

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PROPOLİSİN KREM VE SOLÜSYON TARZINDA**  
**FARMASÖTİK ŞEKİLLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE**  
**YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**Metin TOPYILDIZ**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof.Dr. Ender YARSAN**

**2020-ANKARA**

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Propolisin Krem ve Solüsyon Tarzında Farmasötik Şekillerinin Geliştirilmesi ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Metin TOPYILDIZ

Tarih: 10.08.2020

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında

Metin TOPYILDIZ tarafından hazırlanan

“Propolisin Krem ve Solüsyon Tarzında Farmasötik Şekillerinin Geliştirilmesi ve  
Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri  
tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul  
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .....

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Jüri Başkanı

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Raportör

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı  
Üniversitesi  
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

|                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------|-----------|
| Etik Beyan                                                       | ii        |
| Kabul ve Onay                                                    | iii       |
| İçindekiler                                                      | iv        |
| Önsöz                                                            | vi        |
| Simgeler ve Kısaltmalar                                          | viii      |
| Şekiller                                                         | ix        |
| Çizelgeler                                                       | xi        |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                  | <b>1</b>  |
| 1.1. Apiterapi                                                   | 2         |
| 1.2 Propolis ve Apiterapideki Önemi                              | 2         |
| 1.2.1. Fiziksel Özellikleri                                      | 3         |
| 1.2.2. Kimyasal Özellikleri                                      | 4         |
| 1.2.3. Biyolojik Özellikleri                                     | 4         |
| 1.3. Yara ve Yara İyileşmesi                                     | 5         |
| 1.3.1. İnflamasyon Evresi                                        | 5         |
| 1.3.1.1. Hemostazis                                              | 6         |
| 1.3.1.2. İnflamasyon                                             | 7         |
| 1.3.2. Proliferasyon Evresi                                      | 8         |
| 1.3.3. Olgunlaşma Evresi                                         | 12        |
| 1.4. Yara Sağaltımının Amacı ve Yara Sağaltım Yöntemleri         | 13        |
| 1.4.1. Yara Tedavisinde Kullanılan Farmasötik Şekiller           | 13        |
| 1.4.2. Yara İyileşmesinde Kullanılan Topikal Farmasötik Şekiller | 15        |
| <b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>                                        | <b>16</b> |
| 2.1. Gereç                                                       | 16        |
| 2.1.1. Kimyasal Malzemeler                                       | 16        |
| 2.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri                       | 16        |
| 2.1.3. Hayvan Materyali                                          | 16        |
| 2.1.4. Propolis Örneklerinin Toplanması ve Analizi               | 17        |
| 2.1.5. Propolis Örneklerinin GC-MS ile İçerik Analizleri         | 18        |
| 2.1.5.1. Analitlerin Hazırlanması ve Analiz                      | 18        |
| 2.1.6. Propolis Örneklerinin Ekstraksiyonu                       | 18        |
| 2.1.7. Deney Aşamasında Kullanılacak Ekstraktın Hazırlanması     | 19        |
| 2.1.8. Krem Formülasyonunun Hazırlanması                         | 19        |
| 2.2. Yöntem                                                      | 20        |
| 2.2.1. Etik Kurul Onayı                                          | 20        |
| 2.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü        | 20        |
| 2.2.3. Histopatolojik İncelemeler                                | 22        |
| 2.2.4. Biyokimyasal Analizler                                    | 23        |
| 2.2.4.1. Örneklerin Hazırlanması                                 | 23        |
| 2.2.5. Yara Alan Ölçümleri                                       | 24        |
| 2.2.5.1. Yara Alanlarının Hesaplaması                            | 24        |
| 2.2.6. İstatistiki Hesaplamalar                                  | 24        |
| 2.2.6.1. Histopatolojik Skorlara Uygulanan İstatistik Yöntemleri | 24        |

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.6.2. Hidroksiprolin Miktarlarının Karşılaştırılması    | 25        |
| 2.2.6.3. Yara Alanı Ölçümlerinin İstatistiksel incelenmesi | 26        |
| <b>3. BULGULAR</b>                                         | <b>27</b> |
| 3.1. GC-MS Sonuçları                                       | 27        |
| 3.2. Histopatolojik İnceleme Bulguları                     | 28        |
| 3.2.1. Akut Yangı                                          | 28        |
| 3.2.2. Kronik Yangı                                        | 30        |
| 3.2.3. Granulasyon Dokusu Miktarı                          | 33        |
| 3.2.4. Granulasyon Dokusu/Fibrosit Olgunlaşması            | 36        |
| 3.2.5. Kollajen Miktarı                                    | 38        |
| 3.2.6. Reepitelizasyon                                     | 41        |
| 3.2.7. Neovaskülarizasyon                                  | 45        |
| 3.3. Sıçanlarda Yara Alan Takibi Bulguları                 | 48        |
| 3.4. Biyokimyasal (Hidroksiprolin) Analizler               | 57        |
| <b>4. TARTIŞMA</b>                                         | <b>60</b> |
| 4.1. Akut Yangı ve Kronik Yangı                            | 64        |
| 4.2. Granulasyon Dokusu Miktarı                            | 68        |
| 4.3. Granulasyon Dokusu/Fibrosit Olgunlaşması              | 70        |
| 4.4. Reepitelizasyon                                       | 72        |
| 4.5. Neovaskülarizasyon                                    | 73        |
| 4.6. Kollajen Birikimi                                     | 75        |
| 4.7. Yara Alan Değişimi                                    | 82        |
| <b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>                                | <b>85</b> |
| <b>ÖZET</b>                                                | <b>87</b> |
| <b>SUMMARY</b>                                             | <b>88</b> |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                           | <b>89</b> |
| <b>EKLER</b>                                               | <b>96</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                                            | <b>97</b> |

## ÖNSÖZ

Propolis, bal arıları tarafından bitkilerin çeşitli kısımlarından toplanan reçineli, yapışkan karakterde bir maddedir. Propolis çeşitli hastalıkların tedavisinde sahip olduğu iyileştirici özellikler sebebiyle milattan önceki dönemlerden beri kullanılmıştır. Günümüzde, farmakolojik etkileri sebebiyle propolis; antineoplastik, antibakteriyel, yara iyileştirici, antiinflamatuvar, antiviral, anestezik, antioksidan, antimikotik ajan olarak tedavi amacıyla kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; Ankara İl'inden toplanan propolislerden elde edilen ekstrakt ve krem halindeki farmasötik şekillerin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan eksizyon yara modelinde iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda; Ankara'nın farklı ilçelerinde bulunan sabit arı yetiştiricilerinden farklı propolis örnekleri toplanmıştır. Ardından, propolis örneklerinin kimyasal içerik analizi gerçekleştirildikten sonra biyoetkin bileşikler yönünden zengin olan propolis örneğinden ekstrakt ve krem farmasötik şekilleri hazırlanmıştır. Bu farmasötik şekillerin, deneysel olarak oluşturulan yaralara uygulanması sonucu yara iyileşmesi üzerindeki etkinlikleri değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışması süresince ve doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana rehberlik eden, yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Ender YARSAN'a; Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine; TİK Üyeleri Sayın Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ ve Doç.Dr. Gökem KISMALI'ya; tez çalışmasının histopatolojik incelemelerinde yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Sevil Vural ATALAY'a ve Araştırma Görevlisi Dr. Arda Selin TUNÇ'a teşekkür ederim.

Deneysel çalışmaların tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma

Görevlisi Dr. Sedat SEVİN başta olmak üzere, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Muhammed UYSAL'a, Tarım ve Orman Bakanlığı Müfettişi Dr. Ayhan GACAR'a, Veteriner Hekim Hatice Kübra BORAN, Veteriner Hekim Mustafa TEKNEKAYA, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi intörn öğrencisi Furkan BÜYÜKCERAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Ankara propolisli kremin hazırlanmasında yardımcı olan NEHAR CEMİCALS şirketine ve propolis içerik analizlerinin gerçekleştirilmesinde desteği olan T.C. Namık Kemal Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı (NALBİTEM) Müdürü Doç.Dr. Nurullah ÖZDEMİR'e de içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışma sırasında sabrı ve fedakarlığıyla en büyük destekçim olan ve bu tez çalışmasının istatistik incelemelerinde yardım eden sevgili eşim Nuriye TOPYILDIZ'a; beni bu günlere getiren sevgili anne ve babam Beyhan ve Bekir TOPYILDIZ'a; tez çalışmalarım sırasında manevi destekleriyle yardımcı olan sevgili kayın anne ve babam Sıddıka ve Murat KABASAKAL'a çok teşekkür ederim.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|                |                                             |
|----------------|---------------------------------------------|
| BSTFA          | Bis-(Trimethylsilyl) Trifluoroacetamide     |
| CAPE           | Kafeik Asit Fenil Ester                     |
| DMAB           | 4-(Dimetilamino) Benzaldehit                |
| FGF            | Fibroblast Büyüme Faktörü                   |
| GAE            | Gallik Asit Eşdeğeri                        |
| GAG            | Glikozaminoglikan                           |
| GC-MS          | Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometresi |
| H&E            | Hematoksilen-Eozin                          |
| HCl            | Hidroklorik Asit                            |
| HPLC           | Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi        |
| IL             | İnterlökin                                  |
| M              | Molar                                       |
| mg             | Miligram                                    |
| ml             | Mililitre                                   |
| p              | Önemlilik                                   |
| PDGF           | Platelet Derived Growth Factor              |
| QE             | Kuersetin Eşdeğeri                          |
| TGF            | Transforming Growth Factor                  |
| TGF- $\beta_1$ | Transforming Growth Factor Beta-1           |
| TMCS           | Trimethylchlorosilane                       |
| TNF            | Tümör Nekroz Faktörü                        |
| VEGF           | Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü          |
| $\mu$ l        | Mikrolitre                                  |
| $\mu$ m        | Mikrometre                                  |
| °C             | Santigrat Derece                            |
| %              | Yüzde                                       |

## ŞEKİLLER

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1 Yaralanma sonucu şekillenen kan pıhtılaşması ve yara kabuğu şekillenmesi     | 6  |
| Şekil 1.2 Yara alanına nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu                              | 8  |
| Şekil 1.3 Granulasyon dokusu                                                           | 9  |
| Şekil 1.4 Kollajenin yapısı                                                            | 10 |
| Şekil 2.1 Propolis örneklerinin toplandığı Ankara İl'inin ilçeleri                     | 17 |
| Şekil 2.2 Propolis örneklerinden elde edilen etanolik propolis ekstraktı               | 19 |
| Şekil 2.3 Deneysel yaralarının oluşturulması                                           | 21 |
| Şekil 3.1 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün akut yangı skor değerlerinin değişimi   | 30 |
| Şekil 3.2 C grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 31 |
| Şekil 3.3 D grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 32 |
| Şekil 3.4 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün kronik yangı skor değerlerinin değişimi | 33 |
| Şekil 3.5 B grubu 7. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                    | 34 |
| Şekil 3.6 A grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 34 |
| Şekil 3.7 C grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 35 |
| Şekil 3.8 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün granulasyon                             | 36 |
| Şekil 3.9 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün granulasyon dokusu/fibrosit             | 38 |
| Şekil 3.10 D grubu 7. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 39 |
| Şekil 3.11 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün kollajen birikimi skor                 | 40 |
| Şekil 3.12 A grubu 7. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 41 |
| Şekil 3.13 B grubu 7. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 42 |
| Şekil 3.14 C grubu 7. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 42 |
| Şekil 3.15 D grubu 7. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                   | 43 |
| Şekil 3.16 A grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                  | 43 |
| Şekil 3.17 B grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                  | 44 |
| Şekil 3.18 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün reepitelizasyon skor değerlerinin      | 45 |
| Şekil 3.19 B grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                  | 46 |
| Şekil 3.20 D grubu 14. gün. Yara bölgesinin histopatolojik incelemesi                  | 47 |
| Şekil 3.21 Deney gruplarının yedinci ve 14. gün neovaskülarizasyon skor                | 48 |
| Şekil 3.22 Yaraların alanlarının asetat kağıdına çizilmesi                             | 49 |

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 3.23</b> Deney gruplarının sağ yara alanlarının deney süresince değişimi | 56 |
| <b>Şekil 3.24</b> Deney gruplarının sol yara alanlarının deney süresince değişimi | 57 |
| <b>Şekil 3.25</b> Deney gruplarının sol yara alanlarının deney süresince değişimi | 59 |



## ÇİZELGELER

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 1.1</b> Bazı ilaç şekilleri                                                                                                                               | 14 |
| <b>Çizelge 2.1</b> Deney grupları ve uygulamalar                                                                                                                     | 20 |
| <b>Çizelge 2.2</b> Deney alt grupları ve genel deney süreci                                                                                                          | 21 |
| <b>Çizelge 2.3</b> Modifiye Greenhalgh'ın Yara İyileşmesi Skorum Sistemi                                                                                             | 22 |
| <b>Çizelge 3.1</b> Ankara ilinden toplanan propolis örneklerinin içerik analizi                                                                                      | 27 |
| <b>Çizelge. 3.2</b> Yedinci gün akut yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                                | 29 |
| <b>Çizelge. 3.3</b> 14. gün akut yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                                    | 29 |
| <b>Çizelge. 3.4</b> Yedinci gün kronik yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                              | 31 |
| <b>Çizelge 3.5</b> 14. gün kronik yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                                   | 32 |
| <b>Çizelge 3.6</b> Yedinci ve 14. gün granülasyon dokusu skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                  | 35 |
| <b>Çizelge. 3.7</b> Yedinci gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                  | 37 |
| <b>Çizelge. 3.8</b> 14. gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                      | 37 |
| <b>Çizelge. 3.9</b> Yedinci gün kollajen birikimi skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                         | 39 |
| <b>Çizelge. 3.10</b> 14. gün kollajen birikimi skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                            | 40 |
| <b>Çizelge. 3.11</b> Yedinci gün ve 14. gün reepitelizasyon skorları ve ortalama±standart sapma değerleri                                                            | 44 |
| <b>Çizelge. 3.12</b> Yedinci gün neovaskülarizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                       | 46 |
| <b>Çizelge. 3.13</b> 14 gün neovaskülarizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri                                                            | 47 |
| <b>Çizelge. 3.14</b> Deney aşamasında kullanılan 56 ratın sırt bölgesindeki ikişer adet deneysel yaraların alanlarının zamana göre değişimi                          | 50 |
| <b>Çizelge. 3.15</b> Deney aşamasında kullanılan 56 ratın deneysel sağ yara alanlarının aritmetik ortalama±standart sapma değerleri                                  | 55 |
| <b>Çizelge. 3.16</b> Deney aşamasında kullanılan 56 ratın deneysel sol yara alanlarının ortalama±standart sapma değerleri                                            | 56 |
| <b>Çizelge. 3.17</b> Sağlam deri örnekleri ve 7. gün sonlandırılan alt grupların deri örneklerindeki hidroksipirolin miktarları ve ortalama±standart sapma değerleri | 58 |

**Çizelge. 3.18** Sağlam deri örnekleri ve 14. gün sonlandırılan alt grupların deri 58  
örneklerindeki hidroksipirolin miktarları ve ortalama±standart sapma değerleri



## 1. GİRİŞ

Deri; çevreden gelebilecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlere karşı canlı organizmayı koruyan bir organdır. Derinin bu koruyucu etkisi, canlı vücudu ile dış çevre arasında bariyer oluşturmasından ileri gelir (Hazıroğlu ve Milli, 2000).

Organların, anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasına genel olarak yara denilmektedir. Yaralanmayı takiben, hasarlı dokunun yıkımı, doku onarımı, yeni doku üretimi ve fonksiyonun geri kazanımı için canlı tarafından verilen biyolojik tepkiler bütününe ise “yara iyileşmesi” denilir (Lazarus ve ark., 1994). Yaralanma sonucu karşılaşılan klinik septomlar hayat kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir (Ferreira ve ark., 2006). Hatta yara iyileşmesinde yaşanan aksamalar sebebiyle ölüm bile şekillenebilmektedir (Pillai ve ark., 2010).

Yaralanma sonucu canlılarda görülen olumsuz etkiler sebebiyle yara iyileşmesi tarih boyunca insanoğlunun dikkatini çekmiştir (Shah, 2011). Günümüzde, başta farmakolojik yaklaşımlar olmak üzere birçok disiplin hızlı ve tam yara iyileşmesini sağlamak üzere çeşitli yara sağaltım ürünleri ve yöntemleri geliştirmektedir (Boateng ve ark., 2008). Bu kapsamda, bir apiterapi ürünü olan propolisin farklı farmasötik şekilleri de yara iyileşmesinde tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Burdock, 1998).

Bal arılarının bitkisel kökenli kaynakları kullanarak, bu kaynaklardan arı sütü, polen, bal, propolis gibi arıcılık ürünlerini üretmesi, “arıcılık faaliyeti” olarak tanımlanır. Arıcılık önemli bir sosyal ve ekonomik faaliyet olması yanında, bal arılarının polen toplarken bitkiler arasında tozlaşmayı sağlaması sebebiyle, bitkisel hayata da verim ve katkı sağlar. Arıcılık faaliyeti, ülkemizde ve dünyada çok eski dönemlerden bu yana yapılagelmektedir (Sandal ve ark., 2013; Sarıözkan ve ark., 2009).

### **1.1. Apiterapi**

Apiterapi; arı zehri, bal, polen, arı ekmeği ve propolis gibi arıcılık ürünlerinin hastalıkların tedavisi ve önlenmesi amacıyla kullanılmasıdır. Tüm apiterapi ürünlerinin, içerikleri farklı bileşenler nedeniyle iyileştirici etkileri bulunmaktadır (Ulusoy, 2012).

Arı poleni, bal arılarının çiçekli bitkilerin antenlerinden topladığı ve kovana getirdiği polenlerin, yine bal arıları tarafından sindirim enzimleri ve bir miktar nektar ile muamele edilmesiyle oluşturulur (Bogdanov, 2011a). Arı ekmeği, arıların işlem uygulayarak peteklerde depoladıkları arı poleninin fermente olmuş halidir (Akhmetova ve ark., 2012). Arı sütü, işçi arıların kraliçe arıyı ve larvaları beslemek için boğaz ve alt çene tükürük bezlerinden salgılanan beyaz krem renginde bir maddedir. Sadece arı sütünde bulunan 10-hidroksi dekononik asit arı sütüne biyolojik özellik kazandırır (Bogdanov, 2011b). Arı zehri, işçi arıların zehir bezlerinde üretilerek zehir torbasında depolanan ve farmakolojik yönden etkin olan melittin isimli polipeptit içeren apiterapi ürünüdür. (Bogdanov, 2011c). Bal ise; bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının ve nektarlarının veya bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kimyasal değişime uğratılan ve su içeriği azaltılan apiterapi ürünüdür (Ulusoy, 2012). Bal arıları tarafından bitkilerin çeşitli kısımlarından toplanan reçineli, yapışkan maddelere ise genel olarak propolis denilmektedir (Ghisalberti, 1979).

### **1.2 Propolis ve Apiterapideki Önemi**

Propolis kelimesi Yunanca “pro” ve “polis” kelimelerinden oluşmaktadır. Savunma anlamındaki “Pro” ve şehir anlamındaki “polis” kelimelerinin birleşmesiyle türetilen propolis, “şehrin/kovanın savunması” anlamına gelmektedir (Ghisalberti, 1979).

Bal arıları ağaç tomurcuklarından ve filizlerinden salgılanan, ağaç kabuğu çatlaklarından sızan reçineli eksudatı, arka ayaklarını ve ağzını kullanarak koparır.

Sonrasında bal arıları bu resinli eksudatı çiğneyerek tükürük salgısıyla nemlendirir, pelet haline getirir, bal mumuyla karıştırır ve böylece propolis üretilmiş olur (Burdock, 1998; Ghisalberti, 1979). Bir kovandan bir yılda ancak 150-200 g propolis elde edilebilir. Kuzey yarım kürede ılıman iklim kuşağında özellikle Kavak, At Kestanesi, Kara Ağaç, Huş Ağacı, Kızılağaç, Kayın Ağacı ve Kozalaklı ağaçlar propolisin kaynağını oluşturur (Ghisalberti, 1979). Propolis, bal arıları tarafından kovanın delik ve çatlaklarının kapatılması, peteğin ince duvarlarının desteklenmesi, kovanın dezenfeksiyonu, kovana giren istilacı canlıların ve yabancı cisimlerin kaplanması, putrefekasyonun önlenmesi amaçlarıyla kullanılır (Bankova ve ark., 2000; Ghisalberti, 1979).

Arı ve kovan sağlığı için olumlu etkileri yanında, içerdiği terapötik etkiler sebebiyle milattan önceki dönemlerde bile propolis tedavi amacıyla kullanılmıştır (Bankova ve ark., 2000; Ramos ve Miranda, 2007). Günümüzde, sahip olduğu biyoaktif özellikleri sebebiyle propolisin krem, merhem, losyon, solüsyon, tablet gibi birçok farmasötik şekli kullanılmaktadır (Burdock, 1998).

Propolis çeşitli hastalıkların tedavisinde milattan önceki dönemlerden beri kullanılmasına rağmen, 19. ve 20. yüzyılda gelişen kimya sanayinin etkisiyle bitkisel kökenli ilaçlar ve propolisin önemi azalmıştır. Ancak, çeşitli biyoetkin özellikleri bulunması ve bu özelliklerin içerdiği kimyasal maddelerden kaynaklandığının anlaşılması sebebiyle propolise ilgi günümüzde yeniden artmaktadır (Adışen ve ark., 2007; Banskota ve ark., 2001; Deniz, 2010; Ghisalberti, 1979).

### **1.2.1. Fiziksel Özellikleri**

Orijinine ve yaşına bağlı olarak, propolisin rengi, sarı-yeşil arası renkten koyu kahverengine kadar değişebilir (Ghisalberti, 1979). Propolis, lipofilik karakter gösteren, soğuk ortamda sert kırılğan yapıda, sıcak ortamda ise koyu kıvamlı ve yapışkan yapıda bir karışımdır (Hausen, 1987).

### 1.2.2. Kimyasal Özellikleri

Propolisin bileşimi; % 50 reçine, % 30 bal mumu, % 10 aromatik yağlar, % 5 polen ve % 5 diğer maddelerden oluşurur (Burdock, 1998; Kaya, 2013). Propolisin içerdiği fenolik maddelerin her biri miktarı propolisin miktarının %1-4'ü arasında değişmektedir (Ghisalberti, 1979). Genel olarak propolisin içerdiği bileşikler tespit etmek ve miktarlarını ölçmek için gaz kromatografi kütle spektrometre (GC-MS) ve Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) başta olmak üzere birçok analitik cihaz/yöntem kullanılmaktadır (Gómez-Caravaca ve ark., 2006). Kimyasal analiz çalışmaları sonucunda propolisin yapısında flavonoid, fenolik bileşik ve terpen türevi 300'ün üzerinde biyoetkin bileşik tanımlanmıştır (Huang ve ark., 2014). Propolisin ana bileşeni flavonoidlerdir (Ghisalberti, 1979; Huang ve ark., 2014).

### 1.2.3. Biyolojik Özellikleri

Propolis farmakolojik etkileri sebebiyle antineoplastik, antibakteriyel, yara iyileştirici, antiinflamatuvar, antiviral, anestezik, antioksidan, antimikotik madde olarak tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Burdock, 1998; Kaya, 2013).

Propolisin sahip olduğu farmakolojik etkileri özellikle flavonoidlerin ve diğer fenolik bileşiklerin biyoaktif özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Ghisalberti, 1979; Huang ve ark., 2014; Oruç ve ark., 2014). Propolisin içerdiği fenolik yapıdaki bileşiklerden flavonoid yapısındaki galangin, pinocembrin ve pinostrobin; fenolik asit yapısındaki ferulik asit ve kafeik asit antibakteriyel etkiden sorumludur (Marcucci, 1995). Propolisin antiinflamatuvar etkisine fenolik maddelerin antioksidatif etkileri neden olmaktadır. Bu etki fenolik maddelerin yangı ürünü olan prostaglandin, tromboksan, interlökin, nitrik oksit üretimini azaltmasından ileri gelmektedir. Anti inflamatuvar etkiden özellikle kafeik asit fenil ester isimli fenolik asit türevi sorumludur (Kurek-Górecka ve ark., 2014). Propolisin içerdiği flavonoidler yanında özellikle kafeik asit fenil esterinin (CAPE) kanserojen hücreler üzerindeki sitotoksik

etkisinden dolayı antikarsinojenik etkisi de bulunmaktadır (Burdock 1998; Marcucci, 1995). Propolis hasarlı dokudaki mitotik aktiviteyi, hücrelerarası matriksin oluşumunu, kollajen birikimini, epitelizasyonu uyarmak gibi etkileri sayesinde yara iyileşmesini uyarmaktadır (Kurek-Górecka ve ark., 2014; Oryan ve ark., 2018). Propolisin hepatoprotektif etkisinden ise başlıca dikafekunik asit türevlerinin sorumlu olduğu bilinmektedir (Banskota ve ark., 2001).

### **1.3. Yara ve Yara İyileşmesi**

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır (Lazarus ve ark., 1994). Yara iyileşmesi ise birçok hücre hattının, yapısal proteinlerin, büyüme faktörlerinin ve proteinazların karmaşık şekilde etkileşimde bulunmasıyla şekillenen ve doku hasarına karşı canlı tarafından verilen temel bir tepkidir (Stadelmann ve ark., 1998). Yara iyileşmesinin amacı, doku bütünlüğünün sağlanması ve yaralanma sebebiyle kaybedilen doku fonksiyonunun tekrar tesis edilmesidir (Howes ve ark., 1929).

Yara iyileşmesi sırasında; hasar gören dokuda koagulasyon, inflamasyon, hücreler arası doku proteinlerinin üretilmesi, anjiyogenesis, fibroplazi, reepitelizasyon, kontraksiyon gibi birçok olgu gerçekleşmektedir. Bu olgular, belirli bir sıra içerisinde ve birbiriyle etkileşim halinde gerçekleşmektedir. (Pillai ve Ark., 2010). Söz konusu olguların gerçekleşme aşamalarına göre yara iyileşmesi; inflamasyon, granulasyon dokusu oluşumu ve olgunlaşma (remodeling) olmak üzere iç içe geçmiş bulunan üç ana evreye ayrılır (Clark, 1985).

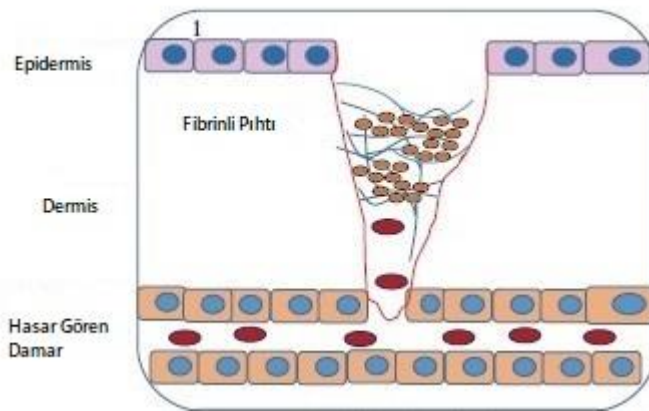
#### **1.3.1. İnflamasyon Evresi**

İnflamasyon evresinin amacı, yara alanında bulunan ölü dokuları eritmek, mikroorganizmaların, inflamasyon atıklarının ve yabancı cisimlerin hasarlı bölgeden uzaklaştırılmasını sağlamak ve hasarlı bölge ile sağlam doku arasında bariyer

oluşturmak olarak açıklanabilir (Erer ve ark., 2007). İnflamasyon evresi hemostazis ve inflamasyon olmak üzere iki aşamadan oluşur (Clark, 1985).

#### 1.3.1.1. Hemostazis

Kan hücreleri, yaralanma sonucu hasar gören damarlardan çıkar ve yara boşluğunu doldurmaya başlar. Bu aşamada pıhtılaşmadan sorumlu kan hücreleri olan trombositler, damar endoteli altında bulunan kollajenle temasa geçer ve aktifleşir. Aktifleşen trombositlerden bir yandan birçok kimyasal mediatör, kemotaktik madde ve büyüme faktörleri salgılanırken, bir yandan da trombositler yara boşluğunda üst üste çökmeye başlar. Aktifleşen trombositlerden salınan tromboksan, damarlarda kasılmaya neden olur ve kasılma sonucu hemostazis şekillenir. Yara boşluğuna çöken trombositler kan plazmasında bulunan pıhtılaşma faktörlerini uyarır ve kan plazmasında bulunan fibrinojen proteini polimerleşerek trombositlerin arasında birikir ve fibrin ipliklerini oluşturur (Clark, 1985; Steed, 1997). Yara boşluğunda, trombositlerin ve fibrin ipliklerinin birikmesiyle oluşan pıhtı, kan kaybını ve mikroorganizma kontaminasyonunu önler (Erer ve ark., 2007). Hemostazis, yaralanmadan sonra birkaç dakika içinde görülür ve hasarlı dokunun yara kabuğu ile kaplanmasıyla sonuçlanır (Pillai ve ark., 2010). Şekil 1.1’de yaralanma sonucu kan pıhtılaşması ve yara kabuğu oluşumu gösterilmiştir.



**Şekil 1.1** Yaralanma sonucu şekillenen kan pıhtılaşması ve yara kabuğu şekillenmesi (Kryczka ve Boncela, 2015).

Yara oluşumuna karşı damarlar tarafından verilen ikinci tepki vazodilatasyon ve damar geçirgenliğinde artıştır. Damarların genişlemesinden ve geçirgenliğinin artmasından bir yangısal mediatör olan histamin özellikle sorumludur. Histamin, aktif trombositler ile kemotaktik etki sonucu yangı alanına gelen bazofil ve mast hücreleri tarafından salınır (Stadelmann ve ark., 1998).

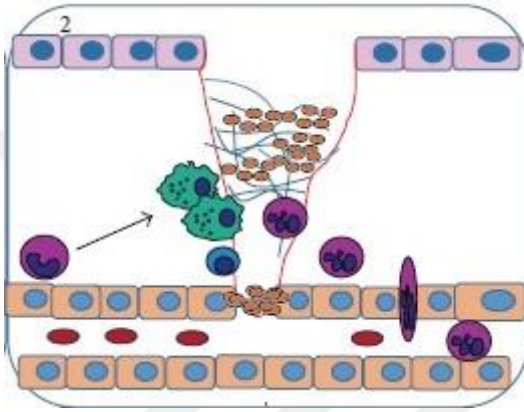
### **1.3.1.2. İnflamasyon**

Damar geçirgenliğinin artması ve kemotaktik mediatörlerin etkisiyle yangı alanına nötrofil, bazofil ve eozinofil granülositler, monositler, makrofaj hücreleri ve sonrasında lenfositler gelir. Yangı alanına gelen ilk hücreler nötrofillerdir (Stadelmann ve ark., 1998). Nötrofiller yaralanmadan itibaren birkaç saat içerisinde yangı bölgesine ulaşır. Nötrofiller yara bölgesindeki bakterileri ve hücre artıklarını fagosite eder, salgıladıkları proteazlarla hücreler arası matriks proteinlerini ve hasarlı hücreleri, nekrotik dokuları eritir (Erer ve ark., 2007). Nötrofiller tarafından fagosite ettikleri bakterilerin öldürülmesinde salgıladıkları oksijen radikalleri de önemlidir (Steed, 1997). Nötrofillerin ölmesiyle serbest kalan elastaz ve kollojenaz gibi proteolitik enzimler; nekrotik dokuları, fibrini ve diğer hücreler arası matriks proteinlerini eritir ve bunun sonucunda yangı bölgesinde irin şekillenir (Erer ve ark., 2007).

İnflamasyon evresinde açığa çıkan fosfolipitlerin etkisiyle etkinleşen fosfolipazlar başta siklooksijenaz ve lipoksijenazlar olmak üzere birçok enzimi aktive eder. Bu enzimler de önemli yangı mediatörlerinden olan prostaglandinlerin ve lökotrienlerin üretimini arttırır (Ramos ve Miranda, 2007).

Yara oluşumundan itibaren üçüncü günde yangı alanında nötrofiller azalırken makrofajlar yangı alanına göç eder. Makrofajlar yara iyileşmesini düzenleyen en önemli hücrelerdir. Makrofajların görevlerinden birisi yangı alanının debridisidir. Makrofajlar yangı alanının debridisini ölü dokuyu fagosite ederek ve salgıladıkları enzimlerle doku artıklarını eriterek gerçekleştirir. Makrofajların ikinci görevi ise salgıladıkları platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor

(TGF), interleukin (IL) ve tümör nekroz faktörü (TNF) ile yeni doku oluşumunu düzenlemektir (Steed, 1997). Makrofajlar tarafından salınan bu büyüme faktörlerinin etkisiyle fibroblastların yangı alanına göçü, proliferasyonu, kollajen sentezi ve yıkımı düzenlenir (Stadelmann ve ark., 1998). Makrofajlar, yara iyileşmesini düzenleyici etkisiyle inflamasyon evresinden granülasyon dokusu oluşum evresine geçişte merkezi rol oynar (Clark, 1985). Şekil 1.2’de yara alanına yangı hücrelerinin infiltrasyonu gösterilmiştir.



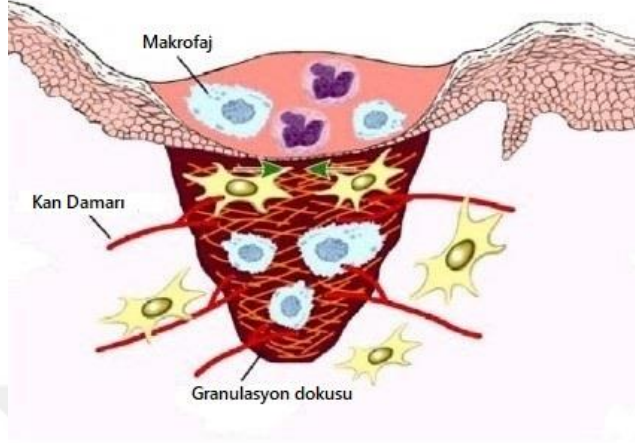
Şekil 1.2 Yara alanına nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu (Kryczka ve Boncela, 2015).

### 1.3.2. Proliferasyon Evresi

Yara oluşumundan yaklaşık üç gün sonra fibroblastlar yangı alanında görülür ve yaklaşık bir hafta içinde yangı alanında en çok bulunan hücre haline gelir. Fibroblastlar, yangı alanının etrafında bulunan bağ dokudan veya perivasküler dokudan köken alır. Fibroblastlar makrofajlardan salınan kemotaktik mediyatörler ve büyüme faktörlerinin etkisiyle yangı alanına göç eder (Stadelmann ve ark., 1998).

Bu evrede çevreden göç eden fibroblastlar ve damarlar bir yandan çoğalırken bir yandan da yara boşluğunu dolduran fibrinin içine doğru ilerler. Zamanla fibrinin yerini granülasyon dokusu alır (Erer ve ark., 2007). Yara boşluğunu dolduran yangı hücreleri, fibroblast, endotel hücreleri, miyofibroblast ve hücreler arası matrikste yer alan kollajen ve glikozaminoglikan (GAG) bileşikleriyle yeni şekillenen kapillar damarlarından oluşan bu yeni dokuya “granülasyon dokusu” denilmektedir.

(Stadelmann ve ark., 1998). Şekil 1.3'te granülasyon dokusu ve içerdği hücreler gösterilmiştir.

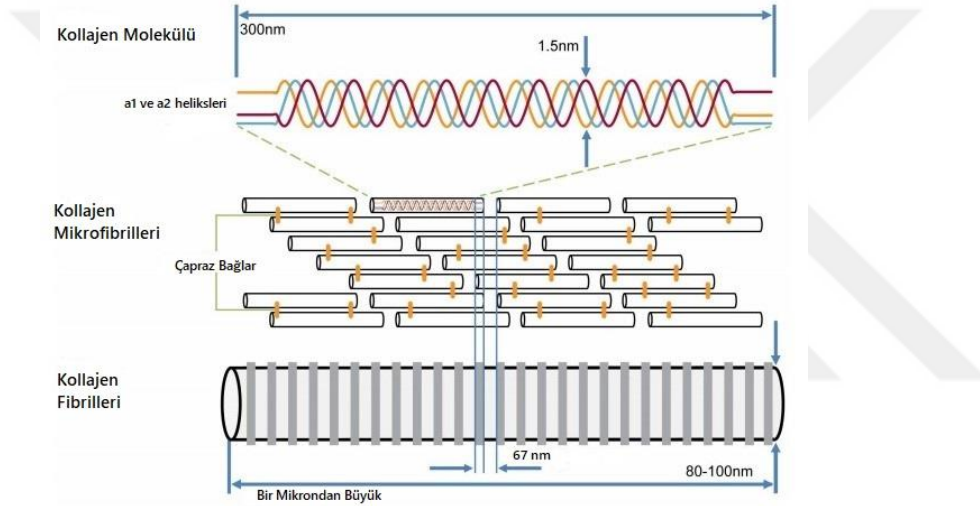


Şekil 1.3 Granülasyon dokusu (Greaves ve ark., 2013).

Fibroblastlar yara iyileşmesi için olmazsa olmaz olan kollajen proteinlerinin ve GAG mukoproteinlerinin üretilmesinden sorumludur. Fibroblastlar tarafından üretilen söz konusu GAG bileşikler; hyaluronik asit, kondritin-4-süfat, dermatan sülfat ve heparin sülfattan ibarettir. Bu GAG bileşikleri, kollajen iplikliklerinin hücreler arasında çökmesi ve birikmesi için uygun ortam sağlar (Stadelmann ve ark., 1998). Fibroblastlar tarafından üretilen bu hücreler arası matriks elemanları, geçici hücreler arası matriks olan fibrin ve fibronektin proteinlerinin yerini zamanla alır (Velmar ve ark., 2009).

Yaralanmadan sonraki yaklaşık ilk üç gün içinde, fibroblastların kollajen sentezlemesinden çok, fibroblast üremesi ve göçü gözlemlenir. Üçüncü günden sonra ise yara boşluğunu dolduran fibroblastlar ölçülebilir miktarlarda kollajen üretmeye ve hücre dışına salgılamaya başlarlar (Stadelmann ve ark., 1998). Makrofajlardan salınan büyüme faktörleri, kollajen üretimini uyarmaktadır. Bunun yanında, yara ortamında laktik asit birikimi ve ortamın hipoksik oluşu da fibroblastların kollajen üretimini uyarır (Hunt ve ark., 1978; Stadelmann ve ark., 1998; Steed, 1997). Kollajen, tropokollajen olarak isimlendirilen üç adet polipeptitten ibarettir ve kollajenin yapısında yoğun miktarda hidroksiprolin ve hidroksilizin bulunur. Kollajeni oluşturan

monomerler, fibroblastların stoplazmasında sentezlenir ve bu monomerler hücrelerarası matrikse salgılanır. Sonrasında bu monomerler birleşerek kollajen fibrillerini oluşturur (Stadelmann ve ark., 1998). Başlangıçta, hücreler arası boşlukta kollajen birikimi düzensiz şekilde gerçekleşir. Yara iyileşme süreci ilerledikçe kollajen iplikçikleri arasında kurulan çapraz bağlar sayesinde kollajen hücreler arası matrikste daha organize bir hal alır. Kollajen granulasyon dokusunun bütünlüğünü sağladığından ve sağlamlık verdiği için kollajen üretimi bütün yara iyileşme evreleri için kilit öneme sahiptir (Velnar ve ark., 2009). Şekil 1.4'te kollajenin yapısı gösterilmiştir.



**Şekil 1.4** Kollajenin yapısı (Canelon ve Wallace, 2016).

Yaranın şekillenmesinden sonraki ilk üç hafta içinde; yara alanında fibroblast üremesi, kollajen üretimi ve kollajen birikimi sürekli devam eder. Kollajen üretimi yara oluşumunu takip eden ilk hafta içinde maksimum seviyeye çıkar. Bu dönemde olgunlaşmamış kollajen lifleri histolojik yöntemlerle görülebilir. Üçüncü haftadan sonra ise kollajen üretimi ve yıkımlanması eşit şekilde gerçekleşir (Stadelmann ve ark., 1998). Nötrofiller, makrofajlar ve fibrositler tarafından üretilen proteazlar kollajenin yıkımlanmasından sorumludur. Proteazların kollajen eritici etkileri proteaz inhibitörler tarafından düzenlenir (Velnar ve ark., 2009).

Yara iyileşme sürecinde fibroblastlardan Tip I ve Tip III olmak üzere iki farklı kollajen üretilir. Tip III kollajen, granülasyon dokusu içinde fibroblastlara, endotel hücrelerine ve yeni hücrelerine hücre göçü için hareket imkanı sağlamak gibi önemli görevleri vardır. Yaklaşık 14. günden sonra Tip III kollajen granülasyon dokusu içinde yıkımlanmaya başlayarak yerini Tip I kollajene bırakır (Yun ve ark., 2002). Tip III kollajenin yıkımlanmasından nötrofiller, makrofajlar başta olmak üzere granülasyon dokusundaki hücrelerden salgılanan kollajenazlar sorumludur (Gunson, 1979; Yun ve ark., 2002).

Fibroblast üremesi ve kollajen üretimi için zorunlu olan metabolik ihtiyaçlar, yeni alanında yeni oluşan kapillar damarlar vasıtasıyla karşılanır. Eğer neoangiyojeniz bozulursa yara iyileşmesi sekteye uğrar (Stadelmann ve ark., 1998). Damar oluşumu yara iyileşmesi açısından oldukça önemlidir. İnflamasyon evresinde nötrofillerden, makrofajlardan ve trombositlerden salınan başta fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) olmak üzere birçok büyüme faktörü anjiyojenizi uyarır (Stadelmann ve ark., 1998; Velnar ve ark., 2009). Bu uyarılar sonucunda yara bölgesinde bulunan damarlardaki uyarılan endotel hücreleri metalloproteinaz salgılayarak damarın bazal tabakasında bulunan kollajeni eritir (Kalebic ve ark., 1983). Böylece uyarılmış endotel hücreleri hem bölünerek hem de kemotaksis etkisiyle hücreler arası matriksin içine ilerler. Daha sonra bu endotel hücreleri yeni damar oluşturmak üzere tüpçük şeklinde organize olur (Li ve ark., 2003). Yara oluşumundan birkaç gün sonra birçok yeni damar filizlenerek granülasyon dokusunda mikrovasküler damar şekillendirir (Velnar ve ark., 2009). Ayrıca, hasarlı dokular içerisinde oksijen seviyesinin düşmesi anjiyojeniz için diğer bir uyarıcıdır (Remensnyder ve Majno, 1968).

Yara alanının yeniden epitel dokuyla kapanması, yani reepitelizasyonu yara iyileşmesinin başarısını göstermektedir. Reepitelizasyon aşamasında, yara kenarlarından epitel hücrelerin yara hattına göç etmesi, epitel hücre çoğalması ve farklılaşması şekillenir (Stadelmann ve ark., 1998). Reepitelizasyon aşamasında, epitel hücreleri normalden daha fazla bölünerek ve yer değiştirerek yara yüzeyini örter. Yara yüzeyinin bu şekilde tek katlı epitel doku katmanıyla kaplanmasıyla epitel hücreleri

birbirine temas eder ve bölünme hızlarında azalma görülür. Epitel hücrelerin birbirine temas etmesiyle mitotik aktivitelerinde görülen bu azalmaya kontak inhibisyon denilir (Erer ve ark., 2007).

Yaralanmayı izleyen ilk hafta sonunda yaranın kontraksiyonu başlar. Yaranın kontraksiyonu miyofibroblast hücrelerinin etkinliğiyle gerçekleşir (Gabbani ve Ark., 1971). Fibroblastların miyofibroblastlara dönüşmesinde dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) etkin rol oynar (Desmouliere ve ark., 1993).

### **1.3.3. Olgunlaşma Evresi**

Olgunlaşma evresinde, granülasyon dokusunda bulunan hücre ve damar sayısında azalma görülür. Hücre ve damar bakımından fakir, kollajen yönünden zengin bu granülasyon dokusuna skar dokusu veya nedbe dokusu adı verilmektedir (Erer ve ark., 2007).

Yara oluşumundan yaklaşık üç hafta sonra olgunlaşma evresi başlar. Bu dönemde iyileşen dokuda kollajen üretimi ve parçalanması eşit oranda gerçekleşir. Dolayısıyla bu evrede skar dokusunda kollajen birikiminde miktar olarak bir artış görülmez (Stadelmann ve ark., 1998). Bu evrede, yara iyileşmesinin erken döneminde üretilen Tip III kollajen parçalanarak yerini Tip I kollajene bırakır. Tip I kollajen ise dokunun dayanaklılığından sorumludur (Yun ve ark., 2002). Skar dokusunda bulunan kollajen iplikleri, çapraz bağlarla birbirine daha organize şekilde bağlanır. Olgunlaşma evresi yaranın oluşumundan sonraki iki yıla kadar devam edebilir. Skar dokusunun hücreler arası matriksinde bulunan GAG miktarında normal derideki GAG konsantrasyonuna kadar azalma görülür. Bu dönemde nedbe dokusunun gerilim kuvvetine karşı direncinde artma görülür. Ancak bu direnç, sağlam derinin gösterdiği direncin %80'ine kadar ulaşabilir. Skar dokusu asla sağlam deri kadar sağlam değildir (Stadelmann ve ark., 1998).

#### **1.4. Yara Sağaltımının Amacı ve Yara Sağaltım Yöntemleri**

Yara oluşumu sonucunda; deri ve diğer organlarda doku kayıpları, infeksiyon, yara alanında nekroz ve dolaşım bozukluğu gibi birçok klinik semptomla karşılaşılabilir (Ferreira ve ark., 2006). Ayrıca, bazı yaralanma vakalarında hastanın yaşı, metabolik rahatsızlığı, yara ortamının nem ve oksijen durumu gibi birçok içsel ve çevresel etmenin olumsuz etkisi altında yara iyileşmesinin gecikmesi, hatalı yara iyileşmesi veya yaranın iyileşmemesi gibi olgular görülebilmektedir. Bu klinik durumlar hastanın hayat kalitesini olumsuz etkilediğinden, yara iyileşme süresinin kısaltılması ve kaliteli bir yara iyileşmesinin sağlanması oldukça önemlidir (Boateng ve ark., 2008).

Yara sağaltımında; oluşturulmak istenilen etkiye göre yara iyileşmesinin farklı evrelerine müdahale edilmektedir. Yaranın özelliğine uygun sağaltım yönteminin tercih edilmesi; hem yara iyileşme sürecine olumlu etki sağlar, hem de oluşabilecek komplikasyonları engeller (Velnar ve ark., 2009).

Günümüzde farklı disiplinlere konu olan yaranın sağaltımı için farklı yöntemler ve farmakolojik ajanlar geliştirilmiştir. Örneğin; yaranın mekanik debrimanı, flep ve greft uygulamaları, larval debriman, apiterapi, akapunktur, düşük seviyeli lazer, antibiyotikler, kanama durdurucu maddeler, büyüme faktörleri gibi farmakolojik ilaçlar ve yöntemler yara iyileşmesinin hızlandırılması ve yara iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Coşkun ve ark., 2016; Fox ve Ark., 2009; Güngörmüş ve ark., 1997; Hopkins ve ark., 2004; Park ve ark., 2012; Sevin, 2018; Seymen, 2013; Sherman, 2009; Uzer, 2007).

##### **1.4.1. Yara Tedavisinde Kullanılan Farmasötik Şekiller**

Yara iyileşmesinde kullanılan farmasötik şekiller fiziksel özelliklerine göre; katı, yarı katı ve sıvı ilaç şekilleri olmak üzere üçe ayrılır (Kaya ve Bilgili, 2002).

Farmakolojik etkin maddelerin, hastaya uygulamadan önce saflığının sağlanması, tartılması, mikropsuzlaştırılması, taşıt maddelerle karıştırılması ve dozunun ayarlanması gibi birçok ön işleminden geçirilerek canlının durumuna ve kullanma yoluna uygun farmasötik şekil haline getirilmesi gerekmektedir (Kaya ve Bilgili, 2002). Bazı farmasötik şekillerin kullanım amaçları, fiziksel özellikleri ve kullanım yollarına ilişkin açıklama Çizelge 1.1’de yapılmıştır.

**Çizelge 1.1** Bazı ilaç şekilleri (Kaya ve Bilgili, 2002).

| Katı ilaç şekilleri             | Uygulama yolu         | Özellikleri                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hap                             | Ağız                  | Toz veya yarıkatı etken maddelerin birarada tutulması amacıyla bal, gliserin, Arabistan zamkı gibi bağlayıcı özellikteki maddelerle karıştırılmasıyla elde edilen hamur kıvamlı ilaç şeklidir. |
| Bol                             | Ağız                  | Acı lezzetli, kusturucu ve irkiltici özellikteki ilaç etken maddelerinin ağız mukozasıyla uzun süre temas etmemesi için hazırlanan büyük haplardır.                                            |
| Tablet                          | Ağız                  | Toz şeklinde ilaç etken maddelerinin ve bağlayıcı maddelerin karıştırılması ve sıkıştırılmasıyla elde edilen ilaç şeklidir.                                                                    |
| Draje                           | Ağız                  | Şeker, kakao gibi tatlandırıcı maddelerle kaplanmış tabletlere verilen isimdir.                                                                                                                |
| Kapsül                          | Ağız, rektal, vajinal | katı veya sıvı haldeki ilaç etken maddelerinin jelatinler kaplanarak silindirik şekle getirilmesiyle elde edilir.                                                                              |
| <b>Yarı Katı İlaç Şekilleri</b> |                       |                                                                                                                                                                                                |
| Macun                           | Ağız                  | Katı ve sıvı etken maddelerin birarada tutulması amacıyla bal, gliserin, Arabistan zamkı gibi bağlayıcı özellikteki maddelerle karıştırılmasıyla elde edilen hamur kıvamlı ilaç şeklidir.      |
| Merhem                          | Haricen               | Genellikle deri, göz ve vajina hastalıklarında kullanılan, ilaç etken maddelerinin vazelin, gliserin, bal mumu veya reçine gibi taşıt maddelerle karıştırılmasıyla üretilen ilaç şeklidir.     |
| Krem                            | Haricen               | Merheme göre daha hafif kıvamlı, genellikle bakteri/mantar üremesini engelleyici, dayanıklılık artırıcı, serinletici, örtücü gibi amaçlarla kullanılan bir ilaç şeklidir.                      |
| <b>Sıvı İlaç Şekilleri</b>      |                       |                                                                                                                                                                                                |
| Özüt (ekstrakt)                 | Ağız, Haricen         | Ham ilacın içerdiği etken maddelerin su, alkol, eter gibi çözücü maddelerde çözündürülmesi ve çözücü maddelerin istenilen hacme kadar uçurulmasıyla elde edilir.                               |
| Dekoksiyon                      | Ağız                  | Bitki kısımlarına soğuk su eklenmesi ve bu karışımın kaynar su banyosu içerisinde yaklaşık 30 dk tutulmasıyla elde edilir.                                                                     |
| Tentür                          | Haricen               | Bitkisel, hayvansal veya madensel kökenli etken maddelerin alkol, alkollü su, alkollü eter gibi çözücülerde çözündürülmesiyle elde edilen genellikle renkli olan ilaç şeklidir.                |

İlaç etken maddesinin uygun farmasötik şekil içinde, etkili dozda ve ihtiyaca uygun uygulama yoluyla kullanılması ilacın tedavi edici etkisini doğrudan etkilemektedir (Fox ve ark., 2009).

#### 1.4.2. Yara İyileşmesinde Kullanılan Topikal Farmasötik Şekiller

Topikal olarak uygulanan farmasötik şekiller yara bölgesinde gerekli nemli ortamın sağlanması, ölü dokuların uzaklaştırılması, antimikrobiyel etki sağlanması gibi çeşitli amaçlarla kullanımı tercih edilmektedir (Boateng ve ark., 2008).

Topikal olarak yaraya uygulanan sıvı ilaç şekilleri özellikle antiseptik, debris, antibakteriyel etki sağlamak için tercih edilmektedir. Sıvı ilaç şekillerinin en önemli olumsuz özelliği, yara yüzeyine etkin şekilde tutunamamasıdır. Yarı katı ilaç şekilleri sıvı ilaç şekillerine göre yara yüzeyinde daha uzun süreyle kalırlar. Yarı katı ilaç şekilleri özellikle, antibiyotik, vitamin ve mineral madde taşıt maddeleri olarak tercih edilmektedir (Boateng ve ark., 2008; Sarker, 2013).

Yarı katı farmasötik şekil olan krem, hidrofilik ve lipofilik yapıdaki maddelerin yüzey aktif maddelerle iç içe geçirilmesi ve homojen haline getirilmesiyle elde edilir (Smith ve ark., 2000). Kremler; deri yüzeyinde tutunabilme, deriden su kaybını engelleme, bariyer oluşturma, ilaç etken maddeleri için uygun taşıt madde olma özellikleri sebebiyle topikal kullanımı oldukça yaygındır (Sarker, 2013).

Bu çalışmada, propolislerden elde edilen ekstrakt ve krem farmasötik şekillerinin yara iyileşmesi sırasında şekillenen birçok olguya etki ederek yara iyileşmesini uyarabileceği hipotez olarak belirlendi. Bu sebeple bu tez çalışmasında; Ankara İl'inden toplanan propolislerden elde edilen ekstrakt ve krem farmasötik şekillerinin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan eksizyon yara modelinde yara iyileştirici etkisinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaç doğrultusunda; Ankara'nın Kızılcahamam, Kalecik, Mamak, Beypazarı ilçelerinden sabit aralıklardan toplanan farklı propolis örneklerinin kimyasal içerik analizi gerçekleştirildikten sonra biyoetkin bileşikler yönünden zengin olan propolis örneğinden ekstrakt ve krem farmasötik şekilleri hazırlandı. Bu ilaç şekillerinin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan yaralara uygulanması sonucu yara iyileşmesi üzerindeki etkinlikleri değerlendirildi.

## **2. GEREÇ ve YÖNTEM**

### **2.1. Gereç**

#### **2.1.1. Kimyasal Malzemeler**

Dietil eter (Merck®), Formaldehit (Merck®), Etil alkol (Merck®), Hidroksiprolin kiti (Sigma-Aldrich®), HCl (Merck®), Hemotoksilen-eosin (HE) ve Masson'un trikrom boyaları, bis-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) kullanıldı.

#### **2.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri**

Spektrofotometre (Shimadzu-Japonya), Mikrotom (Leica), Mikroskop (Leica DM2500), Ototeknikom (Leica TP1020), Lam, Lamel (Abcam), Polylysine (Abcam), GC-MS cihazı (Shimadzu QP2010-Ultra Model), 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm 5MS kolon (Teknokroma), - 80 °C Buzdolabı (Panasonic MDF-U5386S Model -86 OC Dik Tip Derin Dondurucu), - 20 °C Buzdolabı (Panasonic MPR-414F-PE Model), +4 °C dolap (ArçeliK 4252 EY), Terazı (Sartorius basic hassas terazı), Saf su sistemi (Millipore Rios-UV, Millipore simplicity UV), Santrifüj (Universal 320 R), Etüv (HERAEUS) Vorteks (Velp Scientifica, 2X3), Alan hesaplama bilgisayar programı (Adobe Photoshop CC 2019), Otomatik pipetler (Ependorf 100-1000 µl, 10-100 µl, 1-10 µl), pens, bistüri, makas, biopsy punch, steril idrar kapları, krio tüpler, desikatör, mikrotom bıçağı, pamuk ve falkon tüp (15 ml) kullanıldı.

#### **2.1.3. Hayvan Materyali**

Bu çalışmada, 6-8 haftalık yaşta 56 adet erkek 250-350 g ağırlığında Wistar Albino sıçan (rat) kullanıldı. Deney hayvanları, T.C. Gazi Üniversitesi Laboratuvar

Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinden (GUDAM) temin edildi. Deneysel çalışmalar T.C. Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneysel, Araştırma ve Uygulama Ünitesinde yürütüldü. Deneyde kullanılacak ratlar deney merkezine getirildikten sonra ortama uyum sağlamaları amacıyla iki hafta süreyle hiçbir uygulama yapılmadan tekli kafeslerde bakıldı. Deney süresi boyunca ratlar 12 saat ışık/karanlık döngüsü, uygun ısı ve nem altında barındırıldı. Ratların beslenme ve su ihtiyacı ad-libitum olarak sağlandı.

#### 2.1.4. Propolis Örneklerinin Toplanması ve Analizi

Çalışma kapsamında, Kızılcahamam ilçesinden bir adet, Kalecik ilçesinden iki adet propolis örneği 2017 yılı Nisan ayının ilk haftası; Mamak ve Beypazarı ilçelerinden birer adet propolis örneği 2017 yılı Haziran ayının üçüncü haftası olmak üzere toplam 5 adet propolis örneği sabit arıcılık faaliyeti gösteren üreticilerin kovanlarından alındı. Örnekler analiz yapılmaya kadar -20 °C’de muhafaza edildi.



Şekil 2.1 Propolis örneklerinin toplandığı Ankara İl’inin ilçeleri (yıldız).

### **2.1.5. Propolis Örneklerinin GC-MS ile İçerik Analizleri**

Propolis ekstraktlarının içerik analizi, T.C. Namık Kemal Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarında (NALBİTEM) gerçekleştirildi.

#### **2.1.5.1. Analitlerin Hazırlanması ve Analiz**

5 g propolis örneği üzerine 100 ml %70'lik etanol ilave edildi ve ultrasonik banyoda 2 kez 30'ar dk süreyle tutuldu. Filtre kağıdından süzüldü ve süzüntü azot altında kuruyana kadar bekletildi. Üzerine 50 µl piridin + 1% trimethylchlorosilane (TMCS) içeren 100 µl bis-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) ilave edildi ve 100 °C'de 30 dk bekletildi. Ardından 1 µl örnek cihaza enjekte edildi.

Propolis ekstraktlarının analizinde Shimadzu QP2010-Ultra Model GC-MS cihazı ve Teknokroma 5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) kolon kullanıldı. Analizde taşıyıcı gaz olarak helyum 1.4 ml/dk akış hızında kullanıldı. Bu analizde, 40 °C'de 0.5 dk beklendi, 22 °C artışlarla 220 °C'ye, sonrasında 35 °C artışlarla 325 °C'ye çıkıldı ve 3 dk beklendi. Toplam metod süresi 14,54 dakikadır. Analiz sonucu, bileşik tanımlanmasında WILEY7, NIST27, NIST147, NIST107 veri tabanları kullanıldı.

Yapılan analiz sonucu fenolik madde miktarı en yüksek olan propolis ekstraktı, deneyde kullanılacak propolisli krem üretiminde tercih edildi.

### **2.1.6. Propolis Örneklerinin Ekstraksiyonu**

Propolis örneklerinin ekstraksiyonunda Isla ve ark., (2001) tarafından uygulanan yöntem laboratuvar şartlarına göre uyarlanarak kullanılmıştır. Propolis örnekleri küçük parçalara ayrıldı ve ardından bir miktar etanol içerisinde maserasyonla homojen hale getirildi. Daha sonra etanol propolis karışımlarına, hacimlerinin 4 katı kadar %80'lik etanol eklendi ve 7 gün boyunca karanıkta bekletildi. Sonrasında,

propolis örnekleri 4 numara Wattman filtre kağıt kullanılarak filtre edildi. Ham propolisten elde edilen ekstrakt Şekil 2.1’de gösterildi.



**Şekil 2.2** Propolis örneklerinden elde edilen etanolik propolis ekstraktı.

Elde edilen propolis ekstraktından 2 ml alınarak basınçlı vakum altında kurutuldu ve kuru propolis ekstraktı tartıldı.

#### **2.1.7. Deney Aşamasında Kullanılacak Ekstraktın Hazırlanması**

Propolis ekstraktı kütlece (g/g) %25’lik çözelti oluncaya kadar eldeki propolis çözeltisinden etanol uçuruldu.

#### **2.1.8. Krem Formülasyonunun Hazırlanması**

Elde edilen propolis ekstraktından propolisli krem farmasötik şekli Nehar Cemicals firmasında hazırlandı. Üretilen krem kütlece % 25 oranında kuru propolis ekstraktı ile birlikte içerisinde gliserin, metil paraben, sodyum benzoat, sıvı parafin, setil setearil alkol bulunacak şekilde formüle edildi.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, T.C. Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31/03/2016 tarihli ve 16/03 sayılı toplantısında alınan 16/41 sayılı kararıyla verilen onay çerçevesinde gerçekleştirildi.

### 2.2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü

Anestezik madde olarak dietil eter kullanıldı. Denekler anesteziye alındıktan sonra yara oluşturulacak hedef bölge tıraş edildi ve povidon iyot ile bölgenin antisepsisi sağlandı. Ardından, punch biyopsi aleti kullanılarak sıçanların dorso-toraksik bölgesinde median çizgiden birer cm uzaklıkta bilateral 10 mm çaplı daire şeklinde birer adet tam kat eksizyon yarası oluşturuldu (Şekil 2.2). Deneysel yara oluşturulan 56 adet sıçan, eşit sayıda denek içeren 4 gruba rastlantısal olarak ayrıldı. Söz konusu deney grupları ve bu gruplara uygulanan maddeler Çizelge 2.1'de gösterildi.

**Çizelge 2.1** Deney grupları ve yapılan uygulamalar.

| Gruplar                              | Uygulama                                                             |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| A grubu (kontrol), (n=14)            | Yara oluşturulduktan sonra herhangi bir uygulama yapılmadı.          |
| B grubu (kontrol), (n=14)            | Oluşturulan yaralara sadece krem taşıt maddesi (baz krem) uygulandı. |
| C grubu (propolis ekstraktı), (n=14) | Oluşturulan yaralara %25'lik propolis ekstraktı uygulandı.           |
| D grubu (Propolisli Krem), (n=14)    | Oluşturulan yaralara %25'lik propolisli krem uygulandı.              |



**Şekil 2.3** DeneySEL yaralarının oluşturulması.

Deneklerin her biri, deney süresince tekli kafeslerde barındırıldı. Krem ve ekstrakt farmasötik şekilleri deney süresi boyunca günde bir defa yaklaşık 0,1 ml miktarında yara yüzeyini kapatacak şekilde uygulandı.

Yürütülen deney çalışması kapsamında bütün deneklere, birden 14'e kadar grup içi numara verildi. Ardından grup içinde ilk yedi numaralı sıçanlar birinci alt grup, sekizden 14'e kadar numaralı sıçanlar ikinci alt grup oluşturacak şekilde her grup kendi içinde ikişer adet alt gruba (n:7) ayrıldı. Deneyin başlatıldığı gün sıfırcı gün kabul edildi. Deneyin yedinci günü birinci alt gruplarda yer alan denekler eter anestezisiyle sonlandırıldı. Ardından, biri histopatolojik incelemeler, diğeri ise biyokimyasal analizler için olmak üzere sonlandırılan sıçanlardan oluşturulan ikişer adet yara alanlarını içeren deri örnekleri toplandı. İkinci alt gruplardaki denekler deneyin 14. günü sonlandırılarak birinci alt grup için anlatılan şekilde yine deri örnekleri toplandı. Alt gruplar bazında deney süreci Çizelge 2.2'de gösterildi.

**Çizelge 2.2** Deney alt grupları ve genel deney süreci.

| Gruplar | Alt gruplar | Denekler                        | Yara oluşturma | Sonlandırma | Yara örneklerinin toplanması |
|---------|-------------|---------------------------------|----------------|-------------|------------------------------|
| A       | A1 (n=7)    | A <sub>1</sub> -A <sub>7</sub>  | 0. gün         | 7. gün      | 7. gün                       |
|         | A2 (n=7)    | A <sub>8</sub> -A <sub>14</sub> | 0. gün         | 14. gün     | 14. gün                      |
| B       | B1 (n=7)    | B <sub>1</sub> -B <sub>7</sub>  | 0. gün         | 7. gün      | 7. gün                       |
|         | B2 (n=7)    | B <sub>8</sub> -B <sub>14</sub> | 0. gün         | 14. gün     | 14. gün                      |
| C       | C1 (n=7)    | C <sub>1</sub> -C <sub>7</sub>  | 0. gün         | 7. gün      | 7. gün                       |
|         | C2 (n=7)    | C <sub>8</sub> -C <sub>14</sub> | 0. gün         | 14. gün     | 14. gün                      |
| D       | D1 (n=7)    | D <sub>1</sub> -D <sub>7</sub>  | 0. gün         | 7. gün      | 7. gün                       |
|         | D2 (n=7)    | D <sub>8</sub> -D <sub>14</sub> | 0. gün         | 14. gün     | 14. gün                      |

Histopatolojik inceleme için alınan deri örneklerinin % 10'luk tamponlu formaldehit ile fikzasyonu sağlandı. Biyokimyasal analizler için alınan deri örnekleri ise analizleri yapılmıncaya kadar -80 °C'de saklandı.

### 2.2.3. Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik incelemeler T.C. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Histopatolojik incelemeler için deneklerden toplanan deri örnekleri % 10'luk tamponlu formalinde tespit edildi ve rutin doku takibine alındı. Dokular parafinde bloklanarak, 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson'un trikrom boyaları (Luna, 1968) ile boyandı. Her grup için epidermis ve dermis histopatolojik olarak ışık mikroskobu (Leica, DM 4000B) ile değerlendirildi. Değerlendirmede Modifiye Greenhalgh'ın Yara İyileşmesi Skorum Sistemi kullanıldı (Abramov ve ark., 2007). Çizelge 2.3'te Modifiye Greenhalgh'ın Yara İyileşmesi Skorum Sisteminde yer alan histolojik özellikler ve bunların şiddetine karşılık gelen skor değerleri gösterildi.

**Çizelge 2.3** Modifiye Greenhalgh'ın Yara İyileşmesi Skorum Sistemi (Abramov ve ark., 2007).

| SKOR                                     |               |                             |                                       |                             |
|------------------------------------------|---------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| Değişken                                 | 0             | 1                           | 2                                     | 3                           |
| Akut yangı                               | Yok           | Yetersiz                    | Orta                                  | Şiddetli                    |
| Kronik yangı                             | Yok           | Yetersiz                    | Orta                                  | Şiddetli                    |
| Granülasyon doku miktarı                 | Yok           | Yetersiz                    | Orta                                  | Şiddetli                    |
| Granülasyon doku Fibroblast olgunlaşması | Olgunlaşmamış | Hafif                       | Orta                                  | Tam Olgunlaşmış             |
| Kollajen miktarı                         | Yok           | Yetersiz                    | Orta                                  | Şiddetli                    |
| Reepitelizasyon                          | Yok           | Yetersiz                    | Tamamlanmış (Olgunlaşmamış veya İnce) | Tamamlanmış (Tam Olgun)     |
| Neovaskülarizasyon                       | Yok           | Her HPF*de 5 Damardan Fazla | Her HPFde 6-10 Damar                  | Her HPFde 10 Damardan Fazla |

HPF\*: High Power Field.

#### 2.2.4. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal incelemeler T.C. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Yara yatağında şekillenen kollajen birikimi yara iyileşmesi sürecinin değerlendirilmesinde önemli bir kriter olduğundan, bu çalışmada deneklerden toplanan doku örneklerinin ihtiva ettiği kollajen miktarının tespit edilebilmesi için hidroksiprolin testi uygulandı. Bu test için hidroksiprolin tanı kiti (Sigma-Aldrich®) kullanıldı.

##### 2.2.4.1. Örneklerin Hazırlanması

Doku örnekleri +4 °C’de çözdürüldü ve ardından her bir örnekten 0,1 g tartıldı ve kriyotüplere alındı. Ardından, dokuların parçalanması için bu kriyotüplere 100 µl 12 M hidroklorik asit (HCl) ilave edildi ve 120 °C’de 3 saat boyunca doku örnekleri HCl ile muamele edildi. Takiben her bir örnekten 20 µl alındı ve 96 kuyucuklu plateye aktarıldı. Ayrıca, standart kontrol amacıyla boş kuyucuklara sırayla 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 ve 1,0 µl/ kuyucuk olacak şekilde 0,1 mg/ml yoğunluğundaki hidroksiprolin standard çözeltisi eklendi.

Standart kontrol için ayrılan ve deri örneklerini içeren kuyucuklarda oluşacak reaksiyon için kloramin T/oksidasyon tamponu çözeltisinden her kuyucuk için 100 µl eklendi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Ardından 50 µl 4-(dimetilamino) benaldehit (DMAB) reaktifi ve 50 µl perklorik asit/izopropanol çözeltisi karıştırıldıktan sonra deneyde kullanılan her kuyucuk için 100 µl elde edilen çözeltiden eklendi. Daha sonra 60 °C’de 90 dakika inkübasyon işlemi gerçekleştirildi. İnkübasyon işleminden sonra kuyucuklarda şekillenen reaksiyonun indikatörü olan renk değişiminin, A<sub>560</sub> dalga boyunda spektrofotometrik ölçümü yapıldı. Bu ölçüm sonucu elde edilen veri ve Hidroksiprolin Assay Kit (Sigma-Aldrich®, katalog numarası: MAK008) kullanım talimatında belirtilen formül kullanılarak her bir kuyucuktaki hidroksiprolin konsantrasyonu hesaplandı.

### **2.2.5. Yara Alan Ölçümleri**

Yaraların iyileşme sürecine etki eden yara kontraksiyonu olgusunun bu çalışmanın grupları arasında ve grup içi günler arasında karşılaştırılabilmesi için deneyin 7. günü sonlandırılan deneklerin 2.; 4.; 6. ve 7. günlerde; 14 gün sonlandırılan deneklerin ise 2.; 4.; 6.; 8.; 10.; 12. ve 14. günlerde yara dudakları, milimetrik asetat kağıdına asetat kalemle çizildi. Ardından yara kapanma hızının takip edildiği bu milimetrik asetat kağıtlarının görüntüsü taratılarak dijital veri olarak bilgisayar ortamına aktararak saklandı.

#### **2.2.5.1. Yara Alanlarının Hesaplaması**

Adobe Photoshop CC 2019 isimli program kullanılarak bilgisayar ortamına aktarılan milimetrik asetat kağıdı görüntülerindeki yara alanları mm<sup>2</sup> cinsinden hesaplandı.

### **2.2.6. İstatistiki Hesaplamalar**

Biyokimyasal veriler (hidroksipirolin miktarı), histopatolojik inceleme ve yara alan değişim bulgularının tamamı aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde gösterildi. İstatistiksel yönden yapılan tüm karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi olarak p<0,05 olarak ele alındı. İstatistik hesaplamalarında IBM SPSS Statistics 20 bilgisayar programı kullanıldı.

#### **2.2.6.1. Histopatolojik Skorlara Uygulanan İstatistik Yöntemleri**

Bu çalışmada yer alan 4 adet deney grubundaki toplam 56 adet sıçandan histopatolojik incelemeler için toplanan 56 adet deri örneği, Modifiye Greenhalgh Yara İyileşmesi Skor Sistemine göre 7 farklı yara iyileşmesi kriteri yönünden

skorlandı. Histopatolojik skorların istatistiksel olarak incelenebilmesi amacıyla “yok”, “hafif”, “orta” veya “şiddetli” şeklindeki skor değerleri, şiddetine göre 0-3 arası sayısal değere çevrildi.

Histopatolojik skorların istatistiksel olarak incelenmesiyle; histopatolojik yönden araştırılan yedi farklı yara iyileşme kriterine göre deney grupları arasında veya grup içerisinde günler arasında farklılık bulunup bulunmadığını, bulunuyor ise bu farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını araştırmak amaçlandı.

Bu kapsamda; 7. gün sonlandırılan (A1, B1, C1, D1) ve 14. gün sonlandırılan (A2, B2, C2, D2) alt gruplarda toplam denek sayıları 30’dan küçük olduğundan (n=28), istatistik incelemeleri için parametrik olmayan istatistik testleri tercih edildi. Bu amaçla, 7. günde sonlandırılan alt gruplara ait histopatolojik skor değerlerinin gruplar arası anlamlı farklılığın araştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı. Alt gruplar arasında anlamlı farklılık bulunması halinde bu farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının araştırılmasında ise Mann Withney U test kullanıldı. Deneyin 14. günde sonlandırılan alt gruplara ait skor değerleri için de aynı istatistik testleri uygulandı.

Son olarak, her bir yara iyileşmesi kriteri için skor değerleri, aynı deney grubunda bulunan iki alt grup (7. gün sonlandırılan n=7, 14. gün sonlandırılan n=7) arasında karşılaştırıldı. Her bir skor değeri için karşılaştırılan alt grup sayısı 2 adet olduğundan Mann Withney U testi kullanıldı.

#### **2.2.6.2. Hidroksiprolin Miktarlarının Karşılaştırılması**

Deneyssel oluşturulan yaralarda kollajen birikiminin değerlendirilmesi amacıyla; bu çalışmada yer alan 4 adet deney grubundan 7. ve 14. günde toplanan toplam 56 adet deri örneği ve deneyin 0. günü sıçanlardan elde edilen sağlam deri örneklerinin içerdiği hidroksiprolin miktarları incelendi.

Parametrik olmayan istatistiksel testler sayısal verilerin incelenmesinde de kullanılabildiğinden ve 14. gün hidroksipirolin miktarları normal dağılım göstermediğinden, 0. gün, 7. gün ve 14. gün hidroksipirolin miktarlarının istatistiksel olarak karşılaştırılmasında, gruplar arası anlamlı farklılığın araştırılmasında Kruskal Wallis testi, anlamlı farklılık bulunması halinde bu farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının araştırılmasında ise Mann Withney U testi kullanıldı (Karagöz, 2010). Son olarak, aynı deney grubunda bulunan iki alt grup (7. gün sonlandırılan n=7, 14. gün sonlandırılan n=7) arasında karşılaştırmalar için de Mann Withney U testi uygulandı.

#### **2.2.6.3. Yara Alanı Ölçümlerinin İstatistiksel incelenmesi**

Bu çalışmada, deneyin 0. günü 56 adet sıçanda oluşturulan ikişer adet 10 mm çapındaki yaraların kenarları ilgili deney günlerinde asetat kağıdına çizilerek yara alanları takip edildi.

Aynı sıçanda bulunan sağ ve sol yaraların alanlarının aynı gün ölçümleri arasında farklılık bulunabileceğinden, yara alanları takip edilen 56 adet sıçanın sağ taraf yaraları (n:56) kendi içinde, sol taraf yaraları (n:56) da kendi içinde istatistiksel olarak incelendi. Bu amaçla; 2., 4., ve 6. günlerde gözlem sayısı 30'dan büyük olmakla birlikte (n:56) parametrik olmayan testler normal ve homojen dağılım görülen gözlemlere de uygulanabilmesi sebebiyle; 7., 8, 10., 12. ve 14. günlerde ise gözlem sayısı 30'dan küçük olduğundan (n: 28) ilgili günler bazında gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis kullanıldı (Karagöz, 2010). Gruplar arası anlamlı farklılık bulunması halinde bu farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının araştırılmasında ise Mann Withney U testi kullanıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. GC-MS Sonuçları

GC-MS analiz sonuçları, bileşik tanımlama kütüphanelerinden yararlanılarak tanımlanan maddelerden fenolik madde yapısında olanlar ve kuru propolis ekstraktları içerisindeki kütlece yüzde (%) oranları Çizelge 3.1’de gösterildi.

**Çizelge 3.1** Ankara ilinden toplanan propolis örneklerinin içerik analizi.

| Bileşikler                                                                     | A    | B    | C    | D    | E    |
|--------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|
| Resorcinol, O-Bis(trimethylsilyl)                                              | 0,21 | 0,03 |      | 0,37 |      |
| Acetophenone, 3'-(trimethylsiloxy)-                                            | 0,13 |      |      |      |      |
| Cinnamic acid, 3,4-dimethoxy-, trimethylsilyl ester                            | 0,61 | 3,61 | 2,76 |      |      |
| Cinnamic acid, p-methoxy-, trimethylsilyl ester                                |      | 0,42 |      |      | 0,15 |
| Caffeic acid-tms-ether                                                         | 0,16 |      | 2,26 | 1,08 | 2,59 |
| 2',4',6'-tris(trimethylsilyloxy)chalcone                                       | 0,71 | 1,54 | 1,55 | 1,35 | 1,2  |
| Benzoic acid, 2-[(trimethylsilyl)amino]-3-[(trimethylsilyl)oxy]-, methyl ester | 1,1  | 2,12 | 1,64 | 1,04 | 1,99 |
| Benzenecetic acid, 3-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester              |      |      | 0,61 |      |      |
| Benzoic acid, 2,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester              |      |      |      | 0,55 |      |
| 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid ethyl ester, tris(O-trimethylsilyl)-              | 0,98 | 1,3  |      |      |      |
| 2-phenylethyl (trans)-4-(trimethylsilyl)-3-acetyloxycaffeate                   | 0,91 | 0,18 |      |      |      |
| trimethylsilyl (trans)-4-(trimethylsilyl)-3-acetyloxycaffeate                  | 0,2  |      |      |      | 4,43 |
| 3-methyl 2-butenyl (trans)-4-(trimethylsilyl)-3-acetyloxycaffeate              |      |      |      | 0,31 |      |
| Benzenepropanoic acid, trimethylsilyl ester                                    |      | 0,49 |      |      |      |
| 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, trimethylsilyl ester                              |      | 1,87 |      | 0,55 |      |
| Silane, [1,2,3-benzenetriyltris(oxy)]tris(trimethyl-                           |      | 0,66 |      |      |      |
| Trimethylsilyl 3-methoxy-4-(trimethylsilyloxy)cinnamate                        |      | 2,33 |      |      |      |
| Trimethylsilyl 3,4-bis(trimethylsilyloxy)cinnamate                             |      | 1,06 | 0,77 |      |      |
| 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid, tetrakis(trimethylsilyl)-                        |      | 1,64 | 1,61 | 1,31 | 2,34 |
| 1,3,8-Trihydroxy-6-methylanthraquinone tritms                                  |      | 1,09 |      | 0,73 |      |
| M-Coumaric Acid 2tms                                                           |      |      | 1,77 |      |      |
| Ferulic Acid-Tms Ether                                                         |      |      | 1,57 | 1,84 |      |
| 3-methyl-3-butenyl isoferulate-TMS-derivative                                  |      |      | 0,83 |      |      |

**Çizelge 3.1** Devam. Ankara ilinden toplanan propolis örneklerinin içerik analizi.

|                                                                                                   |      |       |       |       |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-------|-------|-------|------|
| P-Coumaric Acid-Tms Ether                                                                         |      |       | 7,87  | 3,21  |      |
| 1-Hydroxy-3-methoxy-6-methylanthraquinone, TMS                                                    |      |       | 1,15  |       |      |
| 3,5,7-tris(trimethylsilyloxy)flavone                                                              |      |       | 2,1   |       | 2,33 |
| 3-Phenylpropionic Acid, Tms Ester                                                                 |      |       |       | 0,77  | 0,08 |
| Cinnamic acid, m-(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester                                         |      |       |       | 2,29  |      |
| Cinnamic acid, 3,4-bis(trimethylsiloxy)-, methyl ester                                            |      |       |       | 0,38  |      |
| 3,4-Dimethoxycinnamic Acid                                                                        |      |       |       | 3,91  | 0,77 |
| 3-methyl-3-butenyl isoferulate-TMS-derivative                                                     |      |       |       | 0,52  |      |
| 2',6'-bis(trimethylsilyloxy)-4'-methoxydihydrochalcone                                            |      |       |       | 1,25  |      |
| Benzoic acid trimethylsilyl ester                                                                 |      |       |       |       | 0,28 |
| Trimethylsilyl 3-methoxy-4-(trimethylsilyloxy)cinnamate                                           |      |       |       |       | 3,03 |
| 3-methyl-3-butenyl isoferulate-TMS-derivative                                                     |      |       |       |       | 0,91 |
| 1,6-Dihydroxy-2-methylanthraquinone ditms                                                         |      |       |       |       | 0,61 |
| 1,8-Dihydroxy-3-methylanthraquinone diTMS                                                         |      |       |       |       | 0,6  |
| Silane, [[2-[3,4-Bis[(Trimethylsilyl)Oxy]Phenyl]-3,4-Dihydro-2h-1-Benzopyran-3,5,7-Triyl]Tris(Oxy |      |       |       |       | 0,29 |
| <b>Toplam</b>                                                                                     | 5,01 | 18,34 | 26,49 | 21,46 | 21,6 |

Propolis örneklerinden Kızılcahamam propolisi “A”, Kalecik propolislerden ilki “B”, Beypazarı propolisi “C”, Mamak Propolisi “D” ve Kalecik propolislerden ikincisi “E” olarak gösterildi.

Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere GC-MS analiz sonuçlarına göre; propolis örnekleri arasında en fazla fenolik yapıda madde içeriğine Beypazarı propolisi (C) (kuru propolis ekstraktının %26,49’u) sahip olduğundan, bu çalışmada kullanılan farmasötik şekiller Beypazarı propolisi ekstraktından üretildi.

## 3.2. Histopatolojik İnceleme Bulguları

### 3.2.1. Akut Yangı

Deneyin yedinci gününde A grubunda yer alan sıçanlardan elde edilen deri örneklerinin tümünde değişen şiddette akut yangısal değişikliklerle karşılaşıldı. Yine, yedinci gün elde edilen B grubu deri örneklerinde 2 olguda hafif şiddetli; C grubu deri örneklerinde 3 olguda hafif ve orta şiddetli ve D grubu deri örneklerinde 2 olguda orta, iki olguda hafif şiddetli akut yangı görüldü. Çizelge 3.2’de tüm grupların yedinci gün akut yangı skorları ve akut yangı skorlarının ortalamaları verildi.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre 7. gün akut yangı skorları arasında anlamlı düzeyde farklılık tespit edildi ( $p= 0,034$ ) ve gruplar, ortalama sıralama değerlerine göre  $A>D>C>B$  şeklinde ifade edildi. Grupların 7. gün akut yangı skorlarının ikili karşılaştırma sonuçları da Çizelge 3.2’de gösterildi.

**Çizelge. 3.2** Yedinci gün akut yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A                           | B                         | C                         | D          |
|----------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|------------|
| 1        | 2                           | 1                         | 1                         | 0          |
| 2        | 3                           | 1                         | 0                         | 2          |
| 3        | 2                           | 0                         | 1                         | 2          |
| 4        | 1                           | 0                         | 0                         | 1          |
| 5        | 1                           | 0                         | 0                         | 0          |
| 6        | 1                           | 0                         | 0                         | 1          |
| 7        | 1                           | 0                         | 2                         | 0          |
| Ort±SD   | 1,57±0,787 <sup>(B,C)</sup> | 0,29±0,488 <sup>(A)</sup> | 0,57±0,787 <sup>(A)</sup> | 0,86±0,900 |

Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD. değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

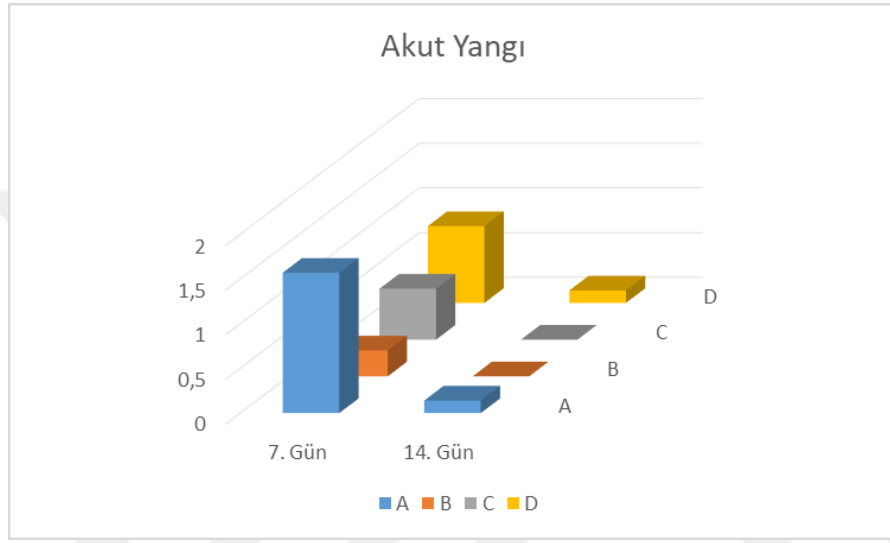
Deneyin 14. gününde sonlandırılan deneklerden toplanan deri örneklerinde ise; A ve D gruplarında akut yangıyla 1 olguda karşılaşılrken; B ve C gruplarında akut yangıya ilişkin bir bulguya rastlanmadı. Çizelge 3.3’te tüm grupların 14. gün akut yangı skorları ve akut yangı skorlarının ortalamaları verildi.

**Çizelge. 3.3** 14. gün akut yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A          | B | C                    | D          |
|----------|------------|---|----------------------|------------|
| 1        | 0          | 0 | 0                    | 0          |
| 2        | 0          | 0 | 0                    | 0          |
| 3        | 0          | 0 | 0                    | 0          |
| 4        | 0          | 0 | 0                    | 0          |
| 5        | 0          | 0 | 0                    | 0          |
| 6        | 1          | 0 | Doku Mevcut<br>Değil | 1          |
| 7        | 0          | 0 | 0                    | 0          |
| Ort±SD   | 0,14±0,378 | 0 | 0                    | 0,14±0,378 |

Çizelge. 3.3’te görüldüğü üzere 14. gün akut yangı skor değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,59$ ).

Aynı grubun 7. ve 14. gün sonlandırılan alt gruplarının akut yangı skor değerleri açısından B1-B2 arasında, C1-C2 arasında ve D1-D2 alt grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). A grubunun alt grupları arasında ise A1 alt grubunun A2 alt grubundan akut yangı skoru yönünden anlamlı farkla yüksek olduğu görüldü ( $p=0,002$ ). Şekil 3.1’de deney gruplarının yedinci ve 14. gün akut yangı skor değerlerinin değişimi gösterildi.



**Şekil 3.1** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün akut yangı skor değerlerinin değişimi.

### 3.2.2. Kronik Yangı

Deneyin 7. gününde sonlandırılan sıçanlardan; A grubunda 3 olguda hafif ve 2 olguda orta şiddette, B grubunda tüm olgularda orta şiddette, C grubunda 1 olguda şiddetli, 3 olguda orta ve 2 olguda hafif şiddette ve D grubunda ise 1 olguda hafif, 4 olguda orta ve 2 olguda şiddetli derecede mononükleer yangı hücreleri görüldü. Deneyin 7. gün kronik yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri Çizelge 3.4’te gösterildi.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre 7. gün kronik yangı skorları arasında anlamlı düzeyde farklılık vardır ( $p= 0,039$ ) ve gruplar ortalama sıralama değerlerine

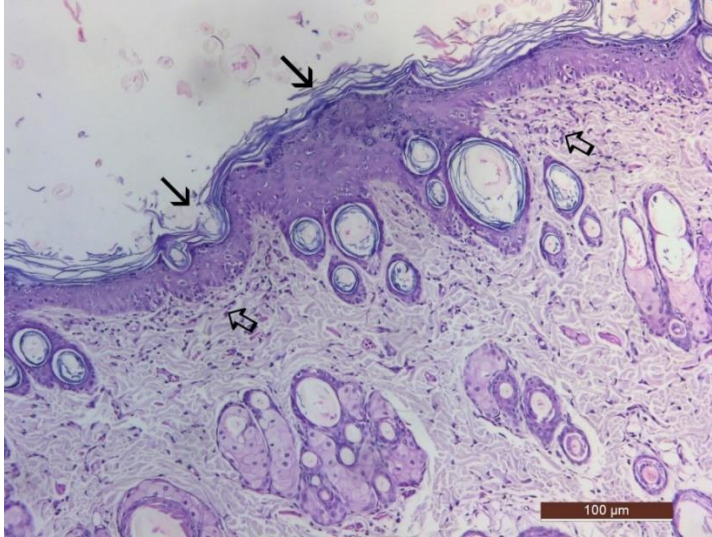
göre D>B>C>A şeklinde sıralanmaktadır. Grupların 7. gün kronik yangı skorlarının ikili karşılaştırma sonuçları Çizelge 3.4’te gösterildi.

**Çizelge. 3.4** Yedinci gün kronik yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A                        | B                | C          | D                         |
|----------|--------------------------|------------------|------------|---------------------------|
| 1        | 1                        | 2                | 3          | 2                         |
| 2        | 0                        | 2                | 0          | 2                         |
| 3        | 0                        | 2                | 1          | 2                         |
| 4        | 2                        | 2                | 2          | 2                         |
| 5        | 1                        | 2                | 2          | 3                         |
| 6        | 1                        | 2                | 2          | 3                         |
| 7        | 2                        | 2                | 1          | 1                         |
| Ort±SD   | 1±0,816 <sup>(B,D)</sup> | 2 <sup>(A)</sup> | 1,57±0,976 | 2,14±0,690 <sup>(A)</sup> |

Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD. değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

Deneyin 14. günü toplanan deri örneklerinden; A grubunda 6 olguda hafif ve 1 olguda orta şiddette; B grubunda 6 olguda hafif şiddette; C grubunda 1 olguda hafif (Şekil 3.2), 2 olguda orta şiddette ve D grubunda ise 3 olguda hafif (Şekil 3.3), 2 olguda orta ve 1 olguda şiddetli derecede mononükleer yangı hücreleri gözlemlendi.



**Şekil 3.2** C grubu 14. gün. Epitelde tamamlanmış ve olgunlaşmış rejenerasyon (siyah oklar) ile dermiste az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonları (beyaz oklar).



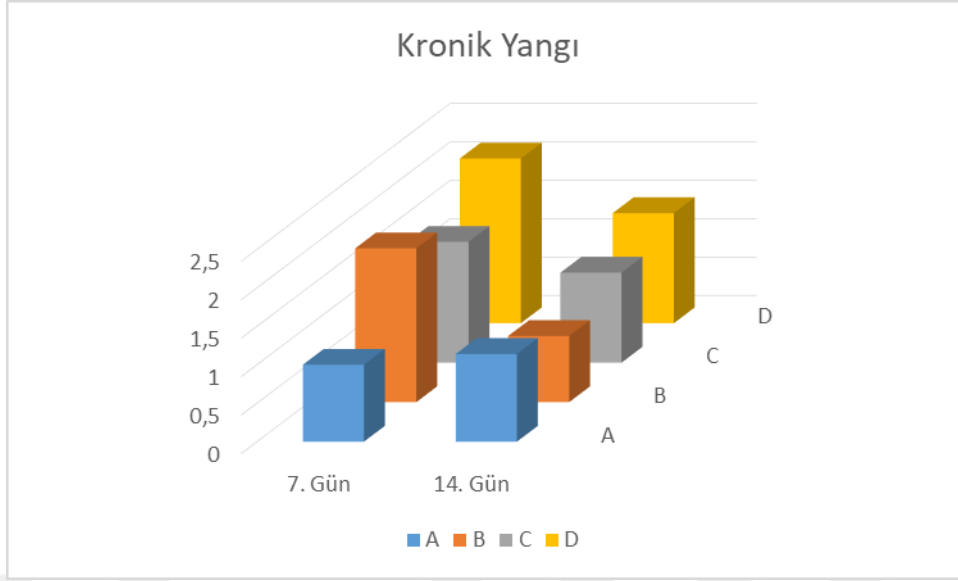
**Şekil 3.3** D grubu 14. gün. Epitelde tamamlanmış ve olgunlaşmış rejenerasyon (siyah ok) ile dermiste az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonları (beyaz ok).

Deneyin 14. gün kronik yangı ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri skorları Çizelge 3.5’te gösterildi.

**Çizelge 3.5** 14. gün kronik yangı skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A          | B          | C                    | D          |
|----------|------------|------------|----------------------|------------|
| 1        | 1          | 1          | 2                    | 1          |
| 2        | 2          | 1          | 0                    | 2          |
| 3        | 1          | 1          | 0                    | 2          |
| 4        | 1          | 1          | 1                    | 1          |
| 5        | 1          | 1          | 2                    | 1          |
| 6        | 1          | 1          | Doku Mevcut<br>Değil | 3          |
| 7        | 1          | 0          | 2                    | 0          |
| Ort±SD   | 1,14±0,378 | 0,86±0,378 | 1,17±0,983           | 1,43±0,976 |

Deneyin 14. gün sonlandırılan alt grupların kronik yangı skor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,57$ ). Şekil 3.4’te deney gruplarının yedinci ve 14. gün kronik yangı skor değerlerinin değişimi gösterildi.

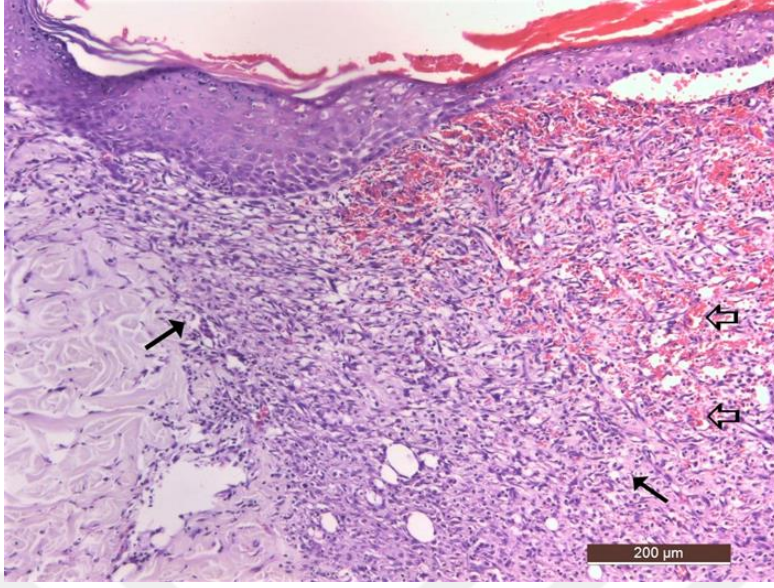


**Şekil 3.4** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün kronik yangı skor değerlerinin değişimi.

Aynı grubun yedinci ve 14. gün sonlandırılan alt gruplarının kronik yangı skor değerleri açısından A1-A2 arasında, C1-C2 arasında ve D1-D2 alt grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). B grubunun alt grupları arasında ise B1 alt grubunun B2 alt grubundan kronik yangı skoru yönünden anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ( $p= 0,00$ ).

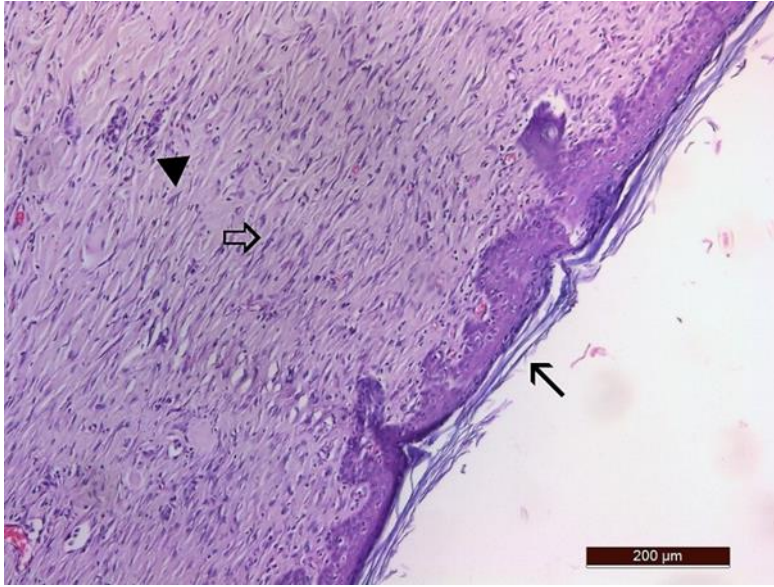
### 3.2.3. Granulasyon Dokusu Miktarı

Deneyin yedinci gününde sonlandırılan sıçanlardan; A grubunda 3 olguda hafif ve 1 olguda orta şiddette; B grubunda 4 olguda hafif ve 3 olguda orta şiddette (Şekil 3.5); C grubunda 4 olguda hafif ve 3 olguda orta şiddette ve D grubunda ise 2 olguda hafif, 2 olguda orta ve 2 olguda şiddetli derecede granulasyon dokusu oluşumu dikkati çekti.

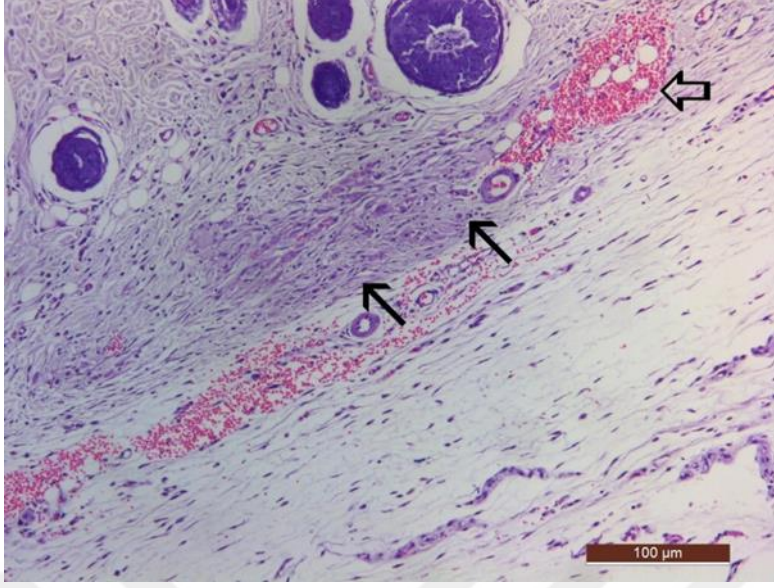


**Şekil 3.5** B grubu 7. gün. Dermiste granulasyon alanı (siyah oklar) ve neovaskülarizasyon (beyaz oklar).

Deneyin 14. gün toplanan deri örneklerinden; A grubunda (Şekil 3.6) 2 olguda hafif ve 1 olguda orta derecede; B grubunda 2 olguda hafif derecede; C grubunda (Şekil 3.7) 1 olguda orta derecede ve D grubunda ise 3 olguda hafif şiddette granulasyon dokusu oluşumu gözlemlendi. Deneyin 7. ve 14. gün granulasyon dokusu skorları Çizelge 3.6’da gösterildi.



**Şekil 3.6** A grubu 14. gün. Epitelde tamamlanmış ve olgunlaşmış rejenerasyon (siyah ok), granulasyon dokuyla eşlik eden bağ doku hücreleri (beyaz ok) ve yer yer yangı hücreleri (siyah ok başı).

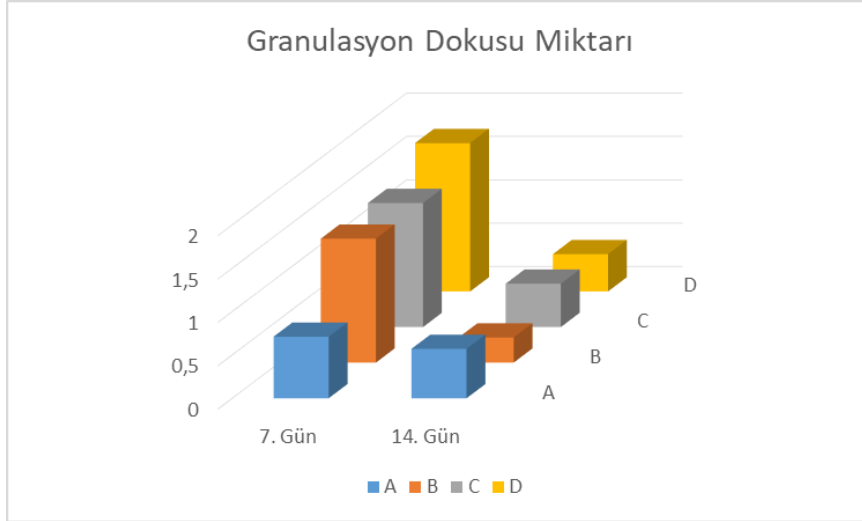


**Şekil 3.7** C grubu 14. gün. Dermisin derinlerinde karşılaşılan granülasyon dokusu (siyah oklar) ve geniş kanama alanları (beyaz ok).

**Çizelge 3.6** Yedinci ve 14. gün granülasyon dokusu skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

|        | 7. Gün     |            |            |            | 14. Gün    |            |            |            |
|--------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Denek  | A          | B          | C          | D          | A          | B          | C          | D          |
| 1      | 1          | 1          | 2          | 1          | 1          | 0          | 1          | 0          |
| 2      | 0          | 1          | 1          | 2          | 1          | 0          | 0          | 1          |
| 3      | 2          | 2          | 2          | 2          | 0          | 0          | 0          | 0          |
| 4      | 1          | 2          | 2          | 1          | 0          | 1          | 0          | 1          |
| 5      | 0          | 2          | 1          | 3          | 0          | 0          | 2          | 0          |
| 6      | 0          | 1          | 1          | 3          | 0          | 1          | Doku Yok   | 1          |
| 7      | 1          | 1          | 1          | 0          | 2          | 0          | 0          | 0          |
| Ort±SD | 0,71±0,756 | 1,43±0,535 | 1,43±0,535 | 1,71±1,113 | 0,57±0,787 | 0,29±0,488 | 0,50±0,837 | 0,43±0,535 |

Yedinci ve 14. gün sonlandırılan alt grupların granülasyon dokusu skor değerleri arasında anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,154$  ve  $p=0,917$ ). Bununla birlikte, grupların Kruskal Wallis test sonuçlarına göre sıralama ortalamaları yedinci gün için  $D>C=B>A$  şeklinde, 14. gün için  $A>D>C>B$  şeklinde sıralanmaktadır. Şekil 3.8’de deney gruplarının yedinci ve 14. gün granülasyon dokusu skor değerlerinin değişimi gösterildi.



**Şekil 3.8** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün granulasyon dokusu skor değerlerinin değişimi.

Aynı grubun 7. ve 14. gün sonlandırılan alt gruplarının granulasyon dokusu skor değerleri açısından A1-A2 arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Diğer gruplarda ise ilk hafta sonlandırılan alt grupların ikinci hafta sonlandırılan alt gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $B1 > B2$ ,  $C1 > C2$  ve  $D1 > D2$ ).

#### 3.2.4. Granulasyon Dokusu/Fibrosit Olgunlaşması

Deneyin 7. gününde sonlandırılan sıçanlardan; A grubunda 2 olguda hafif şiddetli, B grubunda tüm olgularda hafif şiddetli, C grubunda 6 olguda hafif ve 1 olguda şiddetli, D grubunda ise 5 olguda hafif şiddetli bağdoku hücrelerinin artışı görüldü. Çizelge 3.7’de yedinci gün granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri gösterildi.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre 7. gün granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları arasında anlamlı düzeyde farklılık vardır ( $p = 0,006$ ) ve gruplar ortalama sıralama değerlerine göre  $C > B > D > A$  şeklinde sıralanmaktadır. Grupların 7. gün granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorlarının ikili karşılaştırma sonuçları Çizelge 3.7’de gösterildi.

**Çizelge. 3.7** Yedinci gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A                           | B                | C                         | D          |
|----------|-----------------------------|------------------|---------------------------|------------|
| 1        | 0                           | 1                | 1                         | 1          |
| 2        | 0                           | 1                | 1                         | 1          |
| 3        | 1                           | 1                | 3                         | 1          |
| 4        | 0                           | 1                | 1                         | 1          |
| 5        | 0                           | 1                | 1                         | 1          |
| 6        | 0                           | 1                | 1                         | 0          |
| 7        | 1                           | 1                | 1                         | 0          |
| Ort±SD   | 0,29±0,488 <sup>(B,C)</sup> | 1 <sup>(A)</sup> | 1,29±0,756 <sup>(A)</sup> | 0,71±0,488 |

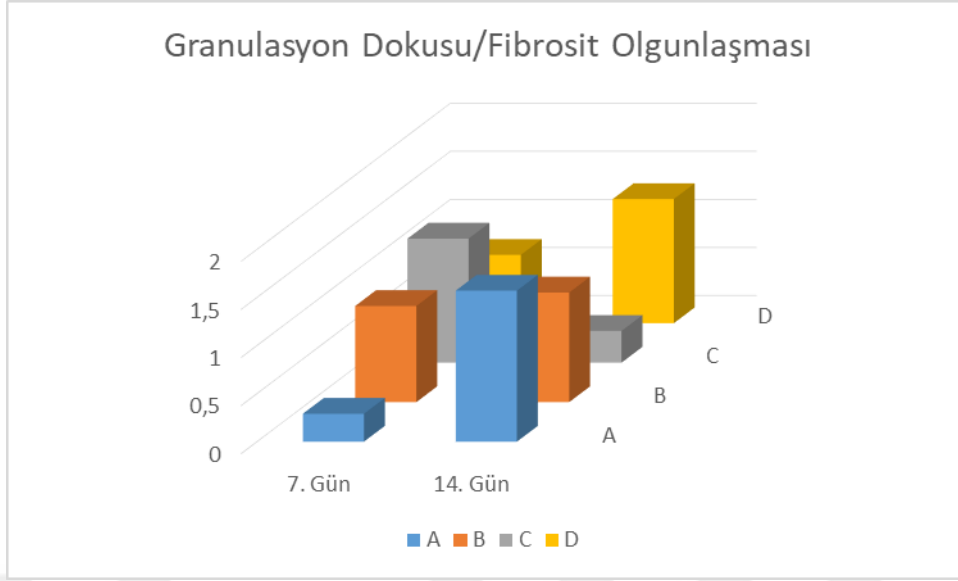
Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

Deneyin 14. gün toplanan deri örneklerinden; A grubunda 2 olguda hafif, 3 olguda orta, 1 olguda şiddetli; B grubunda 4 olguda orta; C grubunda 1 olguda orta ve D grubunda ise 3 olguda şiddetli derecede bağ doku hücrelerinde artış dikkati çekmiştir. Çizelge 3.8’de 14. gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri gösterildi.

**Çizelge. 3.8** 14. gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A          | B          | C                       | D          |
|----------|------------|------------|-------------------------|------------|
| 1        | 2          | 2          | 2                       | 0          |
| 2        | 1          | 2          | 0                       | 3          |
| 3        | 2          | 0          | 0                       | 0          |
| 4        | 2          | 2          | 0                       | 3          |
| 5        | 3          | 0          | 0                       | 0          |
| 6        | 0          | 2          | Doku<br>Mevcut<br>Değil | 3          |
| 7        | 1          | 0          | 0                       | 0          |
| Ort±SD   | 1,57±0,976 | 1,14±1,069 | 0,33±0,816              | 1,29±1,064 |

Granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması 14. gün skor değerleri yönünden gruplar arasında anlamlılık düzeyinde anlamlı farklılık bulunmamaktadır (p= 0,254). Şekil 3.9.’da deney gruplarının yedinci ve 14. gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skor değerlerinin değişimi gösterildi.



**Şekil 3.9** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skor değerlerinin değişimi.

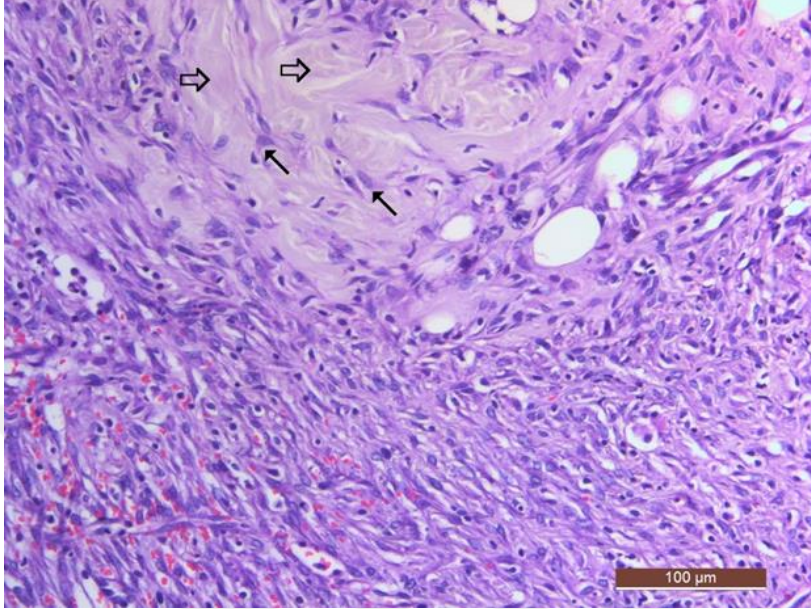
Deneyin yedinci gününden 14. gününe granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorunun grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu; A grubu içerisinde ( $A_2 > A_1$ ,  $p = 0,015$ ) ve C grubu içinde ( $C_1 > C_2$ ,  $p = 0,020$ ) anlamlı farklılık bulunmaktadır. Diğer grupların 7. ve 14. gün Granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması histopatolojik skor değerlerinde anlamlı farklılık bulunamadı ( B grubunda  $p=0,63$ ; D grubunda  $p=0,95$ ).

### 3.2.5. Kollajen Miktarı

Deneyin 7. gününde sonlandırılan sıçanlardan elde edilen deri örneklerinin dermisinde; A grubunda kollajen oluşumu gözlenmedi. B grubunda 3 olguda, C grubunda 2 olguda hafif şiddette ve D grubunda ise (Şekil 3.10) 4 olguda hafif ve 1 olguda orta şiddetli Kollajen birikimi görüldü. Çizelge 3.9.'da yedinci gün kollajen birikimi skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri gösterildi.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre 7. gün kollajen birikimi skorları arasında anlamlı düzeyde farklılık vardır ( $p = 0,025$ ) ve gruplar ortalama sıralama değerlerine

göre D>C>B>A şeklinde sıralanmaktadır. Grupların 7. gün kollajen birikimi skorlarının ikili karşılaştırma sonuçları Çizelge 3.9’da gösterildi.



**Şekil 3.10** D grubu 7. gün. Dermiste fibroblast olgunlaşması (siyah ok) ve artan kollajen miktarı (beyaz ok).

**Çizelge. 3.9** Yedinci gün kollajen birikimi skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A                  | B          | C                         | D                         |
|----------|--------------------|------------|---------------------------|---------------------------|
| 1        | 0                  | 0          | 0                         | 2                         |
| 2        | 0                  | 0          | 1                         | 1                         |
| 3        | 0                  | 0          | 1                         | 1                         |
| 4        | 0                  | 1          | 1                         | 1                         |
| 5        | 0                  | 0          | 1                         | 1                         |
| 6        | 0                  | 1          | 1                         | 0                         |
| 7        | 0                  | 1          | 0                         | 0                         |
| Ort±SD   | 0 <sup>(C,D)</sup> | 0,43±0,535 | 0,71±0,488 <sup>(A)</sup> | 0,86±0,690 <sup>(A)</sup> |

Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

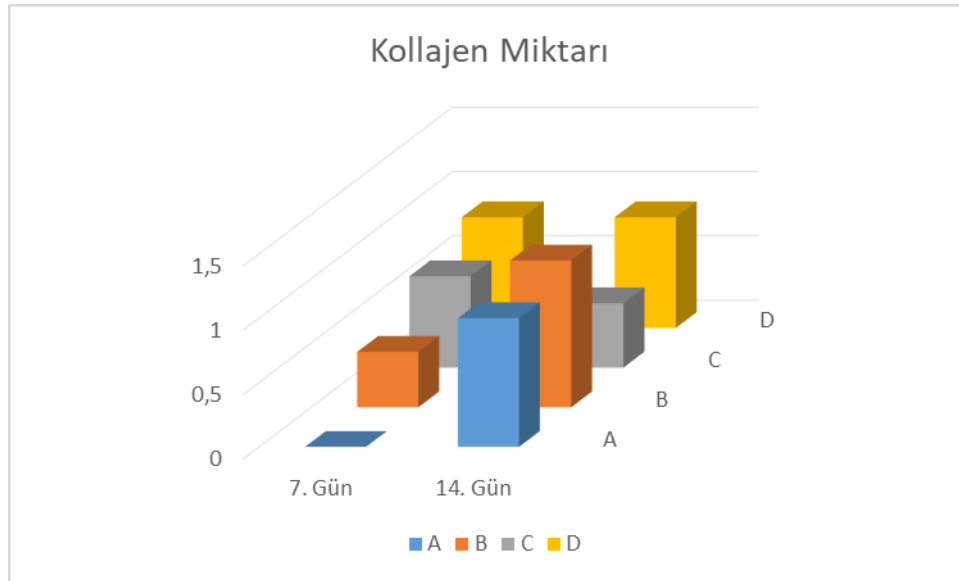
Deneyin 14. gün toplanan deri örneklerinin dermisinde; A grubunda 4 olguda hafif, 1 olguda şiddetli derecede; B grubunda 1 olguda hafif, 2 olguda orta, 1 olguda şiddetli derecede; C grubunda 1 olguda orta, 1 olguda hafif derecede ve D grubunda ise 1 olguda şiddetli, 1 olguda orta, 1 olguda hafif derecede kollajen birikimi

gözlemlendi. Çizelge 3.10’da 14. gün kollajen birikimi skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri gösterildi.

**Çizelge. 3.10** 14. gün kollajen birikimi skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A   | B          | C                       | D          |
|----------|-----|------------|-------------------------|------------|
| 1        | 1   | 3          | 2                       | 0          |
| 2        | 0   | 2          | 0                       | 3          |
| 3        | 1   | 0          | 0                       | 0          |
| 4        | 1   | 2          | 0                       | 2          |
| 5        | 3   | 0          | 1                       | 0          |
| 6        | 0   | 1          | Doku<br>Mevcut<br>Değil | 1          |
| 7        | 1   | 0          | 0                       | 0          |
| Ort±SD   | 1±1 | 1,14±1,215 | 0,50±0,837              | 0,86±1,215 |

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre; kollajen birikimi 14. gün skor değerleri yönünden gruplar arasında anlamlılık düzeyinde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p= 0,691$ ). Ancak anlamlılık düzeyinde olmamakla birlikte 14. gün kollajen skor ortalama sıralama değerlerine göre gruplar  $B \cong A > D > C$  şeklinde sıralanmaktadır. Şekil 3.11’de deney gruplarının yedinci ve 14. gün granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skor değerlerinin değişimi gösterildi.

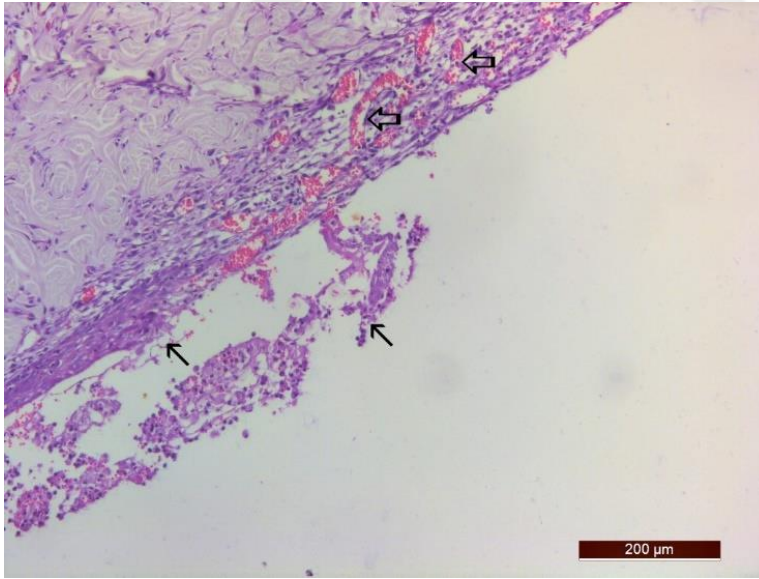


**Şekil 3.11** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün kollajen birikimi skor değerlerinin değişimi.

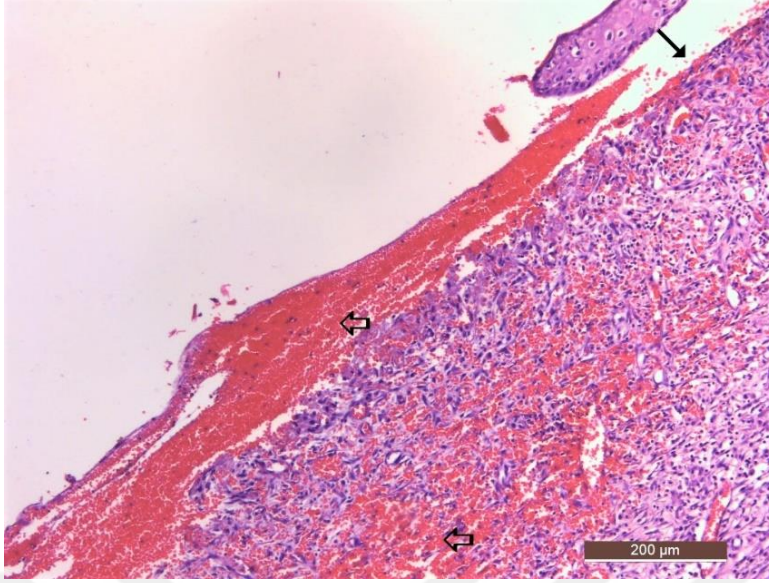
Deneyin yedinci gününden 14. gününe kollajen birikimi skorunun grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılmasında; A grubu içerisinde ( $A_2 > A_1$ ,  $p = 0,008$ ) anlamlı farklılık bulundu. Diğer grupların 7. ve 14. gün kollajen birikimi histopatolojik skor değerlerinde anlamlı farklılık bulunamadı (B grubunda  $p = 0,268$ ; C grubunda  $p = 0,382$ ; D grubunda  $p = 0,682$ ).

### 3.2.6. Reepitelizasyon

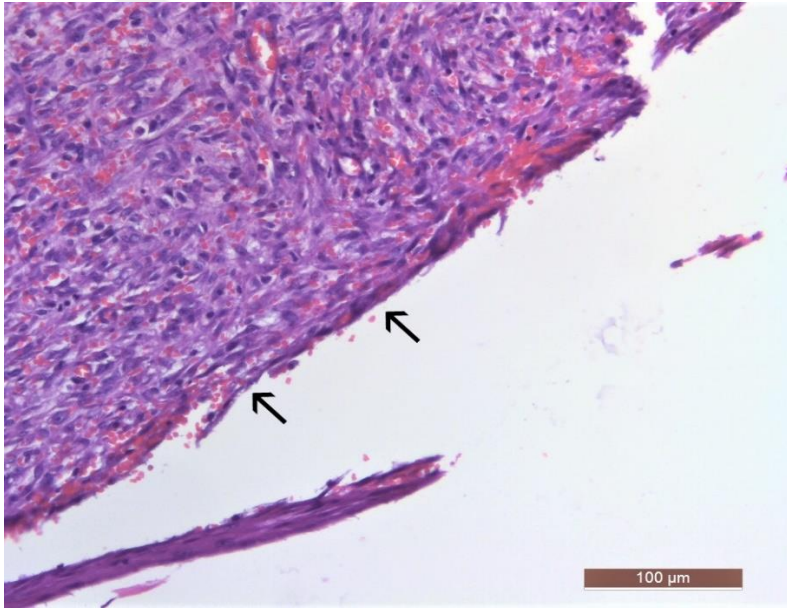
Deneyin 7. gününde sonlandırılan sıçanlardan elde edilen deri örneklerinin epidermisinde; A grubunda geniş alanlar halinde nekroz görüldü (Şekil 3.12). B grubunda bir olguda hafif şiddette epitelizasyon gözlemlendi (Şekil 3.13). C grubunda 2 olguda yeni şekillenen epitel rejenerasyonu gözlenirken 5 olguda ülser (Şekil 3.14); D grubunda ise 3 olguda yeni şekillenen epitel rejenerasyonu ve 4 olguda ülser (Şekil 3.15) dikkati çekti.



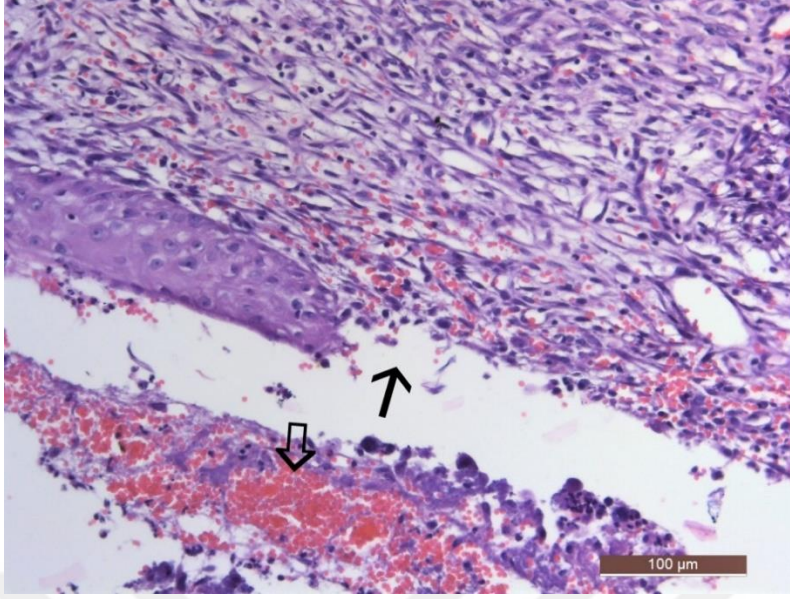
Şekil 3.12 A grubu 7. gün. Epitelde ülser (siyah oklar) ve neovaskülarizasyon (beyaz oklar).



Şekil 3.13 B grubu 7. gün. Epitelde ülserli alan (siyah ok) ve kanama alanları (beyaz oklar).

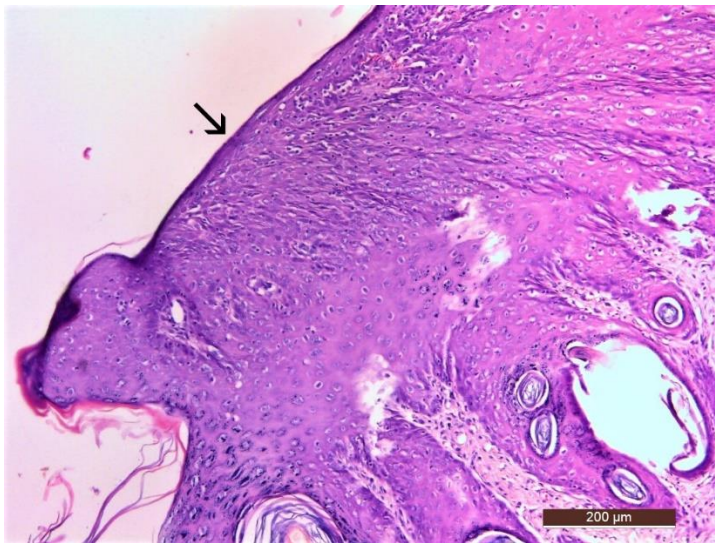


Şekil 3.14 C grubu 7. gün. Epitelde ülserli alan (siyah oklar).

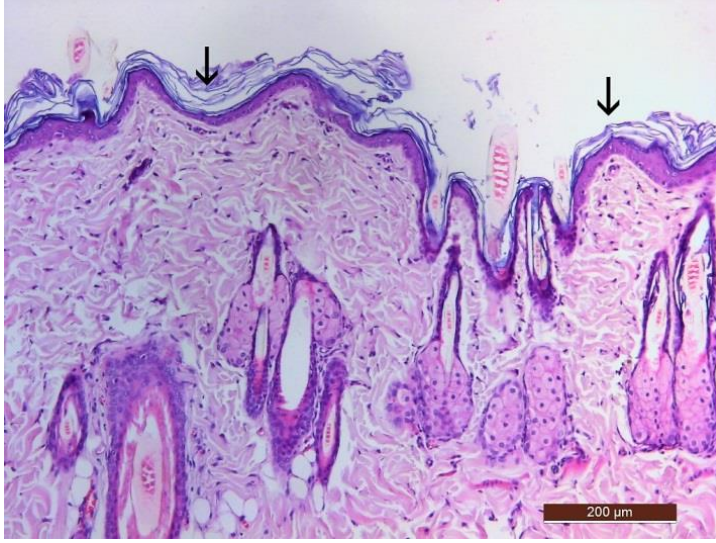


**Şekil 3.15** D grubu 7. gün. Epitelde ülserli alan (siyah ok) ve kanama alanı (beyaz ok).

Deneyin 14. gününde epitelizasyon skor değerleri yönünden; A grubunda bir olguda orta şiddette epitelizasyon görülürken 3 olguda epidermiste tam iyileşme görüldü (Şekil 3.16). B grubunda 4 olguda epidermiste tam iyileşme gözlenirken (Şekil 3.17), 2 olguda orta, 1 olguda hafif şiddette epitel rejenerasyonu gözlemlendi. C ve D gruplarında ise 6'şar olguda epidermiste tam iyileşmeyle karşılaşıldı. Çizelge 3.11'de yedinci ve 14. gün reepitelizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri gösterildi.



**Şekil 3.16** A grubu 14. gün. Epitelde tamamlanmış ancak olgunlaşmamış rejenerasyon (siyah ok).

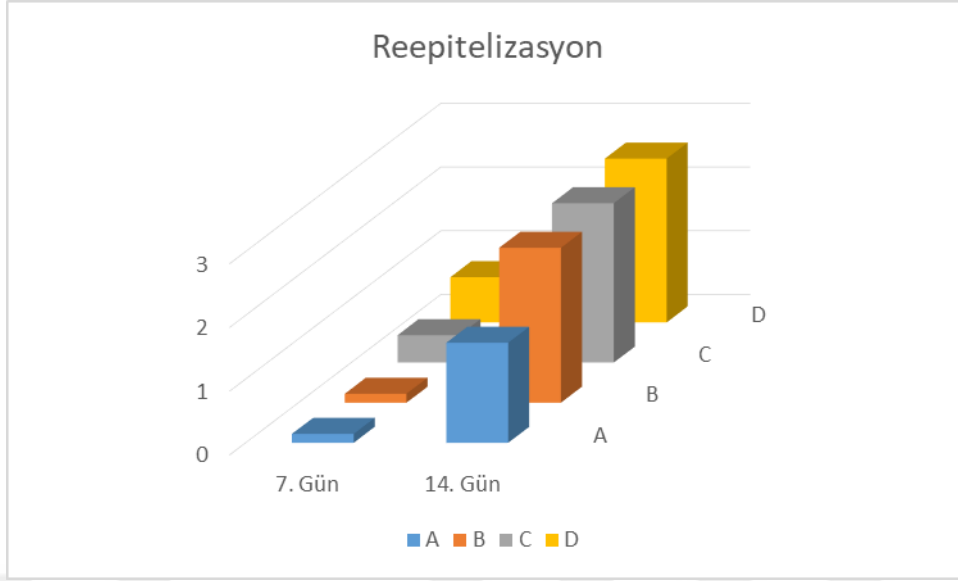


**Şekil 3.17** B grubu 14. gün. Epitelde tamamlanmış ve olgunlaşmış rejenerasyon (siyah oklar).

**Çizelge. 3.11** Yedinci gün ve 14. gün reepitelizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

|        | 7. Gün         |                |                |                | 14. Gün        |                |                         |                |
|--------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|
| Denek  | A              | B              | C              | D              | A              | B              | C                       | D              |
| 1      | 0              | 0              | 0              | 1              | 3              | 3              | 3                       | 3              |
| 2      | 0              | 0              | 2              | 0              | 0              | 2              | 3                       | 3              |
| 3      | 1              | 0              | 0              | 0              | 3              | 3              | 3                       | 3              |
| 4      | 0              | 0              | 1              | 0              | 0              | 2              | 3                       | 3              |
| 5      | 0              | 0              | 0              | 1              | 3              | 3              | 0                       | 3              |
| 6      | 0              | 1              | 0              | 0              | 0              | 1              | Doku<br>Mevcut<br>Değil | 0              |
| 7      | 0              | 0              | 0              | 3              | 2              | 3              | 3                       | 3              |
| Ort±SD | 0,14±<br>0,378 | 0,14±<br>0,378 | 0,43±<br>0,787 | 0,71±<br>1,113 | 1,57±<br>1,512 | 2,43±<br>0,787 | 2,50±1,<br>225          | 2,57±<br>1,134 |

Çizelge. 3.11’de gösterilen yedinci gün ( $p= 0,51$ ) ve 14. gün ( $p= 0,33$ ) skor değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Şekil 3.18’de deney gruplarının yedinci ve 14. gün reepitelizasyon skor değerlerinin değişimi gösterildi.



**Şekil 3.18** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün reepitelizasyon skor değerlerinin değişimi.

Deneyin yedinci gününden 14. gününe reepitelizasyon skorunun grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılmasında; B, C ve D gruplarının ikinci hafta sonlandırılan alt grupların ilk hafta sonlandırılan alt gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $B_2 > B_1$   $p = 0,001$ ;  $C_2 > C_1$   $p = 0,010$  ve  $D_2 > D_1$   $p = 0,021$ ). A grubunun alt grupları arasında ise anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p = 0,061$ ).

### 3.2.7. Neovaskülarizasyon

Deneyin 7. gününde sonlandırılan sıçanlardan elde edilen deri örneklerinden; A grubunda 5 olgulara hafif ve 1 olguda orta şiddetli şekilde; B, C ve D gruplarında ise tüm olgulara değişen şiddette neovaskülarizasyonla karşılaşıldı. Çizelge 3.12.'de yedinci gün neovaskülarizasyon skorları ve bu skorların ortalama $\pm$ standart sapma değerleri gösterildi.

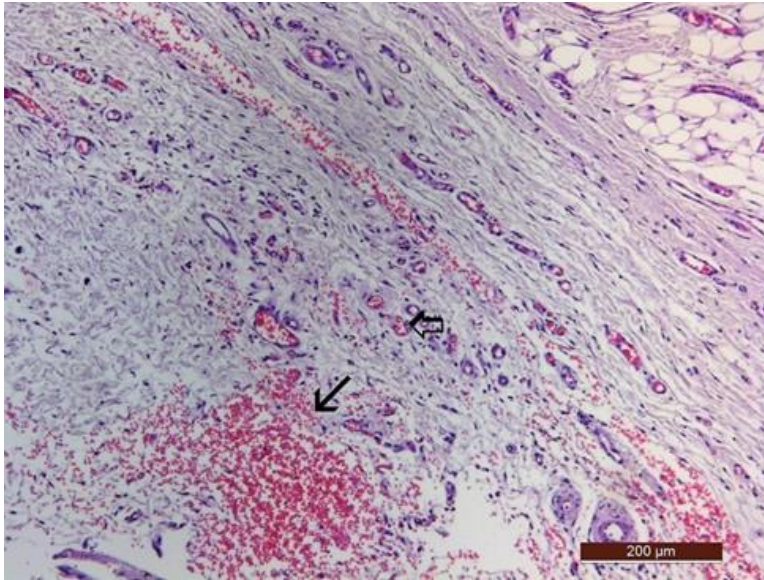
Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre 7. gün neovaskülarizasyon skorları arasında anlamlı düzeyde farklılık vardır ( $p = 0,023$ ) ve gruplar ortalama sıralama değerlerine göre  $D > C > B > A$  şeklinde sıralanmaktadır. Grupların 7. gün neovaskülarizasyon skorlarının ikili karşılaştırma sonuçları Çizelge 3.12'de gösterildi.

**Çizelge. 3.12** Yedinci gün neovaskülarizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

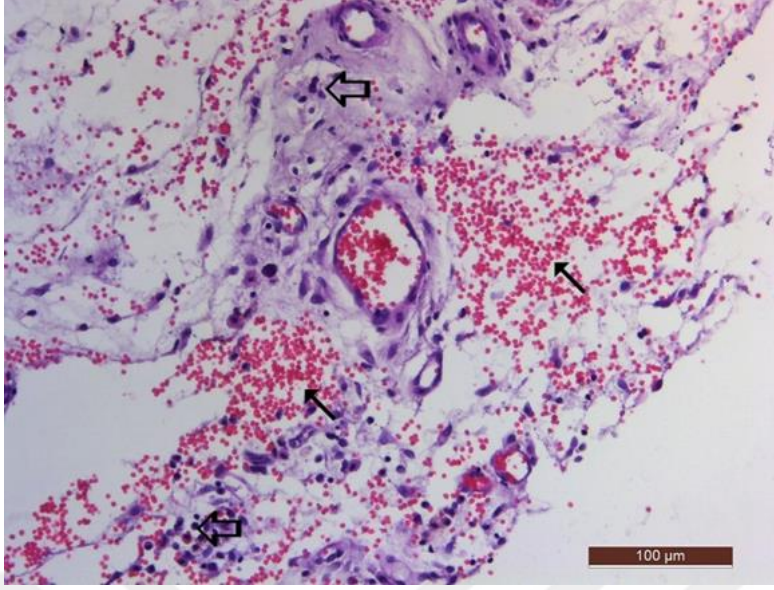
| Denek No | A                        | B                         | C                      | D                           |
|----------|--------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|
| 1        | 1                        | 1                         | 2                      | 2                           |
| 2        | 1                        | 1                         | 1                      | 3                           |
| 3        | 2                        | 1                         | 2                      | 3                           |
| 4        | 1                        | 2                         | 3                      | 2                           |
| 5        | 1                        | 2                         | 3                      | 3                           |
| 6        | 0                        | 1                         | 2                      | 3                           |
| 7        | 1                        | 1                         | 1                      | 0                           |
| Ort±SD   | 1±0,577 <sup>(C,D)</sup> | 1,29±0,488 <sup>(D)</sup> | 2±0,816 <sup>(A)</sup> | 2,29±1,113 <sup>(A,B)</sup> |

Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

Deneyin 14. gün toplanan deri örneklerinde; A grubunda 4 olguda hafif şiddette; B grubunda 2 olguda değişen şiddette (Şekil 3.19); C grubunda 1 olguda orta şiddette ve D grubunda ise 1 olguda hafif ve 1 olguda orta şiddette neovaskülarizasyonla karşılaşıldı (Şekil 3.20). Çizelge 3.13'te 14. gün neovaskülarizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri gösterildi.



**Şekil 3.19** B grubu 14. gün. Geniş kanama alanları (siyah ok) ve hiperemik damarlar (beyaz ok).

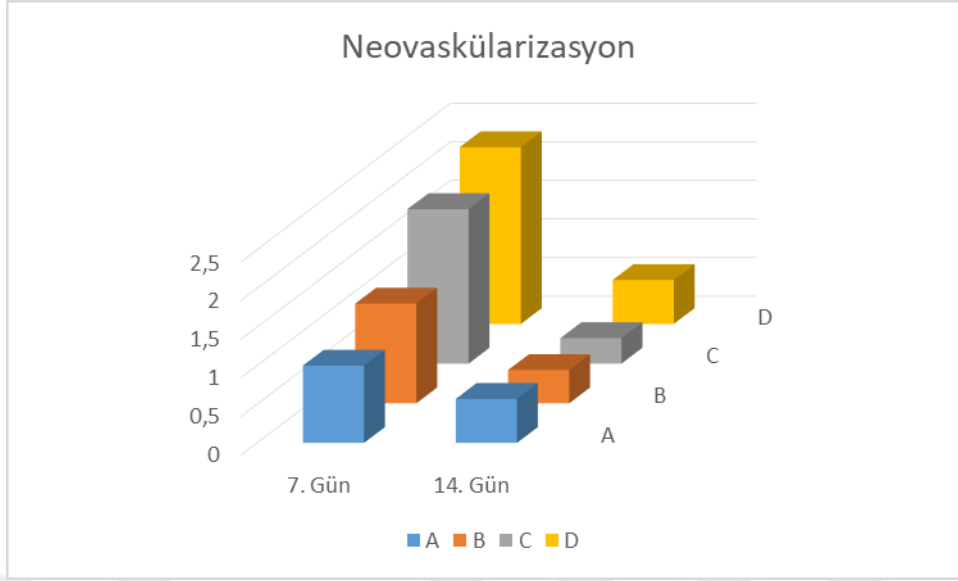


**Şekil 3.20** D grubu 14. gün. Dermisin derinlerinde karşılaşılan geniş kanama alanları (siyah oklar) ve mononükleer hücre infiltrasyonu (beyaz oklar).

**Çizelge. 3.13** 14 gün neovaskülarizasyon skorları ve bu skorların ortalama±standart sapma değerleri.

| Denek No | A          | B          | C                       | D           |
|----------|------------|------------|-------------------------|-------------|
| 1        | 0          | 0          | 0                       | 0           |
| 2        | 1          | 0          | 0                       | 1           |
| 3        | 1          | 0          | 0                       | 0           |
| 4        | 1          | 1          | 0                       | 1           |
| 5        | 0          | 0          | 2                       | 0           |
| 6        | 0          | 2          | Doku<br>Mevcut<br>Değil | 2           |
| 7        | 1          | 0          | 0                       | 0           |
| Ort±SD   | 0,57±0,535 | 0,43±0,787 | 0,33±0,816              | 0,57±0, 787 |

Neovaskülarizasyon 14. gün skor değerleri yönünden gruplar arasında anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamaktadır ( $p= 0,716$ ). Şekil 3.21’de deney gruplarının yedinci ve 14. gün neovaskülarizasyon skor değerlerinin değişimi gösterildi.



**Şekil 3.21** Deney gruplarının yedinci ve 14. gün neovaskülarizasyon skor değerlerinin değişimi.

Deneyin yedinci gününden 14. gününe neovaskülarizasyon skorunun grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılmasında; B, C ve D gruplarının ilk hafta sonlandırılan alt grupların ikinci hafta sonlandırılan alt gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $B_1 > B_2$   $p = 0,028$ ;  $C_1 > C_2$   $p = 0,009$  ve  $D_1 > D_2$   $p = 0,014$ ). A grubunun alt grupları arasında ise anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p = 0,173$ ).

### 3.3. Sıçanlarda Yara Alan Takibi Bulguları

Sıçanlarda punch biyopsi aparatı ile oluşturulan yaraların değişim süreçleri gözlemlendi ve fotoğraflandı. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan yaraların alanlarının asetat kağıdına çizilmesi Şekil 3.22’de gösterildi.



**Şekil 3.22** Yara alanlarının asetat kağıdına çizilmesi.

Deneyisel olarak oluşturulan yaraların iyileşme süreçlerinin takip edildiği asetat kağıtları bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra, yara alanları Adobe Photoshop CC 2019 programı kullanılarak  $\text{cm}^2$  cinsinden hesaplandı. Yara alanlarının zamansal değişimi Çizelge 3.14'te gösterildi.

**Çizelge. 3.14** Deney aşamasında kullanılan 56 ratın sırt bölgesindeki ikişer adet deneysel yaraların alanlarının (cm<sup>2</sup>) zamana göre değişimi.

| Denek | sol/sağ<br>yara | 2. gün   | 4. gün   | 6. gün   | 7. gün   | 8. gün   | 10. gün  | 12. gün  | 14. gün  |
|-------|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| A1    | sol yara        | 2,647778 | 3,067778 | 2,77     | 0,901111 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 3,786667 | 3,513333 | 3,293333 | 1,022222 | -        | -        | -        | -        |
| A2    | sol yara        | 4,201111 | 3,071111 | 4,083333 | 2,576667 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 3,802222 | 3,312222 | 3,735556 | 2,085556 | -        | -        | -        | -        |
| A3    | sol yara        | 4,022222 | 3,662222 | 3,282222 | 3,398889 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 2,474444 | 2,551111 | 1,775556 | 1,332222 | -        | -        | -        | -        |
| A4    | sol yara        | 4,055556 | 3,362222 | 3,362222 | 1,631111 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 3,384444 | 3,042222 | 2,575556 | 2,561111 | -        | -        | -        | -        |
| A5    | sol yara        | 3,736667 | 3,414444 | 3,181111 | 3,593333 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 2,75     | 1,673333 | 2,084444 | 1,736667 | -        | -        | -        | -        |
| A6    | sol yara        | 2,976667 | 2,626667 | 2,24     | 2,166667 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 3,467778 | 3,522222 | 2,988889 | 3,696667 | -        | -        | -        | -        |
| A7    | sol yara        | 2,634444 | 2,782222 | 1,995556 | 1,368889 | -        | -        | -        | -        |
|       | sağ yara        | 2,253333 | 2,24     | 2,225556 | 2,235556 | -        | -        | -        | -        |
| A8    | sol yara        | 3,75     | 4,704444 | 3,196667 | -        | 2,621111 | 1,14     | 0,533333 | 0,37     |
|       | sağ yara        | 3,547778 | 3,632222 | 1,893333 | -        | 0,888889 | 0,636667 | 0,471111 | 0,307778 |
| A9    | sol yara        | 3,308889 | 3,16     | 3,174444 | -        | 2,408889 | 2,067778 | 0,824444 | 0,802222 |
|       | sağ yara        | 2,177778 | 2,528889 | 2,386667 | -        | 2,182222 | 0,927778 | 0,447778 | 0,42     |
| A10   | sol yara        | 3,823333 | 4,076667 | 3,441111 | -        | 3,256667 | 2,391111 | 0,587778 | 0,436667 |
|       | sağ yara        | 2,791111 | 2,973333 | 1,29     | -        | 1,025556 | 0,367778 | 0,122222 | 0,213333 |
| A11   | sol yara        | 3,398889 | 2,554444 | 2,438889 | -        | 1,95     | 0,465556 | 0,377778 | 0,274444 |
|       | sağ yara        | 3,055556 | 3,122222 | 3,146667 | -        | 1,392222 | 0,692222 | 0,185556 | 0,222222 |

**Çizelge. 3.14** Devam. Deney aşamasında kullanılan 56 ratın sırt bölgesindeki ikişer adet deneysel yaraların alanlarının (cm<sup>2</sup>) zamana göre değişimi.

|     |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| A12 | sol yara | 4,582222 | 4,532222 | 3,374444 | -        | 3,436667 | 2,917778 | 0,334444 | 0,304444 |
|     | sağ yara | 4,725556 | 3,752222 | 3,694444 | -        | 1,474444 | 0,482222 | 0,068889 | 0,142222 |
| A13 | sol yara | 3,928889 | 3,253333 | 3,222222 | -        | 1,364444 | 1,113333 | 0,346667 | 0,153333 |
|     | sağ yara | 3,018889 | 3,001111 | 1,944444 | -        | 1,171111 | 0,806667 | 0,454444 | 0,013333 |
| A14 | sol yara | 3,151111 | 3,018889 | 2,83     | -        | 0,884444 | 0,364444 | 0,25     | 0,33     |
|     | sağ yara | 2,091111 | 2,247778 | 1,724444 | -        | 1,171111 | 0,428889 | 0,25     | 0,337778 |
| B1  | sol yara | 4,36     | 3,073333 | 2,697778 | 1,661111 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,485556 | 2,68     | 1,697778 | 1,565556 | -        | -        | -        | -        |
| B2  | sol yara | 3,655556 | 2,848889 | 2,184444 | 1,631111 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,168889 | 1,676667 | 1,412222 | 1,494444 | -        | -        | -        | -        |
| B3  | sol yara | 3,341111 | 2,948889 | 2,652222 | 2,597778 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,767778 | 2,283333 | 1,098889 | 0,888889 | -        | -        | -        | -        |
| B4  | sol yara | 4,344444 | 3,496667 | 2,647778 | 2,651111 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,441111 | 2,308889 | 2,458889 | 1,065556 | -        | -        | -        | -        |
| B5  | sol yara | 4,485556 | 3,192222 | 2,563333 | 1,313333 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,827778 | 2,02     | 1,087778 | 0,921111 | -        | -        | -        | -        |
| B6  | sol yara | 2,413333 | 2,094444 | 1,922222 | 1,33     | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,285556 | 2,141111 | 2,058889 | 1,02     | -        | -        | -        | -        |
| B7  | sol yara | 3,25     | 3,664444 | 2,38     | 2,536667 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,701111 | 2,435556 | 2,723333 | 3,922222 | -        | -        | -        | -        |
| B8  | sol yara | 3,976667 | 4,162222 | 3,384444 | -        | 1,214444 | 0,532222 | 0,167778 | 0,11     |
|     | sağ yara | 3,504444 | 2,584444 | 1,356667 | -        | 0,731111 | 0,391111 | 0,143333 | 0,081111 |
| B9  | sol yara | 3,923333 | 3,533333 | 1,468889 | -        | 0,936667 | 0,531111 | 0,144444 | 0,161111 |
|     | sağ yara | 4,794444 | 3,682222 | 1,224444 | -        | 0,676667 | 0,21     | 0,108889 | 0,044444 |

**Çizelge. 3.14** Devam. Deney aşamasında kullanılan 56 ratın sırt bölgesindeki ikişer adet deneysel yaraların alanlarının (cm<sup>2</sup>) zamana göre değişimi.

|     |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| B10 | sol yara | 3,911111 | 3,098889 | 1,126667 | -        | 0,501111 | 0,095556 | 0        | 0        |
|     | sağ yara | 3,131111 | 2,58     | 0,747778 | -        | 0,256667 | 0,033333 | 0        | 0        |
| B11 | sol yara | 4,823333 | 3,372222 | 3,183333 | -        | 1,291111 | 0,454444 | 0,061111 | 0        |
|     | sağ yara | 3,573333 | 2,621111 | 1,131111 | -        | 0,407778 | 0,105556 | 0,068889 | 0        |
| B12 | sol yara | 3,334444 | 2,533333 | 1,553333 | -        | 0,614444 | 0,117778 | 0        | 0        |
|     | sağ yara | 2,571111 | 1,813333 | 2,162222 | -        | 0,761111 | 0,217778 | 0,145556 | 0,096667 |
| B13 | sol yara | 3,122222 | 3,048889 | 1,815556 | -        | 1,071111 | 0,454444 | 0,137778 | 0,021111 |
|     | sağ yara | 2,418889 | 1,917778 | 1,92     | -        | 0,975556 | 0,626667 | 0,176667 | 0,083333 |
| B14 | sol yara | 3,581111 | 3,247778 | 2,087778 | -        | 0,8      | 0,19     | 0,053333 | 0,018889 |
|     | sağ yara | 3,214444 | 2,528889 | 1,211111 | -        | 0,752222 | 0,2      | 0,098889 | 0,087778 |
| C1  | sol yara | 3,637778 | 3,075556 | 3,048889 | 3,032222 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,158889 | 2,502222 | 1,423333 | 1,386667 | -        | -        | -        | -        |
| C2  | sol yara | 4,343333 | 4,102222 | 3,18     | 3,382222 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,525556 | 3,146667 | 2,101111 | 1,535556 | -        | -        | -        | -        |
| C3  | sol yara | 4,412222 | 3,501111 | 1,283333 | 0,976667 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,478889 | 2,927778 | 1,702222 | 0,661111 | -        | -        | -        | -        |
| C4  | sol yara | 3,598889 | 2,856667 | 2,627778 | 2,712222 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,467778 | 2,567778 | 3,182222 | 1,283333 | -        | -        | -        | -        |
| C5  | sol yara | 4,881111 | 3,321111 | 3,097778 | 1,655556 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,661111 | 2,118889 | 1,228889 | 1,06     | -        | -        | -        | -        |
| C6  | sol yara | 3,613333 | 3,445556 | 1,782222 | 1,185556 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,107778 | 1,984444 | 2,695556 | 0,786667 | -        | -        | -        | -        |
| C7  | sol yara | 3,884444 | 3,406667 | 3,096667 | 1,004444 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,93     | 3,171111 | 1,206667 | 0,832222 | -        | -        | -        | -        |

**Çizelge. 3.14** Devam. Deney aşamasında kullanılan 56 ratın sırt bölgesindeki ikişer adet deneysel yaraların alanlarının (cm<sup>2</sup>) zamana göre değişimi.

|     |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| C8  | sol yara | 2,218889 | 2,651111 | 2,502222 | -        | 0,893333 | 0,608889 | 0,134444 | 0,008889 |
|     | sağ yara | 2,538889 | 2,857778 | 2,127778 | -        | 0,582222 | 0,188889 | 0        | 0        |
| C9  | sol yara | 3,643333 | 2,927778 | 1,206667 | -        | 0,451111 | 0,231111 | 0,092222 | 0,08     |
|     | sağ yara | 2,1      | 2,083333 | 2,142222 | -        | 0,681111 | 0,184444 | 0,142222 | 0,103333 |
| C10 | sol yara | 3,874444 | 3,47     | 2,587778 | -        | 1,028889 | 0,293333 | 0,11     | 0        |
|     | sağ yara | 3,527778 | 3,128889 | 1,296667 | -        | 0,442222 | 0,037778 | 0        | 0        |
| C11 | sol yara | 3,657778 | 3,127778 | 2,525556 | -        | 2,423333 | 0,898889 | 0,263333 | 0,098889 |
|     | sağ yara | 3,954444 | 3,402222 | 1,982222 | -        | 0,848889 | 0,147778 | 0        | 0        |
| C12 | sol yara | 3,62     | 3,155556 | 1,907778 | -        | 1,628889 | 0,323333 | 0,14     | 0,073333 |
|     | sağ yara | 3,118889 | 2,65     | 1,163333 | -        | 0,451111 | 0,114444 | 0        | 0        |
| C13 | sol yara | 3,078889 | 3,363333 | 2,842222 | -        | 2,495556 | 2,168889 | 0,113333 | 0        |
|     | sağ yara | 2,368889 | 3,115556 | 1,203333 | -        | 0,408889 | 0,208889 | 0        | 0        |
| C14 | sol yara | 3,833333 | 3,475556 | 3,085556 | -        | 1,122222 | 0,422222 | 0,133333 | 0,083333 |
|     | sağ yara | 2,262222 | 2,448889 | 1,226667 | -        | 0,475556 | 0,092222 | 0,051111 | 0        |
| D1  | sol yara | 3,941111 | 4,322222 | 3,482222 | 2,382222 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,565556 | 3,426667 | 3,027778 | 1,34     | -        | -        | -        | -        |
| D2  | sol yara | 3,895556 | 4,144444 | 4,223333 | 3,78     | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,276667 | 3,362222 | 1,512222 | 0,601111 | -        | -        | -        | -        |
| D3  | sol yara | 4,205556 | 4,467778 | 3,647778 | 2,211111 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,028889 | 2,935556 | 2,807778 | 1,147778 | -        | -        | -        | -        |
| D4  | sol yara | 4,781111 | 5,852222 | 3,866667 | 1,761111 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 2,17     | 2,608889 | 0,656667 | 0,361111 | -        | -        | -        | -        |
| D5  | sol yara | 2,943333 | 3,343333 | 2,898889 | 1,916667 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,363333 | 2,673333 | 1,641111 | 0,873333 | -        | -        | -        | -        |

**Çizelge. 3.14** Devam. Deney aşamasında kullanılan 56 ratın sırt bölgesindeki ikişer adet deneysel yaraların alanlarının (cm<sup>2</sup>) zamana göre değişimi.

|     |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| D6  | sol yara | 2,551111 | 2,65     | 1,972222 | 0,69     | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,636667 | 3,064444 | 2,263333 | 1,525556 | -        | -        | -        | -        |
| D7  | sol yara | 3,953333 | 3,905556 | 2,594444 | 2,567778 | -        | -        | -        | -        |
|     | sağ yara | 3,088889 | 3,853333 | 1,941111 | 0,61     | -        | -        | -        | -        |
| D8  | sol yara | 2,863333 | 2,872222 | 2,047778 | -        | 1,661111 | 0,112222 | 0        | 0        |
|     | sağ yara | 3,218889 | 3,591111 | 2,778889 | -        | 1,323333 | 0,766667 | 0        | 0        |
| D9  | sol yara | 4,418889 | 4,132222 | 3,478889 | -        | 1,277778 | 0,683333 | 0,535556 | 0        |
|     | sağ yara | 3,281111 | 3,545556 | 1,748889 | -        | 0,733333 | 0,132222 | 0,026667 | 0        |
| D10 | sol yara | 4,332222 | 4,35     | 3,585556 | -        | 2,002222 | 0,472222 | 0        | 0        |
|     | sağ yara | 2,954444 | 2,801111 | 2,712222 | -        | 0,438889 | 0,275556 | 0        | 0        |
| D11 | sol yara | 3,963333 | 4,698889 | 2,477778 | -        | 1,528889 | 0,642222 | 0,125556 | 0        |
|     | sağ yara | 2,385556 | 3,675556 | 1,554444 | -        | 0,406667 | 0,23     | 0,022222 | 0        |
| D12 | sol yara | 4,663333 | 4,793333 | 3,09     | -        | 0,866667 | 0,654444 | 0,238889 | 0,072222 |
|     | sağ yara | 5,411111 | 6,302222 | 2,777778 | -        | 1,714444 | 0,624444 | 0,381111 | 0,056667 |
| D13 | sol yara | 5,022222 | 5,245556 | 4,935556 | -        | 2,834444 | 0,901111 | 0        | 0        |
|     | sağ yara | 2,26     | 1,896667 | 1,498889 | -        | 0,253333 | 0,174444 | 0,078889 | 0        |
| D14 | sol yara | 3,471111 | 3,527778 | 1,444444 | -        | 0,82     | 0,056667 | 0        | 0        |
|     | sağ yara | 3,125556 | 3,243333 | 1,232222 | -        | 0,448889 | 0,131111 | 0,054444 | 0        |

Deney aşamasında klinik olarak; C ve D gruplarındaki deneklerin (Propolisli farmasötik şekiller kullanılan) A ve B grubundaki deneklere göre yaralarının daha hızlı kapandığı gözlemlendi. Grupların sağ yara alanlarının ortalama±standart sapma değerleri Çizelge. 3.15'te, sol yara alanlarının ortalama±standart sapma değerleri ise Çizelge. 3.16'da günler itibariyle aritmetik ortalama±standart sapma değerleri şeklinde gösterildi. Sağ ve sol yara alanlarının zamana bağlı değişimi ise Şekil 3.23 ve 3.24'te verildi.

Kruskal Wallis test sonuçlarına göre; gruplar arasında 2. gün sağ taraf yaralarında anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0,986$ ). Sağ yara alanlarına ait diğer deney günlerinin grupların ikili karşılaştırılması Çizelge 3.15'te verildi.

**Çizelge. 3.15** Deney aşamasında kullanılan 56 ratın deneysel sağ yara alanlarının aritmetik ortalama±standart sapma değerleri.

|   | 2. GÜN                    | 4. GÜN                                      | 6. GÜN                                      | 7. GÜN                                      | 8. GÜN                                      | 10. GÜN                                       | 12. GÜN                                       | 14. GÜN                                       |
|---|---------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| A | 3,0948<br>±0,74556<br>8   | 2,936587±<br>0,613146 <sup>(B)</sup>        | 2,482778±<br>0,773074 <sup>(B,<br/>C)</sup> | 2,095714±<br>0,881620 <sup>(C,<br/>D)</sup> | 1,329365±<br>0,425983 <sup>(B,<br/>C)</sup> | 0,620318±0,<br>205826 <sup>(B,C,D<br/>)</sup> | 0,285714±0,<br>170370 <sup>(B,C,D<br/>)</sup> | 0,236667±0,<br>134439 <sup>(B,C,D<br/>)</sup> |
| B | 3,134682<br>±0,67600<br>2 | 2,376667±<br>0,494689 <sup>(A,<br/>D)</sup> | 1,592222±<br>0,587284 <sup>(A)</sup>        | 1,553968±<br>1,078487                       | 0,651587±<br>0,241328 <sup>(A)</sup>        | 0,254921±0,<br>197724 <sup>(A)</sup>          | 0,106032±0,<br>058629 <sup>(A,C)</sup>        | 0,056190±0,<br>041726 <sup>(A,D)</sup>        |
| C | 3,014365<br>±0,66166<br>5 | 2,721825±<br>0,455180 <sup>(D)</sup>        | 1,763016±<br>0,633361 <sup>(A)</sup>        | 1,077937±<br>0,333216 <sup>(A)</sup>        | 0,555714±<br>0,160304 <sup>(A)</sup>        | 0,139206±0,<br>061308 <sup>(A)</sup>          | 0,027619±0,<br>054006 <sup>(A,B)</sup>        | 0,014762±0,<br>039056 <sup>(A)</sup>          |
| D | 3,197619<br>±0,78289<br>5 | 3,355714±<br>0,994684 <sup>(C,<br/>B)</sup> | 2,010952±<br>0,721765                       | 0,922698±<br>0,429584 <sup>(A)</sup>        | 0,759841±<br>0,549314                       | 0,333492±0,<br>255970 <sup>(A)</sup>          | 0,080476±0,<br>135587 <sup>(A)</sup>          | 0,008095±0,<br>021418 <sup>(A,B)</sup>        |

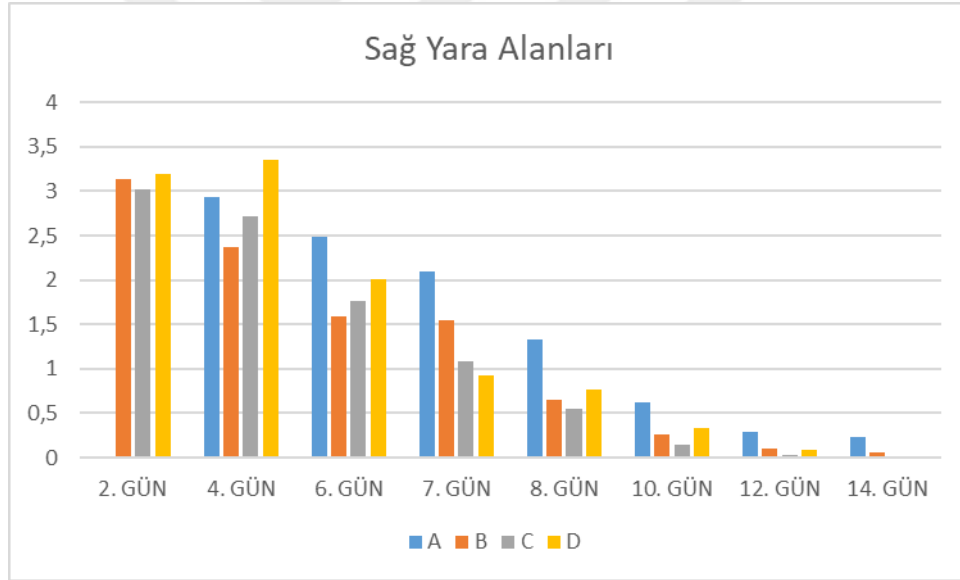
Not: İlgili günde gruplararası ikili karşılaştırmalarda, 0.05 anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

Kruskal Wallis test sonuçlarına göre; gruplar arasında 2. gün, 7. gün ve 10. gün sol taraf yaralarında anlamlı bir fark görülmedi (sırayla;  $p=0,510$ ;  $p=0,954$  ve  $p=0,052$ ). Sol yara alanlarına ait diğer deney günlerinin grupların ikili karşılaştırılması Çizelge 3.16'da verildi.

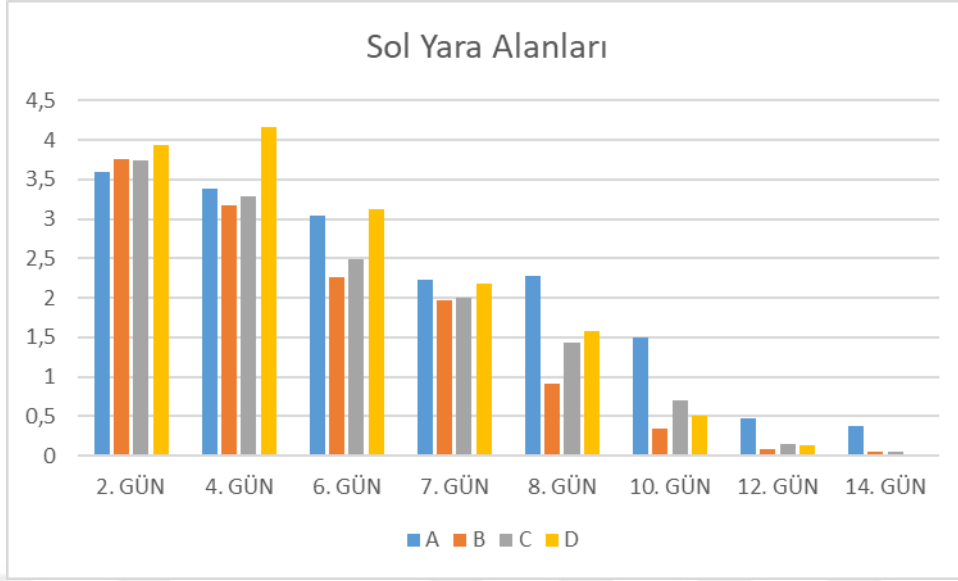
**Çizelge. 3.16** Deney aşamasında kullanılan 56 ratın deneysel sol yara alanlarının ortalama±standart sapma değerleri.

|   | 2. GÜN                    | 4. GÜN                                   | 6. GÜN                                 | 7. GÜN                    | 8. GÜN                                 | 10. GÜN                   | 12. GÜN                                  | 14. GÜN                                  |
|---|---------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| A | 3,586984<br>±0,58592<br>5 | 3,377619±0,<br>658805 <sup>(D)</sup>     | 3,042302±0<br>,542689 <sup>(B,C)</sup> | 2,233810<br>±1,01777<br>5 | 2,274603±0<br>,941563 <sup>(B)</sup>   | 1,494286<br>±0,98022<br>0 | 0,464921±0,<br>197410 <sup>(B,C,D)</sup> | 0,381587±0,<br>205058 <sup>(B,C,D)</sup> |
| B | 3,751587<br>±0,64055<br>3 | 3,165397±0,<br>500621 <sup>(D)</sup>     | 2,261984±0<br>,649011 <sup>(A,D)</sup> | 1,960159<br>±0,60957<br>9 | 0,918413±0<br>,297419 <sup>(A,D)</sup> | 0,339365<br>±0,19634<br>2 | 0,080635±0,<br>069596 <sup>(A)</sup>     | 0,044444±0,<br>064591 <sup>(A)</sup>     |
| C | 3,735555<br>±0,61974<br>9 | 3,277143±0,<br>354149 <sup>(D)</sup>     | 2,483889±0<br>,678063 <sup>(A)</sup>   | 1,992698<br>±1,02495<br>6 | 1,434762±0<br>,781385                  | 0,706667<br>±0,68428<br>3 | 0,140952±0,<br>056530 <sup>(A)</sup>     | 0,049206±0,<br>044029 <sup>(A,D)</sup>   |
| D | 3,928968<br>±0,74203<br>4 | 4,164682±0,<br>875358 <sup>(A,B,C)</sup> | 3,124683±0<br>,954305 <sup>(B)</sup>   | 2,186984<br>±0,93245<br>2 | 1,570159±0<br>,699785 <sup>(B)</sup>   | 0,503174<br>±0,31256<br>9 | 0,128572±0,<br>201634 <sup>(A)</sup>     | 0,010317±0,<br>027297 <sup>(A,C)</sup>   |

Not: İlgili günde gruplararası ikili karşılaştırmalarda, 0.05 anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.



**Şekil 3.23** Deney gruplarının sağ yara alanlarının deney süresince değişimi.



**Şekil 3.24** Deney gruplarının sol yara alanlarının deney süresince değişimi.

### 3.4. Biyokimyasal (Hidroksiprolin) Analizler

Bu çalışmada deneysel yara oluşturulan 56 adet sıçandan biyokimyasal incelemeler için toplanan deri örneklerindeki hidroksiprolin miktarları ölçüldü. Deneklerin hidroksiprolin miktarları ve hidroksiprolin miktarlarının aritmetik ortalama±standart sapma değerleri Çizelge 3.17 ve 3.18’de ve Şekil 3.25’te gösterildi.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre 7. ve 14. günlerde hidroksiprolin miktarları yönünden gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık vardır (yedinci gün  $p=0,0001$ ; 14. gün  $p=0,0003$ ) ve gruplar ortalama sıralama değerlerine göre yedinci günde Sağlam Deri>B>A>D>C şeklinde, 14. günde ise A>Sağlam Deri> B>C>D şeklinde sıralanmaktadır. Grupların 7. gün hidroksiprolin miktarlarının ikili karşılaştırma sonuçları Çizelge 3.17’de, 14. gün ikili karşılaştırma sonuçları Çizelge 3.18’de gösterildi.

**Çizelge. 3.17** Sağlam deri örnekleri ve 7. gün sonlandırılan alt grupların deri örneklerindeki hidroksipirolin miktarları ve ortalama±standart sapma değerleri. (değerler µg/µl cinsindedir.)

| 0. gün                            | A1                               | B1                               | C1                               | D1                               |
|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1,6421                            | 1,4534                           | 1,3777                           | 0,9288                           | 1,1825                           |
| 1,7486                            | 1,6337                           | 1,4085                           | 0,9509                           | 1,1776                           |
| 1,7295                            | 1,5614                           | 1,7679                           | 1,0097                           | 1,2558                           |
| 1,7148                            | 1,4176                           | 1,5983                           | 1,2364                           | 1,2585                           |
| 1,6552                            | 1,6837                           | 1,473                            | 1,2225                           | 0,9969                           |
| 1,6908                            | 1,173                            | 1,4613                           | 1,2562                           | 1,3799                           |
| 1,663                             | 1,5817                           | 1,5325                           | 1,2669                           | 1,2326                           |
| 1,6920±0,040 <sup>(A,B,C,D)</sup> | 1,5006±0,1722 <sup>(S,C,D)</sup> | 1,5170±0,1329 <sup>(S,C,D)</sup> | 1,1245±0,1535 <sup>(S,A,B)</sup> | 1,2120±0,1162 <sup>(S,A,B)</sup> |

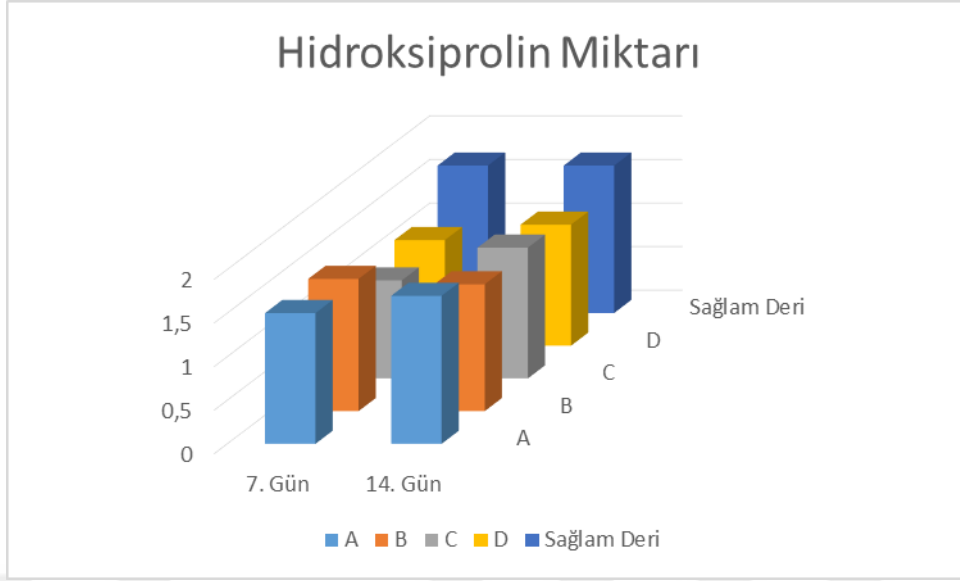
Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

**Çizelge. 3.18** Sağlam deri örnekleri ve 14. gün sonlandırılan alt grupların deri örneklerindeki hidroksipirolin miktarları ve ortalama±standart sapma değerleri. (değerler µg/µl cinsindedir.)

| 0. gün                        | A2                               | B2                           | C2                             | D2                             |
|-------------------------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1,6421                        | 1,7267                           | 1,4081                       | 1,6912                         | 1,5208                         |
| 1,7486                        | 1,7081                           | 1,5289                       | 1,4481                         | 1,4625                         |
| 1,7295                        | 1,7327                           | 1,6569                       | 1,5637                         | 1,2965                         |
| 1,7148                        | 1,6775                           | 1,6103                       | 1,5898                         | 1,3727                         |
| 1,6552                        | 1,6454                           | 0,6422                       | 1,3635                         | 1,2936                         |
| 1,6908                        | 1,6621                           | 1,5691                       | 1,5491                         | 1,4392                         |
| 1,663                         | 1,7304                           | 1,7711                       | 1,2987                         | 1,3383                         |
| 1,6920±0,040 <sup>(C,D)</sup> | 1,6976±0,0357 <sup>(B,C,D)</sup> | 1,4552±0,3755 <sup>(A)</sup> | 1,5006±0,1372 <sup>(S,A)</sup> | 1,3891±0,0874 <sup>(S,A)</sup> |

Not: Gruplararası ikili karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyine göre istatistiksel açıdan birbirinden farklı olan gruplar, her bir gruba ait Ort±SD değeri üzerinde grup simgesi olan harf ile üst simge olarak gösterildi.

Deneyin yedinci gününden 14. gününe hidroksipirolin miktarının grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılmasında; B grubunun alt grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,565$ ). A, C ve D gruplarının ikinci hafta sonlandırılan alt grupların ilk hafta sonlandırılan alt gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $A2>A1$   $p=0,006$ ;  $C2>C1$   $p=0,002$  ve  $D2>D1$   $p=0,009$ ). Şekil 3.25'te deney gruplarının yedinci ve 14. gün hidroksipirolin miktarlarının değerlerinin değişimi gösterildi.



**Şekil 3.25** Deney gruplarının sol yara alanlarının deney süresince değişimi.

#### 4. TARTIŞMA

Isıyı ve nemi düzenleme görevi yanında, derinin en önemli görevlerinden birisi de doğal bariyer fonksiyonudur. Böylece bağışıklık sisteminin bir elemanı olan deri, vücudu dış etkenlere karşı korur (Atakan, 2004). Canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasına yara denilmektedir (Lazarus ve ark., 1994). Yaralanma sonucu deri bütünlüğü bozulur ve derinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik dış etkenlere karşı bariyer özelliği kaybolur. Ayrıca; yaralanmayla birlikte, yaralanan organda fonksiyon bozukluğu şekillendiğinden canlının yaşam kalitesi de doğrudan etkilenmektedir (Atakan, 2004; Ferreira ve ark., 2006 ;Pillai ve ark., 2010).

Yara iyileşmesi; birçok hücre hattı, kimyasal mediyatör ve hücreler arası doku proteinleri arasındaki etkileşimle şekillenen, vücudun yaraya karşı verdiği temel bir cevap niteliğindedir (Pillai ve ark., 2010). Bu mekanizma başlıca; inflamasyon, proliferasyon ve olgunlaşma olmak üzere 3 ana döneme ayrılmaktadır (Clark, 1985). Yara iyileşmesinin bu ana dönemleri içerisinde; pıhtılaşma, inflamasyon, hücreler arası doku proteinlerinin üretilmesi, anjiyogenesis, fibroplazi, reepitelizasyon, kontraksiyon gibi birçok olgu belli bir sıra ile şekillenmektedir (Pillai ve ark., 2010). Fakat yaranın mikroorganizma yükü, yara yatağındaki nekrotik doku miktarı, yara bölgesindeki damar yoğunluğu gibi birçok değişkene bağlı olarak bu ana dönemlerde geçen süre ve bu dönemlerin şiddeti farklılık gösterir (Şentürk, 2013). Yara iyileşmesinin hızlı şekilde gerçekleşmediği durumlarda ise enfeksiyonla sıklıkla karşılaşmaktadır (Greenhalgh ve ark., 1990).

Yaranın iyileşmesi tarih boyunca insanların dikkatini çekmiştir ve yaranın başarılı şekilde iyileşmesini sağlamak için çeşitli yöntemler denenmiştir (Shah, 2011). Yara sağaltımında; oluşturulmak istenilen etkiye göre yara iyileşmesinin farklı evrelerine müdahale edilmektedir. Yaranın özelliğine uygun sağaltım yönteminin tercih edilmesiyle, yara iyileşme sürecine olumlu etki sağlanır ve oluşabilecek komplikasyonlar engellenir (Velnar ve ark., 2009). Başarılı bir yara iyileşmesinden söz edilebilmesi için; yaralanan organın kaybettiği fonksiyonunun geri kazanılması,

hatalı yara iyileşmesinin olmaması (keloid, fibrozis veya taşkın granülasyon gibi), üretilen skar dokusunun dayanıklı olması oldukça önemlidir (Boateng ve ark., 2008).

Propolis, yara tedavisi açısından günümüzde dikkat geçen bir apiterapi ürünüdür (Adışen ve ark., 2007; Banskota ve ark., 2001; Burdock, 1998; Deniz, 2010; Ghisalberti, 1979). Propolisin içerisinde 300'den fazla farklı bileşik bulunmaktadır. Propolisin farmakolojik etkileri, içerdiği fenolik yapıdaki bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Propolisin içerdiği ve etkisinden sorumlu olan fenolik maddelerin kompozisyonu flora, mevsim ve rakıma bağlı değişim gösterebilmektedir (Huang ve ark., 2014; Ghisalberti, 1979; Oruç ve ark., 2014). Ayrıca, propolisin içerisinde yer alan farklı fenolik maddelerin propolisin çeşitli farmakolojik etkilerinin oluşmasında sinerjik etki gösterdikleri düşünülmektedir (Banskota ve ark., 2001). Propolisin sahip olduğu farmakolojik etkilerinden özellikle antineoplastik, antibakteriyel, antiviral, antiparaziter hepatoprotektif, antiinflamatuvar, bağışıklık düzenleyici, yara iyileştirici/doku rejenerasyonunu arttırıcı etkileri özellikle dikkat çekicidir (Banskota ve ark., 2001; Marcucci, 1995).

Propolisin iyileştirici etkisinin araştırıldığı literatürdeki deneysel yara modeli çalışmalarında; ham propolisin deney aşamasından önce su, etanol, glikol, sulu alkol, gibi değişik çözücülerde ekstrakte edildiği görülmektedir (Albuquerque-Júnior ve ark., 2009; Almeida ve ark., 2013; Berretta ve ark., 2012; Moura ve ark., 2011a; Pillai ve ark., 2010). Tedavi edici maddenin, hastaya uygulanmadan önce saf olması gerekmektedir (Kaya ve ark., 2002). Bu sebeple, bal mumu yanında, yabancı cisimler ve bitki artıkları da içerebilen ham propolisi bu maddelerden arındırmak, içerdiği biyoetkin bileşikleri saflaştırmak ve homojen hale getirmek amacıyla ekstraksiyon metotları uygulanmaktadır (Bankova ve ark., 2019; Billany, 2001). Bu çalışmada Ankara İli Kızılcahamam, Kalecik, Mamak, Beypazarı ilçelerinden 2017 yılı Nisan-Haziran döneminde toplanan beş adet propolis örneği, literatürdeki çalışmalarla uyumlu olacak şekilde etanol ile ekstrakte edildi.

Albuquerque-Júnior ve ark. (2009), El-Anwar ve ark., (2016), Haghighian ve ark., (2018), Pessolato ve ark. (2011), Sehn ve ark., (2009), Sezgin (2012) tarafından

yapılan hayvan deneyi çalışmalarında; propolislerin, oluşturulan deneysel yaralar üzerinde iyileştirici etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Ancak, bu çalışmalarda kullanılan propolislerin içeriğinin veya içerdiği maddelerin miktarlarının araştırıldığına dair bir bilgi bulunmamaktadır. Bir ilacın istenilen etkiyi oluşturulabilmesi için kullanılan etken maddelerin hedef organ veya dokuda belli bir yoğunluğa ulaşması ve bu yoğunlukta kalması gerekmektedir. Bu yoğunluğun altına düştüğünde istenilen etki sona erecektir (Kaya, 2002). Dolayısıyla deneysel bir çalışmada; tedavi edici etkinin hangi dozda, hangi biyoetkin bileşikten/bileşiklerin etkileşiminden kaynaklandığının anlaşılabilmesi açısından; propolisin içerdiği biyoetkin maddelerin neler olduğunun ve propolis içerisindeki miktarlarının ne kadar olduğunun bilinmesi oldukça önemlidir. Dolayısıyla, bahsedilen deneysel çalışmalarda gözlemlenen iyileştirici etkilerin propolis içerisindeki hangi biyoetkin bileşiğin, hangi oranda kullanılmasıyla elde edildiği konusu tartışmaya açıktır.

Yine literatürde bulunan ve propolisin yara iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bazı çalışmalarda kullanılan propolisin içerdiği fenolik maddelerden sadece bir kısmına bakıldığı, diğer bazı çalışmalarda ise madde tanımlaması yapılmadan propolisin içerdiği toplam fenolik maddelerin gallik asit cinsinden ( $\mu\text{g}$  GAE) veya toplam flavonoid maddelerin kuersetin cinsinden ( $\mu\text{g}$  QE) hesaplandığı görülmektedir (Almeida ve ark., 2013; Moura ve ark, 2011a; Pillai ve ark., 2010). Literatürde, propolisin yara iyileşmesi üzerine etkisinin incelendiği in vivo çalışmalar arasında; propolisin içerdiği biyoetkin bileşiklerin kapsamlı şekilde tanımlandığı ve miktarlarının saptandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönüyle değerlendirildiğinde; propolisin yara iyileştirici etkisi araştırılan in vivo çalışmalar arasında, bu tez çalışmasının propolisin içerdiği fenolik madde profilini kapsamlı şekilde incelemesi (Çizelge 3.1) yönüyle son derece önemli olduğu düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında; propolislerin içerik analizleri GC-MS ile gerçekleştirildi. GC-MS analizi sonuçlarına göre, kütlece %26,49 oranıyla en fazla fenolik madde ve türevlerine Beypazarı propolisi sahip olduğundan, bu çalışmanın deney aşamasında kullanılacak propolisli farmasötik şekillerin hazırlanmasında Beypazarı propolisi tercih edildi. Bu kapsamda; çalışmanın deney aşamasında kütlece (g/g) %25'lik

Beypazarı kuru propolisi ekstraktı içeren etanol çözeltisi (ekstrakt) ve yine kütlece %25'lik Beypazarı kuru propolisi ekstraktı içeren krem farmasötik şekillerinin yara iyileşmesi üzerine etkileri araştırıldı.

Yara iyileşme sürecinin başarısının değerlendirilmesine ilişkin literatürde çok farklı yöntemlerin kullanıldığı görülmektedir. Örneğin; yara gerilme kuvvetinin ölçülmesi, yara alanının ölçülmesi, klinik olarak yangının değerlendirilmesi, histopatolojik olarak yangının ve doku onarımının değerlendirilmesi, histopatolojik skorlama, histopatolojik olarak morfometrik analiz, hidroksipirolin miktarının ölçümü, biyokimyasal metotla enzimlerin ölçümü gibi birçok yöntem kullanılmaktadır (Khorasani ve ark., 2016; Moura ve ark, 2011a; Pessolato ve ark. 2011; Pillai ve ark., 2010; Sevin, 2018; Sezgin, 2012).

Bu çalışmada ise yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde; histopatolojik yöntemlerden Modifiye Greenhalgh Skorlama Sistemi, biyokimyasal yöntemlerden hidroksipirolin miktar tayini ve bu ana yöntemlere ek üçüncü bir yöntem olarak yara alanlarının ölçülmesi esas alındı. Modifiye Greenhalgh Skorlama Sisteminde yara iyileşmesine etki eden olgular birbirinden bağımsız olarak incelendiğinden ve bu inceleme sonucu oluşturulan skor değerleri istatistiksel yönden kıyaslanabildiğinden bu çalışmada histopatolojik inceleme için tercih edildi.

Çalışma kapsamında, yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntem ise hidroksipirolin miktarı ölçümüdür. Hidroksipirolin canlıda sadece kollajenin yapısında bulunan bir aminoasit türevi bileşik olduğundan, kollajenin varlığını ve miktarını saptamada spesifik/başarılı bir yöntem olarak kabul görmektedir (Reddy ve Enwemeka, 1996). Dolayısıyla bu çalışmada, kollajen birikimi hem Modifiye Greenhalgh Skorlama Sistemi kullanılarak histopatolojik yönden, hem de hidroksipirolin miktarı ölçümü yapılarak biyokimyasal yönden iki farklı metotla araştırıldı.

Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için her gruptan yedinci ve 14. günlerde yara örnekleri toplandı. Böylece yedinci günde ve 14. günde gruplar arası farklılıklar ile birlikte grup içindeki değişimler de araştırıldı.

Çalışma kapsamında yara iyileşmesinin takibinde yararlanılan üçüncü yöntem ise yara alanlarının ölçümüdür. Yara alanı ölçümü, iyileşme sürecinde şekillenecek olan yaranın kontraksiyonunun göstergesi olarak kabul edilir (Haghighian ve ark., 2018; Pillai ve ark., 2010; Sehn ve ark., 2009). Literatürde, yara alan ölçüm yöntemiyle ilgili olarak; mikrometrik düzeyde şekillenen kontraksiyon olgusu makroskobik boyutta ölçülmeye çalışıldığından sonuçların objektif olmadığı, bu yöntemin tek başına yeterli olmadığı belirtilmektedir (Sezgin, 2012). Bu çalışmada yara alan ölçümü yöntemi tek başına kullanılmayıp; diğer iki yöntem verileriyle karşılaştırılabilir bilgi üreteceği düşünüldüğünden, üçüncü bir değerlendirme kriteri olarak kabul edildi.

Yara iyileşme özelliklerinin incelendiği üç farklı metot tartışma bölümü kapsamında alt başlıklar halinde ayrı ayrı değerlendirildi. Bu kapsamda; akut yangı ile kronik yangı histopatolojik skorları ve kollajen birikimi histolojik skoru ile hidroksipirolin miktarı ölçüm sonuçları konu bütünlüğü açısından aynı alt başlıklar altında; diğer ölçüm ve skorların her biri de ayrı alt başlık şeklinde değerlendirildi.

#### **4.1. Akut Yangı ve Kronik Yangı**

Akut yangı, yangı alanına nötrofil infiltrasyonu; kronik yangı ise monosit/makrofaj infiltrasyonu ile karakterizedir (Abramov, 2007). Yangı alanında mikroorganizma kontaminasyonuna karşı ilk savunma hattını nötrofil infiltrasyonu, ikinci savunma hattını makrofaj infiltrasyonu oluşturmaktadır (Pillai ve ark., 2010).

Başarılı bir yara iyileşmesinin şekillenmesi için hücre proliferasyonu aşamasından önce yara yatağındaki mikroorganizmaların, nekrotik ve dejenere dokuların nötrofiller ve makrofajlar tarafından eritilmesi, fagosite edilmesi ve ortamdan lenf damarları vasıtasıyla uzaklaştırılması gerekmektedir (Erer ve ark.,

2007). Ayrıca; makrofajlar tarafından salınan çeşitli büyüme faktörleri yeni doku oluşumunu uyardığından, yara iyileşmesinin ikinci devresi olan proliferasyon evresine geçişte makrofaj etkinliği oldukça önemlidir (Clark, 1985; Steed, 1997). Diğer yandan, yangı; doku ve organ fonksiyon bozukluğu, ağrı, ateş gibi klinik belirtilere sebep olacağından, yangının yara alanıyla sınırlı kalması, doku hasarının hafif olması ve hızla sonuçlanması istenilen bir durumdur (Erer ve ark., 2007).

Moura ve ark. (2011b) tarafından yapılan bir yara modeli çalışması sonuçlarına göre; oral yolla deney süresi boyunca günlük 500 mg/kg dozda Brezilya yeşil propolisli sulu ekstraktı verilen deney grubuyla kontrol grubu arasında nötrofil infiltrasyonu açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Makrofaj infiltrasyonu açısından ise deneyin 7. gününde propolis grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış, 14. gününde propolis grubunda kontrol grubuna anlamlı bir azalış olduğu belirtilmiştir. Albuquerque-Júnior ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen in vivo yara modeli çalışmasında ise; % 0,1 oranında Brezilya kırmızı propolis ekstraktı içeren kollajen bazlı filmin ratlarda oluşturulan deneysel yaralar üzerindeki iyileştirici etkisi araştırılmış olup, çalışmanın sonuçlarına göre; deneyin yedinci gününde kontrol grubunda şiddetli akut yangı görülürken, aynı gün propolisli kollajen film ve boş kollajen film gruplarında kronik yangı gözlemlendiği, deneyin 14. gününde kontrol grubunda hafif, propolisli kollajen film ve boş kollajen film gruplarında fark edilmeyecek düzeyde kronik yangı bulunduğu belirtilmiştir.

Moura ve ark. (2011a) tarafından yapılan bir başka in vivo çalışmada ise; sırtlarında insizyon yarası oluşturulan farelere oral yolla verilen günlük 500 mg/kg dozunda Brezilya yeşil propolis ekstraktının iyileştirici etkisi araştırılmış olup, yangısal hücre infiltrasyonunun kontrol gruplarına göre azaldığı gözlemlenmiştir. Almeida ve ark., (2013) tarafından yapılan deneysel çalışmada ise; wistar albino sıçanların sırt bölgesinde yanık yarası oluşturularak % 0,5 yeşil propolis ekstraktlı kollajen film, % 1 yeşil propolis ekstraktlı kollajen film, % 0,5 kırmızı propolis ekstraktlı kollajen film deneysel yaralara topikal olarak uygulanmış olup, çalışma sonucunda kırmızı ve yeşil propolis gruplarının inflamasyon cevabı dikkat çekici derecede azalttığı bulunmuştur. Yapılan bir başka deneysel çalışmada, wistar albino

sıçanların sırt bölgesinde yanık yarası oluşturularak, % 5 propolis merheminin ve amniyon greftinin iyileştirici etkisi araştırılmış olup, çalışma sonucunda, propolis ve amniyon grubunda kontrol grubuna oranla 7. günde yangıyı azalttığı, kontrol grubunda 14. günde halen yangı devam ettiği gözlemlenmiştir (Pessolato ve ark. 2011).

McLennan ve ark., (2008) tarafından gerçekleştirilen bir hayvan deneyi çalışmasında; diyabetli ve sağlıklı sıçanlardan oluşan deneklerin sırt bölgesinde oluşturulan eksizyon yaralarına 400 mg/ml yoğunluğunda propolis içeren bir ticari ürünün 20 µl günlük dozunda topikal olarak uygulanması sonucu iyileştirici etkileri araştırılmıştır. Deney sonuçlarına göre diyabetli olmayan sıçanların bulunduğu yaralarına sadece PBS uygulanan grup ile topikal olarak propolis ürünü kullanılan gruplar arasında deneyin altıncı gününde nötrofil ve makrofaj infiltrasyon oranlarının benzer yoğunlukta olduğu, deneyin 12. gününde ise yine benzer oranda nötrofil ve makrofaj infiltrasyon oranlarının düştüğü belirtilmiştir.

Bu tez çalışmasında; yedinci gün akut yangı skor değerleri sonuçlarına göre; en şiddetli akut yangısal cevap A grubunda görüldü. Gruplar arasında akut yangı şiddetine göre sıralama A>D>C>B şeklinde gerçekleşti. Gruplar arası istatistiksel olarak ikili karşılaştırmada sadece B-A ve C-A grupları arasında anlamlılık düzeyinde farklılık bulunduğu görüldü. Yedinci gün kronik yangı skorları sonuçlarına göre ise; en şiddetli kronik yangısal cevap D grubunda tespit edildi. Gruplar arasında kronik yangı şiddetine göre sıralama D>B>C>A şeklinde gerçekleşti ve gruplar arası istatistiksel olarak ikili karşılaştırılmasında; sadece A-B ve A-D grupları arasında anlamlı farklılık bulunduğu görüldü. Akut ve kronik yangı skorlarının 14. gün sonuçlarına göre; gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık bulunmamaktadır. Deneyin yedinci gününden 14. gününe akut ve kronik yangı cevabı yönünden görülen değişim propolisli gruplarda anlamlı düzeyde farklı değildir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre; deneyin yedinci gününde A grubunda şiddetli akut yangı görülürken, propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı gruplar olan C ve D gruplarında ve baz krem uygulanan B grubunda deneyin yedinci gününde akut yangının baskılandığı ve kronik yangısal cevabın uyarıldığı görülmektedir.

Bu tez çalışmasının akut ve kronik yangı sonuçları Moura ve ark. (2011b) ve Albuquerque-Júnior ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Moura ve ark. (2011a), Almeida ve ark. (2013) ve Pessolato ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmalarda akut ve kronik yangı ayrımı yapılmadığından, bu çalışmalardaki propolisin yangısal cevabı azalttığı yönündeki sonuçların, bu tez çalışmasıyla kısmen uyumluluk gösterdiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın akut ve kronik yangı sonuçlarıyla McLennan ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları örtüşmemektedir. Bu farklılıkların sebebinin kullanılan propolis ekstraktlarının dozu, içerdikleri biyoetkin madde miktar ve kompozisyonu, ekstraksiyon metodu gibi farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, propolis ekstraktı içeren krem uygulanan D grubu; hem C grubuna uygulanan propolis ekstraktına, hem de B grubuna uygulanan baz krema aynı anda sahiptir. Ancak, D grubunun akut ve kronik yangı üzerine etkileri yönünden B ve C gruplarıyla arasında istatistiksel anlamlılık düzeyinde bir farklılık bulunmamaktadır. Buradan anlaşılabileceği üzere; akut yangının baskılanması ve kronik yangının uyarılması konusunda B ve C gruplarında görülen etkiler, bileşke halinde propolisli krem uygulanan D grubunda görülmedi. Propolisli farmasötik şekillerin deneyin yedinci gününde akut yangı azaltıcı ve kronik yangı uyarıcı özellikleri ancak baz kremin şekillendirdiği etki şiddeti kadar oluşmaktadır. Bu duruma ek olarak; deneyin 14. gün verilerine göre gruplar arasında akut ve kronik yangı yönünden anlamlı farklılık bulunmadığından, deneyin yedinci günü kronik yangıyı A grubuna göre daha şiddetli uyaran B, C ve D gruplarının, yangı şiddetini deneyin 14. gününde A grubunun gösterdiği kronik yangı seviyesine hafiflettiği anlaşılmaktadır, propolisli farmasötik şekillerin kronik yangı şiddetini devam ettirmemesi sebebiyle inflamasyon fazının uzamasını engellediği, bu durumun inflamasyon devresinden proliferasyon devresine geçişi destekleyerek yara iyileşme süresinin kısalmasına katkı sağladığı düşünülmektedir.

#### 4.2. Granulasyon Dokusu Miktarı

Yara boşluğunu dolduran yangı hücreleri, fibroblast, endotel hücreleri, miyofibroblast ve hücreler arası matrikste yer alan kollajen ve GAG bileşikleri ile yeni şekillenen kapillar damarlarından oluşan bu yeni dokuya “granulasyon dokusu” denilmektedir (Stadelmann ve ark., 1998). Granulasyon dokusu, yara alanında bulunan fibrinin yerini alan, içerdiği fibroblastlarca kollajen birikimini sağlayan, zamanla yerini skar dokusuna bırakacak olan yeni bir dokudur (Erer ve ark., 2007). Yara iyileşmesinin aksaması granulasyon dokunun geç şekillenmesiyle karakterizedir (Greenhalgh ve ark., 1990).

Granulasyon dokusunun yeterli miktarda oluşması, ilerleyen dönemlerde granulasyon dokusunun yerini alacak olan hücre yönünden fakir kollajen yönünden zengin skar dokusunun dayanıklılığı için oldukça önemlidir.

Almeida ve ark. (2013) tarafından yürütülen çalışmada propolisli gruplarda kontrol grubuna göre daha erken dönemlerde granulasyon dokusu olduğu gözlemlenmiştir. Sehn ve ark. (2009) tarafından yürütülen çalışmada; deneyin dördüncü gününde propolisli merhem grubu ile baz krem grubunda benzer olarak yangısal hücre ve damar yönünden zengin bol miktarda granulasyon dokusu bulunuyorken, deneyin yedinci gününde anılan her iki grubun granulasyon dokusunda yangı hücrelerinin azaldığı ve kollajen birikiminin arttığı gözlemlenmiştir. Bir başka hayvan deneyi çalışmasında; deneyin üçüncü gününde bütün gruplarda olgunlaşmamış granulasyon dokusunun gözlemlendiği, deneyin yedinci gününde hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubunda granulasyon dokusuna halen akut yangı hakimken, propolissiz kollajen film grubuyla propolisli kollajen film grubunda bol miktarda granulasyon dokusu gözlemlendiği belirtilmiştir (Albuquerque-Júnior ve ark., 2009).

Bu çalışmanın granulasyon dokusu skor sonuçlarına göre; gruplar arasında anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmamakla birlikte granulasyon dokusu miktarının yedinci günde gruplar arasında  $D > C = B > A$  şeklinde, 14. günde  $A > D > C > B$  şeklinde sıralandığı gözlemlendi. Zaman açısından grup içi granulasyon dokusu miktarı

değişiminde ise A grubu hariç diğer grupların 14. gün granülasyon dokusu miktarları 7. gün değerlerine göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Dolayısıyla hem propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı gruplar olan C ve D gruplarında ve hem de baz krem uygulanan B grubunda; granülasyon dokusu gelişimini 7. günde A (kontrol) grubuna oranla hafif şekilde daha fazla uyardığı, deneyin 7. gününden 14. gününe gelindiğinde ise B, C ve D gruplarının granülasyon dokusu hacmini anlamlı şekilde küçülterek 14. günde A grubu seviyesine getirdikleri görülmektedir. Granülasyon dokusu, fibroblast, kollajen ve yeni şekillenen damarlar yanında yangı hücrelerini de içermektedir. Bu çalışma gruplarından B, C ve D gruplarının kronik yangısal cevaplarının yedinci günde A grubuna göre anlamlı olarak yüksek olması, sonrasında 14. güne gelindiğinde A grubuyla aynı seviyeye gerilemesi dikkate alındığında, B, C ve D gruplarında görülen yedinci gün ile 14. gün arasındaki anlamlı farklılıkların granülasyon içindeki kronik yangıyı oluşturan makrofaj hücrelerinin azalmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı C ve D gruplarında diğer gruplardan granülasyon dokusu gelişimi yönüyle anlamlı bir farklılık görülemediğinden Ankara propolisinin yara iyileşmesinde granülasyon dokusu gelişimi üzerinde dikkate değer bir özelliğinin bulunmadığı düşünülmektedir.

Yukarıda yer alan çalışmaların sonuçlarıyla bu çalışmanın sonuçları, kısmen benzerlik göstermektedir. Öte yandan literatürde, bu çalışmanın sonuçlarıyla uyum göstermeyen çalışmalar da bulunmaktadır. Moura ve ark, (2011a) tarafından yürütülen bir çalışmada; kontrol grubunda propolis grubuna göre daha fazla yangı ve daha fazla granülasyon dokusu saptanmıştır. Propolisin granülasyon dokusu oluşumuna ilişkin literatürdeki bu farklılıkların sebebinin kullanılan propolisin biyoaktif madde kompozisyonunun farklılığından, kullanılan doz farklılığından ve denek türünün farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

### 4.3. Granulasyon Dokusu/Fibrosit Olgunlaşması

Olgun granulasyon dokusu; baskın hücrelerin fibroblastlar olduğu, yaygın şekilde kollajen birikimi görülen, damar yönünden zengin, bol hacimli granulasyon dokusudur (Greenhalgh ve ark., 1990). Granulasyon dokusu, yara alanında bulunan fibrinin yerini alan, içerdiği fibroblastlarca kollajen birikimini sağlayan ve yaralanmadan yaklaşık 3 hafta sonra hücresel özellikleri gerileyip kollajen ve diğer hücreler arası matriks yönünden zengin özellik kazanarak yerini kalıcı skar dokusuna bırakacak olan yeni bir dokudur (Erer ve ark., 2007). Normal bir yara iyileşmesinde, fibroblast çoğalması ve aktivitesi yara iyileşmesinin ikinci aşaması olan hücre proliferasyonu aşamasında görülebilmektedir. Yara iyileşmesinin üçüncü dönemi olan doku olgunlaşması fazı fibroblastik aktiviteyle yakından ilgilidir. Çünkü, aktif fibroblastların kollajen üretimi sonucu hücrelerarası matrikste birikecek olan uygun miktardaki kollajen skar dokusu için oldukça önemlidir (Kılıçoğlu ve ark., 2008). Bu sebeple, dokunun devamlılığını ve gerilimini sağlayacağından, kollajen birikimi yönünden zengin bir olgunlaşmış granulasyon dokusu formasyonu başarılı bir yara iyileşmesi için arzulanan bir durumdur.

Kılıçoğlu ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada; deneysel olarak kolon rezeksiyonu oluşturulan Wistar Albino ratlara oral yolla günlük 100 mg/kg dozunda verilen propolis ekstraktının; anastamoz şekillenmesi ve yara iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırılmış olup, propolis uygulanan grubun kontrol grubuna göre olgunlaşmış granulasyon doku gelişimini uyardığı tespit edilmiştir.

Yukarıda özetlenen in vivo çalışmanın sonuçlarına granulasyon dokusu olgunlaşması yönünden bu çalışmada da benzer sonuçlar elde edildi. Bu tez çalışmasında; yedinci gün granulasyon dokusu/fibroblast olgunlaşması skor değerleri sonuçlarına göre; en şiddetli granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması C grubu tarafından şekillendirildi. Gruplar arasında granulasyon dokusu/fibroblast olgunlaşması derecesine göre C>B>D>A şeklinde gerçekleşti. Gruplar arası ikili karşılaştırma sonucunda; sadece A-B, A-C grupları arasında anlamlılık düzeyinde fark bulundu. Granulasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması 14. gün skor değerleri yönünden

gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p= 0,254$ ). Deneyin yedinci gününden 14. gününe granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skorunun grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu; sadece A grubu içerisinde ( $A_2>A_1$ ,  $p= 0,015$ ) ve C grubu içerisinde ( $C_1>C_2$ ,  $p= 0,020$ ) görülen değişimde anlamlı farklılık bulunmaktadır. Bu çalışmanın granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşması skor sonuçlarına göre; propolis ekstraktı uygulanan C grubu ve baz krem uygulanan B grubu, uygulama yapılmayan A grubuna göre granülasyon dokusu olgunlaşmasını deneyin 7. gününde anlamlı şekilde uyarmaktadır. Propolisli krem uygulanan D grubu ise diğer grupların hiçbirine anlamlılık düzeyinde fark göstermemekle birlikte A grubu ile B grubu arasında bir şiddetle yedinci günde granülasyon dokusu olgunlaşmasını uyarmaktadır.

Diğer taraftan, propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı grupların (D ve C grubu), yara alanında inflamasyon ve doku onarım faaliyetlerinin ağırlıkta olduğu deneyin yedinci gününde, granülasyon dokusu olgunlaşmasını uyarmasına rağmen, deneyin 14. gününde bu uyarıya devam etmeyerek granülasyon dokusu olgunlaşma şiddetini A grubunun gösterdiği şiddet seviyesine indirdiği de gözlemlendi. Granülasyon dokusunun aşırı üretimi sonucu “taşkın granülasyon dokusu” olarak isimlendirilen üzeri epitelle kapanamayan, kolay kanayan ve yara yüzeyinden taşan bir kitle oluşabileceği, kısaca başarısız yara iyileşmesi veya iyileşmemesi şekillenebildiği dikkate alındığında (Eren ve ark., 2007), C ve D gruplarının taşkın granülayona sebep olmadan başarılı şekilde olgun granülasyon dokusu gelişimini uyardığı düşünülmektedir.

Burada dikkat çekici olan bir diğer nokta; hiçbir biyoetkin madde içermeyen krem uygulanmasına rağmen B grubunun, propolisli farmasötik şekillerin kullanıldığı deney gruplarına benzer şekilde granülasyon dokusu olgunlaşmasını uyarmasıdır. Bu durumun baz kremin yara yüzeyini örtmesinden, ısı ve nemi düzenlemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4.4. Reepitelizasyon

Yara alanının yeniden epitel dokuyla kapanması yara iyileşmesinin başarısını göstermektedir (Stadelmann ve ark., 1998). Açık yara olgularında, derinin doğal bariyer fonksiyonunu kaybetmesi sonucu, yara alanına mikroorganizmaların invazyonu ve sıvı kaybı şekillenebilmektedir. Deri doğal bariyer fonksiyonunun tekrar kazanması ise yara yüzeyinin tekrar epitel ile kaplanmasıyla şekillenecektir. Başarılı bir yara iyileşmesi sürecinde reepitelizasyon hızlı şekilde gerçekleşmesi istenilen bir olgudur (Greenhalgh ve ark., 1990).

Pessolato ve ark. (2011) tarafından gerçekleştirilen ratlarda yanık yara modeli çalışmasında, % 5 propolis ekstraktı içeren merhem ve amniyon greftin yara alanında epitelizasyonu hızlandırmak suretiyle yara iyileştirici etkiler gösterdikleri belirtilmiştir. Diyabetli ratlarda oluşturulan yaralar üzerinde topikal olarak uygulanan propolis ekstraktının iyileştirici etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise; propolis uygulanan grupta hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubuna oranla reepitelizasyon hızının daha başarılı olduğu bulunmuştur (Haghighian ve ark., 2018). Sehn ve ark. (2009) tarafından yürütülen bir başka in vivo yara modeli çalışmasında; iyileştirici etkisi araştırılan propolisli merhem uygulanan grubun, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yara alanındaki reepitelizasyon hızının yüksek olduğu bulunmuştur. McLennan ve ark. (2008) tarafından diyabetli ve diyabet olmayan ratlar üzerinde oluşturulan eksizyon yaralarına topikal olarak günlük 20 µl dozunda uygulanan 400 mg/ml propolis içeren çözeltinin iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda, propolis içeren çözelti uygulanmayan diyabetli rat grubunda epitelizasyon hızının, propolis içeren çözelti uygulanan diyabetli rat grubuna göre oldukça düşük olduğu belirtilmiştir.

Bu tez çalışmasının sonuçları, yukarıda bahsedilen hayvan deneyi çalışmalarının reepitelizasyon sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada; postoperatif 7. ve 14. günlerde reepitelizasyon başarısı arasında gruplararası farklılık bulunmamaktadır. Bununla birlikte, 7. günden 14. güne grup içi reepitelizasyon oranı değişimi açısından sadece A grubunda anlamlı farklılık

bulunmadığı, diğer grupların 14. gün reepitelizasyon skorlarının 7. gün skorlarına göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu. Buradan anlaşıldığı üzere, bu çalışmada iyileştirici özelliği araştırılan propolisli farmasötik şekiller ile birlikte sadece mekanik koruma sağlayan baz krem hiç uygulama yapılmayan gruba göre daha hızlı reepitelizasyon sağlayarak yara iyileşmesine olumlu katkı yapmaktadırlar.

#### 4.5. Neovaskülarizasyon

Damar oluşumu yara iyileşmesi açısından oldukça önemlidir. (Stadelmann ve ark., 1998 ve Velnar ve ark., 2009). Yara oluşumundan birkaç gün sonra birçok yeni damar granulasyon dokusu içine filizlenir ve mikrovasküler damarlar şekillenir (Velnar ve ark., 2009). Granulasyon dokusu içerisinde yangısal faaliyetler, fibroblast üremesi ve kollajen üretimi sebebiyle artan metabolik ihtiyaçlar yangı alanında bu yeni oluşan kapillar damarlar vasıtasıyla karşılanır. Eğer angiyogenez bozulursa yara iyileşmesi sekteye uğrar (Stadelmann ve ark., 1998). Diğer yandan, granulasyon dokusu yerini nedbe dokusuna bırakırken fibroblastlarda olduğu gibi bu yeni şekillenen damarların da remodeling aşamasında kaybolması istenen bir özelliktir.

Moura ve ark. (2011a) tarafından gerçekleştirilen bir in vivo yara modeli çalışmasında; günlük 500 mg/kg dozda oral yolla Brezilya yeşil propolisinin sulu ekstraktı verilen grubun granulasyon dokusunda yeni şekillenen damar sayısının yedinci ve 14. günlerde kontrol grubuna göre daha az olduğu belirtilmiştir. Moura ve ark. (2011b) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise; günlük 500 mg/kg dozda oral yolla Brezilya yeşil propolisinin sulu ekstraktı verilen grubun yeni şekillenen damar sayısının, kontrol grubuna göre yedinci ve 14. günlerde anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur. Albuquerque-Júnior ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise ratlarda deneysel olarak oluşturulan yaralara topikal olarak uygulanan kırmızı Brezilya propolisli kollajen filmin iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, üçüncü ve 14. günlerde gruplararası farklılık bulunmadığı, yedinci günde ise hiçbir iyileştirici ajan uygulanmayan kontrol grubunda yeni şekillenen damar sayısının anlamlı olarak kırmızı Brezilya propolisli kollajen film ve boş kollajen film

gruplarına göre anlamlı olarak fazla olduğu bulunmuştur. Kırmızı Brezilya propolisli kollajen film ve boş kollajen film grupları arasında ise anlamlı farklılık bulunmamıştır.

McLennan ve ark. (2008) tarafından gerçekleştirilen bir başka in vivo yara modeli çalışmasında ise; etkinliği araştırılan 400 mg/ml propolis ekstraktı içeren çözeltinin yeni damar oluşumu üzerinde bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir.

Haghighian ve ark. (2018) tarafından diyabetli ratlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada ise; yeni damar oluşumu yönünden propolis grubunun kontrol grubuna göre daha başarılı olduğu gösterilmiştir. Kılıçoğlu ve ark., (2008) tarafından gerçekleştirilen in vivo çalışmada; ratlarda kolon rezeksiyonu ve takiben anastomozu gerçekleştirilerek yara iyileşme süreçleri incelenmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre; operasyondan 7 gün öncesi ile deneyin sonlanmasına kadar 100 mg/kg günlük dozda oral yolla propolis verilen ratlarda, kontrol grubuna göre deneyin erken dönemlerinde dikkat çekici oranda damarlaşmanın arttığı belirtilmiştir (Kılıçoğlu ve ark., 2008).

Bu tez çalışmasında ise; postoperatif yedinci günde en şiddetli yeni damar oluşumu D grubunda gözlemlendi. Gruplar arasında neovaskülarizasyon derecesine göre sıralama D>C>B>A şeklinde gerçekleşti. Gruplar arası ikili karşılaştırma sonucunda; sadece A-C, A-D ve B-D grupları arasında anlamlılık düzeyinde fark bulundu. Neovaskülarizasyon 14. gün skor değerleri yönünden gruplar arasında anlamlılık düzeyinde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,716$ ). Deneyin yedinci gününden 14. gününe neovaskülarizasyon skorunun grup içinde istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu; B, C ve D gruplarının ilk hafta sonlandırılan alt grupların ikinci hafta sonlandırılan alt gruptan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $B1>B2$   $p=0,028$ ;  $C1>C2$   $p=0,009$  ve  $D1>D2$   $p=0,014$ ). A grubunun alt grupları arasında ise anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p=0,173$ ).

Yukarıda aktarılan çalışmalardan; Albuquerque-Júnior ve ark. (2009); McLennan ve ark. (2008); Moura ve ark. (2011a); Moura ve ark. (2011b) tarafından yapılan çalışmaların damar oluşumuna ilişkin sonuçlarıyla bu çalışmanın sonuçlarının uyumlu olmadığı görülmektedir. Albuquerque-Júnior ve ark. (2009) tarafından,

neovaskularizasyon oluşum şiddetlerine ilişkin çalışmalar arasındaki bu farklılığın sebebinin, propolisin kimyasal içeriğinin farklılığından kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir. Bu hipoteze ek olarak, etkisi araştırılan propolisin dozunun da neovaskularizasyonun şekillenmesi üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Haghighian ve ark., (2018) ve Kılıçoğlu ve ark., (2008) tarafından gerçekleştirilen deneysel çalışmaların neovaskularizasyon sonuçları ise bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu bulundu. Bu çalışmada; yangı, hücre proliferasyonu ve kollajen üretimi nedeniyle metabolik ihtiyaçların fazla olduğu postoperatif yedinci günde propolisin granulasyon dokusunda damarlaşmayı şiddetli şekilde uyarması, buna karşılık granulasyon dokusunun hacmen azaldığı döneme denk gelen 14. günde damarlaşmanın da azalması, diğer bir ifadeyle damarlaşmanın kalıcı olmayarak sadece metabolik ihtiyacın fazla olduğu dönemde artması; Ankara propolisinin neovaskularizasyonu yara iyileşmesinin sadece ilk dönemlerinde uyarak başarılı bir yara iyileşmesini teşvik ettiğini göstermektedir.

#### **4.6. Kollajen Birikimi**

Kollajen, granulasyon dokusu içerisinde makrofajlarca salınan büyüme faktörlerinin etkisi altındaki fibroblastlar tarafından sentezlenir ve hücreler arası matrikste birikir. Kollajen, yara oluşumunu takip eden üçüncü günden sonra granulasyon dokusunda görülebilir (Stadelmann ve ark., 1998). Kollajen, granulasyon dokusunun bütünlüğünü sağladığından ve sağamlık verdiğinden kollajen üretimi bütün yara iyileşme evreleri için kilit öneme sahiptir (Velnar ve ark., 2009). Yara oluşumundan sonraki ilk hafta içerisinde kollajen üretim hızı maksimum seviyeye çıkar ve Tip III kollajen birikir (Stadelmann ve ark., 1998). Yara oluşumundan itibaren yaklaşık 14. günden sonra Tip III kollajen granulasyon dokusu içinde yıkımlanmaya başlayarak yerini Tip I kollajene bırakır (Yun ve ark., 2002). Yaralanmadan sonraki üçüncü haftada sentez hızı düşmekle birlikte granulasyon dokusunda kollajen birikmeye devam eder. Bu birikim başlangıçta Tip III ağırlıklı karakterdeyken zamanla granulasyon dokusunda Tip I kollajen daha fazla bulunur hale gelir. nc haftadan

sonra ise kollajen üretimi ve yıkımlanması aynı oranda olduğundan kollajen birikiminde artış görülmez (Stadelmann ve ark., 1998).

Modifiye Greenhalgh Sistemi ölçümleriyle üretilen veri yapısı gereği nitel karakterde, hidroksiprolin miktarı hesaplamasıyla üretilen veri ise mg cinsinden sayısal bir veri olduğunda nicel karakterde bulunmaktadır.

Nitel verilerin ölçüm yöntemlerinde, üretilen skor değerleri arasındaki mesafeler sabit değildir. Nitel ölçümlerde üretilen skorla aslında gözlemler arasında büyüklük-küçüklük şeklinde bir sıralama yapılmaktadır. Dolayısıyla, bu yöntemlerle elde edilen veriler, sabit bir sayısal değer ifade etmediğinden, nitel verilerin ölçülmesi içerisinde bir miktar hatayı da taşımaktadır. Diğer taraftan, bir olgunun niceliğini ölçen yöntemler ise, sabit bir ölçme birimi üzerinden olgunun miktarını ölçtüğünden, olguların nicel ölçümleri arasında matematiksel işlemlerin yapılması mümkündür ve sıralama ölçümlerinde bahsedilen hata, nicel ölçümlerde söz konusu olmamaktadır (Arıcı, 1981). Ölçme türleriyle ilgili verilen bu bilgiler ışığında; bu çalışmada, grupların kollajen birikimi davranışlarını inceleyen hidroksiprolin miktarları ölçümü ve Modifiye Greenhalgh Yara İyileşmesi Skor Sisteminden, birincisi nicel ikincisi nitel karakterde veri üretmesi sonucu olarak, bu yöntemlerin farklı hassaslığa sahip olması sebebiyle; hidroksiprolin miktarları ve histopatolojik kollajen skorları verilerinin istatistiksel sonuçlarının birebir örtüşmesine değil, genel olarak aralarında benzeşme olup olmadığına bakılmıştır.

Bu çalışmanın yedinci gün kollajen skorlarına göre; en şiddetli kollajen birikimi D grubunda görülmektedir. Gruplar arasında kollajen birikimine göre sıralama  $D > C > B > A$  şeklinde gerçekleşti. Gruplar arası ikili karşılaştırma sonucunda; sadece A-C ve A-D grupları arasında anlamlılık düzeyinde fark bulundu. Yedinci gün hidroksiprolin miktarı sonuçlarına göre ise; deney grupları arasında en fazla hidroksiprolin miktarı B grubunda görülmektedir. Gruplar arasında kollajen birikimine göre sıralama  $B > A > D > C$  şeklinde gerçekleşti. Gruplar arası ikili karşılaştırma sonucunda; sadece A-C, A-D, B-C ve B-D grupları arasında anlamlılık düzeyinde fark bulundu. Buradan anlaşıldığı üzere, çalışmanın yedinci gün

hidroksipirolin miktarı ve kollajen birikimi skor sonuçları arasında uyum bulunmamaktadır. Hidroksipirolin miktarı sonuçlarına göre propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı gruplar olan D ve C grupları kontrol gruplarına (A ve B grupları) göre daha az kollajen birikimi gösterirken; kollajen skoru sonuçları bunun tam aksini işaret ederek D ve C gruplarının kontrol gruplarına göre daha fazla kollajen birikimine sebep olduğunu göstermektedir.

Normal bir yara iyileşmesinde Tip III kollajenin yerini Tip I kollajenin almaya başlaması yaralanmadan itibaren yaklaşık 14. günden sonra görülmektedir (Yun ve ark., 2002). Literatürde yer alan bazı yara iyileşmesi çalışmaları sonuçlarına göre; kontrol gruplarında yedinci günde Tip III kollajen birikimi görülürken propolisli iyileştirici ajan uygulanan gruplarda yedinci günde Tip III kollajenin Tip I kollajene dönüşümünü hızlandırmaktadır (Albuquerque-Júnior ve ark., 2009; Almeida ve ark., 2013). Bu duruma ek olarak; fenolik bileşikler yönünden zengin bir bitkisel ekstraktın yara iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; etkisi araştırılan ekstraktın topikal olarak uygulandığı grupta deneyin 4. ve 7. günlerinde Tip III kollajenin yerini Tip I kollajenin aldığı görülürken, kontrol grubunda bu değişimin deneyin 10. ve 14. günleri arasında gözlemlendiği belirtilmiştir (Bueno ve ark., 2016). Diğer yandan; hidroksipirolin içeriği Tip I kollajende Tip III kollajene göre daha düşüktür. Tip III kollajende %17 oranında hidroksipirolin bulunurken, Tip I kollajende %13 oranında bulunmaktadır (Etherington ve Sims, 1981).

Propolisin ve diğer fenolik madde kaynaklarının Tip III kollajenin Tip I kollajene dönüşümünü hızlandırdığını ve bu kollajen tiplerinin içerdiği hidroksipirolin miktarlarının farklı olduğunu gösteren literatür bilgisine dayanarak, bu çalışmanın yedinci gün kollajen skoru ve hidroksipirolin miktarları arasındaki uyumsuzluğun bol miktarda fenolik madde içeren propolisli farmasötik şekillerin granülasyon dokusunda 7. günde Tip III kollajenin Tip I kollajene dönüşümünü hızlandırmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Diğer bir ifadeyle; histopatolojik incelemeler için kullanılan H&E ve Masson'un Trikróm boyası tip ayrımı gözetmeden bütün kollajen tiplerini aynı şekilde boyarken, hidroksipirolin miktar ölçümünde yedinci günde propolisin etkisiyle D ve C gruplarında %13 oranında hidroksipirolin

içeren Tip I kollajen, A ve B gruplarında ise %17 oranında hidroksiprolin içeren Tip III kollajenin ölçülmesinden dolayı söz konusu farklılığın şekillenmiş olabileceği, dolayısıyla D ve C gruplarında daha az kollajen ölçülmüş olabileceği kanısına varıldı. Kollajen birikimini gösteren yedinci gün histopatolojik ve biyokimyasal bulgular arasındaki uyumsuzluk sebebiyle bu çalışmanın yedinci gününde propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı gruplarda kontrol gruplarına göre kollajen birikimi farklılığına dair objektif bir değerlendirme yapılamamaktadır. Bu konuda, yara iyileşmesinde propolisin kollajen birikimine etkisini kollajen alt tipleri üzerinden araştıran çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmanın 14. gün gruplararası hidroksiprolin miktar ölçüm sonuçlarına göre; gruplar arasında anlamlılık düzeyinde fark bulunmaktadır ve grupların en çok hidroksiprolinden en az olana doğru  $A > B > C > D$  şeklinde sıralanmaktadır. Grupların ikili karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak sadece; A-B, A-C, A-D grupları arasında anlamlılık düzeyinde farklılık bulunmaktadır. Histopatolojik kollajen skoru yönünden ise; gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamakla birlikte skor değerlerine göre; gruplar  $A > B > D > C$  şeklinde sıralanmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmanın 14. gün hidroksiprolin ölçümleriyle, 14. gün kollajen skorları arasında genel olarak benzerlik bulunmaktadır. Bu çalışmanın hem hidroksiprolin ölçüm, hem de kollajen skoru sonuçları; deneyin 14. gününde propolisli farmasötik şekillerin, kontrol gruplarına kıyasla granülasyon dokusunda daha az kollajen birikimine sebep olduğunu, diğer bir ifadeyle kollajen birikimini baskıladıklarını göstermektedir.

Pillai ve ark., (2010) tarafından yürütülen deney olarak erkek Wistar Albino sıçanların kullanıldığı bir çalışmada, Hindistan propolisinden elde edilen ekstraktın sıçanların sırt bölgelerinde oluşturulan eksizyon yarası üzerindeki iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada yara alanından toplanan örnekler üzerinde kollajen birikimi hidroksiprolin analiziyle tespit edilmiş olup çalışmaya göre; deney süresi boyunca propolis ve standart merhem gruplarının granülasyon dokularında, kontrol gruplarına göre daha fazla hidroksiprolin bulunduğu belirtilmiştir. Pessolato ve ark. (2011) tarafından gerçekleştirilen sıçanlarda yanık yara modeli çalışmasında, % 5 propolis ekstraktı içeren merhem ve amniyon greftin iyileştirici etkileri

araştırılmıştır. Çalışmada kollajen birikimi histopatolojik/morfometrik yöntemlerle incelenmiş olup, çalışma sonuçlarına göre; 14. ve 21. günlerde propolis grubunun kollajen birikimini kontrol ve amniyon grubundan oldukça fazla arttırdığı bulunmuştur. Haghghian ve ark. (2018) tarafından diyabetli sıçanların sırt bölgelerinde oluşturulan eksizyon yaraları üzerinde propolisli topikal farmasötik şekillerin yara iyileşmesini hızlandırıp hızlandırmadığı araştırılan çalışmada; propolis grubunun kontrol grubuna göre kollajen üretimini anlamlı olarak arttırdığı belirtilmiştir. Albuquerque-Júnior ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise; sıçanların sırt bölgesinde oluşturulan eksizyon yarası üzerinde % 0,1 oranında Brezilya kırmızı propolis ekstraktı içeren kollajen bazlı filmin iyileştirici özelliği araştırılmıştır. Deneyin üçüncü gününde bütün gruplarda az miktarda kollajen birikimi olduğu, yedinci günde kontrol grubunda Tip III kollajen birikimi görülürken propolisli kollajen film ve kollajen film gruplarında Tip III ve Tip I kollajenlerin karışımı şeklinde birikim gözlemlenmiştir. Deneyin 14. günde bütün gruplarda Tip I kollajen ağırlıklı olarak biriktiği belirtilmiştir. Olczyk ve ark. (2013) tarafından yapılan bir başka çalışmada; yanık yarası üzerinde propolisin kollajen birikimini arttırıcı etkisi olduğu bulunmuştur.

Moura ve ark. (2011a) tarafından yapılan bir in vivo çalışmada; sırt bölgelerinde insizyon yarası oluşturulan farelere oral yolla verilen günlük 500 mg/kg dozunda Brezilya yeşil propolis ekstraktının iyileştirici etkisi araştırılmış olup, propolisin deneyin 4., 7. ve 14. günlerinde Tip III kollajen birikimini, 4. ve 7. günlerde Tip I kollajen birikimini baskıladığını, ancak propolis uygulanan deney grubundaki Tip I kollajen yoğunluğunun deneyin 14. gününde kontrol grubunu yakaladığı belirtilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan propolis ekstraktının sadece antiinflamatuvar etkisi için kullanılması, yara iyileşmesinin diğer süreçlerinde kullanılmaması tavsiye edilmektedir.

Yukarıda aktarılan deneysel çalışmalarından Moura ve ark. (2011a) tarafından yapılan çalışma hariç olmak üzere; propolisin kollajen birikimine yönelik çalışma sonuçları ile bu çalışmanın kollajen birikimine yönelik sonuçlar çelişmektedir. Moura ve ark. (2011a) tarafından gerçekleştirilen çalışmada sonucunda kollajen miktarı

kontrol gruplarıyla aynı seviyede birikimi sağlanmış olsa da deneyin 7. gününde propolisın kollajen birikimini geçici olarak baskıladığı belirtildiğinden bu çalışmanın kollajen birikimi sonuçları ile kısmen de olsa benzerlik göstermektedir.

Yapılan literatür taramasında propolisın kollajen üretimini baskıladığını gösteren bir *in vivo* çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple, bu tez çalışmasının propolisın yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar arasında, kollajen birikimini baskıladığını gösteren ilk *in vivo* çalışma olduğu düşünülmektedir.

Bu sebeple literatürde yer alan propolisın kollajen birikimi üzerine etkisini inceleyen *in vitro* çalışmalar ile birlikte propolis harici diğer kaynaklardan elde edilen (bitkisel ekstraktlar veya saf olarak satılan ticari ürünler gibi) fenolik maddelerin kollajen birikimi üzerine etkilerinin araştırıldığı *in vivo* çalışmaların sonuçlarının, bu tez çalışmasının sonuçlarıyla karşılaştırması yoluna gidilmiştir.

Eslami ve ark. (2017) tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada; 2 µg/µl dozundaki İran propolisi ekstraktından 1 µl içerisinde 24 saat inkübe edilen insan gingival fibroblastların Tip I kollajen mRNA üretimini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde baskıladığı, bu durumun propolisın fibroblastlar üzerindeki toksik etkisinden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir. Bir başka *in vitro* çalışmada; propolisın yapısında bulunan fenolik maddelerden krisin, kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asitin saf olarak Cal-27 hücre kültürüne uygulanarak 24 saat inkübe edilmesiyle kollajen biyosentezi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; 5 µg/ml dozunda krisin, 65 µg/ml dozunda kafeik asit, 50 µg/ml dozunda ferulik asit, 70 µg/ml dozunda p-kumarik asit, kontrol grubuna göre anlamlı olarak kollajen üretimini baskıladığı gösterilmiştir (Celińska-Janowicz ve ark., 2018).

Said ve ark. (2018) tarafından yapılan bir hayvan deneyi çalışmasında; karbon tetra klorür (CCl<sub>4</sub>) ile karaciğer fibrozisi uyarılan sıçanlarda; pinesembrin isimli fenolik maddenin kollajen birikimine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; fibrozis uyarılan kontrol grubunda Tip I kollajen birikimi 20 kat artarken, oral yolla hafta 3 kez 20 mg/kg dozunda 6 hafta boyunca pinosebrinin verilen ratlarda Tip I

kollajen birikiminin 9 kat arttığı, pinosembrinin Tip I kollajen birikimini anlamlı şekilde baskıladığı gözlemlenmiştir. Zhang ve ark. (2018) tarafından yürütülen bir başka hayvan deneyi çalışmasında; yeni doğan ratlarda TGF- $\beta$ 1 ile oluşturulan miyokardiyal fibrozis üzerinde bir fenolik madde olan resveratrolun kollajen birikimine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; resveratrol uygulanan grubun kontrol grubuna göre kollajen birikiminin daha az olduğu bulunmuştur. Sevin (2018), tarafından gerçekleştirilen bir başka hayvan deneyi çalışmasında; sıçanların sırt bölgesinde deneysel yaralar oluşturularak çam balı ve kestane balından üretilen kremlerin yara iyileşmesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre 14. günde histopatolojik yönden Modifiye Greenhalgh Histolojik Skorumla Sistemiyle değerlendirilen deri örneklerinin kollajen birikimi yönünden anlamlı bir farklılık göstermediği, fakat hidroksipirolin birikimi açısından kestane ve çam balı kremi uygulanan grupların kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük birikim gösterdikleri gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmanın kollajen miktarına ilişkin sonuçlarıyla Celińska-Janowicz ve ark. (2018) ve Eslami ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen in-vitro çalışmaların; Said ve ark., (2018), Sevin, (2018) ve Zhang ve ark., (2018) tarafından yapılan hayvan deneyi çalışmalarının sonuçlarının uyumlu olduğu görülmektedir. Propolis harici başka kaynaklardan elde edilen fenolik maddeler ve propolisin kollajeni baskıladığı görüldüğünden ve propolisin farmakolojik özellikleri fenolik maddelerden kaynaklandığından, bu çalışmada kollajen birikiminin baskılanmasından Ankara propolisinin içerdiği fenolik maddeler ve bu maddelerin miktarlarının etkili olduğu düşünülmektedir.

Netice itibarıyla; literatürde yer alan propolisin kollajeni uyardığını gösteren çalışmalar karşısında, bu çalışmanın da içinde bulunduğu propolisin ve diğer fenolik madde çalışmalarının kollajen birikimini baskıladığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Kollajen birikimi üzerine benzer etki oluşturmaları beklenen propolisin, kollajen birikimi arttırma veya baskılama şeklinde gerçekleşen bu farklı etkilerinin propolisin içerdiği fenolik madde türlerine, oranlarına ve propolisin deney çalışmasındaki dozuna bağlı olarak değişim gösterdiği düşünülmektedir.

#### 4.7. Yara Alan Değişimi

Yara alanının günler itibariyle ölçümü yaranın kontraksiyonunun ölçümü için kullanılmaktadır (Haghighian ve ark., 2018; Sehn ve ark, 2009; Pillai ve ark., 2010). Yaranın kontraksiyonu, ülserli alanı daraltacağından, daha küçük bir alanda granülasyon dokusu gelişmesini ve yara yüzeyinin epitelle daha hızlı kaplanmasını sağlar (Greenhalgh ve ark., 1990). Yara oluşumunu izleyen ilk yedinci günde yaranın kontraksiyonu başlar. Yaranın kontraksiyonu miyofibroblast hücrelerinin etkinliğiyle gerçekleşir (Gabbani ve Ark., 1971). Yara kontraksiyonu; hasar gören doku miktarına, iyileşme yeteneğine, yara şekline, doku esnekliğine bağlı olarak gerçekleşir veya gerçekleşmeyebilir (Pillai ve ark., 2010).

Pillai ve ark. (2010), tarafından yürütülen denek olarak erkek wistar albino sıçanların kullanıldığı bir çalışmada, Hindistan propolisinden elde edilen ekstraktın sıçanların sırt bölgelerinde oluşturulan eksizyon yarası üzerindeki iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada yara alanları günde bir defa ölçülmüştür. Propolis ekstraktı uygulanan deneklerin yaralarının deney süresi boyunca kontrol grubuna göre daha çok kontrakte olduğu belirtilmiştir. Haghighian ve ark. (2018) tarafından diyabetli sıçanların sırt bölgelerinde oluşturulan eksizyon yaraları üzerinde propolisli topikal farmasötik şekillerin yara iyileşmesini hızlandırıp hızlandırmadığı araştırılan bir çalışmada; yara alanları 1., 7., 14. ve 21. günlerde ölçülmüştür. Propolis grubunun yara kapanma oranının deney süresi boyunca kontrol grubuna göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. Sehn ve ark. (2009) tarafından yürütülen çalışmada; denek olarak kullanılan Wistar Albino sıçanların boyun bölgesinde kare şeklinde yaklaşık 7 mm çapında ikişer adet yara oluşturulmuştur. Her deneğin bir yarasına propolisli diğer yarasına propolissiz merhem uygulanmıştır. Yara alanları 0. gün ve deneyin son günü olan 14. gün kumpasla ölçülmüştür. Propolisli merhem uygulanan yaraların propolis içermeyen merhem uygulanan yaralara göre daha küçük olduğu belirtilmiştir.

Bu tez çalışmasında ise, sıçanların dorsotorasik bölgesinde orta hattın sağında ve solunda olmak üzere ikişer adet deneysel yara oluşturuldu. Sağ ve sol yaralar her ne kadar aynı denek üzerinde bulunsa ve aynı iyileştirici ajan uygulansa da yaralar

birbirinden bağımsız, iki farklı granülasyon dokusu oluşumu göstererek iyileşmektedir. Bu sebeple, bütün deneklerin sağ yaralar kendi içerisinde, sol yaralar da kendi içerisinde olacak şekilde yara alanları incelendi.

Sağ ve sol yaralar üzerinde yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda; deneyin özellikle yedinci gününden sonra propolisli farmasötik şekillerin uygulandığı gruplar olan C ve D grubu ile baz krem uygulanan grup olan B grubunda yara alanında A grubuna göre daha fazla küçülme olduğu gözlemlendi. Yara kapanma durumu açısından klinik incelemede ise Çizelge 3.14'te de görüleceği üzere oluşturulan yaralardan 14. günde D grubunda 12 adet, C grubunda 8 adet, ve B grubunda 5 adet yara tamamen kapandı. A grubunda ise deneyin 14. gününde hiçbir yaranın kapanmadığı gözlemlendi. Söz konusu klinik bulgulara ve yara alan hesaplamalarına yönelik incelemelere göre; Ankara propolisi ekstraktı ve Ankara propolisi ekstraktı içeren krem farmasötik şekilleri yara alanını azalmasını sağlayarak yara iyileşmesinin kısılmasına katkı sağlamaktadır.

Bu tez çalışması sonuçlarına göre; %25'lik Ankara propolisi ekstraktı ve %25'lik Ankara propolisi ekstraktı içeren krem farmasötik şekillerin yara iyileşmesine; yara oluşumundan sonraki yedinci günde, akut yangıyı bastırmak ve kronik yangıyı uyarmak, granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşmasını uyarmak, damar aşmayı arttırmak; deneyin 14. gününde reepitelizasyonu uyarmak ve deney sonucunda yara daha fazla kontraksiyonunu sağlamak suretiyle yara iyileşmesine olumlu katkıları olduğu gözlemlendi.

Kollajen birikimi, yara iyileşmesi sürecinde şekillenen diğer bütün olguları etkilediğinden başarılı bir yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada kullanılan kütlece %25'lik propolisli farmasötik şekillerinin kollajen üretimini deneyin 14. gününde baskıladığı gözlemlenmiştir. Kollajenin baskılanmasında Ankara propolisinin içerdiği fenolik maddeler ve bu maddelerin miktarlarının etkili olduğu düşünülmektedir. Propolisin kollajen birikimini uyardığını gösteren in vivo çalışmalar ve baskıladığını gösteren in vitro çalışmalar ile bu çalışma birlikte değerlendirildiğinde; içerdiği etkin maddeleri ve miktarları bilinen propolislerin

kollajen birikimi üzerindeki etkilerini inceyen doz çalışmaları ile bu farklı etkilerin açıklanabileceği düşünölmektedir.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada; bir apiterapi ürünü olarak propolisin yara iyileştirici özelliği araştırıldı. Bu kapsamda olacak şekilde; Ankara ilinin Kızılcahamam, Kalecik, Mamak, Beypazarı ilçelerinden 2017 yılı Nisan-Haziran döneminde toplamda 5 adet propolis örneği toplandı. Alınan propolislerde GC-MS ile içerik analizleri gerçekleştirildi. Literatür taramalarında, propolisin yara iyileşmesi üzerine etkini inceleyen in vivo çalışmalar arasında; değerlendirmeye alınan propolisin içerdiği biyoetkin bileşikler kapsamlı şekilde tanımlayan ve miktarlarını saptayan bir çalışmaya rastlanamadı. Bu yönüyle; propolisin yara iyileştirici etkisini araştıran in vivo çalışmalar arasında, bu tezin propolisin içerdiği fenolik madde profilini kapsamlı şekilde inceleyen ilk çalışma olduğu da düşünülmektedir.

GC-MS analiz sonuçlarına göre; propolis örnekleri içerisinde fenolik madde yönünden en zengin olan Beypazarı propolisi olduğundan deney çalışmalarında kullanılmak üzere bu propolisten %25'lik propolis ekstraktı ve propolis ekstraktı içeren krem farmasötik şekilleri hazırlandı ve tez çalışması kapsamında değerlendirmeye alındı.

Bu çalışmada; 56 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanların sırt bölgesinde tam kalınlık eksizyon yaraları oluşturularak, Ankara propolisinden üretilen farmasötik şekillerin yara iyileştirici etkileri araştırıldı. Propolisli ekstrakt, propolisli krem ve baz krem deneklere günde bir defa olacak şekilde uygulandı. Çalışmanın yedinci ve 14. günlerinde denekler sonlandırılarak histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için deri örnekleri alındı. Ayrıca, yara kontraksiyonunun göstergesi olarak; deney süresince ikinci, dördüncü, altıncı, yedinci (sadece sonlandırılacak olan sıçanlar), sekizinci, 10. ; 12. ve 14. günlerde bütün mevcut deneklerde yara alanları ölçüldü.

Bu tez çalışması sonuçlarına göre; %25'lik Ankara propolisi ekstraktı ve %25'lik Ankara propolisi ekstraktı içeren krem farmasötik şekillerin yara iyileşmesine; yara oluşumundan sonraki yedinci günde, akut yangıyı bastırmak ve

kronik yangıyı uyarmak, granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşmasını uyarmak, damarlaşmayı arttırmak; deneyin 14. gününde reepitelizasyonu uyarmak ve deney sonucunda yara daha fazla kontraksiyonunu sağlamak suretiyle yara iyileşmesine olumlu katkıları olduğu gözlemlendi.

Kollajen birikimi, yara iyileşmesi sürecinde şekillenen diğer bütün olguları etkilediğinden başarılı bir yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada kullanılan kütlece %25'lik propolisli farmasötik şekillerinin kollajen üretimini deneyin 14. gününde baskıladığı gözlemlenmiştir. Kollajenin baskılanmasında Ankara propolisinin içerdiği fenolik maddeler ve bu maddelerin miktarlarının etkili olduğu düşünülmektedir. Propolisin kollajen birikimini uyardığını gösteren in vivo çalışmalar ve baskıladığını gösteren in vitro çalışmalar ile bu çalışma birlikte değerlendirildiğinde; içerdiği etkin maddeleri ve miktarları bilinen propolislerin kollajen birikimi üzerindeki etkilerini inceleyen doz çalışmalarının kollajen birikiminde görülen bu farklı etkileri açıklanabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında kullanılan Ankara propolisinin farmasötik şekillerinin deneyin 14. gününde kollajen birikimini baskılamasına rağmen, inflamasyon, reepitelizasyon, olgun granülasyon dokusu formasyonu, neovaskülarizasyon, yaranın kontraksiyonu olguları üzerindeki olumlu etkileri ve klinik yönden kontrol gruplarına göre yaraların daha hızlı kapanmasını sağlaması dikkate alındığında Ankara propolisi içeren ekstrakt ve krem farmasötik şekillerinin bu çalışmada kullanılan dozdan daha düşük dozlarla kullanılmasının kaliteli ve hızlı bir yara iyileşmesi için yararlı olacağı düşünülmektedir.

## ÖZET

### Propolisin Krem ve Solüsyon Tarzında Farmasötik Şekillerinin Geliştirilmesi ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Propolis farmakolojik etkileri sebebiyle antineoplastik, antibakteriyel, yara iyileştirici, antiinflamatuvar, antiviral, anestezi, antioksidan, antimikotik ajan olarak tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmada; bir apiterapi ürünü olarak propolisin yara iyileştirici özelliğinin araştırılması amaçlandı. Bu kapsamda; Ankara ilinin Kızılcahamam, Kalecik, Mamak, Beypazarı ilçelerinden 5 adet propolis örneği toplandı. Bu propolis örneklerinin GC-MS ile analiz edildi. GC-MS analiz sonuçlarına göre; propolis örnekleri arasında en zengin fenolik içerik Beypazarı propolisinde görüldü. Bu sebeple, deney çalışmalarında kullanılmak amacıyla %25'lik kuru propolis ekstraktı içeren etanolik ekstrakt ve krem farmasötik şekilleri Beypazarı propolisinden hazırlandı. Bu çalışmada; Ankara propolisinden üretilen farmasötik şekillerin yara iyileştirici etkileri, 56 adet Wistar Albino ratın sırt bölgesinde oluşturulan 10 mm çapında dairesel tam kalınlık eksizyon yaraları üzerinde araştırıldı. Bu çalışmada; hiçbir iyileştirici uygulamanın yapılmayan grup "A grubu", yalnızca baz krem uygulanan grup "B grubu", Ankara propolisi ekstraktı uygulanan grup "C grubu" ve Ankara propolisi ekstraktı içeren krem uygulanan grup ise "D grubu" olarak belirlendi. Propolisli ekstrakt, propolisli krem ve baz krem deneklere günde bir defa uygulandı. Çalışmanın yedinci ve 14. günlerinde denekler sonlandırılarak histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için deri örnekleri toplandı. Ayrıca, yara kontraksiyonunun göstergesi olarak deney süresince belirli aralıklarla deneklerin yara alanları ölçüldü. Çalışma sonuçlarına göre; C ve D gruplarında A grubuna göre akut yangıyı bastırmak ve kronik yangıyı uyarmak, granülasyon dokusu/fibrosit olgunlaşmasını uyarmak, damarlaşmayı arttırmak, reepitelizasyonu uyarmak ve yaranın daha fazla kontraksiyonunu sağlamak konusunda anlamlı farklılık gösterdi ( $p<0,05$ ). Ancak; %25'lik Ankara propolisi ekstraktı ve %25'lik Ankara propolisi ekstraktı içeren krem farmasötik şekillerinin kollajen üretimini deneyin 14. gününde baskıladığı da görüldü. Kollajen birikimi, yara iyileşmesi sürecinde şekillenen diğer bütün olguları etkilediğinden başarılı bir yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Propolisin kollajen birikimini uyardığını gösteren in vivo çalışmalar ve baskıladığını gösteren in vitro çalışmalar ile bu çalışma birlikte değerlendirildiğinde; kollajen birikimi üzerine şekillenen bu farklı etkilerin ortaya çıkış durumlarının, içerdiği madde türleri ve miktarları bilinen propolislerin kollajen birikimi üzerindeki etkilerini inceleyen doz çalışmaları ile açıklanabileceği düşünülmektedir. Ankara propolisi içeren ekstrakt ve krem farmasötik şekillerinin bu çalışmada kullanılan dozdan daha düşük dozlarla kullanılmasının kaliteli ve hızlı bir yara iyileşmesi için yararlı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Apiterapi, Fenolik Bileşik, Kollajen, Propolis, Yara İyileşmesi.

## SUMMARY

### **Developing Propolis Cream and Solution Type of Pharmaceutical Form and Investigation Effect of Wound Healing**

Due to its pharmacological effects, Propolis is used for the purpose of treatment as an antineoplastic, antibacterial, wound healing, anti-inflammatory, antiviral, anesthetic, antioxidant, antimycotic agent. In this study; it is aimed to investigate the wound healing properties of propolis as an apitherapy product. Within this scope, 5 samples of propolis were collected from Kızılcahamam, Kalecik, Mamak, Beypazarı districts of Ankara province. These propolis samples were analyzed by GC-MS. According to GC-MS analysis results; Among the propolis samples, the richest phenolic content was seen in Beypazarı propolis. For this reason, ethanolic extract and cream pharmaceutical forms containing 25% dry propolis extract were prepared from Beypazarı propolis to be used in experimental studies. In this study; The wound-healing effects of pharmaceutical forms produced from Ankara propolis were investigated on 10 mm diameter circular full thickness excision wounds formed in the back region of 56 Wistar Albino rats. In this study; it was determined the group without any curative treatment as “group A”, only the group with base cream as “group B”, the group with Ankara propolis extract as “group C”, and the group with cream containing Ankara propolis extract as “group D”. Propolis extract, propolis cream and base cream were applied to the subjects once a day. On the seventh and 14th days of the study, the subjects were terminated and skin samples were collected for histopathological and biochemical examinations. Also, the wound areas of the subjects were measured periodically during the experiment as an indicator of wound contraction. According to the results of the study; compared to group A in C and D groups, there was a significant difference in suppressing acute inflammation and stimulating chronic inflammation, stimulating granulation tissue/fibrocyte maturation, increasing vascularization, stimulating reepithelization and providing more contraction of the wound ( $p < 0.05$ ). But; cream pharmaceutical forms containing 25% Ankara propolis extract and 25% Ankara propolis extract were also shown to suppress collagen production on the 14th day of the experiment. Collagen accumulation is critical for successful wound healing as it affects all other cases that are occurring during the wound healing process. When this study is evaluated together with in vivo studies showing that propolis stimulates collagen accumulation and in vitro studies showing that it suppresses; It is thought that the occurrence of these different effects about collagen accumulation, can be explained by dose studies that examine the effects of types of the compound in propolis and quantities of these compounds on collagen accumulation. It is thought that the use of extract and cream pharmaceutical forms containing Ankara propolis with lower doses than the dose used in this study would be beneficial for quality and rapid wound healing.

**Key Words:** Apitherapy, Collagen, Phenolic Compounds, Propolis, Wound Healing.

## KAYNAKLAR

- ABRAMOV Y, GOLDEN B, SULLIVAN M, BOTROS SM, MILLER JJR, ALSHAHROUR A, GOLDBERG RP, SAND PK (2007). Histologic characterization of vaginal vs. abdominal surgical wound healing in a rabbit model. *Wound Repair and Regeneration*, **15**:80–86.
- ADIŞEN E, AKSAKAL AB (2007). Dermatolojik cerrahinin tarihçesi. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*, **17**:192-200.
- AKHMETOVA R, SİBGATULLİN J, GARMONOV S, AKHMETOVA L (2012). Technology for extraction of bee-bread from the honeycomb. *Procedia Engineering*, **42**: 1822-1825.
- ALBUQUERQUE-JÚNIOR RLC, BARRETO ALS, PIRES AP, REIS FP, LIMA SO, RIBEIRO MAG, CARDOSO JC (2009). Effect of bovine type-I collagen-based films containing red propolis on dermal wound healing in rodent model. *International Journal of Morphology*, **27**:1105-1110.
- ALMEIDA EB, CARDOSO JC, LIMA AK, OLIVERIA NL, FILHI NTP, LIMA SO, SOUZA ICL, JÚNIOR RLCA (2013). The incorporation of brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. *Journal of Ethnopharmacology*, **147**: 419–425.
- ARICI H (1981). İstatistik Yöntemler ve Uygulamalar (3. baskı). Meteksan Ltd. Şti, Ankara,ss: 14-16.
- ATAKAN N (2004). Derinin bariyer fonksiyonu. *Türkiye Klinikleri Kozmetoloji Dergisi*, **5**:97-100.
- BANKOVA V, BERTELLİ D, BORBA R, CONTİ BJ, CUNHA IBS, DANERT C, EBERLİN MN, FALCÃO SI, ISLA MI, MORENO MIN, PAPOTTİ G, POPOVA M, SANTIAGO KB, SALAS A, SAWAYA ACHF, SCHWAB NV, SFORCİN JM, FİNSTROM MS, SPİVAK M, TRUSHEVA B, BOAS MV, WİLSON M, ZAMPİNİ C (2019). Standard methods for Apis mellifera propolis research. *Journal of Apicultural Research*,**58**:1-49.
- BANKOVA VS, DE CASTRO SL, MARCUCCI MC (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, **31**: 3-15.
- BANSKOTA AH, TEZUKA Y, KADOTA S (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research*, **15**:561–571.
- BERRETTA AA, NASCIMENTO AP, BUENO PCP, VAZ MMOLL ve MARCHETTI JM (2012). Propolis standardized extract (EPP-AF®), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *International Journal of Biological Sciences*, **8**:512-521.
- BILLANY M (2001). Solutions. İçinde: *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design* (2. baskı). Editör: AULTON ME, Churchill Livingstone.
- BOATENG JS, MATTHEWS KH, STEVENS HNE, ECCLESTON GM (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **97**: 2892-2923.

- BOGDANOV S (2011a). Pollen: nutrition, functional properties, health: a review. *Bee Product Science*, 1-34.
- BOGDANOV S (2011b). Royal jelly, bee brood: composition, health, medicine: a review. *Lipids*, **3(8)**: 8-19.
- BOGDANOV S (2011c). Bee venom: composition, health. medicine. a review. *Bee Prod Sci*, 1-20.
- BUENO FG, MOREIRA EA, MORAIS GR, PACHECO IA, BAESSO ML, LEITE-MELLO EVS, MELLO JCP (2016). Enhanced cutaneous wound healing in vivo by standardized crude extract of *Poincianella pluviosa*. *PLoS ONE*, **11(3)**: 1-13.
- BURDOCK GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, **36**: 347–363.
- CANELON SP, WALLACE JM (2016).  $\beta$ -aminopropionitrile-induced reduction in enzymatic crosslinking causes in vitro changes in collagen morphology and molecular composition. *PLoS ONE*, **11(11)**:1-13.
- CELIŃSKA-JANOWICZ K, ZAREBA I, LAZAREK U, TEUL J, TOMCZYK M, PAŁKA J, MILTKY W (2018). Constituents of propolis: chrysin, caffeic acid, p-coumaric acid, and ferulic acid induce proth/pox-dependent apoptosis in human tongue squamous cell carcinoma cell (cal-27). *Frontiers in Pharmacology*, **9**: 1-11.
- CLARK RAF (1985). Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations. I. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **13**: 701-725.
- COŞKUN Ö, UZUN G, DAL D, YILDIZ Ş, SÖNMEZ YA, YURTTAŞ Y, GÜLER A, MUTLUOĞLU M, TEKİNDUR Ş, SARI S, ŞAHİN MA, ZOR F, TANYÜKSEL M (2016). Kronik yarada tedavi yaklaşımları. *Gülhane Tıp Derg*, **58**: 207-228.
- DENİZ Ç (2010). Yara iyileşmesinde bitki reçinesi olan sığla yağı (*liquidambar orientalis*) ile kollajenaz içeren pomadların karşılaştırılması. *Uzmanlık Tezi*. T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- DESMOULIERE A, GEINOZ A, GABBIANI F, GABBIANI G (1993). Transforming growth factor beta-1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *The Journal of Cell Biology*, **122**: 103–111.
- EL-ANWAR MW, ABDELMONEM S, ABDELSAMEEA AA, ALSHAWADFY M, EL-KASHISHY K (2016). The effect of propolis in healing injured nasal mucosa: an experimental study. *International Archives of Otorhinolaryngology*, **20**: 222-225.
- ERER H, KIRAN MM, ÇİFTÇİ MK (2007). Veteriner Genel Patoloji (2. baskı). Bahçıvanlar Basım Sanayi A.Ş, Konya.
- ESLAMI H, PARIA M, SAFARI E, SEYYEDI M (2017). Evaluation effect of low helium-neon laser and iranian propolis extract on collagen type I gene expression by human gingival fibroblasts: an in vitro study. *Laser Therapy*, **26**: 105-112.

- ETHERINGTON DJ, SIMS TJ (1981). Detection and estimation of collagen. *J. Sci. Food Agric*, **32**:539-546
- FERREIRA MC, TUMA PJ, CARVALHO VF, KAMAMOTO F (2006). Complex wounds. *Clinics*, **61**:571-578.
- FOX LP, MERK HF, BICKERS DR (2009). Dermatolojik Farmakoloji (Çev: TAŞKAPAN O). İçinde: *Tedavinin Farmakolojik Temelleri*. Editör: BRUNTON LL, Nobel Kitabevi, İstanbul (Eserin orijinali 2006'de yayınlandı.)
- GABBIANI G, RYAN GB, MAJNO G (1971). Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia*, **27**: 549 –550.
- GHISALBERTI EL (1979). Propolis: a review. *Bee World*, **60**: 59-84.
- GÓMEZ-CARAVACA, AM, GÓMEZ-ROMERO M, ARRÁEZ-ROMÁN D, SEGURA-CARRETERO A, FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**: 1220-1234.
- GREAVES NS, ASHCROFT KJ, BAGUNEID M, BAYAT A (2013). Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *Journal of Dermatological Science*, **72**:206-217.
- GREENHALGH DG, SPRUGEL KH, MURRAY MJ, ROSS R. (1990). PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic Mouse. *American Journal of Pathology*, **136**:1235-1246.
- GUNSON DE (1979). Collagen in normal and abnormal tissues. *Equine Veterinary Journal*, **11**:97-101.
- GÜNGÖRMÜŞ M, GÜRBÜZ G, YILDIRIM G (1997). Büyüme faktörlerinin doku onarımı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **7**: 100-102.
- HAGHIGHIAN HK, KOUSHAN Y, MOHAJERI M, NOOSHABADI MR (2018). Dose topically administration of propolis could improve the impaired wound healing in diabetic rats? *Pharmaceutical Biotechnology: Current Research*, **2**: 1-5.
- HAUSEN BM, WOLLENWEBER E, SENFF H, POST B (1987). Propolis allergy. I. origin, properties, usage and literature review. *Contact Dermatitis* **17**:163-170.
- HAZIROĞLU R, MİLLİ ÜH (2000). Veteriner Patoloji 1. cilt (2. baskı). Özkan Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 595.
- HOPKINS JT, MCLODA TA, SEEGLER JG, BAXTER GD (2004). Low-level laser therapy facilitates superficial wound healing in humans: a triple-blind, sham-controlled study. *Journal of Athletic Training*, **39**:223-229.
- HOWES EL, SOOY JW, HARVEY SC (1929). The healing of wounds as determined by their tensile Strength. *JAMA*, **92**: 42-45.

- HUANG S, ZHANG CP, WANG K, LI GQ, HU FL (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* **19**: 19610–19632.
- HUNT TK, CONNOLLY WB, ARONSON SB, GOLDSTEIN P (1978). Anaerobic metabolism and wound healing: a hypothesis for the initiation and cessation of collagen synthesis in wounds. *The American Journal of Surgery*, **135**:328–332.
- ISLA MI, MORENO MIN, SAMPIETRO AR, VATTUONE MA (2001). Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, **76**: 165-170.
- KALEBIC T, GARBISA S, GLASER B, LIOTTA LA (1983). Basement membrane collagen: degradation by migrating endothelial cells. *Science*, 221: 281.
- KARAGÖZ Y (2010). Nonparametrik tekniklerin güç ve etkinlikleri. *Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi*, **9**: 18-40.
- KAYA S (2002). İlaçlar: Tanımı, kaynakları, isimlendirilme, dozları, yapı-etki ilişkisi ve tıbbi kimya. İçinde: *Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji Cilt 1* (3. baskı). Editör: KAYA S, PİRİNÇCİ İ, BİLGİLİ A, Medisan Yayınevi, Ankara, 12-13.
- KAYA S (2013). Tıbbi Botanik Ve Tıbbi Bitkiler (2. baskı). Medisan Yayınevi, Ankara, 357-358.
- KAYA S, BİLGİLİ A (2002). İlaç şekilleri ve hazırlanma teknikleri. İçinde: *Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji Cilt 1*. (3. baskı). Editör: KAYA S, PİRİNÇCİ İ, BİLGİLİ, Medisan Yayınevi, Ankara, 153-184.
- KHORASANI MZ, JARRAHI M, JARRAHI A (2016). Combined effect of Iranian propolis and honey on healing of induced incisional wound in rat. *IJOABJ*, **7**: 184-190.
- KILIÇOĞLU SS, KILIÇOĞLU B, ERDEMLİ E (2008). Ultrastructural view of colon anastomosis under propolis effect by transmission electron microscopy. *World Journal of Gastroenterology*, **14**: 4763-4770.
- KRYCZKA J, BONCELA J (2015). Leukocytes: the double-edged sword in fibrosis. *Mediators of Inflammation*, 1-10.
- KUREK-GÓRECKA A, RZEPECKA-STOJKO A, GÓRECKI M, STOJKO J, SOSADA M, ŚWIERCZEK-ZIĘBA G (2014). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, **19**: 78-101.
- LAZARUS GS, COOPER DM, KNIGHTON DR, MARGOLIS DJ, PERCORARO ER, RODEHEAVER G, ROBSON MC (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol.*, **130**: 489–493.
- LI J, ZHANG YP, KIRSNER RS (2003). Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microscopy Research and Technique*, **60**: 107-114.
- LUNA LG (1968). Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology (3. baskı). McGraw-Hill Book Company, New York.

- MARCUCCI MC (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, **26**: 83–99.
- MCLENNAN SV, BONNER J, MILNE S, LO L, CHARLTON A, KURUP S, JIA J, YUE DK, TWIGG SM (2008). The anti-inflammatory agent propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Repair and Regeneration*, **16**:706-713.
- MOURA SAL, NEGRI G, SALATINO A, LIMA LDC, DOURADO LPA, MENDES JB, ANDRADE SP, FERREIRA MAND, CARA DC (2011a). Aqueous extract of brazilian green propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-8.
- MOURA SAL, FERREIRA MAND, ANDRADE SP, REIS MLC, NOVIELLO ML, CARA DC (2011b). Brazilian green propolis inhibits inflammatory angiogenesis in a murine sponge model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-7.
- OLCZYK P, WISOWSKI G, KOMOSINSKA-VASSEV K, STOJKO J, KLIMEK K, OLCZYK M, KOZMA EM (2013). Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- ORUÇ HH, SORUCU A, AYDIN L (2014). Propolisin sağlık açısından önemi, kalitesinin belirlenmesi ve türkiye açısından irdelenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **14**: 35-43.
- ORYAN A, ALEMZADEH E, MOSHIRI A (2018). Potential role of propolis in wound healing: biological properties and therapeutic activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **98**: 469-483.
- PARK SI, SUNWOO YY, JUNG Y, CHANG WC, PARK MS, CHUNG YA, LEE SH (2012). Therapeutic effects of acupuncture through enhancement of functional angiogenesis and granulogenesis in rat wound healing. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- PESSOLATO AG, MARTINS DS, AMBRÓSIO CE, MANÇANARES CA, CARVALHO AF (2011). Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats. *Burns*, **37**:1192-1201.
- PILLAI SI, PALSAMY P, SUBRAMANIAN S, KANDASWAMY M (2010). Wound healing properties of indian propolis studied on excision wound-induced rats. *Pharmaceutical Biology*, **48**: 1198-1206.
- RAMOS AFN, MIRANDA JL (2007). Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, **13**: 697-710.
- REDDY GK, ENWEMEKA CS (1996). A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clinical Biochemistry*, **29**: 225-229.
- REMENSNYDER JP, MAJNO G (1968). Oxygen gradients in healing wounds. *The American Journal of Pathology*, **52**: 301–323.
- SAID MM, AZAB SS, SAEED NM, EL-DEMERDASH E (2018). Antifibrotic mechanism of pinocembrin: impact on oxidative stress, inflammation and TGF-β/Smad inhibition in rats. *Annals of Hepatology*, **17**: 307-317.

- SANDAL EK, KAN C (2013). Bingöl ili'nde arıcılık faaliyetleri. *Türk Coğrafya Derg.*, **60**: 1-12.
- SARIÖZKAN S, İNCİ A, YILDIRIM A, DÜZLÜ Ö (2009). Kapadokya'da arıcılık. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.* **6(2)**: 143-155.
- SARKER DK (2013). *Pharmaceutical Emulsions: A Drug Developer's Toolbag*. John Wiley & Sons.
- SEHN E, HERNANDES L, FRANCO SL, GONÇALVES CC, BAESSO ML (2009). Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. *Analytica Chimica Acta*, **635**:115-120.
- SEVİN S (2018). Ülkemize özgü çam balı ve kestane balı'nın krem tarzında farmasötik şeklinin geliştirilmesi ve yara iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılması. *Doktora Tezi*. T.C. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- SEYMEN G (2013). Tıbbi Bir Bitki Ekstresi Olan Ankaferd Blood Stoper Uygulamasının Sekonder Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*. T.C. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- SEZGİN S (2012). Protefix ve propolisin ratlarda deneysel olarak oluşturulan yaralarda iyileşme sürecine olan etkilerinin karşılaştırılması. *Doktora Tezi*, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara.
- SHAH JB (2011). The history of wound care. *Journal of the American College of Certified Wound Specialists*, **3**:65-66.
- SHERMAN RA (2009). Maggot therapy takes us back to the future of wound care: new and improved maggot therapy for the 21st century. *Journal of Diabetes Science and Technology*, **3**: 335-344.
- SMITH EW, MAİBACH HI, SURBER C (2000). Use of emulsions as topical drug delivery systems. İçinde: *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions*. Editör: NIELLOUD F, MARTİ-MESTRES G, Marcel Dekker, New York.
- STADELMANN WK, DIGENIS AG, TOBİN GR (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*, **176**: 26-38.
- STEED DL (1997). The role of growth factors in wound healing. *Surgical Clinics Of North America*, **77**: 575-586.
- ŞENTÜRK N (2013). Kütanöz inflamasyon. *Türkderm*, **47**: 28-36.
- ULUSOY E (2012). Bal ve apiterapi, Uludağ Arıcılık Dergisi Ağustos, **12(3)**: 89-97.
- UZER N (2007). Sıçanlarda deri fleplerinin yaşayabilirliğinde curcumin kullanımının etkilerinin araştırılması. *Uzmanlık Tezi*. T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- VELNAR L, BAILEY T, SMRKOLJ V (2009). An overview of the wound healing process. *The Journal of International Medical Research*, **37**:1528-1542.

YUN S, TOMINAGA K, TANAKA A (2002). Expression and localization of type III collagen mRNA in the healing process of rat extraction wounds. *Journal of Osaka Dental University*, **36**: 125–131.

ZHANG Y, LU Y, ONG'ACHWA MJ, GE L, QIAN Y, CHEN L, HU X, LI F, WEI H, ZHANG C, LI C, WANG Z (2018). Resveratrol inhibits the TGF- $\beta$ 1-induced proliferation of cardiac fibroblasts and collagen secretion by downregulating mir-17 in rat. *BioMed Research International*, 1-10.



## EKLER

### EK-1 Etik Kurul Kararı

#### KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

#### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi:31.03.2016

Toplantı Sayısı:16/03

Karar No:16/ 41

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik 31.03.2016 Perşembe günü saat 13:00'de Prof.Dr.Siyami KARAHAN'ın başkanlığında toplanarak gündemdeki konuları görüştü.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Ender YARSAN tarafından yürütülen "Propolisin Krem ve Solüsyon Tazında Farmasötik Şekillerinin Geliştirilmesi ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması " isimli projesinin Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deney Hayvanları Ünitesinde yapılmak şartıyla Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.

| PROJEDE GÖREVLİ PERSONEL |              |                         |                     |
|--------------------------|--------------|-------------------------|---------------------|
| Sıra                     | Proje Görevi | İsim                    | Kurum               |
| 1                        | Yürütücü     | Prof.Dr.Ender YARSAN    | Ankara Üniversitesi |
| 2                        | Araştırmacı  | Arş.Gör Sedat SEVİN     | Ankara Üniversitesi |
| 3                        | Araştırmacı  | Vet.Hek.Metin TOPYILDIZ | Ankara Üniversitesi |

Prof.Dr.Siyami KARAHAN  
Başkan

Prof.Dr.Umut TEKİN

Üye

Prof.Dr.Zuhal AKTUNA

Üye

Prof.Dr.Murat YILDIRIM

Üye

Doç.Dr.Mustafa TÜRK

Üye

Yrd.Doç.Dr.Uğur TİFTİKÇİ

Üye

Yrd.Doç.Dr.Nahit PAMUKOĞLU

Üye

Yrd.Doç. Dr.Serap YÖRÜBULUT

Üye

Vet.Hek. Yusuf BOSTANCI

Üye

Mustafa AKIN

Üye

Vet.Hek.Yaşar SAHİN

Üye

## ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel Bilgiler

|                      |                               |
|----------------------|-------------------------------|
| Adı                  | Metin                         |
| Soyadı               | TOPYILDIZ                     |
| Doğum yeri ve tarihi | Bafra, 17/02/1986             |
| Uyruğu               | Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı |
| Medeni durumu        | Evli                          |
| Askerlik durumu      | Terhis                        |
| İletişim adresi      | metintopyildiz@hotmail.com    |

### Öğrenim Durumu

#### Lisans

|              |                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------|
| 2004-2010    | T.C. Ondokuzmayıs Üniversitesi<br>Veteriner Fakültesi |
| 2013-(Devam) | T.C. Kırıkkale Üniversitesi<br>Hukuk Fakültesi        |

#### Yabancı dil

|                     |                      |
|---------------------|----------------------|
| 2012-ÜDS (Sonbahar) | İngilizce-61.25 Puan |
|---------------------|----------------------|

### Görevler

|              |                                                                  |
|--------------|------------------------------------------------------------------|
| 2015-(Halen) | T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı<br>Müfettiş                        |
| 2011-2015    | T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı<br>Müfettiş Yardımcısı |
| 2011-2011    | T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı<br>Veteriner Hekim     |

## Bilimsel İlgi Alanları

- 1- TOPYILDIZ M, YARSAN E, (2014). Çevresel Kirliliğin İzlenmesinde Biyoindikatör Canlılar. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 14(1-2): 83-93.
- 2- TOPYILDIZ M, YARSAN E, (2015). Çevresel Kirliliğin İzlenmesinde Biyoindikatör Canlılar. “Hatay’ın Çevre Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu”, 28.05.2015, Hatay, (Poster Sunumu), Sempozyum Kitabı, sf:77.
- 3- TOPYILDIZ M, YARSAN E. (2016). Poisonous Plants On The Digestive System And Distributions Of In Turkey. 2nd International Congress of Forensic Toxicology, “Industrial and Environmental Toxicology”, 27-30.05.2016, Ankara, (Poster Sunumu), Kongre Kitabı, 132.
- 4- TOPYILDIZ M, YARSAN E. (2016). Sindirim Sistemine Etkili Zehirli Bitkiler. İçinde: *Evcil Hayvanlarda Zehirli Bitkiler ve Türkiye’deki Dağılımları*. Editör: YARSAN E, Güneş Kitabevi, Ankara, ISBN: 978- 975-277-642-5.