (Ekmekçi ve Bostancı 2002, Li vd. 2007).

Fibroblastlar fibrin pıhtısını geçici matriks olarak kullanarak yapısında fibronektin, laminin, hyaluronik asit ve kollajen gibi yapıları bulunduran ekstraselüler matriks ile rotasyon yaparlar (Mutsaers vd. 1997, Diegelmann ve Evans 2004, Karasu ve Bakır 2008). Fibroblastlar; TGF, IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1), PDGF gibi çeşitli büyüme faktörleri ile uyarılarak geçici matriks içine ilerler ve çoğalırlar. Erken dönemde yara ve yara etrafındaki normal deride fibronektin miktarı artarken, kollajen sentezi azalır. Fibronektin, fibroblastların göçünü artırır ve fibroblastların hücre dışı matriksine yapışmasını sağlayarak yara büzüşmesine yönlendirirler (Ekmekçi ve Bostancı 2002, Li vd. 2007). Fibroblast proliferasyonu; yara merkezindeki asidik ve düşük oksijen seviyeli ortam nedeni ile uyarılır. Anjiyogenezis sürecinde oluşan yeni damarlar ve artan oksijen taşıma kapasitesi ile de fibroblast proliferasyonu azalır (Li vd. 2007, Karasu ve Bakır 2008).

Anjiyogenezis; yara yakınındaki önceden var olan kan damarlarının filizlenerek yeni damarlar oluşturması olarak tanımlanır (Calvin 1998, Li vd. 2007, Karasu ve Bakır 2008). Bu olay yara onarımında fibroblastların proliferasyonuna eşlik eder (Stadelmann vd. 1998, Karasu ve Bakır 2008). Yaralanmaya cevaben mikrovasküler endotel hücreler; endotel hücrelerin aktivasyonunu, hücrelerin bazal membranlarının lokal bozunumunu, pıhtı içine kan damarlarının filizlenmesini, hücre proliferasyonunu, bazal membranın yeniden oluşumunu ve doku tamiri olarak yeni oluşmuş kan damarlarının küçülmesini içeren anjiyogenik bir süreç başlatır (Marx vd. 1994, Li vd. 2007). Yara oluşumunun ikinci gününde endotel hücrelerden sitoplazmik yalancı ayaklar uzanır, matriks metalloproteinaz salgılanması ve endotel hücrelerin perivasküler aralığa göçü meydana gelir (Li vd. 2007). Yeni oluşan damarlar; besin, enerji ve oksijen sağlayarak

granülasyon dokusunun oluşumuna katkı sağlarlar. Ayrıca inflamatuvar hücrelerin yara bölgesine girebilmeleri için kan damarları ile etkileşime geçmeleri gerekmektedir. Endotelial hücreler; anjiyogenezis sırasında kollajenaz, plazminojen aktivatörü, sitokinler ve matriks metalloproteinaz gibi birçok mediatörün üretimini ve salgılanmasını sağlar (Li vd. 2007, Karasu ve Bakır 2008). Makrofajlar tarafından salınan sitokinler; düşük oksijen gerilimi, laktik asit ve yara üretilen biyojenik aminler gibi yara iyileşmesi sırasında anjiyogenezisi uyarırlar. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiyopoetin, FGF ve TGF- $\beta$  gibi birçok büyüme faktörü anjiyogeneziste önemli görevler üstlenmiştir. Vasküler geçirgenlik faktörü olarak bilinen ve birçok hücre tipinden salgılanan (keratinositler, fibroblastlar ve endotelial hücreler gibi) VEGF, anjiyogeneziste önemli bir rol oynar. VEGF, endotelial hücreler için güçlü bir mitojendir ve hücre dışı öğelerin bağlanmasına yardımcı olan birçok integrin reseptörünü uyararak endotelial hücre göçünü ve damar filizlenmesini sağlar (Senger vd. 1997, Li vd. 2007, Karasu ve Bakır 2008). Doku yaralanması sırasında hipoksik dokuda meydana gelen düşük oksijen gerilimi, VEGF'nin en önemli uyarıcısıdır (Detmar vd. 1997, Li vd. 2007).

Reepitelizasyon; kütanöz yaralanma sonrasında epidermis tabakasının iyi şekilde tamir edilme sürecidir. Bu süreç; yara bölgesine birbirine bağlı keratinositlerin göçünü, keratinositlerin proliferasyonunu, sıralı epidermis içindeki neoepitelyumun farklılaşmasını ve epidermis ve dermisi birbirine bağlayan zarar görmemiş bazal membran bölgesinin tamir edilmesini kapsar. Keratinositler ilk olarak yara oluşumunu takip eden 24 saat içerisinde yaranın serbest kenarlarından yara alanına göç ederek yara oluşumuna cevap verirler. Yara bölgesindeki stabil kıl kökleri keratinositlere depo görevi görürler. Yaklaşık olarak yara iyileşmesinin 12 saat sonrasında keratinositlerin düzleşmesi ve uzaması, yalancı ayak benzeri çıkıntıların gelişimi, hücre-hücre ve hücre-matriks iletişiminin kaybı, hücre içi tonofilamanların içeri çekilmesi ve keratinositlerin sitoplazma kenarlarındaki aktin filamanlarının oluşumu gibi bir seri olay meydana gelir. Keratinosit göçü sürecine; hücre dışı matriks, integrin reseptörleri, matriks metalloproteinazlar ve büyüme faktörleri gibi birçok element katılır. Fibrin, fibronektin ve tipV kollajen tarafından oluşturulan geçici matriks; keratinositlerin göçüne ve kabuk altındaki yarayı örten döküntülerin parçalara ayrılmasına olanak sağlar (Li vd. 2007).

Keratinositler yüzeylerindeki integrin reseptörleri sayesinde fibronektine zengin geçici matriks ile iletişim kurarlar. Keratinosit göçünün yönü, yara yatağında bulunan yeni oluşmuş kollajen moleküllerindeki integrin reseptörlerine keratinositlerin bağlanması ile belirlenir. Bu bağların çözünmesi ile keratinositlerin daha ileri göç etmesi sağlanır. Matriks metalloproteinazlar, keratinosit göçündeki bu çözünmede önemli rol oynamaktadır. Örneğin, matriks metalloproteinaz-1; yara bölgesindeki keratinositlerin kollajen fibrillere bağlanmasını engelleyerek göçün devamlılığını kolaylaştırır (Parks 1999, Li vd. 2007).

Keratinositlerin proliferere olması yara bölgesinin kapanması için yeteri kadar hücrenin göç etmesi için gerekmektedir. Etkileşimin baskılanmasının bir sonucu olarak göç durduğunda, keratinositler alt tabakaya tekrar bağlanır, bazal tabaka tekrar yapılandırılır ve sonra sıralı epidermisin oluşması sonucu terminal farklılaşma süreci eski halini alır. Yara merkezine doğru tek katlı keratinositlerin varlığı ve yara kenarlarının yakınında ise çok tabakalı ve sıralı keratinositlerin varlığı bu durumun bir göstergesidir. Epidermal büyüme faktörü, keratinosit büyüme faktörü ve TGF- $\alpha$ ; keratinosit göçünü, çoğalmasını ve reepitelizasyon sürecini uyaran en önemli faktörlerdir (Li vd. 2007).

Reepitelizasyon sonrasındaki 7-9 gün içinde bazal membran bölgesi yeniden oluşmaktadır. Bazal membran bölgesinin üst kısmı; hemidesmozom ankraj filament kompleksi boyunca bazal keratinositleri bağlayıcı görev alması, alt kısmı ise; bağlayıcı fibrillerle dermis tabakasına bağlanarak sabitlenmesi nedeni ile adeziv bir yapıdadır (Li vd. 2007).

Yara kontraksiyonu; yarası çevreleyen yara dudaklarının yara merkezine doğru hareket ederek yaranın kapatılmasını kolaylaştırması sürecidir. Granülasyon dokusunun deri kenarlarını içeri doğru çekmesi sonucunda reepitelizasyonla kapatılacak alan küçülür (Karasu ve Bakır 2008).

### 2.2.3.3 Maturasyon fazı

Epitelizasyon bitirildiğinde yara iyileşmesinin tamamlandığı kabul edilmektedir. Keratonositlerin farklılaşıp dermisi oluşturmasıyla da yeniden modellenme (remodelling) fazı başlar (Aksoy ve Bingöl-Özakupınar 2014). Yara onarımının son ve en uzun aşaması olan maturasyon fazı; granülasyon dokusunun yerini skar dokusuna bırakmasını ve hücre dışı matriksin olgunlaşmasını kapsar (Kirsner ve Eaglsterin 1993, Karasu ve Bakır 2008). Maturasyon fazında; yara alanındaki fibroblastların sayısı azalır, kollajen yapımının homeostazisi sağlanır, epitelizasyon tamamlanır, yara rengi soluk hale gelir, yaradaki gerilim direnci artar ve skar dokusu hacimce küçülür (Deodhar ve Rana 1997, Karasu ve Bakır 2008). Bu faz süresince, çok miktarda hücrel ve vasküler yapıya sahip olan granülasyon dokusu yavaşça yapısal ve şekilsel değişim geçirerek daha az hücrel ve vasküler yapıya sahip skar dokusu ile rotasyon yapar. Hücrel azalma; hücrelerin yara dışına migrasyonu ya da apoptozis ile meydana gelmektedir (Kirsner ve Eaglsterin 1993, Karasu ve Bakır 2008).

Bu fazın başında fibroblastlar fazla miktarda fibronektin sekresyonu yaparlar (Şenol 1995). Fibronektin; ilerleyen dönemlerde ortadan kaldırılarak yerini fibroblastlar tarafından üretilen önce tip III kollajene daha sonra ise tip I kollajen demetlere bırakmaktadır. Fibronektin ihtiva eden geçici matriks, matriks metalloproteinazlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır (Ekmekçi ve Bostancı 2002, Karasu ve Bakır 2008). Matriks metalloproteinazlar, sağlıklı dokuda saptanamazlar ya da çok az miktarlarda bulunurlar. Yara iyileşmesi sırasında matriks metalloproteinazlar; sitokinlere, büyüme faktörlerine ve/veya hücrelerarası matriksle hücre etkileşimine cevaben uyarılırlar (Li vd. 2007).

Bu fazın en önemli özelliği kollajen sentezinin gerçekleşmesi ve kollajen sentezinin regülasyonudur. Kollajen üretimi sürekli olarak yaralanmadan sonra 4-5 haftaya kadar devam eder. Yaralanmadan sonra üretilen ilk kollajen sağlıklı derideki kollajenden daha incedir. Zamanla ilk üretilen kollajen iplikleri absorbe edilir sonrasında daha kalın ve düzenli kollajen birikimi gerçekleşir (Broughton vd. 2006, Karasu ve Bakır 2008). Bu durumun düzenli gerçekleşebilmesi için kollajen sentezi ile birlikte kollajen yıkımının

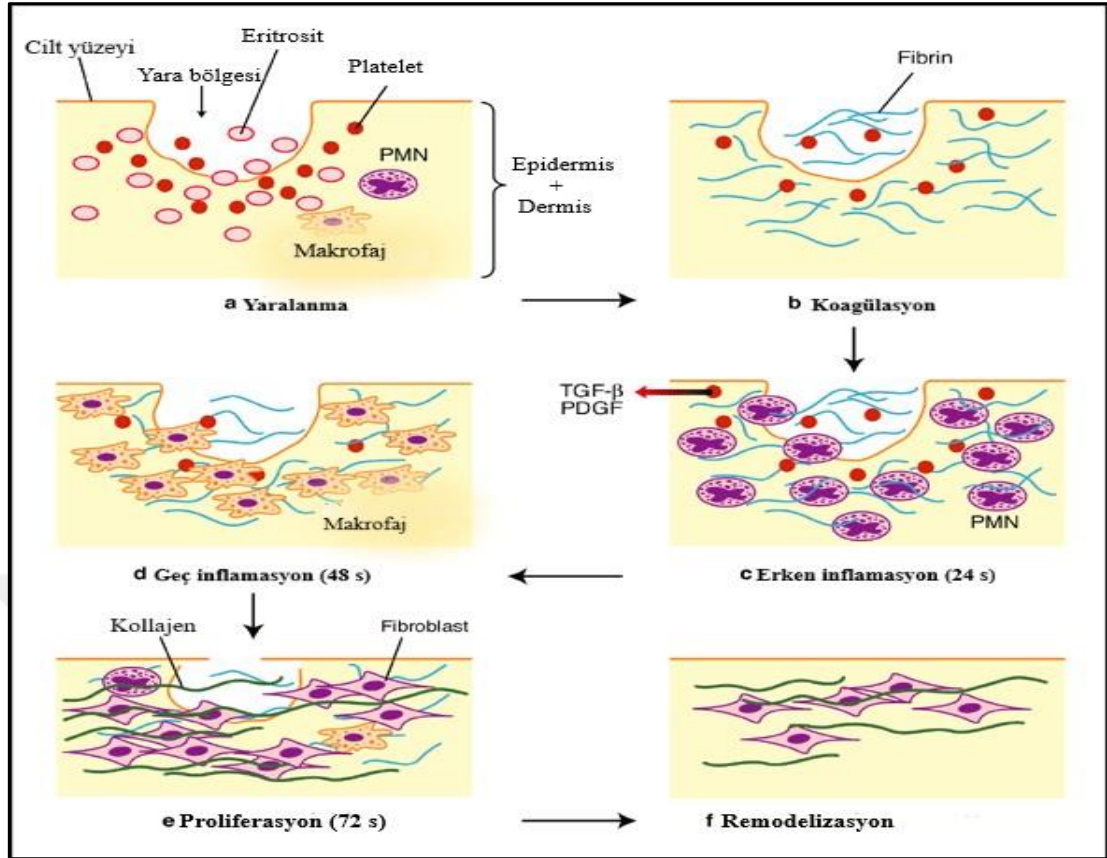
da gerektiği zaman devreye girmesi gerekmektedir. Bu yıkım; granülosit, makrofaj, epidermal hücreler ve fibroblastlardan sekresyonu yapılan matriks metalloproteinazlar tarafından gerçekleştirilmektedir (Davidson 1996, Ekmekçi ve Bostancı 2002).

Kollajen; deri, kemik ve kıkırdak doku gibi birçok dokuda mevcut olan bağ dokunun yapısal proteindir (Diegelmann 2001). Kollajenin en önemli görevi, dokuların bozunumuna karşı direnç sağlamak ve dokuların belli bir forma girmesini sağlamaktır (Beanes vd. 2003). Kollajen fibriller daha iri olan kollajen fiberleri oluşturmak için birleşerek halat benzeri bir yapı kazanırlar. Kollajen fiberlerin eğilme ve bükülme özellikleri olmasına karşın mekanik basınç ve çekilme etkisi nedeni ile uzamazlar ve direnç gösterirler (Karasu ve Bakır 2008).

Cerrahi açıdan morfolojik ve kimyasal yönden yara iyileşmesinin en iyi göstergesi yara gerilim direncinin sağlıklı doku seviyesine ulaşmasıdır. Yara gerilim direnci, yara kenarlarında santimetrekare alana kilogram ( $\text{kg/cm}^2$ ) olarak uygulanan güçle ölçülür. Yara gerilim direnci, hücre dışı ortamda sekresyonu yapılan hücresel ürünler arasındaki biyokimyasal interaksiyonu ile kazanılmaktadır. Yara iyileşmesinde yara gerilim direnci yavaş ilerleyen bir süreçte meydana gelir. Yaralanma sonrası ilk 5 günde yara ciddi bir dirence sahip olmaz (Calvin 1998, Singer ve Clark 1999, Karasu ve Bakır 2008). Yara gerilim direnci, kollajenlerin matürasyonuna bağlıdır. Kollajenin matürasyonu, yara sonrasında 15. günde başlamaktadır ve 1 yıla kadar devam etmektedir. Yara direncinin artması, kollajen fiberlerin dizilişlerinin değişerek çapraz bağlanması ile gerçekleşmektedir (Karasu ve Bakır 2008).

Yaralanma sonrası 3. haftada yara % 20-25 arasında, bir ay sonra ise % 40 oranında direnç seviyesine ulaşır ilerleyen süreçte ise sağlıklı derinin gerilim direncinin % 70-80'ine ulaşır. Ancak yara dokusu sağlıklı dokunun fiziksel ve kozmetik özelliklerini tam olarak kazanamaz (Calvin 1998, Singer ve Clark 1999, Karasu ve Bakır 2008).

Sonuçta yara iyileşmesi; inflamasyon, vaskularizasyon, apoptozis, ekstraselüler matriks oluşumunun dengelenmesi, hücrelerin göçü, yeni kollajen oluşumu gibi olayları kapsayan dinamik bir süreçtir.



Şekil 2.3 Kütanöz yara iyileşmesinin fazları (Beanes vd. 2003)

a) Deri altındaki yaralanmaların ardından hemen, dermis içindeki lokal hasarlı kan damarlarından kan elementleri ve vazoaaktif aminler kan damarından dışarı sızar. Vasküler geçirgenlik; nötrofillerin [polimorfonükleer nötrofiller (PMN'ler)], trombositlerin ve plazma proteinlerinin yara bölgesine infiltrasyonu için geçici olarak artmaktadır. Bu hücreler tarafından salınan faktörlere yanıt olarak vazokonstriksiyon gerçekleşir. b) Pıhtılaşma sonrası, fibrinojenden fibrine dönüşüm mekanizmasını takiben yara bölgesinde yerleşen trombositler fibrin ile birleşerek pıhtı oluşumunu sağlar. c) Trombositler; trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), PMN'leri yara bölgesine çeken ve inflamasyonun başlama sinyalini veren transforme edici büyüme faktörü (TGF-β) dahil olmak üzere çeşitli faktörleri serbest bırakır. d) 48 saat sonra asıl inflamatuvar hücre olarak makrofajlar PMN'lerle yer değiştire baskın hale gelir. PMN'ler ve makrofajlar birlikte yarayı döküntülerden arındırır, büyüme faktörlerini serbest bırakır ve hücre dışı matriksi yeniden düzenlemeye başlar. e) Yaklaşık 72 saat sonra proliferasyon fazı başlar ve inflamatuvar hücreler tarafından salınan büyüme faktörleri tarafından yaraya toplanan fibroblastlar, kollajen sentezlemeye başlarlar. f) Yaklaşık üç hafta sonra kollajen sentezi hızı yavaşlasa da, remodelizasyon fazında yaralanmadan aylar sonra da kollajen çapraz bağlanması ve yeniden yapılanma devam eder

## 2.3 Transglutaminazlar

Transglutaminazlar (TG'ler); serbest amin grupları (örn. protein veya peptid bağlı lizin) ve peptid bağlı glutaminlerin  $\gamma$ -karboksamid grupları arasında kovalent bağlar oluşturarak proteinlerin  $\text{Ca}^{+2}$ 'ye bağımlı posttranslasyonel modifikasyonunu katalize

eden yapısal ve işlevsel olarak ilişkili proteinlerin bir ailesidir (Mehta ve Eckert 2005, Eckert vd. 2014).

Transglutaminazlar; hem hücre yüzeyi ile ilişkili fibronektinin çapraz bağlanması (Gaudry vd. 1999a, Griffin vd. 2002), hem de integrinlere ve fibronektine kovalent olmayan bağlanma yoluyla hücre-matriks etkileşimini teşvik edebilmektedirler (Akimov vd. 2000, Eckert vd. 2014). Bu bulgu transglutaminazların enzimatik rollerinin yanında yapısal proteinler olarak da görev yaptıklarını destekler niteliktedir. Her bir transglutaminaz tipi kendine has doku dağılımına sahip olsa da, bu özel enzimler bir çok farklı dokularda ve genellikle diğer transglutaminazlarla kombinasyon halinde bulunur (Aeschlimann ve Paulsson 1994, Grenard vd. 2001).

Tüm transglutaminaz enzimleri yakından ilişkili genlerin bir ailesi tarafından kodlanır. Gen ürünlerinin sıralaması yüksek derecede sekans benzerliği ve tüm aile bireyleri, intron dağılımı ve intron uçbirleştirme tiplerinin dikkate değer ölçüde korunması ile benzer bir gen organizasyonu sergilemektedirler. TG'ler gen yapıları karşılaştırıldığında; TG2, TG3, TG4 ve band 4.2 proteininin 13 ekson içermesi, Faktör XIIIa ve TG1'in ise 15 ekson içermesi nedeni ile iki alt sınıfa ayrılabilir. Gen yapısındaki benzerlik göz önüne alındığında, birincil protein yapısı, üç boyutlu yapısı ve katalitik mekanizması yanında, transglutaminaz genlerinin ortak bir atasal genden türediği görülmektedir (Grenard vd. 2001, Eckert 2014).

Araştırmacılar 1959'da; kobay karaciğerinden elde ederek düşük molekül ağırlıklı primer aminlerin proteinlere katılmasını katalizleyebilen, şu anki ismi TG2 olan ilk TG'yi tanımlamışlardır (Sarkar vd. 1957, Eckert 2014). TG2'nin tanımlanmasından bu yana; tek hücreli organizmalarda, omurgasızlarda, balıklarda, memelilerde ve bitkilerde bu aktiviteye sahip ilave proteinler tespit edilmiştir (Grenard vd. 2001, Mehta ve Eckert 2005).

İnsanlarda 9 adet TG geni bulunmaktadır. Bu enzimlerden 8 tanesi katalitik olarak aktif olup 1 tanesi (eritrosit membran protein band 4.2) inaktif formdadır (Grenard vd. 2001, Eckert vd. 2014). Bu proteinler; iskelet görevi görür, membran bütünlüğünü korur,

hücre adezyonunu düzenler ve sinyal iletimini düzenler (Satchwell vd. 2009). Band 4.2 hariç TG'lerin primer sekansları farklı olmasına rağmen, aktif bölgelerinde aynı amino asit dizisini paylaşırlar. Proteinlerin çapraz bağlanma ve iskelet görevlerine ek olarak TG'ler; deamidasyon ve amin katılma yoluyla proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonunu da katalize eder. Örneğin; buğday ve diğer hububatların bir bileşeni olan gliadin A'nın TG2'ye bağlı deamidasyonu, çölyak hastalığının patogenezinde rol oynar (Klock vd. 2012). Ayrıca, TG ile katalize edilmiş aminlerin proteinlere dahil edilmesi, substrat proteinlerinin işlevini, kararlılığını ve immünojenikliğini değiştirebilir ve otoimmün hastalığa katkıda bulunur (Lorand ve Graham 2003). İnsanlarda tanımlanan dokuz TG'den en kapsamlı şekilde inceleneni ise TG2 olmuştur (Eckert vd. 2014).

Transglutaminaz ailesi; hemostazda fibrin pıhtı stabilizasyonu, semen koagülasyonu, keratinizasyonda keratinize hücre zarı oluşumu ve hücrelerarası matriks yapılarının stabilizasyonu gibi fonksiyonları gerçekleştirmektedir (Aeschlimann ve Thomazy 2000, Eckert vd. 2014). Transglutaminazların eksikliğine bağlı olarak yara iyileşmesinde ve keratinizasyonda ciddi şekilde bozulmalar şekillendiği görülmektedir (Board vd. 1993, Mehta ve Eckert 2005). Transglutaminazların yapısal rollerinin yanında, son çalışmalarda çapraz bağlama fonksiyonu nedeni ile transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ , interlökin-2 ve midkin gibi sinyal moleküllerinin biyolojik aktivitesini düzenleyerek hücrelerde şiddetli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Aeschlimann ve Thomazy 2000).

TG'ler tarafından katalize edilen reaksiyonlar; kan koagülasyonu, cilt bariyeri oluşumu ve hücre dışı matriks toplanması gibi biyolojik işlemler için gereklidir. TG'ler aynı zamanda kan ve cilt bozukluklarının patofizyolojisine ve çeşitli inflamatuvar, otoimmün ve dejeneratif olgulara katkıda bulunurlar (Iismaa vd. 2009).

Çizelge 2.1 Transglutaminaz enzim ailesinin üyeleri, isimlendirmeleri, doku dağılımı, biyolojik fonksiyonları ve patolojik ilişkisi (Odi ve Coussons 2014)

| Transglutaminaz         | İsimlendirmesi                                                   | Doku dağılımı ve hücresel lokalizasyonu                                                                                                   | Biyolojik fonksiyonları                                                                                        | Patolojik ilişkisi                                                                                                                      |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Transglutaminaz 1 (TG1) | Keratinosit TG (TGK)                                             | Skuamöz epitel, keratinositler, hücre zarı                                                                                                | Çok katlı yassı epitel dokuda koruma, keratinosit farklılaşmasında bozulmuş zarf oluşumu                       | Lamellar iktiyozis                                                                                                                      |
| Transglutaminaz 2 (TG2) | Karaciğer TG, Doku TG, Sitozolik TG, Eritrosit TG, Endotelyal TG | Birçok doku tipinde yaygın olarak, hücre zarı, sitosol, çekirdek ve hücre dışı                                                            | Apoptozis, hücre yaşam sinyalleme, hücre farklılaşması, matriks stabilizasyonu, endositoz, yara iyileşmesi vb. | Otoimmün hastalıklar, Nörodejeneratif hastalıklar, Maligniteler, Metabolik hastalıklar vb.                                              |
| Transglutaminaz 3 (TG3) | Epidermal TG, Saç folikül TG                                     | Epidermis, saç folikülü, beyin, sitosol                                                                                                   | Keratinositlerin ve saç foliküllerinin terminal farklılaşması                                                  | İnsanlarda epidermal hastalıklar                                                                                                        |
| Transglutaminaz 4 (TG4) | Prostat TG (TGp)                                                 | Prostat bezi, prostat sıvıları ve seminal plazma                                                                                          | Üreme ve doğurganlık, özellikle kemirgenlerde semen koagülasyonu                                               | -                                                                                                                                       |
| Transglutaminaz 5 (TG5) | TGX                                                              | Kadın üreme dokularında yaygın biçimde eksprese, iskelet sistemi, kas ve fetüs dokuları, sünnet derisi keratinositleri, epitelyal bariyer | Epidermal farklılaşma                                                                                          | İktiyozis ve sedef hastalığında dolaylı etki, Darier hastalığı lezyonlarında aşırı eksprese olmuş halde veya hiç eksprese olmamış halde |

Çizelge 2.1 Transglutaminaz enzim ailesinin üyeleri, isimlendirmeleri, doku dağılımı, biyolojik fonksiyonları ve patolojik ilişkisi (Odii ve Coussons 2014) (devam)

|                         |                                                                                    |                                                                                                                                 |                                                                                                            |                                                                                                                             |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Transglutaminaz 6 (TG6) | TGY                                                                                | Testis, akciğerler ve beyin                                                                                                     | Merkezi sinir sistemi gelişimi, motor fonksiyonu, epidermis ve saç folikülünde gecikmiş hücre zarı oluşumu | Spinocerebellar ataksi, Polyglutamin hastalıkları                                                                           |
| Transglutaminaz 7 (TG7) | TGZ                                                                                | Testislerde ve akciğerlerde yaygın olarak eksprese edilir                                                                       | -                                                                                                          | -                                                                                                                           |
| FXIIIA                  | Fibrinolitikaz, Plazma TG, Laki Lorand faktör                                      | Kondrositler, plateletler, plasenta, astrositler, makrofajlar, sinovial sıvı, kalp, göz, kemik ve dermişteki dendritik hücreler | Yara iyileşmesi, kan pıhtılaşması ve kemik gelişimi                                                        | Yokluğunda bozulmuş yara iyileşmesi mekanizması, kadınlarda düşük, deri altı ve kas içi hematomlar, şiddetli kanama eğilimi |
| Band 4.2                | Eritrosit membran protein band 4.2, ATP-bağımlı eritrosit membran protein band 4.2 | Eritrosit membranlarının yüzeyi, kemik iliği, fetal karaciğeri, dalak                                                           | Eritrosit iskelet ağının temel bileşeni, eritrositlerin şeklini ve mekanik özelliklerini koruma            | Siferositoz, Eliptositoz                                                                                                    |

### **2.3.1 Transglutaminazların sınıflandırılması**

#### **2.3.1.1 Transglutaminaz 1**

Keratinosit TG (TG1); cildin ve üst sindirim sisteminin çok sıralı skuamöz epitelinde ve dişi genital bölgenin alt kısmında eksprese edilir. TG1 (insan kromozomu 14q11.2 üzerindeki TGM1 geni tarafından kodlanır), 106 kDa'lık inaktif bir zimojen olarak sentezlenmektedir. Proliferatif keratinositlerde düşük seviyelerde eksprese edilir ve TG1'i aktive ederek terminal farklılaşmayı düzenleyen keratinosit farklılaşma regülatörü Tazaroten İndüklenmiş Gen 3'ün (TIG3) ekspresyonuyla birlikte keratinosit farklılaşması sırasında devamlı olarak indüklenir (Sturniolo vd. 2003, Sturniolo vd. 2005). Proteolitik bölünme, artmış  $Ca^{2+}$  seviyesi ve Tazaroten İndüklenmiş Gen 3 (TIG3) ile etkileşim; TG1'in katalitik aktivitesini etkinleştirmektedir (Sturniolo vd. 2005, Eckert vd. 2009).

TG1 aynı zamanda akciğer, böbrek ve karaciğerdeki epitelyal hücrelerin tutunma noktalarında (Hiiragi vd. 1999) ve miyokardiyal mikrovasküler endotel hücrelerinde eksprese edilir (Steinert vd. 1996, Eckert vd. 2014).

TG1 proteini;  $NH_2$ -terminal sistein rezidülerindeki yağ açıl bağlantısıyla plazma membranına bağlanır ve proteoliz ile 10, 33 ve 66 kDa'lık fragmentlerine ayrılır (Iismaa vd. 2009). Otozomal ressesif lamellar iktiyozis hastalığı, TG1 kodlayan genin mutasyonu ile oluşmaktadır (Candi vd. 1998, Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.2 Transglutaminaz 3**

TG3 veya epidermal TG; saç foliküllerinde, epidermiste ve beyinde bulunur. TG3 (insan kromozomu 20q11-12 üzerindeki TGM3 geni tarafından kodlanır), 77 kDa'lık inaktif bir zimojen olarak sentezlenmektedir ve proteoliz ile 50 ve 27 kDa'lık fragmentlerine ayrılır (Eckert vd. 2014). TG3, GTP'ye bağlanır ve hidrolize olur. Saç teli morfolojisi için kritik olan saç folikülünün kök kılıfını sertleştiren trikohyalin ve

keratin ara filamentlerinin çapraz bağlanmasını katalize eder (Hitomi vd. 2003, John vd. 2012). Ayrıca, farklılaşmanın son aşamasında hücre zarı oluşumuna katılır (John vd. 2012). Yapılan çalışmalarda TG3 nakavt farelerde, bozulmuş saç gelişimi ve incelmış cilt bariyeri gözlenmiştir (Bognar vd. 2014, Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.3 Transglutaminaz 4**

Transglutaminaz 4 (TG4) veya prostat TG; prostat bezinde, prostatik sıvılarda ve seminal plazmada bulunur (Grenard vd. 2001, Jiang ve Ablin 2011). Sıçanlarda TG4, dişi genital bölgedeki kopulasyon tıpasının oluşumuna ve erkek gametin antijenikliğini maskeleye katılır. TG4 nakavt fareler, kopulasyon tıpasının oluşumundaki yetersizlikten dolayı düşük fertilitte sergilerler (Dean 2013). TG4'ün insanlardaki tam işlevi bilinmemektedir Ancak bazı bilimsel çalışmalar, artan TG4 ekspresyonu ile agresif fenotipli prostat kanseri arasında doğru orantılı bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır (Jiang ve Ablin 2011, Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.4 Transglutaminaz 5**

Transglutaminaz 5 (TG5); esas olarak sünnet derisindeki keratinositler, epitelyal bariyerin alt tabakasında ve iskelet kasında eksprese edilir (Cassidy vd. 2005). TG5 (insan kromozomu 15q15.2 üzerindeki TGM5 geni tarafından kodlanır), 81 kDa'lık inaktif bir zimojen olarak sentezlenmektedir (Pietroni vd. 2008). TG5; epidermisteki lorikrin, involukrin ve SPR3'ü çapraz bağlar (Candi vd. 2001). İktiyozis ve sedef hastalarında hiperkeratozise katkıda bulunur (Candi vd. 2002). TG5'in inaktivasyonuna neden olan mutasyonlar derinin soyulmasına neden olur (Cassidy vd. 2005, Eckert vd. 2014).

TG ailesinin bir başka üyesi TG5 (TGX olarak da bilinir)'in in vitro çalışmalarda keratinosit farklılaşmasının erken fazında indüklendiği ve çok etkili çapraz bağ substratları (lorikrin, involukrin ve prolinden zengin proteinler, SPR3) bulunmuştur. TG5'in indirek immünfloresan boyanması ile erimeyen lif benzeri proteinlerle ilişkili

olan yerde, yani insan epidermisinin en üst tabakasında, eksprese olduğu gösterilmiştir. Yara iyileşmesinde TG5'in rolü henüz çalışılmamıştır (Candi vd. 2001, Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.5 Transglutaminaz 6**

Transglutaminaz 6 (TG6) ekspresyonu; insan testislerinde ve akciğerlerinde, farelerin ise beyinde lokalizedir. Nöronal karakteristik gösteren insan karsinom hücreleri de TG6'yı eksprese eder. TG6'nın katalitik fonksiyonu proenzimin proteolitik bölünmesini takiben aktive edilir; böylece TG6, tek bir öncüden bölünen iki polipeptit zinciri içerir (Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.6 Transglutaminaz 7**

TG7'nin gen düzenlenmesi veya fonksiyonu hakkında çok bilgi bulunmamaktadır. TG6'da olduğu gibi ekspresyonu testisler, akciğerler ve beyinle sınırlıdır. Yapılan bir çalışma, zayıf prognozlu hastaların meme kanseri hücrelerinde TG7 transkript düzeylerinin arttığını ileri sürmüştür (Jiang vd. 2003, Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.7 Plazma Transglutaminazı (Faktör XIIIa, FXIIIa)**

Plazma TG (FXIIIa), kan pıhtılaşma kaskadının önemli bir bileşenidir. Plateletlerde, plazmada, astrositlerde, makrofajlarda, dermal dendritik hücrelerde, plasentada, kondrositlerde, sinoviyal sıvıda, kalpte, gözlerde ve osteoblast kökenli hücrelerde bulunur. FXIIIa, kan pıhtılaşma kaskadında aktive olan son zimojendir (Lorand vd. 1993, Lorand ve Graham 2003, Eckert vd. 2014).  $Ca^{2+}$  varlığında FXIIIa, fibrin pıhtılarını dengelemek için fibrin moleküllerinin çapraz bağlanmasını katalize eder.

FXIIIa, inflamasyonda ve kemik sentezinde rol oynar. FXIIIa tarafından katalizlenen AT1 reseptörünün çapraz bağlanması; sinyal gelişiminde artışa neden olur ve hipertansif hastalarda monosit yapışmasını arttırarak aterosklerozi hızlandırır. FXIII nakavt farelerde

ise; pıhtılaşma bozukluğu, düşük doğum sıklığı, azalmış anjiyojenez ve dokuların yeniden biçimlenmesinde bozukluklar görülmektedir (Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.8 Eritrosit membran protein band 4.2 (Band 4.2)**

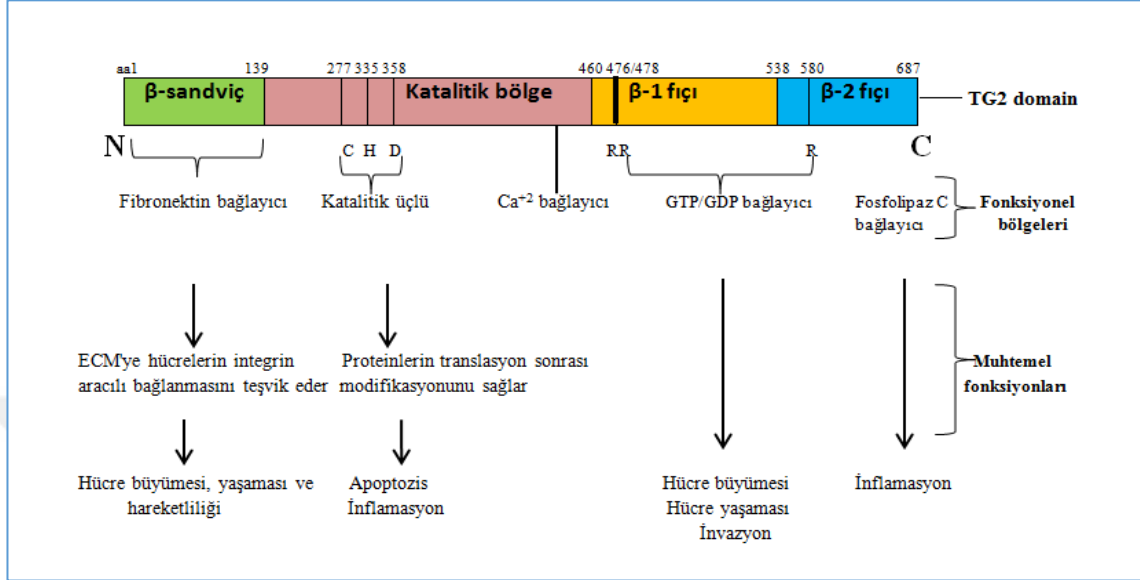
Band 4.2, katalitik aktiviteden yoksun tek TG'dir. Band 4.2; eritrositlerde, kemik iliğinde, fetal karaciğerde ve dalakta bulunur. Band 4.2, eritrositlerde hücre iskeletinin önemli bir bileşenidir. Membran bütünlüğünün ve hücre stabilitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Japon resesif sferositik eliptosistozis hastalarında, Band 4.2 protein ekspresyonu kısmen veya tamamen bulunmamaktadır (Eckert vd. 2014).

#### **2.3.1.9 Transglutaminaz 2**

TG2, dokuların proteolitik degradasyona direnmesini ve gelişmiş mekanik direnç elde etmesini sağlayan bir mikromoleküler dikiş enzimi (biyolojik tutkal) olarak görülebilir (Griffin vd. 2002).

TG2 (insan kromozomlarında TGM2 olarak bilinen, lokus: 20q11-12); TG süper ailesinin 74-80 kDa'lık en ilgi çekici üyesidir (Iismaa vd. 2009). Ayrıca, transglutaminaz 2 kodlayan genin alternatif olarak birleştirilmesi yoluyla farklı özelliklere sahip daha kısa TG2 formlarının üretildiği de bilinmektedir. TG2-S, TG2-H2, TG2<sub>V1</sub> ve TG2<sub>V2</sub> dahil olmak üzere toplam dört eklenmiş TG2 formu bildirilmiştir ancak bunların in vivo rolleri henüz tanımlanamamıştır (Lai ve Greenberg 2014). TG2 ve birleştirilmiş izoformları arasındaki en büyük fark; tüm izoformlarının C terminal bölgelerinin TG2'den farklı ve küçük boyutlarda olmasıdır. Bu nedenle; GTP/ATP bağlanması, Fosfolipaz C bağlama, migrasyon ve adezyon işlevleri gibi TG2'nin karakteristik işlevlerini üstlenemezler (Murthy vd. 1999, Mehta ve Eckert 2005). Esas olarak, TG2 dört farklı globüler alandan oluşur: Fibronektin ve integrin bağlama bölgesi içeren bir NH<sub>2</sub>-terminali  $\beta$ -sandviç bölgesi, asiltransfer reaksiyonu için katalitik üçlüleri (Cys277, His335 ve Asp358) içeren katalitik bir çekirdek, bu katalitik reaksiyon için gerekli korunmuş bir triptofan (Murthy vd. 2002, Kir'aly vd. 2011) ve bir

fosfolipaz C bağlanma sekansı içeren ikinci bir fıç bölgesiyle iki COOH-terminal  $\beta$ -fıç alanlarından oluşmaktadır (Liu vd. 2002, Eckert vd. 2014) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Transglutaminaz 2 (TG2) proteininin yapısal ve fonksiyonel alanlarının şematik resmi (Mehta vd. 2010)

TG2 proteini dört farklı alandan oluşur ve her alanın kendine özgü bir işlevi vardır. N-terminalde bulunan  $\beta$ -sandviç bölgesi, fibronektin için yüksek afiniteli bir bağlanma bölgesi içerir ve ECM (ekstraselüler matriks)'e hücrelerin doğrudan veya dolaylı bağlanmasını teşvik etmekten sorumludur. TG2'nin katalitik bölgesi, çeşitli hücre proteinlerinin yüksek kararlılık izopeptit bağları oluşturarak çapraz bağlanmasından sorumludur ve genellikle hücrenin apoptotik ölümünü sağlar.  $\beta$ -1 fıç bölgesi, TG2 aracılı sinyalleme yollarında önemli rol oynayan bir GTP / ATP bağlama bölgesi içerir. Belirli koşullar altında (örneğin GTP'ye bağlı formda) C-terminalde bulunan  $\beta$ -2 fıç bölgesi, fosfolipaz C'yi kuvvetlendirir ve aktive edebilir ve TG2 proteininin proinflatuar fonksiyonlarına katkıda bulunabilir.

Diğer transglutaminazların aksine TG2; katalitik çekirdeği ve  $\beta$ -fıç arasındaki yarıktaki bulunan tek bir guanidin nükleotid bağlama bölgesine sahiptir ve bu sekans, TG2 geninin ekzon 10'u ile kodlanmaktadır. Diğer transglutaminazlarda bu ekzonla homolog olan bölge zayıf bağlanma özelliği göstermektedir (Liu vd. 2002, Odi ve Coussons 2014).

Primer transglutaminaz enzimlerinin kalsiyum bağımlı proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonunu katalizleme aktivitesinin yanı sıra, TG2 de GTP'yi bağlayıp hidrolize edebilir, protein disülfid izomerasi aktivitesi sergileyebilir ve kalsiyumdan bağımsız olarak bir protein kinazı olarak işlev görebilir (Liu vd. 2002). Ayrıca TG2, hücre adezyon süreçlerinde ve hücre dışı matriks stabilizasyonunda yer alan bir dizi hücre

yüzey proteini ile etkileştiği yerde kalsiyumdan bağımsız enzimatik olmayan aktivitelere sahiptir (Mishra ve Murphy 2004).

Son yirmi yılda, TG2'nin enzimatik aktivitelerinden bağımsız olan diğer işlevleri oluşturulmuştur (Zemskov vd. 2009, Odii ve Coussons 2014). TG2'nin kalsiyumdan bağımsız, nonenzimatik ve transamidasyondan bağımsız aktiviteleri; hücre adezyonu, büyüme, göç, farklılaşma, programlanmış hücre ölümü ve ekstraselüler matriks içeriği dahil olmak üzere hücre davranışının birçok anahtar rolünün altında yatan birçok kritik fizyolojik süreçte yer alır (Zemskov vd. 2006, Odii ve Coussons 2014). Bu hücreSEL süreçler; embriyogenez ve doku morfogenez, yara iyileşmesi ve doku onarımının yanı sıra tümör büyümesi ve metastaz için de hayati öneme sahiptir (Hand vd. 2000, Odii ve Coussons 2014).

TGC veya Gh olarak da bilinen doku TG (TG2), dokularda ve hücre tiplerinde, hücre içinde ve hücre dışında çeşitli yerlerde yaygın olarak bulunan ve 130'dan fazla substrat içeren multifonksiyonel çapraz bağlayıcı bir proteindir (Iismaa vd. 2009, Tong vd. 2013). Peptid substratlarını kovalent olarak çapraz bağlayabilir ve aynı zamanda bir G proteini olarak görev yapabilir (Iismaa vd. 2009). Bununla birlikte, TG2'nin aşırı çapraz bağlanması, yara iyileşmesi ve neovaskülarizasyon ile ilgili hastalıkların patogeneğinde, özellikle de çeşitli organlarda fibrojenik reaksiyonlarda rol oynamaktadır (Aeschlimann ve Thomazy 2000, Stephens vd. 2004). Örneğin, kalpteki TG2'nin aşırı ekspresyonu, transgenik farelerde interstisyel fibroze neden olmuştur. Bu, durum TG2'nin fibroblast aktivitelerinin kontrolünde merkezi bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Stephens vd. 2004).

TG2 nakavt farelerde yapılan araştırmalar, TG2'nin yara iyileşmesinde kritik bir rol oynadığını ve TG2'nin kronik ekspresyonunun ECM'nin birikmesiyle fibroproliferatif bozukluklara yol açarak anormal yara iyileşmesini desteklediğini göstermiştir (Mehta vd. 2010).

TG2 ağırlıklı olarak sitozolik bir protein olup çekirdekte ve plazma zarında bulunur (Lorand ve Graham 2003, Verderio vd. 2004). TG2 gen promotörü; bir retinoik asit

yanıt elementi (transkripsiyon başlama bölgesinin 1.7 kb akış yukarısı), interlökin (IL) - 6'ya spesifik cis düzenleyici elementi (promotörün 4 kb akış aşağısı), TGF  $\beta$ -1 yanıt elementi (transkripsiyon başlama bölgesinin 868 bç yukarı akış yönünde) ve iki AP2-benzeri tepki elementlerini (transkripsiyon başlatma bölgesinin 634 ve 183 bç üstünde) içerir (Eckert 2014).

TG2, üç ana hücre bölümünde (sitozol, plazma zar ve çekirdek) lokalizedir ve diğer transglutaminazların aksine hücreler arası matrikste salgılanır ve depolanır. Salgılanma mekanizması olağandışıdır çünkü bir sinyal peptidinden yoksundur ve klasik bir endoplazmik retikulum = Golgi bağımlı mekanizma tarafından salgılanmaz. TG2 sekresyonunun, TG2'nin aktif konformasyonunu ve bozulmamış bir N-terminal fibronektin bağlanma yerini gerektirdiği bilinmektedir; ancak atipik salgı mekanizması nedeniyle, TG2 etkili bir şekilde salınmamaktadır. Ancak, doku hasarında ve hücrel stres durumlarında başlangıçta fibronektin ile kompleks hücreler arası matrikste biriktiğinde çarpıcı şekilde TG2 salınımı artar (Verderio vd. 2004).

Bu protein; bir takım organa spesifik hücre tiplerinin yanı sıra endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde ve fibroblastlardaki yapısal ekspresyonu nedeniyle vücudun tamamında bulunur (Thomazy ve Davies 1999, Iismaa vd. 2009). TG2, hücrelerarası matriks veya hücrelerarası matriks ile bağlantılı olarak hücre yüzeyinde bulunur (Gaudry vd. 1999a, Iismaa vd. 2009). Hücre içinde, çoğunlukla sitozolik olup aynı zamanda plazma veya nükleer zarın iç yüzüyle de ilişkili olarak bulunur (Iismaa vd. 2009). TG2 mitokondride bulunmamaktadır (Krasnikov vd. 2005, Iismaa vd. 2009).

Hücrelerin bazal ve apikal yüzeylerinde ve hücre-hücre etkileşimlerinde lokalize olan hücre yüzey TG2'si; hücre adezyonu ve migrasyonu özelliklerini etkileyen (Esposito vd. 2000, Belkin vd. 2005) hücre-matriks etkileşimleri ile ilişkilendirilmiştir (Tong vd. 2013). Hücre-matriks etkileşimleri için hayati önem taşıyan  $\beta$ -İntegrin 1 ve 3; TG2 ile birlikte yerleşir ve hücre yüzey TG2'sinin dıştan sinyallenmesine aracılık eder (Akimov ve Belkin 2001a, Tong vd. 2013). Epitel hücrelerini bağ dokusu yapılarına hemidezmozomlar bağlamasına rağmen (mikrofibriller ve kollajen fibriller) bu bağlanma TG2'nin çapraz bağlayıcı substratları tarafından da gerçekleştirilir. Böylece

TG2; matriks substratlarının çapraz bağlanmasını katalize etmek dışında protein-protein etkileşimlerinin diğer tipleri sayesinde hücre adezyonunu ve migrasyonunu etkileyebilir (Tong vd. 2013).

Bazı çalışmalar TG2 ekspresyonundaki değişikliklerin hücre adezyonunda (tutunma ve / veya yayılma) değişikliklere neden olduğunu ve tümör hücrelerinin metastatik potansiyelini hafiflettiğini göstermiştir (Stephens vd. 2004).

TG2 ekspresyonunun; hücrelerin mekanik ortamına duyarlı olmadığını, yaşlanmayı geciktiren fibroblastlarda yüksek oranda indüklendiğini ve TG2 ekspresyonunun fibroblast aracılı ekstraselüler matriksin yeniden organizasyonundaki değişikliklerden sorumlu olduğu gösterilmiştir (Stephens vd. 2004).

TG2'nin transamidaz aktivitesi; yara iyileşmesi, anjiyogenez ve kemik onarımında önemli olan matriks stabilizasyonunda hücre dışı bir rol oynamaktadır ve genelde apoptozis sırasında proteinlerin çapraz bağlanmasında ise hücre içi bir rol oynamaktadır (Iismaa vd. 2009).

TG2'nin transamidaz aktivitesine ek olarak başka görevleri de bulunmaktadır. Bu görevler arasında GTPaz aktivitesi görevi;  $\alpha_{1B}/\alpha_{1D}$  adrenerjik reseptörü, TP $\alpha$  tromboksan A2 reseptörü ve oksitosin reseptörü aracılığıyla hücre içi G protein sinyalleme görevi; sıkı üçlü TG2: fibronektin: kollajen kompleksleri oluşturarak hücre dışı matriksi stabilize etme görevi ve  $\beta_1/\beta_3/\beta_5$  integrinleri (Zemskov vd. 2006), heparan sülfat proteoglikan reseptörünün heksan sülfat zincirleri, sindekan 4 (Telci vd. 2008) ya da G proteinine bağlı hücre adezyon reseptör GPR56 (Xu vd. 2006) ile doğrudan etkileşerek fibronektine hücre adezyonunu kolaylaştıran adaptör görevi bulunmaktadır (Iismaa vd. 2009). TG2'nin hücre dışı protein disülfid izomeraz (PDI) aktivitesinin yanı sıra insülin benzeri büyüme faktörü bağlama proteini (IGFBP) 3, p53 tümör süpresör proteini veya substrat olarak histonlarla hücre içi serin/treonin kinaz aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir (Hasegawa vd. 2003, Iismaa vd. 2009). TG2'nin ve G proteininin sinyal aktiviteleri  $Ca^{+2}$  ve GTP'nin sırayla bağlanmasıyla karşılıklı olarak düzenlenir (Şekil 2.5) (Begg vd. 2006, Iismaa vd. 2009). GDP'nin bağlanması

kompakt, transamidaz-inaktif yapısına geçişi organize ederken (Begg vd. 2006, Pinkas vd. 2007, Iismaa vd. 2009);  $\text{Ca}^{+2}$  ile aktive olmuş TG2 genişlemiş bir elipsoid yapı gösterir (Liu vd. 2002, Begg vd. 2006, Iismaa vd. 2009).



Şekil 2.5 GDP bağlı kompakt inaktif TG2 (Iismaa vd. 2009)

Retinoik asit, D vitamini, TGF- $\beta$ 1, IL-6, TNF, Nüklear Faktör kappa- B ( $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ), epidermal büyüme faktörü (EGF), forbol ester, oksidatif stres ve Homeobox A7 (Hox-A7); TG2 ekspresyonunu uyarır. Transamidasyon reaksiyonuna ek olarak TG2; GTPaz, ATPaz, protein kinaz ve protein disülfid izomeraz (PDI) aktivitesi gösterir. TG2;  $\beta$ -integrinler, fibronektin, osteonektin, retinoblastoma protein ve PTEN ile etkileşir. TG2'deki işlev bozukluğu; çölyak hastalığına, nörodejeneratif bozukluklara ve katarakt oluşumuna katkıda bulunur. TG2 nakavt farelerde, fenotipik bir değişiklik görülmemiştir ancak gecikmiş yara iyileşmesi, azalmış makrofaj aktivitesi ve strese karşı zayıf tepki gözlenmiştir (Stephens vd. 2004, Eckert vd. 2014).

Artan TG2 ifadesi ve transamidasyon aktivitesi birçok iltihaplı hastalık ve olayın yaygın bir özelliğidir. Hücre hasarının başlangıç safhasında salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri, TG2 ifadesini düzenler (Şekil 2.6). Örneğin TGF- $\beta$ ; TG2 gen promotöründeki bir TGF- $\beta$ 1 tepki elementi vasıtasıyla keratinositlerdeki ve dermal fibroblast yüzeyindeki TG2'yi arttırmaya yönelik hareket eder. TNF- $\alpha$ ,  $\text{I}\kappa\text{-B}\alpha$  fosforilasyonunun aktive olmasıyla karaciğer hücrelerindeki TG2 sentezini artırır. Bu durum  $\text{NF}\kappa\text{B}$ 'den  $\text{I}\kappa\text{B}$ 'nin ayrılmasına neden olur (Iismaa vd. 2009). TG2,  $\text{NF}\kappa\text{B}$ 'nin aktivasyonuna neden olur ve böylece  $\text{I}\kappa\text{-B}\alpha$ 'nın çapraz bağlanmasıyla mikrogliya hücrelerinde inflamasyon meydana gelir (Lee vd. 2004, Iismaa vd. 2009). TG2 promotoruna  $\text{NF}\kappa\text{B}$ 'nin artarak bağlanmasından kaynaklanan artmış TG2 ekspresyonu, hepatik hastalıklı sıçanlarda ve



Romatoid artrit ve osteoartrit gibi kronik inflamatuvar eklem hastalıklarının patogeneğinde de TG2'nin ilgisi olduğu bildirilmiştir. Bu olaylarla ilgili olarak TG2'nin en önemli rollerinden biri, TGF- $\beta_1$  gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin aktivasyonuna katılımından kaynaklanmaktadır (Johnson vd. 2001, Griffin vd. 2002). TG2'nin hem matriks depolanmasında, hem de fibrojenik sitokinin serbest bırakılması ve aktivasyonu için bir ön koşul olan LTBP-1 (Latent Transforme edici büyüme faktörü Bağlama Proteini-1) kompleksinin matriksle çapraz bağlanmasını içeren bir mekanizma aracılığıyla TGF- $\beta_1$ 'in aktivasyonunda önemli olduğu düşünülmektedir (Griffin vd. 2002, Verderio vd. 2004).

Monositlerin makrofajlara farklılaşması sırasında, integrine bağlı yüzey TG2'si yüksek düzeyde indüklenirken (Akimov ve Belkin 2001a), beraberinde FXIIIa ekspresyonunda ise düşüş gözlenmektedir (Iismaa vd. 2009).

TG2'nin hücre adezyonu ve migrasyonu süreçlerinde görev aldığı yapılan hücre kültürü çalışmalarında kanıtlanmıştır. Fibroblastlardaki aşırı TG2 ekspresyonunun hücrelerin birbirine bağlanmasını ve yayılımını arttırdığı; buna karşın fibroblastlardaki TG2 eksikliğinin ise, hücrelerdeki bağlanmayı ve yayılımı azalttığı görülmüştür (Stephens vd. 2004, Iismaa vd. 2009). Mevcut bulgular TG2'nin hücre bağlanmasına iki yoldan katkı yaptığını göstermiştir. İlk yol; TG2, fibronektin matriks oluşumunun başlangıç evresini arttırarak (Akimov ve Belkin 2001a) ve hücre dışı matriks proteinlerini çapraz bağlayarak hücre dışı matriks proteinlerini stabilize eder (Aeschlimann ve Thomazy 2000, Forsprecher vd. 2008, Iismaa vd. 2009). İkinci yol ise; hücre yüzey TG2'si,  $\beta_1/\beta_3/\beta_5$  integrinlerle (Akimov vd. 2000, Zemskov vd. 2006) ve heparan sülfat proteoglikan reseptör sindekan-4'ün heparan sülfat zincirleri (Verderio vd. 2003, Telci vd. 2008) ile etkileşerek fibronektine fibroblast adezyonunu destekler (Zemskov vd. 2006, Telci vd. 2008, Iismaa vd. 2009).

### **2.3.2 Yara iyileşmesinde transglutaminazlar**

Yara iyileşmesi, travmatik ya da diğer patolojik yaralanmalarla hasar gören doku bütünlüğünü eninde sonunda yeniden oluşturmak için birbiriyle işbirliği yapan birkaç

farklı TG'nin katılımını gerektirir. Faktör XIIIa, kan damarlarının travmatik yaralanmasından sonra kan kaybının kontrolünde, kan pıhtılaşması sırasında fibrin stabilizasyonunda, plateletlerin aktivasyonunda ve granülasyon dokularının depolanmasında açıkça yer alır. TG1 ve 3; yara onarımının anjiyojenik fazında görevli olmasının yanı sıra hücre dışı matriks ile etkileşimi ve stabilizasyonunu sağlayan bağımsız bir hücre yapışma proteini rolü olan TG2 ile bağlantılı olarak epidermal tabakanın tamirinde görev almaktadırlar (Akimov vd. 2000, Akimov ve Belkin 2001b, Griffin vd. 2002).

Kanserli hücelere konaklık eden dokular, peritümöral bölgelerde hücre dışı matriksin yeniden düzenlenmesi ile gerçekleşen lokal bir yara iyileştirme mekanizması olarak daha yüksek TG2 ekspresyonu ve aktivitesi göstermektedirler. Böylece kanserli hücrelerin yayılmasını ve kanserli hücrelerde anjiyogenezisi teşvik etmesine neden olmaktadır (Griffin vd. 2002).

Transglutaminazlar stabilizasyon ve birçok dokunun genel fizyolojisinde (örneğin deri, böbrek) onarıma katılmaktadırlar ve bunun sonucu olarak TG'ler yara iyileştirici araçlar olarak kabul edilebilirler (Ismaa vd. 2009). TG'ler onarım sürecindeki birçok aşamada rol almaktadır. Bunlara ek olarak, sürekli doku travması varlığında veya onarım işlemi anormalliklerinde fibrotik hastalıklara neden olan aşırı TG aktivitesi gözlenmektedir (Mehta ve Eckert 2005).

### **2.3.3 Kütanöz yara iyileşmesi ve cilt morfogenezisinde transglutaminazların rolü**

Kütanöz yara iyileşmesi inflamasyon, proliferasyon ve matürasyon olmak üzere 3 fazdan oluşan kompleks bir süreçtir (Singer ve Clark 1999, Aksoy ve Bingöl-Özakpınar 2014). Cilt yaralanması, geçici bir tamir mekanizması oluşturmak üzere yara bölgesinde pıhtı oluşumunu takiben inflamatuvar hücrelerin yara bölgesine akını ve daha sonra kontraktıl bir granülasyon dokusu oluşturmak için pıhtı içerisinde fibroblastlar ve kılcal damarların oluşumu gibi tepkilere neden olmaktadır. Bu arada kesilmiş epidermal kenarlar soyulmuş yara yüzeyini örtmek için ileri doğru göç etmektedirler (Küçük 2010). Yara iyileşme süreçleri sırasında, TG'ler epidermis, dermis ve pannikulus

karnozus olmak üzere cildin tüm tabakalarında aktive edilir (Qin vd. 2013). Pıhtılaşma faktörü XIIIa (plazma TG), trombin tarafından aktive edilir ve yaralanma bölgesinde fibrin pıhtı oluşumuna katkıda bulunur (Eckert vd. 2014). TG2; iyileşme süreci boyunca endotel hücreleri, makrofajlar ve iskelet kası hücrelerinde eksprese edilir (Haroon vd. 1999, Iismaa vd. 2009). TG2 akut fazda; TGF- $\beta$ , IL-6 ve/veya TNF- $\alpha$  gibi yara sitokinlerine karşı cevaben indüklenebilir (Inada vd. 2000, Lai ve Greenberg 2014). Plazminojen, ürokinaz reseptörü ve mannoz-6-fosfat reseptöründen oluşan bir hücre yüzeyi kompleksine bağlanan TG2, yara bölgelerindeki TG2 ekspresyonu için pozitif bir amplifikasyon döngüsü sağlayan latent TGF-  $\beta_1$ 'i aktif formuna dönüştürür (Inada vd. 2000, Verderio vd. 2004). TG2 ve faktör XIIIa fibrin / fibrinojen, fibronektin, kollajen, laminin / nidojen, osteopontin ve vitronektin gibi hücre dışı matriks moleküllerinin çapraz bağlanmasına katılabilir. Böylece, TG'ler hücre dışı matriksi stabilize ederek inflamatuvar ve endotel hücrelerinin migrasyonu için etkili bir iskele oluşturur ve işlemin son ürünü, granülasyon dokusu ile fibrin matriksinin yer değiştirmesidir. Yaranın iyileşmesinden sonra bile, TG izoenzimleri çapraz bağlantılı ekstraselüler matriks molekülleri ile yaranın büzülmesini destekler. Ayrıca, TG2 enzimi potansiyel bir substrat olarak kolajen VII'inin ligasyonu yoluyla dermo-epidermal bağlantıda tutundurucu (anchoring) fibrillerin çapraz bağlanmasına katılır (Inada vd. 2000).

Yenidoğan farelerin dorsal cildi üzerinde kesik oluşumunu takiben TG1 ekspresyon süreci kütanöz iyileşmede TG1'in rolünde öngörüler sağlamıştır. In situ hibridizasyonla, yara yakınındaki kenarda yaralanma sonrasındaki 2 saat suprabasal keratinositlerde TG1'in eksprese olduğu bulunmuş ve ekspresyonun sonraki saatlerde yara yakınındaki kenarda arttığı görülmüştür. Yaralanma sonrasındaki 20 saat içinde (reepitelizasyonun belirgin olarak başladığı) ve normal hale döndüğü yaralanma sonrasındaki 4 gün içinde (reepitelizasyon sürecinin tamamlandığı) göç eden keratinositlerin kenarlarında TG1 büyük oranda indüklenmiş olarak bulunmuştur (Inada vd. 2000).

Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda kütanöz yaralanmayı takiben TG2 ekspresyonunun ve aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Telci ve Griffin 2006). TG2'nin; epidermiste eksprese olduğu bulunmuştur (Lorand ve Graham 2003). TG2 ekspresyonu

sınırlanmış proliferatif bazal tabakada görülmüştür. Greenberg üniversitesindeki bir grubun yapmış olduğu önemli bir çalışmada, rat cildindeki yara iyileşmesinin tüm aşamalarında TG2 ekspresyonu görüntülenmiştir (Haroon vd. 1999). TG2'nin reepitelizasyonla ilişkili olan keratinositlerde, reepitelizasyon sınırını kaplayan makrofajlarda ve yaralanma sonrasındaki 1. günde yeni kan damarlarının ele geçirdiği geçici matrikste eksprese olduğu bulunmuştur. Geçici epitelyal tabakada ekspresyon azaldıktan sonra reepitelizasyon tamamlanmıştır. TG2'nin; yara onarımında dermoepidermal birleşme noktalarının epitelyal tabakaya bağlanmasında görev aldığı ve eksprese olmaya devam ettiği görülmüştür (Ismaa vd. 2009). Yaralanma sonrasında 1-3. günde önemli şekilde artan TG2 immünreaktivitesinin, aynı zamanda olgunlaşma sırasında granülasyon dokusunda mevcut ve yaralanma sonrasındaki 3. ve 9. gün arasında yavaş bir şekilde kontrollü olarak proteolizize uğrayarak azalmış olduğu gösterilmiştir (Haroon vd. 1999).

Kütanöz yaralanmaya yanıt olarak TG2 ekspresyonu ve aktivitesi geçici fibrin matriksteki neovaskülerizasyon bölgelerinde, endotelyal hücrelerde, iskelet kası hücrelerinde, normal ve yaralanmış doku arasındaki yara sınır bölgesine sızan makrofajlarda ve daha sonra da hücrelerarası matriks substratlarını çapraz bağladığı düşünülen granülasyon doku matriksinde artırılır (Haroon vd. 1999, Mehta vd. 2010).

Epidemal TG (TG3); lorikrin, prolinden zengin proteinler, involukrin, keratinler, fillagrin, dezmozoplakin, envoplakin gibi hücre zarındaki yapısal proteinlerin birkaçının veya dezmozomal proteinlerin spesifik çapraz bağlantısını kataliz ederek TG1 ile birlikte epitelyumun olgunlaşmasına katılmaktadır (Ahvazi vd. 2004).

#### **2.3.4 Matriks sentezinde ve degradasyonda TG2'nin rolü**

Matriks degradasyonunun, yara bölgesindeki onarımı kolaylaştırmak için önemli olan ve bu bölgede biyolojik aktiviteler sağlayan protein fragmentlerinin salınmasına yol açtığı düşünülmektedir (Davis vd. 2000, Verderio vd. 2004). Daha sonra fibroblastlar, miyofibroblast fenotipi halini alır, düz kastaki aktini eksprese eder ve doku sıkışmasını ve yara kasılmasını başlatır (Verderio vd. 2004).

Hücre proliferasyonu, hücre hareketi ve matriks aktif bölgeleri ile hücre etkileşimleri; matriks sentezi ve matriks degradasyonu arasında düzenlenmiş bir dengeye bağlıdır.  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamil) lizin çapraz bağları ile katalizlenen TG2, proteolitik ve mekanik hasarlara karşı dengelidir. Böylece modifiye edilmiş hücre dışı matriks proteinlerine bozunma direnci ve yükseltilmiş dayanıklılık kazandırır (Johnson vd. 1999, Verderio vd. 2004).

Haroon vd. (1999), endotel hücrelerinde ve fibrin pıhtıyı işgal eden makrofajlarda bulunan TG2'nin artmış ekspresyonunun, yara iyileşmesi sırasında hem fibrin hem de yeni granülasyon dokusunda transglutaminaz aracılı çapraz bağ oluşumuyla sonuçlandığını bildirmiştir (Verderio vd. 2004). Bu bulgu, insan umbilikal ven endotel hücrelerinin trombin tarafından regüle edilen zengin bir TG2 kaynağı olduğu gözlemiyle tutarlı bulunmuştur (Auld vd. 2001). TG2, insan umbilikal ven endotel hücrelerinin ECM'sindeki faaliyeti koruyarak matriksin stabilitesine katkıda bulunur (Verderio vd. 2004).

Epitel tabakasındaki TG2; dermo-epidermal bağlantı noktalarında eksprese edilir ve burada epitel tabakasını dermo-epidermal bağlantı noktasına tutturmayı sağlamaktadır (Verderio vd. 2004). İnsan dermal fibroblastlarının ölümcül olmayan dozlarda mor ötesi ışınlara maruz kalması, yeni protein sentezine ihtiyaç duymayan ve FN'nin multimerizasyonuna öncülük eden TG2 aktivitesinde artışa neden olur. Bu veri, mor ötesi ışın hasarını takiben dokunun hızla dengelenmesinde TG2'nin rolünün olduğunu ortaya koymaktadır (Nicholas vd. 2003). TG ailesinin diğer üyelerinden faktör XIIIa ve epidermal transglutaminaz geçici matriksin stabilizasyonunun sağlanmasında benzer katkılar sağlamaktadır (Lorand ve Graham 2003). Ancak TG2, stabilizasyonun sağlanması için trombin aktivasyonunu gerektirmez ve bu nedenle, hasar alanından çıkarıldığında trombin yokluğunda da bir matriks sabitleyici olarak hizmet etmeye devam edebilmektedir (Verderio vd. 2004).

Başarılı doku onarımı; ECM (ekstraselüler matriks) sentezi (granülasyon dokusunun oluşumu ve kollajen depolanması) ve matriks degradasyonu arasında optimum bir dengeye bağlıdır. Bu olay matriks metalloproteinazları (MMPs) ve plazminojen aktivatörleri tarafından kontrol edilmektedir ve ayrıca proteazların doku inhibitörleri

tarafından düzenlenmektedir. Matriks sentezi hücre göçüne izin vermek için gerekliken, degradasyon ise yara kontraksiyonu ile birlikte yaranın kapanmasını uyaran ECM deposunda göç yolu oluşturmak için önemlidir. TG2; ECM'nin etkili bir şekilde değişiklik yapmasına katkı sağlamaktadır ve TG2 sentez sonrası ECM'nin stabilizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu bakımdan TG2'nin yeteneği, ECM fibronektin multimerlerinin azalan formlarını oluşturarak stabilizasyona olan etkisi ile iyi şekilde gösterilmiştir (Gross vd. 2003). Fibronektin dışında, TG2'nin kollajenin birkaç farklı tipine (II, III, IV, VII ve XI) (Aeschlimann vd. 1996) ve yakın geçmişte kollajen tip I'e çapraz bağlanması gösterilmiştir (Collighan vd. 2004).

Son zamanlarda TG2 aracılı tip I ve tip III kollajenin modifikasyonunun; fibril oluşumunun artmasına ve kültürdeki fibroblastların ve osteoblastların hücre adezyonu için gelişmiş bir temel oluşumuna da neden olduğu gösterilmiştir (Skill vd. 2004).

### **2.3.5 Yara iyileşmesinde TG2'nin rolü**

Bowness vd. (1988) tarafından, deride yapılan çalışmalarda ratlarda yara iyileşmesi sırasında transglutaminaz aktivitesinin arttığı saptanmıştır. TG2'nin doku onarımı için gerekliliği; TG2 nakavt farelerde yara iyileşmesinin bozulduğunun saptanması ile anlaşılmıştır (Mearns vd. 2002). Upchurch vd. (1991), ponksiyonla yaralanmayı takiben endojen TG2'nin hücreler arası matrikse bağlandığını; yara bölgesi boyunca bir fibroblast hücre tek katmanının ve TG2'nin kalıcılığının birkaç saat sonra ortaya çıktığını hücresel seviyede göstermişlerdir. Haroon vd. (1999) ise; sadece TG2 aktivitesinde bir artış değil, aynı zamanda sıçanlarda deri biyopsisi yaralarını takiben 3. günde TG2 ekspresyonunda bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Rat dermal yara iyileşmesi sırasında, TG2'nin yara iyileşmesinin tüm aşamalarında endotel hücrelerinde, makrofajlarda ve iskelet kası hücrelerinde eksprese edildiği ve aktif olduğu gösterilmiştir (Haroon vd. 1999). TGF- $\beta$ 1, IL-6, TNF- $\alpha$  ve VEGF gibi onarım sürecine katılan sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından TG2 ekspresyonunun düzenlendiği kanıtlanmıştır (Kuncio vd. 1998, Verderio vd. 2004, Lai ve Greenberg 2014). TGF- $\beta$ 1, yara yanıtında çok yüksek seviyede ve inflamatuvar yanıtta etkili olan, hücreler arası matriks depolanması, remodelizasyon ve anjiyogenezi etkileyen merkezi bir rol

oynamaktadır (Shah vd. 1999, Verderio vd. 2004). Aktif TGF- $\beta$ 1 ayrıca, TG2 gen ekspresyonunu da tetikleyebilir ve sonuçta proteaza dirençli ECM birikmesine yol açar (Lai ve Greenberg 2014). IL-6, transgenik farelerde baskılanması nedeni ile yara onarımında bozulmaya yol açan önemli bir inflamatuvar sitokindir (Gallucci vd. 2000). TNF- $\alpha$  ise, esas olarak nötrofiller tarafından salınır ve büyüme faktörlerinin pleiotropik ekspresyonuna yol açmaktadır (Verderio vd. 2004).

Tüm doku onarımı süreci hücre dışı matriksi ile etkileşim halindeki hücreler tarafından düzenlenmektedir. Böylece hücre adezyonu, hayatta kalma ve proliferasyon olayları sağlanmaktadır (Singer ve Clark 1999, Verderio vd. 2004). Örneğin; fibroblastlar tarafından fibronektinin (FN) hücre yüzeyi reseptörleri ile birlikte üretimi, yeni granülasyon dokusunun oluşumunda önemli bir aşamadır. FN; adezyon, göç ve proliferasyon için gerekli olan kollajen birikiminden önce geçici bir matriks sağlayarak yara onarım yanıtının düzenlenmesine katılmaktadır (Davis vd. 2000). İlk olarak Lorand tarafından yapılan ve diğer yazarlar tarafından teyit edilen biyokimyasal gözlemler, TG2 için FN'nin N-terminal bağlayıcı fragmenti üzerinde yer alan yüksek bir afinite bağlama bölgesine sahip olduğunu açıkça ortaya koymuştur (Gaudry vd. 1999b, Verderio vd. 2004). TG2; elektron mikroskobu ile görüntülendiğinde, FN'nin N terminal bölümüne bağlı globüler bir protein olarak görülmektedir. Hücre dışında TG2'nin rolü yara iyileşmesinin erken aşamalarında FN ile etkileşimine dayanmaktadır. Yapılan hücre kültürü çalışmaları; doku transglütaminazının bir FN-bağlayıcı protein olduğunu doğrulamaktadır ve TG2 indirgenmemiş  $\text{Ca}^{+2}$  bağımlı " $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamil) lizin çapraz bağları oluşturarak FN matriksini modüle edebilmektedir (Verderio vd. 2004). Son zamanlarda hücre hasar, inflamasyon veya hücre stresini takiben hücrelerden serbest bırakılan TG2'nin, FN'ye sıkıca bağlanması elektron mikroskopisi ile de görüntülenmiştir (Gaudry vd. 1999b, Verderio vd. 2004). FN'nin TG2'ye bağlanması, TG2'yi proteolitik bozunmadan korumaktadır (Belkin vd. 2001) ve aynı zamanda TG2 transamidasyon aktivitesinin azalarak düzenlenmesine yol açmaktadır (Verderio vd. 2004). Diğer taraftan hücre yüzeyi TG2'si, hücre hasarını takiben multimerizasyon ile FN matriks stabilitesini ayarlar ve değiştirir (Gross vd. 2003). Ayrıca TG2; FN'nin jelatin bağlama bölgesi ile etkileşerek, FN matriksinin montajında  $\alpha$ 5- $\beta$ 1 integrinler ile işbirliği yapabileceği ileri sürülmüştür (Akimov ve Belkin 2001a). Hücre dışı matriks

stabilizasyonu/remodelizasyonunu meydana getiren TG2'nin çapraz bağlama fonksiyonu doku tamiri için önemli birkaç biyolojik süreçte tanımlanmıştır (Aeschlimann ve Thomazy 2000). TG2 çapraz bağlama fonksiyonu dışında; hücre yapışması, hücre yayılması ve fibroblastların hücre hareketi gibi doku onarımı sürecinde temel olan hücre matriks etkileşimlerine katılır. Artan matriks stabilitesi sayesinde TG2; ya  $\beta_1$  ve  $\beta_3$  integrinlerin bir yapışma koreseptörü olarak ya da bağımsız bir hücre yapışma proteini olarak hücre-matriks etkileşimlerini etkileyebilir (Verderio vd. 2004, Lai ve Greenberg 2014).

Stabil bir ECM normal anjiyogenez ve yara iyileşmesini desteklemek için önemli bir unsurdur. TG2, hücreler tarafından salgılanır ve ECM'deki fibronektine (FN) bağlanır. FN'ye ek olarak; kollajen, fibrinojen, fibrin, laminin / nidogen, osteopontin ve vitronektini içeren birçok ECM proteini de TG2'nin substratlarıdır. TG2 ekspresyonu ve aktivitesi, yara iyileşmesinin erken aşamalarında artmaktadır; bu durum, TG2'nin fibrin pıhtıya göç eden ve / veya ECM'yi yeniden modelleyen hücrelerde aktive olduğunu göstermektedir.

Faktör XIIIa ve muhtemelen TG2'nin de; fibrinoliz inhibitörleri olan plazminojen aktivatör inhibitör -2 (PAI-2) ve  $\alpha_2$ -antiplasmin'in çapraz bağlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir ve bu da fibrin pıhtının stabilizasyonuna daha da katkıda bulunur (Ritchie vd. 2000).

Kollajenin sentezi ve bozunması arasındaki denge, granülasyon dokusundan yeniden modelleme fazına geçiş sırasında önemli bir rol oynamaktadır. Kollajenin yeniden modellenmesi, yara izine direnç kazandıran yeni moleküller-arası çapraz bağların oluşturulmasıyla birlikte büyük demetlerin oluşumuna neden olmaktadır. Yapılan in vitro bir çalışma; doku transglütaminazı ile FN varlığında ya da yokluğunda çapraz bağlı kollajen 1'in, MMP-1'in stabilitesini arttırdığını ortaya koymuştur (Johnson vd. 1999, Verderio vd. 2004). Kollajen 1'in yanı sıra, doku transglütaminazının bir dizi farklı kollajen (II, III, V, XI) ve diğer hücre dışı matriks proteinlerini de çapraz bağladığı gösterilmiştir (Aeschlimann ve Thomazy 2000, Lorand ve Graham 2003).

TG2'nin çeşitli yara iyileşmesi ile ilgili süreçlerdeki rolleri farklılık göstermektedir. Bu süreç yara iyileşmesinin çeşitli aşamaları sırasında meydana gelen matriks stabilitesinin, yara izinin, trombosit agregasyonunun ve anjiyogenezin düzenlenmesini içerir (Verderio vd. 2004).

Yapılan invivo çalışmalarda punch biyopsi tekniği ile oluşturulan tam kat açık yaralarda TG2 eksikliği olan farelerde yara kapanmasında gecikmeler olduğu gözlemlenmiştir (Eckert vd. 2014).

Bu projede cerrahi kesi modellerinde transglutaminaz 2'nin haricen deri altına uygulamasının; inflamatuvar sürece, rejenerasyona, kollajen sentezi ve vaskülarizasyona etkisinin invivo belirlenmesi amaçlanmıştır.

### **3. MATERİYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1 Hayvan Materyali**

Çalışmada 24 adet ortalama 200-250 gram ağırlıklarında, erkek Wistar-Albino ırkı ratlar (Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanı Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı, Ankara) kullanılmıştır. Deney süresi boyunca yem ve su ihtiyaçları ad libitum olarak giderilmiştir. Hayvanlara birleşimi % 12 nem, % 23 ham protein, % 3 ham yağ, % 7 ham selüloz, % 8 ham kül, % 1,0-2,5 kalsiyum, % 0,9 fosfor ve % 0,5-1 sodyumdan oluşan pelet yem verilmiştir. Hayvanların barındırıldığı ortamın ışık, ısı ve nem düzeyleri kontrol altında tutulmuştur (12/12 saat ışık/karanlık–7:30/19.30, 22±2 °C, % 55±5 nem).

Deneye başlamadan önce Sağlık Bakanlığı Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'ne yapılan başvuru neticesinde tüm çalışma sürecinde hayvanlar üzerinde gerçekleştirilecek işlemlerin uygunluğuna dair hayvan deneyleri etik kurul onayı alınmıştır.

##### **3.1.1 Deney gruplarının oluşturulması**

Ratlar; 8 tanesi hiçbir uygulama yapılmayan sağlıklı, 8 tanesi ötenazi gününe kadar sütürlü bölgelerine deri altı olarak TG2 uygulanmak üzere, 8 tanesi de sütürlü bölgelerine ötenazi gününe kadar hiçbir uygulama yapılmaksızın bırakılmak üzere rastgele 3 gruba ayrılmıştır.

Deney grupları:

1. Sağlıklı doku (n=8)
2. Kontrol cerrahi kesi (n=8)
3. Cerrahi kesi –transglutaminaz 2 (n=8)

### **3.1.2 Deney gruplarında yara oluşturulması**

200-250 g ağırlığındaki 16 adet Wistar Albino erkek rat sırt bölgelerinde cerrahi kesi oluşturulmak üzere; ketamin HCL 60 mg/kg, Xylazine 5 mg/kg dozda intraperitoneal uygulama ile anestezi altına alınmıştır. Sıçanlar prone pozisyonda tespit edilerek ve tüm cerrahi işlemleri asepti, antisepti kurallarına uygun olarak aynı kişi tarafından gerçekteşirilmıştır. Her sıçanın sırt bölgesi ameliyat öncesi tıraş edilerek bölgenin antiseptisi amacıyla povidone iodine kullanılarak preoperatif hazırlık yapılmıştır.

Cerrahi kesi modeli; sırt bölgesinde 4 cm'lik tam kesi oluşturulduktan sonra 2 adet sütür atılarak kesi ağızları birleştirilerek gerçekteşirilmıştır.

### **3.1.3 TG2'nin uygulamaya hazır hale getirilmesi**

Ratlardaki yaralara deri altı uygulama için >750 IU/mg aktivitede "rekombinant insan TG2 (Zedira)" tris tamponunda çözümlenerek kullanılmıştır.

### **3.1.4 Yara bölgesine TG2 uygulaması**

TG2 uygulanan grupta ötenazi gününe kadar; hücre proliferasyonunu arttırdığı, kollajen ve fibroblast büyüme faktörü üzerinde etkili olduğu belirlenmiş ve hücre kültürü ortamında optimize edilmiş 10 IU/kg olan doz kullanılmıştır. TG2 gün aşırı lokal olarak süturlu bölgeye subkutan uygulanmıştır.

Deney süresince her iki grupta bulunan ratların yara iyileşme süreci ve enfeksiyon gelişimi günlük olarak takip edilmiştir. Yara oluşumu ve tedavi süreci boyunca sıçanların 3., 5., 7., 10., 12. ve 15. günlerde fotoğrafları çekilerek takipleri yapılmıştır.

### **3.1.5 Deney gruplarındaki ratlardan deri materyalinin toplanması**

Yara oluşturulduğu günden sonraki 15. günde her gruptaki rat, ketamin HCL 60 mg/kg, Xylazine 5 mg/kg dozda intraperitoneal uygulama ile anestezi altına alınmıştır. Sırt bölgeleri traş edilerek tüy ve kıllardan temizlenmiştir ve yara bölgelerini içine alan 4 cm<sup>2</sup>'lik kare şeklinde deri alanı steril makas ve bistüri yardımıyla çıkarılıp tartılarak kapaklı steril tüplere alınmıştır. Deri alanlarının bir kısmı daha sonra büyüme faktörleri [EGF (epidermal büyüme faktörü), VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü), FGF (fibroblast büyüme faktörü)], IL (interlökin) -8, IL-10, TNF- $\alpha$  (tümör nekrozis faktör), apoptozis (sitokrom c) ve kollajen 1'in ELISA ile ölçümü için -80 °C'de dondurularak saklanmıştır. Bir kısmı ise, histopatolojik inceleme için içinde % 4'lük paraformaldehid bulunan kapaklı tüplere alınmıştır.

### **3.1.6 Deri materyalinin ELISA kitleri için hazırlanması**

Uygun koşullarda (-80 °C) muhafaza edilen deri materyalinin yara bölgesi olan kısımları ELISA kitlerinin prosedürlerine uygun şekilde (1/2, doku miktarı/RIPA buffer) içine 2 µl/ml proteaz inhibitör kokteyli eklenen RIPA tamponu (5 ml PH:7.4 1M Tris-HCl, 30 ml 5M NaCl, 5 ml % 20'lik NP-40, 0.5 ml % 20'lik SDS, 55 ml ddH<sub>2</sub>O) içinde homojenizatör (Powergen homojenizatör 125, Fisher Scientific) ile parçalanmıştır. Daha sonra santrifüj edilerek süpernatantları alınmıştır.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Doku örneklerinden sitokrom c, FGF, EGF, VEGF, TNF- $\alpha$ , kollajen tip I, IL-8, IL-10 düzeylerinin ölçümü için kullanılan ELISA kitlerinin hazırlanması**

Ölçümler ELISA yöntemiyle aşağıda bulunan kit (eBioscience) prosedürlerine uygun olarak yapılmıştır:

- 1) 96 kuyucuklu ELISA plakları, 1X kaplama tamponu içerisinde dilue edilen primer antikör çözeltisinden her bir kuyuya 100 µl olacak şekilde koyularak kaplanır. Filmle kapatılan plaklar gece boyunca +4 °C’de inkübe edilir.
- 2) Gece boyu inkübe edilen plaklar en az 250 µl’lik 3 kez yıkama tamponu kullanılarak ELISA yıkayıcısında yıkama işlemi yapılır.
- 3) Yıkama işlemi yapılan plaklardaki her bir kuyucuğa 200 µl olacak şekilde 1X ELISA/ELISPOT çözeltisi eklenerek, oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edilir ve bloklama yapılır.
- 4) Bloklama işleminden sonra plaklardaki kuyucuklara koyulacak olan sitokrom c, FGF, Tip 1 kollajen, EGF, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10 ve VEGF standartları 1X ELISA/ELISPOT dilusyonu ile en yüksek konsantrasyon 2 ng/ml olacak şekilde ½ dilüsyonla 7 farklı konsantrasyonda hazırlanır.
- 5) 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edilerek bloklamaya bırakılan plaklar 1 kez yıkama tamponu kullanılarak ELISA yıkayıcısı ile yıkanır.
- 6) Yıkama işleminden sonra TG2 uygulaması sonrası elde edilen süpernatant örnekleri ve hazırlanan standartlardan her bir kuyucuğa 100 µl konularak, 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edilir.
- 7) İnkübasyon işleminden sonra plakalar tekrar yıkama tamponunda ELISA yıkayıcısı ile yıkanır.
- 8) Kuyucuklar biyotin işaretli sitokrom c, FGF, Tip 1 kollajen, VEGF, EGF, TNF- $\alpha$ , IL-8 ve IL-10 antikörleri ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilir.
- 9) İnkübasyon işleminden sonra plakalar tekrar yıkama tamponunda ELISA yıkayıcısı ile yıkanır.

10) Yıkama işlemi uygulanan plakalardaki kuyucukların her birine 1/5000 dilue edilmiş 100 µl avidin-HRP (horse radish peroksidaz) çözeltisi eklenir ve plakalar filmle kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakılır.

11) İnkübasyon işleminden sonra 3 kez yıkama tamponu ile ELISA yıkayıcısında yıkanan plakalardaki her bir kuyucuğa 1X TMB (3-3'-5-5'-tetrametilbenzidin) çözeltisinden 100 µl eklenir ve 15 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılarak renklenme gözlenir.

12) İnkübasyon işlemi sonucunda mavi renge dönüşen her bir örnek kuyucuktaki renk reaksiyonu 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> stop solüsyonu durdurulur.

13) Renk reaksiyonu durdurma işleminden sonra plakalar 450 nm'de spektrofotometrede okunarak absorbanslar kaydedilir.

### **3.2.2 Deri materyalinin histopatolojik inceleme yöntemi için hazırlanması**

Dokuların histopatolojik hazırlık süreci ve incelenmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Cerrahi kesi ardından primer sütür atılan cerrahi kesi kontrol grubunda (n=8) ve süturlu bölgeye lokal olarak TG2 uygulaması yapılan grupta (n=8) uygulama sonrası 15. günde elde edilen dokular alınır alınmaz -80 °C'de saklanan kısmın dışındaki doku parçaları % 4'lük paraformaldehid içerisinde tespit edilerek rutin histolojik takip protokolüne alınmıştır. Bu işlemde dokular önce yükselen dereceli etanol serilerinde (sırasıyla % 70, % 90, % 96 ve % 100) 15 dakika süreyle tutularak dehidrate edilmiştir. Daha sonra % 100 etanolde 2 kez 30 dakika süreyle tutularak toluol içinde 15 dakika süreyle şeffaflaştırma işlemi yapılmıştır. Bunu takiben 56 °C'deki etüvde yumuşak parafin içerisinde 2 kez 1 saat bekletilen dokular parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklar oda sıcaklığında sertleştikten sonra buzdolabında +4 °C'de bekletilmiştir Kesim işlemine başlamadan birkaç saat önce -18 °C'ye alınan bloklardan Leica SM 2000R model kızaklı mikrotom kullanılarak cilt yüzeyine dik olacak şekilde boyuna 3µm

kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler poli-lizinli lamlara aktarılmıştır. Histopatolojik inceleme ışık mikroskopisi ile yapılmıştır. Histolojik doku incelemelerinde; dokuların canlılıkları, bağ dokusundaki kollajen tip 1 liflerin organizasyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damarlanma artışı ve nekrotik alan genişliği değerlendirilmiştir.

### **3.2.3 Deri materyalinin histopatolojik inceleme için boyanması**

Dokular yara iyileşmesinin temel parametrelerini incelemek üzere hematoksilen-eozin (H3136 Sigma-Aldrich Hematoxylin ve E4009 Sigma-Aldrich Eosin Y) boya ile ve kollajen lifleri gözlemek için Masson'un Trikrom boyama (HT15-1KT, Sigma) kitiyle boyandıktan sonra ışık mikroskobu (Leica DM 500) ile değerlendirilmiştir ve fotoğraflanmıştır (Leica ICC50 HD).

H3136 Sigma-Aldrich Hematoxylin ve E4009 Sigma-Aldrich Eosin Y boyama protokolü

- Ksilen ile 2 değişim 20'er dakika deparafinize edilir.
- % 100, % 96 ve % 75 etanol serisinden geçirilerek hidrate edilir.
- Distile su ile yıkanır.
- Hematoksilen solüsyonu ile 1 dakika muamele edilir.
- Distile su ile yıkanır.
- % 1 Asit Alkol solusyonunda diferansiye edilir.
- Distile su ile yıkanır.
- % 1 amonyaklı su solusyonunda diferansiye edilir.
- Distile su ile yıkanır.
- Eozin solüsyonu ile 1 dakika muamele edilir.
- Distile su ile yıkanır.
- % 75, % 96 ve % 100'lük etanol serisinden geçirilerek dehidrate edilir.
- Ksilen ile şeffaflandırılır.
- Entellan damlatılıp lamel ile kapatılarak preparat haline getirilir.

Boyama sonunda hücre çekirdekleri koyu mavi-menekşe renkte, sitoplazma pembe-kırmızı renkte boyanır.

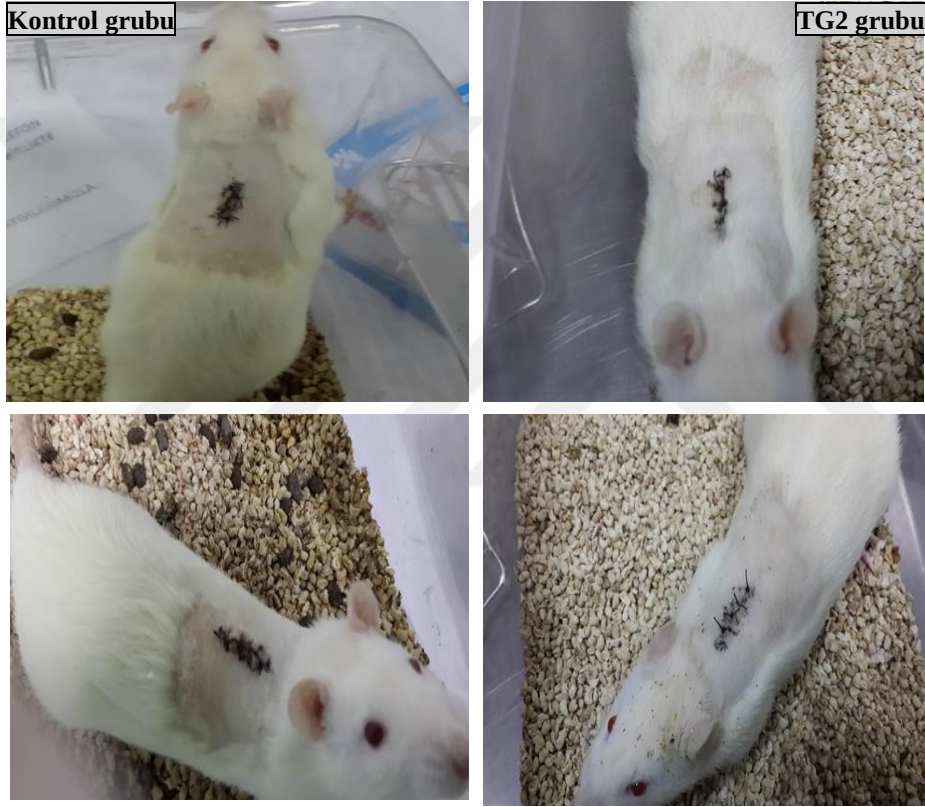
#### HT15 Sigma Trichrome Stain (Masson) kit protokolü

- Kesitler 20'şer dakika 2 değişim ksilen ile deparafinize edilir.
- Azalan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (% 100, % 96 ve % 75 etanol) hidrate edilir.
- Distile su ile yıkanır.
- 56 °C'de önceden ısıtılmış Bouin solüsyonunda 15 dk mordanlanır.
- Soğutulan kesitler cam şale içerisine alınır ve çeşme suyu ile yıkanır.
- Kesitlerden sarı renk uzaklaşana kadar akar çeşme suyu altında yıkanır.
- Weigert'in Demirli Hematoksilen solüsyonu ile 5 dakika boyanır.
- Akar çeşme suyu altında 5 dakika yıkanır.
- Distile su ile yıkanır.
- Biebrich Scarlet-Asid Fuksin solüsyonu ile 5 dakika boyanır.
- Distile su ile yıkanır.
- Kesitler Fosfotungustik/fosfomolibdik asit solüsyonunda 5 dakika bekletilir.
- Anilin mavisi solüsyonunda 5 dakika boyanır.
- % 1'lik asetik asit solüsyonunda 2 dakika bekletilir.
- Kesitler distile su ile yıkanır.
- Artan dereceli alkon serilerinden geçirilerek (% 75, % 96 ve % 100'lük etanol) dehidrate edilir.
- Ksilen ile şeffaflandırılır ve entellan ile kapatılır.

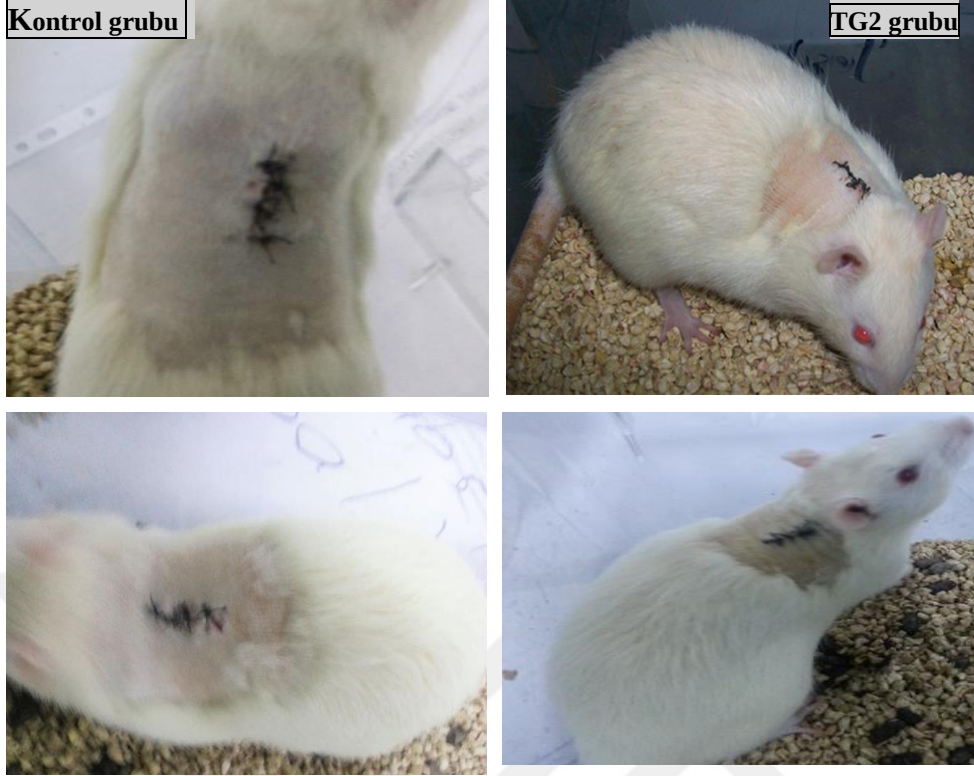
Elde edilen kesitlerde cilt dokusuna ait epidermis, dermis ve hipodermis tabakaları yara iyileşmesi histolojik parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Kontrol ve TG2 grupları arasında yara iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesi tablodaki modifiye skorlama parametreleri kullanılarak yapılmıştır (Çizelge 4.1) (Gupta ve Kumar 2015, Sultana vd. 2009).

#### 4. ARAşTIRMA BULGULARI

Yara oluşumundan sonra derideki fiziksel bazı değişiklikler fotoğraflanarak gözlenmiştir (şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6). TG2 uygulanan grupta yara iyileşmesinin morfolojisinde daha iyi ve daha hızlı bir iyileşme olduğu gözlenmiştir. Ayrıca yara bölgesindeki kıllanmanın çok kısa sürede ve çok hızlı bir şekilde arttığı da belirlenmiştir.



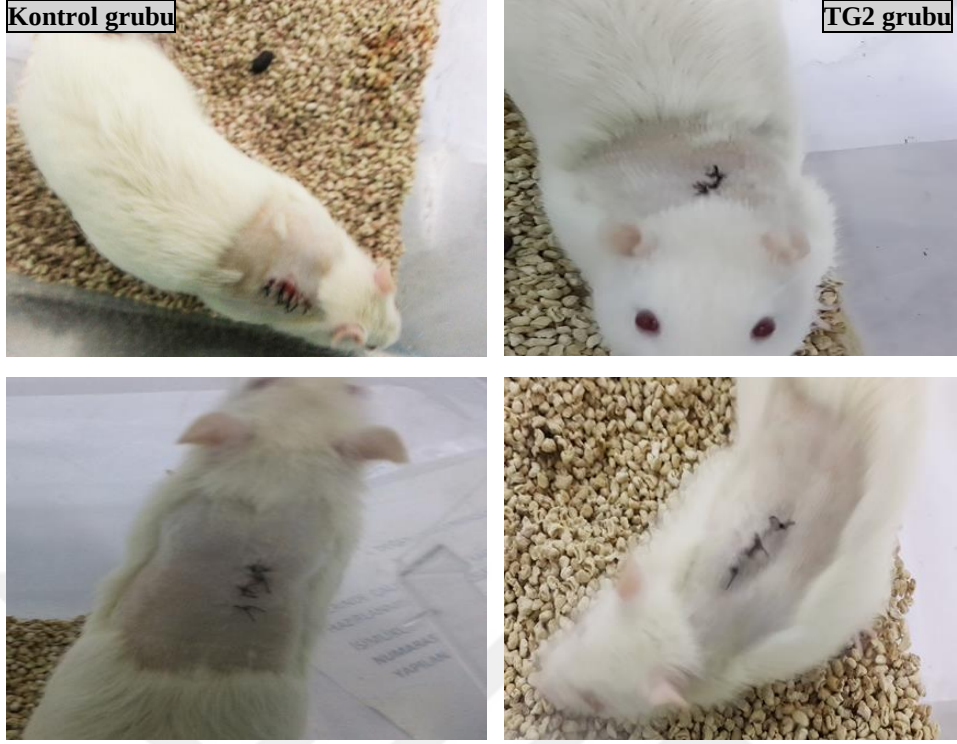
şekil 4.1 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 3. gündeki yara bölgelerinin makroskobik görüntüleri



Şekil 4.2 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 5. gündeki yara bölgelerinin makroskobik görüntüleri



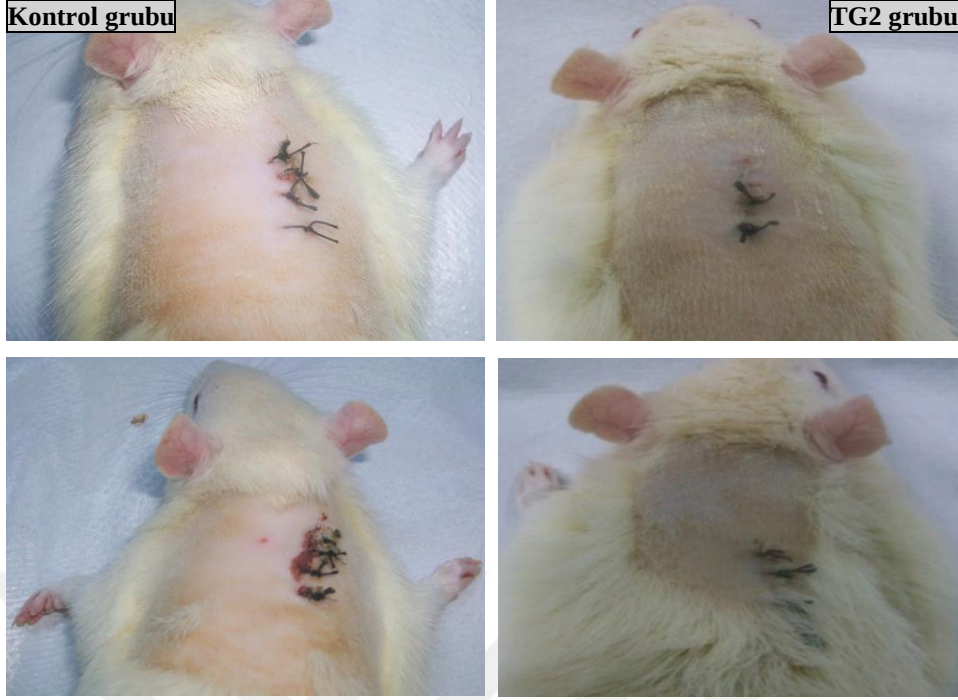
Şekil 4.3 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 7. gündeki yara bölgelerinin makroskobik görüntüleri



Şekil 4.4 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 10. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri



Şekil 4.5 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 12. gündeki yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri

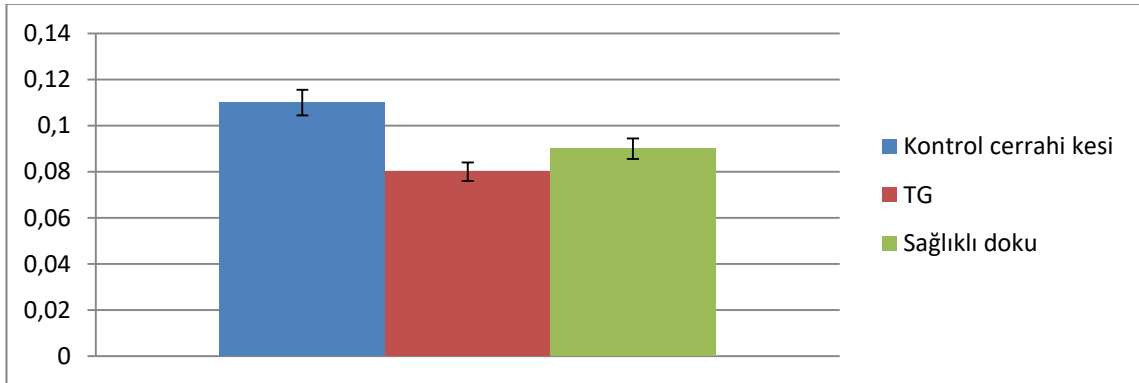


Şekil 4.6 Kontrol ve TG2 gruplarının yara oluşturulduktan sonra 15. gündeki (kesim günü) yara bölgelerinin makroskopik görüntüleri

#### 4.1 İn Vivo Doku Transglutaminazı Uygulamasının Cerrahi Kesi Yara Modelinde Etkisinin Değerlendirilmesi

##### 4.1.1 Apoptozis değerlendirilmesi

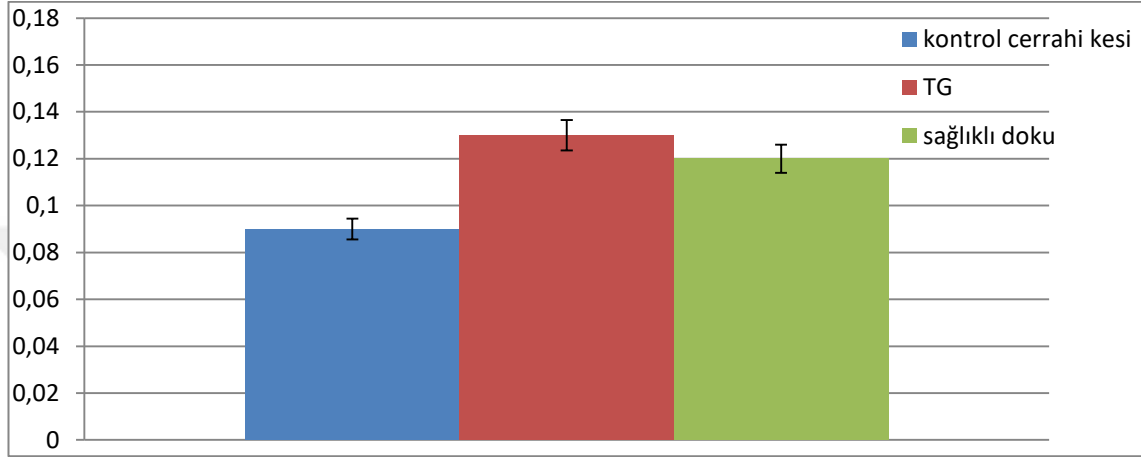
Deri örneklerinde apoptozis değerlendirilmesi sitokrom C ölçümüyle yapılmıştır.



Şekil 4.7 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının sitokrom C düzeyine etkisi (n=8, ort±SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin sitokrom c düzeyini azalttığı görülmüştür. Bu durum da bize TG2'nin apoptozis (programlı hücre ölümü) oranını azalttığını göstermiştir.

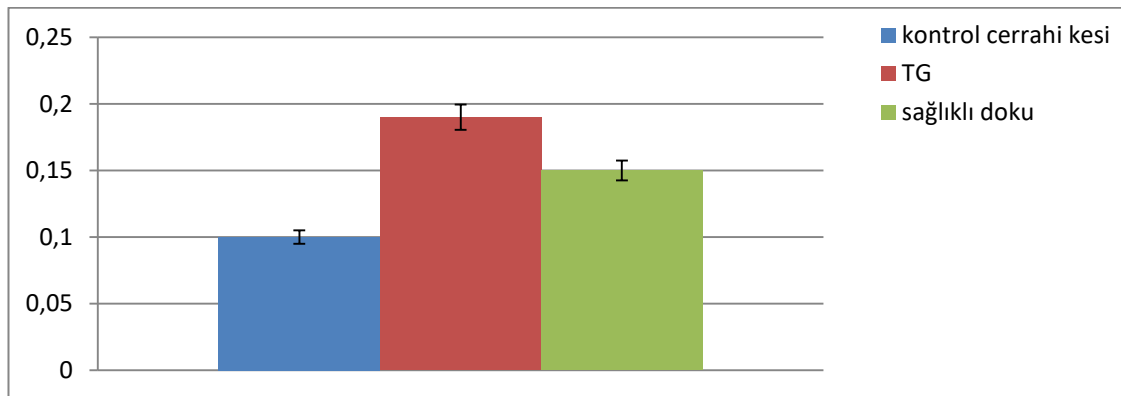
#### 4.1.2 Tip 1 kollajen



Şekil 4.8 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının tip kollajen-1 düzeyine etkisi (n=8, ort±SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin tip 1 kollajenin düzeyini arttırdığı görülmüştür.

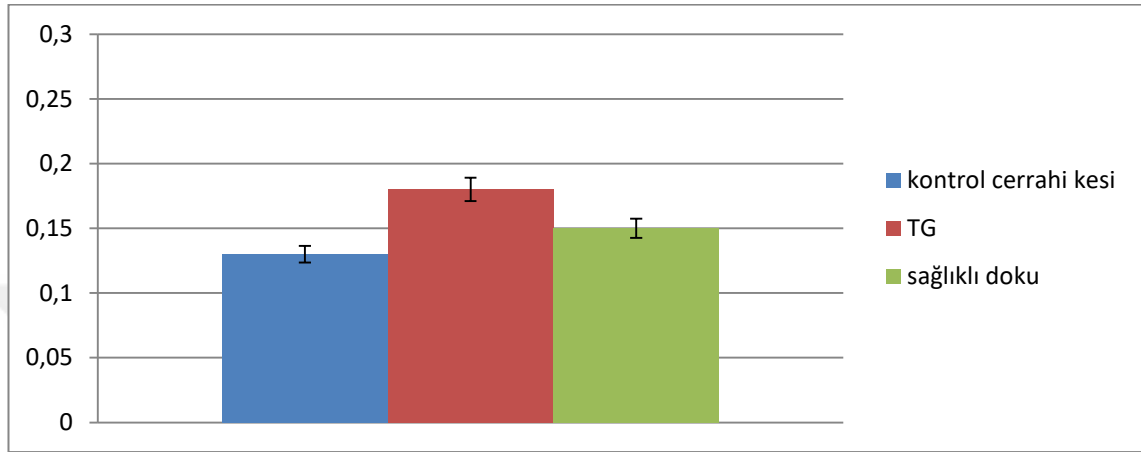
#### 4.1.3 EGF (Epidermal Büyüme Faktörü)



Şekil 4.9 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının EGF düzeyine etkisi (n=8, ort±SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin EGF (Epidermal Büyüme Faktörü) düzeyini arttırdığı görülmüştür.

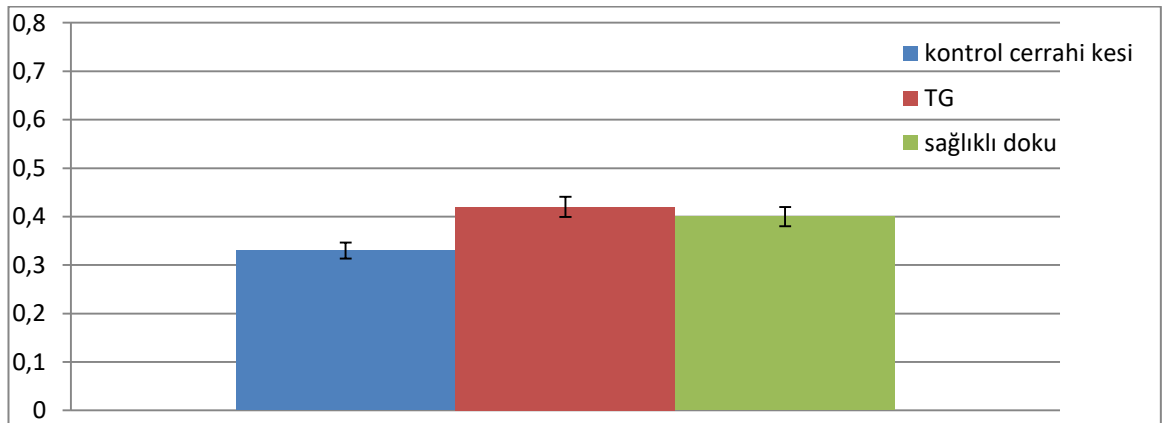
#### 4.1.4 FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü)



Şekil 4.10 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının FGF düzeyine etkileri (n=8, ort±SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü) düzeyini arttırdığı görülmüştür.

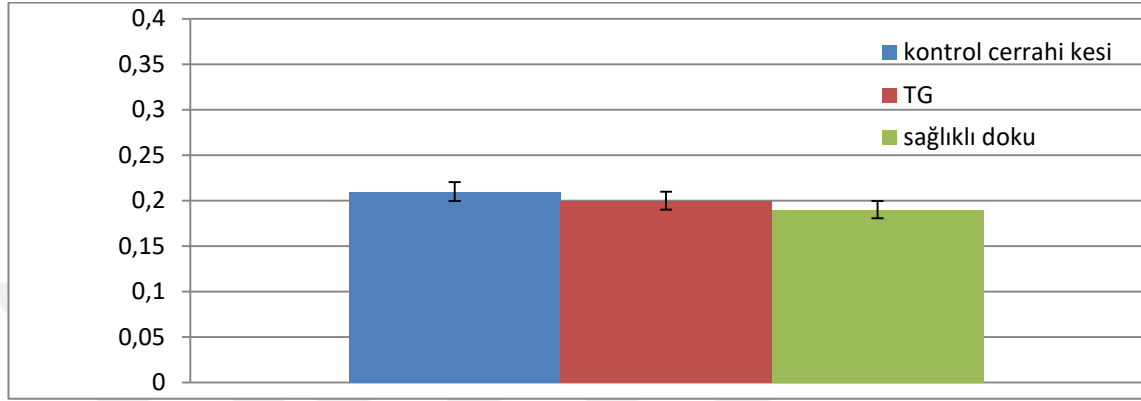
#### 4.1.5 VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)



Şekil 4.11 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının VEGF düzeyine etkileri (n=8, ort±SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) düzeyini arttırdığı görülmüştür.

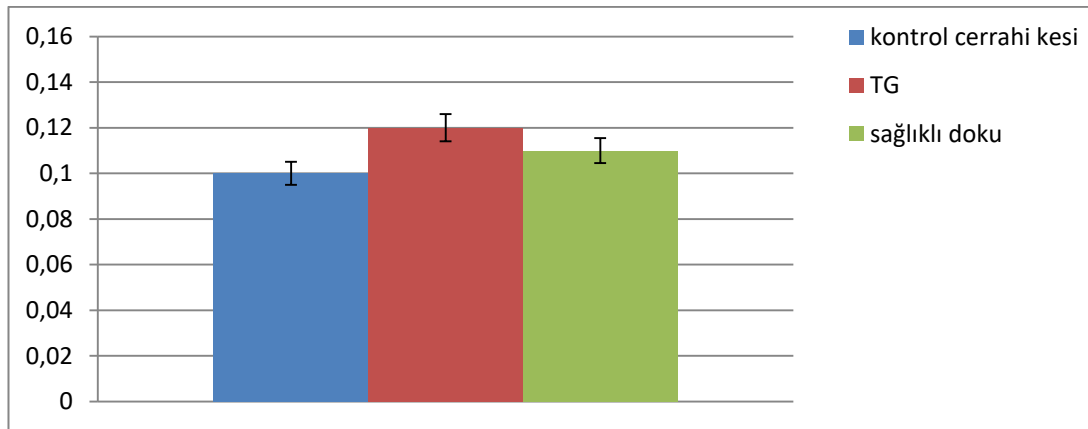
#### 4.1.6 TNF- $\alpha$ (Tümör Nekrozis Faktör)



Şekil 4.12 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının TNF- $\alpha$  düzeyine etkileri (n=8, ort $\pm$ SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ile karşılaştırıldığında TG2'nin TNF- $\alpha$  (Tümör Nekrozis Faktör) düzeyini arttırdığı görülmüştür. Kontrol cerrahi kesi grubu ile karşılaştırıldığında ise; değerlerin birbirine yakın olmasıyla birlikte TNF- $\alpha$  düzeyini azalttığı görülmüştür.

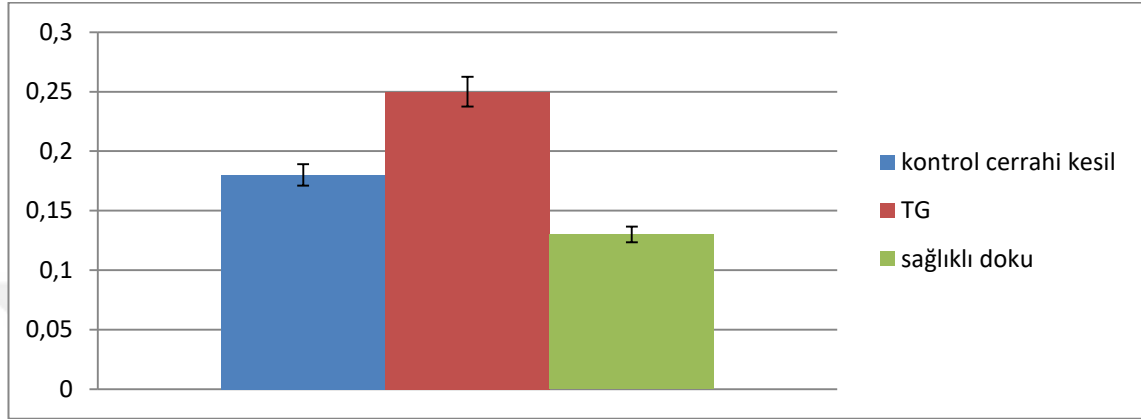
#### 4.1.7 IL-8 (İnterlökin-8)



Şekil 4.13 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının IL-8 düzeyine etkileri (n=8, ort $\pm$ SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin IL-8 (İnterlökin-8) düzeyini arttırdığı görülmüştür.

#### 4.1.8 IL-10 (İnterlökin-10)



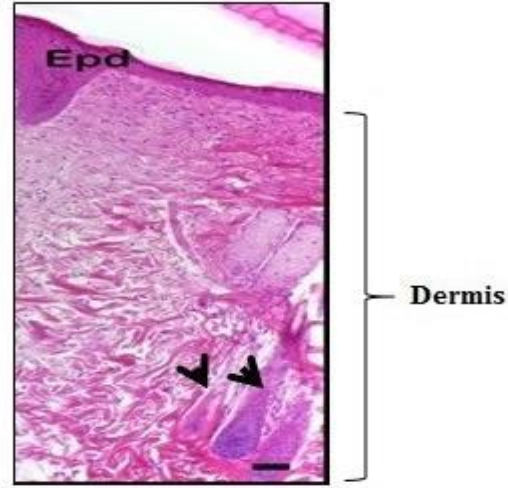
Şekil 4.14 Cerrahi kesi modelinde TG2'nin direkt uygulamasının IL-10 düzeyine etkileri (n=8, ort±SD)

Yara iyileşme sürecinde sağlıklı doku ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2'nin IL-10 (İnterlökin-10) düzeyini arttırdığı görülmüştür.

ELISA sonuçları doğrultusunda elde edilen çizelgeler total olarak değerlendirildiğinde; cerrahi kesi yara modeli deney gruplarında TG2 uygulamasının yara iyileşme sürecini hızlandırdığı görülmüştür.

## 4.2 Mikroskopik İnceleme Sonuçları

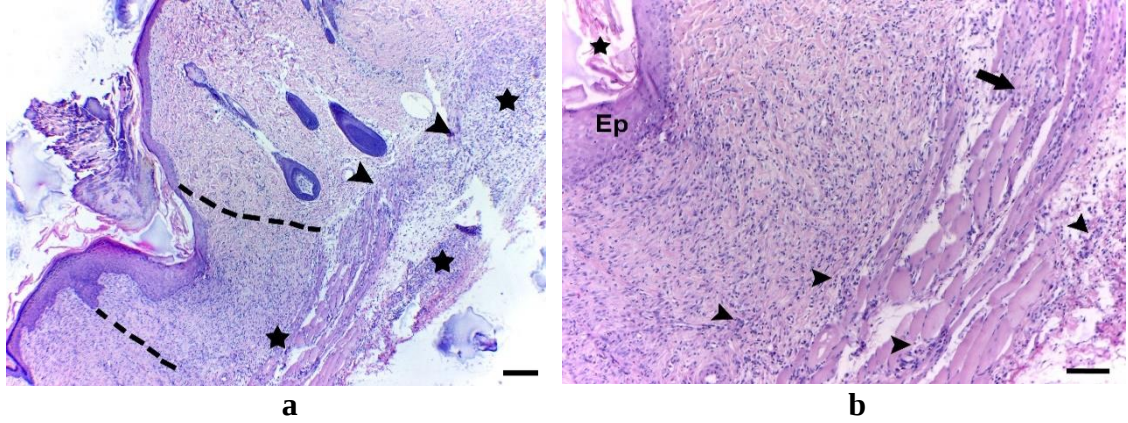
Sağlıklı doku grubundaki epidermal tabakalar mikroskopik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 Sağlıklı doku grubu

(X10 obj., bar: 20  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); Epd: epidermis, ok başları: kıl foliküllerini göstermektedir.

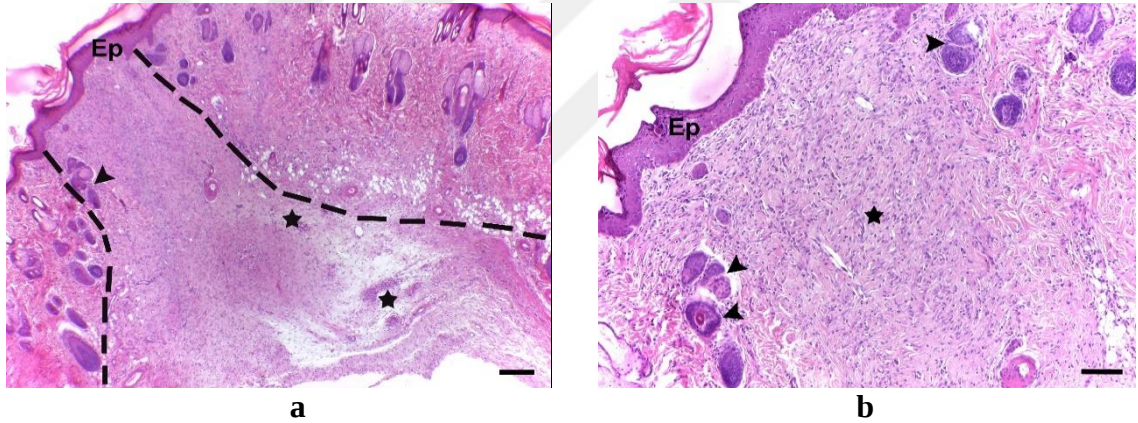
Cerrahi kesi modeli her iki grupta ise; oluşturulan yara bölgesinde epidermis maturasyonunun ifadesi olarak yüzeyde keratin tabakası oluşumu gözlenmiştir. Epitel hücrelerinin kesi bölgesi uçlarını birleştirerek yara yüzeyini tamamen kapattığı gözlenmiştir. Bu bulgular epidermisin rejenerasyonunu tamamladığını göstermiştir.



**Şekil 4.16 Cerrahi kesi kontrol grubu**

**a** (X4 obj., bar: 20  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); kesikli çizgiler arası, granülasyon dokusunu göstermektedir. Yüzeyi epitelize olmuş ve kabuklanmış olarak izlenmiştir. Ok başları: dejenere çizgili iskelet kası liflerini (hayvana özel bir tabaka, insanda bulunmaz), yıldızlar: hücre infiltrasyonunu göstermektedir.

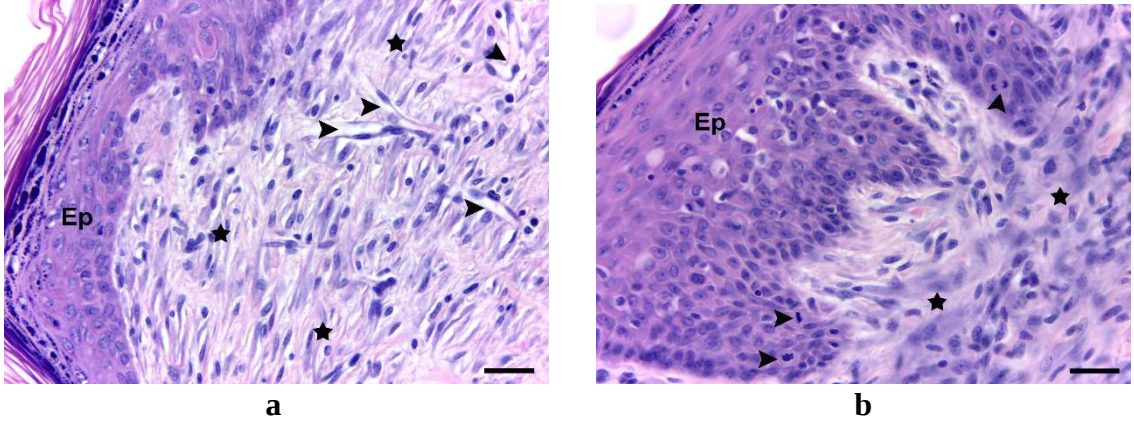
**b** (X10 obj., bar: 10  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); A'daki bölgenin X10 büyütmedeki görüntüsü. Ep: Epidermis, ok başları: granülasyon dokusu içerisinde ve ok: dejenere kas lifleri arasında hücre infiltrasyonunu göstermektedir. Yıldız: yara yüzeyi kabuk bölgesi



**Şekil 4.17 TG2 grubu**

**a** (X4 obj., bar: 20  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); Ep: Epidermis, yüzeyi epitelize olmuş şekilde izlenmiştir. Ok başları: granülasyon dokusuna migrasyon gösteren kıl foliküllerini ve yağ bezlerini göstermektedir (granülasyon dokusunun matür olduğunun göstergesi ve yara iyileşmesi açısından iyi bir bulgu).Yıldızlar: fokal hücre infiltrasyonunu göstermektedir.

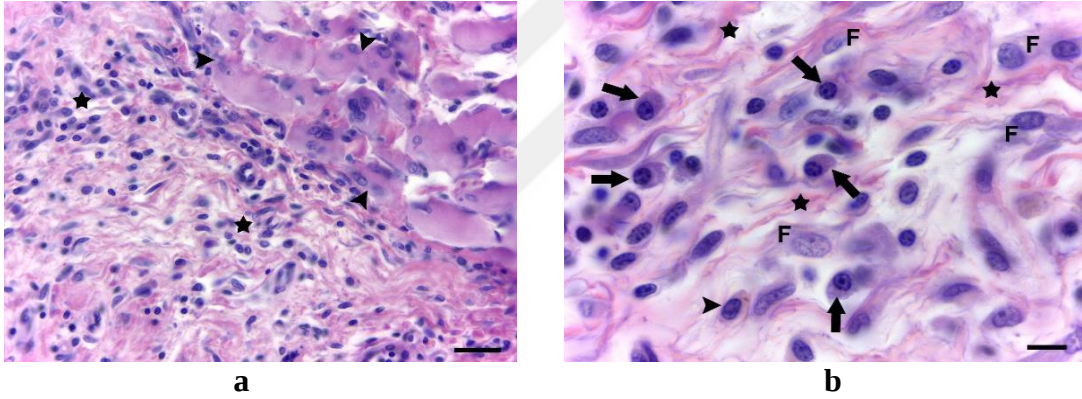
**b** (X10 obj., bar: 10  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); yıldız: hücre infiltrasyonunu, ok başları: granülasyon dokusu içine migrasyon gösteren kıl foliküllerini göstermektedir. Ep: Epidermis, yüzeyi epitelize olmuş şekilde izlenmiştir.



Şekil 4.18 Cerrahi kesi kontrol grubu

**a** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); Ep: rejenere olmuş epidermis tabakasını, ok başları: granülasyon dokusu içerisinde neovaskülarizasyonu gösteren damar kesitlerini, yıldızlar: gevşek düzenlenmiş papilleri ve retiküler dermis tabakası içerisinde bol fibroblast ve ince kollajen telleri göstermektedir.

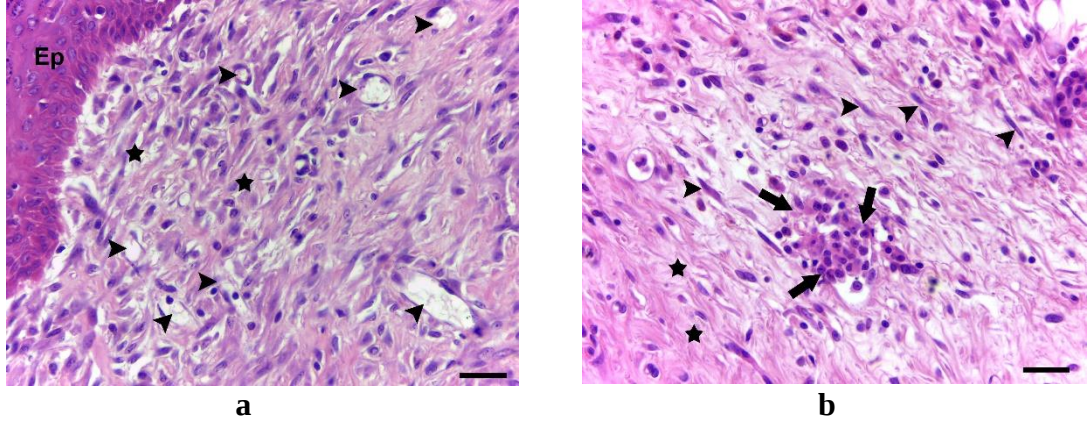
**b** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); Ep: epidermisi, ok başları: epidermis içerisindeki bazal tabakada bulunan mitotik keratinositleri, yıldızlar: dermis granülasyon dokusunu göstermektedir.



Şekil 4.19 Cerrahi kesi kontrol grubu

**a** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); ok başları: dejenere çizgili iskelet kaslarını, yıldızlar: hücre infiltrasyonunu göstermektedir.

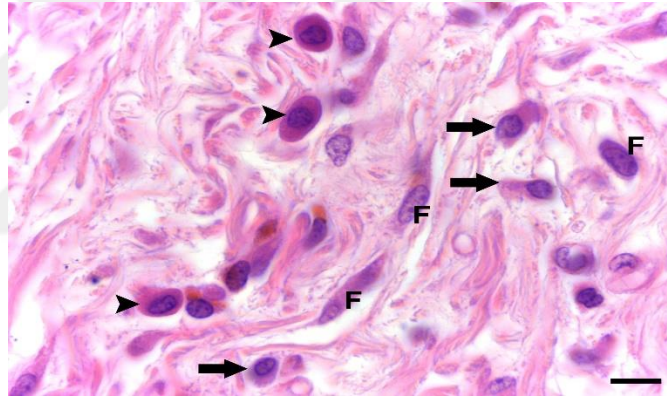
**b** (X100 obj., bar: 2  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); F: immatür (olgunlaşmamış) fibroblastları, yıldızlar: yeni sentezlenen ince kollajen telleri, oklar: plazmositleri, ok başları: histiyositten oluşan hücre infiltrasyonunu göstermektedir.



Şekil 4.20 TG2 grubu

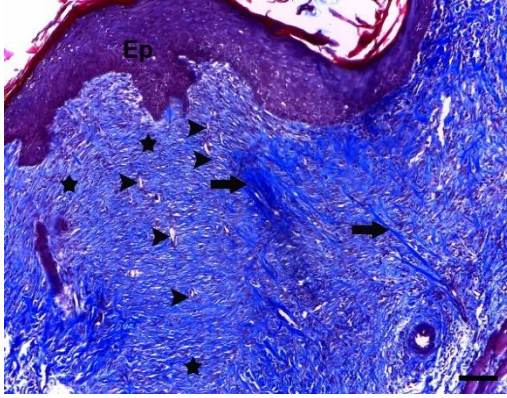
**a** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); ok başları: granülasyon dokusu içerisinde neovaskülarizasyonu gösteren damar kesitlerini, yıldızlar: papiller dermiste granülasyon dokusu içerisinde fibroblast hücreleri ve ince kollajen telleri göstermektedir. Retiküler dermiste kollajen teller daha kalın olarak izlenmiştir.

**b** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); oklar: fokal hücre infiltrasyonunu, ok başları: iğ biçimli matür (olgun) fibroblastları, yıldızlar: kollajen telleri göstermektedir.

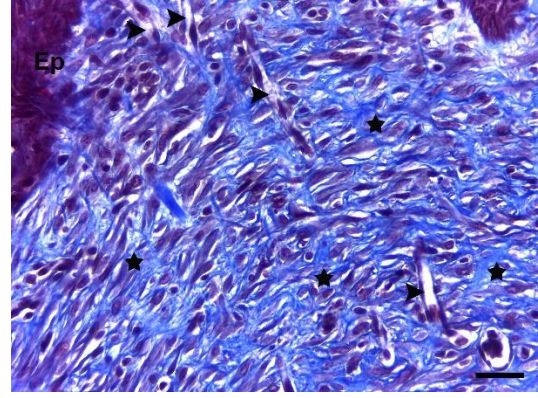


Şekil 4.21 TG2 Grubu

(X100 obj., bar: 2  $\mu$ m, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama); F: iğ biçimli matür (olgun) fibroblastları, oklar: plazmositleri, ok başları: histiyositten oluşan hücre infiltrasyonunu göstermektedir.



**a**

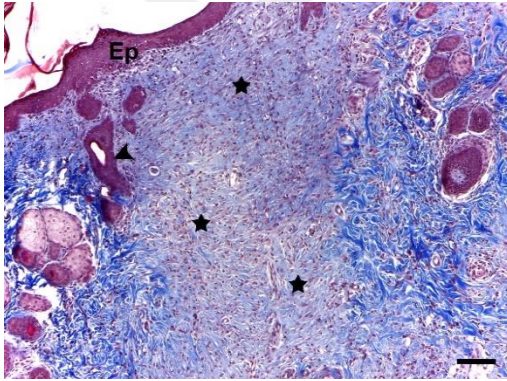


**b**

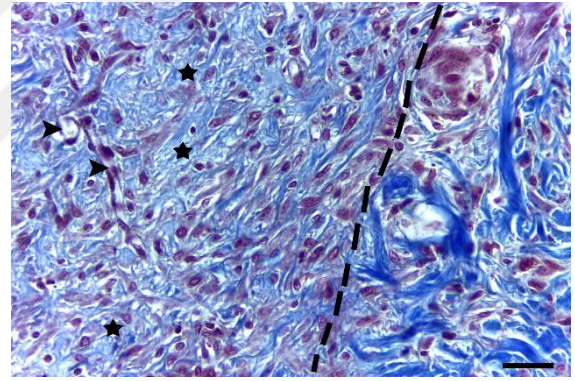
**Şekil 4.22 Cerrahi kesi kontrol grubu**

**a** (X10 obj., bar: 10  $\mu$ m, Masson'un Trikrom boyaması); ok başları: granülasyon dokusu içerisinde neovaskülarizasyonu gösteren damar kesitlerini, yıldızlar: granülasyon dokusunu, oklar: kollajen telleri göstermektedir.

**b** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Masson'un Trikrom boyaması); Ep: rejenere olmuş epidermis tabakasını, ok başları: granülasyon dokusu içerisinde neovaskülerizasyonu gösteren damar kesitlerini, yıldızlar: yeni sentezlenen ince kollajen telleri göstermektedir.



**a**



**b**

**Şekil 4.23 TG2 grubu**

**a** (X10 obj., bar: 10  $\mu$ m, Masson'un Trikrom boyaması); ok başları: granülasyon dokusu içerisinde migrasyon gösteren kıl foliküllerini, yıldızlar: granülasyon dokusunu, Ep: rejenere epidermisi göstermektedir.

**b** (X40 obj., bar: 3  $\mu$ m, Masson'un Trikrom boyaması); ok başları: granülasyon dokusu içerisinde neovaskülarizasyonu gösteren damar kesitlerini, yıldızlar: yeni sentezlenen ince kollajen telleri, kesikli çizgi granülasyon dokusunu ve normal dermis arası sınırı göstermektedir.

### 4. 3 Yara İyileşmesi Skorları

Çizelge 4.1 Yara iyileşmesinin histolojik açıdan değerlendirme parametreleri (Sultana vd. 2009, Gupta ve Kumar 2015)

| Parametre/Skor                                                       | 1                               | 2                        | 3                                                 |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>İnflamatuvar Hücre (Monosit, Nötrofil, Plazma H., Histiyoit)*</b> | >30 adet                        | 11-30 adet               | <10 adet                                          |
| <b>Granülasyon Dokusu</b>                                            | Yara Boşluğunu Gevşek Doldurmuş | Yara Boşluğunu Doldurmuş | Yara Boşluğunu Yoğun Doldurmuş                    |
| <b>Fibroblast Matürasyonu</b>                                        | İmmatür (Yıldız Biçimli)        | Orta Matür               | Matür (İğ Biçimli, Epidermise paralel yerleşimli) |
| <b>Kollajen Birikimi</b>                                             | Hafif                           | Yaygın                   | Yoğun                                             |
| <b>Kollajen Organizasyonu</b>                                        | Vertikal (İmmatür)              | Karışık                  | Horizontal (Matür)                                |
| <b>Kollajen Paterni</b>                                              | Retiküler (İmmatür)             | Karışık                  | Fasiküler (Matür)                                 |
| <b>Reepitelizasyon</b>                                               | Kısmi                           | Tam, immatür ve ince     | Tam ve matür                                      |
| <b>Neovaskülarizasyon</b>                                            | >10 adet                        | 6-10 adet                | <5 adet                                           |
| <b>Granülasyon Dokusu İçine Kıl Folikülü Migrasyonu</b>              | Yok                             |                          | Var                                               |
| <b>Çizgili Kasta Çekirdek Santralizasyonu</b>                        | Yok                             |                          | Var                                               |

Sayımlar X40 objektif büyütmesinde rastgele 5 alanda yapılan sayımların ortalaması olarak belirlenmiştir. Kontrol ve TG2 grupları arasında yara iyileşmesinin histolojik açıdan değerlendirilmesi tablodaki modifiye skorlama parametreleri kullanılarak yapılmıştır (Çizelge 4.1). Toplam yara iyileşmesi skoru her bir hayvana ait incelenen parametrelerin skor değerlerinin toplamı ile elde edilmiştir. Buna göre; 0-10 Gecikmiş İyileşme, 11-20 Orta Düzey İyileşme, 21-30 İleri Düzey İyileşme olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.2 Cerrahi kesi kontrol ve TG2 gruplarında ortalama yara iyileşmesi skoru

| Gruplar                    | Ortalama yara iyileşmesi skoru |
|----------------------------|--------------------------------|
| Cerrahi Kesi Kontrol Grubu | 28                             |
| TG2’li Grup                | 25,5                           |



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yara iyileşmesi; bütünlüğü bozulmuş derinin dış ortama karşı koruyucu faaliyetlerini ve metabolizmanın fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirebilmek amacıyla yeniden oluşturması anlamına gelen karmaşık bir olaydır.

Deride yapılan çalışmalarda ratlarda yara iyileşmesi sırasında transglutaminaz aktivitesinin arttığı ve TG2 nakavt farelerde yara iyileşmesinin bozulduğunun saptanması ile TG2'nin doku onarımı için gerekli olduğu anlaşılmıştır (Mearns vd. 2002, Eckert vd. 2014). Yara iyileşmesi sırasında sadece TG2 aktivitesinde bir artış değil, aynı zamanda sıçanlarda deri biyopsisi yaralarını takiben 3. günde TG2 ekspresyonunda da bir artış olduğu gösterilmiştir. Rat dermal yara iyileşmesi sırasında, TG2'nin yara iyileşmesinin tüm aşamalarında; endotel hücrelerinde, makrofajlarda ve iskelet kası hücrelerinde eksprese edildiği ve aktif olduğu gösterilmiştir (Thomazy ve Davies 1999, Iismaa vd. 2009).

Hücre dışı matriks stabilizasyonu/remodelizasyonunu meydana getiren TG2'nin çapraz bağlama fonksiyonu doku tamiri için önemli birkaç biyolojik süreçte tanımlanmıştır (Aeschliman ve Thomazy 2000). TG2 çapraz bağlama fonksiyonu dışında; hücre yapışması, hücre yayılması ve fibroblastların hücre hareketi gibi doku onarımı sürecinde temel olan hücre matriks etkileşimlerine katılır (Verderio vd. 2004).

FN; adezyon, göç ve proliferasyon için gerekli olan kollajen birikiminden önce geçici bir matriks sağlayarak yara onarım yanıtının düzenlenmesine katılmaktadır (Davis vd. 2000). Hücre dışında TG2'nin yara iyileşmesinin erken aşamalarında FN ile etkileşime girdiği gösterilmiştir. Yapılan hücre kültürü çalışmaları da; doku transglutaminazının bir FN-bağlayıcı protein olduğunu doğrulamaktadır (Verderio vd. 2004).

Mevcut araştırmada da diğer yapılan araştırmalarla uyumlu olarak yara bölgesinin makroskobik görüntüleri incelenip kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG2 uygulanan gruplarda iyileşmenin hem hızlı, hem de daha düzgün olduğu görülmüştür (Şekil 4.1-

4.6). Yara bölgesinde kanama ve tahriş gibi olgular TG2'li grupta rastlanmamıştır (Şekil 4.3-4.6). Ayrıca yara bölgesinde kıllanmanın da daha iyi olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.6).

Transglutaminazlar  $Ca^{+2}$  bağımlı enzimlerdir (Iismaa vd. 2009, Eckert vd. 2014). Apoptozisin tamamlanması için apoptotik hücrelerde artmış bir  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (Coşkun ve Özgür 2011). Apoptozis; organelde paketlenme, çekirdeğin küçülme ve parçalanma ile sindirimi şeklinde kendini gösterir (Coşkun ve Özgür 2011, Çiftçi 2014). Transglutaminaz aktivasyonunun olası görevi de, apoptotik cisimlerin oluşumu sırasında hücre bütünlüğünü korumanın bir yolunu sağlayan, sitoplazmik ve membran proteinlerinin çapraz bağlanmasıdır (F'es'us ve Szondy 2005).

TG2'nin proapoptotik aktivitesi, bir milimolar konsantrasyonda kalsiyum gerektiren çapraz bağlanma konfigürasyonu ile tanımlanır. Ultraviole radyasyon ve kemoterapötik ajanlar gibi stresli koşullar, sonuçta TG2'nin indüklenmesi ile reaktif oksijen türleri üretilebilir. Bu gibi stresli koşulların daha da artması, endoplazmik retikulumdan  $Ca^{2+}$  salınımını tetikleyebilir ve bu durum TG2'nin aktivasyonuna, hücre içi proteinlerin çapraz bağlanmasına neden olmakta ve bu da hücre içi proteinlerin apoptotik sürecini başlatmaktadır (Mangala ve Mehta 2005). TG2'nin apoptotik süreci başlatmadaki en önemli fizyolojik işlevi, doku ve hücre bütünlüğünü sağlamak için ölmekte olan ve fagositik hücreler arasında aracılık etmesidir (F'es'us ve Szondy 2005). TG2, bazı hücre tiplerinde apoptozisi doğrudan teşvik ederken ya da çeşitli hücrelerin ölümünü gerçekleştiren makrofajlar tarafından salınan TGF- $\beta$ 'nın aktivasyonunu dolaylı olarak teşvik ederken iltihapsız bir hücre ortamının sürdürülebilirliğini sağlayabilmektedir (Odi ve Coussons 2014). Ayrıca, TG2 makrofajın apoptozis bölgesine göçüne ve apoptotik hücrelerin tanınmasına yardımcı olmaktadır (Nishiura vd. 1998, F'es'us ve Szondy 2005). TG2 nakavt fareler kullanılarak yapılan bir çalışmada, makrofajlarda TG2 eksikliğinin ölü hücrelerdeki etkin fagositozu önlediği bulunmuştur (Szondy vd. 2003).

Apoptozis işlemi yoluyla hücrelerin ortadan kaldırılmasının her yerde bulunan doku transglutaminazının indüksiyonu ve aktivasyonu ile bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır. TG2; normal hücreler arasında apoptotik hücrelerin saptanması için bir markır olarak kullanılabilir ve hormonal atrofi, normal hücre siklusu, hiperplazinin involüsyonu ve embriyonik gelişme de dahil olmak üzere bu temel hücresel programların çeşitli koşullar altında nasıl başlatıldığını öğrenmek için bir araç görevi görebilir (F'es''us ve Szondy 2005).

TG2-bağımlı çapraz bağlanma; ölen hücreleri içeriklerini boşaltmadan önce stabilize ederek hücre içi bileşenlerin sızıntısını engeller ve böylece yara izi ve iltihabı önleyebilir (Piredda vd. 1997, Johnson vd. 2003). Hücre fizyolojisinde, TG2 aktivitesi tarafından oluşturulan izopeptid bağları ölen hücrelerin hücre içi içeriğinin ekstraselüler ortama salınmamasını sağlayarak iltihaplanmayı önledikleri için apoptoziste işlevsel olarak önemlidirler (Nicholas vd. 2003).

Apoptozis geçiren hücreler, hücrenin apoptozise girmesine başlıca neden olabilen artmış bir TG2 ekspresyonu gösterirler. TG2 inhibisyonu ise, hücrelerin apoptozis yoluyla öldürülme eğiliminde azalmaya neden olur (Mehta vd. 2006).

TG2'nin transamidasyon aktivitesinin, apoptozisin aracıları veya kolaylaştırıcılarından biri olabileceği ve ölen hücrelerin stabilizasyonuna katkıda bulunabileceği varsayılmıştır. TG2'nin transamidasyonunun; hem apoptozisi kolaylaştırabildiği, hem de inhibe edebildiği ve enzimin GTP'ye bağlı formunun ise genellikle hücreleri ölümden koruduğu fikri verilerin çoğu ile desteklenmiştir (F'es''us ve Szondy 2005). TG2'nin apoptozisi hem kolaylaştırma hem de önleme kabiliyetinin bulunması; farklı hücre tiplerinde apoptozisin spesifik biyokimyasal yollarına, uyarıcıların türüne, enzimin hücre içi lokalizasyonuna ve TG2'nin aktivite tipine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Apoptozisle ölen bazı hücrelerde gözlenen TG2 düzenlenmesinin, enzimin apoptozise doğrudan katılımını yansıtmak yerine ölüm başlangıcını bloke etmek veya geciktirmek için bir hücresel düzenleyici mekanizması olduğu öne sürülmüştür (Boehm vd. 2002). Yaptığımız çalışmada da, apoptozis değerlendirilmesinde TG2'nin baskılayıcı bir işlev gördüğü ve apoptozisi engellediği düşünülmüştür.

TG2'nin antiapoptotik etkisi; transamidasyonundan bağımsızdır. Ayrıca enzimatik çapraz bağlanma faaliyetleri ve kalsiyum gerektirmez. Nüklear TG2; retinoblastoma protein pRb ile etkileşerek, transkripsiyon faktörü NF-kappaβ'nin alfa inhibitör alt birimini polimerize ederek, birkaç antiapoptotik anahtar genin transkripsiyonel regülasyonu ile hücreleri ölümden korur (Boehm vd. 2002). Benzer şekilde TG2, fibronektin ile olan etkileşimini sağlayan, integrin için bir koreseptör olarak işlev gören plazma membranına translokasyon yapabilir. İntegrin ve fibronektin arasındaki TG2 aracılı etkileşim; hücrelerin sağkalımına, antiapoptotik sinyal yollarının aktivasyonuna ve hücre dışı matriks stabilizasyonuna neden olabilir (Mehta vd. 2006). Ayrıca; ekstraselüler boşlukta, TG2 latent TGF-β'yı aktive ederek kendi üretimini stimüle edebilir (F'es"us ve Szondy 2005). Milakovic ve arkadaşlarının bulguları ile uyumlu olarak, aktivasyon yollarına ve nüklear ve hücre dışı TG2'nin lokalizasyonuna bağlı olarak antiapoptotik ve sitozolik TG2'nin ise proapoptotik etkileri olduğu sonucuna varılmıştır (Milakovic vd. 2004).

Yaptığımız çalışmada apoptozis değerlendirilmesi sitokrom c düzeyine bakarak gerçekleştirildi. Yara iyileşme sürecinde kontrol grubu ile grafik değerleri karşılaştırıldığında TG2'nin sitokrom c düzeyini azalttığı görülmektedir. Bu durum TG2'nin antiapoptotik etkisiyle ilgili yapılan çalışmalarla tutarlı olduğunu ve TG2'nin yara iyileşme sürecinde apoptozis (programlı hücre ölümü) oranını azalttığını bize göstermiştir (Şekil 4.7).

Bağ dokusunun en önemli yapısal proteini kollajendir. Yara bölgesinde gerçekleşen hemostaz sırasında trombositlerin kollajene bağlanması; trombosit agregasyonunu arttırmada önemli rol oynar (Gül vd. 1994, Demirbaş vd. 2009). Kollajen, Faktör XII'ye de direkt etki ederek kanamanın durdurulmasında yardımcı olur (Palmieri 1992). Yaralanma sonrası 7. günde yatay şekilde demetler oluşturan olgun kollajen fibrilleri iyi yara iyileşiminin belirtilerindendir (Sultana vd. 2010). Reepitelizasyon fazında keratinositlerin göç yönü de yara yatağında yeni oluşturulmuş kollajen molekülleri üzerindeki integrin reseptörlerine bağlanması ile düzenlenir.

Tip I kollajen öncelikle deri, tendon ve kemikte bulunur ve vücuttaki kollajenin % 90'ından fazlasını oluşturur. Normal deride, I ve III kolajen tipleri yaklaşık 4: 1 oranında mevcuttur. Hipertrofik ve olgunlaşmamış yaralarda, tip III kollajen yüzdesi % 33'e kadar yükselebilir, tip I ile tip III kollajen oranının 2: 1'e değişmesi olabilir. Normal kollajen sentezi hücre içinde gerçekleşir ve hücre dışı alanda devam eder. İyileşme sürecinin başlangıcında yer alan tip III kollajen liflerinin çoğunluğu kollajen tip I ile değiştirilir. Skar dokudaki çapraz bağlanmanın artması ile tip I ile tip III kollajen oranı, normal cilt oranını (4: 1 oranı) oluşturacak şekilde olgunlaşmaya devam etmektedir (Stadelmann vd. 1998, Küçük 2010).

Tip I kollajen, deri kollajeninin % 80'ini oluşturur ve deri gerilmesinde esnekliği sağlar. Kollajen sentezinin uyarılması ekstraselüler kollajen yıkımınınkinden daha fazladır, böylece yeniden modellenme fazı boyunca toplam kollajen miktarı artmaya devam eder. Yaralardaki matriks bileşenlerinin doğası zamanla değişir. En erken aşamada, tip III kollajen birikiminin aşırı olduğu görülür ancak daha sonra tip I kollajen daha baskındır (Mutsaers vd. 1997, Küçük 2010). Yaralanma sonrasının ilk 24 saatinde tip I kollajen granüle dokunun yalnız derin tabakalarında bulunur. Yaralanma sonrasının 6-13 gün içinde transkriptler granüle dokunun daha üst tabakalarında da bulunur. Tip I kollajen insan keratinositlerinin göçünü in vitro koşullarda belirgin biçimde artırır (Abreu-Velez ve Howard 2012). Yaptığımız çalışmada da yara iyileşmesini 15. günde duraklatarak elde ettiğimiz dokulardaki mikroskopik incelemeler doğrultusunda granüle dokunun üst tabakalarına doğru tip I kollajen tellerinin olduğu her iki grupta da gösterilmiştir (Şekil 4.21- 4.22).

Epidermal hücreler üzerindeki integrin reseptörlerinin ekspresyonu, yaranın kenarında çeşitli hücre dışı matriks proteinleri (fibronektin, vitronektin vb.) ile tip I kollajenin etkileşime girmesine izin vermektedir ve yara alanında fibrin pıhtıyla birlikte örülmektedir (Singer ve Clark 1999, Dik 2015).

FN varlığında veya yokluğunda doku transglütaminazı tarafından çapraz bağlanan kollajen I'in MMP-1'de daha fazla stabiliteye yol açtığı yapılan in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (Johnson vd. 1999).

Miyofibroblastların uzun süreli etkisi ile aşırı kollajen birikmesi ile karakterize olan hipertrofik skarlaşmanın, TG2 inhibitörlerinin yara bölgesine uygulanmasıyla önlenemediği görülmüştür (Dolynchuk vd. 1996, Collighan ve Griffin 2009).

Fibrotik dokunun ana bileşeni fibriller kollajen, özellikle de kollajen I'dir. Bu nedenle, TG2 ile çapraz bağlanmasının kollajenin hem fiziksel hem de biyolojik özellikleri üzerindeki etkilerini anlamak önemlidir. TG2'nin kollajen ile çapraz bağlanma yeteneği üzerine yapılan ilk çalışmalar, TG2'nin denatüre kollajeni etkili bir şekilde çapraz bağlayabilmesine rağmen, doğuştan oluşan kollajen ve fibrillerinin ne TG2 ne de FXIII için bir substrat olmadığını göstermiştir (Collighan ve Griffin 2009). Yapılan çalışmalarda, TG2'nin tip I kollajenin çapraz bağlanması üzerine doğrudan etkili olduğu ispatlanmıştır. TG2'nin, fibrillerin bağlanması sırasında tek tek tropokollajen monomerlerinin çapraz bağlanmasına izin veren nötralize edilmiş asitle çözünmüş kollajen I'e eklendiği gösterilmiştir (Collighan vd. 2004, Collighan ve Griffin 2009). Maksimum çapraz bağlanma, doğuştan oluşan kollajenlerin işleyişine kıyasla büyük ölçüde artmıştır ve kollajen başına 1 çapraz bağlanma sırasına göre oluşmuştur. TG2'nin çapraz bağlama aktivitesi ile kollajen fibrillogenesis oranı da artmaktadır (Collighan ve Griffin 2009). Yaptığımız çalışmada yara iyileşme sürecinde TG2'li grup, cerrahi kesi kontrol grubu ile sağlıklı doku ölçümleri karşılaştırıldığında TG2'nin tip 1 kollajen düzeyini arttırdığı görülmüştür (Şekil 4.8). Bu durum TG2'nin haricen uygulanmasının TG2'nin çapraz bağlama aktivitesi nedeni ile kollajen fibrillogenesis oranını da arttırdığı sonucunu akla getirmiştir.

Çalışmamızda belirlenen büyüme faktörleri ile ilgili veriler değerlendirildiğinde; her bir büyüme faktörünün yara iyileşmesinin farklı aşamalarında ve farklı yönlerden etkilerinin olduğu literatürlerdeki kaynaklarla da örtüşmektedir.

DeneySEL ve klinik yara çalışmalarında; EGF'nin yara iyileşmesi üzerine olumlu yönde etkilerinin olduğu bildirilmiştir. EGF, keratinositlerin uyarılmasını sağlayarak yara iyileşmesini hızlandıran bir büyüme faktörüdür (Santoro ve Gaudino 2005, Küçük 2010, Dik 2015).

EGF, bir taraftan keratinosit regülasyonunu sağlarken diğer taraftan apoptotik sinyal genlerini baskılamaktadır. Yara bölgesinde EGF'nin keratinosit regülasyonunu arttırması ile yaralı dokunun dış ortama karşı korunması sağlanmaktadır (Santoro ve Gaudino 2005, Bluemenberg 2013). EGF, anjiojenik ve diğer büyüme faktörlerinin üretimini de sağlamaktadır (Bluemenberg 2013).

EGF, kütanöz yara iyileşmelerinde epitelyal hücrelerin göçünü ve çoğalmasını sağlamaktadır. Yaralanmadan hemen sonra EGF salınımının artmasıyla beraber; EGF epidermal farklılaşmayı ve derideki iç dengeyi sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır (Shirakata vd. 2005, Barrientos vd. 2008). Genetik olarak EGF üretemeyen farelerde yapılan bir çalışmada yara iyileşmesinin geciktiği ve EGF ailesindeki maddelerin yara iyileşmesinde rol oynayan birçok hücre tipinin farklılaşması, düzenlenmesi, çoğalması ve göçünü sağladığı belirtilmiştir (Shirakata vd. 2005, Dik 2015). Çalışmamız açısından değerlendirildiğinde de yara iyileşme sürecinde cerrahi kesi kontrol grubu ve sağlıklı doku ile karşılaştırıldığında direkt deri altı TG2 uygulaması yapılan grubun EGF (Epidermal Büyüme Faktörü) düzeyini arttırdığı görülmektedir (Şekil 4.9). Bu nedenle TG2'li grupta yaranın daha hızlı kapandığı, kıllanmanın arttığı ve EGF artışının keratinosit miktarını arttırdığı düşünülmüştür.

Yara bölgesinde bulunan epidermis ve kıl folikülleri kendi kendine yenilenebilen yapılardır. Bu yenilenmenin denge halinde sürdürebilmesi için keratinosit hücrelerinin varlığı gerekmektedir. Yara kenarlarında bulunan keratinositler çoğalamadıkları ve yara bölgesine göç edemedikleri takdirde yaranın kapanması gerçekleşmemektedir (Li vd. 2007). Keratinosit hücreleri EGF reseptör/ligand sistemi tarafından kontrol edilmektedir. Bu sistem hem keratinositlerin düzenlenmesini hem de derideki iç dengeyi sağlamaktadır (Bluemenberg 2013, Nanba vd. 2013). Ancak yara bölgesinde bulunan keratinositlerin yeniden oluşabilmesi ve epitelizasyonun yeniden gerçekleşebilmesi için, yara kenarlarındaki sağlam kıl köklerine ve ter bezlerine ihtiyaç vardır (Xue vd. 2006). EGF düzeyindeki artışla beraber keratinosit hücrelerindeki uyarım daha iyi gerçekleşmektedir. Bu durum, yaptığımız çalışmada TG2'nin keratinositler üzerine dolaylı olarak yaptığı etkinin yara iyileşme sürecini hızlandırması açısından olumlu katkıları olduğunu akla getirmektedir. TG2 uygulanan grupta kıllanmanın ve yara

iyileşmesinin daha fazla olması hem EGF sinyallerine hem de keratinosit miktarına bağlı olabildiğini düşündürmektedir. TG2 grubundaki fiziksel değişiklikler incelendiğinde TG2'li gruptaki iyileşmenin makroskobik olarak da kontrol grubuna göre daha hızlı olduğu görülmektedir (Şekil 4.1-4.6). Ayrıca bu durumun epidermal iyileşmeyi ve muhtemelen keratinosit miktarını da artırarak kılınmayı da arttırdığı düşünülmüştür (Şekil 4.6).

FGF; mezenkimal hücreler için mitojenik bir büyüme faktörüdür. Yapılan çalışmalarda anjiogenezi indüklediği ve yara iyileşmesinde görev aldığı bildirilmiştir. Ayrıca endotel hücrelerinin çoğalmasını ve hareketliliklerini artırarak neovaskülarizasyonu hızlandırmaktadır. Kobaylara deri altı enjeksiyon ile FGF uygulandığında hücre sayısının ve kollajen içeriğinin arttığı görülmüştür (Öztopalan vd. 2017). Haricen uygulanan FGF'nin ise, farelerde enfeksiyon ve diyabet yaralarının iyileşmesinde olumlu etki ettiği görülmüştür (Singer ve Clark 1999). Yaptığımız çalışmada yara iyileşme sürecinde TG2'li grup ile cerrahi kesi kontrol grubu ve sağlıklı doku ölçümleri karşılaştırıldığında; TG2'nin FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü) düzeyini de arttırdığı görülmektedir (Şekil 4.10).

FGF ve EGF'nin yara üzerine etkilerinin karşılaştırıldığı deneysel bir çalışmada EGF uygulanan grupta yara kapanma hızının 21. günden 24. güne kadar arttığı ve 28. günde tamamen kapandığı belirtilmiştir. Ayrıca FGF ve EGF uygulanan gruplarda, yara bölgesinin hafif kırmızı ve ince bir epitel tabakası ile tamamen kapandığı; kontrol grubunda ise, yara bölgesinin koyu kırmızı ve daha kalın bir epitel tabakası ile örtülü olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Xing ve arkadaşlarının (2013) yaptığı bu çalışmada; EGF ve FGF uygulanan gruplarda, kontrol grubuna göre vaskülarizasyonun daha erken başladığı da gösterilmiştir. EGF grubundaki iyileşmenin daha hızlı ve kaliteli olmasının; erken dönemde ve metafaz aşamasında fibroblast çoğalması, kollajen salgılanması ve vaskülarizasyondan kaynaklı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca EGF'nin enfeksiyonlara karşı deriyi koruması ve hipertrofik skar doku oluşumunu azaltması gibi önemli etkileri olduğu da ifade edilmiştir. Yaptığımız araştırmada da TG2 grubunda yara bölgesinin 15. günde tamama yakınının kapandığı görüldü (Şekil 4.6). Ayrıca doku transglutaminazlı grupta erken dönemdeki iyileşmenin, TG2'nin EGF seviyesini

artırarak vaskülerizasyonu ve kollajen salgılanmasını arttırmasından kaynaklı olabileceğini akla getirmiştir.

Yaranın iyileşip eski halini alabilmesi için anjiogenezisin önemli bir basamak olduğu, keratinositler ve makrofajların ise anjiogenik faktörlerin salgılanması için önemli bir kaynak teşkil ettiği ifade edilmiştir (Gillitzer ve Goebeler 2001).

VEGF; keratinosit, fibroblast, makrofaj ve endotelyal hücreler gibi birçok farklı hücreden sekresyonu yapılan ve anjiogenik özellik gösteren endojen bir büyüme faktörüdür. Anjiyogenez, sitokin sentez ve sekresyonu, düz kas hücre hiperplazisi ve pıhtılaşma mekanizmasında rol oynamaktadır (Öztopalan vd. 2017). Bilhassa iyileşmenin erken fazında salınımı hızla artmaktadır. VEGF; nitrik oksit sentetazı ve siklooksijenazı indükleyerek damar genişlemesini sağlamaktadır. Bunun yanında kimyasal çekimi ve endotelyal hücre çoğalmasını desteklemektedir. Yara iyileşmesinde VEGF seviyesinin 3-7. günler arasında en yüksek seviyeye çıktığı bildirilmiştir (Bao vd. 2009).

VEGF'nin haricen uygulanması ile yara iyileşmesi sırasında VEGF'nin anjiogenezisin yanı sıra PDGF (trombosit kökenli büyüme faktörü) (Galiano vd. 2004) ve TGF (transforme edici büyüme faktörü) - $\beta$  (Yan vd. 2010) ifadesini de artırdığı bildirilmiştir. Diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada da haricen uygulanan VEGF'nin yara bölgesinde anjiyogenez ve lenf anjiyogenezini arttırarak yara iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırdığı tespit edilmiştir (Saaristo vd. 2006, Öztopalan vd. 2017).

Yaptığımız çalışmada yara iyileşme sürecinde TG2'li grup ile cerrahi kesi kontrol grubu ve sağlıklı doku ölçümleri karşılaştırıldığında TG2'nin VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) düzeyini arttırdığı görülmektedir. TG2'nin vaskülerizasyonu arttırıcı etkisi, vasküler endotelin oluşmasında gerekli en önemli büyüme faktörü olan VEGF seviyesini arttırması ile de açıkça görülmektedir (Şekil 4.11). Ayrıca TG2 grubunda kıllanma ve VEGF değerinin artışına bağlı anjiogenezisin ve buna bağlı yara iyileşmesinin hızlanmasındaki en önemli faktörlerin, TG2'nin uyardığı keratinosit ve makrofaj hücrelerinin olduğunu düşündürmektedir.

TNF- $\alpha$ ; makrofaj, mast hücresi ve T lenfositler tarafından sekresyonu yapılan ve fibroblast proliferasyonunda görev alan bir büyüme faktörüdür (Öztopalan vd. 2017). Ayrıca tümörler için de sitotoksik etkisi bulunmaktadır (Öztopalan vd. 2017). TNF- $\alpha$  inflamasyon ve fibroziste mediatör olarak görev yapan apoptotik bir molekül ve inflamatuvar bir sitokindir (Chen ve Thibeault 2010). İnflamatuvar hücrelerden ve ekstraselüler fragmentlerden salgılanan TNF- $\alpha$ , EGF, FGF ve diğer büyüme faktörleri fibroblastların yara bölgesine göçünü, çoğalmasını ve kollajen üretimini indüklemektedir (Kalay 2011). Mast hücreleri tarafından önceden oluşturulmuş VEGF ve TNF- $\alpha$  gibi bir grup mediyatör, yara iyileşmesinin başlangıç safhalarında salınarak, kanamayı, takip eden koagülasyonu ve akut inflamasyonu etkilerler (Artuc vd. 1999). Makrofajlar tarafından salgılanan TNF- $\alpha$  ve FGF gibi maddeler anjiyogeneze de anahtar rol oynarlar. Bu biyomoleküller mezotel ve endotel hücreleri için kimyasal çekici özelliğe sahiptirler (Uzer 2007).

TNF- $\alpha$  yara bölgesine lokal olarak uygulandığında; beyaz kan hücresi ve monosit sayılarını önemli ölçüde arttırıp, nötrofil sayısını azaltarak yara iyileşmesini önemli ölçüde etkilemiştir. Kollajen bazlı biyomalzemelerde TNF- $\alpha$ 'nın lokal olarak uygulanmasının yara iyileştirme sürecini iyileştirebildiği gösterilmiştir (Chen ve Thibeault 2010).

TGF- $\beta$ 1, IL-6, TNF- $\alpha$  gibi onarım sürecine katılan sitokinler tarafından TG2 ekspresyonunun düzenlendiği kanıtlanmıştır (Kuncio vd. 1998, Verderio 2004). İnflamatuvar stres altında artarak düzenlenen TNF- $\alpha$ ; IL1 $\beta$  veya IL6 gibi diğer sitokinler ile birlikte TG2'nin iyi bilinen uyarıcılarıdır (Gundemir vd. 2012). Yaptığımız araştırmada yara iyileşme sürecinde TG2'nin direkt olarak uygulanmasının sağlıklı doku ile karşılaştırıldığında TNF- $\alpha$  düzeyini arttırıcı etki gösterdiği görülmektedir. Ancak herhangi bir uygulama yapılmayan cerrahi yara grubuyla karşılaştırıldığında ise; TNF- $\alpha$  düzeyinin TG2'li grupta daha az olduğu dikkati çekmiştir. Bu durumun da TNF- $\alpha$ 'nın yara iyileşme sürecinin inflamasyon evresinde artıp, maturasyon evresine doğru salınımının azalması nedeni ile olduğu düşünülmüştür (Şekil 4.12).

Yaptığımız çalışma TG2’li grupta büyüme faktörlerinin miktarındaki artıştan dolayı ve derinin normal yapısında bulunan kollajen ve fibroblast miktarındaki artıştan dolayı yapısal ve makroskobik olarak da iyileşmenin kaliteli olduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır.

IL-8; IL-1 ve TNF tarafından uyarılarak; fibroblastlar, endotel hücreler ve keratinositler tarafından sentezlenmektedir (Baykal vd. 1998). İnterlökin-8 (IL-8), insan yaralarında artan akut iltihaplanma ile bağlantılı bir kemokindir (Garner vd. 1994, Iocono vd. 2000). IL-8’in onarım sürecinde yer alan çok sayıdaki inflamatuvar hücrenin işlevlerini modüle ettiği bildirilmiştir (Konstantinova vd. 1996, Iocono vd. 2000). İyileşen yanık yaraları içerisinde artmış IL-8 seviyeleri bildirilmiştir (Garner vd. 1994, Iocono vd. 2000). Ancak, uzun süreler boyunca IL-8’in varlığının yükseltilmesinin yara onarım sürecini olumsuz etkilediği görülmüştür. İn vitro çalışmalar yüksek IL-8 konsantrasyonlarının hem fibroblastların, hem de keratinositlerin morfolojisini ve işlevlerini olumsuz etkilediğini göstermektedir. Tam kat yara kapanması sırasında reepitelizasyon ve yara kontraksiyonunu sağlayan bu hücrelerin işlevlerinin olumsuz şekilde etkilenmesi ise yara kapanmasına zarar vermektedir (Iocono vd. 2000).

Zor iyileşen yaralarda IL-8 reseptörlerinin azalması IL-8’in yara iyileşmesinde prognostik ve terapötik bir değeri olduğunu göstermektedir. Potansiyel rolü hücre migrasyonu ve kemotaksis olan IL-8, yara iyileşmesinde önemli bir role sahiptir. IL-8’in; IL-8 reseptörlerini eksprese eden insan keratinositleri için kemotaktik olabileceği gösterilmiştir (Jiang vd. 2012). IL-8 reseptörü nakavt farelerde yara iyileşmesinin gecikmesi durumu ortaya çıkmıştır. Bu durum; yara bölgesine monosit takviyesinde, reepitelizasyon ve anjiyogenezisde bir gecikme olduğunu göstermektedir (Devalaraja vd. 2000, Jiang vd. 2012).

Lökositlerin yara bölgesine migrasyonu kemotaktik sitokinler aracılığı ile regüle edilmektedir (Pakiş 2016). IL-8; fibroblastlar, endotel hücreler, monositler tarafından salgılanan ve T hücreleri, keratinositler ve nötrofiller için kemoatraktandır (Pakiş 2016, Öztöpalan vd. 2017). IL-8’in de; FGF, VEGF gibi anjiyogenezisi aktive edici etkisi

bulunmuştur (Güngörmüş vd. 1997). IL-8'in ayrıca epidermal proliferasyona da etkisi bulunmaktadır (Pakiş 2016).

Yaptığımız araştırmada da yara iyileşme sürecinde cerrahi kesi kontrol grubu ve sağlıklı doku ile karşılaştırıldığında TG2'nin IL-8 (İnterlökin-8) düzeyini arttırdığı ve literatürdeki bilgilerle de örtüştüğü görülmektedir (Şekil 4.13).

IL-10; doğal immünitede rol alan antiinflamatuvar sitokinlerden biridir (King vd. 2014). Th<sub>2</sub> hücreleri tarafından sentezlenmektedir (Öztopalan vd. 2017). Ayrıca bazı aktif B hücreleri, bazı Th<sub>1</sub> hücreleri, aktif makrofajlar ve bazı non-lenfositik hücre tipleri (keratinositler) tarafından da sentezlenmektedir (Güner vd. 1997). IL-10 hücresel immüitenin inhibisyonunu engellenmesini gerektiren durumlarda tedavi amaçlı da kullanılabilmektedir (Baykal vd. 1998). IL-10'un iki önemli etkisi bulunmaktadır. İlki, makrofajlar tarafından sitokinlerin (TNF, IL-1, IL-12, kemokin gibi) üretimini engellemek; diğeri ise makrofajların T hücresi aktivasyonundaki işlevlerini engellemektir (Güner vd. 1997).

IL-10'un; fetal rejeneratif yara onarımı için gerekli olduğu gösterilmiştir. IL-10'un aşırı ekspresyonu; doğum sonrası dokularda da inflamatuvar cevabın zayıflatılması, hücre dışı matriksin regülasyonu, fibroblast fonksiyonunun optimizasyonu gibi pleiotropik etkiler yoluyla fetal benzeri rejeneratif bir fenotip göstermektedir (King vd. 2014). Yaralanmadan sonra derideki keratinositlerin IL-10 üretebildikleri gösterilmiştir (An vd. 2010). Güçlü antiinflamatuvar etkilere ilaveten IL-10'un; doku remodelizasyonunun düzenlenmesinin bir parçası olan transforme edici büyüme faktörü - $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi fibrojenik sitokinleri regüle ettiği gösterilmiştir. IL-10'un son zamanlarda pro-fibrotik ajanlar ile uyarıldığında skar oluşumuyla ilişkili olarak aşırı kollajenin çökmesine karşı koruyucu bir etkisi olduğu da gösterilmiştir (Shi vd. 2013).

Granülasyon dokusunda; fibroblastlar, keratinosit büyümesini ve migrasyonunu uyararak ve bunlara izin veren çok sayıda büyüme faktörü salgırlar. IL-10'un epitel üzerindeki rejeneratif etkileri de fibroblastlar ve keratinositler arasındaki etkileşim vasıtasıyla sağlanabilir (King vd. 2014). İlginç bir şekilde, doğum sonrası fibroblastlara IL-10

eklenmesi hem migrasyonu hem de invazyonu etkili bir şekilde artırır (Leung vd. 2013, King vd. 2014).

IL-10'un yaralı miyokard gibi farklı doku hasarı modellerinde, endotelial progenitör hücrelerin canlılığını ve işlevini modüle etmede de bir rolü olduğu gösterilmiştir (Leung vd. 2013). Endotelial progenitör hücreler; büyüme faktörlerinin üretimi sırasında postnatal anjiogenezise katkıda bulunan kemik iliği kaynaklı hücrelerdir. IL-10 nakavt farelerde yapılan bir araştırmada endotelial progenitör hücrelerin güçlendirilmesinde eksiklik görülmüştür (Krishnamurthy vd. 2011). Dahası, IL-10 ile tedavi, endotelial progenitör hücrelerin hayatta kalma sürecini ve anjiyogenezisi arttırmasının yanı sıra zayıflatılmış bir inflamatuvar tepki, azalmış fibrozis ve kalp fonksiyonunun korunmasıyla sonuçlanmaktadır (King vd. 2014). IL-10'un aşırı ekspresyonunun, dokudaki yaralanmadan sonra hem yara bölgesinde hem de dolaşımdaki endotelial progenitör hücrelerin sayısında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Krishnamurthy vd. 2011). Yara bölgesindeki IL-10 eksikliği, yara kasılmalarının artmasına ve yara yatağına sızan makrofajların artmasıyla karakterize artmış inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır (Liechty vd. 2000, Eming vd. 2007). Yara bölgesindeki IL-10 yokluğunda; IL-6 ve IL-8 gibi diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin yüksek miktarda oldukları da gösterilmiştir (Sato vd. 1999). IL-10 - / - transgenik yaraların, kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında; kalın ve yoğun paketlenmiş, organizasyonu değiştirilmiş daha fazla kollajen birikimine sahip olduğu gösterilmiştir (King vd. 2014). Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; IL-10'un yara iltihaplanmasının düzenlenmesinde önemli bir sitokin olduğunu desteklemekte ve IL-10'un yaradaki hücre dışı matriks organizasyonunu ve olgunlaşmasını etkilediğini de öne sürmektedir.

Dermiste IL-10'un lokal ve sürekli salınımını kolaylaştırmak için viral vektörlerin kullanıldığı bir araştırmada; IL-10 aşırı ekspresyonunun, yaralanma sonucu oluşan inflamatuvar cevabı başarıyla azalttığı gösterilmiştir. İnflamatuvar faz sırasında yaraya alınan nötrofiller, lenfositler ve makrofajların daha az olduğu görülmüştür. IL-10 ile tedavi edilen yaralar ve sağlam deriler arasında biyomekanik dayanıklılık açısından herhangi bir değişiklik olmadığı; hücre dışı matriks birikiminin ise, IL-10 ile tedavi edilen yaralarda organizasyonunun daha kolay olduğu görülmüştür. Bu durum, yara

bölgesine IL-10 eklenmesinin normal fizyolojik bütünlüğe sahip yara tamirine izin verdiğini düşündürmektedir. Yaralanmanın doksanıncı gününde ise, IL-10'un aşırı ekspresyonunun, fare bağırsak yaralarında skar oluşumunu doza bağımlı bir şekilde azalttığı ve sonuçta ortaya çıkan yaralı bölgenin sağlam bölgeden ayırt edilemediği görülmüştür (Gordon vd. 2008).

IL-10'un doku bütünlüğünü yeniden kurmadaki önemi bir tendon hasar modelinde de gösterilmiştir. Bu model, tendonların iyileşmesinin lenti-viral aracılı IL-10'un aşırı ekspresyonundan fayda sağladığını ve IL-10'un aşırı eksprese olduğu doku yaralanmasında kontrol tendonu yaralanmasına kıyasla üstün biyomekanik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Ricchetti vd. 2008).

Sıçanlarda yapılan kardiyak doku çalışmaları, indüklenmiş kardiyak hipertrofi modelinde yaralanmadan sonra IL-10'un önemli bir rol oynadığını göstermiştir. IL-10 nakavt farelerinin, kontrollerle karşılaştırıldığında, sol ventrikül işlevini ve hipertrofik yeniden modellemeyi arttırdığı bulunmuştur. Kontrol grubuna IL-10 ile yapılan takviyenin ise, kardiyoprotektif ve patolojik yeniden modellemeyi önleyerek kalp fonksiyonlarında iyileşmeye neden olduğu bulunmuştur (Verma vd. 2012).

Çoklu hayvan modellerinde, viral vektörler kullanılarak IL-10 aşırı ekspresyonunun kolaylaştırılması yoluyla rejeneratif iyileşmenin başarılı bir şekilde gerçekleştiği gösterilmiştir (Gordon vd. 2008).

Yapılan çalışmalardan da anlaşıldığı üzere IL-10 da IL-8 gibi yara iyileşmesini kolaylaştıran bir sitokindir. Yaptığımız çalışmada da TG2'nin IL-10 üzerine yaptığı olumlu etki görülmektedir. IL-8 ve IL-10 seviyeleri açısından grafik değerlerini karşılaştırdığımızda ise; çıkan sonuçlar TG2'nin IL-10 üzerine olan arttırıcı etkisinin IL-8 üzerine olan etkisinden daha fazla olduğunu da göstermiştir. Ayrıca yapılan çalışmalardan IL-10'un yara iyileşmesine olan olumlu etkisi göz önünde bulundurularak sonuçlar değerlendirildiğinde; TG2'nin IL-10 üzerine olan arttırıcı etkinin yara iyileşmesine de katkıda bulunduğu ortaya çıkmıştır (Şekil 4.14).

Yaralanma sonrası yara alanını oluşturan ve istila eden yeni granülasyon dokusunu desteklemek için neovaskülarizasyon gereklidir. Yaralanma bölgesindeki bu durum hem serum faktörleriyle (VEGF, FGF, TGF- $\beta$ ) endotelial hücrelerin uyarılmasını hem de hücre dışı matriks ortamın uyarılmasını içeren karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Endotel hücrelerin göçü ve yeni damarların oluşumu, hem granülasyon dokusu hem de endotelial taban zarının bileşiminden etkilenir (Li vd. 2003). Travmanın ardından TG2 açığa çıkar, ECM'ye bağlanır ve ECM'nin ikili çapraz bağlanması ve yapısal rolü sayesinde hücre dışı matriksin hem kararlılığını hem de yapısını etkiler. TG2; latent TGF-  $\beta$ 1'in matriks depolamasını modüle ederek, bu önemli yara iyileşme sitokininin aktivasyonuna katılır (Verderio vd. 2004). Bütün bu TG2 aracılı olayların, yara onarımı sırasında anjiyogenez etkilemesi muhtemeldir. Haroon ve arkadaşları (1999), rekombinant TG2'nin, in vivo bir dorsal deri flep bölgesine topikal olarak uygulandığında kan damarı uzunluğu yoğunluğunu arttırdığını göstermişlerdir ve bu durum, yara onarımında anjiyogenezin teşvik edilmesinde TG2'nin rolü olduğunu düşündürmektedir.

Yaptığımız çalışmanın histopatolojik inceleme aşamasındaki mikroskopik görüntüler incelendiğinde; cerrahi kesi modeli her iki grupta oluşturulan yara bölgesinde epidermis maturasyonunun ifadesi olarak yüzeyde keratin tabakası oluşumu ve epitel hücrelerinin kesi bölgesi uçlarını birleştirerek yara yüzeyini tamamen kapattığı gözlenmiştir. Bu bulgular epidermin rejenerasyonunu tamamladığını göstermiştir (Şekil 4.16.a,b, Şekil 4.17a,b).

Cerrahi kesi modeli her iki grupta granülasyon dokusu 15. günle uyumlu olarak yara bölgesini doldurmuş olarak matürasyon ve yeniden modellenme fazıyla uyumlu biçimde gözlenmiştir (Şekil 4.16.a,b, Şekil 4.17a,b). Ayrıca granülasyon dokusu içerisine göç eden kıl foliküllerine ve yağ bezlerine sadece TG2'li grupta rastlanmıştır (Şekil 4.17.a,b). Kıl foliküllerinin ve yağ bezlerinin granülasyon dokusunun içerisinde görüntülenmesi de granülasyon dokusunun matür olduğunun bir göstergesi ve yara iyileşmesi açısından da iyi bir bulgudur.

Yara oluşumunun 14. gününde TG2 grubundaki hasarlı dermis dokusu kısmına denk gelen granülasyon dokusunda 40'lık objektif büyütmesinde rastgele 5 alanda yapılan taramalar sonucunda neovaskülerizasyon ve inflamatuvar hücre sayımı açısından değerlendirmeler neticesinde; ortalama 1-5 adet yeni damar oluşumu (şekil 4.20.a) ve 1-10 arasında inflamatuvar hücre (histiyosit ve plazma hücreleri) izlenmiştir (şekil 4.20.a,b, 4.21). Bu durum iyileşme sürecinin matürasyon ve yeniden modellenme fazı ile uyumlu bulunmuştur. Ayrıca bu durum TG2'nin dokuya direkt uygulanmasının yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak yara iyileşme sürecinde yeni damar oluşumunu arttırdığını bize göstermektedir.

Cerrahi kesi modeli her iki grupta oluşturulan yara bölgesinde iyileşmenin belirtisi olan yeni kollajen oluşumu da ince yapılı kollajen telleri şeklinde gözlenmiştir (şekil 22. a,b, şekil 23. a,b).

Ayrıca yaptığımız çalışmada; yara iyileşmesinin histolojik açıdan değerlendirme parametreleri çizelgesinde ( izelge 4.1); 21-30 parametresi ileri düzey iyileşme olarak değerlendirildiğinde;  izelge 4.2'deki ortalama yara iyileşmesi skorlarına göre kontrol grubundaki ve TG2 kullandığımız gruptaki yara iyileşmesi skorlarının tam iyileşmeye yakın bir parametrede olduğunu bize göstermiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yara iyileşmesi sürecinin hücresel ve moleküler temeli açıklanmaya çalışılmıştır. Normal yara iyileşmesinde, tedavi edici uygun yöntemin planlanmasında ve geliştirilmesinde klinik, hücresel ve diğer faktörlerin etkileşiminin değerlendirilmesi önem taşır. Bu kapsamda farklı tedavi yöntemleri denenmekte, iyileşme sürecinin hızlanması, aşırı inflamasyon ve enfeksiyonun önlenmesi, iyileşme sürecini takiben sekel kalmasını engellemeye yönelik yeni tedavi arayışları devam etmektedir (Mutsaers vd. 1997, Theoret 2005).

Sağlıklı bireylerde ve özellikle yara iyileşme sürecinin çok uzadığı diyabetik modellerde yara iyileşmesini hızlandırmak, skar oluşumunu azaltmaya yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır. Anti-oksidan terapiler, vitamin takviyeleri ile kombine uygulamalar

bunlardan bir kaçıdır (Musalmah vd. 2005). Bunun yanı sıra özellikle son dönemlerde kök hücre çalışmaları da hızla artmaktadır (Elsharawy vd. 2012).

Mevcut araştırmada klinik olarak sağlıklı Wistar Albino ırkı ratlara TG2 uygulaması ile bazı büyüme faktörlerinin seviyelerinin artırılması ve yaranın hızlı kapanması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmada TG2 uygulamasının makroskobik olarak ve büyüme faktörleri üzerine olumlu etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Böylece TG2 uygulamasının sağlıklı bireylerde yara iyileşmesi üzerine belirgin şekilde olumlu etkilerinin olduğu ve yara iyileşmesinin birçok faktöre bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarının farklı hastalık ve yara modellerinde kullanılabilecek, yara iyileşmesinde yeni bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, TG2'nin dışarıdan lokal olarak uygulanarak yara iyileşme sürecine dair çalışmanın henüz bulunmaması da çalışmanın özgünlüğü açısından önem teşkil etmektedir.

TG2'nin birçok büyüme faktörünü ve hücrel faktörü etkilediği, yara iyileşmesinde daha üst düzey çalışmalar yapılarak TG2'nin klinik olarak kullanımının değerlendirilebileceği, anjiyogenezis başta olmak üzere yeni matriks ve epidermis gelişimini hızlandırdığı, yara iyileşmelerinde yara izi, hipertrofik skar oluşumu veya yara bölgesinin kılsız kalması gibi istenmeyen durumları da ortadan kaldırabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmanın sonuçlarının ileride yara iyileşmesinde kullanılabilecek umut vaat eden yeni bir tedavi yöntemi geliştirmeye yardımcı olacağı düşünülmüştür.

TG2'nin enjeksiyon yolu ile yara bölgesine uygulanmasının ise çok pratik olmadığı ancak yara bandı ya da yaraya topikal uygulanabilecek bir forma getirilmesinin daha akıllıca olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak yara iyileşmesi için TG2'nin kullanılması ile ilgili çalışmaların hızlanması gerektiği, özellikle sağlıklı bireylerde yaralanma sonucu oluşan ve makroskobik olarak istenilmeyen görüntülerin yok edilmesinde, estetik olarak daha iyi hale getirilmesi gereken yaralarda ve yara iyileşmesinin hızlandırılmasında yeni bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abreu-Velez, A.M. and Howard, M.S. 2012. Collagen IV in Normal Skin and in Pathological Processes. North American Journal of Medical Sciences. 4 (1):1-8.
- Aeschlimann, D. and Paulsson, M. 1994. Transglutaminases: protein crosslinking enzymes in tissues and body fluids. Thromb. Haemostasis, 71 (4), 402–415.
- Aeschlimann, D. and Thomazy, V. 2000. Protein crosslinking in assembly and remodelling of extracellular matrices: the role of transglutaminases. Connect Tissue Research, 41 (1), 1–27.
- Ahvazi, B., Boeshans, K.M. and Rastinejad, F. 2004. The emerging structural understanding of Transglutaminase 3. Journal of Structural Biology, 147, 200-207.
- Akimov, S.S., Krylov, D., Fleischmann, L.F. and Belkin, A.M. 2000. Tissue transglutaminase is an integrin-binding adhesion coreceptor for fibronectin. Journal of Cell Biology, 148 (4), 825–838.
- Akimov, S.S. and Belkin, A.M. 2001a. Cell surface tissue transglutaminase is involved in adhesion and migration of monocytic cells on fibronectin. Blood, 98 (5), 1567–1576.
- Akimov, S.S. and Belkin, A.M. 2001b. Cell-surface transglutaminase promotes fibronectin assembly via interaction with the gelatin-binding domain of fibronectin: a role in TGF- $\beta$  dependent matrix deposition. Journal of Cell Science, 114 (16), 2989–3000.
- Aksoy, H. ve Bingöl-Özakpınar, Ö. 2014. Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. Marmara Pharmaceutical Journal, 18, 153-158.
- Alpsoy, A., Atasever, S., İlter, K., Özbeser, E. ve Öztürk, A. 2012. Sıçanlarda Lokal Midkin Tedavisinin Yara İyileşmesine Etkisi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi 14. Öğrenci Sempozyumu, 15-16 Mayıs, s6, Ankara.
- An, L., Dong, G.Q., Gao, Q., Zhang, W., Hu, L.W., Li, J.H. and Liu, Y. 2010. Effects of UVA on TNF-alpha, IL-1beta, and IL-10 expression levels in human keratinocytes and intervention studies with an antioxidant and a JNK inhibitor. Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine, 26 (1), 28-35.
- Anonymous. 2006. World Health Organization (WHO). Dermal absorption. Environmental Health Criteria 235, 1-197, Switzerland.
- Anonymous. 2018. Web sitesi: [https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/5-1-layers-of-the-skin/#fig-ch05\\_01\\_04](https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/5-1-layers-of-the-skin/#fig-ch05_01_04). Erişim Tarihi: 01.10.2018.
- Artuc, M., Hermes, B., Steckelings, U.M., Grützkau, A. and Henz, B.M. 1999. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing active participants or innocent blumenbergbystanders? Experimental Dermatol, 8 (1), 1-16.

- Auld, G.C., Ritchie, H., Robbie, L.A. and Booth, N.A. 2001. Thrombin upregulates tissue transglutaminase in endothelial cells: a potential role for tissue transglutaminase in stability of atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 21, 1689–1694.
- Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M.S., Ehrlich, H.P. and Brem, H. 2009. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Journal of Surgery Research*, 153 (2), 347-358.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M.S., Brem, H. and Tomic-Canic, M. 2008. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*, 16 (5), 585-601.
- Baykal, Y., Karaayvaz, M. ve Kutlu, M. 1998. İnterlökinler. *T. Klin. J. Med. Sci.*, 18, 77-84.
- Beanes, S.R., Dang, C., Soo, C. and Ting, K. 2003. Skin repair and scar formation: the central role of TGF- $\beta$ . *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 5 (8), 1-22.
- Begg, G.E., Carrington, L. Stokes, P.H., Matthews, J.M., Wouters, M.A., Husain, A., Lorand, L., Iismaa, S.E. and Graham, R.M. 2006. Mechanism of allosteric regulation of transglutaminase 2 by GTP. *Proceedings of the Natinoal Academy of Sciences of the U.S.A*, 103 (52), 19683–19688.
- Begg, G.E., Holman, S.R., Stokes, P.H., Matthews, J.M., Graham, R.M. and Iismaa, S.E. 2006. Mutation of a critical GTP-binding arginine in transglutaminase 2 disinhibits intracellular crosslinking activity. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (18), 12603–12609.
- Belkin, A.M., Akimov, S.S., Zaritskaya, L.S., Ratnikov, B.I., Deryugina, E.I. and Strongin, A.Y. 2001. Matrix-dependent proteolysis of surface transglutaminase by membrane-type metalloproteinase regulates cancer cell adhesion and locomotion. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (21), 18415–18422.
- Belkin, A.M, Tsurupa, G., Zemskov, E., Veklich, Y., Weisel, J.W. and Medved, L. 2005. Transglutaminase-mediated oligomerization of the fibrin(ogen) alphaC domains promotes integrin-dependent cell adhesion and signaling. *Blood*, 105 (9), 3561–3568.
- Bluemenberg, M. 2013. Profiling and metaanalysis of epidermal keratinocytes responses to epidermal growth factor. *BMC Genomics*, 14 (85), 1-20.
- Board, P.G., Losowsky, M.S. and Miloszewski, K.J.A. 1993. Factor XIII: inherited and acquired deficiency. *Blood Reviews*, 7 (4), 229–242
- Boehm J.E., Singh U., Combs C., Antonyak, M.A., Cerione R.A. 2002. Tissue transglutaminase protects against apoptosis by modifying the tumor suppressor protein p110 Rb. *The Journal of Biological Chemistry*, 277 (23), 20127–20130.
- Bognar, P., Nemeth, I., Mayer, B., Haluszka, D., Wikonkal, N., Ostorhazi, E., John, S., Paulsson, M., Smyth, N., Pasztoi, M., Buzas, El., Szipocs, R., Kolonics, A., Temesvari, E. and Karpati, S. 2014. Reduced inflammatory threshold indicates

- skin barrier defect in transglutaminase-3 knockout mice. *Journal of Investigation Dermatology*, 134 (1), 105-111.
- Bowness, J.M., Tarr, A.H. and Wong, T. 1988. Increased transglutaminase activity during skin wound healing in rats. *Biochim Biophys Biochimica et Biophysica Acta*, 967 (2), 234-240.
- Broughton, H.G., Janis, J.E. and Attinger, C.E. 2006. Wound healing: An overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117 (7), 1eS-32eS.
- Calvin, M. 1998. Cutaneous wound healing, *Wounds*, 10 (1), 12-32.
- Candi, E., Melino, G., Lahm, A., Ceci, R., Rossi, A., Kim, I.G., Ciani, B. and Steinert, P.M. 1998. Transglutaminase 1 mutations in lamellar ichthyosis. Loss of activity due to failure of activation by proteolytic processing. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (22), 13693-13702.
- Candi, E., Oddi, S., Terrinoni, A., Paradisi, A., Ranalli, M., Finazzi- Agro, A. and Melino, G. 2001. Transglutaminase 5 cross-links loricrin, involucrin and small proline-rich proteins in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (37), 35014-35023.
- Candi, E., Oddi, S., Paradisi, A., Terrinoni, A., Ranalli, M., Teofoli, P., Citro, G., Scarpato, S., Puddu, P. and Melino, G. 2002. Expression of transglutaminase 5 in normal and pathologic human epidermis. *Journal of Investigation Dermatology*, 119 (3), 670-677.
- Cassidy, A.J., van Steensel, M.A., Steijlen, P.M., van Geel, M., van der Velden, J., Morley, S.M., Terrinoni, A., Melino, G., Candi, E. and McLean, W.H. 2005. A homozygous missense mutation in TGM5 abolishes epidermal transglutaminase 5 activity and causes acral peeling skin syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 77 (6), 909-917.
- Chen, X. and Thibeault, S.L. 2010. Role of TNF- $\alpha$  in wound repair in human vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope*, 120 (9), 1819-1825.
- Clark, R.A.F. 1996. *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. Plenum Press, p. 611, New York.
- Clark, R.A.F. 2001. Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 936 (1), 355-67.
- Collighan, R.J., Li, X., Parry, J., Griffin, M. and Clara, S. 2004. Transglutaminases as tanning agents for the leather industry. *Journal American Leather Chemists Association*, 99 (7), 293-302.
- Collighan, R.J. and Griffin, M. 2009. Transglutaminase 2 cross-linking of matrix proteins: biological significance and medical applications. *Amino Acids*, 36 (4), 659-670.
- Coşkun, G. ve Özgür, H. 2011. Apoptoz ve nekroznu moleküler mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20 (3), 145-158.

- Çiftçi, H. 2014. Akciğer kanserlerinde NGAL ekspresyonu ve apoptozisle ilişkisi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya A.B.D. Konya
- Davidson, J.M. 1996. Proteinases in wound repair. In: Proteolysis in wound repair. Springer-Verlag GmbH. Co., 1-11, Berlin.
- Davis, G.E., Bayless, K.J., Davis, M.J. and Meininger, G.A. 2000. Regulation of tissue injury responses by the exposure of matricryptic sites within extracellular matrix molecules. The American Journal of Pathology, 156 (5), 1489–1498.
- Dean, M.D. 2013. Genetic disruption of the copulatory plug in mice leads to severely reduced fertility. PLoS Genetics, 9 (1), e1003185.
- De Bem, D.M., Maciel, C.D., Zuanon, J.A., Neto, C.B. and Parizotto, N.A. 2010. Histological analysis of healthy epithelium of Wistar rats in vivo irradiated with different intensities of therapeutic ultrasound. Revista Brasileira de Fisioterapia, 14 (2), 114-120.
- Demirbaş, M.Y., Gülsever, M. ve Bozkurt, A.K. 2009. Buerger hastalığında ADP ve kollajen ile tetiklenmiş trombosit agregasyonu yanıtlarının sağlıklı kişilerle karşılaştırılması. Türk Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi, 17 (2), 106-109.
- Deodhar, A.K. and Rana, R.E. 1997. Surgical physiology of wound healing: a review. Postgraduate Medical Journal, 43 (2), 52-56.
- Detmar, M., Brown, L.F., Berse, B., Jackman, R.W., Elicker, B.M., Dvorak, H.F. and Claffey, K.P. 1997. Hypoxia regulates the expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) and its receptors in human skin. Journal of Investigation Dermatology, 108 (3), 263-268.
- Devalaraja, R.M., Nanney, L.B., Du, J., Qian, Q., Yu, Y., Devalaraja, M.N. and Richmond, A. 2000. Delayed wound healing in CXCR2 knockout mice. Journal of Investigation Dermatology, 115 (2), 234-244.
- Diegelmann, R.F. 2001. Collagen metabolism. Wounds, 13 (5), 177-182.
- Diegelmann, R.F. and Evans, M.C. 2004. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Frontiers in Bioscience, 9, 283-289.
- Dik, B. 2015. Sağlıklı Ve Deneysel Diyabetik Ratlarda Midkin'in Yara İyileşmesi Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji-Toksikoloji (Vet) A. B. D., Konya.
- Dolynchuk, K.N., Ziesmann, M. and Serletti, J.M. 1996. Topical putrescine (Fibrostat) in treatment of hypertrophic scars: phase II study. Plastic and Reconstructive Surgery, 97(1), 117–123.
- Eckert, R.L., Sturniolo, M.T., Jans, R., Kraft, C.A., Jiang, H. and Rorke, E.A. 2009. TIG3 a regulator of type I transglutaminase activity in epidermis. Amino Acids, 36: (4), 739-746.

- Eckert, R.L., Kaartinen, M.T., Nurminskaya, M., Belkin, A.M., Colak, G., Johnson, G. V. and Mehta, K. 2014. Transglutaminase regulation of cell function. *Physiological Reviews*, 94 (2), 383-417.
- Ekmekçi, P. ve Bostancı, S. 2002. Yara iyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji*, 12, 114- 120.
- Elsharawy, M.A., Naim, M. and Greish, S. 2012. Human CD34<sup>+</sup> stem cells promote healing of diabetic foot ulcers in rats. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 14 (3), 288-293.
- Eming, S.A., Werner, S., Bugnon, P., Wickenhauser, C., Siewe, L., Utermöhlen, O., Davidson, J.M., Krieg, T. and Roers, A. 2007. Accelerated wound closure in mice deficient for interleukin-10. *The American Journal of Pathology*, 170 (1), 188-202.
- Engel, J. and Bächinger, H.P. 2005. Structure, stability and folding of the collagen triple helix. *Topics in Current Chemistry*, 247, 7-33.
- Esposito, C., Lombardi, M.L., Ruocco, V., Cozzolino, A., Mariniello, L. and Porta, R. 2000. Implication of tissue transglutaminase and desmoplakin in cell adhesion mechanism in human epidermis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 206 (1-2), 57-65.
- F'és'us, L. and Szondy, Z. 2005. Transglutaminase 2 in the balance of cell death and survival. *The FEBS Letters*, 579 (15), 3297-3302.
- Forsprecher, J., Wang, Z., Nelea, V. and Kaartinen, M.T. 2008. Enhanced osteoblast adhesion on transglutaminase 2-crosslinked fibronectin. *Amino Acids*, 36 (4), 747-753.
- Fratzl, P. 2008. Collagen: Structure and Mechanics, an Introduction. In: *Collagen* Fratzl P. (eds), 1-13, Springer, Boston.
- Galiano, R.D., Tepper, O.M., Pelo, C.R., Bhatt, K.A., Callaghan, M., Bastidas, N., Bunting, S., Steinmetz, H.G. and Gurtner, G.C. 2004. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *American Journal of Pathology*, 164 (6), 1935-47.
- Gallucci, R.M., Simeonova, P.P., Matheson, J.M., Kommineni, C., Guriel, J.L., Sugawara, T. and Luster, M.I. 2000. Impaired cutaneous wound healing in interleukin-6-deficient and immunosuppressed mice. *FASEB Journal*, 14 (15), 2525-2531.
- Garner, W.L., Rodriguez, J.L., Miller, C.G., Till, G.O., Rees, R.S., Smith, D.J. and Remick, D.G. 1994. Acute skin injury releases neutrophil chemoattractants. *Surgery*, 116 (1), 42-48.
- Gaudry, C.A., Verderio, E., Jones, R.A., Smith, C., Griffin, M. 1999a. Tissue transglutaminase is an important player at the surface of human endothelial cells: evidence for its externalization and its colocalization with the beta(1) integrin. *Experimental Cell Research*, 252 (1), 104-113.

- Gaudry, C.A., Verderio, E., Aeschlimann, D., Cox, A., Smith, C., Griffin, M. 1999b. Cell surface localization of tissue transglutaminase is dependent on a fibronectin-binding site in its n-terminal b-sandwich domain. *The Journal of Biological Chemistry*, 274 (43), 30707–30714.
- Gillitzer, R. and Goebeler, M. 2001. Chemokines in cutaneous wound healing. *Journal of Leukocyte Biology*, 69 (4), 513-521.
- Gordon, A., Kozin, E.D., Keswani, S.G., Vaikunth, S.S., Katz, A.B., Zoltick, P.W., Favata, M., Radu, A.P., Soslowsky, L.J., Herlyn, M. and Crombleholme, T.M. 2008. Permissive environment in postnatal wounds induced by adenoviral-mediated overexpression of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 prevents scar formation. *Wound Repair and Regeneration*, 16 (1), 70-79.
- Gökalp-Özkorkmaz, E. ve Özay, Y. 2009. Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2 (2), 63-67.
- Grenard, P., Bates, M.K. and Aeschlimann, D. 2001. Evolution of transglutaminase genes: identification of a transglutaminase gene cluster on human chromosome 15q15. Structure of the gene encoding transglutaminase X and a novel gene family member, transglutaminase Z. *The Journal of Biological Chemistry*, 276 (35), 33066 –33078.
- Griffin, M., Casadio, R. and Bergamini, C.M. 2002. Transglutaminases: Nature's biological glues. *Biochemical Journal*, 368 (2), 377-396.
- Gross, S.R., Balklava, Z. and Griffin, M. 2003. Importance of tissue transglutaminase in repair of extracellular matrices and cell death of dermal fibroblasts after exposure to a solarium ultraviolet a source. *Journal of Investigation Dermatology*, 121 (2), 412–423.
- Gundemir, S., Colak, G., Tucholski, J. and Johnson, G.V.W. 2012. Transglutaminase 2: a molecular swiss army knife. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1823 (2), 406-419.
- Gupta, A. and Kumar, P. 2015. Assessment of the histological state of the healing wound. *Plastic and Aesthetic Research*, 2 (5), 239-242.
- Gül, Ü., Şahin, M. ve Tekakça, E. 1994. Kollajen ped, hidrofilik poliüretan sargı, % 1 silver sulfadiazin krem ve gazlı bezin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerin karşılaştırılması. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*, 4 (1), 15-20.
- Güner, İ., Özmen, D. ve Bayındır, O. 1997. Sitokinler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 17 (2), 65-74.
- Güngörmüş, M., Gürbüz, G. ve Yıldırım, G. 1997. Büyüme faktörlerinin doku onarımı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 7 (1), 100-102.
- Hand, D., Dias, D. and Haynes, L.W. 2000. Stabilization of collagentailed acetylcholinesterase in muscle cells through extracellular anchorage by transglutaminase-catalyzed cross-linking. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 204 (1-2), 65–76.

- Haroon, Z.A., Hettasch, J.M., Lai, T.S., Dewhirst, M.W. and Greenberg, C.S. 1999. Tissue transglutaminase is expressed, active, and directly involved in rat dermal wound healing and angiogenesis. *The FASEB Journal*, 13 (13), 1787–1795.
- Hasegawa, G., Suwa, M., Ichikawa, Y., Ohtsuka, T., Kumagai, S., Kikuchi, M., Sato, Y. and Saito, Y. 2003. A novel function of tissue-type transglutaminase: protein disulphide isomerase. *Biochemical Journal*, 373 (3), 793–803.
- Hiiragi, T., Sasaki, H., Nagafuchi, A., Sabe, H., Shen, S.C., Matsuki, M., Yamanishi, K. and Tsukita, S. 1999. Transglutaminase type I and its cross-linking activity are concentrated at adherens junctions in simple epithelial cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 274 (48), 34148–34154.
- Hitomi, K., Ikeda, N. and Maki, M. 2003. Immunological detection of proteolytically activated epidermal- type transglutaminase (TGase 3) using cleavage site specific antibody. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67 (11), 2492–2494.
- Iismaa, S.E., Mearns, B.M., Lorand, L. and Graham, R.M. 2009. Transglutaminases and disease: lessons from genetically engineered mouse models and inherited disorders. *Physiological Reviews*, 89 (3), 991–1023.
- Inada, R., Matsuki, M., Yamada, K., Morishima, Y., Shen, S.C., Kuramoto, N., Yasuno, H., Takahashi, K., Miyachi, Y. and Yamanishi, K. 2000. Facilitated wound healing by activation of the transglutaminase 1 gene. *American Journal of Pathology*, 157 (6), 1875–1882.
- Iocono, J.A., Collieran, K.R., Remick, D.G., Gillespie, B.W., Ehrlich, H.P. and Garner, W.L. 2000. Interleukin-8 levels and activity in delayed-healing human thermal wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 8 (3), 216–225.
- Jiang, W.G., Ablin, R.J., Douglas-Jones, A. and Mansel, R.E. 2003. Expression of transglutaminases in human breast cancer and their possible clinical significance. *Oncology Reports*, 10 (6), 2039–2044.
- Jiang, W.G. and Ablin, R.J. 2011. Prostate transglutaminase: a unique transglutaminase and its role in prostate cancer. *Biomarkers in Medicine*, 5 (3), 285–291.
- Jiang, W.G., Sanders, A.J., Ruge, F. and Harding, K.G. 2012. Influence of interleukin-8 (il-8) receptors on the migration of human keratinocytes the role of  $\text{plc-}\gamma$  and potential clinical implications. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3 (2), 231–236.
- John, S., Thiebach, L., Frie, C., Mokkapati, S., Bechtel, M., Nischt, R., Rosser-Davies, S., Paulsson, M. and Smyth, N. 2012. Epidermal transglutaminase (TGase 3) is required for proper hair development, but not the formation of epidermal barrier. *PLoS One*, 7 (4), e34252, 1–12.
- Johnson, T.S., Skill, N.J., El Nahas, A.M., Oldroyd, S.D., Thomas, G.L., Douthwaite, J.A., Haylor, J.L. and Griffin, M. 1999. Transglutaminase transcription and antigen translocation in experimental renal scarring. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10 (10), 2146–2157.

- Johnson, K., Hashimoto, S., Lotz, M., Pritzker, K. and Terkeltaub, R. 2001. Interleukin-1 induces pro-mineralizing activity of cartilage tissue transglutaminase and factor XIIIa. *The American Journal of Pathology*, 159 (1), 149–163.
- Johnson, T.S., El-Koraie, A.F., Skill, N.J., Baddour, N.M., El Nahas, A.M., Njloma, M., Adam, A.G. and Griffin, M. 2003. Tissue transglutaminase and the progression of human renal scarring. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14 (8), 2052–2062.
- Kadler, K.E., Holmes, D.F., Trotter, J.A. and Chapman, J.A. 1996. Collagen fibril formation. *Biochemical Journal*, 316: 1-11.
- Kahya, İ. 2005. İstanbul ili üç büyük devlet hastanesi acil servislerinde muayeneleri yapılan ve adli raporları düzenlenen olgularda adli tıbbi yaklaşım ve kayıt sisteminin irdelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.
- Kalay, Z. 2011. Topikal EGF uygulamasının dorsolateral eksizyonel yaralarda oksidan olaylara etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karasu, A. ve Bakır, B. 2008. Yara ve yara iyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14 (1), 36-43.
- King, A., Balaji, S., Le, L.D., Crombleholme, T.M. and Keswani, S.G. 2014. Regenerative wound healing: The role of interleukin-10. *Wound Healing Society*, 3 (4), 315-323.
- Király, R., Demény, M.A. and Fésüs, L. 2011. Protein transamidation by transglutaminase 2 in cells: a disputed  $Ca^{2+}$ -dependent action of a multifunctional protein. *The FEBS Journal*, 278 (24), 4717–4739.
- Kirsner, R.S. and Eaglsterin, W.H. 1993. The wound healing process. *Dermatologic Clinics*, 11 (4), 629-640.
- Klock, C., Di Raimondo, T.R. and Khosla, C. 2012. Role of transglutaminase 2 in celiac disease pathogenesis. *Seminars in Immunopathology*, 34 (4), 513–522.
- Konstantinova, N.V., Duong, D.M., Remenyik, E., Hazarika, P., Chuang, A. and Duvic, M. 1996. Interleukin-8 is induced in skin equivalents and is highest in those derived from psoriatic fibroblasts. *Journal of Investigation Dermatology*, 107 (4), 615–621.
- Krasnikov, B.F., Kim, S.Y., McConoughey, S.J., Ryu, H., Xu, H., Stavrovskaya, I., Iismaa, S.E., Mearns, B.M., Ratan, R.R., Blass, J.P., Gibson, G.E. and Cooper, A.J. 2005. Transglutaminase activity is present in highly purified nonsynaptosomal mouse brain and liver mitochondria. *Biochemistry*, 44 (21), 7830–7843.
- Krishnamurthy, P., Thal, M., Verma, S., Hoxha, E., Lambers, E., Ramirez, V., Qin, G., Losordo, D. and Kishore, R. 2011. Interleukin-10 deficiency impairs bone marrowderived endothelial progenitor cell survival and function in ischemic myocardium. *Circulation Research*, 109 (11), 1280-1289.

- Kuncio, G.S., Tsyganskaya, M., Zhu, J., Liu, S.L., Nagy, L., Thomazy, V., Davies, P.J.A. and Zern, M.A. 1998. TNF-alpha modulates expression of the tissue transglutaminase gene in liver cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 274 (2/1), G240–G245.
- Kuru, M. 1994. Omurgalı Hayvanlar. Gazi Eğitim Fakültesi Yayını, No: 22, Gazi Üniversitesi İletişim Fakültesi Matbaası, 841 s., Ankara.
- Küçük, F. 2010. Yara iyileşmesinde sistemik EGF uygulamasının karaciğer dokusu kollajen ve protein düzeylerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Lai, T.S. and Greenberg, C.S. 2014. TGM2 and implications for human disease: role of alternative splicing. *Frontiers in Bioscience*, 18 (2), 504–519.
- Lee, J., Kim, Y.S., Choi, D.H., Bang, M.S., Han, T.R., Joh, T.H. and Kim, S.Y. 2004. Transglutaminase 2 induces nuclear factor-B activation via a novel pathway in BV-2 microglia. *The Journal of Biological Chemistry*, 279 (51), 53725–53735.
- Leung, A., Balaji, S., Le, L., Marsh, E., Dhamija, Y., Sharma-Crawford, I., Habli, M., Crombleholme, T.M. and Keswani, S.G. 2013. Interleukin-10 and hyaluronan are essential to the fetal fibroblast functional phenotype. *Journal of Surgical Research*, 179 (2), 257-258.
- Li, J., Zhang, Y.P. and Kirsner, R.S. 2003. Angiogenesis in wound repair: Angiogenic growth factors and extracellular matrix. *Microscopy Research and Technique*. 60, 107-114.
- Li, J., Chen, J. and Kirsner, R.S. 2007. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25 (1), 9-18.
- Liechty, K.W., Kim, H.B., Adzick, N.S. and Crombleholme, T.M. 2000. Fetal wound repair results in scar formation in interleukin-10-deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair. *Journal of Pediatric Surgery*, 35 (6), 866-872.
- Liu, S., Cerione, R.A. and Clardy, J. 2002. Structural basis for the guanine nucleotide-binding activity of tissue transglutaminase and its regulation of transamidation activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99 (5), 2743–2747.
- Lorand, L., Jeong, J.M., Radek, J.T. and Wilson, J. 1993. Human plasma factor XIII subunit interactions and activation of zymogen. *Methods in Enzymology*, 222, 22-35.
- Lorand, L. and Graham, R.M. 2003. Transglutaminases: crosslinking enzymes with pleiotropic functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4 (2), 140 –156.
- Mangala, L.S. and Mehta, K. 2005. Tissue transglutaminase (TG2) in cancer biology. *Progress in Experimental Tumor Research*, 38, 125–138.
- Marx, M., Perlmutter, R.A. and Madri, J.A. 1994. Modulation of platelet-derived growth factor receptor expression in microvascular endothelial cells during in vitro angiogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 93 (1), 131- 139.

- Mearns, B., Nanda, N., Michalicek, J., Iismaa, S. and Graham, R. 2002. Impaired wound healing and altered fibroblast cytoskeletal dynamics in Gh knockout mice. *Minerva Biotechnologica*, 14, 218.
- Mehta, K. and Eckert R. 2005. Transglutaminases family of enzymes with diverse functions. Karger, 38, Switzerland.
- Mehta, K., Fok, J.Y. and Mangala, L.S. 2006. Tissue transglutaminase: from biological glue to cell survival cues. *Frontiers in Bioscience*, 11 (1), 173–185.
- Mehta, K., Kumar, A. and Kim, H.I. 2010. Transglutaminase 2: A multi-tasking protein in the complex circuitry of inflammation and cancer. *Biochemical Pharmacology*, 80, 1921-1929.
- Milakovic, T., Tucholski, J., McCoy, E. and Johnson, G.V.W. 2004. Intracellular localization and activity state of tissue transglutaminase differentially impacts cell death. *The Journal of Biological Chemistry*, 279 (10), 8715–8722.
- Mishra, S. and Murphy, L.J. 2004. Tissue transglutaminase has intrinsic kinase activity. Identification of transglutaminase 2 as an insulin-like growth factor-binding protein-3 kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, 279 (23), 23863– 23868.
- Murthy, S.N.P., Lomasney J.W., Mak, E.C. and Lorand, L. 1999. Interactions of Gh/transglutaminase with phospholipase C $\delta$ 1 and with GTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 96 (21), 11815–11819.
- Murthy, S.N.P., Iismaa, S., Begg, G., Freymann, D.M., Graham, R.M. and Lorand L. 2002. Conserved tryptophan in the core domain of transglutaminase is essential for catalytic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 99 (5), 2738–2742.
- Musalmah, M., Nizrana, M.Y., Fairuz, A.H., NoorAini, A.H., Azian, A.L., Gapor, M.T. and Wan Ngah, W.Z. 2005. Comparative effects of palm vitamin E and  $\alpha$ -tocopherol on healing and wound tissue antioxidant enzyme levels in diabetic rats. *Lipids*, 40 (6), 575-580.
- Mutsaers, S.E., Bishop, J.E., Mcgrouter, G. and Laurent, G.J. 1997. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 29 (1), 5-17.
- Nanba, D., Toki, F., Barrandon, Y. and Higashiyama, S. 2013. Recent advances in the epidermal growth factor receptor/ligand system biology on skin homeostasis and keratinocyte stem cell regulation. *Journal of Dermatology Science*, 72 (2), 81-86.
- Nicholas, B., Smethurst, P., Verderio, E., Jones, R. and Griffin, M. 2003. Cross-linking of cellular proteins by tissue transglutaminase during necrotic cell death: a mechanism for maintaining tissue integrity. *Biochemical Journal*, 371 (2), 413–422.
- Nishiura, H., Shibuya, Y. and Yamamoto, T. 1998. S19 ribosomal protein cross-linked dimer causes monocyte-predominant infiltration by means of molecular mimicry to complement C5a. *Laboratory Investigation*, 78 (12), 1615–1623.

- Odi, B.O. and Coussons, P. 2014. Biological functionalities of transglutaminase 2 and the possibility of its compensation by other members of the transglutaminase family. *The Scientific World Journal*, 2014 (714561), 1-13.
- Öztopalan, D.F., Işık, R. ve Durmuş, A.S. 2017. Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinlerin rolü. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10 (1), 83-88.
- Pakış, I. 2016. Yara yaşı ve canlılık değerlendirmesinde güncel yaklaşım. *Adli Tıp Bülteni*, 21 (3), 183-188.
- Palmieri, B. 1992. Heterologous collagen in wound healing: A clinical study. *International Journal of Tissue Reactions*, 14, 21-25.
- Parks, W.C. 1999. Matrix metalloproteinases in repair. *Wound Repair Regeneration*, 7 (6), 423 - 432.
- Pietroni, V., Di Giorgi, S., Paradisi, A., Ahvazi, B., Candi, E. and Melino, G. 2008. Inactive and highly active, proteolytically processed transglutaminase- 5 in epithelial cells. *Journal of Investigation Dermatology*, 128 (12), 2760–2766.
- Pinkas, D.M., Strop, P., Brunger, A.T. and Khosla, C. 2007. Transglutaminase 2 undergoes a large conformational change upon activation. *PLoS Biology*, 5 (12), e327.
- Piredda, L., Amendola, A., Colizzi, V., Davies, P.J.A., Farrace, M.G., Fraziano, M., Gentile, V., Uray, I., Piacentini, M. and Fe'sus, L. 1997. Lack of tissue transglutaminase protein crosslinking leads to leakage of macromolecules from dying cells: relationship to development of autoimmunity in MRLlpr/lpr mice. *Cell Death Differentiation*, 4 (6), 463–472.
- Polat, O., İnanıcı, M.A. ve Aksoy, M.E. 1997. *Adli Tıp Ders Kitabı*. Nobel Tıp Kitabevi, 98-101, İstanbul.
- Qin, V., Guo, X.W., Li, L., Wang, H.W. and Kim, W. 2013. The antioxidant property of chitosan green tea polyphenols complex induces transglutaminase activation in wound healing. *Journal of Medicinal Food*, 16 (6), 487-498.
- Regan, M.C. and Barbul, A. 1994. The cellular biology of wound healing. *Wound Healing*, 1: 3-17.
- Ricchetti, E.T., Reddy, S.C., Ansorge, H.L., Zgonis, M.H., Van Kleunen, J.P., Liechty, K.W., Soslowsky, L.J. and Beredjiklian, P.K. 2008. Effect of interleukin-10 overexpression on the properties of healing tendon in a murine patellar tendon model. *Journal of Hand Surgery*, 33 (10), 1843-1852.
- Ritchie, H., Lawrie, L.C., Crombie, P.W., Mosesson, M.W. and Booth, N.A. 2000. Cross-linking of plasminogen activator inhibitor 2 and alpha 2-antiplasmin to fibrin(ogen). *Journal of Biological Chemistry*, 275, 24915–24920.
- Saaristo, A., Tammela, T., Farkkila, A., Karkkainen, M., Suominen, E., Herttuala, S. and Aitalo, K. 2006. Vascular Endothelial Growth Factor-C Accelerates Diabetic Wound Healing. *The American Journal of Pathology*, 169 (3), 1080-1087.

- Santoro, M.M. and Gaudino, G. 2005. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. *Experimental Cellular Research*, 304 (1), 274-286.
- Sarkar, N.K., Clarke, D.D. and Waelsch, H. 1957. An enzymically catalyzed incorporation of amine into proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 25 (2), 451-452.
- Satchwell, T.J., Shoemark, D.K., Sessions, R.B. and Toye, A.M. 2009. Protein 4.2: a complex linker. *Blood Cells, Molecules and Diseases*, 42 (3), 201–210.
- Sato, Y., Ohshima, T. and Kondo, T. 1999. Regulatory role of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflammatory response of murine wound healing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 265 (1), 194-199.
- Senger, D.R., Claffey, K.P. and Benes, J.E. 1997. Angiogenesis promoted by vascular endothelial growth factor: regulation through  $\alpha 1\beta 1$  and  $\alpha 2\beta 1$  integrins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 94 (25), 13612 – 13617.
- Shah, M., Revis, D., Herrick, S., Baillie, R., Thorgeirson, S., Ferguson, M. and Roberts, A. 1999. Role of elevated plasma transforming growth factor $\beta 1$  levels in wound healing. *The American Journal of Pathology*, 154 (4), 1115–1124.
- Shi, J.H., Guan, H., Shi, S., Cai, W.X., Bai, X.Z., Hu, X.L., Fang, X.B., Liu, J.Q., Tao, K., Zhu, X.X., Tang, C.W. and Hu, D.H. 2013. Protection against TGF- $\beta 1$ -induced fibrosis effects of IL-10 on dermal fibroblasts and its potential therapeutics for the reduction of skin scarring. *Archives of Dermatological Research*, 305 (4), 341-352.
- Shirakata, Y., Kimura, R., Nanba, D., Iwamoto, R., Tokumaru, S., Morimoto, C., Yokota, K., Nakamura, M., Sayama, K., Mekada, E., Higashiyama, S. and Hashimoto, K. 2005. Heparin-binding EGF-like growth factor accelerates keratinocyte migration and skin wound healing. *Journal of Cell Science*, 118 (11), 2363-2370.
- Singer, A.J. and Clark, R.A. 1999. Cutaneous wound healing. *The New England Journal of Medicine*, 341 (10), 738–746.
- Skill, N.J., Griffin, M., Coutts, I., Fisher, M., Huang, L., Nahas, A.E. and Johnson, T. 2004. Inhibition of transglutaminase (Tg) activity reduces the extracellular matrix (ECM) accumulation characteristic of high glucose levels in proximal tubular cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 279 (46), 47754 –47762.
- Soysal, Z. ve Çakalır, C. 1999. *Adli Tıp. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul.*
- Stadelmann, W.K., Digenis, A.G. and Tobin, G.R. 1998. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*, 176 (2A), 26-38.
- Steinert, P.M., Kim, S.Y., Chung, S.I. and Marekov, L.N. 1996. The transglutaminase 1 enzyme is variably acylated by myristate and palmitate during differentiation in

- epidermal keratinocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 271 (42), 26242–26250.
- Stephens, P., Grenard, P., Aeschlimann, P., Langley, M., Blain, E., Errington, R., Kipling, D., Thomas, D. and Aeschlimann, D. 2004. Crosslinking and G-protein functions of transglutaminase 2 contribute differentially to fibroblast wound healing responses. *Journal of Cell Science*, 117 (15), 3389-3403.
- Steven, J.P. 2000. Physiology of wound healing and surgical wound care. *ASAIO Journal*, 46 (6), 2-5.
- Sturniolo, M.T., Dashti, S.R., Deucher, A., Rorke, E.A., Broome, A.M., Chandraratna, R.A., Keepers, T. and Eckert, R.L. 2003. A novel tumor suppressor protein promotes keratinocyte terminal differentiation via activation of type I transglutaminase. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (48), 48066–48073.
- Sturniolo, M.T., Chandraratna, R.A. and Eckert, R.L. 2005. A novel transglutaminase activator forms a complex with type 1 transglutaminase. *Oncogene*, 24 (18) 2963–2972.
- Sultana, J., Molla, M.R., Kamal, M., Shahidullah, M., Begum, F. and Bashar, M.A. 2009. Histological differences in wound healing in Maxillofacial region in patients with or without risk factors. *Bangladesh Journal of Pathology*, 24 (1) : 3-8.
- Sultana, J., Molla, M.R., Kamal, M. and Bashar, M.A. 2010. Healing of surgical wounds in Maxillofacial region - a Bangladesh study. *Pakistan Oral & Dental Journal*, 30 (2), 277-282.
- Szondy, Z., Sarang, Z., Molnar, P., Nemeth, T., Piacentini, M., Mastroberardino, P.G., Falasca, L., Aeschlimann, D., Kovacs, J., Kiss, I., Szegezdi, E., Lakos, G., Rajnavolgyi, E., Birckbichler, P.J., Melino, G. and Fesus, L. 2003. Transglutaminase 2-/- mice reveal a phagocytosis-associated crosstalk between macrophages and apoptotic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 100 (13), 7812–7817.
- Şener, M.T. ve Set, T. 2013. Mekanik travmatik yaraların adli raporlarda tanımlanması: Tıbbi ve hukuki önemi. *Smyrna Tıp Dergisi*, 2, 56.
- Şenol, M. 1995. Yara iyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, 5, 49-53.
- Telci, D. and Griffin, M. 2006. Tissue transglutaminase (TG2) - a wound response enzyme. *Frontiers in Bioscience*, 11, 867-882.
- Telci, D., Wang, Z., Li, X., Verderio, E.A.M., Humphries, M.J., Baccarini, M., Basaga, H. and Griffin, M. 2008. Fibronectin-TG2 matrix rescues RGD-impaired cell adhesion through syndecan-4 and  $\beta$ 1 integrin co-signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 283 (30), 20937–20947.
- Theoret, C.L. 2005. The pathophysiology of wound repair. *Veterinary Clinics Equine*, 21, 1-13.

- Thomazy, V.A. and Davies, P.J. 1999. Expression of tissue transglutaminase in the developing chicken limb is associated both with apoptosis and endochondral ossification. *Cell Death Differentiation*, 6 (2), 146–154.
- Tong, L., Png, E., Aihua, H., Yong, S.S., Yeo, H.L., Riau, A., Mendoz E., Chaurasia, S.S., Lim, C.T., Yiu, T.W. and Iismaa, S.E. 2013. Molecular mechanism of transglutaminase -2 in corneal epithelial migration and adhesion. *Biochimica Biophysica Acta*, 1833 (6), 1304-1315.
- Tuncer, S.S., Aygün, T., Çelen, M.F., Karakuş, K. ve Keskin, S. 2016. An economic livestock activity: leather industry. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 9 (1), 86-88.
- Upchurch, H.F., Conway, E., Patterson, M.K.Jr. and Maxwell, M.D. 1991. Localization of cellular transglutaminase on the extracellular matrix after wounding: characteristics of the matrix bound enzyme. *Journal of Cellular Physiology*, 149 (3), 375–382.
- Uzer, N. 2007. Sıçanlarda deri fleplerinin yaşayabilirliğinde curcumin kullanımının etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, SB Şişli Etfal Eğ. ve Araş. Has. Plastik, Rekonstruktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, 57, İstanbul.
- Verderio, E.A.M., Telci, D., Okoye, A., Melino, G. and Griffin, M. 2003. A novel RGD-independent cell adhesion pathway mediated by fibronectin bound tissue transglutaminase rescues cells from anoikis. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (43), 42604–42614.
- Verderio, E.A., Johnson, T. and Griffin, M. 2004. Tissue transglutaminase in normal and abnormal wound healing: review article. *Amino Acids*, 26 (4), 387–404.
- Verma, S.K., Krishnamurthy, P. and Barefield, D. 2012. Interleukin-10 treatment attenuates pressure overload-induced hypertrophic remodeling and improves heart function via signal transducers and activators of transcription 3-dependent inhibition of nuclear factor-kappa B. *Circulation*, 126 (4), 418-429.
- Vidinsky, B., Gal, P., Toporcer, T., Langauer, F., Lenhardt, L., Borbov, N. and Sabo, J. 2006. Histological study of the first seven days of skin wound healing in rats. *Acta Veterinaria Brno*, 75 (2), 197-202.
- Wiegand, C. and Hipler, U. 2008. Methods for the measurement of cell and tissue compatibility including tissue regeneration processes. *GMS Krankenhhyg Interdiszip*, 3 (1), 1-9.
- Xing, B., Wu, F., Li, T., Qi, S., Xie, J. and Ye, Z. 2013. Experimental study of comparing rhEGF with rhβFGF on improving the quality of wound healing. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 6 (8), 655-661.
- Xu, L., Begum, S., Hearn, J.D. and Hynes, R.O. 2006. GPR56, an atypical G protein-coupled receptor, binds tissue transglutaminase, TG2, inhibits melanoma tumor growth and metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 103 (24), 9023–9028.

- Xue, M., Le, N.T. and Jackson, C.J. 2006. Targeting matrix metalloproteases to improve cutaneous wound healing. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 10(1), 143-155.
- Yan, X., Chen, B., Lin, Y., Li, Y., Xiao, Z., Hou, X., Tan, Q. and Dai, J. 2010. Acceleration of diabetic wound healing by collagen-binding vascular endothelial growth factor in diabetic rat model. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 90 (1), 66-72.
- Zemskov, E.A., Janiak, A., Hang, J., Waghray, A. and Belkin, A.M. 2006. The role of tissue transglutaminase in cell-matrix interactions. *Frontiers in Bioscience*, 11: 1057–1076.
- Zemskov, E.A., Loukinova, E., Mikhailenko, I., Coleman, R.A., Strickland, D.K. and Belkin, A.M. 2009. Regulation of platelet-derived growth factor receptor function by integrin-associated cell surface transglutaminase. *The Journal of Biological Chemistry*, 284 (24), 16693–16703.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Orçun İŞLER ÖZGÜN

Doğum Yeri : ANKARA

Doğum Tarihi : 07.07.1986

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Aydınlikevler Lisesi (2005)

Lisans : Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009)

Yüksek Lisans : Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 2009 – Mayıs 2012)

### Çalıştığı Kurum ve Yıl :

Kastamonu Üniversitesi İhsangazi M.Y.O Veterinerlik Bölümü– 2013- Devam ediyor

### Hakemli Dergiler

O İşler, HC Vural; Reproduction by Seed and Tissue Culture of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Growing in Turkey. *Journal of Applied Biological Sciences*; 4 (1): 55-58, 2010.

HC Vural, O Isler; Identification of Genotype and Allelic Frequencies of Vitamin D Receptor Gene (Taq1) Polymorphisms in T1DM Patients from Turkey Achievements. *Journal of Applied Biological Sciences*; 5 (3): 39-42, 2011.

O İşler, N Turaçlar, HC Vural; Apoptosis and Cancer: Mutations Relationship within Caspase 2 Genes in Turk Male Patients. *International Journal of Medical Research and Review*; 3(1), January - February, 2015.