

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
CERRAHİ ANABİLİM DALI**



**RATLARDA DENEYSEL TAM KATLI DERİ
YARALARININ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
PROPOLİS VE MORİNGA OLEİFERA YAĞININ
ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Bestami YILMAZ

2023

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ

Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Cengiz HAN _____

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim CANPOLAT _____

Prof. Dr. Mehmet Cengiz HAN _____

Prof. Dr. Mustafa İSSİ _____

Prof. Dr. Ali HAYAT _____

Dr.Öğr. Üyesi Özmen İSTEK _____



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Bestami YILMAZ
20.01.2023

Prof. Dr. Mehmet Cengiz HAN
Danışman
Cerrahi Anabilim Dalı
ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini özveriyle aktaran başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Cengiz HAN olmak üzere, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalında görevli Sayın Hocalarım; Prof. Dr. Emine ÜNSALDI, Prof. Dr. İbrahim CANPOLAT, Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ, Prof. Dr. Cihan GÜNAY, Prof. Dr. Aydın SAĞLIYAN ve Doç. Dr. Mustafa KÖM'e, Bingöl Üniversitesi Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Enis KARABULUT ile Dr. Öğretim Üyesi Sami ÜNSALDI'ya, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Servet KILIÇ'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Doktora eğitimimin ilk yıllarında verdikleri destekten ötürü rahmetli hocalarım Prof. Dr. Sait BULUT ve Prof. Dr. Taner DURGUN'a şükranlarımı sunar, Allah'tan rahmet dilerim.

Teze ait histopatolojik incelemeleri yapan sevgili eşim Prof. Dr. Rahşan YILMAZ'a, moleküler analizler ve verilerin istatistiksel değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. M. Osman ATLI, Prof. Dr. Faruk BOZKAYA ve Dr. Nurcan KIRAR'a, tez izleme komitemde yer alan ve değerli vaktini ve bilgilerini benimle paylaşan Prof. Dr. Mustafa İSSİ'ye, tezin deneysel aşamasında katkı sunan Dr. Sema Dilan KAYAPINAR'a, akademik hayata beraber başladığımız günden bu güne kadar hep samimi dostluğunu hissettiğim Dr. Özmen İSTEK'e ve uzun eğitim sürem boyunca destek ve sevgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Derinin Morfolojik Yapısı.....	5
3.2. Deri Uzantıları.....	9
3.3. Ratların Deri Yapısı	10
3.4. Yara	11
3.4.1 Yaraların Sınıflandırılması.....	12
3.4.2 Yara İyileşmesi.....	14
3.4.2.1. Yara İyileşmesinin Fizyolojisi	15
3.4.2.1.1. Hemostaz Evresi	16
3.4.2.1.2. İnflamasyon Evresi	17
3.4.2.1.3. Proliferasyon Evresi.....	18
3.4.2.1.4. Remodeling Evresi (Yeniden şekillenme aşaması).....	18
3.4.2.2. Yara İyileşmesini Engelleyen Faktörler.....	20
3.4.2.2.1. Lokal faktörler.....	20
3.4.2.2.2. Genel faktörler	21
3.4.2.3. Yara İyileşme Derecesini Değerlendirme Yöntemleri.....	22
3.4.2.3.1. Yara boyutu.....	22
3.4.2.3.2. Çekme mukavemeti ölçümü.....	22
3.4.2.3.3. Yara yatağı değerlendirilmesi	23

3.5. Propolis.....	23
3.5.1 Propolisin Tarihçesi	24
3.5.2 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	26
3.5.3 Propolisin Kullanım Alanları	27
3.5.3.1. Antioksidan Etki	28
3.5.3.2. Antimikrobiyal Etki	29
3.5.3.3. Antibakteriyel Etki.....	29
3.5.3.4. Antifungal Etki.....	30
3.5.3.5. Antiinflamatuvar Etki	31
3.6. Moringa oleifera	32
3.6.1 Moringa oleifera'nın Tarihçesi.....	35
3.6.2 <i>Moringa oleifera</i> 'nın Terapötik ve Farmakolojik Özellikleri	36
3.6.2.1. Antidiabetik Etki	39
3.6.2.2. Antitümöral Etki	40
3.6.2.3. Antioksidan Etki	41
3.6.2.4. Anti-inflamatuvar Etki	42
3.6.2.5. Diğer Etkileri.....	43
4. GEREÇ ve YÖNTEM.....	47
4.1. Etik Kurul ve Deneklerin Temini.....	47
4.2. Deney grupları.....	47
4.3. Yara Oluşturulması ve Takibi	48
4.4. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi	49
4.5. Histopatolojik Analizler	50
4.6. Gen Ekspresyon Analizleri.....	51
4.6.1 Total RNA İzolasyonu	51
4.6.2 cDNA sentezi	52
4.6.3 Real-Time PCR işlemleri	52
4.7. Biyokimyasal Analizler.....	53
4.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	53
5. BULGULAR.....	55
5.1. Klinik Bulgular.....	55
5.2. Histopatolojik Bulgular	57

5.3. Gen Ekspresyon Bulguları	71
5.4. Biyokimyasal Bulgular.....	73
6. TARTIŞMA	76
7. KAYNAKLAR	88
8. EKLER.....	101
9. ÖZGEÇMİŞ.....	102



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Derinin Görevleri	5
Tablo 2.	Hayvan Türlerine Göre Sırt ve Karın Bölgelerinin Epidermal Kalınlığı, Stratum Korneum Kalınlığı ve Hücre Katmanlarının Sayısının Karşılaştırması (Hematoksilen Eosin ile boyanmış parafin kesitler kullanılmıştır)	7
Tablo 3.	Yara iyileşmesinde yer alan ana hücre tiplerinin görevleri ve kaynakları	15
Tablo 4.	Deney grupları ve gruptaki denek sayıları.	47
Tablo 5.	Deney gruplarına uygulanan biyolojik ajanların doz, uygulama sıklığı ve süreleri	49
Tablo 6.	Yara iyileşme skorunda kullanılan değişkenler için değerlendirme kriterleri.....	51
Tablo 7.	Grupların farklı günlerdeki yara yüzey alanı değerleri (mm ²).....	56
Tablo 8.	7 ve 14. günlerde iyileşen yara alanları (%).....	57
Tablo 9.	0. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri.....	59
Tablo 10.	7. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri.....	63
Tablo 11.	14. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri.....	67
Tablo 12.	Grup ve zaman parametrelerinin yangı, ülser ve vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi	68
Tablo 13.	Grup x zaman interaksiyon parametrelerinin yangı, ülser ve vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi	68
Tablo 14.	Gruplara ait serum TP değerleri (g/dl)	73
Tablo 15.	7. günde gruplara ait serum mineral madde değerleri.....	74
Tablo 16.	14. günde gruplara ait serum mineral madde değerleri.....	75

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Derinin yapısı.....	6
Şekil 2.	Saf propolisin kimyasal yapısı	27
Şekil 3.	<i>Moringa oleifera</i> bitkisi	34
Şekil 4.	Çalışmada kullanılan PO ve MO örnekleri	48
Şekil 5.	Grupların zamana bağlı yara yüzeyi görüntüleri.....	55
Şekil 6.	Grupların zamana bağlı yara alanı değişimi.....	56
Şekil 7.	Grupların zamana bağlı yara iyileşme oranları	57
Şekil 8.	0. gün kontrol, propolis ve moringa gruplarının mikroskopik görüntüsü.....	58
Şekil 9.	0. gün kontrol, propolis ve moringa gruplarının mikroskopik görüntüsü.....	58
Şekil 10.	7. gün K grubu mikroskopik görüntüsü.....	60
Şekil 11.	7. gün K grubu mikroskopik görüntüsü.....	60
Şekil 12.	7. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü.....	61
Şekil 13.	7. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü.....	61
Şekil 14.	7. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü.....	62
Şekil 15.	7. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü.....	62
Şekil 16.	14. gün K grubu mikroskopik görüntüsü.....	64
Şekil 17.	14. gün K grubu mikroskopik görüntüsü.....	64
Şekil 18.	14. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü.....	65
Şekil 19.	14. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü.....	65
Şekil 20.	14. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü.....	66
Şekil 21.	14. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü.....	66
Şekil 22.	Grup ve zaman parametrelerinin yangı değerleri üzerine etkisi	69
Şekil 23.	Grup ve zaman parametrelerinin ülser değerleri üzerine etkisi.....	70
Şekil 24.	Grup ve zaman parametrelerinin vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi	71
Şekil 25.	PO ve MO uygulamalarının yara dokusundaki TNF α gen ekspresyon düzeyi üzerine etkisi.....	72

- Şekil 26.** PO ve MO uygulamalarının yara dokusundaki BCL-2 gen ekspresyon düzeyi üzerine etkisi..... 72
- Şekil 27.** PO ve MO uygulamalarının yara dokusundaki BAX gen ekspresyon düzeyi üzerine etkisi..... 73
- Şekil 28.** Deney gruplarına ait 7 ve 14. günlerindeki kan serum TP grafiği..... 74



KISALTMALAR LİSTESİ

BAX	: BCL-2-ile İlişkili X protein
BCL-2	: BCL2 Apoptoz Düzenleyici
PO	: Propolis
MO	: <i>Moringa oleifera</i>
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktörü Alfa
TP	: Total Protein
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
MMP	: Matrix Metalloproteinase
NOX	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidases
DMBA	: Dimethylbenz[a]anthracene
LPS	: Lipopolisakkarit

1. ÖZET

Bu çalışma Propolis (PO) ve *Moringa oleifera* (MO) yağının ratlarda tam katlı deri yaralarındaki iyileştirici etkisini makroskobik, histopatolojik ve moleküler düzeyde tespit etmek amacıyla yapıldı.

Çalışma kapsamında iki aylık 42 adet dişi Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar rastgele ve her grupta 14 adet olacak şekilde üç ana gruba ayrıldı. Her bir ana grup ise yedişer adetlik iki alt gruba ayrıldı. Tüm ratlarda genel anestezi altında sırt median hattının her iki yanında 0.5 cm çaplı punch biyopsi ile iki adet tam katlı açık deri yarası oluşturuldu. Postoperatif dönemde yara üzerine birinci gruba ait hayvanlarda Propolis'in sıvı ekstraktı, ikinci gruba *Moringa oleifera*'nın soğuk sıkım yağlı solüsyonu uygulanırken üçüncü grup olan kontrol grubunda ise cold krem uygulaması (K) yapıldı. Operasyondan sonraki 7. ve 14. günlerde her üç gruptan 7'şer adet rat ötenazi edilerek yara bölgelerinden sağlam deri kısımlarını da içeren deri örnekleri histopatolojik ve mRNA analizler (TNF α , BCL-2 ve BAX) için alındı. Kan örnekleri alınarak biyokimyasal kan parametrelerine bakıldı.

Çalışmanın sonuçlarına göre 7. ve 14. günlerde yara alanı bakımından gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulundu. İkili karşılaştırmalarda PO ve MO gruplarındaki yara alanlarının K grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. MO grubu yara alanı büyüklüğü ile PO grubunda ölçülen yara alanı arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu.

Grupların 7. günde yangısal hücre infiltrasyonu şiddeti çoktan aza doğru K, PO ve MO şeklinde sıralandı. Fibroblastik gevşek bağ doku artışı K grubunda

PO ve MO gruplarına göre daha hafif şiddetteydi. Yara bölgesindeki vasküler proliferasyon yönünden sıralama çoktan aza doğru MO, PO ve K grubu şeklindeydi. Grupların 14. günde yangısal hücre infiltrasyon şiddeti MO ve PO gruplarında yok denecek kadar azalmıştı. Grup K'da ise 7. güne göre çok daha hafif bir şiddete sahipti. Fibroblastik gevşek bağ doku artışı tüm gruplarda 7. güne göre daha şiddetliydi. Vasküler proliferasyon yönünden tüm gruplarda 7. güne göre belirgin bir artış gözlemlendi. Bu artışın sıralaması çoktan aza doğru MO, PO ve K grubu şeklindeydi. Grup K'da epitelizasyonun tamamlanmadığı hayvanlar varken, MO ve PO gruplarında epitelizasyon tüm hayvanlarda tamamlanmıştı, ancak epitel tabakasının kalınlığı MO grubunda propolis'e göre daha kalındı.

TNF α ve BAX genlerinin mRNA ekspresyonunda önemli farklılıklar gözlemlenirken, BCL-2 geni için farklar anlamlı değildi. TNF α ve BCL-2 genlerinin ekspresyonu açısından en yüksek artış PO ile tedavi edilen grupta tespit edildi.

Elde edilen veriler, doğal birer ürün olan PO ve MO yağının topikal uygulamasının yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisinin olduğunu, fibroblastik aktiviteyi ve vasküler proliferasyonu artırarak, epitelizasyonun tamamlanma süresini kısaltarak hızlı, etkili ve güvenli yara iyileşmesi sağladıklarını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Moringa oleifera*, Propolis, Rat, Yara iyileşmesi

2. ABSTRACT

The Effect of Propolis and *Moringa Oleifera* Oil on the Healing of Experimental Full-thickness Skin Wounds in Rats

This study was carried out to determine the curing effect of Propolis and *Moringa oleifera* oil on the full thickness skin wounds at macroscopic, histopathological and molecular level.

For the study 42 female Wistar albino rats were used. The rats were divided into three groups each containing 14 rats. Each groups were divided in to two subgroups containing 7 rats. On each rat two full thickness open skin wounds of 0.5 cm diameters were formed at two sides of dorsal median line. At the postoperative period the wounds of the first group was treated with a liquid extract of propolis, while a cold press Moring oleifera oil was applied in the the second group. The control group was treated with a cold cream. The rats were sacrificed on postoperative 7th and 14th days and samples from the wounded area of skin including the intact parts for histopathologic and mRNA analysis. For biochemical analyses blood samples were collected.

With respect to wound area, differences among groups were found statistically significant. Multiple comparisons between groups indicated that wound area in PO and MO groups were significantly lower than that in control group while the difference between PO and MO groups was not significant.

With respect to inflammatory cell infiltration of the groups on 7th day was in the order from lower to higher as control, PO and MO. Control group showed a

lower growth rate of loose fibroblastic connective tissue was than in PO and MO groups. Vascular proliferation within the wound area was the highest in MO and lowest in control group. Inflammatory cell infiltration on the 14th day in MO and PO was as low as absent while in control group it was lower than that on 7th day. An apparent increase in vascular proliferation was visible in all three groups in the order from lower to higher as MO, PO and control. Epithelization was completed in all individuals of MO and PO groups while there were still animals in control group where epithelization was not completed. The thickness of epithel layer in MO group was higher than that in PO group.

Significant differences with respect to mRNA expression of TNF α and BAX genes were observed while the differences for BCL-2 gene was not significant. Treatment with propolis resulted in the highest increase in the expression of TNF α and BCL-2 genes.

The findings of this study indicated that application of PO and MO oil had a positive effect on wound healing, by enhancing fibroblastic activity and vascular proliferation as well as by shortening the epithelization process which results in a rapid, effective and safe wound healing.

Keywords: *Moringa oleifera*, Propolis, Rat, Wound healing

3. GİRİŞ

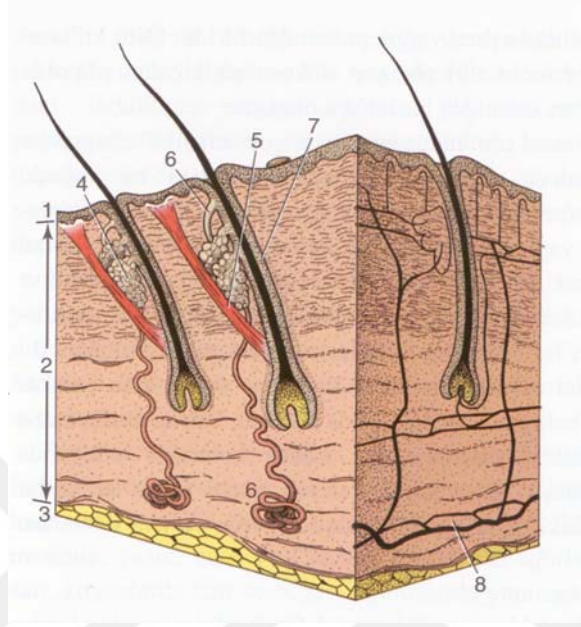
3.1. Derinin Morfolojik Yapısı

Deri, canlının vücudunu saran ve koruyan çok işlevli bir sistemdir. Çevre ile doğrudan temas halinde olduğu için, türün yaşam tarzına göre önemli ölçüde değişiklik gösterir. Vücudu koruyan, aynı zamanda çevresiyle etkileşime izin veren karmaşık bir organdır. Birçok görevi vardır (Tablo 1) (1). Ayrıca su kaybını önler, yabancı mikroorganizma ve maddelerin penetrasyonunu engeller ve vücudu mekanik hasarlara karşı korur. Tüyler ve deri altı yağ tabakası yalıtım sağlarken kan damarları ve ter bezleri ağı ise termal sistemi düzenler. Su ve üre gibi diğer metabolik ürünlerin atılımında rol oynar ve deri altı yağ dokusunda besin biriktirebilir. Taşıdığı çok sayıda sinir ucu vasıtasıyla bazı temel duyuşal işlevlerde görev alır (2).

Tablo 1. Derinin Görevleri (1)

Çevresel bariyer
Difüzyon bariyeri
Metabolik bariyer
Sıcaklık regülasyonu
Kan akışının düzenlenmesi
Kıl ve kürk
Terleme
İmmünolojik etki
Mekanik destek
Nörosensoryel tepki
Endokrin etki (Örnek: Vitamin D)
Apokrin/ekrin/sebase bez sekresyonu
Metabolizma
Keratin
Kollajen
Melanin
Lipid
Karbonhidratlar
Solunum
Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu

Deri, epidermis (yüzeysel epitel) ve dermis (gevşek bağ doku üzerindeki sağlam fibröz katman) olmak üzere iki bölümden oluşur (Şekil 1) (3).



Şekil 1. Derinin yapısı. Epidermis (1), dermis (2), subcutis (3), glandula sebacea (4), musculus arrector pili (5), glandula sudoriferia (6), folliculus pili (7), arterial ağ (8). Dyce ve ark.'dan (3) alınmış ve düzenlenmiştir

Memeli epidermisi, vücudun yüzeyini kaplayan kornifiye çok katlı bir epiteldir. Farklı memeli türlerinde ve farklı vücut bölümlerinde büyük ölçüde değişiklik gösterir (Tablo 2). Cildin tüysüz olduğu yerlerde, özellikle de en fazla aşınmaya maruz kalan bölgelerde (ayakların tabanı, keçi ve koyunların göğüs derisi) daha çok gelişmiştir. Normal olarak, bu tür alanların epidermisinde beş katman ayırt edilebilir. Bunlar dıştan içe doğru, bazal ve germinal katmanlar (stratum basale veya stratum germinativum), dikenli katman (stratum spinosum), granüler katman (stratum granulosum), berrak katman (stratum lucidum) ve korneöz katmandır (stratum corneum) (2). Bu katmanların tümü, stratum bazale'de oluşan bir keratinositin, stratum corneum'da bir nükleer korneosit olarak

sonlanacağı ve sonunda cilt yüzeyinden döküleceği sürekli bir yenilenme sürecinden geçer. Kornifikasyon adı verilen bu keratinosit farklılaşması, cilt yüzeyinde organellerden yoksun koruyucu bir hücre tabakası sağlayan kontrollü bir hücre ölümü şeklindedir (4).

Tablo 2. Hayvan Türlerine Göre Sırt ve Karın Bölgelerinin Epidermal Kalınlığı, Stratum Corneum Kalınlığı ve Hücre Katmanlarının Sayısının Karşılaştırması (Hematoksilen Eosin ile boyanmış parafin kesitler kullanılmıştır) (2)

Hayvan Türü	Bölge	Epidermal Kalınlık (μm)	Stratum Corneum Kalınlığı (μm)	Hücre Katman Sayısı
Kedi	Sırt	12.97 \pm 0.93	5.84 \pm 1.02	1.28 \pm 0.13
	Karın	23.36 \pm 10.2	4.32 \pm 0.95	2.06 \pm 0.73
İnek	Sırt	36.76 \pm 2.95	8.65 \pm 1.17	2.22 \pm 0.11
	Karın	27.41 \pm 2.62	8.07 \pm 0.56	2.39 \pm 0.13
Köpek	Sırt	21.16 \pm 2.55	5.56 \pm 0.85	1.89 \pm 0.16
	Karın	22.47 \pm 2.40	8.61 \pm 1.92	2.33 \pm 0.12
At	Sırt	33.59 \pm 2.16	7.26 \pm 1.04	2.50 \pm 0.25
	Karın	29.11 \pm 5.03	6.95 \pm 1.07	2.89 \pm 0.44
Maymun	Sırt	26.87 \pm 3.14	12.05 \pm 2.30	2.67 \pm 0.24
	Karın	17.14 \pm 2.22	5.33 \pm 0.40	2.08 \pm 0.08
Fare	Sırt	13.32 \pm 1.19	2.90 \pm 0.12	1.75 \pm 0.08
	Karın	9.73 \pm 2.28	3.01 \pm 0.30	1.75 \pm 0.25
Domuz	Sırt	51.89 \pm 1.49	12.28 \pm 0.72	3.94 \pm 0.13
	Karın	46.76 \pm 2.01	14.90 \pm 1.91	4.47 \pm 0.37
Tavşan	Sırt	10.85 \pm 1.00	6.56 \pm 0.37	1.22 \pm 0.11
	Karın	15.14 \pm 1.42	4.86 \pm 0.79	1.50 \pm 0.11
Rat	Sırt	21.66 \pm 2.23	5.00 \pm 0.85	1.83 \pm 0.17
	Karın	11.58 \pm 1.02	4.56 \pm 0.61	1.44 \pm 0.19

Epidermiste keratinosit, melanosit, langerhans hücreleri, merkel hücreleri ve granstein hücreleri olmak üzere 5 türlü hücre bulunmaktadır.

- Keratinositler, keratin yapan, epidermal hücrelerdir. Kendilerine melanositler tarafından aktarılan melanin granüllerini içerir. Deriyi her türlü mikroorganizmaya karşı korurlar.

- Melanositler, bazal tabakada yerleşen, büyük, yuvarlak, ökromatik çekirdekli hücreler olarak görünürler. Tek bir melanositin, yaklaşık 30 keratinosit için melanin sağlaması mümkündür.
- Langerhans hücreleri, spinozum ve bazale tabakası boyunca dağılmıştır. Epidermis hücrelerinin %2-8'ini oluşturur. T hücreleri ile etkileşerek bağışıklık mekanizmasının tetiklenmesinde görev alır.
- Merkel hücreleri berrak ve ovaldir. Kalın derinin stratum bazale tabakasında yerleşirler. Avuç içlerinde ve ayak tabanlarında tek tek veya kümeler halinde bulunabilirler. Melanositlerden ayırt etmek zordur.
- Granstein hücreleri ise, epidermisin spinos katmanına yerleşmiştir. Langerhans hücreleri gibi bir çeşit bağışıklık hücresidir. Fakat, langerhans hücresinin aksine, langerhans hücresinin faaliyetini baskılayarak, derideki aşırı duyarlılığı önlemek için çalışırlar (5).

Dermis tabakası, epidermis ile deri altı yağ tabakası arasında yer alır. Bağ dokusundan oluşur ve kolajen, retikülin ve elastin lifleri, her türlü bağ dokusu hücresi, sinir ve kan damarlarını içerir. Derinin büyük kısmını oluşturur ve esnekliğini, elastikiyetini ve gerilme mukavemetini sağlar. Vücudu mekanik yaralanmalardan korur, suyu bağlar, termal düzenlemeye yardımcı olur ve duyuşal reseptörleri taşır (6). Epidermisi yapısal ve besleyici olarak destekler (7). Büyük oranda deri yüzeyine paralel şekilde dizilim gösteren kollagen lif demetlerinden oluşmuştur. Birbiri içerisine geçmiş lifler, derinin gerilme gücünü artırmaya yarayan yoğun bir ağ oluşturur. Kollagen ve elastik liflerin dağılımı ve seyri vücut bölgesine göre farklıdır ve hatlar oluştururlar. Operasyonlarda bu liflere paralel ensizyon yaparak ensizyondaki gerilimi azaltmak ve genel oryantasyonu

bozmamak önemlidir. Liflere dik olan yara ve kesikler geniş açıklıklı yaralarla sonuçlanır. Derinin kalınlığı dermis tabakasının kalınlığına bağlı olup türlere ve vücut bölgelerine göre farklılık gösterir. Genellikle en kalın deri sığırdadır, en ince deri ise koyun ve kedilerde bulunur. Dermisin kalınlığı sırttan karnın ventral'ine doğru, ekstremitelerde üstten alta doğru azalır. Dermis, eklemlerin ekstensor tarafında fleksor tarafından daha iyi gelişmiştir. Dermis iki alt tabakaya ayrılır. Bunlar stratum reticulare ve stratum papillare'dir (8).

3.2. Deri Uzantıları

Deri uzantıları (veya deri ekleri), hayvanlarda duyu, kasılma, yağlama ve ısı kaybı gibi belirli işlevlere hizmet eden, deriyle ilişkili anatomik yapılardır (9). Bu yapılar: kıl folikülleri, yağ bezleri, ter bezleri ve tırnaklardır. Derinin bileşenleri olarak kabul edilen bu yapıların vücuttaki dağılımı farklılık gösterir. Örneğin ter bezleri vücudun her yerinde bol miktarda bulunurken tırnaklar parmak uçlarıyla sınırlıdır. Kıl folikülleri ve yağ bezleri ağırlıklı olarak birlikte bulunur ve pilosebase üniteyi oluşturur. Bununla birlikte, yağ bezleri dudaklarda, ağız köşesinde, penis başında, labia minörde ve meme ucunda doğrudan cilt yüzeyine açılan kıl köklerinden bağımsız olarak da var olabilir. Kıl folikülleri de çoğu bölgede bol miktarda bulunmasına rağmen, cildin avuç içi ve ayak tabanı gibi sadece ter bezleri içeren ve kıl içermeyen bölgeleri de vardır. Bu tüysüz epidermis genellikle daha kalındır ve palmar veya plantar epidermis olarak adlandırılırken, kıl içeren epidermis ise interfoliküler epidermis olarak adlandırılır (10).

3.3. Ratların Deri Yapısı

Deri, ratlar da dahil olmak üzere herhangi bir canlı organizmanın en büyük organlarından biridir. Tüm vücut yüzeyini kaplar ve rat vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturur (11).

Tüm memelilerin deri yapısı benzerdir ve katmanlı bir yapı gösterir (12). Rat derisi, insan derisiyle aynı katmanlardan oluşur, ancak çok daha ince bir epidermise ve kıl folikülleriyle dolu bir dermise sahiptir (13).

Derinin dış tabakası olan epidermis ektodermal kökenlidir. Diğer katmanlar: dermis, deri altı yağ dokusu, sinirler, kaslar ve damarlar ise mezodermal kökenlidir (12,14).

Farelerde ve sıçanlarda çok sayıda folikül eşzamanlı bir şekilde birlikte döngü yapar ve bu genellikle önden arkaya doğru ilerleyen bir dalgada meydana gelir. Artan yaşla birlikte dalga asenkron hale gelir. Murin kıl folikülü insanlarda olduğundan çok daha hızlı gelişir. Anagen faz 1-3 hafta sürer, ardından birkaç gün süren katagen ve yaklaşık 2 hafta süren telogen faz gelir. Telogen'de kıl folikülü dermiste bulunurken, anagen sırasında kıl folikülü dermisten panniculus carnosus'a uzanır (15). İnsan ve fare derisinde, deri altı tabaka, doğrudan çizgili bir kas tabakası olan panniculus carnosus'un üzerinde yer alır. Bir diğer önemli tür farkı ise, kemirgenlerin diğer birçok memelide olduğu gibi gevşek bir cilde sahip olmalarıdır (13).

Kemirgen derisinin temel anatomisi büyük ölçüde diğer memelilerinkiyle benzerlik gösterse de biyomedikal araştırmalarda derinin ve deri uzantılarının morfolojisini değerlendirirken türe özgü farklılıkların dikkate alınması gerekir. (16).

Sıçanlar, uzun süreli (bir yıldan uzun) çalışmalar için önemli bir model türdür (17). Bu nedenle insanlarda deri, bağışıklık sistemi ve lenfoid yapıların incelendiği uzun vadeli in vivo çalışmalarda sıklıkla ratlar kullanılmaktadır (13,18). Deri üzerindeki enfeksiyon ve bulaşların incelenmesinde rol alan patojenleri incelemek için tasarlanan in vivo modeller, öncelikle fareleri ve sıçanları içerir (19). Sıçan derisi, beslenme yetersizliklerinin veya yaşlanmanın etkisini değerlendirmek için de sıklıkla kullanılmaktadır (20).

3.4. Yara

Yara, canlı dokunun hücresel, anatomik ve/veya fonksiyonel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanır (21). Derinin bozulmuş anatomik devamlılığının ve bozulmuş fonksiyonel durumunun restorasyonu için yaraların uygun şekilde iyileşmesi esastır. Yara iyileşmesi, travma ile başlayan ve sıklıkla skar oluşumu ile sonlanan biyolojik bir süreçtir (22,23). Kronik yaralar hem hasta hem de klinisyen için büyük endişe kaynağıdır; kronik yaralar çok sayıda hastayı etkiler ve yaşam kalitelerini ciddi şekilde düşürür. Mevcut tahminler, dünya çapında yaklaşık 6 milyon insanın kronik yaralardan muzdarip olduğunu göstermektedir (24). Yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), iyileşmeyen yaralar her yıl yaklaşık 50 milyar dolara, cerrahi insizyon ve travma izleri yaklaşık 12 milyar dolara ve yanıkların sağlık harcamaları her yıl 7,5 milyar dolara ulaşmaktadır (25,26). Diyabetli hastalar, yaşlılar ve orak hücre hastalığı gibi genetik bozuklukları olan hastalar, uzun süreli sekillere yol açan anormal yara iyileşmesine özellikle yatkındır. Yara iyileşmesi için çeşitli tedaviler mevcut olmakla birlikte, bunlar sadece orta derecede etkilidir. Bu nedenle yaraları

iyileştirmek için daha etkili tedavilere ihtiyaç vardır. Bitkisel ilaçların en az üçte biri yara tedavisi için kullanılıyor olmasına rağmen batı farmakopesinde listelenen ilaçların sadece %1-3'ünün ciltte ve yaralarda kullanıma yönelik olduğu bildirilmiştir (27). ABD'de, kurumsal bakım maliyetinin günlük 1000 ABD doları olduğu varsayılmaktadır. Yara iyileştirici özelliklerin sağlanması için dünya çapında 7 milyar ABD dolarının üzerinde bir pazar harcaması öngörülmüştür (28). Bu nedenle gerek geleneksel gerekse modern tıp sistemleri ile yara iyileşmesinin sağlanması için yeterli kaynak aktarımına ve farkındalığa gereksinim duyulmaktadır.

3.4.1 Yaraların Sınıflandırılması

Yaralar, altta yatan yara oluşum nedenine göre açık ve kapalı yaralar, yara iyileşmesi fizyolojisine göre ise akut ve kronik yaralar olarak sınıflandırılır.

Açık yaralar: Açık bir yaradan kan dışarı sızar ve kanama gözle görülür. Açık yaralar, yaraya neden olan nesneye göre çeşitli tiplere sınıflandırılabilir (29).

- Kesik yaraları: Doku kaybının olmadığı ve doku hasarının minimal olduğu bir yaralanmadır. Bıçak veya bıçak gibi keskin bir nesneden kaynaklanır. Bu gibi durumlarda kanama çok fazla olabilir, bu nedenle derhal harekete geçilmelidir.
- Yırtılma yarası ya da kopma yaraları: Bu, bir tür travma ile bağlantılı olarak, doku kaybı ve hasarı ile sonuçlanan cerrahi olmayan bir yaralanmadır.
- Sıyrıklar veya yüzeysel yaralar: Pürüzlü bir yüzey üstünde kayma veya düşme neticesinde aşınmalar gözlenir. Aşınmalar sırasında derinin en üst

tabakası olan epidermisin sıyrılması ile sinir uçlarını açığa çıkararak ağrılı bir yaralanmaya neden olur. Ciddi sıyrıklarda kan kaybı gözlenebilir.

- Delinme yaraları: Çivi veya iğne gibi deriyi delen bir nesneden kaynaklanırlar. İçlerinde enfeksiyon olasılığı yaygındır çünkü kir, yaranın derinliğine girebilir.
- Penetrasyon yarası: Bu tür yaralara deriye giren ve çıkan bıçak gibi bir nesne neden olur.
- Ateşli silah yaraları: Vücuda giren veya vücudun içinden geçen bir mermi veya benzeri bir nesneden kaynaklanırlar.

Kapalı yaralar: Kapalı yarada kan dolaşım sisteminden kaçır ancak vücutta kalır. Bu morluklar şeklinde görülebilir. Kapalı yaraların daha az çeşidi olmakla birlikte açık yaralar kadar tehlikelidir.

- Kontüzyonlar veya morluklar: Morluklar, derinin altındaki dokuya zarar veren künt bir kuvvet travmasından kaynaklanır.
- Hematom veya kan tümörü: Bunlar, kanın deri altında toplanmasına neden olan bir kan damarındaki hasardan kaynaklanır.
- Ezilme yaralanması: Cilde uzun süre büyük veya aşırı miktarda kuvvet uygulandığında meydana gelir.

Akut yaralar: Akut yara, anatomik ve fonksiyonel bütünlüğün sürekli restorasyonu ile sonuçlanan düzenli ve zamanında bir onarım sürecinden geçen bir doku hasarıdır (30). Akut yaralara genellikle kesikler veya cerrahi kesiler neden olur ve yara beklenen sürede iyileşme sürecini tamamlar. Akut bir yaranın normal iyileşme evreleri boyunca ilerlemesi ve bunun da yaranın kapanmasıyla sonuçlanması beklenir. Bununla birlikte, çeşitli fizyolojik ve mekanik faktörler

iyileşme sürecini bozabilir ve yara iyileşmesi olağan ilerlemesini sürdüremez. Böylece iyileşmesi çok daha uzun zaman alan kronik yaraların gelişmesine neden olabilir.

Kronik yaralar: Kronik yaralar, normal iyileşme aşamalarında ilerlemeyen ve bu nedenle patolojik inflamasyon durumuna giren yaralardır (31). Kronik yaralar ya iyileşmek için uzun zaman gerektirir ya iyileşmez ya da sıklıkla tekrarlar (32). Bu yaralar fiziksel engelliliğin başlıca nedenidir. Lokal enfeksiyon, hipoksi, travma, yabancı cisimler ve diyabetes mellitus, malnütrisyon, immün yetmezlik veya ilaçlar gibi sistemik problemler kronik yaraların en sık nedenleridir. Kronik yaraların bazı yaygın örnekleri diyabetik ayak ülseri, basınç ülseri ve venöz bacak ülseridir. İlaçlar, yetersiz beslenme, komorbiditeler veya uygun olmayan pansuman seçimi gibi içsel ve dışsal faktörlerin varlığı yara iyileşmesini geciktirir (33).

3.4.2 Yara İyileşmesi

İyileşme sürecine dahil olan birçok farklı hücre tipi vardır ve bunlar epidermis, dermis, kıl folikülleri ve kan damarları kaynaklıdır. Yara iyileşmesinde rol alan ana hücreler ve bunların kaynağı, zamanlaması ve işlevi Tablo 3'te özetlenmektedir.

Tablo 3. Yara iyileşmesinde yer alan ana hücre tiplerinin görevleri ve kaynakları
(34)

Hücre Tipi	Hücre Kaynağı	Zamanlama ve Görev
Trombositler	Hasarlı kan damarları	Hemen yaralanma bölgesine varır ve bir pıhtı oluşturacak şekilde yapışarak ve toplanarak homeostaza katkıda bulunur. PDGF ve TGFβ'yi serbest bırakır.
Nötrofiller	Kan damarlarından gelir	Inflamatuar yanıtın erken evresinde. İstilacı mikropları yok eder.
Mast hücreleri	Bazıları dokuda bulunur, diğerleri kan damarlarından gelir.	Inflamatuar yanıt ve anjiyogenez de rol oynar.
Makrofajlar	Bazıları dokuda bulunur, çoğu kan yoluyla taşınan monositlerden gelir.	Yara bölgesine kan yoluyla nötrofillerden sonra gelir. Yabancı cisimleri fagositoze eder, sitokinleri ve proteazları serbest bırakır.
Keratinositler	Yara bölgesindeki epidermis üzerinde ve kıl kökleri ile ter bezlerinde	Yaralanmadan sonra epidermal bariyeri eski haline getirmek
Fibroblastlar/ Myofibroblastlar	Yara çevresi derisi, dolaşımdaki fibrositlerden	Granülasyon dokusundan yara bölgesine erken göç. Yara tabakasının kasılmasına neden olur.
Endotelial hücreler	Kemik iliğinden elde edilirler. Kan damarlarıyla gelirler.	Angiogenesisde rol oynarlar.
Dentritik hücreler	Epidermal kökenli Langerhans hücreleri ve dermal kaynaklı dendritik hücreler	Yaralanma ve bağışıklık tepkisinden sonraki ilk 2 günde yeniden epitelizasyona katılır.

3.4.2.1. Yara İyileşmesinin Fizyolojisi

Yara iyileşmesi süreci oldukça karmaşık ve çok sayıda faktörün hassas etkileşimine bağlı olmasına rağmen, normal yara iyileşmesi genellikle dört aşamalı ancak farklı adımlara bölünebilir. Bu adımlar hemostaz (yaralanmadan

dakikalar ila saatler sonra), inflamasyon (1-3. günler), proliferasyon ve onarım (4-21. günler) ve son olarak yaranın yeniden şekillenmesini (21-365. günler) içerir (35). Bu aşamalar, ardışık bir düzen içerisinde olmayıp, birbiri içerisinde ve sınırları net olarak ayırt edilemeyecek özelliktedir (36). Bu olaylardan herhangi birinin düzensizliği yara iyileşmesinin gecikmesine ve kronik ülser ve/veya aşırı skar oluşumuna neden olabilir (37).

3.4.2.1.1. Hemostaz Evresi

Vasküler hasardan sonra kanamayı durduran yara iyileşmesinin ilk aşamasını işaret eder (38). Üç aşamada gerçekleşir: vazokonstriksiyon, primer hemostaz ve sekonder hemostaz. Bu sürece dahil olan kritik hücre trombositler; kritik matris bileşeni fibrinojendir (39). Yaralanmamış derideki trombositler damar duvarına yapışmaz veya birbirleriyle bir araya gelmez. Fibrinojen (faktör 1) hepatositler tarafından üretilir ve kanda dolaşır (40). Aynı zamanda trombositlerde de bulunur ancak kan pıhtısının temel bir bileşeni olan fibrin liflerine bölünmez (41).

Deri yaralandığında, kanamayı durdurmak için ani tepki damar duvarlarının vazokonstriksiyonudur. Daha sonra, birincil hemostaz ve ikincil hemostaz, eşzamanlı ve mekanik olarak iç içe geçmiş iki yol aracılığıyla meydana gelir (42). Primer hemostaz, subendotelyal matris içinde kollajenin açığa çıkmasıyla ortaya çıkan trombosit agregasyonu ve trombosit tıkaçı oluşumunu içerir. Sekonder hemostaz, çözünür fibrinojenin fibrin ağını oluşturan çözünmeyen ipliklere dönüştürüldüğü pıhtılaşma kademesinin aktivasyonunu ifade eder. Trombosit tıkaçı ve fibrin ağ, kanamayı durduran, tamamlayıcıları ve

büyüme faktörlerini serbest bırakan ve yara iyileşmesi için gerekli olan sızan hücreler için geçici bir iskele sağlayan pıhtıyı oluşturmak üzere birleşir (38).

3.4.2.1.2. İnflamasyon Evresi

Yara iyileşmesinin ikinci evresi olan inflamasyon evresinde; enfeksiyonun klasik belirtilerinden olduğu kabul edilen kızarıklık, şişlik, sıcaklık ve ağrı görülür. Bu belirtiler genellikle yaralanma sonrası başlayıp 4. güne kadar devam eder (43). Bu evrede hücresel yanıt, yaralı bölgeye lökositlerin göçü ile başlar. Erken dönemde yara bölgesinde çoğunluğu oluşturan hücreler nötrofiller ve monositlerdir. Yaralanmadan hemen sonra, monositler ve nötrofiller yaralı doku hattına doğru göçe başlar. Yara hattına ulaşan ilk hücreler nötrofillerdir. Nötrofillerin sayısı inflamasyonun geç döneminde hızla düşmeye başlar. Geç dönemde alandaki en baskın hücreler ise makrofajlardır. Mast hücreleri tarafından salınan kemotaktik ajanların açığa çıkması ile monositler ve nötrofiller yara bölgesine gelirler. Koagülasyon boyunca kallikrein, fibrinopeptidler gibi kemotaktik faktörler oluşur. Mast hücreleri tarafından salınan histamin, proteazlar, lökotrienlerin (LT), sitokinler (interlökinler) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi maddeler, lökositler için kemotaktik sinyallere ek olarak bir kaynak oluşturur (44). Doku boşluklarına doğru göç eden monositler fagositik özellik gösteren makrofajlar haline dönüşür. Bu hücreler inflamasyon evresinin son döneminde çoğunluğu oluşturur. Makrofajların inflamatuvar evredeki en önemli düzenleyici görev üstlenen birim olduğu düşünülmektedir. Makrofajların fagositozda, sindirim ve patojenik organizmaların öldürülmesinde, doku fazlalıklarının temizlenmesinde ve kalan nötrofillerin yok edilmesinde önemli

görevleri vardır. Bu görevler sayesinde gerek anjiyogenez gerekse granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması sağlanır (45). Makrofaj hücreleri fibronektin gibi kemotaktik ajanların serbest bırakılmasını sağlayarak yara bölgesine fibroblastların gelmesini sağlar (46).

3.4.2.1.3. Proliferasyon Evresi

Proliferatif faz, granülasyon dokusu oluşumuna yol açar. Bu aşamada, fibroblastlar, hücre dışı matrisin oluşumu için temel olan kollajen, elastin ve diğer moleküllerin öncüllerinin üretiminden sorumlu olduklarından ve ayrıca hücre dışı matrisin göçü ve çoğalmasının düzenlenmesinde yer aldıkları için merkezi bir rol oynarlar (47). Anjiyogenez uyarılmak için gerekli olan sürekli büyüme faktörlerini sağlayan makrofajlarda temel bir rol oynar. Neo-anjiyogenez mekanizması, lezyon bölgesindeki sınırlayıcı damarların endotel hücreleri tarafından çalıştırılır; bu, sayısız mitotik döngüden geçerek, yarada oluşan granülasyon dokusuna trofik maddeler sağlayabilen yeni damarların oluşmasına neden olur. Epidermal seviyede ise lezyonun kenarlarında yer alan keratinositler bölünür ve inhibisyon temasının olduğu iki kenar yeniden birleşene kadar yaralı bölgenin merkezine doğru göç etmeye başlar. Yarada bol miktarda kolajen matrisi biriktiğinde, fibroblastlar kolajen üretmeyi durdurur ve granülasyon dokusunun yerini bir skar alır (48).

3.4.2.1.4. Remodeling Evresi (Yeniden şekillenme aşaması)

Yara iyileşmesinin son aşaması, aynı zamanda en uzun kısım olan yeniden şekillenme aşamasıdır. Genellikle 21 günden 1 yıla kadar kendini gösterir. Yaranın yeniden şekillenmesi süreci, granülasyon dokusu yarayı tamamen

kapladığında ve keratinositler tarafından yeniden epitelizasyon tamamlandığında meydana gelir. Yine, bu süreç diğerleriyle örtüşmektedir. Hücre sayısındaki düşüş, kalıntı inflamatuvar hücrelerin miyofibroblastların apoptozundan ve neovaskülatürdeki gerilemeden kaynaklanmaktadır (49). “Remodeling” yani “Yeniden şekillenme” kelimesi, hem yara miyofibroblastları tarafından üretilen yara kontraksiyonu hem de fibroblastlar tarafından ortaya konan ilk tip III kollajenin (proliferatif faz) zamanla kademeli olarak tip I kollajen ile değiştirildiği kollajen yeniden şekillenme sürecini ifade eder (50). Bu sürece, proliferatif fazda oluşturulan üç ana hücre tipinin (makrofajlar, fibroblastlar ve endotel hücreleri) tümü tarafından üretilen matriks metalloproteinazlar (MMP) aracılık eder. MMP'nin aktivitesi kollajen metabolizması için önemlidir (51). Kollajen alt tiplerinin devri ve kollajenin çapraz bağlanması yarayı yavaş yavaş güçlendirir. Gerilme mukavemeti, yaralanmadan 1-8 hafta sonra artar (52) ve en iyi ihtimalle, yaralanmamış derininkinin yaklaşık %80'ine ulaşır.

Sonuç olarak, deri yara iyileşmesi, büyüme faktörleri ve sitokinler dahil olmak üzere birçok farklı hücre tipi ve molekülünün etkileşimini ve koordinasyonunu gerektiren karmaşık ve dinamik bir biyolojik süreçtir. Normal ve bozulmuş iyileşmede yer alan potansiyel yolları göstermede muazzam adımlar atılmıştır. Ancak bu artan anlayış, hasta bakımında tam bir başarıya yol açmamıştır. Hem doğal hem de sentezlenmiş moleküllerden ve bileşiklerden büyüme faktörleri ve sitokinlerin yanı sıra eksojen ön-iyileştirici ilaçların uygulanmasının yara iyileşme sürecini iyileştirdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, yara iyileşmesi aynı anda birden fazla moleküler mekanizmayı içerdiğinden, tek

bir ajan tedavisinin tam olarak başarılı olması muhtemel değildir ve yara iyileşme sürecinin tam olarak anlaşılmasından önce daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

3.4.2.2. Yara İyileşmesini Engelleyen Faktörler

Hastanın bütünsel değerlendirmesi, yara tedavi sürecinin önemli bir parçasıdır. Bir dizi lokal ve genel faktör yara iyileşmesini geciktirebilir veya bozabilir.

Bunlar şunları içerebilir:

3.4.2.2.1. Lokal faktörler

- Yara yönetimi uygulamaları- amaç, iyileşmeyi hızlandırmak için yara ortamını optimize etmektir.
- Nem dengesi- pansumanlar, nemli yara iyileşmesini desteklemek için tasarlanmıştır.
- Yara sıcaklığı ve pH- yaklaşık 37 °C'lik sabit bir sıcaklığın, bakteri kolonizasyonu ve fırsatçı enfeksiyon riskini azaltmak için nötr veya asidik bir pH'ı korumanın etkisiyle birlikte iyileşme üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.
- Enfeksiyon – yaralanma sonrası organizmaların yara içinde üremesi
- Basınç, sürtünme ve kesilme, sınırlı hareket kabiliyeti
- Yabancı cisimlerin varlığı
- Doku kan akımı (Oksijenizasyon): İyileşme üzerine etki eden en önemli faktörlerden biridir. İyi vaskülarize olan, oksijenizasyon problemi olmayan

yaralarda iyileşme çok daha hızlıdır. Vaskülerizasyonu zayıf olan tendo ve kıkırdakların yara iyileşmesi daha geç şekillenir (53, 54).

3.4.2.2.2. Genel faktörler

- Altta yatan hastalık- diyabet, otoimmün bozukluklar, anemi ve malignite. Bu koşulların iyileşmeyi bozmasının nedeni, bozulmuş kollajen, anjiyogenezde bozulma, inflamatuvar hücrelerin, makrofajların ve lenfositlerin infiltrasyonunun azalması, konak direncinin azalması, zayıf kutanöz veya epidermal vaskulatördür.
- Bozulmuş perfüzyon ve hipoksi- kalp rahatsızlıkları, sigara, şok ve kanama
- Yetersiz beslenme- yara iyileşmesinin tüm aşamaları için gerekli olan protein, karbonhidratlar, lipidler, iz elementler ve vitaminlerin yetersiz temini
- Vücut kitle indeksi
- Duyu veya hareket bozuklukları- serebral palsy, hareket bozuklukları, periferik nöropatiler, spina bifida
- İlaçlar- Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, kemoterapi, immünosupresif ilaçlar, kortikosteroidler
- Radyasyon tedavisi
- Stres, kaygı ve depresyon (34, 53, 54, 55).

3.4.2.3. Yara İyileşme Derecesini Değerlendirme Yöntemleri

Yara iyileşmesinin ilerlemesi ve yara bölgesindeki yenilenen dokuların kalitesi aşağıdaki parametreler belirlenerek değerlendirilebilir.

3.4.2.3.1. Yara boyutu

Yara boyutu ölçümü, zamanla yaranın uzunluğunda, genişliğinde, alanında veya hacminde meydana gelen değişiklikler yoluyla iyileşmenin ilerlemesini izlemek için kullanılabilir. Yaranın boyutu düzenli aralıklarla ölçülür. Yaranın boyutu, aşağıdakiler de dahil olmak üzere çeşitli yöntemlerle değerlendirilebilir:

Basit ölçümler: Yara yüzey alanı, lineer boyutları bir mezura veya cetvel ile ölçülerek belirlenir. Yara yüzey alanını hesaplamamanın alternatif bir yöntemi, bir elips formülüne dayanmaktadır.

Yara izleme: Bu değerlendirmede, belirli zaman aralıklarında yaranın ana hatlarını steril şeffaf film üzerine doğrudan çizmek için bir kalem kullanılır (56). İzleme, basit bir tarayıcı (57) kullanılarak bir veri işleme sistemine girilebilir.

Ölçekli fotoğraflar: Belirli zaman aralıklarında yara bölgesinin skalalı fotoğrafları çekilir ve bunlar alanı hesaplayan özel bir tarayıcı tarafından işlenir (58, 59).

3.4.2.3.2. Çekme mukavemeti ölçümü

Çekme mukavemeti, gerilim altında gösterilen dirençtir. Onarılan dokunun gerilmeye ne kadar etkili bir şekilde direndiğini gösterir ve kısmen onarılan dokunun kalitesini gösterebilir. Ölçüm için kullanılan alet tansiyometredir. Bu

metot için yaranın kenarlarından biri sabitlenirken diğereine ölçülebilir bir kuvvet uygulanır (60).

3.4.2.3.3. Yara yatağı değerlendirmesi

Yara yatağı, kalitesi iyileşme ilerlemesini değerlendirmenin bir yolu olabilen granüasyon dokusu ile doldurulur. Doku, çeşitli özellikler için görsel veya mikroskopik olarak gözlemlenebilir. Sağlıklı granüasyon dokusu pembe renkte görünür ve iyileşmenin bir göstergesidir, sağlıklı granüasyon dokusu ise koyu kırmızı renktedir, sıklıkla temas halinde kanar ve yara enfeksiyonunun varlığını gösterebilir. Aşırı granüasyon enfeksiyon veya iyileşen yaralarla da ilişkili olabilir. Kronik yaralar beyaz veya sarı parlak fibröz doku ile kaplanabilir ve iyileşme ancak çıkarıldığında devam eder. Bu dokunun yaranın iyileşmesi sırasında değerlendirilmesi son derece önemlidir, çünkü yaranın tabanındaki doku tipi, toplam iyileşme süresi beklentisi ve komplikasyon riski ile ilgili faydalı bilgiler sağlayacaktır. Örneğin, tabandaki kemik, osteomyelit ve dolayısıyla gecikmiş veya iyileşmeyen bir yarayı düşündürür. Nekrotik doku ise iyileşmeyi engeller (61).

3.5. Propolis

Arılar, 100 milyon yıldan fazla bir süredir varlığını sürdüren bir türdür. Bu evrimsel başarı, onların karmaşık sosyal organizasyon yapısı ve aynı zamanda arı ürünlerinin olağanüstü özelliklerinden kaynaklanmaktadır (62). Arılar, sağlığa faydaları olan balmumu, arı sütü ve propolis gibi çeşitli ürünler üretirler. Bu ürünlerden bal, tıbbi tedavilerde oldukça önemli bir yere sahipken, diğere arı ürünleri ve propolis insanlar tarafından eski zamanlardan beri kullanılmasına

rağmen tıbbi uygulamalarda kullanımları bala nazaran daha kısıtlıdır. Propolis terimi etimolojik olarak, *pro-* (lehinde veya savunmasında) ve *polis-* (şehir) olmak üzere iki Yunanca sözcükten türemiştir; dolayısıyla propolis, şehri veya kovayı savunmak anlamına gelir (63). Propolis üreten arılar arasında Apis, Melipona, Tetragonisca, Nannotrigona, Tetragonula ve Trigona cinsleri bulunmaktadır (64). Tomurcuklardan ve ağaç kabuğundan toplanan yapışkan reçineli bir maddedir. Özellikle kavak, huş ve kozalaklı ağaçların tomurcuklarında ve kabuğunda bulunan bir reçineden elde edilirler (65, 66). Toplayıcı arılar, reçineli maddeler, polen, mumlar ve enzimlerin bir karışımını elde ederek bu reçineleri toplarlar. Arıların kovanlarındaki yüzeyleri, delikleri ve boşlukları kapatmak için kullandıkları ve böylece onları mikroplardan, mantarlardan, küflerden ve spor üreten organizmalardan koruyan steril bir ortam sağladığı için “arı tutkalı” olarak da bilinir (67). Bal arılarının davranışları ve propolisi kovanlarında nasıl kullandıkları insanlar tarafından gözlemlendikten sonra propolisin biyolojik özelliklerine karşı ilgi giderek artmıştır. Propolisin kimyasal ve biyolojik özellikleri hakkında yıllar boyunca birçok inceleme yapılmıştır. Geleneksel tıpta ve ayrıca antibakteriyel, antiseptik, antiinflamatuvar ve anestezi aktiviteleleri nedeniyle tamamlayıcı tıpta yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu nedenle propolisin doğal ürün araştırmalarının ilgi konusu haline gelmesi şaşırtıcı değildir.

3.5.1 Propolisin Tarihçesi

Propolisin geçmişı eski zamanlara kadar uzanır. Eski Mısır dönemine ait vazolarda propolis yapan arıların tasvirleri bulunmuştur. Mısırlıların, kadavraları mumyalamak ve arıları tanrılarla ilişkilendirmek için propolis kullandıkları hatta

firavunların unvanlarından birinin “Arı Kralı” olduğu kayıtlarla doğrulanmıştır (68). Propolis, eski Persler, Araplar ve Yahudiler tarafından da biliniyordu. İbrani dilinde propolis kelimesi *tzori*’dir ve bu terapötikten eski *Ahit*’te bahsedilir. Propolisin, geleneksel bir ilaç olarak kullanılması ise MÖ 300'lere kadar dayanmaktadır. Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar, deri lezyonlarının tedavisinde kullanmışlardır. Antik Yunan metinlerinde, propolisin Roma'da “morluklar ve iltihaplı yaraların tedavisi için doktorlar tarafından lapa yapımında kullanıldığını bildirmektedir. Yine Antik Yunanlılar, *polyanthus* adı verilen parfümün ana bileşeni olarak propolisi tercih etmişlerdir (69, 70). Propolisin tıbbi özellikleri, Aristoteles, Pliny, Galen, Cornelius Celsus ve Dioscorides gibi Yunan ve Romalı doktorlar ve bilim adamları tarafından tanımlanmıştır (66, 71). Modern tıbbın babası olarak kabul edilen Hipokrat, bu maddeyi yaraları ve ülserleri tedavi etmek için kullanan ilk doktorlardan biriydi. Araplar ve Persler propolisi çeşitli hastalıklara karşı ilaç ve temizlik maddesi olarak kullanmışlardır (69).

On ikinci yüzyıl Avrupa'sına ait kayıtlar, ağız ve boğaz enfeksiyonlarının tedavisi ve diş bakımı için propolis kullanan tıbbi preparatları tanımlamaktadır (63). Propolise olan ilgi, bazı eski ve unutulmuş tedavilerin yeniden keşfedildiği Rönesans ile nihayet geri döndü. John Gerard, “The History of Plants” (1597) adlı bitkisel kitabında, iltihaplanmalar ve çürükler üzerinde yararlı etkisi olan merhemler yapmak için propolisin kullanılmasından söz etmiştir (69, 70). İngiltere'de propolis, 17. yüzyılda yaraların tedavisi için iyi bir ilaç olarak kabul edildi (69, 72, 73). Çin'de ise, kanser ve enfeksiyon önleyici bir ilaç olarak (74) ve 17. yüzyılda vernikleme amacıyla kullanılmıştır (70, 75). Daha yakın zamanda Anglo-Boer Savaşında (1880-1881) yaraları iyileştirmek ve cesetleri bozulmadan

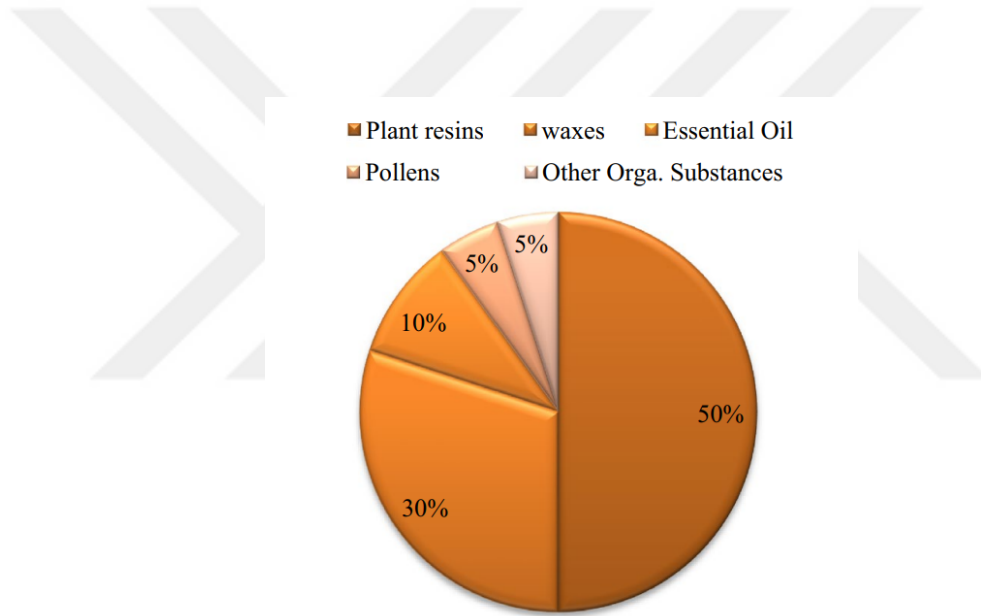
korumak (70) için kullanılmıştır (63). Propolisin, kimyasal bileşimi ve etkileri hakkındaki ilk bilimsel rapor 1908 yılında yayımlanmıştır (75). İkinci Dünya Savaşı sırasında doktorlar propolisi doku rejenerasyonu ve yara iyileşmesinin yanı sıra tüberküloz, akciğer iltihabı ve yetersiz beslenmeyi tedavi etmek için kullanmaya çalıştılar (63, 76, 77). O zamandan beri propolis kullanımı giderek yaygınlaştı ve şimdi uygulamalarının listesi neredeyse sonsuz.

3.5.2 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolisin rengi, botanik kaynağına bağlı olarak yeşilden kahverengiye ve kırmızıya kadar değişir. Bileşimi ve aroması ise coğrafi bölgelere göre değişmektedir (70). Propolis sıcaklığa bağlı olarak kıvam değiştirir. 15 °C'nin altındaki sıcaklıklarda sert ve kırılıgandır, ancak daha yüksek sıcaklıklarda daha esnek ve yapışkan hale gelir. Propolis 60-70 °C'de erir, ancak bazı örneklerin erime noktasının 100 °C'ye kadar çıktığı tespit edilmiştir. Propolis, arı yetiştiricileri tarafından ya ahşap kovan parçalarından kazıyarak ya da özel olarak yapılmış toplama hasırları kullanarak toplanır. Ham ürün, çeşitli doğal sağlık bakım ürünlerinde (örneğin pastiller, tentürler, merhemler, içecekler) kullanılmadan önce balmumu ve diğer safsızlıkları gidermek için ikincil işleme tabi tutulur (78).

Tıbbi bir bitkinin içerdiği kimyasal bileşenler sayesinde farmakolojik etki gösterdiği iyi bilinmektedir. Propolis, bitki kaynağı, mevsim hasadı, coğrafya, arı foralarının türü, iklim değişiklikleri ve toplama alanındaki bal arısı türleri gibi çeşitli parametrelere göre değişen çok zengin ve karmaşık bir kimyasal bileşime sahiptir. Bu doğal üründen 300'den fazla farklı bileşik izole edilmiş ve

tanımlanmıştır (79). Ham propolis, sadece bitki reçinelerini değil, aynı zamanda, Şekil 2'de gösterildiği gibi farklı yüzdelerde mumlar, uçucu yağ, polenler ve diğer organik maddeleri de içerir. Bu çok sayıda bileşene madde oldukça karmaşık bir kimyasal profilden oluşur. Birçok çalışma propolisin özellikle fenolik asitler, flavonoidler, ketonlar, aldehitler, kalkonlar, dihidrokalkonlar, terpenoidler, amino asitler, alifatik asitler, aromatik esterler ve asitler, karbonhidratlar, vitaminler (B₁, B₂, B₆, C, E), mineraller (Mn, Si, Se, Mg, K, I, Ca, Na, Zn, Cu, Mn, Fe) ve ayrıca balmumu içerdiğini bildirmişlerdir (79, 80).



Şekil 2. Saf propolisin kimyasal yapısı (80)

3.5.3 Propolisin Kullanım Alanları

Propolisteki farklı maddeler arasındaki sinerji ve etkilenen her organizmada birden fazla hedefin bulunması nedeniyle etki mekanizması hala tam olarak anlaşılammıştır (81). Propolisin kimyasal özellikleri oldukça değişkendir ve kaynak bitkiye ve toplama alanındaki floraya bağlıdır. Bu farklı kimyasal

bileşimler her zaman fizikokimyasal ve farmakolojik aktivitelerde önemli farklılıklara yol açmaz. Bununla birlikte propolis kullanımının insan sağlığı üzerinde büyük etkisi vardır ve çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Günümüzde antioksidan, antiviral, antitümöral, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, anestezik, antiprotozoal, antikanser ve sitotoksik aktiviteye sahip olmasının yanı sıra antihipertansif, anti-hepatotoksik vb. gibi geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi bildirilmiştir (65, 66, 69, 76, 82, 83).

3.5.3.1. Antioksidan Etki

Propolisin içerdiği galangin ve pinocembrin bileşenleri nedeniyle antioksidan özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir (84, 85). Yüksek oranda kaempferide, artepillin-C, drupanin ve p-kumarik asit içeren propolisin etanolik özütü, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *Listeria monocytogenes* ve *E. faecalis*'e karşı antioksidan aktivite ve antibakteriyel göstermiştir (86). Propolisin antioksidan özelliğinin mekanizması, hücreyi oksidasyon reaksiyonlarından korumak için hidrojen iyonlarını serbest radikallere veren fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Propolis, lipidlerin, nükleik asitlerin ve protein oksidasyonunun birincil nedeni olan serbest radikalleri ortadan kaldırma yeteneğine sahiptir (87).

Propolisin antioksidan özellikleri, kemoprevensiyon ve antiinflamasyon dahil olmak üzere diğer biyolojik etkilerine katkıda bulunur. Antioksidan etkileri ile ilgili olarak propolis, fibroblastlarda hidrojen peroksite neden olduğu DNA hasarını önler (88). Ayrıca protein nitrasyonunu, düşük yoğunluklu lipoprotein peroksidasyonunu ve endotelial nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

oxidases (NOX) ekspresyonunu inhibe eder ve endotelial nitrik oksit ekspresyonunu artırır. Hayvanlarda ve insanlarda antioksidan kapasiteyi artırarak artan kardiyovasküler hastalık riskiyle bağlantılı olan lipid peroksidasyonunu azaltabilir. Antioksidan etkileri göz önüne alındığında, propolis iskelet sistemini de koruyabilir (89).

Propolis, hücrel antioksidan sistemde önemli bir enzim olan katalazın enfekte hücrelerde ekspresyonunu sağlar. Ayrıca enfeksiyon boyunca konağın hücrel antioksidan durumunu korumaya yardımcı olur (90, 91).

3.5.3.2. Antimikrobiyal Etki

Propolisin antimikrobiyal etkinliği temel olarak geniş kimyasal çeşitliliğine, ekstraksiyon yöntemlerine, uygulanan konsantrasyona, toplanan mevsime, bölgeye ve arı türüne bağlıdır (92). Propolis, antidepresan benzeri özelliklere ve kolestatik karaciğer hasarına karşı koruyucu etkiye sahiptir. Ayrıca biyoselüloz membranlar içeren Brezilya yeşil propolisi, antimikrobiyal aktivite ve yara iyileştirme özellikleri gösterir. Bu nedenle cilt yaralarının iyileşmesi için umut verici bir biyomateryaldir (93). Propolis özellikle *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*'e karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterir, ancak *Enterobacteriaceae*'ye karşı etkinlik göstermez (94).

3.5.3.3. Antibakteriyel Etki

Spesifik olarak, in vitro çalışmalar propolisin oral streptokoklara, *Streptococcus agalactiae*'ya ve üst solunum yolu enfeksiyonu olan hastalardan

izole edilen suşlara karşı antibakteriyel aktivitesini tanımlamaktadır. Gram pozitif ve bazı Gram negatif bakterilere karşı etkili olduğu için propolisin bakterisit etkisinin türe bağlı olduğu varsayılmaktadır. Propolis ve bazı flavonoid bileşenlerinin, enerji ileten sitoplazmik membranı ayırabildiği ve bakteriyel hareketliliği engelleyebildiği bulunmuştur. Ayrıca propolisin antibakteriyel etkisi üzerine yapılan elektron mikroskopik çalışmalar, propolisin hücre bölünmesini engelleyerek bakteri üremesini engellediği ve böylece yalancı çok hücreli yapıların oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca propolis sitoplazmayı, sitoplazmik membranı ve hücre duvarını düzensiz hale getirerek kısmi bakteriyoliz ve protein sentezi inhibisyonuna neden olur (94). Propolisin antibakteriyel etkilerinin altında yatan birçok olası biyokimyasal mekanizma vardır. Propolisin etki şekli, fenolik ile pinocembrin, galangin ve pinobanksin gibi diğer bileşikler arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır (95). Katyonik ajanların bakteri hücrelerinin negatif yüklerini azaltabildiği, zar geçirgenliğini artırabildiği ve sonuç olarak bakteri hücre ölümünü indükleyebildiği kabul edilmektedir. Bu nedenle, Gram-negatif bakterilere kıyasla propolisin Gram-pozitiflere karşı daha yüksek bakterisidal aktivitesi, Gram-pozitif suşların daha az negatif yüzey yükü ve hareketli protonlara karşı daha yüksek duyarlılığı ile de ilişkilidir (96).

3.5.3.4. Antifungal Etki

Propolisin antifungal aktivitesi kimyasal bileşimindeki varyasyona bağlı olarak değişkenlik gösterir. Antifungal etkideki bu varyasyon, farklı coğrafik orijinli propolisin farklı mantar türlerine karşı etkisini analiz eden çok sayıda

çalışmada rapor edilmiştir. Propolisin antifungal aktivitesi içindeki fenolik bileşiklerin varlığı (97) ve esas olarak metakaspaz ve Ras sinyali yoluyla apoptozu indüklemeye yeteneğinden kaynaklandığı öne sürülmektedir (98). Propolis, farklı mantarlara karşı aktivite gösterir. Aflatoksijenik mantarları inhibe eder ve *Candida (C.) guilliermondii*, *C. krusei*, *C. albicans*'a karşı aktivite gösterir. Bir araştırmada, Fransa orijinli propolis, insan mantar patojeni olarak kabul edilen *C. albicans*, *C. glabrata*, *Aspergillus fumigates*'e karşı etkili bir şekilde kullanılmıştır. Propolisin pinocembrin adı verilen bir bileşeni, miselyum büyümesini durduran ve hücre zarının parçalanmasına ve metabolizma bozukluğuna yol açan patojen solunumu ve enerji homeostazına etki eden *Penicillium italicum*'a karşı aktivite gösterir. Propolis ayrıca mayaya karşı mantar öldürücü etki göstermiştir (65). Propoliste flavonoidlerin varlığı, *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis* ve *Pichia ohmeri*, *C. famata*, *C. glabrata*'ya karşı fungisidal aktivite gösterir (97).

3.5.3.5. Antiinflamatuvar Etki

Propolis hem akut hem de kronik evreler için düşük maliyetli potansiyel bir anti-inflamatuvar ajandır (99). Propolisin makrofajların etkinliğini artırarak nonspesifik bağışıklığı düzenlediği ve sitokinlerin salınımını inhibe ederek antiinflamatuvar etki oluşturduğu savunulmaktadır (100).

Enflamasyon, vasküler dokuların patojenler tarafından hücre hasarı gibi zararlı uyarılara karşı karmaşık biyolojik tepkisidir. Organizma tarafından zararlı uyarıları uzaklaştırmak ve iyileşme sürecini başlatmak için koruyucu bir girişimdir. Propolis özellikle kas ve eklem yangılarında ve diğer iltihap,

enfeksiyon ve romatizmal rahatsızlıklarda kullanılır. Fare ve tavşan çalışmaları, propolisin hidroalkolik çözeltilerinin topikal, enjekte edilebilir ve hatta oral uygulamayı takiben anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (101). Propoliste bazı anti-inflamatuar maddeler izole edilmiştir. Bu maddeler kafeik asit, kuersetin, naringenin ve kafeik asit fenetil esterdir (CAPE). Bu bileşikler makrofajlar tarafından prostaglandin ve lökotrien sentezinin baskılanmasına katkıda bulunur ve miyeloperoksidaz aktivitesi, NADPH-oksidad, ornitin dekarboksilaz ve tirozin-protein-kinaz üzerinde inhibitör etkileri vardır (102). Bazı yazarlar (103) propolisin antienflamatuar aktivitesini salisilik asit, apigenin, ferulik asit ve galangin dahil olmak üzere diğer bileşiklere bağlarken, bazı yazarlar (104) propolisin immüno-uyarıcı aktivitesinin makrofaj aktivasyonu ve makrofaj fagositik kapasitesinin artması ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.

3.6. *Moringa oleifera*

Moringa cinsi, *Anoma* ve *Hyperanthera* ile birlikte *Moringaceae* familyasında bulunan cinslerden biridir (105). *Moringaceae* familyasında *Moringa* cinsine ait 13 tür yer alır. Bu türler *M. arborea* (Kenya), *M. rivae* (Kenya ve Etiyopya), *M. borziana* (Somali ve Kenya), *M. pygmaea* (Somali), *M. longituba* (Kenya, Etiyopya ve Somali), *M. stenopetala* (Kenya ve Etiyopya), *M. ruspoliana* (Etiyopya), *M. ovalifolia* (Namibya ve Angola), *M. drouhardii* (Madagaskar), *M. hildebrandi* (Madagaskar), *M. peregrine* (Kızıldeniz ve Afrika Boynuzu), *M. concanensis* (Kızıldeniz ve Afrika Boynuzu) ve *Moringa oleifera* (Kuzey Hindistan'ın Alt-Himalaya Sıradağları)'dır (106). Bu türler arasında morfolojik, yaşam alanı ve tıbbi özellikler bakımından geniş farklılıklar

bulunmaktadır. Ancak günümüzde *M. oleifera* (MO) yaygın kullanım alanından ötürü birçok bilimsel araştırmaya konu olmuştur (107). *M. oleifera*, yabanturpu ağacı, baget ağacı gibi çeşitli adlarla da anılır. Yerel olarak 'murungai' veya 'kelor' olarak da isimlendirilir (108). Pasifik'te en sık kullanılan yaygın isimler *marrungai*, *malungai* veya *kalamunggai*'dir. Pasifik'te kullanılan diğer yaygın isimler ise *katdes* (Guam), *sajina* (Fiji) ve *bèn ailé*'dir (Fransız Polinezyası). Hindistan'ın alt kıtasına özgü olan *M. oleifera*, yabani olarak dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde, özellikle Asya, Afrika ve Orta Doğu'da yaygın olarak yetiştirilir. Bitki düz ve kısa gövdeli, beyazımsı, yumuşak ve süngerimsi kabuklu, açık bir şemsiye şeklinde olup 5 ila 12 m yüksekliğe ulaşabilir. Küçük/orta büyüklükte ağaç görünümündedir (Şekil 3) (109). Uzun ömürlü ve yaprak dökmeyen bir ağaçtır. Ağacın zayıf bir gövdesi ve parlak yeşil yaprakları vardır (110).



Şekil 3. *Moringa oleifera* bitkisi (109)

Hoş kokulu ve 2.5 cm genişliğindeki çiçekleri, 10-25 cm uzunluğundaki sarkık salkımlarda bolca üretilir. Beyaz veya krem rengindedirler ve tabanda sarı noktalar bulunur. Beş yansımali sepals lineer-mızrak şeklindedir (111). Meyveleri, dallardan aşağıya doğru inen 20-60 cm uzunluğunda üç loblu bakladan oluşur. Her bölmede 12-35 tohum bulunur ve kuruduktan sonra 3 parçaya ayrılırlar. Her ağaç yılda yaklaşık 15.000 - 25.000 tohum üretebilir. Tohumun ortalama ağırlığı 0.3 gr ve dane/vücut oranı 75:25'tir (112). Tercihen 6.5-7.5 pH, 25-35 °C sıcaklık ve yıllık 250-300 cm yağış alan (800 mm'den daha az yağış durumunda sulama gerektirir) kumlu veya tınlı topraklarda yetişir. Yumrulu kökleri kuru koşullara karşı yüksek geçirimsizliği nedeniyle genellikle kıtlık

gıdası olarak tavsiye edilir. Bitki büyümesi dondan önemli ölçüde etkilenir, ancak kesildiğinde gövdeden veya donduğunda yerden büyümeye yeniden başlar (113).

3.6.1 *Moringa oleifera*'nın Tarihçesi

M. oleifera'nın tarihi M.Ö. 150 yıllarına kadar dayanmaktadır. Tarihsel kanıtlar, eski kralların ve kraliçelerin, zihinsel duyularını ve cilt sağlıklarını korumak için diyetlerinde *Moringa* yapraklarını ve meyvelerini kullandıklarını ortaya koymaktadır. Eski Yunanlılar, Romalılar ve Mısırlılar tarafından da kullanılmıştır (114). Hindistan'ın eski Mauryalı savaşçıları cephede *Moringa* yaprağı ekstresi ile besleniyordu. İksir içeceğinin onlara ekstra enerji kattığına ve onları savaş sırasında maruz kaldıkları stres ve acıdan kurtardığına inanılıyordu. Aynı zamanda bu askerlerin Büyük İskender'i mağlup ettiklerine de inanılmaktadır (115).

M. oleifera, 1990'lı yıllara kadar yalnızca orijinal bölgelerinde yetiştirilmiş ve tüketilmiştir. Bazı araştırmacılar bu bitkiye ait tohumların su arıtımındaki potansiyel kullanımını araştırmıştır. Ancak daha sonra besleyici ve tıbbi özellikleri "keşfedilmiş" ve tür tüm dünyaya yayılmıştır. 2001 yılında Tanzanya'da *M. oleifera* ile ilgili ilk uluslararası konferans düzenlenmiş ve o zamandan beri *M. oleifera*'nın inanılmaz özellikleri hakkında bilgi veren kongre ve çalışmaların sayısı artmıştır. Şimdi bu türe "mucize ağaç", "doğal hediye" veya "annenin en iyi arkadaşı" adı verilmektedir (116).

3.6.2 *Moringa oleifera*'nın Terapötik ve Farmakolojik Özellikleri

Fitokimyasallar, bitkilerin yapısında yüksek konsantrasyonlarda bulunan ancak bitkilerin büyüme ve gelişmesinde çok az rol oynayan veya hiç rol oynamayan ikincil metabolitler olarak kabul edilir. Bu bitki bazlı fitokimyasallar kimyasal yapılarına göre polifenoller, karotenoidler, alkaloidler, terpenoidler ve kükürt içeren bileşikler olmak üzere beş sınıfa ayrılmaktadır (117). Fitokimyasalların çoğu MO ağacında da bulunur. MO'nun çeşitli biyolojik aktiviteleri ve hastalık önleyici potansiyelinin, büyük ölçüde bu fitokimyasalların varlığından kaynaklandığına inanılmaktadır. Bu nedenle, hastalıklarla mücadele ve sağlıklı yaşamı düzenlemede aracı olarak Moringa fitokimyasallarını kullanmak büyük umut vadetmektedir.

MO zengin bir polifenol kaynağıdır (flavonoidler, fenolik asitler ve tanenler). Folin–Ciocalteu testi, MO'daki toplam fenolik içeriği ölçmek için en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu deneylere dayanarak, toplam fenolik içeriğin en yüksek konsantrasyonda yapraklarda bulunduğu (2000 - 12.200 mg GAE/100g) bildirilmektedir (107). Çiçekler ve tohumlar ayrıca polifenoller içerir, ancak yapraklardan çok daha az konsantrasyondadır. Toplam fenolik içerik aynı zamanda coğrafi konum ve çevresel koşullara da bağlıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, ileri kromatografi tekniklerine dayalı olarak MO ağacının farklı bölümlerinde farklı flavonoidlerin ve fenolik asitlerin varlığını bildirmiştir. Quercetin ve kaempferol glikozitler (glukozitler, rutinozitler ve malonil glikozitler), MO ağacının kökleri ve tohumları dışında farklı bölümlerinde bulunan en yaygın flavonoidlerdir (118). Yapraklarda, kuersetin ve kaempferol bulunur.

MO'nun farklı bölgelerinde bulunan baskın fenolik asitler arasında gallik asit, kafeik asit (119), klorojenik asit (120), kumarik asit ve ellagik asit (107) bulunur. MO yaprakları ayrıca kayda değer miktarda tanen içerir. Bunlar, sulu çözeltilerde protein, amino asitler, alkaloidler ve diğer organik moleküllere bağlanabilen ve çökeltebilen karmaşık polifenol molekülleridir. Tanen konsantrasyonu, kurutulmuş yapraklarda en yüksek düzeyde (20,7 mg/g) (121), tohumlarda ise az miktarda bulunmaktadır (122).

Glukozinolatlar, birçok bitki ailesinde bol miktarda bulunan kükürt ve azot içeren glikozidik bileşiklerin heterojen grubudur. Moringa bitkisinin kök, gövde, yaprak ve baklalar dahil olmak üzere farklı bölümlerinde birkaç farklı glukozinolat bileşiği rapor edilmiştir. MO'daki en yaygın glukozinolat, glukomoringin olarak da bilinen 4-(α -L-rhamnopyranosiloksi) benzil glukozinolatıdır (123).

Karotenoidler, meyve ve sebzelere karakteristik kırmızı, sarı veya turuncu renklerini veren bir grup fitokimyasaldır. Taze MO yaprakları, havuç, balkabağı ve kayısıda bulunanlardan çok daha yüksek içeriğe (6.6–17.4 mg/100g) sahip zengin β -karoten (pro vitamini A olarak da bilinir) kaynağıdır. Kurutulmuş yapraklar kuru ağırlıkta bile yüksek β karoten içeriği (23.31–39.6 mg/100g) içerir. β karotenoidlerin yanı sıra, Hindistan'da ticari olarak yetiştirilen MO çeşitlerinin yapraklarında, çiçeklerinde ve olgunlaşmamış baklalarında (meyvelerinde) birkaç başka karotenoid tanımlanmıştır (118).

Alkaloidler, bitkilerde bulunan ve amino asit metabolizmasından elde edilen azot içeren organik bileşiklerdir. Nadir olmasına rağmen, MO'da birkaç alkaloidin varlığı doğrulanmıştır. Bunlardan N, α -L-rhamnopyranosyl

vincosamide, MO yapraklarından en yaygın olarak izole edilen indol alkaloiddir (124).

Terpenler, doğal ürünlerin en yaygın gruplarından biridir. Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken gıdalarda da aroma bileşenleri olarak önemlidirler. MO yapraklarında tespit edilen majör karotenoidin lutein olduğunu bildirilmiştir (121). MO'nun genellikle yeşil yapraklı bitkilerde bulunan α -karoten içermediği, tüm α -karotenin tamamen luteine dönüştürüldüğü varsayılır. Bitkide bulunabilen diğer karotenoidlerin tümü E-luteoxanthin, 13-Z-lutein, 15-Z- β -karoten ve all-E-zeaksantindir (118). Lupeol asetat, β -amirin ve α -amirin, moringanın toprak üstü kısmının bir etanol ekstraktının n-heksan fraksiyonundan izole edilmiştir (105).

MO hem insan sağlığı ve beslenmesinde hem de hayvan yemi olarak ve birçok sanayi ile tarım gibi alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu bitkinin neredeyse tüm bileşenleri yukarıda adı geçen sektörlerin birçoğunda kullanılmaktadır. Bitki Afrika kıtasında geleneksel tıp uygulamalarında (üriner sistem hastalıkları, solunum yolu hastalıkları, diyabet, hipertansiyon, baş ağrısı, kabızlık, romatizma) ve diğer ülkelerde metabolik ve endokrin sistem hastalıklarında sıklıkla kullanılmaktadır. Doğum sonrası dönemde laktasyonu indüklemek ve bağışıklık sistemini güçlendirmek amacıyla da kullanılmaktadır. Ayrıca bitki yapraklarının afrodizyak etkisi gösterdiği ve cinsel kapasiteyi arttırdığı bildirilmiştir (125, 126).

MO, zorlayıcı su arıtma gücüne ve besinsel faydalarına ek olarak, tıbbi özellikleri nedeniyle de çok değerlidir. Bu çok değerli ağacın çeşitli bölümlerine bir dizi tıbbi özellik atfedilmiştir. Ağacın hemen hemen tüm kısımları (kök, ağaç

kabuğu, sakız, yaprak, meyve (bakla), çiçekler, tohum ve tohum yağı) tıp alanında çeşitli rahatsızlıkların giderilmesi için kullanılmıştır (126). Kapsamlı tıbbi özellikleri ve sahip olduğu çok sayıda farmakolojik aktivite dizisi MO'yu son derece faydalı kılar ve çeşitli rahatsızlıklar için her derde deva olarak sağlığa ve tıbbı katkıda bulunmak için güçlü bir araç sağlar (126).

3.6.2.1. Antidiabetik Etki

Tip 1 diyabet, hastaların kan şekeri seviyesini gereken normal değerde tutan bir hormon olan insülin üretememesinden kaynaklı bir diyabettir. Tip 2 diyabet ise, insülin direnci ile ilişkili olanıdır Tip 2 diyabet ayrıca, glukoz seviyelerini algılayamayan ve bu nedenle insülin sinyalini azaltan ve yüksek kan glukoz seviyelerine neden olan Beta hücre disfonksiyonundan da kaynaklanabilir (127). Bazı çalışmalar, MO'nın bir anti-diyabetik ajan olarak hareket ederek hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabeti iyileştirdiğini göstermiştir (128). Düşük dozlarda MO tohumu tozu (50 veya 100 mg/kg vücut ağırlığı), streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanların böbrek dokularındaki IL-6 seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. MO'daki flavonoidlerin mitokondriden salınan reaktif oksijen türlerini temizlediği, böylece beta hücrelerini koruduğu ve dolayısıyla hiperglisemiye kontrol altında tuttuğu varsayılabılır. Diyabet, retinopati, nefropati ve ateroskleroz gibi çeşitli komplikasyonlara yol açar. Moringa bu tür rahatsızlıkları önlemek için kullanılabilir (129).

3.6.2.2. Antitümöral Etki

Kanserle mücadelede cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi farklı yaklaşımlar oldukça pahalıdır ve birçok uzun süreli yan etkiye sahiptir. Yapılan araştırmalarda, MO'nun güçlü bir antikanser bitkisi olduğu ve kanser hücrelerinin gelişimini baskılayarak antineoproliferatif aracı olarak kullanılabilceği kanıtlanmıştır. Çalışmalarda MO'dan önemli antitümör aktiviteye sahip birkaç biyoaktif bileşikte keşfedilmiştir. MO tohumlarından izole edilen biyoaktif bileşikler arasında olan niazimicin'in, fare derisindeki ikinci evre karsinogeneizde güçlü antitümör aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (130). MO'nun yaprak ekstresi kemoprotektif, sitotoksik, antihepatokarsinoma, antilösemi, antimiyelomik ve çoğalmayı önleyici faaliyetlerde bulunur (126, 131). Bir çalışmada, MO yapraklarının sulu özü, apoptozu, DNA parçalanmasını ve oksidatif stresi artırarak insan kanserli akciğer hücrelerinde (A549) kanser çoğalmasını ve ilerlemesini engellediği rapor edilmiştir (132). *Moringa oleifera*'nın bir hepatoprotektif ve bir antioksidan olarak 7,12-dimetilbenz[a]antrasen kaynaklı hepatoselüler hasara karşı etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, MO'nun, farelerde azalan serbest radikal oluşumundan kaynaklanabilecek DMBA'nın neden olduğu hepatoselüler hasara karşı iyi bir hepatoprotektif ve antioksidan potansiyel sergilediğini gösterilmiştir (133). Kanserojenlere karşı koruma sağlayan glutatyon ve glutatyon S-transferaz enzimlerinin aktivite kaybı MO kabuk ekstraktı ile geri kazanılmaktadır. Moringa tohumlarının sulu ekstraktı, insan periferik kan mononükleer hücrelerine sitotoksik etki sağlamaktadır. Ayrıca, MO yapraklarının metanolik ve hidrometanolik ekstrelerinin 15 gün boyunca 500 mg/dl dozda ağızdan

tüketilmesi, farelerde tümörlerin büyümesini geciktirmiş ve yaşam süresini uzatmıştır. MO tohumunun meme ve kolorektal kanser hücre dizileri üzerinde kanser önleyici etkisi ise gözlenmemiştir (134).

3.6.2.3. Antioksidan Etki

Antioksidanlar, vücudumuzdaki serbest radikallere karşı etkili olan bileşiklerdir. Serbest radikaller, oksidatif sürecin ana araçlarıdır. Yüksek serbest radikal seviyeleri gerek kalp hastalığı gerekse Tip 2 diyabet gibi kronik hastalıklarla ilişkili oksidatif strese neden olabilir (135). Bir hücrenin yaşam kabiliyeti ve işlevselliği DNA, proteinler ve lipidler dahil olmak üzere makromoleküllerinin aşırı oksidasyonunu önleme yeteneğine bağlıdır. MO yaprakları, çiçekleri ve tohumları nispeten yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (136). Bitkinin metanol ve etanol ekstraktlarının sırasıyla %65.1 ile %66.8 oranında antioksidan aktiviteye sahip olduğu varsayılmaktadır. Bu güçlü etkinin fenolik, kuersetin ve kampferol gibi biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmektedir (137). MO yapraklarında birkaç adet antioksidan bitki bileşiğine rastlanmıştır. Bu bileşiklerden biri C vitamini ve beta karotene ek olarak bulunan quercetin'dir. Bu antioksidan, kan basıncını düşürmeye yardımcı olur. Bir diğer bileşen olan klorojenik asit, kahvede yüksek oranda bulunabilir. Klorojenik asit'in, yemek sonrasında yükselen kan şekeri seviyesini düzenlemeye yardımcı olduğu öngörülmektedir. Kadın deneklerde yapılan bir çalışmaya göre, üç (3) ay boyunca her gün yaklaşık 1,5 çay kaşığı (7 gram) MO yaprağı tozu almanın kan antioksidan seviyelerini anlamlı derecede artırdığını tespit edilmiştir. Ayrıca MO yaprağı ekstresinin ayrıca gıda koruyucu olarak kullanıldığı bir çalışmada

oksidasyonun azaldığı ve etin raf ömrünün arttığı yönünde bilgiler mevcuttur. Özetle MO quercetin ve klorojenik asit dahil birçok antioksidan açısından zengin bir bitkidir (135).

3.6.2.4. Anti-inflamatuar Etki

MO bitkisi bileşenleri kullanılarak yapılan birçok in vitro ve in vivo çalışmanın ardından bu bitkinin hiperglisemi, hiperlipidemi ve inflamasyonun tedavisinde kullanılabileceği tavsiye edilmiştir (138). Enflamasyonla ilişkili kronik hastalıkların iyileştirilmesi, MO bitkisinin güçlü anti-inflamatuar aktivitesi ile mümkün olabilir. Moringa bitkisinin güçlü anti-inflamatuar aktivitesi göz önüne alındığında, bu bitkinin inflamasyonla ilişkili hastalıklar ve bunlardan kaynaklanan semptomlar üzerinde derin bir etki gösterdiği tahmin edilmektedir (139).

MO yapraklarından elde edilen özlerin, sıçanlarda ve farelerde humoral ve hücrel bağışıklığı modüle ettiği gösterilmiştir (140). MO'nun kemirgenlerin ayak bölgesinde kimyasal olarak indüklenen iltihaplanma vakalarında kullanımında güçlü anti-inflamatuar özellik sergilediği bildirilmiştir (136).

Köklerden izole edilen aurantiamid asetat ve 1,3 dibenzil üre, TNF-alfa, IL-2 ve diğer sitokinlerin inhibisyonu aracılığıyla önemli anti-inflamatuar/antiartritik ve analjezik aktivite göstermiştir (141). Romatoid faktörün (RF) serum seviyesinin de azaldığı bildirilmiştir. Wistar erkek albino sıçanlarda çalışma yapıldığında, tohumların alkollü ekstraktının güçlü bir analjezik olduğu bulunmuştur (142).

Coppin ve ark. (143), *M. oleifera* yapraklarının 3 örneğinden 2'sinin, bakteriyel lipopolisakarit (LPS) ile muameleden sonra makrofaj hücreleri tarafından nitrik oksit (NO) üretimini engelleyebildiğini, oysa üçüncü örneğin aktif olmadığını buldu. Yazarlar, bu farkı, aynı tür içinde bile önemli ölçüde değişebilen bitkilerin genetiğine ve kimyasına bağladılar. *Moringa oleifera* yapraklarının etil asetat ekstraktının, Aspirin'e (referans ilaç) benzer şekilde, sigara dumanı ekstraktı ve LPS tarafından indüklenen insan makrofaj sitokin üretimini (TNF- α , IL-6 ve IL-8) inhibe ettiği bulunmuştur (144). Hem MO konsantresinin hem de yapraklardan izole edilen izotiyosiyanatların, RAW makrofajlarında gen ekspresyonunu ve enflamatuvar belirteçlerin üretimini önemli ölçüde azalttığını gözlenmiştir (107, 145).

Hidroalkolik yaprak özü, bağışıklığı baskılanmış kemirgenlerde hücrel ve hümorale bağışıklığı arttırmıştır (146). Tohumların hidroalkolik ekstraktı TNF- α , IL-4, IL-6 ve enflamatuvar barsak hastalıklarının bir nedeni olan miyeloperoksidin etkisini azaltmıştır (147). Metanol ekstresi, laboratuvar hayvanlarında İrlanda yosunu ve histamin kaynaklı ayak ödeminin ödematojenik etkisini azaltmıştır (131, 148). Bu bitki astım, ağrı ve diğer ortaya çıkan semptomlar üzerinde de faydalı etkiler gösterir (149).

3.6.2.5. Diğer Etkileri

MO yaprakları, β -sitosterol gibi fitosteroller içerir. Bu bileşikler, kolesterol diyetinin bağırsak alımını azaltabilir (150). MO yaprakları ile tedavi edilen kemirgenlerde plazma kolesterol seviyesinde azalma gözlenmektedir (136, 151).

MO'nun tohum özü, yaprakları ve yaprak yağının mantar önleyici etkisini incelemek amacıyla birçok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalarda *T. mentagrophyte*, *Pullarium* spp., *A. flavus*, *Penicillium* spp., *A. niger*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *F. solani*, *R. sonani*, *C. cladosporioides*, *P. sclerotigenum* ve *Dermatophytes*'lere karşı önemli antifungal aktivite sergiledikleri bildirilmiştir (131). Tohumlardan izole edilen Mo-CBP3, in vitro 0.05 mg/ml konsantrasyonda kullanıldığında fitopatojenik zararlılar *F. solani*, *F. oxysporum*, *C. musae* ve *C. gloesporioides* üzerinde 48 saat içinde %62 inhibisyon ile antifungal etki göstermiştir. Mo-CBP3'ün miselyum gelişimini azaltarak antifungal etki oluşturduğu bulunmuştur. Mo-CBP3'ün hücre tabakasıyla olan bağlantıları yoluyla reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indüklediği ve parazitlerde hücre ölümüne neden olduğu öne sürülmüştür (152). Kökleri, inanılmaz mantar öldürücü etkilere sahip bir anti-enfeksiyon bileşiği olan pterygospermin'e sahiptir (153). Kök kabuğundan izole edilen deoksi-niazimisin aglikonu antifungal aktivite göstermiştir (153). Yine MO ağacının gövde kabuğunda antifungal etkiye sahiptir (154).

Bir protein kaynağı olarak MO ağacının yaprakları ve diğer kısımları soya fasulyesine kıyasla yüksek miktarda ham protein ve amino asit içerdiğinden dolayı gelişmekte olan ülkelerdeki protein eksikliğini gidermede kullanıldığı bilinmektedir. Veganlar ve vejeteryanlar için mükemmel bir hayvansal olmayan protein kaynağıdır. Yaprakları, proteinlerin yapı taşları olan tüm gerekli amino asitleri içerir. Bir sebzenin bu amino asitlerin hepsini içermesi çok nadirdir ve MO bu amino asitleri iyi bir oranda içerir, böylece vücudumuz için çok faydalıdır. Yaprakları, etten protein almayan insanlar için büyük bir nimet olabilir. Özellikle

bebekler için önemli olan arginin ve histidin adlı iki amino asit içerir. Arginin ve histidin, büyüme gereksinimleri için yeterli protein üretemeyen bebekler için özellikle önemlidir (155, 156).

Hem bilimsel hem de popüler literatürde MO'nun beslenme nitelikleri hakkında çok sayıda rapor bulunmaktadır. Yüzyıllardır beslenme ve tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Yaprakları, hastalıkları önleyen temel besinlerle doludur. Vücudunuzun sağlıklı kalmak için güvendiği vitaminler, mineraller, protein, antioksidanlar ve diğer önemli bileşikler için doğal, eksiksiz bir besin kaynağıdır. Fakir ülkelerde yetersiz beslenmeyi tedavi etmek için ithal gıda kaynaklarına bir alternatiftir. Ağaçları, özellikle bebekler ve emziren anneler arasında yetersiz beslenmeyle mücadele etmek için kullanılmıştır (115).

MO, çeşitli çalışmalarda önemli hepatoprotektif aktivite göstermiştir. MO yaprakları etanolik ekstraktlar, farelerde antitüberküler ilaçlar [izoniazid (INH), rifampisin (RMP) ve pirazinamid (PZA)] tarafından indüklenen karaciğer hasarına karşı önemli koruma göstermiştir. Ayrıca, yapraklarının metanolik ve kloroform özleri de albino sıçanlarda CCl₄ kaynaklı karaciğer hasarına karşı önemli koruma göstermiştir. Yapraklarının hepatoprotektif aktivitesinin yanı sıra, kökü ve çiçekleri de güçlü hepatoprotektif aktiviteye sahiptir (153, 157).

MO yapraklarının sulu ekstraktının yetişkin Holtzman albino fareleri üzerinde ülser önleyici etkisini bildirmiştir (158). Moringa kökü ve yaprakları, spazmolitik aktiviteye sahip çeşitli bileşikler içerir. Bu bileşikler, hipotansif ve bradikardiyak etkiye sahip, muhtemelen kalsiyum kanalı blokajı yoluyla etkilenen 4- (alfa L-rhamnosiloksibenzil) o-metil tiyokarbamat, niazinin A, niazinin B, niazimisin vb. içerir. MO metanolik ekstraktı ayrıca deney farelerini asetilsalisilik

asit, serotonin ve indometasin tarafından indüklenen gastrik lezyonlardan koruma yeteneğine sahiptir. Ayrıca deney hayvanlarında asetik asidin neden olduğu kronik gastrik lezyonların iyileşme sürecini de hızlandırmaktadır (159).

A vitamini eksikliği, karanlığa uyum bozukluğundan gece körlüğüne kadar değişen körlüğün ana nedenidir. Yüksek oranda A vitamini içeren MO yaprakları, baklaları ve yaprak tozu tüketimi, çocuklarda gece körlüğünü ve göz problemlerini önlemeye yardımcı olabilir. Yapraklarını yağlarla birlikte yemek, A vitamini oranını yükseltebilir ve katarakt gelişimini geciktirebilir (149).

MO'nun etanolik ekstrakt yaprakları, Hindistan solucanı *Pherritima posthuma*'ya karşı *Vitex negundo*'ya kıyasla daha fazla anthelminthique aktivite göstermiştir (160). MO yaprakları, veterinerlik pratiğinde kuş koksidiyozunun tedavisinde uygulama bulabilir (161).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Etik Kurul ve Deneklerin Temini

Çalışma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (FÜHADYEK) 04.11.2020 tarih ve 97132852/020 sayılı yazı ile çalışma izni alınmıştır (EK 1). Çalışmada Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen ratlar kullanılmıştır. Hayvanların bakım-beslenmesi ile deneysel amaçlı tüm invaziv işlemler yine bu merkezde laboratuvar hayvanlarının bakım prensiplerine uygun olarak yürütülmüştür.

4.2. Deney grupları

Çalışmada iki aylık 42 adet dişi Wistar albino rat kullanıldı. Hayvanlar, 12 saat karanlık ve 12 saat ışık döngüsü altında, oda sıcaklığında, klimalı bir alanda tutuldu. Çalışmanın başlamasından bir hafta önce ortama alıştırdı. Beslenmeleri ticari gıda peletleri ve ad libitum su ile yapıldı. Ratlar rastgele ve her grupta 14 adet rat olacak şekilde üç ana gruba ayrıldı (Tablo 4). Her bir ana grup ise kendi içerisinde yedişer adetlik iki alt gruba ayrıldı.

Tablo 4. Deney grupları ve gruptaki denek sayıları.

	Deney Grupları	Hayvan Adedi
Kontrol grubu (K)	(7 ve 14 günlük iki adet alt grubu mevcut)	14
Propolis grubu (PO)	(7 ve 14 günlük iki adet alt grubu mevcut)	14
<i>Moringa oleifera</i> grubu (MO)	(7 ve 14 günlük iki adet alt grubu mevcut)	14

4.3. Yara Oluşturulması ve Takibi

Ratlar, xylazine hydrochloride (6 mg/kg, I.M) (Rompun, Bayer) ve ketamin hydrochlorur (85 mg/kg, I.M) (Ketalar, Eczacıbaşı) kombinasyonu ile anesteziye alındı. Yara oluşturulacak bölgenin tıraş ve dezenfeksiyonu yapıldı. Anestezi altındaki hayvanların sırt bölgesinde median hattın her iki yanında punch biyopsi aleti ile 0,5 cm çaplı iki adet tam katlı açık deri yarası oluşturuldu. Aynı işlemler bütün ratlarda gerçekleştirildi. Böylece her ratta iki adet olmak üzere toplam 84 adet eksizyonel yara elde edildi. Birinci grupta (n=14) propolis'in sıvı ekstraktı kullanıldı, ikinci grupta (n=14) MO'nın soğuk sıkım yağlı solüsyonu, üçüncü grup olan kontrol grubunda (n=14) ise cold krem kullanıldı (Şekil 4). Tüm yaralar çalışma boyunca açık bırakıldı. Uygulamalar tüm gruplarda deney izleme süresince günde iki kez gerçekleştirildi (Tablo 5).



Şekil 4. Çalışmada kullanılan PO ve MO örnekleri

Tablo 5. Deney gruplarına uygulanan biyolojik ajanların doz, uygulama sıklığı ve süreleri

Kullanılan Ajan	Doz	Uygulama Şekli	Uygulama Sıklığı	Uygulama Süresi
Propolis ekstraktı	Yarayı kapatacak kadar	Lokal	Günde iki kez	İzleme süresince
<i>Moringa oleifera</i> yağı	Yarayı kapatacak kadar	Lokal	Günde iki kez	İzleme süresince
Cold krem (Botafarma, 12.5% spermaceti + 12% white wax + 56% liquid paraffin + 0.5% borate of soda + 19% distile su)	Yarayı kapatacak kadar	Lokal	Günde iki kez	İzleme süresince

Yara iyileşme durumu makroskobik olarak değerlendirildi, Yara sınırlarının ölçümleri alındı. Yaraların dijital fotoğraf makinası kullanılarak standart çözünürlük, ışık ve mesafeden fotoğrafları çekildi. Alınan tüm fotoğraflar bilgisayara aktarıldı. ImageJ yazılımı (Bethesda, Maryland, USA) kullanılarak yara bölgelerinin alanları analiz edildi. Yaraların kapanması defektin tam olarak epitelize olması şeklinde yorumlandı. Çalışmada kullanılan “% Yara Alanı” bulguları aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Walker formülü).

$$\% \text{ Yara Alanı} = \frac{\text{X. Gündeki Yara Alanı}}{\text{İlk Gün Ölçülen Yara Alanı}} \times 100$$

4.4. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Operasyondan sonraki 7. ve 14. günlerde her üç gruptan yedişer adet rat kanları alındıktan sonra ötenazi edildi ve yara bölgelerinden sağlam deri kısımlarını da içeren deri örnekleri histopatolojik ve moleküler incelemeler için toplandı.

4.5. Histopatolojik Analizler

Açılan tam katlı deri yaralarından 0, 7 ve 14. günlerde punch biyopsi yöntemi ile alınan deri örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna konularak tespit edildi. Alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemeleri Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Tespit sonrası uygun boyut ve şekle göre takip kasetlerine yerleştirildikten sonra doku takip cihazında rutin doku takibi işleminden geçirilerek parafin bloklar haline getirildi. Parafin bloklardan lamlara 5 mm kalınlığında lamlara kesitler alınıp deparafinize edilerek Hematoksilen-Eosin (H&E) ve Masson's Trichrome boyamaları yapıldı.

Yapılan boyamalar sonrası preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus DP71 digital kameralı Olympus BX51 araştırma mikroskopunda, Olympus Cells Sens Life Science Imaging Software görüntüleme programı kullanılarak) incelendikten sonra mikro fotoğrafları alındı. H&E ve Masson's Trichrome ile boyanan kesitlerin histopatolojik değerlendirilmesi Tablo 1'de gösterilen yara iyileşmesi değerlendirme kriterleri yönünden x200 büyütmede incelenerek semikantitatif olarak derecelendirildi. Yangı, ülser ve vasküler proliferasyon yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi. Yara yüzeyinin kapanması, epitelizasyon ve fibroblast aktivite artışı var (+) veya yok (-) olarak derecelendirildi (Tablo 1). Histopatolojik bulguların ortalama puanları, skorumla sistemiyle yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak sırasıyla 0, 1, 2 ve 3 puanı ile hesaplandı (Tablo 6).

Tablo 6. Yara iyileşme skorunda kullanılan değişkenler için değerlendirme kriterleri

Yangı	Ülser	Vasküler proliferasyon	Yara yüzeyi kapanması	Epitelizasyon	Fibroblast aktivitesi
Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Hafif	Hafif	Hafif (5'ten az damar)	Var/Yok	Var/Yok	Var/Yok
Orta	Orta	Orta (6-10 damar)	-	-	-
Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli (10'dan fazla damar)	-	-	-

4.6. Gen Ekspresyon Analizleri

4.6.1 Total RNA İzolasyonu

Gen ekspresyon analizi için deri doku örnekleri kullanıldı. Ötenazi işlemini takiben yara alanı deri dokusu alınarak sıvı azot içerisinde donduruldu. Dondurulan örnekler daha sonra RNA izolasyonuna kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Total RNA izolasyonu fenol kloroform bazlı ekstraksiyon kiti (Trigent, Biomatik, Kanada) yardımıyla kit protokolüne göre yapıldı.

Yaklaşık 50 mg doku örneği, içerisinde 800 µL lizis çözeltisi bulunan tüp içerisine alındıktan sonra homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilen lizat üzerine 200 µL kloroform eklenerek 30 saniye vortekslendi daha sonra 13000xg de 15 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sulu faz (300 µL) başka bir tüpe aktarıldıktan sonra üzerine 450 µL isopropanol eklenerek karıştırıldıktan sonra 14000xg'de 15 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan kısım dikkatlice döküldükten sonra pelet üzerine %75'lik etanol eklenerek

7500xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst kısım atıldıktan sonra bu işlem tekrar edildi. Son olarak pelet üzerine 750 µL %95'lik etanol eklenerek 7500xg'de santrifüj edildi. Üst kısım döküldükten sonra kalan etanolün buharlaşması için tüpler 56 °C'de 5 dakika kadar tutuldu. RNA peleti daha sonra 200 µL ultra saf su içerisinde çözüldü. Elde edilen total RNA konsantrasyonu spektrofotometrik olarak belirlendikten sonra 1 µg RNA cDNA sentezi için kullanıldı.

4.6.2 cDNA sentezi

İzole edilen total RNA örneklerinde cDNA sentezi ticari kit (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit-Thermo-Fisher) kullanılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı 1 µg total RNA, 5 µM Oligo dT, 5 µM Random Hexamer, 4 µL 5xReaksiyon Burffer, 20 U Ribolock RNAse İnhibitör; 1 mM dTNP karışımı, 20 U Reverse Transcriptase enzimi içerecek şekilde 20 µL olarak hazırlanmıştır. Sıcaklık işlemleri 25 °C'de 5 dakika, 42 °C'de 60 dakika ve 70 °C'de 5 dakika olacak şekilde uygulanmıştır.

4.6.3 Real-Time PCR işlemleri

Elde edilen cDNA örnekleri TNF α , BCL-2 ve BAX genlerinin mRNA düzeylerinin belirlenmesi amacıyla nicel PCR işleminde templeyt olarak kullanılmıştır. Bu işlem için aşağıda gösterilen primer çiftleri kullanılmıştır.

PCR işleminde SYBR Green içeren ticari bir master mix (Roche) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR karışımı 5 µL 2x master mix ve her bir primerden 0.25 µM olacak şekilde 10 µL hacminde hazırlanmıştır.

Gerçek zamanlı PCR işleminde başlangıç denatürasyon işlemi olarak 3 dakikalık 95 °C daha sonra ise 40 döngü olacak şekilde 15 saniye 95 °C, 15 saniye

60 °C ve 10 saniye 72°C sıcaklık uygulaması yapılmıştır. Her bir örnek ve lokus için PCR işlemi iki kez tekrarlanmıştır.

TNF α , BCL-2 ve BAX genlerinin hedef bölgelerinin PCR işlemi ile çoğaltılması sonucu elde edilen C_T değerleri UB geninin çoğaltılmasıyla elde edilen C_T değerleri ile normalize edilmiştir. Normalizasyon işlemi Livak ve Schmittgen (162) tarafından bildirilen $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu ile yapılmıştır.

Burada $\Delta\Delta C_t$: (Örneğin test lokusuna ait C_T değeri-Örneğin referans lokusa ait C_T değeri) – Kontrol grubunun ortalama C_T değerini ifade etmektedir.

4.7. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizlerin (ALB, ALT, AST, C3, C4, CHO2I, HDL, IGG, IGM, IRON, LDL, TRIGL, VITD, TP) yapılabilmesi için sakrifiye edilen ratlardan kan örnekleri alındı. Enjektör ile alınan kan örnekleri kodlanmış tüplere aktarıldı. Daha sonra kanlar santrifüje edilerek (3000 devirde 10 dakika) serum haline getirildi. Toplanan serumlar ependorf tüplere aktarılarak analizleri yapılmaya kadar -80 °C’de bekletildi. Serumlar ticari kitler ile çalışan otoanalizör cihazında analiz edildi.

4.8. İstatistiksel Değerlendirme

Yara yüzey alanı ve biyokimyasal parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk Testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren parametreler bakımından gruplar arasındaki farklılık tek yönlü varyans analizi ile, normal dağılım göstermeyen parametreler ise Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Duncan testi ile gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS.17 istatistik paket programı kullanılmıştır.

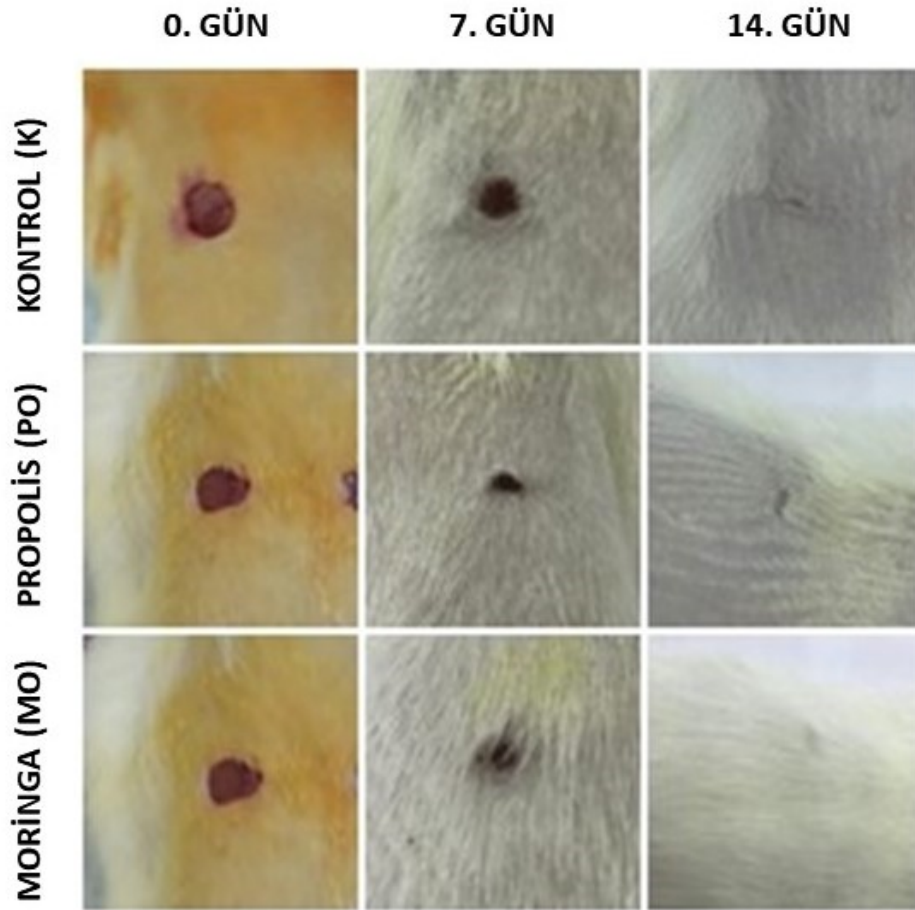
Çalışmanın histopatolojik parametreleri faktöriyel deneme desenine göre analiz edilmiştir. Bu kapsamda kontrol (K), propolis (PO) ve moringa (MO) ilavesi ile 3 grup ve 3 süre (0, 7 ve 14 gün) 3x3 faktöriyel deneme desenine göre değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket programının GLM (General Linear Model) prosedürü uygulanmıştır. Grup ortalamalarının karşılaştırılması amacıyla Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır. Bu amaç doğrultusunda SPSS (163) paket programından faydalanılmıştır.



5. BULGULAR

5.1. Klinik Bulgular

Deneyisel çalışma sırasında, yara enfeksiyonu ve anormal sağlık durumu dahil hiçbir postoperatif komplikasyon kaydedilmedi. Ratların anestezisi tüm gruplarda komplikasyonsuz bir şekilde gerçekleşti. Propolis (P), *Moringa oleifera* (MO) ve Kontrol (K) grubunun yara iyileşmesi üzerine etkileri ayrı ayrı incelendi. Yaralara ait makroskobik görüntüler Şekil 5'te sunulmuştur.



Şekil 5. Grupların zamana bağlı yara yüzeyi görüntüleri

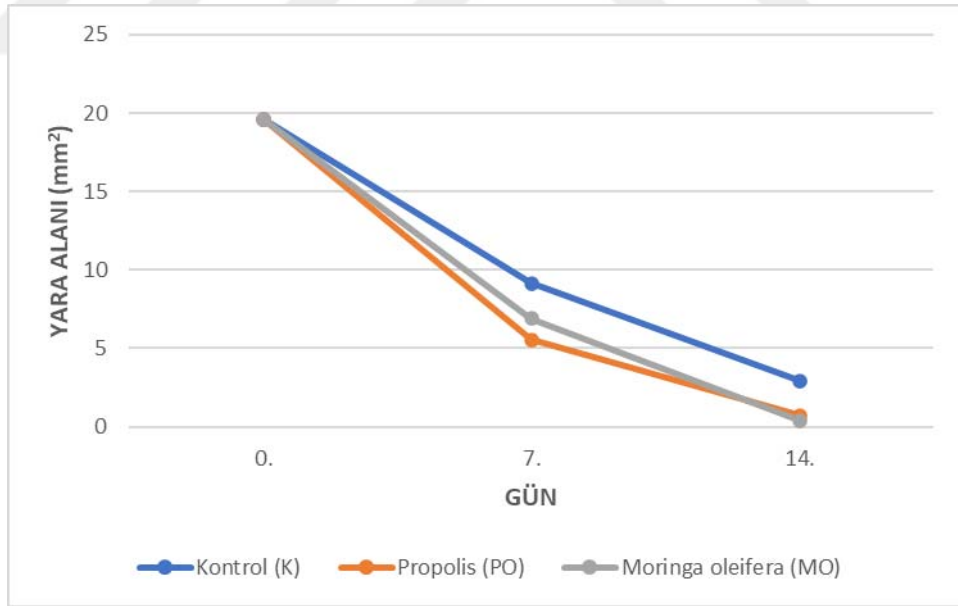
Gruplara ait yara alanı ölçüm değerlerine ait veriler Tablo 7 ve Şekil 6'da iyileşme oranlarına ait veriler ise Tablo 8 ve Şekil 7'de sunulmuştur. Gruplar arası

farklılıklar hem 7. hem de 14. günlerde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İkili karşılaştırmalarda Propolis ve Moringa gruplarındaki yara alanlarının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. Bu dönemde Moringa grubu yara alanı büyüklüğü ile Propolis grubunda ölçülen yara alanı arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Tablo 7. Grupların farklı günlerdeki yara yüzey alanı değerleri (mm²)

Gün	n	Gruplar			P
		Kontrol (K)	Propolis (PO)	Moringa oleifera (MO)	
0.	14	19,625	19,625	19,625	Ö.D.
7.	7	9,15 ± 2,47 ^a	5,55 ± 1,33 ^b	6,91 ± 1,93 ^b	0.004
14.	7	2,95 ± 0,26 ^a	0,73 ± 0,40 ^b	0,39 ± 0,27 ^b	0.000

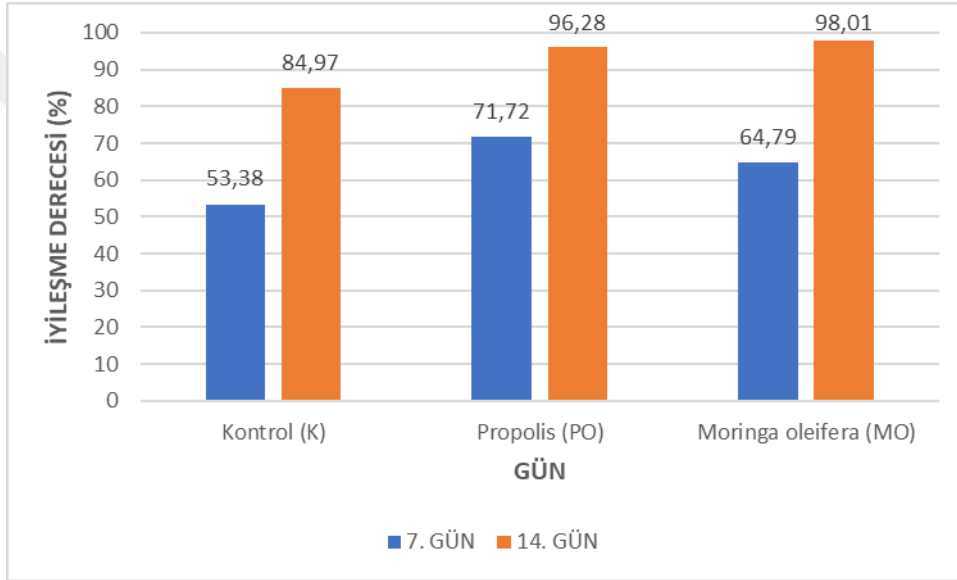
a, b: Aynı satırda istatistiksel olarak önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir (P <0.05).



Şekil 6. Grupların zamana bağlı yara alanı değişimi

Tablo 8. 7 ve 14. günlerde iyileşen yara alanları (%)

Gün	n	Gruplar		
		Kontrol (K)	Propolis (PO)	Moringa oleifera (MO)
0.	14	0	0	0
7.	7	53,38	71,72	64,79
14.	7	84,97	96,28	98,01

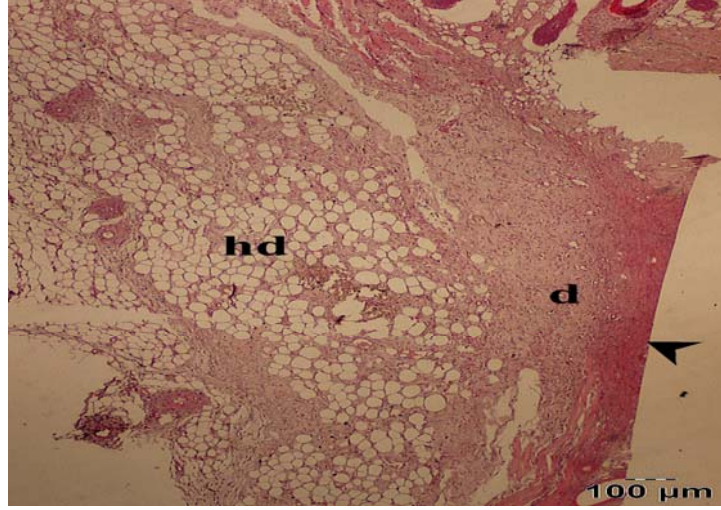


Şekil 7. Grupların zamana bağlı yara iyileşme oranları

5.2. Histopatolojik Bulgular

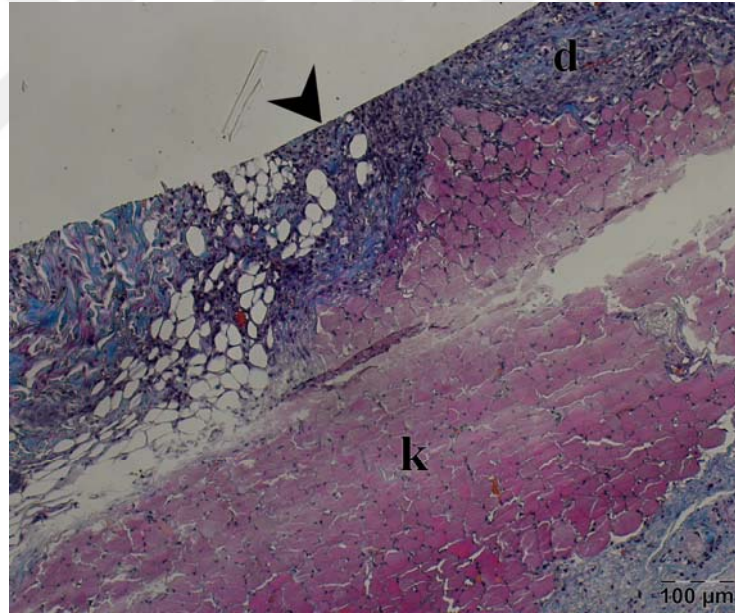
0. Gün

Kontrol, Propolis ve Moringa: Çalışmanın 0. gününde histopatolojik olarak incelenen tüm hayvanların dermislerinde yangı, vasküler proliferasyon, epitelizasyon, yara yüzeyi kapanması ve fibroblast aktivitesi yoktu. Her hayvanda oluşturulan tam katlı yaraya bağlı olarak ülser mevcuttu (Şekil 8, 9). 0. güne ait histopatolojik değerlendirme kriterleri Tablo 9’da verilmektedir.



Şekil 8. 0. gün kontrol, propolis ve moringa gruplarının mikroskopik görüntüsü.

hd: hipodermis, d: dermis, ok başı: ülser, H&E boyama, x4



Şekil 9. 0. gün kontrol, propolis ve moringa gruplarının mikroskopik görüntüsü.

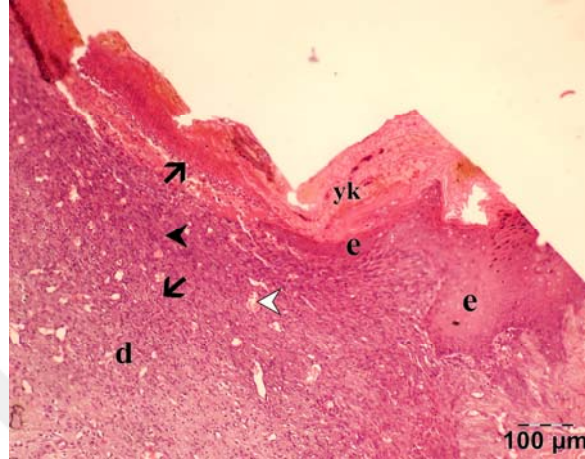
d: dermis, ok başı: ülser, Trippl boyama, x10

Tablo 9. 0. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri

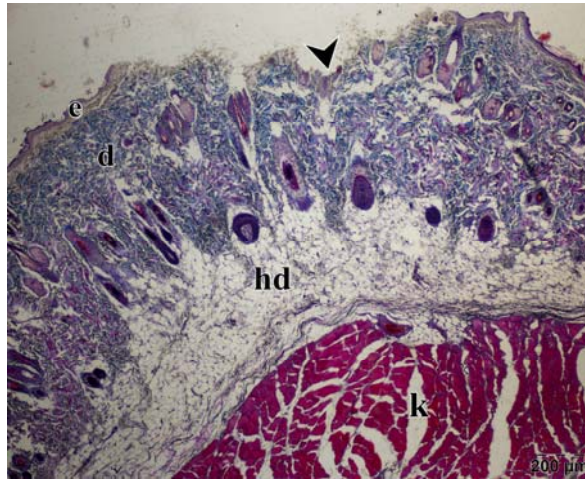
Kriterler	Kontrol		0. gün Propolis		Moringa	
	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
Yangı	1	0	1	0	1	0
	2	0	2	0	2	0
	3	0	3	0	3	0
	4	0	4	0	4	0
	5	0	5	0	5	0
	6	0	6	0	6	0
	7	0	7	0	7	0
Ülser	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	3	1	3	1	3
	2	3	2	3	2	3
	3	3	3	3	3	3
	4	3	4	3	4	3
	5	3	5	3	5	3
	6	3	6	3	6	3
7	3	7	3	7	3	
Vasküler proliferasyon	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	0	1	0	1	0
	2	0	2	0	2	0
	3	0	3	0	3	0
	4	0	4	0	4	0
	5	0	5	0	5	0
	6	0	6	0	6	0
7	0	7	0	7	0	
Yara yüzeyi kapanması	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	-	1	-
	2	-	2	-	2	-
	3	-	3	-	3	-
	4	-	4	-	4	-
	5	-	5	-	5	-
	6	-	6	-	6	-
7	-	7	-	7	-	
Epitelizasyon	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	-	1	-
	2	-	2	-	2	-
	3	-	3	-	3	-
	4	-	4	-	4	-
	5	-	5	-	5	-
	6	-	6	-	6	-
7	-	7	-	7	-	
Fibroblast aktivitesi	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	-	1	-
	2	-	2	-	2	-
	3	-	3	-	3	-
	4	-	4	-	4	-
	5	-	5	-	5	-
	6	-	6	-	6	-
7	-	7	-	7	-	

Kontrol 7. Gün: Yara üzerinde kabuk oluşumunun olduğu ancak yara yüzeyinde kapanmanın şekillenmediği görüldü. Yara kabuğu altında henüz epitelizasyonun şekillenmemişti. Yara kabuğu içerisinde ve altındaki dermiste az sayıda lenfosit ve makrofaj ile çoğunluğu nötrofil lökositlerinden oluşan yangı hücresi ve fibroblastik gevşek bağ doku artışı gözlemlendi. Yangısal hücre infiltrasyonu moringa

ve propolis gruplarına göre daha fazla iken, fibroblastik gevşek bağ doku artışı moringa ve propolis gruplarına göre daha hafif orandaydı. Yara altındaki dermis bölgesinde vasküler proliferasyonun propolis ve moringa gruplarına göre daha hafif şiddette olduğu görüldü (Şekil 10, 11).



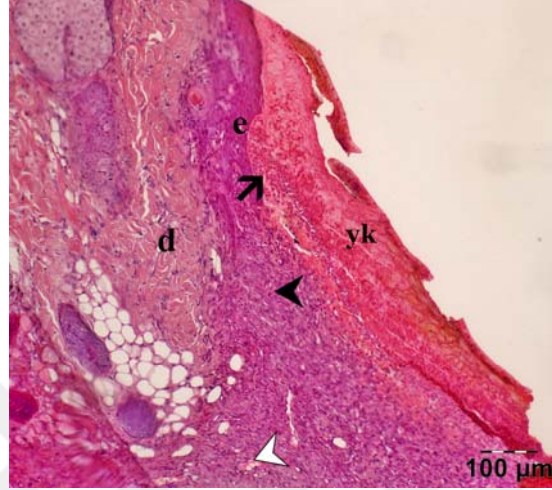
Şekil 10. 7. gün K grubu mikroskopik görüntüsü. yk: yara kabuğu, e: epidermis, d: dermis, ok: yangı hücresi infiltrasyonu, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, H&E boyama, x10.



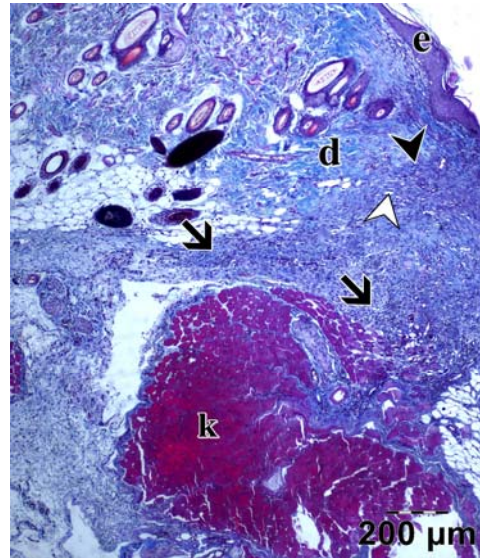
Şekil 11. 7. gün K grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, hd: hipodermis, ok başı: ülser, Trippl boyama, x4.

Propolis 7. Gün: Yara yüzeyinin kabukla kaplı olduğu, yara kabuğu altında epitelizasyonun 2 hayvanda şekillenmeye başladığı görüldü. Yara kabuğu

içerisinde ve altındaki dermiste az sayıda lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ile daha çok sayıda nötrofil lökositten oluşan yangısal hücre infiltrasyonu ve fibroblastik gevşek bağ doku artışı gözlemlendi. Yangısal hücre infiltrasyonu kontrol grubuna göre daha fazla iken, moringa grubuna göre daha hafifdi (Şekil 12, 13).

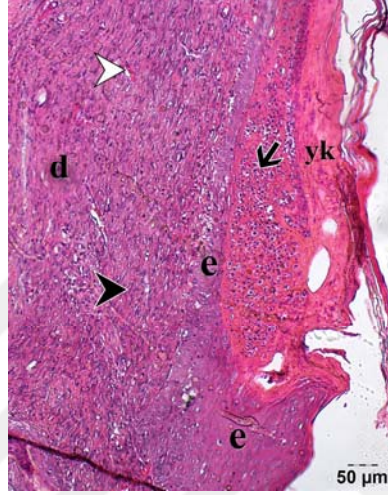


Şekil 12. 7. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü. yk: yara kabuğu, e: epidermis, d: dermis, ok: yangı hücresi infiltrasyonu, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, H&E boyama, x10.

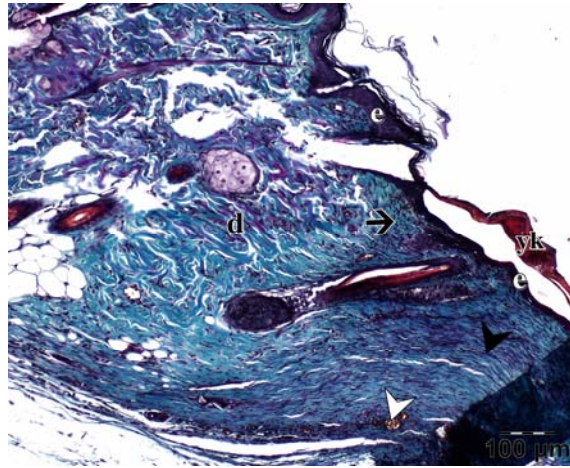


Şekil 13. 7. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, ok: yangı hücresi infiltrasyonu, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, Trippl boyama, x4.

Moringa 7. Gün: Yara yüzeyinin kabukla kaplı olduğu görüldü. Yara kabuğu altında ince tabaka halinde de olsa 4 hayvanda epitelizasyonun şekillenmeye başladığı dikkati çekti. Yara kabuğu içerisinde ve epitelizasyonun olduğu kısmın altındaki dermiste çoğunluğu nötrofil lökosit, daha az sayıda lenfosit ve makrofajdan oluşan yangı hücresi infiltrasyonu ile birlikte fibroblastik gevşek bağ doku artışı gözlemlendi. Ayrıca epitelizasyon alanı altında hiperemik vasküler proliferasyon şekillenmişti (Şekil 14, 15).



Şekil 14. 7. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü. yk: yara kabuğu, e: epidermis, d: dermis, ok: yangı hücresi infiltrasyonu, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, H&E boyama, x10.



Şekil 15. 7. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü. yk: yara kabuğu, e: epidermis, d: dermis, ok: yangı hücresi infiltrasyonu, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, Trippl boyama, x10.

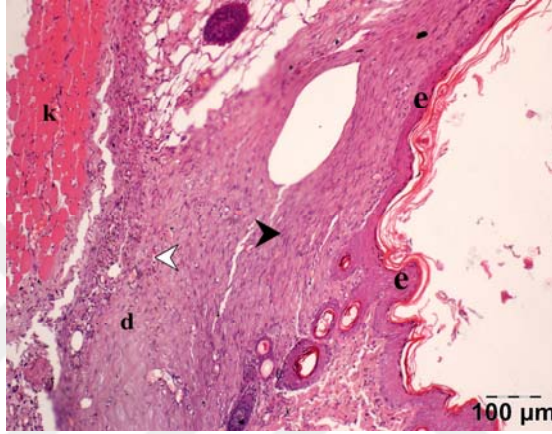
7. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri Tablo 10'da verilmektedir.

Tablo 10. 7. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri

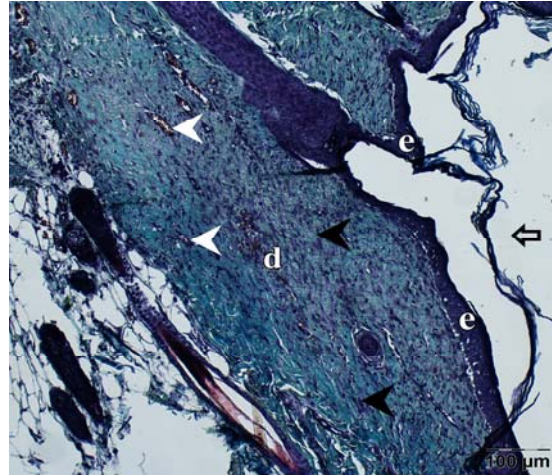
Kriterler	Kontrol		7. gün) Propolis		Moringa	
	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
Yangı	1	3	1	2	1	1
	2	3	2	2	2	1
	3	2	3	1	3	1
	4	2	4	3	4	2
	5	2	5	2	5	2
	6	2	6	2	6	2
	7	3	7	1	7	1
Ülser	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	2	1	2	1	1
	2	2	2	2	2	0
	3	2	3	1	3	1
	4	2	4	2	4	1
	5	2	5	1	5	1
	6	2	6	1	6	2
7	1	7	2	7	0	
Vasküler proliferasyon	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	2	1	2	1	2
	2	2	2	1	2	1
	3	1	3	1	3	2
	4	1	4	1	4	2
	5	1	5	1	5	2
	6	1	6	1	6	2
7	0	7	2	7	1	
Yara yüzeyi kapanması	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	-	1	-
	2	-	2	-	2	-
	3	-	3	-	3	-
	4	-	4	-	4	-
	5	-	5	-	5	-
	6	-	6	-	6	-
7	-	7	-	7	-	
Epitelizasyon	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	-	1	+
	2	-	2	+	2	-
	3	-	3	+	3	+
	4	-	4	-	4	-
	5	-	5	-	5	+
	6	-	6	-	6	-
7	-	7	-	7	+	
Fibroblast aktivitesi	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	+	1	+	1	+
	2	+	2	+	2	+
	3	+	3	+	3	+
	4	+	4	+	4	+
	5	+	5	+	5	+
	6	+	6	+	6	+
7	+	7	+	7	+	

14. Gün

Kontrol 14. Gün: Gruptaki epitelizasyonun tamamlanmadığı hayvanlar olduğu görüldü. Dermiste 7. güne göre daha az sayıda olmakla birlikte hafif şiddette lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu bulunmaktaydı. Fibroblastik gevşek bağ doku artışının düzensiz yapıda olup, moringa ve propolis gruplarına göre daha hafif oranda olduğu gözlemlendi. Yara altındaki dermis bölgesinde vasküler proliferasyonun propolis ve moringa gruplarına göre daha hafif şiddette olduğu görüldü (Şekil 16, 17).

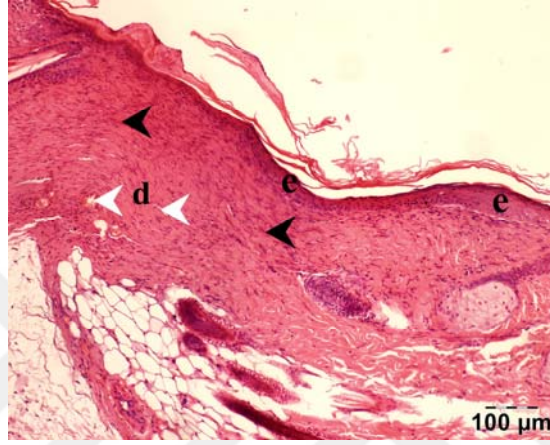


Şekil 16. 14. gün K grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, H&E boyama, x10.

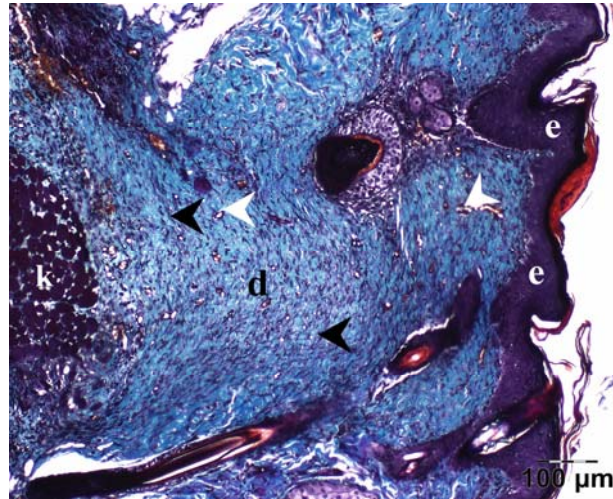


Şekil 17. 14. gün K grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, Trippl boyama, x10.

Propolis 14. Gün: Yara yüzeyinin gruptaki 2 hayvanda tam olarak kapanmadığı görüldü. Kapanan yara yüzeyinde ise normalden çok daha ince bir epitel tabakasının oluştuğu gözlemlendi. Dermiste çok az sayıda lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ile şiddetli fibroblastik gevşek bağ doku artışı dikkati çekti. Bağ doku artışı olan alan içerisinde orta şiddette vasküler proliferasyon gözlemlendi. Vasküler proliferasyon kontrol grubundan daha yüksek, moringa grubundan daha hafifdi (Şekil 18, 19).

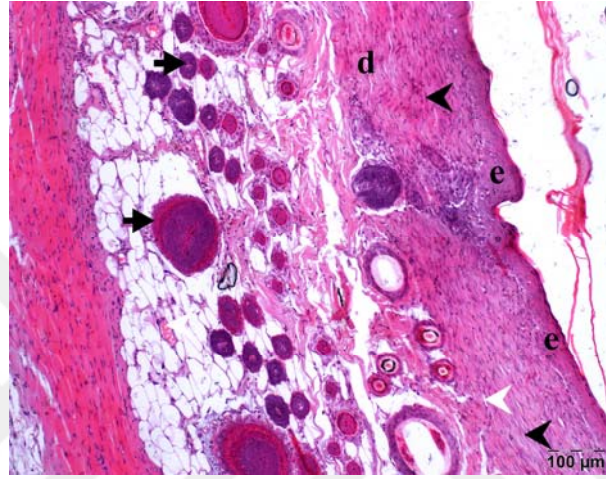


Şekil 18. 14. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, H&E boyama, x10.

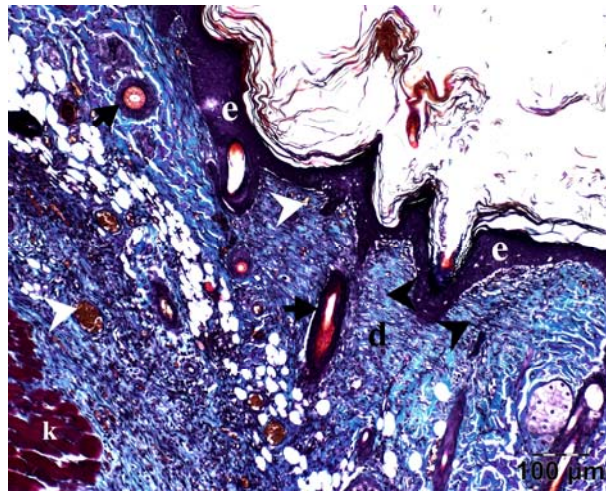


Şekil 19. 14. gün PO grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, k: kas, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, Trippl boyama, x10.

Moringa 14. Gün: Yara yüzeyi gruptaki 2 hayvanda tam olarak kapanmamıştı. Kapanan yara yüzeyinde ise normalden çok daha ince bir epitel tabakasının oluşturmaktaydı ancak bu kalınlık propolis grubuna göre daha kalındı. Dermiste çok az sayıda lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ile şiddetli fibroblastik gevşek bağ doku artışı ve orta şiddette vasküler proliferasyon gözlemlendi. Vasküler proliferasyon kontrol grubundan daha yüksekti (Şekil 20, 21).



Şekil 20. 14. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, siyah ok: kıl folikülü, H&E boyama, x10.



Şekil 21. 14. gün MO grubu mikroskopik görüntüsü. e: epidermis, d: dermis, k: kas, siyah ok başı: bağ doku artışı, beyaz ok başı: vasküler proliferasyon, siyah ok: kıl folikülü, Trippl boyama, x10.

14. güne ait histopatolojik değerlendirme kriterleri Tablo 11’de verilmektedir.

Tablo 11. 14. günde gruplara ait histopatolojik değerlendirme kriterleri

Kriterler	Kontrol		14. gün Propolis		Moringa	
	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
Yangı	1	1	1	0	1	0
	2	1	2	0	2	0
	3	0	3	0	3	0
	4	0	4	0	4	0
	5	0	5	0	5	0
	6	0	6	0	6	0
	7	0	7	0	7	0
Ülser	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	0	1	0	1	0
	2	0	2	0	2	0
	3	0	3	0	3	0
	4	0	4	0	4	0
	5	0	5	0	5	0
	6	0	6	0	6	0
Vasküler proliferasyon	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	2	1	2	1	2
	2	2	2	2	2	3
	3	2	3	2	3	2
	4	1	4	2	4	2
	5	2	5	2	5	3
	6	1	6	2	6	2
7	2	7	2	7	2	
Yara yüzeyi kapanması	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	-	1	+
	2	-	2	+	2	+
	3	+	3	+	3	+
	4	-	4	-	4	+
	5	-	5	+	5	+
	6	-	6	+	6	-
7	-	7	+	7	+	
Epitelizasyon	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	-	1	+	1	+
	2	-	2	+	2	+
	3	+	3	+	3	+
	4	-	4	+	4	+
	5	-	5	+	5	+
	6	-	6	+	6	+
7	-	7	+	7	+	
Fibroblast aktivitesi	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme	Hayvanlar	Değerlendirme
	1	+	1	+	1	+
	2	+	2	+	2	+
	3	+	3	+	3	+
	4	+	4	+	4	+
	5	+	5	+	5	+
	6	+	6	+	6	+
7	+	7	+	7	+	

Histopatolojik bulguların istatistiksel analizi açısından uygulama grupları ve zamanın yangı, ülser ve vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Grup ve zaman parametrelerinin yangı, ülser ve vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi

	Kontrol	Propolis	Moringa	SEM	P	0. gün	7. gün	14. gün	SEM	P
Yangı	0,90 ^a	0,62 ^b	0,48 ^b	0,082	0,002	0,00 ^b	1,91 ^a	0,095 ^b	0,082	0,000
Ülser	1,61 ^a	1,52 ^a	1,28 ^b	0,069	0,004	3,00 ^a	1,43 ^b	0,000 ^c	0,069	0,000
Vasküler prlf.	0,95 ^b	1,09 ^{ab}	1,33 ^a	0,087	0,011	0,00 ^c	1,38 ^b	2,00 ^a	0,087	0,000

(**P<0.05**): Gruplar arasındaki farklar önemlidir; (^{a-c}) Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir, (**P>0.05**): Önemsiz, **SEM**: Ortalamanın standart hatası

Uygulama grubu x zaman interaksyonunun yangı ve ülser değeri üzerine önemli ($P<0.05$) etkisi bulunurken, vasküler proliferasyon değerleri uygulama grupları x zaman interaksyonunu üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$) (Tablo 13).

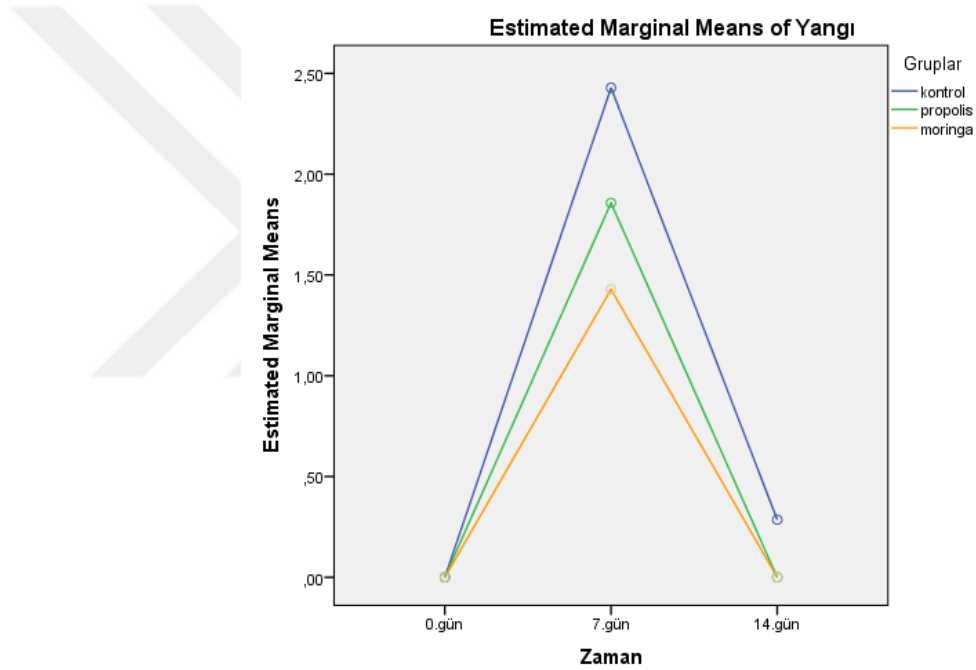
Tablo 13. Grup x zaman interaksyon parametrelerinin yangı, ülser ve vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi

GRUPLAR	ZAMAN	YANGI	ÜLSER	VASKÜLER PROLİFERASYON
KONTROL	0.gün	0,00	3,00	0,00
	7.gün	2,43	1,86	1,14
	14.gün	0,29	0,00	1,71
PROPOLİS	0.gün	0,00	3,00	0,00
	7. gün	1,86	1,57	1,29
	14. gün	0,00	0,00	2,00
MORİNGA	0. gün	0,00	3,00	0,00
	7. gün	1,43	0,86	1,71
	14. gün	0,00	0,00	2,29
SEM		0,143	0,120	0,151
P		0,016	0,000	0,282

(**P<0.05**): Gruplar arasındaki farklar önemlidir (**P>0.05**): Önemsiz, **SEM**: Ortalamanın standart hatası

Uygulama grubu x zaman interaksyonunun yangı ve ülser değeri üzerine önemli ($P<0.05$) etkisi bulunurken, vasküler proliferasyon değerleri uygulama grupları x zaman interaksyonunu üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$) (Tablo 2).

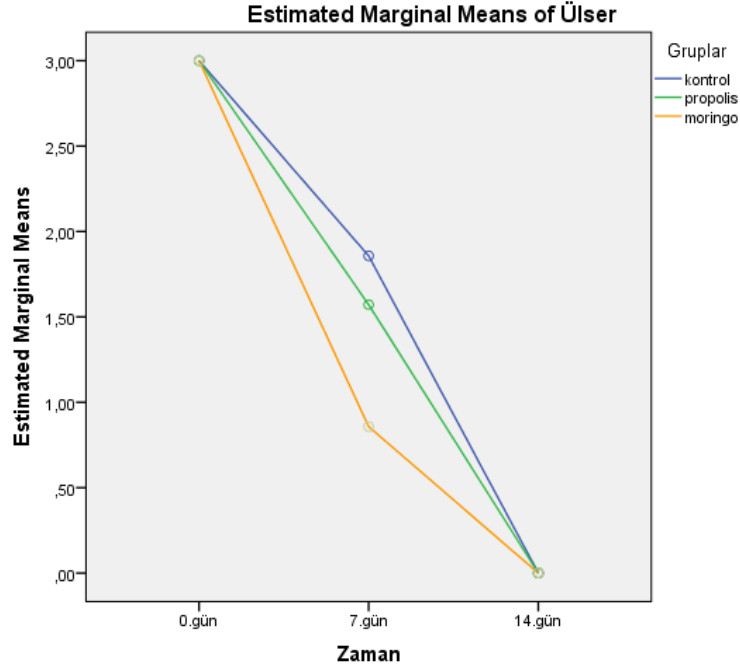
Bu çalışma kapsamında farklı uygulamaların (propolis, moringa) farklı sürelerdeki (0, 7 ve 14. gün) yangı, ülser ve vasküler proliferasyon değerlerini gösteren Tablo 12 ve 13 incelendiğinde, en düşük yangı değeri (0,48) gruplar bazında incelendiğinde MO grubu hayvanlarda, zaman bazında incelendiğinde ise en düşük değer (0,00) 0. gün incelenen deneme hayvanlarından elde edilmiştir ($p<0.05$). En yüksek yangı değeri (0,90) gruplar bazında K grubunda, süre bazında ise en yüksek değer (1,91) 7. gün incelenen deneme grubu hayvanlarında elde edilmiştir ($p<0.05$). Grup x zaman interaksyonu yangı değerleri incelendiğinde en düşük yangı değeri K grubunda 0. gün, PO ve MO grubunda ise 0. gün ve 14. gün tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Şekil 22).



Şekil 22. Grup ve zaman parametrelerinin yangı değerleri üzerine etkisi

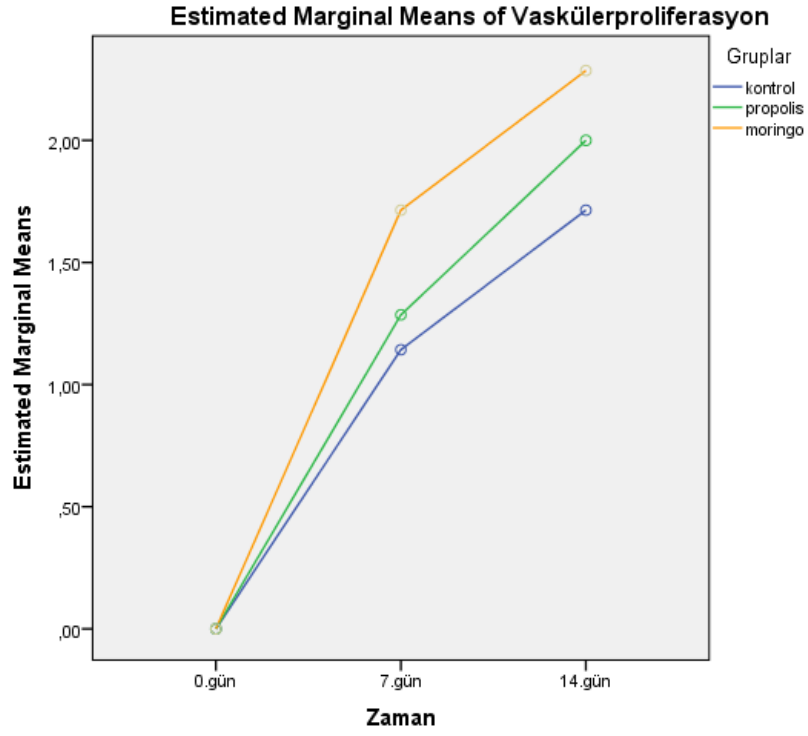
Hayvanların en düşük ülser değeri (1,28) gruplar bazında MO grubunda, zaman bazında incelendiğinde ise en düşük değer (0,00) 14. gün incelenen deneme gruplarından elde edilmiştir ($p<0.05$). En yüksek ülser değeri (1,61) gruplar bazında K grubu hayvanlarında, zaman bazında ise en yüksek değer (3,00) 0. gün incelenen deneme grubu hayvanlarından elde edilmiştir ($p<0.05$). Grup x zaman interaksyonu ülser değerleri incelendiğinde en düşük ülser değeri K

grubunda 14. gün, PO ve MO grubunda ise 14. gün tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Şekil 23).



Şekil 23. Grup ve zaman parametrelerinin ülser değerleri üzerine etkisi

Hayvanların en düşük vasküler proliferasyon değeri (0,95) gruplar bazında incelendiğinde K grubu hayvanlarında, zaman bazında incelendiğinde ise en düşük değer (0,00) 0. gün incelenen deneme hayvanlarından elde edilmiştir ($p<0.05$). En yüksek vasküler proliferasyon değeri (1,33) gruplar bazında incelendiğinde MO deneme grubundaki hayvanlarında, zaman bazında ise en yüksek değer (2,00) 14. gün incelenen deneme grubu hayvanlarından elde edilmiştir ($p<0.05$). Grup x zaman interaksiyonu vasküler proliferasyon değerleri incelendiğinde ise istatistik olarak önemli farklılıklar tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 24).

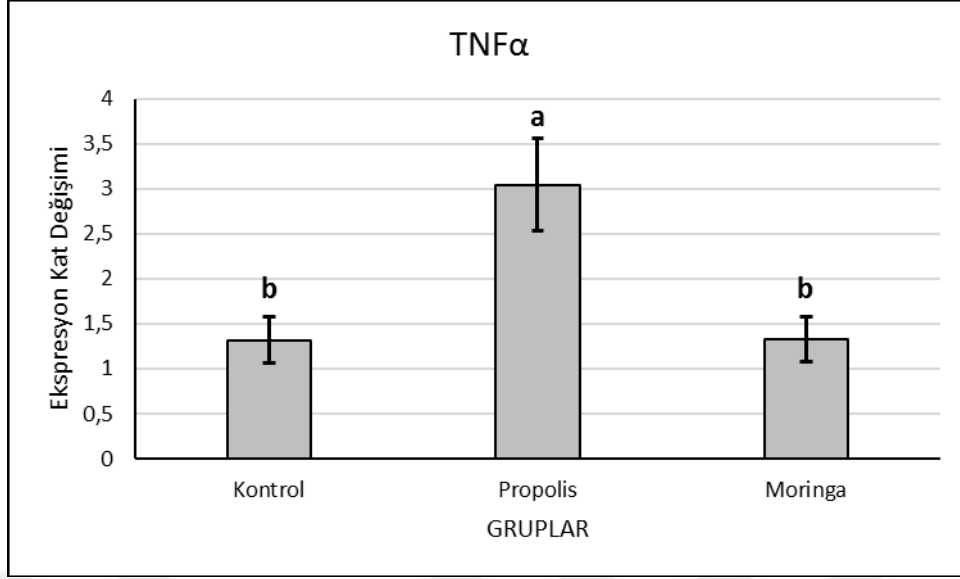


Şekil 24. Grup ve zaman parametrelerinin vasküler proliferasyon değerleri üzerine etkisi

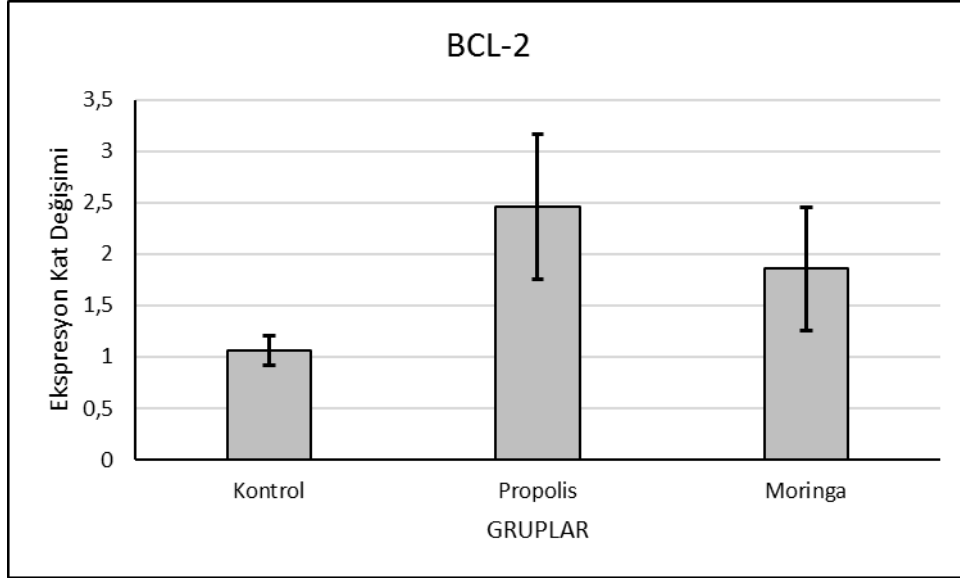
5.3. Gen Ekspresyon Bulguları

Propolis ve Moringa Yağı uygulamasının yara dokusundaki TNF α , BCL-2 ve BAX gen ekspresyonları üzerine etkileri Şekil 25-27’de gösterilmiştir.

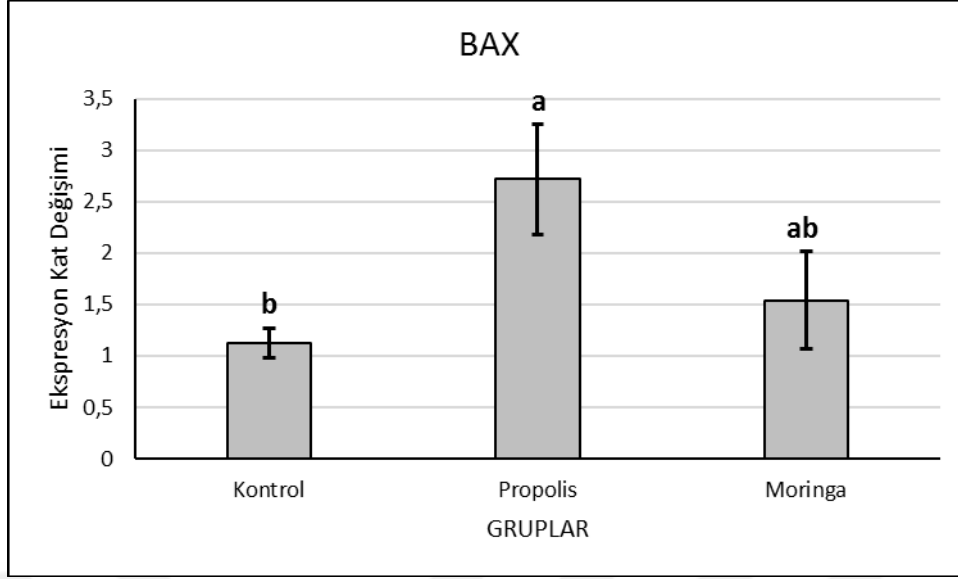
Yara dokusundaki TNF α ve BAX gen ekspresyonları bakımından uygulama grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken BCL-2 gen ekspresyonu uygulamalardan etkilenmemiştir.



Şekil 25. PO ve MO uygulamalarının yara dokusundaki TNF α gen ekspresyon düzeyi üzerine etkisi.



Şekil 26. PO ve MO uygulamalarının yara dokusundaki BCL-2 gen ekspresyon düzeyi üzerine etkisi.



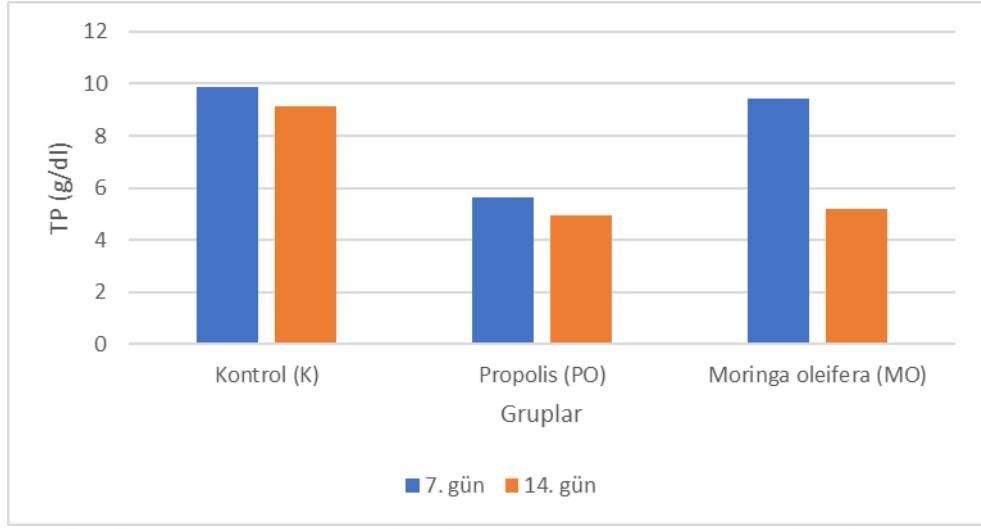
Şekil 27. PO ve MO uygulamalarının yara dokusundaki BAX gen ekspresyon düzeyi üzerine etkisi.

5.4. Biyokimyasal Bulgular

Total Protein (TP): Deneyin 7. ve 14. günlerinde K, PO ve MO deney grubundaki ratların kan örneklerindeki TP değerleri analiz edildi. Yapılan değerlendirmede K grubunda ölçülen TP değerlerinin ratlarda referans değer olarak kabul edilen (3,0-6,5 g/dl) düzeyden daha yüksek, PO ve MO grubunda ölçülen TP değerlerinin ise referans değerler arasında olduğu tespit edildi (Tablo 14, Şekil 28). Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada Kontrol grubunda ölçülen TP düzeyinin PO ve MO grubuna göre daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu değerlendirildi ($P < 0,05$).

Tablo 14. Gruplara ait serum TP değerleri (g/dl)

GÜN	GRUPLAR		
	Kontrol (K)	Propolis (PO)	Moringa (MO)
7. gün	9,883	5,636	9,413
14. gün	9,133	4,926	5,211



Şekil 28. Deney gruplarına ait 7 ve 14. günlerindeki kan serum TP grafiği

Tüm deney gruplarından elde edilen 7. ve 14. gün kan parametre değerleri Tablo 13 ve 14'te verilmiştir. Kontrol grubunda 7. günde ölçülen ALT seviyesi hem PO hem de MO grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($P < 0.05$) (Tablo 15).

Tablo 15. 7. günde gruplara ait serum mineral madde değerleri

Test	Kontrol	Propolis	Moringa	P
ALB	40.720±1.996	38.360±1.087	38.940±1.073	0.507
ALT	71.440±9.358	40.125±2.036	50.440±3.475	0.008
AST	175.900±33.078	206.300±49.436	144.120±19.983	0.499
C3	0.524±0.015	0.504±0.0216	0.512±0.014	0.716
C4	0.052±0.006	0.054±0.004	0.048±0.005	0.693
CHO2I	59.020±3.872	59.450±2.150	52.325±2.362	0.192
HDL-c	37.320±4.177	34.060±2.383	30.780±2.225	0.351
IGG	0.872±0.188	0.850±0.145	0.806±0.169	0.960
IGM	0.0540±0.010	0.034±0.010	0.042±0.013	0.410
IRON	316.840±24.926	302.220±28.539	356.640±49.406	0.557
LDL-c	6.780±0.604	7.780±1.029	7.360±0.535	0.653
TRIGL	78.460±8.837	63.040±6.877	63.500±6.749	0.296

VITD	17.942±1.324	16.760±0.977	16.212±1.015	0.551
-------------	--------------	--------------	--------------	-------

Grupların 14. günde ölçülen kan değerlerine göre ALT, IGM ve VIT D

değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi (P <0.05) (Tablo 16).

Tablo 16. 14. günde gruplara ait serum mineral madde değerleri

Test	Kontrol	Propolis	Moringa	P
ALB	39.320±1.199	35.280±3.070	29.300±3.110	0.056
ALT	45.680±6.408	58.240±17.321	24.88±1.793	0.013
AST	201.240±55.226	217.140±45.196	76.9400±9.88	0.067
C3	0.522±0.033	0.516±0.021	0.434±0.028	0.081
C4	0.048±0.005	0.046±0.004	0.036±0.004	0.152
CHO2I	51.720±2.554	58.225±11.581	41.580±4.4840	0.238
HDL-c	32.420±1.773	32.740±4.560	23.060±3.187	0.111
IGG	0.820±0.160	1.240±0.280	0.718±0.269	0.308
IGM	0.038±0.007	0.116±0.016	0.098±0.006	0.001
IRON	304.240±16.791	268.220±41.663	254.640±26.631	0.505
LDL-c	6.650±0.858	8.200±2.436	5.000±0.691	0.372
TRIGL	70.520±6.565	79.450±20.638	46.740±8.164	0.182
VITD	11.356±1.423	7.054±1.978	5.034±1.012	0.035

6. TARTIŞMA

Deri, mikroorganizmalara karşı korunmada, D vitamini sentezinin başlatılmasında, termal düzenlenmede ve dış ortamla ilgili duyuşal bilgilerin algılanmasında çok önemli bir rol oynamaktadır (21, 164). Yara ise; derinin koruyucu işlevinde bir bozulma, deri dokusunun hücreşel, anatomik ve işlevşel devamlılığının bozulmasıdır. Derinin bozulmuş anatomik devamlılığının bozulmuş fonksiyonel durumunun restorasyonu için yaraların uygun şekilde iyileşmesi esastır. Yara iyileşmesi, travma ile başlayan ve sıklıkla skar oluşumu ile sonlanan biyolojik bir süreçtir (22, 23). Deri yaralarının iyileşmesi, üst üste binen inflamasyon, proliferasyon, yeniden epitelizasyon ve yeniden şekillenme aşamalarını içeren dinamik bir süreçtir. Hasarlı dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün yeniden sağlanması için uygun yara iyileşmesi esastır. Doku onarım sürecini anlamak ve yeni tedavi protokollerini test etmek amacıyla onlarca yıldır yara iyileşme modelleri geliştirilmiştir (165). Yara iyileşmesi için çeşitli tedaviler mevcut olmakla birlikte daha etkili tedavilere ihtiyaç vardır. Yapılan bu çalışmada ratlarda tam katlı deri yaralarında klasik olarak kullanılmakta olan farmasötik ve kimyasal ajanlar yerine bitkisel ve hayvansal kökenli iki biyoaktif içeren ajan kullanılarak karşılaştırmalı değerlendirmelerinin yapılması amaçlanmıştır.

Kemirgen hayvanlar, insan ve hayvan derisi arasındaki anatomik ve fizyolojik farklılıklara rağmen, doku onarım sürecini anlamak ve etkili ve hızlı tedavi stratejileri geliştirmek için değerli biyolojik araçlardır. Bu hızlı yara kapanma süreci, gelişmiş tedavi stratejileri geliştirmek isteyen araştırmacıların

ilgisini çekmiştir (166). Günümüzde yara iyileştirme araştırmalarında çoğunlukla kemirgenler (fare, rat), tavşan ve domuzlar tercih edilmektedir (167). Ratlar, küçük boyutlarına rağmen, yara iyileştirme çalışmaları için uygun bir cilt alanı sağlayacak kadar büyüktür (165). Bu tür; yara tipinin, boyutunun, şeklinin ve derinliğinin standardizasyonuna izin vererek deri yara iyileşmesi çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (168). Bu özel hayvan türü genellikle geniş bulunabilirliği, izlenebilir doğası ve barınma, bakım ve üreme ağısından ucuz maliyeti nedeniyle sečilir. Bazı araştırmacılar rat gibi kemirgenlerin cilt yapısının insan cildine benzemediği yönündeki hipoteze dayanarak bu türün çalışmalarda kullanılmasını eleştirmektedir. Bu nedenle araştırma sonuçlarının insan çalışmalarına referans olamayacağını ve bu tür çalışmalarda insan cilt yapısına en yakın olduğu gerekçesiyle domuz çalışmalarının yapılması gerektiğini belirtilmektedirler (169). Ionitã ve ark. (170) kutanöz yara iyileşme değerlendirmesi yapmak için ratların eksizyonel bir yara modeli üzerinde, biyolojik aktif bileşiklerle yüklü yenilikçi tıbbi cihazlar kullanarak birtakım testler yapmışlardır. Diři ratların sırt bölgesinde cerrahi olarak 20 mm çapında tam kalınlıkta bir dairesel deri yarası oluşturarak zaman içindeki yara iyileşme sürecini değerlendirdikleri çalışmada ratların kutanöz yara iyileşmesi için en uygun hayvan modeli olduğunu bildirmişlerdir. Biz de yukarıda ifade edilen gerekçeler nedeniyle yaptığımız mevcut çalışmada denek olarak rat kullanmayı tercih ettik. Çalışmada gruplar arası farklılığın (varyasyonun) mümkün merteye azaltılması için benzer yař, kilo ve cinsiyete sahip ratlar seçtik. Bu amaçla yaklaşık iki aylık, benzer canlı ağırlığa sahip, toplam 42 adet diři Wistar albino ırkı rat kullanarak

PO ve MO yağının tam katlı deri yaralarının iyileşmesi üzerine olası etkilerini inceledik.

Yara iyileşmesi dinamik bir süreç olduğu için değerlendirilmesi zordur ve tutarlı ölçümler gerektirir. Hassas yara ölçümü, daha etkili klinik karar verme sürecinde kolaylaştırıcı bir faktördür (171). Yara iyileşmesini değerlendirmek için kullanılan araçlar, doğrulanmış ölçeklere ve güçlü kanıtlara dayalı olan uygulamaları içermelidir. Doğru ve objektif yara ölçümü, yara yönetiminin hayati bir bileşenidir. Herhangi bir yaranın değerlendirilmesine, yaranın boyutuyla başlanmalıdır. Bir yaranın boyutu dinamik bir süreç olduğundan, tekrarlanan sistematik değerlendirme gerektirir. Yara boyutunun belirlenmesi, invaziv ve invaziv olmayan teknolojileri içerebilir. İnvaziv olmayan değerlendirme, çevre, uzunluk ve genişliğin maksimum boyutlarını, yüzey alanını, hacmi ve doku canlılığının belirlenmesini içerir (30). Bu yöntemlerden biri asetat yöntemi diğeri ise dijital planimetri metodudur. Her iki yöntem yara boyutunun iyi bir göstergesi olup ölçümün doğruluğunu artırabilir (172). Yara tedavisinde ölçüm tekniklerinin karşılaştırılması üzerine çok sayıda çalışma rapor edilmiştir (173, 174, 175). Çap veya cetvel tekniği, yara alanını belirlemek için en uzun uzunluğun ve dikey en büyük genişliğin ölçülmesini ve bunların çarpılmasını gerektirir. Asetat yöntemi, yaranın üzerine yerleştirilen iki katlı şeffaf asetat levhanın kullanılmasını ve kalıcı kalemle yara sınırının izlenmesini içerir. Sınırın içindeki alan daha sonra ya kare sayımıyla ya da daha az yaygın olarak kesilip tartılarak hesaplanır. İzleme içinde en az yarısı dolan kareler bir dolu kutu olarak sayılırken, yarısından az dolanlar dikkate alınmaz (176). Dijital planimetri, yara sınırını elde etmek için asetat izlemeyle aynı tekniği kullanır, ancak daha sonra alanı hesaplayan bir dijital

tablette sınırın yeniden izlenmesini gerektirir. Yapılandırılmış ışık tekniği ve manyetik rezonans görüntüleme gibi daha sofistike yöntemlerde mevcuttur, ancak cetvel, kare sayma ve planimetri en sık kullanılanlardır (177). Yara alanını hesaplamak için kullanılan yöntemlerin birbirinin yerine geçemeyeceğini dikkate almak önemlidir. Klinik uygulamada bir yöntem seçilmeli, bu yöntem tutarlı bir şekilde uygulanmalı ve sonuçlar titizlikle belgelenmelidir (173).

Biz yaptığımız çalışmada literatürde en yaygın olarak kullanılan ve değerlendiriciler arasında iyi güvenilirliğe sahip olan bir metot olarak gösterilen (173, 175) asetat yöntemini kullanmayı tercih ettik. Bu amaçla ilk aşamada yara sınırlarının çizildiği asetatlar taranarak bilgisayara kaydedildi. Daha sonra ImageJ programı kullanılarak yara alanları tespit edildi. Yapılan yara yüzey alanı değerleri incelendiğinde PO ve MO gruplarına ait değerlerin K grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edildi. Lokal olarak uygulanan PO ve MO'nun yara iyileşmesini ileri derecede hızlandırdığı görüldü.

Yaraların ve bileşenlerinin iyileşmesini değerlendirmek için kullanılan araçları belirlemek bütünleştirici bir inceleme gerektirir. Tedavi sürecinde doğru karar almayı sağlayacağından, yaranın doğru bir şekilde değerlendirilmesi tedavi için esastır. Literatürde (178) yaraların değerlendirilmesini tanımlamak için kullanılan metodlar çok çeşitlidir. Histopatoloji, insanlarda ve hayvanlarda bazı enfeksiyöz, dejeneratif veya neoplastik hastalıkların teşhisinde her zaman altın standart olmuştur (179). Yaraların dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi, kesin patolojiye ışık tutabilir ve ileri tedavi için bir strateji geliştirmeye yardımcı olabilir. Yeni ilaçların yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde de güçlü bir araç olabilir (180). Işık mikroskopik incelemeler iyileşen bir yaranın

bileşenlerinin doğru bir şekilde değerlendirilmesine yardımcı olabilir. Örneğin, iyileşen yarada kolajenin varlığını göstermek için Masson'un trikrom boyaması kullanılır (181, 182). Yaptığımız çalışmada yara iyileşmesinin mikroskopik düzeyde mekanizmasını ortaya çıkarmak için histopatolojik incelemeler yapılmış ve bu amaçla H&E ve Masson's Trichrome boyamaları kullanılmıştır. Bu uygulamalar yaranın iyileşme mekanizmasında etkili olan hücresel değişimleri görmemiz açısından açık ve nicel bilgiler elde etmemize katkı sunmuştur. Yapılan histopatolojik değerlendirmeler de PO ve MO ile yapılan tedavide epitelizasyonun ve kolajen sentezinin artışına bağlı olarak yara iyileşmesinin daha hızlı olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu makroskopik bulguları destekler niteliktedir.

Yaşlanma, hastalıklar, stres, sigara, alkol kullanımı, enfeksiyonlar, yetersiz beslenme veya yara ortamı gibi birçok iç ve dış faktör, yara iyileşmesinin kalitesini ve hızını önemli ölçüde etkiler. Uygun olmayan koşullar yara iyileşme sürecini geciktirebilir ve kronik yara veya skar oluşumuna neden olabilir. Bu nedenle birçok araştırmacı, yara iyileşmesi üzerinde güvenli ve biyoyumluluk potansiyeli olan ajanlar aramaya çalıştı. Yaygın olarak incelenen yara iyileştirici maddeler, bitkiler ve hayvanlar dahil olmak üzere doğal kaynaklardan veya kimyasal sentezlerden elde edilen maddelerdir. Doğal ürünler daha güvenli ve insan dokusuna daha biyoyumludur (183). Bu hayvansal türevli ürünlerden biri de propolistir. Propolis, popüleritesini uzun süredir koruyan az sayıdaki doğal ilaçlardan birisi olup yüzyıllardır biyolojik ve farmakolojik özellikleriyle bilinen bir bal arısı ürünüdür. Geleneksel tıpta ve ayrıca antibakteriyel, antiseptik, antiinflamatuvar ve anestetik aktivitelerinden dolayı tamamlayıcı tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Uzmanlar, vücudun enfeksiyonlara karşı doğal direncini

artırmak ve gastroduodenal ülserleri tedavi etmek için onu önermektedir. Haricen uygulanan propolisin, bakteri ve mantarların neden olduğu çeşitli dermatit tiplerini rahatlattığı bildirilmiştir (95).

Günümüzde propolis popüler bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Kapsül formunda (saf formda veya aloe jel, kuşburnu veya polenle kombine), ekstrakt (hidroalkolik veya glikolik), gargara (melissa, adaçayı, ebegümece ve/veya biberiye ile kombine) boğaz pastillerinde, kremlerde ve toz halinde (suda çözüldükten sonra gargara veya dahili kullanım için) mevcuttur. Ayrıca, mumun çıkarıldığı saflaştırılmış ürün olarak ticari olarak da mevcuttur. Propolisin ayrıca kozmetikte ve sağlıklı gıdaların bir bileşeni olarak yararlı olduğu iddia edilmektedir. Yapılan bu çalışmada ticari bir firmanın piyasaya sürdüğü Türk Gıda Kodeksine uygun olan, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından onaylanmış sıvı propolis ekstraktı kullanılmıştır. Kullanılan bu ürünün deney gruplarındaki hayvanlar üzerinde hiçbir toksik etkisi görülmediği gibi, iyileşmeyi hızlandırıcı bir mekanizma gösterdiği tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada birçok farmakolojik etkisi olan propolisin tam katlı deri yaralarının iyileşmesi üzerine olası etkisini incelemeyi amaçladık. Propolisin primer yara iyileşmesi üzerine etkileri konusunda çok sayıda bilimsel çalışma yapılmış olmasına rağmen bu etkinliğini Moringa oliefera ile karşılaştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Propolis yara iyileşmesini etkileyebilecek antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel ve benzeri birçok etkisini olmasından dolayı bu iki ajanının yara üzerindeki etkisini araştırmaya değer bulduk. Literatürde geçen mevcut görüş, standartlaştırılmış propolis preparatlarının kullanımının güvenli olduğu ve birçok sentetik ilaca göre daha az toksik olduğu yönündedir (184). Bizde bu görüşü

destekler nitelikte çalışmamızda propolis uyguladığımız gruptaki hayvanlarda herhangi bir alerji ve toksikasyon bulgusuna rastlamadık. Elde ettiğimiz sonuçlar her iki maddenin yara üzerinde iyileşme sürecini kontrol grubuna nazaran benzer derecede hızlandırdığını ortaya koymaktadır.

Epitelizasyon, yaranın sonrası derinin yeniden bariyer özelliğini kazanması amacıyla epitel hücrelerinin göç ederek çoğalmasını, organize ve keratinize olmasını kapsayan bir süreçtir (185). Bazal membranın hasar gördüğü tam kalınlıktaki açık yaralarda epitelizasyon için hücreler yalnızca yara kenarlarındaki sağlam epitel hücrelerinden köken alır (185). Epitelizasyon, serbest yara kenarları tarafından başlayarak ilerler ve başka bir yönden gelen hücrelerle karşılaşınca kadar bu ilerleme devam eder (186). Epitelizasyonun tamamlanması ile yaranın iyileşmiş olduğu kabul edilir. Yapılan bu çalışmanın histopatolojik incelemelerinde 7. günde yangısal hücre infiltrasyonu şiddeti çoktan aza doğru K, PO ve MO şeklinde sıralama göstermekteydi. Fibroblastik gevşek bağ doku artışı K grubunda PO ve MO gruplarına göre daha hafif şiddetteydi. Yara bölgesindeki vasküler proliferasyon yönünden sıralama çoktan aza doğru MO, PO ve K grubu şeklindeydi. Yara kabuğu altında epitelizasyonun MO grubunda 4 hayvanda, PO grubunda 2 hayvanda başlarken, K grubunda hiçbir hayvanda başlamadığı görüldü. Yaranın 14. gününde yangısal hücre infiltrasyonu şiddeti MO ve PO gruplarında yok denecek kadar azalmıştı. K grubunda ise 7. güne göre çok daha hafif bir şiddete sahipti. Fibroblastik gevşek bağ doku artışı tüm gruplarda 7. güne göre daha şiddetliydi. Vasküler proliferasyon yönünden tüm gruplarda 7. güne göre belirgin bir artış gözlemlendi. Bu artışın sıralaması çoktan aza doğru MO, PO ve K grubu şeklindeydi. K grubunda epitelizasyonun

tamamlanmadığı hayvanlar varken, MO ve PO gruplarında epitelizasyon tüm hayvanlarda tamamlanmıştı, ancak epitel tabakasının kalınlığı MO grubunda propolise göre daha kalındı.

Propolis, tıbbi özelliklerinin yanı sıra kimyasal bileşimini analiz etmek için tüm dünyada geliştirilen ve yürütülen çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Diğer bal arısı ürünleri ile birlikte propolis, yara ve yanıklar için harici bir tedavi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (67). Propolisin antimikrobiyal, antiseptik, antiinflamatuvar, antioksidan ve immünomodülatör etkilere sahip olduğuna inanılmaktadır (95). Bu özellikler muhtemelen derideki hücre proliferasyonunu artırır ve cilt dokusunun yeniden şekillenmesini aktive eder. Ayrıca propolisin kan basıncını ve kolesterol seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu iddiaları doğrulamak için klinik araştırmalar gereklidir (67). Sumitra ve ark. (187) Butea monosperma bitkisinden elde edilen ekstraktın ratlarda deri yaraları üzerindeki iyileştirici etkisini inceledikleri çalışmalarında DNA ve total protein içeriğinin arttığını gözlemlemişlerdir. DNA içeriğindeki artışın hücresel hiperplazi nedeniyle olduğunu, total protein miktarındaki artışın ise granülasyon dokusunda bulunan matriks proteinlerinin aktif sentezi ve birikimi nedeniyle olduğunu bildirmişlerdir. Dokularda sentez ve onarım için proteine ihtiyaç duyulmaktadır. Yara iyileşmesine etki edebilecek laboratuvar parametreleri ile yara evresinin ilişkisi değerlendirildiğinde; total protein düzeylerinin yara evresiyle anlamlı bir ilişki gösterdiği belirlenmiştir (188). Bu nedenle yara oluşumunu engelleyen ve iyileşmeyi hızlandıran faktörlerden biri olduğu kabul edilen total protein gibi biyokimyasal parametre düzeylerinin sürekli izlenmesi önemle vurgulanmıştır (189, 190). Yaptığımız

çalışmada yer alan K, PO ve MO grubundaki hayvanların kan parametreleri incelendiğinde gerek PO gerekse MO grubundaki değerlerin referans değerler arasında kaldığını tespit ettik. Grupların 14. günde ölçülen kan değerlerine göre ALT, IGM ve VIT 3 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi. Bu konuda daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiği kanısındayız.

Bilimin giderek yükselen hızı sayesinde günümüzde artık yara onarımına katılan molekülleri ve hücrel olayları anlamak mümkündür. Yara iyileşme fazlarında (hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme fazları) ortaya çıkan mekanizmalar birbiri ile bağlantılı olan hücreler, hücre yüzeyinde yerleşen reseptörler, hücre dışında yerleşen matriks proteinlerini ve biyolojik açıdan aktif moleküller arasındaki etkileşimi içeren dinamik bir süreçle yönetilir (191). Bu süreçte rol alan mekanizmaların ve moleküllerin bilinmesi yara onarımına daha iyi tedavi yaklaşımlarının ortaya konmasını sağlayacaktır (192).

Son yıllarda propolisin bağışıklık sisteminin sitokin üretimi ve aktivasyonundan sorumlu olan bağışıklık hücrelerinin fonksiyonu üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla bazı çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan birisi de Fatahinia ve ark.'nın (193), propolisin sistemik candidiazisli yaşlı farelerde sitokinlerin üretimi üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmadır. Yazarlar, oral olarak uygulanan propolis tedavisinin, kontrollerle karşılaştırıldığında farelerin serumundaki aralarında TNF- α 'nın da bulunduğu tüm sitokinleri (TNF- α , IFN- γ ve IL2) tek başına baskıladığını göstermiş, propolis alan yaşlı farelerde sitokin üretiminin güçlü bir şekilde uyarıldığını belirtmişlerdir. Yazarların çalışmalarında söz ettikleri sitokinlerden biri olan TNF- α monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenen bir çeşit glikoproteindir. Doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası

kanda ilk saptanabilen sitokindir. Birçok otoimmün hastalıkta, inflamasyonun başlatılmasında ve devam ettirilmesinde çok önemli özellikleri bulunmaktadır (194). Yaptığımız çalışmada hem TNF α hem de BAX genlerinin mRNA ekspresyonunda önemli farklılıklar gözlemlendi. BCL-2 geni için ise farklar anlamlı değildi. TNF α ve BCL-2 genlerinin ekspresyonu açısından en yüksek artışı PO ile tedavi edilen grupta tespit edildi.

İnsan popülasyonunun neredeyse %80'nin tedavi amacıyla bitkilere dayalı ilaçlar kullandığı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından rapor edilmiştir. Bu bitkilerin bir bölümü taze yaraların tedavisinde, bir diğer bölümü ise kronikleşmiş yaraların tedavisinde uygulanmaktadır (195). Bitkisel ilaçların yaranın yenilenmesi üzerindeki etkileri üzerine araştırmalar sürekli olarak devam etmektedir. Bitkisel ilaçların çoklu mekanizmalarla hareket ettiği ve yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında yer aldığı bilinen bir gerçektir. Bu makale, bitki bazlı doğal ürünlerden biri olan *Moringa oleifera* yağının aracılık ettiği yara iyileşmesinin hücresel ve moleküler perspektifini açığa çıkarmayı amaçlamaktadır.

Antioksidanlar, serbest radikallerin önlenmesinde ve temizlenmesinde önemli bir rol oynamakta ve böylece enfeksiyonlara ve dejeneratif hastalıklara karşı koruma sağlamaktadır (196). Antioksidan içeren bileşiklerin topikal uygulanmasının yara dokusunun onarımı ve oksidatif hasardan korunmada ciddi fayda sağladığı yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. *Moringa oleifera*'nın metanol ve etanol ekstraktlarının sırasıyla %65,1 ile %66,8 oranında antioksidan aktiviteye sahip olduğu varsayılmaktadır. Bu güçlü etkinin fenolik, kuersetin ve kampferol gibi biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmektedir (197). Sreelatha ve ark.

(196) yaptıkları çalışmada *M. oleifera*'nın hem olgun hem de hassas yapraklarından elde edilen ekstraktın serbest radikallere karşı güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, ana biyomoleküllerde oksidatif hasarı önlediğini ve oksidatif hasara karşı önemli koruma sağladığını bildirmişlerdir.

Moringa bitkisinin yaygın olarak bildirilen etkilerinden biri de yara iyileştirici özelliğidir (105). Diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesi üzerine yapılan bir araştırma, *M. oleifera* ekstraktının hem lokal hem de oral uygulamasının eksizyon yaralarının iyileşmesini artırdığını bildirmiştir (198). Başka bir çalışmada, *M. oleifera* yapraklarının etil asetat fraksiyonu insan fibroblastlarının çoğalmasını ve göçünü teşvik etmiştir (199). Moringa yaprağı ekstraktlarının nanoliflerinin antimikrobiyal aktivitesi, sıçanlarda yaraların iyileşmesinin artmasına neden olmuştur (200). *M. oleifera* kabuğunun sulu ekstraktının yerel olarak uygulanması, sıçanlarda normal yaraların ve deksametazonla baskılanmış yaraların iyileşmesini artırmıştır (201). Ayrıca, *M. oleifera*'nın tohum ve yaprak özlerinin yerel uygulamasının, sıçanlarda farklı deneysel yara iyileştirme modellerinde yara iyileşmesini arttırdığı bildirilmiştir (202). Bununla birlikte, *M. oleifera* ekstraktının oral uygulaması, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ile enfekte olmuş eksizyon yaralarının iyileşmesini etkilememiştir (203).

Yaptığımız mevcut çalışmada elde edilen bulgular literatürle paralellik göstermektedir. Kullandığımız *M. oleifera*'nın soğuk sıkım yağlı solüsyonunun topikal kullanımının yara alanlarını kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaltarak yara iyileşmesi üzerinde olumlu etki yaptığı belirlenmiştir.

Shady ve ark. (204) *M. oleifera* tohum ekstraktının yara iyileştirme potansiyelini erkek Yeni Zelanda albino tavşanlarında hem histolojik hem de gen

ve protein ekspresyon modelleri kullanarak analiz etmiştir. Yazarlar çalışmasında moringa ekstraktının, yara kapanma oranını hızlandırarak, TGF- β 1, VEGF, tip I kolajen ekspresyonunu artırdığını ve IL-1 β ve TNF- α 'nın nispi gen ekspresyonunun yanı sıra enflamatuvar belirteçleri azaltarak kayda değer bir yara iyileştirme potansiyeli gösterdiğini bildirmiştir. Biz de yaptığımız mevcut çalışmada TNF- α geninin mRNA ekspresyonunda önemli farklılıklar gözledik, fakat TNF- α 'nın ekspresyonu açısından en yüksek artışı MO grubuna nazaran PO ile tedavi edilen grupta tespit ettik.

Sonuç olarak elde edilen veriler, doğal birer ürün olan PO ve MO yağının topikal uygulamasının yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisinin olduğunu, fibroblastik aktiviteyi ve vasküler proliferasyonu artırarak, epitelizasyonun tamamlanma süresini kısaltarak hızlı, etkili ve güvenli yara iyileşmesi sağladıklarını göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Monteiro-Riviere NA, Baynes RE, Riviere JE. Animal skin morphology and dermal absorption. In: Roberts MS, Walters KA (Editors). *Dermal absorption and toxicity assessment 2008*; 17-35.
2. Sokolov VE, Sokolov VE. *Mammal skin*. Univ of California Press, 1982.
3. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Textbook of Veterinary Anatomy*. Fourth Edition, Elsevier Inc, 2018.
4. Eckhart L, Lippens S, Tschachler E, Declercq W. Cell death by cornification. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2013; 12: 3471-3480.
5. Lian CG, Murphy GF. *Histology of the skin. Atlas and Synopsis of Lever's Histopathology of the Skin*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2014; 1544.
6. Kolarsick PA, Kolarsick MA, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses Association* 2011; 3, 203-213.
7. Hunter JAA, Savin J, Dahl M. The function and structure of the skin. *Clinical Dermatology* 2002; 7-28.
8. König HE, Liebich HG. *Veterinary anatomy of domestic animals: textbook and color atlas*. Stuttgart, Germany: Schattauer, 2004, 397-414.
9. European Hair Research Society –Abstract.
<https://ehrs.org/conferenceabstracts/2000marburg/guestlectures/101-chuong.htm>
Retrieved 2022-11-14.
10. Leung Y. Characterization of new stem/progenitor cells in skin appendages. University of Southern California, 2013.
11. Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharmaceutical research* 1993; 10, 1093-1095.
12. English KB. Normal development of the skin and subcutis of the albino rat. *Pathology of the Aging Rat* 1994; 2: 363-389.
13. Niczyporuk M. Rat skin as an experimental model in medicine. *Progress in Health Sciences* 2018; 8; 223-228.
14. Greaves P, Chouinard L, Ernst H, et al. Proliferative and non-proliferative lesions of the rat and mouse soft tissue, skeletal muscle and mesothelium. *Journal of toxicologic pathology* 2013; 26: 1-26.
15. Müller-Roever S, Handjiski B, van der Veen C, et al. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 3-15.
16. Mecklenburg L, Kusewitt D, Kolly C, et al. Proliferative and non-proliferative lesions of the rat and mouse integument. *J Toxicol Pathol* 2013; 26: 27-57.

17. Iannaccone PM, Jacob HJ. Rats Dis Model Mech 2009; 2: 206-210. doi: 10.1242/dmm.002733. PMID: 19407324; PMCID: PMC2675817
18. Agarwal Y, Beatty C, Ho S, et al. Development of humanized mouse and rat models with full-thickness human skin and autologous immune cells. Sci Rep 2020; **10**: 14598.
19. Reynolds ES, Hart CE, Hermance ME, et al. An Overview of Animal Models for Arthropod-Borne Viruses. Comp Med 2017; 67: 232-241. PMID: 28662752; PMCID: PMC5482515.
20. Thomas JR. Effects of Age and Diet on Rat Skin Histology. The Laryngoscope 2005; 115: 405-411.
21. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. Eur Surg Res 2012; 49: 35-43.
22. Rubin E, Fabre JL. Repair, regeneration and fibrosis. In: Pathology, 2nd Edition. J.B. Lippincott, Philadelphia, 7-15, 1996.
23. Mantle D, Gok MA, Lennard TW. Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders. Adverse drug reactions and toxicological reviews 2001; 20: 89-103.
24. Shukla VK, Rasheed MA, Kumar M, et al. A trial to determine the role of placental extract in the treatment of chronic non-healing wounds. J Wound Care 2004; 13: 177-9. doi: 10.12968/jowc.2004.13.5.26668. PMID: 15160570.
25. Fife CE, Carter MJ. Wound Care Outcomes and Associated Cost Among Patients Treated in US Outpatient Wound Centers: Data From the US Wound Registry. Wounds. 2012; 24: 10-7. PMID: 25875947.
26. Leavitt T, Hu MS, Marshall CD, et al. Scarless wound healing: finding the right cells and signals. Cell Tissue Res 2016; 365: 483-93. doi: 10.1007/s00441-016-2424-8. Epub 2016 Jun 2. PMID: 27256396; PMCID: PMC5010960.
27. Balick MJ, Cox PA. Plants, people, and culture: the science of ethnobotany. Garland Science, 2020.
28. Shefali KR, Bhaduri AP. Wound Healing: An Overview. Current R&D Highlights. CDRI Lucknow, India. 1999.
29. Schultz GS. Molecular regulation of wound healing. Saunders Publisher, USA, 1999.
30. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. Wound repair and regeneration 1994; 2: 165-170.
31. Menke NB, Ward KR, Witten TM, et al. Impaired wound healing. Clin Dermatol 2007; 25: 19-25.
32. Krishnan P. The scientific study of herbal wound healing therapies: Current state of play, Current Anaesthesia & Critical Care 2006; 17: 21-27.
33. Anonymous. "Wound assessment and management" https://www.rch.org.au/rhcpg/hospital_clinical_guideline_index/Wound_Assessment_and_Management/10.04.2022.

34. Emmerson EP. The role of estrogen and MIF in cutaneous wound healing. A thesis PhD, University of Manchester, Faculty of Life Sciences. 2010.
35. Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *J Am Acad Dermatol* 2016; 74: 589-605.
36. Harper D, Young A, McNaught CE. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)* 2014; 32: 445-450.
37. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2016; 73: 3861-3885.
38. Pool JG. Normal hemostatic mechanisms: a review. *The American journal of medical technology* 1977; 43: 776-780.
39. Rumbaut RE, Thiagarajan P. Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2010. PMID: 21452436.
40. Tennent GA, Brennan SO, Stangou AJ, et al. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver. *Blood* 2007; 109: 1971-1974.
41. Kaplan KL, Broekman MJ, Chernoff A, Lesznik GR, Drillings M. Platelet alpha-granule proteins: studies on release and subcellular localization. *Blood* 1979; 53: 604-18. PMID: 426909.
42. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008; 28; 359: 938-49. doi: 10.1056/NEJMra0801082. PMID: 18753650.
43. Puhaindran ME. Principles of wound healing. *Diabet Foot Probl* 2008; 9: 395-402.
44. Noli C, Miolo A. The mast cell in wound healing. *Vet Dermatol* 2001; 12: 303-313.
45. Harding KG, Morris HL, Patel GK. Science, medicine and the future: healing chronic wounds. *BMJ* 2002; 19: 160-163.
46. Falanga V. Growth factors and wound healing. *J Dermatol Surg Oncol* 1993; 19: 711-714.
47. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *Br J Derm* 2015; 173: 370-378.
48. Raziyeva K, Kim Y, Zharkinbekov Z, et al. Immunology of Acute and Chronic Wound Healing. *Biomolecules* 2021, 11.
49. Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen* 2005; 13: 7-12
50. Sussman C, Bates-Jensen BM. Wound care: a collaborative practice manual. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
51. Toriseva M, Kähäri VM. Proteinases in cutaneous wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2009; 66: 203-224.

52. Lau YK, Gobin AM, West JL. Overexpression of lysyl oxidase to increase matrix crosslinking and improve tissue strength in dermal wound healing. *Ann Biomed Eng* 2006; 34: 1239-46.
53. Barbul A, Efron DT, Kavalukas SL. Wound Healing. In: Brunnicardi F, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RE. eds. *Schwartz's Principles of Surgery, 10e*. McGraw Hill, 2015.
54. Gupta A, Kumar P. Assessment of the histological state of the healing wound. *Plast Aesthet Res* 2015; 2: 239-242.
55. Kutluay Köklü AH, Uğar Çankal DA. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler İçerisinde Beslenme Yeri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2013; 7: 135-141.
56. Plassmann P. Measuring wounds. *Journal of Wound Care* 1995; 4: 269-272.
57. Langemo DK, Melland H, Hanson D, Olson B, Hunter S, Henly SJ. Two-dimensional wound measurement: comparison of 4 techniques. *Adv Wound Care* 1998; 11: 337-343
58. Resch CS, Kerner E, Robson MC, Heggors JP, Scherer M, Boertman JA, Schileru R. Pressure sore volume measurement. A technique to document and record wound healing. *J Am Geriatr Soc* 1988; 36: 444-446.
59. Berg W, Traneroth C, Gunnarson A, et al. A method for measuring pressure sores. *The Lancet* 1990; 335: 1445-1446.
60. Vaisberg AJ, Milla M, Planas MC, et al. Taspine is the cicatrizant principle in Sangre de Grado extracted from *Croton lechleri*. *Planta Med* 1989; 55: 140-3.
61. Rashed AN, Afifi FU, Disi AM. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 88: 131-136.
62. Bankova V, Popova M, Trusheva B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal* 2014; 8: 1-8.
63. Ghisalberti EL. Propolis: A Review. *Bee World* 1979; 60: 59-84.
64. de la Cruz-Cervantes JA, Benavides-Gonzales F, Martinez JGS, et al. "Propolis in aquaculture: a review of its potential." *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 2018; 26: 337-349.
65. Sforcin JM. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy research* 2016; 30: 894-905.
66. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J Biol Sci.* 2019; 26: 1695-1703.
67. Siheri W, Alenezi S, Tusiimire J, et al. The chemical and biological properties of propolis. In: *Bee products-chemical and biological properties*. Springer, Cham, 2017.
68. Rojczyk E, Klama-Baryła A, Łabuś W, et al. Historical and modern research on propolis and its application in wound healing and other fields of medicine and contributions by Polish studies. *Journal of Ethnopharmacology* 2020; 262: 113159.

69. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013.
70. Martinotti S, Ranzato E. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns & trauma* 2015; 3: 1-7.
71. Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, et al. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013.
72. Monti M, Berti E, Carminati G, Cusini M. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis* 1983; 9: 163.
73. Pizzorno JE, Murray MT. *Textbook of Natural Medicine-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2020.
74. Chan GCF, Cheung KW, Sze DMY. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinical reviews in allergy & immunology* 2013; 44: 262-273.
75. Fokt H, Pereira A, Ferreira AM, et al. How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* 2010; 1: 481-493.
76. Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2005; 2: 29-32.
77. Lotfy M. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 22-31.
78. Farooqui T, Farooqui AA. *Oxidative stress in vertebrates and invertebrates: Molecular aspects of cell signaling*. John Wiley & Sons, 2011.
79. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. *Molecules* 2019; 24: 2047.
80. Hossain R, Quispe C, Khan RA, et al. Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chin Med* 2022; 17: 100.
81. Seidel V, Peyfoon E, Watson DG, Feanley J. Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. *Phytotherapy Research* 2008; 22: 1256-1263.
82. Belfar ML. Evaluation of Antioxidant Capacity of Propolis Collected in Various Areas of Algeria Using Electrochemical Techniques. *Int J Electrochem Sci* 2015; 10: 9641-9651.
83. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 343-56.
84. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002; 73: 21-29.
85. El-Guendouz S, Al-Waili N, Aazza S, et al. Antioxidant and diuretic activity of co-administration of *Capparis spinosa* honey and propolis in comparison to furosemide. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 2017; 10: 974-980.

86. Seibert JB, Bautista-Silva JP, Amparo TR, et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food chemistry* 2019; 287: 61-67.
87. Chandna P, Adlakha VK, Das S, Singh S. Complementary and Alternative Medicine (CAM): a review of propolis in dentistry. *Technology* 2014; 4: 675-685.
88. Aliyazicioglu Y, Demir SE, Turan I, et al. Preventive and protective effects of Turkish propolis on H₂O₂-induced DNA damage in foreskin fibroblast cell lines. *Acta Biologica Hungarica* 2011; 62: 388-396.
89. Ekeuku SO, Chin KY. Application of propolis in protecting skeletal and periodontal health—A systematic review. *Molecules* 2021; 26: 3156.
90. Sartori G, Pesarico AP, Pinto S, et al. Protective effect of brown Brazilian propolis against acute vaginal lesions caused by herpes simplex virus type 2 in mice: involvement of antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. *Cell Biochemistry and Function* 2012; 30: 1-10.
91. Zuhendri F, Chandrasekaran K, Kowacz M, et al. Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: A Review. *Foods* 2021; 10: 1360.
92. Kubiliene L, Laugaliene V, Pavilonis A, et al. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC complementary and alternative medicine* 2015; 15: 1-7.
93. Król W, Bankova V, Sforcin JM, et al. Propolis: properties, application, and its potential. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 807578.
94. Drago L, Mombelli B, De Vecchi E, et al. In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *J Chemother* 2001; 13: 102.
95. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002; 73: 1-6.
96. Halder S, Yadav KK, Sarkar R, et al. Alteration of Zeta potential and membrane permeability in bacteria: a study with cationic agents. *SpringerPlus* 2015; 4: 1-14.
97. Wagh VD. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences* 2013; 2013:308249.
98. De Castro PA, Bom VLP, Brown NA, et al. Identification of the cell targets important for propolis-induced cell death in *Candida albicans*. *Fungal Genetics and Biology* 2013; 60: 74-86.
99. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 2002; 73: S53-S63.
100. Dimov V, Ivanovska N, Manolova N, et al. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. *Apidologie* 1991; 22: 155-162.
101. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26: 83-99.

102. Miyataka H, Nishiki M, Matsumoto H. Evaluation of propolis. I. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 1997; 20: 496-501.
103. Krol W, Scheller, Czuba Z, et al. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. *Journal of Ethnopharmacology* 1996; 55: 19-25.
104. Scheller S, Gazda G, Krol W, et al. The ability of ethanolic extract of propolis (EEP) to protect mice against gamma irradiation. *Zeitschrift für Naturforschung C* 1989; 44: 1049-1052.
105. Abd Rani NZ, Husain K, Kumolosasi E. *Moringa* genus: a review of phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in Pharmacology* 2018; 9: 108.
106. Leone A, Spada A, Battezzati A, et al. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. *International journal of molecular sciences* 2015; 16: 12791-12835.
107. Okumuş N, Soltanbeigi A. *Moringa Ağacı (Moringa oleifera Lam.): Biyolojik Özellikleri, Kültürü ve Tıbbi Faydaları*. *Bağbahçe Bilim Dergisi* 2021; 8: 56-75.
108. Fahe JW. *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal* 2005; 1: 1-15.
109. Witt, K. A. (2013). The nutrient content of *Moringa oleifera* leaves. *Messiah College Department of Nutrition and Dietetics*, 1-6).
110. Prajapati C, Ankola M, Upadhyay TK, et al. *Moringa oleifera*: Miracle Plant with a Plethora of Medicinal, Therapeutic, and Economic Importance. *Horticulturæ* 2022; 8: 492.
111. Morton JF. The horseradish tree, *Moringa pterygosperma* (Moringaceae)—a boon to arid lands?. *Economic botany* 1991; 45: 318-333.
112. Makka HA, Becker K. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal feed science and technology* 1996; 63: 211-228.
113. Chhikara N, Kaur A, Mann S. Bioactive compounds, associated health benefits and safety considerations of *Moringa oleifera* L.: An updated review. *Nutrition & Food Science* 2020; 1: 255-277.
114. Ramachandran C, Peter KV, Gopalakrishnan PK. Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic botany* 1980; 276-283.
115. Dhakar RC, Maurya SD, Pooniya BK, et al. *Moringa*: The herbal gold to combat malnutrition. *Moringa: The Herbal Gold To Combat Malnutrition* 2011; 2: 19-125.
116. Sujatha BK, Patel P. *Moringa Oleifera—Nature's Gold*. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research* 2017; 3: 1175-1179.
117. Bøhn SK, Ward NC, Hodgson JM, Croft KD. Effects of tea and coffee on cardiovascular disease risk. *Food & function* 2012; 3: 575-591.

118. Saini RK, Sivanesan I, Keum YS. Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *Biotech* 2016; 6: 1-14.
119. Bajpai M, Pande A, Tewari SK, Prakash D. Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International journal of food sciences and nutrition* 2005; 56: 287-291.
120. Vongsak B, Sithisarn P, Gritsanapan W. Simultaneous determination of cryptochlorogenic acid, isoquercetin, and astragaloside contents in *Moringa oleifera* leaf extracts by TLC-densitometric method. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013; 917609.
121. Teixeira EMB, Carvalho MRB, Neves VA, et al. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Food chemistry* 2014; 147: 51-54.
122. Mohammed S, Manan FA. Analysis of total phenolics, tannins and flavonoids from *Moringa oleifera* seed extract. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2015; 7: 132-135.
123. Maldini M, Maksoud SA, Natella F, et al. *Moringa oleifera*: study of phenolics and glucosinolates by mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* 2014;49: 900-910.
124. Cheraghi M, Namdari, M, Daraee H, Negahdari B. Cardioprotective effect of magnetic hydrogel nanocomposite loaded N, α -L-rhamnopyranosyl vincosamide isolated from *Moringa oleifera* leaves against doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats: In vitro and in vivo studies. *Journal of Microencapsulation* 2017; 34: 335-341.
125. Prabsattroo T, Wattanathorn J, Iamsaard S, et al. *Moringa oleifera* extract enhances sexual performance in stressed rats. *Journal of Zhejiang University-Science B* 2015; 16: 179-190.
126. Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res* 2007; 21: 17-25.
127. Cerf ME. Beta cell dysfunction and insulin resistance. *Frontiers in endocrinology* 2013, 4, 37.
128. Divi SM, Ramesh B, Dasireddy SK. Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic potential of aqueous extract of *Moringa oleifera* in fructose fed insulin resistant and STZ induced diabetic wistar rats: a comparative study. *Asian J Pharm Clin Res* 2012; 5: 67-72.
129. Al-Malki AL, El Rabey HA. The antidiabetic effect of low doses of *Moringa oleifera* Lam. seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. *BioMed Research International* 2015; 2015: 381040.
130. Guevara AP, Vargas C, Sakurai H, et al. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 1999; 440: 181-188.
131. Dhakad AK, Ikram M, Sharma S, et al. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy Research* 2019; 33: 2870-2903.

132. Tiloke C, Phulukdaree A, Chuturgoon AA. The antiproliferative effect of *Moringa oleifera* crude aqueous leaf extract on cancerous human alveolar epithelial cells. *BMC complementary and alternative medicine* 2013; 13: 1-8.
133. Sharma V, Paliwal R, Janmeda P, Sharma S. Chemopreventive efficacy of *Moringa oleifera* pods against 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene induced hepatic carcinogenesis in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2012; 13: 2563-2569.
134. Ma ZF, Ahmad J, Zhang H, et al. Evaluation of phytochemical and medicinal properties of *Moringa (Moringa oleifera)* as a potential functional food. *South African Journal of Botany* 2020; 1291: 40-46.
135. Arnarson A. Science-Based Health Benefits of *Moringa oleifera*. May 4, 2018. Retrieved from (November 1, 2020) <https://www.healthline.com/nutrition/6-benefits-ofmoringa-oleifera>.
136. Mbikay M. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Frontiers in pharmacology* 2012; 3: 24.
137. Siddhuraju P, Becker K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry* 2003; 51: 2144-2155.
138. Konmy BB, Olounladé PA, Allou SYD, et al. A review on phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves (Moringaceae). *Journal of pharmacognosy and phytochemistry* 2016; 5: 325.
139. Muangnoi C, Chingsuwanrote P, Praengamthanachoti P, et al. *Moringa oleifera* pod inhibits inflammatory mediator production by lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cell lines. *Inflammation* 2012; 35: 445-455.
140. Sudha P, Asdaq SM, Dhamingi SS, et al. Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in animals. *Indian J Physiol Pharmacol* 2010; 54: 133-140.
141. Sashidhara KV, Rosaiah JN, Tyagi E, et al. Rare dipeptide and urea derivatives from roots of *Moringa oleifera* as potential anti-inflammatory and antinociceptive agents. *European journal of medicinal chemistry* 2009; 44: 432-436.
142. Sutar NG, Bonde CG, Patil VV, et al. (2008). Analgesic activity of seeds of *Moringa oleifera* Lam. *International Journal of Green Pharmacy* 2008; 2.
143. Coppin JP, Xu Y, Chen H, et al. Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *Journal of Functional Foods* 2013; 5: 1892-1899.
144. Kooltheat N, Pankla Sranujit R, Chumark P, et al. An ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* Lam. inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke. *Nutrients* 2014; 6: 697-710.
145. Waterman C, Cheng DM, Rojas-Silva P, et al. Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. *Phytochemistry* 2014; 103: 114-122.

146. Nfambi J, Bbosa GS, Sembajwe LF, et al. Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in Wistar albino rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology* 2015; 26: 603-611.
147. Minaiyan M, Asghari G, Taheri D, et al. Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 2014; 4: 127.
148. Adedapo AA, Falayi OO, Oyagbemi AA. Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory, anti-oxidant, phytochemical and toxicological properties of the methanolic leaf extract of commercially processed *Moringa oleifera* in some laboratory animals. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology* 2015; 26: 491-499.
149. Fozia F, Meenu R, Avinash T, et al. (2012). Medicinal properties of *Moringa oleifera*: An overview of promising healer. *Journal of Medicinal Plants Research* 2012; 6: 4368-4374.
150. Lin X, Racette SB, Lefevre M, et al. The effects of phytosterols present in natural food matrices on cholesterol metabolism and LDL-cholesterol: a controlled feeding trial. *European journal of clinical nutrition* 2010; 64: 1481-1487.
151. Jain PG, Patil SD, Haswani NG, et al. Hypolipidemic activity of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, on high fat diet induced hyperlipidemia in albino rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2010; 20: 969-973.
152. Batista AB, Oliveira JT, Gifoni JM, et al. New insights into the structure and mode of action of Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein of *Moringa oleifera* seeds. *PloS one* 2014; 9: e111427.
153. Ruckmani K, Kavimani S, An R, et al. Effect of *Moringa oleifera* Lam on paracetamol-induced hepatotoxicity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 1998; 60: 33.
154. Bhatnagar SS, Santapau H, Desa JD, et al. Biological Activity of Indian Medicinal Plants. Part I. Antibacterial, Anti-tubercular and Antifungal Action. *Indian Journal of Medical Research* 1961; 49: 799-813.
155. Manzoor M, Anwar F, Iqbal T, et al. Physico-chemical characterization of *Moringa concanensis* seeds and seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2007; 84: 413-419.
156. Oliveira JTA, Silveira SB, Vasconcelos IM, et al. Compositional and nutritional attributes of seeds from the multiple purpose tree *Moringa oleifera* Lamarck. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1999; 79: 815-820.
157. Selvakumar D, Natarajan P. Hepato-protective activity of *Moringa oleifera* Lam leaves in carbon tetrachloride induced hepato-toxicity in albino rats. *Pharmacogn Mag* 2008; 4: 97.
158. Debnath S, Guha D. Role of *Moringa oleifera* on enterochromaffin cell count and serotonin content of experimental ulcer model. *Indian Journal of Experimental Biology* 2007; 45: 726-731.
159. Pal SK, Mukherjee PK, Saha BP. Studies on the antiulcer activity of *Moringa oleifera* leaf extract on gastric ulcer models in rats. *Phytotherapy research* 1995; 9: 463-465.
160. Rastogi T, Bhutda V, Moon K, et al. Comparative studies on anthelmintic activity of *Moringa oleifera* and *Vitex negundo*. *Asian J Res Chem* 2009; 2: 181-182.

161. Ola-Fadunsin SD, Ademola IO. Direct effects of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) acetone leaf extract on broiler chickens naturally infected with *Eimeria* species. *Tropical Animal Health and Production* 2013; 45: 1423-1428.
162. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ ΔΔCT method. *Methods* 2001; 25: 402-408.
163. SPSS, Inc. *Statistical Package for The Social Sciences (SPSS/PC+)*. Chicago, IL.1991
164. Tottoli EM, Dorati R, Genta I, et al. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. *Pharmaceutics* 2020; 12: 735.
165. Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *International Journal of Experimental Pathology* 2020. doi:10.1111/iep.12346
166. Chang S, Sartika D, Fan G, et al. Animal Models of Burn Wound Management. In E. Tvrda, & S. C. Yenissetti (Eds.), *Animal Models in Medicine and Biology*. Intech Open. 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89188>
167. Saeed S, Martins-Green M. Animal models for the study of acute cutaneous wound healing. *Wound Rep Reg* 2022; 1-11. doi:10.1111/wrr.13051
168. Dorsett-Martin, WA. Rat models of skin wound healing: a review. *Wound Repair and Regeneration* 2004; 12: 591-599.
169. Davidson JM. Animal models for wound repair. *Archives of dermatological research* 1998; 290: 1-11.
170. Ionita F, Coman C, Codreanu M. The rat as an animal model for the evaluation of the cutaneous wound healing. *Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine* 2022; 68: 189-196.
171. Flanagan M. Wound measurement: can it help us to monitor progression to healing?. *Journal of wound care*. 2003 May;12(5):189-94.
172. Gethin G, Cowman S. Wound measurement comparing the use of acetate tracings and Visitrak™ digital planimetry. *Journal of clinical nursing* 2006; 15: 422-427.
173. Majeske C. Reliability of wound surface area measurements. *Physical Therapy*, 1992; 72: 138-141.
174. Melhuish JM, Plassman P, Harding KG. Circumference, area and volume of the healing wound. *Journal of wound care* 1994; 3: 380-384.
175. Öien RF, et al. Measuring the size of ulcers by planimetry: a useful method in the clinical setting. *Journal of wound care* 2002; 11: 165-168.
176. Harding KG. Methods for assessing change in ulcer status. *Adv Wound Care* 1995; 8: 37-42.
177. Charles H. Wound assessment: measuring the area of a leg ulcer. *British Journal of Nursing* 1998; 7: 765-772.

178. Ratliff CR, Rodeheaver GT. Use of the PUSH tool to measure venous ulcer healing. *Ostomy/wound management* 2005; 51: 58-60, 62.
179. Lemo N, et al. Cutaneous reepithelialization and wound contraction after skin biopsies in rabbits: a mathematical model for healing and remodelling index. *Vet Arhiv* 2010; 80: 637-52.
180. Karayannopoulou M, Tsioli V, Loukopoulos P, Anagnostou TL, Giannakas N, Savvas I, et al. Evaluation of the effectiveness of an ointment based on alkannins/shikonins on second intention wound healing in the dog. *Can J Vet Res* 2011; 75: 42-8.
181. Lee YH, Chang JJ, Chien CT, Yang MC, Chien HF. Antioxidant sol-gel improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012: 504693.
182. Piskin A, Altunkaynak BZ, Tümentemur G, Kaplan S, Yazici OB, Hökelek M. The beneficial effects of *Momordica charantia* (bitter gourd) on wound healing of rabbit skin. *J Dermatolog Treat* 2012; 25: 350-7.
183. Ijaola AO, Akamo DO, Damiri F, Akisin, CJ, Bamidele EA, Ajiboye EG, et al. Polymeric biomaterials for wound healing applications: a comprehensive review. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 2022; 33: 1998-2050.
184. Coprean D, Rusu M, Giurgea R, Popescu H, Polinicencu C. Effect of standardized propolis extract in the experimentally intoxicated liver of rats. *Clujul Medical* 1986; 59: 333-337.
185. Calvin M. Cutaneous wound healing. *Wounds* 1998; 10: 12-32.
186. Theoret CL. Update on wound repair, *Clin Tech Equine Pract* 2004; 3: 110-122.
187. Sumitra M., et al. Efficacy of *Butea monosperma* on dermal wound healing in rats. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005; 37: 566– 573.
188. Johnston E. The role of nutrition in tissue viability. *Wounds International*, 2007.
189. Çizmeçi O, Emekli U. (1999). Bası yaraları. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi* 1999; 45: 4.
190. Brienza DM, Geyer MJ. Using support surfaces to manage tissue integrity. *Advances in skin & wound care* 2005; 18: 151-157.
191. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Science translational medicine* 2014; 6: 265sr6-265sr6.
192. Tepebaşı MY, Calapoğlu NŞ. Yara İyileşmesinin Hücresel ve Moleküler Mekanizması (Cellular and Molecular Mechanism of Wound Healing). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2017; 23: 4.
193. Fatahinia M, Khosravi AR, Shokri H. Propolis efficacy on TNF- α , IFN- γ and IL2 cytokines production in old mice with and without systemic candidiasis. *J Mycol Med*.

2012 Sep;22(3):237-42. doi: 10.1016/j.mycmed.2012.05.004. Epub 2012 Aug 9. PMID: 23518081.

194. Çayakar A, Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa. *Türkiye Klinikleri J Intern Med*, 2018, 3.2: 67-76.
195. Özkorkmaz EG, Özay Y. Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2009; 2: 63-67.
196. Sreelatha S, Padma PR. Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. *Plant Foods Hum Nutr* 2009; 64: 303-11.
197. Siddhuraju P, Becker K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry* 2003; 51: 2144-2155.
198. Azevedo ÍM, Araújo-Filho I, Teixeira MMA, et al. Wound healing of diabetic rats treated with *Moringa oleifera* extract. *Acta cirúrgica brasileira* 2018; 33, 799-805.
199. Gothai, S, Arulselvan P, Tan WS, Fakurazi S. Wound healing properties of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in normal human dermal fibroblasts. *Journal of intercultural ethnopharmacology* 2016; 5: 1.
200. Fayemi OE, et al. Antimicrobial and wound healing properties of polyacrylonitrile-moringa extract nanofibers. *ACS omega* 2018; 3: 4791-4797.
201. Lambole V, Kumar U. Effect of *Moringa oleifera* Lam. on normal and dexamethasone suppressed wound healing. *Asian Pac. J. Trop. Biomed* 2012; 2: S219–S223.
202. Hukkeri V, Nagathan C, Karadi R, Patil B. Antipyretic and wound healing activities of *Moringa oleifera* lam. in rats. *Indian J Pharm Sci* 2006; 68: 124.
203. Eyarefe OD, Idowu A, Afolabi JM. Healing Potentials of Oral *Moringa oleifera* Leaves Extract and Tetracycline on Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* Infected Wounds of Wistar rats. *Niger J Physiol Sci* 2015; 30: 73–78.
204. Shady NH, et al. Mechanistic Wound Healing and Antioxidant Potential of *Moringa oleifera* Seeds Extract Supported by Metabolic Profiling, In Silico Network Design, Molecular Docking, and In Vivo Studies. *Antioxidants* 2022; 11: 1743.

8. EKLER

EK 1.



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARARLARI

Oturum Tarihi
04/11/2020

Oturum Saati
10:00

Oturum Sayısı
2020/13

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 04/11/2020 tarihinde saat 10:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

Prof. Dr. Mehmet Cengiz HAN tarafından yürütülecek olan "**Ratlarda Deneysel Tam Katlı Deri Yaralarının İyileşmesi Üzerine Propolis ve Moringa Oleifera Yağının Etkisinin Araştırılması**" başlıklı araştırma projesinde **42 Adet Wistar Albino Rat** kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafımızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait projenin "Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" gereği altı ay aralıklarla Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna bilgi verilmesi şartıyla uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

1. Prof. Dr. Mehmet Cengiz HAN
2. Prof. Dr. Bestami YILMAZ
3. Doç. Dr. Rahşan YILMAZ
4. Vet. Hek. Sema Dilan KAYAPINAR

Kurul Üyeleri:

Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT
Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA
Doç. Dr. Serkan DÜNDAR
Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR
Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT
Vet. Hek. Ebru GÖKDERE
Onur UYGUR (Bulunmadı)
Murat DAĞHAN (Bulunmadı)

Başkan
E-İmzalıdır
Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA

Doç. Dr. Serkan DÜNDAR

Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR

Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT

Ebru GÖKDERE