



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK RATLARDA OLUŞTURULAN YARA İYİLEŞMESİNİN
TEDAVİSİNDE TOPİKAL UYGULANAN MUMİJO ÖZLERİ İLE
DEKSPANTENOL'ÜN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

Dr. Ömer Serhat DAĞ

**TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Abdullah OĞUZ**

DİYARBAKIR-2025

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığınca **TIP.24.016** numaralı proje ile desteklenmiştir.

BEYAN

Bu tezin tamamen tarafıma ait olduğunu, tezin yazımındaki tüm aşamalarda etik dışı yazımın olmadığını ve telif haklarına uygun davrandığımı, edindiğim tüm verileri bilimsel çerçevede temin ettiğimi, belirtmiş olduğum tüm bilgi ve yorumlara da referans gösterdiğimi beyan ederim.

Şubat 2025

Dr. Ömer Serhat DAĞ

TEŞEKKÜR

Çalışmamda desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yön veren değerli tez hocam Prof. Dr. Abdullah OĞUZ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Genel cerrahi eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Dr. Öğr. Üyesi H. Gülşen YILMAZ, Prof. Dr. Sadullah GİRGIN, Prof. Dr. Ercan GEDİK, Prof. Dr. Mehmet YILMAZ, Prof. Dr. Mehmet Veysi BAHADIR, Prof. Dr. Burak Veli ÜLGER, Doç. Dr. Ulaş ADAY, Doç. Dr. Mehmet Tolga KAFADAR ve Doç. Dr. Murat SEVMİŞ hocalarıma teşekkür ederim. Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Histoloji Anabilim Dalı'nda görevli Dr. Eda YILDIZHAN' a da ayrıca teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli uzman ve asistan doktor arkadaşlarım Op. Dr. M. Ali KIRŞAN, Op. Dr. Gizem YAMAN, Op. Dr. İbrahim Halil ÖCAL, Op. Dr. Mehmet RENÇBER, Op. Dr. Faruk TATLI, Op. Dr. Hikmet ÖZESMER, Op. Dr. Faik Veysel AKPULAT, Op. Dr. Mehmet Mazlum İNAN, Op. Dr. Azat KÖZGÜN, Op. Dr. Mahsum BARÇIN, Op. Dr. Baran DEMİR, Op. Dr. Aydın BARS, Dr. Mazlum GÜNDÜZ, Dr. Ferdi BAYRAK, Dr. Abdülkadir AKBAŞ, Dr. Alper KIZIL, Dr. Ferhat IŞIK, Dr. Mervan KAMAR, Dr. Hasan ALKLAY, Dr. Bilal URUÇ, Dr. Çağrı ARSLAN, Dr. Dilan YILDIZ, Dr. Hasip GÖZÖNÜNDE, Dr. Zehra ŞEKHO, Dr. Ayşe MUTLU, Dr. İsmail ATAM, Dr. Mirkan Can AYHAN, Dr. Veli İÇKE, Dr. Muhammed Emir CEYLAN, Dr. Baran SARILI, Dr. İbrahim AKIL, Dr. Süleyman Adem ŞENGÜL, Dr. Abdullah AGİTOĞLU ve Dr. Fatih ŞIK' a teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, sevgileriyle bana her zaman güç veren canım aileme; bir an bile desteğini esirgemeyen sevgili annem Sultan DAĞ' a, her zaman yanımda olan kıymetli ablam Özge DAĞ' a, tez çalışmalarım sırasında da desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen sevgili kardeşim Dr. Servan DAĞ' a ve her daim yolumu aydınlatan kıymetli babam Prof. Dr. Ahmet DAĞ' a kalpten teşekkür ederim.

Asistanlık sürecim boyunca sevgisiyle, sabrıyla ve fedakârlığıyla her an yanımda olan, varlığıyla bana güç ve ilham veren değerli eşim Dr. Şehriban DURSUN DAĞ' a tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

Bu çalışmamı, hayatıma neşe ve umut katan, gülüşüyle tüm yorgunluğumu unutturan biricik kızım Eylül Ada'ya, kalbimin en derin sevgisiyle armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

BEYAN	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLolar DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
KISALTMALAR.....	VIII
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. DERİ ANATOMİSİ	4
2.1.1. Epidermis:	4
2.1.2. Dermis:	5
2.1.3. Hipodermis:.....	6
2.1.4. Derinin fonksiyonları:	6
2.2 YARA İYİLEŞMESİ	6
2.2.1 Yara İyileşmesi Şekilleri	7
Primer yara iyileşmesi:	7
Sekonder yara iyileşmesi:	7
Tersiyer yara iyileşmesi:.....	7
2.2.2 Yara İyileşmesi Evreleri	8
2.2.2.1. Hemostaz ve inflamasyon Aşaması	8
2.2.2.2. Proliferasyon Aşaması	9
2.2.2.3. Remodeling Aşaması	10
2.2.3 Yaraların Enfeksiyon Riski Açısından Sınıflandırılması	11
2.2.3.1 Temiz Yara	11
2.2.3.2 Temiz Kontamine Yaralar	11
2.2.3.3 Kontamine Yaralar	11
2.2.3.4 Kirli Yaralar	11
2.2.4 Yara iyileşmesine Etki Eden Faktörler	12
2.2.4.1. Lokal Faktörler	12
2.2.4.2 Sistemik Faktörler.....	12
2.2.4.3 Topikal Ajanlar	13
2.2.4.4. Radyasyon	15

2.3 MUMIJO (SHILAJIT)	16
2.4 DEKSPANTENOL.....	17
2.5 DIYABETİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLUMSUZ ETKİSİ	18
2.6 YARA İYİLEŞMESİ MODELİNDE TOTAL ANTIOKSIDAN DURUMU ÖLÇÜMÜ	20
3.MATERYAL ve METOD	21
3.1. Etik Kurul Onamı'nın Alınması	21
3.2. Bilimsel Araştırma Proje Desteği	21
3.3. Amaç	21
3.4. Eksizyonel Yara Modelinin Oluşturulması	22
3.5. Dekspantenol Kremin Uygulanması.....	22
3.6. Mumijo Özlerinin Uygulanması	22
3.7. Diyabet Oluşturulması.....	22
3.8. Deneyin Planlanması.....	23
3.9. Deneyin Gruplarının Oluşturulması	24
3.10. Morfolojik Değerlendirme.....	28
3.11. Biyokimyasal Değerlendirme.....	28
3.11.1 Total Antioksidan (TAS) Durum Ölçümü	28
3.11.2. Kan Şekeri Ölçümü.....	29
3.12. Histopatolojik incelemeler	29
3.12.1. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyama Protokolü	30
3.12.2. Weigert Van Gieson Boyama Metodu.....	31
3.12.3. İmmunohistokimyasal incelemeler	33
3.13. İstatistiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR	35
4.1. Yara yüzey alanlarının hesaplanması	35
4.2. Kan Şekeri Ölçümleri	37
4.3. Biyokimyasal Analizler	38
4.3.1. TAS Analizi	38
4.4.Histolojik İncelemeler	39
4.4.1 Hematoksilen&Eozin (H&E) ve Weigert Van Giesson Bulguları	39
4.4.2. VEGF Ekspresyonları	56
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ.....	70
KAYNAKÇA.....	71

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1. HEMOSTATİK VE TROMBOSİT KAYNAKLI FAKTÖRLER VE İŞLEVLERİ.....	9
TABLO 2. YARA İYİLEŞME SÜRECİNDE GÖREV ALAN BAŞLICA BÜYÜME FAKTÖRLERİ15	
TABLO 3. RUTİN HİSTOLOJİK DOKU TAKİBİ.....	30
TABLO 4. HEMATOKSİLEN & EOZİN BOYAMA İŞLEMİNİN AŞAMALARI.....	31
TABLO 5. WEİGERT VAN GİESON BOYAMA İŞLEMİNİN AŞAMALARI	32
TABLO 6. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA İŞLEMİNİN AŞAMALARI	33
TABLO 7. DENEY GRUPLARININ 7., 14. VE 21. GÜNLERDE WALKER FORMÜLÜNE GÖRE HESAPLANAN YARA İYİLEŞME ORANLARININ (%) ORTALAMA $\pm$ SD DEĞERLERİ. .	36
TABLO 8. DM ÖNCESİNDE VE SONRASINDA AÇLIK KAN GLUKOZ SEVİYELERİ VE TAS SEVİYELERİNİN ORTALAMA $\pm$ STANDART SAPMA DEĞERLERİ.....	38
TABLO 9. 7,14 VE 21.GÜNLERDE FİBROBLAST AKTİVASYONUNUN ORTALAMA $\pm$ STANDART SAPMA DEĞERLERİ.....	40
TABLO 10. 7,14 VE 21.GÜNLERDE KOLLAJEN REGÜLARİTESİ VE YOĞUNLUĞUNUN ORTALAMA $\pm$ STANDART SAPMA DEĞERLERİ.....	41
TABLO 11. 7,14 VE 21.GÜNLERDE KONJESYON YOĞUNLUĞUNUN ORTALAMA $\pm$ STANDART SAPMA DEĞERLERİ.....	42
TABLO 12. 7,14 VE 21.GÜNLERDE NEOVASKÜLARİZASYON SKORLARININ ORTALAMA $\pm$ STANDART SAPMA DEĞERLERİ.....	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1. EPİDERMİS KATMANLARI.....	5
ŞEKİL 2. EPİDERMİS KATMANLARININ MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜSÜ.....	5
ŞEKİL 3. PAPİLLER VE RETİKÜLER DERMİS	6
ŞEKİL 4. YARA İYİLEŞME ŞEKİLLERİ SINIFLANDIRILMASI	7
ŞEKİL 5. YARA İYİLEŞMESİ EVRELERİ	11
ŞEKİL 6. ŞİLAJİT VE DOĞAL OLUŞUMU	17
ŞEKİL 7. DİYABETİK HASTADA YARA İYİLEŞMESİ.....	18
ŞEKİL 8. STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMASI	23
ŞEKİL 9. EKSİZYONEL YARANIN OLUŞTURULMASI (2X2 CM).	24
ŞEKİL 10. PUNCH BİYOPSİ ALINMA İŞLEMİ.	26
ŞEKİL 11. YARA YÜZEYLERİNİN ASETAT KAĞITLARINA ÇİZİMİ İŞLEMİ.	27
ŞEKİL 12. YARA İYİLEŞMESİNİN GÜNLERE GÖRE GRUPLAR ARASINDA İZLENEN MORFOLOJİK DEĞİŞİMLERİ.	27
ŞEKİL 13. MUMİJO ÖZLERİ UYGULANAN DİYABETİK BİR RATTA YARA İYİLEŞME SÜRECİNİN ÖRNEK OLARAK SUNUMU	28
ŞEKİL 14. 7, 14 VE 21. GÜNLERDEKİ YARA YÜZEYİ ORTALAMALARI.....	36
ŞEKİL 15. DİYABET+MUMİJO GRUBUNUN DM ÖNCESİ KŞ VE DM SONRASI KŞ ÖLÇÜMLERİNİN ORTALAMALARI.	37
ŞEKİL 16. DENEY GRUPLARININ TOTAL ANTİOKSİDAN STATÜ (TAS) DÜZEYLERİNE AİT ORTALAMA DEĞERLERİNİN GRAFİKSEL DAĞILIMI.....	39
ŞEKİL 17. KONTROL GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	44
ŞEKİL 18. KONTROL GRUBU 14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	44
ŞEKİL 19. KONTROL GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	45
ŞEKİL 20. DM GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	45
ŞEKİL 21. DM GRUBU 14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	46
ŞEKİL 22. DM GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	46
ŞEKİL 23. DM+DEX GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	47
ŞEKİL 24. DM+DEX GRUBU 14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	47
ŞEKİL 25. DM+DEX GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	48
ŞEKİL 26. DM+MUMİJO GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	48
ŞEKİL 27. DM+MUMİJO GRUBU 14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	49
ŞEKİL 28. DM+MUMİJO GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: HEMATOKSİLEN&EOSİNX20).	49
ŞEKİL 29. KONTROL GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	50
ŞEKİL 30. KONTROL GRUBU 14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	50

ŞEKİL 31. KONTROL GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	51
ŞEKİL 32. DM GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	51
ŞEKİL 33. DM GRUBU14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	52
ŞEKİL 34. DM GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	52
ŞEKİL 35. DM+DEX GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	53
ŞEKİL 36. DM+DEX GRUBU14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	53
ŞEKİL 37. DM+DEX GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	54
ŞEKİL 38. DM+MUMİJO GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	54
ŞEKİL 39. DM+MUMİJO GRUBU14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	55
ŞEKİL 40. DM+MUMİJO GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	55
ŞEKİL 41. VEGF (+) EKSPRESYONLARININ ORTALAMALARI.	56
ŞEKİL 42. KONTROL GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	57
ŞEKİL 43. KONTROL GRUBU 14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	57
ŞEKİL 44. KONTROL GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	58
ŞEKİL 45. DM GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	58
ŞEKİL 46. DM GRUBU14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	59
ŞEKİL 47. DM GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	59
ŞEKİL 48. DM+DEX GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	60
ŞEKİL 49. DM+DEX GRUBU14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	60
ŞEKİL 50. DM+DEX GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	61
ŞEKİL 51. DM+MUMİJO GRUBU 7. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	61
ŞEKİL 52. DM+MUMİJO GRUBU14. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	62
ŞEKİL 53. DM+MUMİJO GRUBU 21. GÜNÜNE AİT MİKROGRAF (BOYAMA: WEİGERT VAN GİESONX20).	62

KISALTMALAR

bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü (Basic Fibroblast Growth Factor)

DAB: Diaminobenzidin

DM: Diyabetes Mellitus (Şeker Hastalığı)

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor)

H&E: Hematoksilen ve Eozin Boyası

IL-1: İnterlökin-1

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (Insulin-like Growth Factor)

IHC: İmmünohistokimya

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

PAF: Platelet Aktive Edici Faktör

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PDGF: Platelet Türevli Büyüme Faktörü (Platelet-Derived Growth Factor)

PGE1/PGE2: Prostaglandin E1/E2

ROS: Reaktif Oksijen Türevleri (Reactive Oxygen Species)

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

STZ: Streptozotosin (Diyabet modeli oluşturmak için kullanılan ajan)

TAS: Total Antioksidan Seviyesi

TGF- β : Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor)

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ÖZET

Diyabetik Ratlarda Oluşturulan Yara İyileşmesinin Tedavisinde Topikal Uygulanan Mumijo Özleri ile Dekspantenol'ün Etkinliğinin Karşılaştırılması

Araş. Gör. Adı ve Soyadı: **Ömer Serhat DAĞ**

Danışman: **Prof. Dr. Abdullah OĞUZ**

Anabilim Dalı: **Genel Cerrahi Anabilim Dalı**

Amaç: Yara iyileşmesi cerrahi hastalarda postoperatif morbidite ve hastane yatış süresini önemli ölçüde belirler, diyabetik hasta grubunda mevcut olan hiperglisemi ile bozulan yara iyileşme sürecinin iyileştirilmesi için çok sayıda farklı analiz ve klinik çalışma yapılmaktadır. Diyabetin yara iyileştirilmesi üzerindeki olumsuz etkileri göz önüne alınınca etkisi kanıtlanmış olan topikal dekspantenol ile Mumijo özütünün yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

Materyal/Metod: Bu çalışma, her birinde 8–10 haftalık yaş aralığında olan toplam 28 adet dişi Wistar Albino sıçanın yer aldığı dört gruptan oluşacak şekilde planlanmıştır. Gruplar şu şekilde oluşturulmuştur: kontrol grubu, diyabet grubu, dekspantenol krem grubu ve Mumijo özütü uygulanan grup. Kontrol grubunu oluşturan 7 sıçan dışındaki 21 sıçana diyabet modeli oluşturulmuştur. Tüm hayvanlara intraperitoneal yolla anestezi ajan uygulanmasının ardından, sıçanlar prone pozisyonda sabitlenmiş ve cerrahi alan sterilizasyonu sağlanmıştır. Her bir sıçana interskapular bölgede, yaklaşık 4 cm² boyutunda tam kat cilt defekti oluşturulmuştur. Farklı zaman noktalarında (7., 14. ve 21. günlerde) yara yüzey alanı ölçümleri yapılmış ve histopatolojik inceleme amacıyla biyopsi örnekleri alınmıştır.

Bulgular: Gerçekleştirilen yara yüzey alanı ölçümleri, biyokimyasal analizler (özellikle total antioksidan düzeylerinin tayini) ve histopatolojik değerlendirmeler kapsamında; Hematoksilen & Eozin (H&E), Van Gieson boyamaları ile immünohistokimyasal yöntemler aracılığıyla neovaskülarizasyon, kolajen düzenliliği, fibroblast aktivitesi, miyofibroblast yoğunluğu, kolajen miktarı, mononükleer hücre infiltrasyonu ve konjesyon düzeyleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, tüm gruplarda doku iyileşme süreçlerinin genel olarak benzer bir seyir izlediğini ortaya koymakla birlikte; Mumijo sulu özütü uygulanan grup ile dekspantenol uygulanan grupta yara iyileşmesinin diğer gruplara kıyasla daha belirgin ve etkin bir şekilde gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

Sonuç: Belirli parametreler ile sınırlı kalarak yapmış olduğumuz bu çalışmada diyabetik ratlarda oluşturulan deneysel yara modelinin iyileşmesinde topikal uygulanan mumijo özütleri ile topikal dekspantenol krem' in etkinliğinin benzer olduğunu saptadık.

Anahtar Kelimeler: Mumijo, dekspantenol, yara iyileşmesi

ABSTRACT

Comparison of the Effectiveness of Topically Applied Mumijo Extracts and Dexpanthenol in the Treatment of Wound Healing in Diabetic Rats

Introduction: Wound healing is a critical factor in determining postoperative morbidity and hospital stay in surgical patients. In diabetic individuals, the wound healing process is significantly impaired due to persistent hyperglycemia. Numerous analyses and clinical studies have been conducted to improve this impaired healing. Considering the negative effects of diabetes on tissue repair, this study aimed to compare the efficacy of topically applied Mumijo extract and dexpanthenol—both of which have been reported to promote wound healing—on experimentally induced wounds in diabetic rats.

Materials and Methods: This study was designed with four groups, each consisting of seven female Wistar Albino rats aged 8–10 weeks, totaling 28 subjects. The groups were designated as follows: control group, diabetic group, dexpanthenol cream group, and Mumijo extract group. A diabetes model was induced in all rats except those in the control group (n=7), resulting in 21 diabetic rats. After intraperitoneal administration of anesthetic agents, the animals were placed in the prone position, and surgical site sterilization was performed. A full-thickness skin wound measuring approximately 4 cm² was created in the interscapular region of each rat. Wound surface area measurements were performed and biopsy samples were obtained on days 7, 14, and 21 for further analysis.

Results: Wound surface measurements, biochemical analyses (especially total antioxidant levels), and histopathological assessments—including Hematoxylin & Eosin (H&E), Van Gieson staining, and immunohistochemical evaluation—were conducted to investigate neovascularization, collagen regularity, fibroblast activity, myofibroblast density, collagen content, mononuclear cell infiltration, and congestion. The results indicated that wound healing followed a generally similar pattern across all groups. However, it was observed that wound healing was more pronounced and efficient in both the Mumijo extract and dexpanthenol treatment groups compared to the others.

Conclusion: This study, limited to specific parameters, demonstrated that the topical application of Mumijo extracts and dexpanthenol cream yielded comparable efficacy in enhancing wound healing in an experimental diabetic rat model.

Keywords: Mumijo, dexpanthenol, wound healing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara iyileşmesi postoperatif hastalarda hastane yatış süresi ve morbidite üzerindeki en belirleyici etkenlerdendir. Diyabetik hasta grubunda postoperatif dönemde artmış kan şekerinin yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği hastane yatış süresinin uzadığı bilinmektedir. Tüm bu nedenler ile diyabetik hasta grubunda yara onarım mekanizmaları üzerinde faydalı bir etki edebilecek birçok farmakolojik ajan kinik olarak denenmektedir (1).

Diyabetik bireylerde görülen hiperglisemi, yara iyileşme hızını belirgin şekilde yavaşlatmakta ve bazı durumlarda kronik yara gelişimine zemin hazırlayabilmektedir. Bu hasta grubunda hiperglisemi nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden oksidatif stresi arttırmakta ve iyileşme hızı azalmaktadır ayrıca iyileşmede belirgin görevi olan hücreler olan keratinosit ve fibroblast hücrelerinin de aktivitesini, proliferasyonunu ve migrasyonunu olumsuz olarak etkileyerek iyileşme sürecini bozar (2).

Dekspantenol, pantotenik asidin stabil alkollü analogudur. Pantotenik asit ise Coenzim-a'nın bir bileşenidir. Dekspantenol içeren formülasyonların en belirgin etkileri arasında epitelizasyonun uyarılması, granülasyon ve kaşıntının hafifletilmesi yer alır (3).

Gelişmiş ülkelerde, Mumijo'nun çeşitli hastalıkların tedavisindeki potansiyel rolü üzerine sağlık profesyonelleri ve farmakoloji alanındaki araştırma kuruluşları tarafından çok sayıda çalışma yürütülmektedir. Mumijo'nun biyolojik etkisi di-benzo-alfa-piron, hümkik asit ve folik asit içeriğine bağlanmıştır (4). Yapılan bazı çalışmalar Mumiju'nun mide-bağırsak bozukluklarında (5) kemik ağrıları ve kırıklarında faydalı etkileri olduğunu bildirmiştir. Ayrıca hafızayı geliştirici, nöroprotektif, antiinflamatuvar ve antioksidan rolle sahip olduğu da bilinmektedir (6). Günümüzde geleneksel ve tamamlayıcı tıbbın günlük klinik pratikteki yerinin artması ile birçok doğal ürün gibi mumijo da araştırmalara konu olmaya başlamıştır mumijo; çeşitli coğrafyalarda salajit, shilajatu, mumie ya da mumiyo gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Himalaya dağlarının yüksek kesimlerinde (0.6 – 5 km irtifada) bulunan bazı taş ve kayalıklardan sızan koyu renkli bir sıvı olarak bilinmektedir. Mikroskopik yapısı incelendiğinde kaya rizosferindeki bazı mikrobiyal metabolitler ile organik bitki maddelerinin kompleks bir birleşimi olarak karşımıza çıkmaktadır. Birçok Asya ülkesinde geleneksel tıbbın bir ögesi olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır.

Yapılan bazı çalışmalara göre Mumijo'nun önemli onarıcı etkileri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca antioksidan aktivite hücresel onarım ve rejeneratif fonksiyonlara sahip olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Bazı araştırmacılar, Mumijo'nun güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler taşıdığını; bu özellikleri sayesinde mide ülseri tedavisinde ve yara iyileşmesinde terapötik açıdan önemli bir rol oynadığını ifade etmişlerdir (7). Genel olarak içerdiği antioksidan maddeler dolayısıyla geniş biyokimyasal ve farmakolojik aktiviteye sahiptir (8). Son olarak, bakteriyostatik ve antiinflamatuvar etkisi nedeniyle Mumijo özütü yaranın nekrotik dokulardan temizlenmesi, granülasyon ve epitelizasyon sürecini kolaylaştırır ve yara iyileşme süresini kısaltır (9).

Bu bilgiler doğrultusunda diyabetin yara iyileştirilmesi üzerindeki olumsuz etkileri göz önüne alınınca etkisi kanıtlanmış olan topikal dekspantenol krem ile günümüzde araştırma sürecinde olan *Mumijo* özütünün yara iyileşmesindeki üzerinde meydana getirdiği etkileri kıyaslamayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DERİ ANATOMİSİ

Deri insan organları arasında yüzey alanı en büyük olan organdır. En önemli görevleri arasında; insan vücuduna etraftan gelen uyarıları (dokunma, ağrı ve basınç) alıp insanın doğa ile iletişimini sağlar, vücudun sıcaklık dengesini sağlar, salgı üretir, vücudu etraf organizmalardan koruma görevlerini yapar.

2.1.1. Epidermis:

Cildin en dış katmanı olan epidermis, vücudun farklı bölgelerinde işlevsel gereksinimlere bağlı olarak çeşitli kalınlıklarda bulunabilir. Bu katmanda keratinosit hücreleri, melanosit hücreleri, merkel hücreleri ve langerhans hücreleri bulunur.

Keratinositler epidermis hücreleri içerisinde sayıca en fazla olanlardır, organellerini ve nükleuslarını kaybederek keratinize olurlar ve vücudun koruyucu katmanını oluştururlar.

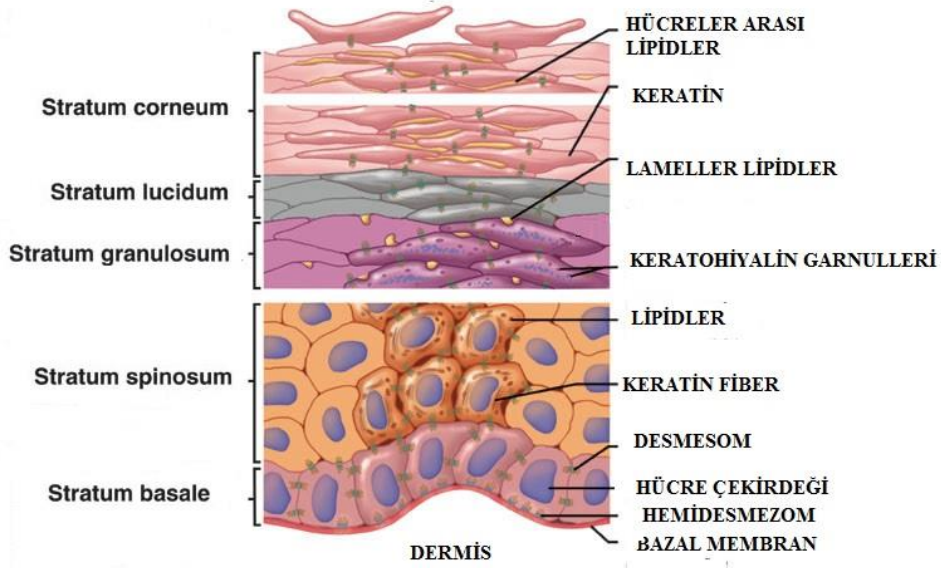
Melanositler nöral krest kökenli hücrelerdir melanoblastlardan köken alırlar bir pigment olan melanini sentezleyerek renk oluşumunda etkili olurlar. Renk (kıl ve deri rengi) oluşumunda asıl önemli olan etken melanosit sayısı değil melanosit aktivitesidir (10).

Langerhans hücreleri derinin immünolojik cevaplarında rol alır. Stratum spinozum tabakasında bulunur. Stoplazmasında birbeck granülleri bulunur (11).

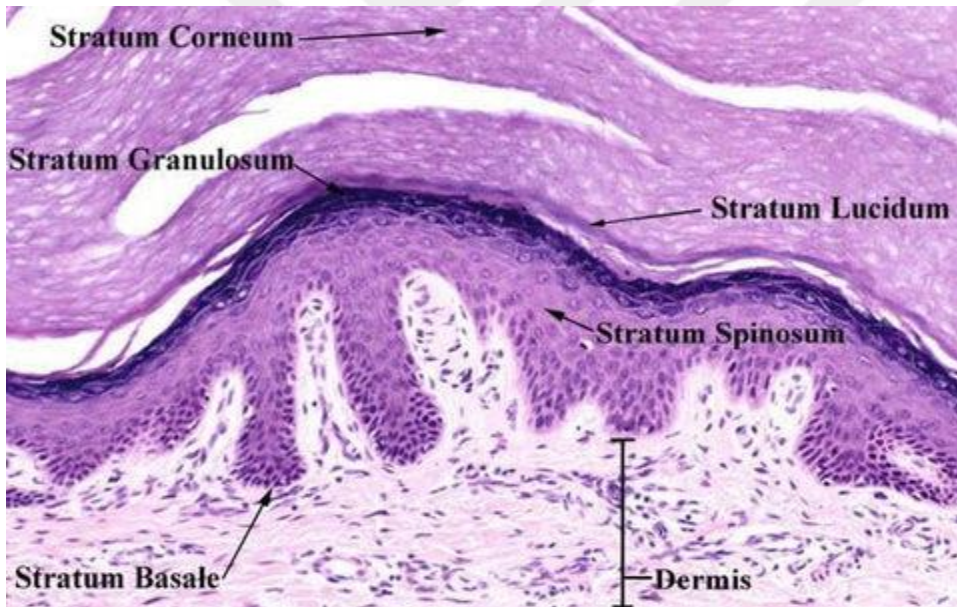
Merkel hücreleri derinin dokunma duyusunu veren hücrelerdir, bazal tabakada yerleşmişlerdir. Avuç içlerinde ve ayak tabanlarında çoğunlukla fazla adette bulunurlar (12).

Epidermis, keratinize olmuş çok katmanlı yassı epitel dokusuyla örtülüdür. 5 tabakadan oluşmaktadır. Bunlar; en yüzeyden başlanarak derine doğru sıralanacak olursa;

- 1- Stratum Korneum; Nükleuslarını kaybetmiş ve staoplazmaları keratin ile dolu kertaniositlerden oluşan derinin en yüzeysel tabakasıdır. Derinin bariyer görevini üstlenir. Sürekli olarak travma etkisine maruz kalan yerlerde kalınlaşmıştır.
- 2- Stratum lucidum, epiderminin yalnızca kalın deri bölgelerinde (özellikle palmar ve plantar yüzeylerde) yer alan saydam bir tabakasıdır. Bu katmandaki hücreler elaidin içerirler (13).
- 3- Stratum Granulosum; bu katmanda bulunan hücreler keratohyalin granülleri içermektedir. Keratohyalin granüllerinin oluşturduğu bu görüntü bu katmana adını vermektedir.
- 4- Stratum spinozum; Mekanik etkenlere karşı oldukça dayanıklı olan bu katman dayanım gücünü hücreler arasında çok fazla sayıda olan desmozomlardan almaktadır. Langerhans hücreleri de bu tabaka içerisinde bulunmaktadır.
- 5- Stratum bazale ve startum spinozumun beraber oluşturduğu katman malpighi tabakası olarak adlandırılır. Bu katmanda mitotik aktivite yüksek olup epiderminin rejenerasyonunda görev alır.



Şekil 1: Epidermis katmanları

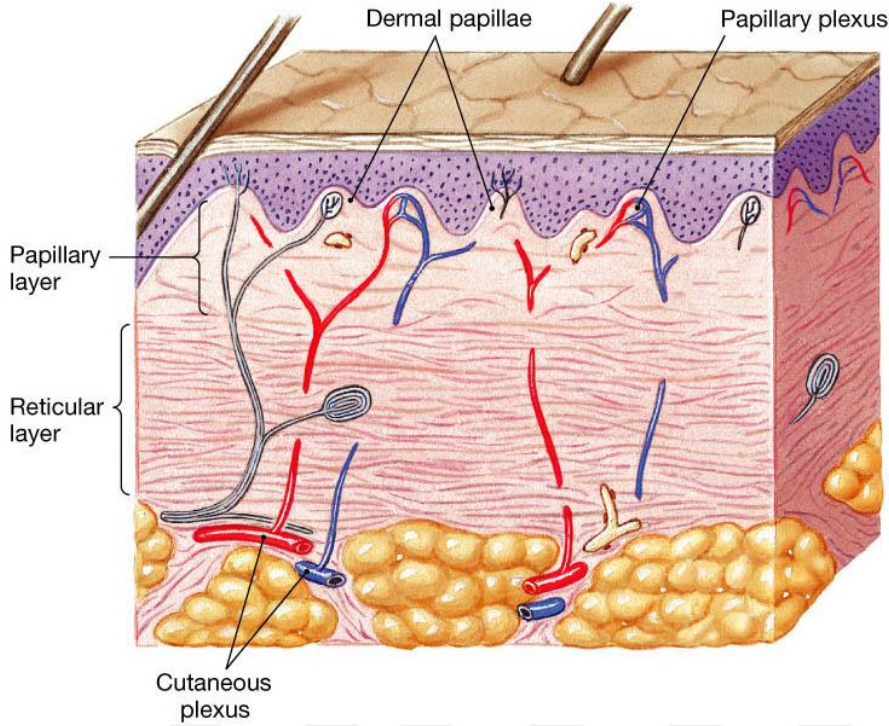


Şekil 2. Epidermis Katmanlarının Mikroskopik Görüntüsü

2.1.2. Dermis:

Dermis bağ doku oranı epidermise oranla daha fazla olan ve epidermise kıyasla daha kalın bir yapıya sahip bir tabakadır.

Papiller ve retiküler dermis adı verilen iki kısımdan oluşur. Dermis tabakası; ter ve sebace bezler, kıl folikülleri, vasküler yapılar ve sinir ağları gibi çeşitli anatomik ve fonksiyonel bileşenleri içermektedir. Dermiste dokunma duyusunu hassas olarak algılayan Meissner cisimcikleri bulunmaktadır, ayrıca bu tabakada fibroblast, mast hücresi, histiyosit gibi hücreler çoğunlukla bulunmaktadır.



Şekil 3. Papiller ve Retiküler Dermis

2.1.3. Hipodermis:

Dermisten daha derinde yer alan bu katmanda bağ doku, yağ hücreleri damar ve sinirler bulunmaktadır. Superficialis ve profundus tabakaları mevcuttur (14).

2.1.4. Derinin fonksiyonları:

İnsan vücudunu mekanik travmalardan, kimyasallardan ve mikroorganizmalardan korur. Ağrı, sıcaklık, basınç ve dokunma duyularını algılar. D vitamini metabolizmasında görev alır. Ter ve yağ bezlerinin salgı fonksiyonları vardır. Bazı yağda çözünen maddelerin absorpsiyonunu da sağlar. Deride bulunan langerhans hücreleri antijen sunumunda yer alarak immun sistemde rol alır. Terleme fonksiyonu ile de vücudun sıvı elektrolit dengesinin sağlanmasında da rolü vardır.

2.2 YARA İYİLEŞMESİ

Çeşitli sebeplerle bir dokunun bütünlüğünün bozulmasıyla anatomik ve fonksiyonel özelliklerinin kısmen veya tamamen kaybolması sonucu dokunun biyolojik ve fizyolojik işlevlerinin kalıcı ya da geçici şekilde yitirilmesine yara denir.

Yara iyileşmesi sırasında hasar gören dokuların yapısının ve fonksiyonunun geri yerine getirilmesi temel amaçtır. Yaralanma sırasında iyileşme süreci başlar ve bu süreç dokunun yapısına, histolojik özelliklerine ve bireyin biyolojik birçok özelliğine göre farklılık göstererek aylarca hatta yıllarca sürebilir.

Yara iyileşme sürecini pek çok etken etkileyebilmektedir. Bunlardan bazıları şunlardır: sistemik hastalıklar, yaralanmanın tipi, enflamasyonun yoğunluğu, anjiyogenez ve lokal yara faktörleridir. Hasar gören ve yaralanan bir dokunun anatomik ve fonksiyonel özelliklerini

koruyarak iyileşmesi için yeterli doku perfüzyonuna sahip olması gerekmektedir. Oksijenasyonun ve beslenmenin iyi olması ve uygun nem ortamı olması optimal bir iyileşmeyi sağlayan faktörlerdir.

2.2.1 Yara İyileşmesi Şekilleri

Yara onarımı, iyileşmenin gerçekleşme biçimine bağlı olarak primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi şeklinde üç ana grupta incelenmektedir. Bunlar onarım mekanizması ve onarım sürecine göre birbirinden farklılık arz etmektedir.

Primer yara iyileşmesi:

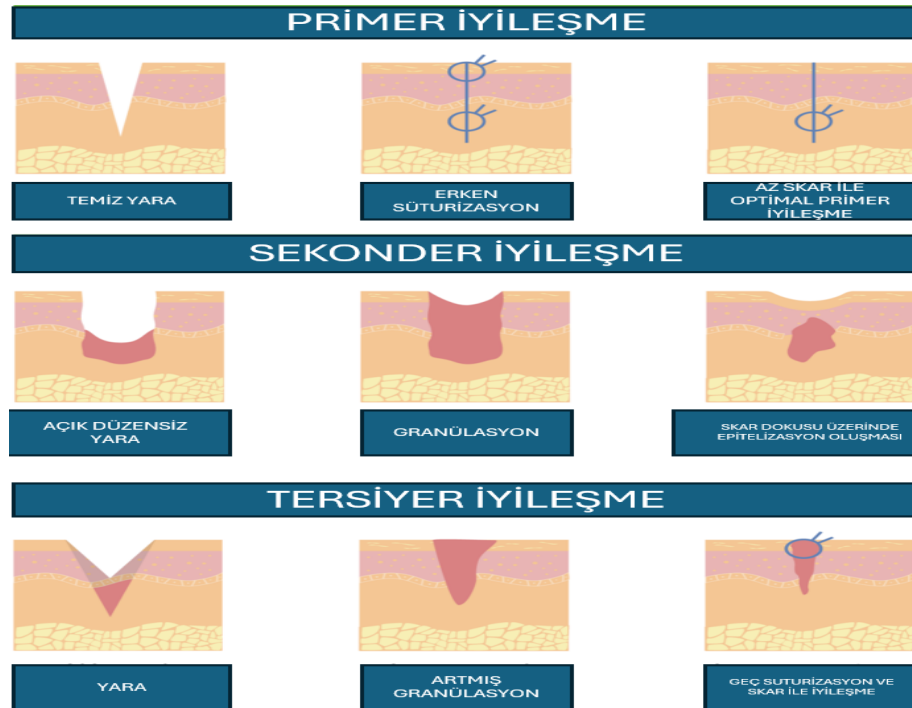
Yaralanma gerçekleştiikten sonraki ilk gün içerisinde erken dönemde yara dudaklarının suture, doku yapıştırıcısı vb. materyaller ile yan yana getirilmesi ile oluşan iyileşme şeklidir. Minimal bir bağ doku kaybı mevcuttur. Yara dudakları hızla epitelize olarak optimal bir iyileşme sağlanır (15).

Sekonder yara iyileşmesi:

Yara kenarlarının yan yana getirilemediği durumlarda oluşan iyileşme şeklidir. Doku kaybı daha fazla olduğundan iyileşme süreci daha uzun sürmektedir. Bu mekanizma ile iyileşen dokularda kontraksiyon miktarı primer iyileşmeye oranla daha fazla olmaktadır (15).

Tersiyer yara iyileşmesi:

Çeşitli nedenler ile (enfeksiyon, yabancı cisim reaksiyonu, sistemik nedenler vb.) primer iyileşmenin gecikmesi halinde iyileşmeye engel olan etmen ortadan kaldırıldıktan sonra granülasyon dokusu ile meydana gelen iyileşme şeklidir. Yara dudakları suture ile birbirine yaklaştırılarak ve doğru pansuman yöntemleri ile süreç hızlandırılabilir (16).



Şekil 4. Yara iyileşme şekilleri sınıflandırılması.

2.2.2 Yara İyileşmesi Evreleri

Derideki yara iyileşmesinde çok sayıda farklı etken rol alır. Enflamatuvar hücreler ve büyüme faktörleri, fibroblastlar ve keratinositler birbiriyle bağlantılı, karmaşık bir yapı aracılığıyla yeniden epitelizeasyonda görev alır (17).

Fizyolojik yara onarımı, hücresel dinamikler ile biyokimyasal mediatörlerin koordineli etkileşimi sonucunda gerçekleşen karmaşık bir süreçtir ve bu süreç, gerçekleştirilen fonksiyonlara bağlı olarak üç temel evreye ayrılmaktadır

2.2.2.1. Hemostaz ve inflamasyon Aşaması

Yara oluşumu sonrası ilk olarak hemostaz meydana gelir. Hemostaz oluşumunda temel olarak trombositler, fibrin yapılar ve vasküler yapılar rol alır. Hasarlanmış olan damar ve lenfatiklerden katekolamin salınımını takiben vazokonstriksiyon oluşması ile süreç başlar (18).

Vasküler yapıların rüptüre olmasıyla trombositler yara alanına gelir. Trombositlerin yüzeyinde yerleşmiş olan glikoprotein 1b (G1b) reseptörü aracılığıyla von Willebrand faktörüne (vWf) bağlanma gerçekleştirir ve bu kompleks de yara oluşumu sonrası oluşan kollajen yapılar ile birleşerek Hageman faktörünü aktive eder (19).

Aktive Hageman faktörü bazı sistemlerin devreye girmesine neden olur. Bu sistemler; kompleman-kinin mekanizması, pıhtılaşma süreci ve plazmin sentezidir. Takiben trombositlerin degranülasyonuna yol açar. Salınan Tromboxan A2 (TxA2) damarların büzülmesini (vazokonstriksiyon) ve trombosit agregasyonunu sağlar (20).

Trombositler ilk olarak primer tıkaçı oluşturur. Hemostaz kaskadı aktive olur sentezlenen fibrin yapılar inflamatuvar hücrelerin ve fibroblastların migrasyonu için uygun bir zemin oluşturur ayrıca adeta bir örgü mesh gibi görev görerek diğer hücreler ile arada bir bariyer oluşturur. Fibrin stabilize edici faktör (faktör 13) eksikliğinde yetersiz pıhtılaşma gözlenir (21).

Trombositlerin kolajenle temas etmesi sonucunda, trombin ve fibronektinle, trombosit alfa granüllerinden çeşitli sitokinler ile büyüme faktörleri salgılanmaktadır (22). Trombositler, yara iyileşme sürecinin erken evresinde; PDGF (platelet-derived growth factor), TGF- β (transforming growth factor-beta), PAF (platelet-activating factor), serotonin ve fibronektin gibi çeşitli biyolojik olarak aktif molekülleri salgılar. Aynı zamanda, bu süreçte interleukin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi de gözlemlenir.

Doku yaralanması sonrası gelişen geçici vazokonstriksiyon 5-10 dakika içerisinde azalarak kaybolur. Hemostaz mekanizmaları ile Kanamanın durmasının ardından, endotel hücreleri tarafından histamin ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi faktörler salınarak vasküler geçirgenliği artırır ve vazodilatasyon gelişir.

Tablo 1. Hemostatik ve trombosit kaynaklı faktörler ve işlevleri

HEMOSTATİK FAKTÖRLER	FONKSİYON
Fibrin, fibronektin	Koagülasyon, kemotaksis, adezyon, hücre göçü
FXIII	Kemotaksis, yapışma
Kompleman	Antimikrobiyal etki, kemotaksis
Dolaşımdaki büyüme faktörleri	Kemotaksis, mitogenez ve fibroplazmin regülasyonu
TROMBOSİT KAYNAKLI FAKTÖRLER	
Sitokinler, growth faktörler	Kemotaksis, mitogenez, fibroplazi
Fibronektin	Matriks oluşumu, trombosit agregasyonu
Platelet aktive edici faktör	Trombosit agregasyonu
TxA2	Trombosit agregasyonu, vazokonstriksiyon, kemotaksis
Platelet Faktör IV	Fibroblast ve monositlerin kemotaksisi, kollagenezi inhibe eder
Serotonin	Damar geçirgenliği artışı, nötrofil kemotaksisi
Adenozin dinükleotid	Hücre proliferasyonu ve migrasyonu stimüle eder, trombosit agregasyonunu indükler

İnflamasyon aşaması ise kapiller geçirgenliğin artışı ile başlamış olur. Trombositler fosfolipaz A2'yi aktive eder ekstraselüler aralığa araşidonik asit salınır. PGE1 ve PGE2 salınımı artarak inflamasyon belirtileri oluşmaya başlar. Monositlerin kemotaksisinde PGE2, Lökositlerin kemotaksisinde Prostaglandin E2, Tromboxan B2, 5-hidroksiperoksieikosatetraenoikasit ve hidroksieikosatetraenoikasit bu süreçte görev alır. (23).

Kininler enflamasyonun oluşmasında önemli araçlardır. Kallikrein, bradikinin senteziyle vazodilatasyon oluşur. Vazodilatasyon sonucu kapiller geçirgenlik artışı olur lökosit hücreleri, damar dışına çıkar yara bölgesine ulaşır. Yara bölgesine ulaşan lökositler inflamasyon mediatörlerini ortaya çıkartır (24).

Nötrofiller yara alanındaki yabancı etmenleri ve mikroorganizmaları elimine eder, daha sonra monositler makrofajlara evrilir ve bu göreve devam eder. Makrofajlar ayrıca TGF- β 'yı ve bazı başka sitokinleri de serbestler, buna sekonder olarak epitel hücreleri ve fibroblastlar, hasar gören bölgeye doğru hareket ederler.

2.2.2.2. Proliferasyon Aşaması

İyileşme sürecinin çoğalma evresi; fibroblastlar, keratinositler, endotel ve makrofajlar hücrelerinin kapsamlı aktivasyonu ile karakterizedir. Bu hücreler yara kapanmasında, anjiyogeneze rol oynar. Yaralanmadan 12 saat sonra mekanik değişiklikler, patojenler ve sitokinlerle aktive olan keratinositler yara kenarında daha invaziv ve migratuar fenotipe dönüşürler. Çeşitli elektriksel aktiviteler ile yara kenarındaki öncü keratinositler yara boyunca yanlara doğru göç ederek epidermal tabakayı yeniden oluştururlar bu işleme epitelizasyon denir (25).

Yaralanma sonrası yaklaşık 4. günde geçici ekstraselüler matriks azalır granülasyon dokusu oluşur ve ekstraselüler matriksin yerini alır. Fibroblast hücreleri yaraya doğru migrate olarak

granülasyon dokusunun oluşumunda rol alır. Endotel hücreleri de yeni damar oluşumu yani angiogeneze rol alan en önemli hücre olarak yara iyileşmesine katkıda bulunur. Yara alanındaki ölü doku ve debrislerin elimine olması sonrası granülasyon dokusunun üzerinde yeniden epidermis katmanı oluşmaya başlar bu süreçte re-epitelizasyon süreci denilmektedir (26).

Re-epitelizasyon evresinde yara alanındaki ölü doku ve debrisler elimine edilir granülasyon dokusunun üzerinde yeni ve sağlam bir epidermis tabakası oluşur. Bu süreç boyunca daha önceden oluşmuş olan granulasuon dokusunun üzerinde keratinosit kümeleri hareket ederek sürekli olarak keratinosit üretir. Yaranın her iki ucundaki keratinositler birbirine temas ettiklerinde bu süreç durur (27).

Yaranın iyileşme sürecinde, 4. ve 5. günlerde hasarlı bölge etrafındaki dokuların yaraya doğru çekinti yapması olayına yara kontraksiyonu denilir. Bu süreç, yaranın özelliklerine göre farklılık gösterebilmekle birlikte, çoğunlukla yaklaşık 14. güne kadar devam etmektedir. Optimal olarak iyileşen primer yaralarda minimal kontraksiyon olur, fakat sekonder iyileşme yolu ile kapanma sürecinde olan bir yarada ise bir taraftan re-epitelizasyon olurken diğer taraftan yara kontraksiyonu ile yara boyutu küçültülerek daha erken kapanmaya katkıda bulunulur ve skar oluşumu azaltılır (28).

2.2.2.3. Remodeling Aşaması

Bu evre yara iyileşmesinin süre olarak en uzun süren evresidir. Yaklaşık olarak 3 hafta kadar sürmekte olup 1 yıla kadar ulaşabildiği bilinmektedir. Yara alanında granülasyon dokusu oluşup üzeri re-epitelizasyon ile epitelize edildikten sonra remodeling aşaması başlar.

Remodelling (yeniden şekillenme) fazında, fibroblastlar tarafından daha önce sentezlenmiş olan Tip III kollajen, yerini daha güçlü ve organize bir yapıya sahip olan Tip I kollajene bırakmaktadır. Tip-3 kollajenin yara alanından elimine edilmesi matriks metalloproteinaz aracılığıyla olur. Bu enzim makrofajlar, endotel hücreleri ve fibroblastlardan salgılanır (29).

Kollajen içeren ekstraselüler matriksin remodelingi ile yara gerilim direnci artar ayrıca yara kalınlığı azalır. Yeniden şekillendirilme aşaması kollajenin yapımı- yıkımı ve yeniden şekillendirilmesi arasındaki dengenin sağlandığı aşamadır. Fibroblastlardan kollajen üretimi 3. Haftaya kadar devam edebilir (30).

Yara gerim kuvveti 3 hafta sonra sağlıklı dokunun ancak %20'sine ulaşabilir. 6. haftada yaranın gücü uzun dönemde sahip olduğu mukavemetin ancak %80-90'ı seviyelerine gelebilir. Yaranın mukavemeti 6 ay sonra sağlıklı dokudaki mukavemetin %80'ine ulaşabilir, ancak eski gerim kuvvetine hiçbir zaman ulaşamaz (30).

Yara iyileşme sürecinin tüm evrelerinin ardından, iyileşmenin üç temel özelliği olan kontraksiyon, epitel hücrelerinin yayılması ve bağ dokusunun birikimi süreci tamamlanır.

Yaralanma sonrası dokuda oluşan doku hasarının farklılığına bağlı olarak iyileşme mekanizmasında farklılıklar olmadan bu üç olaydan biri ön plana geçebilir. Örneğin parmak amputasyonunda kontraksiyon ön planda iken yüzeysel doku kaybında epitelizasyon ön plandadır, primer kapatılan cerrahi yaralarda ise bağ dokusu birikiminin daha ön planda bulunmaktadır.



Şekil 5. Yara iyileşmesi evreleri

2.2.3 Yaraların Enfeksiyon Riski Açısından Sınıflandırılması

2.2.3.1 Temiz Yara

Steril koşullarda, cerrahi yöntemlerle elektif olarak oluşturulan ve akut iltihap belirtileri göstermeyen, bakteriyel flora ile kontamine olmamış (sindirim kanalı gibi) vücut bölgelerine müdahale edilmeden, yara oluşumunun ardından birincil olarak kapatılan yaralar bu kategori içinde değerlendirilmektedir. Bu gruptaki yaralarda enfeksiyon riski %2'nin altındadır.

2.2.3.2 Temiz Kontamine Yaralar

Mikrobiyal flora ile kirlenmiş olan vücut boşlukları açılmıştır. Kirlenme mevcuttur ancak en alt seviyededir. Bu grupta enfeksiyon riski %7-8 civarında olup temiz yaraya yapılan yeni bir kesi (7-9 gün içinde) de bu grupta incelenir.

2.2.3.3 Kontamine Yaralar

Cerrahi girişim esnasında cerahatli olmayan bir inflamasyon ile temas olmuştur. Steril cerrahi teknikten majör bir sapma vardır veya ince bağırsak gibi içi boş organın lümeninin açılması durumu ile kirlenme meydana gelmiştir. 4 saatten daha erken müdahale edilmiş penetran travma yara alanları ve greft konulmuş kronik açık yara alanları bu grupta incelenir. Bu grupta enfeksiyon oranları %15 civarındadır.

2.2.3.4 Kirli Yaralar

Cerrahi girişim sırasında yara alanı bakteriyel koloni ile kontamine bir sıvı veya abse içeriği ile kirlenmiş ve sonrasında drene edilmiştir. Bakteriyel flora taşıyan içi boş organ perfore olmuştur. Örneğin kolon perforasyonu ile kontaminasyon. 4 saatten daha geç müdahale edilen penetran travma hastalarındaki yaralar kirli yara kabul edilir. Kirli yaralarda enfeksiyon oranı %40 civarındadır (31).

2.2.4 Yara iyileşmesine Etki Eden Faktörler

2.2.4.1. Lokal Faktörler

Enfeksiyon: Yara iyileşmesinin gecikmesi postoperatif cerrahi Hastalık ve ölüm oranlarını etkileyen başlıca sebeplerden biridir. İnvaziv nitelikteki bakteriyel enfeksiyonlar, özellikle selülit ve apse oluşumu yoluyla, yara iyileşmesini geciktiren ve komplikasyon riskini artıran önemli engellerdir. (29).

Doku Kanlanması: yara alanının lokal kanlanmasının az olması dolayısıyla yara alanındaki hücrelerin hipoksik olması yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Oksijenin hücreye geçmesi için damar ile hücre arasındaki mesafenin 60-70 µm'den az olması gerekir. Yetersiz vaskülarizasyon, oksijenin dokuya difüzyonunu kısıtlayarak hücresel düzeyde oksijen teminini azaltır ve sonuç olarak hipoksi gelişimine yol açar. Bu durum, yara iyileşme sürecini olumsuz yönde etkileyen başlıca faktörlerden biridir (29).

Bası ve Ödem: Bası etkisi ile plazma ekstravaze olarak ödem gelişir. Damar dışı alandaki basınç kapiller basıncı geçer ve doku kanlanması bozulur ve iskemi gelişir (32).

Yabancı Cisimler ve Nekroze Dokular: Yara alanı içerisinde nekrotik dokuların bulunması veya yabancı cisim bulunması inflamasyon artışı ve enfeksiyon artışı ile ilişkili olup yara iyileşmesini bozmaktadır. Yara alanı içerisindeki nekrotik dokuların temizlenmesi ve yabancı cisimler yara alanından uzaklaştırılması ile bu durum düzeltilebilir (33).

2.2.4.2 Sistemik Faktörler

Yaş: İleri yaş hasta grubunda yara iyileşmesinde önemli olan fibroblastlarda fonksiyonel kayıp olduğu, büyüme faktörlerinde azalma olduğu ve yine endotel hücrelerinin işlevselliğinde azalma olduğu bilinmektedir. Ayrıca kollajen üretimi de azalmaktadır (29).

Diyabet: Diyabetik hasta grubunda birçok farklı mekanizma ile yara iyileşmesi bozulmaktadır. Bu bireylerde ortaya çıkan nöropati sonucu, dokularda travmaya bağlı ülser oluşumlarına daha sık rastlanmaktadır. Ayrıca, genellikle mevcut olan mikrodamarsal bozukluklar (mikroanjiopatiler) nedeniyle dokuya olan kan akışı (perfüzyon) da bozulmaktadır ve hipoksemi gelişmektedir, endotel hücrelerindeki işlevsel bozukluklar nedeniyle anjiogenezis bozulmakta ve kronik hiperglisemiye sekonder olarak keratinositlerin fonksiyonlarında da bozulmalar meydana gelmektedir. Tüm bunların sonucunda yara iyileşmesi gecikmekte ve hatta bazen kronikleşerek önemli düzeyde hastalık ve ölüm oranlarına yol açmaktadır. (34).

Steroidler: Glukokortikoidler immun bağışıklık üzerinde olumsuz etkiye neden olduklarından yara alanının enfeksiyöz etmenler ile kolonize olmasına zemin hazırlamaktadırlar. Ayrıca kollajen birikimini olumsuz etkilerler, anjiogenezisi çeşitli mekanizmalar ile azaltırlar ve hücre proliferasyonunu kötü yönde etkileyerek yara iyileşmesini bozarlar.

Malnutrisyon: Yara iyileşmesinin sağlıklı ilerleyebilmesi için bazı vitaminler, mineraller ve iz elementler mutlaka gereklidir. Yara iyileşme süreci, vücudun metabolik ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde makro ve mikro besin öğelerinin yeterli alımına doğrudan bağlıdır. Enerji üretimi, hücresel proliferasyon ve doku onarımı gibi süreçlerde görev alan karbonhidratlar, protein kaynakları ve yağ asitlerinin eksikliği, iyileşmenin gecikmesine

neden olabilmektedir. Özellikle bu temel besin gruplarının yetersiz temini, fibroblast aktivitesi, kolajen sentezi ve immün yanıt gibi iyileşme açısından kritik mekanizmaların bozulmasına yol açar. Bu nedenle, optimal beslenme durumu, yara iyileşmesinin sağlıklı ve zamanında gerçekleşmesi açısından hayati önem taşımaktadır (35).

Bazı vitaminlerin eksikliğinde spesifik bazı klinik tablolar oluşabilmektedir. Örneğin; A vitamini eksikliğinde kollajen sentez ve stabilizasyon aşamaları bozularak yara enfeksiyona daha açık hale gelebilmekte (36), Vitamin B eksikliklerinde bazı cilt belirtileri ortaya çıkabilmektedir özellikle Tiamin (B1) eksikliğinde yarada gerilim kuvveti azalabilmektedir (37). C vitamini ise birçok enzimatik reaksiyonda kofaktör rolü almaktadır. Kollajen sentezinde ve kollajenin çapraz bağlanması olaylarında rolü mevcut olduğunda C vitamini yetersizliğinde, yara iyileşme süreci yavaşlar ve yara enfeksiyona daha açık hale gelebilir (38) Yüksek antioksidan etkinliğiyle bilinen E vitamini, serbest radikallerin nötralizasyonu yoluyla doku onarım mekanizmalarını destekleyerek yara iyileşmesinde kritik bir işlev üstlenmektedir. Serbest oksijen radikallerini etkisizleştirerek dokuya zarar verme potansiyellerini azaltır. Bu özelliğiyle, doku hasarını en aza indirir. Hücrel sinyal iletimi ve gen ekspresyonu üzerinde de etkili olan E vitamini, eksikliği durumunda yara iyileşme sürecinin aksamasına ve bakteriyel enfeksiyon riskinin artmasına yol açabilir. (39).

Bakır iyonları: Yara iyileşmesi sürecinde rolü olan önemli bir etkidir. Tüm organizmalarda hücrel düzeyde bulunur. Yara iyileşme evrelerinde birçok inaktif halde bulunan proteinin aktifleşmesinde görev alır. Birçok enzimatik tepkimede kofaktör rolü mevcuttur (40,41).

Tütün Kullanımı: Tütün kullanımı organizmadaki tüm yaşamsal fonksiyonları kötü yönde etkiler. Ciltteki perfüzyonu azaltır. Endotel hasarına bağlı doku oksijenasyonunu bozar hücrel hipoksi meydana getirir. Sonuç olarak hipoksik olan yarada iyileşme süreci olumsuz olarak etkilenir. Fibroblast hücrelerinin migrasyonunu engeller, fibroblast aktivasyonunu azaltır ve yara kontraksiyonunu azaltır (42-44).

Kemoterapi: Kemoterapötik ajanlar hücrel bölünme hızı yüksek olan hücrelere daha çok etki ettiklerinden dolayı fibroblastların ve makrofajların proliferasyonunu olumsuz olarak etkileyerek yara iyileşmesini geciktirirler (45).

2.2.4.3 Topikal Ajanlar

2.2.4.3.1. Antimikrobiyal Ajanlar ve Antibiyotikler

Antimikrobiyal maddeler ile antibiyotikler, yara iyileşme sürecinde mikroorganizmaları önleyerek biyolojik hasarı engeller ancak bu tarz antibakteriyel ve arındırıcı etkilere rağmen iyileşme sürecini geciktirdikleri de bilinmektedir. Nitrofurazon içeren furasin, polietilen glikolün suda çözünabilen bir bazı olup, yaranın iyileşme süreci %24 oranda engellediği bildirilmiştir. Neosporin merhem, içerisinde basitrasın, neomisin sülfat ve polimiksin B sülfat gibi üç farklı antibakteriyel ajan barındırır ve reepitelizasyon oranını yaklaşık %25 düzeyinde artırır, ancak bu etkide esas rol bazitrasının oynadığı belirlenmiştir. Antiseptik ve temizleyici maddeler genellikle yara tedavisinde kullanılmaktadır. Enfekte yaralarda, iyileşme süreci üzerinde bazı olumsuz etkilerin gözlemlendiği rapor edilmiştir. Sıkça tercih edilen antiseptiklerden %10 povidon iyot çözeltisi ile %70 etanolün yara iyileşmesini anlamlı şekilde etkilemediği belirlenmiştir. Öte yandan, %0,1 rivanol çözeltisinin topikal olarak uygulanmasının yeniden epitel oluşumunu artırdığı bildirilmiştir (46).

2.2.4.3.2. Antiinflamatuvar Ajanlar

Steroid ve steroid ilaçları antiinflamatuvar ajanların topikal kullanımlarının yara iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırmaktadır. İndometazin, ibuprofen ve meklofenamat sodyum gibi nonsteroidal antiinflamatuvar ajanlar, epitelizasyon ve dermal kollajenin bozulmasını etkilemez. Ancak bu ajanlar, akut fazdaki iltihap giderme sürecini tipik olarak gözlemlenen eritem, ateş ve ödemi hafifletir. Etkilerinin tam olarak açıklığa kavuşması sağlanmıştır. Ancak araziidonik asitlerin endoperoksitlere dönüşümünü engelleyerek siklooksigenaz enzimini ve prostaglandin sentezini baskıladıkları düşünülmektedir. Epitelizasyonun güçleştiği kronik ülser vakalarında, lokal antiinflamatuvar etkiye ihtiyaç duyulduğunda genellikle hidrokortizon tercih edilmelidir. Triamsinolon asetonid ve muhtemelen yüksek potent florlu kortikosteroidler ise yeniden epitel oluşum sürecini yavaşlatıcı etki gösterebilmektedir. Bu sebepten dolayı akut veya kronik yaralarda tercihi önerilmez. Ancak kelloid tedavisinde kullanılabilir (46).

2.2.4.3.3. Enzimatik Debridman

Kollajenaz, fibrinolizin ve dezoksiribonükleaz yara üzerindeki ölü materyali temizler fagositozu arttırarak ile yara iyileşmesine enzimatik debridman aracılığı ile katkıda sağlar (46).

2.2.4.3.4. Kollajen Matriks

Kollajen matriks, iltihabi yanıtı azaltma yeteneğine sahiptir. Bununla birlikte, yeniden epitel oluşumunu destekler ve yara bölgesinde enfeksiyon riskini azaltır. Kollajen pet uygulanan yaralarda, 5 ile 11 gün içinde granülasyon dokusunun kalınlığında dikkate değer bir artış gözlenmiştir. (1).

2.2.4.3.5. Büyüme Hormonu

Biyoteknolojik olarak üretilen insan büyüme hormonu, hayvan deney modellerinde subkutanöz kullanıldığında yara iyileşmesini teşvik eder. Bu hormon, insanlarda fibroblastların kollajen üretimini artırma özelliğine sahiptir (46).

2.2.4.3.6. Okluziv Sargılar

Bül tavanı sağlam bırakıldığında, epitelyal rejenerasyonun daha hızlı gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu gelişmenin ardından, yara yüzeyinin nemli kalmasını sağlayan ve kurummasını önleyen kapalı pansuman yöntemleri uygulanmaya başlanmıştır. Superfisiyal yaralar üzerinde ağrı ve inflamasyonu azaltma etkisi gösterir ve estetik görünüm açısından daha tatmin edici iyileşme sonuçlarına ulaşılmasına katkı sağlar. Nemli bir ortam, epidermal hücrelerin hareket kabiliyetini artırırken, kollajen sentezini de teşvik eder. Yara sıvısı kuru gazlı bezden geçemediği için, yara yüzeyiyle sürekli temas halinde kalır. Bu sıvının, epidermal hücre göçünü ve bağ dokusu oluşumunu destekleyen çeşitli biyolojik faktörleri içerdiği düşünülmektedir. Yara iyileşmesinde okluziv sargıların ne zaman uygulandığı oldukça önemlidir. En etkili sürenin, yara oluşumundan itibaren iki saat içinde sargının yapılması ve 24 saat boyunca kapalı kalması gerektiği belirlenmiştir. Yara oluşumundan altı saat sonra oklüzyonun epitelizasyon hızını artırabileceği düşünülen bir "zaman penceresi" bulunduğu ifade edilmektedir. Ayrıca, ilk 24 saatin ardından yaranın kapalı kalmaya devam etmesinin epitelizasyon süreci açısından mutlaka gerekli olmadığı ifade edilmektedir (46).

2.2.4.4. Radyasyon

Tedavi amaçlı radyasyon, yara iyileşme sürecinde farklı aşamaları değiştirerek etkisini ortaya koyar. Derideki geç dönem radyasyon etkilerinin, yara iyileşimi üzerinde belirgin bir engelleyici rolü olduğu bilinmektedir. Ancak etkinin geç ortaya çıkması, hayvan modellerinin oluşturulması çeşitli zorluklara yol açtığından, araştırmacılar genellikle radyasyonun yara iyileşmesi üzerindeki erken dönem etkilerine yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmaların sonunda elde edilen bulgular, aşağıda belirtilen ana başlıklar altında özetlenmiştir (47):

İskemi:

Damarların bazal membranlarında oluşan dejeneratif değişiklikler, damar geçirgenliğinde artışa, tromboza ve fibroze yol açarak iskemiye neden olur. Radyasyonun etkisiyle Endotel hücrelerinin çoğalma kapasitesini yitirmesi, zamanla damar yapılarının ortadan kalkmasına neden olmaktadır. Normalde yara iyileşmesi süreçlerinden biri olan anjiyogenez, radyasyonun etkisiyle bozulmuştur (48).

Hipoksi:

İskemiye bağlı olarak dokuda oksijen yetersizliği, yani hipoksi meydana gelir. Yara iyileşme sürecinde oksijen perfüzyonunun gerekli olduğu aşamalar duraklama dönemine girer. Bu evreler; nötrofillerin antimikrobiyal aktiviteleri, kollajen üretimi, epitel hücrelerinin proliferasyon hızı ve anjiyogenez süreçlerini kapsamaktadır. Oksijen ise, lizil hidroksilasyonu ve kollajen liflerinin çapraz bağlanması gibi iyileşme açısından hayati öneme sahip biyokimyasal mekanizmalarda temel bir rol üstlenmektedir. Hipoksik alanlarda anjiyogenezin artabilmesi için çevredeki oksijen perfüzyonunun yüksek olması gereklidir. Hipoksik koşullar, bağışıklık yanıtını zayıflatarak dokuların enfeksiyöz etkenlere karşı daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır (48). Tüm bunların haricinde radyasyon; hematopoezi azaltarak ve fibroblastlara toksik etkide bulunarak iyileşme sürecini olumsuz etkiler.

Tablo 2. Yara iyileşme sürecinde görev alan başlıca büyüme faktörleri (49).

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
Trombosit-kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-derived growth factor, PDGF)	Trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu, nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, anjiogenez
Transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming growth factor β , TGF- β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis, indirekt anjiogenez, diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardım
Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor, EGF)	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarlanması
Transforme edici büyüme faktörü alfa (Transforming growth factor α , TGF- α)	Aktive makrofajlar, trombosit, keratinosit, bazı dokular	EGF'ye benzer
İnterlökinler (Interleukins 1-2, IL-1,2)	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi

Tümör nekroz faktörü (Tümör necrosis factor, TNF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (Leucocyte derived growth factor, LDGF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositleri	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor, CTGF)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factors, FGF)	Beyin, pitüiter bez, makrofaj, diğer doku ve hücreler	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depolanmasını uyarır, anjiogenez, yara kontraksiyonu
Keratinosit büyüme faktörleri (Keratinocyte growth factors, KGF)	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (Insulin-like growth factor-1, IGF-1)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Sülfatlı proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonunu uyarır
İnsan büyüme hormonu (Human growth hormone, HGH)	Pitüiter bez, plazma	Anabolizma, IGF-1'i uyarır
İnterferonlar (Interferons, IFN)	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

2.3 MUMIJO (SHILAJIT)

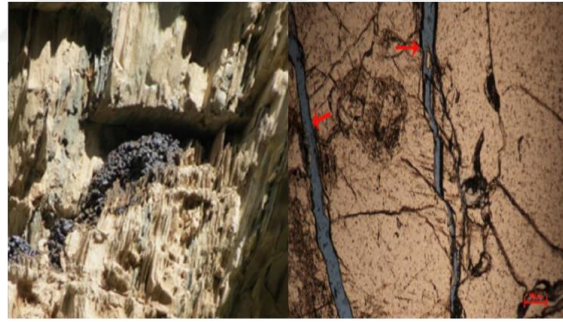
Shilajit, mineral zift olarak da adlandırılır, Euphorbia ve Trifolium bitkileri ve liken gibi biriken bitkisel materyallerden üretilen bir herbomineral doğal maddedir ve geleneksel halk hekimliğinde çok sayıda terapötik etkinliğe sahip en yaygın olarak uygulanabilir bileşimlerden biridir. Shilajit, temel olarak benzer kimyasal bileşenleri içerecek şekilde, İran, Altay Dağları ve Avustralya başta olmak üzere dünyanın farklı coğrafi bölgelerinde doğal olarak rastlanılmaktadır. Organik bileşikler (%60-80), inorganik bileşenler (%20-40) ve çeşitli elementler içerir. Önceki çalışmalara göre, Shilajit'in ana kimyasal bileşikler fulvik asit, dibenzo-alfa-pironlar (DBP'ler) ve DBP kromoproteinleridir. Ek olarak, Shilajit'in genel mineral içeriği esas olarak potasyum, kalsiyum ve magnezyumdan oluşurken, bunları kükürt ve sodyum takip eder. Ayrıca, Shilajit, metiyonin, lösin ve treonin gibi ekzojen amino asitlerin yanı sıra histidin, prolin, glisin, tirozin, arginin ve aspartik asit gibi endojen amino asitler içerir. Shilajit'in bağışıklık sistemi üzerinde düzenleyici etkiler gösterdiği, inflamatuvar yanıtı baskılayabildiği, mikrobiyal ajanlara karşı koruyucu özellik sergilediği ve oksidatif stresin azaltılmasına katkı sunduğu, çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarla ortaya konmuştur. Ayrıca gastroprotektif, antikanser, spermatogenez, oogenez ve anti-hiperlipidemi etkilerine de sahiptir. Shilajit'in antioksidan aktivitesi DBP'lerin ve fulvik asidin varlığından kaynaklanabilir. Ayrıca, fulvik asit minerallerin hedef hücrelere aktarılmasını kolaylaştırır, elektriksel potansiyeli korur ve hücre ölümünü önler. Shilajit'in güvenliği ve iyileştirici etkinliği insanlarda ve hayvanlarda incelenmiştir. Shilajit bünyesinde bulunan biyoaktif bileşiklerin; kemik kırıkları, osteoartrit, anemi, diyabet ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli patolojik durumların iyileştirilmesinde terapötik potansiyele sahip olduğu bilimsel verilerle desteklenmektedir. İran'da yürütülen bir klinik çalışma, tibia kırığı ameliyatından sonra oral

Shilajit uygulamasının kemik onarımını hızlandığını ortaya koymuştur. Ek olarak, kontrollü ve randomize çift kör modelde yapılan bir çalışmanın çıktıları ışığında, Shilajit, anti-inflamatuar etkileri nedeniyle osteoartrit köpek modelinde ağrıyı iyileştirmek için etkili bir tedaviydi. Başka bir çalışma, Shilajit'in kronik ülserlerin iyileştirilmesinde terapötik etki gösterdiğini ortaya konmuştur (50).

Shilajit veya humik ve fulvik asitler, düşük ve orta moleküler ağırlıklı humik olmayan organik bileşikler ve orta ve yüksek moleküler ağırlıklı dibenzo-alfa-pironlar-kromoproteinler de dahil olmak üzere metallo-humatların bir karışımı, günümüzde hala çeşitli fiziksel rahatsızlıkları hafifletmek için bir tıbbi gıda olarak kullanılmaktadır (51).

ABD'de yapılan bir çalışmada shilajit takviyesinin sağlıklı yetişkin kadınlarda cilt gen ifadesi profili ve mikropenfüzyon üzerindeki etkilerini değerlendirilmiş ve yetişkin sağlıklı kadınlarda oral shilajit takviyesinin endotel hücre göçü ve kan damarlarının büyümesiyle ilgili genleri indüklediğini gösteren ilk kanıt sunulmuştur. Shilajit takviyesi cilt mikro perfüzyonunu iyileştirdiği izlenmiştir (52).

Mumijo, yara iyileşmesi sürecini hızlandırmada etkili bir doğal bileşen olarak dikkat çekmektedir. İçeriğindeki biyoaktif maddeler sayesinde inflamasyonu azaltabilir, kolajen sentezini artırabilir ve doku onarımını destekleyebilir. Yürütülecek daha kapsamlı klinik araştırmalar, Mumijo'nun terapötik potansiyelinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilir ve bu maddenin modern tıbbi uygulamalarda daha yaygın biçimde kullanımına zemin hazırlayabilir.



Şekil 6. Shilajit ve doğal oluşumu

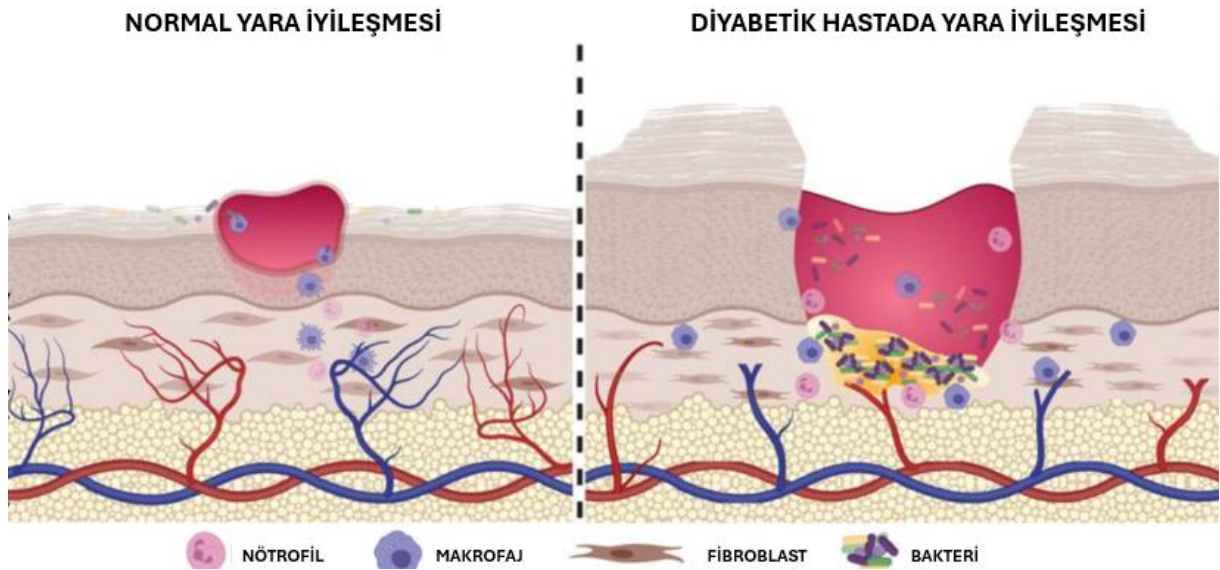
2.4 DEKSPANTENOL

Topikal dekspantenol, yara iyileşme sürecini desteklemedeki etkinliği nedeniyle klinik uygulamalarda yaygın olarak tercih edilmekte olup, farklı terapötik alanlarda değerlendirilebilecek geniş kapsamlı bir kullanım potansiyeline sahiptir. Yapılan araştırmalar, pantotenatın insan dermal fibroblast kültürlerinde hücre göçünü, çoğalmasını ve gen düzenlenmesini teşvik ettiğini ortaya çıkarır. Dekspantenol, B5 vitamini olarak bilinen pantotenik asitlerin stabil alkol formülüdür ve cilt tarafından kolayca emilir. Enzimatik dönüşüm yoluyla hızla pantotenik bir kenara dönen, bu da metabolizmada önemli bir rol oynayan koenzim A'nın (CoA) bir üyesidir. Yara bakımında ve çeşitli dermatolojik rahatsızlıkların tedavisinde etkili bir şekilde kullanılan topikal dekspantenol, cildin yenilenmesini teşvik ederek yara iyileşmesini sağlar (53).

2.5 DIYABETİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLUMSUZ ETKİSİ

Tip 2 diyabet (DM), insülin direncinin gelişmesiyle birlikte ortaya çıkan ve kan şekeri düzeylerinde sürekli artışla seyreden bir metabolik bozukluktur. Güncel veriler, dünya genelinde yüz milyonlarca bireyin diyabet mellitus (DM) tanısı aldığını göstermektedir ve bu sayının önümüzdeki yıllarda kayda değer bir artış göstermesi beklenmektedir. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri gibi ülkelerde, diyabete bağlı sağlık hizmetleri maliyetleri ve üretkenlik kaybı nedeniyle yılda yüz milyarlarca doları aşan ekonomik yük oluşmaktadır. Diyabet, kalıcı hiperglisemiye neden olarak zamanla çok sayıda organ sistemini etkileyen komplikasyonlara zemin hazırlayan, hızla yaygınlaşan bir kronik hastalık grubuna dâhildir. Diyabetik hastalarda yara iyileşme süreçlerinde görülen bozulmaların, toplam diyabetli bireylerin yaklaşık dörtte birini etkilediği tahmin edilmektedir.

Hiperglisemik ortam biyofilm oluşumunu teşvik eder ve diyabetik yaraların tedavisini zorlaştırır. Diyabetik yaralar, bariyer bozulması ve enfeksiyon, yüksek oksidatif stres, nöropati, mikrovasküler komplikasyonlar ve suboptimal kronik inflammatuar yanıt dahil olmak üzere kalıcı hiperglisemi ve ilişkili diyabetik komplikasyonlar nedeniyle son derece karmaşık bir patolojiye sahiptir. Bu yaralarda düzensiz bir anjiyogenez olması, suboptimal inflammatuar bir yanıt olması. Yükselen reaktif oksijen türleri (ROS) düzeyleri ve biyofilme dönüşen kalıcı bakteriyel kolonizasyon sebebiyle tedavisi oldukça güç olan bir rahatsızlıktır (54).



Şekil 7. Diyabetik hastada yara iyileşmesi

DM'li hastalarda hiperglisemi, ateroskleroz, çeşitli deri hücrelerinin işlev bozukluğu ve periferik nöropati yoluyla yara kapanmasının bozulmasına ve kronik yara gelişimine katkıda bulunabilir. Hiperglisemi, aterosklerozun gelişimine katkıda bulunarak dolaşımdaki besin maddelerinin yaralara ulaşmasını önleyerek iyileşmeyi bozar (55). Diyabetik bireylerde görülen hipergliseminin, basınca bağlı vazodilatasyon mekanizmasını etkileyerek yara

iyileşmesinde kilit rol oynayan endotel hücrelerinin fonksiyonlarını bozabileceği ve bu durumun, endotel disfonksiyonuna yol açan olası etkenlerden biri olduğu düşünülmektedir.

Endotel hücrelerinin yanı sıra, hiperglisemi; keratinositler ve fibroblastlar gibi yeniden epitelizasyon açısından kilit öneme sahip hücrelerin protein üretimi, hareket kabiliyeti ve çoğalma süreçlerini de olumsuz yönde etkiler.

Hipergliseminin yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerinden biri, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinde meydana gelen azalma sonucunda oluşan serbest radikal birikimidir; bu durum, oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarı artırarak iyileşme sürecini sekteye uğratmaktadır (56). Hiperglisemi, poliyol, heksosamin, protein kinaz C ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) gibi metabolik yollar üzerinden reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırarak oksidatif stres düzeylerinin yükselmesine neden olabilir.

Diyabetik durum, yara iyileşme sürecinde kritik bir rol oynayan anjiyogenez mekanizmalarının baskılanmasına neden olmaktadır. Yetersiz damar oluşumunun etkisi altındaki diyabetik yaralarda, damar ağı zayıflar ve kılcak damar yoğunluğu azalır. Diyabetik bireylerde yara kapanma süreci belirgin şekilde uzamakta olup, kronik ve iyileşmeyen yara oluşumu oldukça yaygın bir klinik tablo olarak karşımıza çıkmaktadır. Birçok çalışma, diyabetli hastalarda görülen patolojik yara onarımının bozulmuş anjiyogenezle ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (57).

Diyabetik yara anjiyogenezinde görülen eksikliklerde rol oynayan faktör, bir vasküler olgunlaşma yolu olan Ang1/Ang2/Tie2 kompleksidir. Diyabetik yaralarda Ang1/Ang2 oranının azaldığı, yani diyabetik yara damar yapısının olgun bir forma ilerleme yeteneğinin muhtemelen bozulduğu gösterilmiştir.

Olgunlaşma faktörü olarak Ang 1'in rolü, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan fare modellerinde de ortaya konmuştur. Bu çalışmalar, yaralı cilde Ang1'e karşı nötralize edici antikorların topikal uygulamasının, yeni oluşan kan damarlarının olgunlaşmasını azalttığını göstermiştir. Başka bir çalışma, Ang1 ile tedavi edilen nakledilen kemik iliği olan STZ ile indüklenen diyabetik farelerin yaralarının tedavisinin, yaralanmadan sonraki 7. günde endotel progenitör hücrelerinde (EPC'ler) artışa ve neovaskülarizasyonda artışa yol açtığını göstermiştir (58).

Diyabetik nöropati, periferik sinirlerde meydana gelen hasar sebebiyle yara iyileşme sürecini olumsuz yönde etkileyen bir etkidir. Diyabetik hastalarda duyu kayıpları nedeniyle küçük travmalar fark edilmez ve bu durum iyileşmesi zor olan kronik yaralara yol açar (59). Ayrıca, diyabetin yol açtığı mikrovasküler bozukluklar, dokuya oksijen ve besin maddelerinin taşınmasını engelleyerek yara iyileşmesini geciktirir.

Diyabetik hastalar, immün yanıtlarının zayıflaması nedeniyle enfeksiyonlara daha yatkındır. Nötrofillerin ve makrofajların fonksiyonlarındaki bozulmalar, bakterilerin yara bölgesinde çoğalmasına neden olur (60).

Kronik yaralarda, özellikle diyabetik ayak ülserlerinde enfeksiyon riski oldukça fazladır ve uygun şekilde tedavi edilmediğinde amputasyonla sonuçlanabilir. Diyabet, yara iyileşme sürecini çeşitli mekanizmalar üzerinden olumsuz biçimde etkilemektedir.

Hiperglisemi, sinir hasarı (nöropati), damar sistemi bozuklukları ve bağışıklık fonksiyonlarının zayıflaması gibi etkenler, diyabetli bireylerde kronik yara oluşumunu kolaylaştırmakta ve komplikasyon riskini artırmaktadır. Diyabetik yara bakımında erken teşhis ve multidisipliner yaklaşım büyük önem taşımaktadır.

2.6 YARA İYİLEŞMESİ MODELİNDE TOTAL ANTIOKSIDAN DURUMU ÖLÇÜMÜ

Yara iyileşmesi, organizmanın doku bütünlüğünü yeniden sağlamak amacıyla devreye soktuğu çok aşamalı ve dinamik bir biyolojik süreçtir. Bu süreç; inflamasyon, granülasyon dokusunun gelişimi ve epitelizeasyon gibi evreleri kapsar. Tüm bu aşamalarda, oksidatif stresin kontrolü hayati bir öneme sahiptir. Total antioksidan durumu (TAS), serbest radikalleri nötralize etme kapasitesini ölçen bir parametre olup, yara iyileşmesinin etkinliğini doğrudan etkileyebilir. Oksidatif stres, serbest radikallerin aşırı birikimi ile ortaya çıkarak hücrel hasara, inflamasyona ve dolayısıyla yara iyileşmesinin gecikmesine neden olabilir.

Araştırmalar, düşük TAS düzeylerinin yara iyileşmesini olumsuz etkilediğini göstermektedir. Örneğin 2020 yılında Nascimento ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yara iyileşmesi sırasında serum TAS düzeylerinin izlenmesi, iyileşme sürecinin daha iyi değerlendirilmesine olanak tanımıştır. Bu çalışmada, düşük TAS seviyeleri ile iyileşme süresinin uzaması arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (61). Ayrıca, Kessler ve ekibi (2019), yara iyileşmesinde total antioksidan kapasitenin izlenmesinin, klinik uygulamalarda önemli bir gösterge olduğunu vurgulamıştır. Bu çalışma, TAS düzeylerinin yüksek olduğu bireylerde yara iyileşmesinin daha hızlı gerçekleştiğini ortaya koymuştur (62).

Antioksidan takviyeleri, özellikle vitamin C, E ve selenyum gibi bileşenlerin, yara iyileşmesini hızlandırdığı ve inflamasyonu azalttığına dair birçok bulgu bulunmaktadır. D'Angelo ve ekibi (2021) tarafından yapılan sistematik bir incelemede, antioksidan takviyelerin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri ayrıntılı bir biçimde incelenmiş ve bu takviyelerin, hücrel onarıma katkıda bulunduğu gösterilmiştir (63).

Sonuç olarak, yara iyileşme sürecinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla total antioksidan düzeylerin düzenli olarak izlenmesi önemli bir değerlendirme aracı olarak öne çıkmaktadır. Yüksek TAS seviyeleri, yara iyileşme sürecinin hızlanmasına ve etkili bir onarım mekanizmasının sağlanmasına katkıda bulunabilir. Dolayısıyla, yara tedavisinde antioksidan seviyelerinin değerlendirilmesi, iyileşme sürecinin daha verimli ve kontrollü ilerlemesine katkı sağlayabilir.

3.MATERYAL ve METOD

3.1. Etik Kurul Onamı'nın Alınması

Bu çalışmaya ilişkin etik kurul onayı, Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27/12/2023 tarihinde gerçekleştirilen toplantıda, 2023/24 protokol numarasıyla verilmiştir.

Deneysel çalışmanın tüm aşamaları, Dicle Üniversitesi Sabahattin Payzın Araştırma Merkezi'nden (DÜSAM) sağlanan olanaklarla, ilgili merkez bünyesinde yürütülmüştür.

Bu çalışmada, 8–10 haftalık yaş aralığında ve 200–250 gram ağırlığında olan toplam 28 dişi Wistar albino sıçanı deney modeli olarak kullanılmıştır. Histolojik analizlere yönelik işlemler, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal analizler ise Dicle Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.2. Bilimsel Araştırma Proje Desteği

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından TIP.24.016 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

3.3. Amaç

Sağlık alanındaki yenilikler ve artan yaşam standartları, az gelişmiş ülkelerdeki gelir eşitsizliği ile birleştiğinde, kronik hastalıklara sahip bireylerin sayısında kayda değer bir artış gözlemlenmektedir. Ayrıca, immünsüprese hastaların yanı sıra, sağlıklı beslenme alışkanlıkları sonucu obezite, diyabet ve malnütrisyon gibi sağlık sorunları yaşayan insanların sayısı da gün geçtikçe artmaktadır. Bu durumların her biri, yara iyileşme süreçleri üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Dolayısıyla, yara iyileşmesini hızlandırmaya yönelik alternatif terapötik yöntemler, günümüzde bilimsel çalışmaların odağında yer almaya başlamıştır. Bu çerçevede, yeni tedavi stratejileri geliştirmeyi hedefleyen birçok deneysel ve klinik çalışma yürütülmektedir. Biz de yapmayı planladığımız bu çalışmada klinikte yara iyileşmesini hızlandırmak amacıyla yaygın olarak kullanılmakta olan, Dekspantenol krem ile Mumijo özlerinin yara iyileşme sürecine katkılarını kıyaslamayı planladık.

3.4. Eksizyonel Yara Modelinin Oluşturulması

Yara iyileşmesi üzerine yapılan deneysel araştırmalarda, eksizyonel model, basitliği ve yaygın kullanımı nedeniyle ön plandadır. Bu yaklaşımda, bir açık yara oluşturulur ve bu yaranın zamanla kapanma hızı gözlemlenir. Granölasyon dokusunun gelişimi, kollajen birikimi, reepitelizasyon süreci ve yara kontraksiyonu gibi önemli aşamalar bu modelle detaylı bir şekilde incelenebilir. Yaralar, çeşitli derinlik ve boyutlarda, eksizyonel (tam kat) veya kısmi doku kalınlığında tasarlanabilir (64). Yara yüzeyinin ölçümü ve takibi, dijital görüntüleme teknikleri ve özel yazılımlar aracılığıyla gerçekleştirilebilir. Çıkarılan doku örnekleri üzerinde histolojik incelemeler ile birlikte mRNA, protein ve apoptoz düzeylerine yönelik moleküler analizler kolaylıkla uygulanabilir. Bununla birlikte, bazı hayvan modellerinde yara iyileşmesinin baskın mekanizmasının yeniden epitelizasyon ya da granölasyon yerine kontraksiyon olduğu göz önünde bulundurulmalıdır (65). Yaptığımız bu çalışmayı eksizyonel yara modeli olarak tasarladık.

3.5. Dekspantenol Kremin Uygulanması

Dekspantenol (50 mg/5mg) (Almanya) krem yara iyileşmesini hızlandırmak için, lokal konsantrasyonlarda bile cilde kolayca nüfuz edebildiğinden, topikal formda kullanılmıştır (66,67).

3.6. Mumijo Özlerinin Uygulanması

Ticari olarak temin edilebilen Mumijo yerel bir satıcıdan temin edilerek, çeşme suyu altında yıkanıp sonra, küçük parçalara bölünmüş ve 21-24 °C arasında sabitlenen çevresel sıcaklıkta ve güneş ışığından korunarak muhafaza edilen bir ortamda yapılmıştır. Öğütölerek ince toz haline getirilen materyalin 150 gramı, 400 cc distile suya eklenmiş ve üç gün boyunca bekletilerek, belirli aralıklarla çalkalanmak suretiyle yumuşaması sağlanmıştır. 3.günün sonunda ekstraktlar filtre kağıdından süzölüp, ekstrakt kısmına 300 ml solvent'te bekletilmiştir. Ertesi gün yine ekstraktlar filtre kağıdından süzölüp ikinci kez maserasyon yöntemi tekrar uygulanmıştır. Son olarak elde mumijo özleri tekrar distile su içerisinde günde 1 kez 1 cc/100 gram hacminde yara bölgesine lokal uygulanmıştır (68).

3.7. Diyabet Oluşturulması

Deneysel uygulama öncesinde, tüm sıçanlar 12 saatlik açlık süresine tabi tutulmuştur. Ardından, kan glukoz düzeyleri kuyruk venasından alınan örneklerle, portatif glukometre aracılığıyla ölçölmüştür. Diyabet modeli oluşturulacak gruplarda yer alan hayvanlara, Streptozotosin (STZ; Cas No: 18883-66-4, Sigma-Aldrich) çözeltisi 50 mg/kg dozunda, intraperitoneal yolla tek doz

halinde uygulanmıştır. STZ, uygulama öncesinde %0.1 M sitrat tamponu (pH 4.5) içerisinde taze olarak çözülmüştür. Uygulamadan 24 saat sonra, hayvanlar yeniden 12 saat aç bırakılmış ve kuyruk venasından alınan kan örnekleri ile açlık kan glukoz seviyeleri tespit edilmiştir. Açlık kan glukoz seviyesi ölçümü ≥ 140 mg/dL olarak bulunan bireyler diyabetik kabul edilmiştir. (69).



Şekil 8. Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulması.

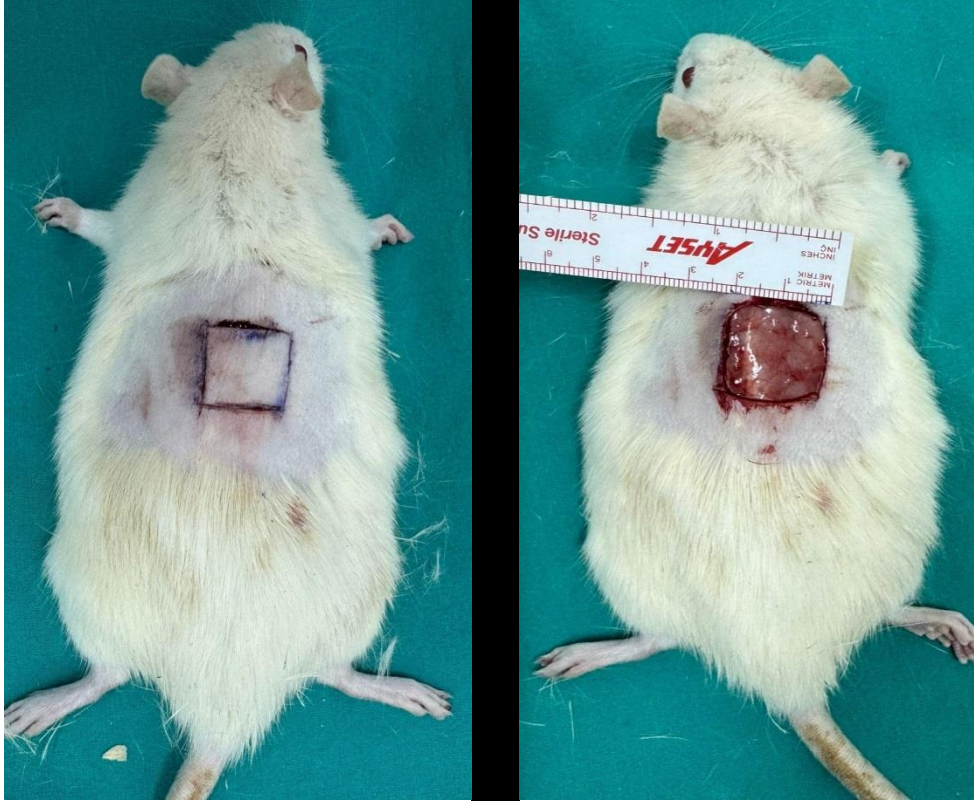
3.8. Deneyin Planlanması

Deneyin 7., 14. ve 21. günü, her gruptaki ratların, yara yüzey ölçümü yapılmak üzere fotoğraflanıp kaydedildi. Alınan spesmenler histotolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal analizler için uygun şekilde muhafaza edildi.

Deneyisel çalışmada, ortalama yaşı 8 ila 10 hafta arasında değişen toplam 28 dişi Wistar Albino sıçanı (*Rattus norvegicus*) kullanılmıştır. Hayvanlar, serbest hareket kabiliyetlerini kısıtlamayacak şekilde düzenlenmiş kafes sistemlerinde barındırılmış; standart laboratuvar yemi ve suya sınırsız erişim sağlanarak ad libitum beslenmeleri temin edilmiştir. Tüm bireyler, 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık periyotların uygulandığı, sıcaklığın 22 ± 3 °C aralığında sabit tutulduğu kontrollü bir laboratuvar ortamında muhafaza edilmiştir.

Gruplar; Kontrol grubu, Diyabet grubu, Dekspantenol krem grubu ve Mumijo özlerinin uygulandığı grup olmak üzere dört eşit gruba ayrıldı. Diyabet modeli oluşturulmasının ardından, deney hayvanlarına intraperitoneal yolla 90 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar®, Pfizer Inc., ABD) ve 10 mg/kg Xylazin hidroklorür (Rompun®, Bayer HealthCare AG, Almanya) kombinasyonu uygulanarak genel anestezi sağlanmıştır.

Anestezi sonrası, cerrahi müdahaleye uygunluk açısından hayvanların ilgili bölgelerinde standart protokollere uygun şekilde tüy temizliği gerçekleştirilmiştir. Ratlar prone pozisyonda tespit edilerek %10 Povidon iyot çözeltisi ile alan temizliği yapıldı ve ratların sırt bölgesinde her iki skapula arasında 2 x 2 cm boyutunda, tam kat (dermis ve epidermisi içeren) eksizyonel cilt yaraları oluşturuldu (Şekil 9). Postop analjezi için, Asetaminofen (Atabay İlaç Firması Eczacı, İstanbul, Türkiye) (2 mg/ml) içme sularına olacak şekilde katıldı.



Şekil 9. Eksizyonel yaranın oluşturulması (2x2 cm).

3.9. Deneyin Gruplarının Oluşturulması

Grup 1 (n=7): Kontrol grubu: Bu grupta yer alan ratlara, anestezi uygulamasını takiben interskapular bölgede yaklaşık 4 cm² boyutunda tam kat cilt defekti oluşturulmuştur. Her gün belirli bir saatte, günde bir kez yara yüzeyini tamamen kaplayacak şekilde serum fizyolojik

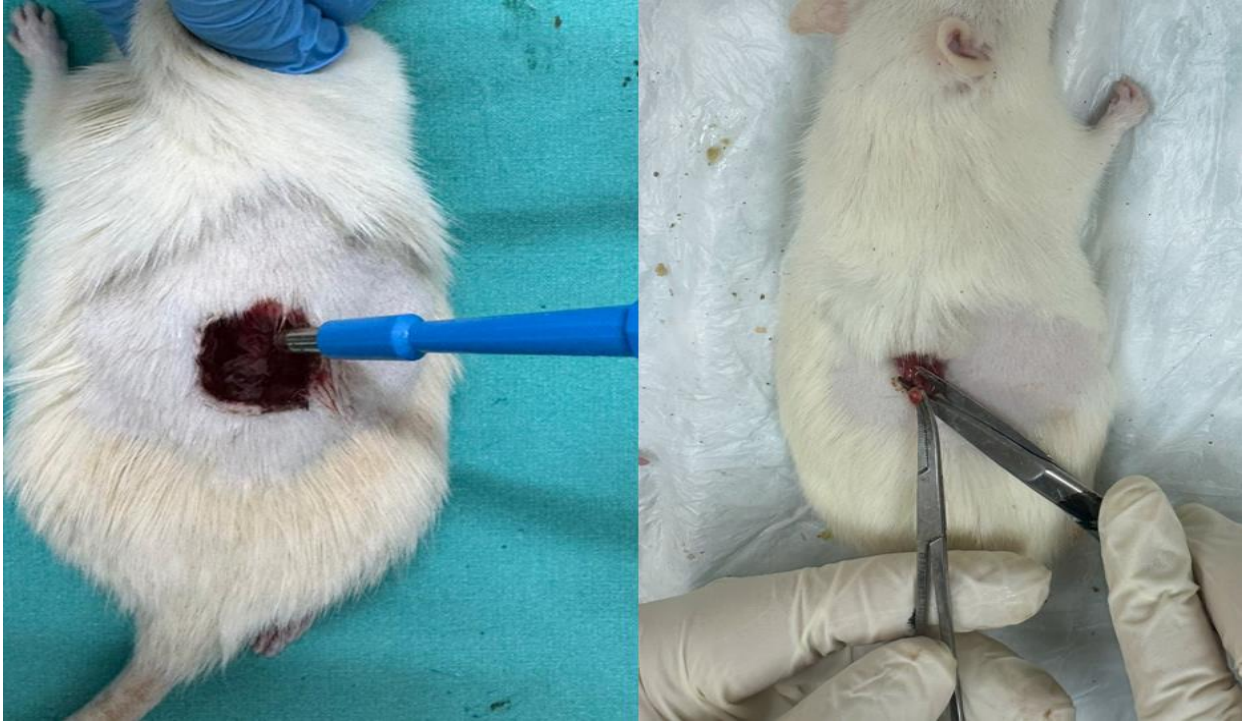
uygulanmıştır. Deneysel protokol kapsamında, 7., 14. ve 21. günlerde, çeşitli anatomik bölgelerden doku örnekleri elde etmek amacıyla punch biyopsi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tüm bu işlemler anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Deneyin sonunda, tüm ratlara anestezi verilerek kalpten kan alınmış ve ekzanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Alınan biyopsi materyalleri histopatolojik değerlendirme ve immünohistokimyasal analizler için Histoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Ayrıca, kan örnekleri Biyokimya laboratuvarında incelenmek üzere hazırlanmıştır.

Grup 2 (n=7): Diyabet grubu: Diyabet grubundaki ratlara, diyabet oluşturulduktan sonra anestezi altında 4cm²'lik yaralar yapılmıştır. Günün sabit bir saatinde, doku defekt alanını tamamen örtecek şekilde serum fizyolojik solüsyonu uygulanmıştır. Deneysel protokol kapsamında 7., 14. ve 21. günlerinde, farklı anatomik bölgelerden doku örnekleri elde etmek amacıyla punch biyopsi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tüm bu işlemler anestezi altında yapılmıştır. Deney tamamlandıktan sonra, tüm ratlara anestezi verilerek kalpten kan alınmış ve ekzanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Alınan biyopsi materyalleri histopatolojik değerlendirme ve immünohistokimyasal analizler için Histoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Ayrıca, kan örnekleri Biyokimya laboratuvarında incelenmek üzere hazırlanmıştır.

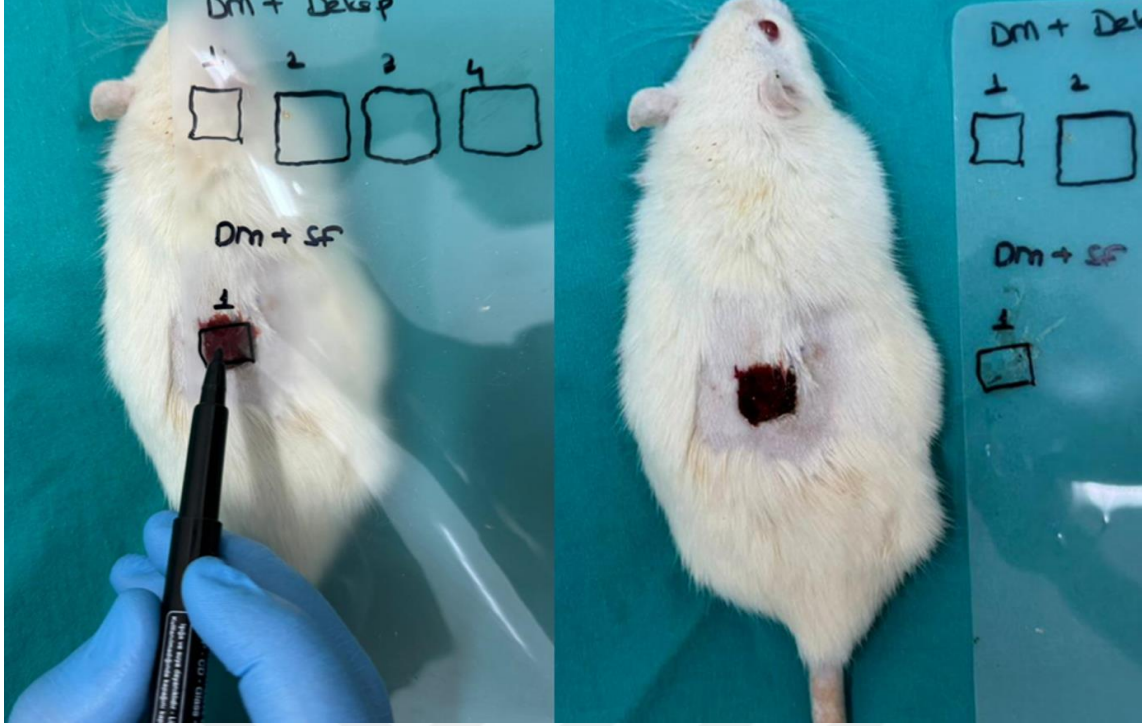
Grup 3 (n=7): Diyabet+Dekspantenol grubu: Diyabet + Dekspantenol grubu olarak belirlenen ratlara, diyabet oluşturulduktan sonra anestezi altında 4 cm²'lik yaralar yapılmıştır. Günün sabit bir saatinde, doku defekt alanını tamamen kaplayacak şekilde Dekspantenol krem uygulanmıştır. Deneysel protokol kapsamında 7., 14. ve 21. günlerinde, çeşitli anatomik bölgelerden doku örnekleri elde etmek amacıyla punch biyopsi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tüm bu işlemler anestezi altında yapılmıştır. Deneyin sonunda, tüm ratlara anestezi verilerek kalpten kan alınmış ve ekzanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Alınan biyopsi materyalleri, histopatolojik değerlendirme ve immünohistokimyasal analizler için Histoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Ayrıca, kan örnekleri Biyokimya laboratuvarında incelenmek üzere hazırlanmıştır.

Grup 4 (n=7): Diyabet+Mumijo grubu: Diyabet + Mumijo grubu olarak belirlenen ratlara, diyabet oluşturulduktan sonra anestezi altında 4 cm²'lik yaralar yapılmıştır. Her gün aynı saatte,

yara yüzeyine bir defa Mumijo özleri topikal olarak uygulanmıştır. Deneysel protokol kapsamında 7., 14. ve 21. günlerinde, çeşitli anatomik bölgelerden doku örnekleri elde etmek amacıyla punch biyopsi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tüm bu işlemler anestezi altında yapılmıştır. Deneyin sonunda, tüm ratlara anestezi verilerek kalpten kan alınmış ve ekzanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Alınan biyopsi materyalleri, histopatolojik değerlendirme ve immünohistokimyasal analizler için Histoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Ayrıca, kan örnekleri Biyokimya laboratuvarında incelenmek üzere hazırlanmıştır.



Şekil 10. Punch biyopsi alınma işlemi.



Şekil 11. Yara yüzeylerinin asetat kağıtlarına çizimi işlemi.

7.GÜN



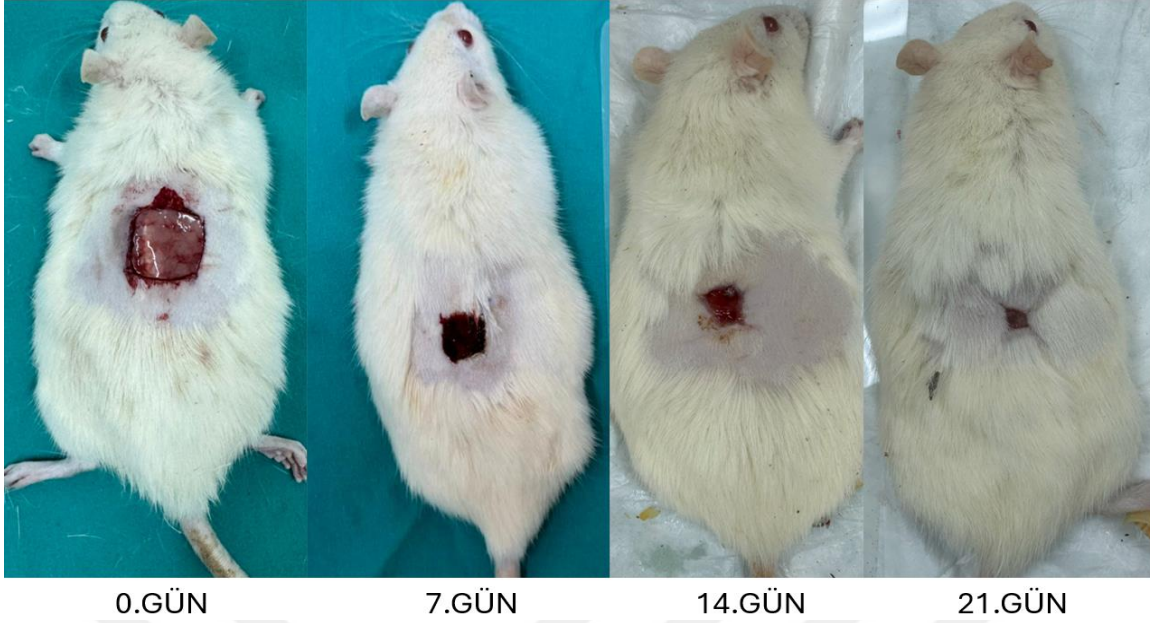
14.GÜN



21.GÜN



Şekil 12. Yara iyileşmesinin günlere göre gruplar arasında izlenen morfolojik değişimleri



Şekil 13. Mumijo özleri uygulanan diyabetik bir ratta yara iyileşme sürecinin örnek olarak sunumu.

3.10. Morfolojik Değerlendirme

Deneyssel protokol kapsamında 7., 14. ve 21. günlerde, oluşturulan doku defektinin sınırları asetat kağıdı üzerine standart uygulama esaslarına uygun biçimde çizilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, yara yüzey alanları Walker formülü kullanılarak hesaplanmıştır. (70).

$$\text{Yara alanı (\%)} = \frac{\text{X günde yara alanı}}{\text{1. günde ölçülen yara alanı}} \times 100$$

1. günde ölçülen yara alanı

3.11. Biyokimyasal Değerlendirme

3.11.1 Total Antioksidan (TAS) Durum Ölçümü

Çalışma kapsamında elde edilen biyolojik örneklerde total antioksidan kapasite (TAS) düzeyleri, Rell Assay Diagnostics (Gaziantep, Türkiye) firmasına ait ticari kit kullanılarak belirlenmiştir. Analizler, spektrofotometrik prensiple çalışan tam otomatik biyokimyasal analizör (AU5800; Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, ABD) aracılığıyla gerçekleştirilmiş ve Erel tarafından tanımlanan yöntem temel alınmıştır. Bu yöntemin prensibi, ABTS (2,2'-Azino-bis- [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) substratının peroksidaz (metmyoglobin) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında oksitlenerek, stabil bir mavi-yeşil renk oluşturan $\text{ABTS}^{\bullet+}$ radikal katyonunu meydana getirmesine dayanır. Elde edilen renk değişimi, 600 nm dalga boyunda ölçülerek değerlendirilmiştir. TAS analizinde, serum ya da heparinli plazma örnekleri

kullanılabilir. Bulgular, sonuç olarak $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri/L}$ ($\mu\text{mol Trolox Eq/L}$) cinsinden raporlanmıştır. (71,72).

3.11.2. Kan Şekeri Ölçümü

Deneyel protokolün başlangıcında, tüm ratlar 12 saatlik açlık süresine tabi tutulmuştur. Açlık sonrası kuyruk venasından alınan kan örnekleri kullanılarak glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Diyabet modeli oluşturulacak gruplara dahil edilen hayvanlara, 50 mg/kg dozunda Streptozotosin (STZ; CAS No: 18883-66-4, Sigma-Aldrich) intraperitoneal yolla tek seferde uygulanmıştır. Uygulama öncesinde STZ, %0,1 M sitrat tamponu (pH 4.5) içerisinde taze olarak hazırlanmış ve her bir denek hayvana 0.5 mL hacminde, insülin enjektörü kullanılarak intraperitoneal yolla uygulanmıştır (Bkz. Şekil 1). Uygulamayı takiben 24 saat sonra, hayvanlar tekrar 12 saat aç bırakılmış; ardından kuyruk venasından enjektör yardımıyla alınan kan örnekleri, glukometre (Clever Chek TD-4231; GTIN: 04710636640315) ve uyumlu glukoz test stripleri (GTIN: 04710636640322) kullanılarak analiz edilmiştir. Açlık glukoz seviyesi ≥ 140 mg/dL olarak ölçülen bireyler diyabetik olarak kabul edilmiştir

3.12. Histopatolojik incelemeler

Deneyin tamamlanmasının ardından elde edilen doku örnekleri, histopatolojik analizler amacıyla %10'luk formaldehit çözeltisi (Sigma-Aldrich, Ürün Kodu: SZBE2450V) içerisinde fiks edilmiştir. Fiksasyon sürecinin ardından, örnekler 12 saat süreyle akan çeşme suyu altında yıkamaya tabi tutulmuştur. Temizleme işlemini takiben, dokular kademeli artan konsantrasyonlardaki alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon aşamasına alınmıştır (Bkz. Tablo 3). Rutin histolojik takip işlemleri tamamlandıktan sonra mikrotom yardımıyla alınan doku kesitleri, histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen & Eozin (H&E) ve Van Gieson yöntemleri kullanılarak boyanmıştır (73).

Histopatolojik skorlama ise Galeano ve ark. kullandıkları yöntem ile yapıldı (74).

Tablo 3. Rutin Histolojik Doku Takibi

İşlem sırası	Uygulanan işlem	Uygulanan süre
1	%70 'lık Alkol	120 dk
2	%80 'lık Alkol	90 dk
3	%96 'lık Alkol I	30 dk
4	%96 'lık Alkol II	30 dk
5	%100 'lük Alkol I	30 dk
6	%100 'lük Alkol II	30 dk
7	Xylene I	25 dk
8	Xylene II	25 dk
9	Yumuşak parafin+ Xylene	45 dk
10	Yumuşak parafin	60 dk
11	Yumuşak parafin + Sert parafin	90 dk
12	Sert Parafin	180 dk
13	Bloklara Gömme	-

3.12.1. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyama Protokolü

Parafin bloklardan mikrotom aracılığıyla 4–5 µm kalınlığında doku kesitleri hazırlanmış ve histolojik inceleme amacıyla Hematoksilen & Eozin (H&E) boyama protokolü uygulanmıştır. Uygulanan boyama adımları, Tablo 4'te ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Tablo 4. Hematoksilen & Eozin boyama işleminin aşamaları

İşlem sırası	Uygulanan işlem	Uygulanan süre
1	Xylene I	30 dk
2	Xylene II	30 dk
3	%100'lük Alkol I	5 dk
4	%100'lük Alkol II	5 dk
5	%96'lık Alkol	5 dk
6	%90'lık Alkol	5 dk
7	%80'lik Alkol	5 dk
8	%70'lik Alkol	5 dk
9	Distile su	7 dk
10	Harris Hematoksilen solüsyonu	6 dk
11	Çeşme suyu	5 dk
12	%1 alkolic Eozin	3 dk
13	%70'lik Alkol	1 dk
14	%80'lik Alkol	1 dk
15	%90'lık Alkol	1 dk
16	%96'lık Alkol	1 dk
17	%100'lük Alkol I	1 dk
18	%100'lük Alkol II	1 dk
19	Xylene I	30 dk
20	Xylene II	30 dk
21	Entellan ile kapatma	-

3.12.2. Weigert Van Gieson Boyama Metodu

Weigert Van Gieson boyama yöntemi, resorsin ile bazik fuksin ve ferrik klorür arasındaki reaksiyondan kaynaklanan bir çökelti olan resorsin fuksin tarafından sergilenen elastik liflere karşı afiniteye dayanmaktadır. Bu spesifik bir yöntem olmadığından, kolajen ve bazal membranlar gibi diğer yapılar da boyanabilir. Dolayısıyla, elastik liflerin spesifik ve kontrast oluşturan bir şekilde görüntülenebilmesi adına, uygun boyama yöntemlerinin özenle seçilmesi ve dokulardaki yapısal unsurların dikkatle ayırt edilmesi büyük önem taşımaktadır. Van Gieson trikrom boyası ile karşı boyama, aynı zamanda çekirdekleri gösteren bağ dokusundan kolajeni ayırt etmeyi mümkün kılar. Kollajenler koyu kırmızı renkte boyarken, kas, sitoplazma, kırmızı

kan hücreleri ve fibrinler sarı renkte boyanır. Çalışmada Bio-Optica (Milano S.p.A., Code:04-051802) markasına ait kitler kullanılmıştır. Boyama yöntemi tablo 5’te ayrıntılı biçimde açıklanmıştır.

Tablo 5. Weigert Van Gieson boyama işleminin aşamaları

İşlem sırası	Uygulanan işlem	Uygulanan süre
1	Xylene I	30 dk
2	Xylene II	30 dk
3	%100’lük Alkol I	5 dk
4	%100’lük Alkol II	5 dk
5	%96’lık Alkol	5 dk
6	%90’lık Alkol	5 dk
7	%80’lik Alkol	5 dk
8	%70’lik Alkol	5 dk
9	Distile su	7 dk
10	Reaktif A solüsyonu (10 damla)	5 dk
11	Distile su	-
12	Reaktif B solüsyonu	Overnight
13	Distile su	-
14	Reaktif C solüsyonu (10 damla)	10 dk
15	Distile su	-
16	Reaktif D+E solüsyonu (5’er damla)	10 dk
17	Akar musluk suyu	10 dk
18	Reaktif F solüsyonu (10 damla)	7 dk
19	Distile su	2-3 saniye
20	%70’lik Alkol	1 dk
21	%80’lik Alkol	1 dk
22	%90’lık Alkol	1 dk
23	%96’lık Alkol	1 dk
24	%100’lük Alkol I	1 dk
25	%100’lük Alkol II	1 dk
26	Xylene I	30 dk
27	Xylene II	30 dk
28	Entellan ile kapatma	-

3.12.3. İmmunohistokimyasal incelemeler

Çalışmanın sonunda, yara yüzey alanları ölçülerek gruplar arasındaki iyileşme oranları karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Yüzey ölçüm sonuçlarına dayanarak yara iyileşmesi bakımından istatistiksel anlamda farklılık olup olmadığı test edilmiştir. Yara bölgelerinden elde edilen doku örnekleri, histolojik değerlendirme amacıyla ışık mikroskobu (Olympus, Almanya) kullanılarak incelenmiştir. Histopatolojik bulgular, yarı kantitatif (semikantitatif) bir skorlama sistemi ile değerlendirilmiş; bu sistemde boyanma düzeyleri şu şekilde puanlanmıştır: 0 = boyanma gözlenmedi, 1 = zayıf boyanma, 2 = orta düzeyde boyanma, 3 = yoğun boyanma (75).

Rutin histolojik doku takibinin ardından, yara bölgesinden elde edilen parafin bloklara gömülü dokulardan, mikrotom aracılığıyla 4–5 µm kalınlığında seri kesitler oluşturulmuş, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) ekspresyonunu değerlendirmek amacıyla, spesifik anti-VEGF antikoru (Santa Cruz Biotechnology, ABD) kullanılarak immünohistokimyasal yöntemle boyanmıştır. Uygulanan immünohistokimyasal protokolün ayrıntılı adımları Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6. İmmunohistokimyasal boyama işleminin aşamaları

İşlem sırası	Uygulanan işlem	Uygulanan süre
1	Xylene I	15 dk
2	Xylene II	15 dk
3	%100'lük Alkol I	5 dk
4	%100'lük Alkol II	5 dk
5	%96'lık Alkol	5 dk
6	%90'lık Alkol	5 dk
7	%80'lik Alkol	5 dk
8	%70'lik Alkol	5 dk
9	Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) solüsyonu	3x6 dk mikrodalga fırında
10	Oda sıcaklığında soğuma	15 dk
11	Tamponlanmış Fosfat Salin (PBS)	3x5 dk
12	%3' lük Hidrojen peroksit damlatılarak	20 dk
13	PBS	3x5 dk

14	Ultra V Block solüsyonu	7 dk
15	VEGF antikor	+4 °C’de overnight
16	Ertesi gün (28 °C)	1 saat
17	Anti rabbit sekonder antikor	30 dk
18	PBS	3x5 dk
19	Streptavidin peroksidaz	30 dk
20	PBS ile 3x5 dk	3x5 dk
21	3,3' Diaminobenzidine (DAB) kromojen	Reaksiyon (+)
22	Gill Hematoksilen	40 saniye
23	Çeşme suyu	5 dakika
24	%70’lik Alkol	1 dk
25	%80’lik Alkol	1 dk
26	%90’lık Alkol	1 dk
27	%96’lık Alkol	1 dk
28	%100’lük Alkol I	1 dk
29	%100’lük Alkol II	1 dk
30	Xylene I	30 dk
31	Xylene II	30 dk
32	Entellan ile kapatma	-

3.13. İstatistiksel Analiz

Araştırmaya ait verilerin istatistiksel analizleri, IBM SPSS Statistics for Windows, sürüm 27.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD), korelasyon katsayısı (r), varyasyon katsayısı (CV%), %95 güven aralığı (CI), tutarlılık oranı ve ağırlıklı kappa (κ) istatistiği ile tanımlanmıştır. Kategorik değişkenler ise frekans (n) ve yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Verilerin dağılım özellikleri, normallik varsayımının sağlanıp sağlanmadığını belirlemek amacıyla Shapiro–Wilk testi ile değerlendirilmiştir.

Normallik gösteren ve ikiden fazla işlem içeren karşılaştırmalarda İki Yönlü Varyans Analizi (Two-Way ANOVA) uygulanmıştır. Normallik varsayımını karşılamayan çok gruplu karşılaştırmalar için ise Friedman testi tercih edilmiştir. Ayrıca, zamana bağlı ölçümlerin yer aldığı gruplar arasında yapılan analizlerde Tekrarlayan Ölçümler için ANOVA (Repeated

Measures ANOVA) testi kullanılmıştır. Tüm hipotez testlerinde çift yönlü değerlendirme yapılmış, $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.

Çalışmanın örneklem büyüklüğünü belirlemek amacıyla yapılan istatistiksel güç (power) analizinde, etki büyüklüğü 0.35 olarak alınmış (Cohen'in etki büyüklüğü kriterlerine göre), alfa düzeyi 0.05 ve test gücü (power) 0,91 olarak belirlenmiştir. Bu doğrultuda, minimum gerekli örneklem sayısı 28 olarak hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Yara yüzey alanlarının hesaplanması

Walker formülüne göre hesaplamalar yapıldı. Bu formüle göre; 7, 14 ve 21.günlerde iyileşme yüzdeleri hesaplanarak gruplar arası karşılaştırma yapıldı.

7.günde oluşan yara yüzeyleri alanı (%) = $\frac{7. \text{ günde yara alanı} \times 100}{1. \text{ günde ölçülen yara alanı (cm}^2\text{)}}$ formülüne göre hesaplandı.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; Kurkal Wallis-H testi anlamlı çıkmadığından gruplar arası karşılaştırma yapılmadı ($p=0.280$) (Tablo 7).

14.günde oluşan yara yüzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında;

14.günde oluşan yara yüzeyleri alanı (%) = $\frac{14. \text{ günde yara alanı} \times 100}{1. \text{ günde ölçülen yara alanı (cm}^2\text{)}}$ formülüne göre hesaplandı.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; Kurkal Wallis-H testi anlamlı çıkmadığından gruplar arası karşılaştırma yapılmadı ($p=0.648$) (Tablo 7).

21.günde oluşan yara yüzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında;

21.günde oluşan yara yüzeyleri alanı (%) = $\frac{21. \text{ günde yara alanı} \times 100}{1. \text{ günde ölçülen yara alanı (cm}^2\text{)}}$ formülüne göre hesaplandı.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; Kurkal Wallis-H testi anlamlı çıktığından gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı ($p=0.004$).

DM grubu ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmada elde edilen p-değeri ($p = 0.002$), gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğunu göstermiştir. DM grubu ile hem DM+Dex hem de DM+Mumijo grupları arasında da anlamlı fark olduğu ($p=0.003$ ve $p=0.047$) izlendi. DM'nin

yara yüzey ortalaması diğer gruplardan yüksekti. Ancak DM ile birlikte hem Dex uygulaması hem de Mumijo uygulaması ile birlikte ortalamalar düşmüştü. DM+Dex ve DM+Mumijo grupları arasında değerlendirilen parametre yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p = 0.404$), bu da iki tedavi protokolünün karşılaştırılan etki düzeylerinde benzer sonuçlar verdiğini göstermektedir (Tablo 7).

Tablo 7. Deney gruplarının 7., 14. ve 21. günlerde Walker formülüne göre hesaplanan yara iyileşme oranlarının (%) ortalama $\pm$ SD değerleri.

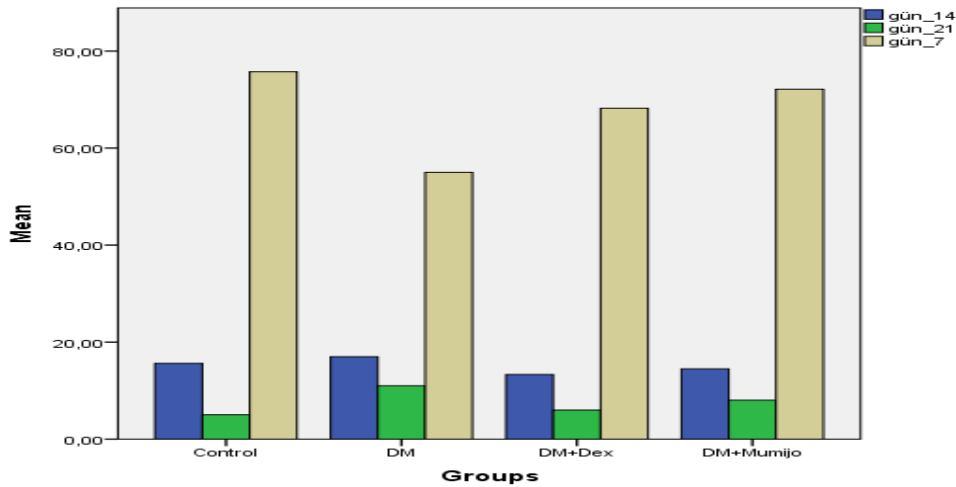
Gruplar	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	75,71 $\pm$ 14.19	15.60 $\pm$ 5.34	5.03 $\pm$ 1.33**
DM	55.00 $\pm$ 16.64	17.00 $\pm$ 5.89	11.00 $\pm$ 1.14**,*
DM+Dex	68.21 $\pm$ 19.29	13.32 $\pm$ 6.61	6.00 $\pm$ 2.71**
DM+Mumijo	72.14 $\pm$ 15.64	14.48 $\pm$ 7.09	8.03 $\pm$ 3.81*

**P<0.005

*P<0.05

DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubu.

7, 14 ve 21.günlerde hesaplanan yara iyileşme oranı yüzdeleri şekil14'te gösterildi



Şekil 14. Control; Kontrol grubu, DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubunun 7, 14 ve 21. Günlerdeki yara yüzeyi ortalamaları.

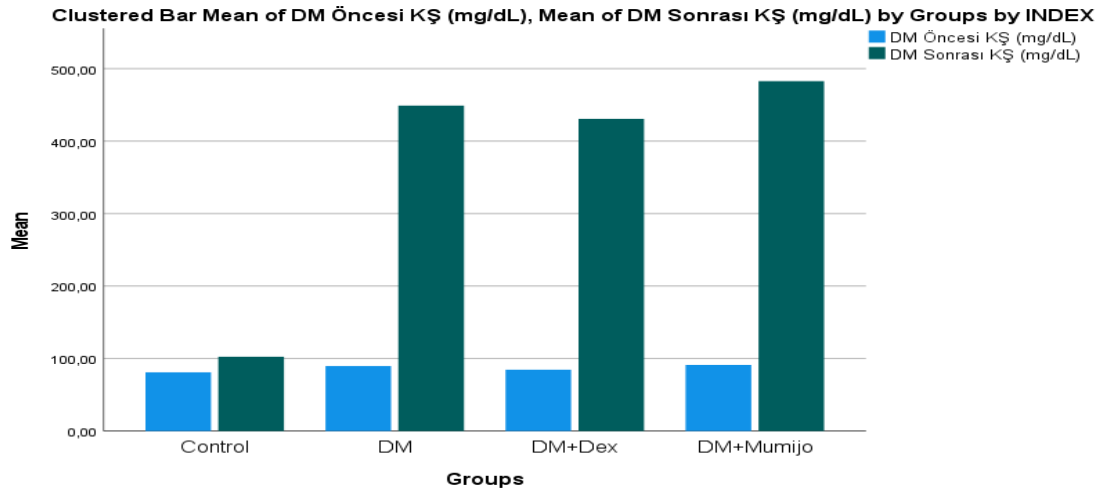
4.2. Kan Şekeri Ölçümleri

Deneyssel uygulamalara başlanmadan önce, diyabet indüksiyonundan önceki bazal kan glukoz düzeyleri kaydedilmiştir. Bu amaçla, 12 saatlik açlık süresine tabi tutulan ratların kuyruk venasından alınan kan örnekleri aracılığıyla kan şekeri ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Diyabet (DM) oluşturulacak gruplardaki tüm sıçanlara, STZ (Sitrik Asit) 50 mg/kg dozunda, tek seferde (0.5 ml) insülin enjektörü ile uygulanmıştır. STZ uygulamasını takiben 24 saat sonra, hayvanlar yeniden 12 saatlik bir açlık sürecine tabi tutulmuştur. Açlık sonrası, kuyruk venasından enjektör ucu yardımıyla alınan kan örnekleri glukometre ile analiz edilmiş; açlık kan glukoz seviyesi ≥ 140 mg/dL ölçülen bireyler diyabetik olarak kabul edilmiştir. Deney gruplarının diyabet indüksiyonu öncesi ve sonrası açlık kan glukoz düzeylerine ait ortalama $\pm$ standart sapma (SD) değerleri Tablo 8’de sunulmaktadır.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada, DM öncesi kan şekeri (KŞ) değerlerinin istatistiksel analizi Kruskal Wallis-H testi ile gerçekleştirilmiş ve anlamlı bir sonuç elde edilmediği için gruplar arası karşılaştırma yapılamamıştır ($p=0.543$). Ancak, DM sonrası KŞ değerlerinin istatistiksel analizi Kruskal Wallis-H testi ile yapılmış ve anlamlı bir fark bulunduğundan gruplar arası karşılaştırma gerçekleştirilmiştir ($p<0.001$).

DM oluşturması için uygulamış olduğumuz STZ’nin ratlarda hiperglisemiye neden olduğu saptandı. En yüksek ortalamanın DM+Mumijo grubunda olduğu izlenirken, bu yükseklik diğer DM grupları ile aralarında anlamlı farka neden olmamıştı ($p>0.005$). Kontrol grubunun KŞ ortalamasının, diğer çalışma gruplarından anlamlı biçimde az olduğu tespit edildi. ($p=0.002$)

Grupların DM öncesi KŞ ve DM sonrası KŞ ölçümleri şekil 15’te gösterildi.



Şekil 15. Control; Kontrol grubu, DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubunun DM öncesi KŞ ve DM sonrası KŞ ölçümlerinin ortalamaları.

4.3. Biyokimyasal Analizler

4.3.1. TAS Analizi

Total antioksidan kapasitenin bir göstergesi olan TAS düzeyleri incelendiğinde, en yüksek ortalama değerin DM+Mumijo grubunda gözlendiği belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda, diyabet (DM) grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda farklılık tespit edilmiştir ($p = 0.04$). Öte yandan, DM+Mumijo ve DM+Dex grupları arasındaki karşılaştırmada anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p > 0.05$). DM sonrası hem Mumijo hem de Dex uygulanması serum TAS değerlerini yükselttiği izlendi. Grupların TAS değerleri ortalamaları ve istatistiksel karşılaştırması Tablo 8’de detaylı olarak açıklandı.

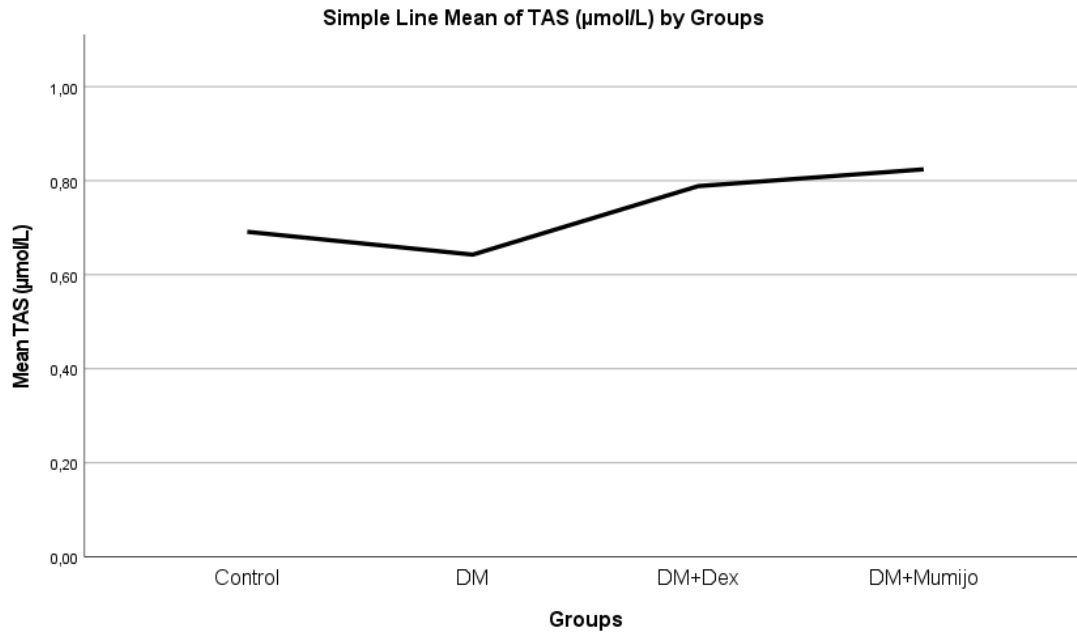
Tablo 8. DM öncesinde ve sonrasında açlık kan glukoz seviyeleri ve TAS seviyelerinin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri.

Gruplar	KŞ Öncesi (mg/dL)	KŞ Sonrası(mg/dL)	TAS (μ mol/L)
Kontrol	81.00 $\pm$ 8.40	102.57 $\pm$ 5.28	0.69 $\pm$ 0.04*
DM	89.71 $\pm$ 18.19	449.00 $\pm$ 53.68**	0.67 $\pm$ 0.05*,**
DM+Dex	84.57 $\pm$ 4.23	430.71 $\pm$ 37.65**	0.78 $\pm$ 0.14*
DM+Mumijo	91.28 $\pm$ 14.63	482.85 $\pm$ 72.63**	0.82 $\pm$ 0.12**

**P<0.005

*P<0.05

DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubu. TAS; Total antioksidan status μ mol Trolox Equivalent/L (μ mol/L).



Şekil 16. Deney gruplarının Total Antioksidan Statü (TAS) düzeylerine ait ortalama değerlerinin grafiksel dağılımı. Control: Sağlıklı kontrol grubu; DM: Diyabetik kontrol grubu; DM+Dex: Diyabet + Dekspantenol tedavi grubu; DM+Mumijo: Diyabet + Mumijo tedavi grubu. TAS: Total Antioksidan Statüsü, sonuçlar $\mu\text{mol Trolox Eşdeğeri/L}$ ($\mu\text{mol/L}$) cinsinden ifade edilmiştir.

4.4. Histolojik İncelemeler

4.4.1 Hematoksilen&Eozin (H&E) ve Weigert Van Giesson Bulguları

Çalışma kapsamında tüm ratlardan, 7., 14. ve 21. günlerde doku defekti alanının farklı kadrantlarından doku örnekleri alınmıştır. Alınan kesitler, Hematoksilen & Eozin (H&E) ile Weigert Van Gieson (WVG) yöntemleri kullanılarak boyanmıştır. Histoloji laboratuvarına iletilen bu spesmenler; konjesyon, kollajen liflerin düzenliliği ve yoğunluğu, fibroblast aktivitesi ve neovaskülarizasyon düzeyleri açısından ışık mikroskobu (Zeiss Mikroskop, Almanya) altında incelenmiştir. Histolojik değerlendirme ve skorlama işlemleri, gözlemcinin grupları bilmediği şekilde körleme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

Yara iyileşmesinin ilk 3.günüden itibaren artan fibroblast aktivasyonu, kollajen birikimi sürecini başlatır (76). Çalışmamız kapsamında 7., 14. ve 21. günlerde alınan biyopsi materyalleri, ışık mikroskobu altında incelendiğine; 7 ve 14.günlerde grupların fibroblast aktivasyonları açısından istatistiksel anlamda farklılık tespit edilmemiştir. Bununla beraber 21.günde DM grubunun ortalamasının en düşük olduğu gözlenirken, DM+Dex grubunun ortalaması ile DM+Mumijo grubunun ortalaması anlamlı olarak daha yüksek saptandı ($p=0.015$ ve $p=0.010$). Grupların fibroblast aktivasyonu ortalamaları ve aralarındaki istatistiksel karşılaştırma Tablo 9’da detaylı olarak açıklandı (Tablo 9).

Tablo 9. 7,14 ve 21.günlerde fibroblast aktivasyonunun ortalama±standart sapma değerleri.

Gruplar	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	0.42±0.53	1.57±0.53	2.00±0.57
DM	0.14±0.37	1.14±0.37	1.42±0.53
DM+Dex	0.57±0.53	1.42±0.53	2.28±0.48*
DM+Mumijo	0.71±0.48	1.71±0.48	2.42±0.53*

*P<0.05

DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubu.

Kollajen sentezi, yara iyileşme sürecinin genellikle 4. veya 5. gününde başlamaktadır. Fibroblastlar tarafından üretilen kollajen lifleri, doku onarımının tüm fazlarında temel bir yapısal ve işlevsel bileşen olarak rol oynamaktadır. (77,78). Kollajen regülaritesi ve yoğunluğu, 0: yok, 1: çok az, 2: orta ve 3: yoğun olarak skorlandı. 7., 14. ve 21. günlere ait karşılaştırmalı değerlendirmeler, gruplar arasında kollajen liflerin düzenliliği ve yoğunluk seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğunu ortaya koymuştur. DM+Mumijo grubunun ortalamasının üç farklı zamanda alınan örneklerde yüksek çıktığı gözlemlendi. Yine bulgularımıza paralel şekilde DM grubu ortalaması 3 farklı zamanda da en düşük olarak saptandı. 7. gün verilerinin istatistiksel analizine göre, DM grubu ile DM+Dex (p = 0.030) ve DM+Mumijo (p = 0.006) grupları arasında kollajen yoğunluğu bakımından anlamlı farklar saptanmıştır. Her iki tedavi grubunda da kollajen birikimi, diyabet grubuna kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. 14. gün değerlendirmelerinde, kontrol grubu ile DM+Mumijo grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmiş (p = 0.023), ancak DM ile DM+Mumijo grubu arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Aynı gün elde edilen verilere göre, DM grubu ile DM+Dex (p = 0.032) ve DM+Mumijo (p = 0.002) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir. 21. gün karşılaştırmaları ise, DM grubunun ortalama kollajen yoğunluğunun diğer tüm tedavi gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük olduğunu ortaya koymuştur (Bkz. Tablo 10).

Tablo 10. 7,14 ve 21.günlerde Kollajen regülaritesi ve yoğunluğunun ortalama±standart sapma değerleri.

Gruplar	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	0.71±0.48	1.42±0.53*	2.42±0.53*
DM	0.28±0.48*	1.00±0.57**	1.71±0.48*,**
DM+Dex	0.85±0.37*	1.71±0.48*	2.71±0.48*
DM+Mumijo	1.00±0.00*	2.00±0.00*,**	2.85±0.37**
			*P<0.05
			**P<0.005

DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubu.

Konjesyon yoğunluğu, yarı kantitatif bir skrolama sistemi ile değerdendirilmiştir. Buna göre; 0 = konjesyon izlenmedi, 1 = minimal düzeyde konjesyon, 2 = orta derecede konjesyon, 3 = belirgin (yoğun) konjesyon olarak puanlanmıştır. Konjesyon yoğunlukları değerdendirildiğinde, 7., 14. ve 21. günlerde alınan biyopsi materyallerinin skrolama sonuçlarına göre, DM grubunun ortalama değerdelerinin her üç zaman noktasında da diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ancak gruplar arası istatistiksel analiz sonucunda, DM+Dex ve DM+Mumijo grupları arasında konjesyon yoğunluğu açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Tüm gruplara ait konjesyon skrolamalarının ortalama ± standart sapma değerdeleri ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 11’de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Tablo 11. 7,14 ve 21.günlerde Konjesyon yoğunluğunun ortalama±standart sapma değerleri.

Gruplar	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	2.28±0.48	1.71±0.48	0.71±0.48
DM	2.57±0.53	1.85±0.69	1.42±0.78
DM+Dex	2.42±0.53	1.57±0.53	0.71±0.75
DM+Mumijo	2.28±0.48	1.42±0.53	0.85±0.89
	P>0.05	P>0.05	P>0.05

DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubu.

Neovaskülarizasyonun 7. gün değerlendirmelerinde, en yoğun oluşumun kontrol ve DM+Mumijo gruplarında gözleendiği belirlenmiştir. Buna karşın, 14. gün bulgularında DM grubunda yara iyileşme süreci ile ilişkili yeniden damarlanma düzeylerinin belirgin şekilde düşük olduğu saptanmıştır.

Aynı gün yapılan değerlendirmelerde, diğer gruplar arasında neovaskülarizasyon skorlarının benzer düzeyde olduğu görülmüştür. DM grubunun 14. gün skorlamalarının, diğer deney gruplarına kıyasla istatistiksel anlamda belirgin seviyede düşük olduğu bulunmuştur. 21. gün analizinde ise, DM+Mumijo ve DM+Dex gruplarının ortalama neovaskülarizasyon düzeylerinin her iki grubun birbirine yakın sonuçlar gösterdiğini ve bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını ortaya koymuştur.

Tablo 12. 7,14 ve 21.günlerde Neovaskülarizasyon skorlarının ortalama±standart sapma değerleri.

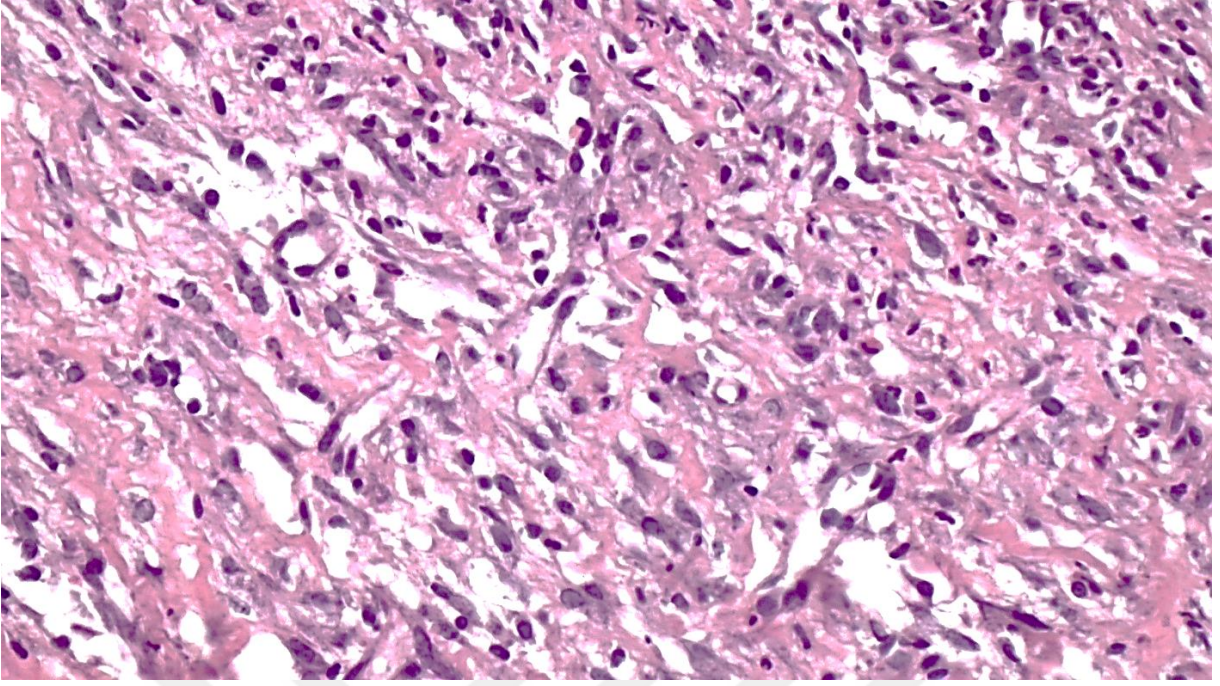
Gruplar	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	0.85±0.37	1.85±0.37*	2.14±0.37*
DM	0.28±0.48	1.14±0.37	1.85±0.37**
DM+Dex	0.71±0.48	1.85±0.37*	2.85±0.37*,**
DM+Mumijo	0.85±0.37	1.85±0.37*	2.85±0.37*,**
	P>0.05	*P<0.05	*P<0.05
		**P<0.005	**P<0.005

DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubu.

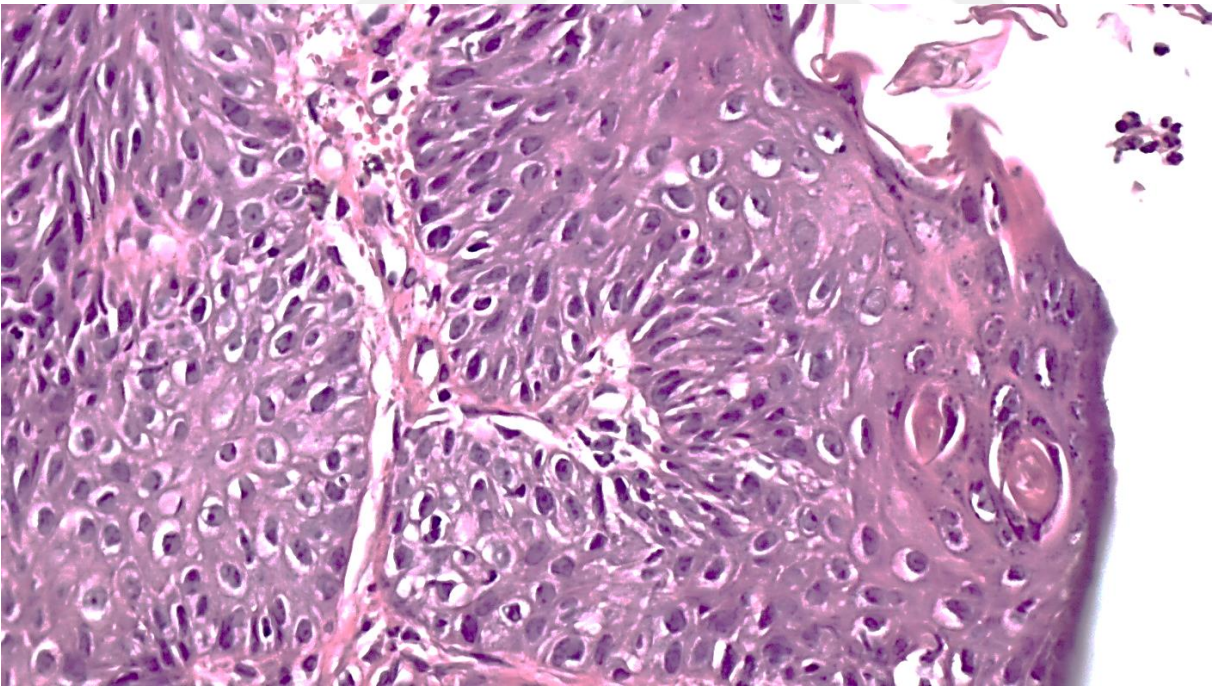
Kontrol grubunun H&E ve Weigert Van Gieson kesitleri incelendiğinde; deri dokusu normal görünümde izlendi. Epidermis ve dermiş tabakaları düzgün görünümde olup, bütünlük kaybı izlenmedi. Epidermis tabakasındaki epitel hücreleri alttan silindirik, ortaya doğru kübik ve en üst sırada ise yassı hücrelerden oluşmaktaydı. Epitel doku keratinize normal görünümde çok katlı yassı epitel görünümü ile uyumluydu. 21.günde epitel oldukça kalın yapıda izlendi. Bağ dokuda herhangi bir patoloji saptanmadı. Kollajen lif yoğunluğu ve fibroblast aktivasyonu artmıştı (Şekil 17-19).

DM grubunun H&E ve Weigert Van Gieson kesitleri incelendiğinde; doku bütünlüğünün bozulduğu ve kontrol grubuna kıyasla konjesyonun arttığı, vaskülerlerde dilatasyonun geliştiği, nötrofil ve lökosit infiltrasyonunda artış olduğu saptandı. Epidermis ve dermis tabakaları diğer gruplara kıyasla daha ince yapıdaydı. İnterstisyel alanda boşluklar dikkat çekmekteydi (Şekil 20-22).

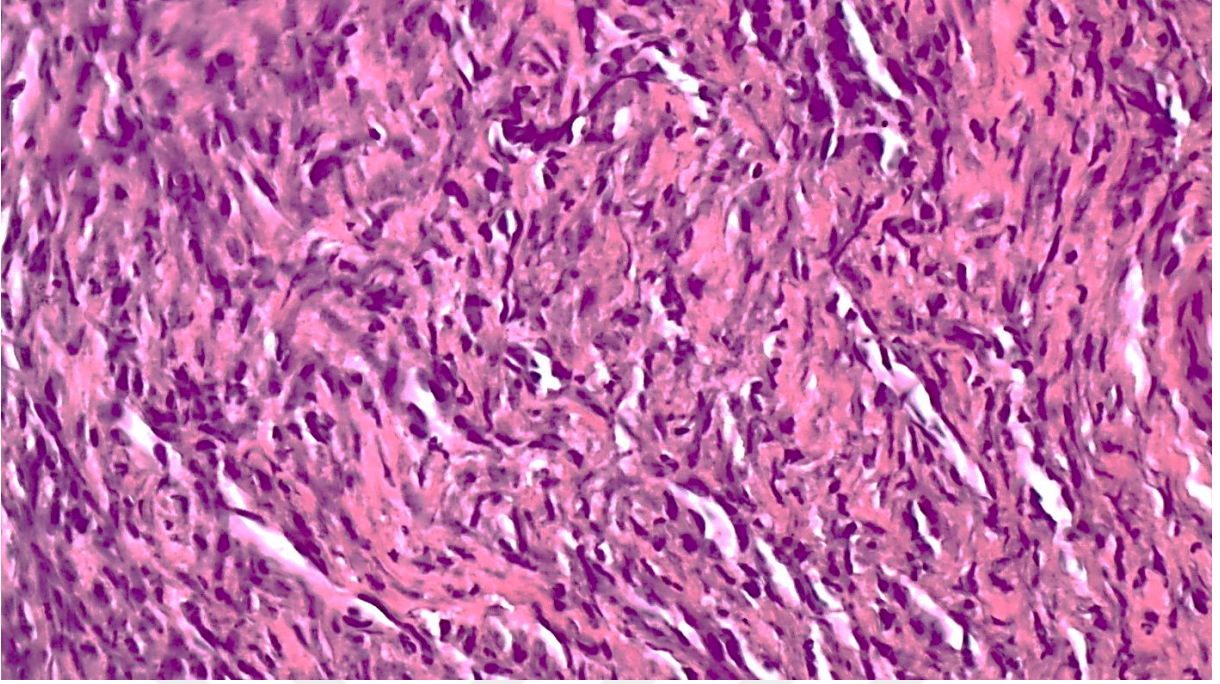
DM+Dex grubu ile DM+Mumijo grubunun H&E ve Weigert Van Giesonkesitleri incelendiğinde histolojik görünümleri oldukça benzerdi. Her iki grubun da DM grubuna kıyasla kollajen lif yoğunluğunda artış olduğu ancak vasküler dilatasyonun devam ettiği dikkat çekiciydi. Ancak konjesyonda azalma olduğu gözlendi (Şekil 23-28).



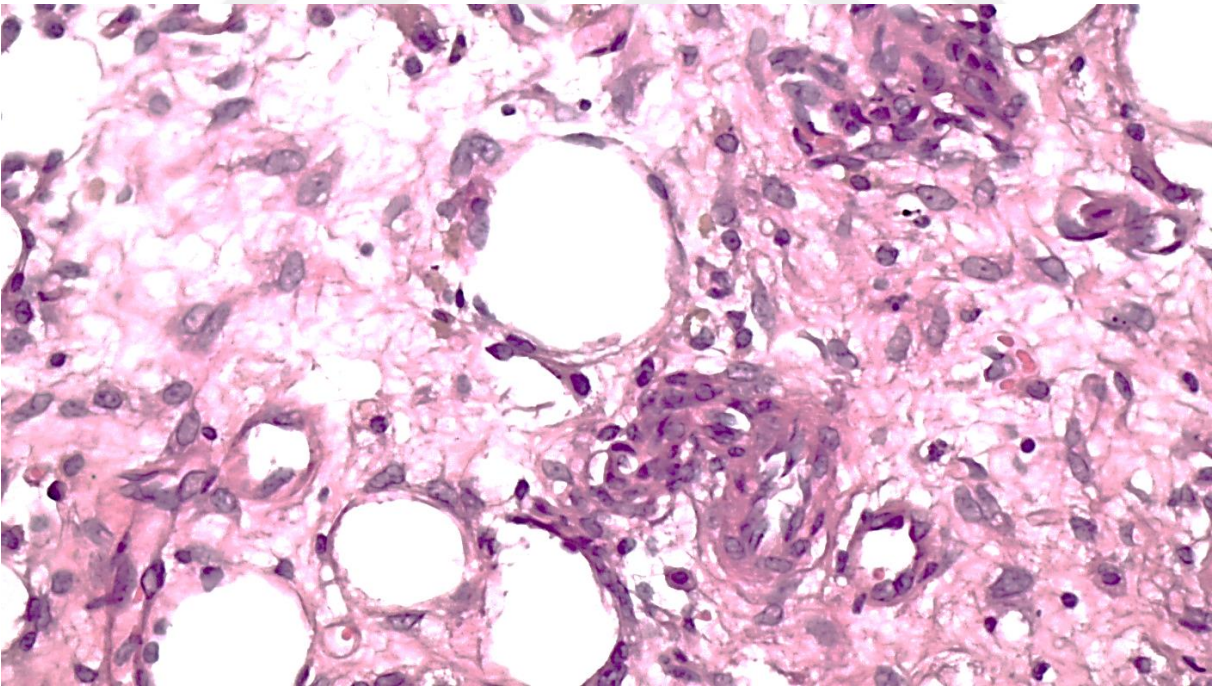
Şekil 17. Kontrol grubu 7. gününe ait mikrogram (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



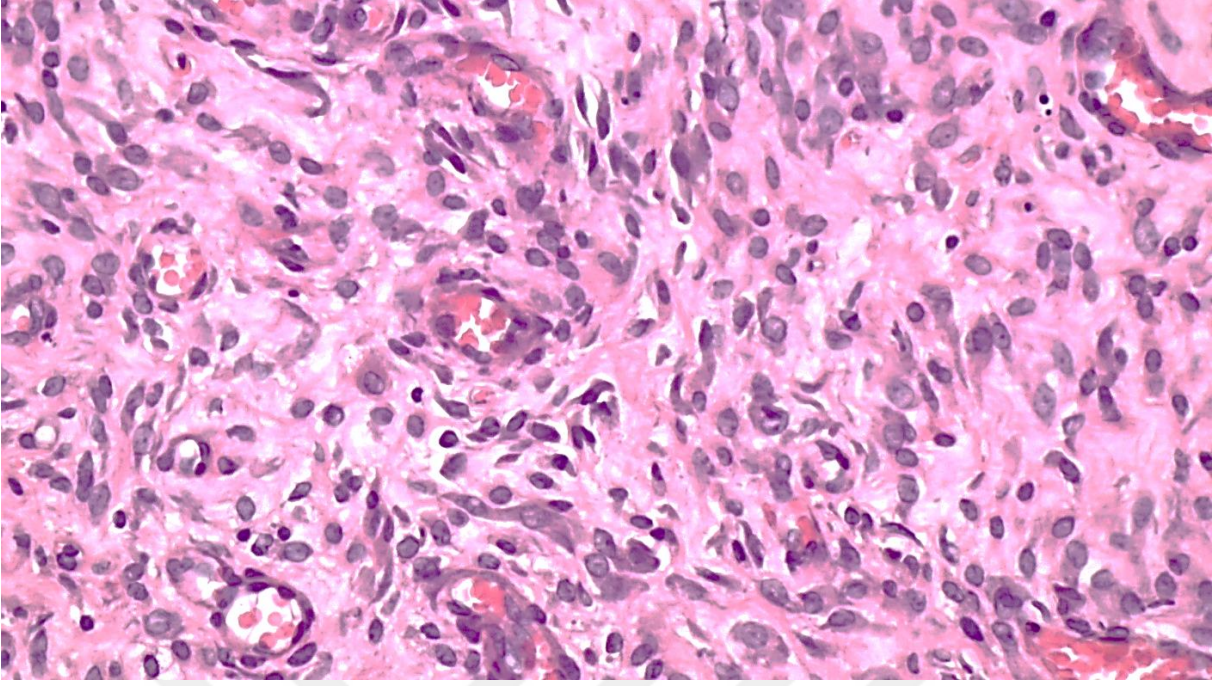
Şekil 18. Kontrol grubu 14. gününe ait mikrogram (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



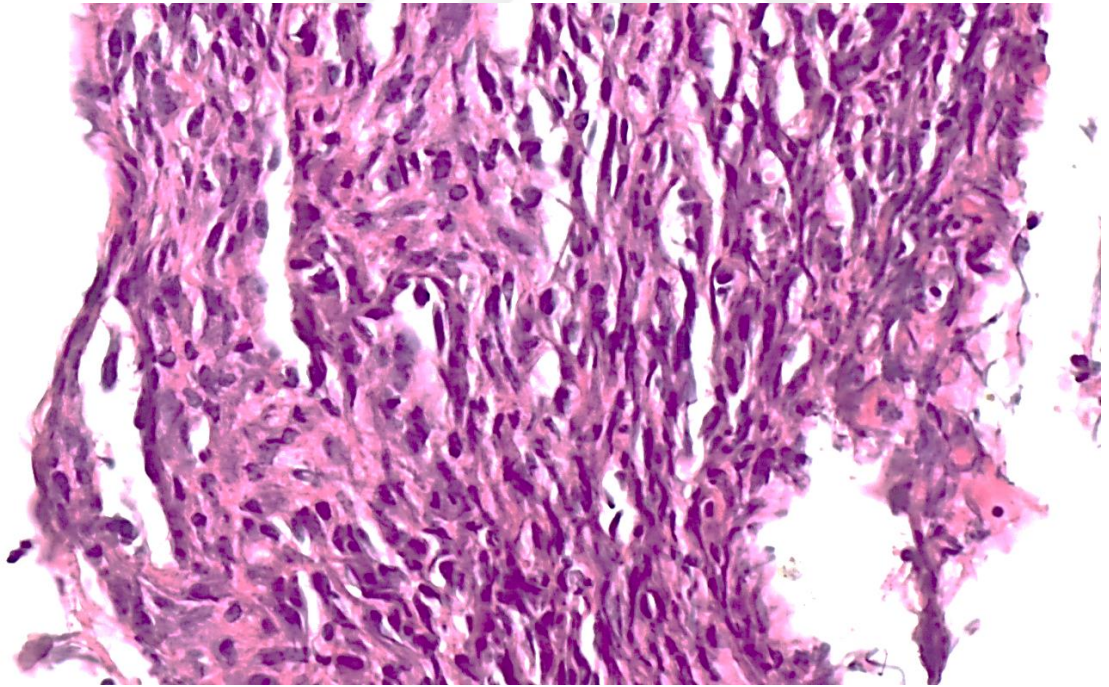
Şekil 19. Kontrol grubu 21. gününe ait mikrogram (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



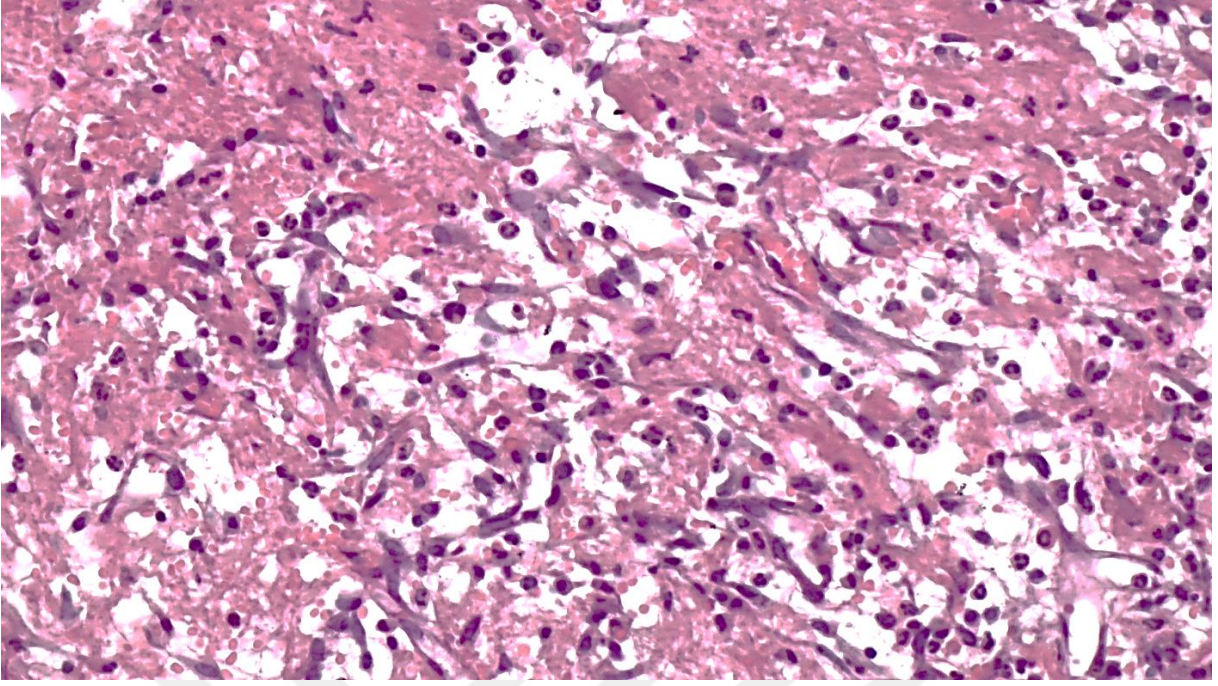
Şekil 20. DM grubu 7. gününe ait mikrogram (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



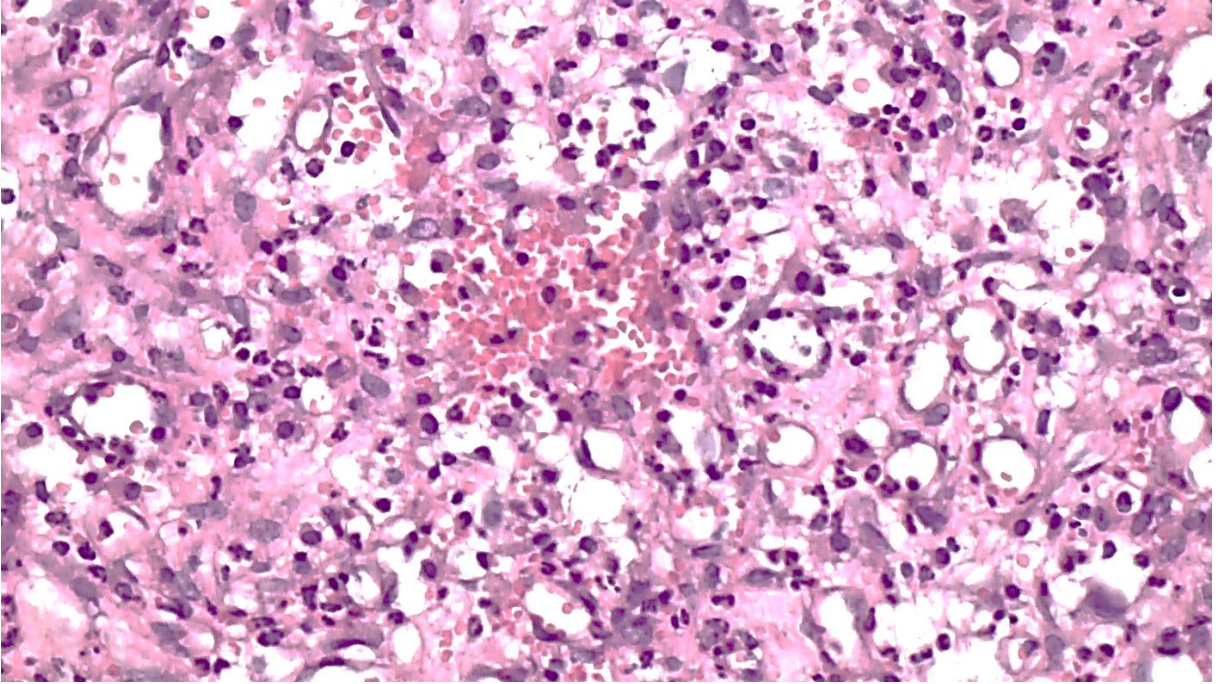
Şekil 21. DM grubu 14. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



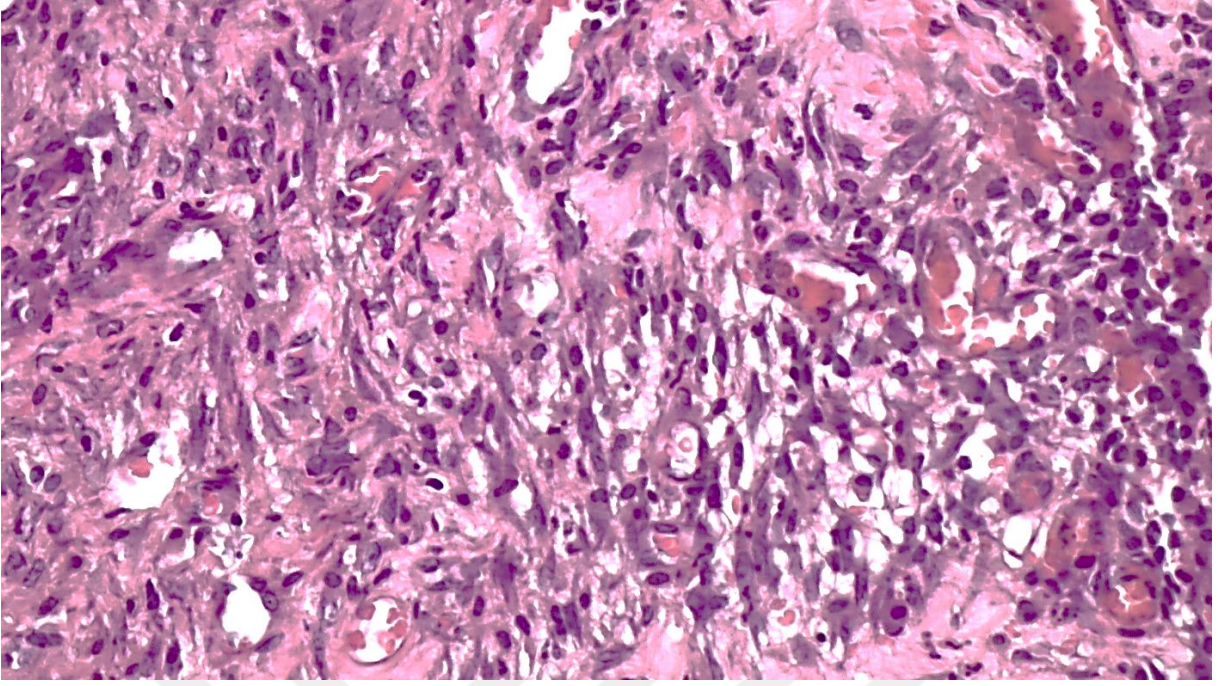
Şekil 22. DM grubu 21. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



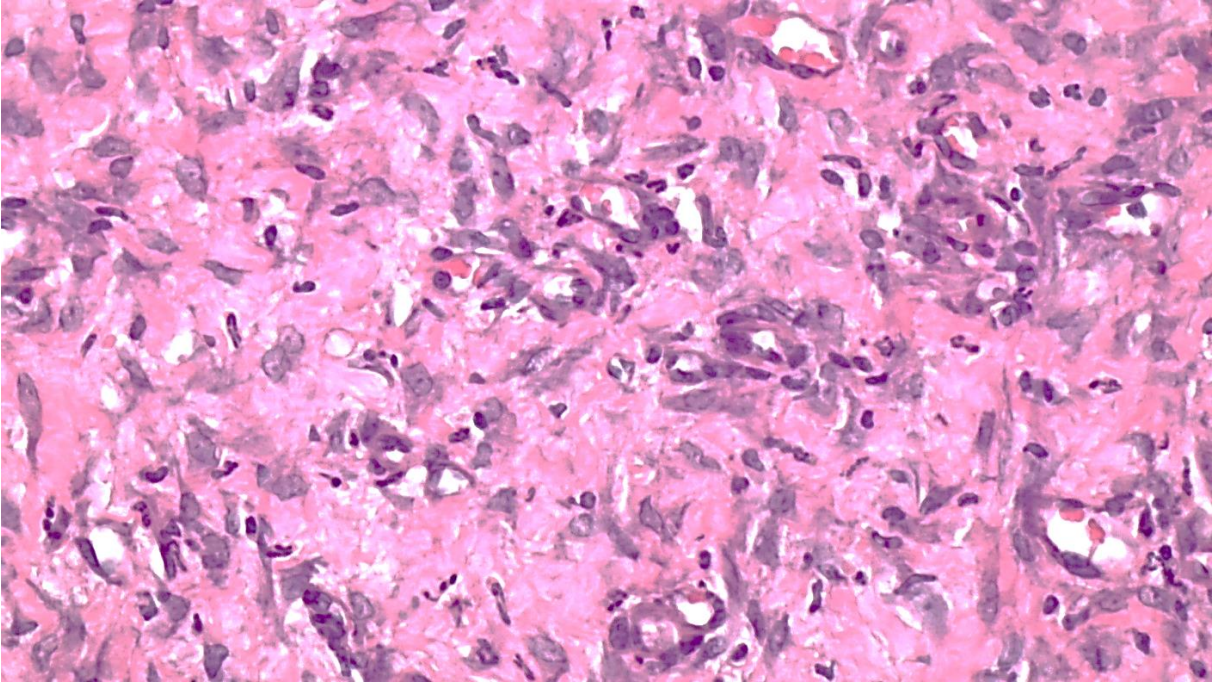
Şekil 23. DM+Dex grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



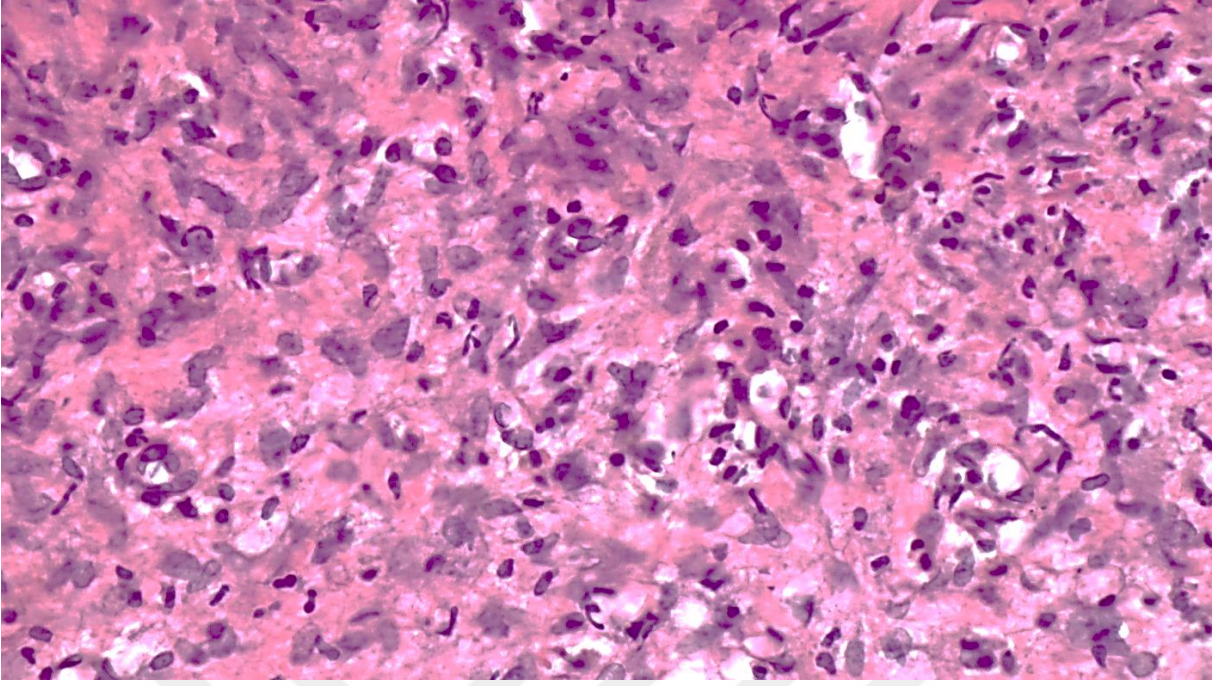
Şekil 24. DM+Dex grubu 14. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



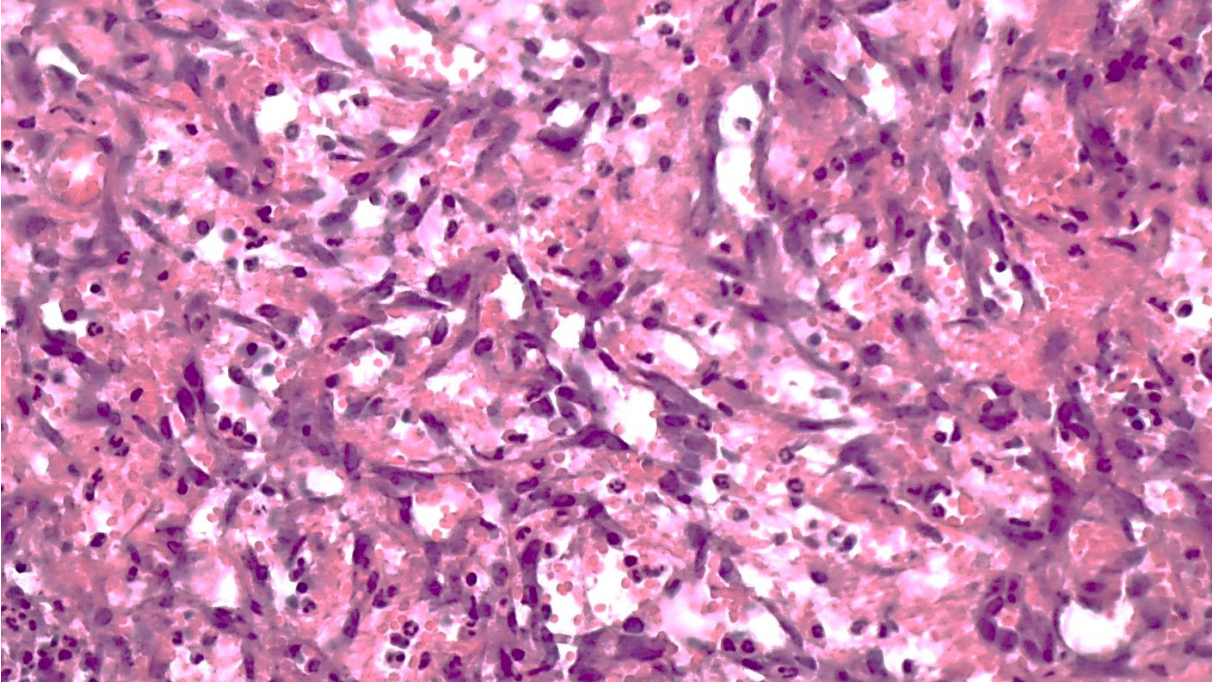
Şekil 25. DM+Dex grubu 21. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



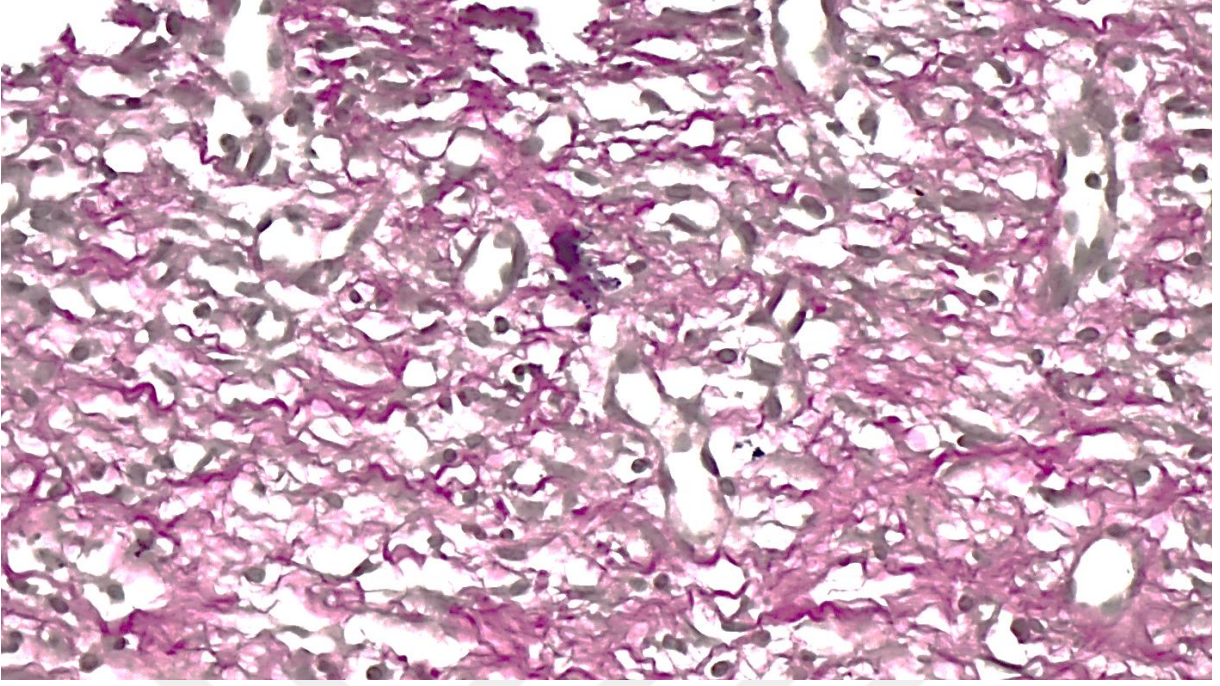
Şekil 26. DM+Mumijo grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



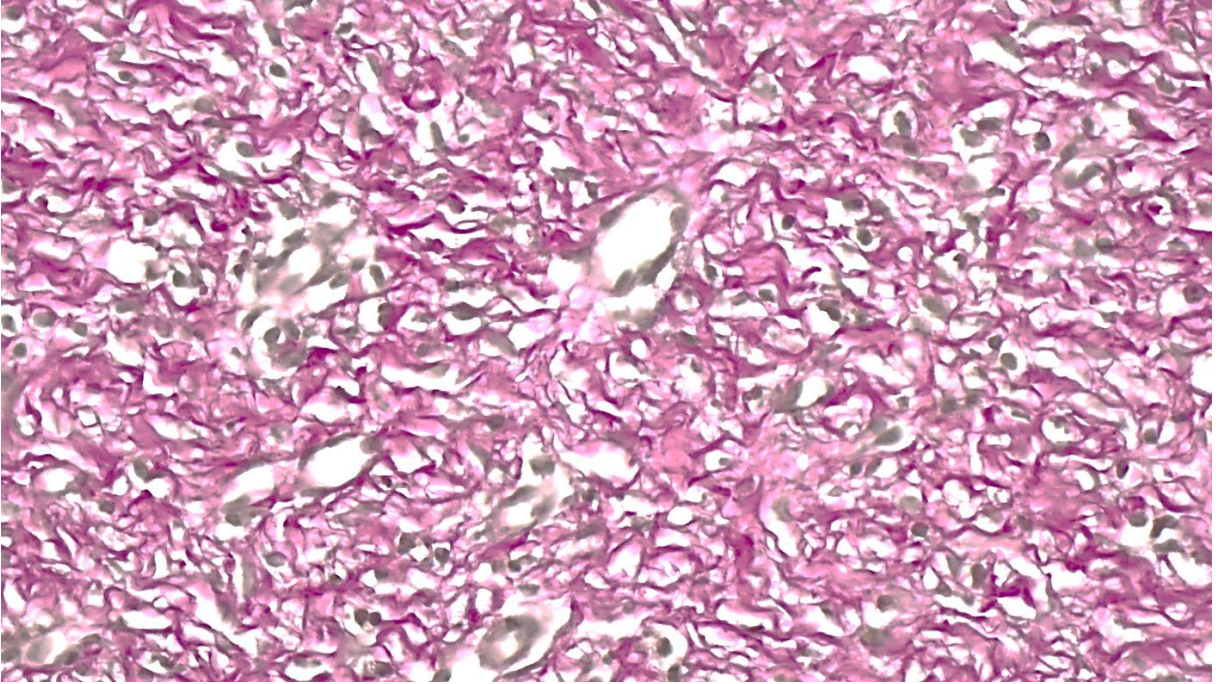
Şekil 27. DM+Mumijo grubu 14. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



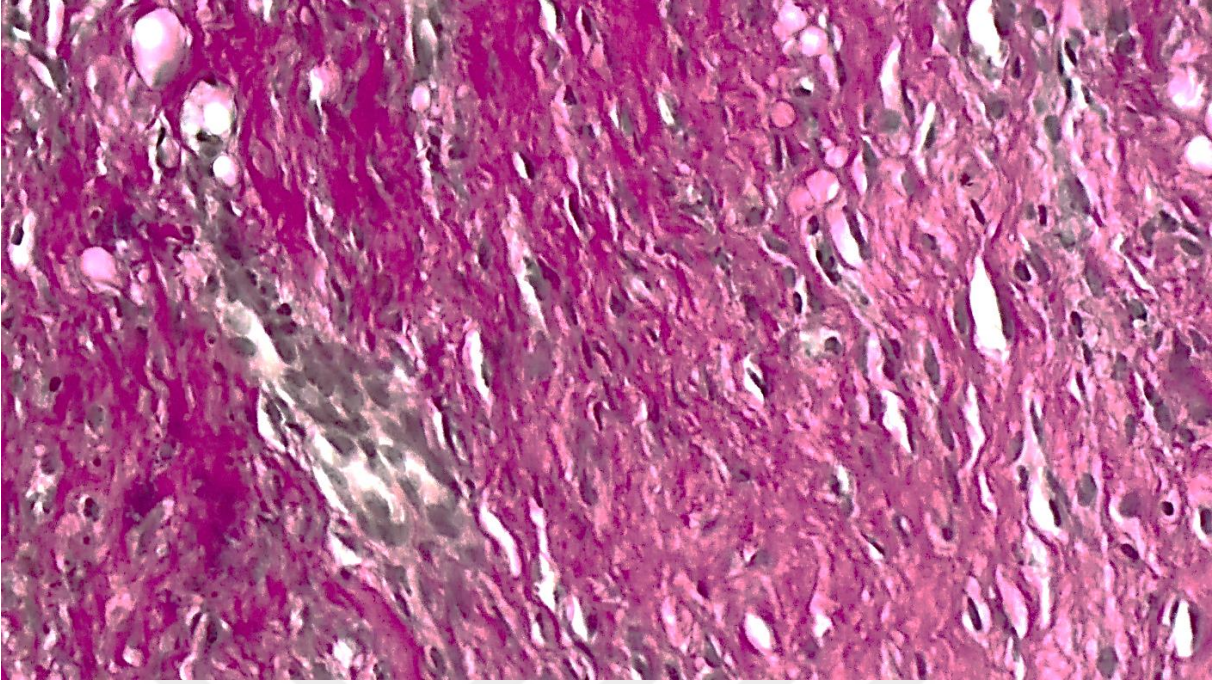
Şekil 28. DM+Mumijo grubu 21. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Hematoksilen&EosinX20).



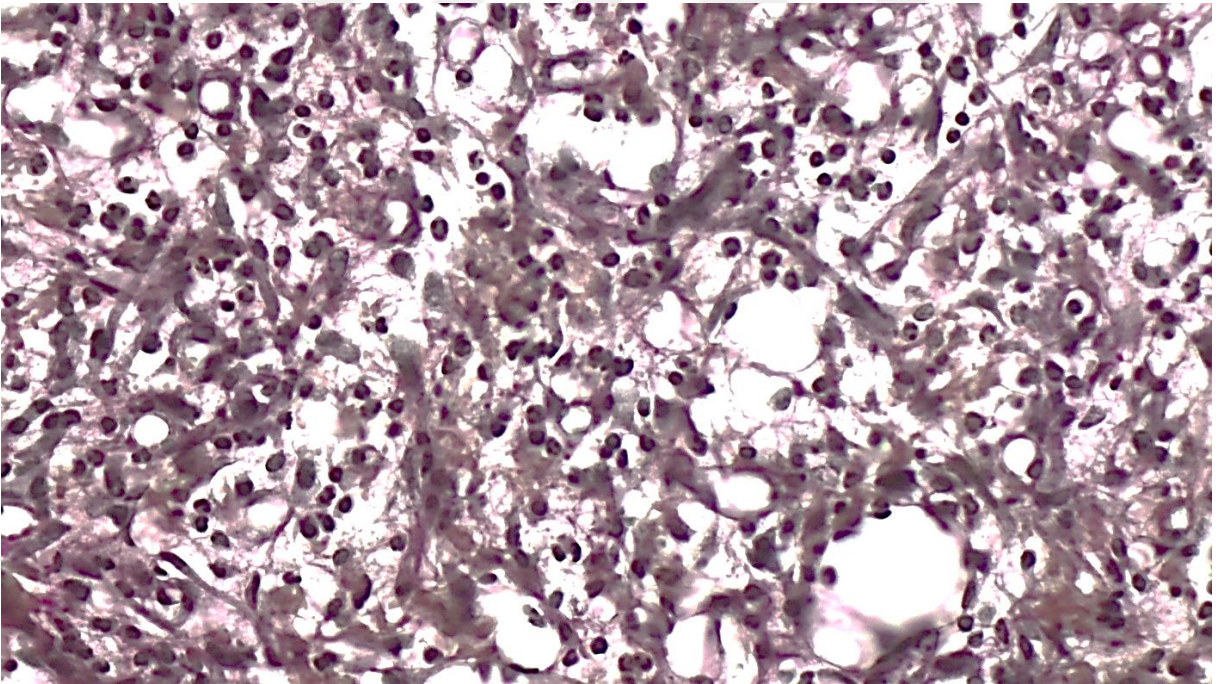
Şekil 29. Kontrol grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



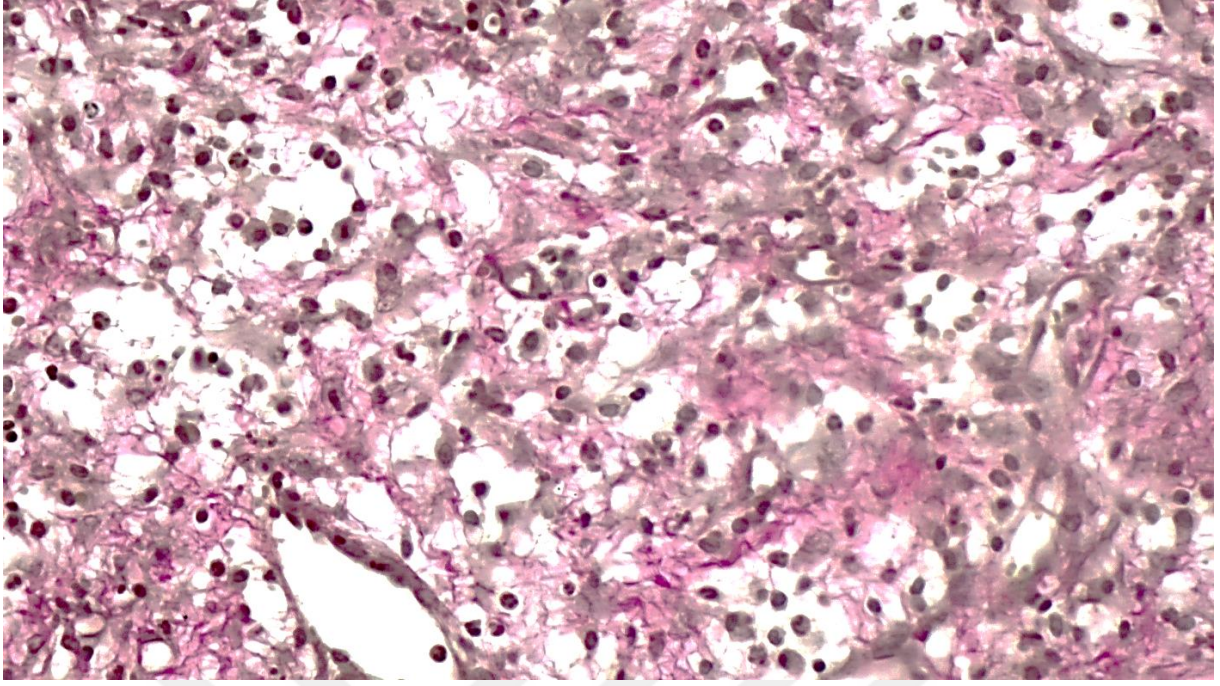
Şekil 30. Kontrol grubu14. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



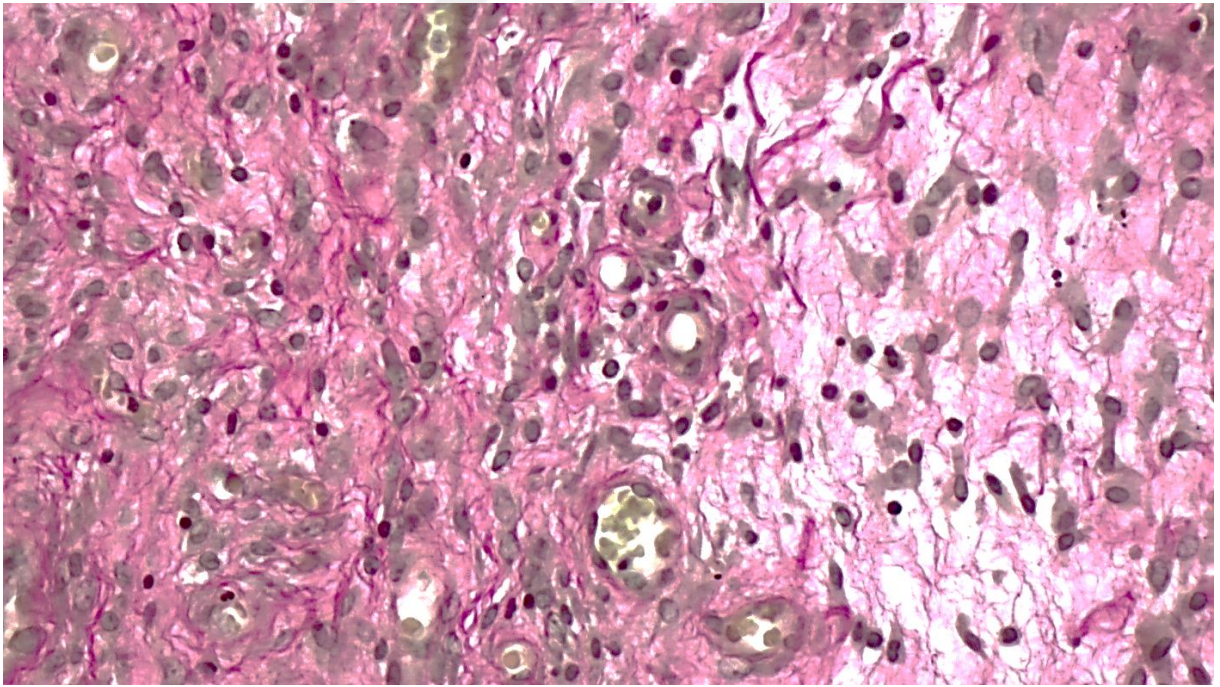
Şekil 31. Kontrol grubu 21. gününe ait mikrogramf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



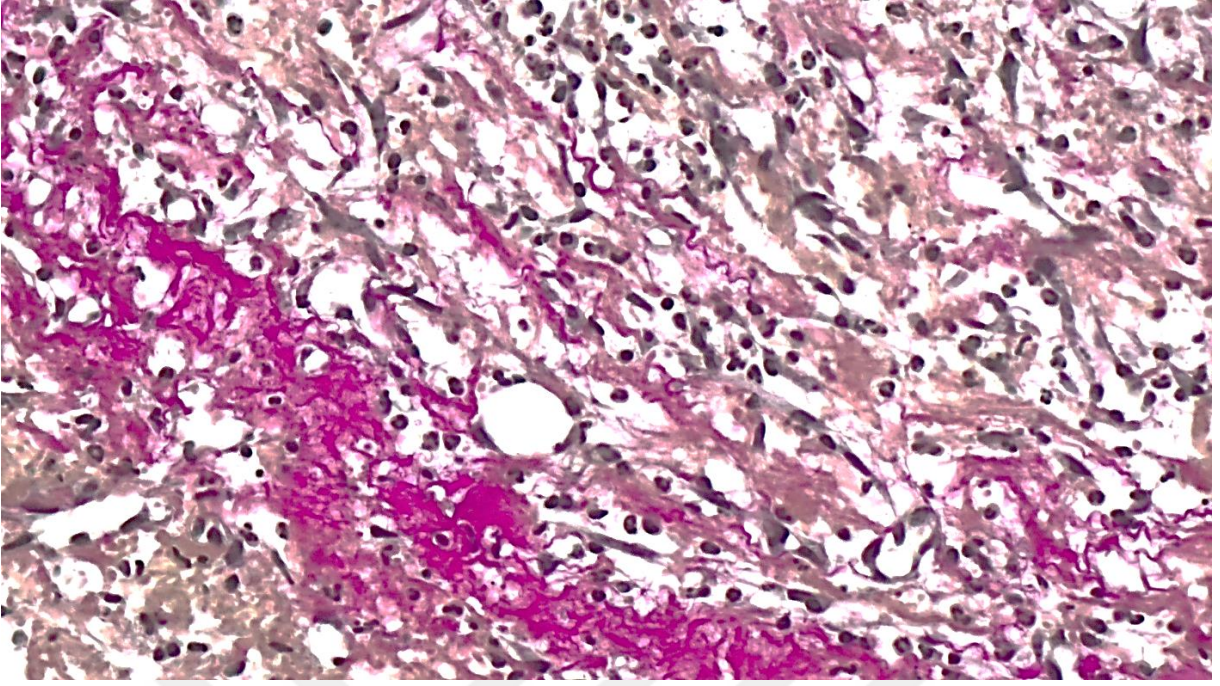
Şekil 32. DM grubu 7. gününe ait mikrogramf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



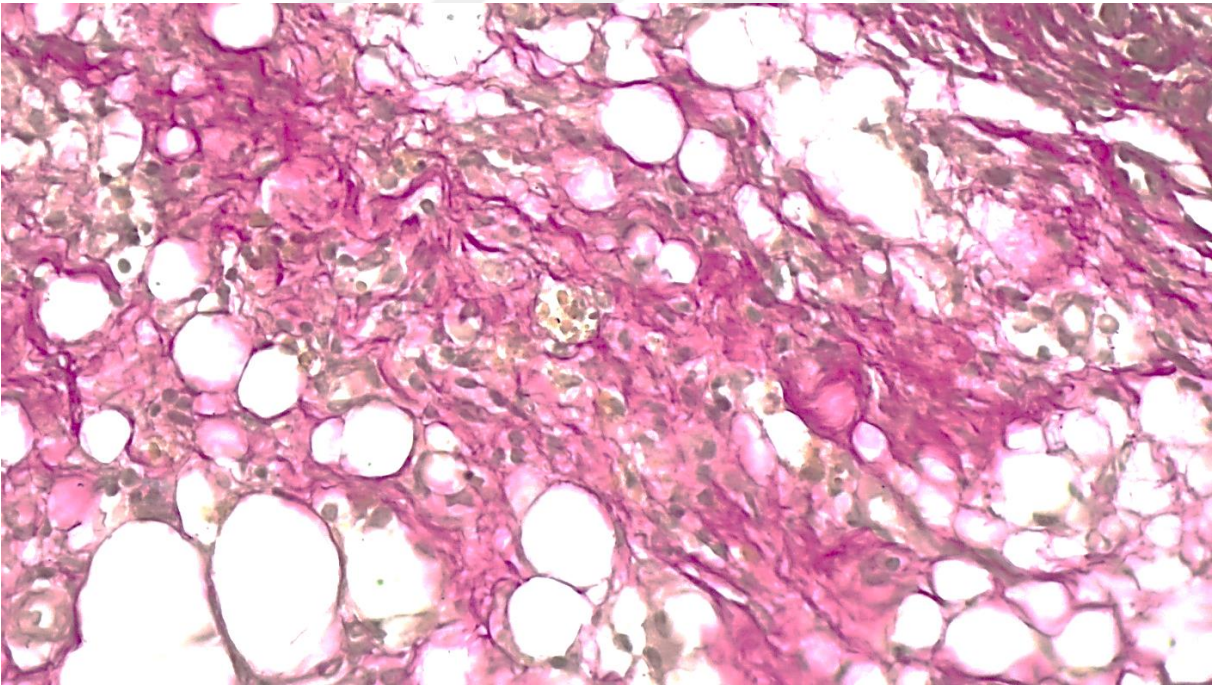
Şekil 33. DM grubu 14. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



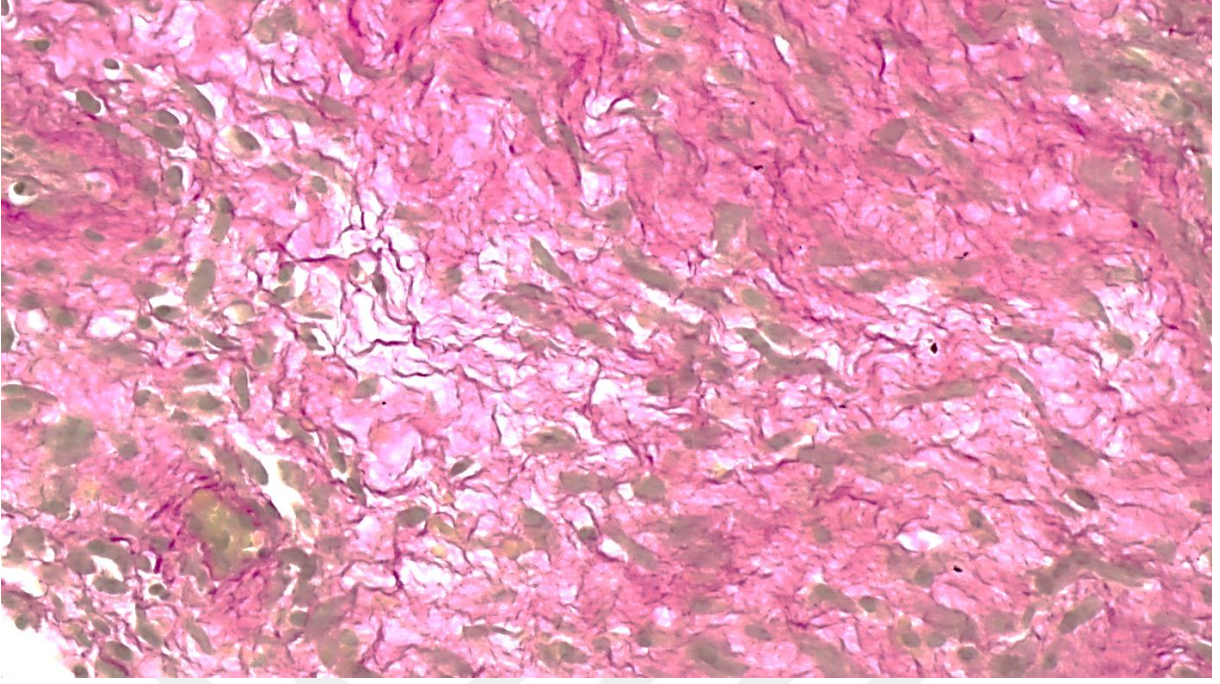
Şekil 34. DM grubu 21. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



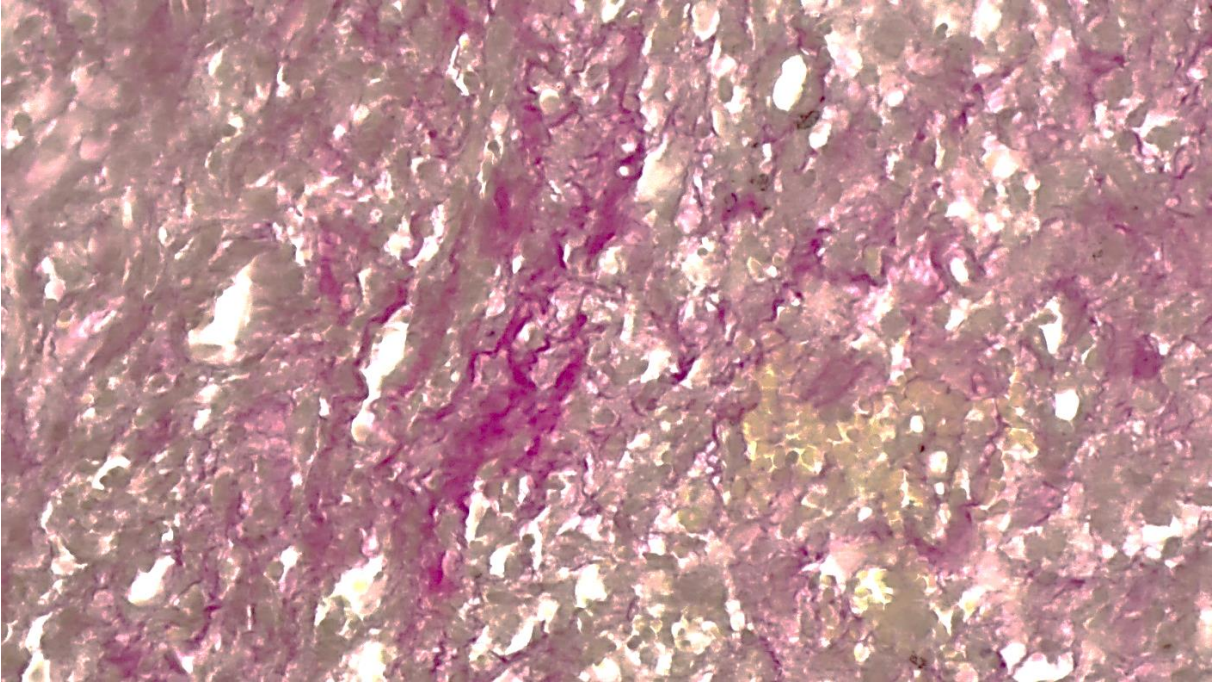
Şekil 35. DM+Dex grubu 7. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



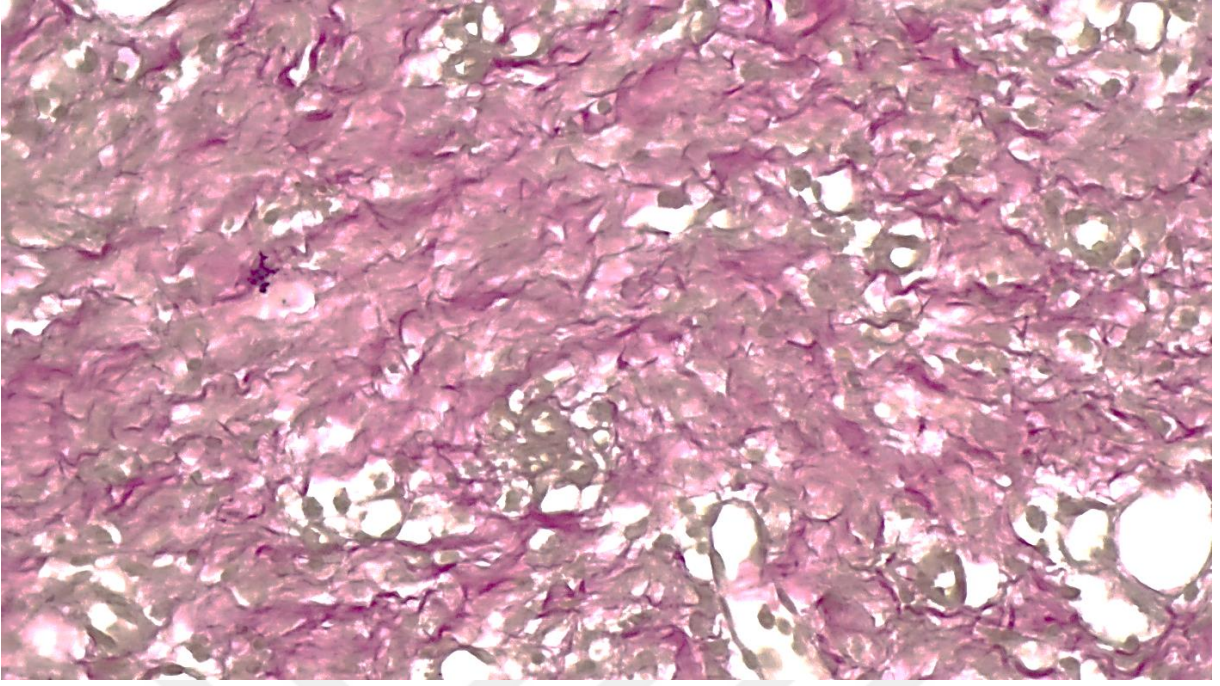
Şekil 36. DM+Dex grubu14. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



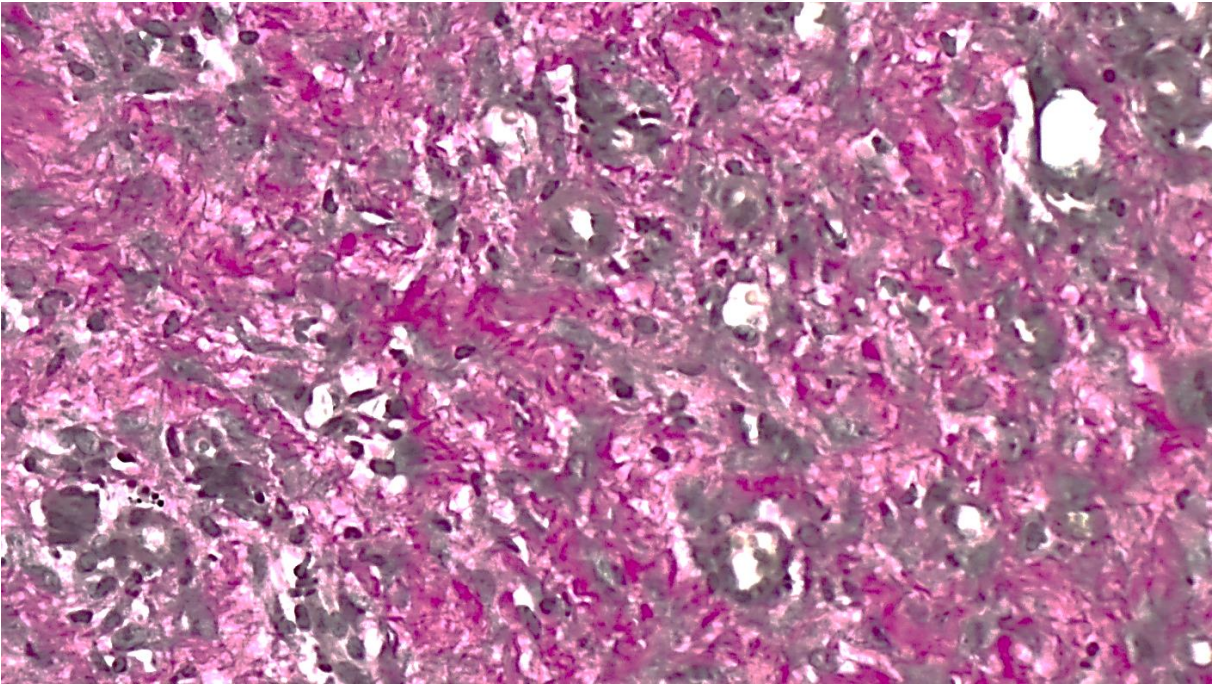
Şekil 37. DM+Dex grubu 21. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



Şekil 38. DM+Mumijo grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



Şekil 39. DM+Mumijo grubu 14. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).

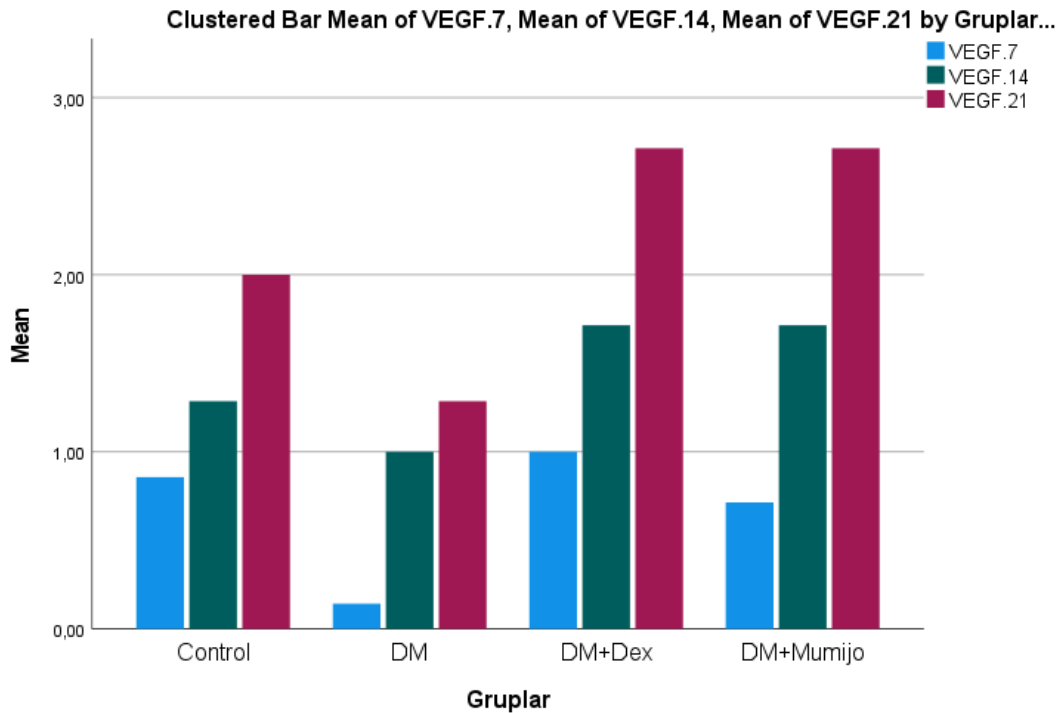


Şekil 40. DM+Mumijo grubu 21. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).

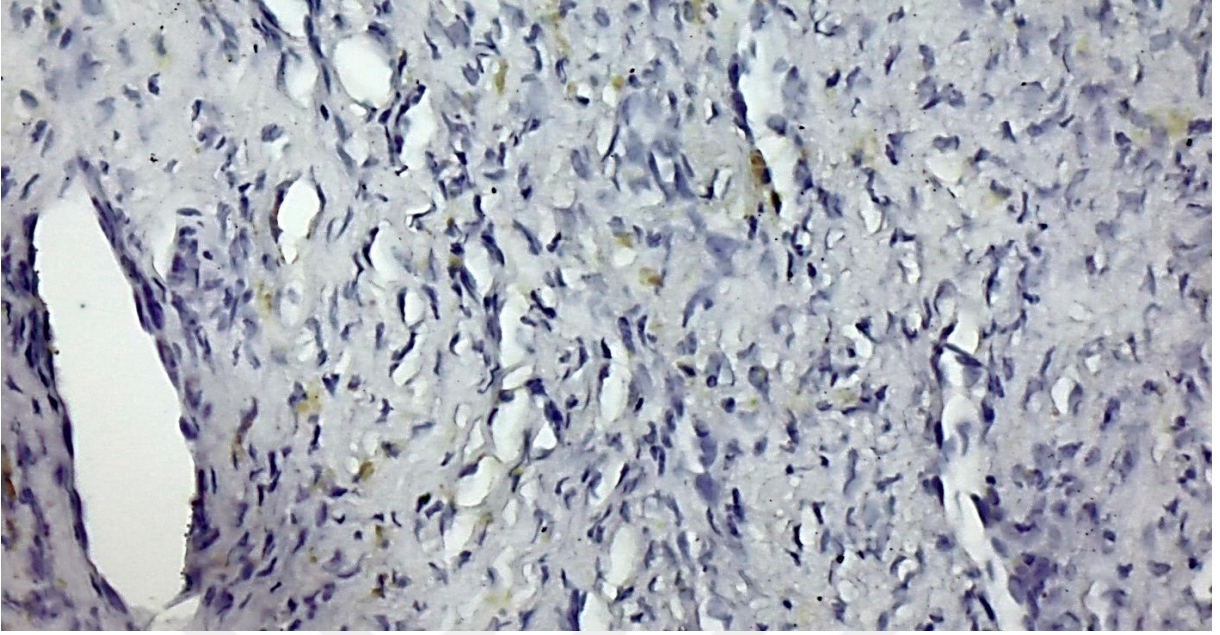
4.4.2. VEGF Ekspresyonları

Yara bölgesinden elde edilen doku örnekleri, histolojik değerlendirme amacıyla ışık mikroskobu (Zeiss Mikroskop, Almanya) kullanılarak incelenmiştir. Boyanma düzeyleri, yarı kantitatif (semikantitatif) bir skorelama sistemi ile değerlendirilmiş olup 0: ekspresyon izlenmedi, 1: zayıf boyanma, 2: orta derecede boyanma, 3: yoğun boyanma olmak üzere dört seviyede puanlama yapılmıştır.

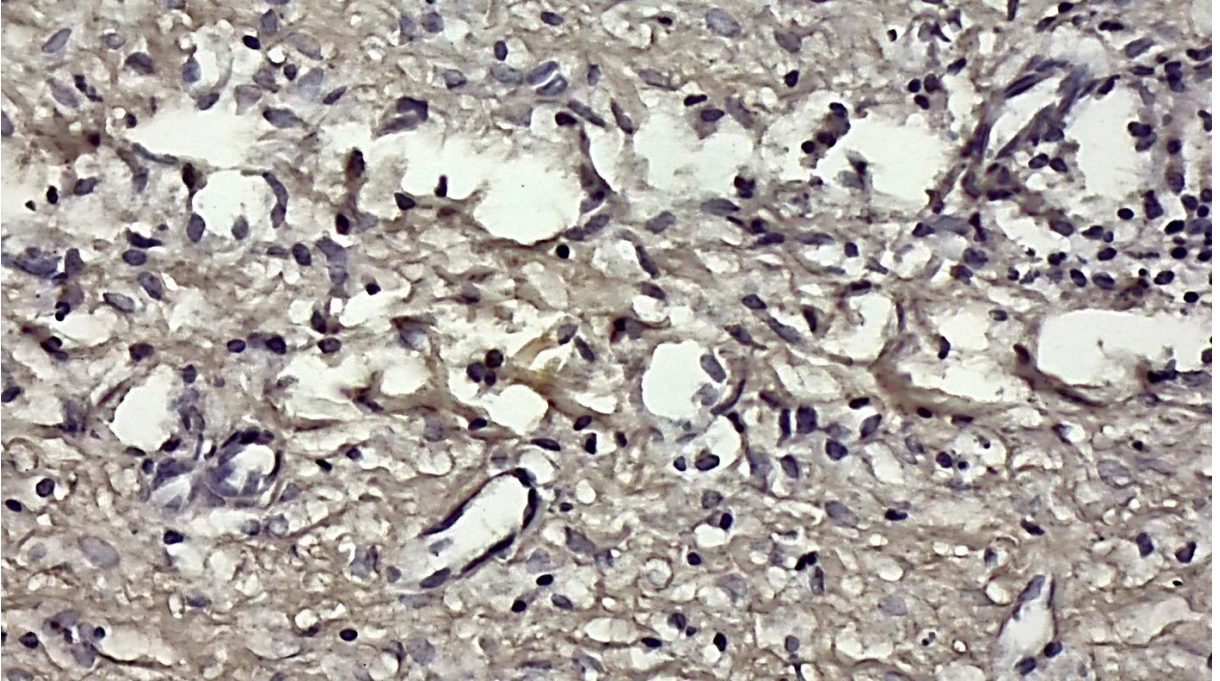
İmmünohistokimyasal analizlerde VEGF ekspresyon düzeyleri, semikantitatif bir skorelama sistemi ile değerlendirilmiştir. Skorelama sonuçlarına göre, 7. gün verilerinde en düşük VEGF pozitif ekspresyonu DM grubunda gözlenmiştir (0.14 ± 0.37), en yüksek ekspresyon ise DM+Dex grubunda saptanmıştır (1.00 ± 0.00). İstatistiksel değerlendirme sonucunda, 7. günde DM grubunda gözlenen VEGF ekspresyonunun, diğer tedavi gruplarına göre anlamlı seviyede daha düşük olduğu bulunmuştur. 14.güne baktığımızda sadece DM grubu ile DM+Dex ve DM+Mumijo grupları arasında fark olduğu, endoteller çevresinde DM'ye bağlı daha az sayıda VEGF pozitif ekspresyonların olduğu gözlemlendi. Son olarak 21.güne gelindiğinde 14.günle benzer sonuçların ortaya çıktığı saptandı. Grupların VEGF (+) ekspresyonlarının ortalamaları Şekil 41'de gösterildi.



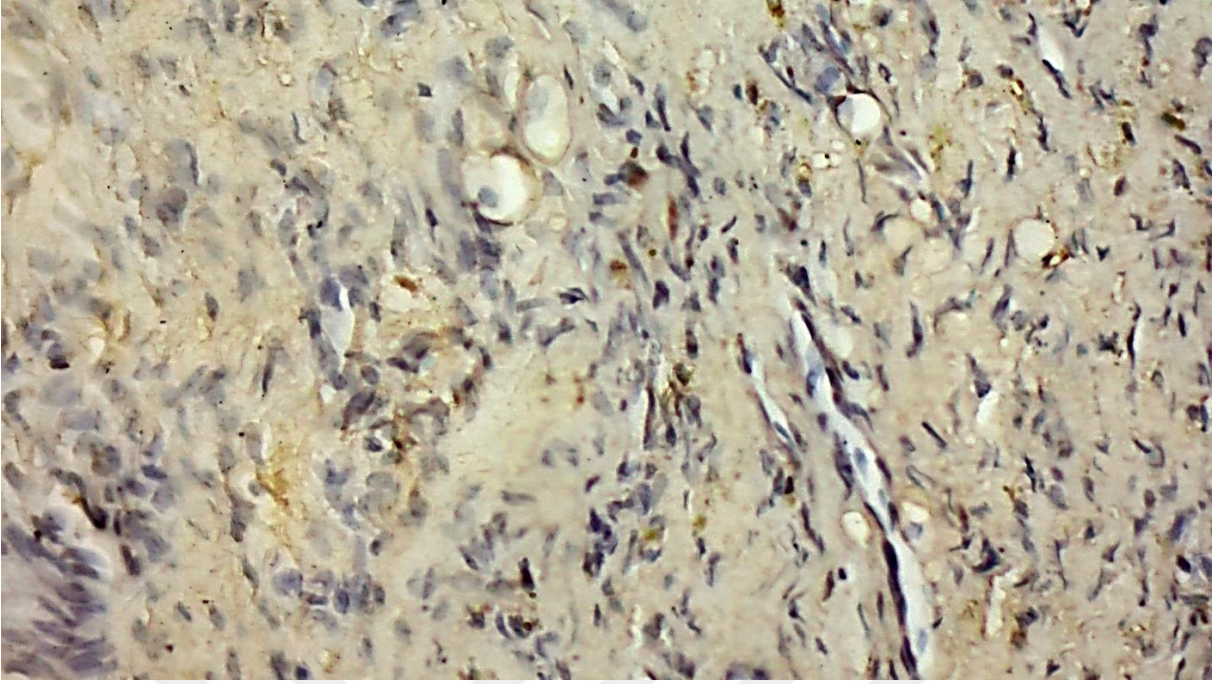
Şekil 41. Control; Kontrol grubu, DM; Diyabet grubu, DM+Dex; Diyabet+Dekspantenol grubu, DM+Mumijo; Diyabet+Mumijo grubunun VEGF (+) ekspresyonlarının ortalamaları.



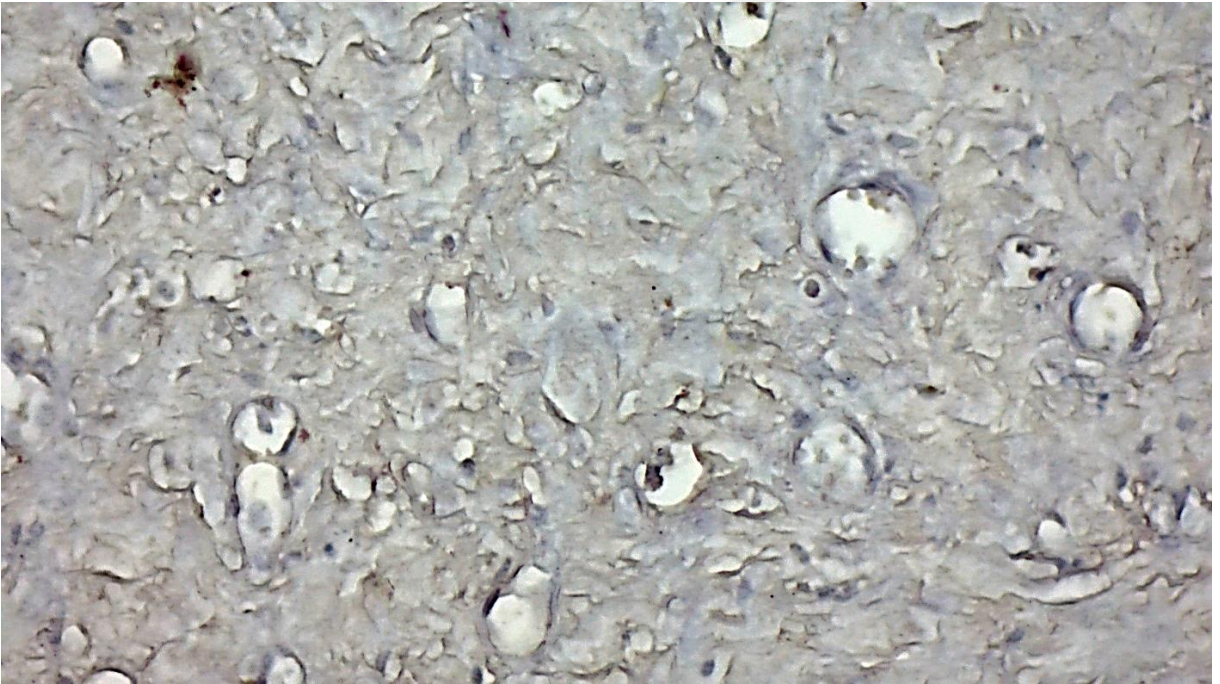
Şekil 42. Kontrol grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



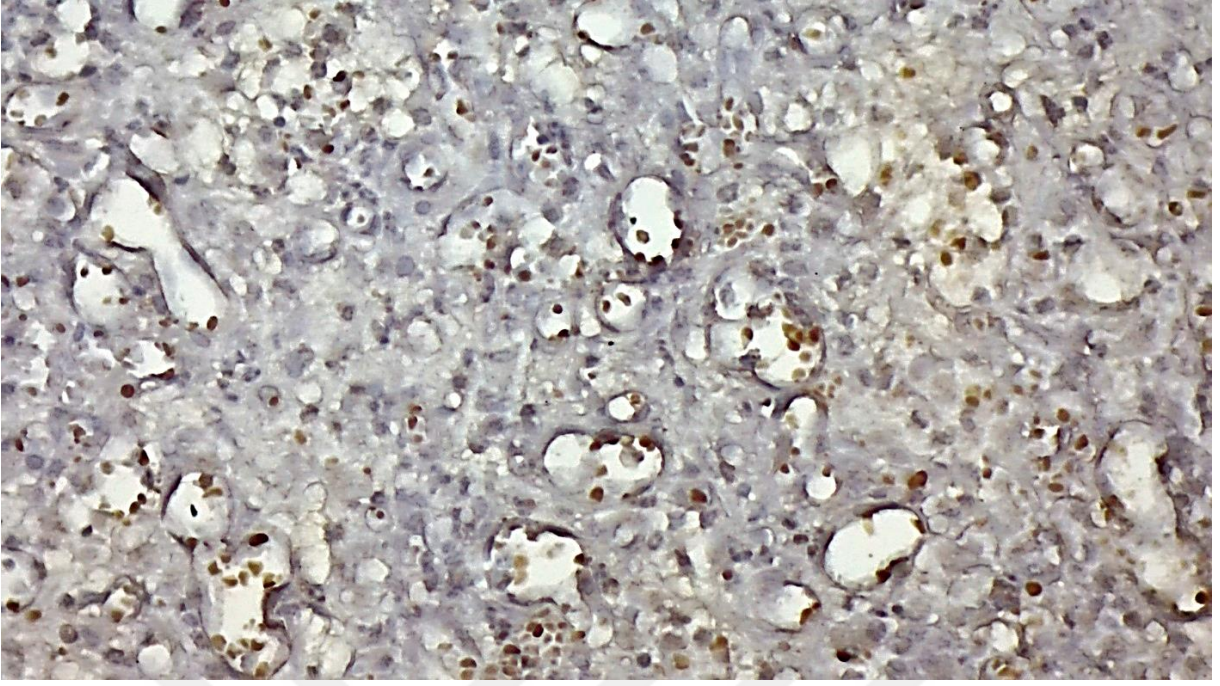
Şekil 43. Kontrol grubu 14. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



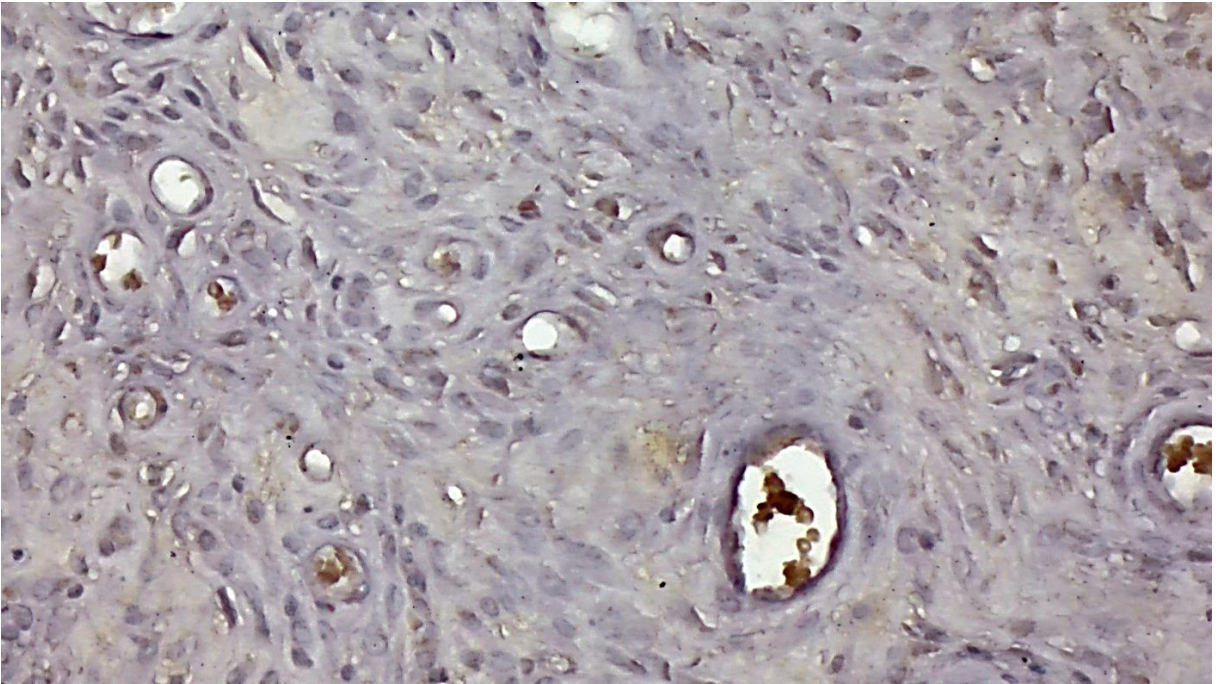
Şekil 44. Kontrol grubu 21. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



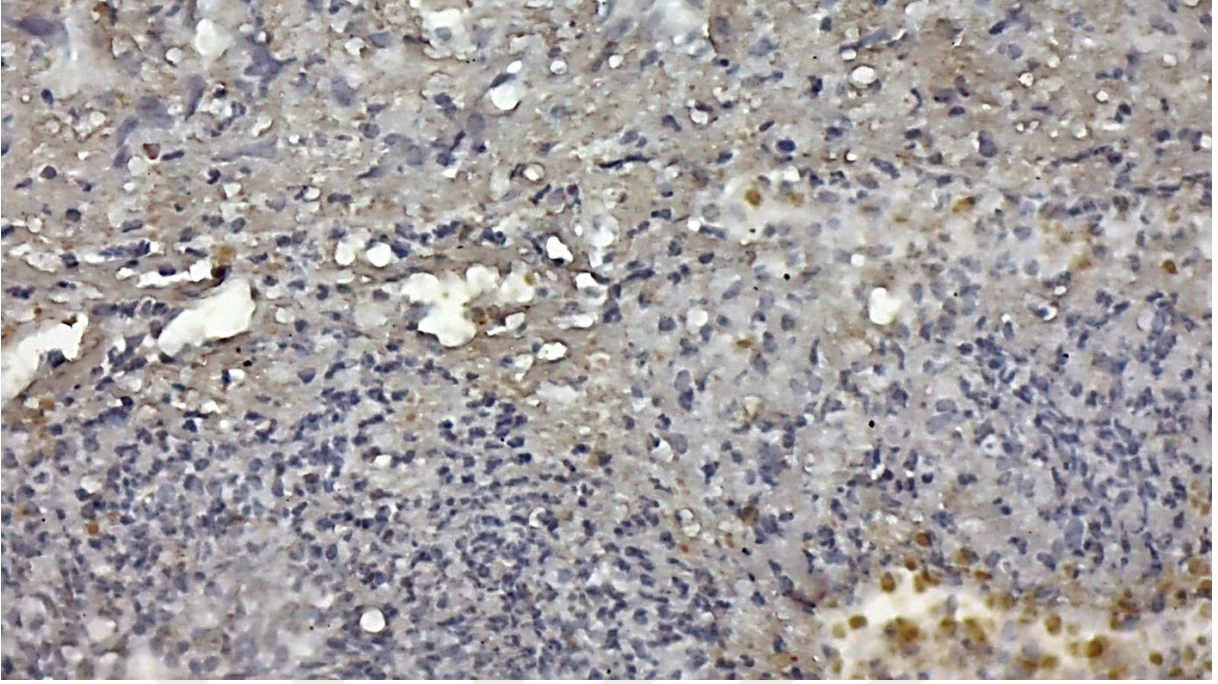
Şekil 45. DM grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



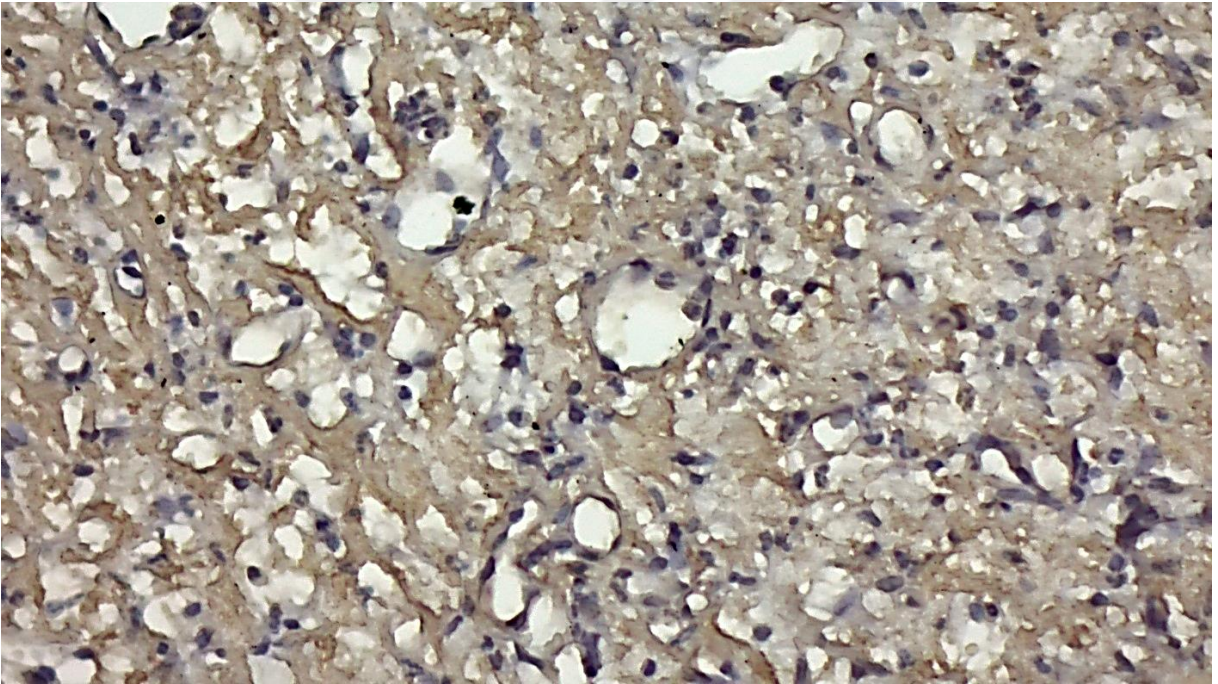
Şekil 46. DM grubu 14. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



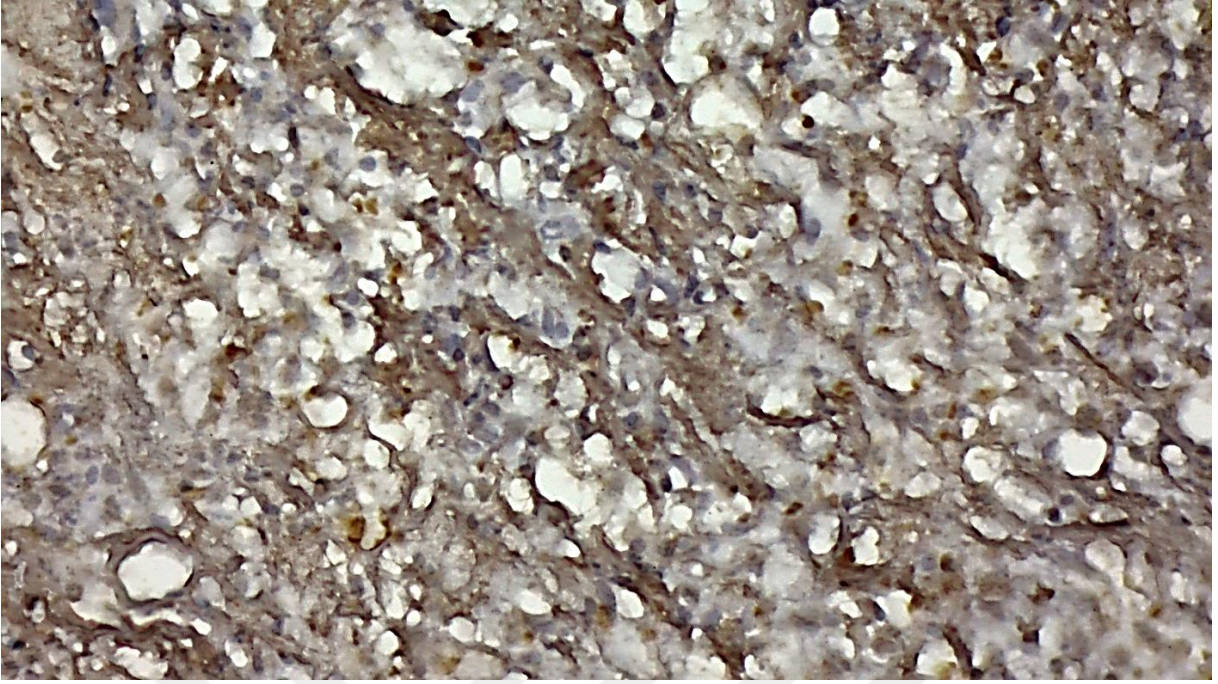
Şekil 47. DM grubu 21. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



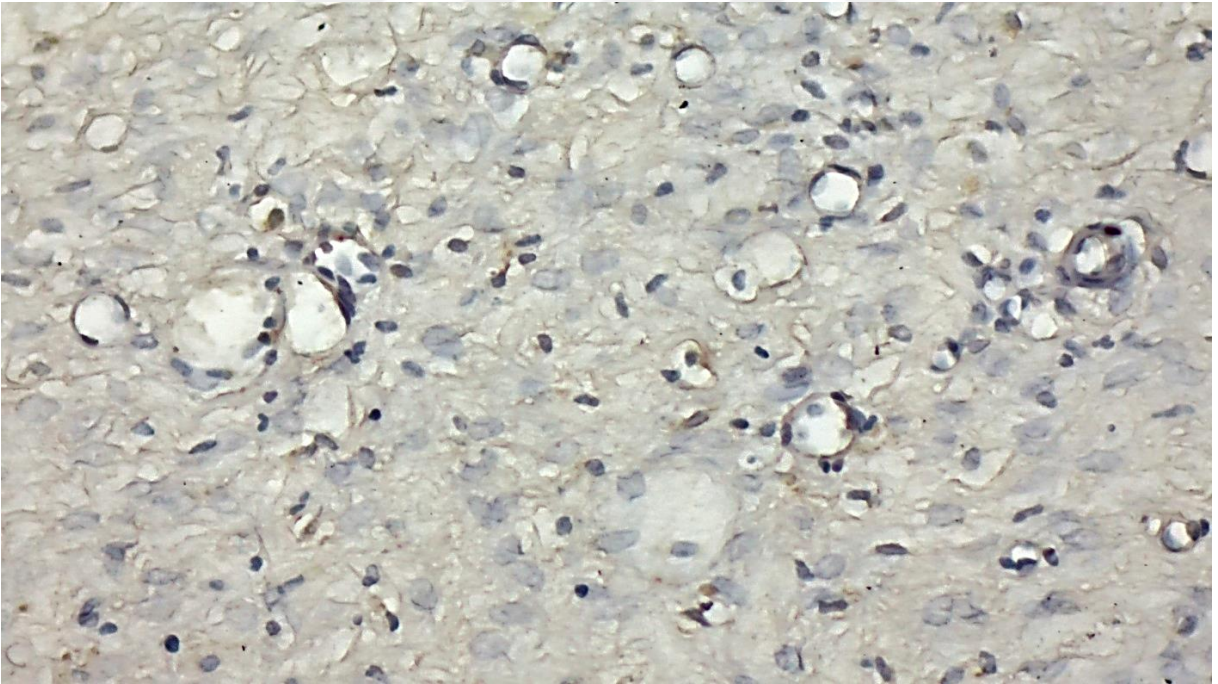
Şekil 48. DM+Dex grubu 7. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



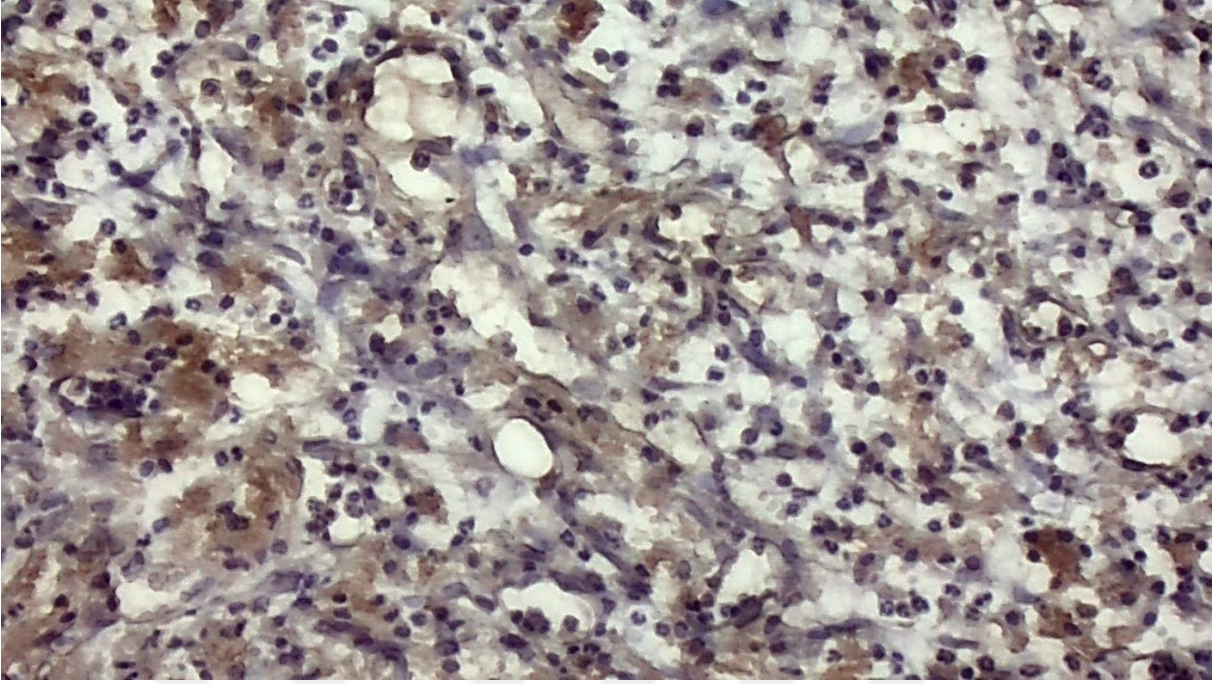
Şekil 49. DM+Dex grubu14. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van GiesonX20).



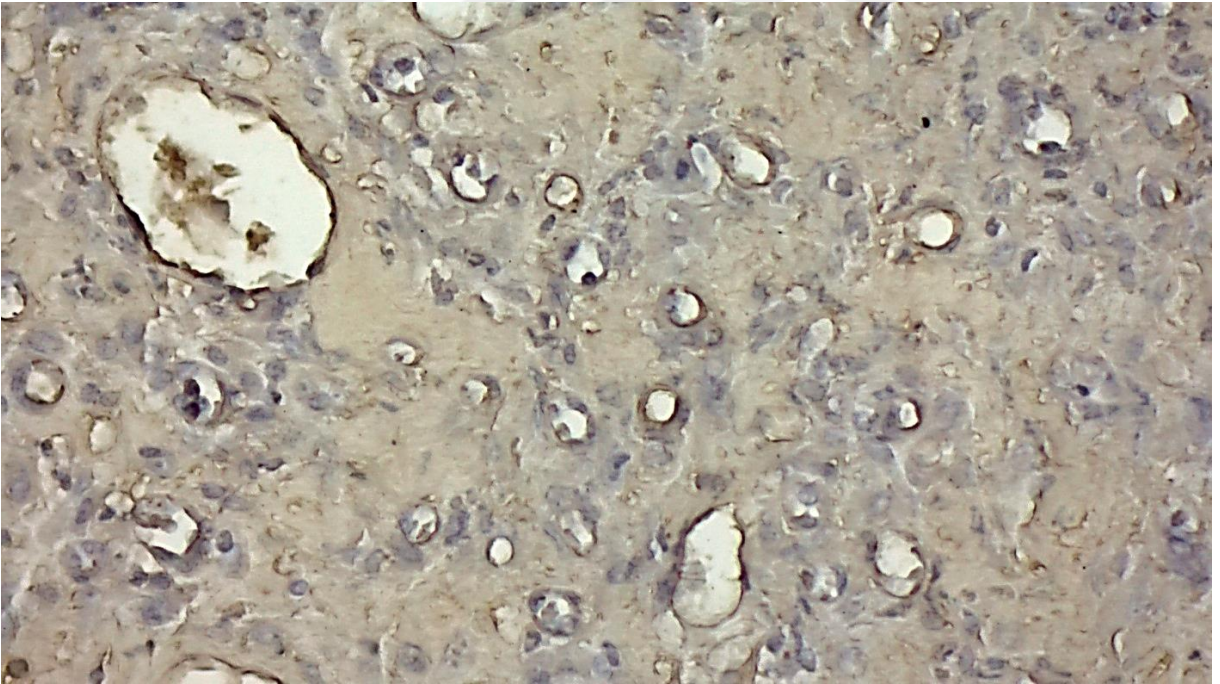
Şekil 50. DM+Dex grubu 21. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



Şekil 51. DM+Mumijo grubu 7. gününe ait mikrograf (**Boyama:** Weigert Van GiesonX20).



Şekil 52. DM+Mumijo grubu 14. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van Gieson X20).



Şekil 53. DM+Mumijo grubu 21. gününe ait mikrogram (Boyama: Weigert Van Gieson X20).

5. TARTIŞMA

Diabetes mellitus, anormal kan şekeri birikimi nedeniyle nöropati ve arteriyel hasara neden olan ve bunlara sekonder olarak kronik yaralara, çeşitli doku ve organları hasarlarına neden olan metabolik bir hastalıktır. Milyonlarca insan bu hastalıktan muzdariptir ve ciddi bir tıbbi maliyet oluşumuna neden olmaktadır (79).

WHO'nun 2011 tarihli küresel sağlık raporunda bildirildiğine göre, küresel diyabet hasta sayısı yaklaşık 346 milyon olarak bildirilmiştir. Aynı raporda, bu sayının 2030 yılına kadar 439 milyona ulaşabileceği öngörülmektedir (80).

Genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim, değişken derecelerde insülin direnci ve β hücresi işlev bozukluğu sonucu ilerleyici bir bozukluğa neden olur ve bu duruma sekonder olarak nötrofil infiltrasyonuna bağlı yoğun inflamasyon, diyabetik yara iyileşmesinin gecikmesine katkıda bulunabilir (81). Hiperglisemik ortam, IGF ve VEGF gibi hücrel proliferasyon ve anjiyogenezi destekleyen farklı büyüme faktörlerinin biyolojik etkinliğini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu durum, re-epitelizasyon sürecinin zayıflamasına ve anjiyogenez mekanizmasının bozulmasına yol açmaktadır. (82).

Oluşan hiperglisemi, durumun iyileşme ve kronikleşmesini doğrudan etkilemektedir. Diyabetik durum, keratinosit ve fibroblast aktivitesini etkileyerek hücre çoğalmasını ve göçünü azaltır, bu da antimikrobiyal savunmayı zayıflatır ve oksidatif stresi artırır. Oksidatif stresin artışı, Nitrik Oksit Sintaz (NOS) aracılığıyla gerçekleşir ve iyileşme sürecini engelleyen kritik bir faktördür. Diyabetik deri dokusunda, normal koşullara kıyasla daha fazla inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödem ve granülasyon dokusu oluşumu gözlemlenmektedir. Bu patolojik değişiklikler, diyabetik bireylerde yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyerek iyileşmenin gecikmesine neden olmaktadır (83).

Dolaşımın bozulmuş olması ve inflamasyonun artışı kronik diyabetik yara oluşumuna neden olur. Antibiyotikler diyabetik yaraları tedavi etmek için kullanılabilse de ilaç direnci yaygın ve ciddi bir sorundur. Bu nedenle, bu semptomların üstesinden gelmek ve diyabetik yara iyileşme sürecini kısaltmak için hayvan modelleri ve çeşitli klinik çalışmalar yapılması önem arz etmektedir (84).

Literatürde yara iyileşmesi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Biz de bu çalışmamızda toplum sağlığını tehdit eden kronik ve yaygın bir sağlık sorunu olarak öne çıkan diyabetin yara iyileşmesi üzerinde bilinen olumsuz etkilerini de göz önünde bulundurup (85), tedavisi oldukça zor ve maliyetli olan diyabetik yaralarda umut verici yeni tedavi yöntemleri bulmayı amaçladık.

Bazı deneysel yara modellerinde pankreatektomi (total veya parsiyel) oluşturularak ratlarda diyabet indüklenmektedir ancak bu yöntem sonucu oluşan cerrahi stres ve postoperatif takip sorunları nedeniyle günümüzde pek tercih edilmemektedir. Ayrıca yüksek doz hiperglisemik solüsyonların da iv veya oral olarak verilmesi de hiperosmolar non-ketotik koma tablosu oluşturabildiğinden tercih edilmemektedir (86).

Streptozosin (STZ) selektif olarak pankreas beta hücrelerini etkiler. Langerhans adacıkları β hücrelerinde hücrelerde bulunan GLUT-2 adı verilen glukoz taşıyıcı membran proteini aracılığıyla hücre içerisine alınır ve hücrenin DNA zinciri üzerinde reaktif oksijen radikalleri aracılığıyla hasar oluşturarak beta hücre harabiyetine yol açar (87,88). Biz de çalışmamızda ratlarda Streptozosin ile diyabet oluşturmayı tercih ettik.

Topikal dekspantenol günümüzde etkinliği kanıtlanmış ve piyasada birçok farklı formda bulunmaktadır (89). Günümüzde dekspantenol, pediatrik kullanımdan erişkin tedavilerine kadar geniş bir yelpazede, bireysel ihtiyaçlara uygun çeşitli topikal formlarda (merhem formülasyonu, yumuşatıcı preparat, sıvı çözelti, topikal damla, jel kıvamı, dermatolojik krem, losyon türü, püskürtülebilir sprey, doğal esansiyel yağ) formüle edilmiştir. Kimyasal olarak Dekspantenol, B kompleks vitaminleri arasında yer alan pantotenik asidin biyolojik olarak aktif ve alkol türevi (analog) olup, provitamin B5 olarak da bilinmektedir. Pantotenik asit epitelin normal fonksiyonlarını yerine getirmesi için gereklidir. Dekspantenol, cilde topikal olarak uygulandığında iyi emilir ve hızla koenzim A'nın bir yapıtaşı olan pantotenik aside dönüşür (66). Koenzim A, stratum korneum lipid katmanları açısından kritik rol oynayan yağ asitlerinin ve sfingolipitlerin sentezini katalize eder (90,91). Bu nedenle, pantotenik asit epitelinin fizyolojik işlevlerini sürdürebilmeleri için gereklidir (92,93).

Yıllardır, çeşitli bitki özütlerinin yara iyileşme mekanizmalarını optimize etmek ve doku onarımını güçlendirmek amacıyla çalışmalar yapılmaktadır (94). Gelişmiş ülkelerde mumijo'nun farklı hastalıkların tedavisindeki önemi hakkında sağlık profesyonelleri ve farmakolojik kurumlar tarafından çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Mumijo, esas olarak Himalayalar'ın yüksek sıradağlarında ve bazı diğer bölgelerde bulunan doğal bir üründür. Asya kökenli geleneksel tıp sistemlerinde Mumijo, enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve destekleyici tedavi süreçleri içerisinde çoğunlukla tercih edilmektedir. Birçok çalışmada, bağışıklık sistemini destekleyici ve anti-alerjik potansiyeli olabileceği öne sürülmektedir (95). Mumijo'nun antioksidan özellikleri serbest radikal türlerini etkisiz hale getirerek hücresel düzeyde oluşabilecek hasarı azaltırken, anti-inflamatuvar etkileri ise yara bölgesindeki sitokin üretimini düzenleyerek iyileşme sürecini hızlandırabilir (96). Ayrıca, fibroblast

proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırarak granülasyon dokusunun gelişimini destekler ve bu da yara kapanma süresini kısaltabilir (97). Yapılan prelinik çalışmalar, mumijonun vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) seviyelerini artırarak anjiyogenezi teşvik ettiğini ve diyabetik yaraların oksijen ve besin desteğini iyileştirdiğini göstermektedir (98). Bununla birlikte, Mumijo'nun antibakteriyel özelliklere sahip olduğu ve bu etkinin, diyabetik yaralarda sıkça izlenen patojenlerden Staf. aureus ve E. coli gibi bakterilere karşı koruyucu bir rol oynayarak enfeksiyon riskini azaltabileceği bildirilmektedir (99).

Genel olarak Mumijo, antioksidan, anti-inflamatuvar, anjiyogenik ve antibakteriyel özellikleri sayesinde diyabetik yara iyileşmesini destekleyici potansiyele sahip doğal bir ajan olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, bu etkilerin klinik olarak doğrulanabilmesi için daha fazla sayıda, geniş örneklemli ve optimal randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda Mumijo özütlerinin yara iyileşmesi üzerindeki olası etkilerini araştırmak amacıyla bu bileşiğin kullanılmasına karar verilmiştir.

Deneyisel hayvan çalışmalarında yara iyileşmesini nicel olarak değerlendirmek için Walker formülü, literatürde sıklıkla başvurulanan standart bir hesaplama yöntemidir ve yaranın kapanma sürecini objektif şekilde takip etmeye olanak tanır (100). Yaranın geometrik yapısını dikkate alarak yapılan bu hesaplama, iyileşme sürecindeki küçülme oranlarını nicel olarak belirlemeye yardımcı olur (101). Deneyisel modellerde standart bir yara oluşturulduktan sonra, belirli zaman aralıklarında yapılan ölçümler, yaranın kapanma hızını ve uygulanan tedavi protokollerinin etkinliğini karşılaştırmak için kullanılır (102). Biz de çalışmamızda oluşturduğumuz deneyisel yara modellerinin farklı günlerdeki yüzey alanlarını walker formülüne göre hesapladığımız istatistiksel analizde DM'nin yara yüzey ortalamasının diğer gruplardan yüksek olduğunu ancak DM ile hem Dekspantenol uygulaması hem de Mumijo uygulaması ile birlikte ortalamalar düştüğünü gözlemledik. DM+Dekspantenol grubu ile DM+Mumijo grubu arasında değerlendirilen parametre açısından anlamlı düzeyde bir farklılık saptanmamıştır.

Diyabetik yara iyileşmesi, oksidatif stresin artışı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği nedeniyle gecikmektedir, bu nedenle total antioksidan statüsü (TAS) yara iyileşme sürecinin objektif olarak değerlendirilmesinde önemli bir biyokimyasal parametre olarak öne çıkmaktadır (103). Diyabetik hastalarda serbest radikallerin artışı, hücresel hasarı ve inflamasyonu tetikleyerek doku rejenerasyonunu olumsuz etkilemekte, bu süreçte antioksidan sistemlerin yetersizliği yara kapanmasını geciktirmektedir (104). TAS, plazma veya doku örneklerinde toplam antioksidan kapasitenin değerlendirilmesini sağlayarak, yara iyileşmesi sırasında oksidatif stres seviyelerinin belirlenmesine yardımcı olur ve bu sayede sistemik

antioksidan terapilerin etkinliği hakkında bilgi verir (105). Yapılan araştırmalar, düşük TAS seviyelerinin kronik diyabetik yaralarla ilişkili olduğunu ve antioksidan takviyelerle TAS seviyelerinin artırılmasının epitelizasyon sürecini hızlandırabileceğini göstermektedir (106). Ayrıca, total antioksidan kapasite (TAS) düzeylerinin yara iyileşme sürecinin hem erken hem de geç evrelerinde izlenmesi; dokuya ait oksidatif denge durumunun değerlendirilmesi ve uygulanan tedavi stratejilerinin etkinliğinin karşılaştırılması açısından güvenilir bir biyokimyasal belirteç olarak kabul edilmektedir (107). Bu nedenle, diyabetik yara iyileşmesi araştırmalarında TAS ölçümü, oksidatif stresin izlenmesi ve terapötik müdahalelerin değerlendirilmesi açısından kritik bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (108). Çalışmamız oluşturduğumuz deneysel yara modellerinde biyokimyasal bir takip belirteci olarak biz de bu nedenlerle TAS kullanmayı tercih ettik. TAS değerlerine baktığımızda en yüksek ortalamanın DM+Mumijo grubunda olduğu izlendi. Gruplar arası karşılaştırmada ise DM grubu ile Kontrol grubu arasına anlamlı fark olduğu ($p=0.04$), ancak DM+Dex grubu ile DM+Mumijo grubu karşılaştırılmasında anlam kabul edilebilecek seviyede fark mevcut olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). DM sonrası hem Mumijo hem de Dekspantenol uygulanması serum TAS değerlerini yükselttiği izlendi.

Yara iyileşme sürecinin histolojik düzeyde değerlendirilmesinde, Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama yöntemi; hücresel yapıların ve doku mimarisindeki değişimlerin incelenmesi açısından en çok tercih edilen tekniklerden biridir. Bu yöntem, özellikle fibroblast aktivitesinin gözlemlenmesi ve değerlendirilmesi açısından kritik bir rol oynamaktadır (109). Fibroblastlar, yara iyileşmesinin proliferatif fazında kollajen sentezi, ekstraselüler matriks üretimi ve doku yenilenmesi süreçlerinde rol oynayan temel hücrelerdir (110). H&E boyama ile fibroblastların morfolojik özellikleri, proliferasyon düzeyleri ve doku içindeki dağılımı değerlendirilebilir; eozinofil boyanma özelliği sayesinde fibroblastların sentezlediği kollajen liflerin miktarı ve organizasyonu da belirlenebilir. Ayrıca, fibroblast aktivitesindeki artış, granülasyon dokusunun oluşumuyla doğrudan ilişkilidir ve bu nedenle yara iyileşme sürecinin ilerleyişini değerlendirirken doku iyileşmesini izlemekte kullanılan güvenilir histopatolojik göstergelerden biri olarak öne çıkmaktadır (111). Yapılan histolojik analizlerde, diyabetik veya kronik yara modellerinde fibroblast aktivitesinin azaldığı ve kollajen sentezinin yetersiz olduğu gösterilmiş, bu durumun iyileşme sürecinin gecikmesiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (112). Bu nedenle, H&E boyama ile fibroblast aktivitesinin ve kollajen üretiminin incelenmesi, yara iyileşmesinin histolojik evrelerini belirlemek ve terapötik müdahalelerin etkinliğini değerlendirmek açısından temel bir yöntemdir (113). Çalışmamız kapsamında 7., 14. ve 21. günlerde alınan biyopsi

materyalleri, fibroblast aktivitesini değerlendirmek amacıyla ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Yapılan istatistiksel testler neticesinde, 7. ve 14. günlerde gruplar arası karşılaştırmada fibroblast aktivasyonu açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak 21. gün bulgularında, DM grubunun ortalama fibroblast aktivasyon düzeyinin en düşük olduğu gözlemlenirken, DM+Dex ve DM+Mumijo gruplarında bu değer istatistiksel anlamda daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p = 0.015$ ve $p = 0.010$).

Hematoksilin-eozin (H&E) boyama, kollajen düzenliliğinin (regularitesinin) belirlenmesi açısından önemli bir yöntemdir ve yara iyileşmesinin ilerleyişini objektif olarak değerlendirmeye olanak tanır (114). Kollajen, yara iyileşme sürecinde fibroblastlar tarafından sentezlenen temel yapısal proteindir ve doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasında kritik bir rol oynar (115). H&E boyama ile kollajen liflerinin organizasyonu, homojen dağılımı ve yoğunluğu değerlendirilebilir; bu da iyileşmenin proliferatif ve remodelasyon fazlarında doku matürasyonunu gösteren önemli bir histolojik belirteçtir (116). Yara iyileşmesi sırasında sağlıklı bir dermal matriks oluşumu için kollajen liflerinin düzgün şekilde hizalanması gerekirken, kronik yaralar ve diyabetik ülserlerde düzensiz, yoğun olmayan ve fragmente kollajen liflerinin varlığı iyileşmenin geciktiğini gösterebilir (117). Histolojik analizlerde, normal yara iyileşme sürecinde kollajen liflerinin paralel ve düzenli bir yapı oluşturduğu, ancak patolojik süreçlerde düzensiz bir organizasyon sergilediği gösterilmiştir (118). Bu nedenle, H&E boyama ile kollajen regularitesinin değerlendirilmesi, yara iyileşmesinin başarısını belirlemede ve terapötik yaklaşımların etkinliğini karşılaştırmada bilimsel geçerliliği kabul görmüş bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (119). Çalışmamızda bu bilgiler ışığında istatistiksel incelemeler kapsamında, deneyin 7., 14. ve 21. günlerinde elde edilen bulgular üzerinden yapılan karşılaştırmada grupların kollajen regülaritesi ve yoğunlukları arasında anlamlı fark olduğu saptandı. DM+Mumijo grubunun ortalamasının üç farklı zamanda alınan örneklerde yüksek çıktığı gözlemlendi. Yine bulgularımıza paralel şekilde DM grubu ortalaması 3 farklı zamanda da en düşük olarak saptandı. 7. gün verilerine ilişkin istatistiksel analizlerde, DM grubu ile DM+Dex ($p = 0.030$) ve DM+Mumijo ($p = 0.006$) grupları arasında kollajen yoğunluğu bakımından anlamlı fark saptanmıştır; her iki tedavi grubunda kollajen birikimi, DM grubuna kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. 14. günde ise kontrol grubu ile DM+Mumijo grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmiş ($p = 0.023$), buna karşın DM grubu ile DM+Mumijo grubu arasında anlamlı düzeyde farklılık tespit edilmemiştir. Aynı zaman noktasında, DM grubu ile DM+Dex ($p = 0.032$) ve DM+Mumijo ($p = 0.002$) grupları arasında istatistiksel olarak

anlamli farklar belirlenmiştir. 21. gün değerlendirmelerinde ise DM grubunun ortalama kollajen yoğunluğunun diğer tedavi gruplarına göre anlamli seviyede daha az olduğu saptanmıştır.

Ayrıca, konjesyon yoğunluğu açısından yapılan semikantitatif skorumaya sonuçlarına göre, 7., 14. ve 21. günlerde elde edilen biyopsi materyallerinde DM grubunun ortalama değerlerinin her üç zaman noktasında da diğer gruplarla karşılaştırıldığında daha yüksek seviyede olduğu gözlemlenmiştir.

DM+Dekspantenol ile DM+Mumijo grupları arasında gerçekleştirilen analizlerde, anlamli düzeyde bir istatistiksel fark bulunmamıştır.

Neovaskülerizasyon, doku onarım sürecinde en temel biyolojik göstergelerden biri olarak kabul edilmekte olup, yara bölgesine oksijen ve besin taşınmasını sağlayarak hücresel proliferasyon ve ekstraselüler matriks sentezini desteklemektedir (120). Yeni damar oluşumu, başta vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) olmak üzere çeşitli anjiyogenik mediyatörlerin salınımı ile uyarılan endotelyal hücre proliferasyonu ve migrasyonu sonucu meydana gelmektedir. Bu fizyolojik süreç, Hematoksilen-Eozin (H&E) ve immünohistokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak histolojik düzeyde değerlendirilebilmektedir (121). Histolojik incelemelerde neovaskülerizasyonun düzeyi, granülasyon dokusunun gelişimiyle doğrudan ilişkili olup, iyileşmenin erken evrelerinde yoğun anjiyogeneze gözlemlenirken, kronik ve diyabetik yaralarda bu süreç belirgin şekilde yavaşlamaktadır (122). Yapılan alışmalar, yetersiz neovaskülerizasyonun hipoksik bir yara mikroçevresi oluşturarak fibroblast ve keratinosit aktivitesini engellediğini ve kollajen sentezini azalttığını göstermektedir (123). Ayrıca, deneysel yara modellerinde neovaskülerizasyonu artıran farmakolojik veya biyomateriyal bazlı müdahalelerin, epitelizasyon sürecini hızlandırdığı ve doku rejenerasyonunu güçlendirdiği rapor edilmiştir (124). Bu nedenle, histolojik analizlerde neovaskülerizasyonun değerlendirilmesi, yara iyileşmesinin yeterliliğini belirlemede ve tedavi protokollerinin etkinliğini karşılaştırmada temel bir ölçüt olarak kabul edilmektedir (125). Çalışmamızda farklı günlerde aldığımız punch biyopsi örneklerini histolojik olarak incelediğimizde neovaskülerizasyon oluşumunun 7.günde en yaygın kontrol grubu ile DM+Mumijo grubunda ortaya çıktığı gözlemlendi. 14.günde ise DM grubunda yara iyileşme süreci ve yeniden damarlanma bulguları oldukça düşüktü. Diğer deney grupları arasında, 7. ve 14. günlerde elde edilen neovaskülerizasyon skorları benzer düzeyde saptanmıştır. Bununla birlikte, 14. gün verilerine göre DM grubunda elde edilen neovaskülerizasyon skorları, tedavi uygulanan diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli düzeyde daha düşük bulunmuştur. 21. gün değerlendirmelerinde ise DM+Mumijo ve DM+Dex gruplarının ortalama skorları birbirine

yakın olup söz konusu iki grup arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Vasküler endotelyal büyüme faktörüne ait protein ekspresyonunun histolojik olarak değerlendirilmesi, doku rejenerasyonunu yansıtan temel biyolojik belirteçlerden biri olarak kabul edilmekte olup, neovaskülarizasyon sürecinin izlenmesinde kritik bir rol üstlenmektedir. (126).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), yara iyileşmesinin inflamatuvar ve proliferatif fazlarında anjiyogenezi destekleyerek endotelyal hücrelerin çoğalmasını, göçünü ve yeni kapiller yapıların oluşumunu uyarır; bu sayede dokuya oksijen ve besin maddelerinin etkin taşınımını mümkün kılar (127). Histolojik analizlerde, immünohistokimyasal (IHC) boyama ve real-time PCR gibi moleküler yöntemlerle VEGF ekspresyonu ölçülerek, iyileşme sürecinin etkinliği ve anjiyogenez düzeyi belirlenebilir (128).

Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda, akut yara iyileşmesinde VEGF ekspresyonunun erken dönemde belirgin şekilde arttığı, ancak kronik ve diyabetik yaralarda bu ekspresyonun azaldığı ve buna bağlı olarak vaskülarizasyonun yetersiz kaldığı gösterilmiştir (129). Düşük VEGF seviyeleri, hipoksik bir mikro çevrenin oluşmasına neden olarak fibroblast aktivitesini ve kollajen sentezini inhibe edebilirken, yüksek VEGF seviyeleri ise optimal granülasyon dokusu gelişimini destekleyerek doku onarımını hızlandırmaktadır. Bu nedenle, histolojik olarak VEGF ekspresyonunun incelenmesi, yara iyileşme sürecinin değerlendirilmesinde ve biyolojik ajanların, farmakolojik tedavilerin veya rejeneratif tıp yaklaşımlarının etkinliğinin belirlenmesinde biyoanalitik bir işaretçi olarak yaygın şekilde kabul görmektedir (130).

Çalışmamızda yaptığımız istatistiksel değerlendirmede; VEGF ekspresyonları semikantitatif olacak şekilde skorlandı. Skorlama sonucunda ise 7.günde en düşük pozitif ekspresyon yoğunluğu DM grubunda ortaya çıkarken (0.14 ± 0.37), en yaygın ekspresyonlar DM+Dex grubunda izlendi (1.00 ± 0.00). 7.günde izlenen VEGF pozitif ekspresyon yoğunluğu DM grubunun değeri, diğer gruplara kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. 14.güne baktığımızda sadece DM grubu ile DM+Dex ve DM+Mumijo grupları arasında fark olduğu, endoteller çevresinde DM'ye bağlı daha az sayıda VEGF pozitif ekspresyonların olduğu gözlemlendi. Son olarak 21.güne gelindiğinde 14.günle benzer sonuçların ortaya çıktığı saptandı.

6. SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda, özellikle 21. günde yapılan karşılaştırmalar, diabetes mellitus (DM) durumunun yara iyileşmesinin hızını ve etkinliğini olumsuz yönde etkilediği ortaya koymuştur. Bu bulgu, DM'ye bağlı metabolik bozukluklarının yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini vurgulamaktadır. Bununla birlikte, dekspantenol krem ile Mumijo'nun sulu özütlerinin iyileşme sürecini hızlandırdığına dair güçlü kanıtlar elde edilmiştir. Dekspantenol kreminin yara iyileşme sürecini hızlandırıcı etkisi, önceki literatür çalışmalarında da doğrulanmış olup, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Mumijo sulu özlerinin etkisi ise dikkat çekicidir; bu özlerin, Dekspantenol kadar etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, Mumijo'nun yara iyileşme süreçlerinde potansiyel bir alternatif tedavi yöntemi olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, yara iyileşme sürecinin değerlendirilmesinde önemli rol oynayan faktörler arasında kollajen liflerdeki yoğunluk, fibroblast aktivasyonu, neovaskülarizasyon ve VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) sitokinlerinin pozitif ekspresyonları yer almaktadır. Bu biyomarkerlerin artışı hem Dekspantenol hem de Mumijo sulu özlerinin yara iyileşme sürecine olan olumlu katkılarını desteklemektedir.

Ancak, Mumijo'nun yara iyileşme sürecini hangi mekanizmalar aracılığıyla sağladığı konusunda net bir değerlendirme yapılamamıştır. Bu sonuç, Mumijo'nun etki yollarının daha derinlemesine ve çok yönlü araştırmalarla incelenmesinin bilimsel açıdan önemli olduğunu ortaya koymaktadır. İlgili çalışmaların bu yönde genişletilmesi, Mumijo'nun yara iyileşmesi etki mekanizmalarını daha kapsamlı bilimsel yaklaşımlarla anlamamıza ve potansiyel klinik uygulama alanlarını belirlememize olanak sağlayacaktır. Dolayısıyla, gelecekteki araştırmaların, Mumijo'nun biyolojik aktivitelerini ve fonksiyonel mekanizmalarını daha detaylı bir biçimde incelemesi önerilmektedir.

KAYNAKÇA

1. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219–29. doi:10.1177/0022034509359125.
2. Karakayalı EM, Önal T, Öztatlıcı M, Duruşma R, Çavuşoğlu T, Kocamaz E, Tuğlu Mİ. Diyabetik sıçan deri yara iyileşmesinde probiyotik etkisi. *CBU Sag Bil Derg*. 2022;9(1):151–8. doi:10.34087/cbusbed.1078611.
3. Biro K, Thaçi D, Ochsendorf FR, Kaufmann R, Boehncke WH. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. *Contact Dermatitis*. 2003;49(2):80–4. doi:10.1111/j.0105-1873.2003.00184.x.
4. Keçeci M. Geçmişten günümüze Şilajit'in terapötik kullanımı: derleme. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2020;7(4):271–85
5. Ghosal S, Singh SK, Kumar Y, Srivastava R, Goel RK, Dey R, et al. Şilajitten izole edilen fulvik asitlerin ve 4'-metoksi-6-karbometoksibifenilin anti-ülserojenik aktivitesi. *Phytother Res*. 1988;2(4):187–91.
6. Güven E, Erişgin Z, Tekelioğlu Y. Sıçanlarda metotreksat kaynaklı testis hasarı üzerine Şilajit'in histopatolojik etkisi. *Kocatepe Med J*. 2017;18(1):1–6. doi:10.18229/kocatepetip.320450.
7. Goel RK, Bhattacharya SK. Gastroduodenal mukozal savunma ve mukozal koruyucu ajanlar. *Indian J Exp Biol*. 1991;29(8):701–14.
8. Schepetkin, I., Khlebnikov, A., & Kwon, B. S. (2002). Medical drugs from humus matter: Focus on mumie. *Drug development research*, 57(3), 140-159.
9. Shakirov DS. Treatment of infected wounds with Mumie Asil in experiment. *Exp Surg Anesthes*. 1969;6:36–9.
10. Fosse N, Itin P. Yenidoğanın pigment çizgileri: bir vaka raporu ve literatür taraması. *Dermatology*. 2014;228(3):198–201. doi:10.1159/000357808.
11. Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2009). Renkli histoloji atlası. Güneş Tıp.
12. Ross, Mh., Pawlina, W. (2011). Histology A Text and Atlas With correlated cell andmolecular biology (6th Edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
13. Gökmen, F. (2003). Sistemantik Anatomi. İzmir: Güven Kitabevi.
14. Yıldırım, M. (1996). İnsan Anatomisi. İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım.
15. Kumar, V. (2000). Temel Patoloji (Çev. S. Tuzlalı, M. Güllüoğlu ve U Çevikbaş). İstanbul: Nobel-Yüce, 2010.
16. Köklü, D. (2003). Yara iyileşmesi ve iyileşmeyi engelleyen faktörler., Kurt, N. (Editör). Akut ve Kronik Yara Bakımı, 1. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, s. 9–33.
17. Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. Vol. 23, *Diabetic Medicine*. 2006. 594–608.

18. Baum, C.L. and Arpey, C.J. (2005), Normal Cutaneous Wound Healing: Clinical Correlation with Cellular and Molecular Events. *Dermatologic Surgery*, 31: 674-686.
19. Israelsson, L. A., & Jonsson, T. (1994). Closure of midline laparotomy incisions with polydioxanone and nylon: the importance of suture technique. *Journal of British Surgery*, 81(11), 1606-1608.
20. Hunt TK, Goodson WH. Wound healing. in: *Current Surgical Diagnosis and Treatment*. 9th ed, Ed: Lawrence. W.Way Appleton and Lande. 1991; 95.
21. Witt MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin. North America*. 1997; 77: 509-28.
22. Thomson FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg. Clin. North.Amer.*1997; 77: 549-73.
23. Engin A. Yara iyileşmesi. *Temel Cerrahi Cilt 1*, Ed: Sayek İ. Güneş Kitabevi, Ankara, 1996; 266-77.
24. Erbil Y. Yara iyileşmesi. *Genel Cerrahi Cilt 1*, Ed: Kalaycı G. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2002; 51-60.
25. Arslan MK. Yara iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, Ed: Kurt N. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2003; 9-33.
26. Yamaguchi, Y. ve Yoshikawa, K. (2001). Cilt yara iyileşmesi: bir güncelleme. *Dermatoloji Dergisi*, 28 (10), 521-534.
27. Beck, E., Duckert, F., & Ernst, M. (1961). The influence of fibrin stabilizing factor on the growth of fibroblasts in vitro and wound healing. *Thrombosis and Haemostasis*, 6(06), 485-491.
28. Lawrence, W. T. (1998). Physiology of the acute wound. *Clinics in plastic surgery*, 25(3), 321-340.
29. Thorne, C. H. (2013). *Grabb and Smith's plastic surgery*. Lippincott Williams & Wilkins.
30. Monaco, J. L., & Lawrence, W. T. (2003). Acute wound healing: an overview. *Clinics in plastic surgery*, 30(1), 1-12.
31. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am*. 1997;77(3):549-73.
32. Karen L. Powers, Pressure Sores, in *Grabb and Smith's Plastic Surgery*, C.H. Thorne, Editor. 2014, Lippincott William's & Wilkins.
33. Canda M. and Canda, T. (1982). *Temel Patoloji*, Ege Üniversitesi Basımevi, 32.
34. Flynn MD, Tooke JE. Aetiology of diabetic foot ulceration: a role for the microcirculation? *Diabet Med*. 1992;9(4):320-9.
35. Grada A, Phillips TJ. Nutrition and cutaneous wound healing. *Clin Dermatol*. 2022;40(2):103–13. doi:10.1016/j.clindermatol.2021.10.002.

36. Zinder R, Cooley R, Vlad LG, Molnar JA. Vitamin A and wound healing. *Nutr Clin Pract*. 2019;34(6):839–49. doi:10.1002/ncp.10420.
37. Alvarez OM, Gilbreath RL. Thiamine influence on collagen during the granulation of skin wounds. *J Surg Res*. 1982;32(1):24-31.
38. Bartlett MK, Jones CM, Ryan AE. Vitamin C and wound healing: I. Experimental wounds in guinea pigs. *N Engl J Med*. 1942;226(13):469-73.
39. Hobson R. Vitamin E and wound healing: an evidence-based review. *Int Wound J*. 2016;13(3):331–5. doi:10.1111/iwj.12295.
40. Kornblatt AP, Nicoletti VG, Travaglia A. The neglected role of copper ions in wound healing. *J Inorg Biochem*. 2016;161:1–8. doi:10.1016/j.jinorgbio.2016.02.012.
41. Bang, R. L., Bader, A. L., Sharma, P. N., Mattapallil, A. B., Behbehani, A. and Dashti, H. (2002). Trace elements content in serum, normal skin and scar tissues of keloid and normal scar patients. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 15.
42. Mosely L.H., Finseth F. Cigarette smoking: impairment of digital blood flow and wound healing in the hand. *Hand*, 9 (1977), pp. 97-101.
43. Wong L.S., Green H.M., Feugate J.E., et al. Effects of “second-hand” smoke on structure and function of fibroblasts, cells that are critical for tissue repair and remodeling. *BMC Cell Biol*, 5 (2004), p. 13.
44. Carnevali S., Nakamura Y., Mio T., et al. Cigarette smoke extract inhibits fibroblast-mediated collagen gel contraction. *Am J Physiol*, 274 (1998), pp. 591-598.
45. Payne WG, Naidu DK, Wheeler CK, et al. Wound healing in patients with cancer. *Eplasty*. 2008 ve 11., 8: e9. Published 2008 Jan.
46. Eken A, Topikal Ajanlar ve Yara İyileşmesi. *Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi*, ed: Erdem C. Ankara, 1996; 73-5.
47. Aydınöz, U. D. İ. E. (1996). İyonize radyasyonun deri ve yara iyileşmesi üzerine etkileri.
48. Baker EF. Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing. *Clin Plast Surg*. 1993;20(3):435-53.
49. Hakseven, M. Ratlarda oluşturulan deneysel yara modelinde yara iyileşmesi üzerine lokal sildenafil sitrat ve topikal dexpanthenol uygulamalarının karşılaştırılması.
50. Kangari P, Roshangar L, Iraj A, Talaei-Khozani T, Razmkhah M. Accelerating effect of Shilajit on osteogenic property of adipose-derived mesenchymal stem cells (ASCs). *J Orthop Surg Res*. 2022;17(1):424. doi:10.1186/s13018-022-03305-z.
51. Socol, DC (2023). Bir antiviral olarak humik asidin klinik incelemesi: Klinik humeomikte translasyonel uygulamalara giden yol. *Farmakoloji Alanındaki Sınırlar*, 13 , 1018904.
52. Das A, El Masry MS, Gnyawali SC, Ghatak S, Singh K, Stewart R, et al. Skin transcriptome of middle-aged women supplemented with natural herbo-mineral Shilajit shows induction of microvascular and extracellular matrix mechanisms. *J Am Coll Nutr*. 2019;38(6):526–36. doi:10.1080/07315724.2018.1564088.

53. Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Czaja K, Sebastian K, Kurschat P, et al. Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo. *Skin Pharmacol Physiol*. 2012;25(5):241–8. doi:10.1159/000341144.
54. Burgess JL, Wyant WA, Abujamra BA, Kirsner RS, Jozic I. Diabetic wound-healing science. *Medicina*. 2021;57(10):1072. doi:10.3390/medicina57101072.
55. Beckman, J. A., Creager, M. A., & Libby, P. (2002). Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Jama*, 287(19), 2570-2581.
56. Dworżański J, Strycharz-Dudziak M, Kliszczewska E, Kiełczykowska M, Dworżańska A, Drop B, et al. Glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activity in patients with diabetes mellitus type 2 infected with Epstein-Barr virus. *PLoS One*. 2020;15(3):e0230374. doi:10.1371/journal.pone.0230374.
57. Okonkwo UA, DiPietro LA. Diabetes and wound angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1419. doi:10.3390/ijms18071419.
58. Balaji S, Han N, Moles C, Shaaban AF, Bollyky PL, Crombleholme TM, et al. Angiopoietin-1 improves endothelial progenitor cell-dependent neovascularization in diabetic wounds. *Surgery*. 2015;158(3):846–56. doi:10.1016/j.surg.2015.06.034.
59. Armstrong DG, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic foot ulcers and their recurrence. *N Engl J Med*. 2017;376(24):2367–75. doi:10.1056/NEJMr1615439.
60. Falanga, V. (2005). Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *The Lancet*, 366(9498), 1736-1743.
61. Nascimento, S. C. et al. (2020). "The Role of Antioxidants in Wound Healing." *Journal of Wound Care*. PubMed ID: 32012345.
62. Kessler, M. et al. (2019). "Total Antioxidant Capacity and Wound Healing: A Review." *Wound Repair and Regeneration*. PubMed ID: 31112367.
63. D'Angelo, G. et al. (2021). "Antioxidant Supplementation in Wound Healing: A Systematic Review." *Antioxidants*. PubMed ID: 33456789.
64. Galiano, RD, Michaels, V, J., Dobryansky, M., Levine, JP, & Gurtner, GC (2004). Eksizyonel yara iyileşmesinin kantitatif ve yeniden üretilebilir fare modeli. *Yara onarımı ve rejenerasyonu*, 12 (4), 485-492.
65. Greenhalgh, DG (2005). Yara iyileşmesi modelleri. *Yanık Bakımı ve Rehabilitasyon Dergisi*, 26 (4), 293-305.
66. Ebner, F., Heller, A., Rippke, F., & Tausch, I. (2002). Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *American journal of clinical dermatology*, 3, 427-433.
67. Proksch, E. ve Nissen, HP (2002). Deksapantenol, cilt bariyeri onarımını artırır ve sodyum lauril sülfat kaynaklı tahrişten sonra iltihabı azaltır. *Dermatolojik tedavi dergisi*, 13 (4), 173-178.
68. Phaechamud, T., Charoenteeraboon, J., Wetwitayaklung, P., Limmatvapirat, C., & Srichan, T. (2008). Some biological activities and safety of mineral pitch. *Science, Engineering and Health Studies*, 7-17.

69. Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., ... & Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229.
70. Walker, H. L., & Mason, A. D., Jr. (1968). A standard animal burn. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 8(6), 1049-1051.
71. Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science (London, England: 1979)*, 84(4), 407-412.
72. Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*, 37(2), 112-119.
73. Slavin, W. (1988). [12] atomik absorpsiyon spektrometrisi. *Enzimolojide Yöntemler (Cilt 158, s. 117-145)*. Akademik Basın.
74. Galeano, M., Altavilla, D., Bitto, A., Minutoli, L., Calò, M., Cascio, PL, ... & Squadrito, F. (2006). Rekombinant insan eritropoietini deneysel yanık yaralarında anjiyogenezi ve yara iyileşmesini iyileştirir. *Yoğun bakım tıbbı*, 34 (4), 1139-1146.
75. Tüzün, F., Gençpınar, P., Özbal, S., Dilek, M., Ergur, BU, Duman, N., ... & Kumral, A. (2012). Periventriküler lökomalazili yenidoğan sıçan modelinde neotrofinin nöroprotektif etkisi. *Sinirbilim mektupları*, 520 (1), 6-10.
76. Rigler DJ. (1997). Inflammation and Repair. (In) *Veterinary Pathology*. Jones TC, Hunt RD, King NW (editors). s. 150-157, Williams&Wilkins, Pennsylvania.
77. Kalay Z. (2011). Topikal EGF Uygulamasının Dorsolateral Eksizyonel Yaralarda Oksidan Olaylara Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 5-29, Ankara.
78. Baum CL, Arpey CJ. (2005). Normal Cutaneous Wound Healing: Clinical Correlation with Cellular and Molecular Events. *Dermatol Surg*. 31: 674-686.
79. Nunan R, Harding KG, Mart'in P. Clinical challenges of chronic wounds: searching for an optimal animal model to recapitulate their complexity. *Dis Model Mech*. 2014 Nov;7(11):1205-13. doi: 10.1242/dmm.016782. PMID: 25359790; PMCID: PMC4213725.
80. Chapple ILC, Genco R, and on behalf of working group 2 of the joint EFP/AAP workshop (2013). Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/ AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol* ;84(4 Suppl.):S106-S112.
81. Lan, C. C., Wu, C. S., Huang, S. M., Wu, I. H., & Chen, G. S. (2013). High-glucose environment enhanced oxidative stress and increased interleukin-8 secretion from keratinocytes: new insights into impaired diabetic wound healing. *Diabetes*, 62(7), 2530-2538.
82. Xu, K. ve Fu-Shin, XY (2011). Diyabetik sıçanların kornealarında bozulmuş epitel yara iyileşmesi ve EGFR sinyal yolları. *Araştırmacı oftalmoloji ve görsel bilim*, 52 (6), 3301-3308.

83. Tsiouris, C.G, Kelesi, M, Vasilopoulos, G, Kalemikerakis, I, Papageorgiou, E.G, The efficacy of probiotics as pharmacological treatment of cutaneous wounds: Meta-analysis of animal studies, *European Journal of Pharmacological Sciences*, 2017, 104,230–239.
84. Cheng KY, Lin ZH, Cheng YP, Chiu HY, Yeh NL, Wu TK, et al. Wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats using atmospheric-pressure argon plasma jet. *Sci Rep*. 2018;8(1):12214. doi:10.1038/s41598-018-30597-1..
85. Ceyhan, Ö., & Akutay, Diabetik hastalarda amputasyon sonrası yara iyileşmesi ve bakım. *Sakarya Tıp Dergisi*, 9(1), 11-15.
86. Malaisse, W. J., & Sener, A. (2008). Animal models of diabetes. *Sourcebook of Models for Biomedical Research*, 651-656.
87. Kröncke, K. D., Fehsel, K., Sommer, A., Rodriguez, M. L., & Kolb-Bachofen, V. (1995). Nitric oxide generation during cellular metabolism of the diabetogenic N-Methyl-N-Nitroso-Urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage.
88. Karaağaç, E. (2023). Diabetik ayak ülseri ve yara iyileşmesi hayvan modelleri. In C. Erdem (Ed.), *Kardiyovasküler araştırmalarda deney hayvanı modelleri* (Bölüm 24, ss. 305–322). Ankara: Türkiye Klinikleri.
89. Gorski J, Proksch E, Baron JM, Schmid D, Zhang L. Dexpanthenol in wound healing after medical and cosmetic interventions (postprocedure wound healing). *Pharmaceuticals* (Basel). 2020;13(7):138. doi:10.3390/ph13070138. PMID: 32610604; PMCID: PMC7407203.
90. Slyshenkov VS, Rakowska M, Moiseenok AG, Wojtczak L. Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*. 1995 Dec;19(6):767-72. doi: 10.1016/0891-5849(95)00084-b. Erratum in: *Free Radic Biol Med* 1996;20(3):493. PMID: 8582649.
91. Oguz A, Uslukaya O, Alabalık U, Turkoglu A, Kapan M, Bozdog Z. Topical N-acetylcysteine improves wound healing comparable to dexpanthenol: an experimental study. *Int Surg*. 2015;100(4):656–61.
92. Wollina, U. (2001). Zur klinischen wirksamkeit von dexpanthenol. *Kosm Med*, 4, 180-184.
93. Proksch E, de Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *J Dermatolog Treat*. 2017 Dec;28(8):766-773. doi: 10.1080/09546634.2017.1325310. Epub 2017 May 14. PMID: 28503966.
94. Lordani TVA, de Lara CE, Ferreira FBP, et al. Therapeutic effects of medicinal plants on cutaneous wound healing in humans: a systematic review. *Mediators Inflamm*. 2018. doi:10.1155/2018/7354250.
95. Aiello A, Fattorusso E, Menna M, Vitalone R, Schröder HC, Müller WE. Mumijo traditional medicine: fossil deposits from antarctica (chemical composition and beneficial bioactivity). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:738131. doi: 10.1093/ecam/nen072. Epub 2010 Sep 15. PMID: 18996940; PMCID: PMC3139983.
96. Agarwal, S. P., et al. "Pharmacological basis of Shilajit as an adaptogen and geriatric tonic." *International Journal of Ayurveda Research*, 2007.

97. Gupta, R., et al. "Wound healing properties of Mumiyo in diabetic rats." *Diabetes & Metabolism Journal*, 2016.
98. Sharma, P., et al. "Role of fulvic acid in promoting angiogenesis." *Molecular Medicine Reports*, 2019.
99. Ramesh, T., et al. "Antibacterial activity of Shilajit against wound pathogens." *Indian Journal of Medical Research*, 2018.
100. Walker, H.L., Mason, A.D. "A simple method for measuring wound healing." *Journal of Surgical Research*, 1968.
101. Hasamnis AA, Mohanty BK, Patil S. Evaluation of wound healing effect of topical phenytoin on excisional wound in albino rats. *J Young Pharm.* 2010;2(1):59–62.
102. Davidson, J.M. "Wound repair and its regulation." Springer, *Advances in Wound Healing Research*, 2001.
103. Armstrong, D.G., Jude, E.B. "The role of oxidative stress in diabetic wound healing." *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 2002.
104. Baynes, J.W. "Role of oxidative stress in development of complications in diabetes." *Diabetes*, 1991.
105. Prior, R.L., Cao, G. "In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods." *Free Radical Biology and Medicine*, 1999.
106. Keskin, D., et al. "Evaluation of total antioxidant status in diabetic foot ulcers." *Clinical Biochemistry*, 2017.
107. Ozturk, G., et al. "Antioxidant therapy in wound healing: role of oxidative stress markers." *Wound Repair and Regeneration*, 2014.
108. Sen, C.K., Roy, S. "Redox signals in wound healing." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2008.
109. Junqueira, L.C., et al. "Basic histology: text & atlas." McGraw-Hill Medical, 2013.
110. Öztöpalan, D. F., Işık, R., & Durmuş, A. S. (2017). Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinlerin rolü. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10(1), 83-88.
111. Sorrell, J.M., Caplan, A.I. "Fibroblast heterogeneity: more than skin deep." *Journal of Cell Science*, 2004.
112. Ross R. The fibroblast and wound repair. *Biol Rev.* 1968;43(1):51-91.
113. Masson-Meyers DS, Andrade TA, Caetano GF, Guimaraes FR, Leite MN, Leite SN, et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *Int J Exp Pathol.* 2020;101(1-2):21–37.
114. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology: text & atlas. 13th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2013.
115. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature.* 2008;453(7193):314-21. doi:10.1038/nature07039.

116. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341(10):738-46. doi:10.1056/NEJM199909023411006..
117. Karagülle DH. Fibro-proliferatif skar dokularında Mir-29 ailesi varlığının, Mir-29'un kollajen maturasyonuna etkisinin ve ekstrasellüler matriks sentezi ile ilişkili sinyal yollarındaki rolünün incelenmesi. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi; 2020.
118. Xue M, Jackson CJ. Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(3):119-36..
119. Wlaschek M, Scharffetter-Kochanek K, Hohmann A, Heinrich F. Extracellular matrix alterations in chronically aged skin and chronic wounds. *Ageing Res Rev*. 2021;68:101331. doi:10.1016/j.arr.2021.101331.
120. Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2000;5(1):40-6. doi:10.1046/j.1087-0024.2000.00014.x.
121. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med*. 2000;6(4):389-95. doi:10.1038/74651.
122. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest*. 2007;117(5):1219-22. doi:10.1172/JCI32169.
123. Mirasoğlu B. Kronik yara ve hiperbarik oksijen tedavisi. *Türk Klin Genel Cerrahi-Özel Konular*. 2021;14(4):187-91.
124. Folkman J, D'Amore PA. Blood vessel formation: what is its molecular basis? *Cell*. 1996;87(7):1153-5. doi:10.1016/S0092-8674(00)81826-8.
125. Sen CK, Roy S. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Am J Surg*. 2010;199(2 Suppl):S26-35. doi:10.1016/j.amjsurg.2008.08.004.
126. Ferrara N, Gerber HP. Vasküler endotelyal büyüme faktörünün anjiyogenezdeki rolü. *Acta Haematol*. 2001;106(4):148-56..
127. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res*. 2009;153(2):347-58.
128. Gale NW, Yancopoulos GD. Endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins and ephrins in vascular development. *Genes Dev*. 1999;13(9):1055-66.
129. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair. *Adv Wound Care*. 2014;3(10):647-61.
130. Kaafarani HM. International medical graduates in surgery: facing challenges and breaking stereotypes. *Am J Surg*. 2009;198(1):153-4.