

Diyabetik Ayak Yarasının Tedavisinde Yeni Yardımcı Yöntemler; Epidermal Büyüme Faktörü

New Auxiliary Methods in Diabetic Foot Wound Treatment; Epidermal Growth Factor

M. Bülent ERTUĞRUL^a

^aAydın Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji ABD,
Aydın, TÜRKİYE

Yazışma Adresi/Correspondence:
M. Bülent ERTUĞRUL
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji ABD,
Aydın, TÜRKİYE
bulentertugrul@yahoo.com

ÖZET Diabetes mellitus olan bir hastanın yaşam boyu ayağında yara çıkma olasılığı %15 -25 arasındadır ve ayak yarası bu hastalar da yaşam kalitesinin düşmesine, yüksek tedavi maliyetlerine ve en önemlisi ayak amputasyonlarına yol açan önemli morbidite nedenidir. Kritik ayak iskemisi olan bir diyabetik hastanın 5 yıllık mortalite oranı yaklaşık %30 dur ve majör amputasyon uygulanmış hastalarda bu oran %50'ye çıkmaktadır. Tüm standart tedavi yöntemlerine (debridman, antimikrobik tedavi, yara örtüleri ve hiperbarik oksijen tedavisi gibi) karşın majör amputasyon oranları hala yüksektir. Bu nedenle diyabetik ayak yarası tedavisinde yeni ürünlere gereksinim vardır. Epidermal büyüme faktörünün yara iyileşmesinde hücre koruyucu etkinin yanında mitojenik ve motojenik etkisi mevcuttur. Ayrıca epidermal büyüme faktörü yara iyileşmesinin erken dönemlerinde fibroblast ve keratinosit proliferasyonu ve migrasyonu sağlayarak önemli rol oynar.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik ayak; epidermal büyüme faktörü

ABSTRACT Among persons with diabetes mellitus the lifetime risk of developing a foot ulcer is estimated to be 15-25%. Foot ulcers cause substantial morbidity, impair quality of life, result in high treatment costs and are the most important risk factor for lower-extremity amputation. The 5-year mortality in patients with diabetes suffering from critical limb ischemia is 30% and about 50% of patients with diabetic foot infections who have a foot amputation die within five years. Despite employing the currently available standard therapies (e.g., debridement, antimicrobials, wound healing agents, hyperbaric oxygen) the rate of limb loss remains high. Thus, new products are urgently needed for the treatment of diabetic foot ulcers. Epidermal growth factor has both mitogenic and motogenic roles and cytoprotective actions in wound healing. Epidermal growth factor also play a dominant early role in wound healing by stimulating fibroblast and keratinocyte proliferation and migration.

Keywords: Diabetic foot; epidermal growth factor

Bir şeker hastasının yaşamı boyunca ayağında yara olma olasılığı yaklaşık olarak %15-25 arasındadır.¹ Hastanın ayağında çıkan bu yara uygun bir şekilde tedavi edilemezse ayağın kaybına hatta yaşam kaybına giden önemli bir sorun haline dönüşmektedir. Tüm dünyada diyabete bağlı ayak komplikasyonu nedeniyle her 30 saniyede bir ayak kaybı yaşanmaktadır.^{2,3} Kritik bacak iskemisi bulunan diyabetik bir hastanın 5 yıllık yaşam olasılığı %30'dur ve bu oran ayak kaybı sonrası %50'ye ulaşmaktadır.⁴⁻⁶ Bu mortalite oranı bir çok kanser hastasıyla aynı hatta bazılarında daha kötüdür.⁷ Günümüzde gelişmiş yara bakım ürünleri ve tedavi yöntemleri (debridman, antimikrobikler, yara bakım örtüleri, negatif basınçlı yara kapama ve hiperbarik oksijen tedavisi gibi) olmasına karşın yine de ileri evre ayak yaralarında majör amputasyon oranları oldukça yüksektir. Bu nedenle diyabetik ayak yarası tedavisinde yeni yöntemlerin geliştirilmesi bir zorunluluktur. Bu yeni tedavilerin geliştirilmesi için öncelikle bilinmesi gereken şey yara iyileşme süreci ve diyabetik ayak yarasının neden kronikleştiğidir.

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Ertuğrul MB. Diyabetik ayak yarasının tedavisinde yeni yardımcı yöntemler; epidermal büyüme faktörü. Mutlu M, Ertuğrul MB, editörler. Diyabetik Ayak Problemleri, Enfeksiyonlar ve Charcot Nöroosteoartropatisi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. p.89-92.

Vücutta oluşan bir yaranın iyileşme süreci temelde üç basamağın ardışık olarak birbirini izlemesi ile olur. İlk basamak yaranın oluşmasının hemen ardından başlayan inflamasyon aşamasıdır ve bu evrenin erken döneminde trombositler yaranın çevresini sınırlarken geç dönemde makrofajlar ve yara yerine gelen nötrofillerin ortamdaki parçalanmış hücre ve doku yıkım ürünlerini fagosite ederek yarayı bölgesini temizlerler. Bu dönemin bir özelliği de gerek trombositlerden ve gerekse makrofaj ve nötrofillerden salınan büyüme faktörleri ile yara iyileşmesinin ikinci basamağı olan proliferasyon evresinde görev alacak fibroblast ve keratinositlerin uyarılmasıdır. Proliferatif evrede ekstraselüler matriks (EMC) oluşumu, kollejen sentezi, angiogenez ve epitel hücrelerinin uyarılması ile epitelizasyon olur. Ardından üçüncü evre olan matürasyon fazı ile yara kapanır ve kollejen çapraz bağları şekillenir, doku kuvveti artar. Bilindiği gibi diyabetik hastalarda uzun süreli hiperglisemide glikoz, proteinlere nonenzimatik olarak yapışıp bir dizi reaksiyona uğrar ve ileri glikolizasyon ürünleri denilen (AEG - Advanced Glication Endproducts) ürünler ortaya çıkar. Oluşan bu ürünler makrofajlara bağlanarak TNF- α başta olmak üzere birçok sitokin salınması ve reaktif oksijen türlerinin (Reactive oxygen species-ROS) artmasına bağlı olarak düşük düzeyli inflamasyona neden olur.^{8,9} Bu durum diyabetik ayak yaralarında, bir taraftan mitokondriyal hasar nedeniyle fibroblast ve endotel hücrelerinin apoptozisine yol açarken diğer taraftan ECM, büyüme faktörleri ve bu faktörlerin reseptörlerinin azalması ve buna bağlı granülasyonun baskılanması ile sonuçlanır.¹⁰ Kan glikoz düzeyinin yüksek olması fibroblast fizyolojisi için toksiktir.¹¹ Diyabetik yaralarda, fibroblast apoptozisine bağlı sıkılaşma yoksunluğu, zayıf ve inflame ECM, ECM ürünlerinin glikolizasyonu kontraktilite mekanizmasının bozulmasına, ROS ise endotel progenitor hücrelerin azalmasına ve buna bağlı olarak angiogenezde bozulmaya yol açar.^{12,13} Tüm bunlar dışında kronik yara yüzeyindeki kolonizan veya kritik kolonizasyondaki bakterilerin oluşturduğu biyofilm ve proteaz aktivitesi yara yüzeyinin kapanmasını sağlayacak doku faktörlerinin parçalanmasına yol açar.¹⁴ Sonuç olarak büyüme faktörleri ve reseptörlerinin azalması, uzamış inflamasyon, AGE, ROS ve yara yüzeyindeki biyofilm ile bakteriyel proteaz aktivitesi nedeniyle diyabetiklerde doku onarımı yavaştır ve kronikleşmeye eğilimlidir.¹⁵ Bu sürecin bilinmesi diyabetik ayak yaralarında büyüme faktörlerinin kullanımına yol açmıştır ve onların içinde en iyi bilinenleri trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörüdür (EGF).

EGF ilk kez 1962 yılında erişkin farelerin submaksiller bezlerinden izole edilen 53 amino asitlik bir polipeptittir ve özel bir hücre membran reseptörüne bağlanarak

hücre içi tirozin kinaz aktivasyonu ile hücre DNA'sına etkiyip hücrede mitojenik aktiviteyi uyarır.^{16,17} EGF'nin yara iyileşmesindeki etkileri beş maddede özetlenebilir;^{15,18}

1. Üretken hücrelerin yara bölgesine göçü
 2. ECM birikimi, matürasyon ve angiogenez dahil granülasyon dokusunun oluşturulması
 3. Miyofibroblast aktivasyonu ve proliferasyonu ile yaranın kontraksiyonu
 4. Epitel hücre proliferasyonu ve göçü ile hasar gören alanların epitelizasyonu
 5. Keratinosit proliferasyonu ve göçünün uyarılması
- Günümüzde klinik kullanımda EGF, intralezyonel ve topikal olmak üzere iki şekilde kullanılmaktadır.

INTRALEZYONEL EGF

Rekombinant EGF ilk kez 1988 yılında Küba'da Genetik ve Biyoteknoloji Merkezi'nde (CIGB, Havana - Küba) üretilmiş ve 2006 yılında diyabetik ayak yaralarında kullanılmak üzere ruhsatlandırıldı. Ülkemizde ilk kez 2012 yılında ruhsat alarak kullanılmaya başlandı. Ana uygulama gün aşırı olarak yara içine 25 μ g ya da 75 μ g injeksiyon şeklindedir. Ülkemizde ruhsatlı olan formu 75 μ g olanıdır. Tedavinin uygulanacağı hastada yarada enfeksiyonun olmaması veya kontrol altına alınmış ve temiz bir yara yatağı sağlanmış olması gerekmektedir. Küba'da yapılan faz 2 çalışmasında 75 μ g (N=23) ve 25 μ g (N=18) dozları karşılaştırılmış ve yara kapanması ya da tam granülasyon oranları sırasıyla %83 ve %61 olarak bulunmuştur.¹⁹ Faz 3 çalışmasında ise bu iki doz plebeo ile karşılaştırılmış ve yara kapanması ya da tam granülasyon oranları 75 μ g için %87, 25 μ g için %73, plebeo için %58 olarak bulunmuştur.²⁰ Bu iki çalışmanın temel özelliği yara yüzeylerinin 20 cm^2 'den büyük ve her hastaya uygulanan doz sayısının 24 doz (8 hafta) olmasıdır. Klinik kullanıma başlandıktan sonra 75 μ g doz uygulanan 1835 hastanın verilerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmada tam yanıt oranı %75.9 saptanmıştır.²¹ Arjantin'de yine aynı doz uygulama için yapılan çalışmada ise tam granülasyon ve yara kapanması oranları sırasıyla %70.3 ve %69.2'dir.²² Ülkemizde ilk uygulamaların yapıldığı 17 hastayı içeren çalışmada tam granülasyon ve yara kapanma oranı toplam olarak %94 olarak bildirilmiştir.²³ Yine ülkemizde yapılan 174 hastanın alındığı çok merkezli çalışmada ise sadece EGF uygulaması ile tam granülasyon ve yara kapanma oranları sırasıyla %66.7 ve %46.6 olarak bulunmuştur.²⁴ Ancak bu çalışmanın diğerlerinden farkı ortalama uygulama sayısının diğer çalışmalardakinin yarısı (12 doz uygulama) olması ve

uygulama sonrası değişik rekonstrüksiyon yöntemleri (primer sütür, deri grefti veya flep uygulaması) ile yara kapanmasının gerçekleştirilmesidir. Bu yöntemlerin uygulanması ile yara kapanma oranı %83.6'ya yükselmiştir.²⁴ Yani ülkemizde intralezyonel EGF uygulaması yapan hekimler tedavi sırasında yara yatağının yeterli düzeyde hazırlandığını düşündüklerinde ek yöntemlerle yaranın kapatılmasını sağlamaktadırlar. Bu da uygulanacak doz sayısını yarı yarıya azaltmaktadır. Yine ülkemizde yapılan bir çalışmanın sonuçları intralezyonel EGF sonrası yapılan deri greft uygulamasının standart tedavi sonrası yapılanaya göre istatistiksel olarak daha başarılı olduğunu (%75'e %69), ameliyat sonrası daha az komplikasyon ve daha kısa hastanede yatış süresi sağladığını göstermiştir.²⁵ Tüm bu çalışmalarda intralezyonel EGF tedavisi uygulanan hastalar özellikle ileri evre (Wagner sınıflaması 3 ve üzerinde ya da PEDIS enfeksiyon sınıflaması 3 veya 4 olan) hastalardır ve bu hastaların standart tedaviler sonrası majör amputasyon oranları %14-25 arasında değişmektedir.²⁶⁻²⁹ Ancak intralezyonel EGF tedavisi ile bu oranlar Küba ve Latin Amerika ülkelerinde yapılan çalışmalarda %9-10'a indirilmiştir.^{21, 22, 30} Ülkemizdeki çok merkezli çalışmanın sonucu ise çok daha düşük olup intralezyonel EGF tedavisi uygulanan hastalarda majör amputasyonun %2.9'a düştüğü saptanmıştır.²⁴ Tedaviye bağlı en önemli yan etkiler ise üşüme ve titreme reaksiyonu, bulantı, senkop ve intralezyonel uygulama sırasında sterilizasyon koşullarına dikkat edilmemesi sonucu ortaya çıkan ikincil enfeksiyondur.^{19-21, 24}

TOPIKAL EGF

EGF'nin topikal olarak jel ve sprey formu bulunmaktadır ve ülkemizde uygulanan formu içinde toplam 150 µg olan

jel formudur. Tedavi enfeksiyonu olmayan veya kontrol altına alınmış yara yatağına günde iki kez jel formun steril bir şekilde yara yüzeyine sürülmesi şeklindedir. Bu formun faz üç çalışmasında Wagner sınıflamasına göre evre 1 ve 2 ayak yarası olan hastalarda pleseboya göre yara kapanması oranının istatistiksel olarak daha iyi (%86'ya %50) olduğu gösterilmiştir.³¹ Aynı çalışmada topikal EGF'nin pleseboya göre tedavi süresinde 9 haftalık bir kısaltma sağladığı belirtilmektedir. Diyabetik ayak yarası olan 135 hastanın yer aldığı başka çalışmada ise 6. haftanın sonunda hastaların %96.3'ünde iyileşme sağlanmıştır.³² Yakın zamanda ülkemizde yapılan çok merkezli çalışmada 8 haftalık tedavi sonrasında topikal EGF'nin standart tedaviye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla yara küçülmesi ve kapanması sağladığı (%97'ye %78) bulunmuştur.³³ Standart tedavinin büyüme faktörleri tedavisi ile karşılaştırıldığı bir metaanalizde ise topikal EGF gerek standart tedavi gerekse trombosit kaynaklı büyüme faktörü tedavisine göre istatistiksel olarak daha iyi yara iyileşmesi sağladığı gösterilmiştir.³⁴ Tüm bu çalışmaların ortak özelliği ise topikal EGF'nin erken evre ayak yaralarında kullanılmasıdır (Wagner 1 ve 2).

Sonuç olarak EGF diyabetik ayak yaralarında yaranın kronikleşmesine neden olan faktörlerin üstesinden gelinmesine ve yara iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Ancak bu tedavinin diyabetik ayak yarasının tedavisinde ana tedavi yöntemi olmadığı, ana tedavi yönteminin enfekte yarada enfeksiyonun tedavisi, nekrotik yarada nekrozun temizlenmesi, vasküler yetmezliği olan hastada öncelikli olarak dolaşımın sağlanarak yaraya kan akımının sağlanması olduğu unutulmamalıdır. Tüm bunlar sağlanmadan yapılan destek tedavilerinin hastaya yararı olmayacağı gibi ciddi maliyet artışlarına yol açacağı açıktır.

KAYNAKLAR

1. Cavanagh PR, Lipsky BA, Bradbury AW, Botek G. Treatment for diabetic foot ulcers. *Lancet*. 2005;366:1725-5.
2. Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot disease. *Lancet*. 2005;366:1719-24.
3. Singh N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA*. 2005;293:217-28.
4. Armstrong DG, Cohen K, Courric S, Bharara M, Marston W. Diabetic foot ulcers and vascular insufficiency: Our population has changed, but our methods have not. *J Diabetes Sci Technol*. 2011;5:1591-5.
5. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, et al. Infectious Diseases Society of A. 2012 infectious diseases society of america clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis*. 2012;54:e132-73.
6. Schaper NC, Apelqvist J, Bakker K. The international consensus and practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot. *Curr Diab Rep*. 2003;3:475-9.
7. Armstrong DG, Wrobel J, Robbins JM. Guest editorial: Are diabetes-related wounds and amputations worse than cancer? *Int Wound J*. 2007;4:286-7.
8. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, et al. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: The atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003;52:1799-805.
9. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: Role of oxidative stress. *Circulation*. 2002;106:2067-72.
10. Acosta JB, del Barco DG, Vera DC, Savigne W, Lopez-Saura P, Guillen Nieto G, et al. The pro-inflammatory environment in recalcitrant diabetic foot wounds. *Int Wound J*. 2008;5:530-9.
11. Berlanga-Acosta J, Mendoza-Mari Y, Martinez MD, Valdes-Perez C, Ojalvo AG, Armstrong DG. Expression of cell proliferation cycle negative regulators in fibroblasts of an ischemic diabetic foot ulcer. A clinical case report. *Int Wound J*. 2013;10:232-6.

12. Fleissner F, Thum T. Critical role of the nitric oxide/reactive oxygen species balance in endothelial progenitor dysfunction. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15:933-48.
13. Hinz B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest Dermatol.* 2007;127:526-37.
14. James GA, Swogger E, Wolcott R, Pulcini E, Secor P, Sestrich J, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2008;16:37-44.
15. Berlanga-Acosta J. Diabetic lower extremity wounds: The rationale for growth factors-based infiltration treatment. *Int Wound J.* 2011;8:612-20.
16. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem.* 1962;237:1555-62.
17. Tsang MW, Wong WK, Hung CS, Lai KM, Tang W, Cheung EY, et al. Human epidermal growth factor enhances healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 2003;26:1856-61
18. Gibbs S, Silva Pinto AN, Murli S, Huber M, Hohl D, Ponec M. Epidermal growth factor and keratinocyte growth factor differentially regulate epidermal migration, growth, and differentiation. *Wound Repair Regen.* 2000;8:192-203.
19. Fernandez-Montequin JI, Infante-Cristia E, Valenzuela-Silva C, Franco-Perez N, Savigne-Gutierrez W, Artaza-Sanz H, et al. Intralesional injections of citoprot-p (recombinant human epidermal growth factor) in advanced diabetic foot ulcers with risk of amputation. *Int Wound J.* 2007;4:333-43.
20. Fernandez-Montequin JI, Betancourt BY, Leyva-Gonzalez G, Mola EL, Galan-Naranjo K, Ramirez-Navas M, et al. Intralesional administration of epidermal growth factor-based formulation (heberprot-p) in chronic diabetic foot ulcer: Treatment up to complete wound closure. *Int Wound J.* 2009;6:67-72.
21. Yera-Alos IB, Alonso-Carbonell L, Valenzuela-Silva CM, Tuero-Iglesias AD, Moreira-Martinez M, Marrero-Rodriguez I, et al. Active post-marketing surveillance of the intralesional administration of human recombinant epidermal growth factor in diabetic foot ulcers. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2013;14:44.
22. Guillermo G, Calvagno M, Tolstano A, Carrio M, Bullo F, Gomez R. Treatment of severe diabetic foot ulcers with recombinant epidermal growth factor (heberprot-p) retrospective analysis of the obtained in argentina. *Revista Argentina de Cirugia Cardiovascular.* 2012;X:153-62.
23. Ertugrul BM, Buke C, Ersoy OS, Ay B, Demirez DS, Savk O. Intralesional epidermal growth factor for diabetic foot wounds: The first cases in turkey. *Diabetic foot & ankle* 2015;6:28419.
24. Ertugrul BM, Lipsky BA, Guvenc U, Turkish Intralesional epidermal growth factor study group for diabetic foot W. An assessment of intralesional epidermal growth factor for treating diabetic foot wounds: the first experiences in turkey. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2017;107:17-29.
25. İrkören S, Özkan HS, Şavk Ö, Ceylan E, Füzünan BK, Karaca H, Ertugrul BM. Diyabetik ayak ülserlerinde İntralezyonel epidermal büyüme faktörü ile birlikte cilt grefti tedavisinin etkinliğinin araştırılması. 4. Ulusal Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Simpozyumu. 2014.
26. Blanes JI. Consensus document on treatment of infections in diabetic foot. *Rev Esp Quimioter.* 2011;24:233-62.
27. Ertugrul BM, Oncul O, Tulek N, Willke A, Sacar S, Tunccan OG, et al. A prospective, multi-center study: Factors related to the management of diabetic foot infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:2345-52.
28. Ghanassia E, Villon L, Thuan Dit Dieudonne JF, Boegner C, Avignon A, Sultan A. Long-term outcome and disability of diabetic patients hospitalized for diabetic foot ulcers: A 6.5-year follow-up study. *Diabetes Care.* 2008;31:1288-92.
29. Winkley K, Stahl D, Chalder T, Edmonds ME, Ismail K. Risk factors associated with adverse outcomes in a population-based prospective cohort study of people with their first diabetic foot ulcer. *J Diabetes Complications.* 2007;21:341-9.
30. Velazquez W, Vales A, Curbelo W. Impact of epidermal growth factor on the treatment of diabetic foot ulcers. *Biotechnologia Aplicada.* 2010;27:136-41.
31. Viswanathan V, Pendsey S, Sekar N, Murthy GSR. A phase iii study to evaluate the safety and efficacy of recombinant human epidermal growth factor (regen-d 150) in healing diabetic foot ulcers. *Wounds.* 2006;18:186-96.
32. Mohan VK. Recombinant human epidermal growth factor (regen-d 150): Effect on healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes research and clinical practice.* 2007;78:405-11.
33. Yapar N, Ertugrul BM, Özker E, Polat Düzgün A, Taşbakan M, Gelişen Mİ, ve ark. Wagner sınıflamasına göre evre 1 ve 2 diyabetik ayak yaralarında topikal epidermal büyüme faktörü regen-d®'nin etkinliğinin araştırılması; çalışma ön verileri. 12. Türk Yara Bakım Kongresi. 2017.
34. Sridharan K, Sivaramakrishnan G. Growth factors for diabetic foot ulcers: Mixed treatment comparison analysis of randomized clinical trials. *British journal of clinical pharmacology.* 2018;84:434-44.