

Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres

Halil AKSOY, Özlem BİNGÖL ÖZAKPINAR

ÖZET

Aerobik hücrelerin normal metabolik yollarında bulunan çeşitli enzimler ile travma, enfeksiyon, reperfüzyon ve inflamasyon gibi çevresel faktörler reaktif oksijen türlerini (ROT) oluşturur. Bu radikaller bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron içeren moleküller olup, yüksek kimyasal aktivitelerinden dolayı hücrel makromoleküllerin hasarına neden olurlar. Son yıllarda oksidatif stresin hem savunma sisteminde hem de yara iyileşmesinde de rol aldığı birçok çalışmada ortaya konmuştur. Diğer taraftan, yara

iyileşmesinde büyük bir role sahip olan ROT'un etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, ROT'un oluşumu ve oluşan bu ürünlerin detoksifikasyonu yara iyileşmesinde büyük önem kazanmaktadır. Bu da tedavi için yeni yöntemlerin gelişmesine önemli katkılar sağlayacaktır. Bu çalışmada, yara iyileşmesinde rolü olan çeşitli antioksidan moleküller ile ROT' un detoksifiye enzimleri anlatılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, oksidatif stres, reaktif oksijen türleri, yara iyileşmesi

1. GİRİŞ

Yara iyileşmesi hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon ve yeniden modellenme (remodeling) olmak üzere birbirinden farklı üç fazdan oluşmaktadır (1). Dokuda yaralanma sonucu damarlar açılır ve trombositler yara bölgesinde hücrel bir plak oluşturarak hemostazı başlatır. Yara bölgesinde açığa çıkan subendotelde bulunan kollagen ve mikrofibriller trombositleri aktive ederek trombositlerin adezyonuna neden olur. Subendotele yapışan trombositlerden salınan araşidonik asit metabolitleri, proteazlar ve çeşitli büyüme faktörleri inflamasyon sürecinin oluşumuna katkıda bulunurlar. İnflamasyon, artmış vasküler geçirgenlik ve kompleman sistemin aktivasyonu sonucu başta nötrofiller olmak üzere farklı immunolojik hücreler yara bölgesine göç ederler. Bu immunolojik hücreler bir yandan preotolitik enzimler ve sitokinleri salgılayarak, diğer taraftan serbest radikalleri salgılamaya başlayarak yabancı organizmalara karşı yarayı koruyucu bir görev üstlenirler. Bu fazın sonunda immunolojik hücrelerin sayısı azalmaya başlar; endotel hücreleri ve fibroblastlar yara bölgesinde ortaya çıkarak proliferatif fazı başlatırlar. Proliferatif faz; anjiyogenez,

Halil Aksoy, Özlem Bingöl Özakpınar
Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

Sorumlu Yazar:

Halil Aksoy
Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,
Üsküdar, İstanbul, Türkiye
Tel: 0 216 414 29 63-1168
E-mail: haksoy@marmara.edu.tr

kollagen üretimi ve depolanması ve yara kontraksiyonu ile karakterize edilir. Anjiyogenezde, epitel hücrelerden yeni kan damarları oluşturularak yeni hücreler için besin ve oksijen sağlanmış olur. Epitelizasyonda, epitel hücreleri çoğalarak yara bölgelerine yayılırlar. Diğer taraftan, fibroblastlar yara bölgesinde proliferasyona uğrar ve miyofibroblastlara dönüşerek çoğalırlar. Geçici ekstraselüler matriksi oluşturmak için kollagen ve fibronektini sağlayarak yeni bağ dokusu şeklini oluştururlar. Kollagen önemli bir komponent olup ekstraselüler dokuyu destekler ve büyük miktarda hidroksi prolin içerir. Yara kontraksiyonu miyofibroblastların kontraksiyonu ile gerçekleşir. Yara iyileşmesinin erken döneminde keratinositler ortaya çıkarak reepitelizasyonu başlatır. Böylece kayıp dokunun yerine yeni granüle doku oluşmaya başlar. Bu olayı takiben, keratonositlerin farklılaşarak dermisi oluşturmasıyla da yeniden modellenme (remodelling) fazı başlar. Hücresel matriksin oluşumundan sonra başlayan bu fazın en önemli özelliği yarada kollagen birikiminin olmasıdır. Daha sonra glikozaminoglikan (GAG) ve proteoglikanların yardımı ile kollagen sentezi başlatılır. Önceleri ince iplikler biçiminde olan kollagen fibrillerinin çapraz etkileşimi sonucu kalınlıkları giderek artar. Yaklaşık 1 yıldan daha uzun süre alan bu fazda, yaranın mekanik gücü giderek artar (2,3).

1.1. Yara İyileşmesinde Oksidatif Stresin Önemi

Yara iyileşmesi, deri veya yumuşak dokunun zedelenmesini takiben birbirini izleyen olayları kapsayan ve birbirinden farklı faktörler tarafından düzenlenen bir süreçtir. Yara iyileşmesine etki eden faktörlerden biri olan ROT, normal metabolik olaylar esnasında özellikle bir enzim kompleks sistemi olan NADPH oksidaz tarafından üretilir. Bu ürünlerden hidrojen peroksit (H_2O_2) bir radikal değildir fakat hücrelerde önemli hasarlara yol açabilir (4). H_2O_2 özellikle demir ve bakır iyonlarının varlığında hidroksil radikallerini oluşturarak şiddetli hücre hasarına neden olur. ROT normalde yara bölgesinde patojen mikroorganizmalara karşı savunma sistemi için gereklidir. Nötrofiller ve makrofajlar, oksidasyon sonucu büyük miktarda ROT oluştururlar ve oluşan ROT yabancı organizmaların ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar. Diğer taraftan, bu fagositik hücrelerden salınan ROT aynı zamanda doku hasarına neden olarak çevre dokularda da yara oluşturabilir (5). Yaralı bölgede endotelial hücrelerin inflamasyonu sonucu sürekli olarak oluşan süperoksit anyonu (O^-) ve H_2O_2 mikrovaskular kan akımını düzenleyerek yeni damarların proliferasyonunu uyarır ve yara bölgesinin aktivitesi için düzenli besin ve oksijen sağlar. Ayrıca, düşük miktardaki ROT hücre içi sinyal iletiminde aracı olarak da fonksiyon yapar (6).

Daha önce de belirtildiği gibi serbest radikaller ya da oksidanlar yara bölgesinde doku hasarına yol açarak iyileşme olayını bozabilmektedir. Özellikle, hidroksil radikalleri ve O^- anyonu, kollagen yapısında bulunan hidroksiprolin ve prolini parçalayarak fibroblastların adezyon, proliferasyon ve canlılığını değiştirebilirler. Aynı zamanda H_2O_2 bir yandan keratinositlerin göçünü inhibe ederken diğer yandan epidermal büyüme faktörü (EGF) sinyal iletimini inhibe ederek fibroblastlarda ciddi hasarlara yol açar (7). Özellikle kronik yaralarda güçlü bir inflamatuvar infiltrasyon ve ROT yüksekliği oksidatif stresin varlığını göstermektedir. Yüksek miktarlarda oluşan ROT sitotoksikiteye neden olarak yara iyileşmesini geciktirmektedir. Bu nedenle ROT' un elimine edilmesi özellikle kronik yaraların iyileşmesinde önemli bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır.

Birçok hastalığın patogeneğinde ROT ölçülerek dokudaki hasarın şiddeti belirlenmektedir. Yara iyileşmesinde oksidanlar iyileşmenin her evresinde rol oynamakla beraber ROT miktarının inflamatuvar fazda en yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Örneğin, hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan 8-isoprostan, oksidatif stres belirteci olup hücre membranların yapı ve fonksiyonunu bozmaktadır. Kronik venöz ülserlerin yara sıvısında bu belirtecin yüksek olduğu rapor edilmiştir. (8).

Diyabetlilerde normal yara iyileşmesi gerçekleşmediğinden oksidatif stres, hastalığın komplikasyonları sırasında farklılıklar göstermektedir. Artan DNA, protein ve lipid peroksidasyon ürünleri diyabetlilerde oksidatif stresin yüksek olduğunun göstergesidir (9). Diyabetli hastaların artan oksidatif stres seviyelerinin glukozun otoksidasyonu, ilerlemiş glikasyon ve anormal mitokondriyel fonksiyonlardan kaynaklandığı bilinmektedir (10). Diyabetli hayvanlarda oksidatif stres fibroblastlarda şiddetli hasarlar oluşturur, kollagen fibrillerin yapımı azalır ve sürekli inflamasyondan dolayı aşırı ROT yapımı ve azalan antioksidan durum söz konusudur. Kollagen, fibroblastlar tarafından sentezlendiği için serbest radikallere karşı çok hassas olup, kollagen içeriğindeki azalma diyabetlilerde fibroblastların sayısal azalmasına bağlanabilir (11,12). Diyabetlilerde yara kontraksiyon hızı normale göre yavaştır ve anormal reepitelizasyon ve granülasyon dokusu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, sinir büyüme faktörü (NGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) seviyelerinin normale göre diyabetlilerde düşük olduğu belirlenmiştir (13, 14). Yaralanmayı takiben ROT ürünlerinin artması, bu büyüme faktörlerini sentezleyen hücrelerinin hasara uğramalarına neden olur. Bunun

sonucunda da fibroblast, makrofaj ve keratinositlerde mediatörlerin sentezi ve sekresyonu azalmaktadır.

Yetersiz kan akımıyla sonuçlanan iskemik yaralarda dokuda lökosit sayısında hızla artış ve nekroz meydana gelir. İskemi periyodu boyunca ve reperfüzyondan sonra bölgeye göç eden nötrofiller tarafından çok fazla miktarlarda oluşturulan süperoksit anyonu, endotel hücre hasarına neden olmaktadır (13,15).

Termal yaralarda oksidanların, şiddetli sistemik ve lokal hasarlara neden olduğu ortaya konmuştur. Yanıklarda, nötrofillerin intravasküler yolla bölgeye akın etmeleri serbest radikallerinin oluşumunu arttırmaktadır. Ortaya çıkan ROT, ödem permabilitesinin gelişiminden sorumludur (16). Lokal yanık yaralarda da antioksidan seviyeleri önemli derecede azalmaktadır. Hayvan ve insanlarda yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin oluşturduğu hasarların antioksidan bileşiklerin topikal uygulanımı sonrasında önemli derecede iyileştiği gösterilmiştir (17, 18)

1.2. Antioksidan Moleküller

1.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, oksidasyon sonucu NADPH tarafından oluşan süperoksit anyonlarını moleküler oksijen ve hidrojen peroksit katalize eden enzim olup ökaryotik hücrelerde üç çeşidi bulunmaktadır: SOD1 (Cu/Zn SOD), oksidatif savunma sistemin önemli komponenti olup 32 000 molekül ağırlığındadır ve sitoplazmada bulunur. Dimerik yapıda olan SOD1, Cu/Zn bağımlı olup yara iyileşmesinin farklı fazlarında ekili olmakla beraber inflamasyon fazın erken dönemlerinde daha etkili olmaktadır (19). Topikal olarak uygulandığında yara iyileşme sürecini kısalttığı gösterilmiştir (20).

SOD2 (Mn SOD), Mn bağımlı olup 22 000 molekül ağırlığındadır ve mitokondride bulunur. Deri yaralanmalarında granülasyon dokusu nötrofilleri tarafından yüksek seviyede salınmaktadır (21).

SOD3, 135 000 molekül ağırlığında tetramer yapıda olup plazmada, lenfoid dokularda ve serebrospinal sıvıda bulunur. Ekstraselüler bölgede lokalize olup, kollagen tip 1 ve heparan sülfata bağlanma eğilimi vardır. Başta fibroblastlar olmak üzere çeşitli hücrelerce salınmaktadır. Başlıca fonksiyonu nitrik oksit ile reaksiyona girerek peroksinitrit radikallerini oluşturmak ve nitrik oksidin vasodilatör etkisini sürdürmektir. Glikoprotein yapıda olup Cu ve Zn iyonlarını içerir. SOD1 ile aynı reaksiyonları katalizler (19, 21,22).

1.2.2 Katalaz

Katalaz 240 000 molekül ağırlığında tetramerik alt ünitelerden oluşan hem-enzim kompleksi olup oksidatif strese karşı önemli rolü olan bir enzimdir. Hücre içi H_2O_2 seviyesini düzenlemekte görev alır. Peroksizom ve mitokondride fazla miktarda bulunmakla birlikte daha az miktarlarda ise sitoplazma ve endoplazmik retikulumda bulunur (23). Yara iyileşmesi esnasında proliferasyon dönemdeki granülasyon dokusunda enzim ekspresyonu oldukça yüksek bulunmuştur. Yara bölgesinde H_2O_2 radikallerinin oluşumunu önleyerek detoksifikasyonda önemli rol oynar. H_2O_2 seviyesinin yara bölgesinde düşük seviyede olması katalaz enzimin düzenleyici görevlerindedir (24).

1.2.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, memelilerde antioksidan savunma sisteminin önemli bir komponenti olup genellikle selenyum varlığında aktivite gösterir. Farklı dokularda bulunan ve beş farklı izoenzime sahip olan GSH-Px enzimin çoğu sitosol ve mitokondride lokalize olup H_2O_2 için önemli bir radikal süpürücüdür. Düşük konsantrasyonlardaki H_2O_2 , öncelikle GSH-Px tarafından temizlenir. Bu enzim, redükte glutatyonun okside glutatyonla çevrildiği ortamda yüksek spesifite ile hidrojen peroksidin zararlı etkisini önlemektedir. Redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) haline dönüştüğü reaksiyonda, GSH-Px enzimiyle hidrojen peroksit suya indirgenmiş olur. Daha sonra glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon ile NADPH harcanarak, okside glutatyon tekrar redükte hale gelir (25).

Bu enzimler inflamatuvar dönemde yara bölgesinde yüksek seviyede bulunmaktadır. GSH-Px yara iyileşmesinin inflamatuvar fazında bütün izoformlarıyla yoğun bir biçimde ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stresin yoğun olduğu durumlarda ROT ürünlerine karşı direnç oluşturarak keratonisitlerin proliferasyonunu uyarmaktadır (25). Steiling ve arkadaşları tarafından yapılan yara iyileşmesi çalışmasında, yara dokusunda oksidatif stresle birlikte GPx seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca iyileşme esnasında artan antioksidan enzim ekspresyonunun artan oksidatif strese uyum amacıyla arttığı ileri sürülmüştür (21).

1.2.4. Vitamin E

Çok uzun yıllardan beri deneysel ve klinik dermatolojide kullanılan ve antioksidan özelliğe sahip yağda çözünen bir vitamindir (26). E vitamini, membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asidlerinin oksidasyonu sonucu oluşan peroksil radikallerinden hücreleri koruyarak antioksidan etki göstermektedir. Vitamin E'nin yara iyileşmesi üzerine etkinliği konusunda çeşitli çalışmalar

bulunmaktadır. Diyabetik farelerde, topikal vitamin E uygulaması ile oksidatif stresin azaldığı, kollagen içeriğinin artarak yara iyileşmesinde anlamlı düzelmeler görüldüğü gösterilmiştir (27). Benzer şekilde, Musalmah ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada oral olarak uygulanan E vitamininin diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesi sürecinde oksidatif stresi azaltarak GSH seviyelerini arttırdığını göstermişlerdir (28). Son zamanlarda yapılan başka bir çalışmada ise, keloid yara tedavisinde vitamin E içeren bir topikal solüsyonun etkinliği rapor edilmiştir (29).

1.2.5. Vitamin C

Askorbik asit (AA) olarak da bilinen Vitamin C, yara iyileşmesinin bütün aşamalarına katılan bir antioksidan olup aynı zamanda birçok enzimatik reaksiyon için gereklidir. İnflamasyon fazında nötrofillerin apoptoz ve fagositozu için gereklidir. Proliferasyon sürecinde ise kolagenin sentezi, sekresyonu ve parçalanması olaylarında etkili bir rol üstlenir. Özellikle kollagen sentezinin sağlıklı bir biçimde sürdürülebilmesi için Vitamin C'nin homeostazisinin sıkı bir biçimde korunması gerekmektedir (30). Yaralanmalardan sonra AA'nın plazma ve dokudaki seviyeleri hızla azaldığı için AA suplementlerinin verilmesi iyileşmenin sağlanmasında etkili olabilir. Kaplan ve arkadaşları yaralanmayı takiben verilen AA'nın, iyileşmenin 7. gününde yara bölgesindeki dokuda seviyelerinin yüksek olduğunu ve böylelikle iyileşme sürecini hızlandırdığını rapor etmişlerdir (31). Buna karşın iyileşmeyen yaralarda ise AA konsantrasyonlarının iyileşme zamanına herhangi bir katkısı olmadığı bildirilmiştir (32).

İnflamatuar yanıtta oluşan radikaller özellikle hücre membranının yapısında bulunan doymamış yağ asitlerini etkilemektedir. Güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olan AA, özellikle yara bölgesindeki nötrofiller tarafından üretilen OH, H₂O₂ ve hipoklorik asit radikallerini indirgeyici özelliğe sahiptir (33). Fakat bu konuda da tam bir fikir birliği sağlanamamıştır. Bazı araştırmacılar AA'nın antioksidan özelliğini savunurken (34) diğerleri ise AA'nın özellikle demir iyonlarının varlığında oksidan etki gösterdiğini ve daha fazla serbest radikal üretimine sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir (35).

1.2.6. Karotenoidler

A vitamini yağda çözünen yaklaşık 600 sayıda bir grubu oluşturan antioksidanlardır. Bikarotenoidlerden 14 tanesi insan diyetlerinde bulunmaktadır. En yoğun şekilde β-karoten bulunur. Plazma ve dokularda β-karoten, α-karoten, likopen ve fiton şeklinde bulunurlar. Bu bileşiklerin singlet oksijeni süpürebildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak

etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (36-38). A vitaminin kornea yanığı sonrası, VEGF-A, MMP 9 ve TGF β seviyelerini azaltarak iyileşme sürecini hızlandırdığı gösterilmiştir (39).

1.2.7. Flavonoidler

Geniş bir familyayı oluşturan küçük molekül ağırlıklı bitkisel polifenolik bileşiklerden oluşmaktadır. Antioksidan özelliği yanısıra antiinflamatuvar, antiviral ve antikarsinojenik aktiviteleri bulunmaktadır. Flavonoidler peroksil, perhidroksi ve hidroksil radikallerini inhibe ederek antioksidan etki gösterirler. Özellikle, süperoksit ve H₂O₂ radikallerinin keratonositler üzerinde oluşturduğu hasarları önlemede rol aldığı gösterilmiştir (40). Bir flavonoid olan silibinin yara iyileşmesi sürecinde, GAG ve kollagen gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin üretimini artırarak sürecin hızlanmasını sağladığı ortaya konulmuştur (41). Sharrifi ve ark (2012), silmarinin yara bölgesinde epitelizasyonu artırıp, inflamasyonu azaltarak iyileşmeyi sağladığını rapor etmişlerdir (42).

1.2.8. Glutatyon (GSH)

Bir tripeptid olup hücre içi redoks durumun devamından ve oksidatif strese karşı hücreleri korumadan sorumludur. Savunma sistemimizin en önemli antioksidanı olan GSH, normal metabolik yolla sitoplazmada bir seri reaksiyon ile oluşur. GSH, mitokondrilerde 5-11mM, nükleusda 3-15mM ve sitoplazmada 1-11 mM konsantrasyonlarda bulunur (43). Yapılan literatür incelemelerinde, GSH'nın yara iyileşmesindeki rolünü ortaya koyan çok sayıda çalışmaya rastlanmıştır. GSH'nın antioksidan savunma sisteminde rol alarak azaldığı ve bu azalmanın da özellikle iyileşmeyen yaralarda iyileştirme sürecini geciktiren faktörlerden biri olduğu rapor edilmiştir (44,45). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, diyabetli hastalarda topikal olarak GSH kullanımının belirgin yara kontraksiyonu sağladığını ve biyokimyasal parametrelerin iyileştiği ve bu hastalar için gelecek vaat eden bir tedavi seçeneği olabileceği rapor edilmiştir (46).

2. SONUÇ

Yapılan çalışmalar yara iyileşmesinde ROT'un önemli bir role sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Fakat buradaki denge bıçak sırtı bir konumu göstermektedir. Yara bölgesinde açığa çıkan ROTlar, bir yandan yabancı patojenlere karşı etkili bir savunma sistemi için gerekmektedir. Diğer yandan düşük ROT seviyeleri anjiyogenezin hücre sinyalizasyonunun başlatılabilmesi için çok önemlidir. Antioksidan tedavilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı olduğunu gösteren klinik uygulamalar

bulunmaktadır. Günümüzde yara tedavisi için de çeşitli antioksidanlar kullanılmaktadır. Detoksifikasyon normal yara iyileşmesinde büyük bir öneme sahiptir. Fakat antioksidan kullanımının da bilinçli bir şekilde yapılması gerekmektedir. Literatürde de bu konuda tam bir

fikir birliği sağlanmamakla birlikte, yaranın tipine bağlı olarak bazı antioksidanların uygun dozlarda kullanımının faydalı olduğu da gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında, yara iyileşmesinde antioksidanların kullanımının tedavi için önemli bir terapötik hedef olabileceği ortaya çıkmaktadır.

Wound Healing and Oxidative Stress

ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) are produced by almost aerobic organisms as a result of normal cellular metabolic pathways and environmental factors such as trauma, infection, reperfusion and inflammation. These radicals are molecules containing one or more unpaired electrons and due to the high chemical activity they cause cellular damage. In recent years, it has been demonstrated in many studies

that oxidative stress play a role both in the defense system and wound healing. On the other hand, the mechanism of ROS which has a central role in wound healing is not fully elucidated. Therefore, formation of ROS and detoxification of these products are very importance in wound healing. This also will provide to contribute to the development of new methods for treatment. In this study, different antioxidants which have a role in wound healing and detoxifying enzyme of ROS will be described.

Keywords: Antioxidant, oxidative stress, reactive oxygen species, wound healing

KAYNAKLAR

- Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin N Amer 1997; 77: 509-28.
- Ghosh K, Clark RA. Principles of tissue engineering. Editör: Lanza R, Langer R and Vacanti J. Wound Repair. II. Basic biology of wound repair, Elsevier Academic Press, 2007; 3rd Edition, 1149-1161.
- Sen CK, Roy S. Redox signals in wound healing. Biochim Biophys Acta 2008; 1780:1348-61.
- Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. Free Radic Biol Med 2000;28: 1456-62.
- Bayir H. Reactive oxygen species. Crit Care Med 2005; 33:498-501.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Ann Bot 2003; 91:179-94.
- Yager DR, Kulina RA, Gilman LA. Wound fluids: a window into the wound environment? Int J Low Extrem Wounds 2007; 6:262-72.
- Yeoh-Ellerton S, Stacey MC. Iron and 8-isoprostane levels in acute and chronic wounds. J Invest Dermatol 2003; 121:918-25.
- Kopal C, Deveci M, Oztürk S, Sengezer M. Effects of topical glutathione treatment in rat ischemic wound model. Ann Plast Surg 2007; 58:449-55.
- Coudray C, Boucher F, Pucheu S, Leiris JD, Favier A. Relationship between severity of ischemia and oxidant scavenger enzyme activities in the isolated rat heart. Int J Biochem Cell Biol 1995; 27:61-9.
- Fujita N, Sakaguchi I, Kobayashi H, Ikeda N, Kato Y, Minamino M, Ishii M. An extract of the root of *Lithospermum erythrorhizon* accelerates wound healing in diabetic mice. Biol Pharm Bull 2003; 26:329-35.
- Shetty S, Udupa S, Udupa L. Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of *Ocimum sanctum* Linn in rats. Evid Based Complement Alternat Med 2008; 5:95-101.
- Rajasekaran NS, Nithya M, Rose C, Chandra TS. The effect of finger millet feeding on the early responses during the process of wound healing in diabetic rats. Biochim Biophys Acta 2004; 1689:190-201.
- Doxey DL, Ng MC, Dill RE, Iacopino AM. Platelet-derived growth factor levels in wounds of diabetic rats. Life Sci 1995; 57:1111-23.
- Phan TT, Wang L, See P, Grayer RJ, Chan SY, Lee ST. Phenolic compounds of *Chromolaena odorata* protect cultured skin cells from oxidative damage: Implication for cutaneous wound healing. Biol Pharm Bull 2001; 24:1373-9.
- Oner OZ, Oğünç AV, Cingi A, Uyar SB, Yalçın AS, Aktan AO. Whey feeding suppresses the measurement of oxidative stress in experimental burn injury. Surg Today 2006; 36:376-81.
- Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. Burns 2008; 34:6-17.
- Latha B, Babu M. The involvement of free radicals in burn injury: Burns 2001; 27:309-17.
- Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. J Biol Chem 1997; 272:18515-7.
- Chiumiento A, Lamponi S, Barbucci R, Domínguez A, Pérez Y, Villalonga R. Immobilizing Cu, Zn-superoxide dismutase in hydrogels of carboxymethylcellulose improves its stability and wound healing properties. Biochem (Mosc) 2006; 71: 1324-8.
- Steiling H, Munz B, Werner S, Brauchle M. Different types of ROS-Scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. Exp Cell Res 1999; 247:484-94.
- Perry JJ, Shin DS, Getzoff ED, Tainer JA. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. Biochim Biophys Acta 2010; 1804:245-62.
- Tudhope GR. Red cell catalase in health and in disease with reference to the enzyme activity in anaemia. Clin Sci 1967; 33:165-82.
- Kapoor M, Kojima F, Appleton I, Kawai S, Crofford LJ. Major enzymatic pathways in dermal wound healing: Current understanding and future therapeutic targets. Curr Opin Investig Drugs 2006; 7:418-22.
- Munz B, Frank S, Hübner G, Olsen E, Werner S. A novel type of glutathione peroxidase :expression and regulation during wound repair. Biochem J 1997; 326:579-85.
- Thiele JJ, Ekanayake-Mudiyanselage S. Vitamin E in human skin: organspecific physiology and considerations for its use in dermatology. Mol Aspects Med 2007; 28: 646-67.

27. Galeano M, Torre V, Deodato B, Campo GM, Colonna M, Sturiale A, Squadrito F, Cavallari V, Cucinotta D, Buemi M, Altavilla D. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice. *Surgery* 2001; 129:467-77.
28. Musalmah M1, Fairuz AH, Gapor MT, Ngah WZ. Effect of vitamin E on plasma malondialdehyde, antioxidant enzyme levels and the rates of wound closures during wound healing in normal and diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr* 2002; 11:448-51.
29. Perez OA, Viera MH, Patel JK, Konda S, Amini S, Huo R, Zell D, Tadicherla S, Berman B. A comparative study evaluating the tolerability and efficacy of two topical therapies for the treatment of keloids and hypertrophic scars. *J Drugs Dermatol* 2010; 9:514-8.
30. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem* 2007; 18:567-79.
31. Kaplan B, Gönül B, Dinçer S, Dinçer Kaya FN, Babül A. Relationships between tensile strength, ascorbic acid, hydroxyproline, and zinc levels of rabbit full-thickness incision wound healing. *Surg Today* 2004; 34:747-51.
32. Agrawal S, Pandey SS, Shukla VK, Kaur P. Nutritional and vitamin status of non-healing wounds in patients attending a tertiary hospital in India. *J Dermatol* 2003; 30:93-103.
33. Sarisözen B, Durak K, Dincer G, Bilgen OF. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. *J Int Med Res* 2002; 30:309-33.
34. Yilmaz C, Erdemli E, Selek H, Kinik H, Arıkan M, Erdemli B. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001; 121:426-8.
35. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119:598-620.
36. Tixier JM, Godeau G, Robert AM, Hornebeck W. Evidence by in vivo and in vitro studies that binding of pycnogenols to elastin affects its rate of degradation by elastases. *Biochem Pharmacol* 1984; 33:3933-9.
37. Paiva SAR, Russel RM. β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *J Am Coll Nutr* 1999; 18:426-33.
38. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, β -carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 13155-13176.
39. Kim EC, Kim TK, Park SH, Kim MS. The wound healing effects of vitamin A eye drops after a corneal alkali burn in rats. *Acta Ophthalmol* 2012; 90:540-6.
40. Kandaswami C, Middleton E Jr. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Adv Exp Med Biol* 1994; 366:351-76.
41. Tabandeh MR, Oryan A, Mohammad-Alipour A, Tabatabaei-Naieni A. Silibinin regulates matrix metalloproteinase 3 (stromelysin1) gene expression, hexoseamines and collagen production during rat skin wound healing. *Phytother Res* 2013; 27:1149-53.
42. Sharifi R, Rastegar H, Kamalinejad M, Dehpour AR, Tavangar SM, Paknejad M, Mehrabani Natanzi M, Ghannadian N, Akbari M, Pasalar P. Effect of topical application of silymarin (*Silybum marianum*) on excision wound healing in albino rats. *Acta Med Iran* 2012; 50:583-8.
43. Deneke SM. Thiol-based antioxidants. *Curr Top Cell Regul* 2000; 36: 151-80.
44. Rasik AM, Shukla A. Antioxidant status in delayed healing type of wounds. *Int J Exp Pathol* 2000; 81:257-63.
45. Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol* 1985; 36: 71-6.
46. Deveci M, Öztürk S, Bayram Y, Aydın A, Eken A, Şengezer M. Diyabetik yaraların tedavisinde topikal glutatyon uygulaması. *Türk Plast Rekonstr Est Cer Derg* 2005; 13:179-84.