

# Maggot Debridement Therapy and Its Important Components: Antimicrobial Agent Chymotrypsin and Protein Structure

Emrah Erdoğan<sup>1</sup>, Abdüssamed Akşit<sup>1</sup>, Ahmet Gürgeç<sup>1</sup>, Serkan Karaca<sup>1</sup>, Bora Özkan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Kayseri, Turkey.

<sup>2</sup> Reyhanlı Sevgi Hospital, Intensive Care Unit, Hatay, Turkey.

## Abstract

**Background:** There is an urgent need to support and define effective strategies in chronic wound therapies that do not respond to antibiotics. This situation causes the physicians to focus on different areas and to be interested in treatment modalities. Today, successful application of Maggot Debridement Treatment (MDT) is very interesting. The aim of this study was to isolate the chymotrypsin gene, which is effective in wound treatment, in the laboratory by using molecular methods.

**Materials and Methods:** The Erciyes University Faculty of Medicine Department of Medical Parasitology, genomic DNA was isolated from the second stage larvae from the *Lucilia sericata* colony in which we maintain the life cycle. PCR was performed using primers specific to the *L. sericata* chymotrypsin gene region. After isolation of genomic DNA (gDNA) from *L. sericata*, Chymotrypsin gene region was amplified using originally designed primers with PCR. PCR product of 455 bp was obtained.

**Results:** The in-silico analysis of amino acids encoding the protein of Chymotrypsin have shown that is approximately 25 kDa.

**Conclusions:** The *L. sericata* larvae debride the wound site and contribute to the deterioration of this biofilm with the secretion of chymotrypsin, one of the important defensin molecules. At the same time, chymotrypsin protein has important functions that accelerate wound healing and induce scar tissue formation. The treatment of chronic and non-healing wounds is complicated by various reasons, and we think that the experimental animals, which provide alternative mechanisms and the important mechanisms of these compounds, are extremely important.

**Key words:** MDT, *Lucilia sericata*, chymotrypsin, biofilm, antibiotic resistance

\*Corresponding Author: Abdüssamed Akşit. Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Kayseri, Turkey Phone: +90 352 207 66 66 E-mail: abdussamedaksit@yahoo.com.tr Received: Jul, 2019. Accepted: Dec, 2019.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



# Maggot Debridman Tedavisi ve Önemli Bileşenleri: Antimikrobiyal Ajan Kimotripsin ve Protein Yapısı

## Özet

**Amaç:** Çalışmamızda; MDT’de kullanılan *Lucilia sericata* larvalarının yara tedavisinde etkili defensin moleküllerinden kimotripsin geninin laboratuvar ortamında moleküler yöntemlerle izole edilmesi, protein yapısı, işlevsel özellikleri ve yara tedavisindeki önemine diğer bileşenlerle beraber vurgu yapılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı hayat döngüsünü devam ettirdiğimiz *L. sericata* kolonisinden alınan ikinci dönem larvalardan genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. PCR, *L. sericata* kimotripsin gen bölgesine özgü primerler kullanılarak gerçekleştirildi. Genomik DNA'nın (gDNA) *L. sericata*'dan izole edilmesinden sonra, Chymotrypsin gen bölgesi PCR ile orijinal olarak tasarlanmış primerler kullanılarak amplifiye edildi. Sonuçta 455 bp'lik PCR ürünü elde edildi.

**Bulgular:** Kimotripsin proteinini kodlayan amino asitlerin in-silico analizi yaklaşık 25 kDa olduğunu göstermiştir.

**Sonuç:** *L. sericata* larvaları yara bölgesini debride ederken önemli defensin moleküllerinden olan kimotripsin salgısı ile de bu biyofilmin bozulmasına katkıda bulunmaktadır. Aynı zamanda kimotripsin proteini yara iyileşmesini hızlandırıcı ve skar dokusu oluşumunu tetikleyen önemli işlevlere sahiptir. Kronik ve iyileşmeyen yaraların tedavisinin çeşitli nedenlerden dolayı karmaşıklaştığı günümüzde, alternatif olabilecek bileşikler ve bu bileşiklerin önemli mekanizmalarını ortaya koyan deney hayvanları çalışmalarının da son derece önemli olduğunu düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** MDT, *Lucilia sericata*, chymotrypsin, biofilm, antibiotic resistance.

## Giriş

*Lucilia sericata* tıbbi entomolojide miyaz sinekleri olarak bilinir. Miyaz sinekleri doğada hayvan leşleri ve bitkisel besinlerle beslenerek madde döngüsünde rol alırlar. Bazen insan ve hayvanların açık yaralarına yumurta veya larvalarını bırakarak miyaza neden olurlar. *L. sericata* aynı zamanda yara tedavisinde kullanılan bir türdür. Maggot Debridement Treatment (MDT)’de kullanılan steril larvalar canlı dokuyu bozmadan ölü dokuları seçerek beslenirler (1).

Maggot tedavisinin klinik gözlemlerde etkili olması, maggotların nekrotik dokuyu kaldırdığını, enfeksiyondan arınma sağladığını ve granülasyon doku oluşumunu hızlandığını göstermektedir (2). 1990’ların başında ABD’de ve 1995’den itibaren de Kanada, Avustralya, İngiltere, Almanya, İsviçre, İsveç, Finlandiya, Fransa, Avusturya, Danimarka, Ukrayna, Hollanda, Mısır, Tayland ve İsrail gibi 20’den fazla ülkede 3000’den fazla hekimin kronik ve iyileşmeyen yaraların tedavisinde yaygın olarak kullandığı bir yöntem olmuştur (1). Dekubitus ülseri, venöz bacak ülseri ve diyabetik ayak ülserleri gibi kronik, iyileşmeyen yaraların tedavilerinin BNHS’ye (British National Health Service) yıllık maliyetinin; artan cerrahi karmaşıklık, hastane enfeksiyonlarındaki artış, yaşlı nüfus artışı,

iyileşmeyen ameliyat yaralarının sayısının gelecekte artabileceği düşünüldüğünde yükselmesi beklenmektedir (1,3).

İyileşmeyen yaralarda mevcut nekrotik dokular; bakteri üremesini destekler, antibiyotik sızmasını inhibe eder, granülasyon dokusu ve daha sonraki re-epitelizasyon oluşumunu önler ve ara kontraksiyonu engeller. Kullanılan cerrahi debridman ya da bakteri kolajenazı içeren maddelerin veya karışımların etkinlikleri sınırlıdır. Mevcut debridman yöntemleri, keskin cerrahi, otolitik, hidrodinamik, biyoterapi ve enzimatik ürünleri kapsamaktadır. Biyoterapi etki mekanizması ile eksojen enzimatik debridman ürünleri arasında örtüşme vardır. *L. sericata* larvası, bazı insan analogları dahil, ortak enzimler spektrumu içeren sindirim salgıları kullanarak cansız dokuyu degrade eder (4,5). İlginç bir şekilde, bu enzimlerin bazıları, alkalın pH optimumuna sahiptir. Özel debridman ürünlerindeki streptokinaz ve kolajenaz ise, fizyolojik pH'a yakın maksimum aktiviteye sahiptir. Bu da başka bir debridman madde olarak kabul edilmiş geniş bir pH aralığında aktifliğe sahiptir (6). Salgılanan kolejenazlar, tripsin, kimotripsin benzeri enzimler sayesinde her bir kurtçuk 24 saat içerisinde 25 mg nekrotik dokuyu kaldırma kapasitesine sahiptir (7).

Larvaların vücutları kutikula tabakası ve üzerinde diken benzeri tüylerle kaplıdır. Kurtçuklar, ağız kancası kullanarak vücudun öne doğru çekilmesini sağlarlar. Yara yüzeyinde kurtçuk hareketleri ile oluşan ağrılar muhtemelen dikensi tüyler ve ağız kancasıyla ilişkilidir. Proteolitik enzimlerin yaranın sinir veya sinir uçlarının iltihaplanmasına karşı etki etmesinden dolayı ağrı oluşabilir (8). Ağrıları en aza indirmede başvurulmuş bazı uygulamalar; gündüz 6-8 saat gibi kısa süreli kurtçuk uygulaması yapmak, poşet benzeri paketlerle uygulama yapmak, küçük ve az sayıda kurtçuk kullanarak tedavi etmek şeklinde olmaktadır. Karşılaşılan ve tartışılan bir diğer sorun ise hasta kaygısı "iğrenç faktör" dür. Kronik yarası bulunan hastaların büyük çoğunluğu MDT'yi kabul etmemişlerdir. Kurtçuklarla ilgili herhangi bir alerjik reaksiyon şu ana kadar tarif edilmemiştir. Kurtçuk tedavisi agresif ilerleyen yaralarda (anaerobik ya da aerobik-anaerobik yumuşak doku enfeksiyonları ve fasiit gibi) kullanılmamalıdır. Uzuvları tehdit eden enfeksiyonlar acil olduğu için cerrahi drenaj daha uygun tedavidir. Tüm cerrahi müdahaleler yapıldıktan sonra MDT yardımcı tedavi olarak uygulanabilir (9).

Son yıllarda MDT'de kullanılan larvaların etkinliğine rağmen, tedavinin yaygın kullanımında kısıtlayıcı durumlar bulunmaktadır. Bu nedenle, rekombinant DNA teknolojisi çalışmaları ile yara tedavisinde önemli bileşiklerin ortaya çıkarılması, üretimi ve karakterizasyonu için başarılı çalışmalar devam etmektedir (10). Bu bileşenler içinde lucifensin gibi antibakteriyel, lucimycin gibi antifungal peptitlerin yanı sıra kimotripsin gibi skar dokusu oluşumunu hızlandırıcı ve biyofilm oluşumunu önleyici antimikrobiyal ajanlar yer almaktadır.

Çalışmamızda; MDT'de kullanılan *L. sericata*'nın yara tedavisinde etkili defensin moleküllerinden kimotripsin geninin laboratuvar ortamında moleküler yöntemlerle izole edilmesi, protein yapısı, işlevsel özellikleri ve kurtçuk tedavisindeki önemine diğer bileşenlerle beraber vurgu yapılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### *Lucilia sericata* Larvaları ve Üretimi

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında hayat döngüsü devam ettirilen *L. sericata* kolonisinden larvalar çalışma için alınıp kullanıldı (Şekil 1), (Şekil 2), (Şekil 3). *L. sericata* sineklerinin üretimi, 27-30°C sıcaklığa

ve %42-44 bağıl neme sahip insektaryum ünitemizde %20'lik Őeker ve karaciğer parçaları kullanılarak yapıldı. Pupalardan bir hafta boyunca 15 cm çapında, 20 cm yüksekliğinde içerisinde talaŐ olan ve ağzı tlle kapalı taŐıma kabında bekletildi. Bir haftanın sonunda pupalar talaŐ ortamından alınıp temiz ve ağzı yine tlle kapalı kafese konuldu. Yeni neslin yetiŐeđi bu kafeslere pupalardan çıkacak sineklerin protein ihtiyaçlarını karŐılayacakları ve aynı zamanda üzerine yumurtlayacakları 50 gr sığır karaciğerini veya sığır eti ve karbonhidrat ihtiyaçlarını karŐılayacakları %20'lik Őekerli su konuldu. Yaklaşık 1 günde yumurtalardan çıkan hareketli birinci dönem larva (L1) 1 gün içerisinde hareketli (L2) larva haline gelmektedir. Hareketli larva (L2) aŐamasından 1 gün sonra hareketli larva (L3) oluŐmaktadır. Hareketli larvanın (L3) 1-3 gün içerisinde hareketi yavaŐlamakta ve hareketsiz pupa evresine geçmektedir. Hareketli larva (L2) karaciğer üzerinden alınarak çalışmada kullanıldı.



Şekil 1. *L. sericata* erişkin, yumurta ve larvalarının bulunduğu kafes.



Şekil 2. Sığır karaciğerini ile beslenen *L. sericata* larvaları.



**Şekil 3.** *L. sericata*: erişkin ve yumurtalar.

### Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu (Qiagen, Almanya) dokudan DNA izolasyonu prosedürüne göre yapıldı. *L. sericata* kolonisinden alınan L2 larva 1,5 ml'lik steril ependorf tüpü içerisinde bir kürdan yardımıyla parçalandı. Üzerine 150 µl Buffer ATL eklendi ve vortekslendi. Homojen hale gelen karışım üzerine 20 µl Proteinaz K eklendi ve vortekslendi. Karışım 56°C'de 3 saat inkübe edilirken her yarım saatte bir vortekslendi. Daha sonraki işlemler kit prosedürüne uygun bir şekilde devam ettirilip sonlandırılarak elde edilen genomik DNA moleküler çalışma öncesinde -20°C'de saklandı.

### PCR

PCR çalışmasında *L. sericata*'nın kimotripsin gen bölgesine spesifik primerler *L. sericata*\_chymotrypsin\_F: 5'-CAC CGG GTC GCA TTA CAA ATG GCC-3' ve *L. sericata*\_chymotrypsin\_R: 5'-CCA AAC GAG CCC ATT GCA AA-3' kullanıldı. PCR için 12,5 µl 2x Taq Master Mix (Takara, Japonya), 3µl genomik DNA ve birer µl F ve R (20 pmol) primerlerinden oluşan 25 µl'lik karışım hazırlandı ve 95°C'de 10 dk'lık ön ısıtma ile başlayan sırasıyla 94°C denatürasyon, 56°C bağlanma, 72°C uzamadan oluşan 35 döngü sonrası 72°C'de 7 dk'lık son uzama ile biten PCR programı kullanıldı. PCR sonrası ürün, %1.5'lik agaroz jelde elektroforez edildi ve ChemiDoc Imaging Systems (Bio-Rad, ABD) jel görüntüleme cihazıyla görüntüldü.

### *L. sericata* Kimotripsin Proteininin Nükleotid Sekansı, Aminoasit Dizilimi ve Üç Boyutlu Yapısının Elde Edilmesi

DNA dizi analizi yapılarak elde edilen *L. sericata* kimotripsin gen dizisi kullanılarak [http://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss\\_transeq/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/) adresindeki program ile kimotripsin proteininin aminoasit dizilimi elde edildi.

<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index> adresindeki J mol programı kullanılarak kimotripsin proteininin üç boyutlu şekli elde edildi.

### Bulgular

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında hayat döngüsü devam ettirilen *L. sericata* kolonisinden alınan larvalar

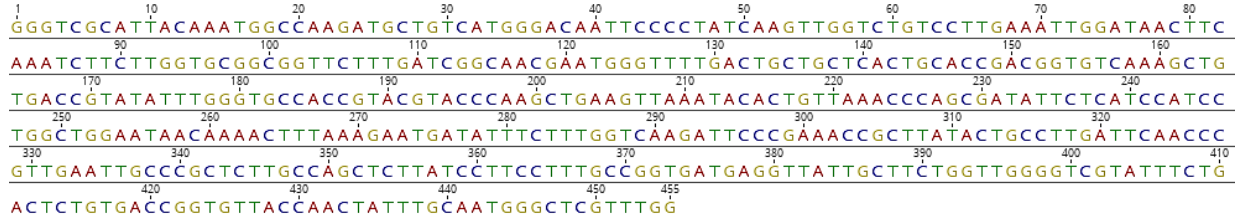


kullanıldı. L2 larvalardan genomik DNA, genomik DNA'dan da PCR ile 455 bp büyüklüğünde kimotripsin geni PCR ürünü elde edildi (Şekil 4).



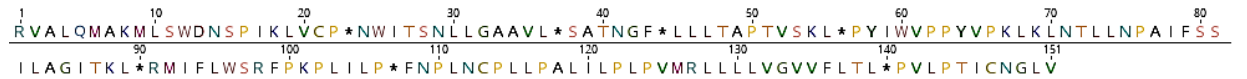
Şekil 4. M:100 bp Marker (GeneAll), N: Negatif kontrol, 1: *L. sericata*'nın 455 bp büyüklüğünde kimotripsin geni PCR ürünü.

PCR ile elde edilen *L. sericata* kimotripsin geninin DNA dizi analizi yapıldı (Şekil 5).



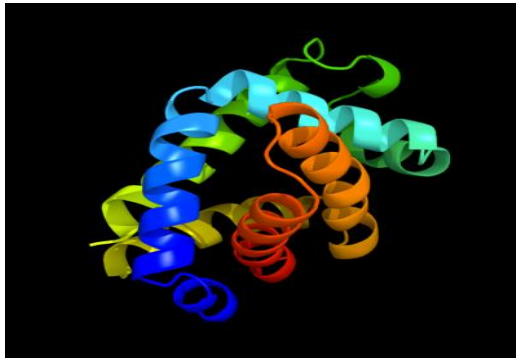
Şekil 5. *L. sericata* kimotripsin geninin DNA dizi analiz sonucu.

*L. sericata* kimotripsin proteini gen dizisi kullanılarak 151 aminoasitten oluşan kimotripsin protein yapısı elde edildi (Şekil 6).



Şekil 6. *L. sericata* kimotripsin proteininin aminoasit dizisi.

*L. sericata* kimotripsin proteini gen dizisi kullanılarak proteinin 3 boyutlu yapısı elde edildi (Şekil 7).



Şekil 7. *L. sericata* kimotripsin proteininin üç boyutlu yapısı.

## Tartışma

MDT, sterilize edilmiş canlı sinek larvalarının (maggot, kurtçuk) kronik yaraların debridmanında, dezenfeksiyonunda yani tedavisinde kullanılmasıdır. Başka bir ifade ile tedavi amacıyla kontrollü yara miyazı oluşturmalarıdır. Kurtçuk tedavisi, larva tedavisi, biyo-cerrahik debridman ve biyocerrahi olarak da isimlendirilen ve özel ekipmanların kullanıldığı bu uygulamada en çok *L. sericata*'nın L2 larvaları tercih edilmektedir (11). Kurtçukların mikrobik saldırılara karşı dayanıklı olması gerekmektedir. Larvaların antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili ilk çalışmalara William Bear (1931) tarafından başlanmıştır. Elde edilen ilk veriler de larvaların bakterileri yiyerek öldürdüğü kanısına varılmıştır (12). Bu çalışmalarda larvaların bağırsaklarının içinde bakterileri öldürdüğü gösterilmiştir. Erdmann ve arkadaşları *L. sericata*'nın sindirim sistemi içerisinde *Proteus mirabilis* türü gram negatif bakterinin metabolik ürünleri olduğunu kanıtlamış ve antibakteriyel özelliğini tanımlamaya çalışmışlardır (13). *L. sericata*'nın sindirim sisteminde göç eden *Escherichia coli* bakterilerinin ürettiği proteinler incelenmiştir. Lazer konfokal tarama mikroskobu kullanılarak bakterinin ürettiği yeşil fluoresan proteinler incelenmiştir. *E. coli*'nin sindirim sistemi göçü sırasında en fazla fluoresan proteinlerin kursak ve ön bağırsakta olduğu tespit edilmiş, orta ve arka bağırsak ucunda önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. Kursakta % 66,7, orta bağırsakta % 55,6 ve arka bağırsakta ise % 17,8 canlı bakteri bulunmuştur (14).

Yara tedavisinde enfeksiyon ciddi problemlere yol açmaktadır. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) diyabetik ayak ülserlerinde iyileşmeyi engelleyen en önemli etkenlerden biridir. Larvalar, MRSA enfekte yaraların iyileşmesinde ve dezenfeksiyonunda oldukça etkilidir (15). Gram pozitif MRSA, metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA), *Streptococcus pyogenes* ve daha az ölçüde etkili gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivesi 194, 152 ve 138 Da olan üç molekül izole edilmiştir. Larvalardan salgılanan bu moleküllerin patojen ve nonpatojen çok sayıda bakteriyeye karşı etkili olduğu bildirilmiştir (16).

Bir çalışmada virüslü ortamlarda yetiştirilen ve yaralanarak enfekte edilen steril olmayan larvalar ile steril larvalar karşılaştırılmıştır. Yaralı ve steril olmayan larvaların, steril larvalara göre daha fazla antibakteriyel maddeler salgıladıkları gözlemlenmiştir. Yine bu çalışmada MSSA, MRSA ve Gram negatif bakterilerden *P.aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* bulunan yaralarda düşük molekül ağırlığına sahip peptitler bulunmuştur. Bu bulgularla larva salgılarının bakterileri nötralize ettiği konusunda fikir birliğine varılmıştır. Larvalar tarafından, *E.coli*, *P.aeruginosa*, MSSA, MRSA gibi bakterilere karşı iki dakika sonra düşük ağırlığa sahip moleküller salgılanmaya başlanmıştır ve 15 dakika içerisinde bakterilerin %90'ı imha edilmiştir.

Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda; membranda görülen hızlı K+ değişimleri ve düşük ağırlığa sahip peptitlerin hücrelerin yok olmasına neden oldukları gösterilmiştir (16). Kronik yaralarda oluşan bakteriler genellikle biyofilm içinde bulunurlar. Biyofilm içinde bulunan bu bakteriler antibiyotik ve bağışıklık sisteminden korunurlar. Kronik yaralarda larvanın ekzoenzimleri biyofilm tabakasını inhibe ettiği gibi oluşan biyofilm tabakasını da bozmaktadır. Kronik yaralarda biyofilm ile ilişkili *S.aureus* ve *P. aeruginosa* en uygun türlerdir. Kurtçuk salgıları, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın oluşturdukları biyofilmlere karşı etkilidir. Biyofilm bozulması sonucu, bakteriler antibiyotiklere, immun sistem faaliyetlerine karşı duyarlı hale gelmektedirler. Kronik enfeksiyonlar, genel olarak, *S.aureus* ve *S.epidermidis* gibi stafilokoklar tarafından oluşturulan biyofilmler ile

ilişkilendirilir. Stafilokok biyofilm oluşumu birkaç adım içerir. İlk olarak, hücre duvarı ile ilişkili adezinler aracılığı ile bakteriler biyomateryale bağlanır; daha sonra çok bakterili bir tabaka oluşturarak birikirler. *S. aureus* ve *S. epidermidis*, biyofilm biriktirmek ve meydana getirmek için icaADBC lokusu tarafından sentezlenen (PNAG) polymericN-asetilglukosamin olarak da adlandırılan (PIA) polisakkarit hücreler arası adezini gibi birkaç farklı hücreler arası yapışkan mekanizmaları kullanırlar (17). Yapılan bir çalışmada *S.aureus* ve *S.epidermidis* tarafından PE (Polyetylene), TI (Titanium), SSS (Surgical stainless steel=Paslanmaz çelik) üzerine biyofilm oluşturulmuştur. Oluşturulan biyofilmlere maggot salgılarının etkileri araştırılmıştır. Bakterilerin yedi gün sonunda PE, TI, SSS üzerinde biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir. Biyofilm oluşumu beşinci günden sonra artmaya başlamış ve ydinci günde en yüksek seviyesine ulaşmıştır. Farklı konsantrasyonlarda biyofilm üzerine maggot sekresyonları uygulanmıştır. SSS üzerinde *S.aureus*'un oluşturduğu biyofilme 0,31 µg maggot salgısı uygulanması sonucunda % 59,5 inhibisyon oluşturarak maksimum etkiye ulaşmıştır. PE üzerinde *S.aureus*'un oluşturduğu biyofilme 0,83 µg maggot salgısı uygulanması sonucunda % 60,8 inhibisyon ile maksimum etkiye ulaşmıştır. TI üzerinde *S. aureus*'un oluşturduğu biyofilme 8,33 µg maggot salgısı uygulanması sonucunda inhibisyon oluşturduğu gözlenmiştir. SSS üzerinde *S. epidermidis*'in oluşturduğu biyofilme 25 µg maggot salgısı uygulanması sonucunda % 67,7 inhibisyon oluşturduğu gözlenmiştir. PE üzerinde *S. epidermidis*'in oluşturduğu biyofilme 0,33 µg maggot salgısı uygulanması sonucunda % 92,2 inhibisyon oluşturarak maksimum etkiye ulaşmıştır. TI üzerinde *S. epidermidis*'in oluşturduğu biyofilme 0,31-0,93 µg maggot salgısı uygulanması sonucunda biyofilme azalma görülmüştür. Sonuç olarak maggot sekresyonu var olan biyofilmi bozmaktadır (18).

Debridmana yardımcı kurtçuk sekresyonlarında metaloproteazlar, serin proteazlar gibi bileşenler ve antibakteriyel aktiviteleri olan ve iyileşmeye yardımcı olabilen aspartil bileşikler de tespit edilmiştir (19). Yara kabuklarını etkin bir şekilde azaltan, kimotripsin benzeri proteinazın varlığı bilinmektedir. Armstrong ve arkadaşları huzur evinde yaşayan hastalarda bulunan alt ekstremite yaralarında kurtçuk tedavisi ile vaka-kontrol çalışması kurarak tedavinin klinik önemini göstermişlerdir. Çalışma ile kurtçuk tedavisinin klinik değerlendirmelerinde; daha az enfeksiyon, daha az antibiyotik kullanımı ve daha az amputasyona gereksinim olduğu vurgulanmıştır (20). Kurtçuk tedavisinde granülasyon dokusu oluşumundaki artış hızlı yara kapanması kontrollü deneyleriyle gösterilmiştir. Elde edilen debridman sonrası iyileşme oranları Baer'in gözlemlerini kanıtlamıştır. 1930'larda kurtçuk ile muamele edilmiş yaraların alkalitesinin, izole edilmiş allantoin ve üre ihtiva eden bileşiklerden kaynaklandığı ve yara iyileşmesinde etkili olduğu düşünülmüştür (21). Bugün bile allantoin ve üre birçok kozmetik ürünün içinde bulunmaktadır.

Yakın zamanda yapılan çalışmada, kurtçuk salgılarının doku kültüründe fibroblast ve endotel doku çoğalmasını uyardığı gösterilmiştir. Tedavi edilen yaralardan alınan biyopsi örneklerinde, anjiyogenez ve granülasyon dokusu ortaya çıkmaktadır. Wolina ve arkadaşları, tedavi öncesi ve kurtçuk tedavisi sonrası hastaları transfer spektroskopisi kullanarak değerlendirmişlerdir. Kurtçuk tedavisi uygulanan hastalarda vasküler perfüzyon ve doku oksijenlenmesinin artmış olduğunu göstermişlerdir (22). Larva salgıları laminin, fibronektin ve kollajen tip I-II gibi ekstraselüler matriks komponentlerinde azalmaya sebep olmakta ve yarada iyileşmeyi hızlandırmaktadır. Ayrıca ekstraselüler matriks komponentleri ve fibrinin yıkımı yarada fibroblastların göçüne, proliferasyona, anjiyogenesis ve lökosit invazyonuna neden olmaktadır (23). ABD'de tıbbi kurtçukların



üretimiyle ilgili standartlar FDA tarafından düzenlenmektedir. Bu düzenlemelere göre; cilt ve yumuşak doku yaraları, bası ülserleri venöz dolaşım bozukluğundan kaynaklanan ülserler, diyabetik ayak ülseri, nöropatik ayak ülserleri, travma veya cerrahi sonrası oluşan yaralarda kurtçuklar kullanılmaktadır.

Kurtçuk tedavisi ayrıca yanıklar, burger hastalığı, selülit, postoperatif yaralar, ülseratif deri kanserleri, lenfostaz, nöropatiler, osteomyelit, mastoidit, talasemi, polisitemi, nekrotik tümörler dahil geniş bir patolojik yalpaede iyileşmeyen yaralardan nekrotik dokuyu temizleyerek yara iyileşmesine neden olmaktadır (24-26). Larval tedavi diyabetik ayak ülserasyonu, osteomyelit, kronik bacak ülserleri, dekübit ülserler gibi kronik ve enfekte yaralarda uygulanır. Kronik yaralarda en fazla vakayı diyabetik ayak ülserleri oluşturmaktadır. Diyabet hastalarının, diyabete bağlı olarak gelişen ayak ülserlerinin gelişme riski % 12-25 oranındadır. Diyabete bağlı oluşan ayak ülserleri, hastanede kalma süresinin artmasına, tedavide yüksek maliyete ve alt ekstremitte amputasyonuna neden olmaktadır (27). Diyabetik ayak ülserleri nontravmatik amputasyonların % 40-60'ını oluşturur. Diyabete bağlı gelişen ayak ülserlerinde Gürlek ve arkadaşları tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada amputasyon oranı % 36,7 bulunmuştur (28). Yeşil ve arkadaşları 1998-2008 yılları arasında diyabetik ayak ülserli 574 hasta üzerinde yaptığı çalışmada amputasyon oranı % 37 olarak bildirilmiştir (29). İlaça dirençli patojenlerin ortadan kaldırılması yara tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle kurtçuk tedavisine katılan bileşikleri ve mekanizmalarını tanımak için antimikrobiyal karakterizasyonunu araştırmak gerekmektedir (30). Bu bileşenler içinde; lucifensin gibi antibakteriyel, lucimycin gibi antifungal peptitlerin yanında skar dokusu oluşumunu hızlandırıcı ve biyofilm yapısını bozan proteinlerden kimotripsin yer almaktadır. Biyocerrahi etkili bir yöntem olsa da, bazı uygulayıcılar tarafından genel olarak kabul görmemektedir. Raf ömrünün sınırlı olması ve nihai tüketiciler adına larva üretimi için özel şartlar gerektirmesi yönünden sınırlamaları bulunmaktadır.

## Sonuç

Çalışmamız ile günümüzde kronik yara tedavisinde alternatif bir yöntem olan MDT'de en sık kullanılan türlerden *L. sericata*'nın önemli genlerinden kimotripsin geni izole edilmiştir. Maggot proteinleri; yara tedavisi, biyofilm oluşumunu engelleme, ampute olabilecek uzuvlarda geri kazanım noktalarında önemli bir yerde durmaktadır. Antibiyotik direnci ve kronik yaraların tedavisinde yaşanan zorluklar düşünüldüğünde alternatif olabilecek uygulamaların son derece önemli olduğu aşikardır. Yara tedavisinde antibiyotiklere alternatif olabilecek veya beraber kullanılabilen bileşiklerin ortaya çıkarılması ve uygulamaları noktasında; parazitologlar, mikrobiyologlar, enfeksiyon hastalıkları uzmanları, dermatologlar, alternatif tıp uzmanları, kimyagerler, cerrahların vs multidisipliner çalışmalarına son derece ihtiyaç duyulmaktadır. Kronik ve iyileşmeyen yara tedavilerinde bu türden bileşiklerin ortaya çıkarılması ile birlikte deney hayvanlarında yapılabilecek çalışmaların sayılarının da artırılmasının önemli olduğu kanısındayız.

**Ethics Committee Approval:** NA

**Informed Consent:** NA

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the author.

**Financial Disclosure:** The author declared that this study has received no financial support.

## Kaynaklar

1. Bonn D. Maggot therapy: an alternative for wound infection. *Lancet*. 2000;356(9236):1174.
2. Sherman RA, Hall MJ, Thomas S. Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. *Annu Rev Entomol*. 2000;45:55-81.
3. Tanyuksel M, Araz E, Dundar K, Uzun G, Gumus T, Alten B, et al. Maggot debridement therapy in the treatment of chronic wounds in a military hospital setup in Turkey. *Dermatology*. 2005;210(2):115-8.
4. Ramundo J, Gray M. Enzymatic wound debridement. *J Wound Ostomy Continence Nurs*. 2008;35(3):273-80.
5. Chambers L, Woodrow S, Brown AP, Harris PD, Phillips D, Hall M, et al. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. *Br J Dermatol*. 2003;148(1):14-23.
6. McEvoy GK. Dose adjustment in renal impairment: response from AHFS Drug Information. *BMJ*. 2005;331(7511):293.
7. Horobin AJ, Shakesheff KM, Woodrow S, Robinson C, Pritchard DI. Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon interactions between human dermal fibroblasts and extracellular matrix components. *Br J Dermatol*. 2003;148(5):923-33.
8. Mumcuoglu KY, Davidson E, Avidan A, Gilead L. Pain related to maggot debridement therapy. *J Wound Care*. 2012;21(8):400, 2, 4-5.
9. Sherman RA, Mumcuoğlu KY, Grassberger M, Tantawi TI. *Biotherapy History Principles and Practice*. Springer Sciens Business Media Dordrecht, 2013:5-30.
10. Telford G, Brown AP, Seabra RA, Horobin AJ, Rich A, English JS, et al. Degradation of eschar from venous leg ulcers using a recombinant chymotrypsin from *Lucilia sericata*. *Br J Dermatol*. 2010;163(3):523-31.
11. Yazar S, Kuk S, Miman Ö, Saygı G. Saygı'nın Temel Tıbbi Parazitoloji'si, Ocak 2016, 1. Baskı. Erciyes Üniversitesi Yayınları, Kayseri, Türkiye.
12. Huberman L, Gollop N, Mumcuoglu KY, Block C, Galun R. Antibacterial properties of whole body extracts and haemolymph of *Lucilia sericata* maggots. *J Wound Care*. 2007;16(3):123-7.
13. Huberman L, Gollop N, Mumcuoglu KY, Breuer E, Bhusare SR, Shai Y, et al. Antibacterial substances of low molecular weight isolated from the blowfly, *Lucilia sericata*. *Med Vet Entomol*. 2007;21(2):127-31.
14. Van der Plas MJ, Jukema GN, Wai SW, Dogterom-Ballering HC, Lagendijk EL, van Gulpen C, et al. Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61(1):117-22.
15. Cucarella C, Solano C, Valle J, Amorena B, Lasa I, Penades JR. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *J Bacteriol*. 2001;183(9):2888-96.
16. Singhal A, Reis ED, Kerstein MD. Options for nonsurgical debridement of necrotic wounds. *Adv Skin Wound Care*. 2001;14(2):96-100.
17. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284(5418):1318-22.
18. Cazander G, van de Veerdonk MC, Vandenbroucke-Grauls CM, Schreurs MW, Jukema GN. Maggot excretions inhibit biofilm formation on biomaterials. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(10):2789-96.
19. Drisdelle R. Maggot debridement therapy: a living cure. *Nursing*. 2003;33(6):17.
20. Baer WS. The treatment of osteomyelitis with the maggot (larva of the blowfly). *J Bone Joint Surg*. 1931;13:438-475.
21. Robinson W. Stimulation of healing in non-healing wounds: by allantoin occurring in maggot secretions and of wide biological distribution. *J Bone Joint Surg Am*. 1935b;17:267-71.
22. Wollina U, Liebold K, Schmidt WD, Hartmann M, Fassler D. Biosurgery supports granulation and debridement in chronic wounds--clinical data and remittance spectroscopy measurement. *Int J Dermatol*. 2002;41(10):635-9.
23. Horobin AJ, Shakesheff KM, Woodrow S, Robinson C, Pritchard DI. Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon interactions between human dermal fibroblasts and extracellular matrix components. *Br J Dermatol*. 2003;148(5):923-33.
24. Sherman RA. Maggot versus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. *Wound Repair Regen*. 2002;10(4):208-14.

25. Wollina U, Karte K, Herold C, Looks A. Biosurgery in wound healing--the renaissance of maggot therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2000;14(4):285-9.
26. Steenvoorde P, Jacobi CE, Oskam J. Maggot debridement therapy: free-range or contained? An in-vivo study. *Adv Skin Wound Care.* 2005;18(8):430-5.
27. Jeffcoate WJ. Screening to identify individuals at high risk of developing diabetic foot ulcers. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008;4(5):256-7.
28. Gurlek A, Bayraktar M, Savas C, Gedik O. Amputation rate in 147 Turkish patients with diabetic foot: the Hacettepe University Hospital experience. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 1998;106(5):404-9.
29. Yesil S, Akinci B, Yener S, Bayraktar F, Karabay O, Havitcioglu H, et al. Predictors of amputation in diabetics with foot ulcer: single center experience in a large Turkish cohort. *Hormones (Athens).* 2009;8(4):286-95.
30. Valachova I, Bohova J, Palosova Z, Takac P, Kozanek M, Majtan J. Expression of lucifensin in *Lucilia sericata* medicinal maggots in infected environments. *Cell Tissue Res.* 2013;353(1):165-71.



Medicine & Publishing

**Published by The QMEL®.org**  
Medicine & Education & Library