

**PELİN OTU (*ARTEMİSİA ABSINTHIUM* L.) EKSTRESİ İÇEREN
KİTOSAN TEMELLİ HİDROJELLERİN DENEYSEL SIÇAN
YANIK MODELİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

MERYEM AYDIN

**DOKTORA TEZİ
DOĞAL VE BİTKİSEL ÜRÜNLER, KOZMETİK ÜRÜNLER
ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ NURİ CENK COŞKUN**

DÜZCE, 2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

12 Nisan 2023

Meryem Aydın



TEŞEKKÜR

Değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk Coşkun'a doktora sürecim boyunca verdiği destek, gösterdiği sabır ve rehberliği için sonsuz teşekkür ederim. Tez izleme komitemde yer alan, desteklerini ve yardımlarını her daim hissettiğim Doç. Dr. Hülya Torun ve Doç. Dr. Merve Alpay'a teşekkürlerimi sunarım. Tez savunma sınavıma katılan, değerli görüşlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Akif Hakan Kurt ve Doç. Dr. Ercan Selçuk Ünlü'ye çok teşekkür ederim.

Histopatolojik incelemelerde bilgisi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Sinem Kantarcıoğlu Coşkun'a ve hazırlık aşamasında yardımcı olan Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı çalışanlarına çok teşekkür ederim. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarımda destek veren Doç. Dr. Emel Çalışkan ve Arş. Gör. Dr. Banu Hümeysra Keskin'e teşekkür ederim. Antioksidan aktivite çalışmamda destek aldığım Öğr. Gör. Sine Aksoy Düvenci'ye katkıları için teşekkür ederim.

Deney hayvanları ve istatistiksel analiz çalışmalarımda yardımcı olan sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Yunus Özcan'a verdiği tüm destek için sonsuz teşekkür ederim. Dostluğu benim için çok kıymetli olan, koşulsuz desteğini her daim arkamda hissettiğim değerli arkadaşım Çağla Çelik'e teşekkür ederim.

Son olarak maddi ve manevi her türlü desteği veren, üzüntü ve sevinçlerimin hepsine ortak olan, sevgilerini üzerimde daima hissettiğim annem Emine Aydın, babam Hüseyin Aydın ve ablam Merve Aydın'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince 100/2000 Doktora Projesi kapsamında burs aldığım Yüksek Öğretim Kurumu Başkanlığı'na teşekkür ederim. Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi BAP-2021.04.03.1220 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

12 Nisan 2023

Meryem AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
KISALTMALAR.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
EXTENDED ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>ARTEMİSİA</i> CİNSİ VE GELENEKSEL TIPTA KULLANIMI	3
1.2. PELİN OTU (<i>ARTEMİSİA ABSINTHIUM</i> L.)	4
1.2.1. Pelin Otuğun Geleneksel Tıpta Kullanımı.....	7
1.2.2. Pelin Otu Üzerinde Yapılan Modern Farmakolojik Araştırmalar	9
1.3. YANIK YARALANMALARI.....	13
1.3.1. Termal Yanıkların Patofizyolojisi	14
1.3.2. Yanık Yönetimi.....	17
1.3.3. Yara Örtüleri.....	23
1.3.4. Kitosan Temelli Hidrojeller	27
1.3.5. Geleneksel Tıpta Yanık Tedavisi	30
2. MATERYAL VE YÖNTEM	33
2.1. BİTKİ ÖRNEKLERİNİN TEMİNİ	33
2.2. EKSTRAKSİYON	33
2.3. FENOLİK BİLEŞİKLERİN BELİRLENMESİ	34
2.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ.....	34
2.5. KİTOSAN TEMELLİ HİDROJELLERİN HAZIRLANMASI	35
2.6. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ	36
2.7. SIÇANLARDA YANIK MODELİNİN OLUŞTURULMASI.....	37
2.8. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME.....	39
2.9. İMMÜNOMODÜLATÖR SİTOKİNLERİN ANALİZİ	39
2.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	40
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	42
3.1. BULGULAR.....	42
3.1.1. Fenolik Bileşik Analizi Sonuçları.....	42
3.1.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	44
3.1.3. Antimikrobiyal Aktivite Testi Sonuçları.....	45
3.1.4. Histopatolojik İnceleme Sonuçları.....	46
3.1.5. İmmünomodülatör Sitokinlerin Analiz Sonuçları	53
3.1.6. Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	56
3.1.6.1. Histopatolojik Sonuçların İstatistiksel Değerlendirilmesi	56
3.1.6.2. İmmünomodülatör Sitokinlerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	64
3.2. TARTIŞMA.....	69
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	75

5. KAYNAKLAR.....	77
6. EKLER	90
6.1. EK 1: ETİK KURUL BELGESİ.....	90
ÖZGEÇMİŞ	90



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Artemisinin kimyasal yapısı (Pubchem'den alınmıştır).	4
Şekil 1.2. Pelin otunun Türkiye'de doğal dağılım gösterdiği yerler (TUBİVES) [35]. ...	5
Şekil 1.3. Alfa ve beta tuyoğun kimyasal yapısı (Pubchem'den alınmıştır).	6
Şekil 1.4. Absintinin kimyasal yapısı (Pubchem'den alınmıştır).	7
Şekil 1.5. Pelin otu kısımlarının ayrıntılı çizimi (Walther Otto Mueller, 1885) [36].	9
Şekil 1.6. Jackson Yanık Modeli ile yanık bölgelerinin sınıflandırılması [92].	15
Şekil 1.7. Kalınlıklarına göre yanıkların sınıflandırılması [84].	16
Şekil 1.8. Yara iyileşmesinin fazları [111].	19
Şekil 1.9. Akut yara iyileşmesinde görev alan immün araçlar [123].	23
Şekil 1.10. Yara iyileşmesinde kullanılan yara örtüleri.	27
Şekil 1.11. Bazik ortamda deasetillenme yoluyla kitinden kitosan oluşumu [140].	28
Şekil 1.12. Kitosan ve jelatinin glüteraldehitte çapraz bağlanma reaksiyonu [147].	29
Şekil 1.13. Kitosan temelli hidrojenlerin yara iyileşmesinde kullanımı.	30
Şekil 2.1. Pelin otunun a) taze b) kurutulmuş c) öğütülmüş hali (Aydın, 2023).	33
Şekil 2.2. Hidrojenin a) amorf b) düzenli tabaka halindeki görüntüsü (Aydın, 2023). ...	36
Şekil 2.3. Yanık modeli oluşturmak için kullanılan demir mühür (Aydın, 2023).	37
Şekil 2.4. Sıçanlarda a) yanık modelinin oluşturulması b) yara örtüsünün uygulanması (Aydın, 2023).	38
Şekil 2.5. ELISA'da a) TMB çözümü b) stop çözümü eklendiğindeki renk değişimi (Aydın, 2023).	40
Şekil 3.1. Analizi yapılan fenolik bileşiklerin LC/MS-MS kromatogram görüntüsü.	42
Şekil 3.2. a) <i>S. aureus</i> b) <i>P. aeruginosa</i> antimikrobiyal aktivite sonuçları (Aydın, 2023).	45
Şekil 3.3. Yanık modeli uygulanmamış normal sıçan derisi (4X) (Aydın, 2023).	46
Şekil 3.4. Düşük doz tedavi grubu 3. günde tam kat yanık örneği (2X) (Aydın, 2023).	47
Şekil 3.5. Negatif kontrol grubu 3. günde kolajen liflerinde bozulma (4X).	48
Şekil 3.6. Pozitif kontrol grubunda 21. günde dev hücre görüntüsü (10X) (Aydın, 2023).	49
Şekil 3.7. Negatif kontrol grubunda 3. günde nötrofil görüntüsü (40X) (Aydın, 2023).	50
Şekil 3.8. Orta doz tedavi grubunda 21. günde artmış akut inflamasyon görüntüsü (2X) (Aydın, 2023).	51
Şekil 3.9. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde tam iyileşme görüntüsü (2X)	52
Şekil 3.10. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde tam iyileşen yanık görüntüsü	53
Şekil 3.15. Akut inflamasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	57
Şekil 3.16. Kronik inflamasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	58
Şekil 3.17. Fibrozis skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	59
Şekil 3.18. Epidermal rejenerasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	60
Şekil 3.19. Granülasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	61
Şekil 3.20. Dev hücre skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	61
Şekil 3.21. Deri eki kaybı skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	62
Şekil 3.22. Epidermal kayıp skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	62
Şekil 3.23. Kolajen artışı skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.	63
Şekil 3.24. Kolajen liflerinde bozulma skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı. ...	64
Şekil 3.11. Gruplardaki doku IL-1 α seviyelerinin zamana bağlı değişimi.	65

Şekil 3.12. Gruplardaki doku IL-6 seviyelerinin zamana bağlı değişimi.	66
Şekil 3.13. Gruplardaki doku IL-10 seviyelerinin zamana bağlı değişimi.	67
Şekil 3.14. Gruplardaki doku TNF- α seviyelerinin zamana bağlı değişimi.	68



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Derinliklerine göre termal yanıklar, klinik tablo ve tedavi.	18
Çizelge 2.1. Fenolik bileşiklerin LC/MS-MS analiz koşulları.	34
Çizelge 2.2. Hazırlanan hidrojellerde birleşme oranları.	35
Çizelge 3.1. Tespit edilen bileşiklerin adı, tutulma zamanı ve miktarı.	43
Çizelge 3.2. Tespit edilen bileşiklerin kimyasal yapıları (Pubchem).	43
Çizelge 3.3. Antioksidan aktivite sonuçları	45
Çizelge 3.4. Doku IL-1 α seviyelerinin gruptaki güne bağlı ortalama miktarları.	53
Çizelge 3.5. Doku IL-6 seviyelerinin gruptaki güne bağlı ortalama miktarları.....	54
Çizelge 3.6. Doku IL-10 seviyelerinin gruptaki güne bağlı ortalama miktarları.....	54
Çizelge 3.7. Doku TNF- α seviyelerinin gruptaki güne bağlı ortalama miktarları.....	55
Çizelge 3.12. Histopatolojik skorların deney gruplarındaki istatistiksel dağılımı.....	56
Çizelge 3.8. Doku IL-1 α seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.....	65
Çizelge 3.9. Doku IL-6 seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.....	66
Çizelge 3.10. Doku IL-10 seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.....	67
Çizelge 3.11. Doku TNF- α seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.....	68

KISALTMALAR

ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
COCONUT	Açık Doğal Ürünler Koleksiyonu
DAMPs	Hasarla İlişkili Moleküler Modeller
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EMA	Avrupa İlaç Kurumu
ESCAP	Avrupa Bilimsel Fitoterapi Kooperatifi
FFD	Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
GTx	Glutasyon Peroksidaz
HaCaT	İnsan Keratinosit Hücre Hattı
IC ₅₀	Yarı-Maksimum İnhibitör Konsantrasyonu
IL	İnterlökin
LDH	Laktat Dehidrogenaz
MAPK	Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein-1
MDA	Malonil Dialdehit
MMPs	Matriks Metalloproteinazlar
NF- κ B	Nükleer Faktör Kappa Beta
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NO	Nitrik Oksit
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PDGF	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBSA	Toplam Vücut Yüzey Alanı
TCM	Geleneksel Çin Tıbbı
TF	Doku Faktörü
TGF	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TÜBİVES	Türkiye Bitkileri Veri Sevisi
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

ÖZET

PELİN OTU (*ARTEMİSİA ABSİNTHIUM* L.) EKSTRESİ İÇEREN KİTOSAN TEMELLİ HİDROJELLERİN DENEYSEL SIÇAN YANIK MODELİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

MERYEM AYDIN

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doğal ve Bitkisel Ürünler, Kozmetik Ürünler

Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN

Nisan 2023, 90 sayfa

Antik çağlardan beri çok sayıda hastalığın tedavisinde yararlanılan pelin otu (*Artemisia absinthium* L.) geleneksel olarak yanık ve yaralarda iyileştirici etkileri sebebiyle kullanılmaktadır. Tüm dünyada önemli bir halk sağlığı problemi olarak görülen yanık, her bireyin başına herhangi bir zaman diliminde gelebilen ağır travmalardandır. Yanık yönetimi erken cerrahi müdahale, sistemik ilaçlar ve yara bakımını içeren kompleks bir süreçtir. Yara bakımı amacıyla hidrojel yara örtüleri sıklıkla yanık tedavisinde tercih edilmektedir. Yara bölgesine gerekli nemi sağlaması, bariyer görevi görmesi, içerdiği biyoaktif moleküllerin kontrollü salınımını gerçekleştirmesi sebebiyle yaygın kullanımı mevcuttur. Ancak ülkemizde bulunan yara örtüleri hala yetersiz sayıda ve kolay ulaşılabilir değildir. Bu sebeple farklı dozlarda pelin otu ekstresi içeren kitosan temelli hidrojel örtüler üretilerek deneysel sıçan yanık modeli üzerindeki etkileri incelenmiştir. İlk olarak etanolik pelin otu ekstresi içerisindeki belirli fenolik bileşikler LC-MS/MS cihazıyla tespit edilmiştir. Etkileri araştırılan üç doz pelin otu ekstresinin antioksidan aktivitesi DPHH yöntemiyle hesaplanmıştır. Üretilen yara örtülerinin iki farklı bakteri suşu üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metoduyla test edilmiştir. Deneysel yanık modeli oluşturulmuş 48 Sprague-Dawley dişi sıçandan 3. ve 21. günde alınan dokular histopatolojik olarak on bir kategoride incelenmiştir. ELISA yardımıyla doku IL-1 α , IL-6, IL-10 ve TNF- α seviyeleri ölçülmüştür. Histopatolojik incelemelerden elde edilen non-parametrik veriler IBM SPSS Statistics 26.0 istatistik programı kullanılarak Fisher Kesin Olasılık Testi Monte Carlo Simülasyonu yardımıyla analiz edilmiştir. Doku sitokin seviyelerinden elde edilen veriler JASP 0.17 istatistik programıyla analiz edilmiştir. Bağımlı değişkenin gün ve gruplar arasındaki ilişkisi İki Faktörlü Varyans Analizi kullanılarak test edilmiştir. İstatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Pelin otu ekstresi içerisinde toplamda on beş fenolik bileşik kantitatif olarak tespit edilmiştir. Yüksek, orta ve düşük doz pelin otu ekstralarının antioksidan aktivitesi sırasıyla $91,1 \pm 0,054$, $89,6 \pm 0,012$ ve $84,1 \pm 0,02$ olarak hesaplanmıştır. Üretilen hidrojel örtüler *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) suşları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Histopatolojik incelemede 21.günden elde edilen fibrozis sonuçları istatistiksel olarak anlamlıdır. Doku sitokin seviyeleri tüm gruplarda pg/ml düzeyinde belirlenmiştir. Sonuç olarak; pelin otunun yara iyileşmesini çeşitli etki mekanizmalarıyla hızlandırdığı ve kitosan temelli hidrojel formunda yara örtüsü olarak kullanımının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Hidrojel, Kitosan, Pelin otu, Yanık, Yara örtüsü.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CHITOSAN-BASED HYDROGELS CONTAINING WORMWOOD (*ARTEMISIA ABSINTHIUM* L.) EXTRACT ON EXPERIMENTAL RAT BURN MODEL

Meryem AYDIN

Düzce University

Graduate School, Department of Natural and Botanical Products, Cosmetics Products

Doctoral Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Nuri Cenk COŞKUN

April 2023, 90 pages

Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) has been used for the treatment of many diseases since ancient times. Traditionally, it is used for its healing effects on burns and wounds. Burns are seen as an important public health problem worldwide, and they are one of the most severe traumas that can happen to any individual at any time. Burn management is a complex process that includes early surgical intervention, systemic medications, and wound care. Hydrogel dressings are often preferred in burn treatment for wound care. It is widely used because it provides the necessary moisture to the wound area, acts as a barrier, and contributes to the controlled release of the bioactive molecules it contains. However, wound dressings are inadequate and not easily accessible in our country. Therefore, chitosan-based hydrogel dressings containing different doses of wormwood extract were produced, and their effects on the experimental rat burn model were examined. First, certain phenolic compounds in the ethanolic wormwood extract were detected using LC-MS/MS. The antioxidant activities of three doses of wormwood extract were calculated using the DPHH method. The antimicrobial activity of the dressings against two different bacterial strains was tested using the disc diffusion method. Tissues taken from 48 Sprague-Dawley female rats on the 3rd and 21st days of the experimental burn model were histopathologically examined in eleven categories. Tissue IL-1 α , IL-6, IL-10, and TNF- α levels were measured using ELISA. Non-parametric data obtained from histopathological examination were analyzed with Fisher's exact test Monte Carlo simulation using IBM SPSS Statistics 26.0. Data obtained from tissue cytokine levels were analyzed the JASP 0.17 statistical program. The relationship of the dependent variable between days and groups was tested using Two-Way ANOVA. The level of significance was set at $p < 0,05$. Fifteen phenolic compounds were quantitatively determined in wormwood extracts. The antioxidant activities of high-, medium-, and low-dose wormwood extracts were as $91,1\% \pm 0,054$, $89,6\% \pm 0,012$ and $84,1\% \pm 0,02$, respectively. The hydrogel dressings did not show any antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) or *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). The fibrosis results obtained on day 21st were statistically significant. Tissue cytokine levels were determined in pg/ml in all groups. Therefore, it was concluded that wormwood promotes wound healing through various mechanisms of action and is appropriate for use as a wound dressing in the form of a chitosan-based hydrogel.

Keywords: Burn, Chitosan, Hydrogel, Wormwood, Wound dressing

EXTENDED ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CHITOSAN BASED HYDROGELS CONTAINING WORMWOOD (*ARTEMISIA ABSINTHIUM* L.) EXTRACT ON EXPERIMENTAL BURN WOUND MODELS

Meryem AYDIN

Düzce University

Graduate School, Department of Natural and Botanical Products, Cosmetics Products

Doctoral Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Nuri Cenk COŞKUN

April 2023, 90 pages

1. INTRODUCTION

Wormwood also known as *Artemisia absinthium* L. is a bitter-aromatic tasting, perennial shrub-like medicinal plant with silver green leaves and yellow flowers. Its flowering season is generally between July to October and belongs to the largest family of angiosperms, Asteraceae. This species is native to temperate region of Asia, Europe, Northern Africa and cultivated in the United States and Canada. *Artemisia absinthium* L. is one of the most recognized species of the genus *Artemisia* all over the world. This plant has been used for treating different diseases since ancient times, particularly parasitic diseases, digestive problems, fever, menstrual disorders, inflammation and wound healing. It contains a large number of secondary metabolites responsible for its medicinal activities. The species is quite rich in essential oils, sesquiterpenoid lactones, azulens, flavonoids, sterols, phenolic, organic and fatty acids. Its biologically active compounds and medicinal effects are being revealed with modern pharmacological researches in recent years. Burn is a type of injury to skin, other tissue and organs caused by mainly heat or due to electricity, radiation, friction or exposed to the chemicals. Burns are one of the most common and devastating physical traumas that people can experience. Patients with severe thermal injury require urgent burn care for mortality and morbidity risk. Burn wounds are classified as superficial first degree, partial thickness second degree, full-thickness third degree and deep full-thickness fourth degree according to the depth. Burn management is a complex process that includes early surgical intervention, systemic medications, and wound care. Appropriate burn management including wound dressings can prevent the burn wound getting deeper and larger. In this context, the preferred wound dressing should prevent infections, provide sufficient amount of moisture to the wound area, prevent conversion to a deeper burn, reduce pain, allow for movement, ease of change, and promote wound

healing. Numerous options exist for dressings containing traditional gauzes, foams, films, hydrogels, hydrocolloids and alginate dressings. Hydrogels are cross-linked three dimensional structures of the same or different types of polymers with ability to absorb fluids. They are applied for wound dressings, systemic and localized drug delivery and tissue engineering in pharmaceutical area. Chitosan is a type of amino polysaccharide, obtained from the deacetylation of chitin. Chitosan based hydrogels as wound dressing are widely preferred due to hemostatic and antimicrobial properties, capability of absorption to wound exudate, provide adequate moisture, promote wound healing via different mechanisms. Also hydrogels loaded with plant extracts or phytochemicals can impact on wound healing. Because medicinal plants contain a vast number of constituents such as phenolic compounds, alkaloids, flavanoids, essential oils, saponins which have high antioxidant capacity and antimicrobial activity. They can act as wound healing agents and potentially able to improve wound healing. Wormwood is among the medicinal plants that are traditionally used in wound healing.

Commercial wound dressings are still insufficient and not easily accessible in Turkey. Therefore in this study, chitosan based hydrogel containing wormwood extract was developed and its effects on experimental burn models were investigated on the basis of different parameters. It is aimed to produce a medical wound dressing if promising results are obtained.

2. MATERIALS AND METHOD

The wormwood used in the study was obtained from a medicinal plant garden. It was completely dried in the shade before extraction and ground into fine powder. The dried samples were mixed with ethanol:water mixture (70:30) for 12 hours at room temperature. Then, it was filtered through filter paper and the solvent was removed by the rotary evaporator. In total 3 different doses of wormwood extract were prepared as low (2%), medium (5%) and high (10%).

The certain phenolic compounds in the extract were carried out qualitatively and quantitatively using LC-MS/MS (Schimadzu-8030). Analyzed phenolic compounds were caffeic acid, hydroxybenzoic acid, protocatechic acid, 4-hydroxycinnamic acid, 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, vanillic acid, catechin hydrate, floridzin dihydrate, syringic acid, naringenin, acetohydroxamic acid, thymoquinone, resveratrol, silymarin, curcumin (C4), chemferol, myricetin, gallic acid, quercetin, salicylic acid, oleuropein,

butein, fumaric acid, alizarin, ellagic acid, and luteolin.

The antioxidant activity of the hydroethanolic wormwood extract was determined by the DPPH $\cdot$ (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil radical; C₁₈H₁₂N₅O₆) method. It is based on the principle of mixing 1,8 ml of 0,1 mM DPPH with 0,2 ml of extract prepared in ethanol and incubating in the dark for 30 minutes, then reading the absorbance with a spectrophotometer against a blank at 517 nm wavelength.

Hydrogels were synthesized using low molecular weight chitosan (molecular weight 50-190 KDa, Sigma Aldrich). Final concentration of chitosan was adjusted to be 2% (w:v) in 1% acetic acid solution and was stirred for 4 hours at room temperature until completely dissolved. Gelatin (240 bloom) was dissolved at 40°C for two hours with a final concentration of 1% (w:v). Chitosan and gelatin solutions (245 ml each) were added to the dry extracts of wormwood, which were then cross-linked by mixing for 6 h at room temperature with 5 ml glutaraldehyde (2%). 5 ml of glycerol was preferred as the plasticizing agent in hydrogels. Totally four hydrogels containing low (2%), medium (5%), high (10%) dose of wormwood extract and carrier chitosan were prepared. The prepared hydrogels were transferred to the petri dishes with a thickness of 6-10 mm and matured for 12 hours at +4°C.

The antimicrobial activities of the hydrogels were tested on *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) strains using the disc diffusion method. 6 mm diameter wells were opened on Mueller-Hinton agar with the help of an agar drill. Bacterial suspensions fixed to 0,5 McFarland standard were spread on agar petri dishes with a swab. Prepared hydrogels were loaded into the wells. Commercial antibiotic discs containing vancomycin 30 µg and meropenem 10 µg were used for *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively. The prepared agar discs were incubated at 37°C for 18-24 hours.

In the experiment 48 Sprague Dawley female rats (20-24 weeks old, 250-450 g) were used. A randomized experimental design was carried out in 6 groups of 8 animals each. Animals were weighed and anesthetized (Ketamine 90 mg/kg, Xylazine 10 mg/kg intraperitoneal injection) before the back of each rat was shaved. Each animal was injected with 2 ml of intraperitoneal saline to prevent dehydration. After antisepsis with povidone iodine, a burn wound model was made with an iron seal measuring 2×2 cm on the back of animals. In order to made a third degree full-thickness burn, the iron seal

was exposed to open fire for 40 seconds and applied to the back of the animal for 20 seconds. The temperature of the iron seal was fixed at 150 °C in each application controlled by an infrared thermometer.

After applying the burn model, 24 rats on the 3rd day and 24 rats on the 21st day were sacrificed by cervical dislocation under ketamine anesthesia. Tissue samples removed from the burn areas in full thickness were kept in 10% formaldehyde solution for at least 48 hours. Transverse and longitudinal sections of 5 microns were taken from tissue samples embedded in paraffin blocks and stained with hematoxylin-eosin. The obtained sections were randomly and blindly examined by a specialist pathologist with a light microscope. Granulation tissue, giant cell, collagen increase, loss of skin appendages, epidermal loss and deterioration in collagen fibers were evaluated as present or absent. Acute and chronic inflammation, fibrosis, epidermal regeneration, and eosinophil count parameters were scored as 0, 1, 2, 3. (0: None, 1: Low, 2: Medium, 3: High) Tissue IL-1 α , IL-6, IL-10 and TNF- α levels were measured by ELISA.

Analysis for histopathological datas was performed using the IBM SPSS Statistics 26.0 statistical package program. Distribution of non-parametric data of experimental groups was analyzed with Fisher's Exact Test and Monte Carlo Simulation. Data obtained from tissue cytokine levels were analyzed with JASP 0.17 statistical program. The normal distribution of the data was examined with the Shapiro-Wilk Test, and the homogeneity of variance was examined with the Levene Test. The relationship of the dependent variable between days and groups was tested using Two-Way ANOVA. Post-Hoc Tukey Test was applied for multiple comparisons. The level of significance was accepted as $p < 0.05$ in all results.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The phenolic compounds detected in the extract are as follows caffeic acid (120,71 $\mu\text{g/L}$), 4-hydroxycinnamic acid (37,31 $\mu\text{g/L}$), syringic acid (500,69 $\mu\text{g/L}$), acetohydroxamic acid (315,55 $\mu\text{g/L}$), thymoquinone (762,06 $\mu\text{g/L}$), resveratrol (717,06 $\mu\text{g/L}$), curcumin (15,09 $\mu\text{g/L}$), myricetin (35,04 $\mu\text{g/L}$), gallic acid (421,76 $\mu\text{g/L}$), quercetin (268,79 $\mu\text{g/L}$), oleuropein (79,82 $\mu\text{g/L}$), butein (196,97 $\mu\text{g/L}$), fumaric acid (3593,71 $\mu\text{g/L}$), ellagic acid (130,1 $\mu\text{g/L}$), and luteolin (57,07 $\mu\text{g/L}$). The remaining eleven compounds could not be detected in the extract.

In the antioxidant activity measurement, it was observed that dark purple 0,1 mM DPPH

solution turned yellow-pale green in the presence of antioxidant. The antioxidant activities of high, medium and low dose wormwood extracts were calculated as $91,1\% \pm 0,054$, $89,6\% \pm 0,012$ and $84,1\% \pm 0,02$, respectively.

Antimicrobial activities of the hydrogels containing different doses of wormwood extract and not containing any therapeutic agent were determined using disc diffusion method. All four tested hydrogels did not show any antimicrobial activity on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains.

According to the histopathological results, acute and chronic inflammation of varying severity is observed in the tissue specimens on different days. While fibrosis was absent in the negative and positive control groups, it developed in the carrier and treatment groups. Almost all of the specimens have epidermal regeneration on day 3 or day 21. In the experimental groups, granulation tissue did not occur in any of the specimens on the 3rd day. On the other hand, it developed in all groups with different severity and rates on the 21st day. All examined specimens had loss of skin appendages on both days. Unlike the low-dose treatment group, there was an increase in collagen in the medium and high-dose treatment groups. There was deterioration in collagen fibers in the medium and high dose treatment groups, however it was not seen in the low dose treatment group on the 21st day. In fibrosis, the results on the 3rd day were not significant but the results from the 21st day were found to be statistically significant. Tissue cytokine levels were determined at pg/ml in all groups.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

The hydroethanolic extract of wormwood was shown to have a large number of phenolic compounds. These phenolic compounds are thought to have that high antioxidant capacity. It has been determined that the hydrogel produced from chitosan is suitable for use as a wound dressing because it is easy to apply, mechanically strong and adhesive. Histopathologically examined tissues and scars and measured cytokine levels were indicate that wormwood accelerate wound healing. It was found that wormwood induces different steps of wound healing with various mechanisms of action. As a result of all this, it is concluded that the use of chitosan based hydrogels containing wormwood in wound care products is efficient and appropriate.

1. GİRİŞ

Tarih öncesi çağlardan beri insanlar hastalıkları hafifletmek ve tedavi etmek için bitki, hayvan, mikroorganizma ve deniz canlıları gibi doğal ürünleri ilaç olarak kullanmaktadırlar. Fosil kayıtlarına göre, bitkilerin ilaç olarak insanlar tarafından kullanımının en az 60.000 yıl önceye kadar uzandığı düşünülmektedir [1], [2]. Bitkilerin ilk insanlar tarafından ilaç olarak kullanılmaya başlanmasının gıda olarak tüketilmeleri sonucu kusma, ishal, koma, diğer toksik durumlar ve hatta ölümle sonuçlanan vakalar sayesinde olduğu ileri sürülmektedir. Yenilebilen ve zehirli bitkileri ayırt etmeyi tecrübe yoluyla öğrenen insan oğlu zamanla bitkileri ilaç olarak kullanmaya da başlamıştır [3]. Bitki temelli geleneksel tıp sistemleri, öncelikle yerel bölgelerde başlayarak zaman ve tecrübeyle birlikte Hindistan’da Ayurveda, Çin’de Geleneksel Çin Tıbbı (TCM), Asya’da Tibet Tıbbı, Amerika’nın farklı bölgelerinde Kızılderili ve Amazon Tıbbı, Afrika Kıtası’nda Geleneksel Afrika Tıbbı gibi geniş bölgelere yayılan sistemlere dönüşmüşlerdir [4]. İnsanlar binlerce yıl boyunca çeşitli hastalıklara karşı geleneksel tedavi yöntemleriyle mücadele etmişler ve bu mücadele insanlığın uygarlaşmasında büyük rol oynamıştır. Dünya nüfusunun yaklaşık %85’i birinci basamak sağlık hizmeti olarak hala tıbbi bitkilere ve geleneksel metotlara başvurmaktadır [5], [6].

1900’lü yılların başında temel analitik tekniklerden olan kromatografinin keşfiyle tıbbi bitkiler ve sahip oldukları biyoaktif moleküller bilimsel açıdan önem kazanmışlardır. Bitkilerin içindeki tıbbi olarak etkinlik gösteren bu özgün moleküllere sekonder metabolitler adı verilmektedir. Tıbbi bitkilerden elde edilen bitkisel ilaçlar da dahil olmak üzere, piyasada satılan sentetik ilaç ve farmasötik formların yaklaşık %80’inin sekonder metabolitlerden türevlendirildiği bildirilmiştir [6]–[8]. Tıbbi amaçla kullanımlarının haricinde parfüm, kozmetik, gıda ve zirai ilaç endüstrilerinde de önemli bir role sahiptirler [8], [9]. Sekonder metabolitler için açık erişimli bir veri tabanı olan Açık Doğal Ürünler Koleksiyonu’na (COCONUT) göre yaklaşık 400.000 tanımlanmış bitki kökenli özgün molekül bulunmaktadır ve her geçen gün sayıları artmaktadır [10]. Sekonder bileşikler açısından zengin bir içeriğe sahip olan pelin otu (*Artemisia absinthium* L.) kullanımı bilinen en eski tıbbi bitkilerden biridir. Papatyagiller (Asteraceae) familyasına ait olan türün; fenolik bileşikler, seskiterpen laktonlar, yağ

asitleri, flavanoidler, uçucu bileşikler ve steroller gibi önemli fitokimyasalları içerdiği birçok kaynakta bildirilmiştir [11]. Asya, Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Avrupa'da doğal olarak yayılımı olan pelin otu Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'nın ılıman bölgelerinde de doğallaştırılmıştır [12]. Farklı geleneksel ve tamamlayıcı tıp sistemlerinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitki özellikle sindirim problemleri, kronik ateş, inflamasyon, yara iyileşmesi ve parazit tedavisinde halk tarafından tercih edilmektedir [13]. Sahip olduğu aktif bileşikler ve tıbbi etkiler son yıllarda üzerinde yapılan araştırmalar ile her geçen gün aydınlatılmaktadır.

Yanık yaralanmaları; herhangi bir zaman diliminde, her bireyin başına gelme riski olan, oldukça travmatik durumlardan biridir. Dünya çapında hala önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre her yıl yaklaşık 11 milyon insan ağır yanık yaralanmaları nedeniyle ciddi tedavilere ihtiyaç duymakta ve ortalama 180.000 kişi bu sebeple hayatını kaybetmektedir [14]. Hastanın hayatta kalması birincil amaç olmakla birlikte, iyileşen yanık hastalarında farklı derecelerde yara izlerinin kalması önemli estetik sorunlardandır. Yanık alanına erken dönemde cerrahi müdahale ve deri grefti uygulamaları sağkalım oranını artırmakta, hastanede yatış süresini azaltmaktadır. Ancak hastanın genel durumu itibarıyla ameliyata uygun olmaması veya greft için yeterli miktarda sağlam derinin mevcut olmaması gibi durumlar da söz konusudur. Ayrıca yavaş yara iyileşmesi, ikincil enfeksiyon riski, ağrı ve hipertrofik skarlaşma gibi sorunlar yanık yönetimi sürecini olumsuz etkilemektedir [15], [16]. Bu sebeple yara örtüleri ve bakım materyalleri kullanılmaktadır. Kitosan temelli hidrojel yara örtüleri sıklıkla tercih edilen yara bakım malzemelerindendir. Yara iyileşmesini indükleyici özellikleri, kolay işlenebilir ve ulaşılabilir olmaları sebebiyle özellikle terapötik ajanların yara bölgesine kontrollü salınımında önemli rol üstlenmektedirler. Son yıllarda bu alandaki çalışmalar artmış olmakla birlikte, ülkemizde piyasada satılan yara örtüleri hala yetersiz sayıda ve kolay ulaşılabilir değildir.

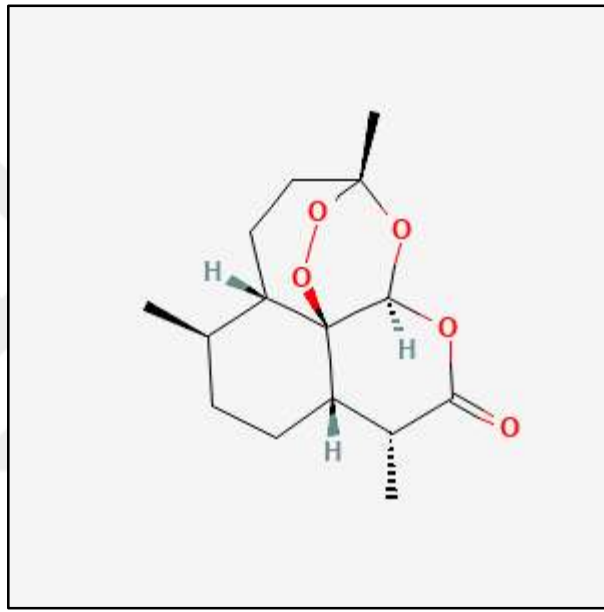
Tüm bu nedenler göz önünde bulundurularak; söz konusu olan çalışmada geleneksel olarak yanık ve yara tedavilerinde kullanılan pelin otunun farklı oranlarda ekstresini içeren kitosan temelli hidrojel yara örtüleri geliştirilmiş olup, deneysel sıçan yanık modeli üzerindeki etkilerinin çeşitli parametreler bazında araştırılması hedeflenmiştir. Umut vaat edici sonuçlar alınması halinde ürüne dönüşebilecek medikal bir yara örtüsünün elde edilmesi amaçlanmıştır.

1.1. ARTEMİSİA CİNSİ VE GELENEKSEL TIPTA KULLANIMI

Artemisia spp. Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'nın kuzey ılıman bölgelerinde bulunan, yayılmış 500'den fazla farklı türü kapsayan Papatyagiller (Asteraceae) ailesine ait bir cinstir [17], [18]. *Artemisia* genel adı bir Yunan tanrıçası olan, avcılık, orman ve doğumu simgeleyen Artemis kelimesinden türetilmiştir. *Artemisia* cinsinin en bilinen türlerinden olan *Artemisia vulgaris* L. halk tıbbında çeşitli kadın hastalıklarında tedavi edici olarak kullanıldığı için türe bu ismin verildiği düşünülmektedir [18]. Yavşan otugiller olarak da bilinen *Artemisia* spp. çok yıllık, iki yıllık ya da yıllık olarak yaşayan tıbbi ve aromatik çalılar olarak tanımlanmaktadır. Gümüş yeşili, koyu yeşil veya mavi-yeşil renklere sahip olan cinsin üyeleri içerdikleri terpenoidler ve seskiterpen laktonlar sebebiyle keskin bir kokuya ve ayırt edici bir tada sahiptirler [19], [20]. Papatyagiller ailesinin çiçekli bitkiler bölümünü temsil eden Anthemideae soyuna ait olan cinsin türleri içerdikleri uçucu yağlar sebebiyle kozmetik ve ilaç endüstrisinde önemli bir yer tutmaktadır. Çeşitli yöntemlerle damıtılarak elde edilen *Artemisia* türlerinin uçucu yağları terpenoidler, fenilpropanoidler ve alifatik bileşikler gibi çeşitli uçucu bileşikler içermektedirler [20]–[22].

Geleneksel olarak farklı kültürler tarafından dünyanın birçok yerinde çeşitli hastalıkların sağaltımında kullanılan, halk tıbbında tarihi bilinen en eski türlerdendir. Bayağı yavşan adıyla bilinen *Artemisia vulgaris* L. türünün düzensiz adet döngülerini stimüle ettiği ve düşüğe sebep olduğu bilinmektedir [23], [24]. Geleneksel Çin tıbbında karın ağrılarında, gastrik ülserde, hepatit, konvülsif kriz ve yenidoğan sarılığında akupunktur metoduyla kullanıldığı bildirilmiştir [24]. Ayrıca canlandırıcı, kan şekerini düşürücü, adet söktürücü, antiseptik, ekspektoran, diüretik, analjezik etkileri sebebiyle romatizma, kanser, astım ve epilepsi tedavilerinde kullanılmaya elverişli olduğu bildirilmiştir [24], [25]. Güney yavşan ya da kara yavşan olarak bilinen *Artemisia abrotanum* L. türünün halk tıbbında daha çok üst solunum yolları rahatsızlıklarında kullanıldığı bilinmektedir [22]. Taze yapraklarından elde edilen esansiyel yağının burun spreyi şeklinde solunum rahatsızlıklarında ve alerjik rinitte kullanıldığı bildirilmiştir [19]. Akdeniz'e özgü olan ve boyu 1 metreye dek ulaşabilen *Artemisia arborescens* L. türü antiinflamatuvar ajan olarak kullanılmaktadır [20], [22]. Esansiyel yağının Herpes simpleks virüsleri üzerinde antiviral etki gösterdiği bulunmuştur [17], [26]. Cinsin en çok tanınan türlerinden biri olan *Artemisia annua* L. ülkemizde peygamber süpürgesi olarak isimlendirilmektedir. Çinli bilim insanı You-You Tu ve ekibi 1972 yılında

bitkiden elde ettikleri ve Qinqhaosu adını verdikleri molekülle sıtmaya karşı başarılı bir tedavi metodu geliştirmişlerdir [27]–[29]. Daha sonra artemisinin olarak adlandırılan ve yarı sentetik türevleri ile günümüzde sıtmaya karşı ilaç olarak kullanılan bu molekül, özgün bir endoperoksit yapısıyla birlikte kimyasal olarak seskiterpen lakton sınıfındadır [29]. *Artemisia* genusunun en bilinen türlerinden biri olan ve pelin otu olarak isimlendirilen *Artemisia absinthium* L. sarı çiçekli, çok yıllık bir bitkidir. Cinse ait diğer türlerin aksine geleneksel tıpta kullanımının haricinde, toprak üstü kısımları yaygın olarak içki yapımında da kullanılmaktadır [29]. Artemisinin kimyasal yapısı Şekil 1.1’de gösterilmektedir.



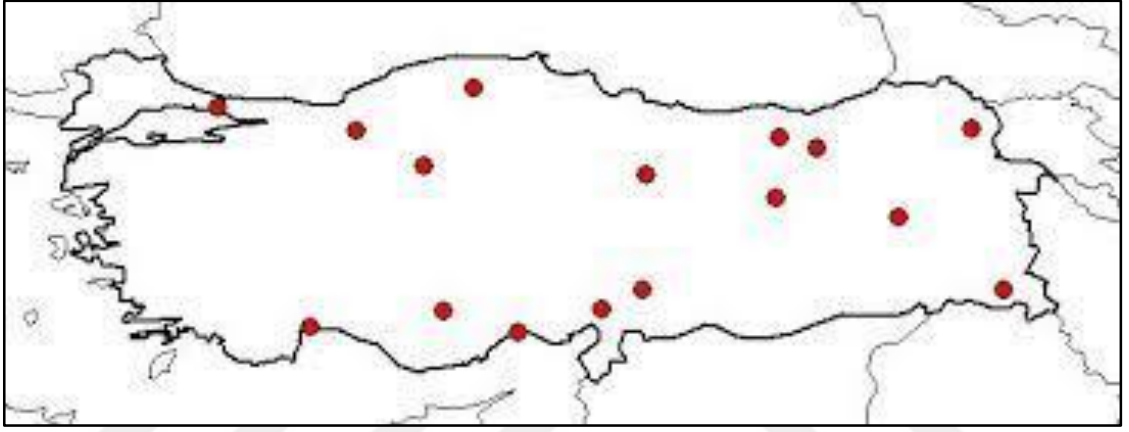
Şekil 1.1. Artemisinin kimyasal yapısı (Pubchem’den alınmıştır.).

1.2. PELİN OTU (*ARTEMİSİA ABSİNTHIUM* L.)

Pelin otu ya da Latince ismiyle *Artemisia absinthium* L. yeşil-gri tüylü parçalı yaprakları ve küçük sarı çiçekleri olan, acı tadlı, aromatik, 40-120 cm yüksekliğinde, çok yıllık çalı benzeri bir bitkidir [30], [31]. Çiçekli gövdesi ve yaprakları beyazımsı, ince, ipeksi tüylerle kaplıdır. Meyveleri aken şeklinde olup, yaz başlarından sonbahara dek çiçeklenme mevsimidir [32]. İşlenmemiş, kurak zeminlerde, kayalık yamaçlarda, patika ve tarla kenarlarında doğal olarak yetişir [33]. Bitki sistematğine göre bitkiler alemine, kapalı tohumlular bölümüne, iki çenekliler sınıfına, papatya takımına, papatyagiller ailesine ve *Artemisia* cinsine aittir [12]. Ayırt edici acı tadı sebebiyle Antik Yunan’da içilemez anlamına gelen ‘absinthium’ adını almıştır. Eski çağlardan

beri geleneksel olarak bağırsak kurtlarının tedavisinde kullanıldığı için İngilizce ‘wormwood’ olarak bilinmektedir [19].

Çeşitli geleneksel tıp sistemlerinde farklı hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinen tür, çok eski dönemlerden beri etnofarmakolojik açıdan kayda değer bir öneme sahiptir. Tıbbi kullanımı antik Mısır dönemine ait olan Ebers Tıp Papirüsü’ne (MÖ 1552) dek takip edilebilmektedir [34]. Türkiye Bitkileri Veri Servisi’nden (TÜBİVES) alınan bilgilere göre Türkiye’nin kuzeyi, Karasal Anadolu ve Güneydoğu Anadolu’da; akarsu kenarı, tarla, yamaç ve steplerde kendiliğinden yetişmektedir [35]. Pelin otunun Türkiye’de doğal olarak dağılım gösterdiği yerler Şekil 1.2’de gösterilmektedir.

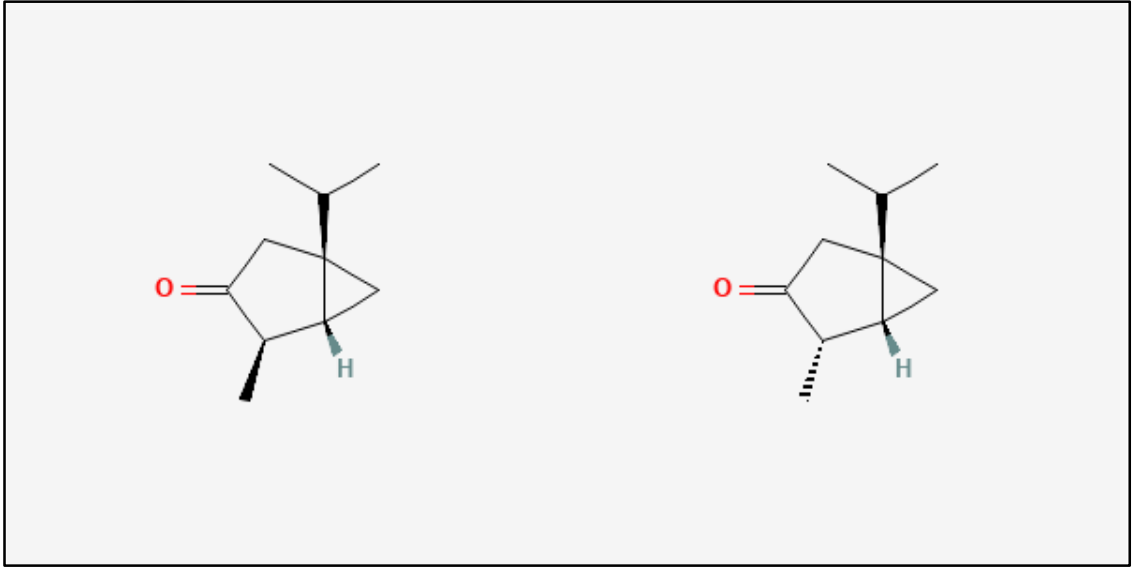


Şekil 1.2. Pelin otunun Türkiye’de doğal dağılım gösterdiği yerler (TÜBİVES) [35].

Pelin otu, 1792 yılında Fransız doktor Pierre Ordinaire tarafından tıbbi amaçla üretilen absent içeceğinin ana maddesidir. Absentizm adı verilen psikotik olayları tetiklemesi sebebiyle 18. ve 19. yüzyıllarda eğlence amaçlı kullanımının çok fazla olduğu bilinmektedir [30], [36]. Yeşil peri olarak da adlandırılan içkinin Vincent van Gogh, Henri de Toulouse-Lautrec ve Paul Gauguin gibi ünlü ressamlar ile Oscar Wilde, Charles Baudelaire, Edgar Allan Poe gibi tanınan edebiyatçılar tarafından tüketildiği bilinmektedir. Bitkinin etil alkol ile maserasyonu sonrası damıtılması ile ortaya çıkan uçucu tıyon molekülünün psikoaktif etkilerinin olduğu bilinmektedir. 19. yüzyılda kullanımının ölçsüz boyutlara ulaşması sonucu yasaklanan içkinin vertigo, kasılma nöbetleri, halüsinatif hezeyan gibi akut etkileri ile delilik, felç, psikoz gibi kronik etkileri olduğu bildirilmiştir [36].

Monoterpen keton yapıda olan tıyon; adaçayı (*Salvia officinalis* L.), misk adaçayı (*Salvia sclarea* L.), solucan otu (*Tanacetum vulgare* L.), pelin otu (*Artemisia absinthium* L.), batı mazısı (*Thuja occidentalis* L.) gibi türlerin de örnek olarak

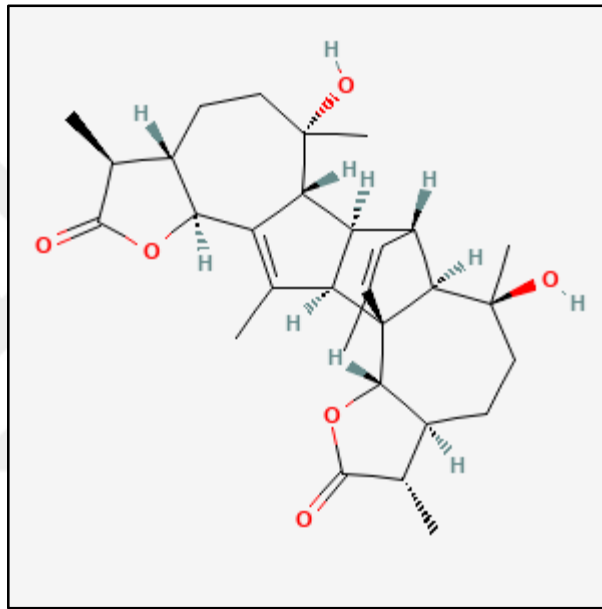
sayılabileceği çok sayıda farklı bitkide bulunan doğal yapı bir moleküldür. Tuyon doğal olarak α - ve β - şeklinde iki diastereomer halinde bulunmaktadır [37]. Deney hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada α -tuyon ile α , β -tuyon karışımlarının beyin ve plazma üzerindeki etkileri araştırıldığında; α -tuyonun daha hızlı emildiği ancak daha zor elimine olduğu, asıl nöro toksik etkiye sebebiyet verdiği bildirilmiştir [38]. Serotonin reseptörleri grubundan olan 5-HT₃ reseptörünün aktivitesini inhibe ettiği için psikotropik etkilere yol açtığı öne sürülmektedir [39]. Avrupa İlaç Kurumu'nun (EMA) 2012 yılında güncellediği bir rapora göre maksimum 2 haftayla sınırlandırmak üzere; günlük alınabilecek tuyon dozu pelin otu içeren ürünlerde 3 mg, adaçayıda ise 5 mg olarak belirlenmiştir [40], [41]. Günümüzde alkollü içeceklerin dışında esans ve koruyucu ajan olarak kozmetikte, renk ve aroma verici olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır [42]. Alfa ve beta tuyonun kimyasal yapısı Şekil 1.3'te gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Alfa ve beta tuyonun kimyasal yapısı (Pubchem'den alınmıştır.).

Tuyon içeriğiyle bilinen pelin otu fitokimyasal açıdan oldukça zengindir. Başlıca laktonlar, terpenoidler, esansiyel yağlar, organik asitler, reçine, tanenler ve fenolik bileşikler olmak üzere çok çeşitli biyoaktif moleküle sahiptir [43], [44]. Türe özgü karakteristik acı tadı veren ve kimyasal olarak seskiterpen lakton yapıda olan absintin [36]; insektisit aktivite gösteren sekonder metabolitlerdendir. Karıncaların, lahana kurtlarının ve yaprak pirelerinin, kırmızı örümcek ve beyaz sineklerin uzaklaşmasını sağladığı bildirilmiştir [45]. Bitkinin tamamında yaklaşık olarak %0,15-0,4 oranında bulunabilen seskiterpen laktonlardan en öne çıkanları ise artabsin, anabsintin, matrisin

şeklinde sıralanabilir [46]. Çok sayıda farklı fenolik bileşik içeren tür; çeşitli kuersetin glikozitleri gibi flavanoidlerin yanı sıra, kafeik, klorojenik, vanilik, kumarik, salisilik ve sirinjik asit gibi organik asitleri de bünyesinde bulundurmaktadır [22], [44]. Daha çok uçucu bileşiklerin yer aldığı terpenler grubunda ise başlıca tuyon, azulen türevleri, sabinen, kampen, mirsen, linalol, β -pinen tanımlanmıştır [44]. Azulen ve türevleri olan kamazulen ile guaiazulen, birçok tıbbi etkilerinin yanında özellikle antiinflamatuvar etkileriyle bilinmektedir [47]. GC, GC-MS ve ^{13}C NMR kullanılarak yapılan pelin otu esansiyel yağı analizinde yaklaşık olarak 100 farklı bileşik tanımlanmıştır [48]. Absintinin kimyasal yapısı Şekil 1.4'te gösterilmektedir.



Şekil 1.4. Absintinin kimyasal yapısı (Pubchem'den alınmıştır).

1.2.1. Pelin Otunun Geleneksel Tıpta Kullanımı

Pelin otu (*Artemisia absinthium* L.) halk tıbbında çok eski zamanlardan beri önemli bir yer tutmaktadır. Alman Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi, Avusturya Farmakopesi, İngiliz Farmakopesi, İsviçre Farmakopesi, ESCOP Monografları, Komisyon E Monografları, FFD Monografları'na kayıtlıdır [49]. Tür yüzyıllar boyunca farklı gastrointestinal rahatsızlıklar üzerinde etkili bir şekilde kullanılmıştır. Ülkemizde geleneksel ve tamamlayıcı tıpta kullanılan bitkisel droglar hakkında kült bir eser olan Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi adlı kitabında Prof. Dr. Turhan Baytop pelin otunun Anadolu'da mide rahatsızlıklarında, kuvvet verici, iştah açıcı, ateş düşürücü ve idrar söktürücü olarak kullanıldığını yazmıştır. Ayrıca kurt düşürücü ve adet söktürücü etkilerinden bahsetmiştir. Yüksek dozlarda toksik olduğundan bahseden Baytop, toz

şeklinde 1-2 gram, demleme (%0,5-3) olarak günlük 2-3 bardak tüketilebileceğini bildirmiştir [31].

Sakarya’da yapılan kapsamlı bir etnobotanik araştırmada pelin otunun toprak üstü kısımlarının tazeyken ıslatılarak inflamasyonlu yaraların üzerinin kaplandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada düşük dozlarının demlenerek çay şeklinde mide hastalıklarında, iştah açıcı ve enerji verici olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Ateş sonrası bağışıklık sistemini güçlendirmek ve bağırsak kurtlarını tedavi etmek amacıyla, adet döngüsünü düzenlemek ve kasılmaları azaltmak amacıyla da yine infüzyon şeklinde kullanıldığı bildirilmiştir. Bahsedilen uterus üzerindeki etkileri sebebiyle düşüğe sebep olduğu için hamilelerin tüketmediği bildirilmektedir [50]. Kırklareli’nin farklı bölgelerinde yürütülen 126 tıbbi bitkinin halk tarafından kullanımına yönelik yapılan bir araştırmada; pelin otunun toprak üstü kısımlarının infüzyon şeklinde abortus amaçlı, karın ağrılarında, iştah açıcı ve kan temizleyici olarak 5-6 gün süreyle 1-2 çay bardağı olmak üzere günde iki kez tüketildiği bildirilmiştir. Kaynatılarak elde edilen dekoksionunun ise; diyabet, rahim kistleri, tüberküloz ve hipertansiyon için 7-8 gün süreyle günde 1-2 çay bardağı tüketildiği rapor edilmiştir. Genç filizlerinin küçük parçalara doğranarak sıtma tedavisinde günde iki kez 8 gün süreyle kullanıldığı bilinmektedir. Yapraklarından parçalanıp yağ içerisinde ısıtılarak hazırlanan maseratın yara üzerine sıcak pansuman yoluyla günde bir kez iyileşene dek uygulandığı belirtilmektedir [51]. Hakkari ili ve ilçelerinde yerel halk tarafından kullanılan tıbbi bitkilerin araştırıldığı bir çalışmada diyabet, nefes darlığı, ateş ve kurt düşürücü, iştah açıcı ve mide rahatsızlıklarına karşı pelin otunun kurutulmuş çiçek ve yapraklarının suda kaynatılarak içildiği bildirilmiştir [52]. Türkiye’de geleneksel olarak astım tedavisinde kullanılan bitkilerin derlendiği bir çalışmada, pelin otu yapraklarından elde edilen infüzyonun astım tedavisinde kullanıldığı kaydedilmiştir [53]. Adana Pozantı ve çevresinde yürütülen bir etnobotanik araştırmada su ile kaynatılarak hazırlanan pelin otunun aç karna şeker hastalığının tedavisinde tüketildiği belirtilmektedir. Bitkinin adet geciktirici, gaz söktürücü ve iştah açıcı olarak da kullanıldığı bildirilmiştir [54].

Litvanya’da 19. yüzyılda halk tıbbında kullanılan bitkilerin araştırıldığı geniş bir retrospektif çalışmada, pelin otu çiçeklerinin dekoksion, infüzyon, tentür ve herhangi bir işlem görmeden ham olarak çeşitli hastalıkların sağaltımında kullanıldığı bulunmuştur. Bu hastalıklar mide rahatsızlıkları, diyare, dizanteri, genel karın ağrısı, reflü, kasık fıtığı, sarılık, bulantı, diş ağrısı, bağırsak kurdu, iştahsızlık, menstrüal

problemler, bakteriyel enfeksiyon, ateş, şişlik, kramplar, baş ağrısı, göğüs ağrısı, öksürük, solunum problemleri, çıban, kesik ve yaralar, erizipel (yılancık hastalığı) şeklinde sıralanmıştır [55]. Hint alt kıtasında yer alan Cemma ve Keşmir eyaletinde yapılan bir çalışmada pelin otunun ateş, epilepsi, karaciğer ve dalak büyümesi ile üriner hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanıldığı kaydedilmiştir [56]. Pakistan'ın Kurram bölgesini kapsayan kantitatif bir etnobotanik araştırmada pelin otunun tıbbi amaçla tüm kısımlarının kullanıldığı belirtilmiştir. Aynı araştırmada deri döküntülerinde, kan temizleyici olarak, diyabette, sıtmada dekoksiyon şeklinde kullanımı rapor edilmiştir [57]. Akne vulgaris tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bir tür olduğu bilinmektedir [58], [59]. Pelin otunun botanikçi Walther Otto Mueller tarafından çizilen illüstrasyonu Şekil 1.5'te gösterilmektedir.



Şekil 1.5. Pelin otu kısımlarının ayrıntılı çizimi (Walther Otto Mueller, 1885) [36].

1.2.2. Pelin Otu Üzerinde Yapılan Modern Farmakolojik Araştırmalar

Pelin otuna ait yapılan modern farmakolojik araştırmalar, çoğunlukla geleneksel kullanımının etki mekanizmalarını aydınlatmak üzerine odaklanmıştır. Çeşitli çalışmalarda antiprotozoal, antibakteriyel, antifungal, antiülser, hepatoprotektif, antiinflamatuvar, immünomodülatör, sitotoksik, analjezik, nöroprotektif, antidepresan, nörotropik ve antioksidan etkileri olduğu kanıtlanmıştır [12], [13], [42]. Yüzyıllardır çeşitli gastrointestinal hastalıklar üzerinde etkin bir biçimde kullanılan türün antiülser

etkisini araştırmak amacıyla Sprague-Dawley cinsi albino sıçanlar üzerinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir. %95'lik etanol ile perkolasyon sonrası hekzan ile yağı ayrıştırılan, kağıt kromatografisi ile fraksiyonlanarak sulandırılan pelin otu ekstresi kullanılmıştır. Asetilsalisilik asit ile ülser modeli oluşturulmadan üç saat önce gavaj ile 5 mg/kg dozunda ekstre verilen hayvanlar,  gün süreyle asetilsalisilik asit muamelesine maruz bırakılmıştır. Deney sonunda sakrifiye edilen hayvanların mideleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında msin aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmazken, mide özsuyu, asit çıkışı ve peptik aktivitede anlamlı azalma bulunmuştur [60]. Gastroprotektif etkilerinin kantitatif olarak araştırıldığı farklı bir çalışmada toprak üstü kısımlarından dekoksasyon hazırlanarak Swiss albino cinsi farelerin mideleri üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Etanol ile ülser modeli oluşturulmadan önce deney grubuna 400 mg/kg dozunda ekstre, kontrol grubuna aynı dozda gavaj ile su verilmiştir. Etanol ile muamele edilen hayvanların yarım saat sonra sakrifikasyonu takiben çıkarılan mideleri incelendiğinde, pelin otu ekstresinin ülser indeksine göre %91 oranında koruma sağladığı bildirilmiştir [61].

Diyabet zerindeki etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada pelin otu yapraklarının metanolik Soxhlet ekstresinin etkilerine bakılmıştır. Wistar cinsi albino sıçanların kullanıldığı çalışmada diyabet modeli intraperitoneal streptozotosin enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. 60 gün süreyle oral olarak ekstre verilen hayvanlardan her iki haftada bir alınan kan sonuçlarına göre açlık glukoz düzeylerinin normale yakın seyrettiği ve plazma insülin seviyelerinin ise kontrol grubuna göre arttığı sonucuna varılmıştır [62]. Hiperglisemi ve hipoinslinemi üzerindeki olumlu etkileri sebebiyle, aynı araştırma ekibinin referans antidiyabetik ilaç metformin ile ekstrenin etkilerini karşılaştırdıkları diğer bir deney hayvanı devam çalışmasında da birbirine benzer etkiler gösterdikleri bildirilmiştir [63]. Swiss albino fareler üzerinde gerçekleştirilen bir depresyon çalışmasında intraperitoneal enjeksiyon ile verilen çiçeklenme dönemindeki pelin otu ekstresinin etkilerine bakılmıştır. Yaygın olarak antidepresanların etkinliğinin ölçüldüğü zorunlu yüzme ve kuyruk süspansiyon testleri uygulanan hayvanlarda; 500 mg/kg dozundaki ekstre referans antidepresan ilaç imipramin ile benzer sonuçları vermiştir [64]. Kunming albino fareler üzerinde yapılan bir karaciğer hasarı çalışmasında, 50 mg/kg, 100 mg/kg 200 mg/kg şeklinde üç doz sulu pelin otu ekstresi hasar oluşturmadan önce 7 gün süreyle hayvanlara verilmiştir. Oral tek doz karbon tetraklorür (CCl₄) uygulamasından 16 saat sonra sakrifiye edilen hayvanların kan ve karaciğerleri

değerlendirilmiştir. Serumda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) seviyeleri açısından karşılaştırıldığında; özellikle en yüksek doz olmak üzere referans ilaç silimarin ile benzer sonuçlar vermişlerdir. Yüksek antioksidan etkisi olduğu bilinen bitkinin ekstresi karaciğer dokusunda bakılan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GTx), malonil dialdehit (MDA) seviyelerini de normal seviyede tuttuğu rapor edilmiştir [65].

Mısır'da yapılan bir çalışmada yaygın bir bağırsak tenyası türü olan *Hymenolepis nana* ile enfekte edilen fareler üzerindeki antihelmintik etkisine bakılmıştır. Enteral pelin otu dekoksasyonu verilen farelerde, feçesde tenya yumurtası sayısında azalma ve bağırsaklardaki mevcut tenyalarda etkisizlik gözlenmiştir. Referans ilaç praziquantel ile etkileri kıyaslandığında umut verici sonuçlar elde edildiği kaydedilmiştir [66]. *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) suşu üzerinde etanolik ekstresinin etkilerine bakılan bir çalışmada yüksek bakteriyostatik aktivite ve bakterisidal etki görüldüğü bildirilmiştir [67]. Yaprak ve tohumlarının etanolik ekstresinin sitotoksik aktivite ve apoptotik hücre ölümlerine etkisi çok kapsamlı bir in vitro çalışmada incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre pelin otu ekstreleri; insan akciğer karsinoma (A-549), insan kolorektal karsinoma (CCC-221), insan lösemik karsinoma (K-562), insan meme karsinoma (MCF-7), insan prostatik karsinoma (PC-3) hücre hatları üzerinde belirgin sitotoksik etki ($\geq 70\%$) göstermiştir [68]. Metanolik pelin otu ekstresinin insan kolorektal karsinoma (HCT-116) hücre hattı üzerinde etkilerinin incelendiği bir çalışmada, apoptozisi hızlandırdığı, Bax/Bcl2 ekspresyonunu iyileştirdiği, hücre siklusunu durdurduğu, kaspaz-3 aktivasyonu ve mitokondriyal membran potansiyeli yıkımı sağladığı belirtilmiştir [69]. Metanolik ekstresinin etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada insan kolon (DLD-1) ve endometrium (ECC-1) kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. İçerdiği yüksek antioksidan miktarı sayesinde kanser hücrelerinin apoptozisini hızlandırdığı sonucuna varılmıştır [70]. Hepatoprotektif etkileri bilinen türün etanol ekstresi ile petrol eteri ve etilasetat fraksiyonlarının insan karaciğer (BEL-7404) ve fare karaciğer (H22) kanser hücre hatları üzerindeki antitümör etkileri araştırılmıştır. Her iki hücre hattında da ekstre ve fraksiyonların etkin şekilde apoptozisi indüklediği bulunmuştur. Endoplazmik retikulum stresi ve mitokondri bağımlı yolların hücre ölümüne aracılık edebileceği öne sürülmektedir [71]. Metastatik (MDA MB-231) ve metastatik olmayan (MCF-7) meme kanseri hatlarında yapılan bir çalışmada pelin otunun hekzan ekstresi ile bitkiden

saflaştırılan artemisinin, artemisinik asit ve α -tuyon sitotoksik açıdan karşılaştırılmıştır. Bitkinin tamamının kullanıldığı ekstre saflaştırılan moleküllerin test edildiklerine oranla anlamlı sitotoksik etki göstermiştir. Total bitki ekstresinin sinerjistik, allosterik ya da antagonistik etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir [72].

Metanolik Soxhlet ekstresinin Wistar albino sıçanlar üzerinde eksizyonel yara modelindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada %5 ve %10 pelin otu içeren merhemler kullanılmıştır. 18 gün süreyle günde bir kez topikal olarak tedavi edilen hayvanların dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde, her iki dozun da sonuçları yara iyileşmesi açısından belirgin anlamlı çıkmıştır. Özellikle yüksek doz ekstre içeren merhem referans ilaç Cicatryl-Bio ile eşdeğer kolajen ürettiği ve yeniden epitelizasyonu sağladığı bildirilmiştir [73]. Aynı oranlarda pelin otu esansiyel yağı içeren merhemlerin kullanıldığı devam çalışmasında, sıçanların yaralarının düzenli epidermis dokusu, yeniden epitelizasyon, granülasyon ve kolajen oluşumu açısından yüksek oranda iyileşme kaydettikleri belirtilmiştir [74]. Sıcak metanolik pelin otu ekstresinin kullanıldığı eksizyonel bir yara çalışmasında, referans ilaç povidon iyot ile karşılaştırıldığında 12. gün sonunda yaranın %99 oranında kapandığı ve inflamasyonun çok daha az görüldüğü bildirilmiştir [75]. Esansiyel yağı ile sulu ekstresinin analjezik ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırıldığı bir deney hayvanı çalışmasında, yapılan çoklu testlerin her birinde anlamlı sonuçların olduğu bildirilmiştir [76]. İnflamatuvar bir bağırsak hastalığı olan Crohn üzerinde yapılan çift kör plasebo kontrollü bir klinik çalışmada, pelin otu kapsülü ile plasebo kapsül alan hastalar karşılaştırıldığında; pelin otu kullananlarda standart steroid kullanım miktarlarının azaldığı ve hastalık belirtilerinde iyileşme görüldüğü kaydedilmiştir [43]. Crohn hastaları üzerinde yapılan kontrollü bir başka klinik çalışmada standart tedavilerinin yanında pelin otu kapsülü alan hastaların serum TNF- α seviyelerinde anlamlı azalma görüldüğü ve genel durumlarının kontrol grubuna göre iyileştiği gözlemlenmiştir [77].

Total fenolik bileşiklerinin hesaplandığı ve iki farklı metotla antioksidan kapasitesinin ölçüldüğü bir çalışmada, doğal antioksidan kaynağı olduğu rapor edilmiştir [78]. Esansiyel yağının *Escherichia coli* 95, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Aspergillus niger* ATCC 16404 suşları üzerinde güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir [48]. Aşıl tendonu hasarı oluşturulan tavşanlarda etanolik ekstresinin günde bir kez

enjekte edildiği bir çalışmada iyileşme hızının belirgin anlamlı arttığı bildirilmiştir [79]. Randomize çift kör kontrollü bir osteoartrit klinik çalışmasında, pelin otu içeren merhem ile referans ilaç piroksikam jel karşılaştırıldığında; eklem katılığı, ağrı ve fiziksel fonksiyonlarda kayda değer etkisi olduğu rapor edilmiştir [80]. Swiss albino sıçanlar üzerinde oluşturulan fokal iskemi ve serebral hasar öncesi uygulanan metanolik pelin otu ekstresinin nöroprotektif etkileri olduğu ve bu sebeple felç tedavilerinde kullanılabileceği belirtilmiştir [81].

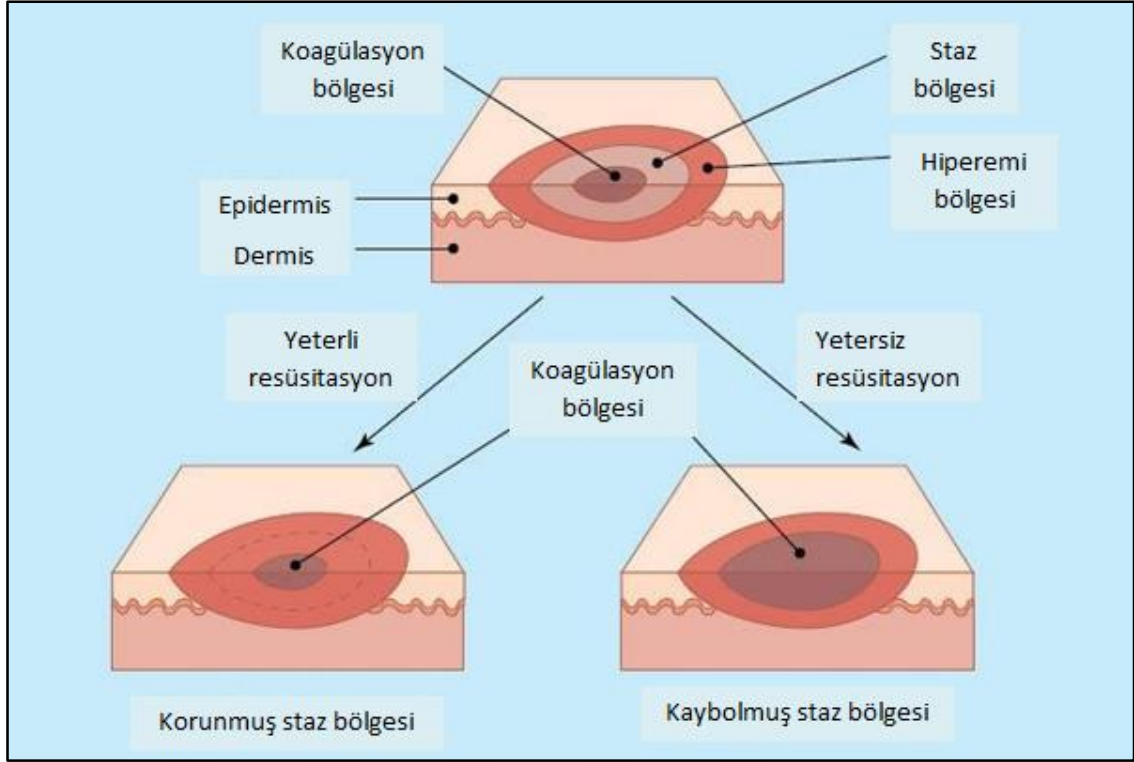
1.3. YANIK YARALANMALARI

Yanık kazaları, insanlığın başlangıcıyla birlikte ortaya çıkan ve günümüzde hala tüm dünyada önemli bir sorun teşkil eden sağlık problemlerindendir. Yanığa bağlı yaralanmalar, her bireyin başına herhangi bir yer ve zamanda gelebilen en ağır travmalardandır. Kayda değer ağrıya sebep olan küçük yaralanmalardan başlayarak, sakatlık, şekil bozukluğu ve ölümle sonuçlanabilen geniş bir spektrumu kapsamaktadır. Trafik kazaları, düşme ve fiziksel şiddetten sonra dünya çapında en sık rastlanan yaralanmaları yanıklar takip etmektedir [82], [83]. Yanıklar; sürtünme, soğuk, sıcak, radyasyon, kimyasal ve elektrik kaynaklarına bağlı olarak gerçekleşebilmektedir. Büyük çoğunluğu ısı kaynaklarına bağlı olarak, sıcak sıvılar (haşlanma), sıcak katılar (kontakt yanıklar) ve alev kökenli yanıklardır. Tüm yanık yaralanmaları enerji transferinden kaynaklanan doku yıkımını içerse de, farklı kaynakların sebep olduğu yanıkların patofizyolojileri birbirinden ayrıdır. Alev yanıkları deride hemen derinleşebilirken, haşlanmaya bağlı yanıklar başlangıçta yüzeysel seyredebilir. Bazik kimyasallar koliküatif (sıvı kabarcıklı) nekrozlar oluştururken, asidik kimyasal kökenli yanıklar koagülatif (kuru) nekrozlar oluşturma eğilimindedirler [84]. Elektrik kaynaklı yanıklar ise kaynağın gücüne bağlı olarak, görünür deri hasarlarından çok derin doku ve organ hasarı meydana getirmektedir [84], [85]. 20. yüzyılın ilk yarısına kadar yanık tedavilerinin sınırlı olması sebebiyle, hastalar kazayı takip eden ilk birkaç gün içerisinde hipervolemik şok nedeniyle hayatlarını kaybetmekteydiler. Ancak son elli yılda yanık bakımı ve tedavisinde kaydedilen gelişmeler sayesinde yanık hastalarının hayatta kalma oranı büyük ölçüde artmıştır. Erken resüsitasyon, enfeksiyon yönetimi, yara bakımı ve vücut sıvılarının dengelenmesi bu gelişmeler arasında sayılmaktadır [86].

1.3.1. Termal Yanıkların Patofizyolojisi

Termal yanıklar, özel yanık merkezlerinde tedavi gerektirebilen en yaygın yanığa bağlı yaralanma türüdür. Yanık yaralanmalarının yaklaşık %86'sını oluşturan termal yanıkların %43'ü ateş veya alevden, %34'ü sıcak sıvılardan ve %9'u sıcak nesnelerden kaynaklanır. Yanık yaralarının toplamda sadece %4'ü elektrik, %3'ü kimyasallar ve %7'si radyasyon veya diğer kaynaklardan meydana gelmektedir [87]. Termal yanıklar ve buna bağlı yaralanmalar, özellikle kırk yaşın altındaki kişilerde önemli bir sakatlık ve ölüm nedenidir. Gelişmiş ülkelerde dahi, yılda iki milyondan fazla kişi ciddi şekilde yanmakta ve tıbbi tedaviye ihtiyaç duymaktadır. Termal yanıklarda ısıya bağlı hücre nekrozları sebebiyle lokal yaralar oluşmaktadır. Nekroz oluşan dokunun iletkenliği, maruz kalınan ısının dağılma veya emilme oranını belirler ve çeşitli fiziksel özelliklere bağlıdır. Bu özellikler periferik dolaşım, dokunun su içeriği, derinin kalınlığı, pigmentasyon, yağ tabakası ve kıl kökleri olarak sıralanabilir [88].

Yanık travması esnasında yüksek sıcaklıklara maruz kalmak, proteinlerin termal denatürasyonu yoluyla doku hasarına ve plazma membran bütünlüğünün kaybolmasına yol açar. Bu sebeple hücre ölümünü takiben toksik metabolitler, antijenler ve immünomodülatör ajanların salınımına yol açan çeşitli moleküler yapısal değişiklikler meydana gelir [89], [90]. İlk doku hasarı sonrası immünkompetan hücreler aracılığıyla inflamatuvar yanıt oluşmaktadır. İnflamatuvar yanıt lokal olarak oluşan ödem ve değişen sistemik dolaşımı kapsamaktadır [90], [91]. Yanık yaralanmasının patofizyolojisini doğru anlamak, tedavi yönetimi için oldukça önemlidir. Bu bağlamda Jackson Yanık Modeli olarak bilinen ve yarayı üç eş merkezli bölge halinde organize eden yöntemden sıklıkla yardım alınmaktadır [92]. Yanık bölgesindeki lokal değişiklikler merkezde nekrozu gösteren koagülasyon bölgesi, çevresinde zayıf vasküler akış ile staz bölgesi ve en dışta inflamatuvar yanıt sonucu kan akışı artan hiperemi bölgesi şeklindedir [90], [93], [94]. Genellikle durağan olarak seyreden staz bölgesi, termal yaralanmayı takip eden ilk 48 saat içerisinde ilerleyerek nekrotik hale gelmektedir. Bunun sonucunda ilk yanık alanı genişleyerek derinleşmektedir [95]. Jackson Yanık Modeli'ne göre yanık alanlarının sınıflandırılması Şekil 1.6'da gösterilmektedir.



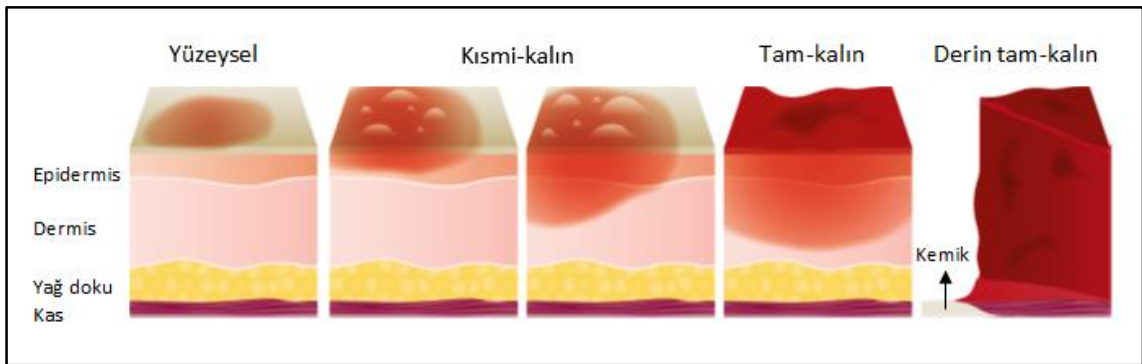
Şekil 1.6. Jackson Yanık Modeli ile yanık bölgelerinin sınıflandırılması [92].

Bozulan cilt bütünlüğü termal yaralanmanın en ayırt edici özelliğidir. Vücut, bir yanık yaralanmasından hemen sonra kan damarlarının kasılma, küçülme ve pıhtılaşma sürecini başlatarak homeostazı korumaya çalışır [96]. Bunun haricinde yanık yaralanmalarına da diğer travmalar gibi yanıt vererek, hem lokal hem de sistemik inflamasyonu başlatan sitokinlerin salınımını başlatır. Akut inflamasyonda anahtar sitokinlerin tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 olduğu belirtilmiştir (IL-6) [97], [98]. Bu kaskat mekanizması transkripsiyon faktörlerinden olan nükleer faktör kappa beta (NF- κ B) aktivasyonu ile başlar ve hasarlı bölgeye nötrofil, makrofaj ve diğer bağışıklık araçlarının migrasyonu ile sonlanır. Bu mekanizmaya ek olarak mast hücreleri doku travmasıyla doğrudan aktive olabilir ve vasküler geçirgenliği artıran histamin salgılayabilir. Araşidonik asitten siklooksijenaz yardımıyla enzimatik olarak sentezlenen prostaglandinler (PGD₂, PGE₂, PGI₂) de damar geçirgenliğini artıran güçlü vazodilatörlerdendir. Vazodilatasyon sonucu hasarlı dokuya oksijen iletim hızı artar ve vasküler geçirgenlik akut inflamatuvar yanıtın çeşitli bileşenlerinin yaralanma bölgesine göç etmesine izin verir [97]–[100].

Oluşan doku hasarının büyüklük ve derinliğine göre yapılan sınıflandırma uygulanacak tedavinin seyrini belirlemektedir. Doku hasarının artışına göre sınıflandırılan yanık yaraları dört ana kategoride incelenmektedir:

- 1. Yüzeysel, 1.derece yanıklar:** Eritem olarak da bilinen bu yanıklar, cildin en üst tabakası olan epidermisi etkileyen yanıklardır. Kızarıklık, hafif şişlik ve 48-72 saat arası ağrı ile seyreder [83], [101]. Termal hasar alan epidermis 5 ile 10 gün aralığında soyulur ancak gözle görülür bir skar kalmaz. Güneş yanıkları en sık karşılaşılan epidermal yanıklardandır [102].
- 2. Kısmi-kalın, 2.derece yanıklar:** Epidermis ve derminin farklı derinliklerde hasar aldığı yanıklardır. Hasara bağlı olarak oluşan inflamasyon sonucu eritem ve su kabarcıkları gözlenir. Yara çevresi nemli, ağrılı, pansuman gerektiren, skar bırakabilen, 21-35 gün aralığında iyileşme gösteren yanıklardır [83], [84], [102].
- 3. Tam-kalın, 3.derece yanıklar:** Derminin daha derin tabakalarına doğru inen, su kabarcıklarının olmadığı, belirgin ödem ve duyu değişiminin olduğu yanıklardır [102]. Bu tarz yanıklarda deri kahverengi, bronz veya koyu kırmızı şeklindedir [83]. Ağrı reseptörlerinin kısmen tahrip olması sebebiyle daha az ağrılı, yara çevresinin daha kuru olduğu, skar bırakan ve cerrahi işlem gerektirebilen hasarlar oluşmaktadır [84].
- 4. Derin tam-kalın, 4.derece yanıklar:** Subdermal doku ve organları da içine alan derin tam kalın yanıklar vücudu sistematik şekilde etkiler. Derin tam kalınlıkta bir yanık; epidermis, dermis ve deri altı tabakası boyunca uzanmaktadır. Kas, kemik ve interstisyel doku çoğu kez zarar görmüştür [102]. Konservatif ve cerrahi tedavinin birlikte yürütüldüğü yanıklardır [84].

Kalınlıklarına göre yanıkların sınıflandırılması Şekil 1.7’de gösterilmektedir.



Şekil 1.7. Kalınlıklarına göre yanıkların sınıflandırılması [84].

1.3.2. Yanık Yönetimi

Cilt; sayısız çevresel tehdide karşı koruyucu fiziksel bir bariyer olarak iş görmektedir ve vücut homeostazının korunmasında kritik bir öneme sahiptir. Cilt bütünlüğündeki herhangi bir bozulma, hastayı enfeksiyon, sıvı kaybı ve elektrolit dengesizliği gibi birçok patolojik duruma karşı savunmasız hale getirebilmektedir. Bu nedenle etkili ve eksiksiz yara iyileşmesi süreci, hastanın genel sağlığı için büyük önem arz etmektedir [103]. Yanık yarasının iyileşmesi hücrel ve biyokimyasal bir dizi olayın sonucudur. Yaranın derinliği, boyutu, yayıldığı alan(lar), hastanın yaşı ve genel sağlık durumu yanığın ciddiyetini belirleyen başlıca etmenlerdir [88]. Yanık bölgesindeki lokal yaralanmaya ek olarak toplam vücut yüzey alanının (TBSA) %20 ve daha fazlasının hasar aldığı termal yanıklarda akut sistemik etkiler de söz konusudur. Artmış kapiller geçirgenlik, artan hidrostatik basınç, intravasküler boşluktan interstisyel boşluğa protein ve sıvı hareketi, artmış sistemik vasküler direnç, azalmış kardiyak çıkış ve sıvı resüsitasyonu gerektiren hipovolemi ile karakterizedir [86].

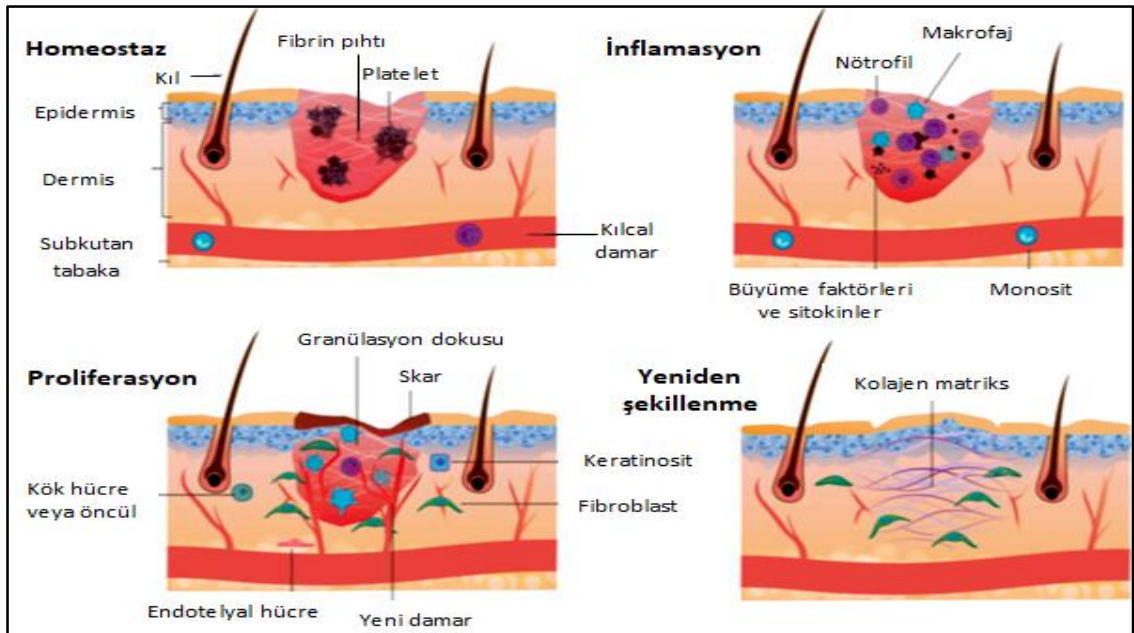
Sistemik etkilerinin yanı sıra bakteriyemi sonucu sepsis ve organ yetmezliği ile sıklıkla karşılaşılabilir. Özellikle geniş ve derin yanıkları olan hastalarda sepsise bağlı komplikasyonlar modern tıbbın en büyük problemlerinden biri olarak görülmektedir [83], [104]. 1960'ların ortalarında geliştirilen klinik olarak etkili topikal antimikrobiyal ajanların kullanımı, invaziv yanık yarası enfeksiyonlarının ve sepsisin oluşumunu önemli ölçüde azaltmıştır. Özellikle gümüş nitrat ve gümüş sülfadiazin ile akut müdahale sonrası, belirgin mikrobiyal kolonizasyonun önüne geçilebildiği bilinmektedir [88]. Ancak özellikle derin ve büyük alan kaplayan yanıklarda uzun süre kullanılmasına bağlı olarak ciltte melanin artışı ve lökopeni, nötropeni gibi bağışıklık sistemini baskılayıcı yan etkileri bulunmaktadır [105]. Ayrıca keratinosit ve fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri sebebiyle etkin iyileşmeyi geciktirdiği öne sürülmektedir [106]. *Staphylococcus aureus* erken yanık yarası enfeksiyonlarının günümüzde hala yaygın bir nedeni olmakla birlikte, endojen veya çevresel kaynaklı olabilen *Pseudomonas aeruginosa* da yanık yarası enfeksiyonlarının diğer en sık nedenidir [96], [107]. Antimikrobiyal tedavilerdeki ilerlemeler, yeni antibiyotik sınıflarının ortaya çıkması, sıkı enfeksiyon önlemleri, yara gözetimi, erken eksizyon ve yara örtülerinin kullanılması, yanık hastalarında invaziv enfeksiyonu kontrol etmeye yardımcı olmaktadır [108]. Çizelge 1.1'de derinliklerine göre termal yanıkların sınıflandırılması, klinik tablo ve tedavi gösterilmektedir.

Çizelge 1.1. Derinliklerine göre termal yanıklar, klinik tablo ve tedavi.

	Yüzeysel	Yüzeysel Kısmi- Kalın	Derin Kısmi- Kalın	Tam-Kalın	Derin Tam-Kalın
Derinlik	Epidermisi içerir.	Epidermis ve üst dermisi içerir.	Epidermis, üst ve kısmi derin dermisi içerir.	Epidermis, dermisin tamamı ve subkutan yağ dokuyu içerir.	Epidermis, dermis, subkutan yağ doku, kas ve kemikleri içerir.
Klinik	Ağrılıdır, genellikle soyulma gözlemlenir, belirgin kabarcık oluşmaz.	Yüzeysel olanlar ağrılı, kısmi derin olanlar çoğu kez ağrısızdır. Kızarıktır, basınç ile beyazlar. Derin kısmi kalınlıkta olanlar soluk renkli olabilir. Kabarcık formu ile karakterizedir.	Çoğu kez ağrısızdır, basınç hissedilir. Genellikle beyaz ve kömürleşmiştir, skar oluşumu gözlenir. Kabarcık formu tipik değildir. Tendonlar, kas veya kemik açığa çıkmıştır. Cerrahi debridman ve deri grefti çoğu kez gereklidir.		
Tedavi	Destek için gevşek bandajla kapatılabilir. Ağrı için parasetamol ya da non-steroid antiinflamatuar ilaçlar kullanılabilir. Topikal antibiyotikler genellikle gerekmez.	Gümüş sülfadiazin gibi topikal antibiyotikler kullanılır. Gevşek bandajlar ile kapatılabilir. Ağrı için parasetamol ya da non-steroid antiinflamatuar ilaçlar kullanılabilir.	Cerrahi debridman ve deri grefti çoğu kez gereklidir. Enfeksiyon belirtileri izlenerek topikal antibiyotikler kullanılır. Opiadlar da dahil olmak üzere agresif ağrı kontrolü gerekli olabilir.		

Yanık iyileşmesi, patofizyolojik olarak kutanöz yara iyileşmesiyle benzer seyreder ve inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme basamaklarını takip eder. Bahsedilen basamaklar tüm yara tipleri için aynı olsa da, her aşamanın süresi söz konusu yaranın türüne bağlıdır [109]. Yanık yaralanmaları da dahil olmak üzere kutanöz yaraların en

karakteristik özelliği, epidermisin bazal tabakasında kök hücreler bulunan kararsız bir doku olmasıdır. Bu durum; bazal tabaka bozulmadığı sürece cildin hasar veya hücre ölümüne cevap olarak yenilenmesine olanak sağlar. Ancak rejeneratif kök hücre tabakasını da tahrip eden derin yaralar skar oluşumu ile iyileşmektedir. Bu iyileşme süreçlerine ise, reseptörlerine bağlandıktan sonra hücre içi sinyal kaskatlarını başlatan çeşitli büyüme faktörlerinin ekspresyonu aracılık eder [98], [99]. Dönüştürücü büyüme faktörü alfa (TGF- α), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) iyileşme sürecinde yer alan en önemli büyüme faktörleridir. Bu moleküller gen ekspresyonu ile kompleks hücresel cevapları başlatırlar. Spesifik olarak VEGF ve FGF anjiyogenez araçlarıdır. TGF- α keratinosit ve fibroblast proliferasyonu ile epitelyal gelişimin aracıdır. TGF- β ise inflamasyon yanıtını inhibe eder [98]–[100]. Yara iyileşmesi kabaca birbirleriyle örtüşen üç fazı kapsamaktadır. Ancak bazı kaynaklarda yara iyileşmesinin ilk aşaması olarak homeostaz kabul edilmekte ve vasküler yanıtların önemi vurgulanabilmektedir. Zaman açısından doğrusallıktan ziyade, birbirleriyle örtüşerek ilerleyen yara iyileşmesi aşamaları; inflamasyon fazı, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazı olarak temelde üçe ayrılmaktadır [110]. Yara iyileşmesinin fazları Şekil 1.8’de gösterilmektedir.



Şekil 1.8. Yara iyileşmesinin fazları [111].

- **İnflamasyon Fazı:** İnflamasyon vücudun yaralanmaya karşı doğal olarak verdiği ilk yanıtın en önemli bileşenlerindendir. Yaralanmanın önemli bir sonucu olmakla birlikte, doku onarımı ve fonksiyonların yeniden kazanımını başlatır. İnflamasyon fazı vasküler ve hücrel yanıtlar açısından yaralanmanın hemen ardından başlamaktadır. Makroskopik olarak ilk birkaç saatte dokuda ağarma ve pıhtı oluşumu ile seyreden, daha sonra kızarıklık, ısı, ödem ve ağrının geliştiği inflamasyon fazı, genellikle 1-6 gün arası sürmektedir [103]. Damarlarda daralma ile başlayan homeostaz süreci ilk vasküler yanıttır. Yaralanmaya bağlı olarak damar dışına çıkan plateletler (trombositler) fibriller kolajen, fibronektin ve diğer yapışkan matris proteinleri ile birleşerek aktive olurlar. Aktivasyon sonrası agregasyona uğrayan plateletler, ortamda bulunan trombin vasıtasıyla fibrinojenden dönüşmüş fibrin ile birleşerek pıhtı oluştururlar. İçeriden doğal olarak devam eden koagülasyon kaskadına karşılık, doku faktörü (TF) olarak bilinen lipoprotein salınımıyla dış koagülasyon da sürece katılır. Aktif monositler ve endotelial hücrelerin yüzeylerindeki doku faktörünün ekspresyonu koagülasyon bölgesine göç etmelerine olanak sağlar [110]. Bu bileşenlerin yara iyileşme sürecindeki rolleri kanama durduğunda bitmez. Süreç boyunca kompleks olaylara senkronize ve tekrarlayan şekilde katılırlar. Apoptotik hücreleri ve bakterileri yara bölgesinden uzaklaştırmak için göç eden inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve büyüme faktörleri için canlı bir rezervuar ortamı sağlarlar [103], [112]. İnflamasyonun transkripsiyon düzeyindeki hücrel yanıtı zamanla oluştuğundan, ilk olarak hızlıca transkripsiyondan bağımsız yollar aktive olur. Bunlara Ca^{+2} dalgalanması, reaktif oksijen türleri (ROS) ve plazma membran moleküllerini içeren pürinerjik reseptörler örnek verilebilir. Hücre içi Ca^{+2} artışı yaralanmanın ilk birkaç dakikasını takiben yara kenarlarında meydana gelir ve merkeze doğru ilerler [113], [114]. Hasarla ilişkili moleküler modeller (DAMPs), hidrojen peroksit (H_2O_2), lipid aracıları ve yaradan salınan kemokinler de transkripsiyondan bağımsız yollardandır. DNA, peptitler, ekstraselüler matris bileşenleri, ATP ve ürik asit hasarla ilişkili moleküller arasında bulunmaktadır. Çeşitli organizmalar üzerinde yapılan araştırmalar, yaradaki hızlı H_2O_2 üretiminin enfeksiyonları azalttığı, keratinosit rejenerasyonunu aktive ettiğini, nötrofilleri topladığını ve yeni damar oluşumunu desteklediğini göstermiştir [114], [115]. Bahsedilen moleküllere ek olarak mast hücrelerinden salınan çeşitli büyüme faktörleri ve

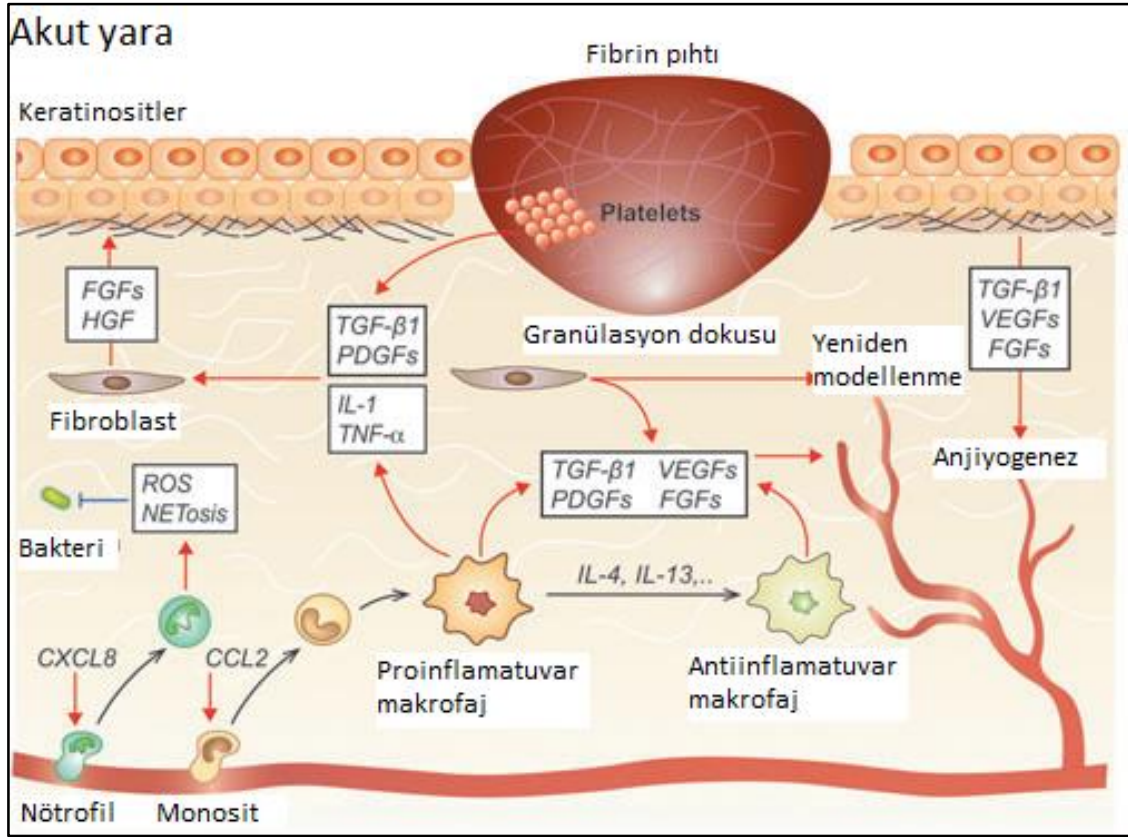
sitokinler nötrofilleri yara bölgesine göç ettirir. İlk müdahale ekibi olarak nitelendirilen nötrofiller, toksik granül salınımı, oksidasyon, fagositoz ve ekstraselüler tuzaklar ile enfeksiyon tehditlerini yok ederler [114]. Yaralanmayı takip eden ilk 24-48 saat içerisinde maksimum seviyeye çıkan nötrofil temizliği sonrası, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflatuar sitokinlerin makrofajlarda üretimi sürdürülür. Buna ek olarak çeşitli büyüme faktörlerinin yine makrofajlardan salınımı anjiyogenez ve yeniden epitelizasyon süreçleri üzerinde pozitif etkiye sahiptir [103], [116], [117]. Hücre göçü, proliferasyon ve matris oluşumunu indüklediği bilinen bu sitokinleri üreten makrofajlar, inflamasyon ve onarım arasındaki geçişte önemli rol oynamaktadır [110].

- **Proliferasyon Fazı:** Yaralanmaya karşı verilen ilk inflamatuvar yanıtlar, yeni bir fonksiyonel bariyerin oluşması için gerekli koşulları başlatır. İnflamasyon fazını takiben selüler aktivitenin yüksek olduğu bu birkaç haftalık fazda başlıca; hücrel geçirgenlik bariyerinin oluşturulması, uygun damar oluşumu ve kan dolaşımının sağlanması (anjiyogenez), hasarlı dokunun güçlendirilmesi (fibroplazi) için çalışılır [110]. Yaralanma sonrası epidermin restore edilmesi olan yeniden epitelizasyon; keratinositlerin hasarlı bölgeye migrasyonu, çoğalması ve farklılaşmasını içeren birkaç farklı aşamayı içerir. Yaralanmayı takip eden ilk 24 saat içerisinde hasarlı dokunun serbest kenarlarından keratinosit migrasyonu başlar ve çoğalarak süreç içerisinde yarayı kapatırlar. Migrasyon hücre adezyon yapıları olan dezmozom ve hemidezmozomlardaki temas kaybı ve fiziksel gerginlik sebebiyle başlar. Hücrelerin teması tekrar sağlandığında ve yeni adezyon yapıları oluştuğunda ise durur. Keratinositler bazal membranı yeniden inşa etmek için farklı yapısal proteinleri salgılamaya başlarlar [118]. Dermisin yeniden yapılanması yeni kan damarlarının oluşması ve fibroblast aktivitesi ile karakterize olan granülasyon dokusu ile sağlanır. Fibroplazi; fibroblastların proliferasyonu, pıhtı bölgesine migrasyonu, yeni kolajen ve diğer matris proteinlerinin üretim süreçlerini içerir [110]. Yara iyileşmesi sürecinde oldukça önemli bir göreve sahip olan fibroblastlar; doku ve organlar için yapısal iskele oluştururlar [119]. Migrasyon sonrası yara bölgesindeki inflamatuvar hücrelerden salınan sitokinler ve büyüme faktörlerine cevap olarak fibroblastlar yeni ekstraselüler matris ve olgunlaşmamış tip III kolajen sentezlemeye başlar [112]. Yeni kan damarı oluşumu mevcut kan damarlarındaki endotel hücrelerin aktivasyonu ile başlar. Anjiyogenez olarak da

bilinen bu süreç, yara onarımı sırasında besin ve oksijene duyulan ihtiyaç sebebiyle büyük önem teşkil etmektedir. Oluşan yeni kılcal damarların ve lenf damarlarının yara içine doğru büyümesiyle granül doku zamanla genişler. Makrofajlar, fibroblastlar, kan damarları, kolajen, glikoprotein, fibronektin ve hyaluronik asitten oluşan gevşek bir matris granülasyon dokusunun temel bileşenleridir [111], [120].

- **Yeniden Şekillenme Fazı:** Re-modelizasyon ya da matürasyon olarak da bilinen yeniden şekillenme süreci, granülasyonun son evrelerinde başlar. Bu fazda yara bölgesindeki fibroblast sayısı azalır, kolajen üretimi dengeye ulaşır ve epitelizasyon tamamlanır. Temel olarak kolajen liflerinin yeniden şekillenmesidir. Yumuşak jelatinöz yapıdaki tip III kolajen, daha sağlam yapıdaki tip I kolajene dönüşür [112]. Granülasyon dokusu oluşumu sırasında fibroblastlar kademeli olarak miyofibroblastlara farklılaşırlar. Miyofibroblastlar; normal deri fibroblastlarında görülmeyen aktin mikrofilament demetleri ile karakterizedir [121]. Mekanik gerilim ve TGF- β gibi sitokinlerin aracılık ettiği bu farklılaşma sonucu oluşan miyofibroblastlar, düz kas aktin ekspresyonu ve yara kontraksiyonu süreçlerini yönetirler. Yaranın kasılması, yaralanmadan hemen sonra başlar ve artarak devam eder. Yara kontraksiyonunun derecesi yaranın derinliğine göre değişir. Tam kalınlıktaki yaralar için, kasılma iyileşmenin önemli bir parçasıdır ve yara boyutunda %40'a varan azalma sağlar. Kısmi kalınlıktaki yaralarda, tam kalınlıktaki yaralara göre kasılma daha az ve hasarın derinliği ile doğru orantılıdır. Miyofibroblastlar, genişleme ve geri çekilme yetenekleri nedeniyle kontraksiyon sürecinin baskın aracısıdır [110]. Kıl kökleri ve ter bezleri gibi bazı cilt bileşenleri ciddi yaralanmalardan sonra eski haline getirilemez [122], ancak yara yaklaşık altı hafta sonra başlangıçtaki gerilme gücünün %80-95'ini geri kazanır. Hasarlı dokunun renginin soluklaştığı, gerilim direncinin arttığı ve skar dokusunun oluştuğu bu süreç 6-12 ay, bazı ciddi durumlarda 24 aya kadar devam etmektedir [112].

Akut yara iyileşmesinde görev alan immün araçlar Şekil 1.9’da gösterilmektedir.



Şekil 1.9. Akut yara iyileşmesinde görev alan immün araçlar [123].

1.3.3. Yara Örtüleri

Yanık bakımı ve tedavisi birçok bileşeni içeren kompleks bir süreçtir. Yara örtüleri, enfeksiyon kontrolü, sıvı dengesinin sağlanması ve cerrahi müdahale sürecin ana unsurlarındandır. Bu basamakların her birinde kaydedilen ilerlemeler sayesinde yanık hastalarının hayatta kalma şansları artmakta ve işlevsel olarak iyileşmelerine katkıda bulunmaktadır. Çok eski zamanlardan beri yapıldığı bilinen yanık bölgesine örtü uygulaması; enfeksiyondan koruma, yeniden epitelizasyonu sağlama, su ve ısı kaybını önleme, yarayı nemli tutma, mekanik travmaları önleme ve ağrıyı azaltma gibi amaçlar taşımaktadır [124], [125]. Yüzeysel yanıklarda örtü uygulaması gerekmezken, kısmi kalın yanıklarda eksüdayı emmesi, deride maserasyonu engellemesi, ağrı ve enfeksiyon riskini azaltması sebebiyle yara örtüleri tercih edilmektedir. Derin ve tam kalınlıktaki yanıklarda ise, bahsedilen amaçlara ek olarak yara debridmanı ve cerrahi müdahaleye destek olarak kullanılmaktadır [126].

Yaraya uygun örtünün seçilmesinde öncelikli olarak yaranın doğru değerlendirilmesi ve gereksiniminin belirlenmesi gerekmektedir. Geleneksel olarak kullanılan doğal ve

sentetik bandajlar, sargı bezleri, hidrofil pamuk ve gazlı bezler yara bölgesini kurutarak, bakteri üremesini engellemeye yöneliktir [127]. Modern yara örtüleri, yarayı sadece kapatmak yerine işlevini geri kazanmasına yardımcı olmaktadır. Geleneksel anlayışın aksine son dönemlerde yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, yaraların nemli bir ortamda daha hızlı iyileştiği belirtilmektedir. Nemli ortam sağlayan modern yara örtüleri; su kaybını engelleyerek doku canlılığı ve hücrelerin proliferasyon yeteneklerini korumakta, anjiyogenezi hızlandırmakta ve iyileşmede önemli rol oynayan büyüme faktörlerinin etkinliğini artırmaktadır. Bilinen en önemli avantajları ise enfeksiyon riskini ve ağrıyı azaltmalarıdır [128], [129]. En ideal yara örtüsünün insanın kendi derisi olduğu bilinmekle birlikte, günümüzde tercih edilen ideal yara örtülerinden beklenen özellikler şöyle sıralanabilir:

- Uygun nem dengesini sağlamalı (fazla eksüdayı emmeli ancak yarayı kurutmamalı)
- Optimum sıcaklık değerini sağlamalı
- Mikrobiyal ajanlara ve yabancı cisimlere karşı bariyer görevi görmeli
- Toksik ve alerjik olmamalı
- Kolay kullanılabilir, değiştirilebilir ve ağrısız olmalı
- Gaz transferini sağlamalı
- Kokuyu engellemeli
- Yaraya mekanik destek sağlamalı
- Tercihen estetik ve ulaşılabilir maliyette olmalı [130], [131].

Yara örtüleri farklı araştırmacılar tarafından üretildikleri materyal, fiziksel şekil, etken madde içeriği veya güncel kullanımlarına göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadırlar [129]. En genel haliyle pasif örtüler, interaktif örtüler ve biyoaktif yara örtüleri şeklinde kategorize edilebilirler. Gazlı bez ve sargı bezi şeklindeki geleneksel yara örtüleri pasif örtülerdir [132]. Bu gruptaki örtülerin iyileşme sürecine aktif bir etkisi olmamakla birlikte, yarayı kapatarak korumaktadır. Bilinen en eski, ucuz, kolay ulaşılabilir ve oldukça absorban olan bu örtüler, geniş kullanımlarına rağmen değişim sırasında mekanik olarak yaraya hasar verebilmekte ve hastada ağrıya sebep olabilmektedir. Ayrıca granülasyon dokusu oluşurken yarada bıraktığı iplik, lif gibi kalıntılar immün yanıt oluşturmaktadır [133], [134]. İnteraktif yara örtüleri polimerik film ve köpükleri içeren, şeffaf, nem ve gazlara karşı geçirgen ancak bakterileri geçirmeyen örtülerdir [129]. Transparan film örtüler poliüretan veya kopolyesterden oluşan,

yapışkan ve esnektirler. Film örtülerin uygulanması kolaydır ve hastada ağrıya sebebiyet vermeden değiştirilebilmektedir. Ancak absorban özellikte olmadıkları için eksüdasyon üzerinde herhangi bir etkileri bulunmaz [133]. Poliüretandan üretilen köpük örtüler gaz ve nem geçişine izin veren, ısı yalıtımlı ürünlerdir. Hidrofilik yapıları sebebiyle yüksek absorban özelliktedirler. Bu özellikleri sayesinde yoğun eksüdalı yaraların tedavisinde kullanılabilirken kuru, skarlı ve arteriyel ülserli yaralarda tercih edilmezler [134]. Biyoaktif örtüler ise aljinatlar, kolajen, kitosan, proteoglikan gibi polimerlerden elde edilirler. Taşıdıkları aktif molekülleri yaraya kontrollü bir biçimde salarken, kendi endojen özellikleri sebebiyle de yara iyileşmesine katkıda bulunurlar [129], [132]. Biyoaktif örtüler ürettikleri polimerlere göre hidrokolloidler, aljinatlar ve hidrojel şeker şeklinde olmaktadır.

- **Hidrokolloid örtüler:** Hidrofil polimer moleküllerden oluşan bu örtüler, yaradaki eksüda ve salgıyı emerek jel formuna dönüşürler. Aktif yara örtüleri arasında kullanımı en eski olduğu bilinen grup; selüloz, karboksimetil selüloz, jelatin, pektin gibi jelleşebilen polimerler ile elastomer ve adeziv özellikte moleküllerin birleştirilmesiyle üretilir. Seçilen hidrokolloid yara örtüsüne bağlı olarak, hafif ile ağır eksüdalı yaralarda, kabuklanmış veya granüllü yaralarda kullanılabilirler. Jelleşme özelliği sayesinde kurumuş nekrotik yaralarda nemli bir ortam sağladığı için tercih edilmektedir [127], [131], [135]. Kolajen üretimini ve epitelizasyon hızını artırdığı bilinen hidrokolloid örtüler, yaraya doğrudan yapıştıkları için kolay kullanımlıdır. Farklı çalışmalarda anjiyogenezi uyardığı ve yara iyileşmesini artırdığı gösterilmiştir. Enfekte yaralar için tavsiye edilmemekle birlikte, maserasyonu önlemek için uygun aralıklarda değiştirilmeleri tavsiye edilmektedir [129], [136].
- **Aljinat örtüler:** Yüksek absorban kapasiteleri sayesinde yoğun eksüdalı yaralarda rahat kullanım sağlayan örtülerdir. Deniz yosunlarından elde edilen aljinik asidin kalsiyum veya sodyum tuzlarından elde edilirler. Yaraya uygulandığında eksüda içerisindeki sodyum ve kalsiyum iyonları ile etkileşerek jel formuna dönüşür [133]. Oluşan jel örtü ölü dokuları ve mikroorganizmaları içine hapsederek yara yatağına geri dönmesini engellemekte ve yara iyileşmesi için uygun nemli ortamı oluşturmaktadır [136]. İçerdikleri kalsiyum iyonları sebebiyle farmakolojik etkiye sahiptirler. Pıhtı oluşum kaskadına katkıda bulunduğu bilinen kalsiyum sayesinde homeostatik özellikleri vardır ve

kanamalı yaralarda kullanılabilirler [131]. Ayrıca bazı aljinat örtüler mast hücre aktivasyonu ve histamin salınımını sağlayarak yara iyileşme sürecini başlatabilmektedirler. Tüm bu avantajlarının yanında şişme kapasiteleri göz önünde bulundurulmalıdır. Yara etrafındaki hasarsız dokuları maserasyona uğratmamaları için sıvıya doyduklarında değiştirmelidirler [129]. Ayrıca yüksek absorpsiyon ve hidrofil özellikleri sebebiyle kuru, nekrotik yaralarla kontrendikedir [133].

- **Hidrojel örtüler:** Çok yüksek (%80-90) oranda su içeren, çapraz bağlı polimerlerden oluşan hidrojeller; serbest akışlı amorf ya da sabit esnek tabaka formundadır [133]. Bu formlarından dolayı esnek yaprak ve film şeklinde veya amorf jel şeklinde uygulama imkanı sağlamaktadırlar. Hidrofilik polimerlerin jelatin, polisakkaritler, polivinilalkol, polimetakrilat, polietilenoksit gibi maddelerle çapraz polimerleşmesiyle meydana gelirler [129]. Absorpsiyon kapasitesi düşük-orta seviyede olmakla birlikte, kuru ve nekrotik yaralarda sağladığı nem sayesinde otolitik debridmana katkıda bulunur. Granülasyon ve epitelizasyonu desteklediği, yara yatağının sıcaklığını 5°C'ye kadar düşürdüğü bilinmektedir [131], [133]. Yara bölgesine lokal ilaç uygulanmasına izin veren hidrojeller, ağrı kesici, soğutucu ve yatıştırıcı özelliktedirler [129], [135]. Yaraya mekanik olarak zarar vermeden değişimi yapılabilen hidrojel örtüler, bakteri ve mikroorganizmalara karşı daha az etkilidir [134].

Kompleks yaralarda etkin sonuç alınamayan bazı durumlarda modern örtüler yerine, son yıllarda tercih edilen doku mühendisliği ürünleri de bulunmaktadır. Hücre ve hücre dışı matriksleri içeren bu biyomimetik ürünler; fizyolojik yapıları taklit ederek iyileşmeye katkıda bulunmaktadır. Hücresel olarak genellikle dermis elemanlarını içeren bu ürünler, hücre dışı hyaluronik asit ve kolajen gibi moleküllerden yararlanırlar [136]. Bunların dışında greft ve greft eşdeğerleri olarak bilinen biyolojik örtüler de bulunmaktadır. Hastadan yara kabuğunun çıkarılmasını takiben vücudunun hasarsız bölgelerinden alınan derinin, yaralı dokuya nakline otogreft adı verilmektedir. Otogreftin mümkün olmadığı durumlarda ise domuzdan elde edilen ksenogreft, kadavradan elde edilen allogreft veya amniyon membranının örtü olarak kullanımı mevcuttur [129]. Ancak bu örtülerin kullanımı bulunabilirlik, yüksek maliyet, uygun doku bulunması, depolama ve daha da önemlisi enfeksiyon ile immün cevaba bağlı olarak doku reddi gibi risklerle ilişkilendirilmektedir [137].

Yara iyileşmesinde en sık tercih edilen yara örtüleri Şekil 1.10’da gösterilmektedir.

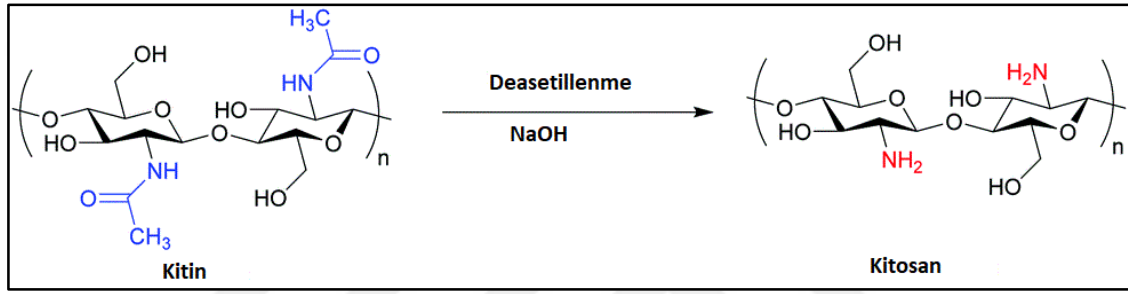


Şekil 1.10. Yara iyileşmesinde kullanılan yara örtüleri.

1.3.4. Kitosan Temelli Hidrojeller

Kitin veya poli (β -(1 $\rightarrow$ 4)-N-asetil-D-glukozamin), ilk olarak 1884'te tanımlanan büyük öneme sahip doğal bir polisakkarittir. Çok sayıda farklı organizma tarafından sentezlenen kitin, selülozdan sonra doğada en çok bulunan biyopolimerdir. Eklembacaklıların dış iskeletinde, mantar ve mayaların hücre duvarlarında yapısal eleman olarak organizmaya katılır. Bunların dışında damarsız bitkiler ve hayvanlar alemine ait çeşitli organizmalar tarafından, destek ve kuvvetin gerekli olduğu işlevlerde kullanılmak üzere üretilir. Yaygın olarak birçok organizmada bulunmasına rağmen, kitinin ana ticari kaynakları genellikle yengeç ve karides kabuklarıdır. Düşük çözünürlüğü sebebiyle işlenmesi, kullanımı ve karakterizasyonu zor olan kitin, biyomedikal açıdan büyük öneme sahip olan türevi kitosana dönüştürülür [138], [139]. Kimyasal ismi poli (β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2 deoksi- β -D-glukoz) olan kitosan, bazik ortamda deasetillenme yoluyla kitinden elde edilir. Gerçekleştirilen kimyasal hidroliz sonucu kitinde bulunan asetamid gurubu parçalanarak, birincil amin işlevselliğine sahip kitosan ve asetik asit oluşur [140]. Kitinin aksine sulu asidik ortamlarda çözünür olan kitosan, bu özelliği sayesinde solüsyon, jel, film, fiber olarak farklı şekillerde kullanılabilir [138]. Ziraatte antimikrobiyal etkileri ve bitki savunma mekanizmalarını indükleyici olarak, atık su arıtımında topaklaştırıcı özellikleri

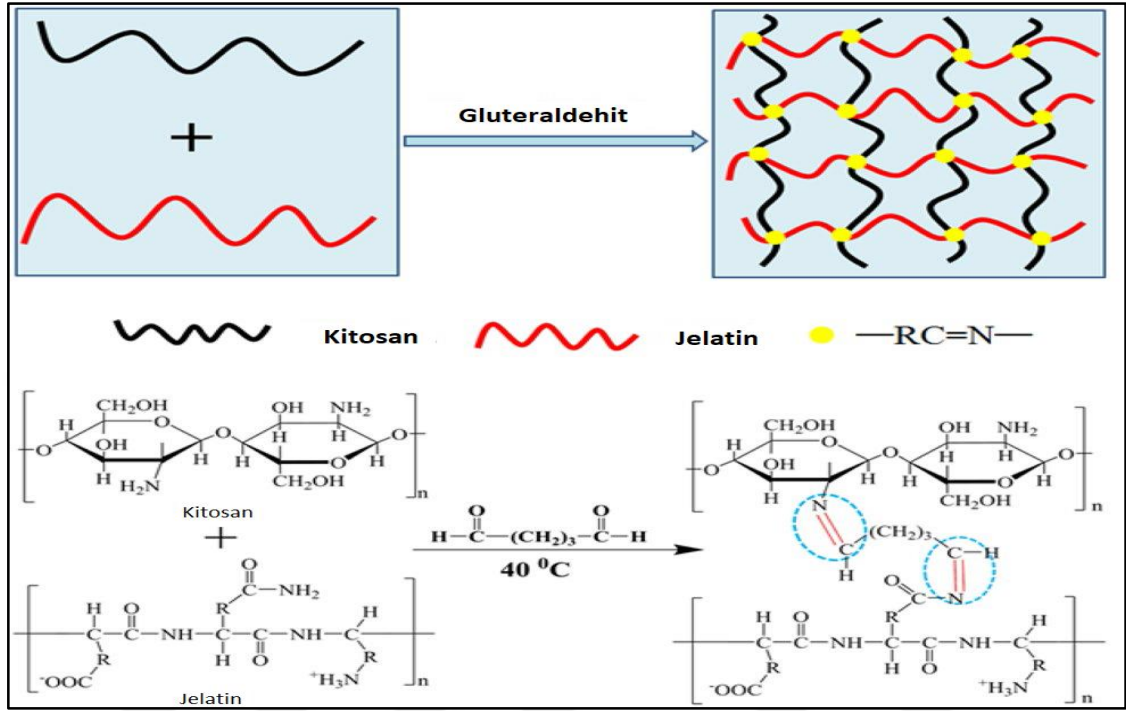
sebebiyle, gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak, kozmetikte nemlendirici özellikleri nedeniyle ve sağlık alanında farmasötik ajan olarak kullanılmaktadır [141]. Taşıdığı antimikrobiyal özellikler, toksik olmaması, biyobozunur ve biyouyumlu olması sebebiyle sıklıkla tercih edilen bir biyopolimerdir. Ancak antimikrobiyal özellikleri çoğunlukla 6'nın altındaki pH değerleriyle sınırlıdır. Bu sebeple nötral ve fizyolojik koşullarda antimikrobiyal aktivitesi kısıtlı olabilmektedir. Son yıllarda bu kısıtlamayı ortadan kaldırmak için kuaterner amonyum, guanidin, karboksi alkil, hidroksi alkil, tiyol grupları gibi fonksiyonel bileşikler ile modifiye edilen türevlerinin antimikrobiyal etkileri araştırılmaktadır [142]. Bazı ortamda deasetillenme yoluyla kitinden kitosan oluşumu şekil 1.11'de gösterilmektedir.



Şekil 1.11. Bazı ortamda deasetillenme yoluyla kitinden kitosan oluşumu [140].

Son yıllarda hidrojellerin biyomedikal amaçlarla kullanımına olan ilgi gitgide artmaktadır. Bu ilginin asıl sebebi tıbbi ve farmasötik amaçlara uygun fizikokimyasal özellikleridir. Kitosan hidrojel yapılarında kullanılan doğal bir katyonik kopolimerdir. Kitosan temelli hidrojeller doku onarımı sağlamak için kullanılan potansiyel iskele görevi görmektedirler. Terapötik bileşenlerin kontrollü salınımını sağlarlar. Kitosan katyonik doğası sebebiyle zıt yükler ile etkileşerek hidrojinin mukoadesiv özellik göstermesini sağlar. Bu belirgin özelliği sebebiyle, spesifik ilaç dağıtımı için dokuya bağlanma sağlayabilmektedir [143], [144]. Aynı veya farklı tipteki polimerlerin çapraz bağlanmasıyla oluşturulan hidrojeller, kimyasal veya fiziksel bağlanma metodları kullanılarak oluşturulabilirler. Kitosan temelli hidrojeller sentezlenirken kimyasal ya da fiziksel yöntemler kullanılarak çapraz bağlanmaktadır. Kimyasal bağlanmanın söz konusu olduğu reaksiyonlarda radikal polimerizasyon, fotopolimerizasyon, enzimatik reaksiyon veya çapraz bağlayıcı ajanlar yardımıyla kovalent bağlanma mevcuttur. Fiziksel bağlanma söz konusu olduğunda ise, kitosanın sahip olduğu farklı fonksiyonel gruplar hidrojen bağı, elektrostatik kuvvetler gibi geçici fiziksel etkileşimler sayesinde polielektrolit kompleks yapıda hidrojeller oluşturmaktadır [145]. Kitosan; diğer kitosan

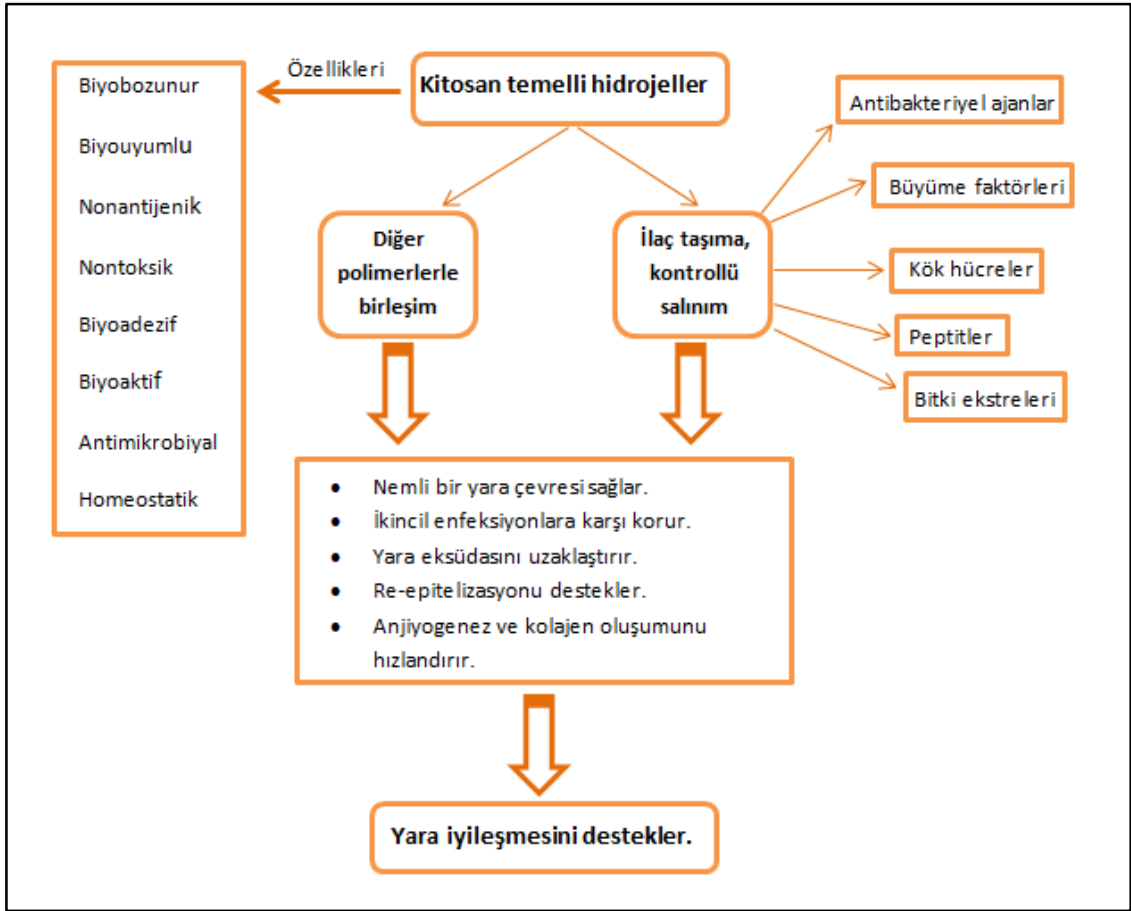
molekülleriyle kendi içerisinde çapraz bağlanarak hidrojel oluşturabildiği gibi, kolajen, jelatin gibi proteinler ya da aljinat, agaroz gibi polisakkaritlerle de kolayca çapraz bağlanarak hidrojel oluşturma yeteneğine sahiptir [146]. Kitosan ve jelatinin glutaraldehit yardımıyla çapraz bağlanma reaksiyonu Şekil 1.12’de gösterilmektedir.



Şekil 1.12. Kitosan ve jelatinin glutaraldehitle çapraz bağlanma reaksiyonu [147].

Kitosan temelli hidrojel yara örtülerinin çeşitli formülasyonları, yara iyileşmesinin farklı fazlarına etki ederek iyileşmeyi teşvik edebilir veya iyileşmeyi etkileyen olumsuz faktörlerin etkilerini hafifletebilir. Bu örtülerin yara kontraksiyonu ve iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir. Kitosan temelli yara örtüleri hidrojel haricinde, dokuma olmayan kumaşlar, filmler ve süngerler şeklinde olabilmektedir [148]. Homeostatik özellikleriyle bilinen kitosan, makrofajların fonksiyonlarını etkileyerek iyileşme sürecine katkı sağlamaktadır. Ayrıca hücre proliferasyonunu teşvik ederek, granülasyon dokusunun oluşumunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir [132], [135]. Kitosanın yara iyileşmesindeki muhtemel etkileri polimorfonükleer lökositler gibi inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, TNF- α gibi inflamasyon faktörlerinin salınması, makrofajların migrasyonu ve kolajen miktarını artırmak olarak açıklanmıştır. Kitosanın bir parçası olan N-asetil-D-glukozamin vücuttaki spesifik reseptörlere bağlanarak makrofaj aktivasyonunu arttırmakta ve bu da diğer kaskat mekanizmalarını başlatmaktadır [145], [149]. Ek olarak kitosanın kompleman sistemi aktive ettiği [150], IL-8 ve diğer sitokinlerin salınımı ile fibroblastları uyardığı bildirilmiştir [151]. Kitosan temelli

hidrojellerin yara iyileşmesinde kullanımı Şekil 1.13'te gösterilmektedir.



Şekil 1.13. Kitosan temelli hidrojellerin yara iyileşmesinde kullanımı.

1.3.5. Geleneksel Tıpta Yanık Tedavisi

Yanıklar antik çağlardan beri insanlığın karşılaştığı en yıkıcı yaralanma biçimlerinden biridir ve çağlar boyunca yaygın bir tedavi zorluğu sunmuştur. Yanıkların tedavisine ilişkin ilk kanıt, Neandertal insanlara ait mağara çizimlerinden gelmektedir [152], [153]. 1862'de Edwin Smith Papirüsü'nün keşfi, eski Mısırlıların milattan önce (MÖ) 1500 civarında yanıkları tedavi etmek için bal ve yağdan oluşan bir merhem kullandığını ortaya çıkarmıştır [153], [154]. Yine MÖ 15.yüzyıl tarihli Mısır Ebers Papirüsü'nde; çamur, dışkı, yağ, bitki özü, yağda kaynatılan kurbağalar ve fermente edilen keçi gübresiyle yanık sonrası farklı günlerde uygulama yapıldığı bildirilmiştir [153], [155]. Erken Antik Çağ döneminde Mısırlılar yanık tedavisinde keçi sütü ve yeni doğum yapmış kadınlardan alınan anne sütünü kullanmışlardır [156], [157]. Diüretikler, terleticiler ve purgatifler gibi yangı ve ateşi dışarı atan tedaviler uygulandığı da bilinmektedir. Aristoteles, yanık kabarcıklarının boşaltılmasının sıvıyı ve ısıyı uzaklaştırdığına inanmaktaydı (MÖ 322) [153], [158]. Sirke, şarap ve alkolün kimyasal

soğutucu olarak kullanımından MÖ 3. ile 4. yüzyıllara kadar bahsedilmektedir [153], [159]. Hipokrat, MÖ 4. yüzyılda yanık tedavisinde eritilmiş domuz yağı, reçine ve katran emdirilmiş pansumanlar kullanmış ve bu reçetenin skar görünümü iyileştirdiğini ifade etmiştir [153], [155]. Aristoteles'in halefi olan Theophrastus (MÖ 371-287) zamanında soğutucu etkileri sebebiyle yanık tedavilerinde tercih edilen kurşun yüzyıllar boyunca yaygın olarak kullanılmıştır [153], [160]. Antik Yunan'da Tanrıların nektarı olarak nitelendirilen balın; sirke, şap, sodyum, karbonat ve safra ile karıştırılarak yarayı kurutmak ve iltihabı engellemek amacıyla kullanıldığı belirtilmektedir [157], [161]. Dioscorides De Materia Medica adlı eserinde cerahatli yanıklar için sığır dışkısı uygulamasını savunurken, inflamatuvar yanık yaraları için gül yağı ve balın birlikte kullanılmasını önermiştir. Ayrıca eserinde olgunlaşmamış zeytinden elde edilen yağın yara iyileşmesinde etkili olduğunu belirtmiştir. Suyu saklamak ve bulaşı önlemek için kullanılan gümüş kapların etkisi keşfedildikten sonra, Romalı hekimler yanık da dahil olmak üzere farklı yaraların tedavisinde gümüş nitrat kullanmaya başlamıştır [157]. İslam coğrafyasında Fars hekim Razi (MS 852-923) soğuk suya batırılmış veya karla soğutulmuş gül suyuna batırılmış bezlerin yeni oluşmuş yanıklara uygulanmasını savunmuştur. Tıbbın hükümdarı olarak bilinen İbn-i Sina (MS 980-1037) ise bu uygulamanın kabarcık oluşumunu sıklıkla engellediğini onaylamıştır [153], [162].

Tüm dünyada yanık yaralanmalarında çok sık kullanılan *Aloe vera* L. sıcak ve nemli iklimlerde yetişen tropik bir bitkidir. Yapraklarının ortasında bulunan müsilaçlı jel doku tıbbi niteliktedir. Roma dönemi ve hatta öncesine dair çeşitli endikasyonlarda kullanımı bilinen jel, günümüzde hala yanık yaralanmalarında en çok tercih edilen tedavilerden biridir. Birinci ve ikinci derece yanıklarda tedaviye olumlu katkıda bulunduğu, iyileşme ve epitelizasyon süreçlerini hızlandırdığı bilinmektedir. Yapılan çeşitli prelinik ve klinik çalışmanın sonuçlarına göre, hasarlı dokuda anjiyogenezi sağladığı, içerdiği acemanan moleküllüyle fibroblastları uyatarak kolajen sentezini artırmaktadır. Antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve nemlendirici etkileriyle birlikte topikal kullanımının güvenli olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır [163], [164].

Anadolu coğrafyasında geleneksel halk tıbbında yanık tedavisinde kullanılan çok sayıda bitki olduğu bilinmektedir. Yapılan kapsamlı bir derlemede 97 farklı tür bitkinin yanıklarda iyileştirici veya iyileşmeyi destekleyici olarak farklı şekillerde kullanıldığı bildirilmiştir. Gerçekleştirilen bu etnobotanik çalışmada Papatyagiller (Asteraceae), Hodangiller (Boraginaceae), Kantarongiller (Hypericaceae), Ballıbabagiller

(Lamiaceae) ve Gülgiller (Rosaceae) familyalarında bulunan türlerin ağırlıklı olarak kullanıldığı, en yaygın kullanılan türün ise sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) olduğu belirtilmiştir [165]. Yapılan bir başka etnobotanik çalışmada Türk geleneksel halk tıbbında güneş yanığına karşı kullanılan beş farklı familyaya ait toplam altı cins tespit edilmiştir. Yaprakları, toprak üstü kısmı ya da uçucu yağı kullanılan türler löşlek (*Arctium minus* (Hill) Bernh.), yabani hindiba (*Cichorium intybus* L.), yabani havuç (*Daucus carota* L.), karahasançayı (*Hypericum scabrum* L.), yarpuz (*Mentha pulegium* L.) ve ısırgan (*Urtica dioica* L.) olarak bildirilmiştir [166]. Ballıbagiller (Lamiaceae) familyasının tıbbi özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, Doğu Anadolu’da gırip otunun (*Ballota nigra* L. subsp. *anatolica*) ve Rize’de yapışkan adaçayının (*Salvia glutinosa* L.) yanık tedavisinde geleneksel olarak kullanıldığı bildirilmiştir [167]. Niğde Aladağlar’da yapılan bir etnobotanik araştırmada yabani sinameki (*Colutea cilicica* Boiss. et Bal.) meyvelerinin ezilerek ya da dekoksiyon halinde yanıklarda harici olarak kullanımı bildirilmiştir. Aynı çalışmada Zambakgiller (Liliaceae) familyasından çiriş otu (*Asphodeline taurica* (Pall.) Endl.) çiçeklerinin de yanık bölgesine uygulandığı belirtilmektedir [168]. Çanakkale Bayramiç’te gerçekleştirilen bir çalışmada yerel halkın kızılçamdan (*Pinus brutia* Ten.) elde edilen reçineyi kaynatarak geleneksel olarak yanık tedavisinde kullandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada bir böğürtlen alt türü olan ve karantı (*Rubus ulmifolius* Schott subsp. *sanctus* (Schreb.) Sudre) olarak bilinen bitkinin yapraklarının ezilerek yanıklı bölgeye pansuman şeklinde uygulandığı belirtilmiştir [169]. İstanbul’un Avrupa yakasında olan Çatalca’da yürütülen bir etnobotanik araştırmada duman ağacı (*Cotinus coggyria* Scop.) kök ve yapraklarının farklı şekillerde yanık tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir. Yapraklarından elde edilen dekoksiyon hem harici hem dahili olarak yanık yaralarında kullanılırken, köklerin ufalanarak taze tereyağı ile yoğrulmasıyla elde edilen merhem yanıklarda harici olarak uygulanmaktadır. Bölgede kimya otu (*Ononis spinosa* L. subsp. *leiosperma* (Boiss.) Širj.) olarak bilinen başka bir türün kökleri de kaynatılarak yanık tedavisinde halk arasında kullanılmaktadır [170]. Siirt Kurtalan’da gerçekleştirilen 34 bitkinin incelendiği bir çalışmada, keten (*Linum pubescens* Banks. et. Sol) tohumlarının bölge halkı tarafından yara ve yanık tedavisinde kullanıldığı kaydedilmiştir [171]. Muğla Marmaris’te 35 familya ve 64 farklı türün yer aldığı bir çalışmada, İzmir kekiği (*Origanum onites* L.) ve Anadolu adaçayından (*Salvia fruticosa* Miller) elde edilen uçucu yağların yanık yaralarının tedavisinde geleneksel olarak haricen kullanıldığı bildirilmiştir [172].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. BİTKİ ÖRNEKLERİNİN TEMİNİ

Çalışmada kullanılan pelin otu örnekleri yaklaşık 50 cm boyunda, yapraklı ve çiçeksiz fidan halinde Yalova ilinde tıbbi bir bitki bahçesinden temin edildi. Temin edilen örnekler Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu'nda uzman personel tarafından tür bazında teşhis edildi. Ekstraksiyon öncesi hasat edilen taze yapraklar distile su ile yıkanarak gölgede tamamen kurutulduktan sonra mekanik öğütücü yardımıyla toz hale getirildi. Pelin otunun taze, kurutulmuş ve öğütülmüş hali Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Pelin otunun a) taze b) kurutulmuş c) öğütülmüş hali (Aydın, 2023).

2.2. EKSTRAKSİYON

Mekanik öğütücü yardımıyla ince toz haline getirilen kurutulmuş pelin otu örneklerinin ekstraksiyonunda 70:30 oranında karıştırılmış etanol:su kullanıldı. Düşük, orta ve yüksek doz şeklinde etkileri araştırılan pelin otu örnekleri sırasıyla 10 gram, 25 gram ve 50 gram tartılarak; toplam hacim 500 ml olacak şekilde %70'lik etanol ile karıştırıldı. Oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcı ile 12 saat süreyle basit maserasyon şeklinde

ekstrakte edildi. Ekstraksiyon sonrası santrifüjlenen örnekler filtre kağıdından süzülerek döner evaporatörde çözücüleri uzaklaştırıldı. Elde edilen kuru pelin otu ekstratları kitosan temelli hidrojellerde kullanılmak üzere +4°C buzdolabına kaldırıldı.

2.3. FENOLİK BİLEŞİKLERİN BELİRLENMESİ

Pelin otu sulu etanol ekstresindeki belirli fenolik bileşiklerin analizi Harran Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. LC/MS-MS (Shimadzu-8030) cihazı ile kalitatif ve kantitatif olarak analizi gerçekleştirilen maddeler kafeik asit, hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, 4-hidroksisinnamik asit, 2-hidroksi-1,4-naftakinon, vanilik asit, kateşin hidrat, floridzin dihidrat, sirinjik asit, naringenin, asetohidroksamik asit, timokinon, resveratrol, silimarin, kurkumin, kemferol, mirisetin, gallik asit, kuersetin, salisilik asit, oleuropein, bütein, fumarik asit, alizarin, elajik asit, luteolindir. Analizi yapılan bileşik standartlarının her biri için en az dört konsantrasyon noktası üç tekrarlı şekilde ölçülerek kalibrasyon eğrileri çizildi. %10 oranda pelin otu içeren ekstre santrifüj sonrası 0,22 µm'lik tek kullanımlık filtreden geçirilerek cihaza verildi. Kullanılan metodun analiz koşulları Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Fenolik bileşiklerin LC/MS-MS analiz koşulları.

Kolon	İnertsil ODS-4, 2µm, 2.1X50 mm
Mod	İkili gradient
Akış hızı	0,400 ml/dk
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Mobil Faz A	%0,1 Formik Asit + dH ₂ O
Mobil Faz B	%0,1 Formik Asit + Metanol
Fırın Sıcaklığı	40°C
Gradient Koşulları	4. dk ; B pompası ; 95 7. dk ; B pompası ; 95 7,01. dk ; B pompası ; 5 12. dk ; Bitiş

2.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ

Pelin otu sulu etanolik ekstresinin toplam antioksidan aktivitesi DPPH[•] (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali; C₁₈H₁₂N₅O₆) yöntemiyle belirlenmiştir. Yöntem; etanol içerisinde hazırlanmış 1,8 ml 0,1 mM DPPH ile 0,2 ml ekstrenin karıştırılarak 30 dakika boyunca

karanlıkta inkübe edilmesi, daha sonra 517 nm dalga boyunda köre karşı spektrofotometre ile absorbansının okunması prensibine dayanmaktadır. Kör olarak DPPH çözeltisi ile pelin otu ekstresinin hazırlandığı %70'lik etanol karışımı tercih edilmiştir. Antioksidan aktivitesi araştırılan düşük, orta ve yüksek doz (%2, %5, %10) pelin otu ekstraktlarının her biri üç tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. Her bir doz için elde edilen absorbans değerlerinin ortalamaları alınarak aşağıda verilen eşitlik ile toplam yüzde antioksidan aktivite değeri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Antioksidan Aktivite} = 100 \times \left(\frac{A_0 - A_n}{A_0} \right)$$

(A₀: Kör absorbansı, A_n: Numune absorbansı)

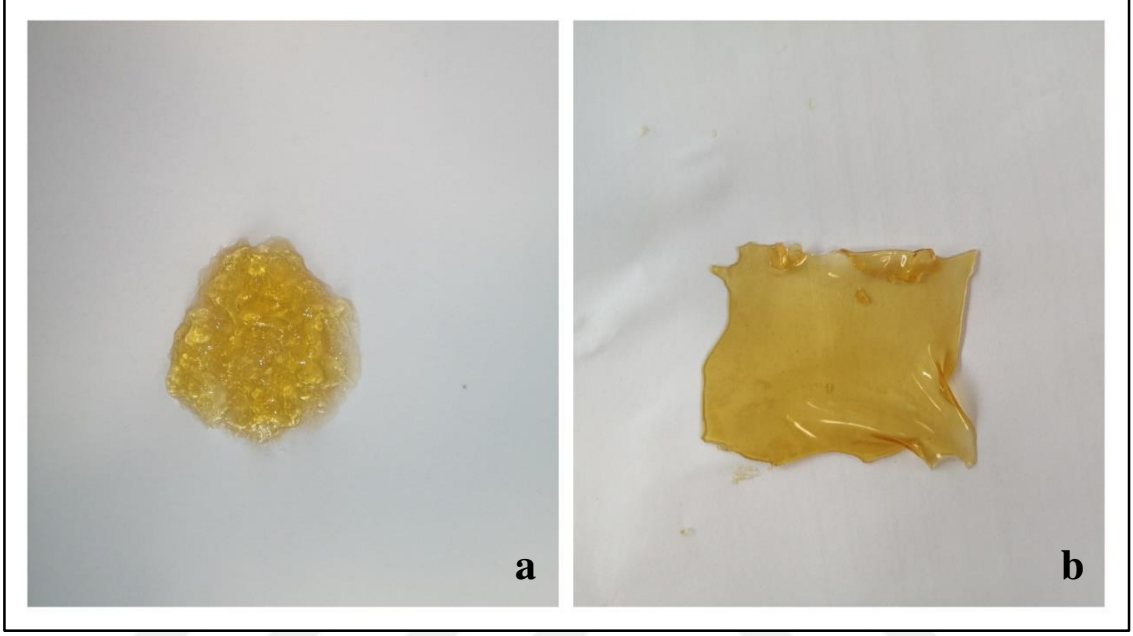
2.5. KİTOSAN TEMELLİ HİDROJELLERİN HAZIRLANMASI

Hidrojeller düşük molekül ağırlıkta kitosan (molekül ağırlığı 50-190 KDa, Sigma Aldrich) kullanılarak sentezlendi. Final konsantrasyonu %2 (w:v) olacak şekilde ayarlanan kitosandan 20 gram tartılarak, %1'lik asetik asit çözeltisi içinde final hacmi 1 litre olacak şekilde ayarlandı. Manyetik karıştırıcı yardımıyla kitosan tamamen çözününceye dek yaklaşık 4 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Hidrojelde kullanılacak diğer polimer olan jelatin (240 bloom) final konsantrasyonu %1 (w:v) olacak şekilde 10 gram tartılarak, 1 litre saf su içerisinde 40°C sıcaklıkta iki saat süreyle karıştırılarak çözüldü. Üç farklı dozda hazırlanmış olan kuru pelin otu ekstraktlarına kitosan ve jelatin çözeltileri eşit hacimlerde eklenerek, %2'lik glutaraldehit yardımıyla oda sıcaklığında 6 saat karıştırılarak çapraz bağlanma reaksiyonu gerçekleştirildi. Çapraz bağlanma reaksiyonu sırasında hidrojellerde plastikleştirici ajan olarak gliserol tercih edildi. Sentezlenen her bir hidrojel için kullanılan madde miktarları eşit olup, Çizelge 2.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.2. Hazırlanan hidrojellerde birleşme oranları.

Kitosan (%2)	245 ml
Jelatin (%1)	245 ml
Gliserol	5 ml
Glutaraldehit (%2)	5 ml
Toplam	500 ml

Herhangi bir madde kaybı olmaması için, hidrojeller doğrudan evaporatörde çözücülerini uçurulan kuru bitki ekstraktlarının erlenlerinde hazırlandı. Hazırlanan hidrojeller petri kabına 6-10 mm kalınlığında olacak şekilde aktararak 12 saat süreyle +4°C buzdolabında olgunlaşmaya bırakıldı. Hazırlanan hidrojinin amorf (gevşek jel) ve tabaka halindeki görüntüsü Şekil 2.2’de gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Hidrojinin a) amorf b) düzenli tabaka halindeki görüntüsü (Aydın, 2023).

2.6. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ

Hidrojellerin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) suşları üzerinde test edildi. Müeller-Hinton agar üzerine agar delici yardımıyla 6 mm çapında kuyucuklar açılarak; 0,5 McFarland standartına sabitlenen bakteri süspansiyonları eküvyon ile agar petrilere yayıldı. Kuyucukların içerisine üç farklı dozda pelin otu içeren hidrojel ile herhangi bir terapötik ajan içermeyen taşıyıcı kitosan hidrojelini yüklendi. Kuyucuklara yüklenen hidrojeller +4°C buzdolabında gerçekleştirilen olgunlaşma adımı atlanarak sıvı formda test edildi. Karşılaştırma için *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* için sırasıyla, vankomisin 30 µg ve meropenem 10 µg içeren ticari antibiyotik diskler kullanıldı. Hazırlanan agar diskler 18-24 saat boyunca 37°C’ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakıldı.

2.7. SIÇANLARDA YANIK MODELİNİN OLUŞTURULMASI

Çalışmaya dâhil edilen deney hayvanları Düzce Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022-06-07 numaralı etik kurulu belgesiyle, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney hayvanları; 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde, sabit sıcaklık ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), nem oranı $\%50 \pm 5$ ortamında ad-libitum olarak beslenen, 20-24 haftalık, 250-450 gr ağırlığındaki Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlardır. Her biri 8 hayvandan oluşan 6 grup, toplamda 48 sıçan olacak şekilde randomize deney tasarımı gerçekleştirildi. Anestezi öncesi hayvanların tartımı sağlandı ve anestezi (Ketamin 90 mg/kg, Ksilazin 10 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon) sonrasında her sıçanın sırt bölgesi tıraş makinesi ile tıraşlandı. Yanık modeli oluşturulmadan önce her bir hayvana dehidratasyonu engellemek için 2 ml intraperitoneal serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Povidon iyot ile antisepsi sonrası hayvanların sırtlarında işaretlenen bölgelere 2 cm × 2 cm ölçülerinde demir mühür ile yanık yara modeli oluşturuldu. Üçüncü derece tam kat yanık oluşturmak amacıyla demir mühür 40 saniye açık ateşe maruz bırakılıp, 20 saniye süresince hayvanın sırtına uygulandı. Kızılötesi termometre ile kontrolü sağlanan demir mührün sıcaklığı her uygulamada 150°C 'ye sabitlendi. Yanık modeli oluşturulmak için kullanılan 2 × 2 cm boyutlarındaki demir mühür Şekil 2.3'te gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Yanık modeli oluşturmak için kullanılan demir mühür (Aydın, 2023).

Akut etkilerin incelendiği 24 hayvan 3 gün süreyle, kronik etkilerin incelendiği 24 hayvan 21 gün süreyle tedavi edildi. Yanık yaralarında oluşan kabuklar çalışmanın 18. gününde temizlendi. Tedavi grupları aşağıda belirtildiği şekildedir:

1. Pozitif Kontrol Grubu: Gruptaki deneklere yanık yara modeli uygulandıktan sonra günde bir kez %1'lik gümüş sülfadiazin içeren Silverdin krem topikal olarak uygulandı.

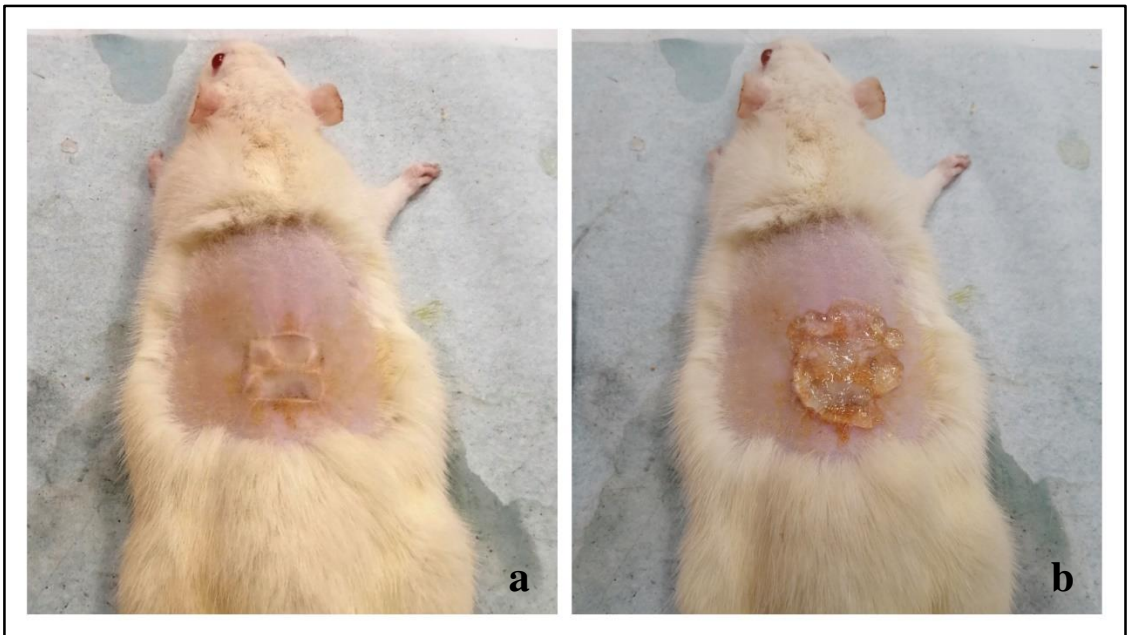
2. Negatif Kontrol (Sham) Grubu: Gruptaki deneklere yanık yara modeli oluşturulmuş olup herhangi bir tedavi uygulanmadı. Deneyin girişimsel etkileri incelendi.

3. Taşıyıcı Grubu: Yanık yara modeli oluşturulmuş olan hayvanlarda pelin otu ekstresi içermeyen kitosan temelli hidrojel günde bir kez topikal olarak uygulandı.

4. Düşük Doz Pelin Otu Grubu: Deney modeli oluşturulmuş hayvanlarda kitosan temelli hidrojel içerisinde %2'lik pelin otu ekstresi günde bir kez topikal olarak uygulandı.

5. Orta Doz Pelin Otu Grubu: Yanık yara modeli oluşturulmuş hayvanlarda kitosan temelli hidrojel içerisinde %5'lik pelin otu ekstresi günde bir kez topikal olarak uygulandı.

6. Yüksek Doz Pelin Otu Grubu: Deney modeli oluşturulmuş sıçanlarda kitosan temelli hidrojel içerisinde %10'luk pelin otu ekstresi günde bir kez topikal olarak uygulandı.



Şekil 2.4. Sıçanlarda a) yanık modelinin oluşturulması b) yara örtüsünün uygulanması (Aydın, 2023).

2.8. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Yanık modeli oluşturdudan sonraki 3. gün akut etkilerin incelendiği 24 hayvan ketamin anestezisi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Kronik etkilerin incelendiği kalan 24 hayvan ise deneyin 21. gününde aynı koşullar altında sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı. Hayvanların işlem yapılan yanık alanlarından yara yatağı göz önünde bulundurularak tam kat halinde doku örnekleri çıkarıldı. Elde edilen doku örnekleri eşit iki parçaya ayrıldı ve sitokinlerin belirlenmesinde kullanılacak olan parçalar -80°C buzdolabına kaldırıldı. Histopatolojik incelemelerin yapılacağı doku parçaları ise %10'luk formaldehit solüsyonunda en az 48 saat bekletildikten sonra rutin parafin takibi yapıldı. Parafin bloklara gömülen doku örneklerinden enine ve boyuna 5 mikronluk kesitler alınarak hematoksilen-eozin ile boyandı. Elde edilen kesitler Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda uzman patolog tarafından randomize ve kör şekilde ışık mikroskopuyla incelendi. Granülasyon dokusu, dev hücre, kolajen artışı, deri eklerinde kayıp, epidermal kayıp ve kolajen liflerinde bozulma var-yok şeklinde değerlendirildi. Akut inflamasyon, kronik inflamasyon, fibrozis, epidermal rejenerasyon, eozinofil sayısı parametreleri ise 0, 1, 2, 3 şeklinde skorlandı. (0: Yok, 1: Düşük, 2: Orta, 3: Yüksek)

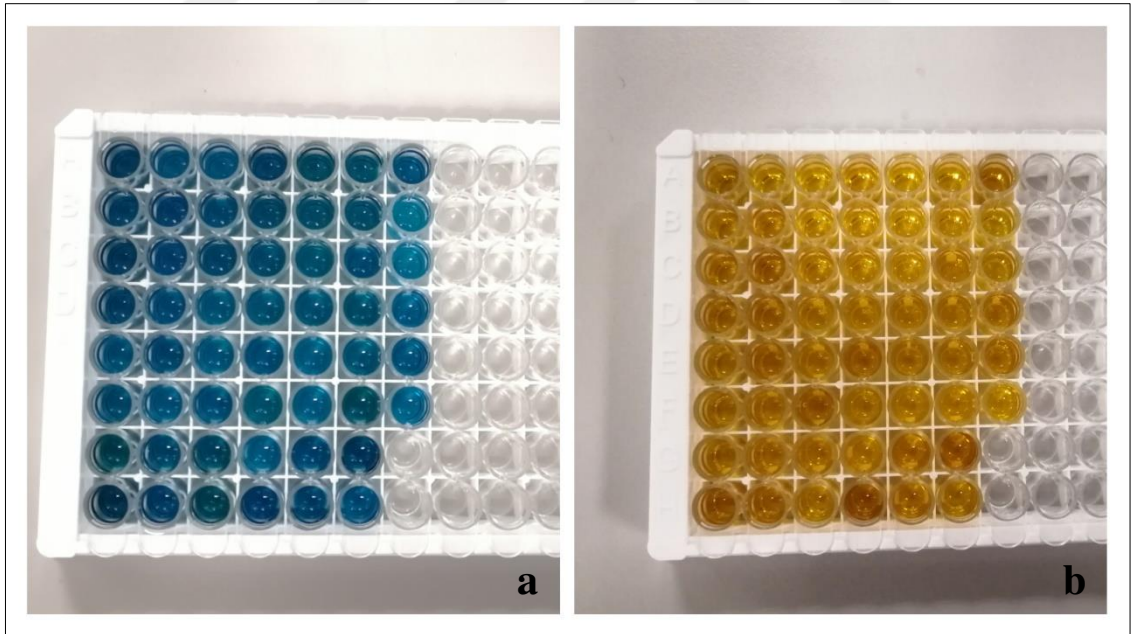
2.9. İMMÜNOMODÜLATÖR SİTOKİNLERİN ANALİZİ

Proinflamatuvar sitokinlerden interlökin 1 alfa (IL-1 α), interlökin 6 (IL-6), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) ile antiinflamatuvar sitokinlerden interlökin 10 (IL-10) ELISA testi yardımıyla belirlendi. Çalışmada her bir sitokin belirlenmesinde sandviç ELISA prensibiyle çalışan kitler (ELK Biotechnology, China) kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce -80°C buzdolabında saklanan doku örnekleri oda sıcaklığına getirilerek 1 ml 1X PBS çözeltisi içerisinde homojenizatör ile 2 dakika süreyle parçalandı. Santrifüjlenen homojenatlardan elde edilen supernatantlar analiz için ayrıldı. ELISA testi prosedürü kit içerisinde bulunan kullanım kılavuzu yardımıyla gerçekleştirildi. Bu amaçla:

1. Sitokinlere ait standartlar seri dilüsyon ile 6 konsantrasyon noktası olacak şekilde ayarlandı. IL-1 α , IL-6 ve TNF- α için 1000, 500, 250, 125, 62,5, 32,2 pg/ml; IL-10 için 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63 pg/ml şeklinde hazırlandı.
2. Hazırlanan standartlar ve analiz edilecek numuneler her kuyucuğa 100 μ l

eklendi, üzeri kapatılarak 37°C’de 45 dakika inkübe edildi.

3. İnkübasyon sonrası dikkatlice boşaltılan kuyucuklar 25 kat seyreltilmiş yıkama solüsyonuyla her seferinde 200 µl olacak şekilde üç kez yıkandı.
4. Yıkama sonrası her kuyucuğa 100 kat seyreltilmiş Biotinylated-Antibody solüsyonu 100 µl eklendi, üzeri kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübe edildi.
5. İnkübasyon bitiminde yıkama basamağının tekrarlanmasının ardından her kuyucuğa 100 kat seyreltilmiş Streptavidin-HRP solüsyonu 100 µl eklendi, üzeri kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübe edildi.
6. Yıkama aşaması aynı şekilde tekrarlandıktan sonra karanlıkta her kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi, üzeri kapatılarak 37°C’de 20 dakika inkübe edildi.
7. Son aşama olarak inkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenerek maviden sarıya renk değişimi gözlemlendi.
8. 450 nm’de 3 tekrarlı ölçüm alınarak sonuçlar kaydedildi.



Şekil 2.5. ELISA’da a) TMB solüsyonu b) stop solüsyonu eklendiğindeki renk değişimi (Aydn, 2023).

2.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Doku IL-1α, IL-6, IL-10, TNF-α seviyelerinin normal dağılımı, zaman ve grup

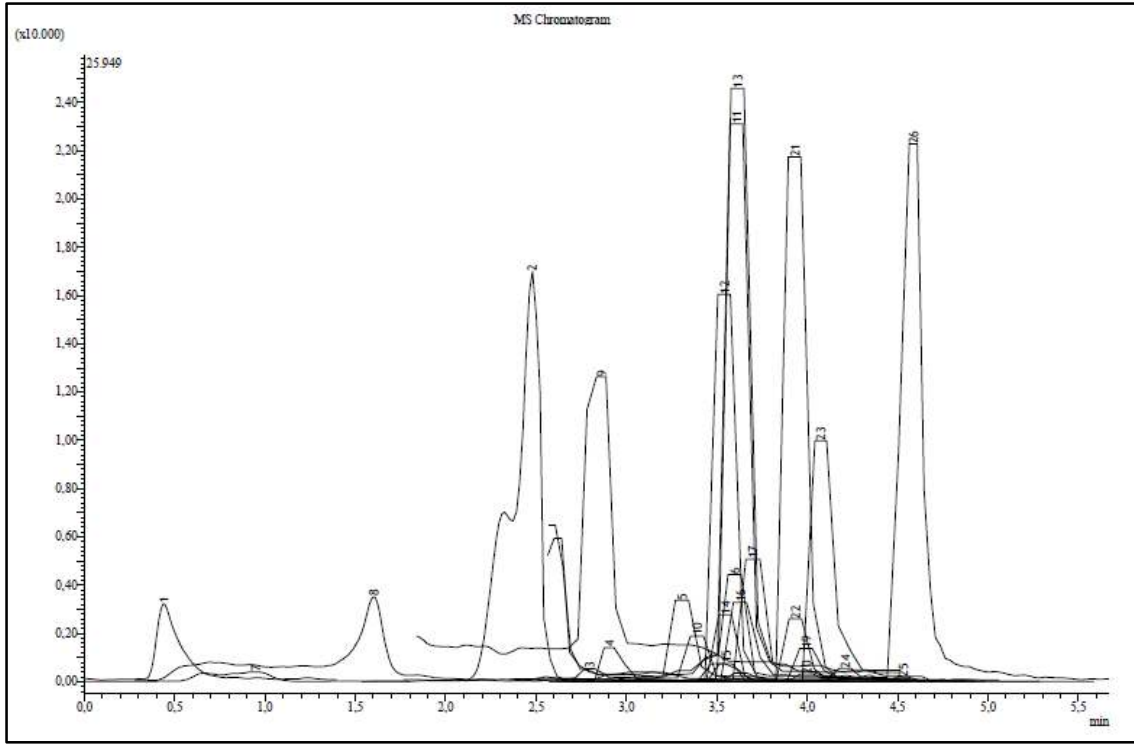
faktörlerinin tüm kombinasyonlarına göre Shapiro-Wilk Testi ile incelendi. Varyansların homojenliği Levene Testi ile değerlendirildi. Bağımlı değişkenlerin, zaman ve grup faktörlerine göre değişimi İki Faktörlü Varyans Analizi (Two-Way ANOVA) ile incelendi. Faktörlerin ortak etkisi anlamlı olmadığında, bağımsız değişkenlerin bağımlı değişken üzerindeki etkileri ayrı ayrı değerlendirildi. Ortak etki anlamlı olduğunda ise beraber olarak değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmaların incelendiği Post-Hoc analizler için Tukey Testi uygulandı, sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak bildirildi. Verilerin analizi için JASP 0.17 kullanıldı, $p < 0,05$ olan sonuçlar istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi. Histopatolojik verilerin analizi IBM SPSS Statistics 26.0 istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Deney grupları arasındaki histopatolojik skorların non-parametrik dağılım farkının anlamlılığı Fisher Kesin Olasılık Testi (Fisher's Exact Test), Monte Carlo Simülasyonu ile analiz edildi. Kategorik değişkenlerin analiz edildiği testte güven aralığı %99 alınarak 10.00 kez tekrarlanan simülasyonda; anlamlılık düzeyi tüm sonuçlarda $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. Fenolik Bileşik Analizi Sonuçları

LC/MS-MS ile toplamda 26 fenolik bileşik ekstre içerisinde kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. Analizi yapılan bileşiklerin kromatogram görüntüsü Şekil 3.1’de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Analizi yapılan fenolik bileşiklerin LC/MS-MS kromatogram görüntüsü.

Yukarıda kromatogramı verilen bileşikler 1) asetohidroksamik asit, 2) kateşin hidrat, 3) vanilik asit, 4) sirinjik asit, 5) timokinon, 6) resveratrol, 7) fumarik asit, 8) gallik asit, 9) kafeik asit, 10) 4-hidroksisinnamik asit, 11) hidroksibenzoik asit, 12) protokateşik asit, 13) salisilik asit, 14) oleuropein, 15) floridzin dihidrat, 16) 2-hidroksi-1,4-naftakinon, 17) mirisetin, 18) elajik asit, 19) kuersetin, 20) bütein, 21) naringenin, 22) silimarin, 23) luteolin, 24) kemferol, 25) alizarin, 26) kurkumin şeklindedir.

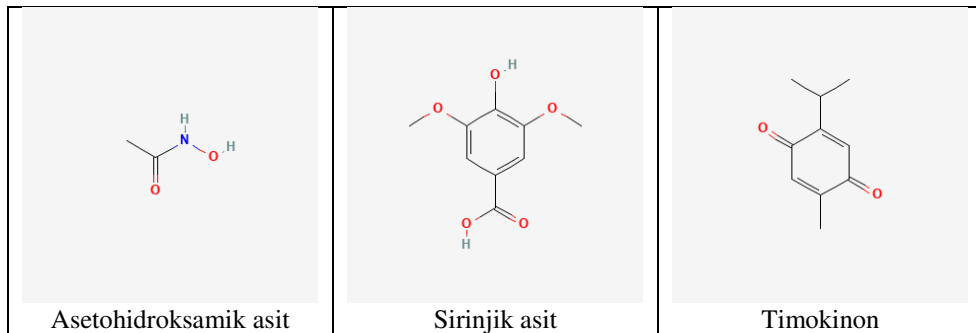
Analizi yapılan toplamda 26 bileşikten 15 tanesi belirlenmiş olup; kalan 11 bileşik

ekstre içerisinde tespit edilememiştir. Tespit edilemeyen fenolik bileşikler kateşin hidrat, vanilik asit, hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, salisilik asit, floridzin hidrat, 2-hidroksi-1,4-naftakinon, naringenin, silimarin, kemferol, alizarin şeklindedir. Tespit edilen fenolik bileşiklerden en yüksek miktarda olan fumarik asit, en düşük olan ise kurkumin olarak belirlenmiştir. Saptanan bileşiklerin adı, tutulma zamanları ve miktarları Çizelge 3.1’de ve kimyasal yapıları Çizelge 3.2’de gösterilmektedir.

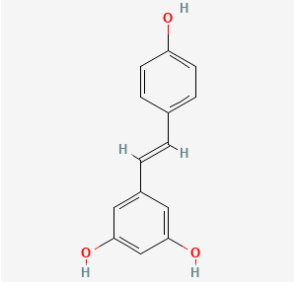
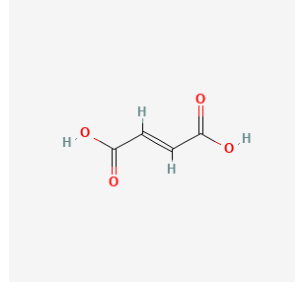
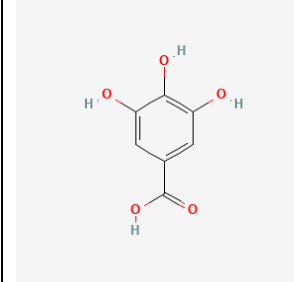
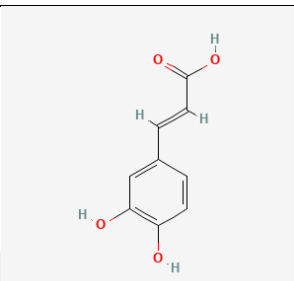
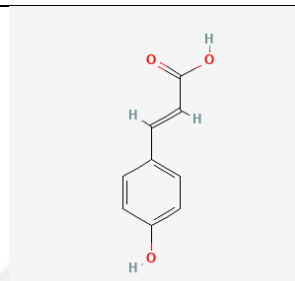
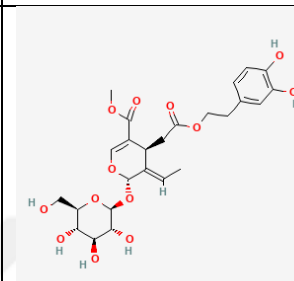
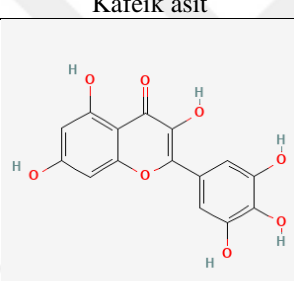
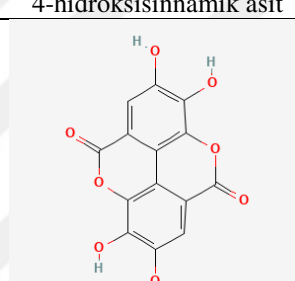
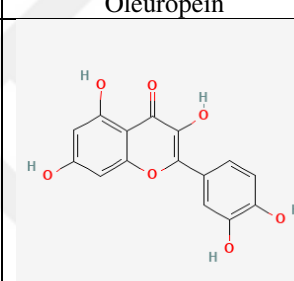
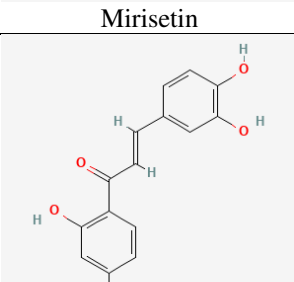
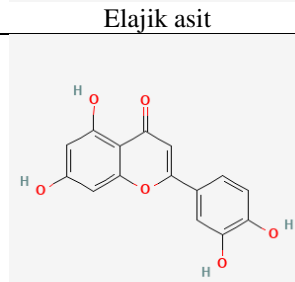
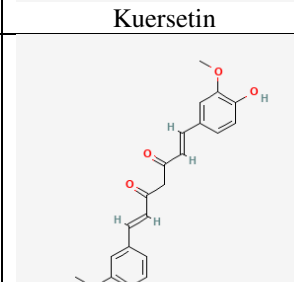
Çizelge 3.1. Tespit edilen bileşiklerin adı, tutulma zamanı ve miktarı.

Bileşik	Tutulma zamanı (dk)	Miktar (µg/L)
Asetohidroksamik asit	0,406	315,55
Sirinjik asit	3,001	500,69
Timokinon	3,337	762,06
Resveratrol	3,366	717,06
Fumarik asit	0,809	3593,71
Gallik asit	1,278	421,76
Kafeik asit	2,836	120,71
4-Hidroksisinnamik asit	3,489	37,31
Oleuropein	3,567	79,82
Mirisetin	3,644	35,04
Elajik asit	3,681	130,1
Kuersetin	3,891	268,79
Bütein	3,935	196,97
Luteolin	4,069	57,07
Kurkumin	4,672	15,09

Çizelge 3.2. Tespit edilen bileşiklerin kimyasal yapıları (Pubchem).



Çizelge 3.2. (Devam) Tespit edilen bileşiklerin kimyasal yapıları (Pubchem).

		
Resveratrol	Fumarik asit	Gallik asit
		
Kafeik asit	4-hidroksisinnamik asit	Oleuropein
		
Mirisetin	Elajik asit	Kuersetin
		
Bütein	Luteolin	Kurkumin

3.1.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

DPPH yardımıyla sulu etanolik pelin otu ekstresinin farklı konsantrasyonlarında toplam antioksidan aktivitesi yüzde olarak hesaplanmıştır. Koyu mor renkte olan 0,1 mM DPPH çözeltisinin antioksidan varlığında sarı-soluk yeşil renge dönüştüğü gözlenmiştir. 517 nm’de köre karşı alınan absorbans değerleri yardımıyla yüzde şeklinde hesaplanan antioksidan aktivite sonuçları standart sapma değerleriyle birlikte Çizelge 3.3.’te gösterilmektedir.

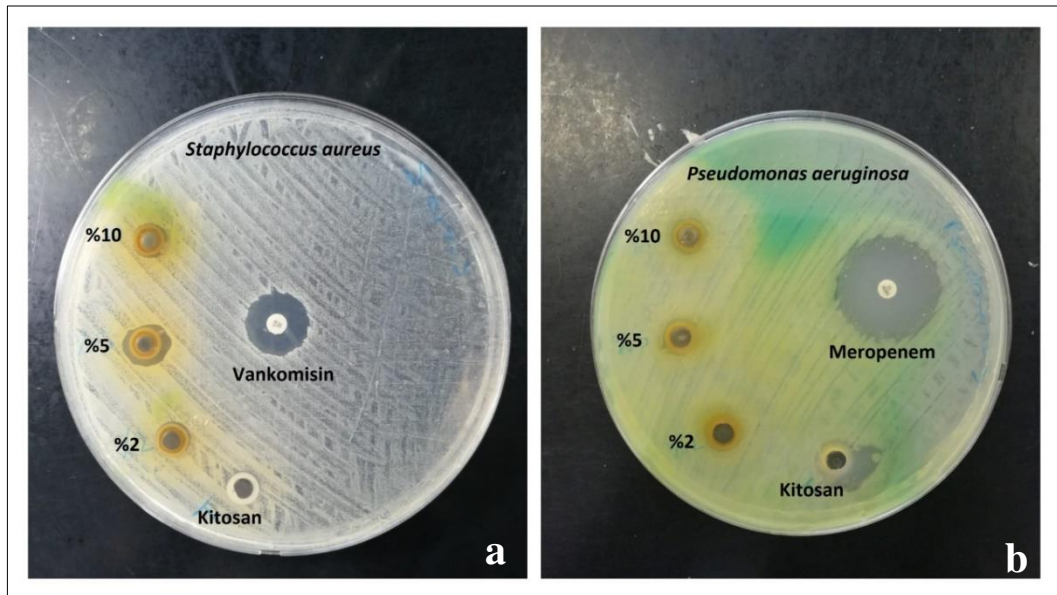
Çizelge 3.3. Antioksidan aktivite sonuçları

Konsantrasyon (mg/ml)	Antioksidan Aktivite (%)
100 (%10, yüksek doz)	91,1 ± 0,054
50 (%5, orta doz)	89,6 ± 0,012
20 (%2, düşük doz)	84,1 ± 0,02

0,1 mM DPPH çözeltisi için en yüksek antioksidan aktivite %91,1 ± 0,054 oranda 100 mg/ml pelin otu içeren yüksek doz ekstrede saptanmıştır. 50 mg/ml pelin otu içeren orta doz ekstre %89,6 ± 0,012 oranda antioksidan aktiviteye sahipken, düşük doz olan 20 mg/ml pelin otu içeren ekstre %84,1 ± 0,02 antioksidan aktiviteye sahiptir.

3.1.3. Antimikrobiyal Aktivite Testi Sonuçları

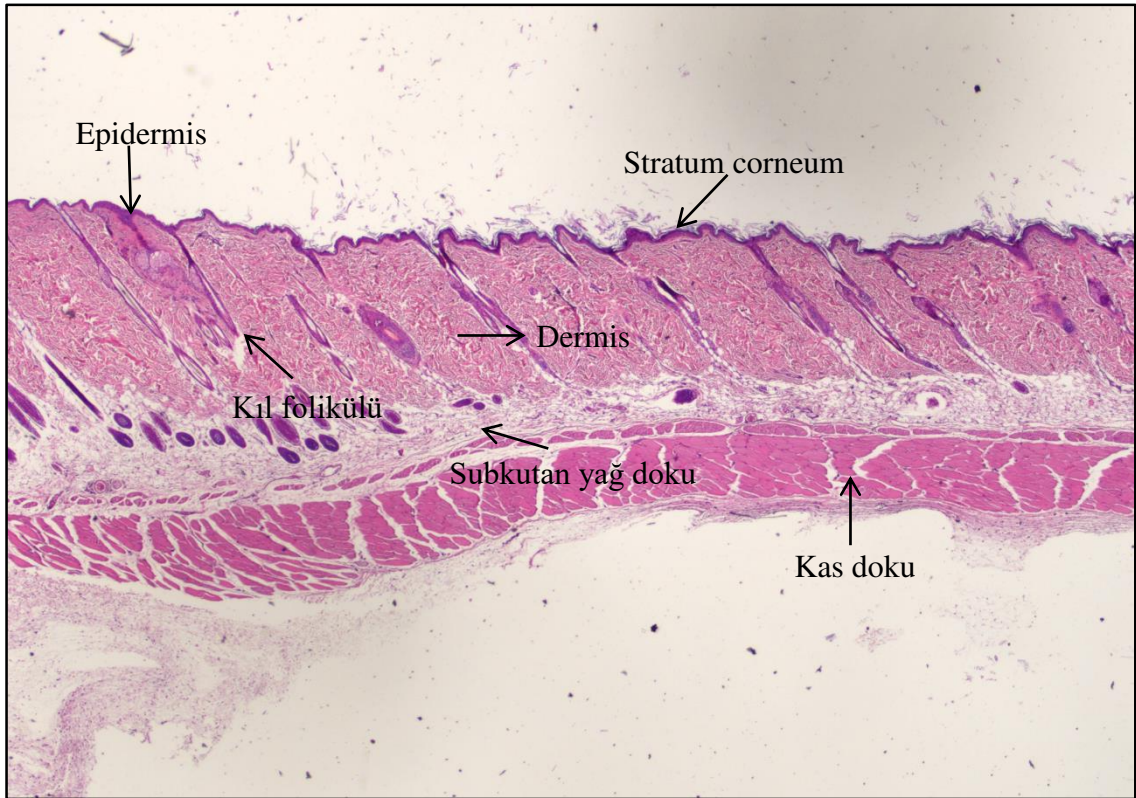
Farklı dozlarda etanolik pelin otu ekstresi içeren ve herhangi bir tedavi edici ajan içermeyen kitosan hidrojellerin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi yardımıyla tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) suşu için vankomisin (30 µg), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) için meropenem (10 µg) antibiyotik diskleri referans olarak tercih edilmiştir. Test edilen dört hidrojelde de herhangi bir antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir. Disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal aktivitesi incelenen hidrojeller Şekil 3.2’te gösterilmektedir.



Şekil 3.2. a) *S. aureus* b) *P. aeruginosa* antimikrobiyal aktivite sonuçları (Aydın, 2023).

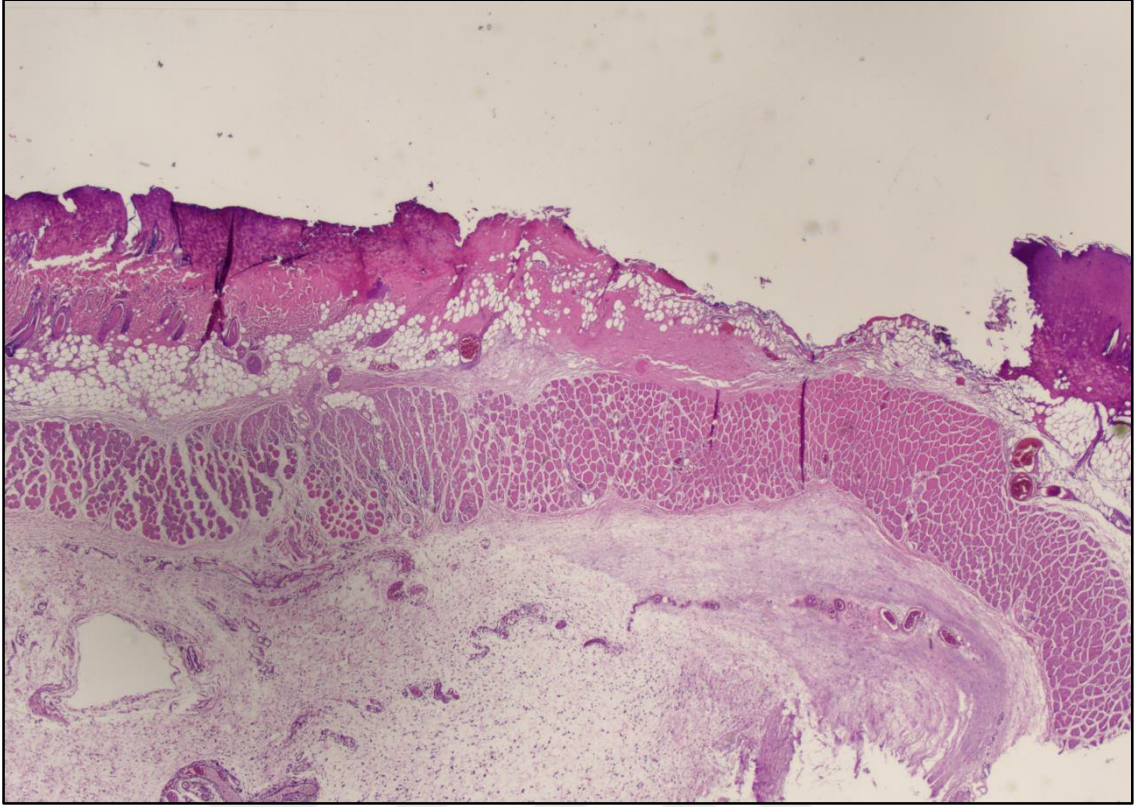
3.1.4. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

Akut ve kronik dönem sonuçlarını incelemek amacıyla deney başlangıcından sonraki 3. ve 21. günde sıçanlardan elde edilen doku örnekleri %10'luk formaldehit çözeltisinde en az 48 saat süreyle bekletilmiştir. Parafin bloklara gömüldükten sonra dokulardan alınan 5 mikronluk kesitler hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskobuyla semikantitatif incelenmiştir. İncelenen doku örneklerinde granülasyon, dev hücre, kolajen artışı, deri eklerinde kayıp, epidermal kayıp ve kolajen liflerinde bozulma var-yok şeklinde değerlendirilmiştir. Akut inflamasyon, kronik inflamasyon, fibrozis, epidermal rejenerasyon, eozinofil sayısı parametreleri ise 0, 1, 2, 3 şeklinde skorlanmıştır. (0: Yok, 1: Düşük, 2: Orta, 3: Yüksek)



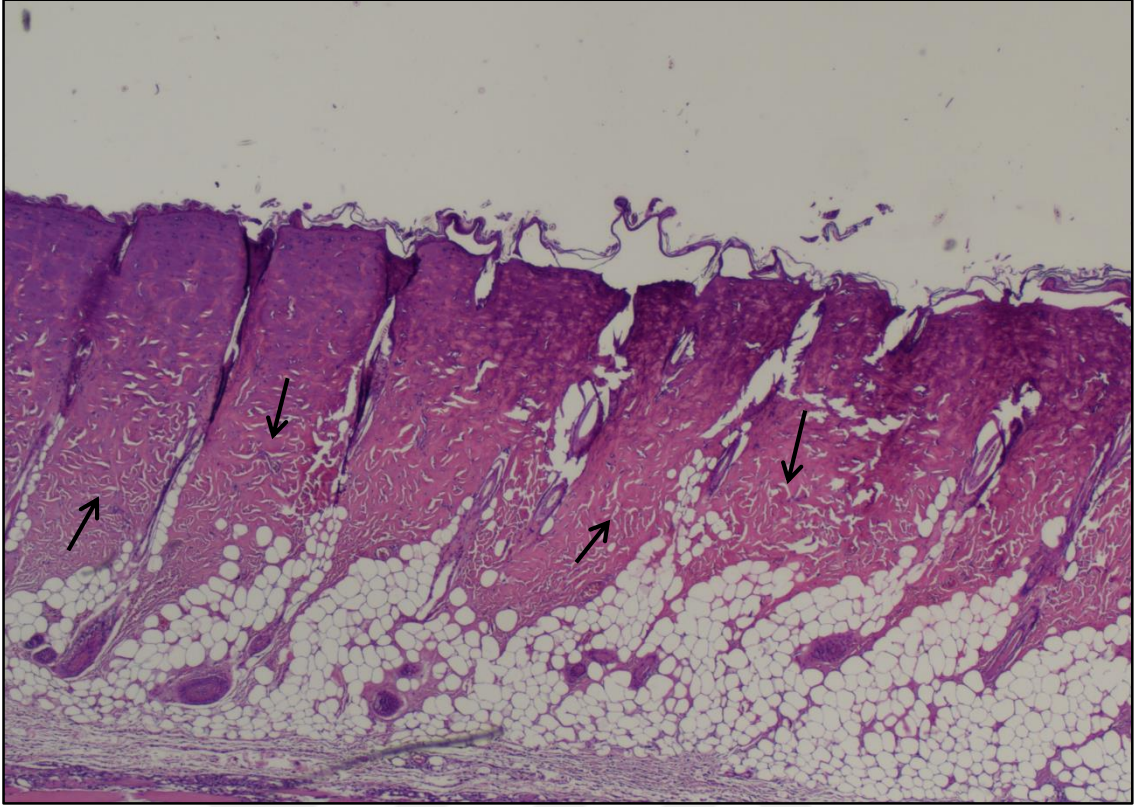
Şekil 3.3. Yanık modeli uygulanmamış normal sıçan derisi (4X) (Aydın, 2023).

Yanık modeli uygulanmamış normal sıçan derisinde epidermis tabakası ve en dış kısmı olan stratum corneum, dermis tabakası ve hipodermis, yağ ve kas doku görülmektedir. Deri eklerinden olan kıl foliküllerinin kayıp olmadığı, soluk pembeye boyanan kolajen liflerinin düzenli ve iplikçi yapıda olduğu, damarsal yapıların sağlam olduğu gözlenmektedir.



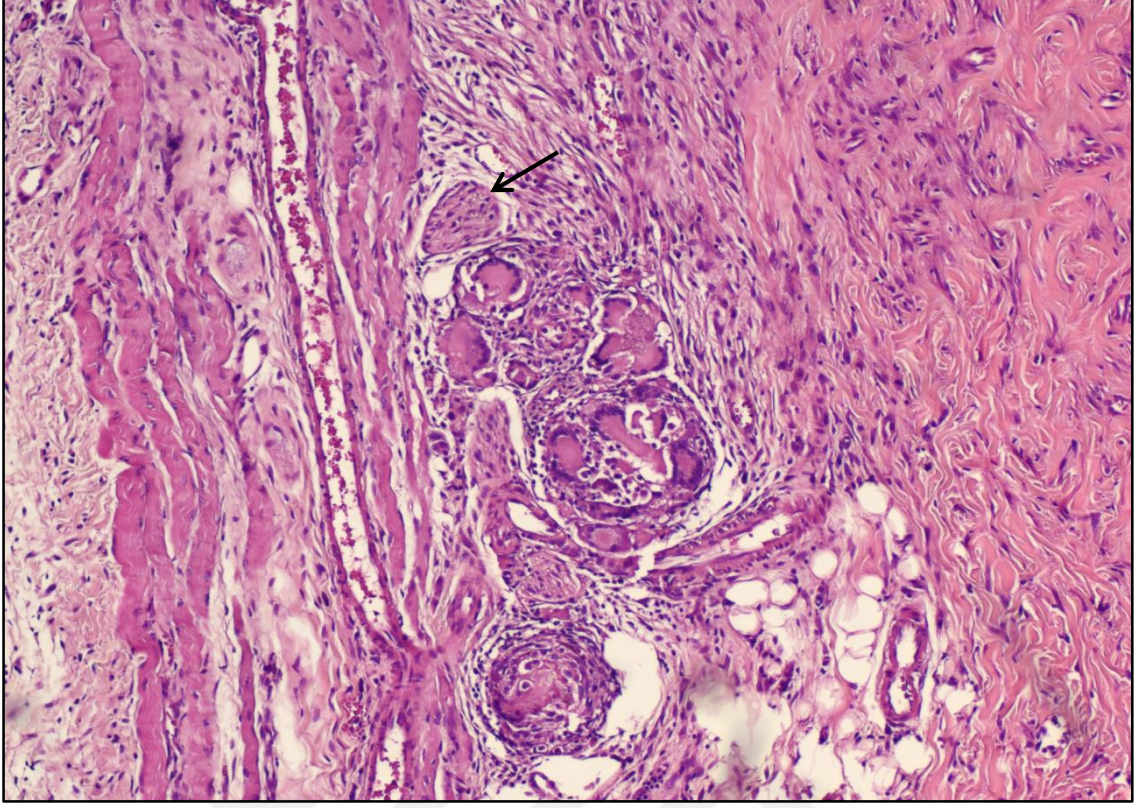
Şekil 3.4. Düşük doz tedavi grubu 3. günde tam kat yanık örneği (2X) (Aydın, 2023).

Tam kat yanığın belirgin biçimde görüldüğü örnek histopatolojik olarak incelendiğinde akut ve kronik inflamasyon gözlenmezken; iyileşme parametrelerinden olan fibrozis ve granülasyon dokusu henüz oluşmamıştır. Epidermal rejenerasyonunun olmadığı, kıllar, yağ ve ter bezlerini temsil eden deri eklerinin tamamında ve epidermiste büyük oranda kayıp olduğu görülmektedir. Kan damarlarının hasarlandığı ve kas dokunun önemli düzeyde rüptüre olduğu gözlenmektedir. Kolajen artışı olmamakla birlikte; yanığa bağlı olarak dermiste kolajen liflerinde belirgin bozulma vardır.



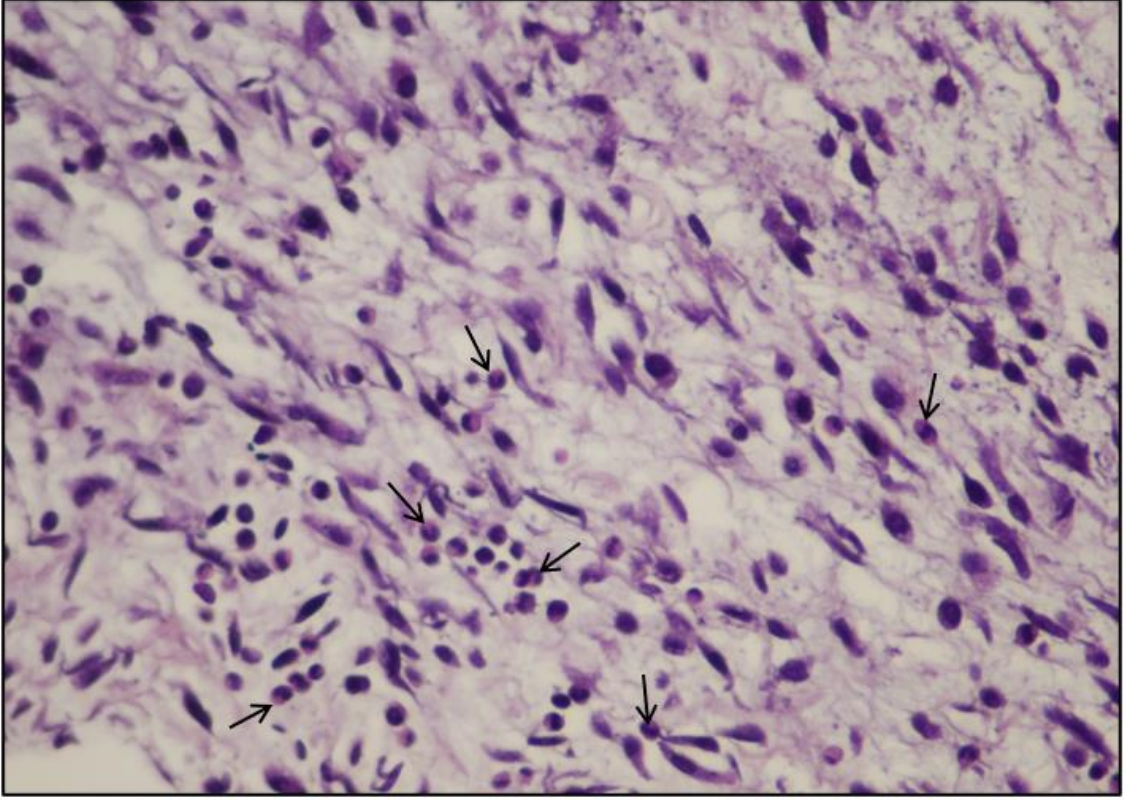
Şekil 3.5. Negatif kontrol grubu 3. günde kolajen liflerinde bozulma (4X)
(Aydın, 2023).

Negatif kontrol grubundan 3. günde alınan örnekte hafif şiddette akut ve kronik inflamasyon görülürken, iyileşme belirtilerinden fibrozis ve granülasyon dokusu oluşumu gözlenmemektedir. Deri eki ve epidermal kayıp bulunmakta ancak hafif şiddette epidermal rejenerasyonun başladığı da gözlenmektedir. Kolajen artışı yoktur ve kolajen liflerinde (ok) belirgin düzeyde bozulma mevcuttur. Kolajen lifleri ipliksi ve düzenli yapı şeklinde değil, yanığa bağlı olarak parçalanmış ve düzensiz şekildedir.



Şekil 3.6. Pozitif kontrol grubunda 21. günde dev hücre görüntüsü (10X) (Aydın, 2023).

Histopatolojik olarak incelenen örnekte akut inflamasyon yokken, artmış lenfosit sayısına bağlı olarak hafif şiddette kronik inflamasyon vardır. Örnekte makrofaj kökenli yabancı cisim dev hücresi (ok) görülmektedir. Kronik inflamasyonla karakterize olan ve yabancı cisimlere karşı fagositoz sağlayan dev hücreler toplamda incelenen 48 örneğin yalnızca üç tanesinde saptanmıştır. Saptanan iki dev hücre pozitif kontrol grubuna, diğer dev hücre ise yüksek doz tedavi grubuna ait doku örneklerindedir.



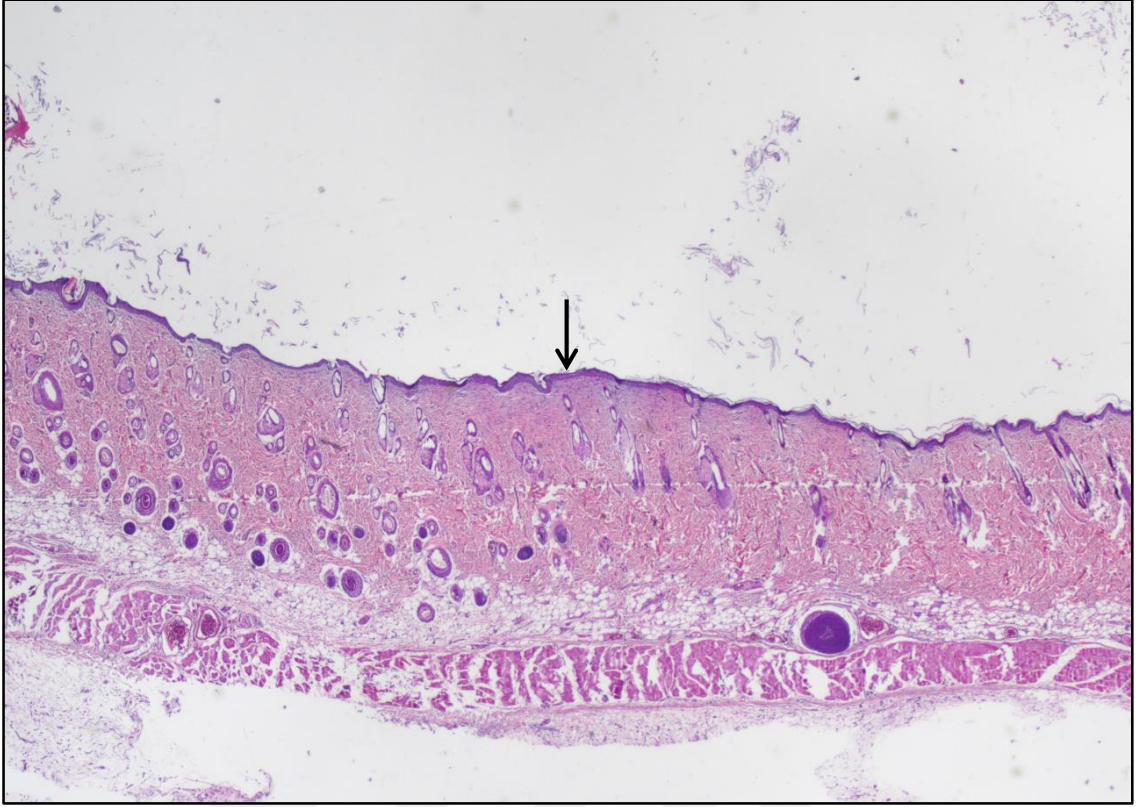
Şekil 3.7. Negatif kontrol grubunda 3. günde nötrofil görüntüsü (40X) (Aydın, 2023).

İncelenen örnekte akut inflamasyonla karakterize olan nötrofillerin (ok) belirgin artışı mevcuttur. Bunun yanı sıra hafif şiddette kronik inflamasyon da görülmektedir. Ayrıca kolajen liflerinin belirgin düzeyde bozulduğu, düzensizleştiği ve bazı bölgelerde parçalanmaya bağlı kaybolduğu gözlenmektedir.



Şekil 3.8. Orta doz tedavi grubunda 21. günde artmış akut inflamasyon görüntüsü (2X)
(Aydın, 2023).

Histopatolojik olarak incelenen örnekte artmış nötrofil ve lökosit sayısına bağlı olarak orta şiddette akut ve kronik inflamasyon bulunmaktadır. Deneyin 18. gününde; dokuların çıkarılması ve terminasyondan 3 gün önce sıçanlarda oluşan yara kabuklarının debridmanının akut inflamasyonu artırdığı düşünülmektedir. Hafif şiddette fibrozis bulunan örnekte, granülasyon dokusu gözlenmemektedir. Epidermal kayıp ve deri ekleri kaybı varken, kolajen artışı yoktur.



Şekil 3.9. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde tam iyileşme görüntüsü (2X)
(Aydın, 2023).

İncelenen örnekte akut ya da kronik herhangi bir inflamasyon görülmemektedir. Tam iyileşmenin gözlendiği örnekte fibrozis ve granülasyon tamamlanmış olup, epidermal rejenerasyon (ok) yüksek şiddette bulunmaktadır, epidermal kayıp yoktur. Kolajen liflerinde artış varken, liflerde bozulma yoktur. Çok sayıda yeni kan damarının da oluştuğu görülmektedir.



Şekil 3.10. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde tam iyileşen yanık görüntüsü
(Aydın, 2023).

3.1.5. İmmünomodülatör Sitokinlerin Analiz Sonuçları

Proinflatuar sitokinler IL-1 α , IL-6, TNF- α ile antiinflatuar sitokin IL-10 sandviç ELISA metodu yardımıyla doku örneklerinde pg/ml düzeyinde belirlendi. Doku IL-1 α miktarlarının gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Doku IL-1 α seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları.

IL-1 α (pg/ml)	Grup	Gün	Ortalama	Standart Sapma
	Taşıyıcı	3.	227,825	104,9
		21.	588,625	192,47
	Pozitif Kontrol	3.	520,058	117,03
		21.	497,721	155,35
	Negatif Kontrol	3.	606,809	93,56
		21.	581,350	38,25
	Düşük Doz	3.	295,3	143,48
		21.	531,125	168,06
	Orta Doz	3.	451,975	308,54
		21.	447,8	76,32
	Yüksek Doz	3.	341,15	76,16
		21.	376,975	79,09

Doku IL-1 α seviyeleri incelendiğinde taşıyıcı, düşük ve yüksek doz tedavi gruplarında artış görülürken; pozitif ve negatif kontrol ile orta doz tedavi grubunda hafif düzeyde

azalma vardır. Doku IL-6 seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Doku IL-6 seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları.

IL-6 (pg/ml)	Grup	Gün	Ortalama	Standart Sapma
	Taşıyıcı	3.	375,25	234,95
		21.	844,625	465,21
	Pozitif Kontrol	3.	232,125	150,75
		21.	632,75	411,42
	Negatif Kontrol	3.	312,835	34,57
		21.	487,25	240,44
	Düşük Doz	3.	305,25	152,33
		21.	385,875	263,81
	Orta Doz	3.	430,875	171,83
		21.	577,75	256,2
	Yüksek Doz	3.	255,875	46,96
		21.	277,75	81,21

Doku IL-6 düzeyleri tüm gruplarda zamanla farklı miktarlarda artış göstermiştir. Doku IL-10 seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. Doku IL-10 seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları.

IL-10 (pg/ml)	Grup	Gün	Ortalama	Standart Sapma
	Taşıyıcı	3.	543,077	235,41
		21.	589,747	241,15
	Pozitif Kontrol	3.	358,497	102,94
		21.	463,077	195,15
	Negatif Kontrol	3.	388,313	131,76
		21.	454,747	118,61

Çizelge 3.6. (Devam) Doku IL-10 seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları.

Düşük Doz	3.	273,083	33,6
	21.	462,245	344,93
Orta Doz	3.	368,495	53,0
	21.	385,58	131,78
Yüksek Doz	3.	476,83	106,83
	21.	721,415	401,12

Doku IL-10 düzeyleri tüm gruplarda zamanla farklı miktarlarda artış göstermiştir. Doku TNF- α seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları Çizelge 3.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. Doku TNF- α seviyelerinin gruplardaki güne bağlı ortalama miktarları.

TNF- α (pg/ml)	Grup	Gün	Ortalama	Standart Sapma
	Taşıyıcı	3.	545,8	229,90
		21.	684,95	42,09
	Pozitif Kontrol	3.	503,275	130,90
		21.	681,625	18,18
	Negatif Kontrol	3.	507,608	156,50
		21.	610,8	42,28
	Düşük Doz	3.	532,45	50,78
		21.	384,15	112,87
	Orta Doz	3.	547,45	142,49
		21.	629,95	135,78
	Yüksek Doz	3.	412,475	270,22
		21.	746,625	158,27

Doku TNF- α düzeyleri taşıyıcı grubu, pozitif kontrol ve negatif kontrol grupları, orta ve yüksek doz tedavi gruplarında zamanla artarken; düşük doz tedavi grubunda azalmıştır.

3.1.6. Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

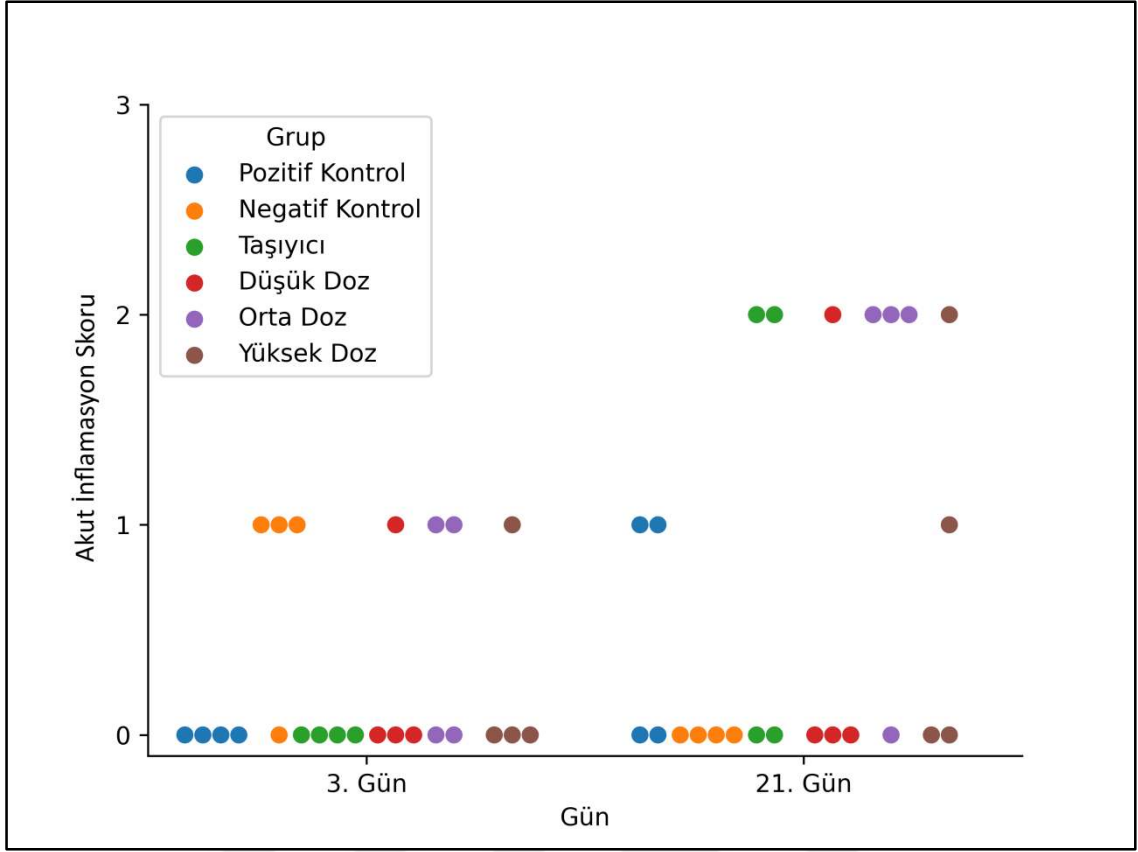
3.1.6.1. Histopatolojik Sonuçların İstatistiksel Değerlendirilmesi

Araştırmada incelenen her bir histopatolojik parametrenin, deney gruplarındaki 3. ve 21. gündeki skorları Fisher Kesin Olasılık Testi, Monte Carlo Simülasyonu kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm sonuçlarda $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. Teste göre elde edilen anlamlılık düzeyleri Çizelge 3.12’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.8. Histopatolojik skorların deney gruplarındaki istatistiksel dağılımı.

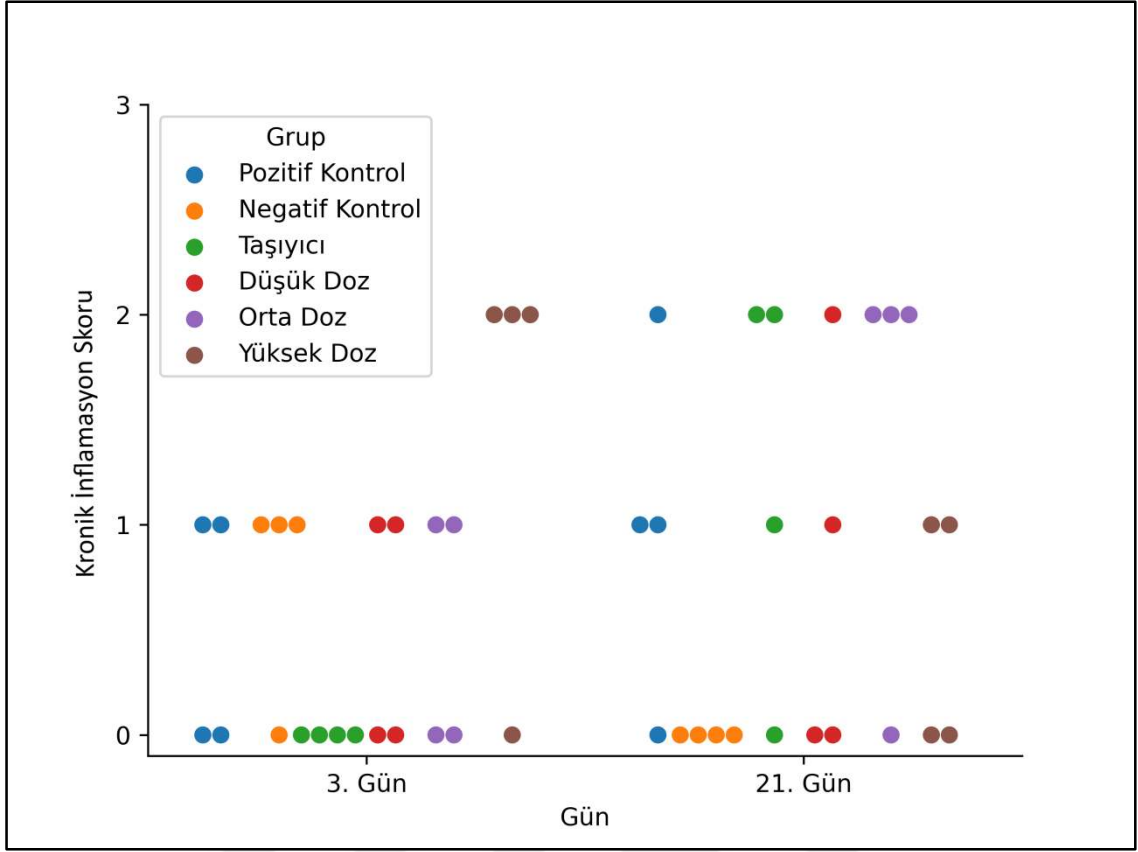
Parametre	Gün	Anlamlılık
Akut İnflamasyon	3.gün	0,257
	21.gün	0,184
Kronik İnflamasyon	3.gün	0,064
	21.gün	0,276
Fibrozis	3.gün	0,131
	21.gün	0,018*
Epidermal Rejenerasyon	3.gün	0,429
	21.gün	0,269
Granülasyon	21.gün	0,417
Dev Hücre	21.gün	0,362
Deri Eklerinde Kayıp	21.gün	1,000
Kolajen Artışı	3.gün	0,626
	21.gün	0,123
Epidermal Kayıp	3.gün	1,000
	21.gün	0,265
Kolajen Liflerinde Bozulma	3.gün	0,135
	21.gün	0,097

Buna göre skorlanarak incelenen akut ve kronik inflamasyon, epidermal rejenerasyon, granülasyon, dev hücre, deri eklerinde kayıp, kolajen artışı, epidermal kayıp, kolajen liflerinde bozulma parametrelerinden 3. ve 21. günde anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Fibrozis değerlendirmesinde ise 3. gündeki sonuçlar anlamlı değil iken; 21. günden elde edilen sonuçlar anlamlı bulunmuştur. Histopatolojik olarak incelenen örneklerde 3.günde granülasyon ve dev hücre gözlemlenmemiş olup, deri eklerinde kayıp hepsinde vardır. İncelenen toplamda 48 dokunun hiçbirinde eozinofil yoktur.



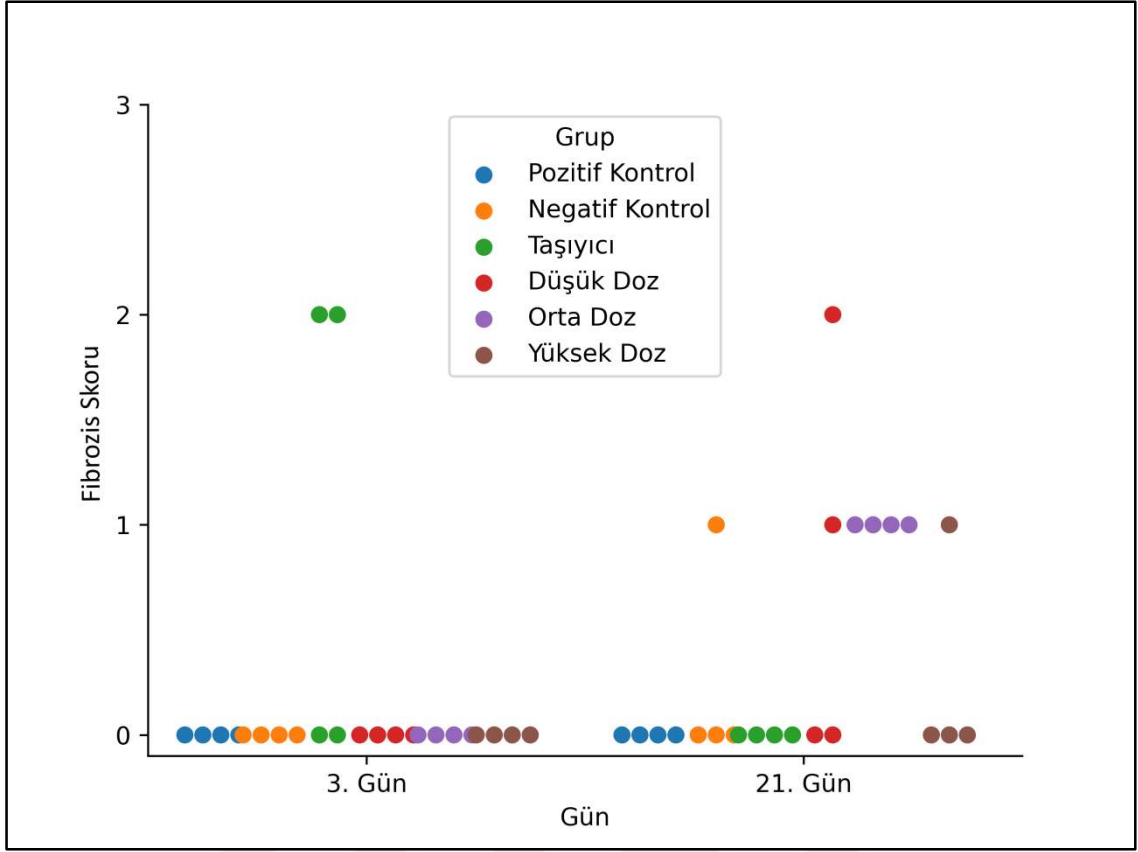
Şekil 3.11. Akut inflamasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

Akut inflamasyon; granülosit hücreler (nötrofil, makrofaj vb.) dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede pozitif kontrol grubunda 3. günde akut inflamasyon gözlenmezken, 21.günde deneklerin %50'sinde düşük şiddette akut inflamasyon geliştiği gözlemlenmiştir. Negatif kontrol grubunda 3.günde deneklerin %75'inde düşük şiddette akut inflamasyon gözlemlenirken, 21. günde hiçbirinde akut inflamasyon gözlemlenmemiştir. Taşıyıcı grubunda 3.günde herhangi bir akut inflamasyon sonucu yokken, 21. günde deneklerin %50'sinde orta şiddette akut inflamasyon saptanmıştır. Düşük doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin %25'inde düşük şiddette akut inflamasyon saptanırken, 21. günde %25'inde orta şiddette akut inflamasyon saptanmamıştır. Orta doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin yarısında düşük şiddette akut inflamasyon gözlemlenirken, 21. günde %75'inde orta şiddette akut inflamasyon gözlemlenmiştir. Yüksek doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin %25'inde düşük şiddette akut inflamasyon saptanırken, 21. günde %25'inde orta ve %25'inde düşük şiddette akut inflamasyon saptanmıştır.



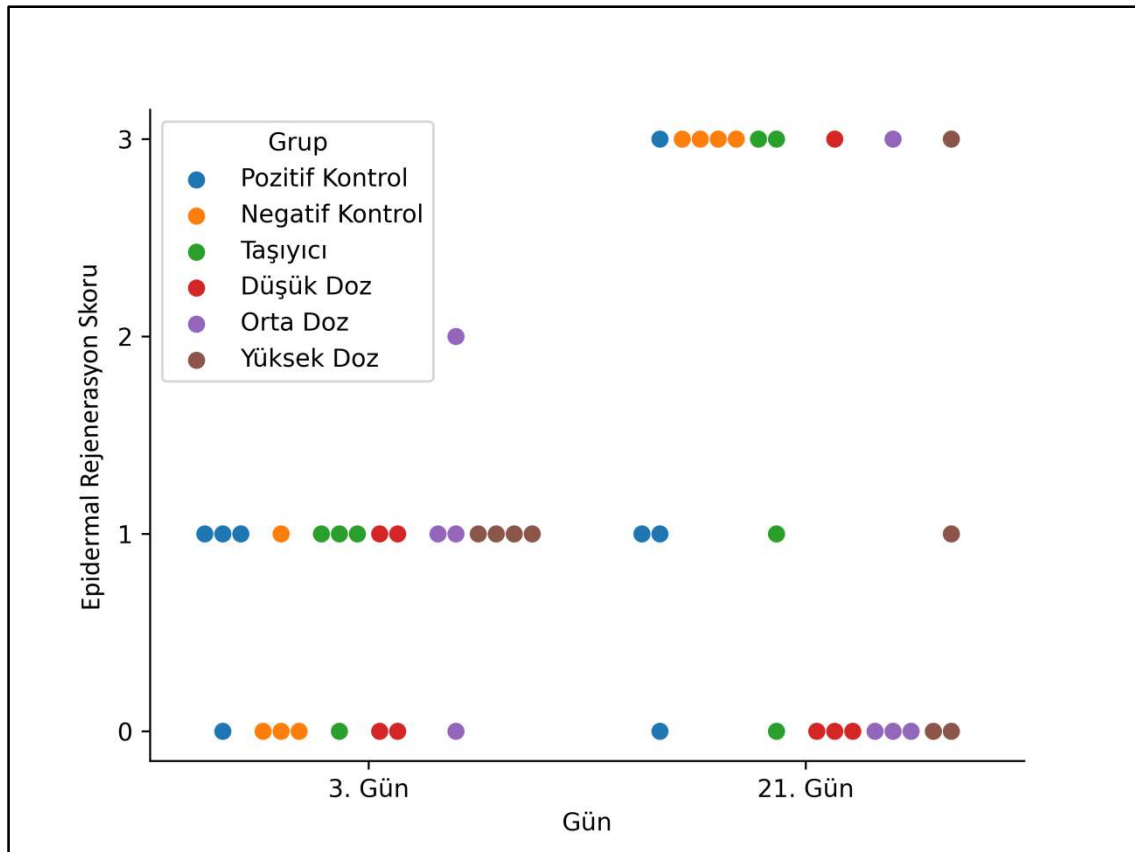
Şekil 3.12. Kronik inflamasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

Kronik inflamasyon; lenfosit hücreler dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede pozitif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %50'sinde düşük şiddette kronik inflamasyon saptanırken, 21.günde %50'sinde düşük şiddette, %25'inde ise orta şiddette kronik inflamasyon saptanmıştır. Negatif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %75'inde düşük şiddette kronik inflamasyon gözlemlenirken, 21. günde deneklerde herhangi bir kronik inflamasyon gözlemlenmemiştir. Taşıyıcı grubunda 3. günde deneklerde kronik inflamasyon yokken, 21. günde %50'sinde orta şiddette, %25'inde düşük şiddette kronik inflamasyon gelişmiştir. Düşük doz tedavi grubunda 3.günde deneklerin %50'sinde düşük şiddette kronik inflamasyon gözlenirken, 21. günde %25'inde düşük, %25'inde orta şiddette kronik inflamasyon gözlenmiştir. Orta doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin %50'sinde düşük şiddette kronik inflamasyon görülürken, 21. günde %75'inde orta şiddette kronik inflamasyon görülmüştür. Yüksek doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin %75'inde orta şiddette kronik inflamasyon bulunurken, 21. günde %50'sinde düşük şiddette kronik inflamasyon bulunmuştur.

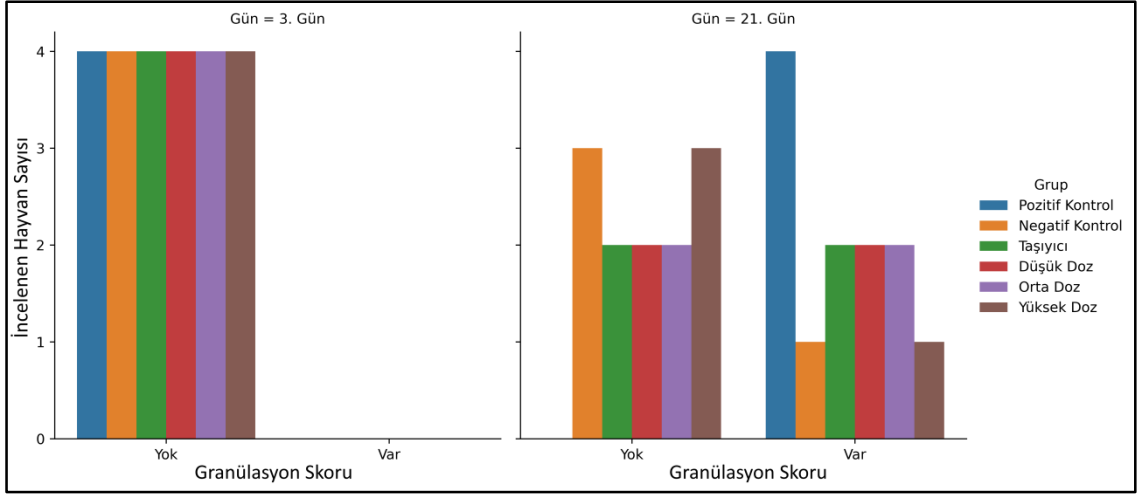


Şekil 3.13. Fibrozis skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

Fibrozis (nedbeleşme); bağ dokusu birikimi dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede pozitif kontrol grubunda 3. ve 21. günde deneklerin hiçbirinde fibrozis gözlemlenmemiştir. Negatif kontrol grubunda 3. günde fibrozis görülmezken, 21. günde deneklerin %25'inde düşük şiddette fibrozis görülmüştür. Taşıyıcı grubunda 3. günde deneklerin %50'sinde orta şiddette fibrozis saptanırken, 21. günde deneklerin herhangi birinde fibrozis saptanmamıştır. Düşük doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin hiçbirinde fibrozis bulunmazken, 21. günde %25'inde orta şiddette, %25'inde düşük şiddette fibrozis bulunmuştur. Orta doz tedavi grubunda 3.günde deneklerde fibrozis yokken, 21. günde deneklerin tamamında düşük şiddette fibrozis vardır. Yüksek doz tedavi grubunda 3. günde deneklerde fibrozis gelişmezken, 21. günde deneklerin %25'inde hafif şiddette fibrozis gelişmiştir.

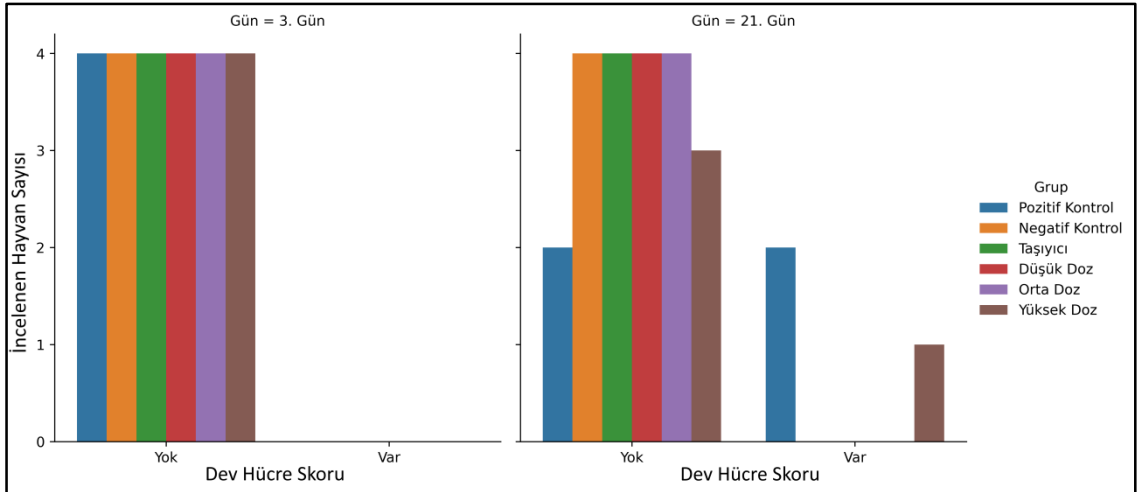


Epidermal rejenerasyon; epidermin yeniden oluşumu dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede pozitif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %75'inde düşük şiddette rejenerasyon görülürken, 21. günde %50'sinde düşük, %25'inde yüksek şiddette epidermal rejenerasyon görülmüştür. Negatif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %25'inde düşük şiddette epidermal rejenerasyon gözlemlenirken, 21. günde deneklerin tamamında yüksek şiddette epidermal rejenerasyon gözlemlenmiştir. Taşıyıcı grubunda 3. günde deneklerin %75'inde düşük şiddette epidermal rejenerasyon gelişirken, 21. günde %25'inde düşük şiddette, %50'sinde yüksek şiddette epidermal rejenerasyon gelişmiştir. Düşük doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin %50'sinde düşük şiddette epidermal rejenerasyon bulunurken, 21. günde %25'inde yüksek şiddette epidermal rejenerasyon bulunmuştur. Orta doz tedavi grubunda 3.günde deneklerin %50'sinde düşük, %25'inde orta şiddette epidermal rejenerasyon varken, 21. günde %25'inde yüksek şiddette epidermal rejenerasyon vardır. Yüksek doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin tamamında düşük şiddette epidermal rejenerasyon saptanırken, 21. günde %25'inde düşük şiddette, %25'inde yüksek şiddette epidermal rejenerasyon saptanmıştır.



Şekil 3.15. Granülasyon skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

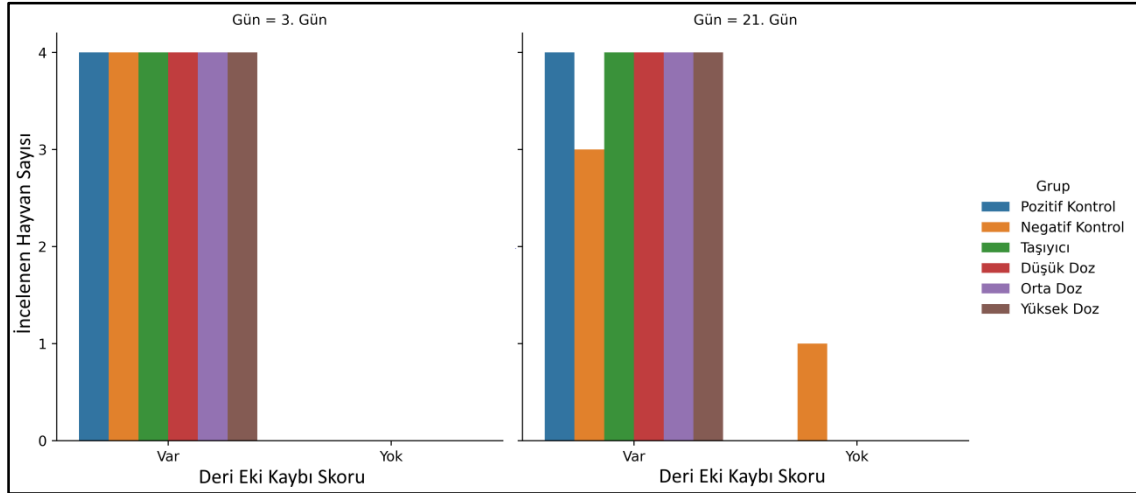
Granülasyon; endotel hücrelerin proliferasyonu dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede 3. günde deney gruplarının hiçbirinde granülasyon saptanmamıştır. Pozitif kontrol grubunda 21. günde deneklerin tamamında granülasyon görülmüştür. Negatif kontrol grubunda 21. günde deneklerin %75'inde granülasyon oluşmazken, %25'inde granülasyon oluşmuştur. Taşıyıcı, düşük ve orta doz tedavi gruplarında 21. günde deneklerin %50'sinde granülasyon bulunurken, %50'sinde granülasyon bulunmamaktadır. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde deneklerin %75'inde granülasyon gözlenmezken, %25'inde granülasyon gözlenmektedir.



Şekil 3.16. Dev hücre skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

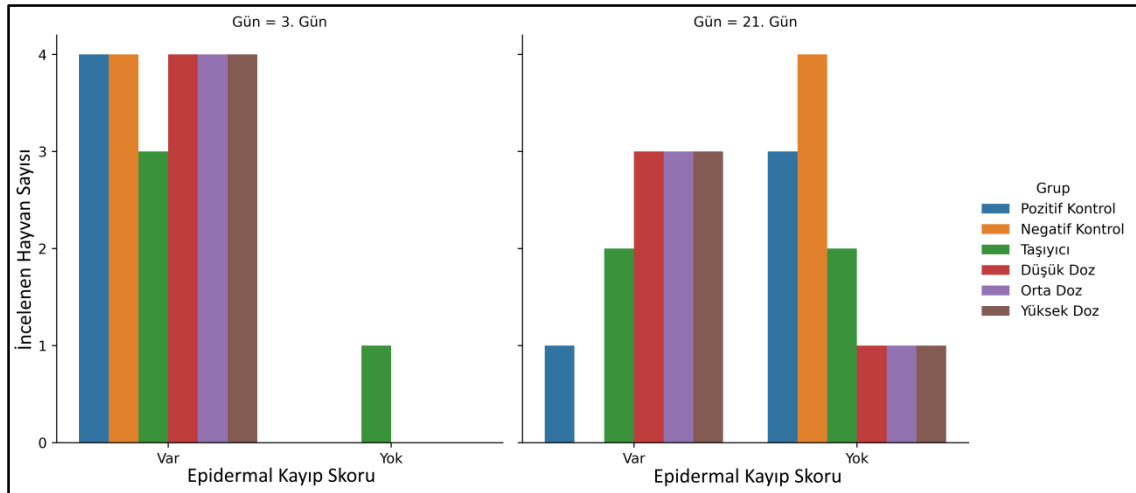
Dev hücrelerin histopatolojik olarak skorlandığı incelemede 3. günde deney gruplarının hiçbirinde dev hücre görülmemiştir. Pozitif kontrol grubunda 21. günde deneklerin %50'sinde dev hücre gözlemlenirken, %50'sinde dev hücre gözlemlenmemiştir. Negatif kontrol, taşıyıcı, düşük ve orta doz tedavi gruplarının hiçbirinde 21. günde dev hücre

saptanmamıştır. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde deneklerin %25'inde dev hücre bulunmaktadır.



Şekil 3.17. Deri eki kaybı skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

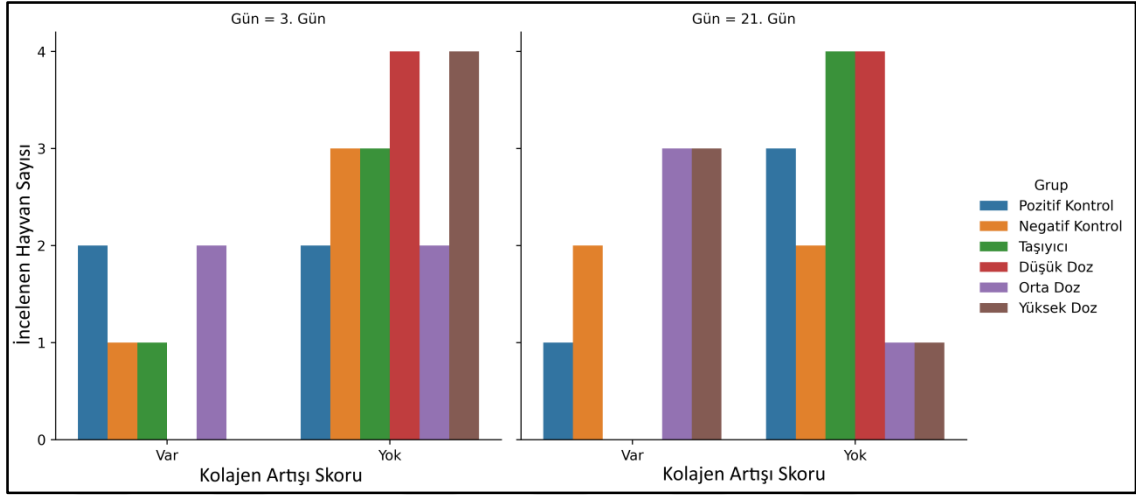
Deri eki kaybı; kıl kökü, ter ve yağ bezleri dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede 3. günde deney gruplarının hepsinde deri eki kaybı gözlenmiştir. Pozitif kontrol, taşıyıcı, düşük, orta ve yüksek tedavi gruplarının tümünde 21. günde deri eki kaybı görülmüştür. Negatif kontrol grubunda 21. günde deneklerin %75'inde deri eki kaybı bulunmaktadır.



Şekil 3.18. Epidermal kayıp skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

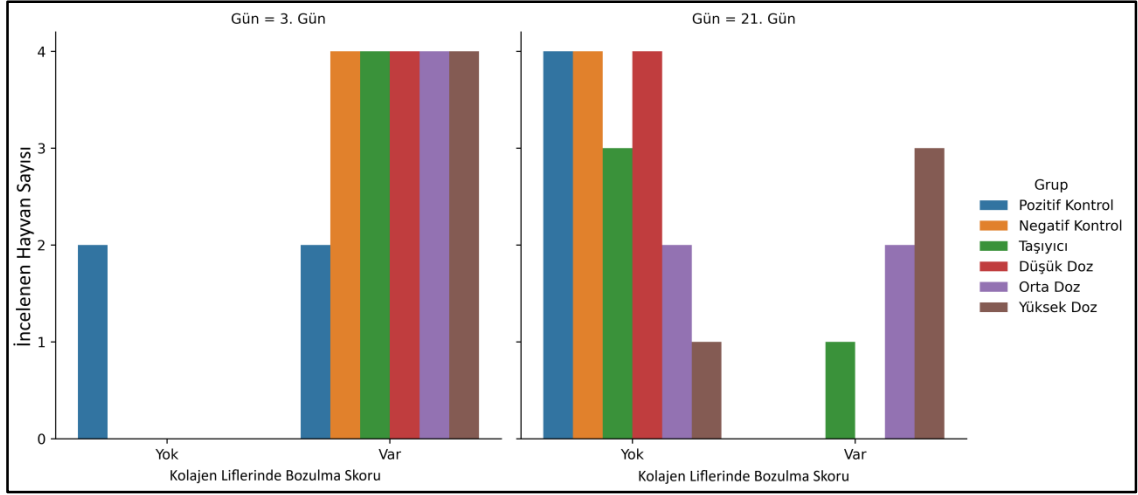
Epidermal kayıp; epidermis bütünlüğü dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede deneyin 3. gününde pozitif kontrol, negatif kontrol, düşük, orta ve yüksek doz tedavi gruplarının hepsinde epidermal kayıp bulunmaktadır. Taşıyıcı grubunun ise %75'inde epidermal kayıp vardır. Deneyin 21. gününde düşük, orta ve

yüksek doz tedavi gruplarının %75'inde epidermal kayıp bulunmaktadır. Taşıyıcı grubun %50'sinde, pozitif kontrol grubunun %25'inde epidermal kayıp gözlemlenirken, negatif kontrol grubunda epidermal kayıp yoktur.



Şekil 3.19. Kolajen artışı skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

Kolajen artışı histopatolojik olarak skorlandığı incelemede pozitif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %50'sinde kolajen artışı varken, 21. günde %25'inde kolajen artışı vardır. Negatif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %25'inde kolajen artışı görülürken, 21. günde %50'sinde kolajen artışı görülmektedir. Taşıyıcı grubunda 3. günde deneklerin %25'inde kolajen artışı bulunurken, 21. günde deneklerin hiçbirinde kolajen artışı bulunmamaktadır. Düşük doz tedavi grubunda deneklerin hiçbirinde 3. ve 21. günde kolajen artışı yoktur. Orta doz tedavi grubunda 3.günde deneklerin %50'sinde kolajen artışı saptanırken, 21. günde %75'inde kolajen artışı saptanmıştır. Yüksek doz tedavi grubunda 3. günde deneklerin hiçbirinde kolajen artışı gözlenmezken, 21. günde %75'inde kolajen artışı gözlenmiştir.



Şekil 3.20. Kolajen liflerinde bozulma skorlamasının deney gruplarındaki dağılımı.

Kolajen liflerinde bozulma; liflerde azalma, parçalanma ve ipliksi yapının kaybolması dikkate alınarak histopatolojik olarak skorlanmıştır. İncelemede pozitif kontrol grubunda 3. günde deneklerin %50'sinde kolajen liflerinde bozulma gözlemlenirken, 21. günde deneklerin hiçbirinde kolajen liflerinde bozulma yoktur. Negatif kontrol, taşıyıcı, düşük, orta ve yüksek doz tedavi gruplarında 3. günde deneklerin hepsinde kolajen liflerinde bozulma vardır. Negatif kontrol grubunda 21. günde deneklerin hiçbirinde kolajen liflerinde bozulma yoktur. Taşıyıcı grubunda 21. günde %25'inde kolajen liflerinde bozulma görülmektedir. Düşük doz tedavi grubunda 21. günde deneklerin hiçbirinde kolajen liflerinde bozulma yoktur. Orta doz tedavi grubunda 21. günde deneklerin %50'sinde kolajen liflerinde bozulma saptanmıştır. Yüksek doz tedavi grubunda 21. günde deneklerin %75'inde kolajen liflerinde bozulma bulunmaktadır.

3.1.6.2. İmmünomodülatör Sitokinlerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

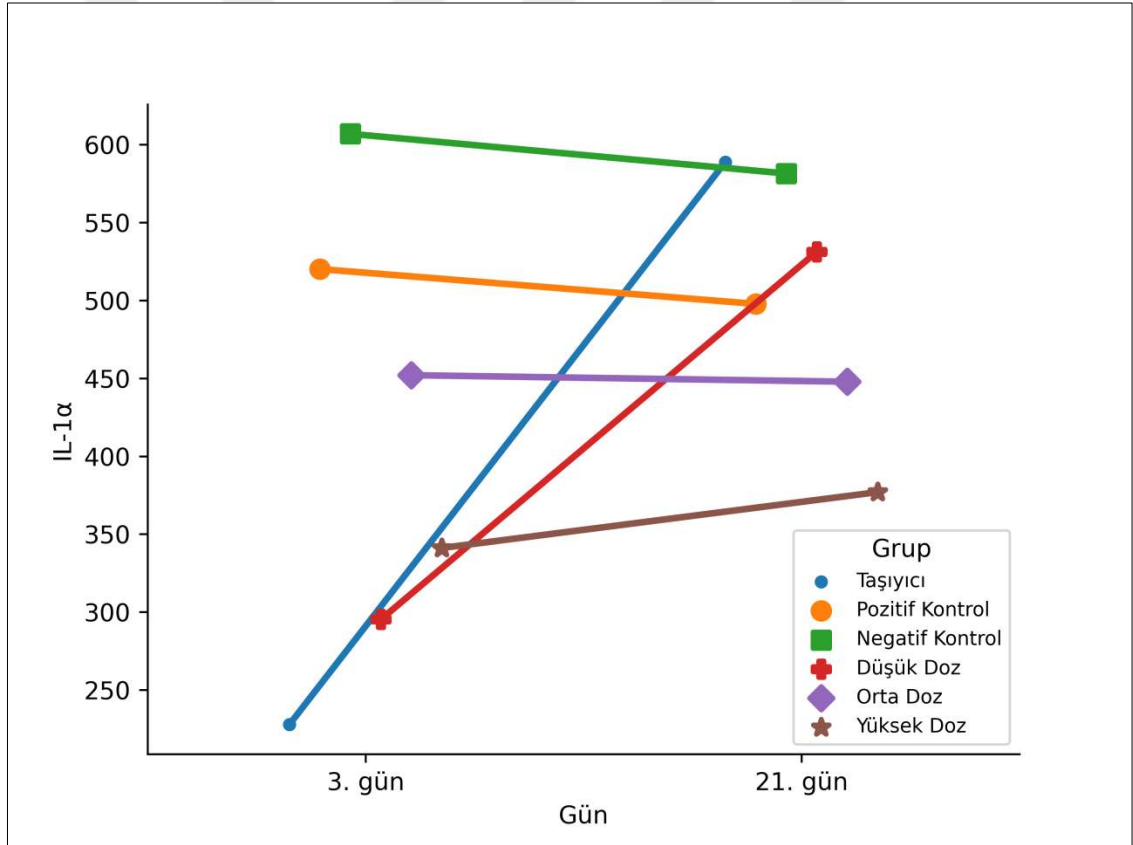
Doku IL-1 α , IL-6, IL-10 ve TNF- α değerleri pg/ml olarak hesaplanmış olup, normal dağılımları Shapiro-Wilk Testi, varyans homojenliği ise Levene Testi ile değerlendirilmiştir. Bağımlı değişkenlerin, zaman ve gruba göre değişimi İki Faktörlü Varyans Analizi ile incelenmiştir. Çoklu karşılaştırmaların incelendiği analizlerde Post-Hoc Tukey Testi uygulanmış olup sonuçlar ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Tüm sonuçlarda $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Doku IL-1 α seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.9. Doku IL-1 α seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.

IL-1 α	df ¹	F	p	Ω^2
Grup	5	2,751	0,033*	0,127
Gün	1	5,453	0,025*	0,065
Grup*Gün	5	2,565	0,044*	0,113

Grup ve gün bağımsız değişkenlerinin doku IL-1 α seviyeleri üzerindeki etkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Grup ve gün bağımsız değişkenlerinin ortak etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 3.21. Gruplardaki doku IL-1 α seviyelerinin zamana bağlı değişimi.

Gruplardaki doku IL-1 α seviyelerinin zamana bağlı değişimi karşılaştırıldığında taşıyıcı (p=0,001) ve düşük doz tedavi grubunun (p=0,026) 3. ve 21. gündeki değişimleri

¹Serbestlik derecesi

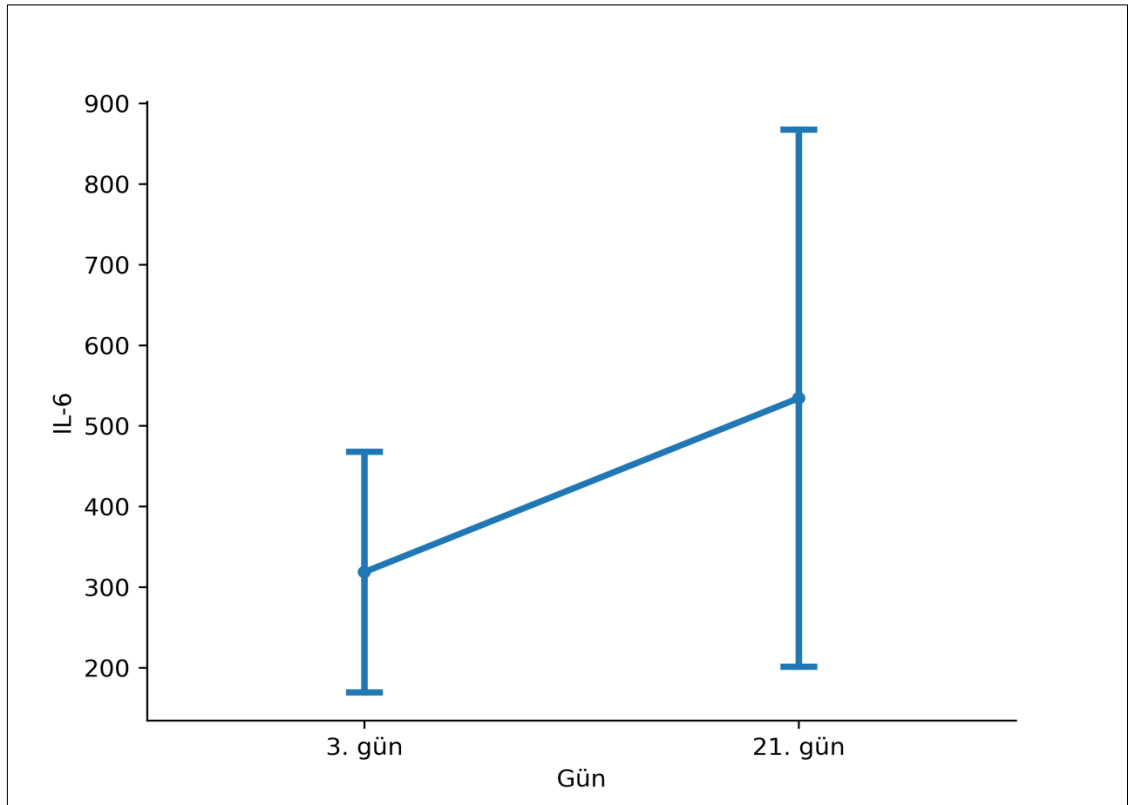
²Etki büyüklüğü

istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte; pozitif kontrol, negatif kontrol ve orta doz tedavi grubundaki IL-1 α seviyeleri zamanla hafif azalma gösterirken, yüksek doz tedavi grubunda hafif artış göstermiştir. Doku IL-6 seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları Çizelge 3.9’da gösterilmiştir.

Çizelge 3.10. Doku IL-6 seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.

IL-6	df	F	p	Ω^2
Grup	5	1,934	0,113	0,076
Gün	1	9,299	0,004*	0,135
Grup*Gün	5	1,072	0,392	0,006

Grup bağımsız değişkeninin doku IL-6 seviyeleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı değil iken; gün bağımsız değişkeninin IL-6 seviyeleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Grup ve gün bağımsız değişkenlerinin ortak etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlı değildir.



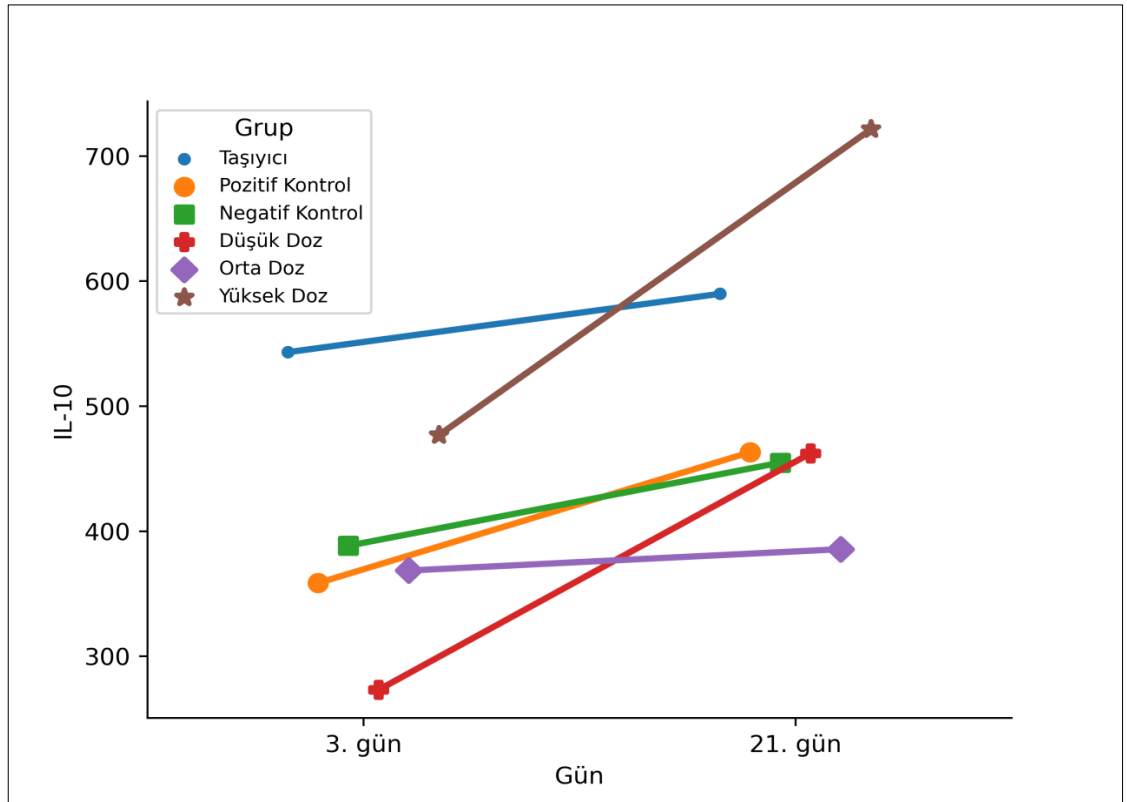
Şekil 3.22. Gruplardaki doku IL-6 seviyelerinin zamana bağlı değişimi.

Gün değişkeni çoklu karşılaştırma açısından incelendiğinde uygulanan Post-Hoc analizi Tukey Testi sonuçlarına göre 3. günde doku IL-6 seviyeleri $318,702 \pm 149,2$ pg/ml şeklinde bulunmuştur. 21. günde doku IL-6 seviyeleri ise $534,313 \pm 332,92$ pg/ml olarak saptanmıştır. Doku IL-10 seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları Çizelge 3.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.11. Doku IL-10 seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.

IL-10	df	F	p	Ω^2
Grup	5	1,894	0,120	0,086
Gün	1	3,531	0,068	0,049
Grup*Gün	5	0,369	0,866	0,000

Grup ve gün bağımsız değişkeninin doku IL-10 seviyeleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildir. Grup ve gün bağımsız değişkenlerinin ortak etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



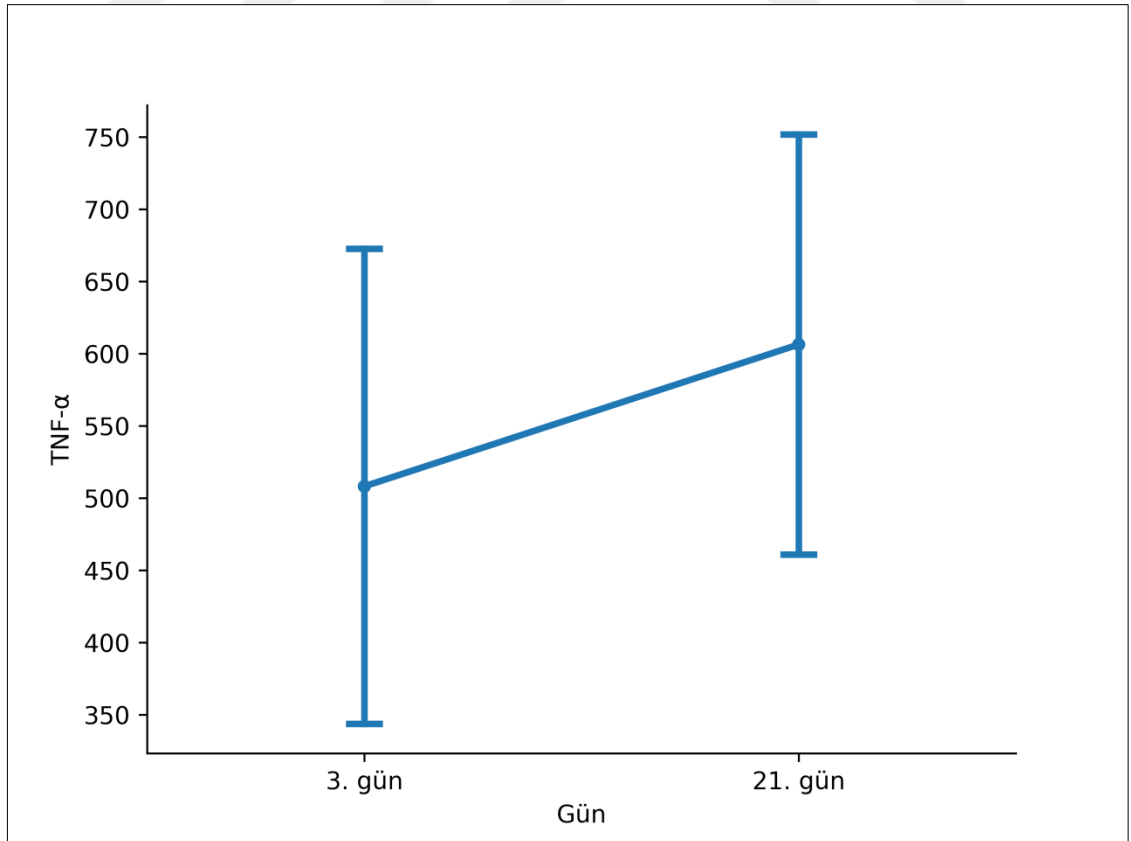
Şekil 3.23. Gruplardaki doku IL-10 seviyelerinin zamana bağlı değişimi.

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte; düşük doz ve yüksek doz tedavi gruplarında doku IL-10 seviyeleri orta şiddette, diğer gruplarda ise doku IL-10 seviyeleri hafif şiddette artış göstermiştir. Doku TNF- α seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları Çizelge 3.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.12. Doku TNF- α seviyelerine ilişkin iki yönlü varyans analizi sonuçları.

TNF- α	df	F	p	Ω^2
Grup	5	1,141	0,357	0,012
Gün	1	5,541	0,024*	0,076
Grup*Gün	5	2,276	0,068	0,107

Grup bağımsız değişkeninin doku TNF- α seviyeleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı değil iken; gün bağımsız değişkeninin TNF- α seviyeleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Grup ve gün bağımsız değişkenlerinin ortak etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 3.24. Gruplardaki doku TNF- α seviyelerinin zamana bağlı değişimi.

Gün değişkeni çoklu karşılaştırma açısından incelendiğinde uygulanan Post-Hoc analizi Tukey Testi sonuçlarına göre 3. günde doku TNF- α seviyeleri $606,35 \pm 145,36$ pg/ml şeklinde bulunmuştur. 21. günde doku TNF- α seviyeleri ise $508,18 \pm 164,45$ pg/ml olarak saptanmıştır.

3.2. TARTIŞMA

Yara kontraksiyonu ile sonuçlanan yara iyileşmesi; inflamasyon, epitel dokunun yenilenmesi, granülasyon ve neovaskülarizasyon gibi bir dizi onarım sürecini kapsamaktadır. Yara onarımının çeşitli basamaklarını hedefleyen birçok yeni tedavi metodu in vitro ve in vivo deney modelleri üzerinde uzun yıllardır test edilmektedir. Alkaloidler, esansiyel yağlar, flavonoidler, tanenler, terpenoidler, saponinler ve fenolik bileşikler gibi çeşitli kimyasal ailelere ait olan biyoaktif fitokimyasalları içeren bitkilerin kullanımı da bu metotlar arasındadır. Bahsi geçen fitokimyasalların bu onarım süreçlerini çeşitli mekanizmalar yoluyla etkiledikleri bilinmektedir. Antioksidan etkileri sebebiyle oksidatif hasarı azaltma, antimikrobiyal etki gösterme, immün sistemi düzenleme ve doku onarımını hızlandırma bu mekanizmalar arasında sayılmaktadır.

Fitokimyasal açıdan oldukça zengin bir içeriğe sahip olan pelin otu (*Artemisia absinthium* L.); seskiterpen laktonlar, esansiyel yağlar, flavanoidler, organik asitler ve diğer birçok uçucu ve uçucu olmayan bileşiği içermektedir. Türün farklı kimyasal çözücüler ile çeşitli ekstraksiyon teknikleri kullanılarak hazırlanan ekstrelerine ait kromatografik analizler literatürde mevcuttur. Moacã vd. (2019) etanolik pelin otu ekstresini LC-MS ile analiz ettikleri çalışmalarında klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, izokuersitrin, rutin, kuersitrin, luteolin ve apigenin tespit ettiklerini söylemişlerdir [46]. Lee vd. (2013) metanolik ekstresinin HPLC yardımıyla analizini gerçekleştirdikleri bir çalışmada flavanollerden mirisetin, kuersetin ve kemferol; hidroksisinnamik asit türevlerinden kafeik asit, p-, o-, m-kumarik asit ve ferulik asit; hidroksibenzoik asit türevlerinden gallik asit, protokateşik asit, β -rezorsilik asit, vanilik asit ve salisilik asit; diğer fenolik bileşiklerden ise rutin, vanilin, hesperidin, resveratrol, naringenin tespit edildiğini bildirilmişlerdir [173]. Koyuncu (2018) pelin otu sulu metanol ekstresini LC-MS/MS yardımıyla 37 fitokimyasala karşı araştırdığı çalışmada; kumarin, hesperidin, p-kumarik asit, kafeik asit, vanilik asit, salisilik asit, kinik asit, ferulik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit, protokteşik asit, sinnamik asit, sinapinik asit, vanilin, malik asit, sirinjik asit, hesperetin, naringenin, rutin, kuersitrin,

apigenin, izokuersitrin, rhoifolin tespit edildiğini bildirmiştir [70].

Çalışmamızda yara iyileşmesi üzerinde etkisi araştırılan %70'lik etanol içerisinde maserasyon şeklinde hazırlanan pelin otu ekstresi LC/MS-MS yardımıyla kantitatif olarak fitokimyasal açıdan araştırılmıştır. Ekstre içerisinde araştırılan 26 fenolik bileşikten 15 tanesi $\mu\text{g/L}$ düzeyinde tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşikler kafeik asit ($120,71 \mu\text{g/L}$), 4-hidroksisinnamik asit ($37,31 \mu\text{g/L}$), sirinjik asit ($500,69 \mu\text{g/L}$), asetohidroksamik asit ($315,55 \mu\text{g/L}$), timokinon ($762,06 \mu\text{g/L}$), resveratrol ($717,06 \mu\text{g/L}$), kurkumin ($15,09 \mu\text{g/L}$), mirisetin ($35,04 \mu\text{g/L}$), gallik asit ($421,76 \mu\text{g/L}$), kuersetin ($268,79 \mu\text{g/L}$), oleuropein ($79,82 \mu\text{g/L}$), bütein ($196,97 \mu\text{g/L}$), fumarik asit ($3593,71 \mu\text{g/L}$), elajik asit ($130,1 \mu\text{g/L}$) ve luteolin ($57,07 \mu\text{g/L}$) şeklindedir. Yukarıda verilen daha önce yapılmış kromatografik analiz sonuçları ile kıyaslandığında; kafeik asit, sinamik asit, sirinjik asit, mirisetin, gallik asit, kuersetin ve luteolin bileşiklerinin ortak olarak bulunduğu görülmüştür. Çalışmalarda kullanılan çözücü, ekstraksiyon teknikleri ve analizlerin gerçekleştirildiği cihazların farklı olması sebebiyle tespit edilen fitokimyasalların kalitatif ve kantitatif olarak değişebileceği düşünülmektedir.

Türün içerdiği polifenoller sayesinde yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve bunun sonucunda iyi bir serbest radikal süpürücü olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Sahip olduğu bu yüksek antioksidan aktivite ve serbest radikal süpürme yeteneğinin yara iyileşme proseslerini hızlandırdığı öne sürülmektedir [79]. Minda vd. (2022) 1 mg/ml dozundaki sulu etanolik pelin otu ekstresinin 0,1 mM DPPH için yaklaşık %87 oranında antioksidan aktive gösterdiğini bildirmişlerdir [174]. Benzer bir yöntemle elde edilen ekstresinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise; Moacã vd. (2019) 1 mM DPPH çözeltilisinin içerdiği serbest radikallerin yarısının süpürülmesi anlamına gelen IC_{50} değeri için gerekli olan pelin otu miktarını yaklaşık 0,5 mg/ml olarak hesaplamışlardır [46].

Çalışmamızda 0,1 mM DPPH çözeltilisine karşılık 100 mg/ml pelin otu içeren yüksek doz ekstre $91,1 \pm 0,054$; 50 mg/ml pelin otu içeren orta doz ekstre $89,6 \pm 0,012$; 20 mg/ml pelin otu içeren düşük doz ekstre $84,1 \pm 0,02$ antioksidan aktivite göstermiştir. Çalışmalarda kullanılan pelin otu miktarlarının farklı olması sebebiyle, aynı miktarda DPPH için farklı antioksidan aktivite değerlerinin bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca antioksidan kapasitesinin sınırlı olması sebebiyle, pelin otu miktarı ve gösterdiği antioksidan aktivite arasında doğrusal bir orantı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Yara iyileşmesi çalışmalarında sıklıkla tercih edilen kitosanı; Ueno vd. (1999) pamuk ile karıştırarak kullandıkları bir çalışmada yara bölgesindeki polimorfonükleer hücrelerin aktivasyonu ve infiltrasyonu yoluyla iyileşmeyi hızlandığını bildirilmişlerdir [175]. Tek başına yara iyileşmesinde etkili olduğu bilinen kitosana Mizuno vd. (2003) temel fibroblast büyüme faktörlerini ekledikleri çalışmalarında iyileşme oranını hızlandığını rapor etmişlerdir [176]. Kitosan sahip olduğu amino ve hidroksil grupları sebebiyle kolayca reaksiyona girebilmekte ve kimyasal olarak modifiye edilebilmektedir. Kitosan sahip olduğu fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikler sayesinde diğer polimerler ile çapraz bağlanabilmekte ve işlevsel yara örtülerine dönüştürülebilmektedir [148].

Çalışmamızda kullanılan hidrojel yara örtüsünde endojen olarak sahip olduğu tüm özellikler göz önünde bulundurularak kitosan tercih edilmiştir. Jelatin ile glutaraldehit yardımıyla çapraz bağlanarak kullanılan kitosan ile mekanik olarak dayanıklı, kolay kullanımlı, adezyon yeteneği yüksek, hareketi kısıtlamayan hidrojel bir yara örtüsü üretilmiştir. Sadece kitosan içeren hidrojel yara örtüsünün etkilerinin araştırıldığı taşıyıcı grubu histopatolojik olarak incelendiğinde; kitosanın düşük şiddetlerde fibrozis ve granülasyona katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ve literatürde yer alan diğer araştırmalardan yola çıkarak kitosan temelli hidrojellerin yara örtüsü olarak kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir.

Pelin otu esansiyel yağının güçlü antimikrobiyal ve antifungal etki gösterdiğine dair literatürde farklı çalışmalar bulunmaktadır. Ancak çeşitli çözücü ve ekstraksiyon metodlarıyla hazırlanan ekstreleri için farklı sonuçlar söz konusudur. Erel vd. (2010) pelin otu metanolik Soxhlet ekstresinin disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada ekstrenin *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538/P) üzerinde aktivite göstermediği, ancak *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) suşu üzerinde antimikrobiyal aktivite (9 mm inhibisyon) gösterdiğini bildirmişlerdir [177]. Erdoğan (2002) etilasetat, metanol, aseton ve kloroform kullanarak Soxhlet yardımıyla elde ettiği pelin otu ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) suşu üzerinde disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre; metanol, aseton ve kloroform ekstralarında herhangi bir etki gözlemlenmezken, etilasetat ekstresinde antimikrobiyal aktivite (14 mm inhibisyon) gözlemlendiğini bildirmiştir [178]. Hrytsyk vd. (2020) fraksiyonel maserasyon yardımıyla %70'lik etanol ile ekstrakte ettikleri pelin otunun disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal

etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada *Staphylococcus aureus* MS (9.37 ± 0.85 mm inhibisyon) ve *Pseudomonas aeruginosa* (5.33 ± 0.54 mm inhibisyon) suşları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği sonucuna varmışlardır [179].

Çalışmamızda %70'lik etanol ile basit maserasyon yardımıyla hazırlanan düşük, orta ve yüksek doz pelin otu ekstresi içeren hidrojellerin *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) suşları üzerinde antimikrobiyal etki göstermemiştir. Bunun sebebinin ekstraksiyon yönteminin yanı sıra, test edilen doz miktarlarının farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca pelin otu içeren ekstraktların kitosan ve jelatin ile çapraz bağlı hidrojel formundayken antimikrobiyal aktivite üzerinde etkili olmama ihtimali düşünülmüştür.

Proinflamatuvar sitokinlerin biyokimyasal olarak artması ve azalması yoluyla kritik hücrel cevaplara aracılık ettiği bilinmektedir. Fareler üzerinde bitkinin enteral kullanımı üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada, Shahnazi vd. (2015) 100 µg/ml dozundaki pelin otunun serum IL-10 seviyelerini anlamlı yükselttiğini ve immün cevabı düzenlediğini bulmuşlardır [180]. Polikistik over modeli oluşturulan Wistar sıçanlarda Sadoughi vd. (2017), sulu pelin otu ekstresinin kronik artmış serum TNF-α ve IL-6 seviyelerini azalttığı, buna karşılık serum antioksidan enzim düzeylerini artırarak immümodülatör etkisini rapor etmişlerdir [181]. Amat vd. (2010) karaciğer hasarı oluşturulmuş farelerde sulu pelin otu ekstresinin artmış IL-1 ve TNF-α serum düzeylerini anlamlı azaltarak düzenlediğini bildirmişlerdir [65]. Sultan vd. (2020) pelin otu metanolik Soxhlet ekstresinin Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirdikleri bir yara iyileşmesi çalışmasında etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada serum IL-6 ve TNF-α seviyelerindeki değişiminin, yara iyileşmesi sürecine immünomodülatör olarak katkı sağladığı sonucuna varmışlardır [182].

Çalışmamızda doku IL-1α, IL-6, IL-10 ve TNF-α seviyeleri ELISA yardımıyla pg/ml düzeyinde tespit edilmiştir. Daha önce dokudan sitokin seviyelerinin belirlenmesine yönelik bir çalışmanın literatürde kaydı bulunamamıştır. Doku IL-1α seviyeleri taşıyıcı grubu ve düşük doz tedavi grubunda 3. günden 21. güne istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek doz tedavi grubunda da belirli düzeyde artış bulunmaktadır. Orta doz tedavi grubu, pozitif kontrol ve negatif kontrol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hafif düzeyde azalma gösterdiği bulunmuştur. Buna karşılık, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte; doku IL-6 ve IL-10 seviyelerinin tüm deney gruplarında zamanla

artış eğiliminde olduğu görülmüştür. Doku TNF- α seviyelerinin düşük doz tedavi grubunda zamanla azaldığı, geri kalan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı arttığı belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek doku TNF- α seviyesi artışının yüksek doz tedavi grubunda olduğu sonucuna varılmıştır. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde; pelin otu sulu etanol ekstresinin doku sitokin seviyeleri üzerinde immünomodülatör etki gösterdiği ve yara iyileşmesi sürecine olumlu katkı sağladığı düşünülmektedir.

Farklı geleneksel tıp sistemlerinde çeşitli şekillerde yara iyileşmesinde kullanılan pelin otu üzerine yapılmış in vitro ve in vivo yara iyileşmesi araştırmaları bulunmaktadır. Minda vd. (2022) sulu etanolik pelin otu maseratinin insan keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerinde gerçekleştirilen yara modeli çalışmasında etkilerini incelemiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre pelin otunun %97'den fazla oranda keratinosit göçünü stimüle ettiği ve yara kapanmasına büyük ölçüde katkı sağladığı sonucuna varılmıştır [174]. Wistar sıçanlar üzerinde oluşturulan eksizyonel yara modelinde esansiyel yağının etkilerinin incelendiği bir çalışmada; Benkhalel vd. (2020) %10 oranda pelin otu esansiyel yağı ile tedavi alan grubun, negatif ve pozitif kontrol gruplarına göre daha iyi oranda iyileşme sağladığını rapor etmişlerdir [74]. Boudjelal vd. (2020) tarafından Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen bir başka eksizyonel yara çalışmasında; pelin otunun %10'luk Soxhlet ekstresinin granülasyon ve epitelizasyon oluşumu üzerinde güçlü etkileri olduğu, doku onarımını hızlandırdığı sonucuna varılmıştır [73].

Mevcut çalışmamızda literatürde ilk kez pelin otunun yanık yara modeli üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Doğal ürünlerin yara iyileşmesi çalışmalarında hangi dozlarda kullanıldığı kapsamlı bir biçimde araştırılarak, yüksek (%10), orta (%5) ve düşük (%2) doz pelin otu sulu etanol ekstresi çalışmaya dâhil edilmiştir. Histopatolojik olarak incelenen dokularda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte; pelin otunun granülasyon dokusu oluşumunu teşvik ettiğini düşünmekteyiz. Proliferatif fazda bağ doku ve ekstraselüler matriks birikimi sonucu nedbeleşmeyi anlatan fibrozis, 21. günde orta doz tedavi grubunun tamamında, düşük ve yüksek dozda ise farklı oran ve şiddetlerde vardır ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Ancak gümüş sülfadiazin kullanılan pozitif kontrol grubunda her iki incelenen günde de fibrozis oluşmamıştır. Bu sonucun sebebi olarak; konvansiyonel yanık tedavisinde tercih edilen gümüş sülfadiazinin keratinosit ve fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri [106] sebebiyle hücre yenilenmesini geciktirdiği, pelin otunun ise nedbeleşmeye katkı sağladığı düşünülmektedir. Yara iyileşmesi sürecinde zamanla artışı beklenen kolajen, orta doz ve

yüksek doz pelin otu grubunda pozitif kontrol grubuna oranla daha fazla oranda artış göstermiştir. Yara iyileşmesinin hücresel olarak başlayabilmesi için yaralanmayı takiben inflamasyonun ilk üç günde maksimum seviyeye ulaşması gerekmektedir [103]. İncelenen doku örneklerinde 3. gün akut inflamasyon değerlendirildiğinde; negatif kontrol (sham), düşük, orta ve yüksek doz pelin otu gruplarında çeşitli seviyelerde inflamasyon gözlemlenirken; pozitif kontrol ve taşıyıcı gruplarında yoktur. Bunun sebebinin gümüş sülfadiazinin lökopeni, nütropeni [105] gibi bağışıklık sistemini baskılayıcı yan etkilerinin sonucu olduğu düşünülmüştür. Bu sebeple pozitif kontrol olarak kullanılan gümüş sülfadiazinin iyileşmeye doğrudan katkı sağlamadığı, buna karşılık olarak pelin otunun iyileşme süreçlerini hızlandırdığı sonucuna varılmıştır.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Evrensel bir halk sağlığı problemi olan yanık, her yıl yüzbinlerce insanı çeşitli boyutlarda etkilemektedir. Yaygın olarak yanık tedavisinde tercih edilen gümüş sülfadiazinin yan etkileri, yanık tedavisinin uzun sürmesi ve üzerine eklenen sekonder enfeksiyonlar tam ve etkili iyileşmeyi geciktirebilmektedir. İyileşmenin geciktiği bu gibi durumlarda işlevsel yara örtüleri büyük etki göstermektedir. Tıbbi bitkiler ve bu bitkilerin içerdiği biyoaktif moleküller; inflamasyon, yeniden epitelizasyon, granülasyon dokusu oluşumu, anjiyogenez, fibroplazi gibi kutanöz yara iyileşmesinin çeşitli mekanizmalarına etki ederek yara kontraksiyonuna yardımcı olmaktadır.

Pelin otunun (*Artemisia absinthium* L.) yüzyıllardır farklı kültürler tarafından halk tıbbında yanık ve yara iyileşmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Pelin otunun ülkemizde kendiliğinden yetişme ve kontrollü ortamlarda kolay kültüre edilebilme gibi avantajları bulunmaktadır. Ayrıca yara örtüsü olarak kullanılabilen kitosan temelli hidrojeller ulaşılabilir maliyette ve kolay üretilmektedir. Söz konusu avantajlar ve çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin ışığında; ilk kez tasarlanan pelin otu ekstresi içeren kitosan temelli hidrojellerin yara örtüsü olarak kullanılabileceği ve iyileşme süreçlerini hızlandırabileceği, Doğal ve Bitkisel Ürünler, Kozmetik Ürünler alanına katkı sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda yanık yara modeli oluşturulan ancak herhangi bir tedavi uygulanmayan negatif kontrol (sham) grubundaki sıçanlarda da zamanla iyileşme olduğu ortaya çıkmıştır. Mevcut çalışmamız ve önceki yara iyileşmesi çalışmalarımızdan edindiğimiz tecrübeyle; sıçanların cilt bağ dokusunun insanlara göre çok daha sağlam olması, sahip oldukları subdermal *panniculus carnosus* kasının yara kontraksiyonunu hızlandırması ve bağışıklık sistemlerinin oluşturulan hastalık modelinden kolay etkilenmemesinin bu sonucu ortaya çıkardığı düşünülmektedir. Deneysel yara modeli gereklerinden olan ve oluşan yara kabuklarının düzenli olarak temizlenmesi anlamına gelen debridman işleminin, hayvanlarda kronik dönemde akut inflamasyonun artışına sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Belirtilen durumların, çalışmamızın sonuçları üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmadan elde ettiğimiz tüm sonuçlar göz önüne alındığında; pelin otunun fenolik bileşikler açısından oldukça zengin olduğu ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip bir tür olduğu sonucuna varılmıştır. İçerdiği biyoaktif bileşenler ve antioksidan kapasitesi sayesinde doku hasarını takiben artan reaktif oksijen türlerinin aşırı salınımını dengelediğini, oksidatif hasarın etkilerini azalttığını ve yara iyileşmesi süreçlerini hızlandırdığını düşünmekteyiz. Kitosan temelli hidrojel halinde yara örtüsü şeklinde uygulaması yapılan pelin otunun, doku sitokin seviyeleri ölçümlerinden yola çıkılarak immünomodülatör etkiler gösterdiği bulunmuştur.

Çalışmamızın gelecek araştırmalarda yara iyileşmesi süreçlerine eşlik eden biyokimyasal ve metabolik yolların ayrıntılı incelenmesine yol gösterebileceğine inanmaktayız. Özellikle karakteristik pelin otu moleküllerinden olan absintin, anabsintin, artabsin, artemisinin gibi biyoaktif bileşiklerin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin ileriki çalışmalarda araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Gelecekteki araştırmalarda kullanılan hayvan sayısının artırılması türün gösterdiği etkinin netleşmesini sağlayacaktır. Araştırmalar sonucunda istatistiksel olarak anlamlı sonuçların bulunması halinde; ticari olarak üretimi ve klinik kullanımı göz önüne alınarak, maliyet etkin önemli bir yara bakım ürünü olacağı düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Q. W. Shi, L. G. Li, C. H. Huo, M. L. Zhang, ve Y. F. Wang, “Study on natural medicinal chemistry and new drug development”, *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, c. 41, sayı 10, ss. 1583–1589, 2010.
- [2] D. S. Fabricant ve N. R. Farnsworth, “The value of plants used in traditional medicine for drug discovery”, *Environmental Health Perspectives*, c. 109, sayı SUPPL. 1, ss. 69–75, 2001.
- [3] H. Yuan, Q. Ma, L. Ye, ve G. Piao, “The traditional medicine and modern medicine from natural products”, *Molecules*, c. 21, sayı 5, May. 2016.
- [4] N. Mamedov, “Medicinal plants studies: History, challenges and prospective”, *Medicinal & Aromatic Plants*, c. 01, sayı 08, ss. 1–2, 2012.
- [5] M. Pěšić ve S. Stanković, “Development of natural product drugs in a sustainable manner”, *Brief for United Nations Global Sustainable Development Report*, 2015.
- [6] M. Fitzgerald, M. Heinrich, ve A. Booker, “Medicinal plant analysis: A historical and regional discussion of emergent complex techniques”, *Frontiers in Pharmacology*, c. 10, s. 1480, 2019.
- [7] A. Bauer ve M. Brönstrup, “Industrial natural product chemistry for drug discovery and development”, *Natural Product Reports*, c. 31, sayı 1. The Royal Society of Chemistry, ss. 35–60, 05 Aralık 2014.
- [8] Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M. R. Sussman, ve H. Wu, “The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants”, *Plant Physiology and Biochemistry*, c. 148. Elsevier Masson, ss. 80–89, 01 Mart 2020.
- [9] B. A. Rasool Hassan, “Medicinal plants (importance and uses)”, *Pharmaceutica Analytica Acta*, c. 03, sayı 10, 2012.
- [10] M. Sorokina ve C. Steinbeck, “Review on natural products databases: Where to find data in 2020”, *Journal of Cheminformatics*, c. 12, sayı 1. BioMed Central, ss. 1–51, 03 Nisan 2020.
- [11] H. Khorram, S. Hamed, S. Musa-al-Reza, A. Taghipour, B. Javadi, ve M. Noras, “Gastrointestinal effects of *Artemisia absinthium* Linn. based on traditional Persian medicine and new studies”, *Traditional Medicine Research*, c. 5, sayı 6, ss. 498–506, 2020.
- [12] M. Hussain, N. I. Raja, A. Akram, A. Iftikhar, D. Ashfaq, F. Yasmeen, R. Mazhar, M. Imran, ve M. Iqbal, “A status review on the pharmacological implications of *Artemisia absinthium*: A critically endangered plant”, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, c. 7, sayı 3, ss. 185–192, 2017.
- [13] J. Ahamad, S. R. Mir, ve S. Amin, “A pharmacognostic review on *Artemisia Absinthium*”, *International Research Journal Of Pharmacy*, c. 10, sayı 1, ss. 25–31, 2019.

- [14] R. F. Pereira, C. C. Barrias, P. L. Granja, ve P. J. Bartolo, “Advanced biofabrication strategies for skin regeneration and repair”, *Nanomedicine*, c. 8, sayı 4, ss. 603–621, Nis. 2013.
- [15] F. M. Wood, “Skin regeneration: The complexities of translation into clinical practise”, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, c. 56, ss. 133–140, Kas. 2014.
- [16] Y. Wang, J. Beekman, J. Hew, S. Jackson, A. C. Issler-Fisher, R. Parungao, S. S. Lajevardi, Z. Li, ve P. K. M. Maitz, “Burn injury: Challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, c. 123, ss. 3–17, Oca. 2018.
- [17] K. S. Bora ve A. Sharma, “The genus Artemisia: A comprehensive review”, *Pharmaceutical Biology*, c. 49, sayı 1, ss. 101–109, 2011.
- [18] D. Bisht, D. Kumar, D. Kumar, K. Dua, ve D. K. Chellappan, “Phytochemistry and pharmacological activity of the genus artemisia”, *Archives of Pharmacal Research*, c. 44, sayı 5, ss. 439–474, 2021.
- [19] B. Koul ve P. Taak, “The Artemisia genus: A review on traditional uses, phytochemical constituents, pharmacological properties and germplasm conservation”, *Journal of Glycomics & Lipidomics*, c. 07, sayı 01, 2018.
- [20] M. J. Abad, L. M. Bedoya, L. Apaza, ve P. Bermejo, “The Artemisia L. genus: A review of bioactive essential oils”, *Molecules*, c. 17, sayı 3, ss. 2542–2566, 2012.
- [21] J. A. Teixeira Da Silva, “Mining the essential oils of the Anthemideae”, *African Journal of Biotechnology*, c. 3, sayı 12, ss. 706–720, 2004.
- [22] M. Nigam, M. Atanassova, A. P. Mishra, R. Pezzani, H. P. Devkota, S. Plygun, B. Salehi, W. N. Setzer, ve J. Sharifi-Rad, “Bioactive compounds and health benefits of Artemisia species”, *Natural Product Communications*, c. 14, sayı 7, ss. 1–17, 2019.
- [23] A. Hershoff, *Homeopathic remedies: A quick and easy guide to common disorders and their homeopathic remedies*. Avery, 2000.
- [24] R. Abiri, A. L. M. Silva, L. S. S. de Mesquita, J. W. C. de Mesquita, N. Atabaki, E. B. de Almeida, N. A. Shaharuddin, ve S. Malik, “Towards a better understanding of Artemisia vulgaris: Botany, phytochemistry, pharmacological and biotechnological potential”, *Food Research International*, c. 109, ss. 403–415, Tem. 2018.
- [25] J. Duke ve M. Bogenschutz, “Dr. Duke’s phytochemical and ethnobotanical databases”, *Choice Reviews Online*, c. 38, sayı 06, 2001.
- [26] M. Saddi, A. Sanna, F. Cottiglia, L. Chisu, L. Casu, L. Bonsignore, ve A. De Logu, “Antiherpesvirus activity of Artemisia arborescens essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells”, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, c. 6, 2007.
- [27] D. L. Klayman, “Qinghaosu (artemisinin): An antimalarial drug from China”, *Science*, c. 228, sayı 4703, ss. 1049–1055, 1985.
- [28] Y. Tu, “The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine”, *Nature Medicine*, c. 17, sayı 10, ss. 1217–1220, Eki. 2011.
- [29] N. K. B. K. Ikram ve H. T. Simonsen, “A review of biotechnological artemisinin

- production in plants”, *Frontiers in Plant Science*, c. 8, s. 1966, Kas. 2017.
- [30] B. J. Goud, Dwarakanath.V, ve S. B.K.Chikka, “A review on history, controversy, traditional use, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Artemisia Absinthium* Linn”, *Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*, c. 4, sayı 5, ss. 77–107, 2015.
- [31] T. Baytop, *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (geçmişte ve bugün)*. 1984.
- [32] R. R. Bhat, M. U. Rehman, A. Shabir, M. U. Rahman Mir, A. Ahmad, R. Khan, M. H. Masoodi, H. Madkhali, ve M. A. Ganaie, “Chemical composition and biological uses of *artemisia absinthium* (wormwood)”, *Plant and Human Health: Pharmacology and Therapeutic Uses*, c. 3, ss. 37–63, Şub. 2019.
- [33] M. Masoudi ve M. Saiedi, “A review study of ethnopharmacology, phytochemistry, and anti-inflammatory, antioxidant, and anti-microbial effect of *Artemisia absinthium*”, *Der Pharmacia Lettre*, c. 9, sayı 4, ss. 155–162, 2017.
- [34] D. W. Lachenmeier, “Wormwood (*Artemisia absinthium* L.)-A curious plant with both neurotoxic and neuroprotective properties?”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 131, sayı 1, ss. 224–227, Ağu. 2010.
- [35] “TÜBİVES”.
- [36] S. A. Padosch, D. W. Lachenmeier, ve L. U. Kröner, “Absinthism: A fictitious 19th century syndrome with present impact”, *Substance Abuse: Treatment, Prevention, and Policy*, c. 1, sayı 1, 2006.
- [37] N. S. D. Sotiropoulou, M. K. Kokkini, S. F. P. Megremi, D. J. Daferera, E. P. Skotti, A. C. Kimbaris, M. G. Polissiou, ve P. A. Tarantilis, “Determination of α - and β -thujone in wormwood and sage infusions of Greek flora and estimation of their average toxicity”, *Current Research in Nutrition and Food Science*, c. 4, sayı SpecialIssue2, ss. 152–160, Eki. 2016.
- [38] S. Waidyanatha, J. D. Johnson, S. P. Hong, V. G. Robinson, S. Gibbs, S. W. Graves, M. J. Hooth, ve C. S. Smith, “Toxicokinetics of α -thujone following intravenous and gavage administration of α -thujone or α - and β -thujone mixture in male and female F344/N rats and B6C3F1 mice”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, c. 271, sayı 2, ss. 216–228, Eyl. 2013.
- [39] T. Deiml, R. Haseneder, W. Zieglgänsberger, T. Baghai, D. Eser, C. Schüle, R. Ella, B. Eisensamer, R. Rupprecht, ve G. Hapfelmeier, “ α -thujone reduces 5-HT₃ receptor activity by an effect on the agonist-induced desensitization”, *Pharmacopsychiatry*, c. 36, sayı 05, s. 47, Haz. 2004.
- [40] HMPC, “Public statement on the use of herbal medicinal products containing thujone Final Discussion in Working Party on Community monographs and Community list (MLWP)”, 2010. [Çevrimiçi]. Available at: www.ema.europa.eu
- [41] É. Zámbořině Németh ve H. Thi Nguyen, “Thujone, a widely debated volatile compound: What do we know about it?”, *Phytochemistry Reviews*, c. 19, sayı 2, ss. 405–423, Nis. 2020.
- [42] A. Szopa, J. Pajor, P. Klin, A. Rzepiela, H. O. Elansary, F. A. Al-Mana, M. A. Mattar, ve H. Ekiert, “*Artemisia absinthium* L.—importance in the history of medicine, the latest advances in phytochemistry and therapeutical, cosmetological and culinary uses”, *Plants*, c. 9, sayı 9, ss. 1–33, Eyl. 2020.

- [43] B. Omer, S. Krebs, H. Omer, ve T. O. Noor, “Steroid-sparing effect of wormwood (*Artemisia absinthium*) in Crohn’s disease: A double-blind placebo-controlled study”, *Phytomedicine*, c. 14, sayı 2–3, ss. 87–95, Şub. 2007.
- [44] G. E. S. Batiha, A. Olatunde, A. El-mleeh, H. F. Hetta, S. Al-rejaie, S. Alghamdi, M. Zahoor, A. M. Beshbishy, T. Murata, A. Zaragoza-bastida, ve N. Rivero-perez, “Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of wormwood (*Artemisia absinthium*)”, *Antibiotics*, c. 9, sayı 6, ss. 1–25, 2020.
- [45] Ç. Aydın ve R. Mammadov, “İnsektisit aktivite gösteren bitkisel sekonder metabolitler ve etki mekanizması”, *Marmara Pharmaceutical Journal*, c. 21, sayı 1, ss. 30–37, 2017.
- [46] E. A. Moacă, I. Z. Pavel, C. Danciu, Z. Crăiniceanu, D. Minda, F. Ardelean, D. S. Antal, R. Ghiulai, A. Cioca, M. Derban, S. Simu, R. Chioibaş, C. Szuhaneş, ve C. A. Dehelean, “Romanian wormwood (*Artemisia absinthium* L.): Physicochemical and nutraceutical screening”, *Molecules*, c. 24, sayı 17, Ağu. 2019.
- [47] P. Bakun, B. Czarczynska-Goslinska, T. Goslinski, ve S. Lijewski, “In vitro and in vivo biological activities of azulene derivatives with potential applications in medicine”, *Medicinal Chemistry Research*, c. 30, sayı 4, ss. 834–846, Nis. 2021.
- [48] P. Blagojević, N. Radulović, R. Palić, ve G. Stojanović, “Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 54, sayı 13, ss. 4780–4789, Haz. 2006.
- [49] L. Ö. Demirezer, T. Ersöz, İ. Saraçoğlu, ve B. Şener, *FFD Monografileri Tedavide Kullanılan Bitkiler*, 2. baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2011.
- [50] E. Uzun, G. Sariyar, A. Adersen, B. Karakoc, G. Ötük, E. Oktayoglu, ve S. Pirildar, “Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 95, sayı 2–3, ss. 287–296, Ara. 2004.
- [51] Ş. Kültür, “Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey)”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 111, sayı 2, ss. 341–364, May. 2007.
- [52] M. Sırrı ve G. Sırrı, “Hakkâri ilinde gıda olarak tüketilen yabancı bitki ve yabancı ot türlerinin güncel durumu”, *European Journal of Science and Technology*, sayı 19, ss. 393–409, Ağu. 2020.
- [53] G. Melikoğlu, S. Kurtoğlu, ve Ş. Kültür, “Türkiye’de astım tedavisinde geleneksel olarak kullanılan Bitkiler”, *Marmara Pharmaceutical Journal*, c. 19, sayı 1, ss. 1–11, Oca. 2015.
- [54] Y. Bağcı, A. Savran, ve H. Dural, “Pozantı (Adana) ve çevresindeki bazı bitkilerin yerel adları ve etnobotanik özellikleri”, *Ed Fak Fen Derg Sayı*, c. 27, ss. 77–82, 2006.
- [55] I. Sile, E. Romane, S. Reinsone, B. Maurina, D. Tirzite, ve M. Dambrova, “Medicinal plants and their uses recorded in the Archives of Latvian Folklore from the 19th century”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 249, s. 112378, Mar. 2020.
- [56] T. N. Srivastava, S. Rajasekharan, D. P. Badola, ve D. C. Shah, “An index of the available medicinal plants, used in Indian system of medicine from jammu and

- kashmir state.”, *Ancient science of life*, c. 6, sayı 1, ss. 49–63, 1986.
- [57] W. Hussain, M. Ullah, G. Dastagir, ve L. Badshah, “Quantitative ethnobotanical appraisal of medicinal plants used by inhabitants of lower Kurram, Kurram agency, Pakistan.”, *Avicenna journal of phytomedicine*, c. 8, sayı 4, ss. 313–329.
- [58] S. Syal, V. Pandit, ve M. S. Ashawat, “Traditional herbs to treat acne vulgaris”, *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, c. 10, sayı 3, s. 195, Ağu. 2020.
- [59] E. Yarnell ve K. Abascal, “Herbal medicine for acne vulgaris”, *Alternative and Complementary Therapies*, c. 12, sayı 6, ss. 303–309, Ara. 2006.
- [60] N. Shafi, G. A. Khan, ve E. Ghauri, “Antiulcer effect of *Artemisia Absinthium* L. in rats”, *Biological Sciences - PJSIR*, c. 47, sayı 2, ss. 130–134, Nis. 2004.
- [61] C. Kaoudoune, F. Benchikh, H. Benabdallah, K. Loucif, S. Mehlous, ve S. Amira, “Gastroprotective effect and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract from *Artemisia absinthium* L aerial parts”, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, c. 10, sayı 4, ss. 153–156, Tem. 2020.
- [62] B. J. Goud ve B. K. C. Swamy, “Antidiabetic activity of methanol leaf extract of *Artemisia absinthium* in STZ induced diabetic rats – A fixed dose long term study”, *International Journal of Pharmacy and Integrated Life Sciences*, c. 3, sayı 9, ss. 46–59, 2015.
- [63] B. J. Goud ve B. K. C. Swamy, “Antidiabetic activity of *Artemisia absinthium* versus metformin in STZ induced diabetic rats”, *International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*, c. 5, sayı 11, ss. 1–12, 2016.
- [64] M. Mahmoudi, M. A. Ebrahimzadeh, F. Ansaroudi, S. F. Nabavi, ve S. M. Nabavi, “Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage”, *African Journal of Biotechnology*, c. 8, sayı 24, ss. 7170–7175, Ağu. 2009.
- [65] N. Amat, H. Upur, ve B. Blažeković, “In vivo hepatoprotective activity of the aqueous extract of *Artemisia absinthium* L. against chemically and immunologically induced liver injuries in mice”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 131, sayı 2, ss. 478–484, Eyl. 2010.
- [66] E. V. N. Beshay, “Therapeutic efficacy of *Artemisia absinthium* against *Hymenolepis nana*: In vitro and in vivo studies in comparison with the anthelmintic praziquantel”, *Journal of Helminthology*, c. 92, sayı 3, ss. 298–308, 2018.
- [67] T. Hojageldiyev, Y. Bolmammedov, ve S. Gurbanaliyev, “Antimycobacterial activity of ethanolic extract of *Artemisia absinthium* L.”, *World Scientific News*, c. 119, ss. 224–230, 2019.
- [68] D. Uğur, H. Güneş, F. Gülneş, ve R. Mammadov, “Bazi tibbi bitkilerin farklı kanser hücre hatlarında sitotoksik aktiviteleri”, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 14, sayı 3, ss. 222–230, 2017.
- [69] M. Nazeri, A. Mirzaie-asl, M. Saidijam, ve M. Moradi, “Methanolic extract of *Artemisia absinthium* prompts apoptosis, enhancing expression of Bax/Bcl-2 ratio, cell cycle arrest, caspase-3 activation and mitochondrial membrane potential destruction in human colorectal cancer HCT-116 cells”, *Molecular Biology Reports*, c. 47, sayı 11, ss. 8831–8840, 2020.

- [70] I. Koyuncu, "Evaluation of anticancer, antioxidant activity and phenolic compounds of *Artemisia absinthium* L. Extract", *Cellular and Molecular Biology*, c. 6, sayı 3, ss. 25–34, 2018.
- [71] X. Wei, L. Xia, D. Ziyayiding, Q. Chen, R. Liu, X. Xu, ve J. Li, "The Extracts of *Artemisia absinthium* L. Suppress the growth of hepatocellular carcinoma cells through induction of apoptosis via endoplasmic reticulum stress and mitochondrial-dependent pathway", *Molecules*, c. 24, sayı 5, s. 913, Mar. 2019.
- [72] M. Mughees, M. Samim, S. Ahmad, ve S. Wajid, "Comparative analysis of the cytotoxic activity of extracts from different parts of *A. Absinthium* L. on breast cancer cell lines and correlation with active compounds concentration", *Plant Biosystems*, c. 153, sayı 4, ss. 569–579, Kas. 2019.
- [73] A. Boudjelal, A. Smeriglio, G. Ginestra, M. Denaro, ve D. Trombetta, "Phytochemical profile, safety assessment and wound healing activity of *artemisia absinthium* L.", *Plants*, c. 9, sayı 12, ss. 1–14, Ara. 2020.
- [74] A. Benkhaled, A. Boudjelal, E. Napoli, F. Baali, ve G. Ruberto, "Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of *Artemisia absinthium* essential oil", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, c. 10, sayı 11, ss. 496–504, 2020.
- [75] M. H. Sultan, A. A. Zuwaiel, S. S. Moni, S. Alshahrani, S. S. Alqahtani, O. Madkhali, ve M. E. Elmobark, "Bioactive principles and potentiality of hot methanolic extract of the leaves from *Artemisia absinthium* L 'in vitro cytotoxicity against human MCF-7 breast vancer cells, antibacterial study and wound healing activity'", *Current Pharmaceutical Biotechnology*, c. 21, sayı 15, ss. 1711–1721, Oca. 2020.
- [76] A. Hadi, N. Hossein, P. Shirin, N. Najmeh, ve M. Abolfazl, "Anti-inflammatory and analgesic activities of *Artemisia absinthium* and chemical composition of its essential oil", *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, c. 24, sayı 2, ss. 237–244, 2014.
- [77] S. Krebs, T. N. Omer, ve B. Omer, "Wormwood (*Artemisia absinthium*) suppresses tumour necrosis factor alpha and accelerates healing in patients with Crohn's disease - A controlled clinical trial", *Phytomedicine*, c. 17, sayı 5, ss. 305–309, Nis. 2010.
- [78] S. Şahin, Ö. Aybastier, ve E. Işık, "Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from *Artemisia absinthium* using response surface methodology", *Food Chemistry*, c. 141, sayı 2, ss. 1361–1368, Kas. 2013.
- [79] A. Hoseinian, H. R. Moslemi, ve R. Sedaghat, "Antioxidant properties of *Artemisia absinthium* accelerate healing of experimental Achilles tendon injury in rabbits", *Herba Polonica*, c. 64, sayı 1, ss. 36–43, Mar. 2018.
- [80] Z. Basiri, F. Zeraati, F. Esna-Ashari, F. Mohammadi, K. Razzaghi, M. Araghchian, ve S. Moradkhani, "Topical effects of *artemisia absinthium* ointment and liniment in comparison with piroxicam gel in patients with knee joint osteoarthritis: A randomized double-blind controlled trial", *Iranian Journal of Medical Sciences*, c. 42, sayı 6, ss. 524–531, Kas. 2017.
- [81] K. S. Bora ve A. Sharma, "Neuroprotective effect of *Artemisia absinthium* L. on focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury", *Journal of*

Ethnopharmacology, c. 129, sayı 3, ss. 403–409, Haz. 2010.

- [82] D. G. Greenhalgh, “Management of Burns”, *The New England journal of medicine*, c. 380, sayı 24, ss. 2349–2359, Haz. 2019.
- [83] A. Markiewicz-Gospodarek, M. Koziół, M. Tobiasz, J. Baj, E. Radzikowska-Büchner, ve A. Przekora, “Burn wound healing: Clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: The current state of knowledge for clinical practice”, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, c. 19, sayı 3, s. 1338, 2022.
- [84] M. G. Jeschke, M. E. van Baar, M. A. Choudhry, K. K. Chung, N. S. Gibran, ve S. Logsetty, “Burn injury”, *Nature Reviews Disease Primers*, c. 6, sayı 1, 2020.
- [85] R. C. Lee, “Injury by electrical forces: Pathophysiology, manifestations, and therapy”, *Current Problems in Surgery*, c. 34, sayı 9, ss. 677–764, Eyl. 1997.
- [86] M. P. Owan, L. C. Cancio, E. A. Elster, D. M. Burmeister, L. F. Rose, S. Natesan, R. K. Chan, R. J. Christy, ve K. K. Chung, “Burn wound healing and treatment: Review and advancements”, *Critical Care*, c. 19, sayı 1. 2015.
- [87] D. Hao ve M. Nourbakhsh, “Recent advances in experimental burn models”, *Biology*, c. 10, sayı 6, Haz. 2021.
- [88] B. Çakir ve B. Ç. Yeğen, “Systemic responses to burn injury”, *Turkish Journal of Medical Sciences*, c. 34, sayı 4, ss. 215–226, Oca. 2004.
- [89] L. H. Evers, D. Bhavsar, ve P. Mailänder, “The biology of burn injury”, *Experimental Dermatology*, c. 19, sayı 9, ss. 777–783, 2010.
- [90] M. Abdeldjelil, A. Boudebza, ve D. Pharma, “Practical aspects to generate cutaneous experimental burns in a rat model”, *Der Pharmacia Lettre*, c. 9, sayı 1, ss. 59–67, 2017.
- [91] H. Laycock, J. Valente, C. Bantel, ve I. Nagy, “Peripheral mechanisms of burn injury-associated pain”, *European Journal of Pharmacology*, c. 716, sayı 1–3, ss. 169–178, Eyl. 2013.
- [92] S. Hettiaratchy ve P. Dziewulski, “Pathophysiology and types of burns: The body’s response to a burn”, *British Medical Journal*, c. 328, sayı June, ss. 1427–1429, 2004.
- [93] R. Gómez ve L. C. Cancio, “Management of burn wounds in the emergency department”, *Emergency Medicine Clinics of North America*, c. 25, sayı 1, ss. 135–146, Şub. 2007.
- [94] D. K. Meyerholz, T. L. Piester, J. C. Sokolich, G. K. D. Zamba, ve T. D. Light, “Morphological parameters for assessment of burn severity in an acute burn injury rat model”, *International Journal of Experimental Pathology*, c. 90, sayı 1, ss. 26–33, 2009.
- [95] C. B. Nielson, N. C. Duethman, J. M. Howard, M. Moncure, ve J. G. Wood, “Burns: Pathophysiology of systemic complications and current management”, *Journal of Burn Care and Research*, c. 38, sayı 1, ss. e469–e481, 2017.
- [96] D. Church, S. Elsayed, O. Reid, B. Winston, ve R. Lindsay, “Burn wound infections”, *Clinical Microbiology Reviews*, c. 19, sayı 2, s. 403, Nis. 2006.
- [97] A. F. Khosroshahi, J. S. Rad, R. Kheirjou, M. R. Ranjkesh, ve L. Roshangar,

- “Skin burns: Review of molecular mechanisms and therapeutic approaches”, *Wounds*, c. 31, sayı 12, ss. 308–315, Eyl. 2019.
- [98] S. I. Noorbakhsh, E. M. Bonar, R. Polinski, ve M. S. Amin, “Educational case: Burn injury-Pathophysiology, classification, and treatment”, *Academic Pathology*, c. 8, Kas. 2021.
- [99] L. A. Abdulkhaleq, M. A. Assi, R. Abdullah, M. Zamri-Saad, Y. H. Taufiq-Yap, ve M. N. M. Hezmee, “The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review”, *Veterinary World*, c. 11, sayı 5, ss. 627–635, May. 2018.
- [100] S. K. Juhn, M.-K. Jung, M. D. Hoffman, B. R. Drew, D. A. Preciado, N. J. Sausen, T. T. K. Jung, B. H. Kim, S.-Y. Park, J. Lin, F. G. Ondrey, D. R. Mains, ve T. Huang, “The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of otitis media and sequelae”, *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*, c. 1, sayı 3, s. 117, 2008.
- [101] C. Johnson, “Management of burns”, *Surgery (United Kingdom)*, c. 36, sayı 8, ss. 435–440, Ağu. 2018.
- [102] R. M. Johnson ve R. Richard, “Partial-thickness burns: identification and management.”, *Advances in skin & wound care*, c. 16, sayı 4, ss. 178–187, Tem. 2003.
- [103] C. L. Baum ve C. J. Arpey, “Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events”, *Dermatologic Surgery*, c. 31, sayı 6, s. 686, Haz. 2005.
- [104] K. Shimizu, H. Ogura, T. Asahara, K. Nomoto, A. Matsushima, K. Hayakawa, H. Ikegawa, O. Tasaki, Y. Kuwagata, ve T. Shimazu, “Gut microbiota and environment in patients with major burns - A preliminary report”, *Burns*, c. 41, sayı 3, ss. e28–e33, May. 2015.
- [105] M. E. Pekşen, “Comparison of the healing effects of silver sulfadiazine cream 1% and the essential oil of *Hypericum perforatum* on scald burn wound in a rat model”, *Basic and Clinical Sciences*, c. 3, sayı 1, s. 1, 2014.
- [106] J. Wasiak ve H. Cleland, “Burns (minor thermal)”, *BMJ clinical evidence*, c. 2009, sayı 1903, 2009.
- [107] U. Altoparlak, S. Erol, M. N. Akcay, F. Celebi, ve A. Kadanali, “The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients”, *Burns*, c. 30, sayı 7, ss. 660–664, Kas. 2004.
- [108] W. Norbury, D. N. Herndon, J. Tanksley, M. G. Jeschke, ve C. C. Finnerty, “Infection in burns”, *Surgical Infections*, c. 17, sayı 2, ss. 250–255, 2016.
- [109] V. K. Tiwari, “Burn wound: How it differs from other wounds”, *Indian Journal of Plastic Surgery*, c. 45, sayı 2, ss. 364–373, May. 2012.
- [110] J. Li, J. Chen, ve R. Kirsner, “Pathophysiology of acute wound healing”, *Clinics in Dermatology*, c. 25, sayı 1, ss. 9–18, Oca. 2007.
- [111] S. Nour, N. Baheiraei, R. Imani, M. Khodaei, A. Alizadeh, N. Rabiee, ve S. M. Moazzeni, “A review of accelerated wound healing approaches: biomaterial-assisted tissue remodeling”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*,

c. 30, sayı 10, Eki. 2019.

- [112] G. Baktir, “Wound repair and experimental wound models”, *Experimed*, c. 9, sayı 3, ss. 130–137, 2019.
- [113] A. B. G. Lansdown, “Calcium: A potential central regulator in wound healing in the skin”, *Wound Repair and Regeneration*, c. 10, sayı 5, ss. 271–285, Eyl. 2002.
- [114] M. Rodrigues, N. Kosaric, C. A. Bonham, ve G. C. Gurtner, “Wound healing: A cellular perspective”, *Physiological Reviews*, c. 99, sayı 1, ss. 665–706, Oca. 2019.
- [115] A. Van Der Vliet ve Y. M. W. Janssen-Heininger, “Hydrogen peroxide as a damage signal in tissue injury and inflammation: Murderer, mediator, or messenger?”, *Journal of Cellular Biochemistry*, c. 115, sayı 3, ss. 427–435, Mar. 2014.
- [116] S. Werner ve R. Grose, “Regulation of wound healing by growth factors and cytokines”, *Physiological Reviews*, c. 83, sayı 3, ss. 835–870, 2003.
- [117] G. Hübner, M. Brauchle, H. Smola, M. Madlener, R. Fässler, ve S. Werner, “Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice”, *Cytokine*, c. 8, sayı 7, ss. 548–556, Tem. 1996.
- [118] A. Jacinto, A. Martinez-Arias, ve P. Martin, “Mechanisms of epithelial fusion and repair”, *Nature Cell Biology*, c. 3, sayı 5, ss. E117–E123, 2001.
- [119] A. Merecz-Sadowska, P. Sitarek, E. Kucharska, T. Kowalczyk, K. Zajdel, T. Cegliński, ve R. Zajdel, “Antioxidant properties of plant-derived phenolic compounds and their effect on skin fibroblast cells”, *Antioxidants*, c. 10, sayı 5, May. 2021.
- [120] N. X. Landén, D. Li, ve M. Ståhle, “Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing”, *Cellular and Molecular Life Sciences*, c. 73, sayı 20, ss. 3861–3885, Eki. 2016.
- [121] G. Majno, “The story of the myofibroblasts”, *American Journal of Surgical Pathology*, c. 3, sayı 6, ss. 535–542, 1979.
- [122] B. Hinz, “Formation and function of the myofibroblast during tissue repair”, *Journal of Investigative Dermatology*, c. 127, sayı 3, ss. 526–537, 2007.
- [123] J. Larouche, S. Sheoran, K. Maruyama, ve M. M. Martino, “Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets”, *Advances in Wound Care*, c. 7, sayı 7, ss. 209–231, Tem. 2018.
- [124] D. L. Chester ve R. P. G. Papini, “Skin and skin substitutes in burn management”, *Trauma*, c. 6, sayı 2, ss. 87–99, Eyl. 2004.
- [125] H. F. Liu, F. Zhang, ve W. C. Lineaweaver, “History and advancement of burn treatments”, *Annals of Plastic Surgery*, c. 78, sayı 2, ss. S2–S8, 2017.
- [126] H. E. Douglas ve F. Wood, “Burns dressings”, *Australian Family Physician*, c. 46, sayı 3, ss. 94–97, 2017.
- [127] P. Zahedi, I. Rezaeian, S. O. Ranaei-Siadat, S. H. Jafari, ve P. Supaphol, “A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages”, *Polymers for Advanced Technologies*, c. 21, sayı 2, ss. 77–

95, Şub. 2010.

- [128] S. Kumar, P. F. Wong, ve D. J. Leaper, “What is new in wound healing?”, *Turkish Journal of Medical Sciences*, c. 34, sayı 3, ss. 147–160, Oca. 2004.
- [129] A. H. Kurtoğlu ve A. Karataş, “Yara tedavisinde güncel yaklaşımlar: modern yara örtüleri”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, c. 38, sayı 3, ss. 211–232, 2009.
- [130] L. I. F. Moura, A. M. A. Dias, E. Carvalho, ve H. C. De Sousa, “Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment - A review”, *Acta Biomaterialia*, c. 9, sayı 7, ss. 7093–7114, 2013.
- [131] B. Mirasoğlu, “Yara bakım ürünleri”, *TOTBID Dergisi*, c. 14, sayı 5, ss. 456–461, 2015.
- [132] W. Paul ve C. P. Sharma, “Chitosan and alginate wound dressings : A short review”, *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, c. 18, sayı 1, ss. 18–23, Tem. 2004.
- [133] A. Sood, M. S. Granick, ve N. L. Tomaselli, “Wound dressings and comparative effectiveness data”, *Advances in Wound Care*, c. 3, sayı 8, ss. 511–529, 2014.
- [134] R. Laurano, M. Boffito, G. Ciardelli, ve V. Chiono, “Wound dressing products: A translational investigation from the bench to the market”, *Engineered Regeneration*, c. 3, sayı 2, ss. 182–200, Haz. 2022.
- [135] S. Dhivya, V. V. Padma, ve E. Santhini, “Wound dressings - A review”, *BioMedicine (Netherlands)*, c. 5, sayı 4, ss. 24–28, 2015.
- [136] S. Mutlu ve E. Yılmaz, “Yara yönetiminde güncel yaklaşımlar”, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, c. 8, sayı 4, ss. 481–494, 2019.
- [137] I. Jones, L. Currie, ve R. Martin, “A guide to biological skin substitutes”, *British Journal of Plastic Surgery*, c. 55, sayı 3, ss. 185–193, 2002.
- [138] M. Rinaudo, “Chitin and chitosan: Properties and applications”, *Progress in Polymer Science*, c. 31, sayı 7, ss. 603–632, Tem. 2006.
- [139] I. Younes ve M. Rinaudo, “Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications”, *Marine Drugs*, c. 13, sayı 3, ss. 1133–1174, Mar. 2015.
- [140] T. Jin, T. Liu, E. Lam, ve A. Moores, “Chitin and chitosan on the nanoscale”, *Nanoscale Horizons*, c. 6, sayı 7, ss. 505–542, Haz. 2021.
- [141] E. I. Rabea, M. E. T. Badawy, C. V. Stevens, G. Smagghe, ve W. Steurbaut, “Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action”, *Biomacromolecules*, c. 4, sayı 6, ss. 1457–1465, Kas. 2003.
- [142] P. Sahariah ve M. Másson, “Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure-Activity Relationship”, *Biomacromolecules*, c. 18, sayı 11, ss. 3846–3868, Kas. 2017.
- [143] H. Li, A. M. Koenig, P. Sloan, ve N. D. Leipzig, “In vivo assessment of guided neural stem cell differentiation in growth factor immobilized chitosan-based hydrogel scaffolds”, *Biomaterials*, c. 35, sayı 33, ss. 9049–9057, 2014.
- [144] Y. Zhao, X. Zhang, Y. Wang, Z. Wu, J. An, Z. Lu, L. Mei, ve C. Li, “In situ cross-linked polysaccharide hydrogel as extracellular matrix mimics for

- antibiotics delivery”, *Carbohydrate Polymers*, c. 105, sayı 1, ss. 63–69, May. 2014.
- [145] F. Ahmadi, Z. Oveisi, M. Samani, ve Z. Amoozgar, “Chitosan based hydrogels: Characteristics and pharmaceutical applications”, *Research in Pharmaceutical Sciences*, c. 10, sayı 1, ss. 1–16, 2015.
- [146] E. M. Ahmed, “Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review”, *Journal of Advanced Research*, c. 6, sayı 2, ss. 105–121, 2015.
- [147] J. Ren, X. Wang, L. Zhao, M. Li, ve W. Yang, “Double Network Gelatin/Chitosan Hydrogel Effective Removal of Dyes from Aqueous Solutions”, *Journal of Polymers and the Environment*, c. 30, sayı 5, ss. 2007–2021, 2022, doi: 10.1007/s10924-021-02327-8.
- [148] H. Liu, C. Wang, C. Li, Y. Qin, Z. Wang, F. Yang, Z. Li, ve J. Wang, “A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing”, *RSC Advances*, c. 8, sayı 14, ss. 7533–7549, 2018.
- [149] H. Ueno, T. Mori, ve T. Fujinaga, “Topical formulations and wound healing applications of chitosan”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, c. 52, sayı 2, ss. 105–115, Kas. 2001.
- [150] S. Minami, H. Suzuki, Y. Okamoto, T. Fujinaga, ve Y. Shigemasa, “Chitin and chitosan activate complement via the alternative pathway”, *Carbohydrate Polymers*, c. 36, sayı 2–3, ss. 151–155, Tem. 1998.
- [151] M. Ishihara, K. Ono, Y. Saito, H. Yura, H. Hattori, T. Matsui, ve A. Kurita, “Photocrosslinkable chitosan: An effective adhesive with surgical applications”, *International Congress Series*, c. 1223, sayı C, ss. 251–257, Ara. 2001.
- [152] R. E. Barrow ve D. N. Herndon, “History of treatments of burns”, *Total Burn Care*, ss. 1–8, 2007.
- [153] A. Hussain ve F. Choukairi, “To cool or not to cool: Evolution of the treatment of burns in the 18th century”, *International Journal of Surgery*, c. 11, sayı 7, ss. 503–506, 2013.
- [154] S. M., “Honey dressing for burns - an appraisal”, *Annals of Burns and Fire Disasters*, c. IX, sayı 1, ss. 33–35, 1996.
- [155] L. Cuttle ve R. Kimble, “First aid treatment of burn injuries”, *Wound Practice & Research*, c. 18, sayı 1, ss. 4–13, 2010.
- [156] M. D. Pinnegar ve F. C. Pinnegar, “History of burn care: A survey of important changes in the topical treatment of thermal injuries”, *Burns*, c. 12, sayı 7, ss. 508–517, Eki. 1986.
- [157] C. Wallner, E. Moormann, P. Lulof, M. Drysch, M. Lehnhardt, ve B. Behr, “Burn care in the Greek and Roman antiquity”, *Medicina (Lithuania)*, c. 56, sayı 12, ss. 1–9, Ara. 2020.
- [158] R. Van Hee, “From fat of old pigs to fenestrated skin grafts: A fascinating history of burn’s treatment”, *Acta Chirurgica Belgica*, c. 107, sayı 4, ss. 481–492, 2007.
- [159] E. K. Mooney, “Daniel Drake’s account of his own hand burns (1830)”, *Plastic and reconstructive surgery*, c. 102, sayı 5, ss. 1748–1754, 1998.

- [160] J. J. R. Kirkpatrick, B. Curtis, A. M. Fitzgerald, ve I. L. Naylor, “A modern translation and interpretation of the treatise on burns of Fabricius Hildanus (1560-1634)”, *British Journal of Plastic Surgery*, c. 48, sayı 7, ss. 460–470, 1995.
- [161] T. Rogalska, “Healing the bee’s knees - On honey and wound healing”, *JAMA Dermatology*, c. 152, sayı 3, s. 275, Mar. 2016.
- [162] L. Cuttle, J. Pearn, J. R. McMillan, ve R. M. Kimble, “A review of first aid treatments for burn injuries”, *Burns*, c. 35, sayı 6, ss. 768–775, Eyl. 2009.
- [163] R. Maenthaisong, N. Chaiyakunapruk, S. Niruntraporn, ve C. Kongkaew, “The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: A systematic review”, *Burns*, c. 33, sayı 6, ss. 713–718, Eyl. 2007.
- [164] E. Gökalgp Özkorkmaz ve Y. Özay, “Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, c. 2, sayı 2, ss. 63–67, Tem. 2009.
- [165] F. Güç ve A. Mat, “Türkiye’de Yanık Tedavisinde Geleneksel Olarak Kullanılan Bitkiler”, *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi*, c. 2, sayı 1, ss. 15–35, 2019.
- [166] V. Altay ve F. Karahan, “Medicinal plants used to sunstroke and sunburn treatment in Anatolian traditional medicine”, *Erzincan University Journal of Science and Technology*, c. 2017, sayı 1, ss. 124–137, Haz. 2017.
- [167] S. Selvi, R. Polat, U. Çakılcioğlu, F. Celep, T. Dirmenci, ve Z. F. Ertuğ, “An ethnobotanical review on medicinal plants of the Lamiaceae family in Turkey”, *Turkish Journal of Botany*, c. 46, sayı 4, ss. 283–332, 2022.
- [168] E. Özdemir ve K. Alpinar, “An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde - Turkey)”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 166, ss. 53–65, May. 2015.
- [169] G. Bulut ve E. Tuzlacı, “An ethnobotanical study of medicinal plants in Bayramiç (Çanakkale- Turkey)”, *Marmara Pharmaceutical Journal*, c. 19, sayı 3, ss. 268–282, 2015.
- [170] G. Ecevit Genç ve N. Özhatay, “An ethnobotanical study in Çatalca (European part of Istanbul) II”, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 3, sayı 2, ss. 73–89, 2006.
- [171] İ. Ü. Yapıcı, H. Hoşgören, ve Ö. Saya, “Kurtalan (Siirt) İlçesinin Etnobotanik Özellikleri”, *Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Dergisi*, c. 12, sayı 12, ss. 191–196, 2009.
- [172] B. Gürdal ve Ş. Kültür, “An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey)”, *Journal of Ethnopharmacology*, c. 146, sayı 1, ss. 113–126, Mar. 2013.
- [173] Y. J. Lee, M. Thiruvengadam, I. M. Chung, ve P. Nagella, “Polyphenol composition and antioxidant activity from the vegetable plant *Artemisia absinthium* L.”, *Australian Journal of Crop Science*, c. 7, sayı 12, ss. 1921–1926, 2013.
- [174] D. Minda, R. Ghiulai, C. D. Banciu, I. Z. Pavel, C. Danciu, R. Racoviceanu, C. Soica, O. D. Budu, D. Muntean, Z. Diaconeasa, C. A. Dehelean, ve S. Avram,

- “Phytochemical Profile, Antioxidant and Wound Healing Potential of Three Artemisia Species: In Vitro and In Ovo Evaluation”, *Applied Sciences (Switzerland)*, c. 12, sayı 3, s. 1359, Oca. 2022.
- [175] H. Ueno, H. Yamada, I. Tanaka, N. Kaba, M. Matsuura, M. Okumura, T. Kadosawa, ve T. Fujinaga, “Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs”, *Biomaterials*, c. 20, sayı 15, ss. 1407–1414, Ağu. 1999.
- [176] K. Mizuno, K. Yamamura, K. Yano, T. Osada, S. Saeki, N. Takimoto, T. Sakurai, ve Y. Nimura, “Effect of chitosan film containing basic fibroblast growth factor on wound healing in genetically diabetic mice”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, c. 64, sayı 1, ss. 177–181, Oca. 2003.
- [177] Ş. Baykan Erel, G. Reznicek, S. G. Şenol, N. Ü. Karabay Yavaşoğlu, S. Konyalıoğlu, ve A. U. Zeybek, “Antimicrobial and antioxidant properties of Artemisia L. species from western anatolia”, *Turkish Journal of Biology*, c. 36, sayı 1, ss. 75–84, Oca. 2012.
- [178] Ö. T. Erdoğan, “Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine”, *Pharmaceutical Biology*, c. 40, sayı 4, ss. 269–273, 2002, doi: 10.1076/phbi.40.4.269.8474.
- [179] R. A. Hrytsyk, R. V. Kutsyk, O. I. Yurchyshyn, O. A. Struk, I. V. Kireev, ve A. R. Grytsyk, “The investigation of antimicrobial and antifungal activity of some Artemisia L. species”, *Pharmacia*, c. 68, sayı 1, ss. 93–100, Oca. 2021.
- [180] M. Shahnazi, A. Azadmehr, R. Hajiaghazadeh, S. Mosalla, ve R. Latifi, “Effects of Artemisia Absinthium L. Extract on the maturation and function of dendritic cells”, *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, c. 10, sayı 2, ss. 1–6, 2015.
- [181] S. D. Sadoughi, R. Rahbarian, N. Jahani, S. A. Shazdeh, S. Hossein Zadeh Saljoughi, ve M. Daei, “Effect of aqueous extract of Artemisia absinthium L. on sex hormones, inflammatory cytokines and oxidative stress indices of ovarian tissue in polycystic ovary syndrome rat model”, *Journal of Babol University of Medical Sciences*, c. 19, sayı 7, ss. 50–56, 2017.
- [182] M. H. Sultan, A. A. Zuwaiel, S. S. Moni, S. Alshahrani, S. S. Alqahtani, O. Madkhali, ve M. E. Elmobark, “Bioactive Principles and Potentiality of Hot Methanolic Extract of the Leaves from Artemisia absinthium L ‘in vitro Cytotoxicity Against Human MCF-7 Breast Cancer Cells, Antibacterial Study and Wound Healing Activity’”, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, c. 21, sayı 15, ss. 1711–1721, Eyl. 2020.

6. EKLER

6.1. EK 1: ETİK KURUL BELGESİ



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Meryem AYDIN

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Doğal ve Bitkisel Ürünler, Kozmetik Ürünler	Düzce Üniversitesi	2023
Y. Lisans	Kimya	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2018
Lisans	Biyokimya	Ege Üniversitesi	2015
Lise	Fen Bilimleri	Kdz. Ereğli Anadolu Lisesi	2010