T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA OLUŞTURAN YARA ENFEKSİYON MODELİNDE *TYPHA* TÜRÜNÜN HİSTOLOJİK VE İMMÜNOLOJİK PARAMETRELERE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ELİFNAZ İLGAR

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SEVGİ KALKANLI TAŞ

İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI
İMMÜNOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

DOKTORA TEZİ
EYLÜL/2024

İTHAF

“Kıymetli aileme ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

İmmünoloji doktora öğrenciliğim süresince bilgi ve birikimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum bana danışmanlık yapan, benimle sabırla iletişim halinde olan, desteğini ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sevgi KALKANLI TAŞ'a ve doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan Sayın hocalarım Prof. Dr. Gülbü IŞITMANGİL ve Prof. Dr. Nilgün IŞIKSAÇAN'a,

Farmasötik botanik alanında laboratuvar çalışmalarımı destekleyen Altınbaş Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı başkanı Sayın Doc. Dr. Ebru ÖZDEMİR NATH'a,

Mikrobiyoloji laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan her konuda desteğini gördüğüm hocam Sayın Prof. Dr. Sebahat AKSARAY'a ve Haydarpaşa Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına,

İspanya Carlos III Sağlık Enstitüsü Mikrobiyal İmmünoloji Bölümü'nün laboratuvarında çalışma imkanı ve malzeme desteği sağlayan Sayın hocam Mercedes Dominguez ve Sayın Inmaculada Moreno'ya,

Histoloji alanında malzeme desteği sağlayan ve laboratuvar imkanlarını kullanmam için destek olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı hocalarına,

Deney sürecimde her başım sıkıştığında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen kıymetli arkadaşım Arş.Gör. Sude TOPKARAOĞLU'na,

Doktora öğrenciliğim süresince hep yanımda olan Bengü AKÇAM ÇELİK'e,

Bu süreçte yanımda olan her soruma cevap veren değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Rümeysa Mazı, Arş.Gör. Sibel Kuraş, Dr. Sena Ebru Çağlar'a ve Dr. Betül Gürbüz'e,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü yöneticilerine ve Özel kalemi Esra ALPTEKİN Hanım'a,

Doktora öğrenciliğim boyunca burs desteği sağlayan YÖK 100/2000 Öncelikli Alan "İmmünoloji" programına teşekkürlerimi sunarım.

Beni özveri ile yetiştiren, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen bu günümü borçlu olduğum sevgili annem Güzin İLGAR ve babam Allahverdi İLGAR'a, varlığından güç aldığım kardeşim Yasemin'e en içten duygularımla teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

İTHAF iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
RESİMLER LİSTESİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR xiii
ÖZET xiv
ABSTRACT xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. DERİ 4
2.2. YARA 7
2.2.1. Yara Mikrobiyolojisi 8
2.2.2. Yara İyileşmesi 10
2.2.2.1. Hemostaz 11
2.2.2.2. İnflamasyon 12
2.2.2.3. Proliferasyon 16
2.2.2.4. Yeniden Şekillenme 18
2.2.3. Yara İyileşmesinde Tıbbi Bitkilerin Kullanımı 20
2.2.4. Typha Bitkisi Hakkında Genel Bilgiler 23
3. GEREÇ VE YÖNTEM 27
3.1. GEREÇ 27
3.1.1. Kimyasal Malzemeler 27
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler 28
3.1.3. Cihazlar 28
3.2.YÖNTEM 29
3.2.1. Etik Kurul İzni 29
3.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması 30
3.2.3. Cerrahi Uygulama 30
3.2.4. Mikrobiyolojik Uygulama ve Değerlendirme 31
3.2.5.Bitkilerin Toplanması ve Ekstraksiyonu 32
3.2.6. Merhemin Hazırlanması 34
3.2.7.Yara Bölgesine Kremlerin Uygulanması 34

3.2.8.Yara Bölgesinin Makroskopik Değerlendirmesi 34
3.2.9.Yara Alan Ölçümünün ImageJ Program ile Değerlendirilmesi 35
3.2.10.Histolojik İncelemenin Yapılması 36
3.2.11. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi 38
3.2.12.Işık Mikroskobu Değerlendirmesi 41
3.2.13. Toluidin Boyama Yöntemi ile Mast Hücre Sayısının Belirlenmesi 42
3.2.14. İmmünofloresan Boyama Yöntemi ile α-SMA Yoğunluğunun Belirlenmesi . 43
3.2.15. İmmünofloresan Yönteminin ImageJ Programı ile Değerlendirilmesi 44
3.2.16. Proinflamatuar ve Antiinflamatuar Sitokin Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi 45
3.2.16.1. TNF-α sitokin düzeyinin belirlenmesi 46
3.2.16.2. IL-1β sitokin düzeyinin belirlenmesi 46
3.2.16.3. TGF-β sitokin düzeyinin belirlenmesi 47
3.2.16.4. IL-10 sitokin düzeyinin belirlenmesi 47
3.2.17. Folin Ciocalteu Yöntemi ile Total Fenolik Bileşik Analizi 48
3.2.18. Alüminyum Klorür Kolorimetrik Yöntemi ile Total Flavonoid Analizi 49
3.2.19. Disk Difüzyon Test Yöntemi ile Antimikrobiyal Duyarlılığın Belirlenmesi .. 50
3.2.20. İstatistiksel Analiz 51
4. BULGULAR 52
4.1.MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI 52
4.2.IŞIK MİKROSKOBU DEĞERLENDİRME SONUÇLARI 55
4.3.TOLUİDİN BOYAMA DEĞERLENDİRME SONUÇLARI 72
4.4.MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI 75
4.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi 77
4.3. İMMÜNOFLORESAN YÖNTEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ 77
4.4. ELİSA YÖNTEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ 81
5. TARTIŞMA 88
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 107
KAYNAKLAR 108
EK 118

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Kronik ve akut yaranın özellikleri 8

Tablo 3.1: Doku takip basamakları 38

Tablo 3.2: Hematoksilen & Eozin boyama basamakları 40

Tablo 3.3: Toluidin boyama yöntemi basamakları 43

Tablo 4.1: Yara iyileşme düzeyine ilişkin değerlendirmeler 52

Tablo 4.2: Yara boyutuna ilişkin değerlendirmeler 54

Tablo 4.3: Reepitelizasyona ilişkin değerlendirmeler 55

Tablo 4.4: Granülasyon dokusuna ilişkin değerlendirmeler 61

Tablo 4.5: İnflamatuar hücre sayısına ilişkin değerlendirmeler 65

Tablo 4.6: Anjiyogeneze ilişkin değerlendirmeler 68

Tablo 4.7: Toluidin boyama yöntemi ile yara dokusundaki mast hücre sayısına ilişkin değerlendirmeler 74

Tablo 4.8: Bakteri sayısına ilişkin değerlendirmeler 75

Tablo 4.9: Disk difüzyon yöntemi farklı konsantrasyonlara göre zon çapları 77

Tablo 4.10: Typha latifolia'nın total fenolik ve flavonoid içeriği 77

Tablo 4.11: Alfa-SMA yoğunluğuna ilişkin değerlendirmeler 80

Tablo 4.12: TNF-α düzeyine ilişkin değerlendirmeler 81

Tablo 4.13: IL-1β düzeyine ilişkin değerlendirmeler 83

Tablo 4.14: TGF-β düzeyine ilişkin değerlendirmeler 84

Tablo 4.15: IL-10 düzeyine ilişkin değerlendirmeler 86

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Kolun ince derisinin bağ dokusu dermisinin içeriği 5

Şekil 2.2: Avuç içi kalın derisinin bağ dokusu dermisinin içeriği 6

Şekil 2.3: Yara iyileşmesinin aşamaları 10

Şekil 2.4: Taksonun Türkiye'deki dağılımı..... 23

Şekil 4.1: Yara iyileşme düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması..... 53

Şekil 4.2: Yara boyutunun gruplar arası karşılaştırılması 54

Şekil 4.3: Reepitelizasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması 56

Şekil 4.4: Granülasyon dokusunun gruplar arası karşılaştırılması..... 62

Şekil 4.5: İnflamatuar hücre sayısının gruplar arası karşılaştırılması 65

Şekil 4.6: Anjiyogenezin gruplar arası karşılaştırılması 69

Şekil 4.7: Mast hücre sayısının gruplar arası karşılaştırılması..... 74

Şekil 4.8: Bakteri sayısının gruplar arası karşılaştırılması..... 76

Şekil 4.9:α-SMA yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırılması..... 80

Şekil 4.10: TNF-α düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması 82

Şekil 4.10: IL-1β düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması..... 83

Şekil 4.12: TGF- β düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması 85

Şekil 4.13: IL-10 düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması..... 86

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1: *Typha latifolia* bitkisinin genel görünüşü 24

Resim 3.1: Cerrahi işlem uygulaması 31

Resim 3.2: Maserasyon aşamasının yapılması 32

Resim 3.3: Ekstraksiyon aşaması 33

Resim 3.4: Makroskopik yara ölçümünün yapılması 34

Resim 3.5: Yara alanının hesaplanması 35

Resim 3.6: ImageJ programı ile yoğunluk analizinin ölçüm aşamaları 44

Resim 3.7: Total fenolik ve flavonoid içerik analizinin yapılması 48

Resim 3.8: Disk difüzyon yöntemi için disklerin hazırlanması 50

Resim 3.9: Disk difüzyon yönteminin uygulanması 51

Resim 4.1: Kontrol grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X4) 57

Resim 4.2: Kontrol grubunun 7.gün epidermisin yeniden yapılanması (H&E boyama X40).. 57

Resim 4.3: Dekspantenol grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X10) 58

Resim 4.4: Dekspantanol grubunun 7.gün yağ ve ter bezlerinin ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X40) 58

Resim 4.5: %10 *Typha latifolia* grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X10) 59

Resim 4.6: %10 *Typha latifolia* grubunun 7.gün doku epitelizasyonu (H&E boyama X40 60

Resim 4.7: %10 *Typha latifolia* grubunda 16.gün kıl kökü foliküllerinin oluşumu (H&E boyama X40) 60

Resim 4.8: %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X10) 61

Resim 4.9: Kontrol grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X4) 63

Resim 4.10: Dekspantenol grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskop görüntüsü (H&E boyama X4) 63

Resim 4.11: %20 *Typha latifolia* grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X4)..... 64

Resim 4.12: %10 *Typha latifolia* grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X4)..... 64

Resim 4.13: Kontrol grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) 66

Resim 4.14: %20 *Typha latifolia* grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) 67

Resim 4.15: %10 *Typha latifolia* grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) 67

Resim 4.16: Dekspantenol grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) 68

Resim 4.17: Dekspantanol grubu 7.gün kan damarı oluşumu (H&E boyama X40)..... 70

Resim 4.18: %10 *Typha latifolia* grubu 7.gün kan damarı oluşumu (H&E boyama X40).. 70

Resim 4.19: %20 *Typha latifolia* grubu 7.gün kan damarı oluşumu (H&E boyama X40) 71

Resim 4.20: %10 *Typha latifolia* grubu 16.gün dermisinde eritrositli kan damarları (H&E boyama X40) 71

Resim 4.21: Toluidin boyama yöntemi ile 7.gün yara dokusundaki mast hücrelerin ışık mikroskop görüntüleri (10X). 72

Resim 4.22: Toluidin boyama yöntemi ile 16.gün yara dokusundaki mast hücrelerin ışık mikroskop görüntüleri (10X). 73

Resim 4.23: Toluidin boyama yöntemi ile 16.gün yara dokusundaki mast hücrelerin ışık mikroskop görüntüleri (40X) 73

Resim 4.24: DAPI+ α-SMA 7..gün floresan mikroskop görüntüleri (ölçek çubuğu:100 μm) 78

Resim 4.25: DAPI+ α-SMA 16..gün floresan mikroskop görüntüleri (ölçek çubuğu 100 μm) 79

SİMGELER VE KISALTMALAR

DAMP : Hasarla ilişkili moleküler örgü

DH : Dendritik hücre

EBF : Epidermal büyüme faktörü

ESM : Ekstraselüler matriks

IFN-γ : İnterferon-gama

IL-1 : İnterlökin -10

IL-1β : İnterlökin -1 beta

IL-6 : İnterlökin -6

MH : Mast hücre

MMP : Metaloproteaz

NET : Nötrofil hücre dışı tuzakları

NK : Doğal öldürücü hücre

PAMP : Patojenle ilişkili moleküler örgü

P.aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa

ROS : Reaktif oksijen türleri

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü beta

TKBF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

T.latifolia : Typha latifolia

TNF-α : Tümör nekroz faktör alfa

VEBF : Vasküler endotel büyüme faktörü

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN YARA ENFEKSİYON MODELİNDE TYPHA TÜRÜNÜN HİSTOLOJİK VE İMMÜNOLOJİK PARAMETRELERE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: *Pseudomonas aeuruginosa* ile oluşturulan yara enfeksiyon modelinde *Typha latifolia* cinsinin yara iyileşmesi üzerindeki makroskopik, histolojik, immünolojik ve antimikrobiyal etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Sıçanlarının sırt bölgesine anestezi altında 2 cm^2 tam kat yara oluşturularak *Pseudomonas aeuruginosa* yara üzerine enjekte edildi. Kırk sekiz adet sıçan sekiz ayrı gruba ayrıldı. Kontrol grubuna merhem tedavisi uygulanmazken, referans grubu dekspantenol ile her gün tedavi edildi. Diğer iki grup ise *Typha latifolia* çiçeği etanol ekstresinden hazırlanan farklı konsantrasyonda merhem ile tedavi edildi. Makroskopik olarak, yara kapanması ve yara boyutu gözlemlendi. Çalışmanın 7. ve 16. günlerinde eksize edilerek toplanan yara dokuları histolojik, immünolojik ve mikrobiyolojik yöntemlerle analiz edildi.

Bulgular: Makroskopik olarak gözlemlediğimizde, %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün yara iyileşme düzeyi, Yara+Enfeksiyon (p:0.001) grubundan anlamlı şekilde yüksekti ($p<0.05$). Histolojik olarak değerlendirdiğimizde, Yara+Enfeksiyon grubunun 16.gün granülasyon dokusu, %20 *Typha latifolia* (p:0.015) ve Dekspantenol (p:0.015) gruplarından anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0.05$). %20 *Typha latifolia* grubunun 7.gün α-SMA yoğunluğu, Yara+Enfeksiyon (p:0.001) ve Dekspantenol (p:0.016) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti ($p<0.05$). %20 *Typha latifolia* 16.gün IL-1β düzeyi, Yara+Enfeksiyon grubu (p:0.001) ve Dekspantenol (p:0.007) gruplarından anlamlı şekilde düşüktü ($p<0.05$). Tüm gruplarda 16.gün IL-10 düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). Tüm gruplarda, 16.gün bakteri sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0.05$).

Sonuç: *Typha latifolia* çiçeği etanol ekstresinden hazırlanan merhemin yara iyileştirici olarak olumlu etkileri olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomoas aeruginosa, Typha latifolia*, Tıbbi bitki, Yara iyileşmesi

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF TYPHA SPECIES ON HISTOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN A WOUND INFECTION MODEL IN RATS

ABSTRACT

Aim: The aim is to investigate the macroscopic, histological, immunological and antimicrobial effects of *Typha latifolia* on wound healing in a wound infection model created with *Pseudomonas aeuruginosa.*

Material and Method: A 2 cm^2 full-thickness wound was created on the back of rats under anesthesia and Pseudomonas aeuruginosa was injected into the wound. Forty-eight rats were divided into eight separate groups. While the control group was not treated with ointment, the reference group was treated with dexpanthenol every day. The other two groups were treated with ointment prepared from *Typha latifolia* flower ethanol extract at different concentrations. Macroscopically, wound closure and wound size were observed. Wound tissues were excised and collected on the 7th and 16th days of the study and analyzed with histological, immunological and microbiological methods.

Results: When we observed macroscopically, the wound healing level of 20% *Typha latifolia* group on day 16 was significantly higher than that of the Wound + Infection (p: 0.001) group ($p<0.05$). When we evaluated histologically, the granulation tissue of the Wound + Infection group on day 16 was significantly lower than that of the 20% *Typha latifolia* (p: 0.015) and Dexpanthenol (p: 0.015) groups ($p<0.05$). The α - SMA density of the 20% *Typha latifolia* group on day 7 was significantly higher than that of the Wound + Infection (p: 0.001) and Dexpanthenol (p: 0.016) groups ($p<0.05$). 20% *Typha latifolia* IL-1β level on day 16 was significantly lower than Wound+Infection group (p:0.001) and Dexpanthenol (p:0.007) groups ($p<0.05$). IL-10 level on day 16 in all groups was statistically significantly higher than day 7. ($p<0.05$). Bacterial count on day 16 was statistically significantly lower than day 7 in all groups ($p<0.05$).

Conclusion: It was found that the ointment prepared from the ethanol extract of *Typha latifolia* flower had positive wound healing effects.

Key Words: Medicinal plant, *Pseudomonas aeruginosa*, *Typha latifolia*, Wound healing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara iyileşmesi hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamalarını içeren dinamik bir süreçten oluşmaktadır. Yara oluşumunda anında vazokonstriksiyon ve fibrin pıhtılaşması meydana gelmektedir. Ardından kemotaktik büyüme faktörleri ve proinflamatuar sitokinler salınarak lökositlerin sıralı akışının yanı sıra yara bölgesine fibroblast migrasyonu ve proliferasyonu kolaylaşmaktadır. İnflamasyon aşamasını takip eden ve onunla örtüşen proliferatif aşama, endotel ve fibroblast hücrelerinin varlığı, fibroplazi, granülasyon dokusu oluşumu, epitelizasyon ve neovaskülarizasyon varlığı ile karakterize edilmektedir (1).

Epidermal ve kemik iliği kök hücreleri, yeniden epitelizasyona ve anjiyogeneze katkıda bulunan keratinositlerin yara bölgesine göç edemesine yol açmaktadır. Yara iyileşmesinin son aşaması ise, yeni oluşan kan damarlarının gerilemesini, hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesini, yaranın fiziksel olarak kasılmasını ve tip III kollajen liflerinin sağlam bir tip I kollajen lifleri ağına dönüşmesini ve bunun sonucunda skar dokusu oluşumunu içermektedir. Yara tedavisi için analjezikler, antibiyotikler ve steroidal olmayan antiinflamatuar ilaçlar gibi çeşitli tedavi seçenekleri bulunmaktadır. Ancak bu tedavilerin birçoğu önemli yan etkilere yol açabilmektedir. Antibiyotik içeren yara pansumanları, sistemik toksisiteye katkıda bulunabilecek yüksek antibiyotik konsantrasyonlarına ihtiyaç duymalarına rağmen, lokal enfeksiyonların tedavisinde önem arz etmektedir (2).

Son yıllarda yeni antibiyotiklerin geliştirilmesinde düşüş yaşanmakta ve az sayıda şirket bu alanda aktif olarak faaliyet göstermektedir. Antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkışı, devam eden antibiyotik krizini daha da şiddetlendirerek, diyabetik ayak ülserleri, basınç ülserleri ve büyük ölçüde antibiyotiklere bağlı olan venöz ülserlerin tedavisini etkilemektedir (3).

İnflamasyon süreci, yaralar, travma, artrit, nöropati, ateroskleroz, kanser, diyabet, nörodejeneratif hastalık ve kronik ağrı gibi çeşitli bozuklukların ardındaki itici güçtür. Özellikle inflamasyon, yaralanmaya karşı doğal bir reaksiyondur ve doku onarımının uyarılması için gereklidir. Bu nedenle, inflamasyonun terapötik inhibisyonu, yalnızca kontrolsüz, uygunsuz veya tekrarlayan hale geldiğinde mantıklıdır. Esas olarak steroidleri ve steroidal olmayan antiinflamatuar ilaçları içeren standart tedavilerin ciddi yan etkileri

bulunmaktadır. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α) inhibitörlerinin kullanıldığı anti-inflamatuar tedavi, uygun maliyeti, parenteral formülasyonu, tümör indüksiyonu ve enfeksiyon riski nedeniyle yalnızca sınırlı sayıda seçilmiş hastada uygulanabilmektedir (4). Bu nedenle bitki bazlı tedavi yaklaşımı daha iyi bir alternatif olacaktır. Geleneksel olarak bitkilerden cilt hastalıklarının, yanıkların, yaraların ve kesiklerin tedavisinde çok çeşitli formülasyonlar hazırlamak için yararlanılmaktadır. Batı farmakopeleri genellikle dermal yara iyileşmesinde kullanılan ilaçların yalnızca %1-3'ünü oluşturur; bunların üçte biri geleneksel bitkisel ilaçlara dayanmaktadır. Bu nedenle, yara iyileştirme özellikleri bilimsel değerlendirme yoluyla onaylanmış bitkiler, mevcut yaklaşımlara tercih edilebilir bir alternatif sunabilmektedir. Son zamanlarda bitkisel ilaçların yara tedavisindeki potansiyellerini ortaya koymak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (5).

Bu doğal ilaçlar, yara tedavisinde mevcut sentetik ilaçlara alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak etkinliğini kanıtlamıştır. Gelişmekte olan birçok ülke, özellikle de kırsal alanlarda, temel sağlık hizmetlerini karşılamak için büyük ölçüde geleneksel şifacılara ve şifalı bitkilere güvenmektedir. Bunun temel nedeni bitkisel ilaçların kolay bulunabilirliği ve düşük maliyetli olmasıdır (6).

Bitkilerden elde edilen izolatlar, çoklu mekanizmalar yoluyla doku yenilenmesini ve iyileşmeyi teşvik eder ve genellikle genel iyileşmeyi sinerjik olarak artırmaktadır. Polifenoller açısından zengin şifalı bitkiler, yara iyileşmesinde çok önemli bir rol oynayan kayda değer antioksidan aktivite sergilemektedir. Bu fitokimyasallar çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir. Geleneksel tıpta antiinflamatuar ve yara iyileştirici özellikleriyle bilinen flavonoidler birçok bitkide bol miktarda bulunmaktadır. Flavonoidler antioksidan ve antimikrobiyal etkileriyle etkili yara iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Birçok bitkiden elde edilen esansiyel yağlar, yara bakımı tedavilerinde kullanım açısından muazzam bir potansiyele sahiptir (7).

Yaygın olarak “Kedi kuyruğu” ya da “Hasır otu” olarak adlandırılan *Typha*, on bir türden oluşan *Typhaceae* familyasına ait kozmopolit, tek çenekli bir bitkidir. Bitki otsu, rizomatöz ve çok yıllıktır. Çıplak sapından çıkan uzun kılıç benzeri yapraklar, erkek çiçeklerin hemen altında silindirik bir dişi çiçek salkımıyla sonlanır ve olgunlaştığında patlayarak tüy şeklinde çiçek taneleri ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, *Typha* türleri' nin geleneksel olarak kullanımı polenlerinin dış travmatik yaralanmalardan kaynaklanan kanamayı durdurduğu bildirilmiştir (8). Fitokimyasal ve Etnobotanik Veritabanında

Typha latifolia (*T.latifolia*), geleneksel olarak yara iyileştirme için kullanıldığı bulunmuştur (9*). Typha latifolia*'nın fitokimyasal analizi şimdiye kadar yapraklar, kökler, rizomlar ve polenler üzerinde yapılmıştır. Yapraklarda alkanolamidler ve flavonol glikozitleri bulunmuştur (10). *Typha* çiçeklerinin esas olarak steroller, terpenoidler, flavonoidler, glikozitler içerdiğini bildirmiştir (11).

Yara tedavisinde *Typha* türlerinin dünya çapında geleneksel olarak tanınmasına rağmen, *Typha latifolia* üzerine yara enfeksiyon modelinde yara iyileştirme potansiyelinin şu ana kadar değerlendirilmediği ortaya çıkmıştır. Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de yetişen *Typha latifolia*'nın çiçeğinin etanol ekstresinden hazırlanan merhemin histolojik, immünolojik ve mikrobiyolojik olarak yara iyileştirme üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DERİ

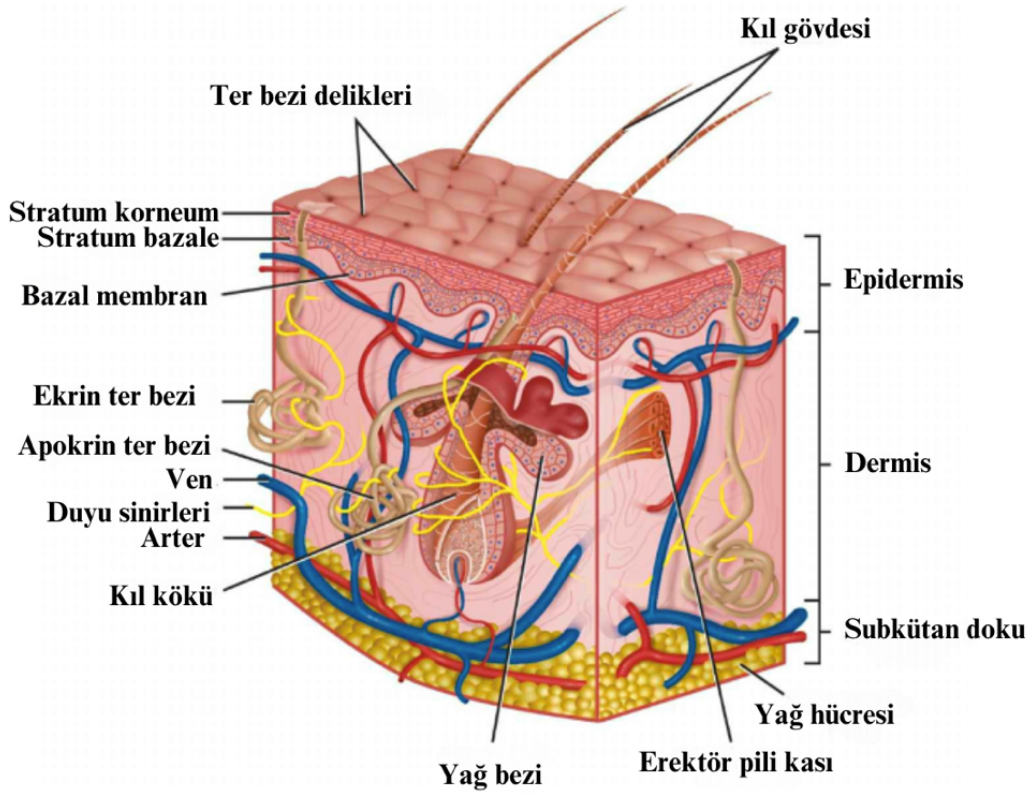
Deri vücudun dış tabakasını kaplayan en büyük organ olarak görev yapar ve vücudun toplam kütlesinin %15-20'sini oluşturmaktadır (12). Deri kalınlığı vücudun farklı bölgelerine göre 0,5 ila 3 mm arasında değişmekte olup sırtta en kalın, göz kapaklarında ise en ince deri bulunmaktadır. Deri, yaralanmalara, enfeksiyonlara ve ultraviyole radyasyona karşı koruyucu bir bariyer görevi görmesinin yanı sıra, vücut ısısının düzenlenmesinde, D vitamini sentezlenmesinde, iyon salınımında ve duyusal algının sağlanmasında da rol oynamaktadır. Ayrıca kendini yenileme konusunda olağanüstü bir yeteneğe sahiptir.

En üstte epidermis olarak bilinen keratinize çok katlı yassı epitel ve onun altında dermis adı verilen yoğun fibröz bağ dokusu bulunmaktadır. Bir bağ dokusu tabakası olan hipodermis, alttaki yapılara tutunarak deri altı desteği sağlar ve cildin bağlı vücut bölgeleri üzerinde hareket etmesini sağlamaktadır. Epidermisin büyük bir kısmı, epidermisteki hücrelerin %90'ını oluşturan keratinosit adı verilen hücrelerden oluşmaktadır (13). Epidermisin yapısal içeriğine ve kalınlığına göre deri kalın ve ince olmak üzere iki tipe ayrılmaktadır. Kalın deri, kılsız, avuç içi ve ayak tabanlarında bulunurken, ince deri vücudun geri kalanını kaplamaktadır. Vücudun önemli aşınma veya yıpranmaya maruz kalmayan bölgelerinin çoğunu ince deri kaplamaktadır. İnce deride kıl folikülleri, yağ bezleri ve çeşitli ter bezleri (apokrin ve ekrin) bulunmaktadır. Erektör pili olarak bilinen düz kas lifleri, kıl foliküllerinin bağ dokusu kılıfına ve dermisin bağ dokusuna bağlanmaktadır. Çok sayıda yağ bezi sıklıkla kıl kökleriyle ilişkilidir. Temel olarak, "kalın deri" ve "ince deri" terimleri yalnızca epidermisin kalınlığını ifade eder ve konuma bağlı olarak görünümleri değişebilen alttaki katmanları kapsamamaktadır (14).

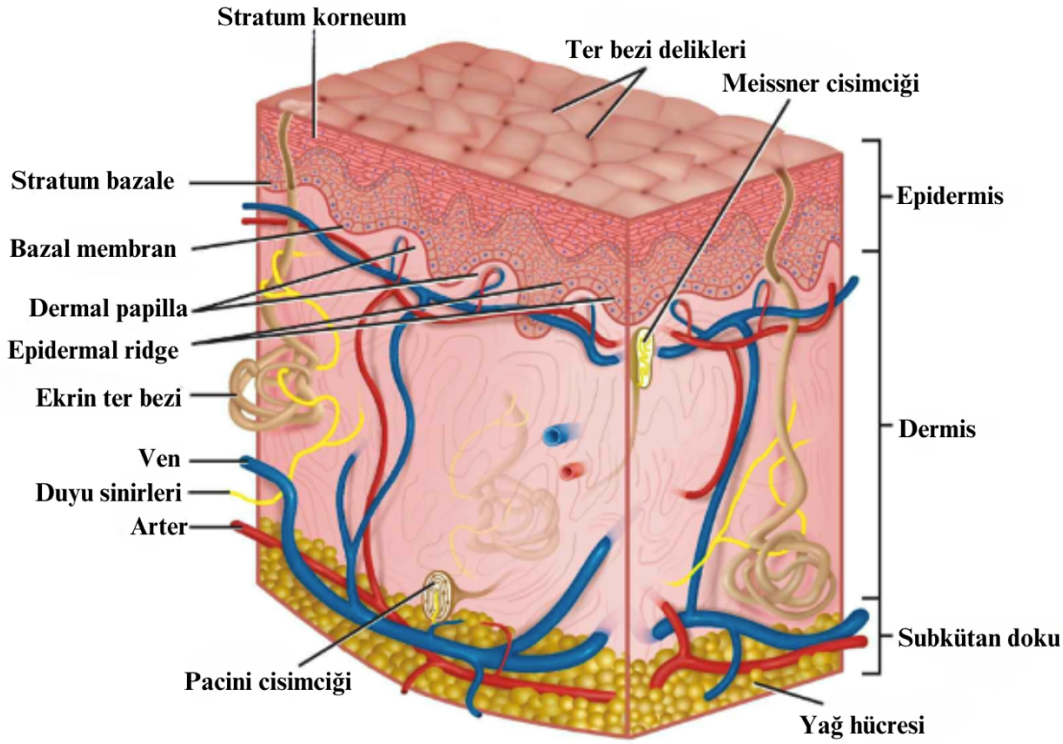
Epidermis esas olarak çok katlı keratinize epitelden oluşmaktadır. Melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri üç önemli hücre tipini içermektedir. Bu hücreler keratinize edici epidermal keratinositlerin bir parçasını oluşturmaktadır. Langerhans hücreleri epidermal hücrelerin %2-8'ini meydana getirmektedir. Kemik iliğinden köken alır ve kan dolaşımı yoluyla cilde taşınmaktadır. Bu hücreler antijenleri

bağlar, işler ve T hücrelerine sunabilmektedir. Sonuç olarak Langerhans hücreleri cildin bağışıklık tepkilerinde çok önemli bir rol oynamaktadır.

Epidermis, keratin üretiminin dermisten başlayıp dışarıya doğru ilerlediği beş katmandan oluşmaktadır. Stratum germinativum olarak da bilinen stratum bazale, adını mitotik olarak aktif epidermal kök hücrelerinden almaktadır. Stratum spinosum veya dikenli katman, adını ışık mikroskobu altında hücreler arasında görülebilen küçük çıkıntılardan almaktadır. Stratum granülozum çok sayıda yoğun boyanan granül içermektedir. Kalın deride bulunan stratum lucidum, stratum korneumun keratinizasyona uğramasıyla oluşan stratum korneumun alt kısmı olarak kabul edilmektedir (Şekil 2.2) (12).



Şekil 2.1: Kolun ince derisinin bağ dokusu dermisinin içeriği (14)



Şekil 2.2: Avuç içi kalın derisinin bağ dokusu dermisinin içeriği (14)

En ince deri hariç, dermis ile epidermis arasındaki bağlantı, ışık mikroskobu altında düzensiz bir sınır olarak görünmektedir (Şekil 2.1). Deriden kesitler yüzeye dik olarak alındığında, dermal papilla adı verilen bağ dokusunun epidermisin alt yüzeyine doğru uzanan çok sayıda parmağa benzer çıkıntıları görülebilmektedir. Bu papillalar, dermise uzanan epidermal çıkıntılar veya rete çıkıntıları adı verilen benzer yapılarla tamamlanmaktadır.

Dermis papiller ve retiküler olarak adlandırılan iki katmadan oluşmaktadır. En yüzeysel katman olan papiller katman, epidermisin hemen altındaki gevşek bağ dokusundan oluşmaktadır. Dermisin bu kısmındaki kolajen lifleri derinde bulunanlara göre daha incedir. Bu ince kolajen ağı esas olarak tip I ve tip III kolajen moleküllerini içermektedir. Benzer şekilde elastik lifler ipliğe benzer ve düzensiz bir ağ oluşturmaktadır. Papiller tabaka aynı zamanda epidermisi destekleyen ancak ona nüfuz etmeyen kan damarlarını da içermektedir.

Retiküler tabaka papiller tabakadan daha derinde bulunmaktadır. Kalınlığı vücudun farklı bölgelerinde farklılık gösterse de her zaman önemli ölçüde daha kalındır ve papiller tabakaya göre daha az hücre içermektedir. Genellikle düzensiz olan tip I kollajen demetleri ve kalın elastik liflerle karakterize edilmektedir. Kollajen ve elastik lifler rastgele yönlendirilmemiştir; ciltte Langer çizgileri adı verilen düzenli gerilim çizgileri oluşturmaktadır. Langer çizgisine paralel yapılan cilt kesileri minimal yara iziyle iyileşmektedir. Retiküler tabakanın hemen altında yağ dokusu, düz kas ve bazı bölgelerde çizgili kas tabakaları bulunmaktadır. Dermisten kaynaklanan bireysel düz kas hücreleri veya küçük düz kas hücresi demetleri, kıl foliküllerinin daha derin kısımlarını yüzeysel dermise bağlayan erektör pili kaslarını oluşturmaktadır. İnsanlarda bu kasların kasılması tüylerin dikleşmesine neden olmaktadır (15).

2.2. YARA

Yara, normal deri dokusunun yapısı ve fonksiyonunun farklı nedenlerle hasar görmesi sonucu oluşmaktadır. Yaraların farklı şekillerde sınıflandırma yöntemleri vardır. Altta yatan nedene göre yaralar açık ve kapalı olarak sınıflandırılmaktadır. Yara iyileşmesinin fizyolojisine göre sınıflandırıldığında akut ve kronik yaralar olarak ikiye ayrılmaktadır (16). Akut yaralar çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Hücre üretimi ve bozulmasındaki denge nedeniyle kısa sürede düzenli bir şekilde iyileşmektedir. Aksine, kronik yaralar metabolik bozukluklarla ilişkilidir ve hücre üretimi ve bozulmasındaki dengesizlik nedeniyle uzun süreli iyileşme sürecine sahiptir (17). Klasik teoriye göre kronik yaralar, cildi veya kan akışını doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyen bir anormallik yahut hastalık durumu nedeniyle oluşmaktadır. Kronik yaralar genellikle dermal ülserler olarak adlandırılmaktadır (Tablo 2.1). En yaygın olanları bası ülserleri, venöz ülserler, diyabetik ülserler ve iskemik ülserler olarak bilinmektedir. Daha az yaygın olanlar ise inflamatuar ülserlerdir (doğaları gereği doğrudan deri erozyonuna neden olabilen inflamatuar bozukluklar nedeniyle oluşurlar), maligniteye bağlı ülserler, kırmızı kan hücrelerinin anormalliğinden (hemaglobinopati) kaynaklanan ülserler ve bağışıklık sisteminin zayıflamasından kaynaklanan ülserlerdir. Bir yaranın iki aydan uzun süre açık kalması durumunda kronik olarak sınıflandırılabileceği konusunda genel bir fikir birliği bulunmaktadır. Akut yaraların aksine, kronik yaralar yara onarımının öngörülebilir düzenli olay fazlarını takip etmemektedir. Kronik yaralarda, yara onarım fazlarının sırası bozulur ve yara inflamasyon fazında "sıkışmış" gibi görünmektedir. İnflamasyon,

vücudun enfeksiyona veya yaralanmaya karşı doğuştan gelen tepkisinin oldukça etkili bir bileşenidir. İnflamasyon yaralanmanın önemli bir sonucu olmakla beraber normalde onarıma ve işlevin geri kazanılmasına yol açmaktadır. Bakteriyel kolonizasyonun artması enfeksiyon oluşmasına sonucunda ise inflamasyon basamağını uzamasına ve yara onarım basamaklarının düzenli bir şekilde ilerlemesine engel olmaktadır (18).

Tablo 2.1: Kronik ve akut yaranın özellikleri

Kronik Yara	**Akut Yara**
Yavaş, iyileşmeyen, uzun sürelidir.	Hızlı iyileşme görülür.
Yara onarım fazları bozulur.	Yara onarım fazları düzenli devam eder.
Uzun süreli inflamasyon görülür.	Kısa süreli inflamasyon görülür.
İyileşmesi haftalar, aylar ve yıllar sürebilir.	45 günden az bir sürede iyileşir.
Dengesiz proteinazlar ve inhibitörler oluşur.	Dengeli proteinazlar ve inhibitörler oluşur.

2.2.1. Yara Mikrobiyolojisi

Bağışıklık savunmasının ilk hattı olan deri, mikrobiyal istilaya etkili bir şekilde direnç gösterebilmektedir. Yara, bir kez oluştuğunda derinin ve dermal uzantıların doğal bağışıklığın fonksiyonunun kaybı nedeniyle enfeksiyona karşı hassas hale gelir ve bu da bakteriyel kolonizasyon sürecini hızlandırmaktadır (19).

Bakteriyel endotoksin ve ekzotoksin gibi toksik maddeler doğal ve edinsel bağışıklık tepkilerini tetikleyebilirken, nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücreleri bu süreçlerde hayati rol oynamaktadır. Kronik yaralarda çok sayıda nötrofil varlığını sürdürerek patolojik inflamasyona ve iyileşme sürecinin gecikmesine neden olmaktadır. Üstelik nötrofiller, yara yatağına toplanan diğer bağışıklık hücreleriyle birlikte, hücre dışı matrisi parçalayabilen proteaz üretmektedir. Proteaz üretimi daha fazla doku hasarına ve yeniden epitelizasyonun gecikmesine neden olmaktadır. Yara enfeksiyonu sürecinde kontaminasyon, kolonizasyon ve enfeksiyon olmak üzere üç aşama bulunmaktadır (20).

Yara kontaminasyonu, açık bir yarada çoğalmayan mikroorganizma varlığını işaret etmektedir. Az sayıda mikroorganizmanın varlığı normal inflamatuar yanıtları ve yara iyileşme süreçlerini etkilemez. Ancak mikrobiyal çoğalma yara kolonizasyonuna neden olmaktadır (21). Bakteriyel kolonizasyon kronik yaraların tipik bir özelliği olduğundan, gram doku başına $1x10^{5}$'ten fazla koloni oluşturan birim olduğunda enfeksiyon meydana gelebilmektedir (22). Enfeksiyon normal yara iyileşme basamaklarını birçok yolla engelleyebilmektedir. Genel olarak, Gram negatif bakteriler kronik yaralarda yaygın kolonize edici mikroorganizmalardır ve tüm mikrobiyal izolatların %61'ini oluşturmaktadır. *Staphylococcus aureus*, kronik enfeksiyonlarda en sık izole edilen patojen olup *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) onu takip etmektedir. Diğer patojenik mikroorganizmalar ise *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli, Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae*'ın olduğu saptanmıştır (23). Mikroorganizmaların artan sayısı ve kalıcı varlığı, yara iyileşmesinin inflamasyon fazını uzatabilir ve daha fazla doku hasarına yol açabilmektedir. Mikroorganizmalar yara yatağının derinliklerine göç edip hızla çoğaldıklarında, enfeksiyon özelliği taşıyan lokal veya sistemik bir bağışıklık reaksiyonunu tetikleyebilmektedir (24). Ayrıca bazı mikroorganizmalar, enfekte yaraların tespit edilmesini ve tedavi edilmesini zorlaştıran, biyofilm olarak da adlandırılan karmaşık bir koruyucu glikokaliks üretebilmektedir. Biyofilmin varlığı, kronik yaraların ayırt edici özelliğidir ve çoğu kronik yarada biyofilm bulunmaktadır (25). Biyofilm, kronik yara enfeksiyonlarının tedavisindeki en büyük zorluklardan biridir. Kronik yara enfeksiyonlarının %60'ından fazlasında ve akut yara enfeksiyonlarının sadece %6'sında görülmektedir (26).

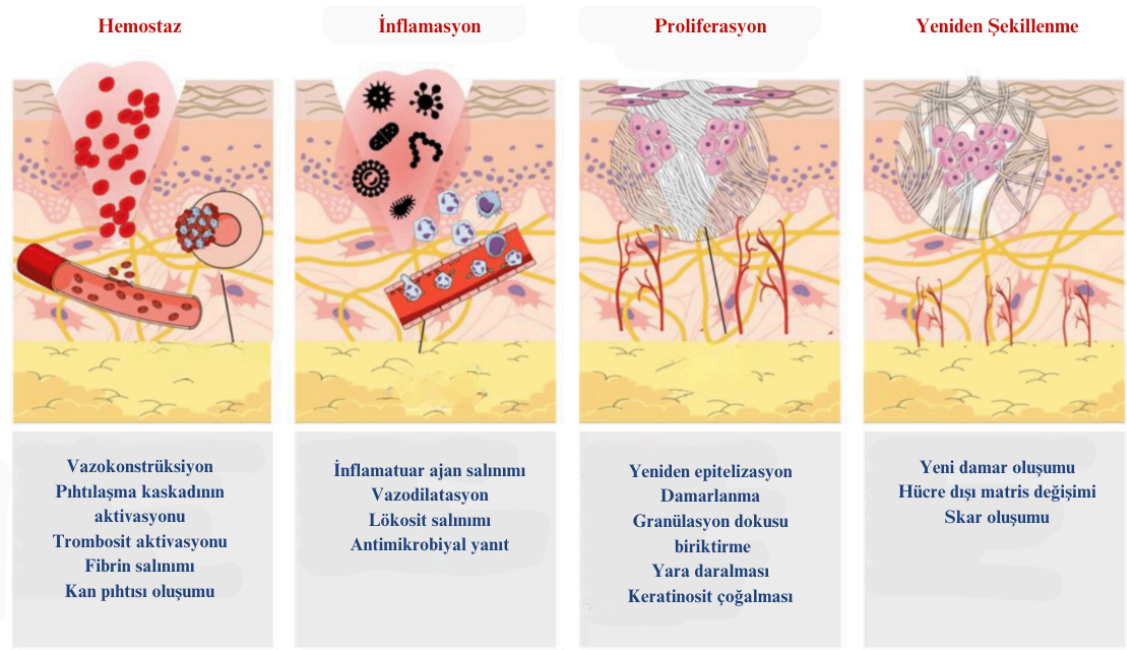
Biyofilmler, polisakkaritler, lipitler, proteinler ve nükleik asitlerden oluşan polimerik bir matrisle çevrili, tek hücreli, planktonik veya çok hücreli topluluklar ve agregatlar olarak var olan karmaşık mikrobiyal bakteri ve mantar topluluklarından oluşmaktadır. Matris, popülasyon algılayan moleküller üreterek mikroorganizmalar arasındaki sinyalleşmeyi kolaylaştırmaktadır. Bu çapraz iletişim, mikrobiyal çoğalmaya daha fazla yardımcı olabilir, besin alımını optimize edebilir ve virülansı düzenleyerek yara iyileşmesinde kalıcı bir bozulmaya yol açabilmektedir (27).

Biyofilm oluşturma yeteneği güçlü bir mikroorganizma olan *P.aeruginosa*, enfeksiyon oluşumu için konak savunmasındaki ihlallerden faydalanan fırsatçı bir patojendir. Dahası, *P.aeruginosa* biyofilm oluşturarak epitel hasardan sorumlu olmakla

beraber aynı zamanda yaralanmadan sonra epitel onarım mekanizmalarını da bozduğuna dair giderek artan kanıtlar bulunmaktadır. Gerçekten de, enfekte olmamış epitel, yaralanmadan sonra epitel bütünlüğünü ve işlevini geri kazandırmak için karmaşık mekanizmalardan oluşan organize bir süreç kurabilirken, *P.aeruginosa*' nın varlığı epitel dokuların yeterli şekilde onarım yapma yeteneğini kısıtlar ve bu da kalıcı enfeksiyonlara ve organ işlevlerinde değişikliğe yol açmaktadır (28). Bakteriyel endotoksin ve ekzotoksinle ilişkili yara enfeksiyonlarının doğal ve edinsel bağışıklık tepkilerini tetikleyerek aşırı inflamasyona sebep olduğu bulunmuştur. Yara bölgesinde toplanan inflamatuar hücreler ekstraselüler matrisi parçalayan fazla miktarda proteaz enzimi üretmesi sonucu yara iyileşmesinin gecikmesine sebep olmaktadır (29).

2.2.2. Yara İyileşmesi

Yaralanma anında, doku bütünlüğünü yeniden sağlamak amacıyla çok sayıda hücresel ve hücre dışı yol, sıkı bir şekilde düzenlenmiş ve koordineli bir şekilde etkinleştirilmektedir. Klasik olarak yara iyileşmesi hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olarak dört aşamadan oluşmaktadır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Yara iyileşmesinin aşamaları (30)

Akut yaralarda bu dört aşama tipik olarak düzenli bir şekilde devam eder ve iyileşmenin dört farklı aşamasında sorunsuz bir şekilde ilerleme gerçekleşmektedir. Tersine, kronik yaralar da iyileşme sürecini benzer şekilde başlatır ancak uzun süreli inflamasyon, proliferasyon veya yeniden şekillenme aşamaları yaşanır, bu da doku fibrozisine ve iyileşmeyen ülserlere yol açmaktadır. Yara iyileşme süreci karmaşıktır; trombositler, makrofajlar, fibroblastlar, epitel ve endotel hücreler gibi çeşitli özel hücreleri içermektedir. Bu hücreler birbirleriyle ve hücre dışı matrisle etkileşime girmektedir. Hücresel etkileşimlerin yanı sıra iyileşme, sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, inhibitörler ve bunların reseptörleri de dahil olmak üzere proteinler ve glikoproteinlerden etkilenmektedir. Yara iyileşmesinin her aşamasının, düzenli bir şekilde ilerlemesi için üzerinde durulması gereken önemli hususlar bulunmaktadır (31).

2.2.2.1. Hemostaz: Doku yaralanmasından hemen sonra hasarlı kan damarları hızla kasılır ve damar hasarından kaynaklanan kanamayı önleyen bir kan pıhtısı oluşmaktadır. Hemostaz ve pıhtılaşmaya temel katkı sağlayan trombositler, vasküler subendotelyal matriksle karşılaştıklarında aktive olmaktadır. Glikoprotein VI gibi trombosit reseptörleri, fibronektin, kollajen ve von Willebrand faktörü gibi hücre dışı matriks proteinleri ile etkileşime girerek damar duvarına yapışmayı artırmaktadır. Trombin daha sonra trombosit aktivasyonunu tetikleyerek konformasyonel bir değişikliğe neden olmaktadır (32).

Trombosit toplanması, protrombinin trombine dönüşümüyle sonuçlanan aktif enzimlere proenzimlerin bir dizi dönüşümü yoluyla içsel pıhtılaşma aşamasını başlatmak için kanda Hageman faktörü olarak bilinen spesifik bir proteini tetiklemektedir. Bu da çözünebilir fibrinojeni çözünmeyen fibrine dönüştürmektedir. Hasarlı doku, dış pıhtılaşma yolunu aktive eden, doku faktörü olarak bilinen bir lipoproteini serbest bırakmaktadır. Aktive edilmiş monositler ve endotel hücreleri de bu doku faktörünü yüzeylerinde eksprese eder ve pıhtılaşmaya katılmaktadır (33). Fibrin, fibronektin, vitronektin ve trombospondin'den oluşan çözünmeyen bir pıhtı (eskar) oluşur ve esas olarak yarayı tıkayıp kanamanın önlenmesini sağlamaktadır.

Eskar ayrıca bakteriyel istilaya karşı koruma sağlamak, gelen bağışıklık hücreleri için bir iskele sağlamak ve yara hücrelerinin erken onarımdaki davranışına rehberlik etmek için bir sitokin ve büyüme faktörlerine rezervuar görevi görme gibi ikincil işlevi de yerine getirmektedir (34).

Hemostazdaki iyi bilinen rollerine ek olarak trombositler inflamasyonda da önemli bir yere sahiptir. Hemostatik tıkaç içinde aktive edilmiş trombositler, bağışıklık hücrelerini çeken ve iyileşme sürecindeki sonraki adımları düzenleyen çok sayıda sitokin ve kemokin salgılamaktadır. Trombositler, yara iyileşmesinde temel rolleri olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEBF), epidermal büyüme faktörü (EBF), trombosit faktörü- 4 (TF4), trombosit türevli büyüme faktörü (TTBF), fibroblast büyüme faktörü-2 (FBF-2), kemokinler (CXCL1, CXCL8, CCL3, CCL5, CCL7) ve sitokinler (IL-1, IL-6, TGF-β) dahil olmak üzere 300'den fazla molekül içeren üç farklı tipte sitoplazmik granül içermektedir (36).

Trombosit faktörü-4, nötrofiller, monositler ve fibroblastlar için kemotaktik bir faktör görevi görür ve monositlerin makrofajlara farklılaşmasını desteklemektedir. TTBF, kemotaksiyi ve bağışıklık hücrelerinin çoğalmasını indükleyerek yeni kan damarlarının ve granülasyon dokusunun oluşumuna yardımcı olmaktadır. Transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF-β1) keratinosit proliferasyonunu uyararak epidermisin yeniden şekillenmesine katkıda bulunmaktadır. İnterlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) sitokinleri ise, kompleman kaskadını ve C5'i aktive ederek vasküler geçirgenliği artırarak nötrofil ve makrofaj göçünü teşvik etmektedir (37). CXCL4, yapışma ve degranülasyon dahil olmak üzere nötrofil aktivasyonunu teşvik ederek cilt hasarı bölgesine toplanan monositlerin makrofajlara farklılaşmasına katkıda bulunmaktadır (37). Ek olarak CXCL4 ve CCL5, dolaşımdaki monositlerin dermal mikro damar sisteminin endoteline yapışkanlığını artırmaktadır. Son çalışmalar, trombositlerin aynı zamanda doğal ve edinsel bağışıklık tepkilerini birbirine bağlamada da rol oynadığını göstermektedir (38).

Aktive edilmiş trombositler, yüzeylerinde hücre içi MHC sınıf I moleküllerini eksprese eder ve kostimülatör molekül CD86 gibi T hücreleri ile sinaps oluşumu için gerekli diğer moleküllerle birlikte antijenleri sunabilir ve T hücresi aktivasyonunu teşvik edebilmektedir (39).

2.2.2.2. İnflamasyon: Doku hasarını takip eden ilk 72 saat içinde gerçekleşen başlangıç hemostazıyla geniş ölçüde örtüşmektedir. Bu faz, nötrofil ve monositlerin yara yatağına infiltrasyonunu kolaylaştıran, gereğinden fazla doku hasarını önlemeyi, patojenleri ve yabancı kalıntıları ortadan kaldırmayı amaçlayan karmaşık bir moleküler sinyal dizisi ile karakterize edilmektedir (40). İnflamatuar hücrelerin yara bölgesine toplanması, lokal uyaranlara yanıt olarak gerçekleşmektedir. Akut bir yarada, hasar gören

konakçı hücreler ölür ve tehlike sinyali görevi gören hücresel içerikleri serbest bırakılmaktadır. Ortaya çıkan ürünlere hasarla ilişkili moleküler örgüler (DAMP'lar) adı verilmektedir. Bir yara bir patojen tarafından kontamine olduğunda, patojenle ilişkili moleküler örgüler (PAMP'lar) de yara ortamına salınmaktadır. Dokuda yerleşik hücreler üzerindeki patern tanıma reseptörleri (örneğin, toll benzeri reseptörler) bu tehlike sinyallerini tanır ve bu da lokal hücre aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu hücreler, inflamatuar yanıtı artıracak önemli kimyasal aracıları kodlayan çok sayıda gen ifade etmektedir (41).

Nötrofiller, hasar bölgesine göç eden ilk bağışıklık sistemi hücrelerinden olup ilk 24 saatte en çok bulunan hücre tipi olarak bilinmektedir. Başlıca işlevleri, sitoplazmik granüllerde bulunan antimikrobiyal maddeleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve proteazları serbest bırakarak patojenleri parçalayarak ortadan kaldırmaktır (42).

Nötrofil olgunlaşma süreci sırasında azurofil granülleri (birincil granüller) ve ikincil granüller dahil olmak üzere çeşitli granüller oluşmaktadır. Birincil granüller peroksidaz, azurosidin, lizozim ve defensinler açısından zengindir; ikincil granüller ise laktoferrin, antimikrobiyal bir peptit olan katelisidin ve metaloproteaz'lar (MMP'ler) bakımından zengindir. Granüler maddelerin fonksiyonel çeşitliliği nedeniyle nötrofiller farklı mekanizmalar yoluyla patojenleri hedef almaktadır. Örneğin defensinler bakteri zarlarında gözenekler oluşturarak etki göstermektedir. Laktoferrin demire bağımlı metabolik yollarla etkileşime girerken, azurosidin ise bakteri duvarı geçirgenliğini artırmaktadır (43).

Metaloproteaz'lar, hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayarak ve bağışıklık sistemi hücrelerinin dolaşımdan yaralanma bölgesine göçünü kolaylaştırarak işlev görmektedir. MMP'ler onarım süreci için çok önemli olmasına rağmen, birçok klinik çalışma metaloproteazların aşırı üretiminin lezyon bölgesindeki hasarı şiddetlendirdiğini, bunun da uzun süreli inflamasyona ve yara iyileşmesinin bozulmasına neden olduğunu göstermektedir (44).

Nötrofiller, hasarsız yara iyileşmesinde önemli bir hücre türü olarak görülmese de, süreci destekleyen çeşitli işlevleri yerine getirmektedir. Her şeyden önce nötrofiller, patojenleri fagosite eder ve ardından reaktif oksijen türlerinin, proteazların veya antimikrobiyal proteinlerin salınmasıyla patojneleri öldürerek yara enfeksiyonuna karşı savunmaktadır (45). Tipik olarak granüllerinde sınırlı olan, proteinlerle süslenmiş nükleer

kromatinden oluşan nötrofil hücre dışı tuzaklarını (NET'ler) serbest bırakarak antimikrobiyal yeteneklerini güçlendirmektedir (46). NET'lerin katyonik bileşeni, mikroorganizmaların yüzeyleriyle elektrostatik bağlanmayı mümkün kılarak onları yüksek düzeyde sitotoksik moleküllere maruz bırakmaktadır. Ek olarak, insan nötrofilleri üzerinde yapılan deneyler, NET'lerin dolaylı olarak komplemanın patojenleri yok etme kapasitesini artırdığını göstermiştir (47).

Nötrofil hücre dışı tuzakları, *Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* ve *Propionibacterium* gibi bakterilerin büyümesini sınırlamaktadır (49). NET'ler konakçıyı mikroorganizmalardan koruyabilse de aşırı üretim zararlı olabilir çünkü inflamasyon sürecini uzatarak yara iyileşmesini geciktirmektedir. In vitro deneyler ve hayvan modelleri ile yapılan son çalışmalar, NET'lerin bazı metabolik, otoimmün ve otoinflamatuar hastalıkların yanı sıra morbidite ve mortaliteyi artıran bazı septik durumların patogenezinde çok önemli olduğunu göstermiştir (50,51,52) Yapılan çalışmalar, aktive edilmiş nötrofillerin iyileşme sürecine dahil olan genleri aşırı eksprese ettiğini göstermiştir (49). Aktive edilmiş nötrofiller, inflamatuar yanıtı, fibroblastların ve keratinositlerin çoğalmasını uyaran sitokinlerin ve kemokinlerin ekspresyonunu önemli ölçüde artırır ve anjiyogenezi teşvik etmektedir (53).

Yara iyileşmesinde önemli bir yere sahip olan makrofajlar, ölü hücreleri, nekrotik dokuyu ve dokulardaki toksik metabolitleri yapısal olarak temizleyerek uzaklaştıran monosit türevli hücrelerdir (54). Bununla birlikte, yaralanmayı takiben homeostatik işlevler, doku onarımına yardımcı olmak için çeşitli uyaranlarla yoğunlaştırılmaktadır. Deri yaralanmasında, dolaşımdaki monositler kan damarlarından çıkıp yara bölgesine girerken, deride yerleşik makrofajlar tehlike sinyalleri ve yaralanma sonucu ortaya çıkan moleküller tarafından aktive olmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, yaralanmadan hemen sonra yaraya sızan tek inflamatuar hücrelerin nötrofiller olduğuna inanılıyordu; ancak yapılan bazı çalışmalar, monosit dalgasının aynı anda yara yatağına girerek vasküler sızıntı bölgelerinden geçtiğini ortaya çıkarmıştır (55).

Hasarla ilişkili moleküler örgüler ve patojenle ilişkili moleküler örgüler (sırasıyla nekrotik doku ve patojenlerden salınır), doğal öldürücü hücrelerden (NK'lar) gelen interferon-gama (IFN-γ) ile birlikte makrofajlar proinflamatuar uyaranlar tarafından indüklenmektedir. Bu inflamatuar makrofajlara sıklıkla klasik olarak aktive edilmiş

makrofajlar veya M1 fenotipi olarak adlandırılmaktadır. Bu fenotip, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-23 ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinlerin yanı sıra doğal öldürücü hücre, makrofaj ve yardımcı T hücresi yanıtlarının artmasına neden olan kemokinleri salgılamaktadır (56). M1 makrofajlar lökositleri yara bölgesine çağırmasının yanı sıra, yara bölgesini temiz tutmak için mikroorganizma ve hücresel kalıntılarını fagosite etme kapasitesinin arttığını göstermektedir (57,58).

İnflamatuar süreç azaldıkça, makrofajlar inflamatuar fenotipten M2 antiinflamatuar fenotipe geçiş yapmaktadır. "Alternatif olarak aktive edilmiş makrofajlar" olarak da adlandırılan M2 makrofajlar, ekstraselüler matriks (ESM) vasküler endotel büyüme faktörü A (VEBF-A) ve insulin benzeri büyüme faktörü 1 (IBF1) gibi antiinflamatuar aracıları eksprese etmektedir. Ayrıca fibroblast proliferasyonunu, ekstraselüler matriks (ESM) sentezini ve anjiyogenezi de teşvik etmektedir. M1'den M2'ye geçiş, inflamasyonun çözülmesi ve dengenin doku onarımına doğru ilerlemesi için çok önemlidir (59).

Yara iyileşme fazlarının anahtar rollerini kontrol eden mast hücresi, granülleri ile histamin reseptörü 1 üzerinde etki göstererek arteriolleri genişleten ve venül geçirgenliğini artıran histamin dahil çeşitli aktif maddeler salgılamaktadır. Serotonin ve heparin gibi diğer maddeler de venül geçirgenliğinin başlangıçtaki artışına katkıda bulunmaktadır. Bir antikoagülan olan heparin, erken inflamasyon sırasında fazla doku sıvısının ve kan bileşenlerinin pıhtılaşmasını önlemektedir. İyi bilinen bradikinin de dahil olmak üzere kininler, doku hasarı olan bölgelerde bulunan biyolojik olarak aktif peptitlerdir. Plazma proteinlerinden kallikrein tarafından salınan kininlerin mikro damar sistemi üzerinde histamine benzer etkiler göstermektedir (60). Mast hücreleri (MH'ler) ve Dendritik hücreler (DH'ler) arasındaki etkileşimler, yeni öncüllerin DH'lere farklılaşmasında anahtar olan TGF-β ve TNF-α gibi çözünür faktörlerin salınması için gerekmektedir. DH'ler bir günden daha eski yaralarda nadiren görülürken, 3 ila 14 günlük yaralarda çoğunlukla görülmektedir. DH popülasyonu içinde, insan epidermisinde, Langerhans hücreleri olarak bilinen, CD1a ve CD207/langerin'i eksprese eden bir alt popülasyon bulunmaktadır. Çalışmalar, bu hücre tiplerinin sayısının yaralanmayı takip eden ilk saat içinde hızla arttığını göstermektedir. Bu hipotezleri destekleyen araştırmalar, bir fare modelinde DH'lerin yokluğunda tam yara iyileşmesinin gerçekleşmediğini doğrulamıştır. Böylece yara iyileşmesinin erken evresinde, süreçte görev alan hücrelerin

çoğalmasını uyaran faktörleri salgılayarak rol oynamaktadır (61). Mast hücreleri yaralanmadan 72 saat sonra lezyon bölgesine ulaşarak makrofajlardan kaynaklanan ve aynı zamanda hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesinde rol oynayan IL-1 tarafından yara bölgesine çekilmektedir. Lenfosit tepkisi, derinin mikro ortamında bulunan IFN-γ ve TNF-α gibi faktörlerin yanı sıra antijen sunan hücreler tarafından tetiklenmektedir. Yara bölgesine vardıklarında lenfositler başlangıçta monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve 4. günden itibaren IFN-γ kaynaklı protein-10 (IP-10) (CXCL10), IFN-γ tarafından uyarılan monokin (MIG) (CXCL9) ve makrofaj kökenli kemokin (MDC) (CCL22) gibi çeşitli kemokinler üretmektedir (62). Ayrıca epidermal büyüme faktörü (EBF) ve fibroblast büyüme faktörü β (FBF-β) gibi büyüme faktörlerini de salgılamaktadır. Son çalışmalar, T regülatör hücre'lerin EBF reseptörünün ekspresyonunu indükleyerek deri yaralarının iyileşmesine yardımcı olduğunu ileri sürmektedir. T regülatör hücre'lerde EBFR'nin çıkarılması, bu hücrelerin aktivasyonuna ve ardından göç etmemesine, M1 makrofajların birikmesi sonucu yara iyileşmesinin gecikmesine yol açmaktadır (63).

Yara bölgesinde nötrofillerin yokluğu ve makrofajların sayısında azalma, inflamatuar fazın bittiğini ve proliferatif fazın başladığını göstermektedir.

2.2.2.3. Proliferasyon: Dokunun yapısını ve fonksiyonunu eski haline getirmek için geçici fibrin matrisinin kollajen lifleri, proteoglikanlar ve fibronektinden oluşan yeni bir matris ile değiştirilmesini içermektedir. İyileşmenin önemli bir parçası olan, anjiyogenez, yani hasarlı damarların yerini alacak ve dolaşımı yeniden sağlayacak yeni kılcal damarların oluşmasıdır. İyileşme aşamasındaki diğer önemli olaylar ise, granülasyon dokusunun oluşumu ve epitelizasyondur. Fibroblastlar iyileşmenin proliferatif fazında yer alan birincil hücrelerdir.

Fibroblastlar, önce trombositler ve daha sonra makrofajlar tarafından salınan çözünebilir medyatörlere yanıt olarak yara bölgesine göç etmektedir. Hücre dışı matriksteki fibroblastların migrasyonu, matriksin spesifik bileşenlerinin kesin olarak tanınmasına ve bunlarla etkileşime girmesine bağlıdır. Normal dermisteki fibroblastlar genellikle inaktif ve seyrek iken, yaranın geçici matrisinde ve granülasyon dokusunda oldukça aktif ve çok sayıda bulunmaktadır (64). C5a, fibronektin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (TKBF), fibroblast büyüme faktörü (FBF) ve transforme edici büyüme faktörü-β (TGF-β) gibi inflamatuar aracılar tarafından düzenlenen geçici fibrin pıhtısına

göç ettikten sonra fibroblastlar çoğalmaktadır. Ardından, VEBF, Fibroblast büyüme faktörü (FBF), anjiyopoietin 1(Ang-1) ve trombospondin (TSP) dahil olmak üzere proanjiyogenik molekülleri salgılayarak anjiyogeneze ve granülasyon dokusu oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Fibroblastlar, MMP'ler üreterek geçici matrisi parçalar ve bunun yerine fibronektin, olgunlaşmamış kollajenler ve proteoglikanlar açısından zengin granülasyon dokusunu koymaktadır. Granülasyon dokusu, yara hücrelerinin göçü ve farklılaşması için bir iskele görevi görerek yeni kan damarlarının oluşumunu ve olgun ekstrasellüler matriks'in birikmesini desteklemektedir (65). Anjiyogenez, yara yakınındaki mevcut damarlardan filizlenerek yeni damarların oluşmasını içermektedir (66). Filizlerin ucu endotel hücrelerinden uzanıp başka bir filizle karşılaştıkça, daha sonra gelişen damarın lümeni haline gelen ve yeni bir damar halkasını tamamlayan bir yarık geliştirmektedir. Bu süreç kılcal sistem yeterince onarılıncaya, doku oksijenlenmesi ve metabolik ihtiyaçları karşılanıncaya kadar devam etmektedir. Granülasyon dokusuna karakteristik inişli çıkışlı veya granüler görünümünü veren de bu yeni kılcal tüflerdir (64). Esas olarak tip III kollajen, fibroblastlar ve yeni kan damarlarından oluşan granülasyon dokusunun gelişimi, anjiyogenez ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir. Fibroblastlar, granülasyon dokusu oluşumunda rol oynayan birincil hücrelerdir ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (TKBF-BB), TNF-α, IL-1 ve IL-6 gibi makrofajlardan salınan çeşitli moleküller, proliferasyonu uyarabilmektedir (67). IL-6 içermeyen lezyonlar uygun bir inflamatuar yanıttan yoksundur ve yetersiz anjiyogenez, kollajen birikimi ve yeniden epitelizasyon göstermektedir. Fibroblastlar ayrıca esas olarak, makrofajlar tarafından üretilen bir molekül olan TBF-β'dan da önemli ölçüde etkilenmektedir (68). Makrofajlar, mikrovasküler endotel hücrelerinin faaliyetlerini destekleyerek anjiyogenezde hayati bir rol oynamaktadır. Yoğun fibrin ağını parçalamak için MMP'ler gibi proteazlar salgılarlar ve endotel hücre göçünü teşvik etmek için kemotaktik faktörleri (TNF-α, VEBF ve TBF-β gibi) serbest bırakmaktadır (69).

Makrofajdan türetilen faktörlerin anjiyogenezdeki kritik rolünü ortaya koyan bir çalışma, özellikle miyeloid hücrelerde VEBF-A'nın silinmesinin fare yaralarında kılcal damar oluşumunu azalttığını göstermiştir. Makrofajlar ayrıca damar uçlarının birleşmesine rehberlik ederek, gereksiz damarları fagosite ederek ve aşırı vasküler büyümeyi önlemek için anjiyojenik yanıtı düzenleyerek yeni kan damarlarının yeniden şekillenmesine katkıda bulunmaktadır (70).

2.2.2.4. Yeniden Şekillenme: Yaralanmadan birkaç hafta sonra başlayarak bir yıla kadar veya daha uzun süre devam edebilmektedir. Granülasyon dokusundan skar dokusuna geçişi işaret eder; bu, anjiyogenezin yavaşlamasını ve granülasyon dokusundaki tip III kollajenin daha güçlü tip I kollajenle değiştirilmesini içermektedir (71). Bu aşamanın temel amacı, hücre dışı matriksin yeniden düzenlenmesi, bozulması ve yeniden sentezlenmesi yoluyla maksimum gerilme mukavemetine ulaşmaktır. İyileşmenin bu son aşamasında, doku yapısı normale dönmeye çalışır ve granülasyon dokusu giderek artan kollajen lif konsantrasyonuyla birlikte daha az hücresel ve vasküler olan skar dokusuna yeniden şekillenmektedir. Bu yeniden şekillenme aşaması büyük ölçüde, hem mekanik gerilime hem de TGF-β sinyallemesine yanıt olarak fibroblastlardan gelişen ve yaranın kasılmasından sorumlu olan miyofibroblastlar tarafından yönlendirilmektedir.

Miyofibroblastlar, bu hücre tipine atfedilen kasılma kuvvetinin üretilmesinden sorumlu olan alfa-düz kas aktinini (α-SMA) eksprese etmektedir. İlginçtir ki, ACTA2 olarak bilinen α-SMA geninden yoksun fareler, fibroblast kasılmasında herhangi bir önemli değişiklik olmaksızın normal şekilde iyileşmektedir. Bu, diğer mikrofilamentlerin telafi ettiği bir fazlalığı akla getirerek yara kontraksiyonunun önemini vurgulamaktadır (72). Miyofibroblastlar, yara yataklarının kasılmasına ve kolajen üretimine ek olarak, granülasyon dokusu oluşumu sırasında ortaya çıkan kolajeni bozan MMP'lerin salınması yoluyla yeniden yapılanmaya katkıda bulunmaktadır (73).

Geleneksel inanışlar, miyofibroblastların terminal olarak farklılaştığını ve yaranın yeniden şekillenmesini takiben apoptoza uğradığını belirtmektedir. Ancak yeni yapılan araştırmalar, bu yara yatağı miyofibroblastlarının yağ hücrelerine farklılaşarak deri altı yağ dokusunu yenileyebileceğini göstermektedir. Bu süreç, kemik morfojenik protein (KMP) sinyaline ve adiposit transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açan neojenik kıl foliküllerine bağlıdır (74).

Miyofibroblastlar olarak adlandırılan bu fibroblastlar ilk olarak Gabbiani ve ark. tarafından tanımlanmış olup, kollajen, elastin ve hyaluronik asit dahil olmak üzere önemli miktarda ESM proteini biriktirerek yara iyileşme sürecine katılmaktadır (75). Yanıklarda uzun süreli inflamatuar yanıt, miyofibroblastları aşırı aktive ederek ESM'nin çeşitli bileşenlerinin aşırı ekspresyonuna ve dolayısıyla hipertrofik skarların gelişmesine yol

açmaktadır. Son çalışmalar, gen terapisi ve bakır oksit nanopartiküllerinin kullanımı da dahil olmak üzere miyofibroblast apoptozunu indükleyerek fibrozu hedeflemiştir (76).

Büyüme faktörleri onarım sürecinin merkezi düzenleyici unsurlarını oluşturmaktadır. Bu polipeptitler yara bölgesindeki çeşitli aktif hücreler tarafından salgılanmaktadır. Genellikle hücresel proliferasyonu teşvik eder ve yaraya yeni hücreler çekmektedir. Yaralarda çoğu zaman örtüşen biyolojik işlevlere sahip çok sayıda büyüme faktörü mevcuttur. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, yaralanmadan hemen sonra trombosit α-granüllerinden salınır, nötrofilleri, makrofajları ve fibroblastları yaraya çeker ve güçlü bir mitojen görevi görmektedir. Ek olarak, fibroblastları yeni ESM üretmeleri için uyarır ve granülasyon dokusu oluşumunu önemli ölçüde indüklemektedir. TGF-β1, yetişkin yara iyileşmesinde baskın olup, kollajen sentezini doğrudan teşvik eden ve fibroblastlar tarafından ECM bozulmasını azaltan, göç yanlısı ve fibrotik yanlısı bir büyüme faktörü olarak işlev görmektedir. Trombositler, makrofajlar, fibroblastlar ve keratinositler de dahil olmak üzere yara bölgesindeki tüm hücreler tarafından salgılanmaktadır. Onarım eksikliği olmayan yaralara deneysel olarak uygulandığında TGF-β yara iyileşmesini hızlandırmakla birlikte bu artan onarım hızı, normal cilt iyileşmesi sırasında zararlı olabilecek artan fibrozise yol açabilmektedir (77). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, yaralanmadan hemen sonra trombosit α-granüllerinden salınmaktadır. Nötrofilleri, makrofajları ve fibroblastları yaraya çeker ve güçlü bir mitojen görevi görmektedir. Ayrıca, fibroblastları yeni ESM sentezlemeleri için uyarır ve granülasyon dokusu üretimini güçlü bir şekilde indüklemektedir. Özellikle epidermal trombosit kaynaklı büyüme faktörü'nün aşırı üretimi, hipertrofik skar oluşumunda görüldüğü gibi dermal matris oluşumunun artmasına yol açabilmektedir. Tersine, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve reseptör ekspresyonu, iyileşme bozukluğu olan genetik diyabetik farelerde yara iyileşmesi sırasında önemli ölçüde azalır; bu, yara iyileşmesinin tedavisinde eksojen trombosit kaynaklı büyüme faktörü'nün olası bir rolüne işaret etmektedir. FBF-7 olarak da bilinen Keratinosit büyüme faktörü (KBF), yara iyileşmesindeki potansiyeliyle tanınır ve terapötik uygulamalara sahip olabileceği düşünülmektedir. KBF'nin cilt yaralarına harici olarak uygulanması, epidermisin iyileşmesi üzerinde mitojenik etkiler göstermiştir. Yara iyileşme bozukluğu olan diyabetik fare modelinde, KBF-1 için plazmit DNA ekspresyon vektörleri elektroporasyon yoluyla iletildiğinde yara iyileşme sürelerinin önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (78).

Epidermal büyüme faktörü ve TGF-α, keratinosit çoğalmasının önemli düzenleyicileridir ve yara bölgesinde öncelikle eozinofiller ve makrofajlar tarafından bol miktarda salınmaktadır (79). Onarım sürecinde, yeni oluşan kılcal damarların çoğunun gerilemesi ve apoptozu da meydana gelir ve yaranın damar yoğunluğunu normalleştirmektedir.

Kollajenazlar, jelatinazlar ve stromelisinler gibi MMP'ler yalnızca yeniden epitelizasyonu kolaylaştırmakla kalmaz, aynı zamanda kollajen I, III, IV ve VII dahil olmak üzere geçici yara matrisinin belirli bileşenlerini parçalamada da merkezi bir rol oynamaktadır (80).

Metaloproteaz'lar, yeni matris birikimine giden yolu temizlemeye yardımcı olarak yeniden şekillenme sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. MMP'ler ve TIMP'ler arasında iyi bir denge sağlanması kritik öneme sahiptir. Düzensiz yıkımın devam etmesi doku oluşumunu engelleyebileceğinden, yaranın doğru şekilde iyileşmesini mümkün kılmaktadır. MMP'ler aşırı üretildiğinde, çeşitli inflamatuar hastalıklarda olduğu gibi, temel ESM bileşenlerini parçalama kapasitesine sahip olurlar ve bu da bağ dokusunun aşırı yıkımına neden olmaktadır. Bu nedenle, MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki oranlar, ayrıca MMP'lerin kendi aralarındaki oranlar, normal skar oluşumu için gerekmektedir. Yüksek MMP-1 seviyeleri uygun yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir, oysa aşırı yüksek MMP-8 ve MMP-9 seviyeleri yara iyileşmesini bozar ve kronik yaralarda görülmektedir. Ayrıca yaranın klinik durumu, kronik yara bölgesinde bulunan MMP-9 düzeyleriyle ilişkilendirilmektedir. İyileşme ilerledikçe kronik yara bölgesinde MMP-9 seviyeleri azalarak akut yaralardaki seviyelere ulaşmaktadır (81).

2.2.3. Yara İyileşmesinde Tıbbi Bitkilerin Kullanımı

Mısırlılar, Afrika, Asya, Romalılar ve Amerika kıtasının yerli halkları, 5000 yıldan fazla bir süredir yanık, ülser ve cerrahi yaraların tedavisinde şifalı bitkileri birinci basamak tedavi olarak kullanmışlardır.

Günümüzde ise yara iyileşmesini tedavi için farklı yöntemler uygulanmaktadır. Lokal ve sistemik olarak çeşitli tedaviler uygulanarak bu süreç hızlandırılabilmektedir. Yara iyileşmesini teşvik etmek için antibiyotikler, antiseptikler, kimyasal debridman gibi kabuk soyucu maddeler (hidrojen peroksit gibi) ve kollajenaz merhem gibi yara iyileşmesini hızlandıran ürünler, vitamin ve mineraller gibi maddeler

kullanılabilmektedir. Bitkisel ürünler de kan pıhtılaşmasını teşvik edebilir, enfeksiyonla savaşarak yara iyileşmesini hızlandırabilmektedir. Tıbbi bitkiler, yara iyileşmesinde modülasyon, antibakteriyel, kollajen, fibroblast ve fibrositleri artırma vb. gibi farklı mekanizmalarla yara iyileştirici etkiler göstermektedir (82). Mikroorganizmaların açık ve hasarlı deriyi istila etmesiyle yara enfeksiyonlarına, bu da iyileşmenin gecikmesine neden olmaktadır. Bakteriyel enfeksiyonlar iyileşme geciktirerek, morbiditeyi artırabilir ve ciddi vakalarda yaşamı tehdit eden komplikasyonlara yol açabilmektedir. Yara enfeksiyonlarıyla ilişkili bakterileri, bunların özelliklerini ve antibiyotik direnç modellerini anlamak, etkili tanı, tedavi ve önleme stratejileri açısından çok önem arz etmektedir (83).

Yara enfeksiyonunun tedavisi için genellikle çok sayıda antibiyotik birleştirilmektedir. Tedavide dar ve geniş spektrumlu antibiyotikler mevcuttur. Ancak antibiyotiklerin yanlış ve akılcı olmayan kullanımı ise bakterilerin farklı direnç mekanizmaları geliştirmesiyle antibiyotikleri etkisiz hale getirebilmektedir. Antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişimi, geleneksel antimikrobiyal tedavinin etkinliğini büyük ölçüde sınırlamaktadır. Bu nedenle alternatif tedavi yöntemleri aranmaktadır. Araştırmaların ilerlemesi sonucunda gelişmekte olan ülkelerde yara iyileştirici aktiviteye sahip birçok bitki türü tespit edilmiştir (84).

Bitkisel ilaçlar birden fazla mekanizma yoluyla etki eder ve yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında rol oynamaktadır. Bazı bitkisel ilaçlar, yeniden epitelizasyon, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen lif birikiminin uyarılmasında önemli rol oynayan VEBF ve TGF-β ekspresyonunu artırmaktadır. Bitkisel ilaçlar içeren diğer bazı yara örtüleri, TNF-α, interlökin-1β (IL-1β) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (INOS) protein ekspresyonunun inhibitörü olarak işlev görür ve böylece yara iyileşme sürecinin çeşitli aşamalarında antioksidan ve antiinflamatuar özellikleri indüklemektedir. Doğal bileşiklerin ve tıbbi bitki ekstraktların, Staphylococcus aureus ve Pseudomonas aeruginosa dahil olmak üzere yaralarda yaygın olarak bulunan bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Tıbbi bitkilerdeki antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip biyoaktif bileşikler, daha hızlı ve daha etkili yara iyileşme süreci sunabilmektedir. Bu nedenle bitkisel ilaçların ve doğal ürünlerin yara iyileşme sürecindeki mekanizması son yıllarda oldukça ilgi görmektedir. Bazı bitkisel ilaçların

birden fazla mekanizma ile etki gösterebildiği ve yara iyileşme sürecinin çeşitli aşamalarında iyileştirici özelliklerini sergileyebildiği görülmektedir (85).

Geleneksel ilaçlar, yeni ilaçların geliştirilmesine öncülük edebilecek büyük bir doğal antioksidan kaynağı sağlamaktadır. Bu nedenle, geleneksel ilaçların korunması ve belirli insan hastalıklarının tedavisinde kullanımı için doğal antioksidanlar ve biyoaktif bileşiklerin araştırılmasına çok fazla odaklanılmıştır (86).

Geleneksel tıbbın kullanımı yaygındır ve bitkiler hala yeni ilaçların geliştirilmesine öncülük edebilecek büyük bir doğal antioksidan kaynağı sunmaktadır (87). Terpenoidler, alkaloidler ve fenolikler de dahil olmak üzere birçok fitokimyasalın insan sağlığı üzerinde önemli etkileri olduğu bulunmuştur (88).

Fenolikler, en az bir aromatik halkaya ve buna bağlı bir veya daha fazla hidroksil gruba sahip bir kimyasal bileşik sınıfıdır (89).

Genel olarak polifenoller antibakteriyel, antikanser, antiinflamatuar ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle ümit verici ajanlar olarak kabul edilmektedir. Polifenolik bileşiklerin ana gruplarından biri olan flavonoidler, birçok meyve ve sebzenin lezzetine ve rengine katkıda bulunmaktadır (90). Flavonoidler yapraklarda, meyvelerde ve bitkilerin bazı kısımlarında yaygın olarak dağılmıştır (91).

Çeşitli çalışmalar, flavonoidlerin bitkiler tarafından bakteriyel enfeksiyona yanıt olarak salgılandığını göstermiştir. Apigenin, galangin, flavon glikozidaz ve chalone gibi flavonoidlerin antibakteriyel özellikler gösterdiği kanıtlanmıştır (92).

Çiçek açmayan ve çiçekli tıbbi bitkiler çok sayıda flavonoid tarafından antibakteriyel aktivite göstermektedir. Asplenium nidus nidus L. bilinen eğrelti otu, glirisidin 7-O-hekzosid ve kuersetin-7-O-rutinosid içerir, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa ve Proteus vulgaris olmak üzere üç patojene karşı koruma sağlamaktadır (93).

Juglans regia yaprak ekstresi içeren bir formülasyonda bulunan 10 flavonoid gram negatif suşlarda pozitiflere kıyasla daha yüksek inhibitör etki göstermiştir (94).

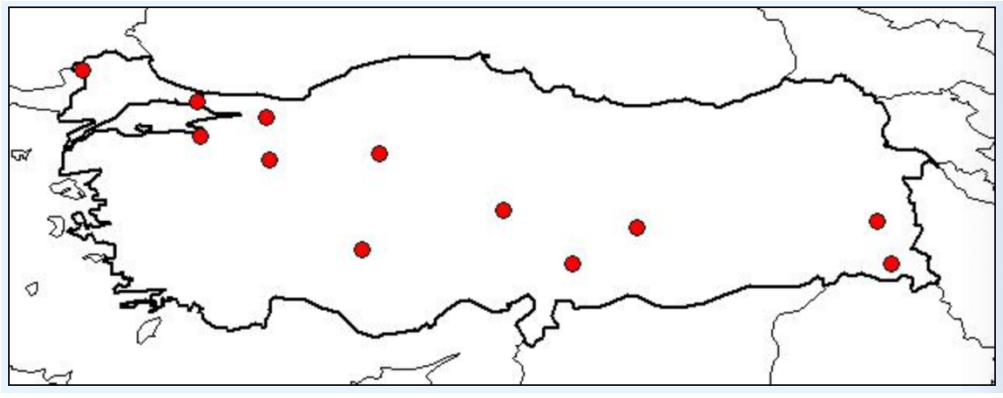
Yapısal olarak farklı yirmi dört flavonoidin yara iyileşmesini hızlandırma yeteneği gösterilmiştir; en çok çalışılanlar kuersetin, epigallokateşin gallat ve naringenindir. Sonuçlar, flavonoidlerin prostaglandin E2 (PGE2), lökotrien B4 (LTB-4), IL-1β, TNF-α, interlökin 6 (IL-6), IFN-γ gibi inflamatuar mediatörlerin seviyelerini azalttığını; anti-

inflamatuar mediatörleri, özellikle interlökin 10 (IL-10) artırdığını ve siklooksijenaz (COX) aktivitesini inhibe ettiğini gösterilmiştir (95).

Crotton lechleri (Ejderha kanı), yaraları tedavi etmek için kullanılan kırmızı bir reçinedir. Bileşiminde çok sayıda bileşen vardır, ancak aktif bileşenleri terpenoidler, flavonoidler ve fenollerden oluşmaktadır. Fenolik bileşikler ve flavonoidler, indirgeyici maddeler olarak hareket ederek ve serbest radikalleri temizleyerek antioksidan aktivite göstermiştir (96). Antioksidanlar yara iyileşme sürecini destekleyebilir ve dokuları oksidatif hasardan koruyabilmektedir. Şikonin, alkannin, lawson, emodin, epigallokateşin-3-gallat, ellagik asit ve bazı bitki özleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyerek, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) dahil antioksidan enzimlerin hücre içi aktivitelerini artırarak güçlü antioksidan aktivite sergilemektedir (97).

2.2.4. Typha Bitkisi Hakkında Genel Bilgiler

Halk arasında yaygın olarak "kedi kuyruğu" ve “hasır otu” olarak bilinen *Typha*, monokotiledon çiçekli bir bitkidir. Bitkinin genel dağılımı Güney Afrika, Asya ve Avusturalya iken Türkiye’de genel olarak Kuzey batı, İç Anadolu ve kısmen Doğu Anadolu bölgesinin sulak alanlarında yaygın olarak görülmektedir (Şekil 2.4). Türkiye'de 7 tür olmak üzere dünyada yaklaşık 38 tür bulunmaktadır (98).



Şekil 2.4: Taksonun Türkiye’deki dağılımı (99)

Typha latifolia 1,5 ila 3 yüksekliğe ulaşır ve 2–4 santimetre genişliğinde yaprakları bulunmaktadır. Genellikle 0,75 ila 1 m su derinliğinde büyüyen çok yıllık otlu

bitkidir. Çiçeklenme Haziran ile Temmuz ayları arasındadır; bundan sonra erkek kısım düşer ve dişi kısım, bilindik kahverengi sosis şeklindeki başak haline gelen bir meyve başı oluşturmak üzere geride kalmaktadır (Resim 2.1). Tohum başları kış boyunca varlığını sürdürür ve daha sonra ilkbaharda yavaş yavaş dağılarak, rüzgarın dağılmasına yardımcı olan tüylere gömülü minik tohumları serbest bırakmaktadır.

Bu bitki türünün yaprakları sandalye yapımında ve minderlerin dokunmasında kullanılmaktadır. Ayrıca yapraklarından kağıt üretimine uygun yüksek kaliteli selüloz elde edilmektedir (100).



Resim 2.1: *Typha latifolia* bitkisinin genel görünüşü (Araştırmacı'nın arşivinden)

Filipinler'in Cebu eyaletine bağlı Camotes Adaları'nın Pacijan Adası'ndaki San Francisco kasabasında, Soli-soli adıyla bilinen *Typha latifolia*, hasır, çanta, şapka ve diğer organik aksesuarlar ve süs eşyaları yapımında bir tür dokuma lifi olarak kullanılmaktadır. Soli-soli dokumacılığı, kasaba halkının başlıca geçim kaynaklarından biri olarak kabul edilir ve kasabalıların yerel el sanatlarını sergilemenin yanı sıra kültürel ifade ve eko-turizm için uygulanabilir bir çıkış noktası sunmaktadır. Kasaba, bu bitkinin adada ve dokuma endüstrisindeki aşırı bolluğunu, kasabanın koruyucu azizi Aziz Joseph'e adanmış bir şükran festivali olan Soli-soli Festivali aracılığıyla kutlamaktadır. Festival, Meryem'in Eşi Aziz Joseph'in anıldığı 19 Mart civarında kutlanmaktadır. Kasaba halkı bu bitkiyi

festival kostümlerine dahil ederek çoğunlukla tamamen dokunmuş soli-soli'den yapılmış kıyafetler giymektedir (101).

Tekstil endüstrisi için çiçek kısımlarından mükemmel kalitede elyaf elde edilmektedir. Nişasta açısından zengin olan rizomlar yenilebilir ve son derece besleyicidir; polenleri ise farmasötik alanında kullanılmaktadır (102).

Typha türleri tıbbi bitki olarak da yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar mikrosirkülasyonu iyileştirmek, cAMP düzeyini yükseltmek, koroner kalp hastalıkları, hiperlipidemi ve miyokard enfarktüsünü önlenmesi gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğunu kanıtlamaktadır (103,104) .

*Typha augustifolia'*dan elde edilen rizom ununun önemli antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (105). Yaprak ekstraktlarının ise *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli'* ye karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (106). Ayrıca *Typha angustifolia* yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküller, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumonia*'ya karşı antibakteriyel aktivitesini artırdığı gözlenmiştir (107). *Typha angustifolia*'nın polen tanelerinden elde edilen ekstraktların immünosüpresif aktiviteye sahip olduğunu bildirilmiştir (108).

Typha polenlerinin sıçanlarda timus ağırlığını, dalak ağırlığını önemli ölçüde azalttığı ve bağışıklık tepkisini baskıladığı da açıklanmıştır (109). Typha bitkisinin polenlerinden oluşan Kore bitkisel ilacı Silsosangami'nın nötrofil fonksiyonlarının ve nitrik oksit (NO) ve prostaglandin E2 (PGE2) üretiminin inhibisyonu, Nitrik oksit sentazın indüklenebilir izoformu (İNOS) ve Siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunun azalmasıyla ilişkili anti-inflamatuar etkiler gösterdiği kanıtlanmıştır (110). *Typha* cinsinin çeşitli türlerinin ana bileşenlerinin flavonlar ve diğer fenolik bileşikler, uzun zincirli hidrokarbonlar ve ayrıca steroidal iskelete sahip çeşitli triterpenoidler olduğu tespit edilmiştir (111). Bu bileşiklerin farmakolojik etkilerine göre flavonoidlerin antioksidan olarak önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir (112).

Farmakolojik çalışmalarda polenlere siklik adenozin monofosfat (cAMP) indükleyici aktivite, kolesterol düşürücü etki, immün baskılayıcı ve antikoagülasyon gibi çeşitli aktiviteler de atfedilmiştir. Geleneksel Çin Tıbbında hemostatik, kurutucu ve yaralanmalarda kullanılmaktadır (113,114).

Ayrıca polendeki bileşenlerin analjezik aktivite, izole uterusun kasılma aktivitesinin inhibisyonu ve insan göbek damarı endotel hücrelerinin adrenalin kaynaklı hasara karşı korunması gibi çeşitli biyolojik etkileri görülmüştür. Geleneksel Türk tıbbında *Typha* türlerinin dişi çiçek salkımları, tür ayrımı yapılmaksızın, kanamanın durdurulması yanı sıra yanık ve yara iyileşmesi amacıyla haricen kullanılmaktadır (115,116). Fitokimyasal ve Etnobotanik Veritabanlarında ise *Typha* türleri, geleneksel olarak yara iyileştirmede kullanılan bitkiler olarak kaydedilmiştir (9).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

- Hemotoksilen
- Eozin
- Formaldehit (Bright slide)
- Ethanol (Merck)
- Methanol (Merck)
- Hidrojen Peroksit (Sigma)
- Fosfat Tampon
- Salin Solüsyon Çözeltisi (MP)
- Sitrat Solüsyonu
- Bloklama Solüsyonu (Bio Basic)
- Toluidin Mavisi
- Elisa Kiti TNF-α (Biolab)
- Elisa Kiti IL-β (Biolab)
- Elisa Kiti TGF-β (Biolab)
- Elisa Kiti IL-10 (Biolab)
- Ketamin (Pfizer)
- Ksilazin (Bioveta)
- Alfa-SMA antikoru (Affinity)
- DAPI çekirdek boyası (Sigma, D9542-1MG)

- Sekonder Antikor 488 (BT Lab)
- Koyun Kanlı Besiyeri
- Müeller Hinton Besiyeri
- Tiyoglikolat Sıvı Besiyeri

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Eldiven
- Tek kullanımlık önlük
- Sarı kapaklı kan tüpü
- Lam ve lamel
- Balon joje
- Beher
- Cam şişe
- Pipet ucu
- Plastik kapaklı kaset
- 50 ml santrifuj tüp
- 2 ml Ependorf tüp
- Enjektör
- Boş disk
- Numune kabı
- Mikrosantrifüj tüpü
- Cerrahi malzemeler

3.1.3. Cihazlar

- Mikrotom (Thermo)
- Su Banyosu (Maxotech)

- Rotary Evaporatör (Heidolpf)
- MS-VİTEK (Biomerieux)
- 0.5 McFarland Cihazı (Biomerieux)
- Işık Mikroskobu (Zeiss)
- Floresan Mikroskop (Leica)
- Parafin Gömme Cihazı (Maxotech)
- Mikroplaka Okuyucu ve Yıkayıcı (Biotek, Spektrofotometre)
- Doku Homojenizatörü (Qiagen)
- Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter)
- Hassas Terazi (Radwag)
- Etüv (Elektro-mag)
- Vorteks (Wisd Daihan)
- Mikropipetler (Ependorf research)
- +4°C Buzdolabı (Bosch)
- -80°C Derin Dondurucu (Daihan)
- Otoklav

3.2.YÖNTEM

3.2.1. Etik Kurul İzni

"Sıçanlarda Oluşturulan Yara Enfeksiyon Modelinde *Typha* Türünün Histolojik ve İmmünolojik Parametrelere Etkisinin Araştırılması" başlıklı bilimsel çalışma önerisi 24.08.2023 tarihli sayılı 05 sayılı toplantıda Etik Kurulumuz tarafından görüşülmüş olup, etik açıdan "uygun" olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir (Ek). Örneklem seçimi yapılırken uygun hayvan sayısının hesaplanması için güç analizi yapılmıştır. %90 güç, 0.05 alfa ve 0.35 etki boyutu ile 48 örnek sayısı hesaplanmıştır. Güç analizi G*Power (3.1.9.7) programı kullanılarak yapılmıştır. Deney hayvanlarına uygulanan cerrahi

işlemler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

48 Adet Wistar Albino dişi rat (10-12 haftalık, ortalama 250-300 gram ağırlığında) Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Yara enfeksiyon modeli için tedaviye göre farklı gruplara ayrılmıştır (6 Sıçan/8 Grup):

Grup 1: Kontrol (Yara+ Enfeksiyon) Tedavi uygulanmayan grup 7.gün sakrifiye (n=6)

Grup 2: Kontrol (Yara+Enfeksyion) Tedavi uygulanmayan grup 16.gün sakrifiye (n=6)

Grup 3: Enfekte yara üzerine Dekspantenol merhem uygulanan grup 7.gün sakrifiye (n=6)

Grup 4: Enfekte yara üzerine Dekspantenol merhem uygulanan grup 16.gün sakrifiye (n=6)

Grup 5: Enfekte yara üzerine %10 *Typha latifolia* merhem uygulanan grup 7.gün sakrifiye (n=6)

Grup 6: Enfekte yara üzerine %10 *Typha latifolia* merhem uygulanan grup 16.gün sakrifiye (n=6)

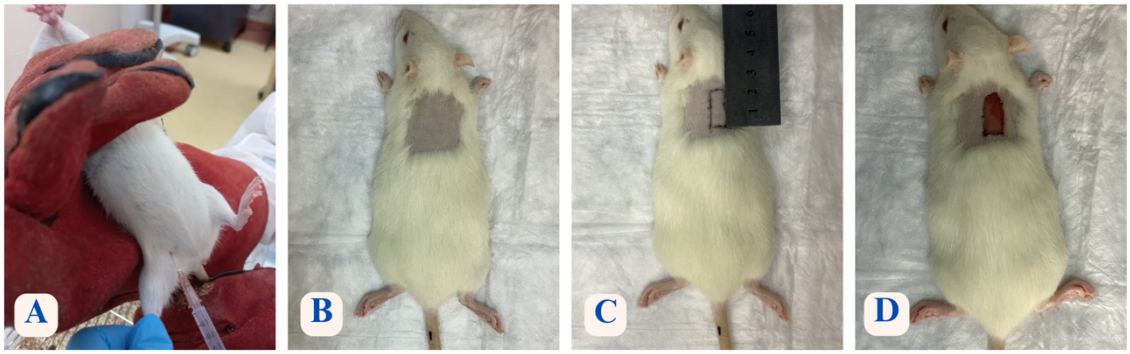
Grup 7: Enfekte yara üzerine %20 *Typha latifolia* merhem uygulanan grup 7.gün sakrifiye (n=6)

Grup 8: Enfekte yara üzerine %20 *Typha latifolia* merhem uygulanan grup 16. gün sakrifiye (n=6)

3.2.3. Cerrahi Uygulama

Deney öncesi sekiz gruba ayrılan sıçanlar grup olarak sekiz ayrı kafese yerleştirildi. Anestezi uygulaması yapılmadan önce deneklerin karışmasını önlemek için, sıçanların kuyruklarına silinmeyen kalem ile numaralandırma yapıldı. Sıçanlara cerrahi işlem öncesi intraperitoneal ketamin (80 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) karışımı ile

anestezi uygulandı (Resim 3.1). Anestezi altındaykan deneklerin sırt bölgeleri tıraş makinası yardımıyla tüylerden arındırılarak batikon ile temizlendi. Her bir sıçan yüzüstü pozisyonda olacak şekilde cetvel yardımıyla 2 cm^2 (20 mm x 10 mm) alan ölçülerek tam kat eksizyon yarası oluşturuldu.



Resim 3.1: Cerrahi işlem uygulaması (A. Sıçanlara anestezi uygulanması, B. Sıçanların sırt bölgesinin traş edilmesi C. Yara oluşturulacak bölgenin ölçülmesi D. Yaranın oluşturulması)

3.2.4. Mikrobiyolojik Uygulama ve Değerlendirme

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Palyatif biriminden Ocak 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında alınan kronik bası yarası örneklerinden izole edilen güçlü derecede biyofilm oluşturma yeteneği olan *Pseudomonas aeruginosa* suşu çalışılmadan önce %5 koyun kanlı agara ekilerek canlandırıldı. Daha sonra, müeller hinton sıvı besiyeri içerisine ekim yapılarak 18 saat inkübe edildi. 0.5 McFarland (1 x 10^8 cfu/ml) bulanıklığında bir süspansiyon hazırlandı. Yara oluşturulduktan sonra tüm gruplardaki sıçanların yara bölgelerine 1 mL'de 10^8 cfu/ml olacak şekilde hazırlanan *Pseudomonas aeuruginosa* 10 µl serum fizyolojik çözelti tek doz olarak inoküle edildi.

Mikrobiyolojik değerlendirme için 7. ve 16.günlerde sakrifiye edilen sıçanların yara bölgesinden steril bistüri ile dikey olarak tüm deri tabakası kesilerek doku örnekleri alınmıştır. Doku örnekleri tiyoglikolatlı sıvı besiyerinde 24 saat bekletildi. Ardından, %5 koyun kanlı agar, macconkey agar ve çukulata agara doku örneklerinin ekimleri yapılarak 37 'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Gram boyama ile direkt inceleme yapıldı. Dokudan izolen edilen mikroorganizmalar için oksidaz testi yapılarak morfolojik koloni

değerlendirmesi yapıldı. İdentirifkasyon için mikroorganizmalardan saf pasaj alınarak Vitek cihazı ile tür tayini yapıldı

Doku örnekleri tartılarak steril şartlarda küçük parçalara ayrıldıktan sonra doku örnekleri 1 ml tiyoglikolatlı sıvı besiyeri içerisine alındı. Dokulara steril serum fizyolojik sıvı eklenerek 10 ml'ye tamamlanarak vortekslendi. Seri halde seyreltilerek hazırlanan doku örnekleri koyun kanlı agar besiyerine ekim yapılarak 37°C' de 24 saat boyunca inkübe edilmesinin ardından koloni sayımı gerçekleştirildi.

Gram doku başına üreyen koloni sayısı (cfu/gr) = (N x D x 10) / W (N: Plaktaki koloni sayısı, D: İnokülum sulandırım değeri, W: Örneğin ağırlığı (g)) formülüne göre hesaplanması yapılmıştır (117)

3.2.5.Bitkilerin Toplanması ve Ekstraksiyonu

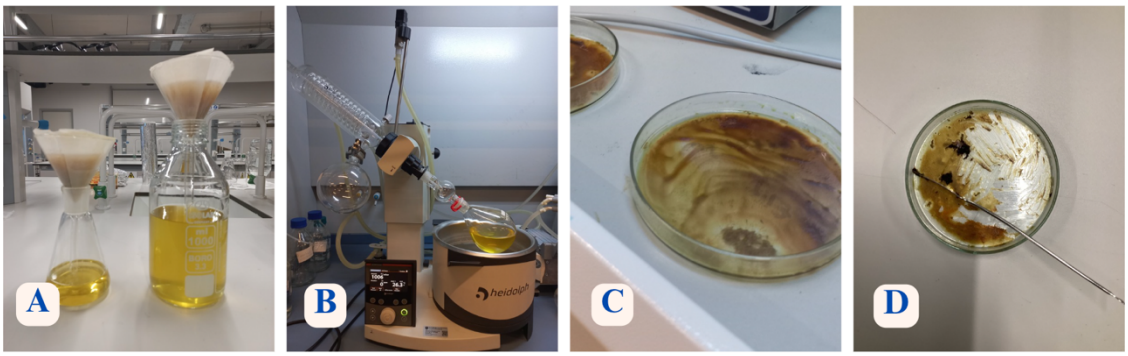
Typha latifolia bitkisi Ağustos 2023 tarihinde Sapanca göl kenarı ve Arifiye Uzunkum mevkiilerinden araştırmacı tarafından toplandı. Altınbaş Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim dalının laboratuvarında tür tayini yapıldı. HERA1242 numarası ile türünün *Typha latifolia* olduğu belirlendi.

Toplanan bitkiler bir hafta boyunca kurutma odasında bekletildi. Kurutulan bitkiler maserasyon için küçük parçalara ayrıldı. Çiçek kısımları toz haline getirilerek iki gün maserasyona yatırıldı. İki gün boyunca 1/20 hazırlanan etanol içerisinde bekletildi. Toplam 43 gr bitki için 860 ml etanol eklendi. 2 gün maserasyonda bırakıldıktan sonra bitki filtre kağıdı yardımıyla süzüldü (Resim 3.2). Uçurma işlemi için bitki balon jojelere alınarak evaporatör cihazında yavaş yavaş uçurma işlemi gerçekleştirildi.



Resim 3.2: Maserasyon aşamasının yapılması (A. Bitkilerin tartılması, B. Bitkinin parçalarak ayrılarak cam şişeye yerleştirilmesi C. Bitkiye etanol eklenmesi D. Bitki ve etanolün karıştırılması)

33 gr+660 etanol + 34 gr+680 etanol +30 gr+600 etanol ile ikinci kez uçurma işlemi gerçekleştirildi. 40 gr 800 etanol+31 gr 620 etanol+43 gr+860 etanol ile üçüncü bir maserasyon hazırlandı. Uçurulan bitkiler cam petri kabına konularak kurumaya bırakıldı. 3-4 gün kuruması beklenen bitkiler petri kabından kazınarak tartılarak steril cam şişelere konularak +4 buzdolabında deney zamanına kadar muhafaza edilmiştir (Resim 3.3).



Resim 3.3: Ekstraksiyon aşaması (A. Maserasyon sonrası bitkilerin süzülmesi B. Rotary cihazı ile uçurma işleminin yapılması C. Bitkinin uçurma işlemi sonrası kurutulması D. Kuruyan bitkinin petriden kazınması)

3.2.6. Merhemin Hazırlanması

%10 ve %20 oranlarında iki farklı konsantrasyonda merhem hazırlandı. Buhar banyosu içerisinde eritilen vazeline 1 gr bitki ekstresi eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı. %20 merheme ise 2 gr bitki ekstresi eklendi homojen bir kıvam alana kadar karıştırıldı. Steril bir kaba alınarak soğumaya bırakıldı. Daha sonra steril kapaklı kutulara alınarak deney gününe kadar +4 buzdolabında saklandı. Referans krem olarak %5 dexpanthenol içeren su-yağ emülsiyonu ticari preparat kullanıldı. (Bepanthen plus krem ®)

3.2.7.Yara Bölgesine Kremlerin Uygulanması

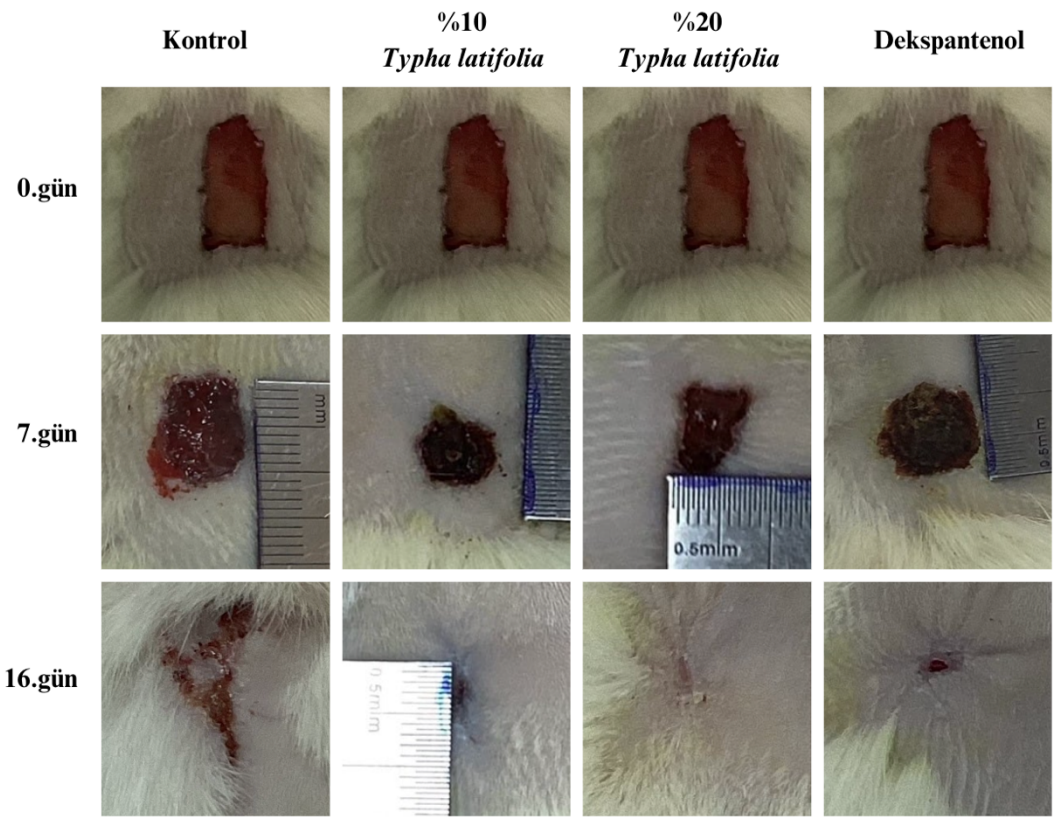
Sıçanlarda yara oluştulduktan sonra tüm gruplardaki sıçanların yara etrafına batikon uygulandı. *Pseudomonas aeuruginosa* yara bölgesine verildikten 24 saat sonra merhem uygulamasına başlandı. Gruplara ayrılan sıçanlara 7 gün ve 16 gün boyunca topikal merhem hergün aynı saatte yara bölgesine sürüldü.

3.2.8.Yara Bölgesinin Makroskopik Değerlendirmesi

Tüm yaraların iyileşme süreci 0. 7. ve 16. günlerde cetvel yardımıyla tek tek ölçüelerek fotoğraf makinesi ile yara bölgeleri fotoğraflandı (Resim 3.4). Yaranın kapanma oranı aşağıdaki verilen formüle göre hesaplandı (118).

Yaranın kapanma oranı (%) = (A0 – At : A0) x 100

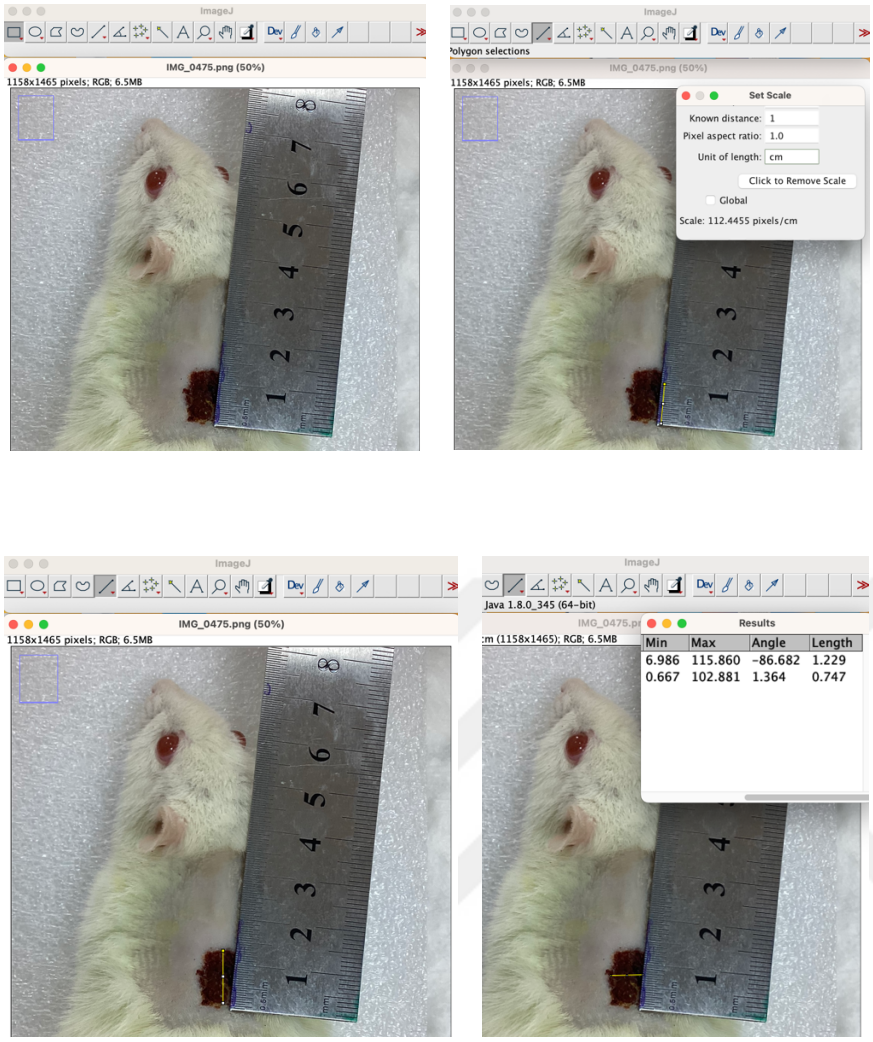
A0 = Sıfırıncı gündeki ilk yara alanı At = Belirlenen son gündeki yara alanı



Resim 3.4: Makroskopik yara ölçümünün yapılması

3.2.9.Yara Alan Ölçümünün ImageJ program ile Değerlendirilmesi

Yara bölgesinin alan hesaplaması ImageJ program ile yapıldı. Yara görüntüleri ImageJ programında açılmış ve görüntü menüsünden RGB color oluşturuldu. Yara görüntüsünde yara bölgesi dikey ve yatay bir şekilde seçilerek alan santimetre (cm) ölçüm birimi olacak şekilde ayarlandı. Dikey ve yatay ölçümleri yapılarak çıkan sonuçlar çarpılarak alan hesaplaması yapıldı (Resim 3.5).



Resim 3.5: Yara alanının hesaplanması

3.2.10.Histolojik İncelemenin Yapılması

Histolojik analiz için dokular, aşağıdaki doku takip basamaklarına tabi tutularak parafin blokları halinde getirildi:

- Tespit
- Fiksatif uzaklaştırma
- Dehidrasyon
- Şeffaflandırma
- Emdirme
- Gömme

Yara dokuları %10 formaldehit fiksatif solüsyonuna daldırıldı ve minimum 96 saat bekletildi. Daha sonra standart doku işleme prosedürlerine tabi tutuldular. Dokuların takibi şu şekilde ilerledi: %10 formaldehit solüsyonunda sabitlenen yara dokuları, dokuya nüfuz eden fiksatifi ortadan kaldırmak için gece boyunca akan su altında durulandı. Ertesi gün dehidrasyon, şeffaflandırma, emdirme ve gömme işlemlerine başlandı. Yara dokuları akan su altından alındı, ardından bir saat boyunca %60 etanolde, bir saat boyunca %70 etanolde ve bir saat boyunca %80 etanolde bekletildi. Daha sonra dokular iki ayrı birer saatlik %95 etanol içerisinde bekletildi. Suyun uzaklaştırılması ve dokuların alkolle doyurulmasını içeren dehidrasyon aşaması tamamlandı. Şeffaflandırma, ksilen ve alkol çözeltileri kullanılarak sağlandı.

Yara dokuları başlangıçta alkol ve ksilen çözeltisinde 30 dk bekletildi. Daha sonra iki ayrı ksilen çözeltisine aktarıldı ve burada her biri birer saat tutuldu. Toplam 150 dakika süren şeffaflandırma ardından emdirme işlemine geçildi. Yara dokuları 60°C'lik etüvde ksilen ve parafin ile muamele edilerek şeffaflaştırıldı ve boyamaya hazırlandı. Emdirme aşamaları şu şekilde ilerledi: Dokular otuz dakika boyunca parafin ve ksilen karışımında bekletildi, ardından bir saat boyunca saf parafin içerisinde bekletildi ve daha sonra bir saat boyunca başka bir parafin kabı içerisinde bekletildi. Son olarak, emdirme işlemi tamamlanan dokular, gömme için bir parafin gömme cihazının ısıtılmış tablasına yerleştirildi. Yara dokuları, dikey kesit üzerine hem epidermisi hem de dermisi ortaya çıkaracak şekilde metal kalıplara yerleştirildi ve soğutulmuş bir platform üzerine sabitlendi. Sabitlenen yara dokularının üzerine plastik bir kaset yerleştirildi. Daha sonra gömme cihazından gelen sıvı parafin, metal gömme kalıbı üzerinde yer alan plastik kasete dökülerek dokuların parafin ortamına tamamen gömülmesi sağlandı. Metal kalıplara yerleştirilen doku örnekleri, +4°C'ye ayarlanmış buzdolabına koyulmadan önce yaklaşık bir saat oda sıcaklığında bekletildi. Gece boyunca buzdolabında kaldılar ve ertesi gün katı bloklar halinde kalıptan çıkarıldılar (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Doku takip basamakları

Basamak	Kullanılan madde	Süre
Tespit	%10 Formaldehit	72 saat
Uzaklaştırma	Akar su	1 gece
Dehidrasyon	%60 Ethanol	1 saat
	%70 Ethanol	1 saat
	%80 Ethanol	1 saat
	%95 Ethanol	1 saat
	%95 Ethanol	1 saat
Şeffaflandırma	Alkol-Ksilen Karışımı	Yarım saat
	Ksilen	1 saat
	Ksilen	1 saat
Emdirme	Parafin- Ksilen	30 dk
	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
Gömme	Parafin	-

3.2.11. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi

Dokular parafin bloklara gömüldükten sonra mikrotom cihazı kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alınarak 40°C'ye ısıtılmış su banyosuna aktarıldı. Doku kesitlerinin düzgün bir şekilde açılması sağlandıktan sonra su banyosu yüzeyinden lam üzerine alındı.

Daha sonra tüm preparatlara Hematoksilen & Eozin (H&E) boyama yöntemi kullanılarak boyama yapıldı. Prosedür adımları aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

- Fiziksel deparafinizasyon
- Kimyasal deparafinizasyon
- Rehidrasyon
- Hematoksilen boyama
- Yıkama
- Eozin boyama
- Yıkama
- Eozin boyama
- Yıkama
- Dehidrasyon
- Şeffaflandırma
- Kapama

Lamlar üzerindeki yara dokusunun 5 µm kalınlığındaki kesitleri boyama sepetine dikey olarak yerleştirildi ve fiziksel deparafinizasyonu sağlamak için bir saat boyunca 60°C'lik etüvde inkübe edildi. Daha sonra lamlar, kimyasal deparafinizasyondan kapamaya kadar tüm işlemler için bir boyama setine alındı. Başlangıçta lamlar, her biri 15 dakika boyunca iki ayrı ksilen çözeltisine daldırıldı. Lamlardaki fazla sıvılar temiz gazlı bezle silinerek kimyasal deparafinizasyon işlemi tamamlandı ve lamlardan tüm parafin giderildi.

Rehidrasyon sırasında artık alkolü dokudan uzaklaştırıp suyla değiştirmek için boyama sepetleri, her biri 5 dakika boyunca sırasıyla %96, %80 ve %70 etanol solüsyonlarında bekletildi. Bu adım, alkolün etkili bir şekilde su ile değiştirilmesini sağlayarak boyaların dokulara en iyi şekilde nüfuz etmesini sağladı. Her bir etanol çözeltisinin arasında lamlardaki fazla sıvılar temiz gazlı bezle kurulandı. Daha sonra sepetler, 1 dakika boyunca hematoksilen boyasına daldırıldı, daha sonra çıkarıldı. Ardından, büyük bir steril su doldurulmuş kaba 10 kez batırma-çıkarma yöntemi ile iyice

yıkandı. Daha sonra eozin boyası uygulandı; lamlar 1 dakika boyunca boyaya daldırıldı, çıkarıldı ve hematoksilen boyamanın ardından 10 kez batırma çıkarma yıkama işlemine tabi tutuldu. Boyamadan sonra dokuların dehidrasyonu, sepetlerin 10 döngü boyunca %70 etanol çözeltisine sırayla batırılması ve çıkarılmasıyla başladı. Bunu, her biri 10 döngü boyunca %80, %95 ve son olarak %96 etanol çözeltileriyle işlemin tekrarlaması izledi. Her alkole batırma arasında fazla çözelti temiz gazlı beze emdirildi. Sonuç olarak doku şeffaflandırma aşamasına hazırlandı. Dokular 15 dakika boyunca ksilende tamamen temizlendikten sonra kapama işlemine geçildi. Dokulara zarar vermemek için lamların üzerindeki kalıntılar yumuşak bir bezle nazikçe silindi. Daha sonra lamların üzerine birkaç damla Entellan uygulandı ve lamlar uygun büyüklükte lamellerle kapatıldı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: Hematoksilen & Eozin Boyama Basamakları

Basamak	**Kullanılan madde**	**Süre**
Fiziksel Deparafinizasyon	60˚C'de Etüv	1 saat
Kimyasal Deparafinizasyon	Ksilen	15 dakika
	Ksilen	15 dakika
Rehidrasyon	%96 Ethanol	5 dakika
	%80 Ethanol	5 dakika
	%70 Ethanol	5 dakika
Boyama	Hematoksilen	3 dakika
Yıkama	Distile su	10 defa batırma-çıkarma
Boyama	Eozin	1 dakika
Yıkama	Distile su	10 defa batırma-çıkarma

Tablo 3.2 (devam)

Dehidrasyon	%70 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
	%80 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
	%95 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
	%96 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
Şeffaflandırma	Ksilen	15 dakika
Kapama	Entellan	-

Boyaması yapılan doku kesitleri; reepitelizasyon, anjiyogenez, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve granülasyon dokusu oluşumuna göre ışık mikroskobunda değerlendirildi.

3.2.12.Işık Mikroskobu Değerlendirmesi

Işık mikroskobu ile dokular yara iyileşme skorlanmasına göre değerlendirildi. Yara skorlama sistemine göre gruplar sıfır ve dört arasında üç başlığa göre aşağıda verilen sırayla puanlandı.

Reepitelizasyonun değerlendirilmesi:

- Skor 0; Dokunun, ≥%70'ında epitel proliferasyonun olmaması
- Skor 1; Dokunun, ≥%60'ında kötü epidermal proliferasyon
- Skor 2; Dokunun, ≥%40'ında eksik epitel proliferasyon
- Skor 3; Dokunun, ≥%60'ında orta derecede epitel proliferasyon
- Skor 4; Dokunun, ≥%80'ında yeniden oluşmuş epitel yapı

Granülasyon değerlendirilmesi:

- Skor 0; Dokunun, ≥%70'ında olgunlaşmamış
- Skor 1; Dokunun, ≥%60'ında ince granülasyon
- Skor 2; Dokunun, ≥%40'ında orta kalınlıkta granülasyon

- Skor 3; Dokunun, ≥%60'ında kalın granülasyon
- Skor 4; Dokunun, ≥%80'ında çok kalın granülasyon

Anjiyogenez değerlendirilmesi:

- Skor 0; Anjiyogenez yoktur.
- Skor 1; Her bölgede 1-2 damar gözlenir.
- Skor 2; Her bölgede 3-4 damar gözlenir.
- Skor 3; Her bölgede 5-6 damar gözlenir.
- Skor 4; Her bölge başına 7'den fazla damar gözlenir.

3.2.13. Toluidin Boyama Yöntemi ile Mast Hücre Sayısının Belirlenmesi

Toluidin mavisi ve Sodyum klorid (%1) stok solüsyonu aşağıdaki miktarlarda kimyasal içerecek şekilde hazırlandı.

Toluidin mavi stok solüsyonu:

- Toluidin mavi – 1 gr
- %70 Alkol -100 ml

Sodyum klorid (%1):

- Sodyum klorid – 0.5 gr
- Distile su – 50 ml

Stok solüsyonlar hazırlandıktan sonra 5 ml Toluidin mavisi stok solüsyonu ve 45 ml %1 Sodyum klorid karıştırılarak çalışma solüsyonu hazırlandı. 5 µm kesitleri alınan yara dokuları lamlar üzerine alınarak boyama sepetine yerleştirildi. Boyamaya başlamadan önce 37°C'de etüv cihazında 2 saat bekletildi. Lamlar, her biri 15 dakika boyunca iki ayrı ksilen çözeltisinde bekletildi. Ardından, boyama sepetleri her biri 5 dakika boyunca sırasıyla %96, %80 ve %70 etanol solüsyonlarında bekletildi. Daha sonra, hazırladığımız toluidin mavisi solüsyonunda 8 dakika bekletildi. Boyada bekledikten sonra 5 dakika distile su ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Sepetler 10 döngü boyunca %70 etanol çözeltisine sırayla batırılması ve çıkarılmasıyla başlayarak takiben her biri 10 döngü boyunca %80 ve %96 etanol çözeltilerine batırıp çıkarıldı. Son olarak,

ksilende 20 dakika bekletildikten sonra immersiyon yağı damlatılarak uygun boyutta lamel ile kapatıldı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Toluidin boyama yöntemi basamakları

Basamak	**Kullanılan madde**	**Süre**
Fiziksel Deparafinizasyon	37˚C'de Etüv	2 saat
Kimyasal Deparafinizasyon	Ksilen	15 dakika
	Ksilen	15 dakika
Rehidrasyon	%96 Ethanol	5 dakika
	%80 Ethanol	5 dakika
	%70 Ethanol	5 dakika
Boyama	Toluidin	8 dakika
Yıkama	Distile su	10 defa batırma-çıkarma
Dehidrasyon	%70 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
	%80 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
	%96 Ethanol	10 defa batırma-çıkarma
Şeffaflandırma	Ksilen	20 dakika
Kapama	Entellan	-

Boyanan doku kesitleri dijital fotoğraf makinesi bulunan ışık mikroskobuyla fotoğrafları çekilip bilgisayara aktarıldı. Doku başına on alan analiz edildi.

3.2.14. İmmünofloresan Boyama Yöntemi ile α-SMA Yoğunluğunun Belirlenmesi

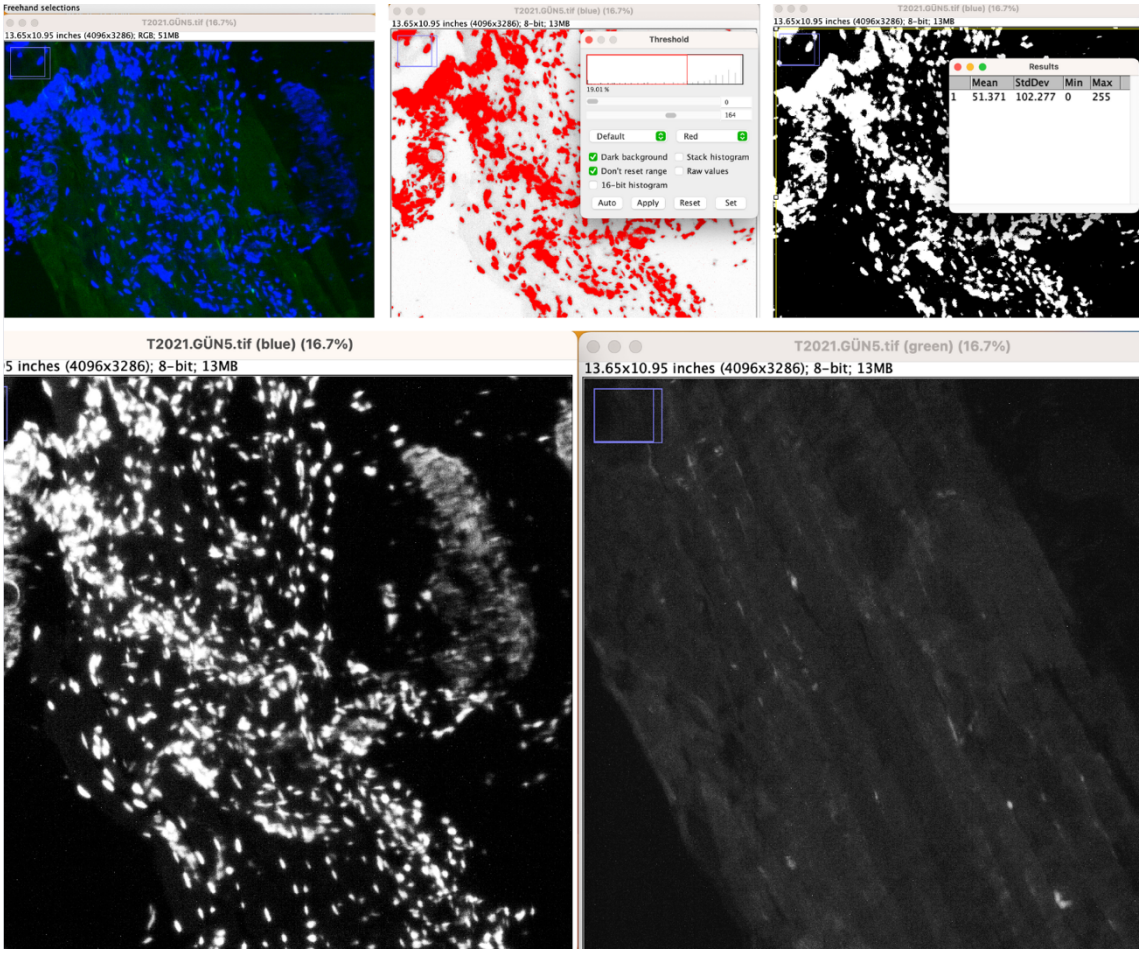
Alfa düz kas aktin (α-SMA) yoğunluğunun belirlenmesi için immünofloresan yöntemi gerçekleştirildi. Parafin bloklarından mikrotom cihazıyla pozitif şarjlı lama

alınan doku kesitleri boyama sepetine yerleştirilerek deneye başlamadan bir gün öncesinden 37 °C'de etüv cihazında bekletildi. Ertesi gün sırasıyla, lam sepeti her biri 15 dakika boyunca iki ayrı ksilen çözeltisi içerisinde bekletildi. Ardından, 5 dakika boyunca sırasıyla %96, %80 ve %70 etanol solüsyonlarında bekletildi. Farklı oranlarda etanol solüsyonlarından geçirildikten sonra 10 dakika boyunca distile su içinde bekletildi. Son olarak, 10 dakika boyunca fosfat tamponlu tuz çözeltisi içerisinde bekletildi. Bir kabın içerisine distile su, suyun içerisinede sitrat buffer solüsyonu ile doldurulmuş boyama sepeti yerleştirilerek 400 ℃'de 10 dakika boyunca mikrodalga cihazına koyuldu. Mikrodalga'dan çıkarılan doku preparatları 1 saat soğumaya bırakıldı. Ardından, fosfat tamponlu tuz çözeltisinde 10 dakika bekletildi. Bütün preparatlar teker teker kurulanarak Pakpen'le etrafları çizildi. 1 ml hidrojen peroksit + 11 ml metanol ile %3'lük hidrojen peroksit hazırlandı. Doku başına 50 µl %3lük Hidrojen peroksit damlatılarak 37 °C etüv'de 30 dakika bekletildi. Etüv' den çıkarılan preparatlar 3 kez 5'er dakika TBS yıkama solüsyonu ile yıkandı. 1 ml distile su + 0.040 gr BSA 2 ml'lik ependorf içerisinde karıştırılarak %3'lük BSA hazırlandı. Ardından, bütün preparatlara %3'lük BSA damlatılarak 37 °C'lik etüvde 20 dk inkübe edildi. Antikor solüsyonu 7 µl alfa-sma antikoru ve 1393 µl PBS içerecek şekilde hazırlandı. Doku başına 20 µl antikor solüsyonu kaplanarak 24 saat süre ile +4 buzdolabına kaldırıldı. Dolaptan çıkarılan lamlar ters çevirilerek üzerindeki fazla miktarda bulunan sıvı uzaklaştırıldı. Ardından, TBS ile bütün preparatlar 3 kez 5'er dakika yıkandı. Sekonder Antikor solüsyonu 1 µl sekonder ve 4999 µl PBS içerecek şekilce hazırlandı. Doku başına 20 µl olacak şekilde sekonder antikor damlatıldı. 37°C' lik etüv'de 1 saat inkübe edildi. Etüv'den çıkarılan preparatlar TBS yıkama solüsyonu ile 4 kez 5'er dakika bekletilerek yıkama yapıldı. Hücre çekirdeklerini boyama için DAPİ boyası hazırlandı. Her bir doku kesitine 5 µl olacak şekilde damlatıldı. Cımbız yardımıyla yerleştirilen lameller buharlaşmanın önlenmesi için etrafına oje sürülerek kapatıldı. Ardından kapalı bir lam kutusuna koyularak mikroskopta inceleme yapıldı. 44 adet örneğin ImageJ'de floresan yoğunluk oranları ölçülerek hesaplamaları yapıldı.

3.2.15. İmmünofloresan Yönteminin ImageJ Programı ile Değerlendirilmesi

İmmünofloresan yöntemi için hazırlanan doku kesitleri boyama sonrasında yoğunluk analizi ImageJ programı ile değerlendirildi. Floresan boyaması yapılmış doku kesitleri ImageJ uygulaması ile açıldı. Programda görüntü menüsünden kanal

oluşturularak görüntü siyah beyaz kanallara ayrıldı. Siyah beyaz kanallar seçilerek Edit>Invert yapılarak görüntü menüsünden eşik değerleri ayarlandı. Ardından, Process>Binary>Make binary sekmeleri seçildi. Ölçüm yapılacak alan işaretlenip Analyze>Set measurement sekmeleri seçildi. Son olarak menüden ölçüm sekmesi seçilerek ölçüm değeri hesaplandı (Resim 3.6).



Resim 3.6: ImageJ programı ile yoğunluk analizinin ölçüm aşamaları

3.2.16. Proinflamatuar ve Antiinflamatuar Sitokin Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

Sıçanlardan intrakardiyak alınan serum örnekleri immünolojik analizlerin yapılması için muhafaza edilen dolaptan çıkarılarak 30 dk açılması için oda sıcaklığında bekletildi. Ardından Elisa kit prosedürüne göre kullanılacak reaktifler hazırlandı.

Proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokin düzeylerinin ölçülmesi için sandviç modeli antikor enzim bağlı immünoabsorbent yöntemi kullanıldı.

3.2.16.1. TNF-α sitokin düzeyinin belirlenmesi: 44 adet intrakardiyak alınan serum örneklerinden TNF-α sitokin düzeyinin test edilmesi için uygun sayıda kuyucuk belirlendi. Çalışma için yedi adet standart solüsyon hazırlanarak A ve B kuyucuklarına konsantrasyonları sırasıyla; 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,25 pg/ml ve 15,625 pg/ml olacak şekilde yerleştirildi. Kitte sağlanan mikro ELISA plakası, ölçülecek sitokine özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µl örnek eklenerek 90 dakika 37 °C'de etüv cihazında inkübe edildi. Ardından, sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 100 µl biyotin ile işaretli antikor eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara 100 µl streptavidin- HRP konjugat solüsyonu eklenerek 30 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuktan solüsyon boşaltılarak yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 90 µl substrat reaktifi (TMB) eklenerek 37°C'de yaklaşık 15 dakika ışıktan muhafaza edilerek inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda elisa okuyucuda absorbans değerleri ölçüldü. Standart değerleri ile karşılık gelen optik yoğunluk değerleri eşleştirilerek standartların doğrusal regresyon grafiği oluşturuldu. Standart eğri grafiğine göre TNF-α konsantrasyonu hesaplandı.

3.2.16.2. IL-1β sitokin düzeyinin belirlenmesi: 44 adet intrakardiyak alınan serum örneklerinden IL-1β sitokin düzeyinin test edilmesi için uygun sayıda kuyucuk belirlendi. Çalışma için yedi adet standart solüsyon hazırlanarak A ve B kuyucuklarına konsantrasyonları sırasıyla; 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml ve 31,25 pg/ml olacak şekilde yerleştirildi. Kitte sağlanan mikro ELISA plakası, ölçülecek sitokine özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µl örnek eklenerek 90 dakika 37 °C'de etüv cihazında inkübe edildi. Ardından, sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 100 µL biyotin ile işaretli antikor eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara 100 µl streptavidin- HRP konjugat solüsyonu eklenerek 30 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuktan solüsyon boşaltılarak yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi (TMB) eklenerek 37°C'de yaklaşık 15 dakika ışıktan muhafaza edilerek inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda elisa okuyucuda absorbans değerleri ölçüldü. Standart değerleri ile karşılık gelen optik yoğunluk değerleri eşleştirilerek standartların doğrusal regresyon grafiği oluşturuldu. Standart eğri grafiğine göre IL- 1β sitokininin konsantrasyonu hesaplandı.

3.2.16.3. TGF-β sitokin düzeyinin belirlenmesi: 44 adet intrakardiyak alınan serum örneklerinden TGF- β sitokin düzeyinin test edilmesi için uygun sayıda kuyucuk belirlendi. Çalışma için yedi adet standart solüsyon hazırlanarak A ve B kuyucuklarına konsantrasyonları sırasıyla; 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml ve 31,25 pg/ml olacak şekilde yerleştirildi. Kitte sağlanan mikro ELISA plakası, ölçülecek sitokine özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µl örnek eklenerek 90 dakika 37 °C'de etüv cihazında inkübe edildi. Ardından, sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 100 µL biyotin ile işaretli antikor eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara 100 µl streptavidin- HRP konjugat solüsyonu eklenerek 30 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuktan solüsyon boşaltılarak yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 90 µl substrat reaktifi (TMB) eklenerek 37°C'de yaklaşık 15 dakika ışıktan muhafaza edilerek inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda elisa okuyucuda absorbans değerleri ölçüldü. Standart değerleri ile karşılık gelen optik yoğunluk değerleri eşleştirilerek standartların doğrusal regresyon grafiği oluşturuldu. Standart eğri grafiğine göre TGF-β konsantrasyonu hesaplandı.

3.2.16.4. IL-10 sitokin düzeyinin belirlenmesi: 44 adet intrakardiyak alınan serum örneklerinden IL-10 sitokin düzeyinin test edilmesi için uygun sayıda kuyucuk belirlendi. Çalışma için yedi adet standart solüsyon hazırlanarak A ve B kuyucuklarına konsantrasyonları sırasıyla; 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml ve 31,25 pg/ml olacak şekilde yerleştirildi. Kitte sağlanan mikro ELISA plakası, ölçülecek sitokine özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µl örnek eklenerek 90 dakika 37 °C'de etüv cihazında inkübe edildi. Ardından, sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 100 µl biyotin ile işaretli antikor eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP konjugat solüsyonu eklenerek 30 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuktan solüsyon

boşaltılarak yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 90 µl substrat reaktifi (TMB) eklenerek 37°C'de yaklaşık 15 dakika ışıktan muhafaza edilerek inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda elisa okuyucuda absorbans değerleri ölçüldü. Standart değerleri ile karşılık gelen optik yoğunluk değerleri eşleştirilerek standartların doğrusal regresyon grafiği oluşturuldu. Standart eğri grafiğine göre IL-10 konsantrasyonu hesaplandı.

3.2.17. Folin Ciocalteu Yöntemi ile Total Fenolik Bileşik Analizi

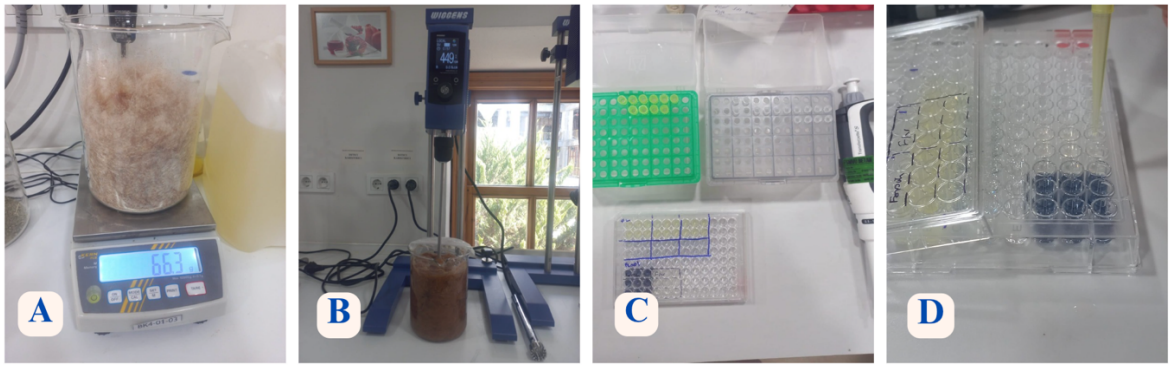
Total fenolik bileşik analizinden önce bitki ekstraksiyon aşaması gerçekleştirildi. Çiçek kısımları toz haline getirilerek iki gün maserasyona yatırıldı. İki gün boyunca 1/20 hazırlanan etanol içerisinde bekletildi. Toplam 66 gr bitki için 1200 ml etanol eklendi. 2 gün maserasyonda bırakıldıktan sonra bitki filtre kağıdı yardımıyla süzüldü. Uçurma işlemi için bitki balon jojelere alınarak evaporatör cihazında yavaş yavaş uçurma işlemi gerçekleştirildi.

0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm (µg/ml) Gallik asit standartları prosedüre göre hazırlandı. Absorbansları ölçülerek derişime karşı absorbans eğrisi çizildi. Eğriden elde edilen değerler ile Gallik asit' e eş değer miktar (µg/ml) hesaplandı.

Test çözeltisinin hazırlanması:

- 104 µl distile su
- 8 µl bitki ekstresi
- 8 µl Folin Ciocalteu ayıracı (FCR)

Yukarıda verilen maddeler sırasıyla kuyucuklara eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Ardından kuyucuklara son olarak 80 µl %10 Sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklenerek 90 dakika karanlık oda sıcaklığında bekletildi. 725 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı (Resim 3.7).



Resim 3.7: Total fenolik ve flavonoid içerik analizinin yapılması (A. Bitkinin ekstraksiyon için tartılması, B. Bitkinin mesarasyon için etanol ile karıştırılması C. Kimyasalların kuyucuklara eklenmesi D. Bitki ekstresinin kuyucuklara eklenmesi)

3.2.18. Alüminyum Klorür Kolorimetrik Yöntemi ile Total Flavonoid Analizi

Total flavonoid analizinden önce bitki ekstraksiyon aşaması gerçekleştirildi. Çiçek kısımları toz haline getirilerek iki gün maserasyona yatırıldı. İki gün boyunca 1/20 hazırlanan etanol içerisinde bekletildi. Toplam 66 gr bitki için 1200 ml etanol eklendi. 2 gün maserasyonda bırakıldıktan sonra bitki filtre kağıdı yardımıyla süzüldü. Uçurma işlemi için bitki balon jojelere alınarak evaporatör cihazında yavaş yavaş uçurma işlemi gerçekleştirildi.

0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm (µg/ml) Quercetin standartları prosedüre göre hazırlandı. Absorbans değerleri ölçülerek derişime karşı absorbans eğrisi çizildi. Çizilen eğriden elde edilen değerler ile Quercertin'e eşdeğer miktar (µg/ml) hesaplandı.

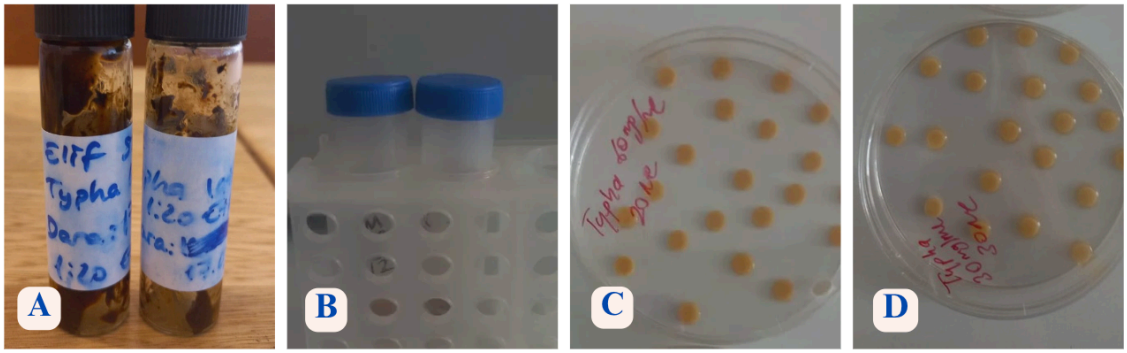
Test çözeltisinin hazırlanması:

- 134 µl distile su
- 20 µl bitki ekstresi
- 6 µl Alüminyum klorür
- 40 µl Amonyum asetat

Yukarıda verilen maddeler sırasıyla kuyucuklara eklenerek 10 dakika karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. 425 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.

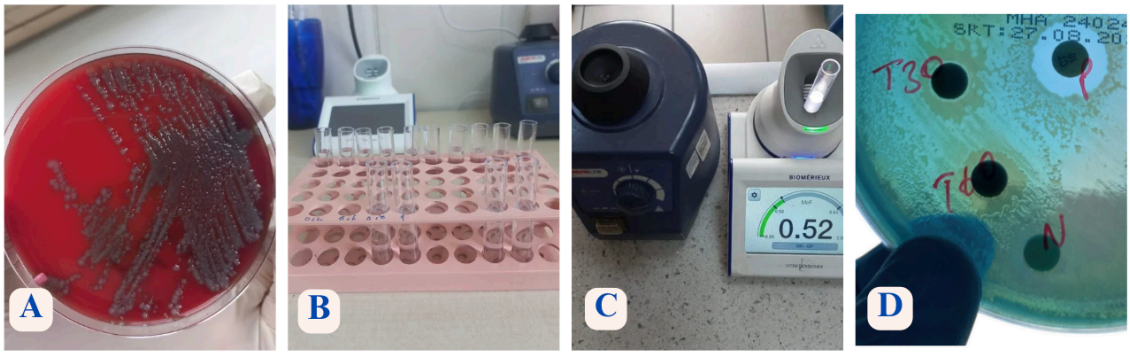
3.2.19. Disk Difüzyon Test Yöntemi ile Antimikrobiyal Duyarlılığın Belirlenmesi

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Palyatif biriminden Ocak 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında alınan kronik bası yarası örneklerinden izole edilen güçlü derecede biyofilm oluşturma yeteneği olan *Pseudomonas aeruginosa* suşu çalışılmadan önce %5 koyun kanlı agara ekilerek canlandırıldı. 18-24 saatlik inkübasyondan sonra taze kültürlerden öze yardımıylaü alınan koloniler serum fizyolojik içerisinde süspanse edildi ve 0,5 McFarland bulanıklık tüpleriyle kıyaslanarak 108 bakteri/ml'lik dilusyon hazırlandı. Müeller hinton besiyerine eküvyon çubuğu ile ekim yapıldı. Eküvyon tüpün iç duvarına yaslanmış halde çevirerek eküvyondaki fazla sıvı uzaklaştırıldı. Üç yönde inoküle ederek inokülüm yüzeyin tamamına eşit şekilde yayıldı.



Resim 3.8: Disk difüzyon yöntemi için disklerin hazırlanması (A. Bitki ekstresi B. Bitkinin DMSO ile çözülüp farklı konsantrasyonlarda hazırlanması, C. 60mg/ml konsantrasyonun hazırlanması D.30 mg/ml konsantrasyonun hazırlanması)

Disk difüzyon test yöntemi için bitki ekstresi hazırlandı. Hazırlanan *Typha latifolia* bitki ekstraktları DMSO ile çözülerek 30 mg/ml ve 60 mg/ml oranlarda olacak şekilde disklere emdirildi (Resim 3.8). Diskler inokülasyondan sonraki 15 dakika içerisinde petrilere uygun şekilde yerleştirildi. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında etkili antimikrobiyal ajan olarak saptanmış kolistin antibiyotik diski kullanıldı. Disklerin yerleştirilmesinin ardından 37 °C'de 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvelle ölçüldü (Resim 3.9).



Resim 3.9: Disk difüzyon yönteminin uygulanması (A. *Pseudomonas aeruginosa'* nın canlandırılması, B. Serum fizyolojik içinde süspanse edilmesi C. 0.5 Mcfarland bulanıklığın ayarlanması D. Disklerin inkübasyon sonrası ölçümünün yapılması)

3.2.20. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiş ve parametrelerin normal dağılım göstermediği saptanmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Dunn's test kullanıldı. Parametrelerin 7.gün ve 16.günler arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

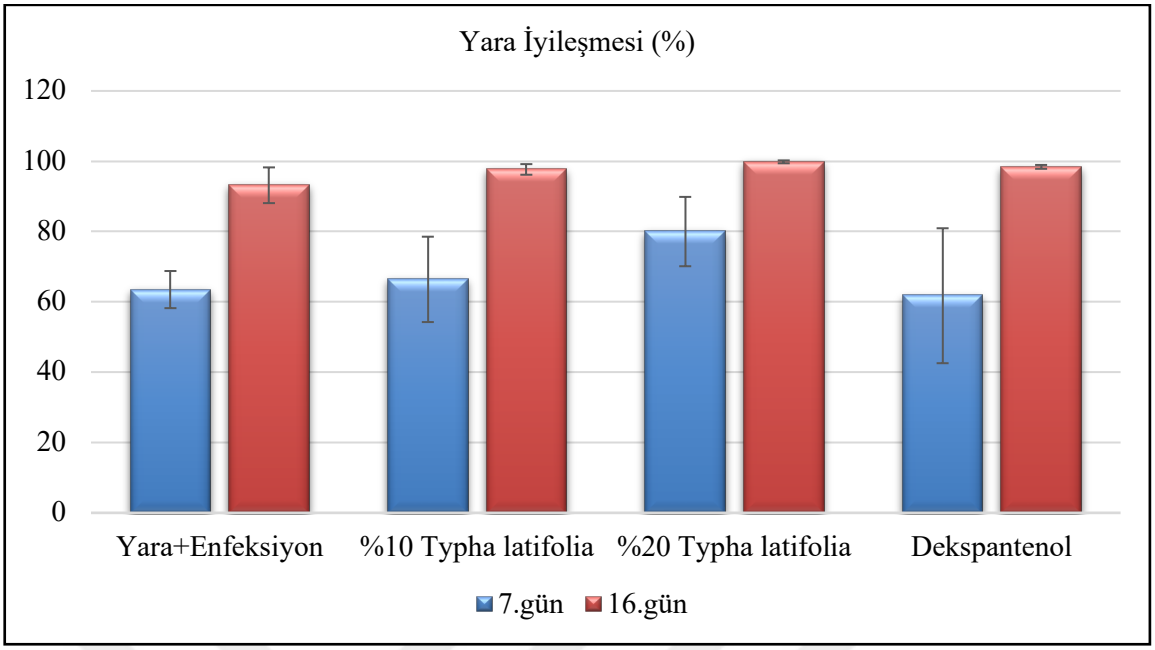
Tüm deney gruplarında 7. ve 16. günlerde makroskopik gözlem yapılmıştır. Aynı zamanda 7. ve 16. günlerde gruplardaki denekler sakrifiye edilerek yara ölçümü yapılmıştır. Yara bölgesinin fotoğrafları yanına bir cetvel konularak çekilmiştir. ImageJ programı yardımıyla yara bölgesinin alan hesaplanarak yara boyutu ve iyileşme oranları hesaplanmıştır. Makroskopik yara iyileşmesine ve yara boyuna dair sonuçlar Tablo 4.1 ve Tablo 4.2' de gösterilmektedir.

Tablo 4.1: Yara iyileşme düzeyine ilişkin değerlendirmeler

Yara İyileşmesi (%)	Yara+Enfeksiyon		%10 *Typha latifolia*		%20 *Typha latifolia*		Dekspantenol		
	Min-Max	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	54-68	63.5±5.28 (64.5)^{Aa}	55-85	66.4±12.14 (60)^{Aa}	61-87	80±9.86 (83)^{Aa}	48-90	61.75±19.19 (54.5)^{Aa}	0.125
16.gün	83-97	93.17±5.08 (95)^{Ab}	95-99	97.67±1.51 (98)^{ABb}	99-100	99.83±0.41 (100)^{Bb}	98-99	98.4±0.55 (98)^{ABb}	0.001*
[2]p		0.004*		0.006*		0.003*		0.012*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.1: Yara iyileşme düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

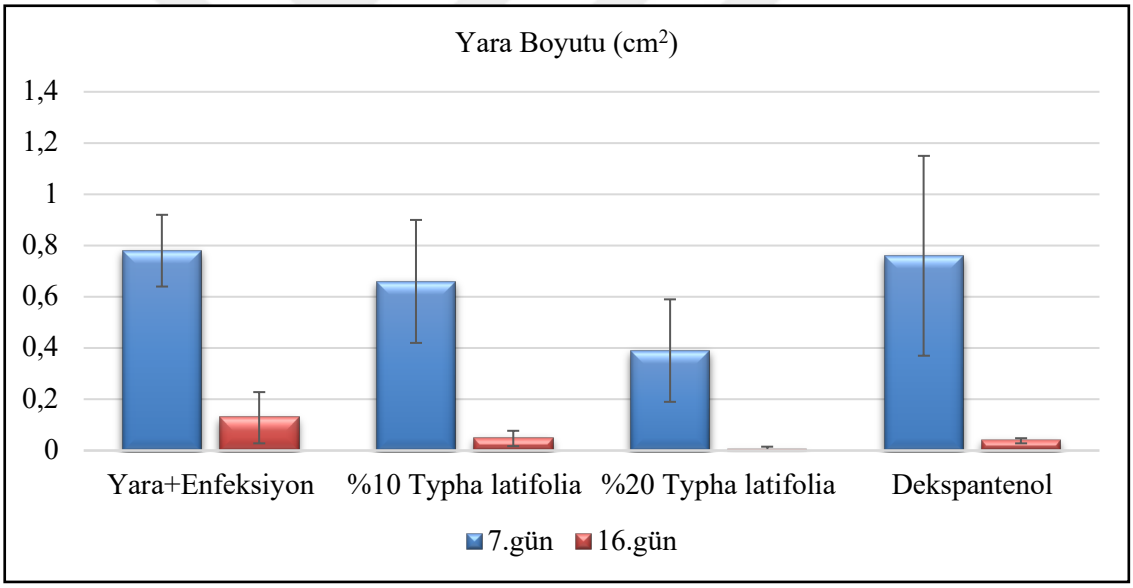
Gruplar arasında 7.gün yara iyileşme düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.125; p>0.05). Gruplar arasında 16.gün yara iyileşme düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; %20 Typha latifolia grubunun 16.gün yara iyileşme düzeyi, Yara+Enfeksiyon (Kontrol) (p:0.001) grubundan anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05). Yara+Enfeksiyon (Kontrol) grubunda; 16.gün yara iyileşme düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.004; p<0.05). %10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün yara iyileşme düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.006; p<0.05). %20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün yara iyileşme düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.003; p<0.05). Dekspantenol grubunda; 16.gün yara iyileşme düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.012; p<0.05, Şekil 4.1).

Tablo 4.2: Yara boyutuna ilişkin değerlendirmeler

Yara Boyutu (cm^2)	Yara+Enfeksiyon		%10 *Typha latifolia*		%20 *Typha latifolia*		Dekspantenol		[1]p
	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	
7.gün	0.64-1	0.78±0.14 (0.74)^{Aa}	0.3-0.89	0.66±0.24 (0.79)^{Aa}	0.24-0.77	0.39±0.20 (0.33)^{Aa}	0.18-1.05	0.76±0.39 (0.90)^{Aa}	0.117
16.gün	0.06-0.33	0.128±0.10 (0.09)^{Ab}	0.02-0.11	0.047±0.03 (0.04)^{ABb}	0-0.03	0.005±0.01 (0)^{Bb}	0.03-0.05	0.038±0.01 (0.04)^{ABb}	0.001*
[2]p		0.004*		0.006*		0.003*		0.010*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.2: Yara boyutunun gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arasında 7.gün yara boyutu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.117; p>0.05). Gruplar arasında 16.gün yara boyutu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün yara boyutu, Yara+Enfeksiyon (Kontrol) (p:0.001) grubundan anlamlı şekilde düşüktü (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05). Yara+Enfeksiyon (Kontrol) grubunda; 16.gün yara boyutu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü

(p:0.004; p<0.05). %10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün yara boyutu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.006; p<0.05). %20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün yara boyutu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.003; p<0.05). Dekspantenol grubunda; 16.gün yara boyutu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.010; p<0.05, Şekil 4.2).

4.2.IŞIK MİKROSKOBU DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

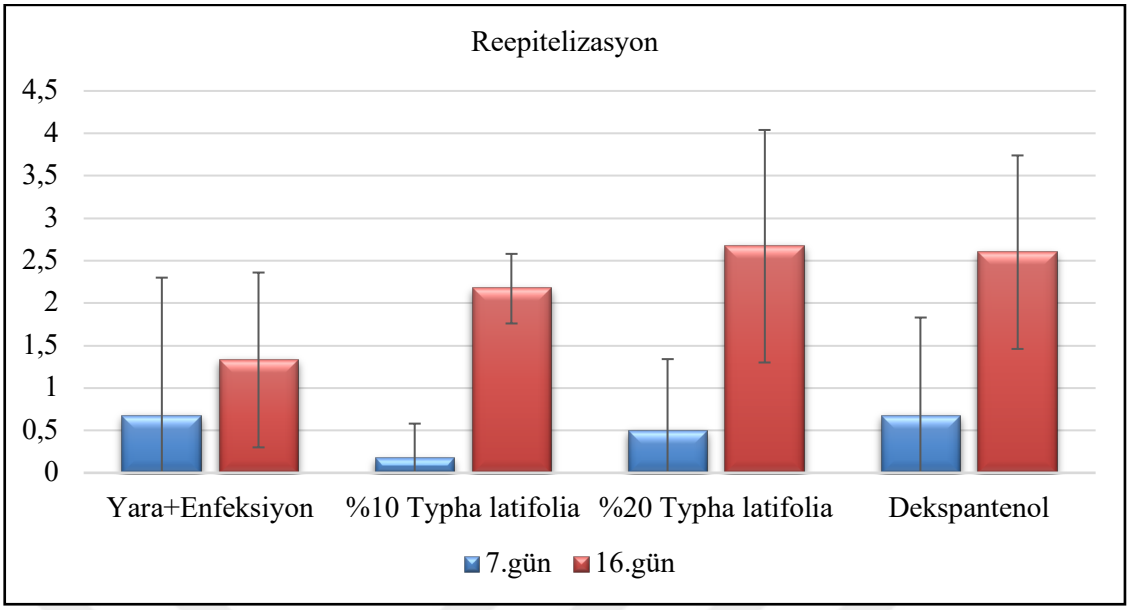
Sıçanlardan 7. ve 16.günlerde alınan doku örnekleri, hematoksilen eozin yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobu altında görüntülendi. Görüntüleme sonuçlarına göre reepitelizasyon değerlendirmeleri Tablo 4.3, granülasyon değerlendirmeleri Tablo 4.4, inflamatuar hücre sayısı değerlendirmeleri Tablo 4.5 ve anjiyogenez oluşumu değerlendirmeleri Tablo 4.6' da gösterilmiştir.

Tablo 4.3: Reepitelizasyona ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
Reepitelizasyon	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	0-4	0.67±1.63 (0)^{Aa}	0-1	0.17±0.41 (0)^{Aa}	0-2	0.50±0.84 (0)^{Aa}	0-2	0.67±1.16 (0)^{Aa}	0.870
16.gün	0-2	1.33±1.03 (2)^{Aa}	2-3	2.17±0.41 (2)^{Ab}	1-4	2.67±1.37 (3)^{Ab}	1-4	2.6±1.14 (3)^{Aa}	0.195
[2]p		0.201		0.002*		0.013*		0.069	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.3: Reepitelizasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arasında 7.gün reepitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.870; p>0.05).

Gruplar arasında 16.gün reepitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.195; p>0.05).

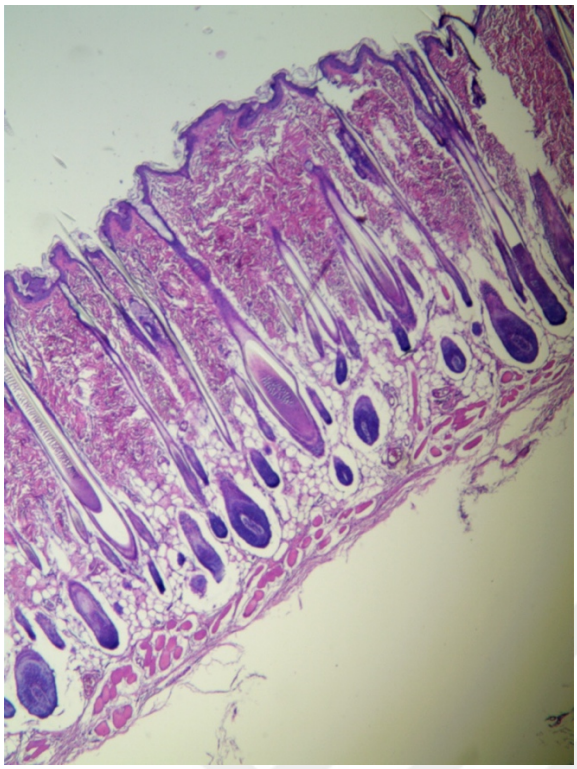
Yara+Enfeksiyon grubunda; 7.gün ve 16.gün reepitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.201; p>0.05, Resim 4.2)

%10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün reepitelizasyon düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.002; p<0.05, Resim 4.5, Resim 4.6).

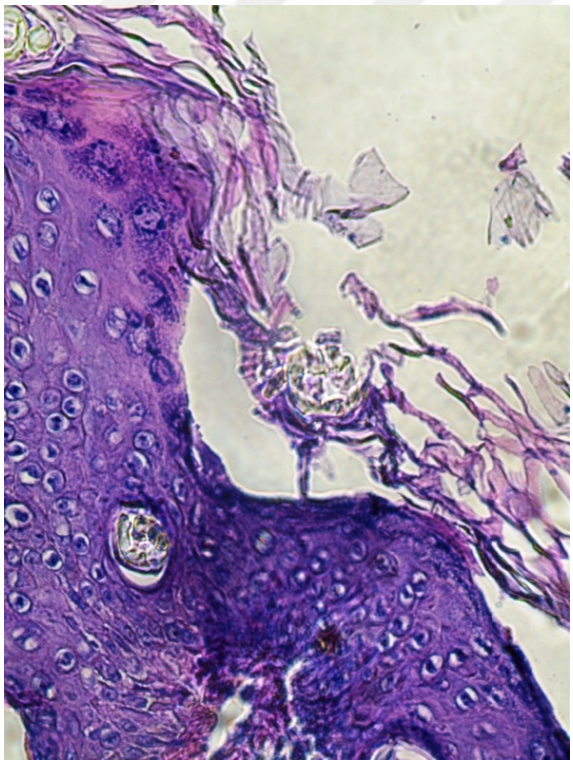
%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün reepitelizasyon düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.013; p<0.05, Şekil 4.3, Resim 4.8).

Dekspantenol grubunda; 7.gün ve 16.gün reepitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.069; p>0.05, Resim 4.3, Resim 4.4).

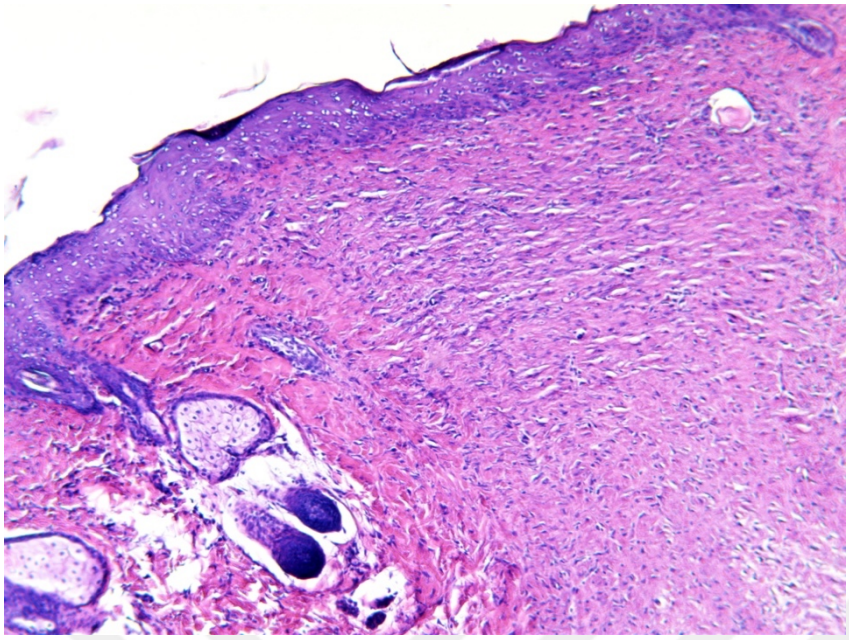
%20 *Typha latifolia* grubunda 16.gün kalın epidermis oluşumu ile düzenli ve keratinize epidermal astarın yeniden oluşması gözlenmiştir. Kontrol grubundan histopatolojik olarak, 16.gün diğer gruplara kıyasla daha ince bir epitel tabakası gözlenmiştir (Resim 4.1).



Resim 4.1: Kontrol grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X4)

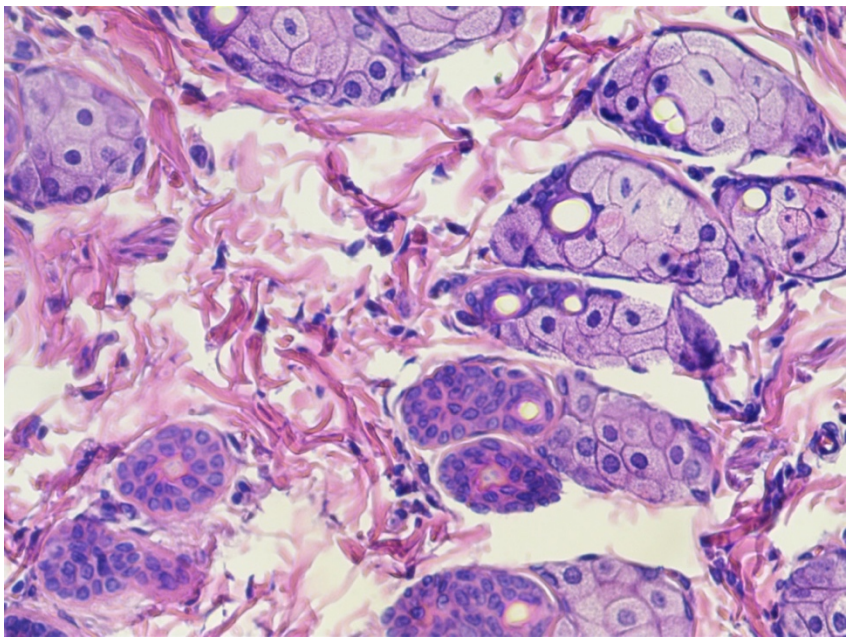


Resim 4.2: Kontrol grubunun 7.gün epidermisin yeniden yapılanması (H&E boyama X40)

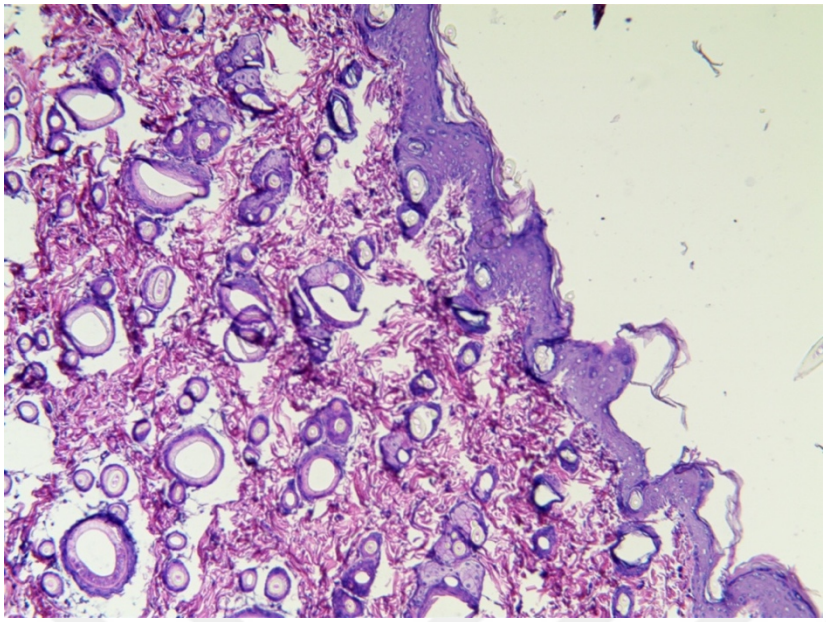


Resim 4.3: Dekspantenol grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X10)

Dekspantenol grubunda, ter bezi oluşumu gözlenmiştir. Ekrin ter bezinin sekretuar tübülü, iki kat sütun biçimli sekresyon epitel hücresiyle kaplanmıştır. (Resim 4.4).

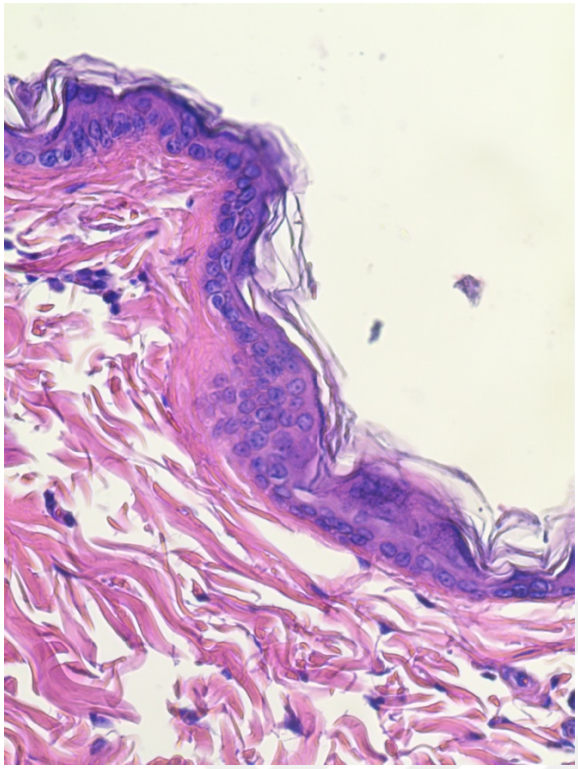


Resim 4.4: Dekspantanol grubunun 7.gün yağ ve ter bezlerinin ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X40)

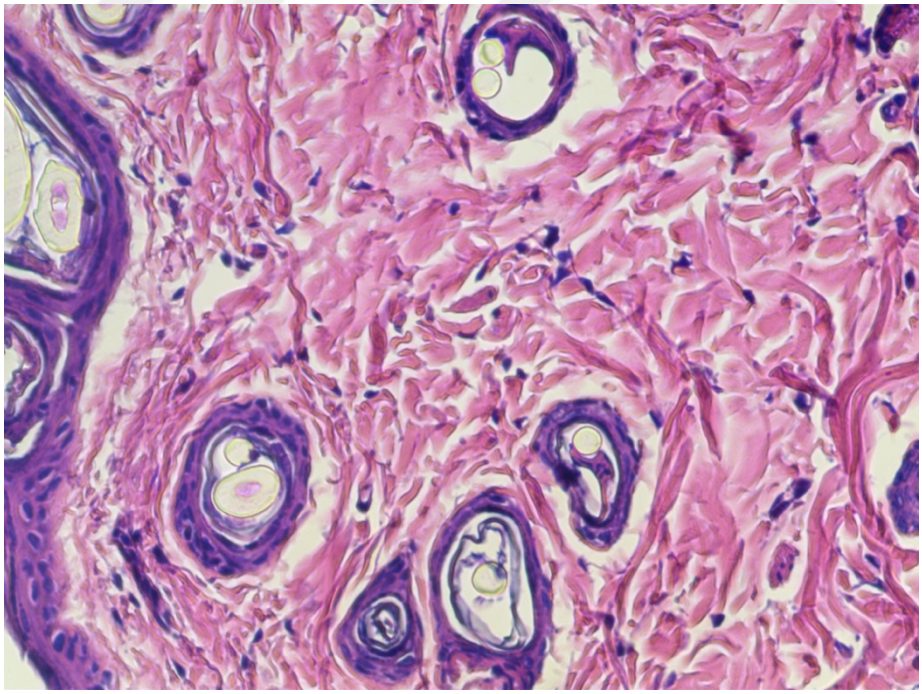


Resim 4.5: %10 *Typha latifolia* grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X10)

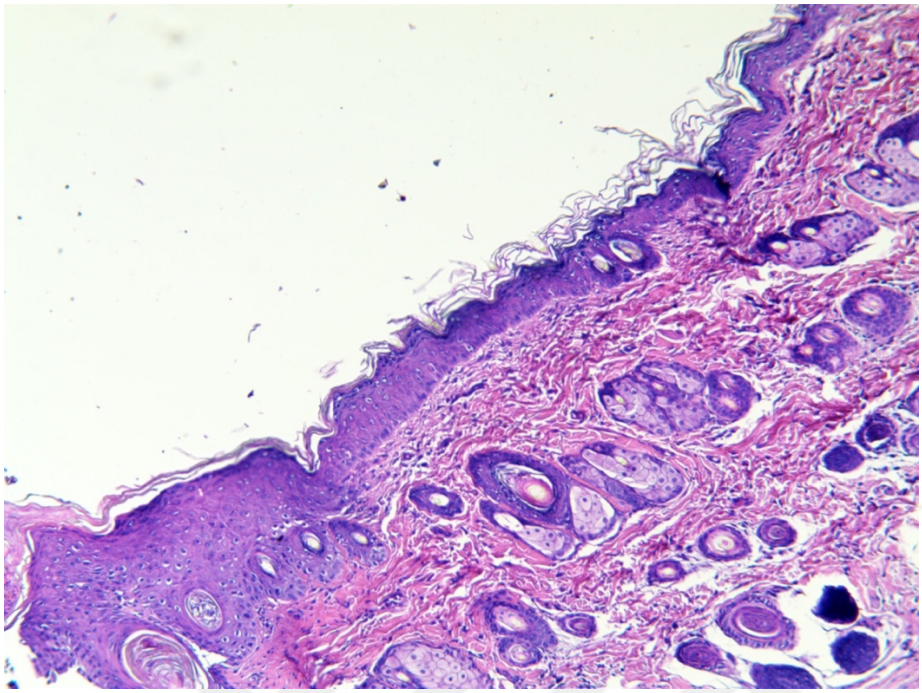
Hematoksilin ve eozinle boyanmış ince deri epidermisi, bazal katmandaki büyük miktarda melanin pigmenti gösterilmiştir. Pigmentli hücreler hem melanositler hem de keratinositlerden oluşmaktadır (Resim 4.6).



Resim 4.6: %10 *Typha latifolia* grubunun 7.gün doku epitelizasyonu (H&E boyama X40)



Resim 4.7: %10 *Typha latifolia* grubunda 16.gün kıl kökü foliküllerinin oluşumu (H&E boyama X40)



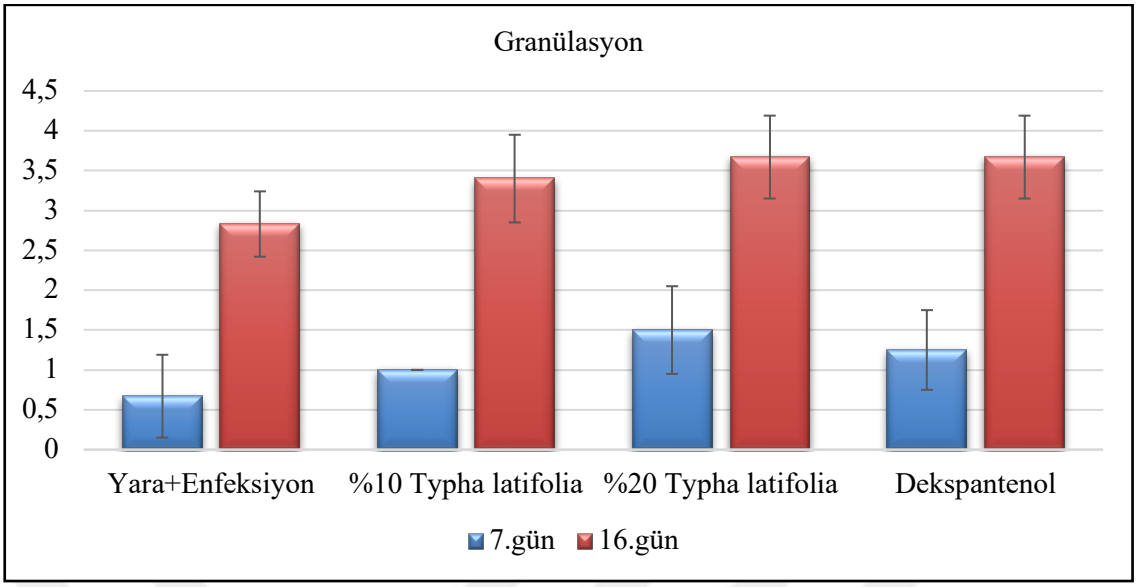
Resim 4.8: %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün epidermis ve dermis görüntüsü (H&E boyama X10)

Tablo 4.4: Granülasyon dokusuna ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
Granülasyon	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	0-1	0.67±0.52 (1)^{Aa}	1-1	1.0±0 (1)^{Aa}	1-2	1.5±0.55 (1.5)^{Aa}	1-2	1.25±0.50 (1)^{Aa}	0.054
16.gün	2-3	2.83±0.41 (3)^{Ab}	3-4	3.4±0.55 (3)^{ABb}	3-4	3.67±0.52 (4)^{Bb}	3-4	3.67±0.52 (4)^{Bb}	0.048*
[2]p		0.002*		0.005*		0.003*		0.007*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.4: Granülasyon dokusunun gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arasında 7.gün granülasyon dokusu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.054; p>0.05).

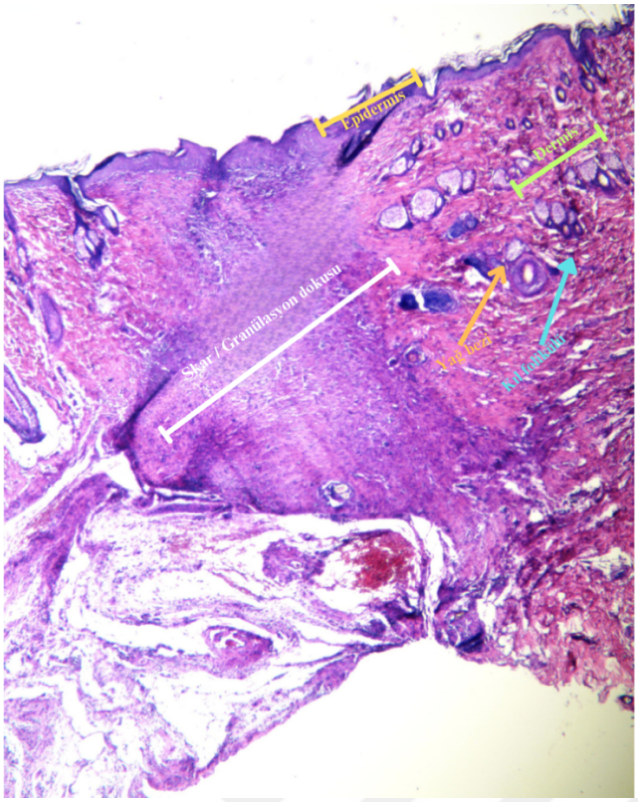
Gruplar arasında 16.gün granülasyon dokusu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.048; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Yara+Enfeksiyon grubunun 16.gün granülasyon dokusu, %20 *Typha latifolia* (p:0.015) ve Dekspantenol (p:0.015) gruplarından anlamlı şekilde düşüktü (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün granülasyon dokusu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.002; p<0.05, Resim 4.9).

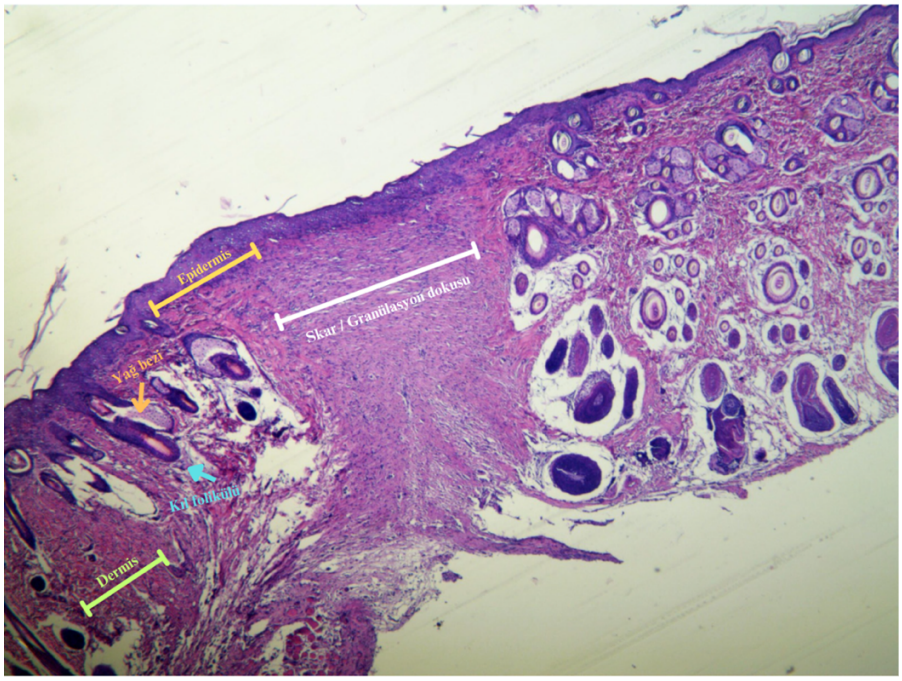
%10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün granülasyon dokusu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.005; p<0.05, Resim 4.12).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün granülasyon dokusu, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.003; p<0.05, Şekil 4.4, Resim 4.11).

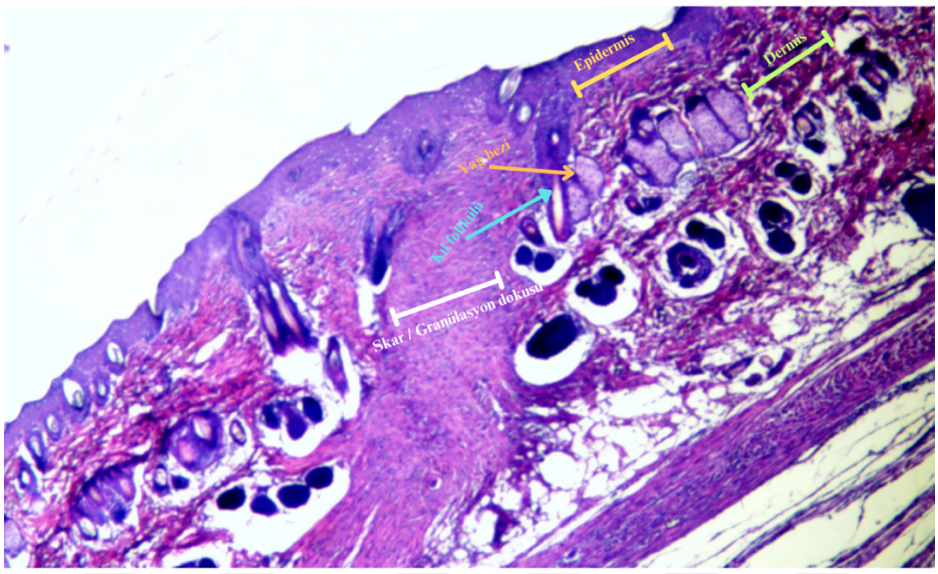
Dekspantenol grubunda; 16.gün granülasyon skoru, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.007; p<0.05, Resim 4.10). 16 .gün tüm gruplarda dermis tabakasında yağ bezleri ve kıl kökü oluşumu epidermal astarın yeniden yapılanmasıyla birlikte yara kapanması gözlenmiştir.



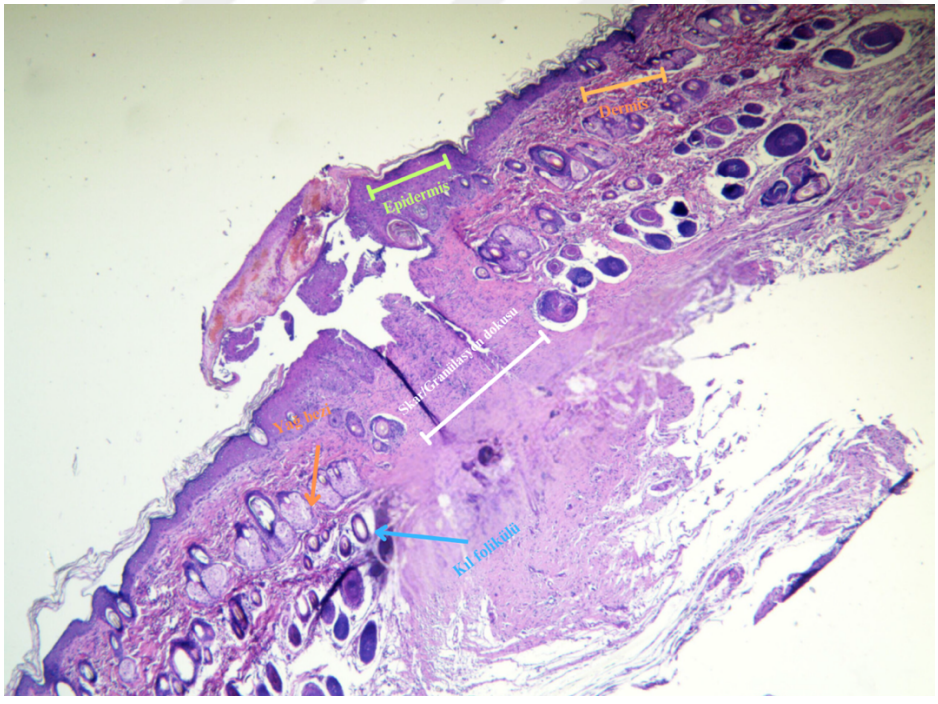
Resim 4.9: Kontrol grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X4)



Resim 4.10: Dekspantenol grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskop görüntüsü (H&E boyama X4)



Resim 4.11: %20 *Typha latifolia* grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X4)



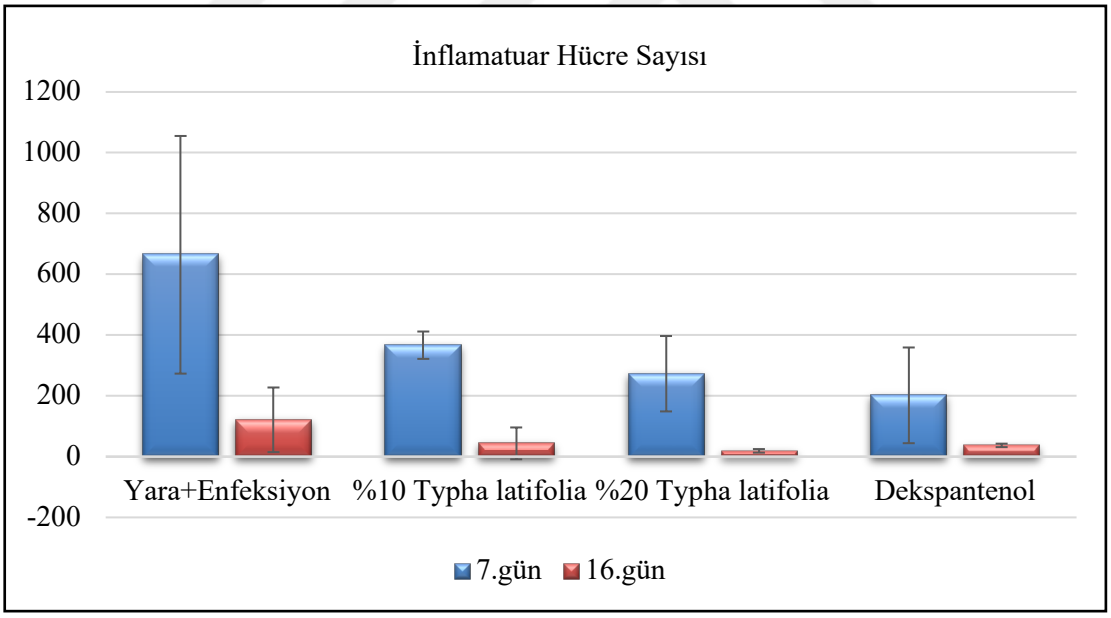
Resim 4.12: %10 *Typha latifolia* grubu 16.gün yara dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H&E boyama X4)

Tablo 4.5: İnflamatuar hücre sayısınsa ilişkin değerlendirmeler

İnflamatur Hücre Sayısı	Yara+Enfeksiyon		%10 *Typha latifolia*		%20 *Typha latifolia*		Dekspantenol		
	Min-Max	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	230-1320	664.17±391.03 (605)^{Aa}	320-420	366.67±45.02 (370)^{Aa}	37-380	272.83±124.05 (315)^{Aa}	45-360	201.67±157.51 (200)^{Aa}	0.056
16.gün	16-260	121.17±106.35 (94.5)^{Ab}	16-150	43.67±52.34 (23)^{ABb}	13-28	19±5.87 (18)^{Bb}	30-45	37±5.70 (35)^{Ab}	0.039*
[2]p		0.010*		0.004*		0.006*		0.035*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.5: İnflamatuar hücre sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

Gruplar arasında 7.gün inflamatuar hücre sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.056; p>0.05).

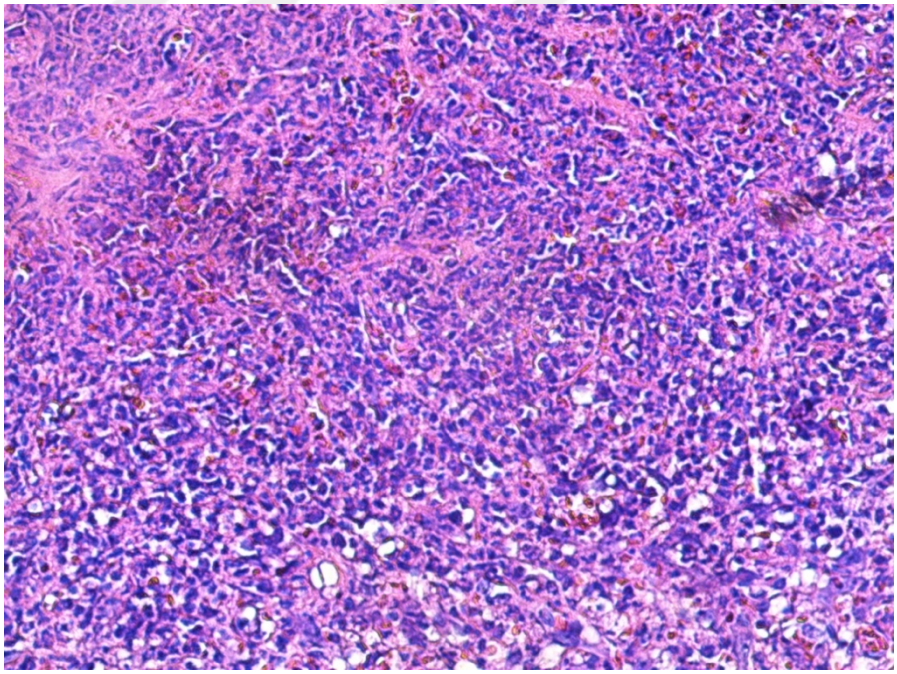
Gruplar arasında 16.gün inflamatuar hücre sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.039; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün inflamatuar hücre sayısı, Yara+Enfeksiyon (p:0.010) ve Dekspantenol (p:0.019) gruplarından anlamlı şekilde düşüktü (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 7.gün inflamatuar hücre sayısı, 16.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.010; p<0.05, Resim 4.13).

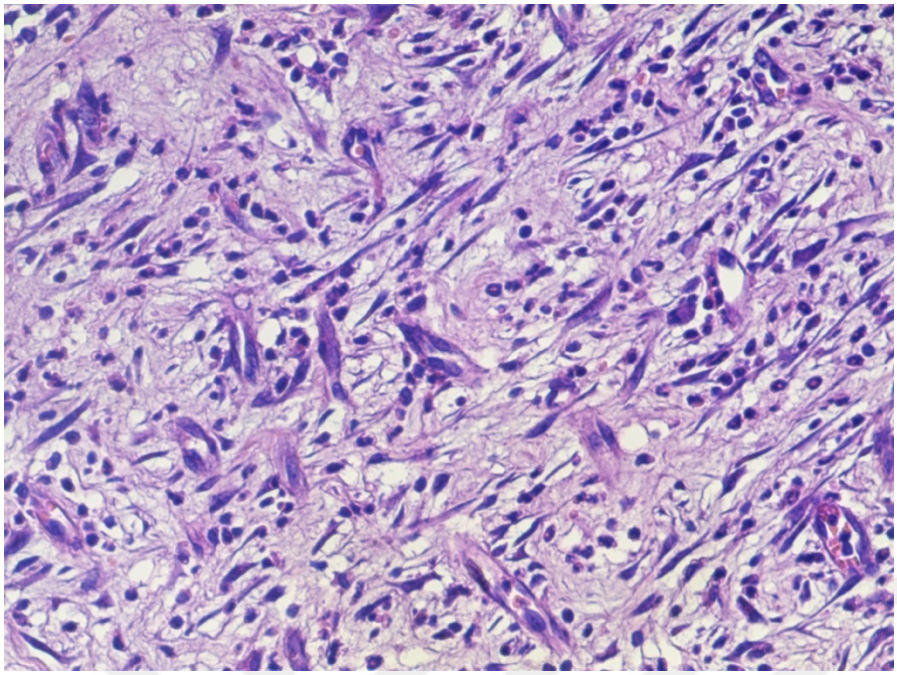
%10 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün inflamatuar hücre sayısı, 16.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.004; p<0.05, Resim 4.15).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün inflamatuar hücre sayısı, 16.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.006; p<0.05, Resim 4.14).

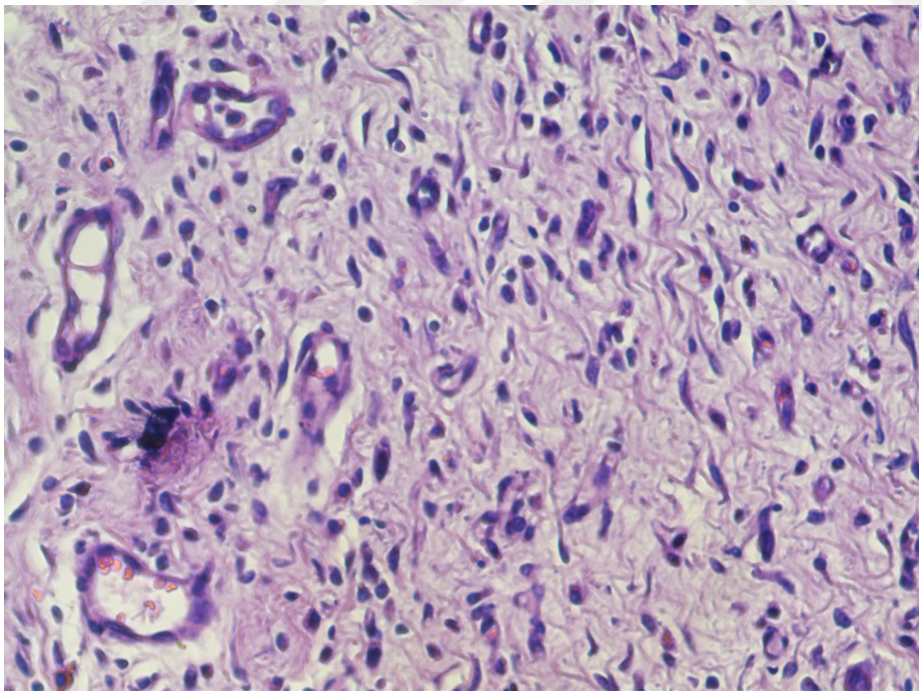
Dekspantenol grubunda; 7.gün inflamatuar hücre sayısı, 16.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.035; p<0.05, Şekil 4.5, Resim 4.16).



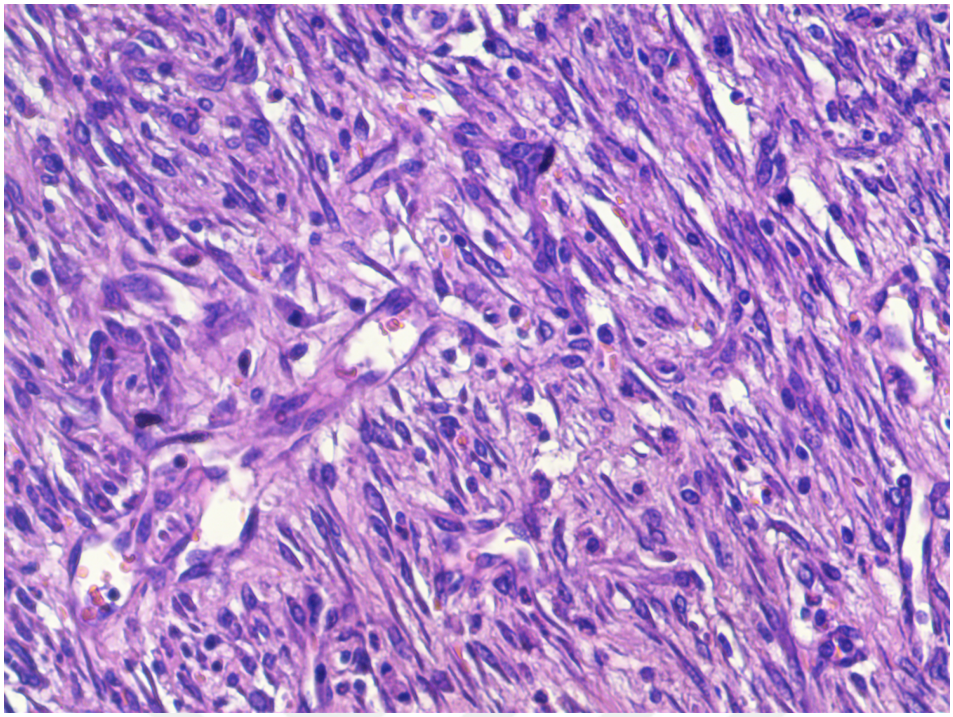
Resim 4.13: Kontrol grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) MNL:Mononükleer lökosit



Resim 4.14: %20 *Typha latifolia* grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) MNL:Mononükleer lökosit



Resim 4.15: %10 *Typha latifolia* grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) MNL:Mononükleer lökosit



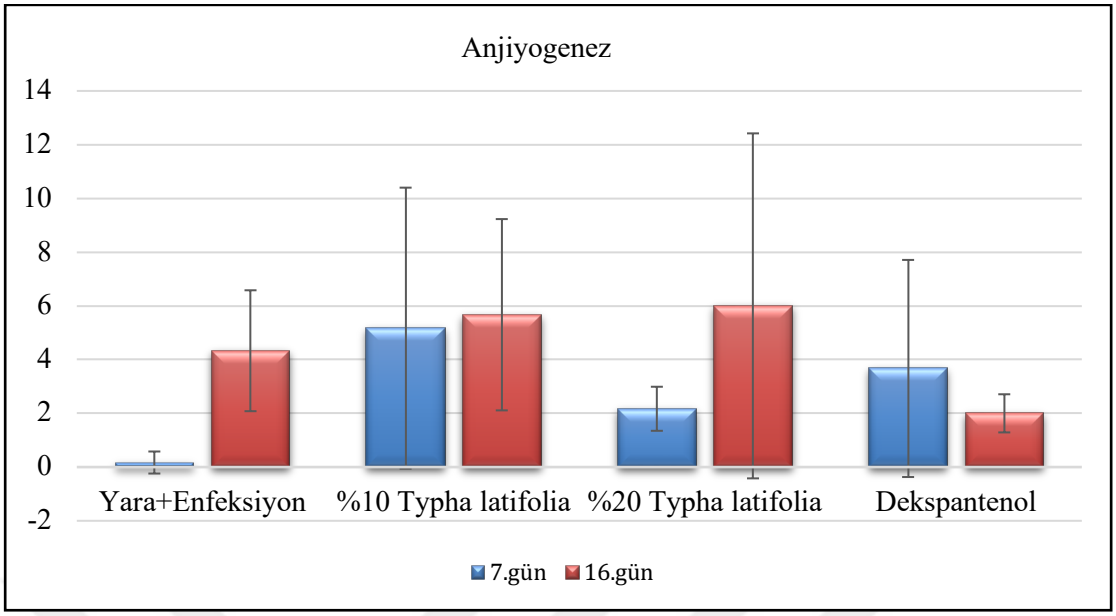
Resim 4.16: Dekspantenol grubu 7.gün yara dokusunda MNL infiltrasyonu (H&E boyama X40) MNL:Mononükleer lökosit

Tablo 4.6: Anjiyogeneze ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
Anjiyogenez	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	0-1	0.17±0.41 (0)	0-12	5.17±5.23 (4.5)	0-7	2.17±0.82 (2.5)	0-8	3.67±4.04 (3)	0.093
16.gün	2-8	4.33±2.25 (3.5)	2-11	5.67±3.56 (4.5)	0-18	6.0±6.42 (4.5)	1-3	2.0±0.71 (2)	0.129
[2]p		0.003*		0.688		0.072		0.539	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.6: Anjiyogenezin gruplar arasında karşılaştırılması

Gruplar arasında 7.gün anjiyogenez açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.093; p>0.05).

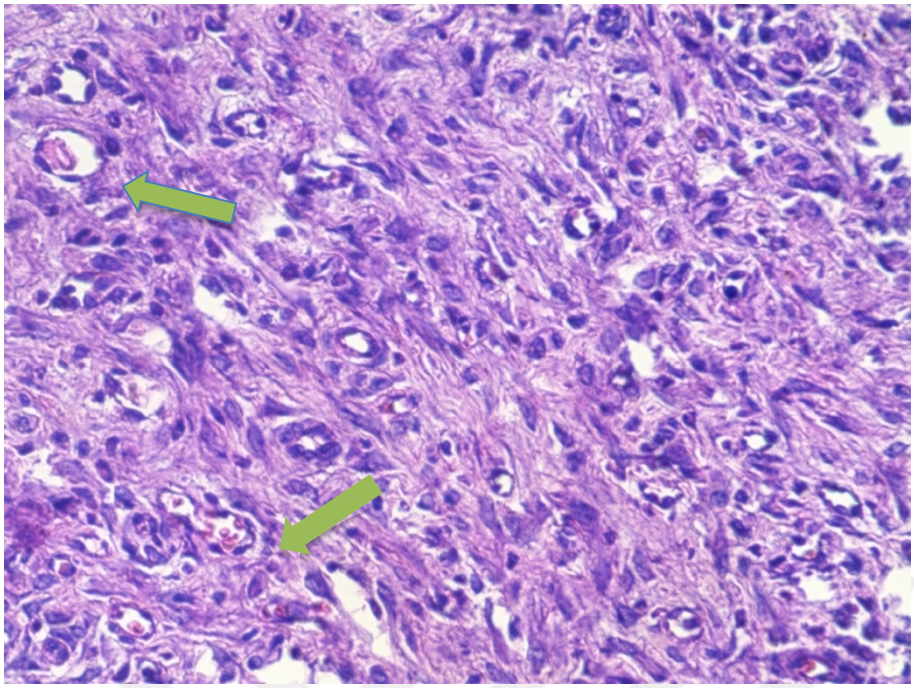
Gruplar arasında 16.gün anjiyogenez açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.129; p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün anjiyogenez, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.003; p<0.05).

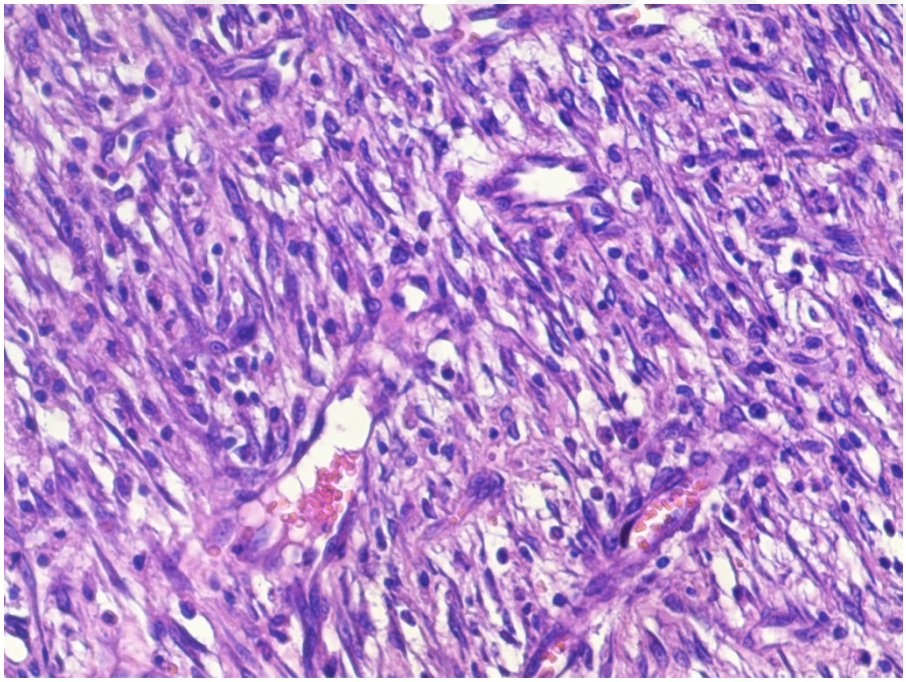
%10 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün anjiyogenez arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.688; p>0.05, Resim 4.18, Resim 4.20).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün anjiyogenez arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.072; p>0.05, Resim 4.19).

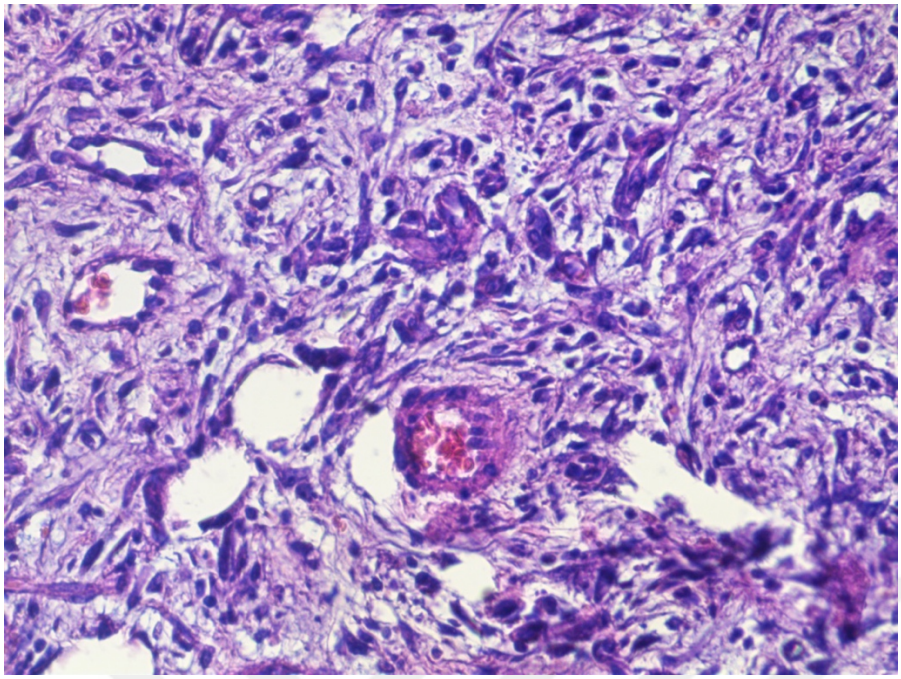
Dekspantenol grubunda; 7.gün ve 16.gün anjiyogenez arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.539; p>0.05, Şekil 4.6, Resim 4.17).



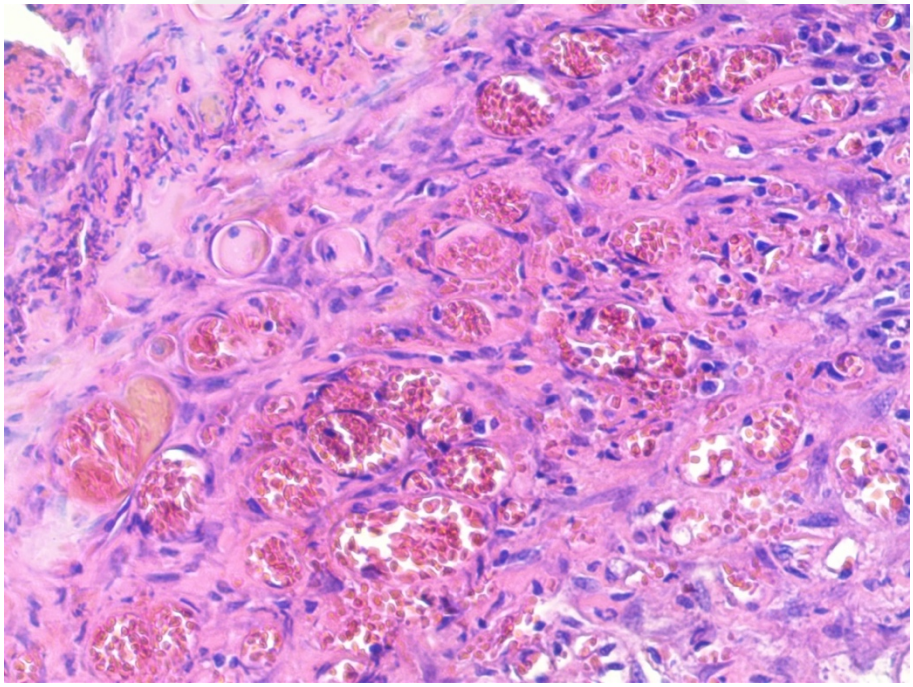
Resim 4.17: Dekspantanol grubu 7.gün kan damarı oluşumu (H&E boyama X40)



Resim 4.18: %10 *Typha latifolia* grubu 7.gün kan damarı oluşumu (H&E Boyama X40)



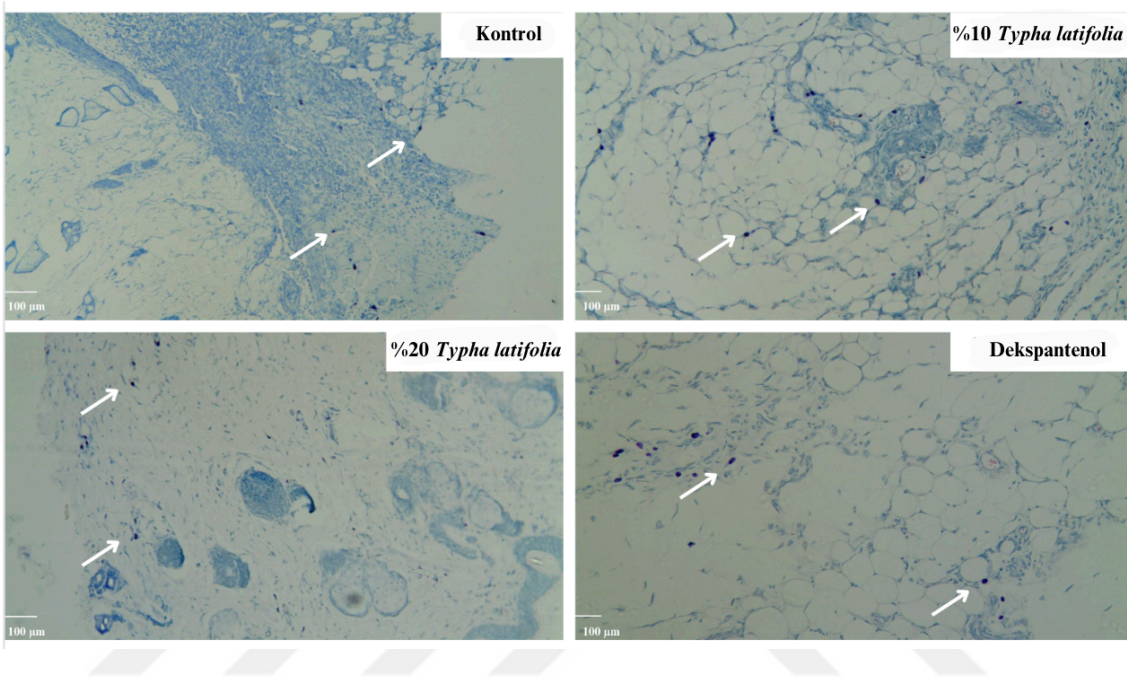
Resim 4.19: %20 *Typha latifolia* grubu 7.gün kan damarı oluşumu (H&E Boyama X40)



Resim 4.20: %10 *Typha latifolia* grubu 16.gün dermisinde eritrositli kan damarları (H&E Boyama X40)

4.3. TOLUİDİN BOYAMA DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

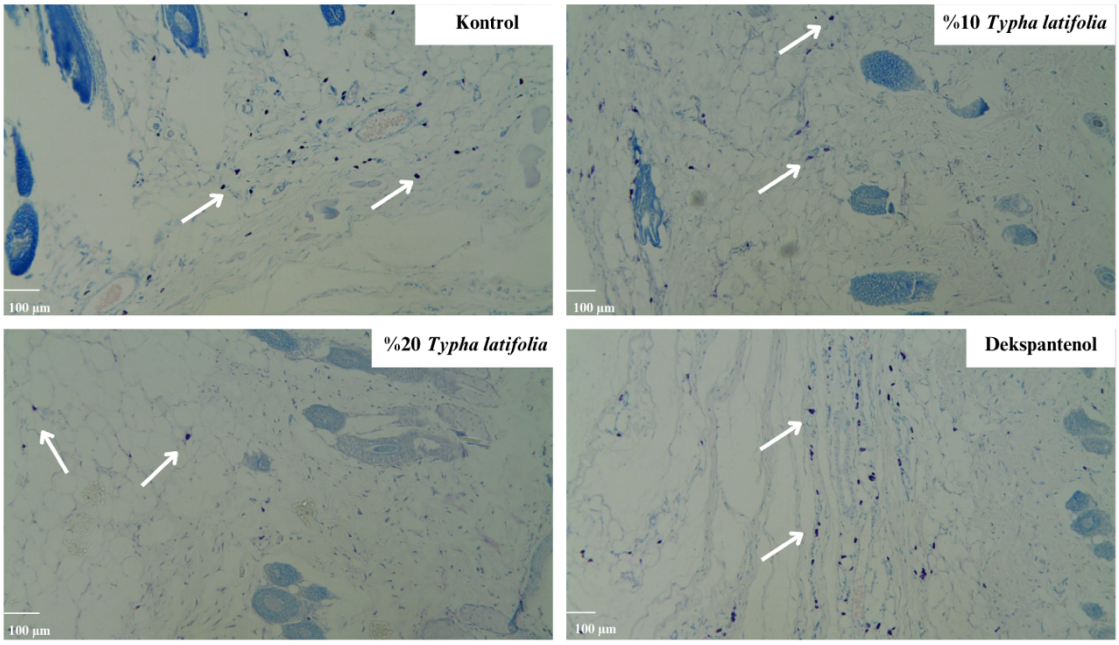
Toluidin boyama yöntemiyle boyanan yara dokusundaki mast hücre sayılarına ilişkin değerlendirmeler Tablo 4.7'de gösterilmiştir.



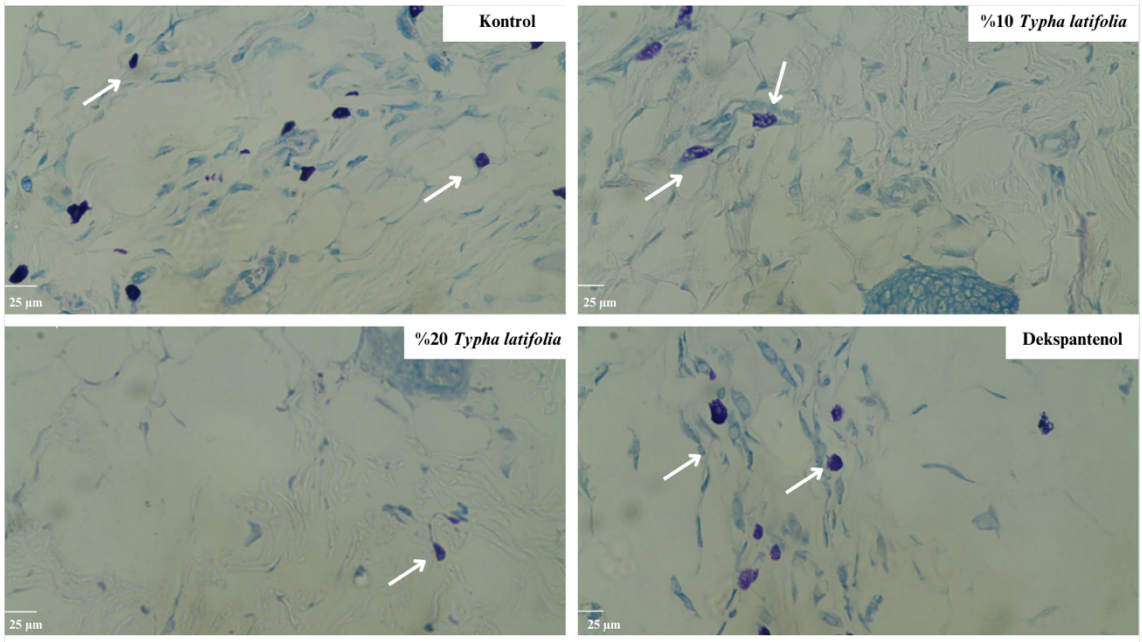
Resim 4.21: Toluidin boyama yöntemi ile 7.gün yara dokusundaki mast hücrelerin ışık mikroskop görüntüleri. (10X)

Gruplar arasında 7.gün mast hücre sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.151; p>0.05, Resim 4.21).

Gruplar arasında 16.gün mast hücre sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05) (Resim 4.23). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Dekspantenol grubunun 16.gün mast hücre sayısı, %10 *Typha latifolia* (p:0.003) ve %20 Typha latifolia (p:0.016) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).



Resim 4.22: Toluidin boyama yöntemi ile 16.gün yara dokusundaki mast hücrelerin ışık mikroskop görüntüleri. (10X)



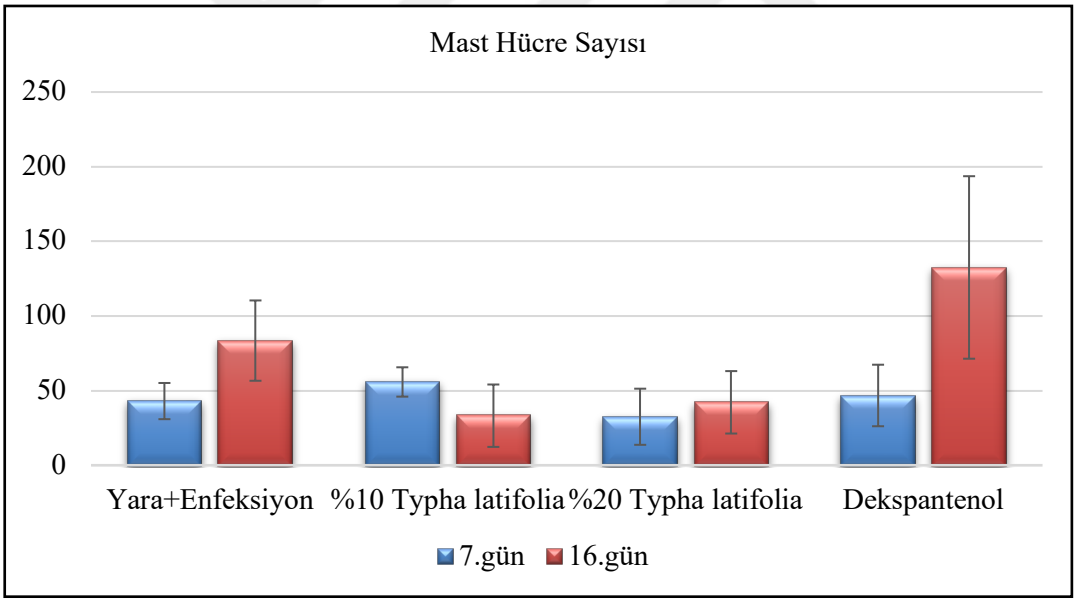
Resim 4.23: Toluidin boyama yöntemi ile 16.gün yara dokusundaki mast hücrelerin ışık mikroskop görüntüleri. (40X)

Tablo 4.7: Toluidin Boyama yöntemi ile yara dokusundaki mast hücre sayısına ilişkin değerlendirmeler

Mast hücre sayısı	Yara+Enfeksiyon		%10 *Typha latifolia*		%20 *Typha latifolia*		Dekspantenol		
	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	[1]p
7.gün	27-53	43±12.12 (49.5)^{Aa}	47-70	55.8±9.83 (51)^{Aa}	20-70	32.5±18.8 (26)^{Aa}	26-75	46.75±20.61 (43)^{Aa}	0.151
16.gün	57-116	83.5±26.9 (76)^{ABb}	18-69	33.2±20.9 (23)^{Aa}	25-83	42.17±20.91 (34.5)^{Aa}	92-250	132.5±61.12 (108)^{Bb}	0.001*
[2]p		0.004*		0.076		0.078		0.011*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.7: Mast hücre sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün mast hücre sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.004; p<0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün mast hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.076; p>0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün mast hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.078; p>0.05, Resim 4.22).

Dekspantenol grubunda; 16.gün mast hücre sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.011; p<0.05).

4.4. MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

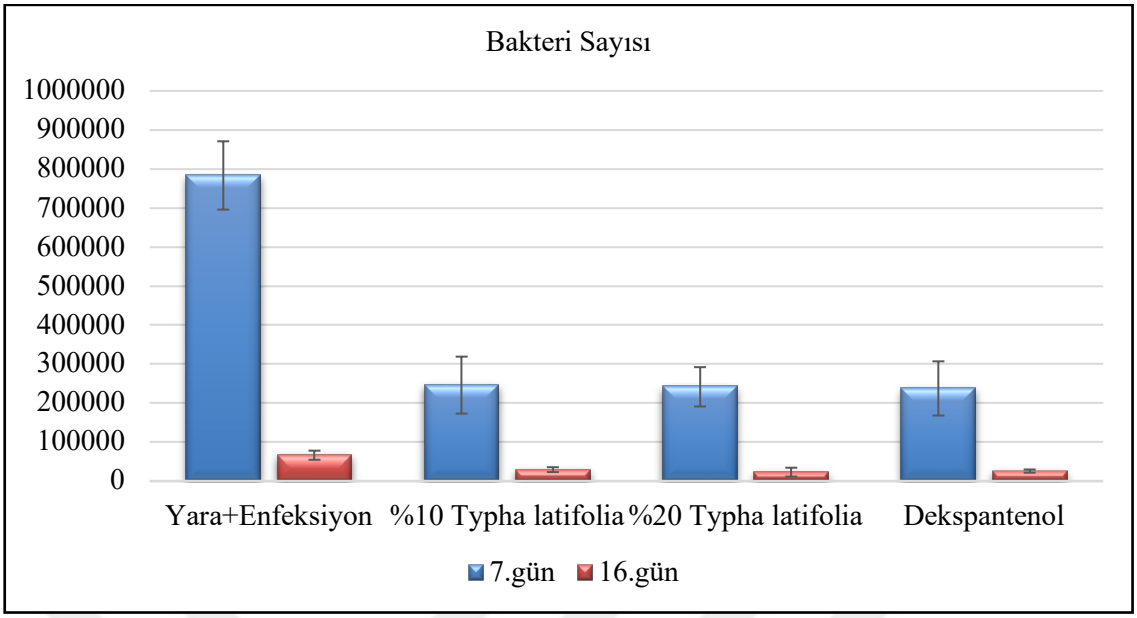
Mikrobiyolojik analiz yöntemleri sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

Tablo 4.8: Bakteri sayısına ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
Bakteri Sayısı	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	650000-900000	783333.33 ±87559.54 (775000)^{A}	150000-330000	246000± 73006.85 (250000)^{B}	150000-300000	241666.67 ±50365.33 (245000)^{B}	140000-300000	237500± 69462.22 (255000)^{B}	0.006*
16.gün	50000-80000	66333.33± 11690.45 (65000)	20000-37000	29400± 6228.96 (30000)	8000-34000	23000± 11366.62 (27000)	20000-30000	25666.67±4 082.48 (26000)	0.004*
[2]p		0.004*		0.009*		0.004*		0.010*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.8: Bakteri sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

Gruplar arasında 7.gün bakteri sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.006; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Yara+Enfeksiyon grubunun 7.gün bakteri sayısı, %10 *Typha latifolia* (p:0.049), %20 *Typha latifolia* (p:0.016) ve Dekspantenol (p:0.038) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Gruplar arasında 16.gün bakteri sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.004; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Yara+Enfeksiyon grubunun 16.gün bakteri sayısı, %10 *Typha latifolia* (p:0.022), %20 *Typha latifolia* (p:0.013) ve Dekspantenol (p:0.007) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün bakteri sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.004; p<0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün bakteri, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.009; p<0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün bakteri sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.004; p<0.05).

Dekspantenol grubunda; 16.gün bakteri sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.010; p<0.05, Şekil 4.8).

4.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *Typha latifolia* etanol ekstresinin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal duyarlılık değerleri Tablo 4.9'da gösterilmiştir. Typha latifolia bitkisinin total fenolik ve flavonoid içeriği Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9: Disk difüzyon yöntemi farklı konsantrasyonlara göre zon çapları

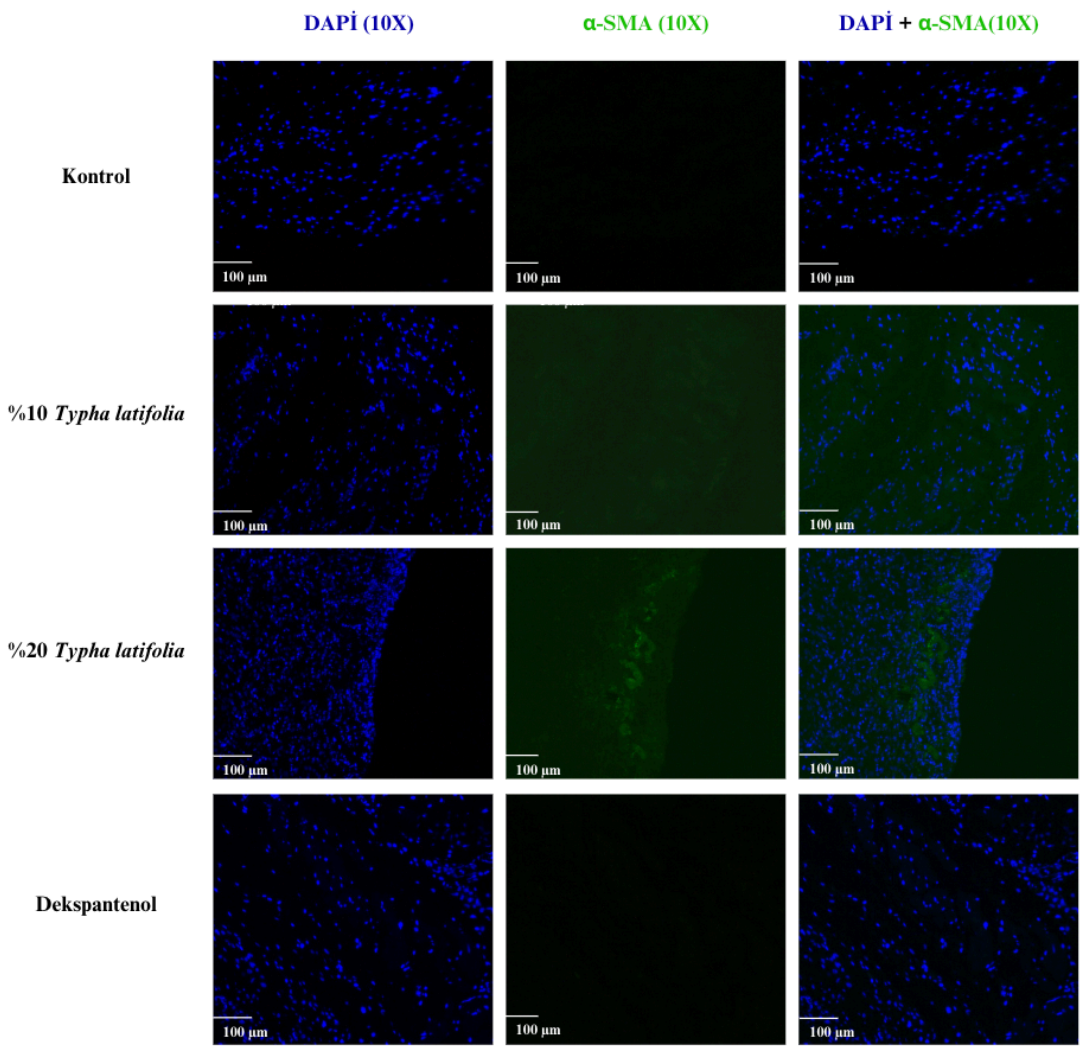
	Typha latifolia **30mg/ml** **Zon çapı**	***Typha latifolia*** **60mg/ml** **Zon çapı**	**Kolistin** **Zon çapı**
Pseudomonas aeruginosa	10 mm	12 mm	14 mm

Tablo 4.10: *Typha latifolia*'nın total fenolik ve flavonoid içeriği

	Total Fenolik	**Total Flavonoid**
Typha latifolia	310,9 mg/g	134,4 mg/g

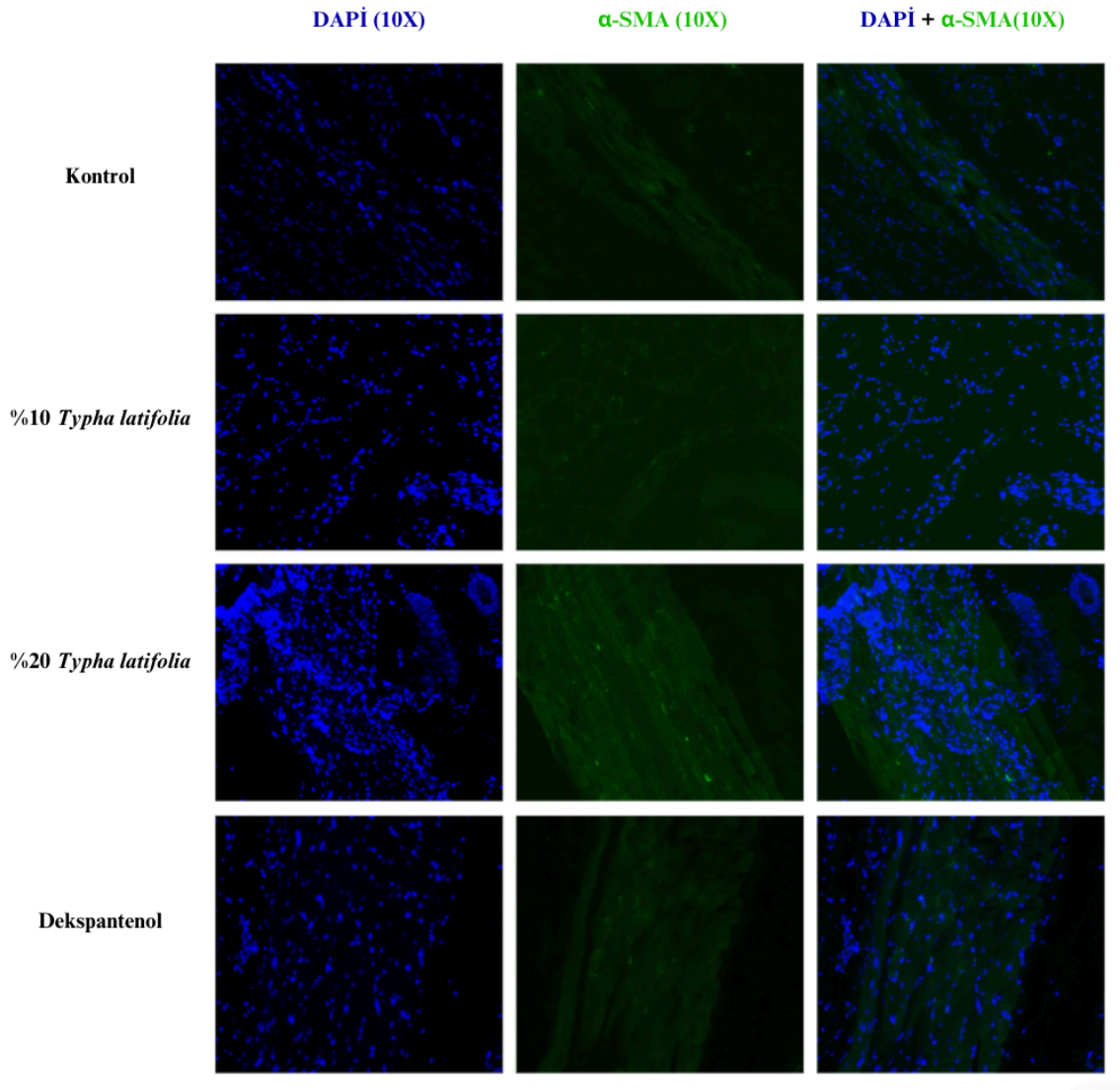
4.3. İMMÜNOFLORESAN YÖNTEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kesitleri alınan yara dokularının immünofloresan boyama yöntemi ile α-SMA yoğunluğu değerlendirilmiştir (Resim 4.23). α-SMA yoğunluğuna ilişkin veriler Tablo 4.11'de gösterilmiştir.



Resim 4.24: DAPI+ α-SMA 7.gün floresan mikroskop görüntüleri (ölçek çubuğu:100 µm)

DAPI: 4 ,6-Diamidino-2-phenylindole dihidroklorür, α-SMA: Alfa düz kas aktini



Resim 4.25: DAPI + α-SMA 16.gün floresan mikroskop görüntüleri (ölçek çubuğu:100 µm)

DAPI: 4 ,6-Diamidino-2-phenylindole dihidroklorür, α-SMA: Alfa düz kas aktini

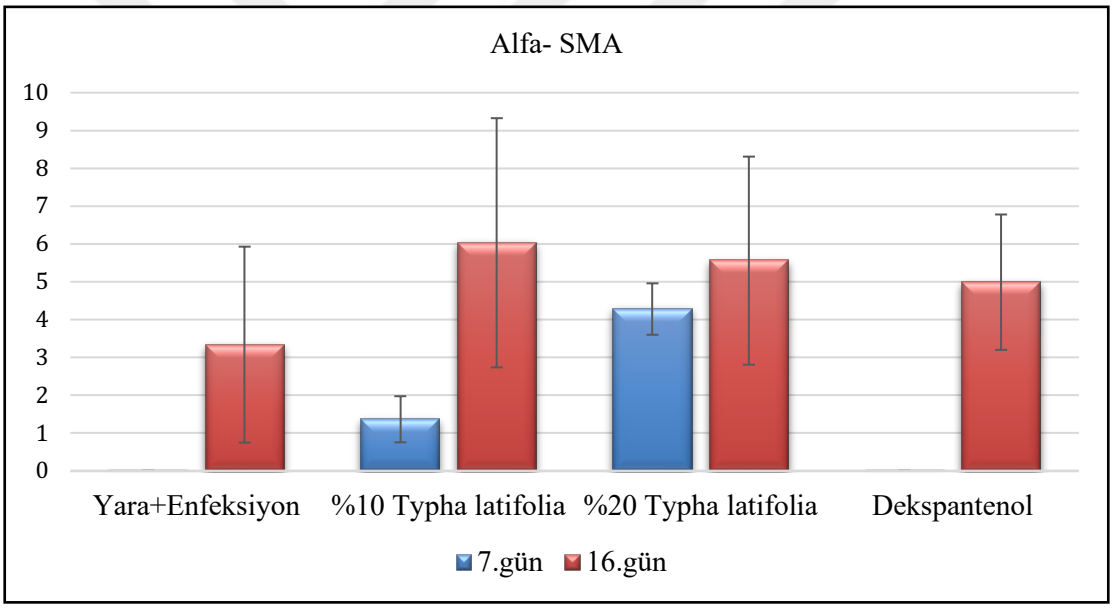
Tablo 4.11: α-SMA yoğunluğuna ilişkin değerlendirmeler

Alfa-SMA	Yara+Enfeksiyon		%10 *Typha latifolia*		%20 *Typha latifolia*		Dekspantenol		[1]p
	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	Min-Max	Ort±SS (medyan)	
7.gün	0.0006-0.012	0.0034±0.004 (0.001)^{Aa}	0.974-2.44	1.366±0.61 (1.12)^{Aba}	3.66-5.44	4.28±0.68 (4.039)^{Ba}	0.002-0.004	0.003±0.001 (0.003)^{Aa}	0.001*
16.gün	0.006-5.41	3.34±2.59 (4.73)^{Ab}	3.403-12.35	6.032±3.294 (5.44)^{Ab}	2.12-8.19	5.56±2.75 (6.07)^{Aa}	3.15-7.68	4.99±1.79 (4.83)^{Ab}	0.604
[2]p		0.010*		0.006*		0.522		0.010*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Alfa-SMA: Alfa-düz kas aktini



Şekil 4.9: Alfa-SMA yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırılması

Alfa-SMA: Alfa-düz kas aktini

Gruplar arasında 7.gün α-SMA yoğunluğu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; %20 *Typha latifolia* grubunun 7.gün α-SMA yoğunluğu, Yara+Enfeksiyon (p:0.001) ve Dekspantenol (p:0.016) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05). Gruplar arasında 16.gün α-SMA yoğunluğu düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.604; p>0.05, Resim 4.24).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün α-SMA yoğunluğu düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.010; p<0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün α-SMA yoğunluğu düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.006; p<0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün α-SMA yoğunluğu düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.522; p>0.05).

Dekspantenol grubunda; 16.gün α-SMA yoğunluğu düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.010; p<0.05, Şekil 4.9).

4.4. ELISA YÖNTEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kontrol, %10 *Typha latifolia*, %20 *Typha latifolia* ve Dekspantenol grupları TNF-α düzeyine ilişkin değerlendirmeler Tablo 4.12'de, IL-1β düzeyine ilişkin değerlendirmeler Tablo 4.13'de, TGF-β düzeyine ilişkin değerlendirmeler Tablo 4.14'de ve IL-10 düzeylerine ilişkin değerlendirmeler Tablo 4.15'de gösterilmiştir.

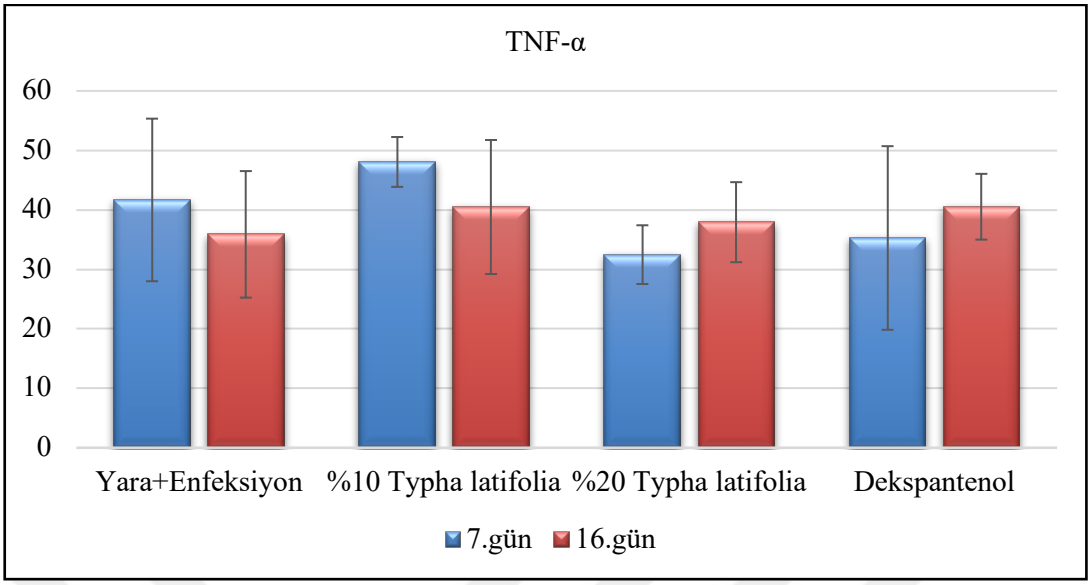
Tablo 4.12: TNF-α düzeyine ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
TNF-α	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	28.1-60	41.67±13.67 (36.2)^{Aa}	44.2-54.7	48.06±4.19 (47.8)^{Aa}	26-39.9	32.47±4.94 (32.3)^{Aa}	16-52.6	35.27±15.44 (36.2)^{Aa}	0.112
16.gün	15.5-43.9	35.88±10.64 (40.7)^{Aa}	26-53.4	40.48±11.27 (40.4)^{Aa}	26-44.6	37.93±6.73 (39.48)^{Aa}	35.6-50.8	40.53±5.53 (40.2)^{Aa}	0.971
[2]p		1.000		0.361		0.120		0.831	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.

TNF-α: tümör nekroz faktör - alfa



Şekil 4.10: TNF-α düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

TNF-α: Tümör nekroz faktör-alfa

Gruplar arasında 7.gün TNF-α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.112; p>0.05).

Gruplar arasında 16.gün TNF-α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.971; p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 7.gün ve 16.gün TNF-α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:1.000; p>0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün TNF-α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.361; p>0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün TNF-α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.120; p>0.05).

Dekspantenol grubunda; 7.gün ve 16.gün TNF-α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.831; p>0.05, Şekil 4.10).

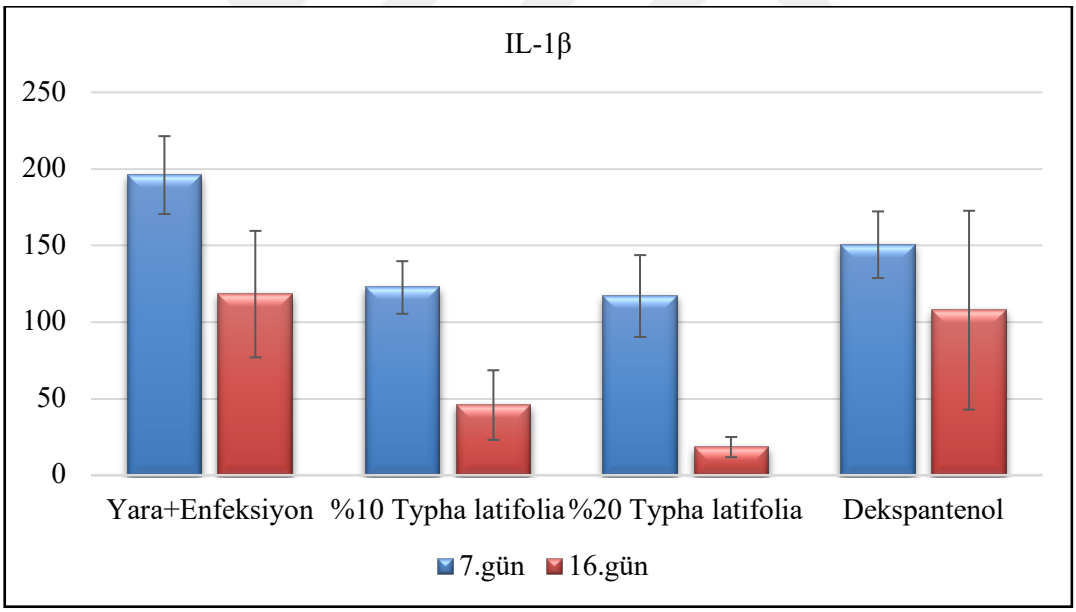
Tablo 4.13: IL-1β düzeyine ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		%10 *Typha latifolia*		%20 *Typha latifolia*		Dekspantenol		
IL-1β	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	160-220	195.97±25.42 (203)^{A}	96-142	122.6±17.17 (123)^{B}	75-145	117±26.73 (123)^{B}	128-180	150.5±21.75 (147)^{AB}	0.003 *
16.gün	76-192.51	118.2517±41.3 (117.5)	24-86	45.83±22.74 (39.5)	10.08-28.17	18.38±6.61 (18.35)	34-180	107.78±64.90 (111.1)	0.001 *
[2]p		0.010*		0.006*		0.006*		0.593	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.

IL-1β: İnterlökin 1-beta



Şekil 4.11: IL-1β düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

IL-1β: İnterlökin 1-beta

Gruplar arasında 7.gün IL-1β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.003; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Yara+Enfeksiyon grubunun 7.gün IL-1β düzeyi, %10 *Typha latifolia*

(p:0.011) ve %20 *Typha latifolia* (p:0.011) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Gruplar arasında 16.gün IL-1β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; %20 Typha latifolia 16.gün IL-1β düzeyi, Yara+Enfeksiyon grubunun (p:0.001) ve Dekspantenol (p:0.007) gruplarından anlamlı şekilde düşüktü (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün IL-1β düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.010; p<0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün IL-1β düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.006; p<0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün IL-1β düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.006; p<0.05).

Dekspantenol grubunda; 7.gün ve 16.gün IL-1β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.593; p>0.05, Şekil 4.11).

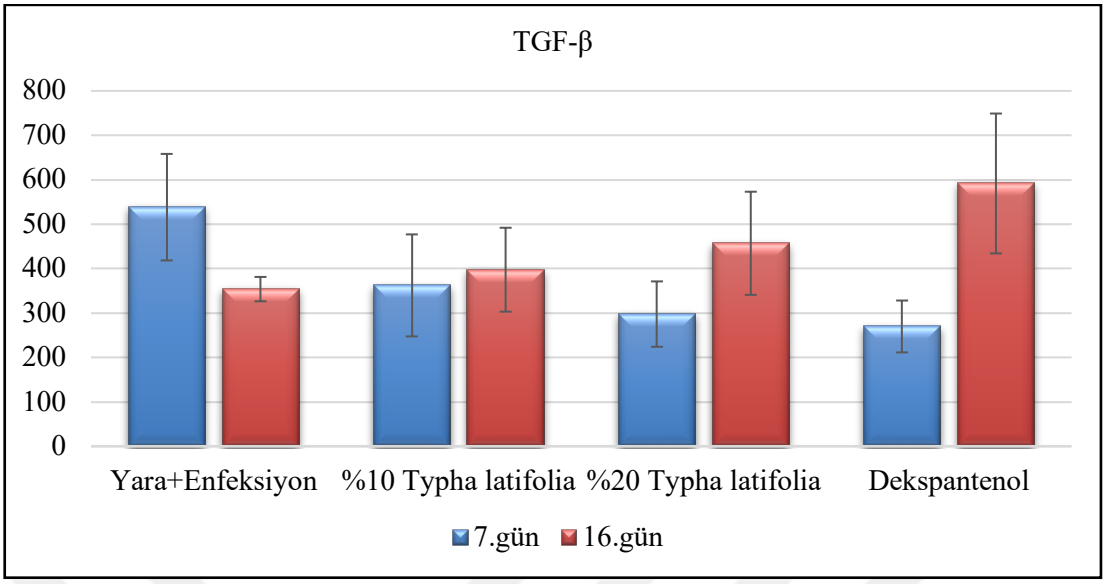
Tablo 4.14: TGF-β düzeyine ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
TGF-β	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	397-673	538.33±119.89 (531.5)^{Aa}	270-526	362.2±114.84 (304)^{Aba}	207-385	297.6±73.62 (307)^{Ba}	219-354	269.75±58.41 (253)^{Ba}	0.011*
16.gün	321-398	353.83±27.433 (351.5)^{Ab}	277-544	397.5±94.45 (392)^{ABa}	231-560	457±116.13 (488.5)^{ABb}	298-736	591.67±157.43 (615.5)^{Bb}	0.033*
[2]p		0.006*		0.361		0.045*		0.019*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.

TGF-β: Dönüştürücü büyüme faktörü- beta



Şekil 4.12: TGF- β düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

TGF-β: Dönüştürücü büyüme faktörü- beta

Gruplar arasında 7.gün TGF-β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.011; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Yara+Enfeksiyon grubunun 7.gün TGF-β düzeyi, %20 *Typha latifolia* (p:0.042) ve Dekspantenol (p:0.021) gruplarından anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Gruplar arasında 16.gün TGF-β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.033; p<0.05). Anlamlılığın tespiti için yapılan post hoc testler sonucunda; Yara+Enfeksiyon grubunun 16.gün TGF-β düzeyi, Dekspantenol (p:0.033) grubundan anlamlı şekilde düşüktü (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün TGF-β düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p:0.006; p<0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 7.gün ve 16.gün TGF-β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.361; p>0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün TGF-β düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.045; p<0.05).

Dekspantenol grubunda; 16.gün TGF-β düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.019; p<0.05, Şekil 4.12).

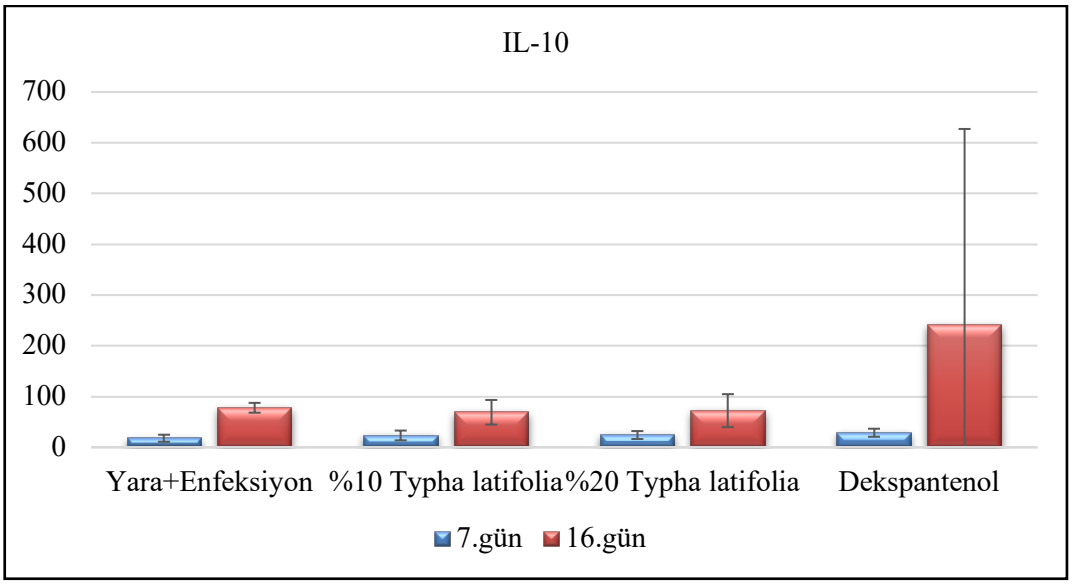
Tablo 4.15: IL-10 düzeyine ilişkin değerlendirmeler

	Yara+Enfeksiyon		**%10 *Typha latifolia***		**%20 *Typha latifolia***		**Dekspantenol**		
IL-10	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**Min-Max**	**Ort±SS (medyan)**	**[1]p**
7.gün	11-29	17.90±6.98 (16.2)^{Aa}	11-34	23.4±9.63 (22)^{Aa}	13-35	24.2±7.85 (24)^{Aa}	21-37	28.75±7.93 (28.5)^{Aa}	0.255
16.gün	68-92	77.91±9.69 (75)^{Ab}	34-97.4	69.07±24.24 (75.5)^{Ab}	14.5-110	72.27±32.46 (75.5)^{Ab}	64-1028	241.07±386.04 (84)^{Ab}	0.820
[2]p		0.004*		0.008*		0.045*		0.011*	

[1]Kruskal Wallis Test [2]Mann Whitney U Test *p<0.05

Satırlardaki büyük harfler gruplar arası farklılığı, sütunlardaki küçük harfler günler arasındaki farklılığı göstermektedir.

IL-10: İnterlökin-10



Şekil 4.13: IL-10 düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

IL-10: İnterlökin-10

Gruplar arasında 7.gün IL-10 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.255; p>0.05).

Gruplar arasında 16.gün IL-10 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.820; p>0.05).

Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün IL-10 düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.004; p<0.05).

%10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün IL-10 düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.008; p<0.05).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün IL-10 düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.045; p<0.05).

Dekspantenol grubunda; 16.gün IL-10 düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (p:0.011; p<0.05, Şekil 4.13).

5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi, deri ve diğer yumuşak dokulardaki yaralanmayı izleyen onarım sürecini oluşturmaktadır. Yaralı dokunun yapısal ve işlevsel bütünlüğünü yeniden sağlama nihai hedefi olan hücresel ve biyokimyasal olaylardan oluşan dinamik bir süreci içermektedir (119). Yara iyileşme süreci hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillendirme olarak dört faza ayrılmaktadır. Her aşamanın doğru sıralaması ve uygun süresi yara iyileşmesiyle sonuçlanmaktadır (1). İyileşmenin hızlanması için, yaralara yara iyileştirici ajanlar uygulanarak sürecin kolaylaştırılması gerekmektedir. Özellikle antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan aktivitelere sahip bileşiklerin yaraların iyileşme sürecini desteklediği bulunmuştur.

Balick ve Cox (120) Batı farmakopesinde listelenen ilaçların yalnızca %1 ila %3'ünün ciltte ve yaralarda kullanılmak üzere tasarlandığını; buna karşılık, bitkisel ilaçların en az üçte birinin bu tür kullanımlar için olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle, bitkisel ürünler gelişmekte olan ülkelerde yara tedavisi sorununa alternatif çözümler olarak görülmektedir. Çeşitli *Typha* türlerinin meyveleri ve çiçek salkımları, dünyanın farklı bölgelerinde geleneksel olarak yaraları ve kanamaları tedavi etmek için kullanılmaktadır (121,115).

Typha elephantina çiçek salkımının metanol ekstresi, Wistar sıçanlarında kesi ve eksizyon yarası modelleri ile yara iyileşmesi açısından değerlendirilmiştir. Kesi yara modelinde, topikal olarak *Typha elephantina* jeli ile 10 günlük bir süre boyunca tedavi edilmiştir. Kesi yara modelinde, yaralı kontrol sıçanlarıyla karşılaştırıldığında *Typha elephantina* jelleri ve çiçek salkımı bandajıyla tedavi edilen sıçanlarda iyileşmiş yara derisinin yüksek çekme mukavemeti gözlenmiştir. Çekme mukavemetindeki artış, kolajen liflerinin teşvik edildiğini ve bozulmuş yara yüzeylerinin kolajen tarafından sıkıca örüldüğünü göstermektedir. Eksizyon yara modelinde, tedavi edilen gruplarda yaralı kontrol hayvanlarıyla karşılaştırıldığında daha yüksek yara kontraksiyon oranı, azalmış epitelizasyon süresi gözlenmiştir (122).

Çalışmamızda, her bir sıçan yüzüstü pozisyonda olacak şekilde cetvel yardımıyla 2 cm^2 (20 mm x 10 mm) alan ölçülerek tam kat eksizyon yarası oluşturulmuştur. Ardından, oluşturulan yara *Pseudomonas aeruginosa* enjekte edilmiştir. *Typha latifolia* etanol ekstresi ile %10 ve %20'lik konsantrasyonlarda oluşturulan merhemler 7 ve 16

günlük bir süre boyunca yara bölgesine uygulanmıştır. Referans krem olarak antiinflamatuar ve anitimikrobiyal etkilere sahip dekspantenol (Bepanthen plus) merhem kullanılmıştır (123). 7. ve 16.günlerde sıçanlardan yara dokuları eksize edilerek toplanmıştır. Makroskopik olarak gözlemlediğimizde, gruplar arasında 7.gün yara iyileşme düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.125; p>0.05). Gruplar arasında 16.gün yara iyileşme düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05). %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün yara iyileşme düzeyi, Yara+Enfeksiyon (p:0.001) grubundan anlamlı şekilde yüksekti (p<0.05). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05). Bütün gruplarda yara iyileşmesi düzeyi 7.güne kıyasla 16.günde daha yüksek bulunmuştur. Yara boyutu açısından değerlendirdiğimizde, 7.gün gruplar arasında yara boyutunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p:0.117; p>0.05). 16.gün ise yara boyutu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p:0.001; p<0.05). %20 *Typha latifolia* grubunun 16.gün yara boyutu, Yara+Enfeksiyon (p:0.001) grubundan anlamlı şekilde düşüktü (p<0.05). Tüm gruplarda ise, 16.gün yara boyutu 7. Günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Sonuçlarımza göre, %20 *Typha latifolia* grubu makroskopik olarak tedavi uygulanmamış gruba göre daha yüksek iyileşme düzeyi göstermiştir. Aynı zamanda 16.gün sonunda %20 *Typha latifolia* grubunda makroskopik olarak yara boyutu merhem tedavisi uygulanmayan gruba göre daha küçük boyutta yara gözlenmiştir. Topikal dekspantenolün yara kapanmasını desteklediği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (124,125). Çalışmamız literatür ile uyum sağlamış olup %20 *Typha latifolia* merheminin yara kapanmasında referans merhem olan dekspantenolden daha iyi sonuçlar ortaya koyduğu gözlenmiştir.

Epidermis birbirinden farklı 4 farklı tabaka olarak tanımlanırken kalın deride beşinci bir tabaka bulunmaktadır. Dermis ise Papiller ve retiküler olarak 2 farklı tabakadan oluşmaktadır. Epidermal deri ekleri arasında kıl folikülleri, sebase bezler, ekrin ve apokrin ter bezleri bulunmaktadır. Çalışmamızda, yara dokusunun ışık mikroskobu ile değerlendirmesinde, derinin genel tabakaları ve epidermal deri ekleri literatür bilgisi ile uyum sağlamaktadır (12).

Başka bir çalışmada, *Typha angustata L.*'nin yara iyileştirme potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır. *Typha* çiçek salkımının sulu ekstresinden merhem hazırlanarak albino Wistar sıçanlarında oluşturulan yaralara (Eksizyon, İnsizyon ve

Yanık) uygulanmıştır. Tedavinin 14. ve 28. günlerinde sıçanlardan yara dokuları eksize edilerek toplanmıştır. Yara kontraksiyon yüzdesi, epitelizasyon süresi, hidroksiprolin ve protein içeriğinin sürekli izlenmesi, yara iyileşme etkilerini öğrenmek için parametre olarak kullanılmıştır. Test merheminin topikal uygulaması, tüm yara tiplerinde referans ilaçla tedavi edilen gruplara [(w/w %10) povidon iyot ve (w/w %10) burnol merhem ile tedavi edilen)] ve kontrol gruplarına (merhem bazlı tedavi edilen) kıyasla önemli ($p<0,05$) yara kontraksiyonu, hızlı epitelizasyon, artan hidroksiprolin içeriği ve artan katalaz aktivitesi göstermiştir. Benzer şekilde, histopatolojik çalışma da tedavi edilen hayvanlarda referans ilaçla tedavi edilen ve kontrol grubu hayvanlara kıyasla neo-vaskülarizasyon ve kollajen doku birikimi açısından daha iyi onarıcı değişiklikler ortaya koymuştur. Sonuç olarak, *Typha* bitkisinin yara iyileştirici ajanların formülasyonunda güçlü potansiyelini ortaya koymaktadır (126).

Çalışmamızda doku örneklerini histolojik olarak değerlendirdiğimizde, tüm gruplarda 7.gün yağ hücreleri oluşmaya başlamıştır. Dekspantenol grubunda ter ve yağ bezler oluşmaya başlamıştır. Dekspantenol 16. gün epitel yüksek düzeyde iyileşme görülmüş olup kalın bir epitel tabaka gözlenmiştir. Yara+Enfeksiyon (Kontrol) grubunda düşük düzeyde epitel iyileşme görülmüş olup ince bir epitel tabaka gözlenmiştir. 16.günde bütün gruplarda kıl folikülü ve kıl kökü oluşumu gözlenmiştir. 16. günde %20 *Typha latifolia* grubunda yüksek düzeyde epitel oluşumu ve belirgin olarak kas doku oluşumu gözlenmiştir.

%10 *Typha latifolia*, %20 *Typha latifolia* ve Dekspantenol gruplarında 16.günde ter ve salgı bezleri oluşumu tamamlamıştır. Hematoksilen eosin yöntemiyle boyanan yara dokusunun skorlama sonuçlarına göre, Gruplar arasında 7.gün anjiyogenez sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p:0.093$; $p>0.05$). Yara+Enfeksiyon grubunda; 16.gün anjiyogenez sayısı, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. ($p:0.003$; $p<0.05$).

Histolojik skorlamaya göre reepitelizasyonu değerlendirdiğimizde, gruplar arasında 7.gün reepitelizasyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p:0.870$; $p>0.05$). Yara+Enfeksiyon grubunda; 7.gün ve 16.gün reepitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p:0.201$; $p>0.05$). %10 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün reepitelizasyon düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.002$; $p<0.05$).

%20 *Typha latifolia* grubunda; 16.gün reepitelizasyon düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. (p:0.013; p<0.05).

Yeniden epitelizasyon, granülasyon dokusu ve vasküler ağ oluşumunu içeren doku rejenerasyonu aşaması sağlıklı bir doku iyileşmesi için önem taşımaktadır. Dekspantenol grubunda; 7.gün ve 16.gün reepitelizasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p:0.069; p>0.05). Mikroskopik olarak reepitelizasyonu değerlendirdiğimizde, *Typha latifolia* ve Dekspantenol gruplarında yaraların yeniden epitelizasyonu, düzenli ve keratinize epidermal astarın yeniden oluşturulmasıyla sağlam epidermal oluşum gözlenmiştir. Topikal dekspantenolün fibroblast çoğalmasını artırdığı ve yara iyileşmesinde yeniden epitelizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (127). Sonuçlarımız literatür ile uyumlu olup, Typha latifolia merhemi dekspantenol merhem ile karşılaştırılabilir etki göstermiştir.

Histolojik skorlamaya göre granülasyon dokusunu değerlendirdiğimizde, gruplar arasında 16.gün granülasyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p:0.048; p<0.05). Yara+Enfeksiyon grubunun 16. gün granülasyon dokusu, %20 *Typha latifolia* (p:0.015) ve Dekspantenol (p:0.015) gruplarından anlamlı şekilde düşük bulunmuştur(p<0.05). Tüm gruplarda 7.gün granülasyon dokusuna kıyasla 16. günde daha kalın bir granülasyon dokusu gözlenmiştir. Granülasyon dokusu 16. günde mikroskopik olarak incelendiğinde yeni yapılmış fazla sayıda kapiller damar ve sayısı gittikçe artan fibroblast ve bağ dokusu gözlenmiştir. Granülasyon dokusu yerini skar dokuya bırakmıştır.

Histolojik yara skorlamasına göre anjiyogenez oluşumunu değerlendirdiğimizde, %10 *Typha latifolia* (p:0.688;p>0.05), %20 *Typha latifolia* (p:0.072;p>0.05) ve Dekspantenol (p:0.539;p>0.05) gruplarında 7.ve 16.günde anjiyogenez oluşumunda istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Sadece kontrol grubunda 7. güne kıyasla 16. günde anjiyogenez oluşumu daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda 7.gün neredeyse hiç yeni kan damarı oluşmamışken diğer gruplarda ortalama olarak 3 yeni kan damarı oluşmuştu. Diğer gruplarda kontrol grubuna kıyasla daha erken kan damarı oluşumu gözlenmiştir. Anjiyogenez granülasyon dokusu oluşumu için önem arz etmektedir. Normal kan akışının yeniden sağlanmasını ve dolayısıyla yeterli oksijen ve besin alışverişini ve metabolik atıkların uzaklaştırılmasını sağladığı için yara iyileşmesi hızlanacaktır. Doku yara iyileşmesi doğru bir şekilde gerçekleştirildiyse, damar sayısı

normale döner ve yaralanmamış ciltte gözlemlenen seviyeye yakın bir seviyeye geri dönmektedir. Yeni damar oluşumuna bağlı olarak granülasyon dokusu 16.günde kontrol grubuna kıyasla %20 *Typha latifolia* ve Dekspantenol gruplarında göre daha kalın gözlenmiştir. Bu durum yara iyileşmesinin kontrol grubu harici diğer gruplarda daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir.

Histolojik yara skorlamasına göre inflamatuar hücre sayısını değerlendirdiğimizde, gruplar arasında 7.gün inflamatuar hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. %20 *Typha latifolia* grubunda inflamatuar hücre sayısı Yara+Enfeksiyon (p:0.010) ve Dekspantenol (p:0.019) gruplarına kıyasla anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Bu durum, %20 *Typha latifolia* merheminin anti-inflamatuar etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. Saroj ve ark. (128) *Typha angustifolia* polen tanelerinin sulu ve %70 metanol ekstraktlarının antiinflamatuar aktivitesini araştırmışlardır. *Typha angustifolia* polen tanelerinin hem sulu hem de %70 metanol ekstreleri, kontrolle karşılaştırıldığında karragenan kaynaklı pençe ödeminin önemli doz bağımlı inhibisyonunu göstermiştir. Çalışma sonucunda, *Typha angustifolia* polen tanelerinden elde edilen ekstraktların hem akut hem de kronik inflamatuar hastalıkların tedavisinde etkili olduğunu ve dolayısıyla geleneksel kullanımını desteklediğini göstermektedir (128).

Diğer bir *Typha* türü olan *Typha domingensis Pers*. dişi çiçek salkımları geleneksel tıp tedavilerinde yanık ve yaralarda kullanılmıştır. *Typha domingensis*'in erkek veya dişi çiçek salkımlarından hazırlanan merhem formülasyonları %5 ve %10 konsantrasyonlarda aktivite testine tabi tutulmuştur. Dişi çiçek salkımları artan polaritede çözücülerle ardışık ekstraksiyonlara tabi tutularak; n-hekzan, kloroform, metanol ve su ekstraktlarının yara iyileştirme aktivitesi araştırılmıştır. Doğrusal kesi ve dairesel eksizyon yara modelleri, sıçanlarda ve farelerde test materyallerinin iyileşme potansiyelinin değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Doku kesitleri ayrıca histopatolojik tekniklerle değerlendirilmiştir. Dikkat çekici yara iyileştirme aktivitesi sadece merhem bazında %5 konsantrasyonda metanol ve sulu özütlerinin dişi çiçek salkımı için gözlemlenmiştir. Yara iyileştirme etkisinin referans merhem Madecassol® ile karşılaştırılabilir olduğu bulunmuştur. Histopatolojik değerlendirmenin sonuçları hem doğrusal kesi hem de dairesel eksizyon yara modellerinin sonuçlarını desteklemiştir. Deneysel çalışma, *Typha domingensis*'in dişi çiçek salkımının test edilen modellerde

farelerde ve sıçanlarda dikkat çekici yara iyileştirme aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur (129).

Yara iyileştirici olarak kullanılan *Typha angustifolia*, İran'ın Huzistan eyaleti gibi sulak alanlarda bulunan doğal bir bitkidir. *Typha angustifolia* polen ekstresinin farelerde deneysel tam kalınlıkta yara iyileşmesi üzerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Otuz altı fare eşit olarak sırasıyla tuzlu su kontrol grubu, eucerin kontrol grubu ve tedavi grubu (polen ekstresi) 3 gruba ayrılmıştır. Anesteziden sonra, ense arkasından ve omuz arasından 0,5 x 0,5 cm boyutunda bir deri parçası çıkarılarak tedavi edilmiştir. Çalışmanın sonunda, mononükleer hücreler, polimorfonükleer, fibroblastlar ve anjiyogenez tedavi grubunda diğer gruplardan düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Tedavi grubunda yara kontraksiyonu daha az olmasına rağmen, 14. günde süreç diğer gruplardan daha fazla gözlenmiştir. ($p<0,001$). Tedavi grubunda, yara kontraksiyonu süreci başlangıçta daha az şiddetliyken, sonrakilerde diğer gruplardan daha güçlü bulunmuştur ($p<0,001$). 21. günde tüm gruplarda tam yara iyileşmesi gözlenmiştir. Bu çalışmada, *Typha angustifolia* polen ekstresi uygulanmasının farelerde yara iyileşme süreci üzerinde olumlu bir etkisi olduğu ve bu nedenle yara iyileşmesinde etkili olduğu görülmüştür (130).

T. domingensis Pers.'in dişi çiçek salkımının özütünün farelerde ve sıçanlarda yara iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir, ancak erkek çiçek salkımının ekstresi etkisiz olarak bulunmuştur. *T. domingensis*'in dişi çiçek salkımının yara iyileştirici etkisinin, fenolik bileşenlerinin antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı varsayılmıştır (131).

Yara iyileşmesi, derinin farklı hücre türlerinin ve bağışıklık sisteminin dört ayrı fazda birlikte çalıştığı dinamik ve karmaşık bir rejeneratif süreçten oluşmaktadır. Reepitelizasyon sırasında keratinositler yara kenarında çoğalır, daha sonra korneositlere farklılaşır ve ince yeni bir epidermis oluşturmaktadır. Bu süreci fibroblastların yara kenarına göçü izler ve daha sonra çoğalarak hücre dışı matris üretilmektedir. Yeniden şekillendirme fazı sırasında fibroblastlar miyofibroblastlara dönüşür ve kolajen birikmektedir (132). Her hücre tipinin kendi işlevi olsa da büyüme faktörleri ve sitokinlerle çapraz iletişimi yaranın kapanması için gerekmektedir (133).

Yara iyileşme süreci çoğunlukla in vivo modellerle araştırılır ancak etik ve finansal nedenlerden dolayı bu modeller genellikle tarama için in vitro biyolojik analizlere dönüştürülebilmektedir. Hücre kültürü tabanlı modeller, insan deri

fibroblastları ve keratinositlerinin çoğalması, metabolik aktivitesi ve farklılaşması gibi farklı yara iyileşme süreçlerini kapsamaktadır.

Kirsten ve Alexandra (134) *T.latifolia* meyvesinin sulu ekstresinin polisakkaritlerini izole etmek ve bunların insan deri hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak, *T.latifolia* meyve polisakkaritlerinin yara iyileşme sürecinin iki aşaması olan reepitelizasyon ve yeniden şekillendirme üzerinde daha az etkili olduğu gözlenmiştir.

Yara iyileşme sürecinde granülasyon dokusu oluştuğunda, aktive olmuş fibroblastların bir kısmı miyofibroblastlara dönüşmektedir (135). Granülasyon dokusunun önemli bir bileşeni olan miyofibroblast, yara iyileşmesi, doku onarımı ve bağ dokusu yeniden şekillenmesi sırasında önemli bir yer teşkil etmektedir (136). Damarların etrafındaki perisitler veya vasküler düz kas hücreleri, mikrovasküler endotel hücreleri ve kemik iliği hücreleri miyofibroblastların başka bir olası kaynağını temsil etmektedir. Bu hücreler, TGF-β1 tarafından α-SMA ifade etmek üzere indüklenebilmektedir (137). Sıçanlarda açık bir yaranın iyileşmesi sırasında granülasyon dokusunda α-SMA, düz kas miyozini ve desmin ekspresyonunu, elektron mikroskobu ve immünhistokimyasal yöntem kullanarak incelenmiştir. Fibroblastik hücrelerde, mikrofilamentler yaralanmadan 4 gün sonra yoktu ancak 6. günden başlayarak 15. güne kadar kademeli olarak artmış; bu sırada fibroblastik hücrelerin (miyofibroblastlar) yaklaşık %70'inde belirgin olduğu görülmüştür (138).

Başka bir çalışmada, yara iyileşme süreci sırasında Mezenkimal kök hücreler'den salınan TGF-β tarafından indüklenen miyofibroblastın α-SMA ekspresyonu araştırılmıştır. Mezenkimal kök hücre'lerin yara iyileşmesinde miyofibroblast aktivitesini düzenlemedeki rolünü belirlemek için, immünofloresan boyama yöntemi kullanarak α-SMA ekspresyonu değerlendirilmiştir. Mezenkimal kök hücre'lerin (MKH) uygulanmasından 6 gün sonra, yüksek doz MKH'lerin düşük doz MKH'lere göre daha yüksek bir α-SMA artışına neden olduğu gözlenmiştir (139).

C3H farelerinin sırtlarında tam kalınlıkta yaralar oluşturarak valproik asit'in yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırılmıştır. Yara oluşturulduktan 7 gün sonra, valproik asit ile tedavi edilen farelerde belirgin iyileşme ve yara boyutunun azaldığı gözlenmiştir. Yaralardaki α-SMA, kollajen I ve kollajen III önemli ölçüde artmıştır. α-SMA dermal

fibroblastlarda kademeli olarak artmış ve seviyesi yaralanmadan 7 gün sonra maksimuma ulaşmıştır (140).

Çalışmamız α-SMA yoğunluğu düzeyi açısıdan değerlendirildiğinde, %20 *Typha latifolia* grubunun 7.gün α-SMA yoğunluğu, Yara+Enfeksiyon (p:0.001) ve Dekspantenol (p:0.016) gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Yara+Enfeksiyon, %10 *Typha latifolia* ve Dekspantenol gruplarında 16.gün α-SMA yoğunluğu 7. Günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. α-SMA yoğunluğunun %20 *Typha latifolia* grubunda yüksek olma sebebi hızlı yara iyileşmesi ile ilişkilendirilebilir. %20 *Typha latifolia* grubunun proliferasyon aşamasına daha hızlı geçerek diğer gruplara göre daha erken yara iyileşmesi görülmektedir.

Dekspantenolun insan fibroblastları üzerine etkisinin araştırıldığı in vitro bir çalışmada, kültürlerin pantotenik asit veya türevleriyle inkübe edilmesinin çoğalmayı, hücre göçünü, fibroblastların bağlanmasını ve kolajen sentezini artırdığı gözlenmiştir (141).

Fare fibroblast hücre kültürlerinde, *Centella asiatica* ve dekspantenolden titre edilmiş ekstrelerin kültürlenmiş fare T15 fibroblastları üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu iki ilacın fibroblast hücrelerini aktive ederek yara iyileştirici aktivite gösterdiği bulunmuştur (142).

Çalışmamızda, granülasyon dokusunda yeni oluşan kılcal damarların etrafında bazı dağılmış mast hücreleri gözlenmiştir. Yara bölgesinde artmış mast hücresi sayısı, daha iyi vasküler proliferasyon, daha yüksek fibroblast konsantrasyonu ve belirgin epitel tomurcukları gözlenmiştir. Mast hücrelerinin yara iyileşmesinin proliferasyon aşamasında, özellikle granülasyon dokusu oluşumunda, fibroblast proliferasyonu ve anjiyogenezde rol oynadığı görülmüştür.

In vitro çalışmalar, Mast hücresi'nin fibroblastların miyofibroblast fenotipine dönüşümünü destekleyebileceğini, fibroblast çoğalmasını ve göçünü uyarabileceğini ve neovaskülarizasyon bölgelerinde biriken Mast hücre (MH)'lerin neoanjiyogenezi indükleyebileceğini göstermiştir (143). Bu bulgular MH'lerin yara iyileşmesinde rol oynadığını göstermektedir. Egozi ve ark., MH'lerin inflamatuar bir yanıt olarak yara iyileşmesinin temel olaylarını kontrol edebildiğini göstermiştir (144). Bununla birlikte diğer yazarlar MH'lerin hasarlı dokunun revaskülarizasyonunda, reepitelizasyonda ve bağ dokusunun birikiminde ve sonrasında yeniden şekillenmesinde rol oynadığını ileri

sürmüşlerdir (145,146). MH sayıları ve degranülasyon indeksi travmadan sonra en fazla 1-3 saat içinde yara sınırında artar ve bundan sonra azalır, 6 saat veya daha fazla bir süre sonra başlangıç değerlerinden daha düşük sayıda mast hücre bulunmaktadır (147). Bu hücreler daha sonra sayıca tekrar artar, en fazla 10 güne kadar ve bundan sonra azalarak yaralanmadan 21 gün sonra normal değerlerine dönmektedir. Geç artış, monosit kemoatraktan protein 1' in yukarı düzenlenmesi ve MH'ler için güçlü bir kemotaktik madde olan TGF-β üretimi ile ilişkili olabilmektedir (148). Onarımın geç evrelerinde, MH'den türetilen büyüme faktörleri ve sitokinler aktive edilmiş fibroblastların fenotipini etkileyerek fibroplaziden kasılmaya ve yaranın nihai iyileşmesine geçişi sağlayan miyofibroblastların ortaya çıkmasını sağlayabilmektedir. Doku yeniden şekillenmesiyle ilgili olarak, MH'ler fibroblastları aktive ederek kollajen sentezini teşvik edebilmektedir. Bu etki kısmen insan dermal fibroblastlarında tip I kollajen sentezini uyardığı gösterilen triptaza bağlı olabilmektedir (149,143). Cilt dışında, MH'ler ekstraselüler matriksin bozunmasını başlatarak matriks metalloproteinazlar gibi güçlü proteolitik enzimler üretir ve salgılamaktadır. Son olarak, kutanöz yeniden şekillendirmenin cilt MH'leri ve MH'den türetilen histamin tarafından düzenlendiği gösterilmiştir. Aslında, yaralı sıçanlarda MH histamin sentezinin inhibisyonunun granülasyon dokusunun hidroksiprolin içeriğini azalttığı, epitelizasyonu geciktirdiği ve yara kırma gücünü azalttığı gösterilmiştir (150,151).

Yetişkin fare derisinde, bazı deneysel kanıtlar MH'lerin fibroblast aktivitesini artırdığını ve bunun da onarımın skar oluşumu/yeniden şekillendirme aşamasında kolajen birikiminden ve yeniden şekillendirmeden sorumlu olduğunu göstermiştir. Ek olarak, diğer çalışmalar MH'lerin kolajen üretiminden daha fazla kolajen olgunlaşmasını ve yeniden şekillenmesini etkileyebileceğini öne sürmüştür (152).

Garbuzenko ve ark. (153) triptazın ekstraselüler matrikste mast hücresi kaynaklı kollajen birikiminde merkezi olduğunu bulmuştur. Mast hücresi ve salgılarının fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezi üzerindeki etkisini incelemek için insan mast hücre hattını (HMC-1) kullanmışlardır. Mast hücrelerinin etkileri tek katmanlı kültürler ve kollajen kafesleri üzerinde ölçerek fibroblast ve kollajen miktarını hesaplamışlardır. Mast hücresi triptazının kollajen sentezi ve birikiminde büyük bir rol oynadığı bulunmuştur. Mast hücreleri (MHler), doğal bağışıklık sisteminin temel hücreleridir. MH'lerin, nötrofiller, dendritik hücreler ve T hücreleri gibi bağışıklık hücrelerini harekete geçiren

veya aktive eden çözünür faktörleri serbest bırakarak bakteriyel enfeksiyonların savunmasında yer aldığı gösterilmiştir (154). Ayrıca, fagositler gibi davranarak, antimikrobiyal peptitler serbest bırakarak ve hücre dışı tuzaklar oluşturarak antibakteriyel savunmaya da katkıda bulunabilmektedir. Buna karşılık, MH'lerin cilt yara iyileşmesindeki rolü tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda, MH'lerin belirli yara iyileşmesi modellerinde gerekli olduğunu gösterirken, diğerleri cilt yarasının kapanmasının MH'lerin yokluğundan etkilenmeyebileceğini bulunmuştur (155,156).

Yara enfeksiyonları önemli bir sağlık sorunudur ve antibiyotik direnci artmaktadır. Mast hücrelerinin (MH'ler) belirli bakteriyel enfeksiyonlarda konak savunma tepkilerine katkıda bulunduğu gösterilmiştir, ancak yara enfeksiyonundaki rolleri bilinmemektedir. MH'den yoksun fare suşu *Pseudomonas aeruginosa* ile enfekte edilmiş cilt yaralarında yara kapanmasının önemli ölçüde geciktiği bulunmuştur. Bu gecikme, MH'lerin yokluğunda bozulmuş bakteriyel temizlik ile ilişkili olduğu görülmüştür. MH'lerin tutunması hem bakteriyel temizliği hem de yara kapanmasını geri kazandırmıştır. Bakteri miktarındaki azalma, MH'lerden salınan IL-6'ya bağlıydı ve IL-6 eksikliği olan fareler, yara enfeksiyonunu kontrol edemediği bulunmuştur. Rekombinant IL-6 ile tedavi, bakteriye sayısında azalma, yara enfeksiyonunun kontrolü ve normal yara iyileşmesi ile sonuçlanmıştır. Sonuç olarak, konakçının doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini artırmak için bir savunma mekanizmasının varlığını, yani MH kaynaklı IL-6'nın keratinositlerin antimikrobiyal fonksiyonları üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır (157).

Çalışmamızda, gruplar arasında 7.gün mast hücre sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Dekspantenol grubunun 16.gün mast hücre sayısı, %10 *Typha latifolia* (p:0.003) ve %20 Typha latifolia (p:0.016) gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. *Typha latifolia* gruplarında mast hücre sayısı bakımından 7. ve 16.günlerde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yara+Enfeksiyon ve Dekspantenol gruplarında 16. gün mast hücre sayısı 7.günden daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni olarak iki farklı grupta bulunan mast hücrelerinin farklı işlevsel özelliklerine sahip oldukları ve farklı görevlerde farklı içerikler saygılabildiklerini söyleyebiliriz. Mast hücre proteazlarına yönelik yapılacak biyokimyasal bir çalışma ile ileride literature katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, Makroskopik ve Histopatolojik gözlemin yanı sıra TNF-α, IL-1β, TGF- β ve IL-10 sitokin düzeylerine de bakılmıştır. Yara yerindeki enfeksiyon, aşırı nötrofil infiltrasyonu, proinflamatuar sitokinlerin yüksek ifade seviyeleri ve yüksek MMP seviyelerinin üretimiyle sonuçlanmaktadır. Bu sitokinler ve proteazlar, konakçının inflamasyon tepkisini değiştirir ve yara yerindeki doku bozulmasını daha da artırarak iyileşmenin gecikmesine neden olmaktadır (158). Uzun süreli inflamasyon, ciddi iyileşme bozukluklarına ve yara izine neden olmaktadır. Özellikle, yüksek IL-1β seviyeleri iyileşmeme ve yara izi oluşumu ile ilişkilendirilmektedir (159).

Başka bir çalışmada, *Calophyllum inophyllum Linn*'den izole edilen kalofilolid bileşiğinin antiinflamatuar ve yara iyileştirici aktiviteleri araştırılmıştır. Serumlarda pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1β, IL-6 ve TNF-α) ve anti-inflamatuar sitokinin (IL-10) ifadesini yaralanma sonrası 1., 5. ve 7. günlerde ölçülmüştür. Kalofilolid, tedavi sonrası 5. ve 7. günlerde sistemik proinflamatuar sitokinleri taşıyıcıya kıyasla sırasıyla IL-1β, IL-6 ve TNF-α azalma gözlenmiştir. Bununla birlikte, kalofilolid, 5. günde IL-10 antiinflamatuar sitokin ekspresyonunu %30 oranında önemli ölçüde artığı ancak 7. günde artış gözlenmemiştir. Kalofilolid tedavisinin proinflamatuar sitokinler IL-1β, IL-6 ve TNF-α ve antiinflamatuar sitokin IL-10'un düzenlenmesi yoluyla yara iyileşme sürecini hızlandırdığı bulunmuştur (160).

İnterlökin-1 ve TNF-α gibi inflamatuvar belirteçlerin, akut iyileşen yaralara kıyasla kronik venöz ülserlerde çok daha yüksek seviyelerde bulunduğu gösterilmiştir (161). Proinflamatuar bir sitokin olan TNF-α, yara iyileşmesinin inflamasyon fazında artırılır ve erken yara iyileşmesini dolaylı olarak başlatmada rol oynadığı görülmüş, ancak yüksek TNF-α seviyeleri yara iyileşmesini geciktirebilmektedir (132). Bu nedenle, inflamasyon aşamasında artan TNF-α'nın hızlı yara iyileşmesi için azaltılması gerekmektedir. IL-10, makrofajlar ve lenfositler gibi çeşitli hücreler tarafından üretilen bir anti-inflamatuar sitokindir ve aynı zamanda anjiyogenez oluşumunuda etkilemektedir. Yaraların iyileşmesi, kan hücreleri, sitokinler ve büyüme faktörleri gibi karmaşık bir ağın aktivitesini içerir ve bu süreç, yaralı dokunun normal durumuna geri dönmesiyle sonuçlanmaktadır. Wagner ve ark. (162) Wistar ratlarının dilinin sırtında yaralar oluşturarak ağız yaralarının iyileşmesi sırasında fotobiomodülasyon (PBM) etkilerini sitokin seviyeleri ve anjiyogenez oluşumu üzerine değerlendirmişlerdir. Yaraların iki noktasına günde bir kez indiyum-galyum-alüminyum-fosfit ile ışınlama yapılmış ve

uygulama 14 gün sürmüştür. Araştırmacılar, doku seviyelerinde IL-1β ve TNF-α düzeylerini enzim bağlı immünosorbent test (ELISA) ile incelemişlerdir. PBM, ağız yaralarının iyileşmesinin erken aşamasında IL-1β düzeylerini artırmış ve ağız yaralarının iyileşmesinin tüm aşamalarında TNF-α düzeylerinde artış gözlenmiştir.

TNF-α'nın bu sürekli ifadesinin deri dokusunda homeostazın düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle, yara dokularında ölçülen TNF-α düzeyleri normal bazal düzeylerden daha yüksek bulunmuştur. Bu durumda TNF-α'nın yara iyileşme sürecinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu hipotezi desteklemek için, nötralize edici anti-TNF-α mAb ile tedavi yara kapanmasında gecikmeye neden olmuş ve biyoaktif TNF-α uygulaması özellikle erken fazda yara kapanmasının neden olmuştur. Yara iyileşme sürecindeki proliferasyon fazı sırasında, makrofajlardan salgılanan TNF-α, fibroblastlar tarafından proteoglikan ve fibronektin üretimini indükleyerek yaralı dokularda ekstraselüler matrisin oluşumunu desteklediği ortaya çıkmıştır (163). Bu süreç, TGF-β tarafından desteklenen prolifere fibroblastlardan gelen kolajen senteziyle daha da güçlendirilmektedir. Bu nedenle, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılanan proteazlar, fibroblastlar tarafından üretilen pro-TGF-β'dan biyoaktif TGF-β üretiminde yakından rol oynamaktadır (164).

Öte yandan, makrofajlar tarafından üretilen TGF-β1 ve TKBF'nün bazı fibroblastlardan miyofibroblastların üretimini uyardığı ve bunun da ekstraselüler matrisin kasılmasına ve ardından yaranın kapanmasına yol açtığı iyi bilinmektedir. Daha önceki bulgular, biyoaktif TNF-α'nın nötralizasyonunun, fibroblastların çoğalmasını ve bu hücreler tarafından oluşturulan hücre dışı matrisin oluşumunu engelleyerek panniculus carnosus'un kapanmasını ve genel yara iyileşmesini geciktirebileceğini düşündürmektedir (165).

Tümör nekroz faktör-alfa ekspresyonunun lokal yükselmesinin yara onarımını artırabildiği, TNF-α 'nın tükenmesinin ise tam tersi etki yarattığı gösterilmiştir. Yara bölgesindeki TNF-α doğrudan veya dolaylı olarak fibroblast proliferasyonunu uyarır, yeniden epitelizasyonu ve neovaskülarizasyonu destekler ve yara kırılma mukavemetini artırmaktadır. Septik hayvanların yarasında TNF-α'nın azalmasının yara iyileşmesinin bozulmasına neden olduğu bulunmuştur (166). Öte yandan, kollajen ve hidroksiprolin birikim hızının ve granülasyon dokularının gelişiminin TNF- α tedavisinden sonra

azaldığı gözlenmiştir. TNF-α'nın sürekli subkutan uygulamasının kollajen birikimini ve granülasyon dokusu oluşumunu indüklediği gösterilmiştir (167).

Roesel ve Nanney (168) domuzların sırtındaki eksizyonel yaraların iyileşmesi sırasında TNF-α'nın anjiyojenik etkisini göstermişlerdir. IL-1β, TNF-α ve IFN-γ gibi proinflamatuar sitokinlerin yara onarımında zararlı olduğu düşünülebilir ancak yara iyileşmesinin erken evrelerinde gerekli oldukları gösterilmiştir (169). IL-1β, monositler, aktive makrofajlar, keratinositler ve diğer epitel hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücrelerde üretilen proinflamatuar bir sitokindir (170). IL-1β, sağlıklı kişilerde genellikle sürekli olarak ifade edilmez. Nötrofilleri aktive edebilir, adezyon molekülü ifadesini yukarı düzenleyebilir, diğer proinflamatuar sitokinlerin salgılanmasını destekleyebilir ve ayrıca lokal inflamatuar süreçlere katkıda bulunabilmektedir (171).

Attard ve ark. (172) IL-1 reseptörü silinmiş farelerde (IL-1R1 – / –) kutanöz yara kapanmasında gecikme tespit etmişlerdir. İnflamasyon azaltıldıktan sonra keratinositler ve fibroblastlar yaralı dermise doğru çoğalıp göç etmektedir. IL-10, makrofajların aktivitesini baskılamak ve sitokin üretimlerini (IL-6 ve IL-1β) azaltmak için etki göstermektedir (173). IL-10'un yara onarımında rol oynadığı öne sürülmüştür. IL-10 ekspresyonu erken proinflamatuar sitokin yanıtını takip eder, hem inflamatuar yanıtın büyüklüğünü hem de süresini sınırlar ve yaranın proliferatif bir iyileşme fazına geçmesine izin verir (174).

İnterlökin-10'un deneysel ve klinik çalışmalarda etkili bir anti-skarlaşmada aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (175). Henderson ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, farelerde kollajenin yeniden oluşumu önemli ölçüde değiştirmese de, IL-10'un yara büzülme oranını azalttığı öne sürülmüştür (176). Buna karşılık, Eming ve ark., IL-10'un sağlıklı hayvanlarda komplikasyonsuz yaraların kapanmasını geciktiren doku onarımı üzerinde önemli etkileri olduğunu ilk kez göstermiştir. Bu etki, mutant hayvanlarda hızlandırılmış epitelizasyona ve yara dokusunun artan büzülmesine atfedilmiştir (177). *Typha angustifolia* kök saplarında tespit edilen bağırsak anti-inflamatuar aktivitesi, inflamasyon ve diyareye karşı geleneksel kullanımlarla ilişkilendirilmiştir (178). *Typha orientalis*'in kökü geleneksel olarak idrar yapma zorluğu, galaktoforitis purulenta, boğmaca ve alerjik dermatit için bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Ancak deneysel modellerdeki etkisi bilinmemektedir. *Typha orientalis*' in insan mast hücre hattı HMC-1'de forbol 12-miristat 13-asetat (PMA) artı kalsiyum

iyonofor A23187 ile indüklenen inflamatuar sitokin üretimi ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) aktivasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. *Typha orientalis*'in, TNF-α ve IL-6 gibi PMA artı A23187 ile indüklenen sitokinleri inhibe ettiği ortaya çıkmıştır (179). Typha cinsine ait birkaç bitkinin, nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonu; nitrik oksit, IL-4, IL-5, IL-13 ve prostaglandin üretiminin inhibisyonu; ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz 2 ekspresyonunun inhibisyonu ile ilgili anti-inflamatuar etkiler gösterdiği kanıtlanmıştır (180,181).

Çalışmamızda, gruplar arasında 7.gün ve 16 gün TNF-α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. TNF-α'nın yara iyileşme sürecinin her aşamasında yer aldığı literatürde bulunan çalışmalar tarafından kanıtlanmıştır. Sonuçlarımızda, TNF-α yara iyileşmesinin her aşamasında ifade edilmiştir. Sürekli olarak ifade edilmesinin literatürle uyumlu olarak granülasyon dokusunun artmasına ve yara iyileşmesinin hızlanmasına sebep olduğu düşünülmektedir.

İnterlökin-1 beta düzeylerini değerlendirdiğimizde, gruplar arasında 7.gün istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Yara+Enfeksiyon grubunun 7.gün IL-1β düzeyi, %10 *Typha latifolia* (p:0.011) ve %20 *Typha latifolia* (p:0.011) gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Sonuçlar, 7.günde *Typha latifolia* ve Dekspantenol' ün IL-1β'yı inhibe ettiği gözlenmiştir. IL-1β düzeyleri, 16.günde %20 *Typha latifolia*, Yara+Enfeksiyon grubunun (p:0.001) ve Dekspantenol (p:0.007) gruplarından anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. %20 *Typha latifolia* grubunun IL-1β'yı inhibe ederek merhemin Dekspantenol'den daha yüksek anti-inflamatuar etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir.

Transforme edici büyüme faktörü beta yara iyileşmesinin tüm evrelerinde farklı hücresel fonksiyonları düzenleyen önemli bir büyüme faktörüdür, bunlar arasında ekstraselüler matriks üretimi, proteaz ekspresyonu, kemotaksi, göç ve farklı hücre tiplerinin çoğalması yer almaktadır (182). Sıçan yara iyileşmesinin başlangıç evresinde MMP-9 ve TGF-β ekspresyonu, inflamatuar nekrotik dokunun temizlenmesini desteklemek için hücre göçünü düzenlemektedir (183).

Sagwal ve ark. (184) tarafından yapılan bir çalışmada, serumdaki TGF-β1 seviyelerinin tüm bakteri enfeksiyon tiplerinde arttığı ve *Pseudomanas aeruginosa* ile enfekte olan hastalarda karşılaştırılabilir şekilde daha fazla artış olduğu bulunmuştur.

Yang ve ark. (185) *P.aeruginosa* gibi kamçılı bakterilerle kolonizasyonun MAP kinazları aracılığıyla daha yüksek bir TGF-β1 ekspresyonuna yol açabileceği hipotezini ortaya atmıştır. Buna ek olarak, Eickmeier ve ark. (186) en az bir tür bakteriyel enfeksiyona dair mikrobiyolojik kanıtı olan hastalarda TGF-β1 ve TNF-α'nın daha yüksek bir eş ekspresyonunu bulmuştur.

Transforme edici büyüme faktörü beta düzeylerini değerlendirdiğimizde, 7.günde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Yara+Enfeksiyon grubunun 7.gün TGF-β düzeyi, %20 *Typha latifolia* (p:0.042) ve Dekspantenol (p:0.021) gruplarından anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Literatürde bakteriyel kolonizasyonla birlikte TGF-β'nın artış gösterdiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Yara+Enfeksiyon grubunda *Pseudomonas aeruginosa* sayısının diğer gruplara göre daha yüksek olmasından dolayı TGF-β düzeyinin daha fazla artış gösterdiği düşünülmektedir. Yara+Enfeksiyon grubunun 16.gün TGF-β düzeyi Dekspantenol (p:0.033) grubundan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Yara+Enfeksiyon grubu bakteri sayısında düşüş yaşanmış olup makroskopik ve histolojik olarak yaranın yeniden şekillenme aşamasını geçiş yaptığı görülmüştür. Yara onarıcı olarak bilinen Dekspantenol merhem TGF- β düzeyinde artış sağlayarak yeniden şekillenme aşamasına geçtiği gözlenmiştir. Aynı zamanda %20 *Typha latifolia* grubu referans merhem olan Dekspantenol arasında anlamlı derecede bir fark bulunmamıştır. %20 *Typha latifolia* grubunda 16.günde TGF-β değerinde artış gözlenmiş olup, mikroskopik ve histolojik verilerde değerlendirildiğinde yara onarımının gerçekleştiği kanıtlanmıştır.

İnterlökin-10 düzeyleri değerlendirildiğinde, grupların hepsinde 16.gün IL-10 düzeyinde 7. güne kıyasla artış gözlenmiştir. Bu artış, inflamasyonun azalması ve yara kontraksiyonunun arttığının gözlemlendiği proliferatif faza geçişden kaynaklandığını açıkça göstermektedir. Bitkiler fenolik diterpenler, flavonoidler, alkaloidler, taninler ve fenolik asitler gibi birçok fitokimyasal içerir ve bunlar doğal antioksidanların potansiyel kaynağını oluşturmaktadır. Doğal antioksidanların, hücreleri oksidatif stresin neden olduğu hasardan koruduğu bilinmektedir ki bu durum genel olarak yaşlanma, dejeneratif hastalıklar ve kanserin bir nedeni olarak kabul edilmektedir (187). Bitkilerden elde edilen antioksidanların sağlığımız üzerine faydalı etkilerinin, ROS'ye karşı koruyucu etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (188). *Typha* cinsinin farklı türlerinde

bulunan temel bileşenler arasında flavonlar ve diğer fenolik maddeler, uzun zincirli hidrokarbonlar ve steroidal yapıya sahip çeşitli triterpenoidler yer almaktadır (189).

Bu bileşiklerin farmakolojik etkilerine göre flavonoidlerin antioksidan olarak önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir (190). *Typha capensis*'in spesifik fitokimyasal bileşimi ve bildirilen sitotoksik fraksiyonlarla ilişkisi üzerine yapılan önceki çalışmalar, özellikle flavonoidler olmak üzere iki ana fenolik bileşiğin, kuersetin ve naringenin olarak tanımlandığı tespit edilmiştir. Bildirildiğine göre, bu iki spesifik biyoaktif fenolik, kuersetin flavanolleri ve naringenin flavonoidleri, özellikle 1H ve 13C olmak üzere NMR spektrumlarına dayanarak tanımlanmıştır.

Typha capensis, Güney Afrika'daki geleneksel şifacılar tarafından erkek üreme sorunlarını tedavi etmek için kullanılmaktadır. Şifacılar tarafından verilen reçete, in vitro bir sistemde hücreler için toksik olup olmayacaklarını belirlemek için sitotoksisite açısından test edilmiştir. Yapılan çalışmada, *Typha capensis*'in sitotoksik etkilerinden sorumlu iki fenolik bileşiğin, özellikle Kuersetin ve Naringenin'in, *Typha capensis* rizomlarından başarıyla izole edilen ilk çalışma olduğu belirtilmiştir. *Typha capensis*'in çeşitli türlerinin fitokimyası, birkaç flavon ve diğer fenolik bileşikleri ve uzun zincirli hidrokarbonları ve steroidal iskeletli tifasterol içeren çeşitli triterpenoidleri tespit edilmiştir (191). Ancak hekzan özütü, tifarin ve tiftalid olmak üzere iki yeni fenolik bileşiği ortaya çıkarmıştır. Aseton özütü ayrıca, serbest fenolik formlarında karışımlar halinde izole edilen birkaç bilinen flavan-3-ol üretmiştir. Bunlar arasında afzelechin, epiafzelechin, kateşin ve epikateşin bulunmaktadır.

Typha capensis'in ham metanol ekstresi, bu bitkinin tedavi etmek için kullanıldığı koşullardan patojenik olarak sorumlu olduğuna inanılan bazı bakterilerin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (189). Flavonoidler, antibakteriyel, antifungal, antitrombotik ve antikanser gibi farklı aktiviteler için kullanılabilmektedir. *Typha elephantine*, trombosit agregasyonu üzerindeki etkisi nedeniyle antitrombotik aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır (192). *Typha domingensis*'in kloroform ve n-bütanol fraksiyonları toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi için kimyasal profillemeye tabii tutulmuştur. N-bütanol fraksiyonun'da maksimum fenolik içerik 97.86 mg GAE/gDE ve maksimum flavonoid içerik 362.5 mg QE/gDE bulunmuştur. Kloroform fraksiyonunda ise toplam fenolik içerikler 24,3 mg GAE/g DE olarak belirlenirken, flavonoid içerikler 84,71 mg QE/g DE özütü olarak belirlenmiştir. Her iki fraksiyonunda hem yüksek antioksidan

aktivite gösterdiği hem de çeşitli bakteri suşlarına karşı etkili olduğu bulunmuştur. *Typha domingensis* meyvelerinden literatür incelemesi bu bitkinin polifenoller açısından çok zengin olduğu ortaya çıkmıştır (401.46 ± 5:77 mgGAE/g) (193). Ozawa ve ark. (194) *Typha latifolia*'nın dişi çiçeklerinde tanımlanan on bir fenolik bileşik izole etmiştir. Aliotta ve ark. (195) *T. latifolia* ekstrelerinde flavonol glikozidi, üç steroid ve üç yağ asidi izole etmiştir. T. latifolia ekstrelerinde iki karotenoid benzeri bileşik ise yapılan diğer bir çalışmada izole edilmiştir (196).

Başka bir çalışmada, geleneksel olarak nörolojik rahatsızlıkların ve cilt malignitelerinin tedavisinde kullanılan *Typha domingensis*'in kloroform ve n-butanol fraksiyonlarında, toplam polifenolik içeriklerin belirlenmiştir. *Typha domingensis*'in n-bütanol fraksiyonlarında maksimum fenolik madde içeriği 97,14 mg GAE/g ve maksimum flavonoid içeriği 362,5 mg QE/g bulunurken, kloroform'da toplam fenolik madde içeriği 24,3 mg GAE/g ve flavonoid içeriği 84,71 mg QE/g bulunmuştur (197).

Sardar ve ark. (198) *T.domigensis Pers*. poleninin antioksidan potansiyelini araştırılmıştır. Tüm fraksiyonlar toplam fenolik içeriklerinin yüksek değerlerini göstermiştir. Toplam fenolik içerik değerlerinin 262-354 mg/g Gallik Asit arasında değiştiği bulunmuştur. Yüksek indirgeyici güce, yüksek metal şelatlama aktivitesine sahip fenolik içeriğe sahip olduğu bulunan metanol özütü, doğal bir antioksidan olarak kullanılma ve bitkinin toplam fenolik içeriğiyle bağlantı kurma potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda, *Typha latifolia*'nın total fenolik içerik değeri 310,9 mg GAE/g bulunmuşken, total flavonoid içeriği 134,4 mg QE/g bulunmuştur. Sonuçlarımız literatür ile uyum sağlamış olup, literatür değerleriyle karşılaştırdığımızda yüksek fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olduğu bulunmuştur.

Al-Kalifawi ve ark. (199) *Typha domingensis Pers*. yapraklarının ekstrelerinde farklı mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitesini test etmiştir. 7 ila 23 mm arasında değişen inhibisyon zonlarıyla bu bitkinin antimikrobiyal potansiyeli ortaya koyulmuştur. Metanol ekstresinde*, E.coli, Enterobacter cloacae, Candida albicans* ve Candida tropicalis'e karşı 23 mm olarak en yüksek inhibisyon zonunu göstermiştir. Bu değeri *Klebsiella pneumonia, Bacillus cereus, Candida glabrata* ve *Candida parapsilosis* 21 mm ile takip etmiştir. *Proteus mirabilis*, *Streptococcus sp*., *P.aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* için 20 mm inhibisyon zonu oluşmuştur. *Typha domingiensis'* in

kloroform ve n-bütanol ekstraktlarında toplam sekiz bakteri suşu (*Micrococcus luteus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus pumilus, Bacillus subtilis, Bordetella bronchiseptica, Pseudomonas aeruginosa'nın antibakteriyel potansiyeli araştırılmıştır. Pseudomonas aeruginosa*, 40 mg/mL konsantrasyonu kloroform ekstresinde 13 mm duyarlılık göstermiştir (197).

Wangila ve ark. (200) *Typha latifolia*'nın bazı mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivitesini incelemiştir. Steroid, saponin, Alkaloid, Glikozit ve Tanen gibi çeşitli ikincil metabolitlerin varlığı nedeniyle *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etki göstermiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak disklerde 8 mm inhibisyon zonu gözlenmiştir.

Helaly ve ark. (201) yara sürüntü kültürlerinden izole edilen biyofilm oluştuma düzeyleri farklı *Staphylococcus* ve *Pseudomonas* klinik suşlarında antibakteriyel aktivitesini araştırmıştır. Dekspantenol tek başına ve topikal antimikrobiyal ajanlarla kombinasyonu halinde yara enfeksiyonu üzerindeki antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesine bakılmıştır. Dekspantenol tek başına veya topikal uygulanan antibiyotiklerle birlikte kullanımının biyofilm oluşumunu önlemede etkili olduğu ve böylece yaranın kısa sürede iyileşmesini sağladığı kanıtlanmıştır.

*Typha angustifolia'*nın fitokimyasal bileşenlerini izole etmek ve izole edilen bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Kurutulmuş ekstrakt, alkaloitler, steroller ve flavonoidlerin varlığını göstermiştir. Metanolik ekstre ve izole edilen bileşikler, disk difüzyon yöntemi ile *Aspergillus flavus, Serratia, E. coli, Listeria* ve *Staphylococcus aureus* gibi hem bakterilere hem de mantarlara karşı antimikrobiyal aktiviteye tabi tutulmuştur. Standart ilaçla (siprofloksasin, griseofulvin) karşılaştırılmıştır. Metanolik ekstre ve izole edilen bileşiklerin güçlü antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (202).

Typha augustifolia yaprak ekstresi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin ve farklı antibiyotiklerin *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak, antibiyotik ve gümüş nanopartiküllerin kombinasyonu antibiyotiklerin öldürücü olmayan konsantrasyonlarında önemli antimikrobiyal etkiler ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan veriler antibiyotik ve nanopartiküllerin teröpötik olarak kullanılabileceğini göstermektir (203).

Çalışmamızda, *Typha latifolia*'nın ethanol ekstresinde 30mg/ml ve 60mg/ml olarak iki farklı dozda disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Negatif kontrol olarak boş disk, pozitif kontrol olarakta kolistin antibiyotiği kullanılmıştır. Kolistin için 13 mm zon çapı, *Typha latifolia* 60 mg/ml için 12 mm zon çapı ve *T.latifolia* 30 mg/ml için 10 mg/ml zon çapı ölçülmüştür. *Typha latifolia* ekstresi kolistin antibiyotiğine yakın değerler ortaya koyduğundan antimikrobiyal aktiviteye sahip görülmektedir. Aynı zamanda sıçanlarda 7.gün ve 16.günlerde *Typha latifolia* gruplarında bakteri sayısı hiç tedavi uygulanmamış olan Yara+Enfeksiyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ek olarak, Dekspantenol'ün güçlü biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesi literatür bilgisi ile kanıtlanmıştır. Çalışmamızda, Dekspantenol grubunda 7. ve 16.günlerde tedavi uygulanmamış gruba göre bakteri sayısı düşük bulunmuştur. *Typha latifolia* merhem grupları ile dekspantenol merhem grubu arasında anlamlı derecede bir fark bulunmamıştır. Sonuç olarak, literatür desteği ve verilerimiz değerlendirildiğinde *Typha latifolia* bitkisi yara yerinden izole edilen güçlü biyofilm oluşturma yeteğine sahip *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bitkiler eski çağlardan günümüze farklı yara modellerinde yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda elde edilen bilimsel kanıtlar, yara iyileşmesi ve altta yatan moleküler mekanizmalar üzerinde bitkisel ilaçlar hakkındaki bilgimizi genişletmemize olanak sağlamıştır. Anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan gibi doğal aktif maddeleri olan bitkiler, yaraları iyileştirme ve cilt yarası bakımında kullanılma yeteneğine sahip olduğu kanıtlanmıştır. Gelecek çalışmalarda, sunulan çalışmanın gereç ve yöntem kısımlarında yer alan bilgilerin haricinde, farklı ekstrakt tiplerinin, doz ve konsantrasyonların, uygulama sıklıklarının, bitkinin farklı uygulama yollarının ve uygulama süresinin, ayrıca farklı yara modellerinde etkinliğinin değerlendirilmesinin literatür bilgisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Sonuç olarak, sunulan tez çalışması Türkiye bulunan *Typha latifolia* cinsi üzerine yapılmış ilk yara enfeksiyon modeli çalışması olduğundan önem arz etmektedir. *Typha latifolia* çiçeği merheminin yara iyileşme sürecine olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Bitkisel tedavilerin yara iyileşme aşamalarındaki potansiyellerinin araştırılması amacıyla bitkilerden ilaç potansiyeli olabilecek bileşiklerin izole ve tayin çalışmaları yapılıp bitkisel ilaç geliştirilmesi için formülasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Guo, S. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, *89*, 219.
2. Morton, L. M., & Phillips, T. J. (2016). Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *74*(4), 589-605.
3. Everts, P. A. (2018). Autologous platelet-rich plasma and mesenchymal stem cells for the treatment of chronic wounds. *Wound healing-current perspectives*, 149-179.
4. Frank, K. M., Hogarth, D. K., Miller, J. L., Mandal, S., Mease, P. J., Samulski, R. J., ... & Hart, J. (2009). Investigation of the cause of death in a gene-therapy trial. *New England Journal of Medicine*, *361*(2), 161-169.
5. Hayouni, E. A., Miled, K., Boubaker, S., Bellasfar, Z., Abedrabba, M., Iwaski, H., ... & Hamdi, M. (2011). Hydroalcoholic extract based-ointment from Punica granatum L. peels with enhanced in vivo healing potential on dermal wounds. *Phytomedicine*, *18*(11), 976-984.
6. Thakur, R., Jain, N., Pathak, R., & Sandhu, S. S. (2011). Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2011*(1), 438056.
7. Cedillo-Cortezano, M., Martinez-Cuevas, L. R., López, J. A. M., Barrera López, I. L., Escutia-Perez, S., & Petricevich, V. L. (2024). Use of medicinal plants in the process of wound healing: a literature review. *Pharmaceuticals*, *17*(3), 303.
8. Bensky, D., Gamble, A., & Kaptchuk, T. J. (1993). *Chinese herbal medicine: materia medica. Rev.* Seattle Eastland Press Inc.
9. Duke, J. A. (1994). *Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants*. Boca Raton, FL. CRC Press.
10. Peru, K. M., Headley, J. V., & Doucette, W. J. (2004). Determination of alkanolamines in cattails (Typha latifolia) utilizing electrospray ionization with selected reaction monitoring and ion-exchange chromatography. *Rapid communications in mass spectrometry*, *18*(14), 1629-1634.
11. Tao, W., Yang, N., Duan, J. A., Wu, D., Guo, J., Tang, Y., ... & Zhu, Z. (2011). Simultaneous determination of eleven major flavonoids in the pollen of Typha angustifolia by HPLC-PDA-MS. *Phytochemical Analysis*, *22*(5), 455-461.
12. Ross, M. H., & Pawlina, W. (2013). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas.* Ankara:Palme Yayıncılık.
13. Ovalle, W. K., Netter, F. H., Chovan, J., Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., & Atilla, P. (2009). *Netter Temel Histoloji*. Ankara:Güneş Tıp Kitabevleri.
14. Eroschenko, V. P., & Di Fiore, M. S. (2013). *DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins.
15. Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O., Aytekin, Y., & Solakoğlu, S. (1993). *Temel Histoloji*. İstanbul: Barış Kitabevi.
16. Agyare, C., Boakye, Y. D., Bekoe, E. O., Hensel, A., Dapaah, S. O., & Appiah, T. (2016). African medicinal plants with wound healing properties. *Journal of ethnopharmacology*, *177*, 85-100.
17. Irfan-Maqsood, M. (2018). Classification of wounds: know before research and clinical practice. *Journal of Genes and Cells*, *4*(1), 1-4.
18. Zhao, R., Liang, H., Clarke, E., Jackson, C., & Xue, M. (2016). Inflammation in chronic wounds. *International journal of molecular sciences*, *17*(12), 2085.
19. Percival, S. L., Hill, K. E., Williams, D. W., Hooper, S. J., Thomas, D. W., & Costerton, J. W. (2012). A review of the scientific evidence for biofilms in wounds. *Wound repair and regeneration*, *20*(5), 647-657.
20. Haesler, E., & Ousey, K. (2018). Evolution of the wound infection continuum. *Wounds International*, *9*(4), 6-10.
21. Sudharsanan, S., Gs, S., Sureshkumar, S., Vijayakumar, C., Sujatha, S., & Kate, V. (2017). Does fine needle aspiration microbiology offer any benefit over wound swab in detecting the causative organisms in surgical site infections?. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, *29*(9), 255-261
22. Withycombe, C., Purdy, K. J., & Maddocks, S. E. (2017). Micro-management: curbing chronic wound infection. *Molecular Oral Microbiology*, *32*(4), 263-274.

23. Di Domenico, E. G., Farulla, I., Prignano, G., Gallo, M. T., Vespaziani, M., Cavallo, I., ... & Ensoli, F. (2017). Biofilm is a major virulence determinant in bacterial colonization of chronic skin ulcers independently from the multidrug resistant phenotype. *International journal of molecular sciences*, *18*(5), 1077.
24. Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the treatment of chronic wounds. *Advances Wound Care* ,4 (9): 560–582.
25. Malone, M., Bjarnsholt, T., McBain, A. J., James, G. A., Stoodley, P., Leaper, D., ... & Wolcott, R. D. (2017). The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *Journal of wound care*, *26*(1), 20-25.
26. Versey, Z., da Cruz Nizer, W. S., Russell, E., Zigic, S., DeZeeuw, K. G., Marek, J. E., ... & Cassol, E. (2021). Biofilm-innate immune interface: contribution to chronic wound formation. *Frontiers in immunology*, *12*, 648554.
27. Johnson, T. R., Gómez, B. I., McIntyre, M. K., Dubick, M. A., Christy, R. J., Nicholson, S. E., & Burmeister, D. M. (2018). The cutaneous microbiome and wounds: new molecular targets to promote wound healing. *International journal of molecular sciences*, *19*(9), 2699.
28. Jensen, L. K., Johansen, A. S., & Jensen, H. E. (2017). Porcine models of biofilm infections with focus on pathomorphology. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 1961.
29. Bertesteanu, S., Triaridis, S., Stankovic, M., Lazar, V., Chifiriuc, M. C., Vlad, M., & Grigore, R. (2014). Polymicrobial wound infections: pathophysiology and current therapeutic approaches. *International journal of pharmaceutics*, *463*(2), 119-126.
30. Ferreira, P. G., Ferreira, V. F., da Silva, F. D. C., Freitas, C. S., Pereira, P. R., & Paschoalin, V. M. F. (2022). Chitosans and nanochitosans: recent advances in skin protection, regeneration, and repair. *Pharmaceutics*, *14*(6), 1307.
31. Mast, B. A., & Schultz, G. S. (1996). Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*, *4*(4), 411-420.
32. Golebiewska, E. M., & Poole, A. W. (2015). Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood reviews*, *29*(3), 153-162.
33. Grinnell, F., Billingham, R. E., & Burgess, L. (1981). Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*, *76*(3), 181-189.
34. Van der Veer, W. M., Van Egmond, M., Niessen, F. B., & Beelen, R. H. (2011). Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*, *216*(7), 753-762
35. Raziyeva, K., Kim, Y., Zharkinbekov, Z., Kassymbek, K., Jimi, S., & Saparov, A. (2021). Immunology of acute and chronic wound healing. *Biomolecules*, *11*(5), 700
36. Garraud, O., Hamzeh-Cognasse, H., Pozzetto, B., Cavaillon, J. M., & Cognasse, F. (2013). Bench-to-bedside review: Platelets and active immune functions-new clues for immunopathology?. *Critical care*, *17*, 1-12.
37. Balaji, S., Watson, C. L., Ranjan, R., King, A., Bollyky, P. L., & Keswani, S. G. (2015). Chemokine involvement in fetal and adult wound healing. *Advances in wound care*, *4*(11), 660-672.
38. Scopelliti, F., Cattani, C., Dimartino, V., Mirisola, C., & Cavani, A. (2022). Platelet derivatives and the immunomodulation of wound healing. *International journal of molecular sciences*, *23*(15), 8370.
39. Scherlinger, M., Richez, C., Tsokos, G. C., Boilard, E., & Blanco, P. (2023). The role of platelets in immune-mediated inflammatory diseases. *Nature Reviews Immunology*, *23*(8), 495-510.
40. MacLeod, A. S., & Mansbridge, J. N. (2016). The innate immune system in acute and chronic wounds. *Advances in wound care*, *5*(2), 65-78.
41. Anthoney, N., Foldi, I., & Hidalgo, A. (2018). Toll and Toll-like receptor signalling in development. *Development*, *145*(9), dev156018.
42. Castanheira, F. V., & Kubes, P. (2019). Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *133*(20), 2178-2185.
43. Faurschou, M., & Borregaard, N. (2003). Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes and infection*, *5*(14), 1317-1327.
44. Parks, W. C., Wilson, C. L., & López-Boado, Y. S. (2004). Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, *4*(8), 617-629.
45. Wilgus, T. A., Roy, S., & McDaniel, J. C. (2013). Neutrophils and wound repair: positive actions and negative reactions. *Advances in wound care*, *2*(7), 379-388.

46. Pilsczek, F. H., Salina, D., Poon, K. K., Fahey, C., Yipp, B. G., Sibley, C. D., ... & Kubes, P. (2010). A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to Staphylococcus aureus. *The Journal of Immunology*, *185*(12), 7413-7425.
47. Scozzi, D., Liao, F., Krupnick, A. S., Kreisel, D., & Gelman, A. E. (2022). The role of neutrophil extracellular traps in acute lung injury. *Frontiers in immunology*, *13*, 953195.
48. Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., ... & Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, *303*(5663), 1532-1535.
49. Mutua, V., & Gershwin, L. J. (2021). A review of neutrophil extracellular traps (NETs) in disease: potential anti-NETs therapeutics. *Clinical reviews in allergy & immunology*, *61*(2), 194-211.
50. Hirota, T., Levy, J. H., & Iba, T. (2020). The influence of hyperglycemia on neutrophil extracellular trap formation and endothelial glycocalyx damage in a mouse model of type 2 diabetes. *Microcirculation*, *27*(5), e12617.
51. Castro, A. M., Macedo-De la Concha, L. E., & Pantoja-Meléndez, C. A. (2017). Low-grade inflammation and its relation to obesity and chronic degenerative diseases. *Revista Médica del Hospital General de México*, *80*(2), 101-105.
52. Ozel, I., Duerig, I., Domnich, M., Lang, S., Pylaeva, E., & Jablonska, J. (2022). The good, the bad, and the ugly: neutrophils, angiogenesis, and cancer. *Cancers*, *14*(3), 536.
53. Ozel, I., Duerig, I., Domnich, M., Lang, S., Pylaeva, E., & Jablonska, J. (2022). The good, the bad, and the ugly: neutrophils, angiogenesis, and cancer. *Cancers*, *14*(3), 536.
54. Gordon, S., & Taylor, P. R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature reviews immunology*, *5*(12), 953-964.
55. Rodero, M. P., Licata, F., Poupel, L., Hamon, P., Khosrotehrani, K., Combadiere, C., & Boissonnas, A. (2014). In vivo imaging reveals a pioneer wave of monocyte recruitment into mouse skin wounds. *PLoS One*, *9*(10), e108212.
56. Snyder, R. J., Lantis, J., Kirsner, R. S., Shah, V., Molyneaux, M., & Carter, M. J. (2016). Macrophages: a review of their role in wound healing and their therapeutic use. *Wound Repair and Regeneration*, *24*(4), 613-629.
57. Brown, B. N., Sicari, B. M., & Badylak, S. F. (2014). Rethinking regenerative medicine: a macrophage-centered approach. *Frontiers in immunology*, *5*, 510.
58. Aristorena, M., Gallardo-Vara, E., Vicen, M., de Las Casas-Engel, M., Ojeda-Fernandez, L., Nieto, C., ... & Bernabeu, C. (2019). MMP-12, secreted by pro-inflammatory macrophages, targets endoglin in human macrophages and endothelial cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(12), 3107.
59. Leask, A. (2010). Potential therapeutic targets for cardiac fibrosis: TGFβ, angiotensin, endothelin, CCN2, and PDGF, partners in fibroblast activation. *Circulation research*, *106*(11), 1675-1680.
60. Li, J., Chen, J., & Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in dermatology*, *25*(1), 9-18.
61. Tyavambiza, C., Meyer, M., & Meyer, S. (2022). Cellular and molecular events of wound healing and the potential of silver based nanoformulations as wound healing agents. *Bioengineering*, *9*(11), 712.
62. Cañedo-Dorantes, L., & Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin acute wound healing: a comprehensive review. *International Journal of Inflammation*, *2019*(1), 3706315.
63. Nosbaum, A., Prevel, N., Truong, H. A., Mehta, P., Ettinger, M., Scharschmidt, T. C., ... & Rosenblum, M. D. (2016). Cutting edge: regulatory T cells facilitate cutaneous wound healing. *The Journal of Immunology*, *196*(5), 2010-2014.
64. Charles, C. A., Falabella, A. F., & Fernández-Obregón, A. C. (2012). Leg ulcer management. *Lower Extremity Soft Tissue & Cutaneous Plastic Surgery. 2nd ed. Oxford, England: Saunders Ltd*, 447-69.
65. Xue, M., & Jackson, C. J. (2015). Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring. *Advances in wound care*, *4*(3), 119-136.
66. Marx, M., Perlmutter, R. A., & Madri, J. A. (1994). Modulation of platelet-derived growth factor receptor expression in microvascular endothelial cells during in vitro angiogenesis. *The Journal of clinical investigation*, *93*(1), 131-139.
67. Takehara, K. (2000). Growth regulation of skin fibroblasts. *Journal of dermatological science*, *24*, S70-S77.

68. Lucas, T., Waisman, A., Ranjan, R., Roes, J., Krieg, T., Müller, W., ... & Eming, S. A. (2010). Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. *The Journal of Immunology*, *184*(7), 3964-3977.
69. Du Cheyne, C., Tay, H., & De Spiegelaere, W. (2020). The complex TIE between macrophages and angiogenesis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, *49*(5), 585-596.
70. Willenborg, S., Lucas, T., Van Loo, G., Knipper, J. A., Krieg, T., Haase, I., ... & Eming, S. A. (2012). CCR2 recruits an inflammatory macrophage subpopulation critical for angiogenesis in tissue repair. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *120*(3), 613-625.
71. Landén, N. X., Li, D., & Ståhle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *73*, 3861-3885.
72. Tomasek, J. J., Haaksma, C. J., Schwartz, R. J., & Howard, E. W. (2013). Whole animal knockout of smooth muscle alpha-actin does not alter excisional wound healing or the fibroblast-to-myofibroblast transition. *Wound Repair and Regeneration*, *21*(1), 166-176.
73. Yannas, I. V., Tzeranis, D. S., & So, P. T. (2017). Regeneration of injured skin and peripheral nerves requires control of wound contraction, not scar formation. *Wound Repair and Regeneration*, *25*(2), 177-191.
74. Plikus, M. V., Guerrero-Juarez, C. F., Ito, M., Li, Y. R., Dedhia, P. H., Zheng, Y., ... & Cotsarelis, G. (2017). Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing. *Science*, *355*(6326), 748-752.
75. Gabbiani, G. R. G. B., Ryan, G. B., & Majno, G. (1971). Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia*, *27*(5), 549-550.
76. Xiao, Y., Xu, D., Song, H., Shu, F., Wei, P., Yang, X., ... & Xia, Z. (2019). Cuprous oxide nanoparticles reduces hypertrophic scarring by inducing fibroblast apoptosis. *International Journal of Nanomedicine*, 5989-6000.
77. Armour, A., Scott, P. G., & Tredget, E. E. (2007). Cellular and molecular pathology of HTS: basis for treatment. *Wound Repair and Regeneration*, *15*, S6-S17.
78. Lin, M. P., Marti, G. P., Dieb, R., Wang, J., Ferguson, M., Qaiser, R., ... & Harmon, J. W. (2006). Delivery of plasmid DNA expression vector for keratinocyte growth factor-1 using electroporation to improve cutaneous wound healing in a septic rat model. *Wound Repair and Regeneration*, *14*(5), 618-624.
79. Santoro, M. M., & Gaudino, G. (2005). Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. *Experimental Cell Research*, *304*(1), 274-286.
80. Schreml, S., Szeimies, R. M., Prantl, L., Landthaler, M., & Babilas, P. (2010). Wound healing in the 21st century. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *63*(5), 866-881.
81. Rayment, E. A., Upton, Z., & Shooter, G. K. (2008). Increased matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activity observed in chronic wound fluid is related to the clinical severity of the ulcer. *British Journal of Dermatology*, *158*(5), 951-961.
82. Raina, R., Parwez, S., Verma, P. K., & Pankaj, N. K. (2008). Medicinal plants and their role in wound healing. *Online Veterinary Journal*, *3*(1), 21.
83. Nigussie, D., Davey, G., Legesse, B. A., Fekadu, A., & Makonnen, E. (2021). Antibacterial activity of methanol extracts of the leaves of three medicinal plants against selected bacteria isolated from wounds of lymphoedema patients. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *21*, 1-10.
84. Church, N. A., & McKillip, J. L. (2021). Antibiotic resistance crisis: challenges and imperatives. *Biologia*, *76*(5), 1535-1550.
85. Gholijani, N., & Amirghofran, Z. (2016). Effects of thymol and carvacrol on T-helper cell subset cytokines and their main transcription factors in ovalbumin-immunized mice. *Journal of Immunotoxicology*, *13*(5), 729-737.
86. Lin, Y. W., Yang, F. J., Chen, C. L., Lee, W. T., & Chen, R. S. (2010). Free radical scavenging activity and antiproliferative potential of Polygonum cuspidatum root extracts. *Journal of Natural Medicines*, *64*, 146-152.
87. Silva, C. D., Herdeiro, R. S., Mathias, C. J., Panek, A. D., Silveira, C. S., Rodrigues, V. P., ... & Eleutherio, E. C. A. (2005). Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. *Pharmacological Research*, *52*(3), 229-233.
88. Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2*(5), 270-278.

89. Miller, N. J., & Ruiz-Larrea, M. B. (2002). Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, *12*(1), 39-51.
90. Mgl, H. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and the risk of coronary heart disedase. The Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, *343*, 1007-1011.
91. Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *13*(10), 572-584.
92. Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *26*(5), 343-356.
93. Jarial, R., Thakur, S., Sakinah, M., Zularisam, A. W., Sharad, A., Kanwar, S. S., & Singh, L. (2018). Potent anticancer, antioxidant and antibacterial activities of isolated flavonoids from Asplenium nidus. *Journal of King Saud University-Science*, *30*(2), 185-192.
94. Besrour, N., Oludemi, T., Mandim, F., Pereira, C., Dias, M. I., Soković, M., ... & Barros, L. (2022). Valorization of Juglans regia Leaves as Cosmeceutical Ingredients: Bioactivity Evaluation and Final Formulation Development. *Antioxidants*, *11*(4), 677.
95. Carvalho, M. T., Araújo-Filho, H. G., Barreto, A. S., Quintans-Júnior, L. J., Quintans, J. S., & Barreto, R. S. (2021). Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action. *Phytomedicine*, *90*, 153636.
96. Oliveira, I. S., Lima, J., Silva, R. M., & Martins, D. T. (2008). Triagem da atividade antibacteriana in vitro do látex e extratos de Croton urucurana Baillon. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *18*, 587-593.
97. Mohan, S., Syam, S., Abdelwahab, S. I., & Thangavel, N. (2018). An anti-inflammatory molecular mechanism of action of α-mangostin, the major xanthone from the pericarp of Garcinia mangostana: an in silico, in vitro and in vivo approach. *Food & Function*, *9*(7), 3860-3871.
98. Govaerts, R. (2009). *World checklist of monocotyledons*. England: Royal Botanic Gardens.
99. Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011) "Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES)" In Health Informatics and Bioinformatics (HIBIT), 2011 6th International Symposium on (pp. 136-140). IEEE: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=9643
100. Bidin, N., Zakaria, M. H., Bujang, J. S., & Abdul Aziz, N. A. (2015). Suitability of aquatic plant fibers for handmade papermaking. *International Journal of Polymer Science*, *2015*(1), 165868.
101. Inocian, R. B. (2020). Exploring a culturally-responsive model and theory for sustainable development in education based on Cebuano context. *Sustainable Organizations-Models, Applications, and New Perspectives*.
102. Nyerges, C. (2023). *Foraging Wild Edible Plants of North America: More than 150 Delicious Recipes Using Nature's Edibles*. Rowman & Littlefield.
103. Wang, L. A., Li, D. Q., & Zhou, Q. Q. (2003). Protection of *Typha angustifolia L.* extract against rat's cerebral ischemia reperfusion injury. *Clin J Med Off*, *31*, 1-2.
104. Wang, L. J., Liao, M. C., & Xiao, P. G. (1998). Chemistry and pharmacological activity of a traditional Chinese drug Pollen Typhae. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, *9*, 49-50.
105. Fruet, A. C., Seito, L. N., Rall, V. L. M., & Di Stasi, L. C. (2012). Dietary intervention with narrow-leaved cattail rhizome flour (*Typha angustifolia L.)* prevents intestinal inflammation in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *BMC complementary and alternative medicine*, *12*, 1-11.
106. Varghese, A., Gavani, U., Abraham, S., & Jose, A. (2009). Phytochemical screening and antimicrobial investigation of *Typha angustifolia Linn. Int. J. Chem. Sci*, *7*, 1905-1910.
107. Gurunathan, S. (2015). Biologically synthesized silver nanoparticles enhances antibiotic activity against Gram-negative bacteria. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, *29*, 217-226.
108. Qin, F., & Sun, H. X. (2004). New advances in the immunosuppressant effect of traditional Chinese medicines. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, *2*, 36-40.
109. Yuan, K. W., & Xu, W. H. (1996). The general situation of the chemistry and pharmacology of Pollen Typhae. *Traditional Chinese Medicine*, *27*, 634-696.
110. Park, W. H., Kim, C. H., Lee, Y. C., & Kim, C. H. (2004). Anti-inflammatory effects of a traditional Korean herbal formulation, Silsosangami, consisting of seven medicinal herbs:

effect on hemolysis, neutrophil function, and gene expressions of iNOS and COX-2. *Vascular pharmacology*, *42*(1), 7-15.
111. Della Greca, M., Mangoni, L., Molinaro, A., Monaco, P., & Previtera, L. (1990). (20S)-4α-methyl-24-methylenecholest-7-en-3β-ol, an allelopathic sterol from Typha latifolia. *Phytochemistry*, *29*(6), 1797-1798.
112. Bouhlel, I., Limem, I., Skandrani, I., Nefatti, A., Ghedira, K., Dijoux-Franca, M. G., & Leila, C. G. (2010). Assessment of isorhamnetin 3-O-neohesperidoside from Acacia salicina: protective effects toward oxidation damage and genotoxicity induced by aflatoxin B1 and nifuroxazide. *Journal of Applied Toxicology*, *30*(6), 551-558.
113. Gibbs, A., Green, C., & Doctor, V. M. (1983). Isolation and anticoagulant properties of polysaccharides of Typha Augustata and Daemonorops species. *Thrombosis research*, *32*(2), 97-108.
114. Tao, W. W., Yang, N. Y., Duan, J. A., Shang, E. X., & Tang, Y. P. (2010). Two new nonacosanetriols from the pollen of Typha angustifolia. *Chinese Chemical Letters*, *21*(2), 209-212.
115. Sezik, E., Yeşİlada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., Fujita, T., ... & Takeda, Y. (1997). Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağri, Kars, Iğdir Provinces. *Economic botany*, 195-211.
116. Yeşilada, E. (2002). Biodiversity in Turkish folk medicine. In *Biodiversity: biomolecular aspects of biodiversity and innovative utilization* (pp. 119-135). Boston, MA: Springer US.
117. Barzegari, A. A., Hashemzaei, M., Majdani, R., & Alihemmati, A. R. (2017). Effects of topical treatment of second-degree burn wounds with Lactobacillus acidophilus on the wound healing process in male rats. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, *3*(3), 23-30.
118. Prasad, Y. S., Saritha, B., Tamizhanban, A., Lalitha, K., Kabilan, S., Maheswari, C. U., ... & Nagarajan, S. (2018). Enzymatic synthesis and self-assembly of glycolipids: robust self-healing and wound closure performance of assembled soft materials. *RSC advances*, *8*(65), 37136-37145.
119. MacKay, D., & Miller, A. L. (2003). Nutritional support for wound healing. *Alternative medicine review*, *8*(4).
120. Balick, M. J., & Cox, P. A. (2020). *Plants, people, and culture: the science of ethnobotany*. Garland Science.
121. SMoerman, D. E. (1998). Native American Ethnobotany. Oregon, USA: Timber Press; 1998; p 927.
122. Panda, V., & Thakur, T. (2014). Wound healing activity of the inflorescence of Typha elephantina (Cattail). *The international journal of lower extremity wounds*, *13*(1), 50-57
123. Proksch, E., de Bony, R., Trapp, S., & Boudon, S. (2017). Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *Journal of Dermatological Treatment*, *28*(8), 766-773.
124. Ebner, F., Heller, A., Rippke, F., & Tausch, I. (2002). Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *American journal of clinical dermatology*, *3*, 427-433.
125. Heise, R., Skazik, C., Marquardt, Y., Czaja, K., Sebastian, K., Kurschat, P., ... & Baron, J. M. (2012). Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo. *Skin pharmacology and physiology*, *25*(5), 241-248.
126. Saha, S., Sonar, V., Soni, B., Koladiya, S., Chakraborty, S., & Pithawala, M. (2021). Investigating wound healing potential of Typha angustata L. inflorescence in albino Wistar rats. *Phytomedicine Plus*, *1*(4), 100054.
127. Gorski, J., Proksch, E., Baron, J. M., Schmid, D., & Zhang, L. (2020). Dexpanthenol in wound healing after medical and cosmetic interventions (postprocedure wound healing). *Pharmaceuticals*, *13*(7), 138.
128. Varpe, S. S., Juvekar, A. R., Bidikar, M. P., & Juvekar, P. R. (2012). Evaluation of anti-inflammatory activity of Typha angustifolia pollen grains extracts in experimental animals. *Indian journal of pharmacology*, *44*(6), 788-791.
129. Akkol, E. K., Süntar, I., Keles, H., & Yesilada, E. (2011). The potential role of female flowers inflorescence of Typha domingensis Pers. in wound management. *Journal of ethnopharmacology*, *133*(3), 1027-1032.
130. Naddaf, H., Esmaeilzadeh, S., Pourmehdi Borujeni, M., & Sabiza, S. (2017). Histopathologic evaluation of Typha angustifolia pollen extract on experimental full thickness wound healing in mice. *Iranian Veterinary Journal*, *13*(1), 98-108.

131. Chai, T., Mohan, M., Ong, H., & Wong, F. (2014). Antioxidant, iron-chelating and anti-glucosidase activities of Typha domingensis Pers (Typhaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *13*(1), 67-72.
132. Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews*, *83*(3), 835-870.
133. Werner, S., Krieg, T., & Smola, H. (2007). Keratinocyte–fibroblast interactions in wound healing. *Journal of investigative dermatology*, *127*(5), 998-1008.
134. Gescher, K., & Deters, A. M. (2011). Typha latifolia L. fruit polysaccharides induce the differentiation and stimulate the proliferation of human keratinocytes in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, *137*(1), 352-358.
135. Miller, M. C., & Nanchahal, J. (2005). Advances in the modulation of cutaneous wound healing and scarring. *BioDrugs*, *19*, 363-381.
136. Agarwal, C., Britton, Z. T., Alaseirlis, D. A., Li, Y., & Wang, J. H. C. (2006). Healing and normal fibroblasts exhibit differential proliferation, collagen production, α-SMA expression, and contraction. *Annals of biomedical engineering*, *34*, 653-659.
137. Desmoulière, A., Chaponnier, C., & Gabbiani, G. (2005). Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound repair and regeneration*, *13*(1), 7-12.
138. Darby, I., Skalli, O., & Gabbiani, G. (1990). Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, *63*(1), 21-29.
139. Putra, A., Alif, I., Hamra, N., Santosa, O., Kustiyah, A. R., Muhar, A. M., & Lukman, K. (2020). MSC-released TGF-β regulate α-SMA expression of myofibroblast during wound healing. *Journal of stem cells & regenerative medicine*, *16*(2), 73.
140. Lee, S. H., Zahoor, M., Hwang, J. K., Min, D. S., & Choi, K. Y. (2012). Valproic acid induces cutaneous wound healing in vivo and enhances keratinocyte motility. *PLoS One*, *7*(11), e48791.
141. Pugliese, P. T., Farina, J. C., & Chautems, Y. (1995). Efficacy of dexpanthenol in wound healing: Double-blind assessment of excised wound tissue by ultrasound and histologic examination. *Nouv. Dermatol*, *14*, 130-138.
142. Korkmaz, S., Zeytinoglu, H., Zeytinoglu, M., Aydin, S., Öztürk, Y., & Baser, H. C. (2000). Testing wound-healing activity in T15 fibroblast cultures: a morphometric analysis. *Alternatives to Laboratory Animals*, *28*(1), 41-51.
143. Gailit, J., Marchese, M. J., Kew, R. R., & Gruber, B. L. (2001). The differentiation and function of myofibroblasts is regulated by mast cell mediators. *Journal of Investigative Dermatology*, *117*(5), 1113-1119.
144. Egozi, E. I., Ferreira, A. M., Burns, A. L., Gamelli, R. L., & Dipietro, L. A. (2003). Mast cells modulate the inflammatory but not the proliferative response in healing wounds. *Wound Repair and Regeneration*, *11*(1), 46-54.
145. Baum, C. L., & Arpey, C. J. (2005). Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery*, *31*(6), 674-686.
146. Weller, K., Foitzik, K., Paus, R., Syska, W., Maurer, M., Weller, K., ... & Maurer, M. (2006). Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. *The FASEB journal*, *20*(13), 2366-2368.
147. Bonelli, A., Bacci, S., & Norelli, G. A. (2003). Affinity cytochemistry analysis of mast cells in skin lesions: a possible tool to assess the timing of lesions after death. *International journal of legal medicine*, *117*, 331-334.
148. Trautmann, A., Toksoy, A., Engelhardt, E., Bröcker, E. B., & Gillitzer, R. (2000). Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo. *The Journal of pathology*, *190*(1), 100-106.
149. Bacci, S., Bonelli, A., & Romagnoli, P. (2009). Mast cells in injury response. In *Cell Movement: New Research Trends* (pp. 81-121). Nova Science Publishers, Inc..
150. Komi, D. E. A., Khomtchouk, K., & Santa Maria, P. L. (2020). A review of the contribution of mast cells in wound healing: involved molecular and cellular mechanisms. *Clinical reviews in allergy & immunology*, *58*, 298-312.
151. Gonzalez, A. C. D. O., Costa, T. F., Andrade, Z. D. A., & Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing-A literature review. *Anais brasileiros de dermatologia*, *91*(5), 614-620.

152. Wilgus, T. A., Ud-Din, S., & Bayat, A. (2020). A review of the evidence for and against a role for mast cells in cutaneous scarring and fibrosis. *International journal of molecular sciences*, *21*(24), 9673.
153. Garbuzenko, E., Nagler, A., Pickholtz, D., Gillery, P., Reich, R., Maquart, F. X., & Levi-Schaffer, F. (2002). Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. *Clinical & Experimental Allergy*, *32*(2), 237-246.
154. Metz, M., Siebenhaar, F., & Maurer, M. (2008). Mast cell functions in the innate skin immune system. *Immunobiology*, *213*(3-4), 251-260.
155. Shiota, N., Nishikori, Y., Kakizoe, E., Shimoura, K., Niibayashi, T., Shimbori, C., ... & Okunishi, H. (2009). Pathophysiological role of skin mast cells in wound healing after scald injury: study with mast cell-deficient W/Wv mice. *International archives of allergy and immunology*, *151*(1), 80-88.
156. Succar, J., Douaiher, J., Lancerotto, L., Li, Q., Yamaguchi, R., Younan, G., ... & Orgill, D. P. (2014). The role of mouse mast cell proteases in the proliferative phase of wound healing in microdeformational wound therapy. *Plastic and reconstructive surgery*, *134*(3), 459-467.
157. Zimmermann, C., Troeltzsch, D., Giménez-Rivera, V. A., Galli, S. J., Metz, M., Maurer, M., & Siebenhaar, F. (2019). Mast cells are critical for controlling the bacterial burden and the healing of infected wounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(41), 20500-20504.
158. Ridiandries, A., Tan, J. T., & Bursill, C. A. (2018). The role of chemokines in wound healing. *International journal of molecular sciences*, *19*(10), 3217.
159. Mahmoud, N. N., Hamad, K., Al Shibitini, A., Juma, S., Sharifi, S., Gould, L., & Mahmoudi, M. (2024). Investigating inflammatory markers in wound healing: Understanding implications and identifying artifacts. *ACS Pharmacology & Translational Science*, *7*(1), 18-27.
160. Nguyen, V. L., Truong, C. T., Nguyen, B. C. Q., Vo, T. N. V., Dao, T. T., Nguyen, V. D., ... & Bui, C. B. (2017). Anti-inflammatory and wound healing activities of calophyllolide isolated from Calophyllum inophyllum Linn. *PloS one*, *12*(10), e0185674.
161. Gohel, M. S., Windhaber, R. A., Tarlton, J. F., Whyman, M. R., & Poskitt, K. R. (2008). The relationship between cytokine concentrations and wound healing in chronic venous ulceration. *Journal of vascular surgery*, *48*(5), 1272-1277.
162. Wagner, V. P., Curra, M., Webber, L. P., Nör, C., Matte, U., Meurer, L., & Martins, M. D. (2016). Photobiomodulation regulates cytokine release and new blood vessel formation during oral wound healing in rats. *Lasers in medical science*, *31*, 665-671.
163. Ritsu, M., Kawakami, K., Kanno, E., Tanno, H., Ishii, K., Imai, Y., ... & Tachi, M. (2017). Critical role of tumor necrosis factor-α in the early process of wound healing in skin. *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery*, *21*(1), 14-19.
164. Witte, M. B., & Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*, *77*(3), 509-528.
165. Yang, C. C., Lin, S. D., & Yu, H. S. (1997). Effect of growth factors on dermal fibroblast contraction in normal skin and hypertrophic scar. *Journal of dermatological science*, *14*(2), 162-169.
166. Frank, J., Born, K., Barker, J. H., & Marzi, I. (2003). In vivo effect of tumor necrosis factor alpha on wound angiogenesis and epithelialization. *European Journal of Trauma*, *29*, 208-219.
167. Piguet, P. F., Grau, G. E., & Vassalli, P. (1990). Subcutaneous perfusion of tumor necrosis factor induces local proliferation of fibroblasts, capillaries, and epidermal cells, or massive tissue necrosis. *The American journal of pathology*, *136*(1), 103.
168. Roesel, J. F., & Nanney, L. B. (1995). Assessment of differential cytokine effects on angiogenesis using an in vivo model of cutaneous wound repair. *Journal of Surgical Research*, *58*(5), 449-459.
169. Shao, D. D., Suresh, R., Vakil, V., Gomer, R. H., & Pilling, D. (2008). Pivotal Advance: Th-1 cytokines inhibit, and Th-2 cytokines promote fibrocyte differentiation. *Journal of Leucocyte Biology*, *83*(6), 1323-1333.
170. Ramos, C. D. L., Heluy-Neto, N. E., Ribeiro, R. A., Ferreira, S. H., & Cunha, F. D. Q. (2003). Neutrophil migration induced by IL-8-activated mast cells is mediated by CINC-1. *Cytokine*, *21*(5), 214-223.

171. Wagner, W., & Wehrmann, M. (2007). Differential cytokine activity and morphology during wound healing in the neonatal and adult rat skin. *Journal of cellular and molecular medicine*, *11*(6), 1342-1351.
172. Attard, J. A. P., Raval, M. J., Martin, G. R., Kolb, J., Afrouzian, M., Buie, D. W., & Sigalet, D. L. (2005). The effects of systemic hypoxia on colon anastomotic healing: an animal model. *Diseases of the colon & rectum*, *48*(7), 1460-1470.
173. Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*, *19*(1), 683-765.
174. Sato, Y., Ohshima, T., & Kondo, T. (1999). Regulatory role of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflammatory response of murine wound healing. *Biochemical and biophysical research communications*, *265*(1), 194-199.
175. Liechty, K. W., Kim, H. B., Adzick, N. S., & Crombleholme, T. M. (2000). Fetal wound repair results in scar formation in interleukin-10–deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair. *Journal of pediatric surgery*, *35*(6), 866-873.
176. Henderson, J., Ferguson, M. W., & Terenghi, G. (2011). The reinnervation and revascularization of wounds is temporarily altered after treatment with interleukin 10. *Wound repair and regeneration*, *19*(2), 268-273.
177. Eming, S. A., Werner, S., Bugnon, P., Wickenhauser, C., Siewe, L., Utermöhlen, O., ... & Roers, A. (2007). Accelerated wound closure in mice deficient for interleukin-10. *The American journal of pathology*, *170*(1), 188-202.
178. Kanauchi, O., Iwanaga, T., Andoh, A., Araki, Y., Nakamura, T., Mitsuyama, K., ... & Bamba, T. (2001). Dietary fiber fraction of germinated barley foodstuff attenuated mucosal damage and diarrhea, and accelerated the repair of the colonic mucosa in an experimental colitis. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *16*(2), 160-168.
179. Choi, I. Y., Na, H. J., Um, J. Y., Kim, H. M., Hong, S. H., Sim, K. J., ... & Jeong, H. J. (2010). Typha orientalis inhibits inflammatory cytokine expression through suppression of ERK phosphorylation in HMC-1 cells. *Oriental pharmacy and experimental medicine*, *10*(1), 7-12.
180. Vasconcelos, J. F., Teixeira, M. M., Barbosa-Filho, J. M., Agra, M. F., Nunes, X. P., Giulietti, A. M., ... & Soares, M. B. (2009). Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. *European journal of pharmacology*, *609*(1-3), 126-131.
181. Park, W. H., Kim, C. H., Lee, Y. C., & Kim, C. H. (2004). Anti-inflammatory effects of a traditional Korean herbal formulation, Silsosangami, consisting of seven medicinal herbs: effect on hemolysis, neutrophil function, and gene expressions of iNOS and COX-2. *Vascular pharmacology*, *42*(1), 7-15.
182. Kumar, I., Staton, C. A., Cross, S. S., Reed, M. W. R., & Brown, N. J. (2009). Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and its receptors in human surgical wounds. *Journal of British Surgery*, *96*(12), 1484-1491.
183. Zhu, Y., Sun, Y., Xie, L., Jin, K., Sheibani, N., & Greenberg, D. A. (2003). Hypoxic induction of endoglin via mitogen-activated protein kinases in mouse brain microvascular endothelial cells. *Stroke*, *34*(10), 2483-2488.
184. Sagwal, S., Chauhan, A., Kaur, J., Prasad, R., Singh, M., & Singh, M. (2020). Association of serum TGF-β1 levels with different clinical phenotypes of cystic fibrosis exacerbation. *Lung*, *198*, 377-383.
185. Yang, J. J., Wang, D. D., & Sun, T. Y. (2011). Flagellin ofPseudomonas aeruginosainduces transforming growth factor beta 1 expression in normal bronchial epithelial cells through mitogen activated protein kinase cascades. *Chinese Medical Journal*, *124*(4), 599-605.
186. Eickmeier, O., Boom, L. V., Schreiner, F., Lentze, M. J., NGampolo, D., Schubert, R., ... & Schmitt-Grohé, S. (2013). Transforming growth factor β1 genotypes in relation to TGFβ1, interleukin-8, and tumor necrosis factor alpha in induced sputum and blood in cystic fibrosis. *Mediators of inflammation*, *2013*(1), 913135.
187. Ringman, J. M., Frautschy, S. A., Cole, G. M., Masterman, D. L., & Cummings, J. L. (2005). A potential role of the curry spice curcumin in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, *2*(2), 131-136.
188. Olanlokun, J. O., & Akomolafe, S. F. (2013). Antioxidant potentials of various solvent extracts from stem bark of Enantia chlorantha. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, *2013*
189. Shode, F. O., Mahomed, A. S., & Rogers, C. B. (2002). Typhaphthalide and typharin, two phenolic compounds from Typha capensis. *Phytochemistry*, *61*(8), 955-957.

190. Bouhlel, I., Limem, I., Skandrani, I., Nefatti, A., Ghedira, K., Dijoux-Franca, M. G., & Leila, C. G. (2010). Assessment of isorhamnetin 3-O-neohesperidoside from Acacia salicina: protective effects toward oxidation damage and genotoxicity induced by aflatoxin B1 and nifuroxazide. *Journal of Applied Toxicology*, *30*(6), 551-558.
191. Ilfergane, A., & Henkel, R. R. (2018). Effect of Typha capensis (Rohrb.) NE Br. rhizome extract F1 fraction on cell viability, apoptosis induction and testosterone production in TM 3-Leydig cells. *Andrologia*, *50*(2), e12854.
192. Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, *14*(4), 289-300.
193. Chai, T. T., Chiam, M. J., Lau, C. H., Ismail, N. I. M., Ong, H. C., Abd Manan, F., & Wong, F. C. (2015). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activity of solvent extracts and fractions of Typha domingensis (Typhaceae) fruit. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *14*(11), 1983-1990.
194. Ozawa, T., & Imagawa, H. (1988). Polyphenolic Compounds from Female Flowers of Typha la tifoHa L. *Agricultural and biological chemistry*, *52*(2), 595-597.
195. Aliotta, G., Greca, M. D., Monaco, P., Pinto, G., Pollio, A., & Previtera, L. (1990). In vitro algal growth inhibition by phytotoxins of Typha latifolia L. *Journal of Chemical Ecology*, *16*, 2637-2646.
196. Della Greca, M., Monaco, P., & Previtera, L. (1990). Stigmasterols from Typha latifolia. *Journal of Natural Products*, *53*(6), 1430-1435.
197. Dilshad, R., Khan, K. U. R., Saeed, L., Sherif, A. E., Ahmad, S., Ovatlarnporn, C., ... & Mukhtar, I. (2022). [Retracted] Chemical Composition and Biological Evaluation of Typha domingensis Pers. to Ameliorate Health Pathologies: In Vitro and In Silico Approaches. *BioMed Research International*, *2022*(1), 8010395.
198. Sardar, A. A., Khan, Z. U. D., Perveen, A., Farid, S., & Khan, I. U. (2014). In vitro antioxidant potential and free radical scavenging activity of various extracts of pollen of Typha domigensis Pers. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *27*(2).
199. Al-Kalifawi, E. J., Al-Azzawi, Y. J., kat Al-Fartousi, K., & Musa, H. M. (2017). *Physicochemical, phytochemical profiling and Biological activities of leaves extract of Bardy (Typha domingensis Pers.) from Al-Chibayish marshes in southern Iraq.* Erişim 25.10.2017, International Academic Congress on Politics, Engineering, Sociology, Information, Health & Medical Istanbul, Turkey, Education and Communication Istanbul Aydın University: https://www.longdom.org/open-access-pdfs/phytochemical-analysis-and-antimicrobial-activities-of-cyperus-rotundus-and-typha-latifolia-reeds-plants-from-lugari-region-of-wes-2471-2698-1000128.pdf
200. Wangila, T. P. (2017). Phytochemical analysis and antimicrobial activities of Cyperus rotundus and Typha latifolia reeds plants from Lugari region of Western Kenya. *Pharmaceutical Analytical Chemistry*,3(3).
201. Helaly, G. F., Abd El-Aziz, A. A., Sonbol, F. I., El-Banna, T. E., & Louise, N. L. (2011). Dexpanthenol and propolis extract in combination with local antibiotics for treatment of Staphylococcal and Pseudomonal wound infections. *Archives of Clinical Microbiology*, *2*(4).
202. Londonkar, R. L., Kattegouga, U. M., Shivsharanappa, K., & Hanchinalmath, J. V. (2013). Phytochemical screening and in vitro antimicrobial activity of Typha angustifolia Linn leaves extract against pathogenic gram negative micro organisms. *Journal of Pharmacy Research*, *6*(2), 280-283.
203. Gurunathan, S. (2015). Biologically synthesized silver nanoparticles enhances antibiotic activity against Gram-negative bacteria. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, *29*, 217-226.

EK

Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 07.09.2023-21454

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 24.08.2023
Toplantı Sayısı : 05
Karar Sayısı : 05

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü İmmünoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi **Prof. Dr. Sevgi KALKANLI TAŞ**'ın **"Sıçanlarda Oluşturulan Yara Enfeksiyon Modelinde Typha Türünün Histolojik ve İmmünolojik Parametrelere Etkisinin Araştırılması"** başlıklı bilimsel çalışma önerisi 24.08.2023 tarihli sayılı 05 sayılı toplantıda Etik Kurulumuz tarafından görüşülmüş olup, etik açıdan **"uygun"** olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Aslı Gibidir
Prof. Dr. Arzu İRBAN
HADYEK Başkanı

Evrakı Doğrulamak İçin : https://www.turkiye.gov.tr/sbu-ebys?eD=BS4KZJ97EU&eS=21454

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.