



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SATUREJA CUNEİFOLIA’NIN ETANOLİK EKSTRAKTININ
YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN RAT SIRT
EPİTELİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

SALİH SERDAR SEMERCİ

DOKTORA TEZİ

Ağız Diş ve Çene Cerrahisi

ANA BİLİM DALI

Sivas, 2022

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SATUREJA CUNEİFOLIA’NIN ETANOLİK
EKSTRESİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİNLİĞİNİN RAT SIRT EPİTELİNDE
DEĞERLENDİRİLMESİ

SALİH SERDAR SEMERCİ

DOKTORA TEZİ
Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi
ANA BİLİM DALI

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Turgay Peyami HOCAOĞLU
Sivas, 2022

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18. 02. 2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

KATKI BELİRTME / TEŞEKKÜR

Salih Serdar SEMERCİ



ÖZET

SATUREJA CUNEİFOLİA’NIN ETANOLİK EKSTRESİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN RAT SIRT EPİTELİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ

Salih Serdar SEMERCİ

Doktora Tezi

Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Turgay Peyami HOCAOĞLU

2022, 97 sayfa

Yara, dokunun anatomik, hücresel ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanır. Yara yeri iyileşmesi; inflamatuvar, proliferatif ve yeniden yapılanma fazlarından oluşmaktadır. Bu fazlarda görülebilecek herhangi bir olumsuzlukta yara iyileşmesi gecikmekte veya yara kapanmamaktadır. Bütün bu fazlar boyunca oluşabilecek enfeksiyon ve diğer patolojik durumların oluşmaması için yara yerinin hızlı iyileşmesi önemlidir.

Satureja Cuneifolia, Satureja familyasına aittir ve pek çok hastalığın tedavisinde farklı şekillerde kullanılmaktadır. Ülkemizde geniş bir alanda yayılım gösteren Satureja Cuneifolia bitki ekstresinin yara iyileştirici ve antiseptik amaçla yaygın olarak kullanımının yanı sıra kanser tedavisi, infertilite, antimikrobiyal - özellikle de antiviral- etkileri üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Antibakteriyel özelliğine ek olarak antikolinesteraz, fungisidal, anti HIV etkilere de sahiptir.

Bu çalışmada; Türkiye’de yaygın olarak bulunan Satureja Cuneifolia bitkisinden hazırlanan etanollü ekstraktın yara iyileşmesi üzerine etkilerinin

araştırılması amacıyla 16-18 haftalık 250-300 g ağırlığında sağlıklı Wistar albino türü erkek sıçanlar (n=72) kullanılmıştır. Ketamin ile anestezileri sağlanan sıçanların sırt bölgelerinin sağ tarafında 6 mm çapında tek kullanımlık punch biyopsi aletiyle tam kalınlıkta yara oluşturulmuştur. Tedavi 21 gün sürdürülmüş ve işlem sonrasında 7, 14 ve 21. günlerde tüm gruplardan kardiyak kan ve biyopsi örnekleri alınmıştır. Örneklerde biyokimyasal, histopatolojik / immunohistokimyasal analizler ile *Satureja Cuneifolia*'nın etanollü ekstraktının yara iyileşmesi üzerine etkileri araştırıldı.

Histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeye göre; *Satureja Cuneifolia* ekstraktı uygulanan grupta FGF, VEGF ve IL-1 gibi yara iyileşmesini etkileyen parametrelerde anlamlı bir artış görülmesine rağmen epitelizasyon derecesi, PMNL infiltrasyonu, makrofaj miktarı bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Ayrıca yara yüzey alanı *Satureja Cuneifolia* ekstraktı uygulanan yumuşak doku defektlerinde uygulanmayan gruplara nazaran 7. ve 14. günlerde anlamlı olarak *daha küçük bulunmuştur*.

Anahtar kelimeler: *Satureja Cuneifolia*, yara iyileşmesi, VEGF, EGF, İL1, hidroksiprolin, timol, karvakrol

ABSTRACT

SATUREJA CUNEİFOLİA’NIN ETANOLİK EKSTRESİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN RAT SIRT EPİTELİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ

Salih Serdar SEMERCİ

Ph.D. Thesis

Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisor: Assoc. Prof. Turgay Peyami HOCAOĞLU

2022, 97 Pages

Wound is defined as the disruption of the anatomical, cellular and functional integrity of the tissue. Wound healing consists of three phases classified in inflammatory, proliferative and remodeling. Wound healing is delayed or cannot be accomplished in case of any distraction that can be seen in these phases. It is important that the wound heals timely in order to prevent possible infection and pathological conditions that may occur during all these phases.

Satureja Cuneifolia belongs to the Satureja family and is used in different ways at the treatment of variable diseases. Satureja Cuneifolia plant extract, which is an endemic specy in our country, is widely used for wound healing and antiseptic purposes. A variety of studies have been conducted on its use in cancer treatment,

infertility, antiviral, and especially antimicrobial effects (2-5). In addition to its antibacterial properties, it also has anticholinesterase, fungicidal and anti HIV effects (2-6-7).

In this study; in order to investigate the effects of ethanolic extract prepared from *Satureja Cuneifolia* plant, on wound healing, 16-18 weeks old healthy male Wistar albino rats (n=72) weighing 250-300 g were used. A full-thickness wound was created with a 6 mm diameter via a disposable punch biopsy instrument on the right side of the dorsal region of rats anesthetized with ketamine. The treatment lasted for 21 days and following the procedure, samples of cardiac blood and biopsy were taken from all groups on 7, 14, 21. days. The effects of ethanolic extract of *Satureja Cuneifolia* on wound healing were investigated by performing biochemical, histopathological/immunohistochemical analyzes on these samples.

According to the histopathological and immunohistochemical evaluation results; although there was a significant increase in parameters affecting wound healing such as FGF, VEGF and IL-1 in study group, no significant difference was found between the groups in terms of the degree of epithelialization, PMNL infiltration, and amount of macrophages. Besides, the wound surface area was found to be significantly smaller on the 4th and 7th days in the soft tissue defects treated with *Satureja Cuneifolia* extract compared to the groups that did not received the extract.

Key Words: *Satureja Cuneifolia*, wound healing, VEGF, EGF, IL1, hydroxyproline, thymol, carvacrol

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇ KAPAK...	i
ONAY	ii
YÖNERGE.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ... ..	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ... ..	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Yara	3
2.2 Yara İyileşmesi... ..	3
2.2.1 Hemostaz/İnflamatuvar Faz	4
2.2.1.1 TNF- α	6
2.2.1.2 IL-1... ..	7
2.2.1.3 FGF... ..	8
2.2.1.4 EGF.....	9
2.2.1.5 VEGF	10
2.2.2 Proliferasyon Fazı... ..	10
2.2.3 Maturasyon (Yeniden Şekillenme) Fazı... ..	12
2.2.4 Hidroksiprolin	13
2.3 Yara İyileşmesi Tipleri.....	15
2.3.1 Primer Yara İyileşmesi... ..	15
2.3.2 Sekonder Yara İyileşmesi... ..	15
2.3.3 Tersiyer Yara İyileşmesi.....	16
2.4 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	17
2.4.1 Lokal Faktörler.....	17

2.4.1.1 Cerrahi Teknik.....	17
2.4.1.2 Doku İskemisi	17
2.4.1.3 Hipoksi.....	17
2.4.1.4 Enfeksiyon	18
2.4.1.5 Yabancı Cisim	18
2.4.1.6 Topikal steroidler	18
2.4.1.7 Yanlış Pansuman	19
2.4.1.8 Hematom gelişimi, Ödem.....	19
2.4.2 Sistemik Faktörler	19
2.4.2.1 Yaş.....	19
2.4.2.2 İlaçlar.....	19
2.4.2.3 Sigara.....	20
2.4.2.4 Cinsiyet ve Menapoz	20
2.4.2.5 Malnütrisyon	20
2.4.2.6 Kemoterapi/ Radyoterapi.....	21
2.4.2.7 Kronik hastalıklar	21
2.4.2.8 Endokrin Hastalıklar.....	21
2.5 Yara Bakımı.....	22
2.5.1 Antimikrobiyal Ajanlar.....	22
2.5.1.1 Dezenfektanlar	23
2.5.1.2 Topikal Antiseptikler	23
2.5.1.3 Topikal Sistemik Olarak Kullanılan Antibiyotikler	23
2.5.2 Hiperbarik Oksijen Tedavisi	24
2.5.3 Debridman	24
2.5.4 Diğer Ürünler	25
2.6 Satureja Cuneifolia	25
2.6.1 Satureja Cuneifolia'nın Aktif Bileşikleri.....	28
2.6.1.1 Timol.....	28
2.6.1.2 Karvakrol.....	29
2.6.1.3 Linalool.....	30
2.6.1.4 p-Cymene.....	31
3 MATERYAL METOT	32

3.1 <i>Satureja Cuneifolia</i> Ekstraktının Hazırlanması.....	32
3.2 Deneyisel grupların oluşturulması... ..	33
3.3 Cerrahi teknik.....	34
3.3.1 Ekstraktın uygulanma şekli	36
3.4 Deneyin Sonlandırılması.....	36
3.5 Değerlendirme Yöntemleri... ..	37
3.5.1 Biyokimyasal Yöntem	37
3.5.2 Histopatolojik Yöntem	40
3.5.3 İmmunohistokimyasal Yöntem.....	42
3.5.4 Yara Yüzey Alanının Değerlendirilmesi	43
3.6 İstatistiksel Yöntem	43
4 BULGULAR.....	44
4.1 Klinik Bulgular... ..	44
4.2 Histopatolojik Bulgular... ..	44
4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular	49
4.4 Biyokimyasal Parametreler	53
4.3.1 IL-1 Miktarının Değerlendirilmesi... ..	54
4.3.2 VEGF Miktarının Değerlendirilmesi.....	55
4.3.3 TNF- α Miktarının Değerlendirilmesi	57
4.3.4 Hidroksiprolin miktarının değerlendirilmesi... ..	58
4.5 Yara Yüzey Alanı Bulguları... ..	60
5 TARTIŞMA.....	61
6 SONUÇ VE ÖNERİLER... ..	67
7 KAYNAKLAR	69
8 ÖZGEÇMİŞ	89

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Satureja Cuneifolia ile Satureja Thymbra içeriğinin karşılaştırılması.....	28
Tablo 2: Hayvan grupları ve sayıları	34
Tablo 3: Histopatolojik bulgular ve histopatolojik sınıflama	42
Tablo 4: Primer antikor ve immünohistokimyasal skorlama	43
Tablo 5: Gruplar arası 7. gün bulgularının karşılaştırılması.....	45
Tablo 6: Gruplar arası 14. gün bulgularının karşılaştırılması	46
Tablo 7: Gruplar arası 21. gün bulgularının karşılaştırılması	47
Tablo 8: Gruplar arası 7. gün BEK ve COX2 aktivitelerinin karşılaştırılması	50
Tablo 9: Gruplar arası 14. gün BEK ve COX2 aktivitelerinin karşılaştırılması	51
Tablo 10: Gruplar arası 21. gün BEK ve COX2 aktivitelerinin karşılaştırılması	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: <i>Satureja Cuneifolia</i> (kaya kekiği)'nin doğal görünüşü...	2
Şekil 2.1: Primer Yara İyileşmesi...	14
Şekil 2.2: Sekonder Yara İyileşmesi	15
Şekil 2.3: Tersiyer Yara İyileşmesi	16
Şekil 3.1: <i>Satureja Cuneifolia</i> bitkisinin genel fotoğrafı.....	25
Şekil 3.2: <i>Satureja Cuneifolia</i> bitkisinin çiçeklerinin fotoğrafı	26
Şekil 3.3: <i>Satureja Cuneifolia</i> bitkisinin yapraklarının fotoğrafı	26
Şekil 4: Timol (5-Methyl-2-(propan-2-yl) phenol)	27
Şekil 5: Timol kristalleri.....	27
Şekil 6: Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl)phenol).....	29
Şekil 7: Linalool (3,7- Dimethylocta-1,6-dien-3-ol)	29
Şekil 8: p-Cymene (1-Methyl-4-(propan-2-yl)benzene).....	30
Şekil 9: Hidroksiprolin ((2 S, 4R)-4-Hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid).....	31
Şekil 10.1: Ratların sırt bölgesindeki traş edilmiş deride uygulama alanı.....	35
Şekil 10.2: Punch biyopsi aleti (6mm).....	35
Şekil 10.3: Rat sırtında oluşturulan tam kalınlık yumuşak doku defekti.....	36
Şekil 10.4: Hyben x preparatı	35
Şekil 10.5: 7. Gün İyileşme	36
Şekil 11: Gruplar arasında 7,14,21. günlerde epitelizasyon, ödem ve hemorajik alanların histopatolojik görünümü... ..	48

Şekil 12: Gruplar arasında 7,14,21. günlerde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı) ve mature granulasyon dokusu oluşumunun histopatolojik görünümü.....	49
Şekil 13: Gruplar arasında 7,14,21. günlerde BEK pozitifliği ve immünnegatifliğin histopatolojik değerlendirilmesi/görünümü.	52
Şekil 14: Gruplar arasında 7,14,21. günlerde COX-2 pozitifliği ve immünnegatifliğin histopatolojik değerlendirilmesi/görünümü	53
Şekil 15: IL-1 standart eğri.....	55
Şekil 16: Tedavi uygulanan ratların IL-1 miktarlarının güne göre değişimi.....	56
Şekil 17: VEGF standart eğri... ..	56
Şekil 18: Tedavi uygulanan ratların VEGF miktarlarının güne göre değişimi	57
Şekil 19: TNF- α standart eğri	58
Şekil 20: Tedavi uygulanan ratların TNF- α miktarlarının güne göre değişimi	58
Şekil 21: Hidroksiprolin standart eğri.....	59
Şekil 22: Tedavi uygulanan ratların Hidroksiprolin miktarlarının güne göre değişimi.....	60
Şekil 23: Tedavi uygulanan ratların yara yüzey alanlarının güne göre değişimi	61

KISALTMALAR

BEK	Fibroblast Growth Factor 2
COX2	Siklooksijenaz-2
ATP	Adenozin Trifosfat
ATPaz	Adenozin Trifosfataz
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CRH	Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
DNA	Deoksi Nükleik Asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
GF	Büyüme Faktörü
HBO	Hiper Barik Oksijen
HIV	İnsan İmmünyetmezlik Virüsü
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
KGF	Keratinosit Büyüme Faktörü
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
NK hücreleri	Doğal Öldürücü Hücreler
PBS	Phosphate-Buffer Saline
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PF-4	Trombosit Faktör 4
PLGF	Plasental Büyüme Faktörü

PMNL	Poli Morf Nüeli Lökosit
RNA	Ribo Nükleik Asit
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktör
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör- alfa
VEGF	Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörü
VPF	Vasküler Permeabilite Faktörü



1. GİRİŞ

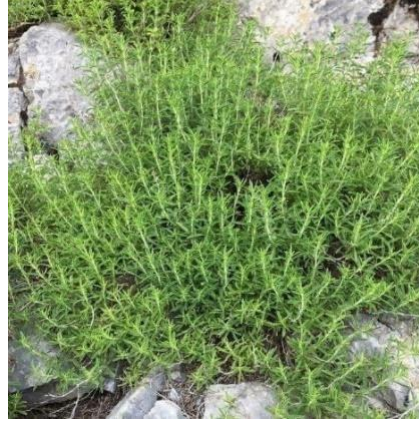
Yara, dokunun anatomik, hücresel ve fonksiyonel bütünlüğünün travma ya da hastalık nedeni ile bozulması olarak tanımlanmaktadır (1, 2). Yara iyileşmesi ise bu bozunumun geri çevrilmesi ya da eski haline en yakın haliyle tekrar kurulması sürecine verilen addır. Yara iyileşmesinde organizmanın performansı hem yaşamsal işlevlerin sürdürülmesi için vazgeçilmez olup hem de cerrahi yaralarda ameliyatın başarısı için önemlidir. Cerrahi yaralarda iyileşmenin komplikasyonsuz ilerlemesi ve hatta iyileşme performansının artırılması hem organizmanın kendisi için önemli hem de ameliyatın sonuçları için yüz güldürücü olacaktır. Özellikle malnütrisyon, alkol-sigara bağımlılığı, diyabetes mellitus, konjestif kalp yetersizliği gibi yara iyileşmesini güçleştiren durumlar ve kronik hastalıklarda süreç uzamakta; mortalite ve morbidite riski artmaktadır (3). Bu nedenle araştırmacılar uzun yıllar boyunca yara iyileşmesi sürecini hızlandıracak materyaller ve teknikler üzerinde çalışmışlar, farklı yara tiplerinde farklı yara iyileştirici ajanların etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla kollajen, aljinat, kitosan gibi farklı içerikli doğal ve sentetik pek çok malzeme kullanılmıştır (4-8).

Son yıllarda özellikle cerrahi yara iyileşmesinde olası morbidite ve mortalitenin önlenmesi için yara örtüleri, hidrojeller ve yara bakım ekstraktları geliştirilmekte ve bu konuda pek çok bitkisel üründen yararlanılmaktadır (9). Bu konuda giderek artan sayıda çalışmada bitki ekstraktlarından elde edilen ürünlerin yara iyileşmesindeki olumlu etkileri gösterilmektedir (10-13).

Ülkemiz bitkisel flora ve endemik türler açısından oldukça zengindir. Türkiye’de yetişen yaklaşık on bine yakın bitki türü hem tedavi hem sanatsal amaçlarla uzun yıllardır kullanılmaktadır.

Geleneksel olarak kullanılan bitkisel kaynaklı ilaçların yara iyileştirme performansı, sahip oldukları antimikrobiyal etkilere dayandırılmakta ve bu alandaki çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

Yara iyileşmesinde etkinliği gösterilmiş olan Satureja cinsi 50 alt tür içermektedir. Bitkinin boyu 15-50 cm, yaprakları 1-3 cm boyutlarında beyazdan pembe mora kadar değişen çeşitli renklerde olabilmektedir (Resim 1). Türler kendi aralarında farklılık göstermekle beraber tek yıllık ya da çok yıllık olabilmektedir. Ancak Satureja cinsinin yara iyileşmesi üzerine etkilerini gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (14-16). Bu çalışmalarda özellikle Satureja Multica, Satureja Khuzistanica, Satureja Hortensis ve Satureja Genus üzerinde durulmuştur.



Şekil 1. Satureja Cuneifolia (kaya kekiği)’nın doğal görünüşü

Ülkemizde endemik olan Satureja Cuneifolia (kaya kekiği) ise Türkiye ve İran başta olmak üzere İtalya, Romanya ve Bulgaristan’da yetişmektedir (17). Satureja

Cuneifolia cinsi aromatik ve medikal amaçlı kullanılan antimikrobiyal özelliğe sahip bitkilerden biridir.

Satureja Cuneifolia'nın bileşenleri arasında timol, karvakrol ve linalolun yanı sıra bilinen başka 25 bileşen daha yer almaktadır (18). Yara iyileşmesine ilişkin çalışmalar bunlar arasında en çok timol ve karvakrol üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak bilgilerimize göre literatürde ülkemizde endemik olan Satureja Cuneifolia (kaya kekiği)'nin ise yara iyileşmesi üzerine etkilerini yansıtan tek çalışma bulunmaktadır (16).

Bu nedenle bu çalışmada; Türkiye'de yaygın olarak bulunan Satureja Cuneifolia bitkisinden hazırlanan etanollü ekstraktın deneysel bir modelde yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara

Yara, travma ya da hastalık nedeniyle dokunun bütünlüğünün bozulması ve bu nedenle işlevlerinin tamamını yerine getirememesi olarak tanımlanmaktadır (19). Anatomik devamlılığın kesintiye uğradığı ve fonksiyonların bozulduğu bu patolojinin çözülmesi için gerçekleşen biyokimyasal ve hücrel cevapların bütünü ise 'yara iyileşmesi' olarak tanımlanmaktadır (20, 21). İyileşme, organizmanın yaşamsal faaliyetlerinin devamı için olduğu kadar ameliyat başarısında da belirleyici olduğundan uzun yıllardır araştırılmakta ve günümüzde de birçok araştırmaya konu olmaktadır.

2.2 Yara İyileşmesi

Yaralanma travmanın türüne bağlı olmaksızın yaralı dokunun bütün özelliklerini yeniden kazanması için bir dizi karmaşık olaylar dizisini başlatır. Bunlara ‘yara iyileşmesi fazları’ denilmektedir (19, 22). Yara iyileşmesinde rol alan hücresel ve biyokimyasal bileşenler keratinositler, inflamatuvar hücreler, endotel hücreleri, ekstraselüler matriks ile sitokinler ve büyüme faktörleridir (15).

Yara iyileşmesi birbiriyle içi içe geçen üç fazdan oluşmaktadır (20, 23). Bu fazların herhangi birinde ortaya çıkabilecek komplikasyon veya bu fazın gerçekleşme süresinin uzaması, iyileşmede gecikmeye, enfeksiyon ihtimalinin artmasına veya yara kapanmasında başarısızlığa neden olacaktır (24). Bu da yara boyutunun büyüklüğüne ve bulunduğu bölgeye bağlı olarak hayatın kaybedilmesi, sepsis, ya da başarısızlıkla sonuçlanan operasyonlar, boşa giden iş gücü ve maliyetin artması gibi geniş bir yelpazede bir dizi olumsuz tablo doğuracaktır.

Bu fazlar şunlardır:

- 1- Hemostaz / İnflamatuvar (eksüdatif) faz,
- 2- Proliferasyon fazı,
- 3- Yeniden şekillenme (maturasyon) fazı (19, 25, 26).

2.2.1 Hemostaz / İnflamatuvar (eksüdatif) Faz

Yaralanmadan hemen sonra tamir yanıtının habercisi olarak başlamakta (19) ve genellikle 3-5 gün sürmektedir (27-29). İnflamatuvar fazın amacı; hemostazın oluşturulması, devitalize dokuların uzaklaştırılması, bakteri kolonizasyonu oluşumunun engellenmesi ve invazif enfeksiyonların önlenmesidir (30-33). Plazma

eksüdasyonu, fibrin formasyonu, lökositlerin göçü ve ödem oluşumu bu fazda görülen olaylardır.

Travma sonrası bölgeye ilk ulaşan hücreler nötrofillerdir. İlk altı saatte bölgeye ulaşan nötrofiller iki gün boyunca görevlerine devam etmektedir. Bu süreçte yabancı cisimlerin ve bakterilerin fagositozu ile travmaya bağlı hasar görmüş hücrelerin ortamdan uzaklaştırılmasından sorumludurlar (30, 38, 43).

Kanamaya verilen ilk cevaptır vazokonstriksiyondur ve bu inflamatuvar fazın başlangıcı sayılır. Damarda defekt oluşumuyla subendotelyal kollojenler trombositlere temas ederek Hageman faktörü aktive ederler (faktör XII) (30, 34-38). Bu büyüme faktörlerinin, sitokinlerin salgılanmasına ve trombosit sekresyonuna yol açar (30,36,38,39). Trombositler birbirlerine ve subendotelyal kollojene yapışarak fibrin matriksi oluşturur. Buna trombosit tıkaçı adı verilir (1,27,40). Burada trombositler kümelenir ve koagülasyon sistemi aktive edilmiş olur. Protrombin trombine, fibrinojen fibrine dönüştürmesiyle pıhtı meydana gelir (19). Pıhtı, hemostaz sağlamanın dışında, aktif trombositlerin, degranüle oldukça salınan sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin rezervuarıdır (41, 42).

Yara açılması ile oluşan kanamanın pıhtı oluşumu ile durdurulmasıyla endotel hücrelerden salınan histamin, prostoglandin E2, prostosiklin ve endotelyal büyüme faktörü ile vazodilatasyon gelişir ve damar permeabilitesinde artış görülür (43). Poli Morf Nüveli Lökositler (PMNL) ve plazma, damar yatağından dışarıya çıkıp yara bölgesine göç ederler. Yara bölgesine gelen lökositler inflamasyon araçlarını serbestleştirirler (24, 35). Artan kan akımı ve trombositlerden salınan kemotaktik faktörler aracılığı ile bölgeye yoğun inflamatuvar hücre göçü olur. İnflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği, kompleman faktörler, interlökin-1, Tümör

nekroz faktör- alfa (TNF- α), Trombosit Faktör 4 (PF-4), Transforming growth faktör- β gibi kemotaktik maddeler, nötrofil göçünü uyarır (24, 30, 44).

Nötrofillerin azalmaya başladığı 2. günden sonra monosit / makrofaj yoğunluğu başlamaktadır. İyileşme sürecinde 3-5. gün aralığında yaradaki hâkim hücreler olarak çalışan makrofajların görevi; antimikrobiyal etki, yara debrimanının uzaklaştırılması, fagositoz, hücre dışı matriks sentezinin düzenlenmesi ve anjiogenezdır (24, 39). Bütün bunların yanı sıra çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımından da sorumludurlar (38). Keratinosit ve fibroblast aktivasyonunu da arttırmaktadırlar (44, 58). Ayrıca makrofajlar; yara bölgesine lenfositlerin gelişi ve aktivasyonlarında rol oynamaktadır. İnflamatuvar fazın sonlarına doğru makrofaj yoğunluğu da azalmaktadır. Bu süreç yara derinliğine ve genişliğine bağlı olmakla beraber 3-5 gün aralığında tamamlanmaktadır (29, 35).

Bu çalışmada da değerlendirilen ve yara iyileşmesinde rolü olan sitokinlerden TNF- α ve İnterlökin-1 (IL-1) ve büyüme faktörlerinden VEGF, EGF ve FGF hakkında aşağıdaki bilgiler verilmiştir.

2.2.1.1 TNF- α

Yara iyileşmesinde ilk adım olarak birincil hemostaz fazı oluşmaktadır. Bu fazda inflamasyon ve granülasyon dokusu oluşumu; yara kapanmasına yol açan keratinosit ve bunu takiben fibroblast proliferasyonu ve hücre dışı matriksin yeniden düzenlenmesi olmaktadır (47, 48). Proinflamatuvar sitokinler bu süreçte merkezi bir düzenleyici olarak rol oynamaktadır (49)

Tümör nekroz faktörü (TNF- α), IL-1, ve interlökin 6 (IL-6) yara iyileşmesinde rol oynayan anahtar proinflamatuvar sitokinlerdendir (45). Tümör nekroz faktörü (TNF- α) akut faz reaksiyonunu oluşturan sistemik inflamasyonda yer alır. Aynı zaman

da bir hücre sinyal proteini olan TNF- α , multifonksiyonel bir sitokin olarak bir yandan iltihabın indüklenmesi, kontrol edilmesi ve dokuların enfeksiyondan korunmasında görev alırken diğer yandan, bağışıklık düzenlemesinin/immün regülasyonun sürdürülmesinde ve ikincil lenfoid organların yapısının korunmasında rol oynamaktadır.

TNF- α , romatoid artrit, multipl skleroz, sedef hastalığı ve Crohn hastalığı gibi çeşitli otoinflamatuvar ve otoimmün bozuklukların patogeneğinde yer alan ana faktörlerden biridir (46). Sistemik TNF- α inhibitörleri, bu bozuklukların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.2.1.2 IL-1

IL-1 ailesi proinflamatuvar sitokinlerin prototipidir. Biyolojik işlevleri açısından birbirine oldukça benzeyen IL-1 alfa ve IL-1 beta olmak üzere iki şekli bulunmaktadır. Lökosit ve endotel hücreler üzerindeki integrinlerin ekspresyonu yoluyla inflamatuvar yanıtı düzenlemektedir (50). IL-1 yoğun olarak doku makrofajları, monositler, fibroblastlar ve dendritik hücreler tarafından üretilirken, B lenfositler, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), mikrogliya ve epitel hücreleri tarafından da eksprese edilmektedir. Vücudun enfeksiyona karşı inflamatuvar yanıtının önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar. Bu sitokinler, fagositler, lenfositler gibi immünokompetan hücrelerin göçünü (diyapedez olarak da adlandırılır) sağlamak için endotel hücreleri üzerindeki yapışma faktörlerinin ekspresyonunu arttırmaktadır (51). Hipotalamusun aktivitesini vücut ısısı artışına sebep olarak artırır bu nedenle IL-1 endojen pirojen olarak adlandırılmaktadır. Bundan başka IL-1 ayrıca hiperaljezi (artan ağrı duyarlılığı), vazodilatasyon ve hipotansiyona neden olmaktadır (50, 51).

IL-1, nöroinflamasyonda da önemli bir role sahiptir (52). Enflamasyon sırasında beyinde artış gösteren TNF ve IL-1 miktarları, kan-beyin bariyerinin bozulmasına neden olabilir (53, 54). IL-1 genlerindeki polimorfizmlerin bazı kanserlerin gelişiminde rol aldığı, ankilozan spondilit, ve Graves hastalığında ise genetik duyarlılığı artırdığı gözlenmiştir (55-57).

2.2.1.3 FGF

Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ailesinin ilk izolasyonu 1974 yılında gerçekleşmiştir. Omurgalı ve omurgasız birçok canlıda 23 farklı üyesi olduğu gözlenmiştir (93-95). FGF'ler embriyonik ve fetal gelişimde, sinirsel koruma, damarlanma, doku oluşumu, yara iyileşmesi, hücre göçü, hücre çoğalması ve farklılaşması, tümör gelişimi ve apoptosis gibi birçok önemli biyolojik sürecin düzenlenmesinde görev almaktadır (96-98).

FGF'ler endotel hücrelerden hem sentezlenmekte hem de bu hücreler tarafından FGF'e yanıt verilmektedir. FGF'ler fibroblast büyüme faktörü reseptörlerine bağlanarak aktif hale gelmektedir. FGFR-1, FGFR-2, FGFR-3 ve FGFR-4 olmak üzere 4 adet reseptör tespit edilmiştir (97). Faktör ve reseptör bağlandıktan sonra reseptörde otofosforilasyon gerçekleşmekte ve aktif hale gelen FGF tarafından transkripsiyonu düzenleyici proteinler uyarılmaktadır (99).

Hücrelerin büyüme ve diferansiyasyonunda görev alan fibroblast büyüme faktörleri polipeptid yapıdadırlar. FGF ailesi içinde asidik fibroblast büyüme faktörü (FGF-1 veya aFGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (FGF-2 veya bFGF) öne çıkan iki üyedir. bFGF, en çok insan endotel hücrelerinden ve periodontal ligamentteki fibroblastlardan üretilmektedir (95). Özellikle mezodermal kökenli hücreler üzerinde kemotaktik, mitojenik ve anjiojenik etkileri mevcuttur (97). Bu etkileri sayesinde

bFGF ‘leri periodontal dokuların tamir ve rejenarasyonunda aktif görev almaktadırlar (30). g

Mezenkimal hücreler için mitojen olarak ilk kez bulunan bu faktörün anjiogenezi uyardığı ve yara iyileşmesinde rolü olduğu gösterilmiştir. Her iki tip FGF de endotel proliferasyonu ve motiliteyi arttırarak vaskülarizasyonu arttırmaktadır. Heparinin etkilerini güçlendirmektedir. Bazik FGF, ayrıca kollajen sentezini, yara kontraksiyonunu, fibronektin ile proteoglikan sentezini ve epitelizasyonu uyarır. Bazik FGF’ün neovaskülarizasyonu uyarıcı özelliği yaklaşık 10 kat fazladır (81, 100).

2.2.1.4 EGF

Epidermal Growth Factor (EGF) birçok memelinin vücut sıvılarında ve değişik dokularında bulunan, 53 aminoasitten oluşmuş mitojenik bir polipeptittir (101, 102). Fibroblastlar, korneal endotel hücreler ve sinir sistemi destek dokusu hücreleri üzerinde mitojenik aktiviteye sahip olan EGF en çok mezodermal hücreler tarafından salgılanmaktadır (103).

Epidermal büyüme faktörü, doku ve vasküler sistemlerin tamirinde, anjiyogenezis ve embriyogenezisde büyük rol oynamaktadır (102). Neoplastik büyümede ve yara iyileşmesinde etkisi olan EGF hücrelerde iyon alınımını, DNA ve ribo nükleik asit (RNA) ile protein yapımını ve glikolizisi artırıcı özellik göstermektedir (33,39,103). EGF, yara iyileşmesinde enflamatuvar faz, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazı olmak üzere, birbirinin ardı sıra gelişen bu 3 ayrı süreçte de etkisini göstermektedir (104). İnflamatuvar fazın bitiminden fibroblastların kollajen sentezine, yara kavitesinin granülasyon dokusu ile dolumundan epitelizasyon

tamamlanıncaya kadar mitojenik etkisi olduğu görülen polipeptid yapısındaki EGF'nin faaliyet gösterdiği bilinmektedir (95,102,104,105).

2.2.1.5 VEGF

Vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF), pek çok fonksiyonel ve biyolojik aktivitede önemli rol oynayan polipeptid yapıda bir moleküldür. Organların gelişim evresinde aktif rol oynayan bu molekül ilk defa karsinoma hücrelerinden, tümörlerin asit sıvısı akımını arttıran bir permeabilite faktörü olarak izole edilmiş ve vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak isimlendirilmiştir. Sonrasında yapılan çalışmalarda VEGF bir anjiogenik faktör olarak izole edilmiş ve endotel hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu indüklediği gözlenmiştir (106). Bilinen en güçlü anjiogenik sitokindir (30).

VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve plasental büyüme faktörü (PLGF) olmak üzere VEGF ailesinin 7 üyesi bulunmaktadır (107, 108). VEGF'ün biyoaktivitesi ko-reseptörlere ve spesifik reseptörlere bağlanması ile oluşmaktadır. Bu reseptör ve ko-reseptörler, lenf ve vasküler endotel hücrelerinde, monosit ve makrofajlarda, epitelyal hücrelerde, hematopoetik kök hücrelerde, düz kas hücrelerinde, myojenik öncül hücrelerde ve fibroblastlarda bulunmaktadır (30, 109).

2.2.2 Proliferasyon Fazı

İnflamatuvar faz sırasında salınan sitokinler ve büyüme faktörleri, yara iyileşmesinin ikinci evresi olan proliferasyon fazını uyarır (59). Proliferasyon fazında gerçekleşen en önemli olay doku rejenerasyonudur. Proliferasyon fazı, sağlıklı bireylerde yaralanmadan sonraki 48 saat içinde başlayıp üç haftaya kadar devam

edebilmektedir. Bu faz sırasında etkin olan primer hücreler fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleridir (19,24,43,59). Proliferasyon fazında inflamatuvar hücrelerin sayısı azalırken mezenşimal hücrelerin farklılaşmasıyla fibroblastların sayısı artmaktadır (28,29,43,59).

Proliferasyon fazı, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu, yara kontraksiyonu ve epitelizasyonu içeren dört önemli aşamadan oluşmaktadır (25).

Hücrelerin metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için gereken oksijen ve besin maddelerini sağlamak üzere bu bölgede mikro dolaşımın sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla yeni kapiller kan damarlarının oluşturulması işlemi bu evrede başlar. Bu olaya anjiogenez denilmektedir. Özellikle vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve TNF- β gibi doğal büyüme faktörlerinin etkisi altında, endotel hücrelerinin göçü, çoğalması ve organizasyonu ile anjiogenez gerçekleşmektedir (20, 27, 29, 41, 43, 60).

İnflamatuvar faz esnasında yara yatağından çıkarılan sellüler debris ve bakteriler, iyileşmenin devam etmesi için doldurulması gereken bir defekt bırakmaktadır. Bu defekt granülasyon dokusu ile doldurulmaktadır. Granülasyon dokusu burada geçici bir vaskülarize bağ dokusu ağı olarak kalmaktadır (25). Fibroblastlar yeni ekstrasellüler matriksi ve immatür kollajeni (tip III) sentezlemektedir (27). TGF- β , trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) kollojen sentezinin başrolünü oynamaktadır (61). Kollajen sentezi yaralanmanın ikinci günü başlamakta ve en yüksek aktivasyonunu 5-7. günlerde göstermektedir (19, 24, 44). Fibroblastlar aynı zamanda fibronektin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi kompleks protein bileşiklerini de sentezlemektedir (43). Bu maddeler kollajen fibrillerinin kümelenmesi esnasında

apını ve büyüklüğünü etkileyerek bağ dokusunun fiziksel özelliklerinin oluşmasında rol oynamaktadır (30, 38, 39)

Yaralanma doku kaybı oluşturmuş ise miyofibroblastlarca başlatılan kontraksiyon günlük 0,6 - 0,7 mm'lik mesafeler katederek geometrik olarak merkeze doğru ilerlemektedir (43). Yara kontraksiyonunun miktarı yaranın lokalizasyonuna,

derinliğine ve toplam yüzey alanı büyüklüğüne göre değişebilmektedir. Örneğin dairesel yaralar çok yavaş kontrakte olurken lineer yaralar en hızlı kontrakte olan yaralardır. Öte yandan tam kalınlık yaralardaki granülasyon miktarı yarım kalınlık yaralara göre daha fazla olduğundan kontraksiyon miktarı daha fazla olmaktadır (25).

Bu tip yaralarda epitelyal hücre artışı hızı enfeksiyonun ve sıvı kaybının engellenmesi açısından önemlidir. İnsizyonel yaralanmalarda hemen başlayan epitelizasyon 24-48 saat içinde tamamlanmaktadır (43). Yaranın temiz, nemli kaldığı ve bazal laminasında bir bozukluk oluşmadığı durumlarda ise epitelizasyon süresi kısalmaktadır. Bu aşamada EGF, TGF-a, platelet kaynaklı EGF ve keratinosit büyüme faktörü (KGF ya da FGF-7) gibi sitokinler etkili olmaktadır (62). Tam kalınlıklı yaralanmalarda epitel sadece yara kenarlarından ilerlerken kısmi kalınlıklı

yaralanmalarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma gerçekleşmektedir. Kontrakte olan bağ dokusu yüzey alanını küçülterek epitelizasyonu kolaylaştırmaktadır (43). Yara yüzeyinin tamamen kapanmasının ardından keratinizasyon başlamaktadır. Yara kollojen matriksle dolduğunda fibroblastlar apoptoza uğramaktadır (63).

2.2.3 Maturasyon fazı (Yeniden şekillenme)

Maturasyon fazı, yara şekillenmesinin en uzun fazıdır. Maturasyon fazı üç hafta gibi bir sürede başlamakta, bir yıla kadar uzayabilmektedir. Yaranın granülasyon dokusuyla dolmasını takiben keratinosit migrasyonu ile reepitelizasyon tamamlandığında yeniden şekillenme başlamaktadır (64). Bu fazda damarsal yapıların onarımı tamamlanmakta ve ekstrasellüler matriks yeniden biçimlenmektedir.

Maturasyon fazında damardan zengin olan doku daha az hücre ve daha az damardan oluşan skar dokusuyla yer değiştirirken inflamatuvar hücrelerin ve fibroblastların sayısı giderek azalmaktadır (24,30,39).

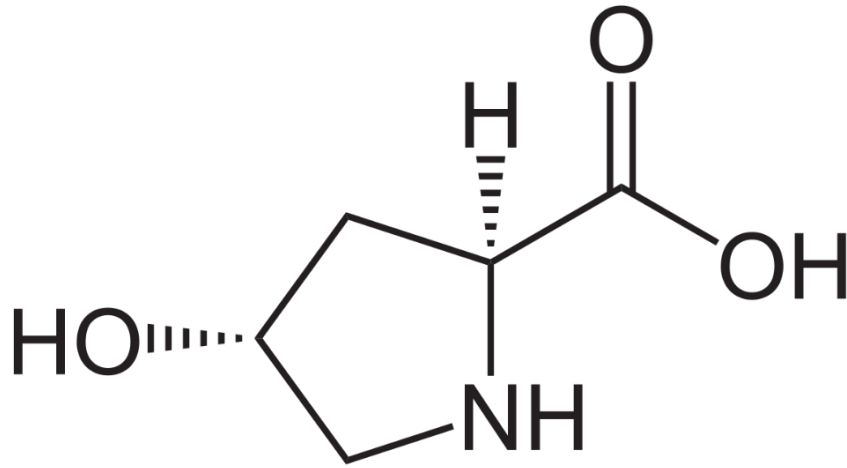
Fibroblastlar ilk olarak Tip III kollojen sentezlemektedir. Bu az organize ve jel yapıdadır. Maturasyon fazında bu kollojen, yerini Tip I kollojene bırakmaktadır. Tip I kollojen daha olgundur ve lifleri stres çizgilerine paralel dizilmektedir (43). Ekstrasellüler matriksin yeniden yapılanmasıyla birlikte kollojen yapım ve yıkımı 21 gün içinde dengelenmektedir.

Maturasyon fazında iyileşme gerçekleşirken kollajen artarken, damar ve fibroblast miktarı azalmaktadır. Damarlarda dejenerasyon ve trombozis gelişmektedir. Sonuçta, granülasyon dokusu yoğun kollajen demetleri, inaktif görünümde iğsi şekilli fibroblastlar, ekstrasellüler matriks, elastik doku parçaları ve az sayıda damarlar içeren skar dokusuna dönüşmektedir (24, 30, 38,).

Bu fazın süresi hastanın yaşı, genetik özellikleri, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi ve inflamasyonun yoğunluğu gibi birçok faktöre bağlıdır. Saydığımız bu üç fazın sonunda yara kenarlarında kontraksiyon, reepitelizasyon ve bağ dokusu oluşumu ile birlikte yara iyileşmesi tamamlanmış olmaktadır (28,30,39).

2.2.4 Hidroksiprolin

Hidroksiprolin, yara bölgesinde kollajen biyosentezinin en iyi göstergelerindendir ve yara iyileşmesinin uyarıldığı erken doku rekonstrüksiyonunda belirgin oranda arttığı bildirilmiştir (148, 149). Hidroksiprolin ((2 *S*, 4*R*)-4-Hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid), kolajen ve diğer birkaç hücre dışı hayvan proteininde bulunan esansiyel olmayan bir amino asittir (123). İki izomerik formu olan trans-4-hidroksi-L-prolin ve trans-3-hidroksi-L-prolin, kolajen sentezinde ve kolajen ve ilgili dokuların üçlü sarmal yapısının termodinamik stabilitesinde çok önemli bir katkıda bulunmuştur (124, 125). Hidroksiprolin metabolizmasındaki çeşitli anormalliklerin, farklı hastalıkların patofizyolojisinde ve patogenezinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. Yüksek hidroksiprolin seviyesi, graft versus host hastalığı, keloidler ve vitiligo gibi çeşitli bozukluklarda gözlenirken, azalmış seviyesi zayıf yara iyileşmesinin bir göstergesidir (123, 126, 127).



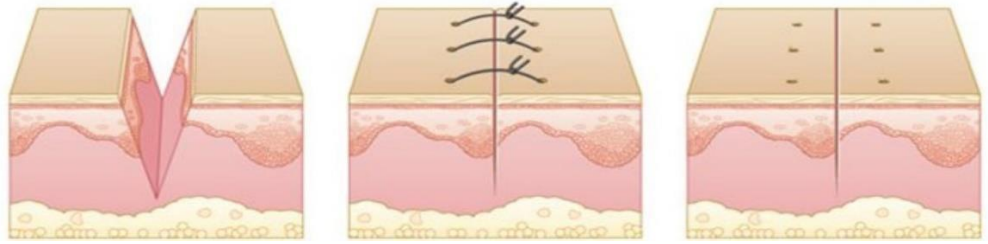
Şekil 9. Hidroksiprolin ((2 *S*, 4*R*)-4-Hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid) (wp)

2.3 Yara iyileşmesi tipleri

Yara iyileşmesi üç türde gerçekleşebilmektedir.

2.3.1 Primer iyileşme

Primer iyileşme tipik olarak temiz ve temiz kontamine, doku kaybı olmayan cerrahi yaraların iyileşmesidir. Bu iyileşme tipinde yara bölgesi primer olarak dikilerek ya da başka cerrahi yöntemler kullanılarak kapatılabilmektedir. Primer kapatılan bu yara tipinde hiç aralık kalmamasından dolayı ya hiç skar oluşmamakta ya da skar oluşumu minimal düzeyde kalmaktadır (Şekil 2.1). İlk 24 saat hafif bir ödem ve hiperemi eşliğinde eksuda gelişmektedir. Yara oluşmasını izleyen 48-72 saat aralığında çevre dokulardan yara bölgesine doğru kapillerler çoğalmakta ve granülasyon dokusu gelişmektedir. Yara dudaklarının birbirine yakın olmasından dolayı granülasyon dokusu ve bakteri kontaminasyonu da az oluşmaktadır (1, 65, 66).

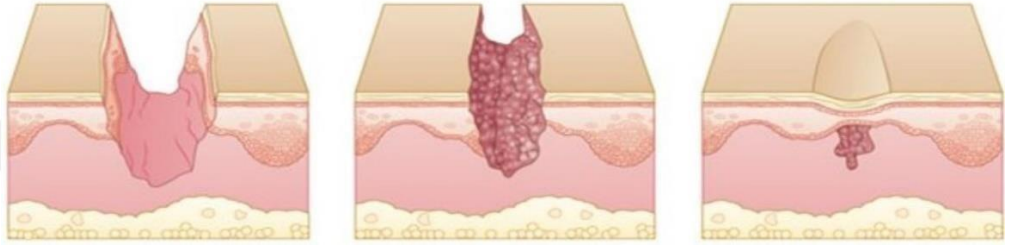


Şekil 2.1 Primer Yara İyileşmesi Şeması (Valerie Nelson:

2.3.2 Sekonder yara iyileşmesi

Sekonder yara iyileşmesinde yara kenarları birbirine uzak kalacak şekilde doku defekti bulunmaktadır. (Şekil 2.2) Cerrahi olarak ya da yara kontraksiyonuyla kapanamadığından oluşan granülasyon dokusu hacmi fazladır. Nekrotik alanlar primer yara iyileşmesine oranla oldukça fazladır. Bu dokuların rezorbsiyonunun uzun sürmesi nedeniyle iltahabi reaksiyon daha şiddetli geçmekte ve doku kaybı daha çok olduğu için yara iyileşme süreci belirgin olarak uzun sürmektedir.

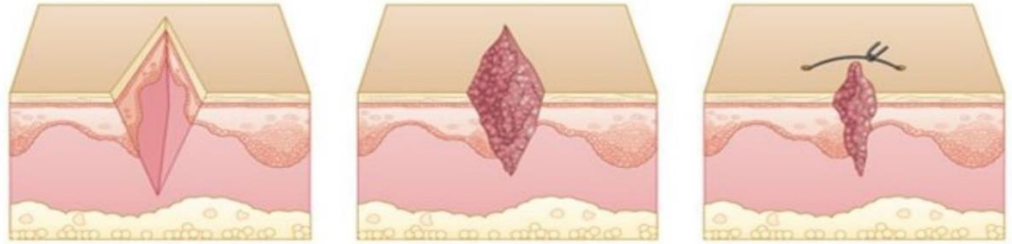
Her iki iyileşme türünde fazlar aynı olmasına rağmen sekonder iyileşme tipinde proliferasyon fazı uzun sürdüğü için sekonder yara iyileşme süreci de uzun olmaktadır. Kontraksiyon primer yara iyileşmesinde ya çok az ya da hiç olmazken, sekonder yara iyileşmesinde dikkat çekici ölçüde fazla olmaktadır. Bu da yaranın şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır. Sekonder yara iyileşmesi, avulsiv yaralanmalarda, lokal enfeksiyonun eşlik ettiği yaralarda ya da yaranın primer kapanamadığı durumlarda görülmektedir (66, 67).



Şekil 2.2 Sekonder Yara İyileşmesi Şeması (Valerie Nelson:

2.3.3 Tersiyer Yara İyileşmesi

Tersiyer yara iyileşmesi sekonder olarak iyileşmesi gecikmiş yaraların primer suture edilerek kapatılması şeklinde tanımlanmaktadır (25) (Şekil 2.3). Enfekte dokular uzaklaştırıldıktan sonra yara önce sekonder iyileşmeye bırakılır, ardından dikilerek ya da doku grefti kullanılarak tersiyer iyileşmeye bırakılmaktadır (2,66,68).



Şekil 2.3 Tersiyer Yara İyileşmesi Şeması (Valerie Nelson:

2.4 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yapılan çalışmalarla hem metabolik hem de hücresele düzeyde iyileşmeyi etkileyen lokal ve sistemik faktörler belirlenmiştir.

2.4.1 Lokal Faktörler

2.4.1.1 Cerrahi Teknik

Yara iyileşmesini etkileyen en önemli eksternal faktör cerrahın tekniğidir. Bu aşamada yapılan; yaranın kurumasına izin verilmesi, elektrokoterin gereğinden fazla ve yüksek ayarda kullanılması, ekartörlerin ya da diğer cerrahi el aletlerinin travmatik ve yanlış kullanımı, sutureların gergin olması ve beslenmeye izin vermemesi gibi hatalar cerrahi uygulama hataları adı altında listelenebilir (19, 69).

2.4.1.2 Doku İskemisi

Lokal dolaşım bozukluklarında enflamasyon mediatörleri ve nötrofillerin geç ulaşması, fagositozun geç başlaması yaranın enfekte olmasına neden olmaktadır. Bu durum cerrahi suturlama sırasında dikişin olması gerekenden daha gergin uygulanması ya da periostun kortikal kemiğe bağlanmasını dolayısıyla kortikal tabakanın beslenmesini geciktirebilecek diğer bazı uygulama hataları birçok olumsuz tabloyu beraberinde getirecektir (4, 69).

2.4.1.3 Hipoksi

Birçok kronik yaranın ortak noktası olarak hipoksi mutlaka anlaşılması gereken bir konudur. Yara bölgesinde damarların zarar görmesi, çevre dokulara göre bölgeyi daha hipoksik hale getirmektedir. Bu fark 25 mmHg / 40mmHg oranı altındadır (3).

Çalışmalar yeterli oksijenizasyonun birçok komplikasyonu önlediğini ve yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermektedir (70).

Oksijenizasyonu arttırmak için:

-Debriman

-Elestasyon

-Ağrı Kontrolü

-Yarayı Sıcak Tutmak

- Sigaranın Bırakılması

- Hidrasyon Gibi Yöntemler Uygulanabilir (71)

2.4.1.4 Enfeksiyon

Enfeksiyon yara iyileşmesinin gecikmesinin en önemli sebebidir. Enfeksiyon etiyolojileri arasında dokunun iskemik ya da nekrotik kalması olabileceği gibi uygun olmayan sutur uyulaması ve yanlış dikiş tekniği gibi dış faktörler yer almaktadır (69).

2.4.1.5 Yabancı Cisim

Non-self dokular önemli enfeksiyon kaynaklarıdır. Bu yaralanmaya sebep olan cisim olabileceği gibi cerrahi olarak önceden yerleştirilmiş protezler de olabilmektedir. Bakteriler için retansiyon alanı oluşturarak enfeksiyonun tutunmasını kolaylaştırmaktadırlar (69).

2.4.1.6 Topikal Steroidler

Steroidler lokal direnci ve inflamasyon yanıtını baskılayarak bakterilerin yerleşmesi için uygun ortamı oluştururlar. Bu durum yara iyileşmesini geciktirmektedir (69)

2.4.1.7 Yanlış Pansuman

Pansumanın basınçlı yapılması, sıkı suturler ve yara yerinin kurutulması epiteli bozarak yara iyileşmesini geciktirmektedir. Bu da enfeksiyon riskini arttırmaktadır (19,69).

2.4.1.8 Hematom Gelişimi ve Ödem

Hematom ve ödem dolaşımı etkilemekte ve granülasyon dokusunun proliferasyonunu bozmaktadır. Dolaşımı bozulan doku hem immünolojik olarak baskılanmakta hem de hipoksik kalarak daha zayıflamaktadır (69).

2.4.2 Sistemik Faktörler

2.4.2.1 Yaş

Yaş, yara iyileşmesinde etkili olan faktörlerin başında gelmektedir. 45-65 yaş arası her 100.000 kişiden 120'sinde ve 75 yaş üzeri her 100.000 kişinin 800'ünde kronik yara görülmektedir (37). Her ne kadar yaşı ilerlemesi yara iyileşmesinde fazladan bir komplikasyona neden olmasa da yara iyileşme hızında azalmaya yol açmaktadır. Yaşın ilerlemesiyle doku tamiri için gerekli birtakım moleküler fonksiyonlarda azalma görülmektedir. Bunlar; hipoksik ve toksik stres durumunda yaşayabilme kabiliyetinde azalma, büyüme faktörlerinde azalmış üretim, kollajen ve diğer matriks proteinlerinde azalmadır (37).

2.4.2.2 İlaçlar

Steroidler, aspirin, antikoagülanlar, antineoplastikler, penisilamin, fenilbutazon gibi ilaçlar yara iyileşmesini etkilemektedir (69,72).

2.4.2.3 Sigara

Sigaranın kan akımında, doku oksijenasyonunda, kollajen depozitlerinde ve nötrofil öldürme mekanizmalarında azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca büyüme faktörleri ve metalloproteinazlarda azalmaya neden olmaktadır. Postoperatif yara enfeksiyonlarının önlenmesi açısından sigara kullanımı cerrahi prosedürlerden 4 hafta önce kesilmelidir. Buna rağmen sigaranın olumsuz etkilerini tam olarak önlemek her zaman mümkün olmamaktadır (73).

2.4.2.4 Cinsiyet ve Menapoz

Skar oluşumu gençlerde ve kadınlarda daha sık görülmekte, diğer yaş gruplarında ise eşit olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalarda postmenapozal kadınlarda yara iyileşmesinin daha yavaş ancak skar gelişiminin daha az olduğu görülmüştür. Yara bölgesine ekzojen olarak eklenen östrojenin yara iyileşmesini hızlandırdığı ancak skar gelişimini de arttırdığı tespit edilmiştir (73).

2.4.2.5 Malnütrisyon

Yara iyileşmesinde, vücudun metabolizma hızı, enerji ve nutrisyonel gereksinimi artmaktadır. Serum protein seviyesindeki azalma inflamatuvar fazı uzatmakta ve fibroplaziyi geciktirmektedir (69). Vitamin C (askorbik asit) eksikliğinde fibroplazi fazı hasarlanmaktadır ve yeterli miktarda ve kalitede kollajen üretimi gerçekleşmemektedir (74, 75). C vitamini, prolin hidroksilasyonu ve lizin depolanması için gerekmektedir. Hidroksiprolin eksikliğinde, yeni sentezlenen kollajen hücrelere transport edilememektedir (75). Hidroksilizin eksikliğinde de, kollajen fibriller arasındaki çapraz bağlar oluşmamaktadır (76). Vitamin A (retinoik asit) yara iyileşmesinde fibroplazi, kollajen sentezi ve çapraz bağların oluşumu ve epitelizasyon aşamalarında etkili olmaktadır. Yapılan hayvan çalışmalarında kronik

steroid tedavisi ile birlikte verilen A vitamininin yara iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir (40). Vitamin B6 (piridoksin) eksikliğinde kollajen çapraz bağlanması azalmaktadır (77). Bakır ve çinko, birçok önemli enzimlerin kofaktörüdür ve eksikliklerinde epitelizasyon azalmakta ve kronik, iyileşmeyen yaralar oluşmaktadır (77).

2.4.2.6 Kemoterapi ve Radyoterapi

Radyasyonun kronik etkilerinden biri de deoksi nükleik asit (DNA) hasarları oluşturabilmesidir. Endotelial hücre hasarı ve progresif endarterit oluşmakta ve bunların sonucunda atrofi, fibrozis, doku onarımında azalma olmaktadır. Bu etkiler, spontan olarak geri dönüşlüdür fakat tekrarlayıcı radyoterapi sonucunda orta derecede hasar oluşmaktadır. Tedavide genellikle hiperbarik oksijen uygulanması gerekmektedir (78). Bu tedaviler vücut savunma mekanizmasını bozmakta, dokularda lokal olarak iskemi meydana getirebilmektedir. Bu hastalarda özellikle kontamine yaraların iyileşme süreci oldukça zorlu olmaktadır (69, 72).

2.4.2.7 Kronik Hastalıklar

Karaciğer ve böbrek yetmezliği, hematopoetik hastalıklar, maligniteler, otoimmün hastalıklar, konnektif doku hastalıkları gibi kronik hastalıklar yara iyileşmesini bozmaktadır (79).

2.4.2.8 Endokrin Hastalıklar

Endokrin hastalıklardan özellikle diyabetin yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri üzerinde durulmaktadır. Diyabetin pek çok organ üzerinde olumsuz etkisi bulunmaktadır. Yara iyileşmesi için bir risk faktörü olarak kabul edilmesine ve birçok araştırmayla teyit edilmesine rağmen diyabetin yara iyileşmesini nasıl engellediğinin işleyişi net bir şekilde aydınlatılamamıştır (80).

Yara iyileşmesinde görülen aksaklıklar, yetersiz insülin salınımı ve artan kan glikoz miktarı sebebi ile olabilir çünkü hiperglisemi hücrelerin davranışlarını etkilemektedir (81).

Diyabetik insan ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, inflamasyon, kollajen birikimi, hücrelerarası matriks farklılaşması, fibroblast çoğalması ve yara kontraksiyonu gibi yara iyileşme sürecinde anormallikler olduğunu göstermektedir (82, 83). Diyabetlilerde görülen yetersiz yara iyileşmesinin inflamatuvar faz sırasındaki anormal doku cevapları ile ilgili olduğu düşünülmektedir (81). Yara iyileşmesinin ilk evresi olan inflamatuvar fazın tipik özellikleri, diyabetli hastaların yaralarında anormallikler göstermektedir. Yara bölgesinde hücre birikiminin azalması, inflamatuvar hücre yoğunluğunun azalmasına ve böylece inflamatuvar medyatörlerin azalmasına yol açmaktadır. Bu da fibroblast göçünün yavaşlamasına ve kollajen sentezinde azalmaya (88), sonuç olarak da yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır. Azalmış anjiogenezin yol açtığı hipoksi ve enfeksiyon riskinde artışın dışında diyabetik yara iyileşmesinde bahsedilen problemlerin çoğunluğu inflamatuvar fazda yer almaktadır (84). Bu da bu fazın dengesinin yara iyileşmesinin temelini oluşturduğunu göstermektedir.

2.5 Yara Bakımı

2.5.1 Antimikrobiyal Ajanlar

Antimikrobiyal ajanlar; dezenfektanlar, antiseptikler ve antibiyotikler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (85).

2.5.1.1 Dezenfektanlar

Dezenfektanlar, mikroorganizmaları öldürerek etki etmektedirler ve insan dokusuna zararlı etkileri mevcuttur. Bu nedenle yaralarda kullanılmazlar (85).

2.5.1.2 Topikal Antiseptikler

Topikal antiseptikler mikrobik ajanlara mekanik ya da kimyasal mekanizmalarla etki etmektedirler. Mikroorganizmaların çoğalmalarını inhibe ederler. Antibiyotiklerden daha geniş etki spektrumuna sahiptirler ve bakteri, fungus, virus, protozoa ve prionlara karşı etkili olabilmektedirler (65).

Yapılan *in vitro* çalışmalarda bu ajanların fibroblast, lökosit ve keratinositlere karşı sitotoksik etkileri olduğu gözlenmiş, fakat *in vivo* çalışmalarda bu etkiler ispatlanamamıştır. Bu etkiler granülosit, monosit, keratinosit ve fibroblast kültürlerinde gözlenmiştir fakat klinik kanıt yoktur (65). Günümüzde kullanılan antiseptik solüsyonları arasında; povidon-iodin, klorheksidin (biguanid), alkol, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve sodyum hipoklorit bulunmaktadır (85-87).

2.5.1.3 Topikal ve Sistemik Olarak Kullanılan Antibiyotikler

Topikal ve sistemik olarak kullanılan antibiyotikler mikroorganizmaların büyümesini inhibe etmektedirler. Fakat kronik yaralar için profilaktik ya da rutin antibiyotik kullanımının klinik enfeksiyonu azalttığına dair kanıt bulunmamaktadır. Buna rağmen kullanılan topikal antibiyotikler kritik kolonize yaralarda bakteri sayısını azaltmaktadır (67,88).

2.5.2 Hiperbarik Oksijen Tedavisi

Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisiyle (2-3 atmosfer basıncı altında verilen %100 oksijen) plazmadaki oksijen saturasyonu %0,3 ile %7 arasında artış göstermektedir. Oksijendeki bu artış oksijenin intertisyel difüzyon kabiliyetini 4 ile 5 kat kadar arttırmaktadır (89). Hiperbarik oksijen tedavisinden beklenen faydalar şunlardır:

- Doku hipoksisini gidermek,
- İnflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltmak,
- Antibiyotiklerin etkisini güçlendirmek,
- Çeşitli büyüme faktörlerinin üretimini ve etkinliklerini arttırmak,
- Fibroblastik proliferasyonu arttırmak,
- Konnektif doku oluşumunu ve neovaskülarizasyonu destekleyerek granülasyon dokusunun gelişimini sağlamak,
- Epitelizasyonu desteklemek.

2.5.3 Debridman

Debridman işlemi, bakteri kolonizasyon yoğunluğunu azaltarak dokuları iyileşme için hazır hale getirmektedir. Yeterli bir debridman olmaksızın, yara her zaman toksik streslere açık hale gelmekte ve besin ve oksijen gibi ihtiyaçlar için bakteriler ile mücadele etmek zorunda kalmaktadır (90, 72). Debridman, klasik olarak cerrahi bir işlem olarak adlandırılmaktadır. Enzimatik, mekanik (küretaj) ya da biyolojik ajanlar yoluyla debridman yapılabilir. Bu tekniklerin herhangi birinin diğerine üstünlüğü tam olarak kanıtlanmamıştır (90).

2.5.4 Diğer Ürünler

Yara iyileşmesini etkilediği düşünülse de etkinliği tam olarak kanıtlanamamış pek çok ürün bulunmaktadır. Piyasadaki pansuman malzemelerinin birçoğunun temini kolay olmamakta ve maliyet açısından ek külfet getirmektedir. Bu nedenle yara iyileşmesine ışık tutabilecek alternatif ürün arayışı devam etmektedir.

Pansuman alternatifi olabilecek pek çok ürünün yara iyileşmesinde kullanılabileceği yapılan çalışmalarla gündeme getirilmiştir. Bu ürünler, çeşitli mekanizmalarla etki göstererek yara iyileşmesini etkilemektedirler. Bu mekanizmalardan biri de antiinflamatuvar etkidir ve antiinflamatuvar etki gösteren ürünlerin topikal kullanımının yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ürünler yara iyileşmesinin enflamasyon aşamasına etki etmektedirler. Bu amaçla birçok yağ ürünleri denenmiştir. Bunlar arasında son zamanlarda giderek artan sayıda çalışmaları yapılan kekik (*Satureja*) ekstratları yer almaktadır. *Satureja* cinsinin kanser tedavisi ve infertilite üzerine etkileri araştırıldığı gibi antiviral, özellikle de antimikrobiyal özellikleriyle ilgili çalışmalar yapılmıştır (110, 111).

2.6 *Satureja Cuneifolia*

Satureja Cuneifolia (kayakekiği) Türkiye ve İran başta olmak üzere İtalya, Romanya ve Bulgaristan'da da yetişmektedir. *Satureja Cuneifolia* cinsi aromatik ve medikal amaçlı kullanılan önemli antimikrobiyal özellik taşıyan bitkilerdendir. *Satureja* cinsi ise 50 alt türden oluşur. Bitkinin boyu 15-50 cm civarında olurken yaprakları 1-3 cm boyutlarında beyazdan pembe-mora kadar değişen renklerde

olabilmektedir. Türler kendi aralarında farklılık göstermekle beraber tek yıllık ya da çok yıllık olabilmektedir (112).

Satureja cinsinin kanser tedavisi ve infertilite üzerine etkileri araştırıldığı gibi antiviral, özellikle de antimikrobiyal özellikleriyle ilgili çalışmalar yapılmıştır. Antibakteriyal özelliğinin yanı sıra antikolinesteraz, fungisidal, anti İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) etkilerine de sahiptir (17).

Bu bitkinin spontan ve operasyonel yaralarla ilgili iyileştirici etkisi bilinmektedir. Anadolu'da bu özelliğinin yanı sıra insan sağlığı ile ilgili pozitif daha birçok etkisinden dolayı halk arasında kullanılmaktadır.



Şekil 3.1: *Satureja Cuneifolia* bitkisinin genel fotoğrafı



Şekil 3.2: *Satureja Cuneifolia* bitkisinin çiçeklerinin fotoğrafı

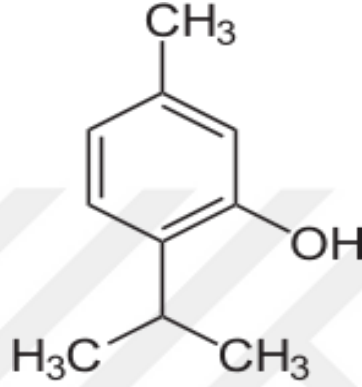


Şekil 3.3: *Satureja Cuneifolia* bitkisinin yapraklarının fotoğrafı

2.6.1 *Satureja Cuneifolia* Bileşenleri

2.6.1.1 Timol

Timol (5-Methyl-2-(propan-2-yl) phenol) doğal bir monoterpenoid fenol türevi p-Cymene, C₁₀H₁₄O, karvakrol ile izomerik olan ve kekik yağı içinde bulunan, hoş bir aromatik kokuya ve güçlü antiseptik özelliklere sahip beyaz kristal bir maddedir.



Şekil 4. Timol (5-Methyl-2-(propan-2-yl) phenol)

Timol ve ana doğal kaynağı olan kekik pozitif antioksidan, antiinflamatuvar, lokal anestezik, antinosiseptif, antiseptik, antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin yanı sıra kardiyovasküler sistem üzerine olumlu etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. (114)



Şekil 5. Timol kristalleri (wp)

1960'lardan itibaren Timolün muhtemel faydaları üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmalar gram-negatif (*Escherichia coli*, *E. coli*O157: H7, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*) ve gram-pozitif (*Micrococcus*spp., *Sarcinaflava*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis*, *B. thuringiensis*, *Listeria innocua*) birçok bakteriye karşı bakteristatik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (115). Başka bir çalışmada, timolün karvakrol, trans-sinamik asit, öjenol ve diasetil ile karşılaştırıldığında, *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* sero *typhimurium*'a karşı 1.0 mmol/L'lik en düşük minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleriyle en etkili antibakteriyel aktiviteye sahip belirlenmiştir. (116)

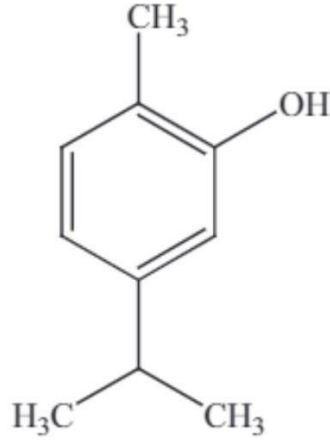
2.6.1.2 Karvakrol

Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl)phenol) timol izomeri bir monoterpen olan, kekik alt türlerinde %5 ile %75 arasında oranlarda buluna uçucu bir yağdır.

Satureja alt türleri %1 ile %45 arasında bir karvakrol içeriğine sahiptir (117).

	<i>S. thymbra</i>	<i>S. cuneifolia</i>
Bioactivity Scores ($ \sum \ln MIC $)	11.96	8.49
<i>p</i> -Cymene	10.7	16.9
γ -Terpinene	8.87	3
Thymol	54.3	23.6
Carvacrol	6.15	38.8
Myrcene	0.93	0.5
α -Terpinene	0.86	1.2
Linalool	1.18	0.2
β -Caryophyllene	1.65	0.2
Caryophyllene oxide	3.8	3

Tablo 1. Satureja Cuneifolia ile Satureja Thymbra içeriğinin karşılaştırılması



Şekil 6. Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol)

S. cuneifolia, %38,8 karvakrol oranıyla Satureja türleri arasında en yüksek seviyelerden birine sahiptir ve MİK değerleri 0,25µl/ml ile 0,75µl/ml aralığında değişmektedir (118).

S. cuneifolia yetiştiği bölgeye bağlı olarak farklı kimyasallar içermekle birlikte temelde linalon ve timol ağırlıklı Orta Akdeniz modeli ve karvakrol ağırlıklı doğu Akdeniz modeli olmak üzere iki grup şeklinde de sınıflanabilmektedir (119).

2.6.1.3 Linalool

Linalool (3,7- Dimethylocta-1,6-dien-3-ol) Lamiaceae ailesinde içinde bulunduğu 200 farklı bitki türü tarafından üretilen çiçeklerde ve baharatlarda bulunan, ticari olarak kullanımı yaygın renksiz bir yağdır.



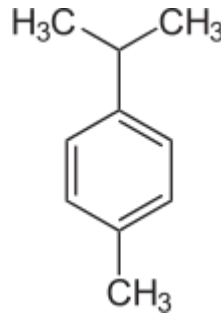
Şekil 7. Linalool (3,7- Dimethylocta-1,6-dien-3-ol)

Sabunlar, deterjanlar, şampuanlar ve losyonlar dahil tüm parfümlü hijyen ürünlerinin ve temizlik maddelerinin %60 ila %80'inde koku olarak kullanılmaktadır (120). Antifungal özellikler göstermektedir (121).

Aynı zamanda kimyasal ara madde olarak da kullanılmakta olup yaygın alt ürünlerinden biri de E vitaminidir.

2.6.1.4 p-Cymene:

Satureja Cuneifolia toplandığı coğrafya ve toplanma zamanına göre içeriği bakımından farklılık göstermektedir. Türkiyede toplanan Satureja Cuneifolia türlerinde ana bileşen olarak Timol ve Karvakrol bulunmaktadır. Bu ikisinin dışında p-Cymene de Satureja Cuneifolia içeriğinde büyük bir yüzdeye sahiptir ve ana bileşen olarak sayılmaktadır (17). p-Cymene bioaktivitesi açısından değerlendirildiğinde de yüksek bir skora sahiptir (122).



Şekil 8. p-Cymene (1-Methyl-4-(propan-2-yl) benzene)

p-Cymene , doğal olarak oluşan aromatik bir organik bileşiktir . Yapısı, bir metil grubu ve bir izopropil grubu ile para -süstitüe edilmiş bir benzen halkasından oluşmaktadır. p-Cymene suda çözünmez, ama organik çözücülerle karışabilmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma deneysel ve immunohistokimyasal olarak iki bölüm altında gerçekleştirildi. Deneysel kısmı; Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasotik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda, histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirilmesi ise Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışma, veteriner kontrolü ile sağlıklı olduğu belirlenen ağırlıkları yaklaşık 250-300gram arasında olan, ortalama 16 haftalık yetişkin 72 adet erkek Wistar albino rat üzerinde yapıldı. Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, serbest diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Oda ısısı 22 ± 2 °C' de sabit tutuldu. Bulundukları odanın nispi nem oranı %50-70 arasında tutularak, odanın havalandırılması filtre edilerek, kontaminasyon riski önlendi. Ratlar kafeslerde tek olarak ve altlarında talaş olacak şekilde barındırıldı.

3.1. *Satureja Cuneifolia* Ekstraktının Hazırlanması

Araziden toplanan bitkilerin yaprakları önce çeşme suyu, ardından distile su ile yıkanır. Laboratuvar ortamında 2 hafta boyunca kurutulan örnekler öğütülür. 100 gram öğütülmüş yaprak alınarak 100 ml etanolde soxhlette ekstresi hazırlanır. Ekstre elde edildikten sonra Whatman No. 1 filtre kâğıdı ile süzülerek 30°C'ta evaporatörde kurutulur. Kurutulan örnekler (1:5) etanol: su karışımında çözülerek kullanıma hazır çözelti haline getirilir. Ekstreler kullanılıncaya kadar -20 C'de bekletilir (128).

3.2. Deneysel Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya başlamadan önce 03.05.2018 tarih ve 65202830_050.04.04-178 sayılı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alındı ve çalışma sırasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu yönergesinin 13. maddesinde belirtilen ‘‘Etik kurallara uygunluk esası’’ kararına uyuldu.

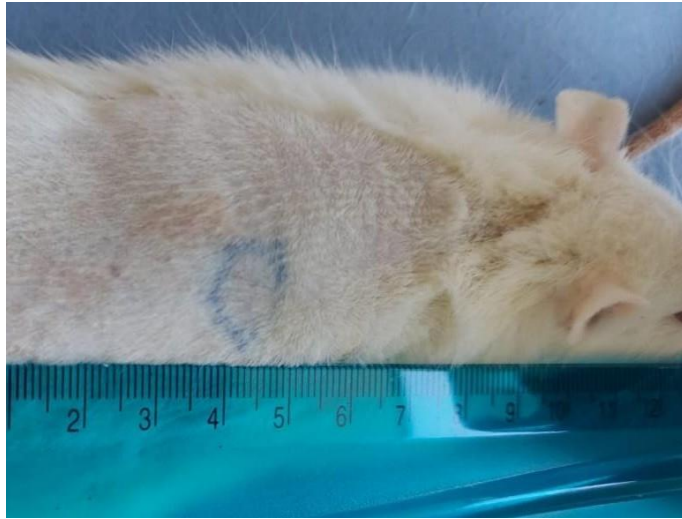
Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı’ndan temin edildi. Çalışma, veteriner kontrolü ile sağlıklı olduğu belirlenen ağırlıkları yaklaşık 250-300 gram arasında olan, ortalama 16haftalık yetişkin 72 adet erkek Wistar albino rat üzerinde yapıldı. Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, serbest diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Oda ısısı 22 ± 2 °C’ de sabit tutuldu. Bulundukları odanın nisbi nem oranı %30-45 arasında tutularak, odanın havalandırılması filtre edilerek, kontaminasyon riski önlendi. Ratlar kafeslerde 6’şarlı olarak ve altlarında talaş olacak şekilde barındırıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Hayvan Grupları ve sayıları

Deney ve kontrol grupları	7. gün hayvan sayısı	14. gün hayvan sayısı	21. gün hayvan sayısı
1.Grup: Kontrol	6	6	6
2.Grup: Bitki ekstratı (satureja cuneifolia)	6	6	6
3.Grup: HybenX + Bitki ekstratı (S. Cuneifolia)	6	6	6
4.Grup: HybenX	6	6	6
Toplam hayvan sayısı		72	

3.3 Cerrahi Teknik

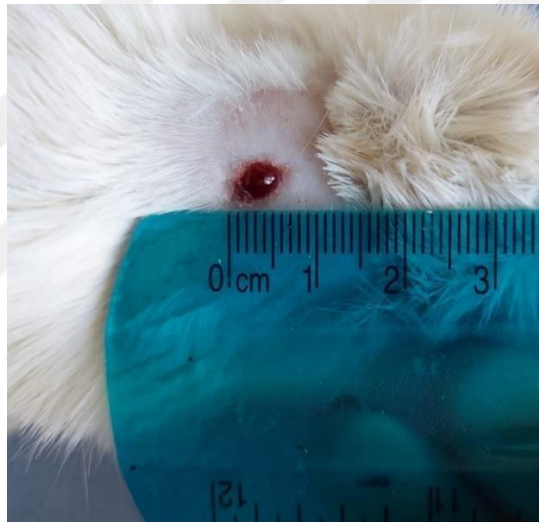
Deney hayvanlarının anestezisi intramusküler enjeksiyon yöntemi ile 3 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul, Turkey) ve 90 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı, Warner Lambert, İstanbul, Turkey) kullanılarak sağlandı. Yeterli bir anestezi derinliği için göz kapağı refleksinin kaybolması beklenildi ve ratların sırt bölgesindeki deri traş edildi (Şekil 10.1). Serum ile yıkandı. Steril örtüler kullanılarak işlem yapılacak alan operasyona hazır hale getirildi. Kullanılacak olan el aletleri dahil olmak üzere bütün malzemeler otoklavda sterilize edildi. Operasyonda asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat edilerek steril olarak çalışıldı. Tek kullanımlık steril 6mm çapındaki punch biyopsi aleti (Şekil 10.2) ile her bir ratın sırtında tam kalınlık yumuşak doku defekti oluşturuldu (Şekil 10.3).



Şekil 10.1 Ratın sırt derisi traş edildi ve serum ile yıkandı



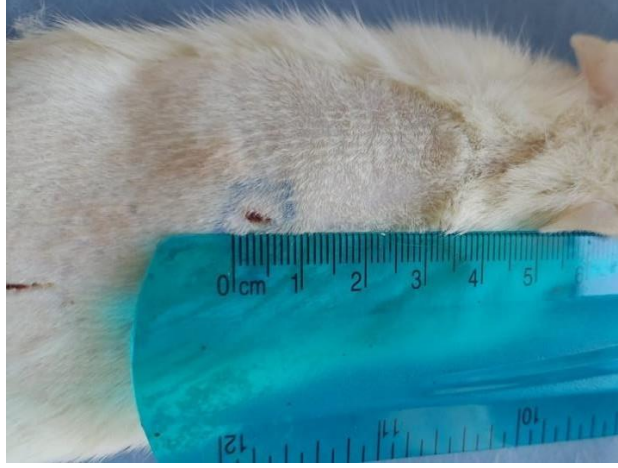
Şekil 10.2 Punch biyopsi aleti (6mm)



Şekil 10.3 Punch Biyopsi aletiyle 6mm lik tam kat yara oluşturuldu



Şekil 10.4 Hyben x preparatı



Şekil 10.5 7. Gün iyileşme

3.3.1 Ekstraktın uygulanma şekli

Cumhuriyet üniversitesi Eczacılık Fakültesi laboratuvarlarında hazırlanan ekstre günde bir kez olmak üzere sakrifikasyona kadar her gün 5 cc'lik enjektör yardımıyla yara yerine uygulandı. Ekstrenin etkisini belirlenmesi için kontrol ve ekstre uygulanan modelleri HybenX (Hydroxybenzenesulfonic asit, Hydromethoxybenzenesulfonic asit, Sülfürik asit, su, FD&C Red 40. Oral Medic; Epien Medical Inc.) etken maddesi uygulanan ratlarla karşılaştırıldı.

3.4 Deneyin Sonlandırılması

Deney hayvanlarının sırtlarında 6 mm çapında defekt oluşturuldu. Kontrol gruplarına defekt açıldıktan sonra herhangi bir işlem yapılmazken, deney gruplarına defekt açıldıktan sonra Satureja Cuneifolia'dan elde edilen ekstrakt topikal olarak uygulandı. Her grup sırasıyla 7, 14 ve 21. günde sakrifiye edildi. Tüm örneklerden kardiyak kan örneği alındı. Ayrıca sakrifikasyon sonrası ratların sırtlarında oluşturulan defektlerden diseksiyonla yumuşak doku örnekleri çıkarıldı. Çıkarılan örneklerin bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk formolün içine konuldu, diğer bir kısmı ise immunohistokimyasal değerlendirme için kuru buz içerisinde -80°C' de saklandı.

Deneyisel kısmı; Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, biyokimyasal değerlendirilmesi Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, histopatolojik değerlendirilmesi ise Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.5 Değerlendirme Yöntemleri

3.5.1 Biyokimyasal Yöntem

Her gruptan çalışmada belirlenen günlerde rattan kardiyak kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 4000 rpm 12 dk santrifüj edildikten sonra plazma için ayrıldı. Plazma örneklerinde yara iyileşmesinde yeri olan biyokimyasal parametreler Enzyme-Linked Immunosobent Assay (ELISA) yöntemiyle çalışıldı. Örneklerde VEGF, TNF-alpha, IL-1 sitokin ve büyüme faktörlerine bakılırken ayrıca bir yara iyileşme belirteci olan hidroksiprolin kitin protokolüne göre çalışıldı. Aşağıda her bir kite ait protokol verilmiştir.

Rat Interlökin-1 ELISA kiti (Cat No: E0107Ra) BT LAB marka ELISA kiti ile çalışılmıştır.

Protokol:

1. 320-10 pg/mL aralığında standartlar hazırlandı,
2. Reaktifler örnekleri içeren standart solüsyonlar şeklinde hazırlandı. Kullanımdan önce oda sıcaklığına gelmesi beklendi ve oda sıcaklığında çalışıldı,
3. Standart kuyucuklara 50 µL standart eklendi,
4. Örnek kuyucuklara 40 µL örnek eklendi ve 10 µL anti-IL-1 antibody eklendi,
5. Standart ve örnek kuyucukların hepsine 50 µL streptavidin-HRP eklendi ve 37 derecede bir saat inkübe edildi,

6. İnkübasyon sonrası plak beş kez yıkandı, (Her bir kuyucuğu 35 ml yıkama tamponu ile yıkadık ve 45 saniye bekletildi),
7. Bütün kuyucuklara 50 µL çözelti A eklendi ve ardından yine hepsine 50 µL çözelti B eklendi,
8. Karanlık ortamda 37 derecede 10 dakika inkübe edildi.
9. Bütün kuyucuklara 50 µL durdurma solüsyonu ekledik ve 450 nm de okundu.
10. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikrolaka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğu belirlendi.

Rat Tumor Necrosis Factor Alpha ELISA kiti (Cat No: E0764Ra) BT LAB marka ELISA kiti ile çalışılmıştır.

Protokol:

1. 1280-40ng/L aralığında standartlar hazırlandı,
2. Bütün reaktifler oda sıcaklığına getirildi,
3. Örnek kuyucuklarına önce 40µl örnek sonrasında 10 µl anti-TNF-α eklendi.
4. Standart ve örnek kuyucukların tümüne 50µl streptavidin-HRP eklendi ve 37 derecede 1 saat inkübe edildi.
5. İnkübasyon sonrası plaklar yıkama solusyonuyla 5 kez yıkandı.
6. Bütün kuyucuklara 50µl çözelti A eklendi ve yine hepsine 50µl çözelti B eklendi. Karanlık ortamda 37 derecede 10 dakika inkübe edildi.
7. Bütün kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve 450nm'de okundu.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikrolaka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğu belirlendi.

Rat Vascular Endothelial cell Growth Factor ELISA kiti (Cat No: E0659Ra) BT LAB marka ELISA kiti ile çalışılmıştır.

Protokol:

1. 3200-100ng/l aralığında çözeltiler hazırlandı.
2. Bütün reaktifler oda sıcaklığına getirilip standar çözeltileri yıkama tamponu ve örnekler hazırlandı.
3. Örnek kuyucuklarına önce 40µl örnek sonrasında 10 µl anti-VEGF eklendi.
4. Standart ve örnek kuyucukların tümüne 50µl streptavidin-HRP eklendi ve 37 derecede 1 saat inkübe edildi.
5. İnkübasyon sonrası plaklar yıkama solusyonuyla 5 kez yıkandı.
6. Bütün kuyucuklara 50µl çözelti A eklendi ve yine hepsine 50µl çözelti B eklendi. Karanlık ortamda 37 derecede 10 dakika inkübe edildi.
7. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğu belirlendi.

Rat Hydroxyproline ELISA Kiti (Cat No:E0511Ra) BT LAB marka ELISA kiti ile çalışılmıştır.

Protokol:

1. 24-0.75 µg/ml aralığında çözeltiler kullanıldı.
2. Bütün reaktifler oda sıcaklığına getirilip standar çözeltileri yıkama tamponu ve örnekler hazırlandı.
3. Örnek kuyucuklarına önce 50µl standart eklendi. (Standart kuyucuklarına antibody eklenmedi)

4. Örnek kuyucuklarına 40µl örnek eklendi ve ardından 10µl anti-hyp antibody eklendi.
5. Standart ve örnek kuyucukların tümüne 50µl streptavidin-HRP eklendi ve 37 derecede 1 saat inkübe edildi.
6. İnkübasyon sonrası plaklar yıkama solusyonuyla 5 kez yıkandı
7. Bütün kuyucuklara 50µl çözelti A eklendi ve yine hepsine 50µl çözelti B eklendi. Karanlık ortamda 37 derecede 10 dakika inkübe edildi.
8. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğu belirlendi.

3.5.2 Histopatolojik Yöntem

Sıçanların nekropsileri yapılarak alınan deri dokuları %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Dokular rutin alkol-ksilol takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara alındı. Poly-lysinli lamlara alınan 4 µ' lik kesitler hematoksilin-eosin ile boyanarak rastgele 6 alandaki epitelizasyon şekillenmesi, granülasyon dokusu olgunluğu, yangısal hücre infiltrasyonu, ödem, hemoraji aşağıdaki şekilde değerlendirildi.

Tablo 3. Histopatolojik bulgu ve histopatolojik skrlama

Histopatolojik Bulgu	Histopatolojik Skrlama
Epitelizasyon	Yok (-) Epitel kısmında tek kat hücre (+) Epitel kısmında 1-3 kat hücre (++) Epitel kısmında 3>kat hücre (+++)
Granulasyon dokusu oluşumu	Yok (-) Dermis kısmının >50%' si (+) Dermis kısmının 50-70 %' si (++) Dermis kısmının <70 %' si (+++)
Yangısal hücre infiltrasyonu	Yok (-) Tüm alanda >20 hücre (+) Tüm alanda 20- 50 hücre (++) Tüm alanda <50 hücre (+++)
Hemoraji	Yok (-) Tüm alanda >5 adet (+) Tüm alanda 5-10 adet (++) Tüm alanda <10 adet (+++)
Ödem	Yok (-) Dermis kısmının >10%' si (+) Dermis kısmının 10-30 %' si (++) Dermis kısmının <30 %' si (+++)

3.5.3 İmmunohistokimyasal Yöntem

Polilislinli lamlara alınan 4 µm' lik kesitler ksilol ve alkol serilerinden geçirilecek, Phosphate-Buffer Saline (PBS) ile yıkandıktan sonra ise %3'lük H₂O₂' de 10 dk. tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlandı. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için antijen retrieval solüsyonu ile 2x5 dk 500 watt' da muamele edildi. Daha sonra PBS ile yıkanan dokular, Bek (Santa cruz, Cat no. sc-6930, 1/100 dilution), Cox2 (Abcam, Cat no. ab-15191, 1/100 dilution) primer antikorları ile oda sıcaklığında 40 dk. inkubasyona bırakıldı. Sekonder olarak; Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Thermofischer, Katalog no: TP-125-HL) üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı. Kromojen olarak DAB (3,3'-Diaminobenzidine) kullanıldı. Mayer's Hematoksilen ile zıt boya yapıldıktan sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi. İncelemede, tespit edilen immunreaktiviteler aşağıdaki şekilde aşağıdaki şekilde değerlendirildi.

Tablo 4. Primer antikor ve immünohistokimyasal skollama

Primer antikor	İmmunohistokimyasal skollama
BEK (Santa cruz, Cat no. sc-6930, 1/100 dilution)	Yok (-) Tüm alanda >10 hücrede immunpozitiflik (+) Tüm alanın 10- 20 hücrede immunpozitiflik (++) Tüm alanın <20 hücrede immunpozitiflik (+++)
COX2 (Abcam, Cat no. ab-15191, 1/100 dilution)	Yok (-) Tüm alanda >10 hücrede immunpozitiflik (+) Tüm alanın 10- 20 hücrede immunpozitiflik (++) Tüm alanın <20 hücrede immunpozitiflik (+++)

3.5.4 Yara Yüzey Alanının Değerlendirilmesi

Oluşturulan tüm defektlerde iyileşmenin seyri, 7., 14. ve 21. günlerde ratların tespitinin sağlanmasından sonra, milimetrik asetat kağıdına 0.3 mm çapında ucu olan kalıcı marker kullanılarak yaraların boyutu çizilmiştir (Şekil 3.10). Yara alanının hesaplanmasında CorelDRAW X6 adlı program kullanıldı. Bu program üç boyutlu yeryüzü çizimleri ve kontur çizimleri yapmak üzere tasarlanmış, genellikle madencilik ve jeolojik harita çizimlerinde kullanılan bir bilgisayar programıdır. Yaralar üzerinden geçilerek elde edilen çizimler tarayıcı ile taranarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Elde edilen “TIFF” formatındaki dosya CorelDRAW X6 programındaki sisteme aktararak yara yüzey alanları iki boyutlu olarak hesaplanmıştır.

3.6 İstatistiksel Yöntem

Histopatolojik verilerde gruplar arasındaki farklılık nonparametrik testlerden olan Kruskal Wallis ile farklılığı oluşturan grup ise Mann Whitney U testi ile belirlendi. ($p < 0.05$).

4. BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

Bu deneysel çalışma boyunca ratların yapılan cerrahi işlemi iyi tolere ettiği, beslenme durumları bakımından hiçbir olumsuzluk gelişmediği, cerrahiye ilişkin herhangi bir enfeksiyon oluşmadığı ve deneklerin genel sağlık durumlarının iyi olduğu gözlemlendi.

4.2 Histopatolojik Bulgular

Doku örneklerinde histopatolojik incelemelerde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi (Tablo 4, Tablo 5, Tablo 6, $p < 0.05$).

Tablo 5. Gruplar arası 7. gün bulgularının karşılaştırılması

Gruplar	Epitelizasyon	Granulasyon	Yangısal	Hemoraji	Ödem
<u>Gün 7</u>		Dokusu Oluşumu	Hücre İnfiltrasyonu		
Kontrol	0.16 ± 0.40^a	0.33 ± 0.51^a	2.83 ± 0.40^a	2.85 ± 0.37^a	2.83 ± 0.40^a
Ekstrakt	2.16 ± 0.40^b	2.85 ± 0.37^b	1.83 ± 0.40^b	2.71 ± 0.75^a	1.33 ± 0.51^b
Hybenx	0.33 ± 0.51^a	2.71 ± 0.75^b	2.57 ± 0.78^a	2.83 ± 0.40^a	2.16 ± 0.40^a
Hybenx+ Ekstrakt	1.33 ± 0.51^c	2.57 ± 0.78^b	2.66 ± 0.51^a	2.57 ± 0.78^a	1.16 ± 0.40^b

^{a,b,c}, Gruplar arası farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$). Gün 7

Gün 7’de Kontrol grubunda epitalizasyon gözlemlenmezken, Hybenx grubunda hafif düzeyde epitelizasyon, Ekstrakt grubunda orta ve Hybenx+Ekstrakt grubunda ise hafif düzeyde olduğu belirlendi. Granulasyon dokusu oluşumu kontrol grubunda hafif şiddetteyken, diğer gruplarda şiddetli düzeydeydi. Yangısal hücre

infiltrasyonu ekstrakt grubunda orta şiddetteyken diğer gruplarda şiddetli düzeydeydi. Hemorajik görünümüler tüm gruplarda şiddetli düzeydeydi. Kontrol ve Hybenx grubunda ödem şiddetli düzeydeyken, Ekstrakt ve Hybenx+Ekstrakt grubunda ise hafif şiddetteydi (Şekil 1-2).

Tablo 6. Gruplar arası 14. gün bulgularının karşılaştırılması

Gruplar	Epitelizasyon	Granulasyon	Yangısal	Hemoraji	Ödem
<u>Gün 14</u>		Dokusu	Hücre		
		Oluşumu	İnfiltrasyonu		
Kontrol	0.33±0.51 ^a	1.33±0.51 ^a	2.83±0.40 ^a	2.85±0.37 ^a	1.33±0.51 ^a
Ekstrakt	2.16±0.40 ^b	0.25±0.46 ^b	1.83±0.40 ^b	0.71±0.48 ^b	2.16±0.40 ^b
Hybenx	1.16±0.40 ^c	1.16±0.40 ^a	2.66±0.51 ^a	1.85±0.37 ^c	1.14±0.37 ^a
Hybenx+ Ekstrakt	1.85±0.37 ^b	1.14±0.37 ^a	2.00±0.57 ^b	0.16±0.40 ^b	1.16±0.40 ^a

^{a,b,c}, Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). Gün 14

Gün 14'te Epitelizasyon yönünden Kontrol grubunda hafif epitelizasyon oluşumu gözlemlenirken, Ekstrakt ve Hybenx+Ekstrakt gruplarında orta şiddette, Hybenx grubunda ise hafif düzeydeydi. Granulasyon dokusu oluşumu Ekstrakt grubunda hafif şiddetteyken, diğer gruplarda orta şiddette olduğu gözlemlendi. Yangısal hücre infiltrasyonu açısından Kontrol ve Hybenx grupları şiddetli düzeydeyken, Ekstrakt ve Hybenx+Ekstrakt gruplarında orta düzeydeydi. Hemoraji Kontrol grubunda şiddetli düzeydeyken, Hybenx grubunda orta, diğer gruplarda ise

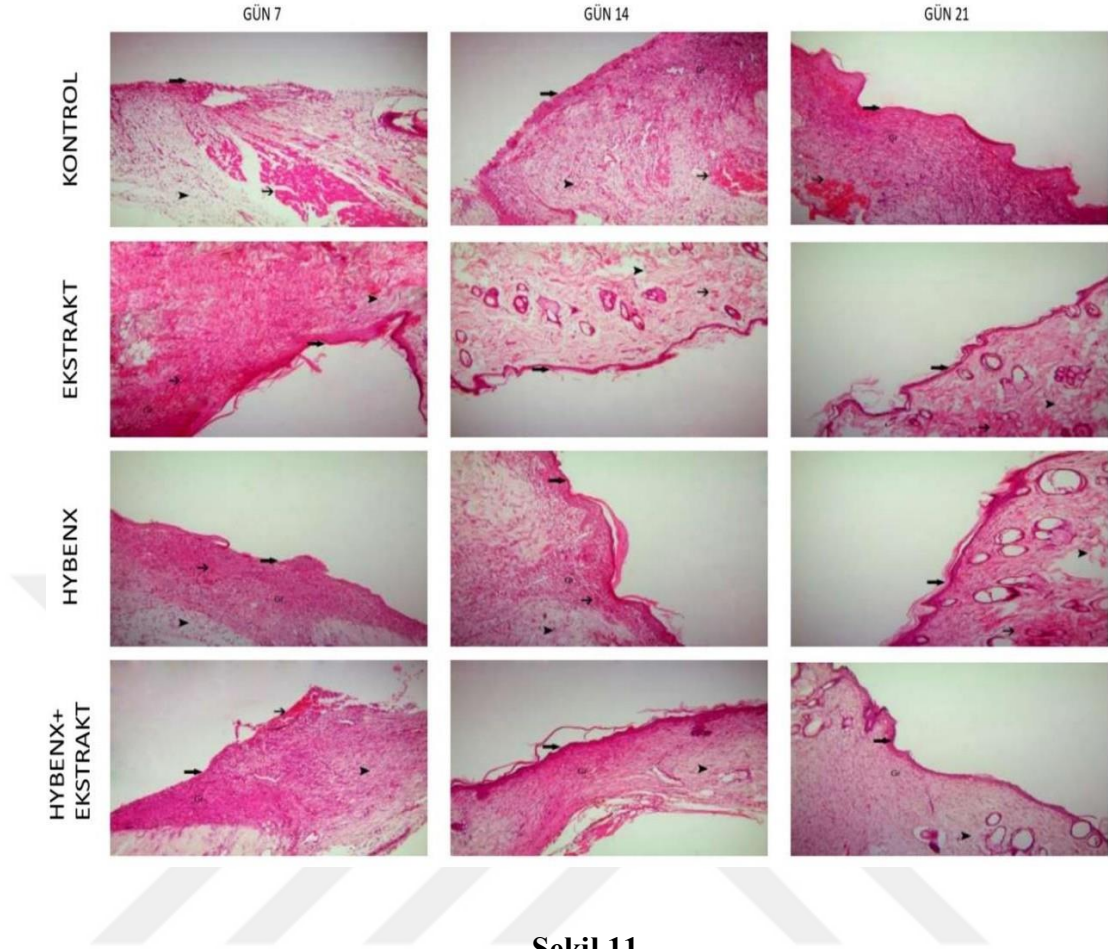
hafif şiddette olduğu tespit edilmiştir. Ödem Ekstrakt grubunda şiddetli, diğer gruplarda ise orta hafif şiddette olduğu görülmüştür (Şekil 1-2).

Tablo 7. Gruplar arası 21. gün bulgularının karşılaştırılması

Gruplar	Epitelizasyon	Granulasyon	Yangısal	Hemoraji	Ödem
Gün 21		Dokusu	Hücre		
		Oluşumu	İnfiltrasyonu		
Kontrol	1.85±0.37 ^a	2.71±0.75 ^a	2.16±0.40 ^a	2.83±0.40 ^a	0.13±0.47 ^a
Ekstrakt	2.00±0.57 ^a	0.33±0.51 ^b	1.16±0.40 ^b	0.71±0.48 ^b	2.16±0.40 ^b
Hybenx	2.16±0.40 ^a	0.16±0.40 ^b	2.00±0.57 ^a	1.83±0.40 ^c	1.85±0.37 ^b
Hybenx+ Ekstrakt	2.85±0.37 ^b	1.83±0.40 ^c	1.14±0.37 ^b	0.13±0.47 ^d	0.83±0.40 ^c

^{a,b,c,d} Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). Gün 21

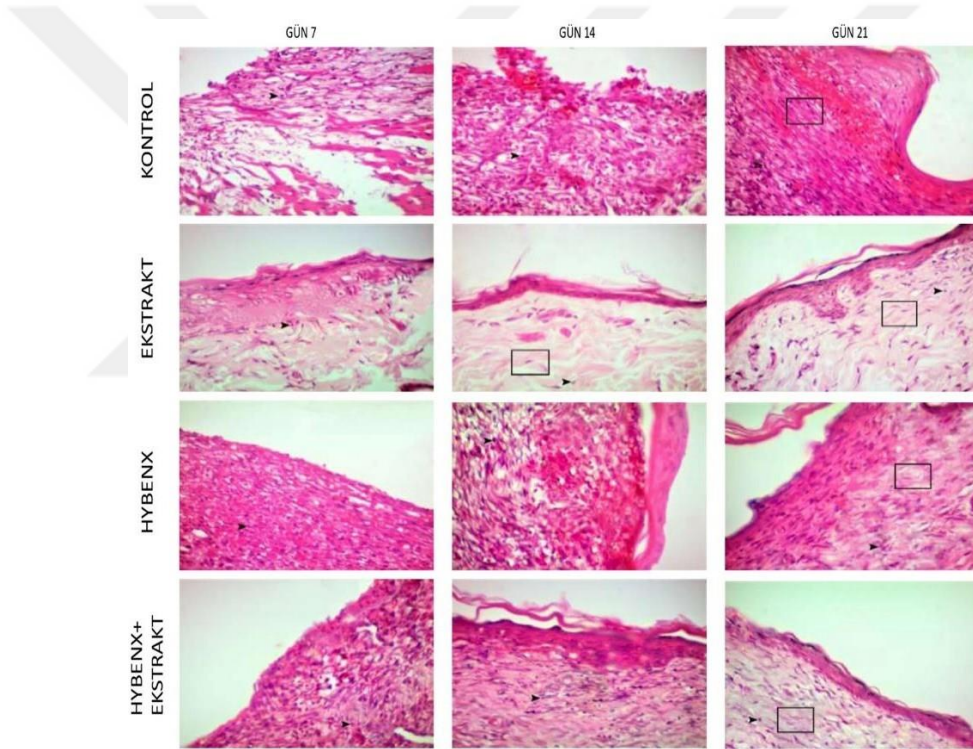
Gün 21’de Epitelizasyon Hybenx+Ekstrakt grubunda şiddetliken, diğer gruplarda orta şiddetli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Granulasyon dokusu oluşumu Kontrol grubunda şiddetli, Hybenx+Ekstrakt grubunda orta şiddette, Ekstrakt grubunda hafif şiddette, Hybenx grubunda ise granulasyon dokusu oluşumuna rastlanamamıştır. Yangısal hücre infiltrasyonu Kontrol ve Hybenx grubunda orta şiddette, Ekstrakt ile Hybenx+Ekstrakt gruplarında ise hafif şiddetteydi. Hemoraji Kontrol grubunda şiddetli, Hybenx grubunda orta şiddette, Ekstrakt grubunda hafif şiddette gözlemlenirken, Hybenx+Ekstrakt grubunda ise Hemoraji görülmemiştir. Kontrol grubunda ödem görülmezken, Ekstrakt ve Hybenx grubunda orta şiddette, Hybenx+Ekstrakt grubunda ise hafif şiddettedir (Tablo 6/ Şekil 11, 12?).



Şekil 11.

Kontrol Gün 7. Epitelizasyon yokluğu (ok), ödem (ok başı) ve şiddetli hemorajik alanlar (ince ok). **Kontrol Gün 14.** Epitelizasyon yokluğu (ok), ödem (ok başı), şiddetli hemorajik alanlar (ince ok) ve kısıtlı alanda granulasyon dokusu (Gr). **Kontrol Gün 21.** Orta düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı), şiddetli hemorajik alanlar (ince ok) ve geniş alanda granulasyon dokusu (Gr). **Ekstrakt Gün 7.** Orta düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı), şiddetli hemorajik alanlar (ince ok) ve geniş alanda granulasyon dokusu (Gr). **Ekstrakt Gün 14.** Orta düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı) ve hafif şiddetli hemorajik alanlar (ince ok). **Ekstrakt Gün 21.** Orta düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı) ve hafif şiddetli hemorajik alanlar (ince ok). **Hybenx Gün 7.** Epitelizasyon yokluğu (ok), ödem (ok başı), şiddetli hemorajik alanlar (ince ok) ve geniş alanda granulasyon dokusu (Gr). **Hybenx Gün 14.** Hafif düzeyde

epitelizasyon (ok), ödem (ok başı), orta şiddetli hemorajik alanlar (ince ok) ve kısıtlı alanda granulasyon dokusu (Gr). **Hybenx Gün 21.** Orta düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı) ve orta şiddetli hemorajik alanlar (ince ok). **Hybenx+Ekstrakt Gün 7.** Epitelizasyon yokluğu (ok), ödem (ok başı), şiddetli hemorajik alanlar (ince ok) ve geniş alanda granulasyon dokusu (Gr). **Hybenx+Ekstrakt Gün 14.** Orta düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı) ve kısıtlı alanda granulasyon dokusu (Gr). **Hybenx+Ekstrakt Gün 21.** İleri düzeyde epitelizasyon (ok), ödem (ok başı) ve kısıtlı alanda granulasyon dokusu (Gr). x10-H&E



Şekil 12.

Kontrol Gün 7. Şiddetli düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Kontrol Gün 14.** Şiddetli düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Kontrol Gün 21.** Orta düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı) ve mature granulasyon dokusu (□) **Ekstrakt Gün 7.** Orta düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Ekstrakt Gün 14.** Orta düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı) ve immature

granulasyon dokusu (□) **Ekstrakt Gün 21.** Hafif düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı) ve mature granulasyon dokusu (□) **Hybenx Gün 7.** Şiddetli düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Hybenx Gün 14.** Şiddetli düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Hybenx Gün 21.** Orta düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı) ve immature granulasyon dokusu (□) **Hybenx+Ekstrakt Gün 7.** Şiddetli düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Hybenx+Ekstrakt Gün 14.** Orta düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı). **Hybenx+Ekstrakt Gün 21.** Hafif düzeyde yangısal hücre infiltrasyonları (okbaşı) ve mature granulasyon dokusu (□). x40-H&E

4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular

Doku örneklerinde immunohistokimyasal incelemelerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi (Tablo 7, Tablo 8, Tablo 9, $p < 0.05$).

Tablo 8. Gruplar arası 7. gün BEK ve COX2 aktivitelerinin karşılaştırılması

Gruplar Gün 7	BEK	COX2
Kontrol	0.00±0.00 ^a	0.71±0.48 ^a
Ekstrakt	2.85±0.37 ^b	2.71±0.75 ^b
Hybenx	1.16±0.40 ^c	1.14±0.37 ^a
Hybenx+Ekstrakt	2.00±0.57 ^d	0.00±0.00 ^c

^{a,b,c,d} Gruplar arası farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$). Gün 7

Gün 7’de Kontrol grubunda Bek immunreaktivitesi görülmezken aynı grupta Cox2 aktivitesi hafif düzeydeydi. Ekstrakt grubunda hem Bek hem de Cox2 aktivitesi şiddetli düzeydeyken, Hybenx grubunda ise Bek ve Cox2 immunreaktivitesine hafif

düzeyde rastlandı. Hybenx+Ekstrakt grubunda Bek immunreaktivitesi orta şiddette iken aynı grupta Cox2 yönünden immunnegatiflik gözlemlendi (Şekil 3-4).

Tablo 9. Gruplar arası 14. gün BEK ve COX2 aktivitelerinin karşılaştırılması

Gruplar <u>Gün 14</u>	BEK	COX2
Kontrol	1.16±0.40 ^a	1.83±0.40 ^a
Ekstrakt	0.16±0.40 ^b	2.00±0.57 ^a
Hybenx	2.16±0.40 ^c	2.85±0.37 ^b
Hybenx+Ekstrakt	0.00±0.00 ^b	0.71±0.48 ^c

^{a,b,c,d} Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). Gün 14

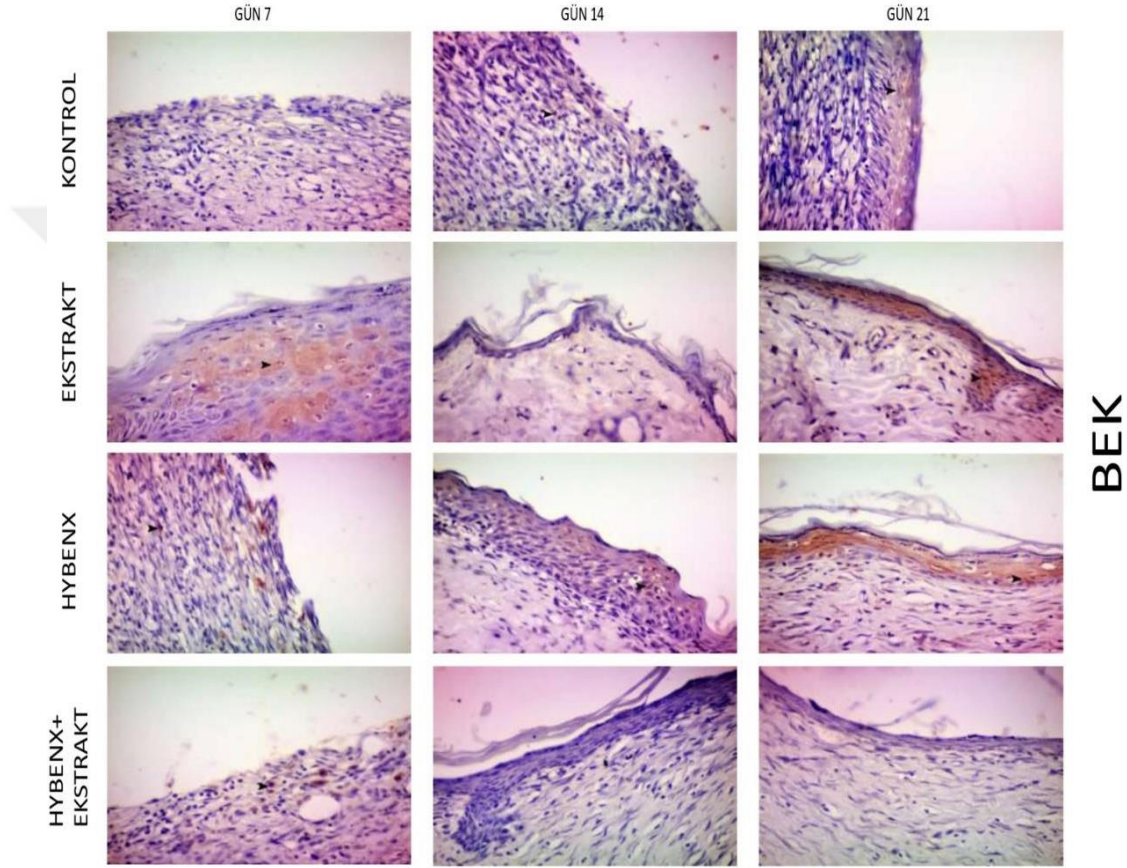
Gün 14'te Bek immunreaktivitesi hafif şiddetteyken, Cox2 yönünden orta şiddetteydi. Ekstrakt grubunda Bek immunreaktivitesi gözlemlenmezken, Cox2 ise orta şiddetteydi. Hybenx grubunda hem Bek hem de Cox2 immunreaktivitesi görülürken, Bek orta Cox2 ise şiddetli olarak görüldü. Hybenx+Ekstrakt grubunda Bek immunreaktivitesi görülmezken, Cox2 immunreaktivitesi hafif şiddetteydi.

Tablo 10. Gruplar arası 21. gün BEK ve COX2 aktivitelerinin karşılaştırılması

Gruplar <u>Gün 21</u>	BEK	COX2
Kontrol	0.83.±0.40 ^a	2.85±0.37 ^a
Ekstrakt	1.85±0.37 ^b	2.71±0.75 ^a
Hybenx	2.71±0.75 ^c	1.85±0.37 ^b
Hybenx+Ekstrakt	0.00±0.00 ^d	0.33±0.51 ^c

^{a,b,c,d} Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05). Gün 21

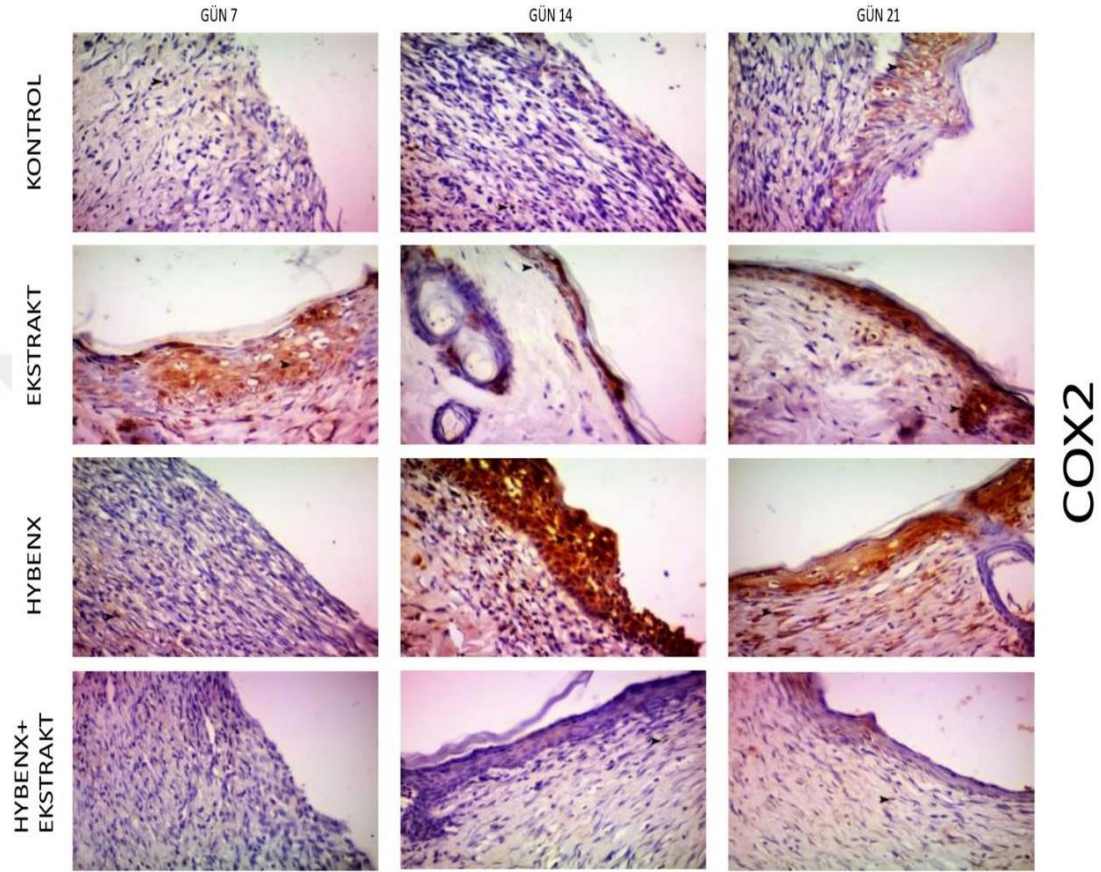
Gün 21’de Bek immunreaktivitesi Kontrol grubunda hafifken, aynı grupta Cox2 immunreaktivitesi şiddetli düzeydeydi. Ekstrakt grubunda orta şiddette Bek immunreaktivitesi görülürken, Cox2 ise şiddetliydi. Hybenx grubunda BEK şiddetli, Cox2 immunreaktivitesi ise orta şiddette görüldü. Hybenx+Ekstrakt grubunda hem Bek hem de Cox2 immunreaktivitesi gözlemlenmemiştir.



Şekil 13.

Kontrol Gün 7. İmmunnegatiflik **Kontrol Gün 14.** Hafif düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı). **Kontrol Gün 21.** Hafif düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı). **Ekstrakt Gün 7.** Şiddetli düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı). **Ekstrakt Gün 14.** İmmunnegatiflik **Ekstrakt Gün 21.** Orta düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx Gün 7.** Hafif düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx Gün 14.** Orta düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx Gün 21.** Şiddetli düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı).

Hybenx+Ekstrakt Gün 7. Orta düzeyde Bek ekspresyonu (okbaşı).
Hybenx+Ekstrakt Gün 14. İmmunnegatiflik. **Hybenx+Ekstrakt Gün 21.**
 İmmunnegatiflik. x40-IHC



Şekil 14.

Kontrol Gün 7. Hafif düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Kontrol Gün 14.** Orta düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Kontrol Gün 21.** Şiddetli düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Ekstrakt Gün 7.** Şiddetli düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Ekstrakt Gün 14.** Orta düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Ekstrakt Gün 21.** Şiddetli düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx Gün 7.** Hafif düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx Gün 14.** Şiddetli düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx Gün 21.** Orta düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). **Hybenx+Ekstrakt Gün 7.** İmmunnegatiflik. **Hybenx+Ekstrakt Gün 14.** Hafif düzeyde Cox2 ekspresyonu

(okbaşı). **Hybenx+Ekstrakt Gün 21.** Hafif düzeyde Cox2 ekspresyonu (okbaşı). x40-IHC

4.4 Biyokimyasal Parametreler

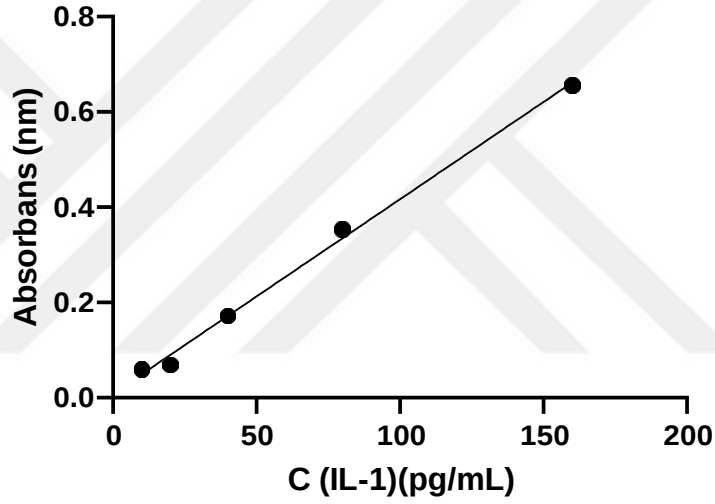
Oluşan yaranın iyileşme evresi yaklaşık 4. gününde başlayıp 22-28. günde tamamlanmaktadır.

Yapılan çalışmada alınan kardiyak kanlardan serum örnekleri elde edildi. Çalışılan örneklerde IL-1, TNF- α sitokinleri ile VEGF anjiyogenez belirteçlerine bakıldı. Ayrıca yara iyileşmesinde görev alan kollajenin ön maddesi hidroksiprolin çalışılarak yara iyileşmesi değerlendirilmiştir.

Yaralanmadan sonraki iyileşmenin ikinci evresi, yaklaşık 4. günde başlamakta ve 12 güne kadar sürmekte. Bu dönemde hasarlanan ve yitirilen dokuların yeniden yapılmakta ve doku devamlılığı sağlanmaktadır. Bu dönemde yara alanına fibroblastlar ve endotel hücreleri göç etmekte. sonra, geçici hücre dışı destek dokusu oluşmaya başlar. Derinin kalıcı elamanları fibroblastlar tarafından üretilmeye başlanmaktadır. Fibroblastlar yara iyileşmesinde görev alan en önemli mezankimal hücrelerdir. Hem “üretim” hem de “mekanik” görevleri vardır. Fibroblastlar kollagen liflerini üretirler. Kollagen de yaranın kontraksiyonunu ve gerilme kuvvetini oluşturur. Doku hasarı çok büyük doku kaybı ile beraberse rejenerasyon yara kenarlarından başlar. Epitel granülasyon dokusunun üzerinden ilerler. Migrasyon epitellerin karşılıklı bir araya gelmesine kadar devam eder. Daha sonraki aşama kontraksiyondur. Yara kontraksiyonu ile yara büyüklüğü azalır. Bu olay çoğunlukla miyofibroblastlarca gerçekleşir. Granülasyon dokusu oluşup epitelizasyon tamamlanınca proliferasyon aşaması sona erer.

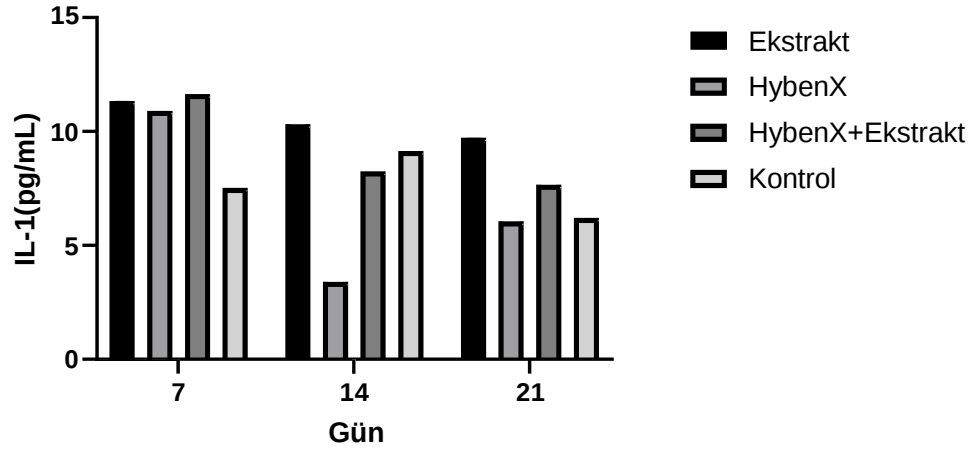
Endotel hücreleri bu evrenin diğer önemli parçası olan anjiogeneizde görev alırlar. Endotel hücreleri yaraya yakın sağlam venüllerden göç ederler. Bu migrasyon, replikasyon ve replicas yeni kapiller tübül formasyonu TNF alfa, TGF- beta ve VEGF gibi sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin etkisi altındadır. VEGF özellikle makrofaj kaynaklıdır ve reseptörleri endotel hücrelerinde bulunur.

4.3.1 IL-1 Miktarının Değerlendirilmesi



Şekil 15. IL-1 standart eğri ($y=0.0041x+0.008$)($R^2=0,9961$)

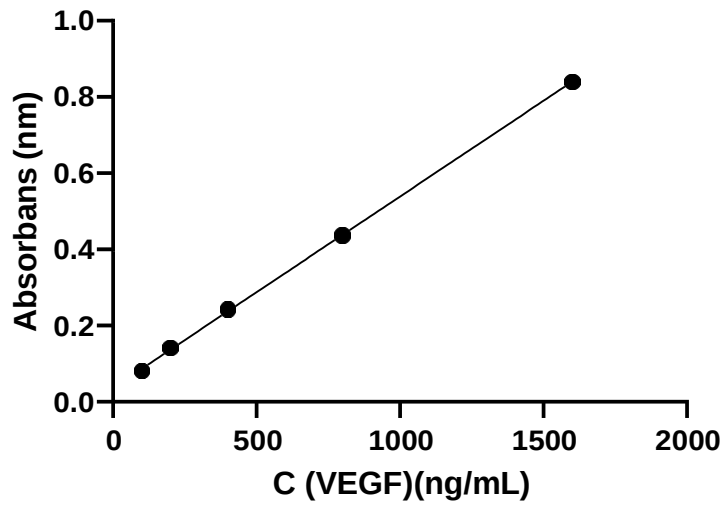
Yapılan çalışma kitin prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Çalışmada standart grafik hazırlandı. Grafikten hesaplanan standart sonucunda $y=0.0041x+0.008$ denklemi elde edildi. Elde edilen denklemden bilinmeyen numunelerin derişimleri hesaplandı ve aşağıdaki grafik elde edilen verilere uygun olarak çizildi.



Şekil 16. Tedavi uygulanan ratların IL-1 miktarlarının güne göre değişimi

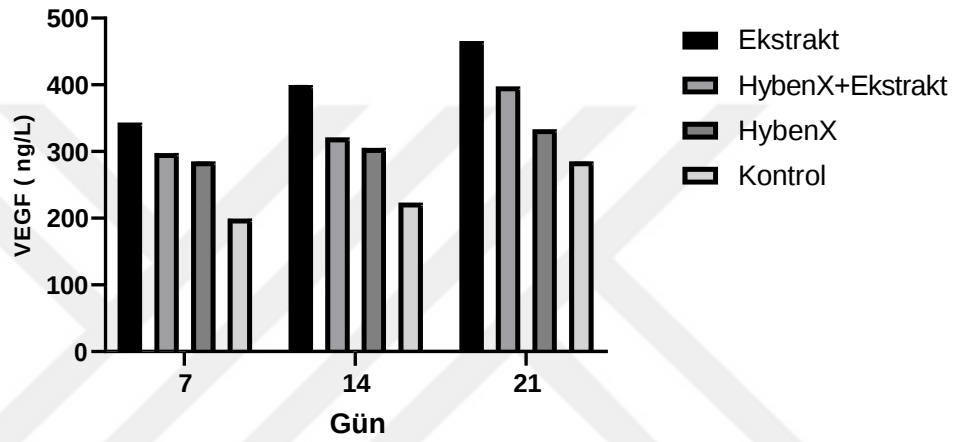
Yapılan çalışmada en iyi sitokin fırtınasının uygulanan ekstrakta olduğu gözlemlendi. 14 ve 21. Günlerde ise düşüşü gözlemlendi. HybenX ve Ekstrakt karışımıyla uygulanan tedavide ise sitokin fırtınasının 7. Gününde oluşan yüksek IL-1'in 14 ve 21. Gününde hızla anlamlı olarak düştüğünü söyleyebiliriz. Kontrol grubunda ise sitokin miktarında değişim olmamış ve en az seviyede olduğu gözlemlenmiştir.

4.3.2 VEGF Miktarının Değerlendirilmesi



Şekil 17. VEGF standart eğri ($y=0.0005x-0.0368$)($R^2=0,9998$)

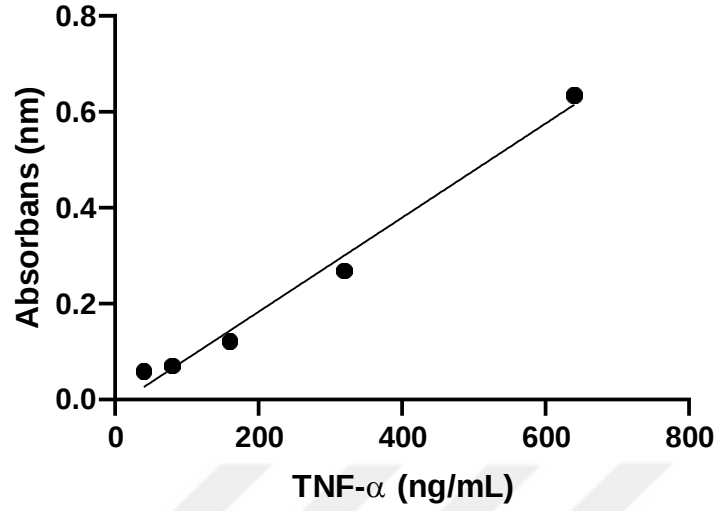
Yapılan çalışma kitin prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Çalışmada standart grafik hazırlandı. Grafikten hesaplanan standart sonucunda $y=0.0005x-0.0368$ denklemi elde edildi. Elde edilen denklemden bilinmeyen numunelerin derişimleri hesaplandı ve aşağıdaki grafik elde edilen verilere uygun olarak çizildi.



Şekil 18. Tedavi uygulanan ratların VEGF miktarlarının güne göre değişimi

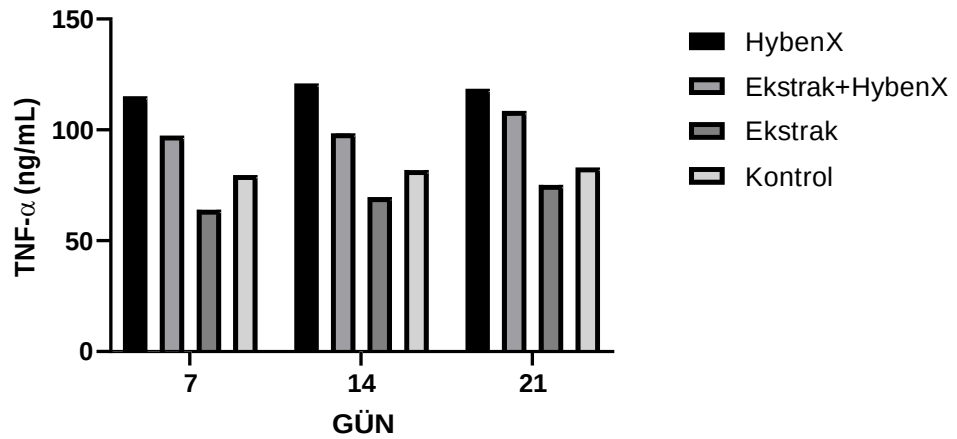
VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü), vaskülogenezi ve anjiyogenezi uyaran hücreler tarafından üretilen bir sinyal proteinidir. Yapılan çalışmada bakıldığında 7,14 ve 21. En çok anjiyogenezin Ekstrakta arttığı en az da kontrol olduğu gözlemlenmiştir. Ekstraktın artışı hızı da diğerlerinde fazladır.

4.3.3 TNF- α Miktarının Değerlendirilmesi



Şekil 19. TNF- α standart eğri ($y=0.0009x-0.0127$)($R^2=0,9871$)

Yapılan çalışma kitin prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Çalışmada standart grafik hazırlandı. Grafikten hesaplanan standart sonucunda $y=0.0009x-0.0127$ denklemi elde edildi. Elde edilen denklemden bilinmeyen numunelerin derişimleri hesaplandı ve aşağıdaki grafik elde edilen verilere uygun olarak çizildi.

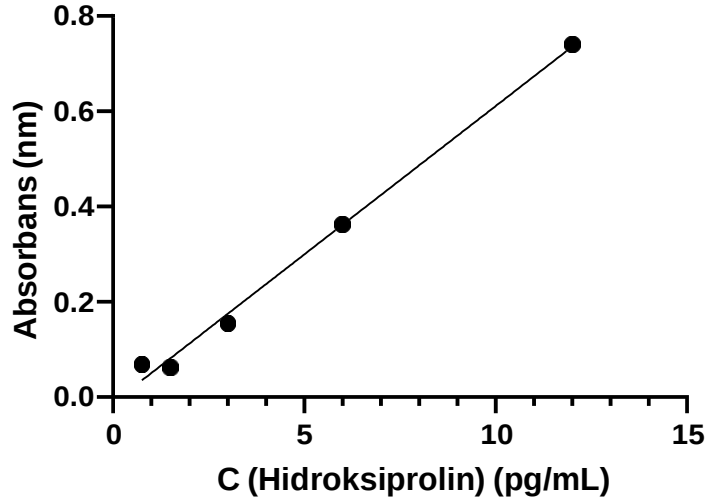


Şekil 20. Tedavi uygulanan ratların TNF- α miktarlarının güne göre değişimi

Yapılan çalışmada en iyi sitokin fırtınasının uygulanan HybenX olduğu gözlemlendi. 7. 14 ve 21. Günlerde nerdeyse aynı olduğu gözlemlendi. HybenX ve Ekstrakt karışımıyla uygulanan tedavide ise sitokin fırtınasında azalma gözlenirken kendi içinde 7.14 ve 21. Günlerde aynı seviyede olduğu gözlemlendi. Sitokin fırtınasının ise en düşük Ekstrakta olduğu gözlemlendi. Ekstrakta 7.14. ve 21. Günlerde kendi içerisinde yine aynı seviyede olduğu görüldü. Kontrol grubunda da TNF- α 'nın kendi içerisinde aynı seviyede olduğu gözlenirken ekstraktan biraz daha fazla olduğu görülmektedir.

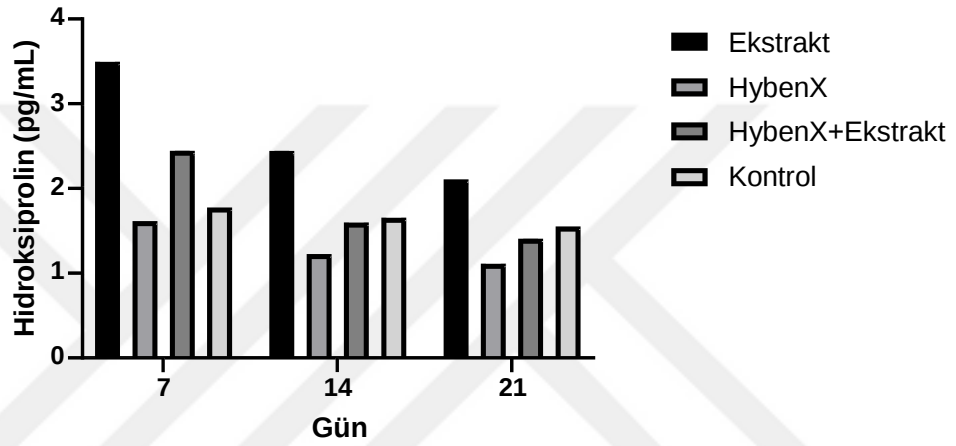
4.3.4 Hidroksiprolin Miktarının Değerlendirilmesi

Arjinin, bağ doku proteini olan kollajenin ana maddesi hidroksiprolin ve keratin gibi proteinlerin oluşumunda yer alan bir proteindir (Ellinger, 2014). Bu proteinler yara iyileşmesinde görev almaktadır.



Şekil 21. Hidroksiprolin standart eğri ($y = 0,0623x + 0,0119$)($R^2=0,9939$)

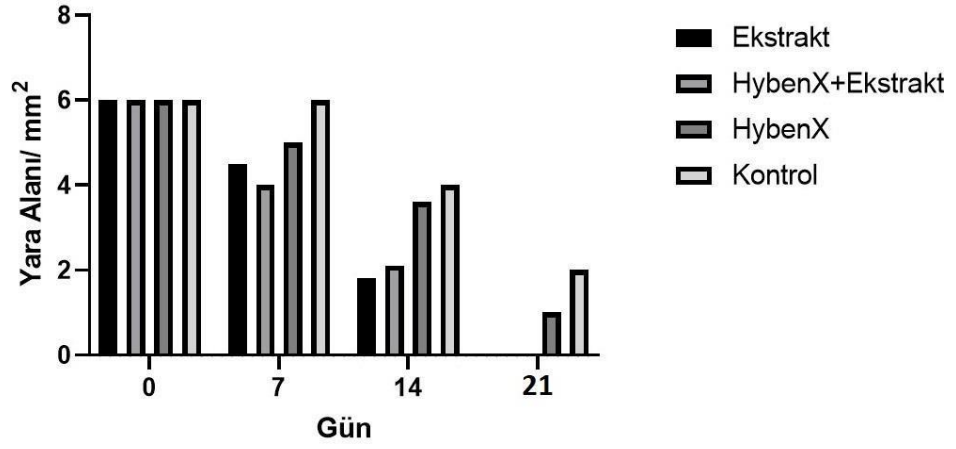
Yapılan çalışma kitin prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Çalışmada standart grafik hazırlandı. Grafikten hesaplanan standart sonucunda $y = 0,0623x + 0,0119$ denklemi elde edildi. Elde edilen denklemden bilinmeyen numunelerin derişimleri hesaplandı ve aşğıdaki grafik elde edilen verilere uygun olarak çizildi.



Şekil 22. Tedavi uygulanan ratların Hidroksiprolin miktarlarının değışimi

Hidroksiprolin seviyesi en fazla 7. Günde ekstrakt uygulanan sışanda gözlemlenirken 14. Ve 21. Günde anlamlı olarak düşmüştür. Ayrıca yapılan çalışmada diğer tedavilerle kontrol grubu kıyaslandığında değerler arasında anlamlı olarak bir fark gözlemlenmemiştir.

4.5 Yara Yüzey Alanı Bulguları



Şekil 23. Tedavi uygulanan ratların yara yüzey alanlarının güne göre değişimi

Yapılan çalışmada sıçanların sırt bölgesinde 6 mm punch biyopsi uygulandı. Dört farklı grupta açılan punch biyopsi de çalışmanın 21 gününde ekstrakt uygulanan sıçanlarda ve hybenx+Ekstrak uygulanan sıçanlarda yara izinin kalmadığı gözlenirken kontrol de 2 mm yaranın kaldığı gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi, hemostaz / inflamasyon fazı, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazı olmak üzere çok yönlü karmaşık bir süreçtir. Deride bir yaralanmadan sonra, maruz kalan alt endotel, kollajen ve doku faktörü trombosit agregasyonunu aktive eder, bu da degranülasyona ve pıhtıyı oluşturmak için kemotaktik faktörlerin (kemokinler) ve büyüme faktörlerinin (GF'ler) salınmasına neden olur. Yaralanma bölgesinde ortaya çıkan ilk hücreler olan nötrofiller, yara iyileşmesi için iyi bir ortam sağlayarak kalıntıları ve bakterileri temizler. Beraberinde makrofajlar artar ve bakterilerin fagositozunu kolaylaştırır. Hemostaz ve inflamatuvar fazın tamamlanması genellikle 72 saat sürer. Son olarak fibroblastların yara bölgesinde oluşturdukları kollajen ile yeni doku oluşur ve iyileşme tamamlanır. Karmaşık bir biyokimyasal ve hücrel olaylar bütünü olan yara iyileşmesinin hızlandırılmasında pek çok bitkisel kaynaklı ürünün bu fazlar üzerine etkilerinden yararlanılmıştır.

Çalışmamızda oluşturulan deneysel modelde de *Satureja Cuneifolia* antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özellikleri ile yara tedavisinde etkili bulunmuştur. Histopatolojik değerlendirmede *Satureja Cuneifolia* etanolik ekstresinin yara bölgesine lokal olarak uygulanması ile yara iyileşmesinde epidermis oluşumu, granülasyon dokusu, hemoraji ve ödemde kontrol grubuna göre 7, 14 ve 21. günlerde belirgin iyileşme saptanmıştır.

Satureja khuzistanica ve *Satureja rechingeri* ekstrelerinin çalışmamıza benzer deneysel çalışmalarda yara iyileşmesinde epitelizasyonu artırdığı gösterilmiştir (15,129). Çalışmamızda da *Satureja Cuneifolia* ekstresinin uygulandığı gruplarda 14 ve 21. günlerde belirgin olmak üzere epitelizasyon derecesinin kontrol grubundan yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Granülasyon dokusu oluşumu yara yerine göç eden yangısal hücreler ve yeni damar oluşumu ile meydana gelmekte ve yara iyileşmesi sürecinde 7. günde en üst düzeye ulaşmaktadır. Bu aşamadan sonra granülasyon dokusunun giderek küçülmesi ile yara iyileşmesi tamamlanmaktadır. Sahraei H ve ark oluşturdukları deneysel yara modelinde *Satureja khuzistanica* ve *Satureja rechingeri* ekstraktlarının yara iyileşmesinin 7 ve 14.günlerinde granülasyon dokusunun azalmasına katkıda bulunduklarını göstermişlerdir (129). Çalışmamızda da sadece *Satureja Cuneifolia* ekstraktı uygulanan grupta kontrol grubuna göre granülasyon dokusunda 7. günden sonra anlamlı oranda küçülme izlenmiş olup bu durumun *Satureja Cuneifolia* ekstraktı ile Hybenx uygulanan grupta sadece Hybenx uygulanan gruba göre daha belirgin olduğu görülmüştür.

Yara iyileşmesinde serbest oksijen radikallerinin inflamatuvar fazın uzamasına yol açarak süreci olumsuz etkilediği, yangısal hücre göçünü ve ödemi artırdığı bilinmektedir. Bu nedenle antioksidan özellikli esansiyel yağ asitleri ve biyoflavonoidler barındıran bitkisel ekstraktların inflamatuvar fazın uzamasını engelleyip proliferasyon fazında kollajen oluşumunu artırarak yara iyileşmesini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (130-132). Çalışmamızda iyileşme süresince yara yerinde yangısal hücre infiltrasyonu belirgin şekilde farklılık göstermekteydi. Yara değerlendirmesinin sırasıyla 7, 14 ve 21. günlerinde yangısal hücre infiltrasyonu kontrol ve Hybenx gruplarında şiddetliden hafife ilerlerken, sadece ekstrakt ve Hybenx ile ekstrakt karışımı uygulanan gruplarda zamanla orta düzeyden hafif düzeye ilerleyen yangısal hücre infiltrasyonu izlenmiştir. Bu bulgular *Satureja Cuneifolia* içeren ekstraktın bulunduğu gruplarda daha stabil bir inflamasyon süreci oluştuğunu göstermektedir.

Literatürde *Satureja Cuneifolia*'nın bulundurduğu esansiyel yağlardan özellikle timol ve karvakrolün antiinflamatuvar özelliklerinin yara iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (133). Çalışmamızda elde edilen yangısal hücre infiltrasyonu üzerinde de bu antiinflamatuvar etkinin sorumlu olduğu düşünülmektedir.

BEK reseptörleri (FGF reseptör 2) sıçanlarda bulunan FGF bağlanma reseptörleri olarak tanımlanmıştır (134). Kemotaktik, mitojenik ve anjiogenik etkileri ile FGF yara iyileşmesinde önemli rol almaktadır (135). Çalışmamızda kontrol grubunda 7. günde BEK negatifliği izlenirken 14. ve 21. günlerde hafif BEK pozitifliği saptanmış; *Satureja Cuneifolia* ekstratı uygulanan gruplarda ise 7. günden itibaren anlamlı derecede daha fazla BEK ekspresyonu izlenmiştir (Şekil 13, Tablo7-9). Bu sonuçlara benzer şekilde Omarizadeh ve arkadaşlarının oluşturdukları akut yara iyileşmesi modelinde *Satureja sahendica* içeren ekstraktın uygulanmasının FGF-2 ve kollajen biyosentezini artırarak yara iyileştirmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (136)

Prostaglandin sentezinde rol alan siklooksijenaz enziminin mitojen-indüklenebilir formu olan COX-2; yaralanma / hasar, inflamasyon ve proliferasyon süreçlerinde görev almaktadır (137). Yara oluştuktan sonra lezyon bölgesinde bulunan COX-2'nin fibroblastların migrasyon, proliferasyon ve farklılaşmasını engelleyerek yeni bir granülasyon dokusunun oluşmasını geciktirdiği bilinmektedir (138). Ayrıca COX-2 inhibisyonunun yara iyileşmesini hızlandırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (139, 140).

Çalışmamızda immunhistokimyasal olarak COX-2 aktivitesinin 7. günden itibaren 21. güne dek kontrol grubunda progresif olarak artmasına karşın, ekstrakt grubunda yüksek-stabil kaldığı, ekstrakt ile Hybenx'in birlikte uygulandığı grupta ise anlamlı olarak başlangıçtan itibaren düşük seyrettiği gözlenmiştir (Tablo 7-9). Bu

durum literatür ile uyumlu olarak yara iyileşmesi üzerinde ekstraktın COX-2 inhibisyonu ile olumlu etki sergilediğini göstermekte olup bu etkinin doza bağımlı olabileceği düşünülmüştür.

Proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 başlıca makrofaj/monositlerden salgılanmakta ve inflamasyonun ilk fazında yangısal hücre infiltrasyonunu artırıp, büyüme faktörlerinin üretimini azaltarak yara iyileşmesinde düzenleyici rol almaktadır (136, 141). Deney hayvanları üzerinde oluşturulan pek çok yara iyileşmesi modelinde IL-1 düzeylerinin yara iyileşmesinin erken döneminde arttığı sonrasında ise azalarak stabil kaldığı görülmüştür (135,141,142). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak IL-1 düzeyinin ve dolayısıyla yara iyileşmesinin erken evrelerinde oluşan sitokin fırtınasının kontrol grubunda belirgin değişime uğramamasına karşın ekstrakt uygulanan gruplarda 7. günde fazla olup 14 ve 21. günlerde ise düştüğü izlenmiştir (Şekil 16).

VEGF, yara iyileşmesinin proliferasyon fazında anjiogenezi uyaran hücreler tarafından salınan bir sinyal molekülüdür. Travma ya da yara oluşumu sonrası salınan VEGF, FGF-2 ile birlikte re-epitelizasyon, anjiogenez, granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen liflerinin depolanmasını artırarak proliferasyon fazını hızlandırmaktadır (143). Bu çalışmada VEGF düzeylerinin en çok ekstrakt uygulanan gruplarda arttığı ve artış hızının da ekstarkt grubunda belirgin olarak yüksek olduğu gösterilmiştir (Şekil 18).

Bitkisel ürünlerin yara iyileşmesinde rolünü inceleyen çalışmalarda *Satureja Cuneifolia*'nın da birleşiminde bulunan timol ve karvakrolün VEGF ve FGF-2 salınımını artırarak yeniden damar oluşumunu, fibroblast metabolizmasını uyarak tip 3 kollajenin tip 1 kollajen ile yer değiştirmesini ve yara kontraksiyonunu sağladığı

saptanmıştır (144-146). Bu nedenle çalışmamızda *Satureja Cuneifolia*'nın VEGF' ü artırmadaki bu etkisinin içerdiği timol ve karvakrole bağlı olduğu düşünülmüştür.

Pek çok hücre membranında reseptörü bulunan ve inflamasyon sürecinde sekonder sitokinlerin üretimini uyaran önemli bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- α , yara iyileşmesinin de önemli bir parçasıdır. Bu nedenle bitkisel ilaçlar içeren pek çok yara örtüsünde TNF- α 'yı inhibe eden antioksidan ve antiinflamatuvar özellikli bileşenler kullanılmaktadır (9, 147). Çalışmamızda da TNF- α düzeylerinin kontrol grubunda ekstrakt grubundan fazla olmak kaydıyla kendi içinde stabil olduğu, en düşük düzeylerin ise ekstrakt grubunda olduğu bulunmuştur (Şekil 19, 20).

Hidroksiprolin, yara bölgesinde kollajen biyosentezinin en iyi göstergelerindendir ve yara iyileşmesinin uyarıldığı erken doku rekonstrüksiyonunda belirgin oranda arttığı bildirilmiştir (148, 149). Bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sayısal olarak hidroksiprolin düzeyinin en fazla 7. günde ekstrakt uygulanan grupta saptandığı, 14 ve 21. günlerde ise düzeylerin yara iyileşme fazlarına uygun şekilde düştüğü izlenmiştir (Şekil 21,22). Yara iyileşmesinde kollajen oluşumu ve yara kontraksiyonu ile iyileşmenin son evresinde kollajen düzeylerinin azaldığı bilinmektedir. Çalışmamızda bu durumu yansıtmak üzere değerlendirilen hidroksiprolin düzeylerinde anlamlı fark saptanamamış olması, bu durumun doza bağımlı olarak geliştiğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada deney hayvanlarının sırt bölgesinde 6 mm büyüklükte punch biopsi ile yara oluşturulmuştur. Deney süresince dört farklı grupta oluşturulan yara bölgelerinde çalışmanın 21. gününde ekstrakt uygulanan sıçanlarda ve hybenx ile ekstrakt karışımı uygulanan sıçanlarda yara izinin kalmadığı gözlenirken kontrol de 2 mm yaranın kaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 23).

Çalışmamızdan elde edilen histopatolojik, immünohistokimyasal ve fiziksel bulgular doğrultusunda *Satureja Cuneifolia*'nın yara iyileşmesinde belirgin olumlu etkileri saptanmış olup, bu sonuçların daha ileri klinik çalışmalarla doğrulanması durumunda yara iyileşmesinde *Satureja Cuneifolia* içeren bir ürün geliştirilmesi önerilmektedir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- *Satureja Cuneifolia* etanolik ekstresi uygulanan gruplarda kontrol grubuna nazaran epitelizasyon derecesi, kontrol grubuna nazaran 7, 14 ve 21. günlerde anlamlı olarak daha yüksekti.
- Çalışmamızda sadece *Satureja Cuneifolia* ekstresi uygulanan grupta kontrol grubuna nazaran granülasyon dokusunda 14 ve 21. günlerde anlamlı oranda küçülme izlendi.
- Yangısal hücre infiltrasyonu kontrol ve Hybenx gruplarında sırasıyla 7, 14 ve 21. günlerinde şiddetliden hafife ilerlerken, sadece ekstrakt ve Hybenx ile ekstrakt karışımı uygulanan gruplarda zamanla orta düzeyden hafif düzeye ilerleyen yangısal hücre infiltrasyonu izlenmiştir.
- Çalışmamızda kontrol grubunda 7. günde BEK negatifliği izlenirken 14. ve 21. günlerde hafif BEK pozitifliği saptanmış; *Satureja Cuneifolia* ekstresi uygulanan gruplarda ise 7. günden itibaren anlamlı derecede daha fazla BEK ekspresyonu izlenmiştir.
- Çalışmamızda COX-2 aktivitesinin 7.günden itibaren 21. güne dek kontrol grubunda progresif olarak artmasına karşın, ekstre grubunda yüksek-stabil kaldığı, ekstre ile Hybenx'in birlikte uygulandığı grupta ise anlamlı olarak başlangıçtan itibaren düşük seyrettiği gözlenmiştir.
- Çalışmamızda IL-1 düzeyinin kontrol grubunda belirgin değişime uğramamasına karşın ekstre uygulanan gruplarda 7. günde anlamlı olarak fazla olup 14 ve 21. günlerde ise düştüğü izlenmiştir.
- Bu çalışmada VEGF düzeylerinin en çok ekstrakt uygulanan gruplarda arttığı ve artış hızının da ekstre grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

- Çalışmamızda TNF- α düzeylerinin kontrol grubunda ekstre grubundan fazla olmak kaydıyla kendi içinde stabil olduğu, anlamlı olarak düşük düzeylerin ise ekstre grubunda olduğu bulunmuştur.
- Bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sayısal olarak hidrokspirolin düzeyinin en fazla 7. günde ekstrakt uygulanan grupta saptandığı, 14 ve 21. günlerde ise düzeylerin yara iyileşme fazlarına uygun şekilde düştüğü izlenmiştir.
- Histopatolojik değerlendirmede *Satureja Cuneifolia* etanolik ekstresinin yara bölgesine lokal olarak uygulanması ile yara iyileşmesinde kontrol grubuna nazaran epidermis oluşumu, granülasyon dokusu, hemoraji ve ödemde kontrol grubuna göre 7, 14 ve 21. günlerde belirgin iyileşme saptanmıştır.
- Tez çalışmamızda sıçanlarda 6 mm'lik punch biyopsi oluşturulmuş ve *Satureja Cuneifolia* ekstraktı uygulanmıştır. *Satureja Cuneifolia* ekstraktı uygulanan grupta ve hybenX+ekstrakt içeren gruptaki yara iyileşmelerinin histopatoloji ve biyokimyasal sonuçlar göz önüne alınarak daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.
- Sadece ekstrakt uygulanan ve hybenx ile *Satureja Cuneifolia* ekstrakt karışımı uygulanan gruplarda kontrol grubuna nazaran yara yüzey alanı 7., 14 ve 21. günlerde anlamlı bir şekilde düşüktür.
- Çalışmada kontrol olarak bilinen ilaç olan HybenX kullanılmış ve kullanılan kontrole göre ekstarktımızın daha iyi sonuç verdiği kanısına varılmıştır.
- Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak *Satureja Cuneifolia* bileşenlerinin ileride yara tedavisi amaçlı bir ürünün ya da ürünlerin yapımında kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Granick, M.S., Long, C.D., Ramasastry, S.S. (1998). Wound healing state of the art, Clin Plast Surg, 25(3), 321-483.
2. Shetty, V., Bertolami, C.N. (1997). The physiology of wound healing, Principles of Oral and Maxillofacial Surgery, In: Peterson LJ, ed. LippincottRaven Publishers, Philadelphia, Volume I, 3-18.
3. Allen, D.B., Mguire, J.J., Mahdavian, M. (1997). Wound hipoxia and acidosis limit neutrophil bacterial killing mechanisms, Arch Surg, 132, 991- 996.
4. A. Sionkowska, Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review, Prog. Polym. Sci. (2011). <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.05.003>.
5. Herrod PJ, Doleman B, Hardy EJ, Hardy P, Maloney T, Williams JP, Lund JN. Dressings and topical agents for the management of open wounds after surgical treatment for sacrococcygeal pilonidal sinus. Cochrane Database Syst Rev. 2022 May 20;5(5):CD013439. doi: 10.1002/14651858.CD013439.pub2. PMID: 35593897; PMCID: PMC9121912.
6. Xia Y, Wang D, Liu D, Su J, Jin Y, Wang D, Han B, Jiang Z, Liu B. Applications of Chitosan and its Derivatives in Skin and Soft Tissue Diseases. Front Bioeng Biotechnol. 2022 May 2;10:894667. doi: 10.3389/fbioe.2022.894667. PMID: 35586556; PMCID: PMC9108203.
7. Deng X, Gould M, Ali MA. A review of current advancements for wound healing: Biomaterial applications and medical devices. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2022 May 17. doi: 10.1002/jbm.b.35086. Epub ahead of print. PMID: 35579269.

8. Lützkendorf S, Grünerbel A, Dietlein M, Lüdemann C, Becker E, Möller U, Thomassin L, Bohbot S, Dissemmond J. TLC-Ag dressings: a prospective, multicentre study on 728 patients with wounds at risk of or with local infection. *J Wound Care*. 2022 May 2;31(5):366-378. doi: 10.12968/jowc.2022.31.5.366. PMID: 35579315.
9. Yazarlu O, Iranshahi M, Kashani HRK, Reshadat S, Habtemariam S, Iranshahy M, Hasanpour M. Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. *Pharmacol Res*. 2021 Dec;174:105841. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105841. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34419563.
10. Vasilenko T, Kováč I, Slezák M, Ďurkáč J, Peržel'ová V, Čoma M, Kaňuchová M, Urban L, Szabo P, Dvořánková B, Vrzgula A, Zajíček R, Smetana K Jr, Gál P. *Agrimonia eupatoria* L. Aqueous Extract Improves Skin Wound Healing: An In Vitro Study in Fibroblasts and Keratinocytes and In Vivo Study in Rats. *In Vivo*. 2022 May-Jun;36(3):1236-1244. doi: 10.21873/invivo.12822. PMID: 35478102.
11. Ananda N, Ariawan D, Juniantito V. Effects of the *Hydnophytum formicarum* plant extract on collagen density, angiogenesis, wound length, and re-epithelialization in wound healing: Experimental study on rats. *Dent Med Probl*. 2022 Jan-Mar;59(1):67-73. doi: 10.17219/dmp/140208. PMID: 35274499.
12. Mohammed HA, Qureshi KA, Ali HM, Al-Omar MS, Khan O, Mohammed SAA. Bio-Evaluation of the Wound Healing Activity of *Artemisia judaica* L. as Part of the Plant's Use in Traditional Medicine; Phytochemical, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibiofilm Properties of the Plant's Essential Oils. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Feb 8;11(2):332. doi: 10.3390/antiox11020332. PMID: 35204215; PMCID: PMC8868479.

13. Gushiken LFS, Beserra FP, Hussni MF, Gonzaga MT, Ribeiro VP, de Souza PF, Campos JCL, Massaro TNC, Hussni CA, Takahira RK, Marcato PD, Bastos JK, Pellizzon CH. Beta-caryophyllene as an antioxidant, anti-inflammatory and re-epithelialization activities in a rat skin wound excision model. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Feb 3;2022:9004014. doi: 10.1155/2022/9004014. PMID: 35154574; PMCID: PMC8831077.
14. Barzegar S, Zare MR, Shojaei F, Zareshahrabadi Z, Koohi-Hosseiniabadi O, Saharkhiz MJ, Iraj A, Zomorodian K, Khorram M. Core-shell chitosan/PVA-based nanofibrous scaffolds loaded with *Satureja mutica* or *Oliveria decumbens* essential oils as enhanced antimicrobial wound dressing. *Int J Pharm*. 2021 Mar 15;597:120288. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120288. Epub 2021 Jan 26. PMID: 33508343.
15. Beyranvand F, Gharzi A, Abbaszadeh A, Khorramabadi RM, Gholami M, Gharraei AM. Encapsulation of *Satureja khuzistanica* extract in alginate hydrogel accelerate wound healing in adult male rats. *Inflamm Regen*. 2019 Jan 30;39:2. doi: 10.1186/s41232-019-0090-4. PMID: 30723531; PMCID: PMC6352332.
16. Ilhan E, Cesur S, Guler E, Topal F, Albayrak D, Guncu MM, Cam ME, Taskin T, Sasmazel HT, Aksu B, Oktar FN, Gunduz O. Development of *Satureja cuneifolia*-loaded sodium alginate/polyethylene glycol scaffolds produced by 3D-printing technology as a diabetic wound dressing material. *Int J Biol Macromol*. 2020 Oct 15;161:1040-1054. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.086. Epub 2020 Jun 13. PMID: 32544577.
17. Perrino EV, Valerio F, Jallali S, Trani A, Mezzapesa GN. Ecological and Biological Properties of *Satureja cuneifolia* Ten. and *Thymus spinulosus* Ten.: Two Wild Officinal Species of Conservation Concern in Apulia (Italy). A Preliminary

Survey. Plants (Basel). 2021 Sep 18;10(9):1952. doi: 10.3390/plants10091952. PMID: 34579485; PMCID: PMC8471076.

18. Al Hafi M, El Beyrouthy M, Ouaini N, Stien D, Rutledge D, Chaillou S. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Satureja, Thymus, and Thymbra Species Grown in Lebanon. Chem Biodivers. 2017 May;14(5). doi: 10.1002/cbdv.201600236. Epub 2017 Apr 12. PMID: 27584022.

19. Arslan. M.K. (2003). Akut ve kronik yara bakımı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 9-33

20. Nursal, T.Z., Baykal, A., Hamaloğlu, E. (1999). Yaşlılarda yara iyileşmesi: Fark var mı?, Geriatri, 2(1), 29-32.

21. Schäfer, M., Werner, S. (2007). Transcriptional control of wound repair, Annu Rev Cell Dev Biol, 23, 69-92.

22. Yeganeh PM, Tahmasebi S, Esmaeilzadeh A. Cellular and biological factors involved in healing wounds and burns and treatment options in tissue engineering. Regen Med. 2022 May 12. doi: 10.2217/rme-2022-0029. Epub ahead of print. PMID: 35545963.

23. Zeren, İ. (1996). Yara iyileşmesi ve kollajen. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi, TDD Yayınları, Ankara.

24. Witte, M.B., Barbul, A. (1997). General principles of wound healing, Surg Clin of North Am, 77(3), 509-528.

25. Myers, B.A. (1999). Wound management, 1 st ed., Pearson Education, New Jersey.

26. Werner, S., Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines, Physiol Rev, 83, 835-870.

27. Gurtner, G.C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M.T. (2008). Wound repair and regeneration, *Nature*, 453(7193), 314-21.
28. Kondo, T. (2007). Timing of skin wounds, *Legal Med*, 9, 109-14.
29. Krizek, T.J., Harries, R.H.C. (1997). Biology and tissue injury and repair, In: *Georgiade Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery*, 3. Edition Ed, Georgiade, G.S., Williams and Wilkins, 1-9.
30. Broughton, G, Janis, JE, Attinger, CE. (2007). Wound healing: an overview, *Plast Recons Surg*, 117, 1-31.
31. Lawrence, W.I. (1998). Physiology of the acute wound, *Clin Plast Surg*, 25, 321-340.
32. McGraw, M.K., Jones, T.R., Baer, D.G. (2007). Soft tissue wounds and principles of healing, *Emerg Med Clin North Am*, 25, 1-22.
33. Reinkens, J.M., Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration, *Eur Surg Res*. 49, 35-43.
34. Çiğer, S. (1996). Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi, TDD Yayınları, Ankara.
35. Browder, W., Williams, D., Lucore, P. (1988). Effect of enhanced macrophage function on early wound healing, *Surgery*, 104, 224-229.
36. Gantwerker, E.A., Hom, D.B. (2012). Skin: histology and physiology of wound healing, *Clin Plastic Surg*, 39, 85-97.
37. Gottrup, F. (2009). News in wound healing and management, *Curr Opin Support Palliat Care* , 3, 300-304.

38. Gurtner, G.C. (2007). Wound healing: normal and abnormal, In: Charles H. Thorne, et al, Grabb and Smith's Plastic Surgery, 6th Edition, LippincottWilliams and Wilkins, Philadelphia, 15-22.
39. Broughton, G., Janis, J.E., Attinger, C.E. (2006). The basic science of wound healing, *Plast Reconstr Surg*, 117, 12-34.
40. Campos, A.C., Groth, A.K., Branco, A.B. (2008). Assessment and nutritional aspects of wound healing, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 11, 281-288.
41. Bissell, M.J., Radisky, D. (2001). Putting tumours in context, *Nat Rev Cancer*, 1(1), 46-54.
42. Schäfer M, Werner S. Transcriptional control of wound repair. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007;23:69-92. doi: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123609. PMID: 17474876.
43. Monaco, J.L., Lawrence, W.T. (2003). Acute wound healing an overview, *Clin Plast Surg*, 30(1), 1-12.
44. Wahl, L.M., Wahl, S.M. (1992). Inflammation, in: Cohen, I.K., Diegelman, R.F., Lindblad, W.J., Wound healing: biochemical and clinical aspects, Philadelphia, PA, W.B. Saunders, 40-62.
45. Turabelidze A., Dipietro L.A. 2012. Inflammation and wound healing. *Endod. Top.* 24, 26–38.
46. Yuzhakova D.V., Shirmanova M.V., Bocharov A.A., Astrakhantseva I.V., Vasilenko E.A., Gorshkova E.N., Drutskaya M.S., Zagainova E.V., Nedospasov S.A., Kruglov A.A. 2016. Microbiota induces expression of tumor necrosis factor in postnatal mouse skin. *Biochemistry (Moscow)*. 81 (11), 1553–1558.

47. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. 2014. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Sci. Transl. Med.* 6, 1–16.
48. Larouche J., Sheoran S., Maruyama K., Martino M.M. 2018. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets. *Adv. Wound Care.* 7, 209–231.
49. Behm B., Babilas P., Landthaler M., Schreml S. 2012. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 26, 812–820.
50. Contassot E, Beer HD, French LE. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly.* 2012 May 31;142:w13590. doi: 10.4414/smw.2012.13590. PMID: 22653747.
51. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity.* 2005 Nov;23(5):479-90. doi: 10.1016/j.immuni.2005.09.015. PMID: 16286016.
52. Moynagh PN. The interleukin-1 signalling pathway in astrocytes: a key contributor to inflammation in the brain. *J Anat.* 2005 Sep;207(3):265-9. doi: 10.1111/j.1469-7580.2005.00445.x. PMID: 16185251; PMCID: PMC1571539.
53. Hofman FM, von Hanwehr RI, Dinarello CA, Mizel SB, Hinton D, Merrill JE. Immunoregulatory molecules and IL 2 receptors identified in multiple sclerosis brain. *J Immunol.* 1986 May 1;136(9):3239-45. PMID: 3082983.
54. Zhu H, Wang Z, Yu J, Yang X, He F, Liu Z, Che F, Chen X, Ren H, Hong M, Wang J. Role and mechanisms of cytokines in the secondary brain injury after

intracerebral hemorrhage. *Prog Neurobiol.* 2019 Jul;178:101610. doi: 10.1016/j.pneurobio.2019.03.003. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30923023.

55. Durães C, Muñoz X, Bonet C, García N, Venceslá A, Carneiro F, Peleteiro B, Lunet N, Barros H, Lindkvist B, Boutron-Ruault MC, Bueno-de-Mesquita HB, Rizzato C, Trichopoulou A, Weiderpass E, Naccarati A, Travis RC, Tjønneland A, Gurrea AB, Johansson M, Riboli E, Figueiredo C, González CA, Capellà G, Machado JC, Sala N. Genetic variants in the IL1A gene region contribute to intestinal-type gastric carcinoma susceptibility in European populations. *Int J Cancer.* 2014 Sep 15;135(6):1343-55. doi: 10.1002/ijc.28776. Epub 2014 Mar 4. PMID: 24615437.

56. Timms AE, Crane AM, Sims AM, Cordell HJ, Bradbury LA, Abbott A, Coyne MR, Beynon O, Herzberg I, Duff GW, Calin A, Cardon LR, Wordsworth BP, Brown MA. The interleukin 1 gene cluster contains a major susceptibility locus for ankylosing spondylitis. *Am J Hum Genet.* 2004 Oct;75(4):587-95. doi: 10.1086/424695. Epub 2004 Aug 12. PMID: 15309690; PMCID: PMC1182046.

57. Liu N, Li X, Liu C, Zhao Y, Cui B, Ning G. The association of interleukin-1alpha and interleukin-1beta polymorphisms with the risk of Graves' disease in a case-control study and meta-analysis. *Hum Immunol.* 2010 Apr;71(4):397-401. doi: 10.1016/j.humimm.2010.01.023. Epub 2010 Feb 8. PMID: 20116409.

58. Rook JM, Hasan W, McCarson KE. Temporal effects of topical morphine application on cutaneous wound healing. *Anesthesiology.* 2008 Jul;109(1):130-6. doi: 10.1097/ALN.0b013e31817b5ac3. PMID: 18580183; PMCID: PMC2598738.

59. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003 Jul;83(3):835-70. doi: 10.1152/physrev.2003.83.3.835. PMID: 12843410.

60. Bauer SM, Bauer RJ, Velazquez OC. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vasc Endovascular Surg.* 2005 Jul-Aug;39(4):293-306. doi: 10.1177/153857440503900401. PMID: 16079938.
61. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg.* 2004 May;187(5A):11S-16S. doi: 10.1016/S0002-9610(03)00296-4. PMID: 15147986.
62. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 2009 Sep-Oct;37(5):1528-42. doi: 10.1177/147323000903700531. PMID: 19930861.
63. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998 Sep;30(9):1019-30. doi: 10.1016/s1357-2725(98)00058-2. PMID: 9785465.
64. Jespersen, J. (1988). Pathophysiology and clinical aspect of fibrinolysis and inhibition of coagulation, *Dan Med Bul*, 35, 1-33.
65. Drosou, A., Falabella, A., Kirsner, R.S. (2003). Antiseptics on wounds: an area of controversy, *Wounds*, 15, 149-66.
66. Shetty, V., Bertolami, C.N. (2004). Wound healing. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery, In: Miloro, M., Ghali, G.E., Larsen, P.E., Waite, P.D., 2nd. Ed., BC Decker Inc, London, 3-15.
67. Stephan, J., Landis, M.D. (2008). Chronic wound infection and antimicrobial use, *Skin Wound Care*, 21, 531-40.
68. Hupp, J.R. (1998). Wound repair (In: Peterson LJ, Ellis III E, Hupp JR, Tucker MR, editors) *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*, 3rd ed., Mosby Year Book Inc, St. Louis, 57-6
69. Şenol, M. (1995). Yara iyileşmesi, *T Klin J Dermatol*, 5, 49-53

70. Carter MJ, Frykberg RG, Oropallo A, Sen CK, Armstrong DG, Nair HK, Serena TE. Efficacy of Topical Wound Oxygen Therapy in Healing Chronic Diabetic Foot Ulcers: Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Wound Care* (New Rochelle). 2022 May 20. doi: 10.1089/wound.2022.0041. Epub ahead of print. PMID: 35593010.
71. Padberg, F.T., Back, T.L., Thompson, P.N. (1996). Transcutaneous oxygen (TcPO₂) estimates probability of healing in the ischemic extremity, *J Surg Res*, 60,365-369.
72. Şimşek, Ş.Ş. (2005). Çeşitli nitrik oksit inhibitörlerinin yara iyileşmesi üzerindeki etkisinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
73. Ferahbaş, A. (2004). Skar oluşumunu etkileyen faktörler, *Dermatose*, 4, 192- 197.
74. Alcain, F.J., Buron, M.I. (1994). Ascorbate on cell growth and differantion, *J. Bioenerg Biomembr*, 26, 393-398.
75. Yi Y, Wu M, Zhou X, Xiong M, Tan Y, Yu H, Liu Z, Wu Y, Zhang Q. Ascorbic acid 2-glucoside preconditioning enhances the ability of bone marrow mesenchymal stem cells in promoting wound healing. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Mar 21;13(1):119. doi: 10.1186/s13287-022-02797-0. PMID: 35313962; PMCID: PMC8935805.
76. Shan M, Liu H, Hao Y, Song K, Meng T, Feng C, Wang Y, Huang Y. Metabolomic Profiling Reveals That 5-Hydroxylysine and 1-Methylnicotinamide Are Metabolic Indicators of Keloid Severity. *Front Genet*. 2022 Feb 9;12:804248. doi: 10.3389/fgene.2021.804248. PMID: 35222522; PMCID: PMC8864098.
77. Saeg F, Orazi R, Bowers GM, Janis JE. Evidence-Based Nutritional Interventions in Wound Care. *Plast Reconstr Surg*. 2021 Jul 1;148(1):226-238. doi: 10.1097/PRS.0000000000008061. PMID: 34181622.

78. European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP).(2003). ABD.
79. Kim SY, Nair MG. Macrophages in wound healing: activation and plasticity. *Immunol Cell Biol.* 2019 Mar;97(3):258-267. doi: 10.1111/imcb.12236. Epub 2019 Feb 11. PMID: 30746824; PMCID: PMC6426672.
80. Fahey, T.J., Sadaty, A., Jones, W.G., et al. (1991). Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing, *J Surg Res*, 50, 308-313.
81. Shi M, Du Z, Qi Y, Li W, Hu H, Lin X, Wang S, Tang Z, Zhou M. Wound microenvironment-responsive glucose consumption and hydrogen peroxide generation synergistic with azithromycin for diabetic wounds healing. *Theranostics.* 2022 Mar 6;12(6):2658-2673. doi: 10.7150/thno.64244. PMID: 35401823; PMCID: PMC8965477.
82. Komesu, M.C., Tanga, M.B., Buttros, K.R., et al. (2004). Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing, *Pathophysiology*, 11, 63-67.
83. Pradhan L, Cai X, Wu S, Andersen ND, Martin M, Malek J, Guthrie P, Veves A, Logerfo FW. Gene expression of pro-inflammatory cytokines and neuropeptides in diabetic wound healing. *J Surg Res.* 2011 May 15;167(2):336-42. doi: 10.1016/j.jss.2009.09.012. Epub 2009 Oct 23. PMID: 20070982; PMCID: PMC4376536.
84. Aneesha VA, Qayoom A, Anagha S, Almas SA, Naresh VK, Kumawat S, Singh WR, Sadam A, Dinesh M, Shyamkumar TS, Sahoo M, Lingaraju MC, Singh TU, Kumar D. Topical bilirubin-deferoxamine hastens excisional wound healing by modulating inflammation, oxidative stress, angiogenesis, and collagen deposition in diabetic rats. *J Tissue Viability.* 2022 May 6:S0965-206X(22)00047-X. doi: 10.1016/j.jtv.2022.04.009. Epub ahead of print. PMID: 35595596.

85. Atiyeh, B.S, Dibo, S.A., Hayek, S.N. (2009). Wound cleansing, topical antiseptics and wound healing, *Int Wound J*, 6, 420–430.
86. Noda, Y., Fujii, S. (2009). Critical evaluation of cadexomer iodine ointment and povidone - iodine sugar ointment, *Int J Pharm*, 372, 85-90.
87. Thomas, G.W., Rael, L.T., Bar-Or, R., Shimonkevitz, R., Mains, C.W. (2009). Mechanisms of delayed wound healing by commonly used antiseptics, *J Trauma*, 66, 82-91.
88. Heal CF, Banks JL, Lepper PD, Kontopantelis E, van Driel ML. Topical antibiotics for preventing surgical site infection in wounds healing by primary intention. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Nov 7;11(11):CD011426. doi: 10.1002/14651858.CD011426.pub2. PMID: 27819748; PMCID: PMC6465080.
89. Huang ET, Savaser DJ, Heyboer Iii M. ARTERIAL INSUFFICIENCIES: Hyperbaric Oxygen Therapy for Selected Problem Wounds. *Undersea Hyperb Med*. 2020 Third-Quarter;47(3):491-530. doi: 10.22462/03.07.2020.11. PMID: 32931678.
90. Attinger, C.E., Bulan, E.J. (2001). Debridement; the key initial first step in wound healing, *Foot Ankle Clin*, 6, 627 – 660.
91. Sprugel, K.H., McPherson, J.M., Clowes, A.W. et al. (1987). Effects of growth factors in vivo, *Am J Pathol*, 129, 601-613.
92. Goswami AG, Basu S, Huda F, Pant J, Ghosh Kar A, Banerjee T, Shukla VK. An appraisal of vascular endothelial growth factor (VEGF): the dynamic molecule of wound healing and its current clinical applications. *Growth Factors*. 2022 May 18:1-16. doi: 10.1080/08977194.2022.2074843. Epub ahead of print. PMID: 35584274.

93. Gao, J., Jordan, T.W., Cutress, T.W. (1996). Immunolocalization of basic fibroblast growth factor (bFGF) in human periodontal ligament (PDL) tissue, *J Periodontal Res*, 31, 260-264.
94. McGee, G.S., Davidson, J.M., Buckley, A. et al. (1988). Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing, *J Surg Res*, 45, 145-153.
95. Tang, C.H., Yang, R.S., Chen, Y.F., Fu, W.M. (2007). Basic fibroblast growth factor stimulates fibronectin expression through phospholipase C gamma, protein kinase C alpha, c-Src, NF-kappaB, and p300 pathway in osteoblasts., *J Cell Physiol*, 211, 45-55.
96. Hossain, W.A., Morest, D.K. (2000). Fibroblast growth factors (FGF-1, FGF-2) promote migration and neurite growth of mouse cochlear ganglion cells in vitro: Immunohistochemistry and antibody perturbation, *J Neurosci Res*, 62,40-55.
97. Ortniz, D.M., Itoh, N. (2001). Fibroblast growth factors, *Genome Biol*, 2,1-12.
98. Powers, C.J., McLeskey, S.W., Wellstein, A. (2000). Fibroblast growth factors, their receptors and signaling, *Endocr Relat Cancer*, 7,165-97.
99. Davidson, D., Blanc, A., Filion, D., et al. (2005). Fibroblast growth factor (FGF) 18 signals through FGF receptor 3 to promote chondrogenesis, *J Biol Chem*, 280, 20509-20515.
100. Lawrence, W.T., Diegelmann R.F. (1994). Growth factors in wound healing, *Clin Dermatol*, 12, 157-169.
101. Erbaş, D. (1990). Epidermal growth factor, *Gazi Üniv Tıp Fak Der*, 30-34.
102. Tsai HC, Sheng C, Chang LS, Wen ZH, Ho CY, Chen CM. Chitosan-microencapsulated rhEGF in promoting wound healing. *J Wound Care*. 2021 Sep 2;30(Sup9a):IXi-IXxi. doi: 10.12968/jowc.2021.30.Sup9a.IX. PMID: 34570632.

103. Gregory, H. (1995). Isolation and structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor, *Nature*, 257, 325-327.
104. Malcherek P, Schultz G, Wingren U, Franzén L. Formation of healing tissue and angiogenesis in repair of connective tissue stimulated by epidermal growth factor. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1994 Mar;28(1):1-7. doi: 10.3109/02844319409015987. PMID: 7518096.
105. Rudkin, G.H., Miller, T.A. (1996). Growth factors in surgery, *Plast Reconstr Surg*, 97[2], 469-476
106. Bren, E.C. (2007). VEGF in biological control, *J Cell Biochem*, 102, 1358-67.
107. Roy H, Bhardwaj S, Ylä-Herttuala S. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett*. 2006 May 22;580(12):2879-87. doi: 10.1016/j.febslet.2006.03.087. Epub 2006 Apr 17. PMID: 16631753.
108. Goswami AG, Basu S, Huda F, Pant J, Ghosh Kar A, Banerjee T, Shukla VK. An appraisal of vascular endothelial growth factor (VEGF): the dynamic molecule of wound healing and its current clinical applications. *Growth Factors*. 2022 May 18:1-16. doi: 10.1080/08977194.2022.2074843. Epub ahead of print. PMID: 35584274.
109. Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M.S., Wildiers, H. (2004). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis, *Pharmacol Rev*, 56, 549-580.
110. Boroujeni SN, Malamiri FA, Bossaghzadeh F, Esmaeili A, Moudi E. The most important medicinal plants affecting sperm and testosterone production: a systematic review. *JBRA Assist Reprod*. 2022 Mar 2. doi: 10.5935/1518-0557.20210108. Epub ahead of print. PMID: 35234023.
111. Zeraati M, Rahdar A, Medina DI, Sargazi G. Synthesis of Al-Based Metal-Organic Framework in Water With Caffeic Acid Ligand and NaOH as Linker Sources

With Highly Efficient Anticancer Treatment. *Front Chem.* 2021 Nov 30;9:784461. doi: 10.3389/fchem.2021.784461. PMID: 34917591; PMCID: PMC8669676.

112. Çelikkol, D. (2015). *Hypericum perforatum* L. bitkisinden elde edilen Kantaron yağının Yara iyileşmesine olan etkisinin deneysel olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ABD, Sivas.

113. Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkilerle tedavi (Geçmişte ve Bugün)* 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.

114. Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, Gortzi O, Izadi M, Nabavi SM. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem.* 2016 Nov 1;210:402-14. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.04.111. Epub 2016 Apr 26. PMID: 27211664.

115. Xue J, Luo Y, Li B, Wang X, Xiao Z, Luo Y. Antimicrobial effects of thymol-loaded phytoglycogen/zein nanocomplexes against foodborne pathogens on fresh produce. *Int J Biol Macromol.* 2022 Jun 1;209(Pt A):1188-1196. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.04.101. Epub 2022 Apr 19. PMID: 35452703.

116. Olasupo NA, Fitzgerald DJ, Gasson MJ, Narbad A. Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Lett Appl Microbiol.* 2003;37(6):448-51. doi: 10.1046/j.1472-765x.2003.01427.x. PMID: 14633097.

117. Vladic, J.; Zeković, Z.; Jokić, S.; Svilovic, S.; Kovacevic, S.; Vidović, S. (Kasım 2016). "Kış kokulu: Süper kritik karbondioksit ekstraksiyonu ve ekstraksiyon

işleminin matematiksel modellemesi". Süperkritik Akışkanlar Dergisi . **117** : 89-

97. doi :

118. L. Ibrahim, M. Karaky, P. Ayoub, N. El Ajouz, S. Ibrahim, J.Essent. Oil Res. 2012, 24, 339

119. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Satureja, Thymus, and Thymbra Species Grown in Lebanon Monay Al Hafi, a,b Marc El Beyrouthy,*a Naim Ouaini,a Didier Stien,c Douglas Rutledge,d and Sylvain Chailloub.

120. Eggersdorfer, Manfred (2000). "Terpenes". Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH.

121. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chem. 2008 Jun 1;108(3):986-95. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.010. Epub 2007 Dec 14. PMID: 26065762.

122. Khoury M, Stien D, Eparvier V, Ouaini N, El Beyrouthy M. Report on the Medicinal Use of Eleven Lamiaceae Species in Lebanon and Rationalization of Their Antimicrobial Potential by Examination of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Their Essential Oils. Evid Based Complement Alternat Med. 2016;2016:2547169. doi: 10.1155/2016/2547169. Epub 2016 Dec 8. PMID: 28053641; PMCID: PMC5178328.

123. Srivastava AK, Khare P, Nagar HK, Raghuwanshi N, Srivastava R. Hydroxyproline: A Potential Biochemical Marker and Its Role in the Pathogenesis of Different Diseases. Curr Protein Pept Sci. 2016;17(6):596-602. doi: 10.2174/1389203717666151201192247. PMID: 26916157.

124. Paul, S. Fish bone chemistry and ultrastructure: implications for taphonomy and stable isotope analysis. *J. Archaeol. Sci.*, 2011, 38(12), 3358-3372.
125. Nelson, D.L.; Cox, M.M. *Lehninger's Principles of Biochemistry*, 4th ed.; W. H. Freeman and Company, New York: 2005
126. Ruhl, H.; Bein, G.; Sachs, U.J. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfus. Med. Rev.*, 2009, 23(1), 62-71.
127. Gokhale SG, Gokhale SS. Transfusion-associated graft versus host disease (TAGVHD)--with reference to neonatal period. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Apr;28(6):700-4. doi: 10.3109/14767058.2014.928859. Epub 2014 Jul 1. PMID: 24871361.
128. Taslimi, Parham, et al. "Anti-Alzheimer, antidiabetic and antioxidant potential of *Satureja cuneifolia* and analysis of its phenolic contents by LC-MS/MS." *Arabian journal of chemistry* 13.3 (2020): 4528-4537.
129. Sahraei H, Gharzi A, Amiri H, Abbasi M, Gholami M. Wound healing effect of *Satureja khuzistanica* and *Satureja rechingeri* ethanolic extracts in NMRI adult mice. *Zahedan J Res Med Sci.* 2016.
130. Piana M, Silva MA, Trevisan G, de Brum TF, Silva CR, Boligon AA, Oliveira SM, Zadra M, Hoffmeister C, Rossato MF, Tonello R, Laporta LV, de Freitas RB, Belke BV, Jesus Rda S, Ferreira J, Athayde ML. Antiinflammatory effects of *Viola tricolor* gel in a model of sunburn in rats and the gel stability study. *J Ethnopharmacol.* 2013 Nov 25;150(2):458-65. doi: 10.1016/j.jep.2013.08.040. Epub 2013 Sep 3. PMID: 24008111.
131. Süntar, Ipek, et al. "Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants?." *Free Radicals and Antioxidants* 2.2 (2012): 1-7.

132. Ali, Parsaeimehr, Yi-Feng Chen, and Elmira Sargsyan. "Bioactive molecules of herbal extracts with anti-infective and wound healing properties." *Microbiology for surgical infections*. Academic Press, 2014. 205-220.
133. Taşkın, Turgut, et al. "In vitro anti-urease, antioxidant, anticholinesterase, cytotoxic and in vivo anti inflammatory of *Satureja cuneifolia* Ten." *Notulae Scientia Biologicae* 12.2 (2020).
134. Liu L, Lu J, Li X, Wu A, Wu Q, Zhao M, Tang N, Song H. The LIS1/NDE1 Complex Is Essential for FGF Signaling by Regulating FGF Receptor Intracellular Trafficking. *Cell Rep.* 2018 Mar 20;22(12):3277-3291. doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.077. PMID: 29562183.
135. Bielefeld KA, Amini-Nik S, Alman BA. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration. *Cell Mol Life Sci.* 2013 Jun;70(12):2059-81. doi: 10.1007/s00018-012-1152-9. Epub 2012 Oct 4. PMID: 23052205; PMCID: PMC3663196.
136. Omarizadeh K, Farahpour MR, Alipour M. Topical Administration of an Ointment Prepared From *Satureja sahendica* Essential Oil Accelerated Infected Full-Thickness Wound Healing by Modulating Inflammatory Response in a Mouse Model. *Wounds.* 2021 Dec;33(12):321-328. PMID: 34882574.
137. Kirschenbaum A, Liotta DR, Yao S, Liu XH, Klausner AP, Unger P, Shapiro E, Leav I, Levine AC (2000) Immunohistochemical localization of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human fetal and adult male reproductive tracts. *J Clin Endocr Metab* 85:3436–3441.
138. Romana-Souza B, Santos JS, Bandeira LG, Monte-Alto-Costa A. Selective inhibition of COX-2 improves cutaneous wound healing of pressure ulcers in mice

- through reduction of iNOS expression. *Life Sci.* 2016 May 15;153:82-92. doi: 10.1016/j.lfs.2016.04.017. Epub 2016 Apr 14. PMID: 27091651.
139. Liou CJ, Len WB, Wu SJ, Lin CF, Wu XL, Huang WC. Casticin inhibits COX-2 and iNOS expression via suppression of NF- κ B and MAPK signaling in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages. *J Ethnopharmacol.* 2014 Dec 2;158 Pt A:310-6. doi: 10.1016/j.jep.2014.10.046. Epub 2014 Oct 31. PMID: 25446583.
140. Sun C, Yan H, Jiang K, Huang L. Protective Effect of Casticin on Experimental Skin Wound Healing of Rats. *J Surg Res.* 2022 Jun;274:145-152. doi: 10.1016/j.jss.2021.12.007. Epub 2022 Feb 11. PMID: 35151957.
141. Modarresi M, Farahpour MR, Baradaran B. Topical application of *Mentha piperita* essential oil accelerates wound healing in infected mice model. *Inflammopharmacology.* 2019 Jun;27(3):531-537. doi: 10.1007/s10787-018-0510-0. Epub 2018 Jul 6. PMID: 29980963.
142. Eo H, Lee HJ, Lim Y. Ameliorative effect of dietary genistein on diabetes induced hyper-inflammation and oxidative stress during early stage of wound healing in alloxan induced diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016;478(3):1021–1027..2016.07.039
143. N. Gholijani, Z. Amirghofran, Effects of thymol and carvacrol on T-helper cell subset cytokines and their main transcription factors in ovalbumin-immunized mice, *J Immunotoxicol* 13(5) (2016) 729- 737.
144. D. Matluobi, A. Araghi, B.F.A. Maragheh, A. Rezaabakhsh, S. Soltani, M. Khaksar, V. Siavashi, A. Feyzi, H.S. Bagheri, R. Rahbarghazi, Carvacrol promotes

angiogenic paracrine potential and endothelial differentiation of human mesenchymal stem cells at low concentrations, *Microvasc Res* 115 (2018) 20-27.

145. Riella KR, Marinho RR, Santos JS, Pereira-Filho RN, Cardoso JC, Albuquerque-Junior RL, Thomazzi SM. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. *J Ethnopharmacol*. 2012 Sep 28;143(2):656-63. doi: 10.1016/j.jep.2012.07.028. Epub 2012 Jul 31. PMID: 22885071.

146. Lee J, Jung E, Yu H, Kim Y, Ha J, Kim YS, Park D. Mechanisms of carvacrol-induced expression of type I collagen gene. *J Dermatol Sci*. 2008 Dec;52(3):160-9. doi: 10.1016/j.jdermsci.2008.06.007. Epub 2008 Aug 12. PMID: 18701258.

147. Rezvani Ghomi, Erfan, et al. "Wound dressings: Current advances and future directions." *Journal of Applied Polymer Science* 136.27 (2019): 47738.

148. Al-Rawaf HA, Gabr SA, Alghadir AH. Molecular Changes in Diabetic Wound Healing following Administration of Vitamin D and Ginger Supplements: Biochemical and Molecular Experimental Study. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019 Jul 21;2019:4352470. doi: 10.1155/2019/4352470. PMID: 31428171; PMCID: PMC6679851.

149. Khan, Barkat Ali, et al. "Preparation and properties of High sheared Poly (Vinyl Alcohol)/Chitosan blended Hydrogels films with *Lawsonia inermis* extract as wound dressing." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 61 (2021): 102227.

