



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN YARA MODELİNDE *Arum dioscoridis* BİTKİSİNİN İYİLEŞTİRİCİ
ETKİSİNİN NF-κB YOLAĞI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Hidayet ÇETİN

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ

GAZİANTEP
ARALIK-2025



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN YARA MODELİNDE *Arum dioscoridis* BİTKİSİNİN İYİLEŞTİRİCİ
ETKİSİNİN NF-κB YOLAĞI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Hidayet ÇETİN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ

GAZİANTEP

ARALIK-2025

**Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Taraından TF.UT.24.48 proje numarasıyla desteklenmiştir.**

T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIĞAN YARA MODELİNDE *Arum dioscoridis* BİTKİSİNİN İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN NF-κB YOLAĞI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI

Dr. Hidayet ÇETİN
23.12.2025

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Şevki Hakan EREN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının 'Tıpta Uzmanlık' derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile 'Tıpta Uzmanlık' tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ
2. Dr. Öğr. Üyesi Sibel CANGİ
3. Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem KARACA

YEDEK JÜRİLER:

1. Prof. Dr. Hülya ÇİÇEK
2. Doç. Dr. Elif İŞBİLEN

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecimde her zaman yanımda olan bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren kıymetli tez danışmanım Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ'ne, yardımseverliği ve bilgisiyle yanımda olan Prof. Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ'ye, tez sürecimdeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Sevgi GEZİCİ'ye, Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem KARACA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER'e teşekkür ederim.

Tez sürecimde yardımcı olan, Prof. Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ'nin asistanlarına, BAP çalışanlarına, başta Betül YILDIRIM ve Cengiz YENİCİL olmak üzere GAÜNDAM çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez süresince her türlü desteği gördüğüm çok kıymetli arkadaşlarım Dr. Adem TURAN'a, Dr. VeySEL YILDIRIM'a, Dr. Merve BOZKURT'a, Uzm. Dr. Manolya SANCAKTAR'a, Uzm. Dr. Tuba ÖZTÜRK BERK'e ve Uzm. Biyolog Bermal BAŞBUĞ'a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca olduğu gibi tez sürecimde de yanımda olan çok sevgili babam Nusret ÇETİN'e, annem Sebiha ÇETİN'e, kardeşlerim Nisanur ÇETİN'e, Av. Yusuf ÇETİN'e, İsmail ÇETİN ve eşi Zehra ÇETİN'e, biricik yeğenim Zeynep Duru ÇETİN'e ve diğer akrabalarım'a çok teşekkür ederim.

Dr. Hidayet ÇETİN

Aralık 2025

ÖZET

ÇETİN H., SIÇAN YARA MODELİNDE *Arum dioscoridis* BİTKİSİNİN İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN NF-κB YOLAĞI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI, TIPTA UZMANLIK TEZİ, GAZİANTEP, 2025.

AMAÇ: Çalışmamızın amacı, geleneksel olarak yara tedavisinde kullanılan *Arum dioscoridis* (AD) bitkisinin, sıçanlar üzerinde oluşturulan tam kat deri yara modelindeki iyileştirici etkilerini NF-κB sinyal yolağı üzerinden histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelemek ve bu etkiyi standart bir tedavi yöntemiyle (Fitokrem) karşılaştırmaktır.

GEREÇ-YÖNTEM: Sıçanlar 5 deney grubuna ayrılmıştır. Grup 1 (Kontrol), grup 2 (Yara), grup 3 (Jel Kontrol), grup 4 (*Arum dioscoridis* - AD) ve grup 5 (Fitokrem). *Arum dioscoridis* bitkisinin özütü metanolla elde edilmiştir. Gruplar; yara alanı yüzdesindeki değişimle, yara dokusundaki histopatolojik değerlendirmelerle (HE, MT ve IHC boyamaları) ve serumda biyokimyasal analizlerle (ELISA; NF-κB, TNF-α, VEGF, IL-6, MDA ve SOD değerleri) incelenmiştir.

BULGULAR: Çalışmada, AD (grup 4) ve Fitokrem grubu (grup 5), hem makroskopik yara alanı azalması hem de histopatolojik iyileşme skorlarında, tedavi almayan yara (grup 2) ve kontrol jel grubuna (grup 3) daha yüksek sonuçlar bulunmuştur. Histopatolojik incelemelerde (HE ve MT boyamaları), 14. gün AD ve Fitokrem gruplarında; tam reepitelizasyon, kıl folikülü oluşumu, kollajen birikimi, normal deri kalınlığına ulaşan granülasyon dokusu gözlenmiştir. Biyokimyasal analizlerde (ELISA), AD ve Fitokrem gruplarında, proenflamatuar belirteçler olan NF-κB, TNF-α ve IL-6 düzeyleri, yara ve kontrol jel gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Anjiyogenez ve yara proliferasyonunda önemli olan VEGF düzeyleri ise AD jeli ve Fitokrem gruplarında en yüksek seviyede tespit edilmiştir.

SONUÇ: *Arum dioscoridis* bitkisinin metanol özütünü içeren hidrojel, iyileştirici etkisi bilinen Fitokreme yakın bir etki gösterdiğini; NF-κB yolağını inhibe ederek enflamasyonu azaltıp, hücre aktivasyonunu, kıl folikülü yapımını, anjiyogenezi ve kollajen sentezini artırarak yara tedavisinde etkili bir potansiyel sunabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Arum dioscoridis*, IL-6, NF-κB yolağı, TNF-α, VEGF, yara iyileşmesi

ABSTRACT

CETIN H., INVESTIGATION OF THE THERAPEUTIC EFFECT OF *Arum dioscoridis* PLANT VIA NF- κ B PATHWAY IN RAT WOUND MODEL. GAZIANTEP UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY, RESIDENCY THESIS IN MEDICINE, GAZIANTEP, 2025.

Objective: The aim of our study is to investigate the healing effects of *Arum dioscoridis* (AD), a plant traditionally used in wound treatment, on a full-thickness skin wound model created in rats through the NF- κ B signaling pathway using histopathological and biochemical methods, and to compare this effect with a standard treatment method (Fitokrem).

Materials and Methods: The rats were divided into 5 experimental groups. Group 1 (Control), group 2 (Wound), group 3 (Gel Control), group 4 (*Arum dioscoridis* - AD), and group 5 (Fitokrem). The extract of the *Arum dioscoridis* plant was obtained using methanol. The groups were examined for changes in wound area percentage, histopathological evaluations of the wound tissue (HE, MT and IHC staining) and biochemical analyses in serum (ELISA; NF- κ B, TNF- α , VEGF, IL-6, MDA and SOD values).

Findings: In the study, both the AD group (group 4) and the Fitokrem group (group 5) showed higher results in both macroscopic wound area reduction and histopathological healing scores compared to the untreated wound (group 2) and the control gel group (group 3). Histopathological examinations (HE and MT staining) on day 14 revealed complete reepithelialization, hair follicle formation, collagen accumulation, and granulation tissue reaching normal skin thickness in the AD and Fitokrem groups. Biochemical analyses (ELISA) revealed that levels of proinflammatory markers NF- κ B, TNF- α and IL-6 were significantly lower in the AD and Fitokrem groups compared to the wound and control gel groups. VEGF levels, which are important for angiogenesis and wound proliferation, were found to be highest in the AD gel and Fitokrem groups.

Conclusion: The hydrogel containing the methanol extract of *Arum dioscoridis* showed an effect similar to that of Fitokrem, which is known for its healing properties. It demonstrated that it could offer effective potential in wound treatment by inhibiting the NF- κ B pathway to reduce inflammation and by increasing cell activation, hair follicle formation, angiogenesis, and collagen synthesis.

Keywords: *Arum dioscoridis*, IL-6, NF- κ B pathway, TNF- α , VEGF, wound healing

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGE ve KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Deri ve Derinin Yapısı	3
2.1.1. Epidermis.....	3
2.1.2. Dermis	4
2.1.3. Hipodermis	5
2.1.4. Deri Embriyolojisi	5
2.2. Yara ve Çeşitleri.....	6
2.2.1. Akut Yaralar	6
2.2.2. Kronik Yaralar	6
2.3. Yara İyileşmesi.....	6
2.3.1. Hemostaz Evresi	7
2.3.2. Enflamasyon Evresi	8
2.3.3. Proliferasyon Evresi.....	9
2.3.4. Remodelling Evresi.....	10
2.4. Yara İyileşmesi ve Nükleer Faktör- κ B (NF- κ B)	11
2.5. Yara İyileşmesi ve Interlökin-6 (IL-6)	12
2.6. Yara İyileşmesi ve Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)	13
2.7. Yara İyileşmesi ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktör (VEGF).....	13
2.8. Yara İyileşmesi ve Malondialdehit (MDA).....	13
2.9. Yara İyileşmesi ve Süperoksit Dismutaz (SOD).....	13
2.10. Yara İyileşmesi Çeşitleri.....	14

2.10.1. Primer Yara İyileşmesi	14
2.10.2. Sekonder Yara İyileşmesi	14
2.10.3. Tersiyer Yara İyileşmesi	14
2.11. <i>Arum Dioscoridis</i>	14
3. GEREÇ ve YÖNTEM	17
3.1. <i>Arum dioscoridis</i>	17
3.1.1. Bitki Toplanması ve Tayini	17
3.1.2. Bitki Ekstraksiyonu	17
3.1.3. Bitki Özütünün in vitro Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	18
3.1.4. Bitki Özütünün Toplam Fenolik Madde İçeriği ve LC-MS/MS Analizi	18
3.1.5. Ekstraksız Hidrojel Yapımı	18
3.1.6. <i>Arum dioscoridis</i> Ekstraktlı Hidrojel Yapımı	19
3.2. Deney Hayvanları	20
3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	21
3.2.2. Yara Yeri Oluşturma	23
3.2.3. Hidrojel Uygulanması	24
3.2.4. Yara Yeri Takibi ve Fotoğraflamalar	24
3.2.5. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması	25
3.3. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	26
3.4. Histolojik Boyamalar	27
3.4.1. Hematoksilen Eozin Boyama ve Skorelama	27
3.4.2. Masson's Trikrom Boyama ve Skorelama	28
3.4.3. İmmünohistokimyasal Boyama ve Skorelama	29
3.5. Biyokimyasal Analizler	31
3.5.1. NF- κ B, TNF- α , VEGF, IL-6, MDA ve SOD ELISA Testleri	31
3.6. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi	32
4. BULGULAR	33
4.1. <i>Arum dioscoridis</i> LC-MS/MS Analiz Bulguları	33
4.2. Yara Alanı Bulguları	34
4.3. Histopatolojik Bulgular	37

4.3.1. Hematoksilen Eozin Boyama ve Skrlama Bulguları	37
4.3.2. Masson's Trikrom Boyama ve Skrlama Bulguları	49
4.3.3. İmmünohistokimyasal Boyama ve Skrlama Bulguları	62
4.4. Biyokimyasal Bulgular	74
4.4.1. NF-κB ELISA Bulguları	74
4.4.2. TNF-α ELISA Bulguları	75
4.4.3. VEGF ELISA Bulguları	76
4.4.4. IL-6 ELISA Bulguları	77
4.4.5. MDA ELISA Bulguları	79
4.4.6. SOD ELISA Bulguları	80
5. TARTIŞMA	82
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	91
7. KAYNAKLAR	92

SİMGE ve KISALTMALAR

ABTS: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)

AD: *Arum dioscoridis*

Bcl-2: B hücreli lenfoma-2

Bcl-xL: B hücreli lenfoma-xL

bFGF: bazik fibroblast büyüme faktörü

COX-2: Siklooksijenaz-2

cm: santimetre

ΔABS: Ortalama absorbans değeri farkı

d: Gün

DMSO: Dimetilsülfoksit

ECM: Ekstra sellüler matriks

EGF: Endotelyal büyüme faktörü ,

EK: Epidermis kalınlığı

ELISA: Enzim bağlı immünosorbent testi

EPC: Endotelyal progenitör hücre

ETI: Epidermal kalınlık indeksi

eq: Ekvale

G-CSF: Granülosit koloni stimüle edici faktör

gr: gram

HCl: Hidroklorik asit

HE: Hematoksilen ve eozin

ICAM-1: İntersellüler adhezyon molekülü

IFN- γ : İnterferon- γ

IHC: İmmünohistokimya

I κ B: İnhibitör- κ B

IL-1: İnterlökin-1

IL-1 β : İnterlökin-1 β

IL-6: İnterlökin-6

IL-8: İnterlökin-8

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

ip: intraperitoneal

iv: intravenöz

kg: kilogram

K-W: Kruskal Wallis testi

L: Litre

LC-MS/MS: Sıvı kromatografi kütle spektrometresi

LPS: Lipopolisakkarit

LSD: Least significant difference (Asgari önemli fark)

μ m: mikrometre

M-CSF: Makrofaj koloni sitümile edici faktör

MDA: Malondialdehit

mg: miligram

min: dakika

ml: mililitre

mm: milimetre

mm²: milimetre kare

MMP: Matriks metalloproteinaz

MT: Masson's trikrom

N.A.: uygulanamaz

NF-κB: Nükleer faktör-κB

NO: Nitrik oksit

OD: Optik yoğunluk

p: olasılık değeri

PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

SEI: Skar elevasyon indeksi

SF: Serum fizyolojik

SOD: Süperoksit dismutaz

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal bilimler için istatistik paketi)

TGF: Transforme edici büyüme faktörü

TGF-β1: Transforme edici büyüme faktörü-β1

TGF-β2: Transforme edici büyüme faktörü-β2

TGF-β3: Transforme edici büyüme faktörü-β3

TNF-α: Tümör nekroz faktörü-α

VCAM-1: Vasküler hücre adhezyon molekülü-1

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

vWF: von Willebrand faktör



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Epidermis ve dermis	5
Şekil 2.2. Yara iyileşmesi evreleri ve süreleri	7
Şekil 2.3. Yara iyileşmesinin evreleri ve günlere göre hücre aktivasyonu	11
Şekil 2.4. NF-κB ve enflamasyon ilişkisi.....	12
Şekil 2.5. <i>Arum dioscoridis</i> bitkisi	15
Şekil 3.1. Toz haline getirilen yapraklar, Soxhlet cihazında özüt çıkarma ve Özüt. ...	18
Şekil 3.2. Özüt son hal, B) Özütsüz hidrojel, C) Özütlü hidrojel.	20
Şekil 3.3. Tıraşlama, Dezenfeksiyon, Göz merhemi uygulama.....	23
Şekil 3.4. İşaretleme, Tam kat deri çıkarma, Subkütanuygulaması, Yara son hal.....	23
Şekil 3.5. Hidrojel uygulaması	24
Şekil 3.6. Ağırlık ölçümü, Fotoğraflama düzeneği	25
Şekil 3.7. Anestezi, kan alma, deri çıkarma	25
Şekil 3.8. Formaldehite koyma, santrifüjleme, eppendorf tüplerine alma.....	26
Şekil 4.1. Kromatografi analizi.....	33
Şekil 4.2. Grupların yara alanı yüzdeleri günlere göre değişimi.....	34
Şekil 4.3. Grupların yara yeri fotoğrafları 0., 3., 7. ve 14. gün.	35
Şekil 4.4. HE boyama total puanlar	37
Şekil 4.5. 3. gün grup 1 HE boyama mikrofotoğrafları	38
Şekil 4.6. 14. gün grup 1 HE boyama mikrofotoğrafları	39
Şekil 4.7. 3. gün grup 2 HE boyama mikrofotoğrafları	40
Şekil 4.8. 14. gün grup 2 HE boyama mikrofotoğrafları	41
Şekil 4.9. 3. gün grup 3 HE boyama mikrofotoğrafları	42
Şekil 4.10. 14. gün grup 3 HE boyama mikrofotoğrafları	43
Şekil 4.11. 3. gün grup 4 HE boyama mikrofotoğrafları	44
Şekil 4.12. 14. gün grup 4 HE boyama mikrofotoğrafları	45
Şekil 4.13. 3. gün grup 5 HE boyama mikrofotoğrafları	46
Şekil 4.14. 14. gün grup 5 HE boyama mikrofotoğrafları	47
Şekil 4.15. MT total skor.....	50
Şekil 4.16. 3. gün grup 1 MT boyama mikrofotoğrafları	51

Şekil 4.17. 14. gün grup 1 MT boyama mikrofotoğrafları	52
Şekil 4.18. 3. gün grup 2 MT boyama mikrofotoğrafları	53
Şekil 4.19. 14. gün grup 2 MT boyama mikrofotoğrafları	54
Şekil 4.20. 3. gün grup 3 MT boyama mikrofotoğrafları	55
Şekil 4.21. 14. gün grup 3 MT boyama mikrofotoğrafları	56
Şekil 4.22. 3. gün grup 4 MT boyama mikrofotoğrafları	57
Şekil 4.23. 14. gün grup 4 MT boyama mikrofotoğrafları	58
Şekil 4.24. 3. gün grup 5 MT boyama mikrofotoğrafları	59
Şekil 4.25. 14. gün grup 5 MT boyama mikrofotoğrafları	60
Şekil 4.26. IHC H-skoru.	63
Şekil 4.27. IHC boyamada negatif kontrol ve pozitif kontrol dokusu.....	63
Şekil 4.28. Grup 1'in 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	64
Şekil 4.29. Grup 1'in 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	65
Şekil 4.30. Grup 2'nin 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	66
Şekil 4.31. Grup 2'nin 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	67
Şekil 4.32. Grup 3'ün 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	68
Şekil 4.33. Grup 3'ün 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	69
Şekil 4.34. Grup 4'ün 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	70
Şekil 4.35. Grup 4'ün 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	71
Şekil 4.36. Grup 5'in 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	72
Şekil 4.37. Grup 5'in 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları	73
Şekil 4.38. NF- κ B sonuçları	74
Şekil 4.39. TNF- α sonuçları.....	75
Şekil 4.40. VEGF sonuçları	77
Şekil 4.41. IL-6 sonuçları.....	78
Şekil 4.42. MDA sonuçları.....	79
Şekil 4.43. SOD sonuçları.....	81

TABLOLAR

Tablo 2.1. <i>Arum dioscoridis</i> sınıflandırması	15
Tablo 3.1. Ekstraktsız hidrojel malzeme miktarları ve markaları.	19
Tablo 3.2. <i>Arum dioscoridis</i> ekstraktlı hidrojel malzeme miktar ve markaları.	19
Tablo 3.3. Deney hayvanlarında kullanılan maddeler.....	20
Tablo 3.4. İnsan sıçan derisi farkı.	20
Tablo 3.5. Doku takip protokolü.	26
Tablo 3.6. HE boyama protokolü.....	27
Tablo 3.7. HE parametreler ve kriterleri.	28
Tablo 3.8. MT kit içeriği.....	28
Tablo 3.9. Masson's Trichrome Kitinde uygulanan Protokol.	29
Tablo 3.10. IL-6 IHC boyama protokolü.	30
Tablo 3.11. IHC kit içeriği.....	31
Tablo 3.12. ELISA kit içerikleri.	32
Tablo 4.1. Kromatografi analizinde tespit edilen bileşikler.	33
Tablo 4.2. Grupların yara alanlarının günlere göre mm ² ve yüzde olarak değerleri...34	
Tablo 4.3. Yara alanı yüzdelerinin K-W testindeki istatistiki değerleri.	36
Tablo 4.4. HE boyama total puanlar.....	37
Tablo 4.5. 3. ve 14. gün HE boyama için K-W testinde bakılan değerler.	48
Tablo 4.6. MT total iyileşme skorları.....	49
Tablo 4.7. MT boyama 3. ve 14. gün K-W testi bütün parametreler.	61
Tablo 4.8. IHC H-skoru.....	62
Tablo 4.9. IL-6 IHC H-skoru K-W testi.	73
Tablo 4.10. NF-κB sonuçları.....	74
Tablo 4.11. 3. ve 14. gündeki NF-κB değerleri K-W testi.	75
Tablo 4.12. TNF-α sonuçları.	75
Tablo 4.13. 3. ve 14. gündeki TNF-α değerleri K-W testi.	76
Tablo 4.14. VEGF sonuçları.....	76
Tablo 4.15. 3. ve 14. gündeki VEGF değerleri K-W testi).	77
Tablo 4.16. IL-6 sonuçlar.	78

Tablo 4.17. 3. ve 14. gün IL-6 değerleri K-W testi.	79
Tablo 4.18. MDA sonuçları.	79
Tablo 4.19. 3. ve 14. gündeki MDA değerleri K-W testi.	80
Tablo 4.20. SOD sonuçları.	80
Tablo 4.21. 3. ve 14. gündeki SOD değerleri K-W testi.	81



1. GİRİŞ

Deri ve ekleri, vücuttaki en büyük organ olup toplam vücut ağırlığının %15-20'sini meydana getirir ve örtü (integumenter) sistemini oluşturur (1). Deri primer bariyer görevi görerek; vücudu kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlara karşı korur (2).

Yara; travmatik veya cerrahi sebeplerle dokunun anatomik bütünlüğünün ve fonksiyonunun bozulması olarak tanımlanırken, temel olarak akut ve kronik yara şeklinde ikiye ayrılır. Akut yaralar ise açık ve kapalı olmak üzere ikiye ayrılır (3).

Yara iyileşmesi; hasarlanan dokuyu etkili bir şekilde onarmak için birçok hücreyel olay tarafından sıkı şekilde düzenlenmesi ve desteklenmesi gereken, karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve remodelling olmak üzere 4 evredir (4). Hemostaz evresinde esas hücre plateletlerdir. Bu evrede temel olarak fibrin polimerizasyonu ve depolanması ile platelet (trombosit) degranülasyonu gerçekleştirilir. Enflamasyon evresinde esas hücreler nötrofillerdir ve temel olarak salgıladıkları proteolitik enzimlerle; ortamdaki nekrotik materyalin, yabancı cisim ve mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasını sağlarlar. Proliferasyon evresinde fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler ve endotel hücreleri görev alır. Temel olarak yara ağzının kapanması, anjiyogenez ve matriks birikimini gerçekleştirirler. Remodelling evresinde ise keratinositler, endotel hücreleri ve fibroblastların farklılaşmasıyla oluşan miyofibroblastlar görev alır. Temel olarak ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesi gerçekleştirilir (5-8).

Nükleer faktör- κ B (NF- κ B) transkripsiyon faktörü; enflamasyon, oksidatif stres, hücreyel farklılaşma, çoğalma, programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ve hücre adezyonu gibi pek çok süreçte görev alan genlerin ifadesini düzenler. NF- κ B aktivasyonu; enfeksiyon veya doku hasarı durumlarında, özellikle makrofajlar ve epitel hücreleri başta olmak üzere pek çok hücre tipinde gözlenir. Yara onarımı sürecinde NF- κ B aracılığıyla çeşitli sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri ve enzimler üretilerek fagositik ve enflamatuar hücrelerin hasarlı bölgelere yönelmesi sağlanır. Yara iyileşmesi sürecinde NF- κ B'nin hücre çoğalmasını destekleyici etkisi; reepitelizasyonun yanı sıra keratinositlerin çoğalması ve göçünü düzenler. Bu

transkripsiyon faktörü aynı zamanda keratinosit hareketliliğini artıran, epidermal onarım için gerekli sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasını ve stabilitesini etkileyen matriks metalloproteinazların (MMP) ekspresyonunu da kontrol altında tutar. Ayrıca NF- κ B; hücre çoğalması ile ilişkili genleri de kontrol ettiği için anti-apoptotik ve proliferatif etkileriyle tümör gelişimini ve metastaz sürecini kolaylaştırabilir (9-13).

Halk arasında 'tırşık' otu olarak bilinen *Arum dioscoridis* (AD), ülkemizde Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde yetişen ve daha çok çorba şeklinde tüketilen bir bitkidir. Bitki esas olarak karbonhidratlar, proteinler, serbest amino asitler ve askorbik asit içerir. Antioksidanlar olarak, özellikle katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri açısından yüksek aktiviteye sahiptir. Anadolu'da geleneksel olarak yara tedavisinde kullanılmıştır (14, 15).

Yara iyileşmesinde etiyoloji ne olursa olsun; zaman faktörü, yara bölgesinin hijyeni, yara kenarlarının yapısı, vücuttaki immün yanıt, vitamin ve mineral düzeyi vb. birçok faktör önem arz etmektedir. Günümüzde yara tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlara alternatif olabilecek, yaraları; en etkili, en hızlı ve en az yan etkiyle iyileştirecek ajanlara ihtiyaç vardır. Literatür taramasında *Arum dioscoridis* bitkisinin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmamızda amacımız; antienflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri bulunan AD bitkisinin; yara iyileşmesinin özellikle enflamatuar ve proliferatif fazı üzerindeki olası koruyucu ve iyileştirici etkilerini araştırmaktır. Bu etki NF- κ B yolu üzerinden; büyüme faktörleri (Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)), antienflamatuar (İnterlökin-6 (IL-6), tümör nekroz faktör- α (TNF- α)) ve biyokimyasal (SOD, malondialdehit (MDA)) parametreleri ile araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri ve Derinin Yapısı

Deri ve ekleri, örtü (integumenter) sistemini oluşturur. Vücuttaki en büyük organ olup toplam vücut ağırlığının % 15-20'sini meydana getirir. Epidermis ve dermis olmak üzere 2 temel tabakadan ve deri altı tabaka olan hipodermisten oluşur. Kıl folikülleri, kıllar, tırnaklar, ter bezleri, sebace bezleri ve meme bezleri deri eklerini meydana getirir (1, 3, 16).

Derinin birçok görevi vardır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlara karşı primer bariyer olma; antijen işleme; vücut sıcaklığı ve su kaybını düzenlemeyle homeostaza yardımcı olma; dış çevreden alınan duyuşsal bilgiyi sinir sistemine iletme; vitamin D3'ü dönüştürerek endokrin fonksiyon gösterme; ter, sebace ve apokrin bezlerle boşaltım fonksiyonu gösterme bu görevlerdendir (1, 3, 4, 16).

2.1.1. Epidermis

Epidermis; temelde keratinosit hücrelerden oluşan çok katlı keratinize yassı epitel yapısındadır (Şekil 2-1). Melanosit, Langerhans ve Merkel hücreleri gibi hücreleri az miktarda içerir. Deri; epidermis tabakasının kalınlığına göre kalın deri ve ince deri olmak üzere sınıflandırılır. Kalın deride; epidermis tabakası 5 alt, ince deride; 4 alt tabakadan oluşur (1, 3, 16).

1) Stratum Bazale: Sürekli bölünen, mitotik aktif kök hücrelerin bulunduğu tabakadır. Melanositler ve ürettikleri melanin bu tabakadadır.

2) Stratum Spinozum: Hücreden hücreye uzanan kısa, diken şeklinde uzantılarının ışık mikroskopik görüntüsünden dolayı bu adla adlandırılır. Aktif keratin sentezinin başladığı tabakadır. En kalın epidermis tabakasıdır.

3) Stratum Granülozum: İçerisindeki keratohyalin granüllerinden dolayı yoğun şekilde boyanma gösterir.

4) Stratum Lusidum: Kalın deride bulunurken ince deride bulunmaz. Stratum korneumun alt bölümü sayılır. Yassılaştırmış eozinofilik keratinositlerden oluşan, organellerini kaybetmiş yarı saydam tabakadır.

5) Stratum Korneum: Işığı çift kıran, keratinleşmiş, organel-siz hücre tabakasıdır (1, 3, 16) .

Keratinizasyon: Epiderminin en yüzey tabakasındaki hücrelerde sitokeratinlerin birikmesiyle oluşan keratinleşmeye, keratinizasyon denir. Bu keratinleşen hücreler iyice yassılaştırmaya ve ölmeye başlar. Keratinleşmeyle deriden su kaybı önlenmiş olur (16).

Epiderminin hücreleri:

Keratinositler: Epidermisteki esas hücre tipidir. Keratinleri üretirler. Üretilen keratinler hücre içinde birikmeye başladıktan sonra organeller kaybolmaya ve hücre membranı kalınlaşmaya başlar. Böylece primer bariyer olma görevini bu hücreler yerine getirirler (1, 3, 16).

Melanositler: Nöral krista kaynaklı olup, stratum bazalede yer alan, bazal hücrelerin arasına saçılı halde bulunan hücrelerdir. Uzun uzantılara sahiptirler. Melanin üretirler ve uzantılarıyla melanini keratinositlere dağıtırlar. Derinin ve kılların pigmentasyonunu sağlarlar (1, 3, 16).

Langerhans hücreleri: Epidermiste bulunan ve antijen sunan hücrelerdir (1, 3, 16).

Merkel hücreleri: Epitel ve nöral tip antijenik belirteçlere sahiptirler. Miyelinli afferent sinir liflerinin terminal bulbuslarıyla yakın ilişkide olup; parmak uçları, dudak gibi hassas bölgelerde sayıca fazladır (1, 3, 16).

2.1.2. Dermis

Dermis; epidermisle hipodermisi birbirine bağlar ve epidermisi destekler. Bağ dokusu yapısındadır. Epidermis dermis bağlantıları oldukça düzensizdir (Şekil 2-1). Bu düzensiz girinti çıkıntılara epidermal kabartı ve dermal papillalar adı verilir. Yüzeyde papiller, derinde retiküler olmak üzere 2 tabakadan meydana gelir (1, 3, 16).

Papiller tabaka: Gevşek bağ dokusu yapısında olan ve epidermisle bağlantı halindeki tabakadır. İnce kollajen fiberleri (özellikle tip I ve III) ve elastik fiberler içerir. Duyusal nöron sonlanmaları ve kan damarları da bulunur (1, 3, 16).

Retiküler tabaka: Papiller tabakaya göre daha kalın olan, tip I kollajen ve düzensiz kaba elastik fiberlerce zengin düzensiz sıkı bağ doku tabakasıdır (1, 3, 16).



Şekil 2-1. Epidermis ve dermis (17).

2.1.3. Hipodermis

Deriyi alttaki doku ve organlara bağlayan gevşek bağ dokusudur. Yüzeyel fasya da denir. Vücutta farklı kalınlıklardadır. Geniş vasküler yapılar içerir (1, 3, 16).

2.1.4. Deri Embriyolojisi

Embriyo gelişiminin 3. haftasında gastrulasyon fazı başlar ve temel germ tabakaları olan ektoderm, mezoderm ve endoderm gelişir. Nöral tüp oluşumuyla; yüzeyde kalan ektoderm, yüzey ektodermi şeklinde gelişir. Bu yüzey ektodermi; epiderminin ve deri eklerinin (ter, yağ, meme bezleri, kıl folikülleri ve tırnak) oluşumundan sorumludur. Melanositler; nöral krista hücrelerinin epidermise göç etmesiyle oluşur. Merkel hücrelerinin embriyolojik kökeni ise kesin değildir. Nöral krest kökenli olduğu veya epidermal keratinositlerin diferansiyasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (9, 18, 19).

2.2. Yara ve Çeşitleri

Yara; travmatik veya cerrahi sebeplerle dokunun anatomik bütünlüğünün ve fonksiyonunun bozulmasıdır. Yaralar temel olarak akut ve kronik yara şeklinde ikiye ayrılır (3, 20, 21).

2.2.1. Akut Yara

Yaralanmanın geçici bir sebebe bağlı olduğu ve genelde kısa bir sürede iyileşen yaralardır. Doku önceki anatomik bütünlüğüne ve fonksiyonuna defektif de olsa ulaşabilir (22). Açık ve kapalı olmak üzere 2'ye ayrılır.

Açık yara: Yaranın açıkta ve gözlenebilir olduğu yaradır. İnsizyon, laserasyon, abrazyon, penetrasyon yaraları, ateşli silah yaralanmaları, yanıklar açık yaralara örnek gösterilebilir (4, 22).

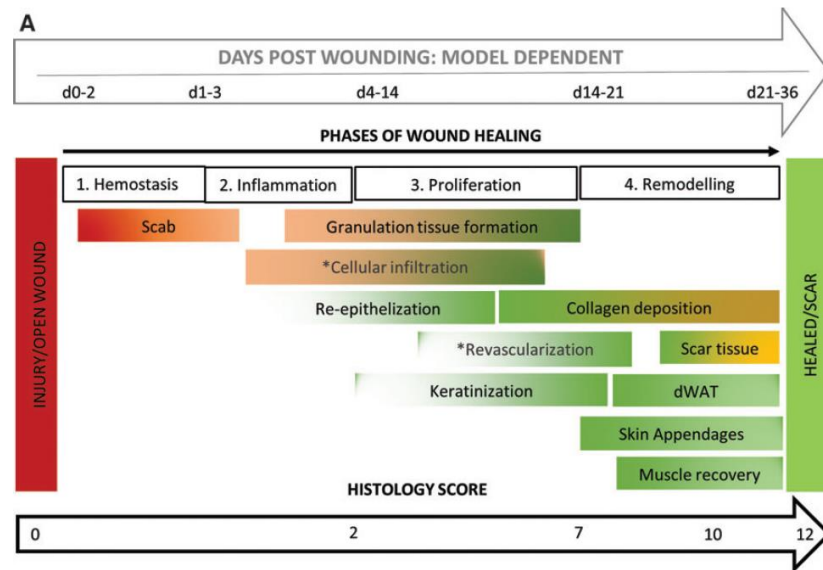
Kapalı yara: Dışarıdan bakıldığında boyutu ve derinliği net görülemeyen yaralardır. Kontüzyon, ekimoz ve hematoma gibi yaralar kapalı yaralara örnektir (4, 22).

2.2.2. Kronik Yara

Geç iyileşen, iyileşemeyen veya tekrarlayan yaralardır. Doku, önceki anatomik bütünlüğüne ve fonksiyonuna kavuşamaz (23, 24).

2.3. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi; hasarlanan dokuyu etkili bir şekilde onarmak için sıkı şekilde düzenlenmesi gereken, birçok hücresel olay tarafından desteklenen, karmaşık ve dinamik bir süreçtir (4). Hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve remodelling olmak üzere 4 evredir (25) (Şekil 2-2).



Şekil 2-2: Yara iyileşmesi evreleri ve süreleri (26) (d:day gün).

2.3.1. Hemostaz Evresi

Doku yaralandığında; hasarlanan damarlar 5-10 dk kadar kontrakte olur, geçici fibrin tıkaçı oluşturan koagülasyon sistemi aktive olur ve kanama durdurulur (5, 20, 22). Bu kısa süreli vazokonstriksiyondan sonra hiperemi ve ödeme neden olan vazodilatasyon gerçekleşir (5). Hemostaz evresinde temel olarak fibrin polimerizasyonu ve depolanması ile platelet (trombosit) degranülasyonu gerçekleşir (6). Hemostaz ve pıhtılaşma için esas hücre olan plateletler; yara oluştuğunda subendotelial matriksle karşılaştıklarında aktive olurlar. Yara bölgesine geldiklerinde ekstrasellüler matriks proteinlerinde bulunan integrin ve selektin reseptörlerine bağlanarak degranüle olurlar ve içlerinde prostoglandin, tromboksanlar, fibrinojen, fibronektin, Von Willebrand Faktör (vWF), serotonin, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü beta 1 (TGF- β 1) gibi faktörlerin de bulunduğu enflamatuvar hücreler için güçlü kemotaktik ve mitojenik özellik gösteren çok sayıda faktörün salınımını sağlarlar. Bu faktörler oluşan yaranın üzerini kapatan fibrin pıhtısı oluşumuna katkıda bulunurken, diğer yandan da yara iyileşmesinin diğer basamaklarını oluşturacak hücresel yanıtı düzenlerler. Bu evre genellikle ilk 24-48 saatte tamamlanır (4, 7, 8, 27, 28).

2.3.2. Enflamasyon Evresi

Erken enflamasyon ve geç enflamasyon evresi olmak üzere iki fazdan oluşur. Plateletlerce salınan kemotaktik faktörler ve vazodilatasyonla artan kan akımıyla birlikte bölgeye yoğun enflamatuvar hücre göçü olur. Erken fazda baskın olan hücre tipi nötrofillerdir. Yaralanma sonrası nötrofiller; tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin 1 (IL-1) ve bakteriyel endotoksinler (lipopolisakkarit (LPS) gibi) de dahil olmak üzere kemoatraktanlar tarafından yara yerine çekilir ve hasarlanan damarlardan geçerek yara yerine toplanırlar (29). Nötrofillerin yara bölgesindeki esas görevleri, salgıladıkları proteolitik enzimlerle; ortamdaki nekrotik materyalin, yabancı cisim ve mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasıdır. Bunun yanında farklı sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasına da katkıda bulunurlar. Eğer yara bölgesi patojenik bir bakteri ile infiltre olmamışsa ortamdaki nötrofil infiltrasyonu özellikle apoptozis yoluyla birkaç gün içerisinde azalır. Ancak yara yeri patojenik bir etkenle enfekte olmuşsa veya yara yerinde yabancı cisim varlığı devam ediyorsa nötrofil göçü de devam eder. Bu durum enflamatuvar fazın uzamasına, yara iyileşmesinin bozulmasına ve gecikmesine sebep olur (6, 8).

İnflamatuvar fazın geç döneminde yara yerindeki nötrofil sayısı azalırken, monosit ve makrofaj sayısı artar. Makrofajlar yara iyileşmesinin enflamatuvar fazında kilit rol oynayan hücrelerdir (30). Makrofajlar; LPS ve interferon-gama (IFN- γ) gibi pro-enflamatuvar uyarımlarla indüklenir. Böylece makrofajlar; enflamatuvar sitokinlerini (TNF- α , IL-1, IL-6 vb.) ve büyüme faktörlerini (VEGF, PDGF vb.) salgılayarak enflamasyonu uyarırlar (7, 31). Aynı zamanda lenfositlerle birlikte; kemotaktik faktörler, vazoaktif mediatörler, proteazlar, büyüme faktörleri gibi çok sayıda biyolojik aktif mediatörün salınımını da gerçekleştirirler. Böylece fibroblastların çoğalmasını, kollajen üretimini başlatırlar. Bu evre genellikle ilk 72 saatte tamamlanır (6, 8, 28, 30, 32).

2.3.3. Proliferasyon Evresi

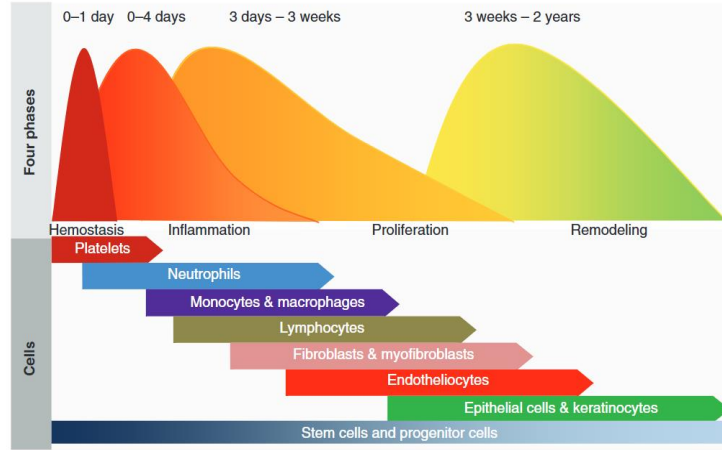
Fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler ve endotel hücreleri bu evrede görev alır. Yara ağzının kapanması, anjiyogenez ve matriks birikimi bu evrede olur (5, 7, 33). Yaralanmadan sonraki 3 ila 10 gün içinde başlayan bu süreç, birkaç gün ya da haftalar boyunca devam edebilir (5, 34). Bu evrede, çeşitli sitokinler, transforming growth factor- β ailesi (TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3) interlökinler ve damar oluşumunu destekleyen faktörler görev alır (34). Bu evredeki esas hücreler, fibroblastlar ve endotelial hücrelerdir. Hücrelerin çoğalmasıyla birlikte, yeterli kan akışını sağlamak amacıyla anjiyogenez eş zamanlı olarak başlatılır (34, 35). Yeni damarların gelişimi, lokal hipoksi, VEGF, PDGF, bazik-fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve trombin gibi faktörlerle tetiklenir (5). Damar oluşumu, anjiyogenez ve vaskülogenez şeklinde iki temel mekanizma ile gerçekleşir (35). Anjiyogenez, damar olmayan bir bölgeye komşu damar ağzından yeni damarların uzanmasıyla gerçekleşir (5, 35). Vaskülogenez ise olgun damar ağlarından bağımsız olarak kök hücrelerin yeni damarlar oluşturduğu bir süreçtir (35). Bu kök hücreler genellikle kemik iliğinde bulunan endotel progenitör hücreler (EPC) olarak tanımlanır. Yaralanma sonrası EPC'ler dolaşım sistemine geçiş yapar. Nitrik oksit (NO), VEGF ve MMP'ler EPC'lerin mobilizasyonunda etkilidir. Sonuç olarak; besin, gaz ve metabolit alışverişini sağlayan yeni bir damar ağı meydana gelir (5, 7, 33, 35). İnflamatuar sitokinler ve çeşitli büyüme faktörlerinin etkisiyle reepitelizasyon, yaralanmadan 1-2 gün sonra başlar. Saç köklerinde ve apokrin bezlerde kök hücreler bulunur (5, 25). Bu kök hücreler keratinositlere farklılaşır ve keratinositler birbirleriyle fiziksel temas sağlayana kadar yara kenarı boyunca göç etmeye başlar. Komşu keratinositler ile temasın sağlanması göçü sona erdirir ve reepitelizasyon tamamlanır (kontakt inhibisyon) (36). Proliferasyonun son aşaması, granülasyon dokusunun meydana gelmesidir. Fibroblastlar yara bölgesine doğru hareket eder ve burada çoğalmaya başlar. Ardından; kollajen tip III, glikozaminoglikanlar ve fibronektin içeren geçici bir matriks sentezlemeye başlarlar. Granülasyon dokusu şekillenmeye başlar. Granülasyon dokusu; fibroblastlar, granülositler, makrofajlar, kılcal damarlar ve gevşek yapılı kollajen liflerinden oluşur. Damar oluşumu henüz tamamlanmadığı için bu yeni dokunun rengi kırmızı ve damar

açısından zengindir. Bu evre genelde 2. veya 3. gün başlayıp 14 ila 21. günde tamamlanır (5, 25).

2.3.4. Remodelling Evresi

Bu evrede, ekstrasellüler matriks (ECM) yeniden şekillenir. En uzun evredir. 14-21. günden itibaren başlar ve bir yıla kadar sürebilir. İlk fibrin pıhtısının oluşmasıyla başlar, birkaç ay sonra oluşan olgun tip I kollajence zengin bir yara izinin oluşmasıyla sona erer (5, 7, 34, 37). Bu evrede, yeni dokuların sentezi ile mevcut yapıların yıkımı arasında dengeli bir süreç işler. Bu denge bozulduğunda ise kronik yara gelişimi kaçınılmaz hale gelir (34). Remodelasyon aşamasında granülasyon dokusunun üretimi sona erer ve yaranın olgunlaşma süreci başlar. ECM bileşenleri, daha dayanıklı ve düzenli bir ECM yapısı oluşturmak üzere çeşitli değişimlere uğrar (5, 25). Bu süreçte, zayıf yapılı kollajen tip III yerini daha sağlam olan kollajen tip I'e bırakır (5). Yaranın gerilme direnci zamanla artış gösterir (36). Kollajen üretimi en az dört ila beş hafta boyunca devam eder; ancak, bu kollajen hiçbir zaman sağlıklı dokulardaki kadar düzenli bir yapıya ulaşamaz (25). Kollajen sentezi sırasında hidroksilaz enzimleri, oksijen ve C vitaminine bağımlıdır. Bu nedenle hipoksi ya da C vitamini yetersizliği, yaranın gerilme gücünü olumsuz etkileyebilir (36, 38). Bu aşamada önceki fazlardan kalan hücreler apoptoz yoluyla ortadan kaldırılır. Aynı zamanda yara kontraksiyonu başlar. TGF- β 1, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşmesini tetikler. Miyofibroblastlar; kollajen tip I, tip VI ve tip XVIII'in yanı sıra glikoproteinler ve proteoglikanlar gibi temel ECM proteinlerini sentezlerken, kontraksiyon sürecine de aktif olarak katılırlar (5, 25, 39). Yapısal olarak düz kas hücrelerine benzeyen miyofibroblastlar, yara kenarlarının birbirine yaklaşmasını ve yaranın kapanmasını mümkün kılar (20). Yara tamamen epitelize olduktan sonra miyofibroblastlar apoptoz geçirir. Ancak bu hücrelerin kalıcı ya da aşırı aktivitesi, fibrozis ve skar oluşumuna neden olabilir (39). Son aşamada anjiyogeneze sona erer ve kan akışı azalır. Yara bölgesindeki metabolik aktivite durur. Bu süreçler, hasarlı dokunun tamamen kapanmasını ve yaranın mekanik dayanıklılığının yeniden yapılandırılmasını sağlar (5). Deri yaralarında gerilme kuvveti hiçbir zaman sağlıklı derinin direncine ulaşamaz; üç ay sonrasında bile bu kuvvet, yaklaşık %80 düzeyindedir. Aynı şekilde, saç kökleri ve

ter bezleri gibi deri ekleri de ciddi yaralanmalardan sonra yeniden oluşmaz. Bu evre genellikle 2. veya 3. haftada başlar tamamlanması 1 yılı bulabilir (25, 40). Yara iyileşmesinin evreleri ve günlere göre hücre aktivasyonu aşağıda gösterilmiştir (Şekil 2-3).

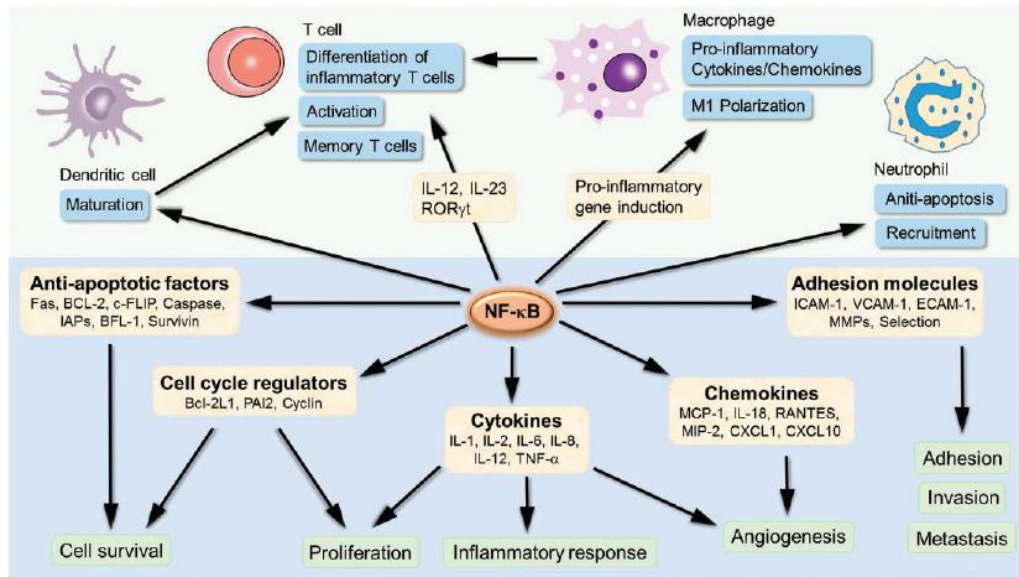


Şekil 2-3. Yara iyileşmesinin evreleri ve günlere göre hücre aktivasyonu (41).

2.4. Yara İyileşmesi ve Nükleer Faktör- κ B (NF- κ B)

Nükleer faktör- κ B (NF- κ B) transkripsiyon faktörü; enflamasyon, oksidatif stres, hücrel farklılaşma, çoğalma, programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ve hücre adezyonu gibi süreçlerde görev alan genlerin ifadesini düzenler. Normalde sitoplazmada bulunan NF- κ B proteinleri, stres kaynaklı uyarılarla aktive olana dek inhibitör κ B (I κ B) proteinlerine bağlı şekilde pasif halde bulunur. I κ B'nin bozulmasıyla NF- κ B çekirdeğe taşınır ve burada aktif hale gelerek gen ekspresyonunu başlatır. Yara onarımı sürecinde NF- κ B aracılığıyla çeşitli sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri ve enzimlerin üretimi gerçekleşir (7, 42, 43). Memelilerde NF- κ B ailesi; NF- κ B1 (p105/p50), NF- κ B2 (p100/p52), RelA (p65), RelB ve c-Rel olmak üzere beş alt birimden oluşur. NF- κ B aracılığıyla üretilen bu faktörler arasında interlökin-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8, vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM1), hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM1), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), süperoksit dismutaz (SOD) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi moleküller yer alır ve bunlar patojenlere karşı erken savunma yanıtında kritik rol oynar. Bu nedenle NF- κ B aktivasyonu enfeksiyon veya doku hasarı durumlarında, özellikle makrofajlar ve epitel hücreleri başta olmak

üzere pek çok hücre tipinde gözlenir. Ardından, bu faktör fagositik ve enflamatuar hücrelerin hasarlı bölgelere yönelmesini sağlar (44-46). NF- κ B'nin düzenlenmesindeki bozukluklar; romatoid artrit, psoriasis, diyabet, damar komplikasyonları, enflamatuar bağırsak hastalıkları, vasküler enflamasyon ve kardiyovasküler hipertrofi gibi kronik hastalıkların gelişimine yol açabilir (7). Ayrıca NF- κ B; hücre çoğalması (örneğin granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF)), hücresel dönüşüm ve hayatta kalma (Bcl-xL, Bcl-2) ile ilişkili genleri de kontrol ettiği için anti-apoptotik ve proliferatif etkileriyle tümör gelişimini ve metastaz sürecini kolaylaştırabilir (13). Yara iyileşmesi sürecinde NF- κ B'nin hücre çoğalmasını destekleyici etkisi; reepitelizasyonun yanı sıra keratinositlerin çoğalması ve göçünü düzenler. Bu transkripsiyon faktörü aynı zamanda keratinosit hareketliliğini artıran, epidermal onarım için gerekli sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasını ve stabilitesini etkileyen matriks MMP ekspresyonunu da kontrol altında tutar (9-12) (Şekil 2-4).



Şekil 2-4. NF- κ B ve enflamasyon ilişkisi (47).

2.5. Yara İyileşmesi ve İnterlökin-6 (IL-6)

İyileşmenin proliferasyon evresi özellikle interlökin-6 (IL-6) tarafından karmaşık bir şekilde düzenlenir (48). IL-6; nötrofiller, makrofajlar, mast hücreleri ve T lenfositleri tarafından sentezlenir. Benzer şekilde, TGF- β ailesinin üyeleri immün

sistem hücreleri tarafından yaygın olarak üretilir ve yara ve çevresindeki çeşitli hücreleri etkiler. Ayrıca bu sitokinler; lokal fibroblastları, keratinositleri ve endotel hücrelerini etkileyebilir. Bu sitokinler ayrıca sistemik dolaşıma girebilir, bu da onları yara iyileşmesini takip edebilmek için ölçülebilir belirteçler haline getirir (49).

2.6. Yara İyileşmesi ve Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)

Hem insan yaralarında hem de hayvan yara modellerinde yaralanmadan kısa süre sonra seviyeleri yükselen proenflamatuar sitokinler arasında IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12 ve TNF- α bulunur. Bu sitokin ve kemokinler; enflamasyonu, anjiyogenezi, lökositlerin toplanmasını, kök hücrelerin toplanmasını ve epitelizasyonu teşvik edici rolleri vardır (50, 51). TNF- α 'nın uzun süreli ekspresyonu, iyileşmenin bozulmasına neden olur (52).

2.7. Yara İyileşmesi ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktör (VEGF)

Fibroblastlar, bağ dokusunun ana hücreleridir. Yara iyileşmesinin proliferasyon ve remodelling aşamalarında önemli roller oynarlar. Bu hücreler çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri ve kollajen salgılayabilirler. VEGF; anjiyogenez, kollajen birikimi ve epitelizasyon gibi yara iyileşmesindeki gerçekleşen olayları indükler ve fibroblastların göç sürecinde önemli bir rol oynar (53).

2.8. Yara İyileşmesi ve Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), fizyolojik bir metabolittir ve oksidatif stres için iyi bir belirteçtir (54). Çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu sonucu oluşur (55). Yara iyileşmesinde; oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu seviyelerini belirlemek için kullanılabilir (56). Keratokonus, büllöz keratopati, osteoartrit gibi hastalıklarda seviyesi artmıştır (57, 58).

2.9. Yara İyileşmesi ve Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzimleri, organizmayı serbest oksijen radikallerinden korur (59). SOD; otoimmün, kardiyovasküler, serebrovasküler

hastalıklara sebep olan serbest radikallerin oluşturduğu enflamasyonu etkili bir şekilde tedavi edebilmektedir (60).

2.10. Yara İyileşmesi Çeşitleri

Primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere 3 yara iyileşmesi türü vardır (61).

2.10.1. Primer Yara İyileşmesi

Doku kaybı minimum düzeyde olduğu yara iyileşmesi türüdür. Cerrahi sutureler veya bantlarla yakınlaştırılan dokuların iyileşmesi bu iyileşme türüne örnek gösterilebilir. Bu tür yaralar temiz, düzgün ve ince bir yara izi ile iyileşir (61, 62).

2.10.2. Sekonder Yara İyileşmesi

İnflamasyon yanıtının, granülasyon doku formasyonunun ve yara kontraksiyonunun primer yara iyileşmesine göre daha fazla olduğu yara iyileşme türüdür. Genelde kötü bir skarla iyileşir (61, 62).

2.10.3. Tersiyer Yara İyileşmesi

Gecikmiş primer iyileşmedir. Yara iyileşmesinin kasıtlı olarak kesintiye uğratıldığı yara iyileşme türüdür (61, 62).

2.11. *Arum dioscoridis*

Arum cinsi, *Aracea* (yılanyastığıgiller) familyasına aittir yaklaşık 28 türü kapsamaktadır (Tablo 2-1). *Arum* türleri tarih boyunca insanlar tarafından çeşitli amaçlarla (gıda olarak, tıp alanında, hatta büyü pratiklerinde) kullanılmıştır (63). *Arum dioscoridis*, *Arum* cinsi içinde özel bir yere sahiptir. *Arum dioscoridis*, Türkiye'de ve Akdeniz ülkelerinde geleneksel kullanım şekillerine sahiptir (Şekil 2-5). Geleneksel tıpta da yaygın olarak kullanılmıştır (15).

Tablo 2-1. *Arum dioscoridis* sınıflandırması (64).

Alem	<i>Plantae/</i> Bitkiler Alemi
Şube	<i>Magnoliophyta/</i> Damarlı tohumlu bitkiler
Sınıf	<i>Liliopsida/</i> Bir çenekliler
Takım	<i>Alismatales/</i> Kurbağakaşıgiller
Familya	<i>Araceae/</i> Yılanyastığıgiller
Cins	<i>Arum/</i> Yılanyastığı
Tür	<i>Arum dioscoridis/</i> Tirşikpancarı

Bitkinin tıbbi kullanımına antik çağlarda da rastlanılır. Ünlü farmakolog Dioscoridis, *Arum* türlerinin; böbrek taşı, öksürük, boğaz ağrısı, ülserler ve cilt hastalıkları gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığını kaydetmiştir (65).

**Şekil 2-5 .** *Arum dioscoridis* bitkisi (66).

Arum dioscoridis, Türkiye'nin farklı bölgelerinde çeşitli yerel isimlerle adlandırılmakta ve çok sayıda rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır. Halk arasında; tirşik otu, elkabardan, danaayağı, yılanbıçağı, basur otu, domuz marulu,

livik, nevik ve nivik gibi isimlerle bilinir (14, 15, 65). Geleneksel olarak halk arasında; astım, bronşit, mesane ve idrar yolu hastalıkları, sıtma, kulak ağrıları ve çeşitli deri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir (65). Bitki tazeyken kalsiyum oksalat kristalleri içerdiğinden toksiktir. Bu yüzden bitki uzun süre kaynatıldıktan sonra tirşik adı verilen yemek olarak tüketilir (14, 15, 65).



3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Birimi tarafından TF.UT.2448 proje numarası ile desteklenmiştir.

Bu çalışmamız için 401 protokol no ile Gaziantep Üniversitesi Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'na başvurulmuştur. 26.09.2024 tarihli toplantıda 2024/52 karar no ile etik onayı alınmıştır.

3.1. *Arum dioscoridis*

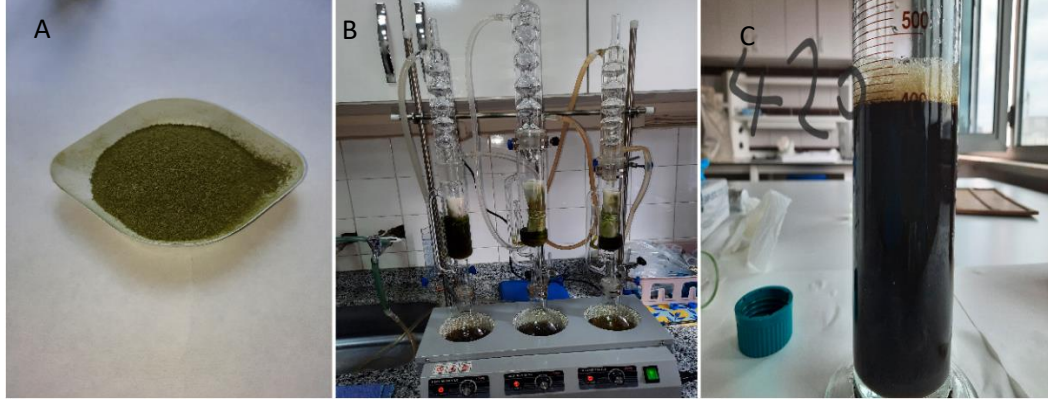
Arum dioscoridis bitkisi çalışmamız için toplanıp cins tayini yapılmış, ekstraksiyonu yapılarak elde edilen özütün antioksidan aktivitesi değerlendirilerek sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) analizinden sonra hidrojel şeklinde üretilip yara oluşturulan sıçanlara uygulanmıştır.

3.1.1. Bitki Toplanması ve Tayini

Çalışmada kullanılan *Arum dioscoridis* bitkileri, Adana İli Sarıçam İlçesi Kızılkış Köyü yakınlarından toplanmıştır. Bitki örneklerinin tür tayini, Anadolu Üniversitesi, Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (AÜBİBAM)'nde yapılmıştır.

3.1.2. Bitki Ekstraksiyonu

Bitki ekstraksiyonu Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır. Bitki yaprakları mekanik öğütücüyle parçalanıp toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitki örnekleri kartuşların içine dolduruldu. Hidrodistilasyon yöntemi ile % 70 derişimdeki metanol (Supelco®) ile soxhlet cihazı (SCI FINETECH®) kullanılarak bitki özütü çıkarıldı (67). Rotary Evaporatör (Heidolph Laborota 4000) ile elde edilen özütteki metanol uçuruldu. Konsantre haline getirilen özüt hidrojel yapımı için +4 °C'de saklandı (Şekil 3-1).



Şekil 3-1. A) Toz haline getirilen yapraklar B) Soxhlet cihazında özüt çıkarma C) Özüt.

3.1.3. Bitki Özütünün in vitro Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Bitki özütünün antioksidan aktivitesi DPPH radikali giderici aktivite tayini ile belirlendi (68). Bunun için özütün beş farklı konsantrasyonu için deney üç tekrarlı olarak yapıldı. Bir serbest radikal olan DPPH'nin %50'sini inhibe eden konsantrasyon değeri olan IC_{50} konsantrasyon değeri, “% DPPH inhibisyon-özüt konsantrasyonu” grafiğinden elde edilen doğruya göre hesaplandı.

3.1.4. Bitki Özütünün Toplam Fenolik Madde İçeriği ve LC-MS/MS Analizi

Bitki özütünün içerdiği toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik olarak Folin–Ciocalteu yöntemine göre belirlendi (Singh vd., 2002). Bitki özütünün içerdiği toplam fenolik madde miktarının tespiti için öncelikle bir fenolik madde olan gallik asitin beş farklı konsantrasyonu için deney üç tekrarlı yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre çizilen “Gallik asit konsantrasyonu- Absorbans” kalibrasyon eğrisi kullanılarak özüt içeriğindeki toplam fenolik madde miktarı “Gallik asit eşdeğeri (GAE)/mg özüt” olarak ifade edildi.

Ekstrakte edilen bitki özütü Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya ABD’de görevli Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ tarafından analiz edildi. Analizde 56 farklı fenolik fitokimyasalın hassas miktar tayini için Shimadzu UHPLC-MS/MS (LCMS-8040) sistemi kullanılmıştır.

3.1.5. Ekstraktsız Hidrojel Yapımı

200 ml hidrojel için; 80 °C 120 ml distile suda 4 gr carbopol azar azar eklenerek, vorteks karıştırıcıda (ISOLAB®) mıknatıslı balık ile ısıtma ayarı açıkken dakikada 1500

devirde, 30-40 dk boyunca çözdürüldü. Sonra 11,56 ml propylene glycol eklenip karıştırıldı. Daha sonra 5,46 ml triethylamine eklenip karıştırıldı. Son olarak da toplam hacim 200 ml olacak kadar distile su eklenip karıştırılıp hidrojel yapımı tamamlandı (69-71) (Tablo 3-1).

Tablo 3-1. Ekstraksız hidrojel malzeme miktarları ve markaları.

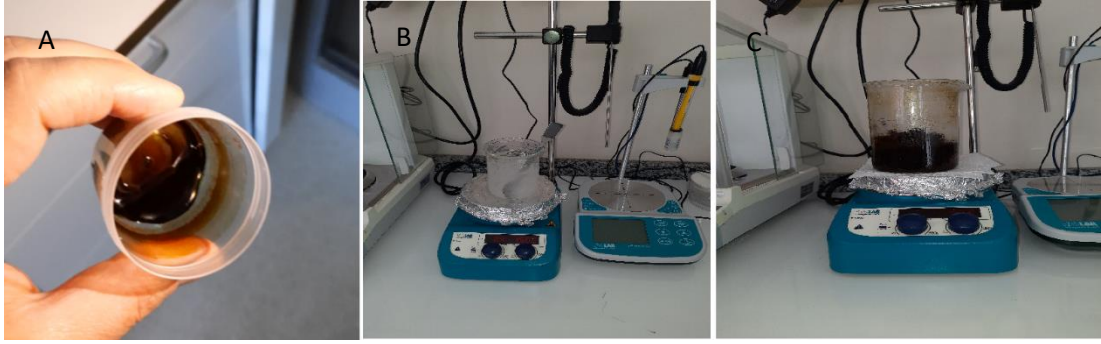
Malzemeler ve Miktarları
Carbopol 4 gr (Kimyalab® Acrypol 940)
Propylene glycol 11,56 ml (MERCK)
Triethylamine 5,46 ml (MERCK)
Distile su 200 ml'ye tamamlayacak kadar

3.1.6. *Arum dioscoridis* Ekstraktlı Hidrojel Yapımı

200 ml hidrojel için; 80 °C 120 ml distile suda 4 gr carbopol azar azar eklenerek, vorteks karıştırıcıda mıknatıslı balık ile ısıtma ayarı açıkken dakikada 1500 devirde, 30-40 dk boyunca çözdürüldü. 10 gr *Arum dioscoridis* özütüne 11,56 ml propylene glycol eklenip çözüldü. Sonra propylene glycol-özüt karışımı carbopol distile su karışımına eklenip karıştırıldı. Daha sonra 5,46 ml triethylamine eklenip karıştırıldı. Son olarak da toplam hacim 200 ml olacak kadar distile su eklenip karıştırıldı. % 5 oranında (50mg/gr) *Arum dioscoridis* özütlü hidrojel yapımı tamamlandı (69-71). Hidrojel pH'ı 6,45 ölçüldü (Tablo 3-2) (Şekil 3-2).

Tablo 3-2. *Arum dioscoridis* ekstraktlı hidrojel malzeme miktar ve markaları.

Malzemeler ve Miktarları
Carbopol 4 gr (Kimyalab® Acrypol 940)
Propylene glycol 11,56 ml (MERCK)
Triethylamine 5,46 ml (MERCK)
<i>Arum dioscoridis</i> özütü 10 gr
Distile su 200 ml'ye tamamlayacak kadar



Şekil 3-2. A) Özüt son hal, B) Özütsüz hidrojel, C) Özütlü hidrojel.

3.2. Deney Hayvanları

Kullanılan sıçanlar Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmada ortalama ağırlıkları 275-450 gr olan 12-14 haftalık 40 adet erkek Sprague-Dawley albino türü sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 22-24 °C oda ısısında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde tutuldular ve standart laboratuvar yemi ve suya serbest erişimle beslendiler. Deney gruplarında kullanılan maddeler ile, sıçan ve insan derisi arasındaki fark aşağıda gösterilmiştir (Tablo 3-3) (Tablo 3-4).

Tablo 3-3. Deney hayvanlarında kullanılan maddeler.

Kullanılan maddeler:
Ekstraktsız Hidrojel
<i>Arum dioscoridis</i> Ekstraktlı Hidrojel
Fito 50 mg/gr krem® (72)

Tablo 3-4. İnsan sıçan derisi farkı (73).

Özellik	Sıçan	İnsan
Epidermis	+	+
Bazal Membran	+	+
Dermis	+	+
Panniculus Carnosus	+	-
Apokrin gland	-	+
Ekrin gland	-	+

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Her grupta 8 sıçan olacak şekilde hayvanlar 5 gruba ayrıldı. Gruplar 1'den 5 kadar isimlendirildi. Her grup da kendi içerisinde 3. gün sakrifiye edilecek sıçanlar A grubu, 14. gün sakrifiye edilecek sıçanlar B grubu olacak şekilde isimlendirildi. Grup 1 hariç sıçanların sırtlarına punch biyopsi ile 10 mm çapında deri tam kat çıkarılarak yara yeri modeli oluşturuldu. A gruplarındaki 4'er sıçan deneyin 3. gününde, geriye kalan B gruplarındaki 4'er sıçan da deneyin 14. gününde sakrifiye edildi. Biyopsi sonrası her sıçan, kanibalizmi önlemek için ayrı kafeslere alınıp deney sonuna kadar izole edildi (74-80).

Grup 1 (Kontrol grubu): Deney süresince ad libitum beslendi. Deneyin 0. gününde önce ağırlıkları ölçüldü. Ketamin HCl (Ketalar®) 75 mg/kg/intraperitoneal (ip) + ksilazin HCl (Rompun®) 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandı. Sıçanların gözlerine kurumayı engellemek için terramycin® göz merhemi uygulandı. Sırtları tıraş makinesiyle tıraş edildi. Povidone iodine (Batiqon®) ile tıraş edilen bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Fotoğraflamaları yapıldı. Sıvı kaybını önlemek ve ağrı yönetimi için 10 ml/kg serum fizyolojik (SF) + 1 ml/kg parasetamol (parol® iv) subkütan uygulandı. Bu gruba biyopsi ve jel uygulanmadı. Yara yeri fotoğraflamaları ve yara çapı ölçümleri; 4 sıçan için 0. ve 3. günde yapılırken, kalan 4 sıçan için 0., 3., 7. ve 14. günde yapıldı (Şekil 3-3).

Grup 2 (Yara Grubu): Deney süresince ad libitum beslendi. Deneyin 0. gününde önce ağırlıkları ölçüldü. Ketamin HCl 75 mg/kg/ip + ksilazin HCl 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandı. Sıçanların gözlerine kurumayı engellemek için terramycin® göz merhemi uygulandı. Sırtları tıraş makinesiyle tıraş edildi. Povidone iodine ile tıraş edilen bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Punch biyopsi materyali (10 mm) ile deri tam kat çıkarıldı. Yara çapı ölçümleri ve fotoğraflamaları yapıldı. Sıvı kaybını önlemek ve ağrı yönetimi için 10 ml/kg serum fizyolojik + 1 ml/kg parasetamol subkütan uygulandı. Bu gruba biyopsi yapılırken yara yerine jel uygulanmadı. Yara yeri fotoğraflamaları ve yara çapı ölçümleri; 4 sıçan için 0. ve 3. günde yapılırken, kalan 4 sıçan için 0., 3., 7. ve 14. günde yapıldı (Şekil 3-3).

Grup 3 (Yara+Ekstraktsız Hidrojel Grubu) (Kontrol jel grubu): Deney süresince ad libitum beslendi. Deneyin 0. gününde önce ağırlıkları ölçüldü. Ketamin HCl 75 mg/kg/ip + ksilazin HCl 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandı. Sıçanların gözlerine kurumayı engellemek için terramycin göz merhemi uygulandı. Sırtları tıraş makinesiyle tıraş edildi. Povidone iodine ile tıraş edilen bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Punch biyopsi materyali (10 mm) ile deri tam kat çıkarıldı. Önceden hazırlanan ekstraktsız hidrojel yara yerine uygulandı. Yara çapı ölçümleri ve fotoğraflamaları yapıldı. Sıvı kaybını önlemek ve ağrı yönetimi için 10 ml/kg serum fizyolojik + 1 ml/kg parasetamol subkütan uygulandı. Hidrojel uygulaması sakrifikasyona kadar günde 2 defa yapıldı. Yara yeri fotoğraflamaları ve yara çapı ölçümleri; 4 sıçan için 0. ve 3. günde yapılırken, kalan 4 sıçan için 0., 3., 7. ve 14. günde yapıldı (Şekil 3-3).

Grup 4 (Yara+Arum *dioscoridis* Ekstraktlı Hidrojel Grubu) (AD jel grubu): Deney süresince ad libitum beslendi. Deneyin 0. gününde önce ağırlıkları ölçüldü. Ketamin HCl 75 mg/kg/ip + ksilazin HCl 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandı. Sıçanların gözlerine kurumayı engellemek için terramycin göz merhemi uygulandı. Sırtları tıraş makinesiyle tıraş edildi. Povidone iodine ile tıraş edilen bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Punch biyopsi materyali (10 mm) ile deri tam kat çıkarıldı. Önceden hazırlanan *Arum dioscoridis* ekstraktlı hidrojel yara yerine uygulandı. Yara çapı ölçümleri ve fotoğraflamaları yapıldı. Sıvı kaybını önlemek ve ağrı yönetimi için 10 ml/kg serum fizyolojik + 1 ml/kg parasetamol subkütan uygulandı. *Arum dioscoridis* ekstraktlı hidrojel uygulaması sakrifikasyona kadar günde 2 defa yapıldı. Yara yeri fotoğraflamaları ve yara çapı ölçümleri; 4 sıçan için 0. ve 3. günde yapılırken, kalan 4 sıçan için 0., 3., 7. ve 14. günde yapıldı (Şekil 3-3).

Grup 5 (Yara+Fitokrem® Grubu) (Fitokrem grubu): Deney süresince ad libitum beslendi. Deneyin 0. gününde önce ağırlıkları ölçüldü. Ketamin HCl 75 mg/kg/ip + ksilazin HCl 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandı. Sıçanların gözlerine kurumayı engellemek için terramycin göz merhemi uygulandı. Sırtları tıraş makinesiyle tıraş edildi. Povidone iodine ile tıraş edilen bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Punch biyopsi materyali (10 mm) ile deri tam kat çıkarıldı. Piyasada bulunan ve yara

tedavisinde kullanılan fitokrem merhem (72) önceden temin edildi ve yara yerine uygulandı. Yara çapı ölçümleri ve fotoğraflamaları yapıldı. Sıvı kaybını önlemek ve ağrı yönetimi için 10 ml/kg serum fizyolojik + 1 ml/kg parasetamol subkütan uygulandı. Fitokrem merhem uygulaması sakrifikasyona kadar günde 2 defa yapıldı. Yara yeri fotoğraflamaları ve yara çapı ölçümleri; 4 sıçan için 0. ve 3. günde yapılırken, kalan 4 sıçan için 0., 3., 7. ve 14. günde yapıldı (Şekil 3-3).



Şekil 3-3. A) Tıraşlama, B) Dezenfeksiyon, C) Göz merhemi uygulama.

3.2.2. Yara Yeri Oluşturma

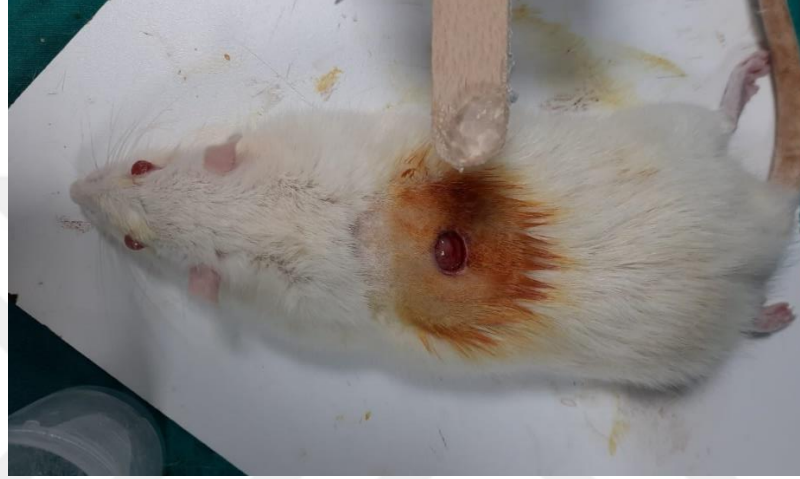
Deneyin 0. gününde sıçanlara ketamin HCL (Ketalar®) 75 mg/kg/ip + ksilazin HCL (Rompun®) 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandıktan sonra sıçanların sırtları tıraş makinesi ile tıraş edildi. Tıraş edilen bölge povidone iodine (Batiqon®) ile dezenfekte edildi. Cerrahi eldivenler giyilerek 1 cm çapında daire cerrahi kalemle çizildi. Çizilen bölgedeki deri; biyopsi materyali (10 mm), cerrahi makas ve bistüri ile tam kat olacak şekilde çıkarıldı. Kanama steril spançlarla durdurulduktan sonra hidrojel ve krem uygulanacak gruplara uygulama yapıldı (74-80) (Şekil 3-4).



Şekil 3-4. A) İşaretleme, B) Tam kat deri çıkarma, C) Subkütan SF+parol uygulaması, D) Yara son hal.

3.2.3. Hidrojel Uygulaması

3, 4 ve 5. gruptaki sıçanların yarısına 3 gün, kalan yarısına 14 gün boyunca sabah (08.00) ve akşam (17.00) olmak üzere günde 2 kere hidrojel ve merhem uygulandı. 3. gruba ekstraksız hidrojel, 4. gruba *Arum dioscoridis* ekstraktlı hidrojel ve 5. gruba fitokrem; abeslang ile yara yerinin tamamını örtecek şekilde 1-2 mm kalınlıkta uygulandı (Şekil 3-5).



Şekil 3-5. Hidrojel uygulaması.

3.2.4. Yara Yeri Takibi ve Fotoğraflamalar

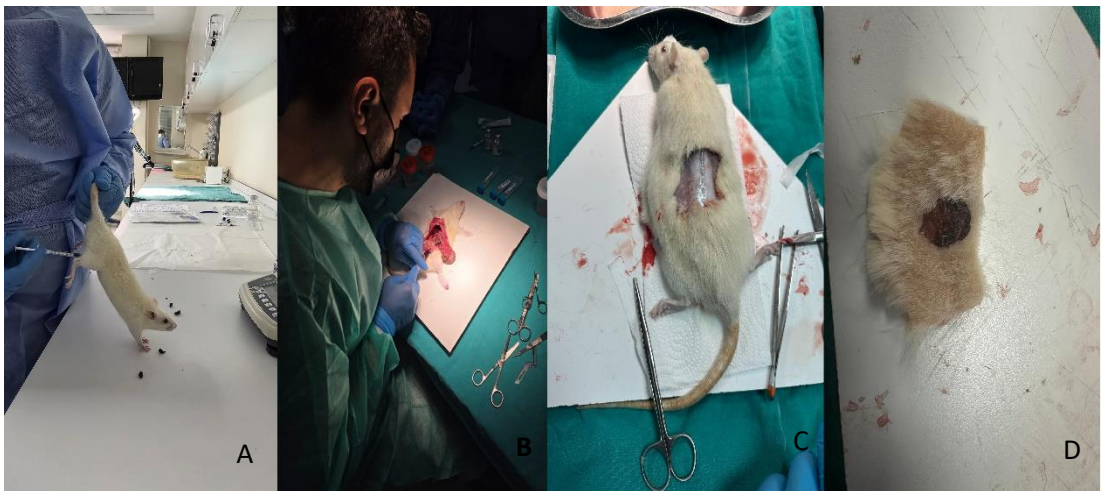
Tüm gruptaki sıçanların yarısına (A gruplarına) 0. ve 3. günde yara yeri fotoğraflaması ve yara yeri ölçümü yapıldı. Tüm gruptaki sıçanların kalan yarısına ise (B gruplarına) 0., 3., 7. ve 14. günlerde yara yeri fotoğraflaması ve yara yeri alanı ölçümü yapıldı. Zemine yeşil örtü serildi. Fotoğraflamalar; yeşil örtüden 30 cm yükseklikte sabit bir platformdan yapıldı. Yara yeri fotoğrafları ayrıntılı alan hesabı için ImageJ görüntü analiz programı kullanılarak 0, 3, 7. 14. günler için ayrı ayrı yapıldı (Şekil 3-6).



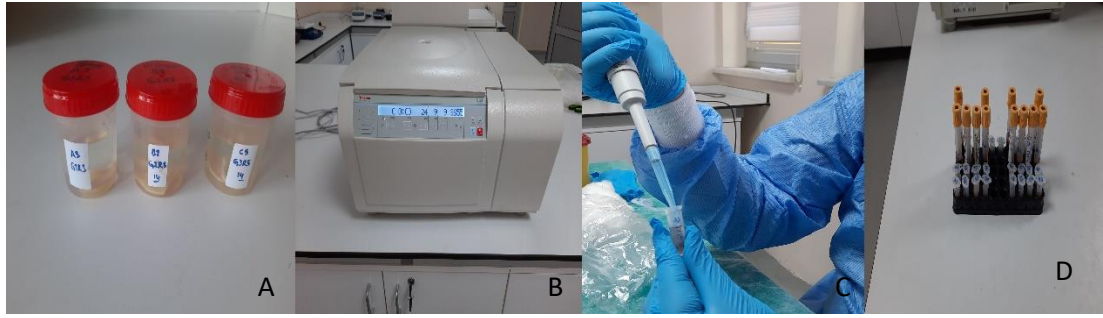
Şekil 3-6. A) Ağırlık ölçümü, B ve C) Fotoğraflama düzeneği.

3.2.5. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması

Her gruptan; 3. günde ve 14. günde 4'er sıçan ketamin HCL (Ketalar®) 75 mg/kg/ip + ksilazin HCL (Rompun®) 10 mg/kg/ip ile anestezi uygulandıktan sonra kalpten 5 ml kan alınıp sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon sonrası; yara bölgesi, etrafında 0,5 cm'lik sağlıklı deriyle beraber tam kat olarak alınmıştır. Deri, boyamalar için %10'luk tamponlanmış formaldehit (ISOLAB®) içinde fikse edilmiştir. Alınan kanlar önce oda sıcaklığında pıhtılaşması için sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine (VACUETTE®) alınıp 30 dk bekletilmiştir. Sonra biyokimya ve ELISA testleri için 5000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj cihazında (Thermo SCIENTIFIC®) santrifüje edilip serum kısmı eppendorf tüplerine alınıp -80 °C'de saklanmıştır. Testlerin yapılacağı zaman ise çıkarılıp kullanılmıştır (Şekil 3-7) (Şekil 3-8).



Şekil 3-7. Anestezi (A), kan alma (B), deri çıkarma (C ve D).



Şekil 3-8. Formaldehite koyma (A), santrifüjleme (B), eppendorf tüplerine alma (C ve D).

3.3. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması

Işık mikroskobu çalışmalarının yapılacağı zamana kadar alınan deri örnekleri %10'luk formaldehit (ISOLAB®) çözeltisi içinde fikse edildi. Fikse olup sertleşen deri dokuları, yara yeri bölgesini 2 eş parçaya ayıracak şekilde kesilip, üzerleri önceden kodlanmış kasetlerin içerisine alındı. Doku takibi manuel olarak yapıldı. Takibi yapılan dokular parafin bloklara gömüldü (Tablo 3-5).

Tablo 3-5. Doku takip protokolü.

Kullanılan Malzeme ve Süreleri	
Akar Çeşme Suyu	1 gece
%60 Alkol	1 saat
%70 Alkol	1 saat
%80 Alkol	1 saat
%96 Alkol	1 saat
%100 Alkol	1 saat
Ksilen I	1 saat
Ksilen II	1 saat
Parafin I	1 saat
Parafin II	1 saat
Gömme	

3.4. Histolojik Boyamalar

Alınan doku örnekleri parafin bloğa gömüldükten ve kesit alındıktan sonra Hematoksilen Eozin (HE), Masson's Trikrom (MT) ve immünohistokimyasal (IHC) olarak boyandı. Görüntüler mikroskopta (Leica MD750, Olympus Dp26-CU) fotoğraflandıktan sonra analiz için ImageJ görüntü analiz programı kullanılarak skorlamaları yapıldı.

3.4.1. Hematoksilen Eozin (HE) Boyama ve Skorlama

Parafin bloklardan, mikrotomda (Leica RM 2245) 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler 1 gece etüvde 60 °C'de bekletildikten sonra Hematoksilen Eozin (HE) (HistoPlus®) ile boyandı (Tablo 3-6). Işık Mikroskobu (Olympus Dp26-CU, Leica MD 750) ile histopatolojik olarak değerlendirildi. Değerlendirme; epidermal kalınlık indeksi (ETI), reepitelizasyon, keratinizasyon, granülasyon, remodelling ve skar elevasyon indeksi (SEI) olmak üzere 6 parametre üzerinden yapıldı. Her parametre; 0-1-2 puan olacak şekilde, toplam 12 üzerinden puanlandı (26) (Tablo 3-7).

Tablo 3-6. HE boyama protokolü.

Kullanılan Malzeme ve Miktarları	Süre
Etüv	1 gece
Ksilen	10 dk
Azalan Alkol Serileri %100, %90, %80, %70	3'er dk
Akar Çeşme Suyu	1-2 dk
Hematoksilen	2 dk
Akar Çeşme Suyu	6 dk
Asit-alkol	1-2 batırıp çıkarma
Akar Çeşme Suyu	1-2 dk
Eozin	1 dk
Akar Çeşme Suyu	1-2 dk
Artan Alkol Serileri %70, %80	1 kere batır çıkar
Artan Alkol Serileri %90, %100	3'er dk
Ksilen	10 dk
Entellan ile Kapatma	

Tablo 3-7. HE parametreler ve kriterleri (26).

Parametre	Tanım	Kriter	Skor
Epidermal Kalınlık İndeksi	Normal	%95-105	2
	Hipertrofi	>%105	1
	Hipoplazi	<%95	0
Reepitelizasyon	Tam	%95-100	2
	Kısmi	<%95->%0	1
	Hiç	%0	0
Keratinizasyon	Evet	Gevşekçe bağlı/parakeratinize	2
	Hayır	Hiç	0
Granülasyon	Tam dermis	İyileşmiş	2
	Kalın granül dokusu	>100µm	1
	İnce granül dokusu	<100µm	0
Remodelling	Tam	Düzgün iyileşmiş	2
	Kısmi	Kollajen birikimi/beyaz adiposit	1
	Hiç	Remodelling yok	0
Skar Elevasyon İndeksi	Normal	%95-105	2
	Hipertrofik	>%105	1
	Hipoplazik	<%95	0

3.4.2. Masson's Trikróm (MT) Boyama ve Skorlama

Parafin bloklardan, mikrotomda (Leica RM 2245) 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler 1 gece etüvde 60 °C'de bekletildikten sonra MT kiti (HistoPlus®) ile boyandı. Boyanan preparatlar; ışık Mikroskobu (Olympus Dp26-CU, Leica MD 750) ile histopatolojik olarak değerlendirildi. Değerlendirme; kollajen skoru, ödem skoru ve epidermis kalınlığı (EK) olmak üzere 3 parametre üzerinden yapıldı. Her parametre, 0, 1, 2, 3 ve 4 üzerinden puanlandı (81) (Tablo 3-8) (Tablo 3-9).

Tablo 3-8. MT kit içeriği.

Masson Trichrome Kit İçeriği:

A-Weigert's Iron Hematoxylin A Solüsyonu

B- Weigert's Iron Hematoxylin B Solüsyonu

C- Picric Acid Alcoholic Solüsyonu

D- Ponceau Acid Fuchsin Solüsyonu

E- Phosphomolybdic Acid Solüsyonu

F- Masson Aniline Blue Solüsyonu

Tablo 3-9. Masson's Trichrome Kitinde uygulanan Protokol.

Kullanılan Malzeme ve Miktarları	Süre
Etüv 60 °C	1 gece
Ksilen	1 saat
Azalan Alkol Serileri %100, %90, %80, %70	3'er dk
Eşit miktarda A ve B Solüsyonu	10 dk
Distile Sudan Geçirme	1 kez
C Solüsyonu	4 dk
Distile Sudan Geçirme	1 kez
D Solüsyonu	15 dk
Distile Sudan Geçirme	1 kez
E Solüsyonu	5 dk
F Solüsyonu	7-8 dk
Distile Sudan Geçirme	1 kez
Artan Alkol Serileri %96, %100	1'er dk
Ksilen I	2 dk
Ksilen II	2 dk
Entellen ile Kapatma	

3.4.3. İmmünohistokimyasal (IHC) Boyama ve Skorlama

Yara yeri dokusunda IL-6 immünreaktivitesinin belirlenebilmesi için IHC boyaması yapıldı (Tablo 3-10). Primer kit olarak Affinity Bioscience® IL-6 Antibody, sekonder kit olarak da FineTest® Mouse/Rabbit-DAB(Poly-HRP) Detection IHC Kit kullanıldı (Tablo 3-11).

Tablo 3-10. IL-6 IHC boyama protokolü.

IHC boyama protokolü	
Etüv 60 °C	1 gece
Ksilen I Ksilen II	5'er dk
Azalan Alkol Serileri %100, %90	5'er dk
Distile Su	Yıkama
Phosphate-buffered saline (PBS) (BioShop®) %10	10 dk
	Mikrodalga (SIEMENS®)
Sitrat Buffer (ScyTek®) %10	7 dk 700 watt
	7 dk 400 watt
Sitrat Buffer	15 dk soğutma
PBS	2 dk x 3
Pap Pen	Çerçeveleme
Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) (TEKKIM®) %10	30 dk
PBS	5 dk
Blokaj Serumı 37 °C	1 saat
Primer Kit IL-6 Antibody 37 °C	1 saat
PBS	3 dk
poly-HRP-Goat Anti-Mouse/Rabbit IgG 37 °C	1 saat
PBS	3 dk
DAB Çalışma solüsyonu:	2-10 dk
Reagent A %5, Reagent B %5, DAB Substrate %90	
PBS	2 dk x 3
Hematoksilen	1 dk
Distile Su	10 dk
Artan Alkol Serileri %70, %80, %90	Batır çıkar
Alkol %100	3 dk
Ksilen	5 dk
Entellan ile Kapatma	

Tablo 3-11. IHC kit içeriği.

FineTest İçeriği	Miktar
Blocking Serum	20 ml
poly-HRP-Goat Anti-Mouse/Rabbit IgG	15 ml
Reagent A 20xconcentrated DAB Solution	1 ml
Reagent B 20xconcentrated Solution	1 ml
DAB substrate	20 ml

Parafin bloklardan, mikrotomda (Leica RM 2245) 5µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler polilizinli lam (microcult®) üzerine alındı. Alınan kesitler daha sonra IHC boyama protokolüne göre boyandı (Tablo 3-10).

Dokular IHC boyaması yapıldıktan sonra H-Skoru ile değerlendirildi. Bu skora için her preparattan 5 ayrı alandan 100 hücre sayıldı ve sayılan her hücre 0-1-2-3 puan üzerinden puanlandı (0: Boyanmama, 1: Düşük, 2: Orta, 3: Yoğun boyanma). Verilen puanlar toplanıp 5'e bölündü ve her preparat için 0-300 arasında bir sayı bulunup skora tamamlandı (82, 83).

3.5. Biyokimyasal Analizler

Çalışmamız için sıçanların alınan serum örneklerinde ELISA testiyle NF-κB, TNF-α, VEGF, IL-6, MDA ve SOD değerleri çalışıldı.

3.5.1. NF-κB, TNF-α, VEGF, IL-6, MDA ve SOD ELISA Testleri

Deney hayvanlarından alınan serumlarda NF-κB, TNF-α, VEGF, IL-6, MDA ve SOD değerleri ELISA yöntemi kullanılarak çalışıldı. NF-κB, TNF-α, VEGF ve IL-6 için 96'lık FineTest® ELISA kitleri; MDA ve SOD içi ise 96'lık BT LAB® ELISA kitleri kullanıldı (Tablo 3-12).

FineTest ve BT LAB ELISA kitleri, sandviç enzim bağlı immün sorbent test teknolojisine dayanmaktadır. Anti NF-κB, 96 kuyulu plakalara önceden kaplanmıştır. Biotin konjuge anti NF-κB antikoru, tespit antikoru olarak kullanılmıştır. Standartlar ve pilot numuneler kuyucuklara eklendi. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış konjugatlar yıkama tamponu ile uzaklaştırıldı. Ardından, biyotine edilmiş tespit antikoru, kaplanmış antikora konjuge olan NF-κB ile bağlanmak üzere eklendi.

Bağlanmamış konjugatlar yıkandıktan sonra, HRP-Streptavidin eklendi. Üçüncü yıkamadan sonra, HRP enzimatik reaksiyonunu görselleştirmek için TMB substratları eklendi. TMB, HRP tarafından katalize edilerek mavi renkli bir ürün oluşturdu ve durdurma çözeltisi eklendikten sonra sarıya döndü. Mikroplaka okuyucuda 450 nm'de OD absorbansı okundu. Numunedeki NF- κ B konsantrasyonu, standart bir eğri çizilerek OD450 değeri ile orantılı şekilde hesaplandı.

NF- κ B için uygulanan ELISA protokolleri aynı şekilde TNF- α , VEGF, IL-6, MDA ve SOD için de uygulanmış ve sonuçları hesaplanmıştır.

Tablo 3-12. ELISA kit içerikleri.

FineTest ELISA Kiti İçeriği	BT LAB ELISA Kiti İçeriği
ELISA Mikroplakaları 8 x 12	ELISA Mikroplakaları 8x12
Lipofilize Standard	Standard Solüsyon
Biotinize Antikor	Standart Dilüent
HRP-Streptavidin Conjugate (SABC)	Streptavidin-HRP
TMB Substratı	Durdurma Solüsyonu
Sample Dilüsyon Buffer	Substrat A Solüsyonu
Antikor Dilüsyon Buffer	Substrat B Solüsyonu
SABC Dilüsyon Buffer	Konsantre Yıkama Buffer
Durdurma Solüsyonu	Biotinize Antikor
Yıkama Buffer	Plate Sealer
Plate Sealer	

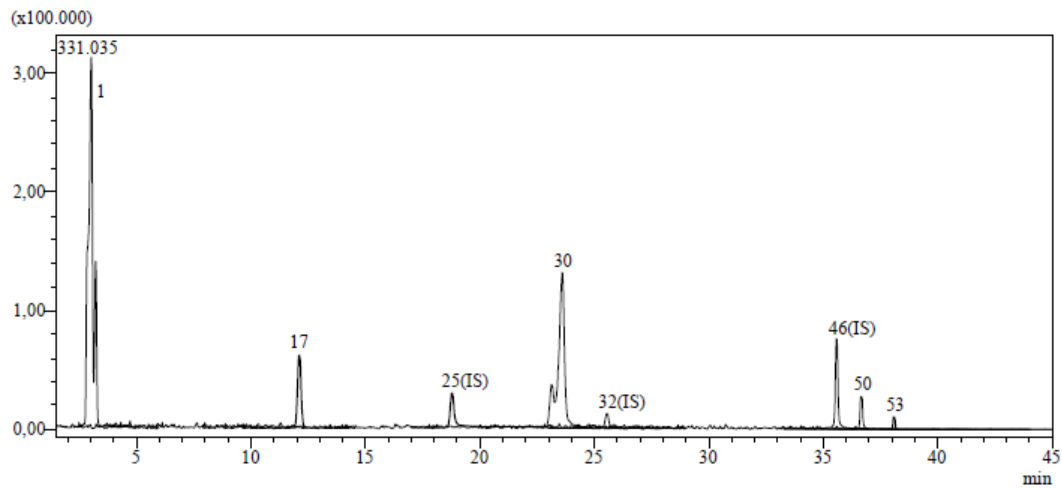
3.6. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değer ile kategorik değişkenler için frekans ve yüzde analizi ile verilmiştir. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Bu değişkenlerin çalışma gruplarına göre karşılaştırılmasında Kruskal Wallis (K-W) testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma testlerinden Dunn's çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Analizler SPSS 22.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. $p < 0,05$ anlamlılık seviyesi seçilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. *Arum dioscoridis* Bitki Özütü Analizi

Arum dioscoridis bitki özütünün antioksidan aktivitesi “DPPH radikal giderme testi” ile değerlendirilerek özütün %50 DPPH inhibisyonunu sağlayan IC₅₀ değeri 0,11 mg/ml olarak tesbit edildi. Özütün içerdiği toplam fenolik madde miktarı ise 99,48±0.54 µM GAE/mg özüt olarak hesaplandı. Özütün içeriğindeki fenolik bileşenlerin LC-MS/MS ile yapılan analizi sonucu *Arum dioscoridis* bitkisinin metanolle elde edilen özütünde; 56 fenolik bileşik araştırılmış; quinic asit (9,714 mg/gr), cyranoside (3.509 mg/gr), caffeic asit (0,28 mg/gr), luteolin (0,047 mg/gr) ve apigenin (0,002 mg/gr) fenolik maddeleri saptanmıştır (Şekil 4-1) (Tablo 4-1).



Şekil 4-1. Kromatografi analizi (pik noktaları maddelerin dedektörden geçerken oluşturduğu sinyal gücüdür) (min: dakika).

Tablo 4-1. Kromatografi analizinde tespit edilen bileşikler (N.A.: Non-applicable).

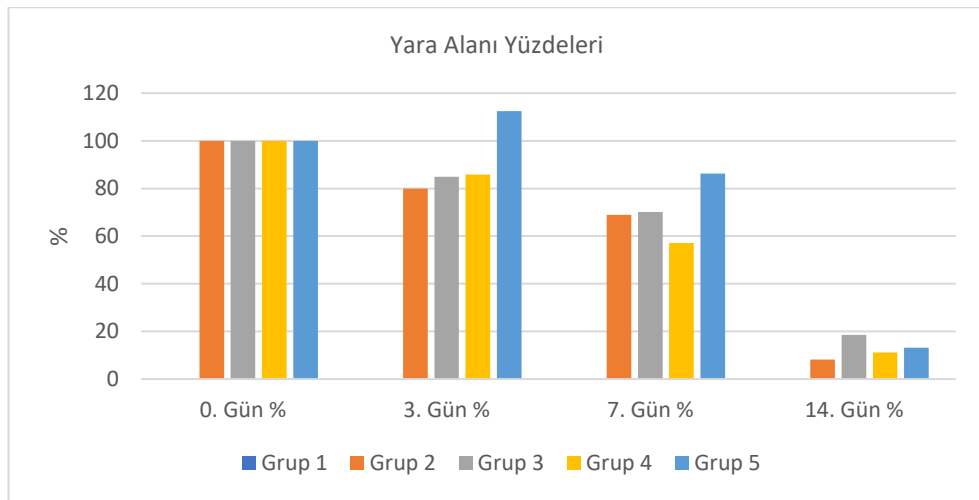
Numara	Madde	İşlenme süresi	Miktar (µg/gr)
1	*Quinic acid	3.0	9714
17	Caffeic acid	12.1	280
25	Ferulic acid-D3-IS	18.8	N.A.
30	*Cyranoside	23.7	3509
32	Rutin-D3-IS	25.5	N.A.
46	Quercetin-D3-IS	29.8	N.A.
50	Luteolin	36.7	47
53	Apigenin	38.2	2

4.2. Yara Alanı Bulguları

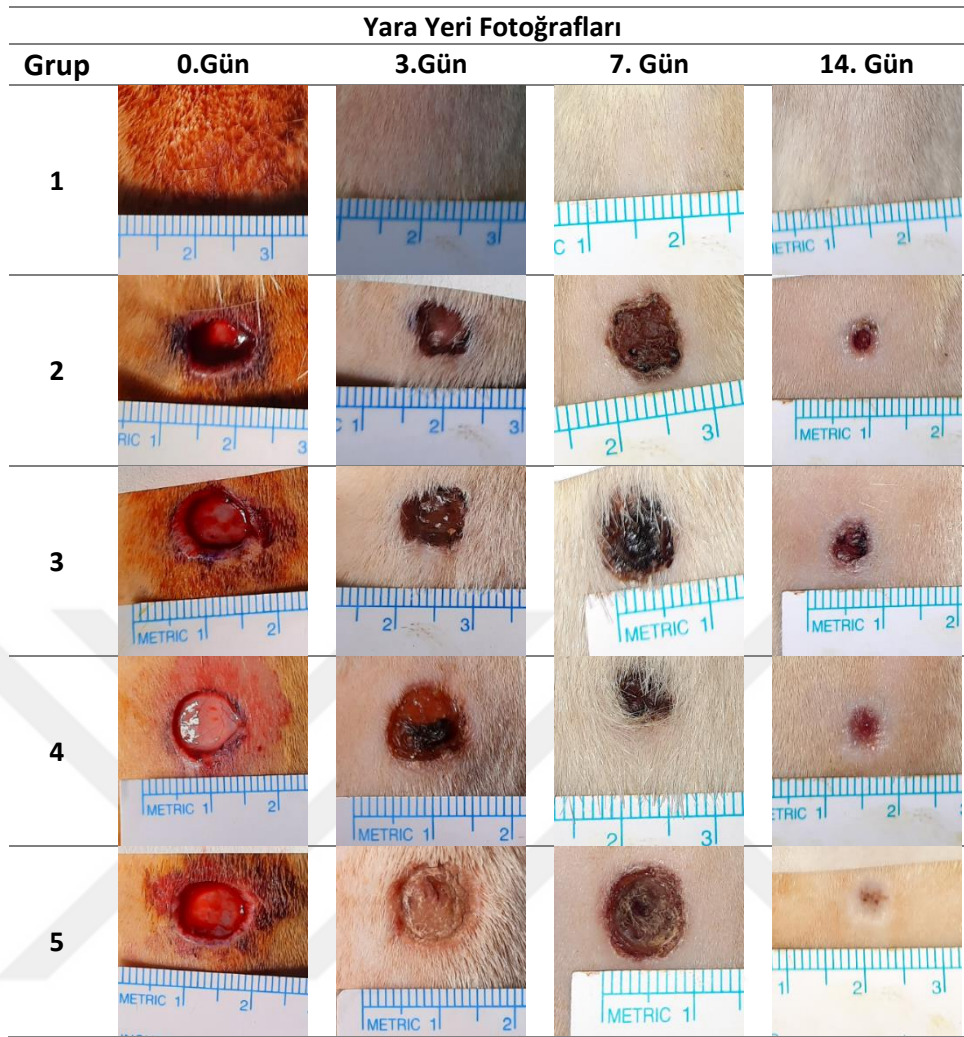
Grupların günlere göre yara alanı ortalama olarak; mm² ve yüzde cinsinden gösterilmiştir (Tablo 4-2). Grupların yara alanı ortalama olarak şematize şekilde gösterilmiştir (Şekil 4-2). Grupların yara yeri fotoğrafları kıyaslamalı olarak tablo halinde gösterilmiştir (Şekil 4-3). 0. günde yara açılmayan kontrol grubu yara alanı yüzdesi %0 kabul edilmiştir. 0. gün yara alanı grup 2, 3, 4 ve 5'te ise %100 kabul edilmiş ve yara alanı yüzdesi değişimi kendi gruplarının 0. günüyle kıyaslanarak hesaplanmıştır. 14. gün sonunda yara iyileşmesi en fazla grup 2'de (yara grubu), en az grup 3'te (kontrol jel grubu) gözlemlenmiştir. 3. günde grup 5'te (Fitokrem grubu) yara çapı artarken 14. güne doğru çok daha hızlı bir iyileşme görülmüştür. Grup 4 (AD jel grubu), fitokrem ve kontrol jel grubuna göre iyileşme yüzdesinde daha fazla azalma göstermiştir.

Tablo 4-2. Grupların yara alanlarının günlere göre mm² ve yüzde olarak değerleri.

Grup	Yara Alanı (Ortalama)							
	0. Gün mm ²	0. Gün %	3. Gün mm ²	3. Gün %	7. Gün mm ²	7. Gün %	14. Gün mm ²	14. Gün %
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	73,7	100	58,9	79,9	53,2	68,9	6,4	8,2
3	81,5	100	69,2	84,9	61,1	70,2	16,2	18,6
4	84,0	100	72,2	85,9	48,1	57,1	9,4	11,1
5	89,3	100	100,4	112,4	76,1	86,2	11,6	13,1



Şekil 4-2. Grupların yara alanı yüzdeleri günlere göre değişimi.



Şekil 4-3. Grupların yara yeri fotoğrafları 0., 3., 7. ve 14. gün.

Yapılan istatistiki analizlerde 0. günde yara alan yüzdeleri arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,001$) (Tablo 4-3). 0. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,006$).

3. günde yara alan yüzdelерinde anlamlı fark bulunmuştur (A grupları $p=0,004$, B grupları $p=0,009$) (Tablo 4-3). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 5 arasında (A grupları $p=0,003$ B grupları $p=0,002$) anlamlı fark bulunmuştur.

7. günde yara alan yüzdelерinde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,013$) (Tablo 4-3). 7. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 5 arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p= 0,005$).

14. günde yara alan yüzdelerinde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,005$) (Tablo 4-3). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,006$).

Tablo 4-3. Yara alanı yüzdelerinin K-W testindeki istatistiki değerleri (a, b: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
0.Gün Alan %	G1-Kontrol	0±0	0 (0-0) ^a	0,001*
	G2-Yara	100±0	100 (100-100) ^b	
	G3-Jel Kontrol	100±0	100 (100-100) ^b	
	G4-AD	100±0	100 (100-100) ^b	
	G5-Fitokrem	100±0	100 (100-100) ^b	
3.Gün Alan % (A grupları)	G1-Kontrol	0±0	0 (0-0) ^a	0,004*
	G2-Yara	76,13±10,31	78,32 (69,02-83,25)	
	G3-Jel Kontrol	85,75±8,89	88,6 (80,45-91,05)	
	G4-AD	93,48±20,65	98,05 (77,75-109,2)	
	G5-Fitokrem	117,07±9,34	119,48 (110,53-123,6) ^b	
3.Gün Alan % (B grupları)	G1-Kontrol	0±0	0 (0-0) ^a	0,009*
	G2-Yara	81,7±15,74	75,65 (71,8-91,6)	
	G3-Jel Kontrol	82,48±18	79,4 (69,5-95,45)	
	G4-AD	79,05±17	78,95 (65,15-92,95)	
	G5-Fitokrem	108,65±7,2	107,25 (103,65-113,65) ^b	
7.Gün Alan %	G1-Kontrol	0±0	0 (0-0) ^a	0,013*
	G2-Yara	67,4±8,01	67,1 (62,35-72,45)	
	G3-Jel Kontrol	70,25±16,82	71,25 (56,95-83,55)	
	G4-AD	57,1±28,95	45,3 (38,75-75,45)	
	G5-Fitokrem	86,77±5,07	88,48 (83,18-90,35) ^b	
14.Gün Alan %	G1-Kontrol	0±0	0 (0-0) ^a	0,005*
	G2-Yara	8±1,06	7,65 (7,25-8,75)	
	G3-Jel Kontrol	18,63±6,02	19,8 (14,7-22,55) ^b	
	G4-AD	11,03±2,9	11 (9,15-12,9)	
	G5-Fitokrem	13,33±4,73	11,85 (10-16,65)	

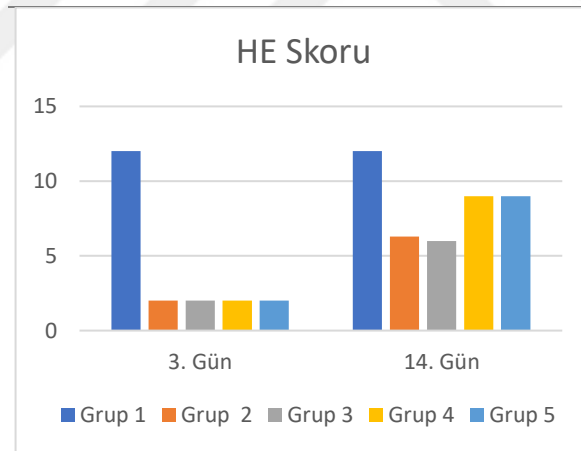
4.3. Histopatolojik Bulgular

4.3.1. Hematoksilen Eozin Boyama ve Skorlama Bulguları

HE boyaması sonucu grup 1'in skorlaması 12 üzerinden 12 şeklinde puanlanarak diğer grupların grup 1'e göre iyileşmesi kıyaslanmıştır. Epidermal kalınlık indeksi (ETI), reepitelizasyon, keratinizasyon, granülasyon, remodelling ve skar elevasyon indeksi (SEI) parametreleri puanlandı ve bu puanlar toplandı. Elde edilen total puanlar aşağıda belirtilmiştir (Tablo 4-4) (Şekil 4-4).

Tablo 4-4. HE boyama total puanlar.

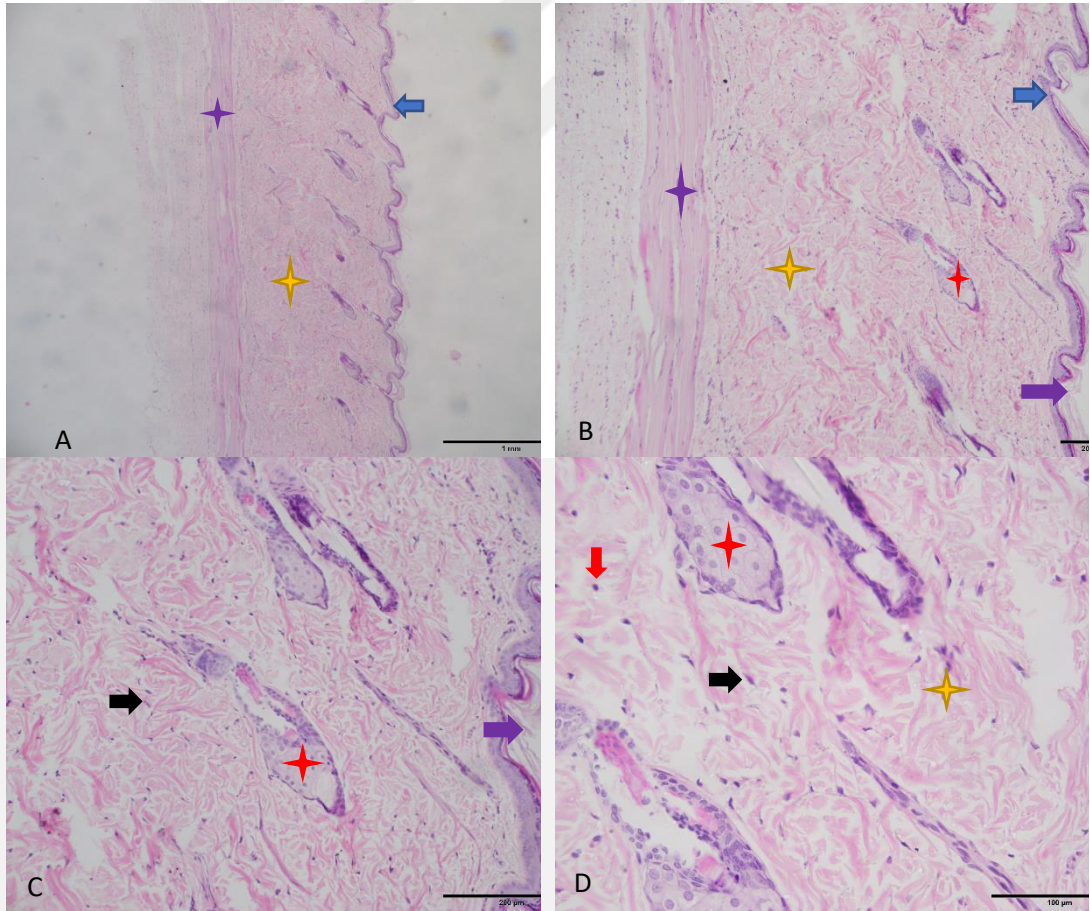
HE Total Skorlar		
Gruplar	3. Gün	14. Gün
1	12	12
2	2	6,3
3	2	6
4	2	9
5	2	9



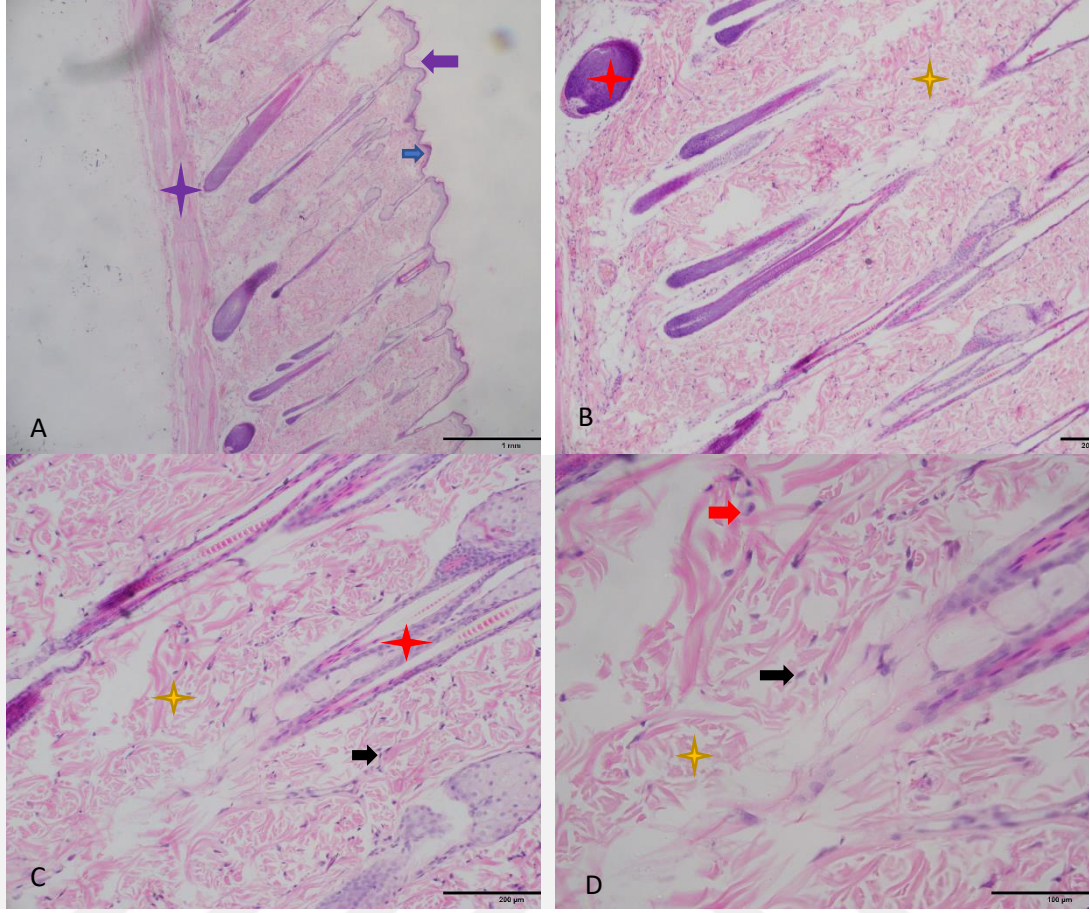
Şekil 4-4. HE boyama total puanlar.

3. günde kontrol grubuyla kıyaslandığında grup 2, 3, 4 ve 5'te reepitelizasyonun tamamlanamadığı görülmüştür. Oluşmaya başlayan granülasyon dokusunun normal deri kalınlığına erişemediği görülmüştür. Grup 4 ve 5'te grup 2 ve 3'e göre oluşan granülasyon dokusunda daha fazla yağ hücresi ve kan damarı olduğu izlenmiştir. Özellikle grup 3 ve 4'te yara kabuğu (scab) kalınlığı daha fazla olduğu da izlenmiştir (Şekil 4-5) (Şekil 4-7) (Şekil 4-9) (Şekil 4-11) (Şekil 4-13).

14. günde reepitelizasyon, ETI, keratinizasyon, granülasyon, remodelling, SEI parametrelerinde ve total iyileşme skorunda en iyi skoru grup 4 ve grup 5 gösterirken en düşük skoru grup 3 göstermiştir. 14. günün sonunda en çok iyileşme grup 4 ve 5'te izlenirken en az iyileşme grup 3'te izlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında grup 4 ve 5'te epitelizasyonun tamamlandığı, keratinizasyonun başladığı, oluşan granülasyon dokusunun normal deri kalınlığına ulaştığı gözlenmiştir. Grup 4 ve 5'teki sıçanların yarısında yara yerinde, kıl köklerinin bile olduğu izlenmiştir. Grup 4 ve 5, kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece cilt altı çizgili kas dokusu olan panniculus carnosusun oluşmadığı izlenmiştir (Şekil 4-6) (Şekil 4-8) (Şekil 4-10) (Şekil 4-12) (Şekil 4-14). Grup 1'in 3. ve 14. gündeki, yara açılmamış, HE ile boyanmış sağlıklı deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-5) (Şekil 4-6). Kırmızı yıldız: kıl folikülü, mor yıldız: panniculus carnosus, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, mor ok: keratin, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit göstermektedir.

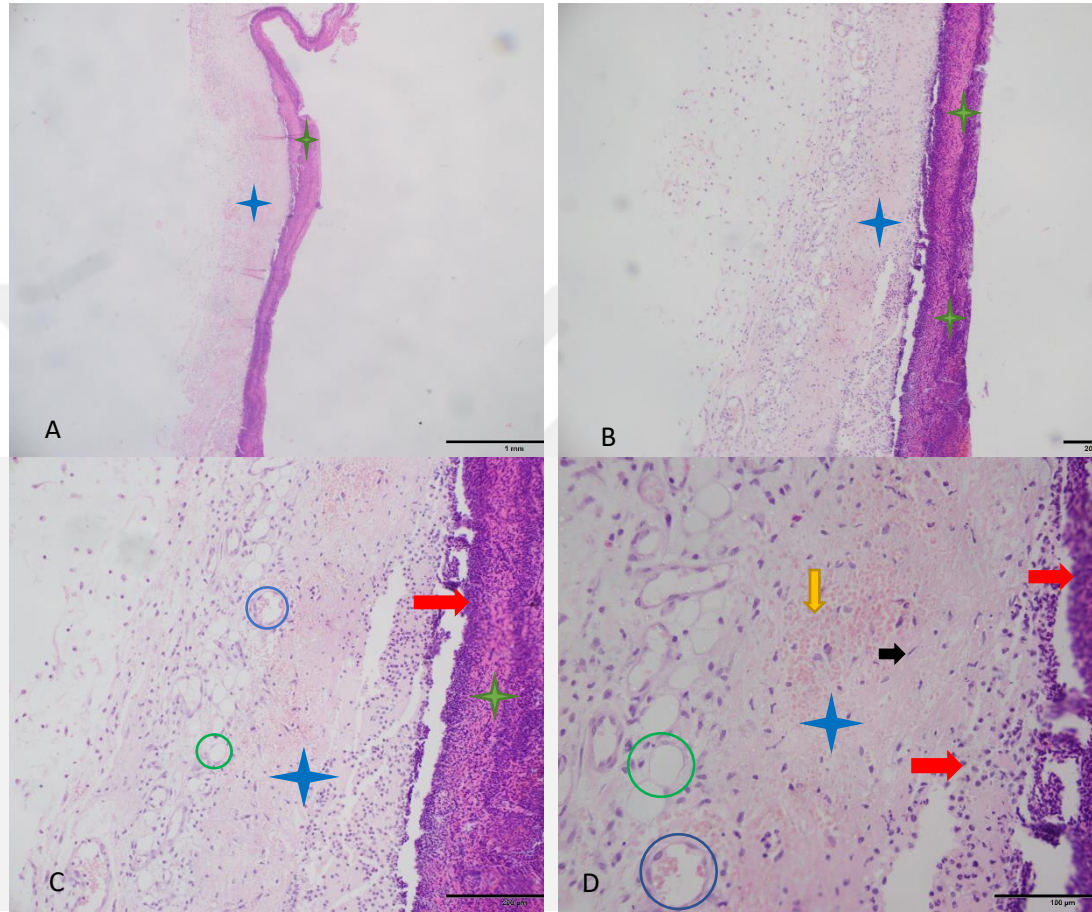


Şekil 4-5. 3. gün grup 1 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.



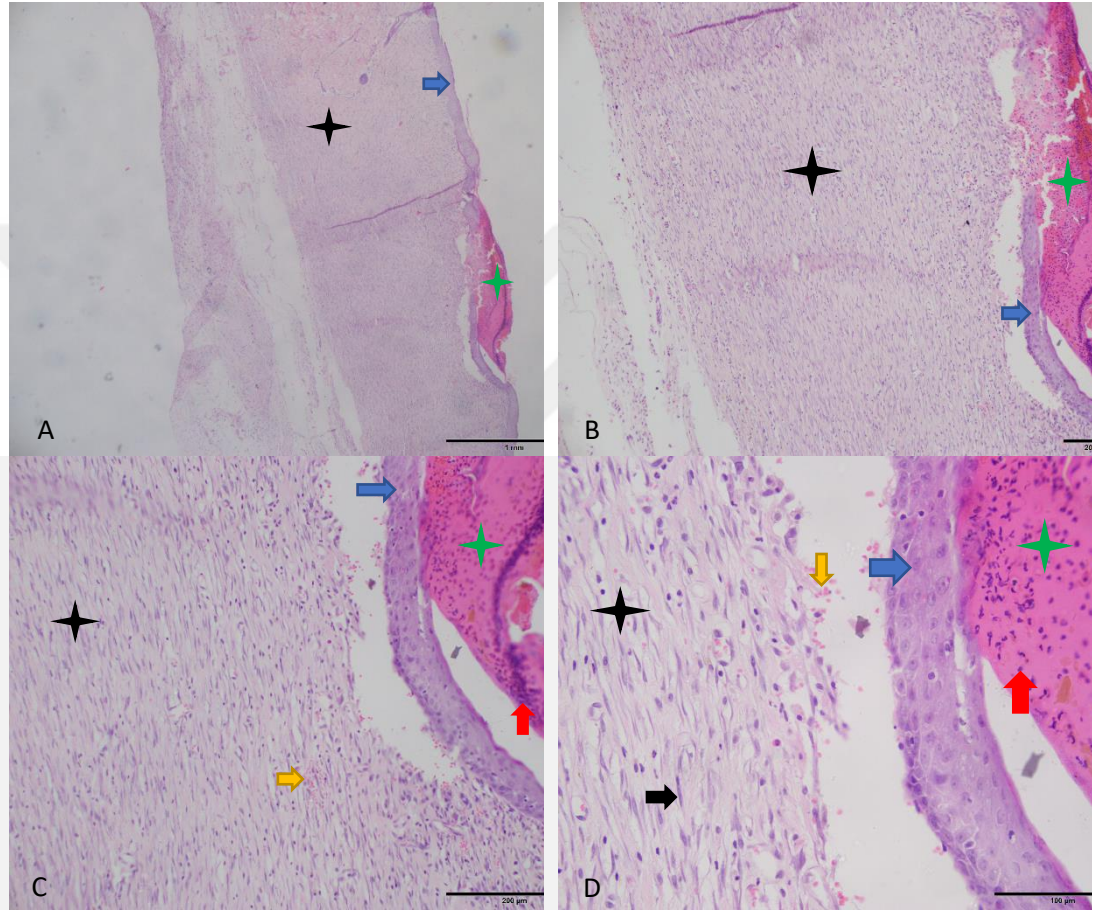
Şekil 4-6. 14. gün grup 1 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 2'nin 3. günde, yara açılıp tedavi verilmemiş, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-7). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı ok: eritrosit, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



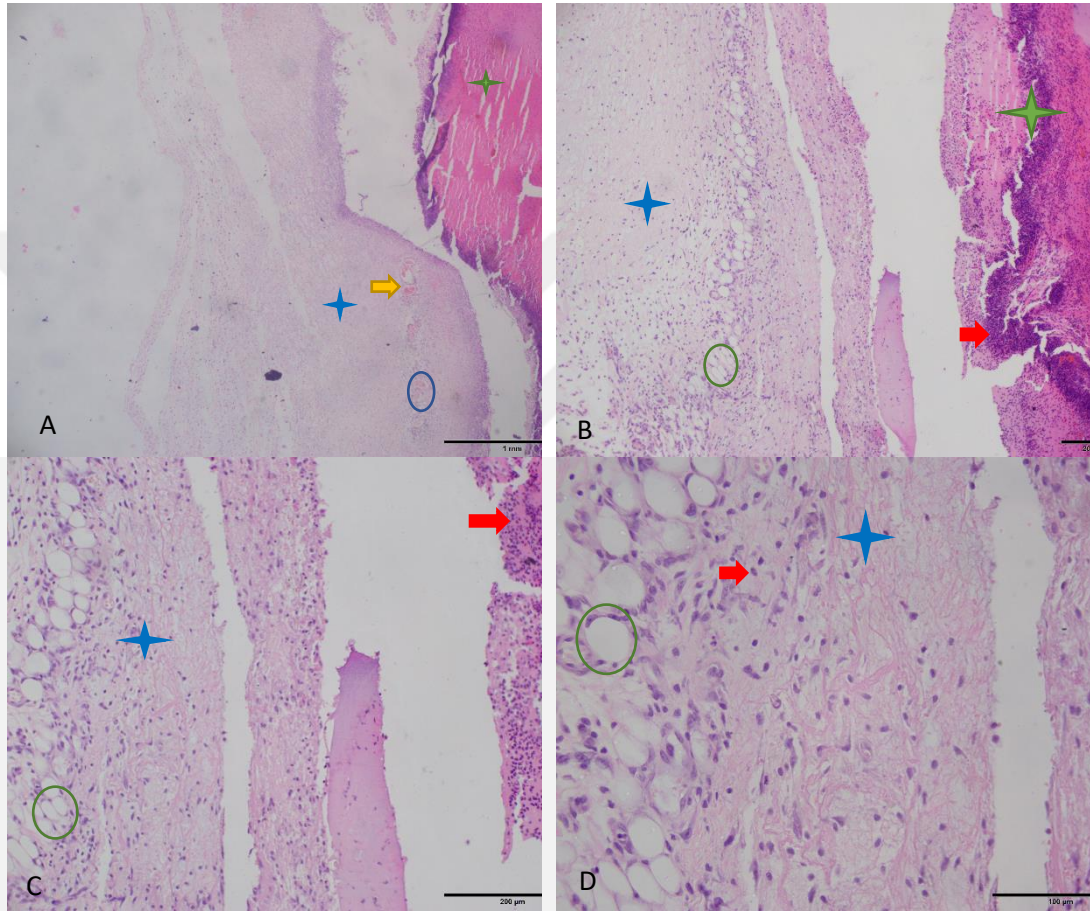
Şekil 4-7. 3. gün grup 2 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 2'nin 14. gündeki, yara açılıp tedavi verilmemiş, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-8). Siyah yıldız: granülasyon dokusu, yeşil yıldız: yara kabuğu, mavi ok: epidermis, sarı ok: eritrosit, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit göstermektedir.



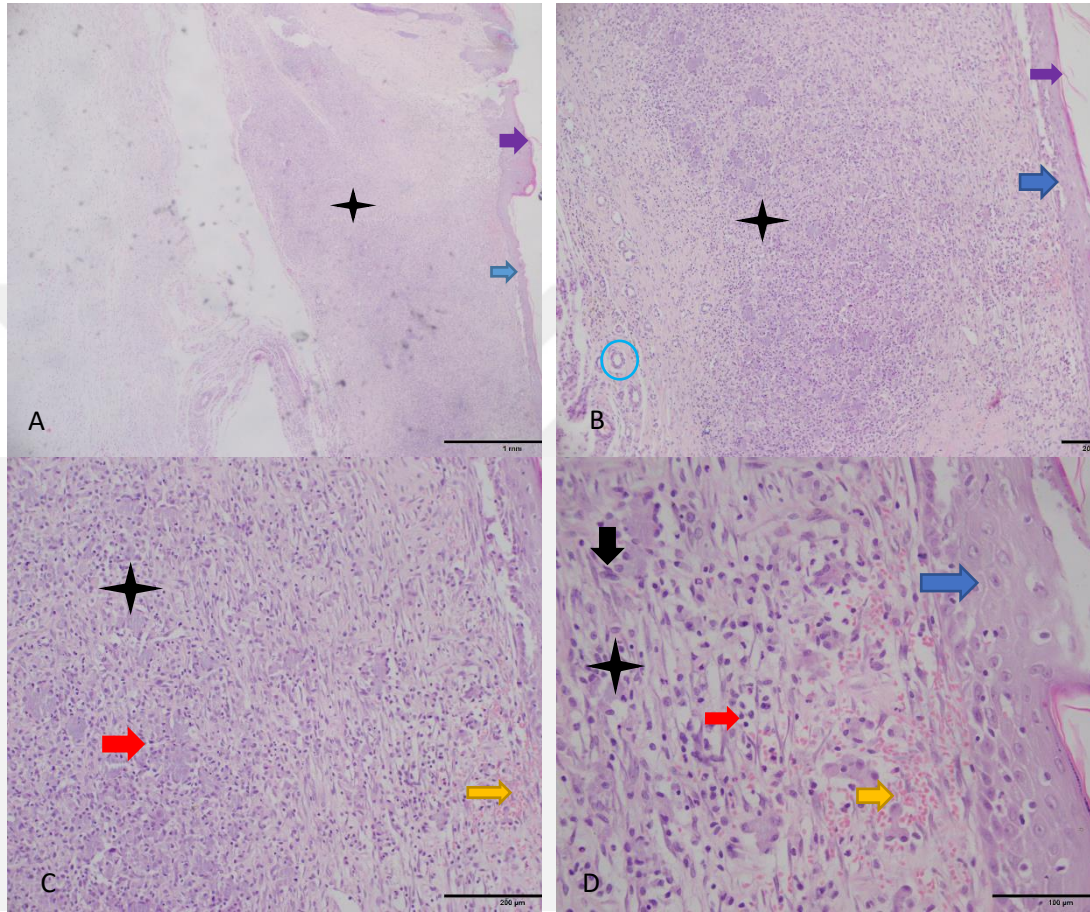
Şekil 4-8. 14. gün grup 2 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 3'ün 3. günündeki yara açılıp özütsüz hidrojel uygulanmış, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-9). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı ok: eritrosit, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



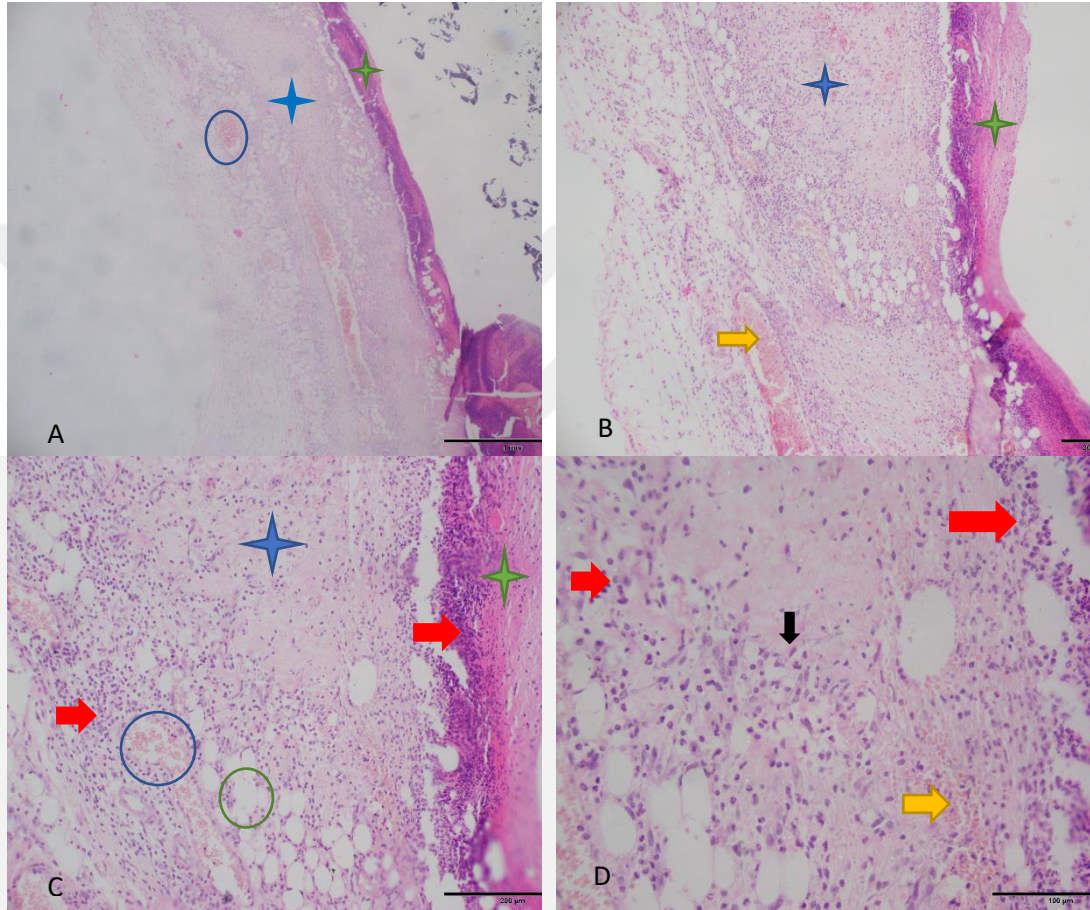
Şekil 4-9. 3. gün grup 3 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 3'ün 14. günde yara açılıp özütüz hidrojel uygulanmış, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-10). Siyah yıldız: granülasyon dokusu, mavi ok: epidermis, sarı ok: eritrosit, mor ok: keratin, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



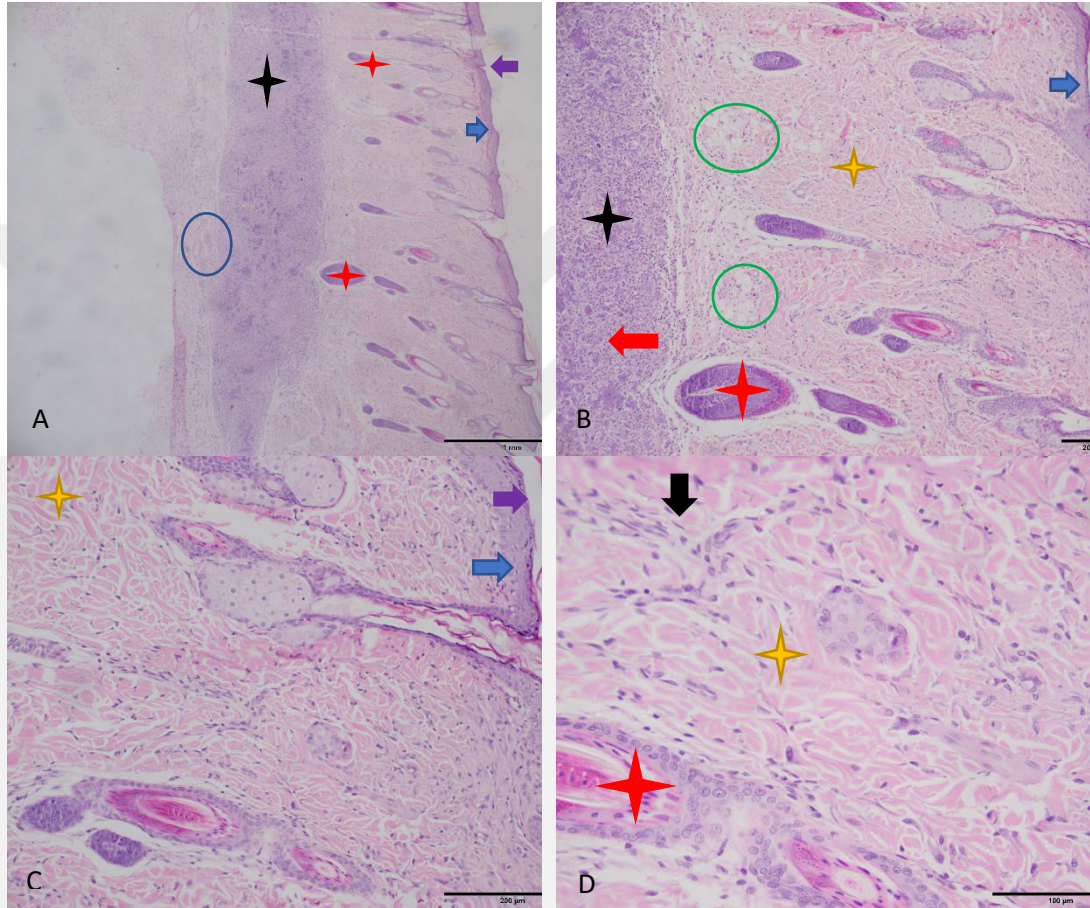
Şekil 4-10. 14. gün grup 3 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 4'ün 3. günündeki yara açılıp AD hidrojel uygulanmış, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-11). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı ok: eritrosit, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



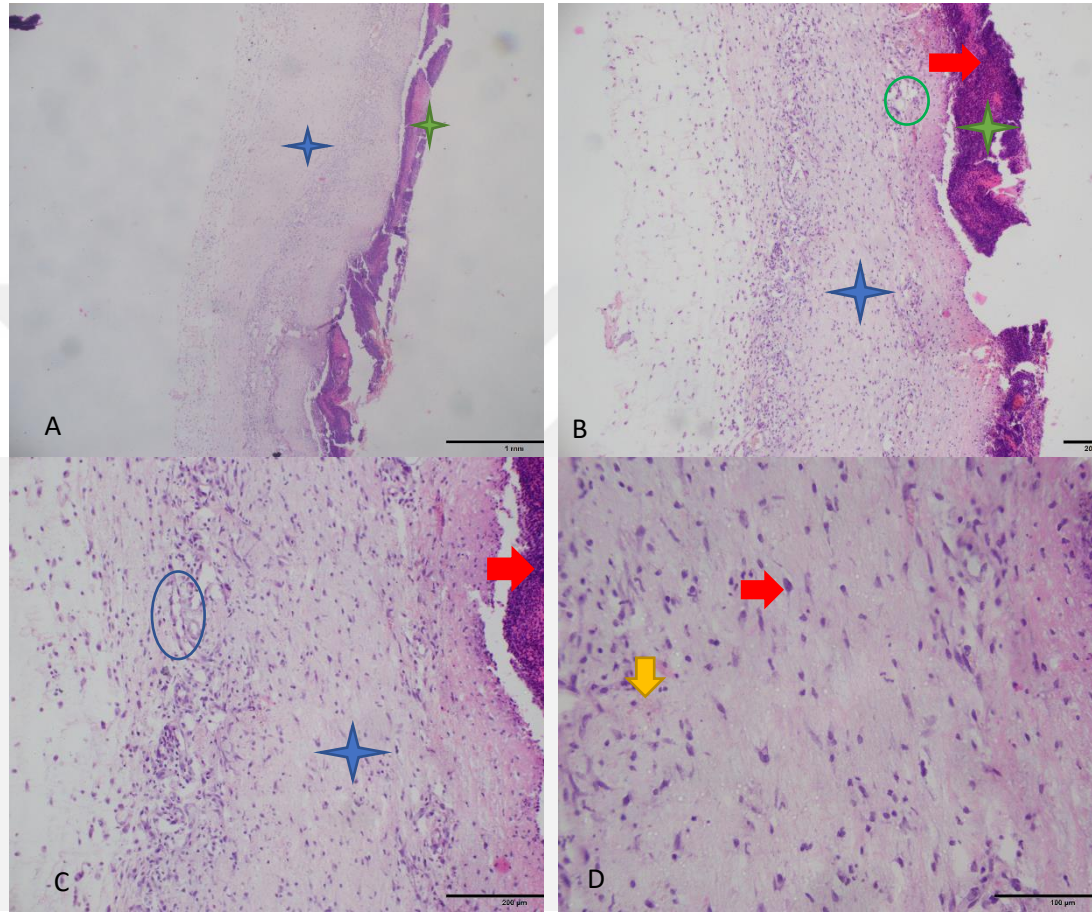
Şekil 4-11. 3. gün grup 4 HE boyama mikrofotoğrafları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 4'ün 14. gündeki yara açılıp AD hidrojel uygulanmış, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-12). Kırmızı yıldız: kıl folikülü, siyah yıldız: granülasyon dokusu, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, sarı ok: eritrosit, mor ok: keratin, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



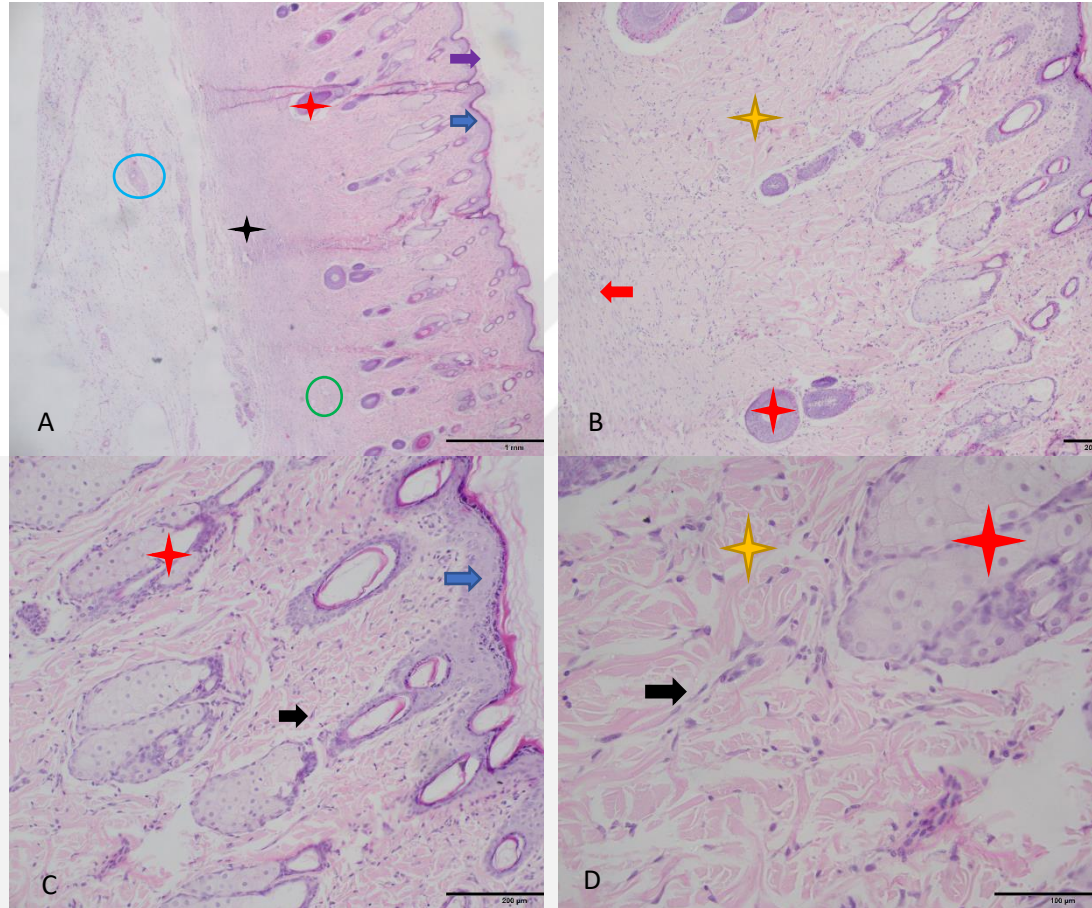
Şekil 4-12. 14. gün grup 4 HE boyama mikrofotografı A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 5'in 3. günündeki, yara açılıp fitokrem uygulanmış, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-13). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı ok: eritrosit, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



Şekil 4-13. 3. gün grup 5 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 5'in 14. gündeki, yara açılıp fitokrem uygulanmış, HE ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-14). Kırmızı yıldız: kıl folikülü, siyah yıldız: granülasyon dokusu, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, mor ok: keratin, siyah ok: fibroblast, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



Şekil 4-14. 14. gün grup 5 HE boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde HE boyamada; reepitelizasyon, ETI, keratinizasyon, granülasyon, remodelling, SEI parametrelerinde ve total iyileşme skorunda anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,001$) (Tablo 4-5). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada HE boyamada; reepitelizasyon, ETI, keratinizasyon, granülasyon, remodelling, SEI parametrelerinde ve total iyileşme skorunda; grup 1 ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,006$).

14. günde HE boyamada; reepitelizasyon ($p=0,038$), ETI ($p=0,038$), remodelling ($p=0,001$), SEI ($p=0,001$) parametrelerinde ve total iyileşme skorunda ($p=0,006$) anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 4-5). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada HE boyamada remodelling ve SEI parametrelerinde grup 1 ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,006$). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada, HE boyamada, total iyileşme skorunda grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,008$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,013$) anlamlı bulunmuştur.

Tablo 4-5. 3. ve 14. gün HE boyama için K-W testinde bakılan değerler (a, b, c: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün HE Reepitelizasyon ETI Keratinizasyon SEI	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2) ^a	0,001*
	G2-Yara	0±0	0 (0-0) ^b	
	G3-Jel Kontrol	0±0	0 (0-0) ^b	
	G4-AD	0±0	0 (0-0) ^b	
	G5-Fitokrem	0±0	0 (0-0) ^b	
3.Gün HE Granülasyon Remodelling	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2) ^a	0,001*
	G2-Yara	1±0	1 (1-1) ^b	
	G3-Jel Kontrol	1±0	1 (1-1) ^b	
	G4-AD	1±0	1 (1-1) ^b	
	G5-Fitokrem	1±0	1 (1-1) ^b	
3.Gün HE Total Skor	G1-Kontrol	12±0	12 (12-12) ^a	0,001*
	G2-Yara	2±0	2 (2-2) ^b	
	G3-Jel Kontrol	2±0	2 (2-2) ^b	
	G4-AD	2±0	2 (2-2) ^b	
	G5-Fitokrem	2±0	2 (2-2) ^b	
14.Gün HE Reepitelizasyon	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2)	0,038*
	G2-Yara	1,25±0,5	1 (1-1,5)	
	G3-Jel Kontrol	1,5±0,58	1,5 (1-2)	
	G4-AD	2±0	2 (2-2)	
	G5-Fitokrem	2±0	2 (2-2)	
14.Gün HE ETI	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2)	0,038*
	G2-Yara	0,5±1	0 (0-1)	
	G3-Jel Kontrol	1±1,15	1 (0-2)	
	G4-AD	2±0	2 (2-2)	
	G5-Fitokrem	2±0	2 (2-2)	
14.Gün HE Keratinizasyon	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2)	0,202
	G2-Yara	1,5±1	2 (1-2)	
	G3-Jel Kontrol	1±1,15	1 (0-2)	

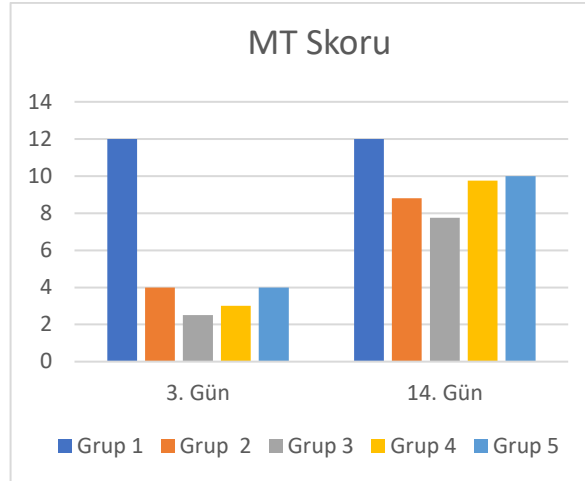
	G4-AD	2±0	2 (2-2)	
	G5-Fitokrem	2±0	2 (2-2)	
14.Gün HE Granülasyon	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2)	
	G2-Yara	2±0	2 (2-2)	
	G3-Jel Kontrol	1,5±0,58	1,5 (1-2)	0,077
	G4-AD	2±0	2 (2-2)	
	G5-Fitokrem	2±0	2 (2-2)	
14.Gün HE Remodelling	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2) ^a	
	G2-Yara	1±0	1 (1-1) ^b	
	G3-Jel Kontrol	1±0	1 (1-1) ^b	0,001*
	G4-AD	1±0	1 (1-1) ^b	
	G5-Fitokrem	1±0	1 (1-1) ^b	
14.Gün HE SEI	G1-Kontrol	2±0	2 (2-2) ^a	
	G2-Yara	0±0	0 (0-0) ^b	
	G3-Jel Kontrol	0±0	0 (0-0) ^b	0,001*
	G4-AD	0±0	0 (0-0) ^b	
	G5-Fitokrem	0±0	0 (0-0) ^b	
14.Gün HE Total Skor	G1-Kontrol	12±0	12 (12-12) ^a	
	G2-Yara	6,25±2,06	6 (5-7,5) ^b	
	G3-Jel Kontrol	6±3,46	6 (3-9) ^c	0,006*
	G4-AD	9±0	9 (9-9)	
	G5-Fitokrem	9±0	9 (9-9)	

Tablo 4-5. 3. ve 14. gün HE boyama için K-W testinde bakılan değerler (devamı).

4.3.2. Masson's Trikrom Boyama ve Skorlama Bulguları

MT boyaması sonucu grup 1'in skorlaması 12 üzerinden 12 şeklinde puanlanarak diğer grupların grup 1'e göre iyileşmesi kıyaslanmıştır. Ödem, kollajen ve epidermal kalınlık parametreleri puanlandı ve puanlar toplandı. Yapılan skorlama sonrası total puanlar aşağıda belirtilmiştir (Tablo 4-6) (Şekil 4-15).

Tablo 4-6. MT total iyileşme skorları.		
MT Total İyileşme Skorları (Ortalama)		
Grup	3. Gün Total	14. Gün Total
1	12	12
2	4	8,8
3	2,5	7,75
4	3	9,75
5	4	10

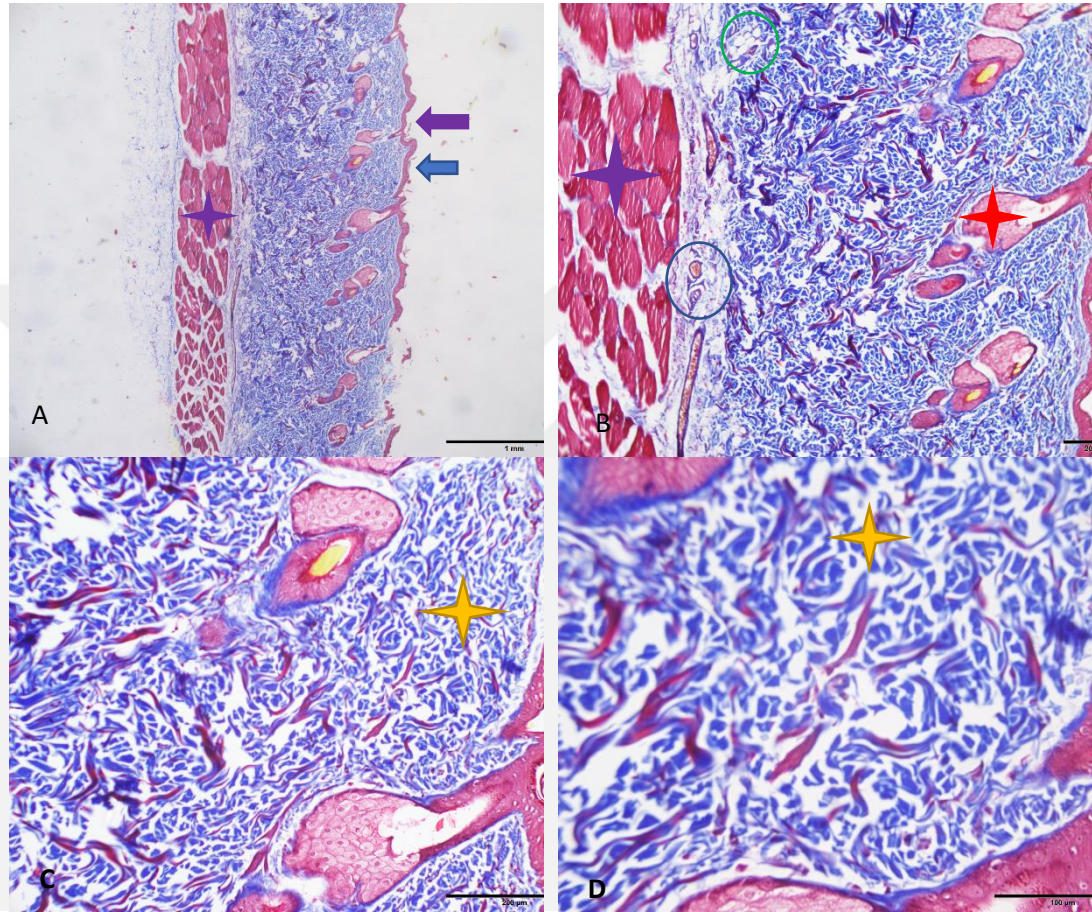


Şekil 4-15. MT total skor (ödem, kollajen ve epidermal kalınlık puanları toplamı).

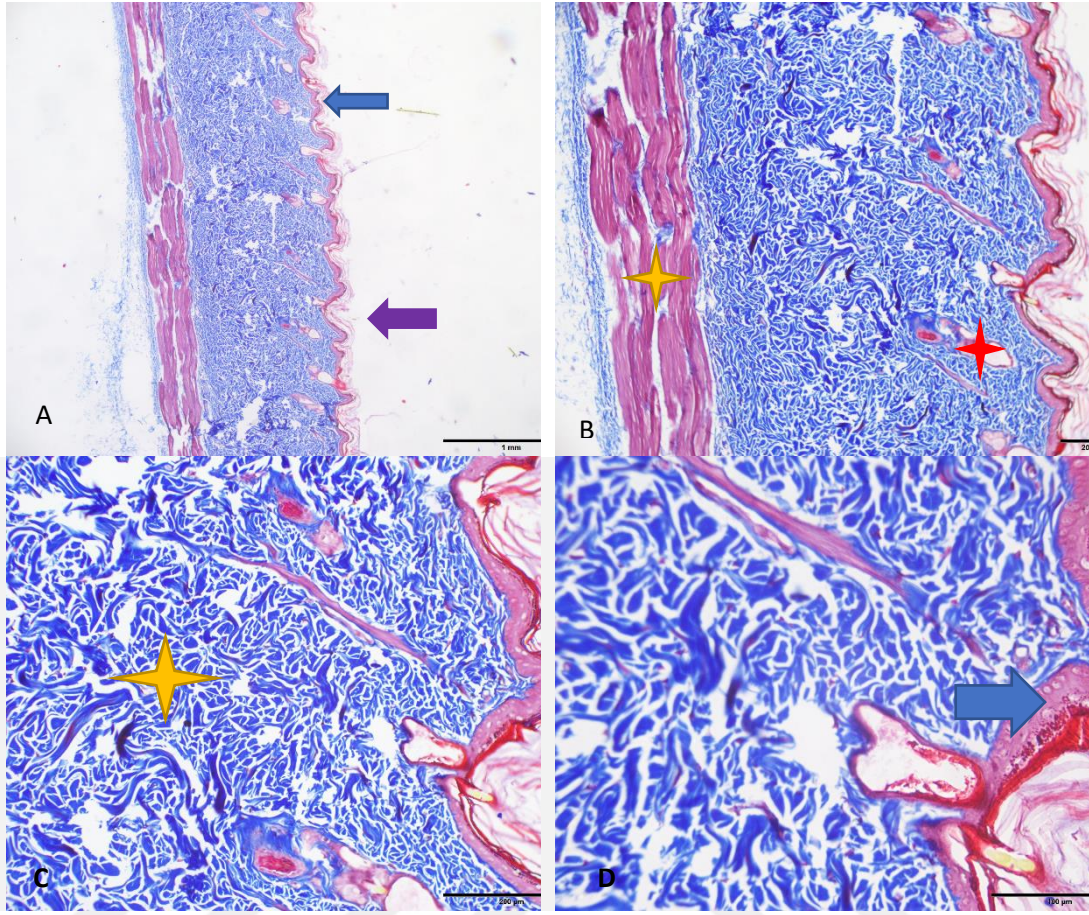
3. günde en iyi skoru fitokrem grubu (grup 5) ve yara grubu (grup 2) gösterirken en düşük skoru kontrol jel grubu (grup 3) göstermiştir. Ödem skoru en fazla grup 2 ve 5'te görülürken en az grup 3'te izlenmiştir. Kollajen skoru en iyi grup 5'te iken diğer gruplarda daha az kollajen izlenmiştir. Epidermal kalınlık (EK) ise hiçbir grupta kontrol grubu değerlerine ulaşamamıştır. Damarlanma ve yağ hücre sayısı en fazla grup 4 ve 5'te izlenmiştir (Şekil 4-16) (Şekil 4-18) (Şekil 4-20) (Şekil 4-22) (Şekil 4-24).

14. günde grup 4 ve 5 total iyileşmede en iyi skoru gösterirken en düşük skoru grup 3 göstermiştir. Ödem en fazla grup 2'de gözlenirken, Kollajen birikimi ve epidermal kalınlık en fazla grup 4 ve 5'te izlenmiştir. Grup 4 ve 5'te ayrıca en iyi kollajen birikimi gözlenirken, granülasyon dokusu en fazla bu gruplarda azalmış ve bu gruplardaki dokular kontrol grubuna en yakın iyileşme göstermiştir. Sonuç olarak; 14. günün sonunda en çok iyileşme grup 4 ve 5'te, en az iyileşme ise grup 3'te izlenmiştir (Şekil 4-17) (Şekil 4-19) (Şekil 4-21) (Şekil 4-23) (Şekil 4-25).

Grup 1'in 3. ve 14. gündeki, yara açılmamış, MT ile boyanmış sağlıklı deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-16) (Şekil 4-17). Kırmızı yıldız: kıl folikülü, mor yıldız: panniculus carnosus, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, mor ok: keratin, siyah ok: fibroblast, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.

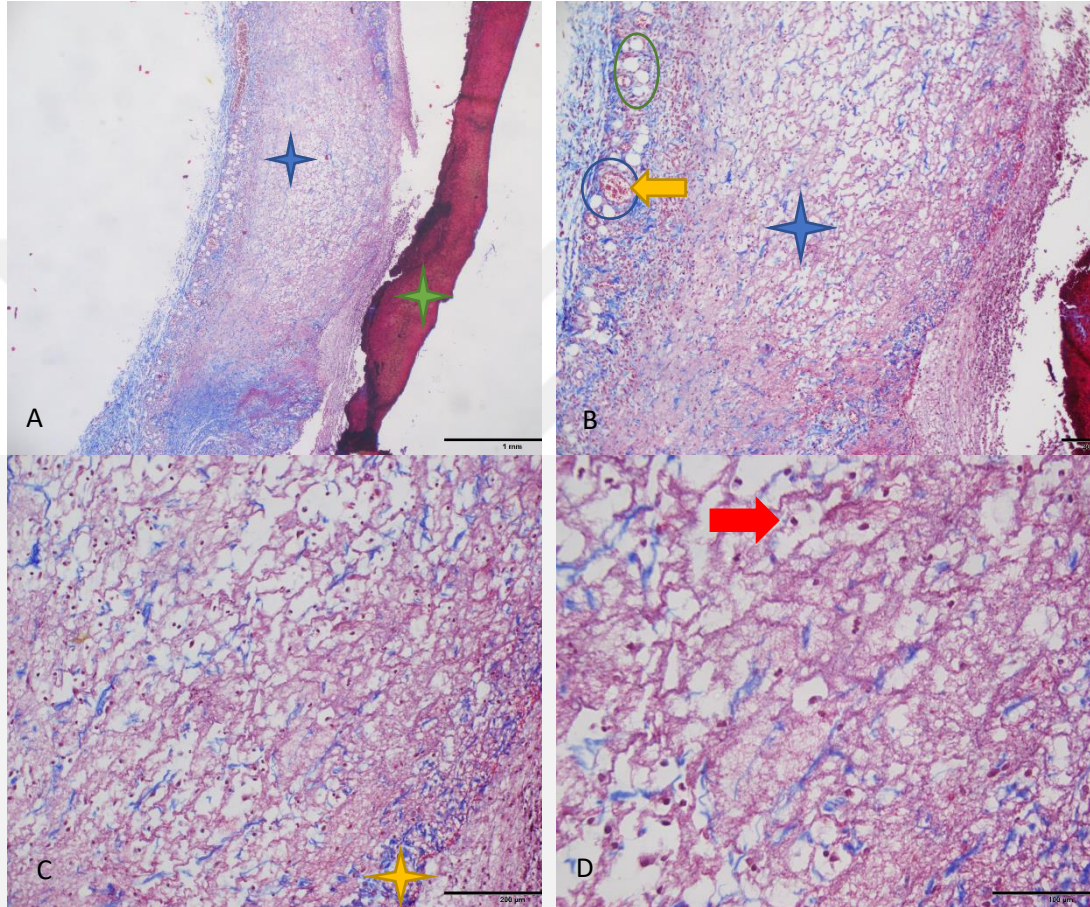


Şekil 4-16. 3. gün grup 1 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.



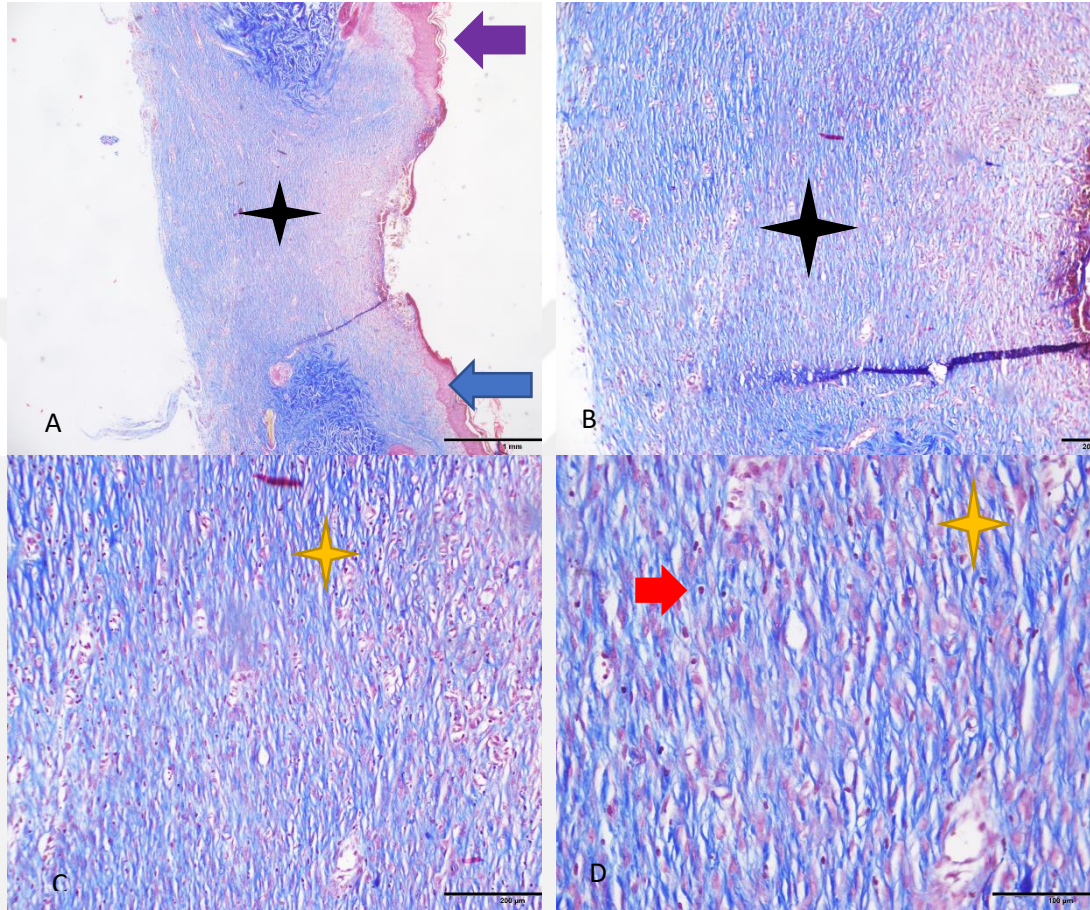
Şekil 4-17. 14. gün grup 1 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 2'in 3. gündeki, yara açılıp tedavi verilmemiş, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-18). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı yıldız: kollajen, kırmızı ok: lökosit, sarı ok: eritrosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



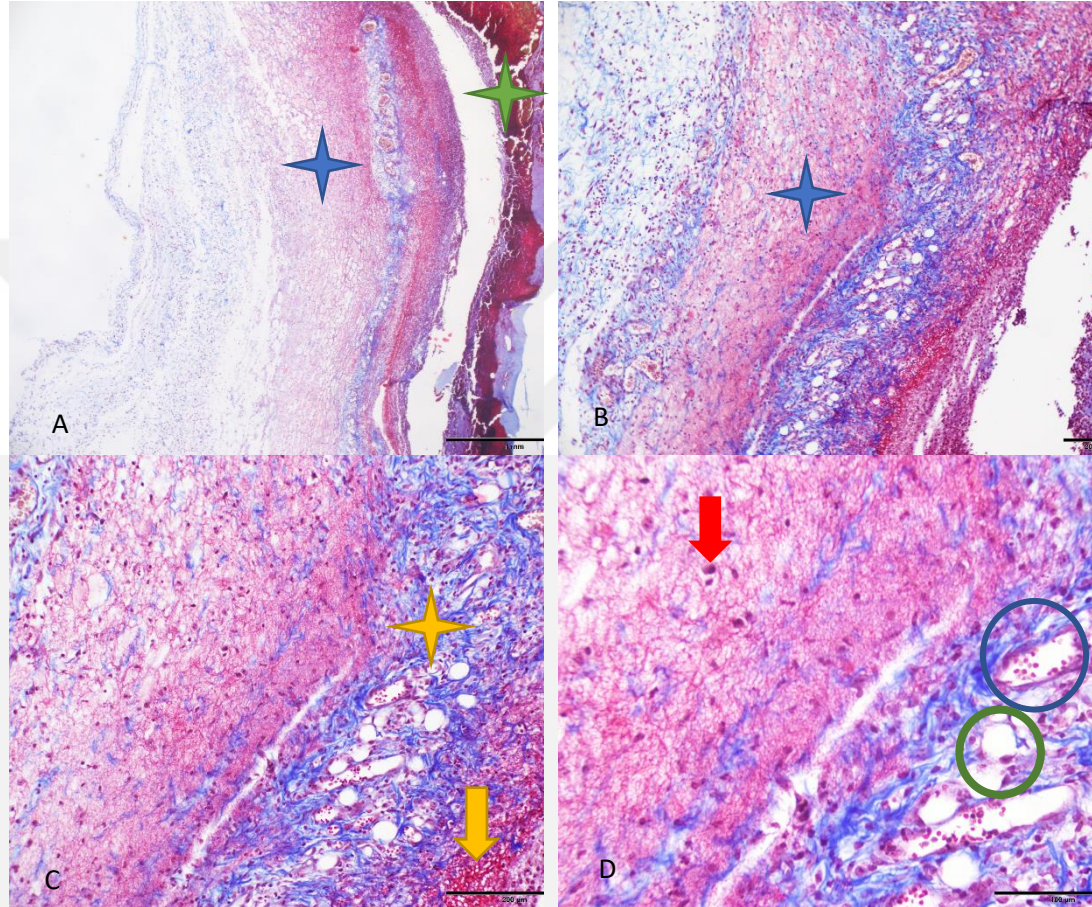
Şekil 4-18. 3. gün grup 2 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 2'in 14. gündeki, yara açılıp tedavi verilmemiş, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-19). Siyah yıldız: granülasyon dokusu, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, mor ok: keratin, kırmızı ok: lökosit göstermektedir.



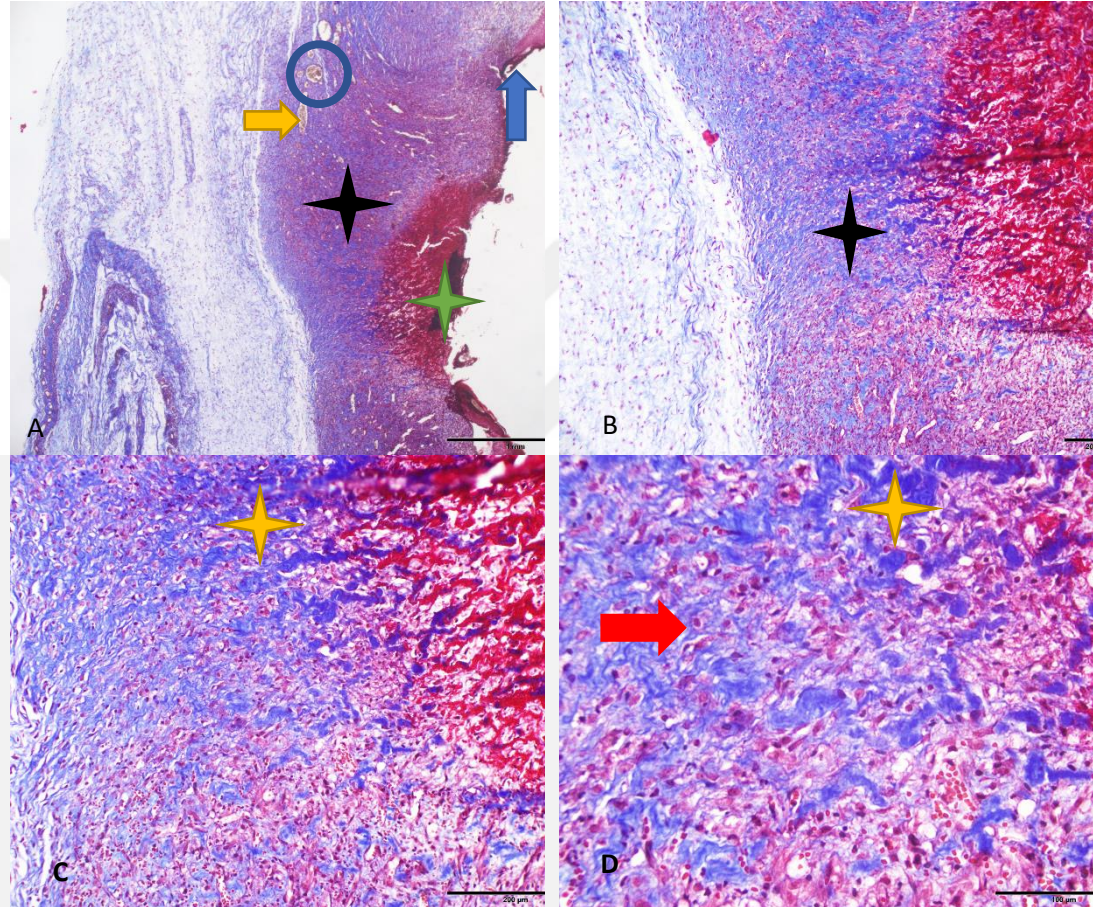
Şekil 4-19. 14. gün grup 2 MT boyama mikrofotoğrafları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 3'ün 3. günde, yara açılıp özüksüz hidrojel uygulanmış, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-20). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı yıldız: kollajen, kırmızı ok: lökosit, sarı ok: eritrosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



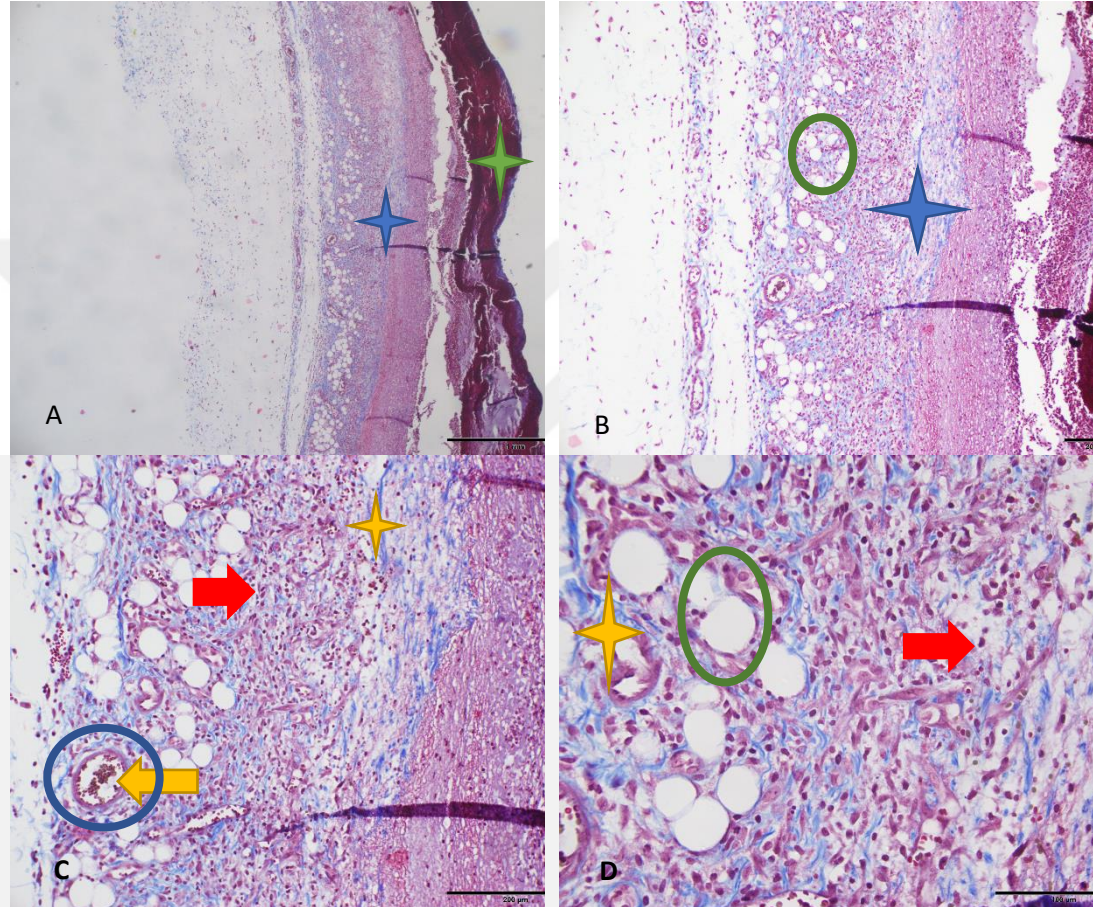
Şekil 4-20. 3. gün grup 3 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 3'ün 14. gündeki, yara açılıp özütsüz hidrojel uygulanmış, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-21). Yeşil yıldız: yara kabuğu, siyah yıldız: granülasyon dokusu, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, kırmızı ok: lökosit, sarı ok: eritrosit, mavi halka: kan damarını göstermektedir.



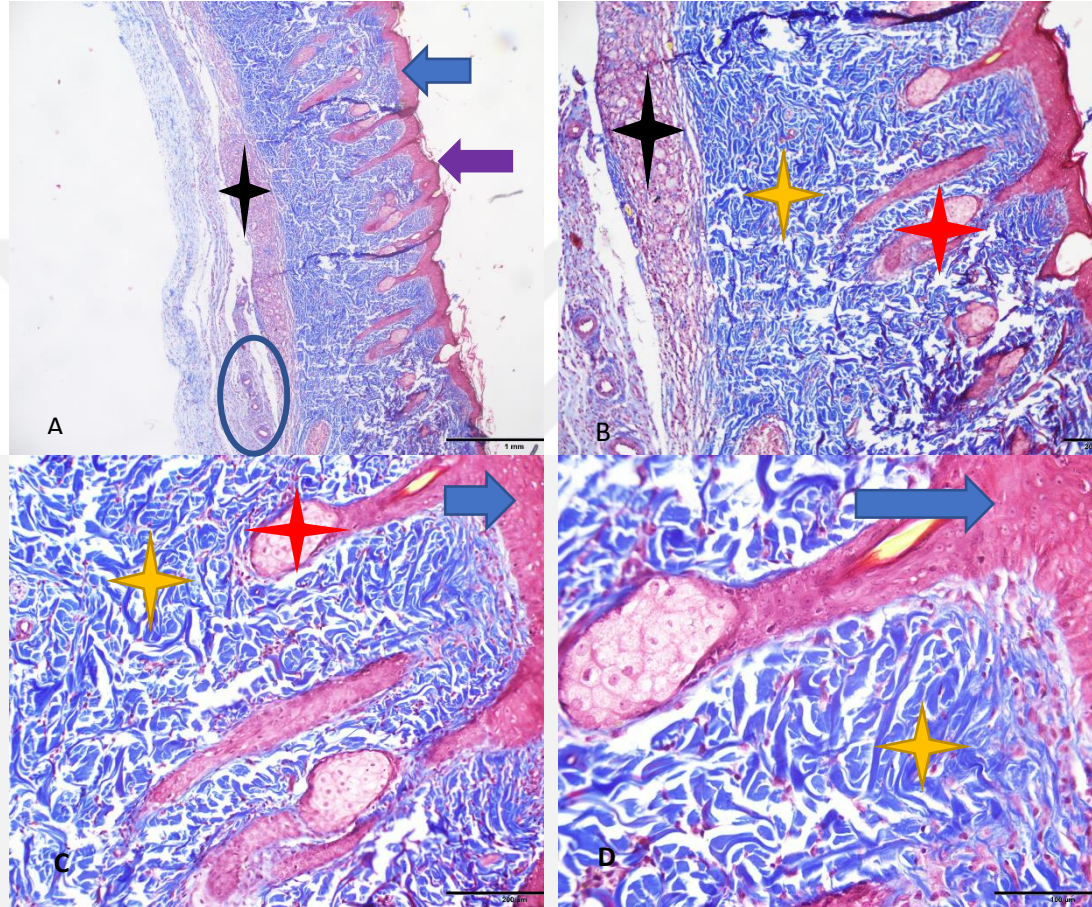
Şekil 4-21. 14. gün grup 3 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 4'ün 3. günündeki, yara açılıp AD hidrojel uygulanmış, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-22). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı yıldız: kollajen, kırmızı ok: lökosit, sarı ok: eritrosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



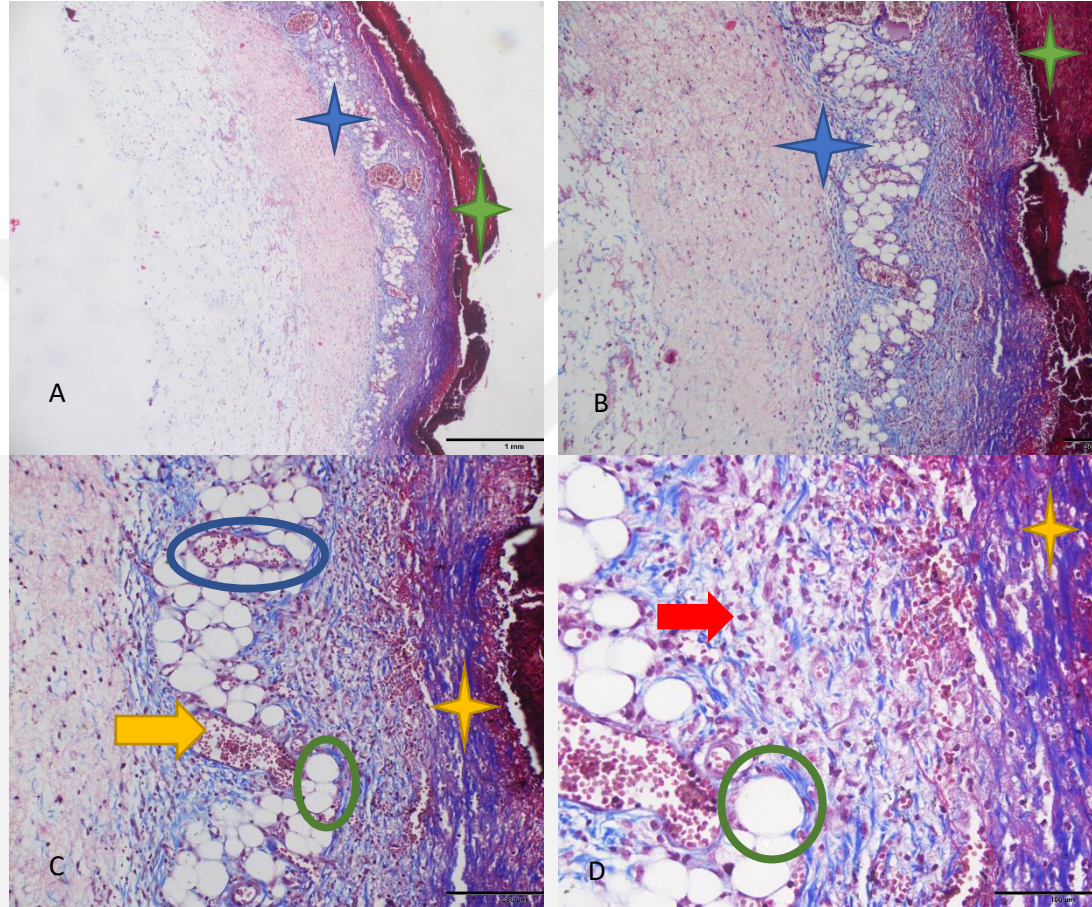
Şekil 4-22. 3. gün grup 4 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 4'ün 14. günde, yara açılıp AD hidrojel uygulanmış, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-23). Kırmızı yıldız: kıl folikülü, siyah yıldız: granülasyon dokusu, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, mor ok: keratin, mavi halka: kan damarını göstermektedir.



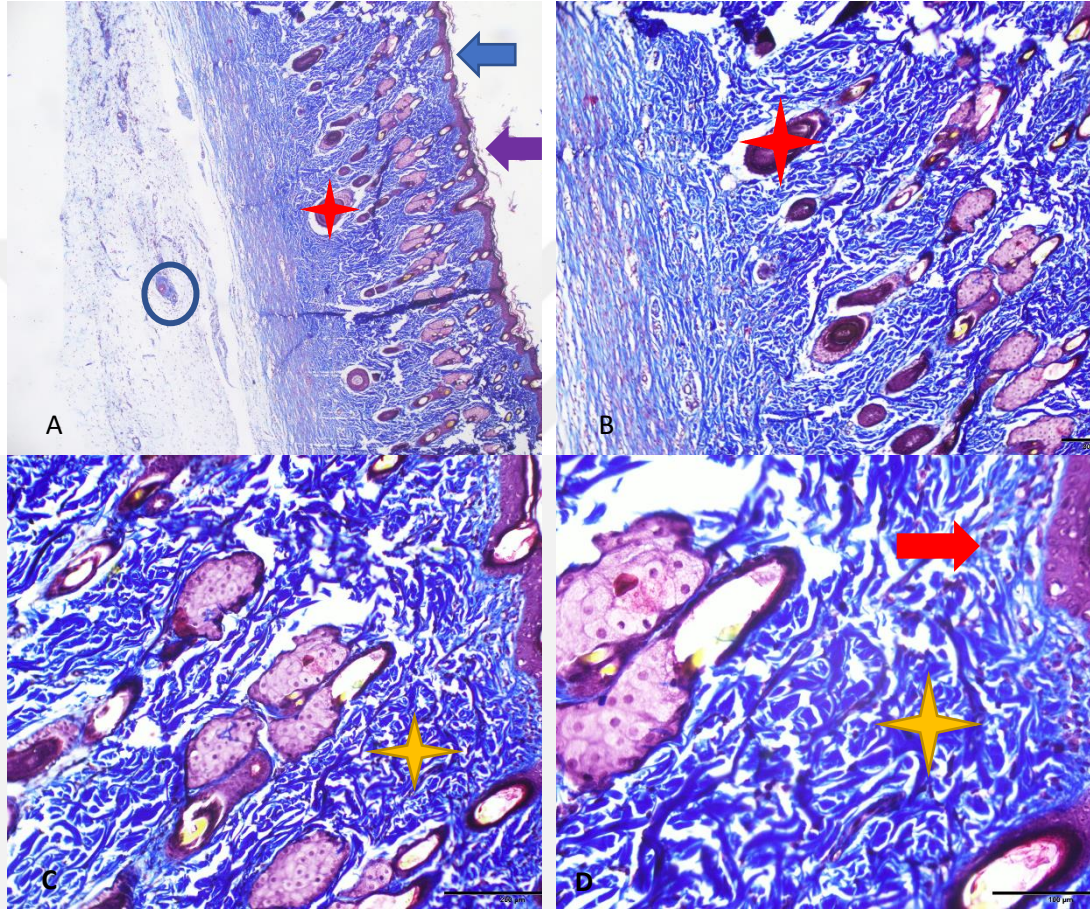
Şekil 4-23. 14. gün grup 4 MT boyama mikrofotografı A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 5'in 3. günündeki, yara açılıp fitokrem uygulanmış, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-24). Mavi yıldız: geçici matriks, yeşil yıldız: yara kabuğu, sarı yıldız: kollajen, kırmızı ok: lökosit, sarı ok: eritrosit, mavi halka: kan damarı, yeşil halka: adipositi göstermektedir.



Şekil 4-24. 3. gün grup 5 MT boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 5'in 14. gündeki, yara açılıp fitokrem uygulanmış, MT ile boyanmış deri dokusu izlenmektedir (Şekil 4-25). Kırmızı yıldız: kıl folikülü, siyah yıldız: granülasyon dokusu, sarı yıldız: kollajen, mavi ok: epidermis, mor ok: keratin, kırmızı ok: lökosit, mavi halka: kan damarını göstermektedir.



Şekil 4-25. 14. gün grup 5 MT boyama mikrofotografı A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Yapılan istatistiki analizlerde MT boyamada 3. günde; ödem artışında ($p=0,033$), kollajen yoğunluğunda ($p=0,006$), epidermal kalınlık artışında ($p=0,001$) ve total iyileşme skorunda ($p=0,015$) anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 4-7). 3. günde MT boyamada gruplar arası karşılaştırmada ödem skorunda; grup 1 ile grup 3 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,023$). Kollajen skorunda; grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,012$) ve grup 1 ile grup 4 arasındaki fark ($p=0,012$) anlamlı bulunmuştur. 3.

gün epidermal kalınlık skorunda grup 1 ile diğer gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,006$). 3. gün total iyileşme skorunda grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,012$) anlamlı bulunmuştur.

Yapılan istatistiki analizlerde MT boyamada 14. günde; ödem ($p=0,002$), kollajen ($p=0,017$) ve total iyileşme skorunda ($p=0,006$) anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 4-7). 14. günde MT boyamada gruplar arası karşılaştırmada ödem skorunda; grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,006$) ve grup 2 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,029$) anlamlı bulunmuştur. 14. gün kollajen skorunda grup 1 ile grup 2 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,015$). 14. gün total iyileşme skorunda grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,003$) anlamlı bulunmuştur.

Tablo 4-7. MT boyama 3. ve 14. gün K-W testi bütün parametreler (a, b, c: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün MT Ödem Skoru	G1-Kontrol	4±0	4 (4-4) ^a	0,033*
	G2-Yara	3±1,41	3,5 (2-4)	
	G3-Jel Kontrol	1,25±0,5	1 (1-1,5) ^b	
	G4-AD	2±1,41	1,5 (1-3)	
	G5-Fitokrem	2,5±0,58	2,5 (2-3)	
3.Gün MT Kollajen Skoru	G1-Kontrol	4±0	4 (4-4) ^a	0,006*
	G2-Yara	1±0	1 (1-1) ^b	
	G3-Jel Kontrol	1,25±0,5	1 (1-1,5)	
	G4-AD	1±0	1 (1-1) ^c	
	G5-Fitokrem	1,5±0,58	1,5 (1-2)	
3.Gün MT Epidermis Kalınlığı	G1-Kontrol	4±0	4 (4-4) ^a	0,001*
	G2-Yara	0±0	0 (0-0) ^b	
	G3-Jel Kontrol	0±0	0 (0-0) ^b	
	G4-AD	0±0	0 (0-0) ^b	
	G5-Fitokrem	0±0	0 (0-0) ^b	
3.Gün MT Total Skor	G1-Kontrol	12±0	12 (12-12) ^a	0,015*
	G2-Yara	4±1,41	4,5 (3-5)	
	G3-Jel Kontrol	2,5±0,58	2,5 (2-3) ^b	
	G4-AD	3±1,41	2,5 (2-4)	
	G5-Fitokrem	4±0,82	4 (3,5-4,5)	
14.Gün MT Ödem Skoru	G1-Kontrol	4±0	4 (4-4) ^a	0,002*
	G2-Yara	3,75±0,5	4 (3,5-4) ^s	
	G3-Jel Kontrol	2±0	2 (2-2) ^c	

	G4-AD	2,5±0,58	2,5 (2-3)	
	G5-Fitokrem	3±0	3 (3-3)	
14.Gün MT Kollajen Skoru	G1-Kontrol	4±0	4 (4-4) ^a	
	G2-Yara	2,5±0,58	2,5 (2-3) ^b	
	G3-Jel Kontrol	3±0	3 (3-3)	0,017*
	G4-AD	3,5±0,58	3,5 (3-4)	
	G5-Fitokrem	3,5±0,58	3,5 (3-4)	
14.Gün MT Epidermis Kalınlığı	G1-Kontrol	4±0	4 (4-4)	
	G2-Yara	2,75±0,5	3 (2,5-3)	
	G3-Jel Kontrol	2,75±1,5	3 (1,5-4)	0,117
	G4-AD	3,75±0,5	4 (3,5-4)	
	G5-Fitokrem	3,5±1	4 (3-4)	
14.Gün MT Total Skor	G1-Kontrol	12±0	12 (12-12) ^a	
	G2-Yara	9±0,82	9 (8,5-9,5)	
	G3-Jel Kontrol	7,75±1,5	8 (6,5-9) ^b	0,006*
	G4-AD	9,75±0,5	10 (9,5-10)	
	G5-Fitokrem	10±0,82	10 (9,5-10,5)	

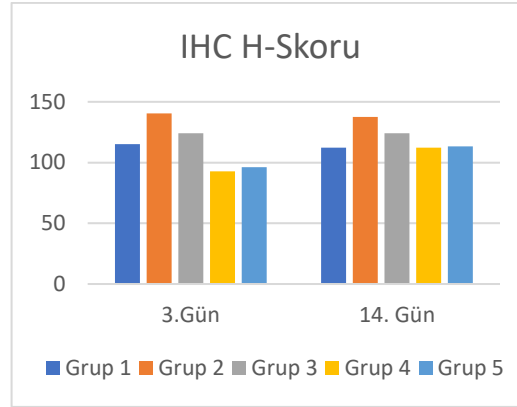
Tablo 4-7. MT boyama 3. ve 14. gün K-W testi bütün parametreler (devamı).

4.3.3. İmmünohistokimyasal Boyama ve Skorlama Bulguları

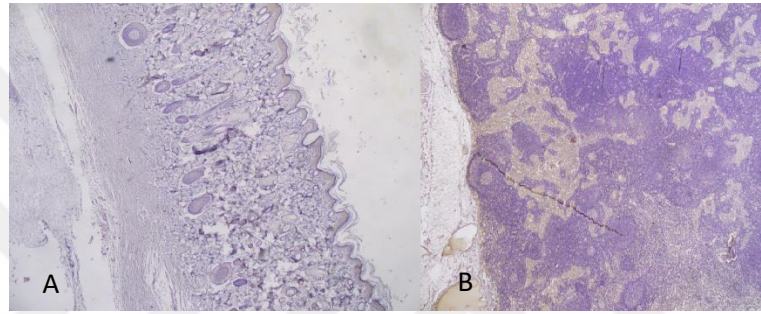
İmmünohistokimyasal boyama negatif (deri) ve pozitif kontrol (dalak) dokularındaki gösterilmiştir (Şekil 4-27). Enflamatuvar belirteç olan IL-6'nın IHC H-skorlama sonuçları gösterilmiştir (Tablo 4-8) (Şekil 4-26). 3. ve 14. günde IL-6, kontrol grubuyla ile kıyaslandığında en yüksek grup 2'de, en düşük grup 4 ve 5'te hesaplanmıştır. Grup 4 ve 5'te IL-6 immün reaktivitesi daha az izlenmiştir (3. gün $p=0,040$) (14. gün $p=0,193$).

Tablo 4-8. IHC H-skoru.

IL-6 IHC H-Skoru (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	115,1	112,35
2	140,45	137,5
3	124,25	124,2
4	92,85	112,3
5	96,1	113,4

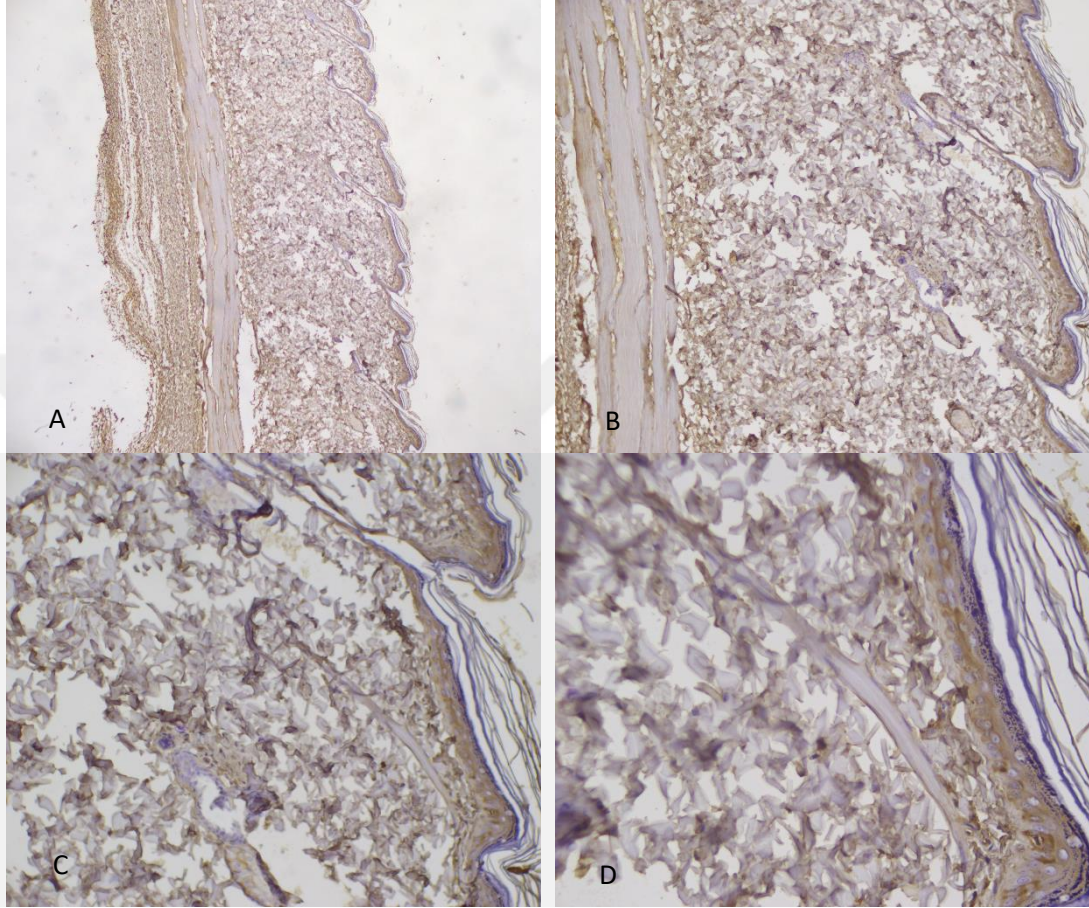


Şekil 4-26. IHC H-skoru.

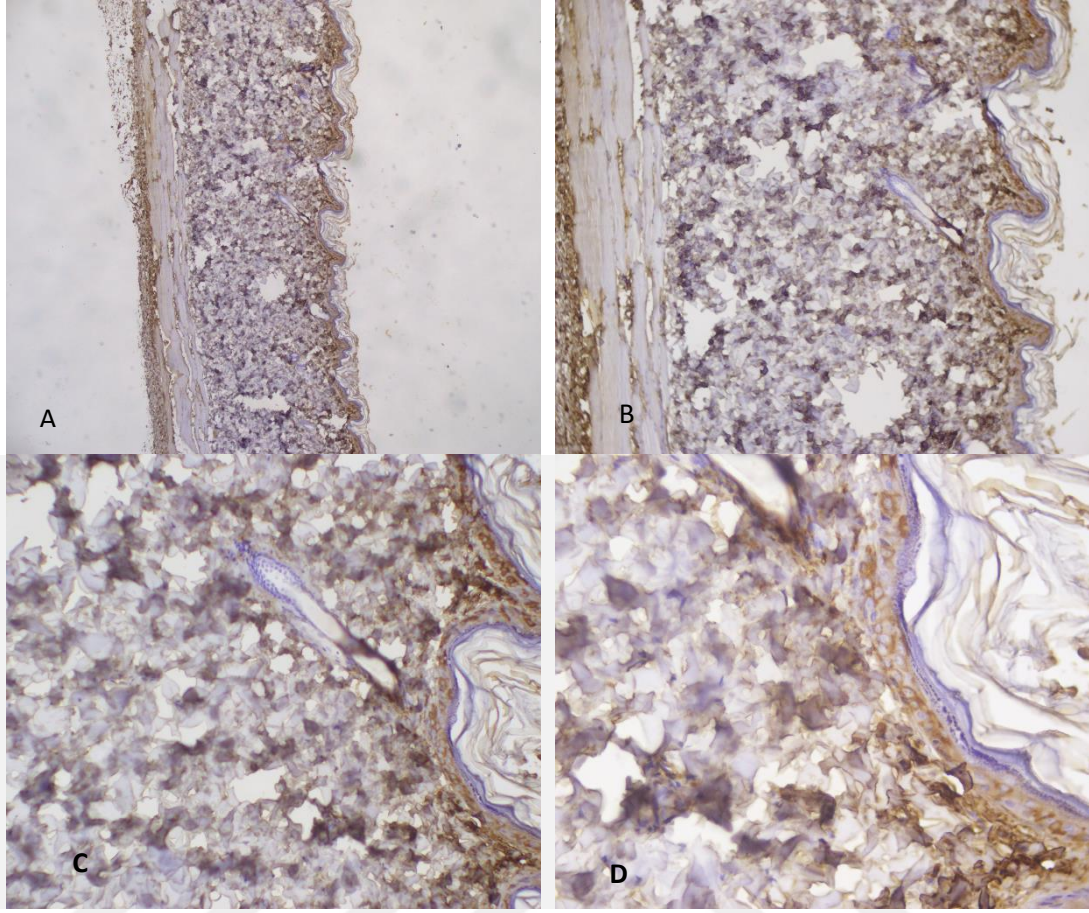


Şekil 4-27. IHC boyamada negatif kontrol (Deri X4) ve pozitif kontrol (Dalak X4) dokusu.

Grup 1'in 3. ve 14. gündeki IL-6 IHC boyama görüntüsü izlenmektedir (Şekil 4-28) (Şekil 4-29).

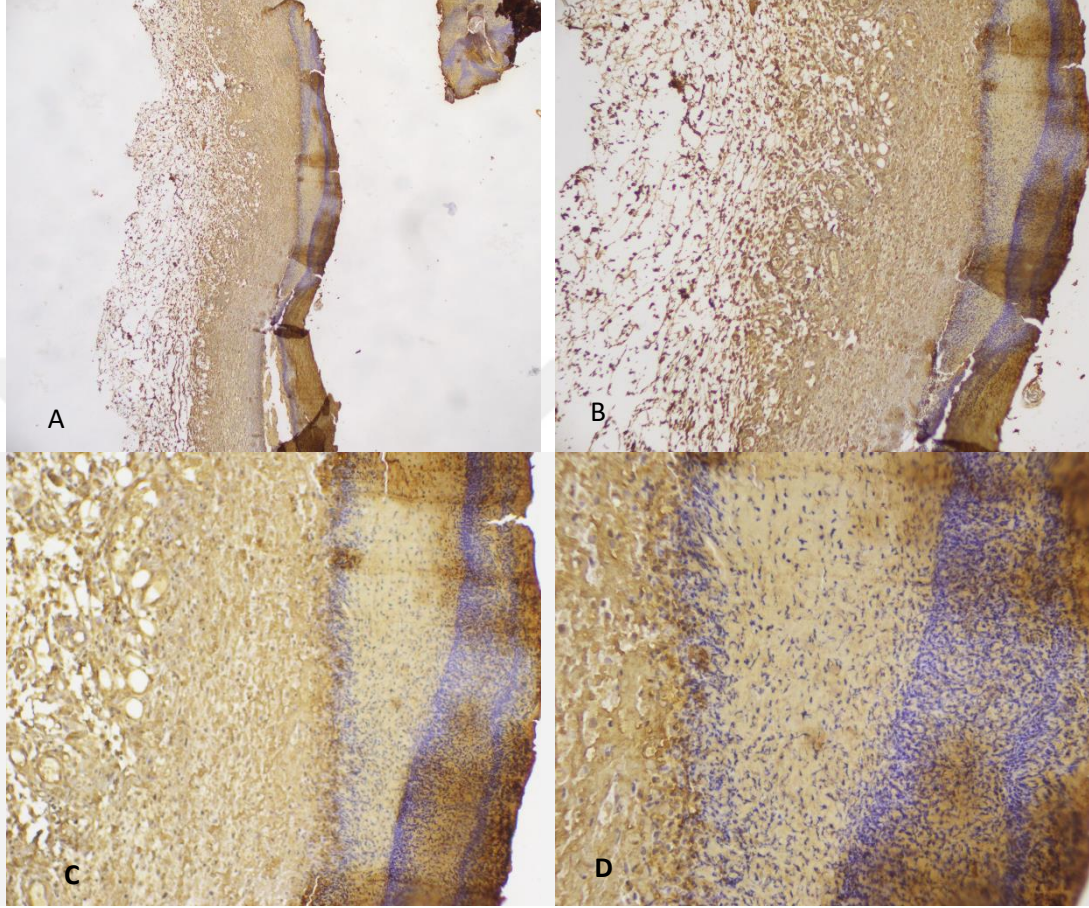


Şekil 4-28. Grup 1'in 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

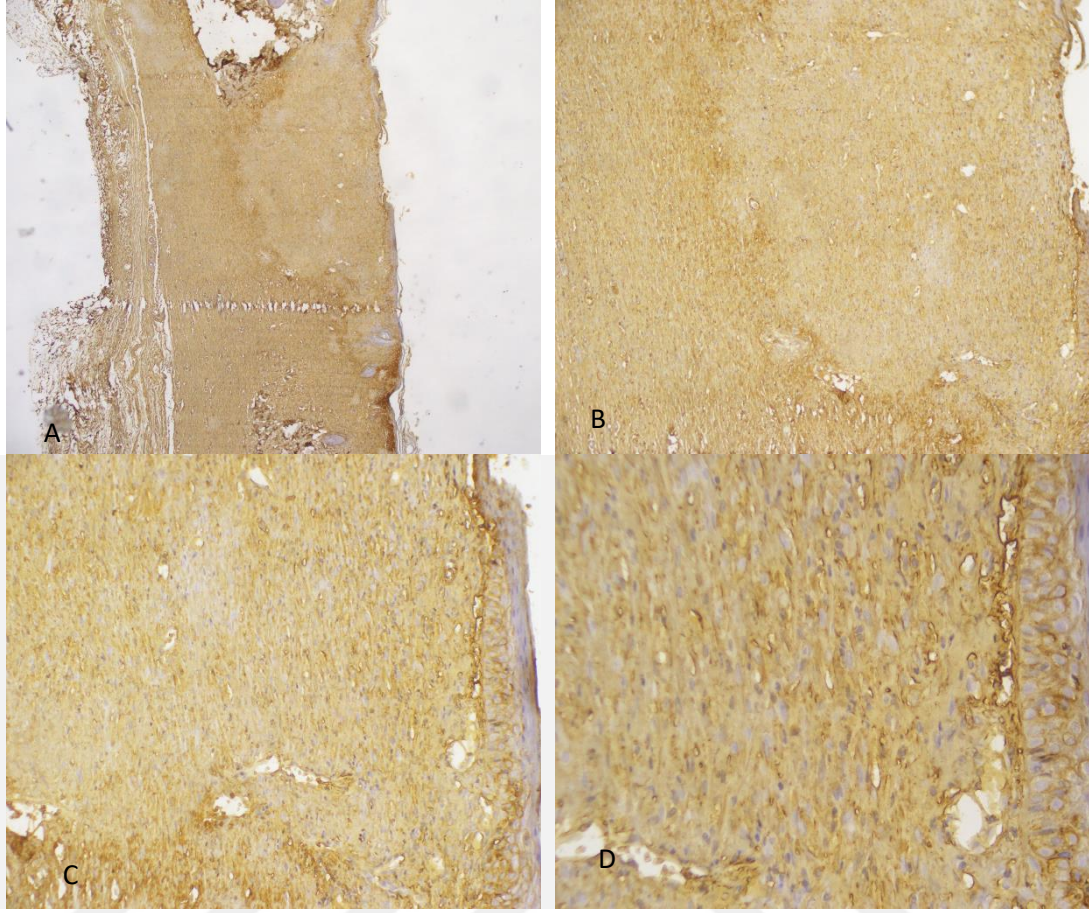


Şekil 4-29. Grup 1'in 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 2'nin 3. ve 14. gündeki IL-6 IHC boyama görüntüsü izlenmektedir (Şekil 4-30) (Şekil 4-31).

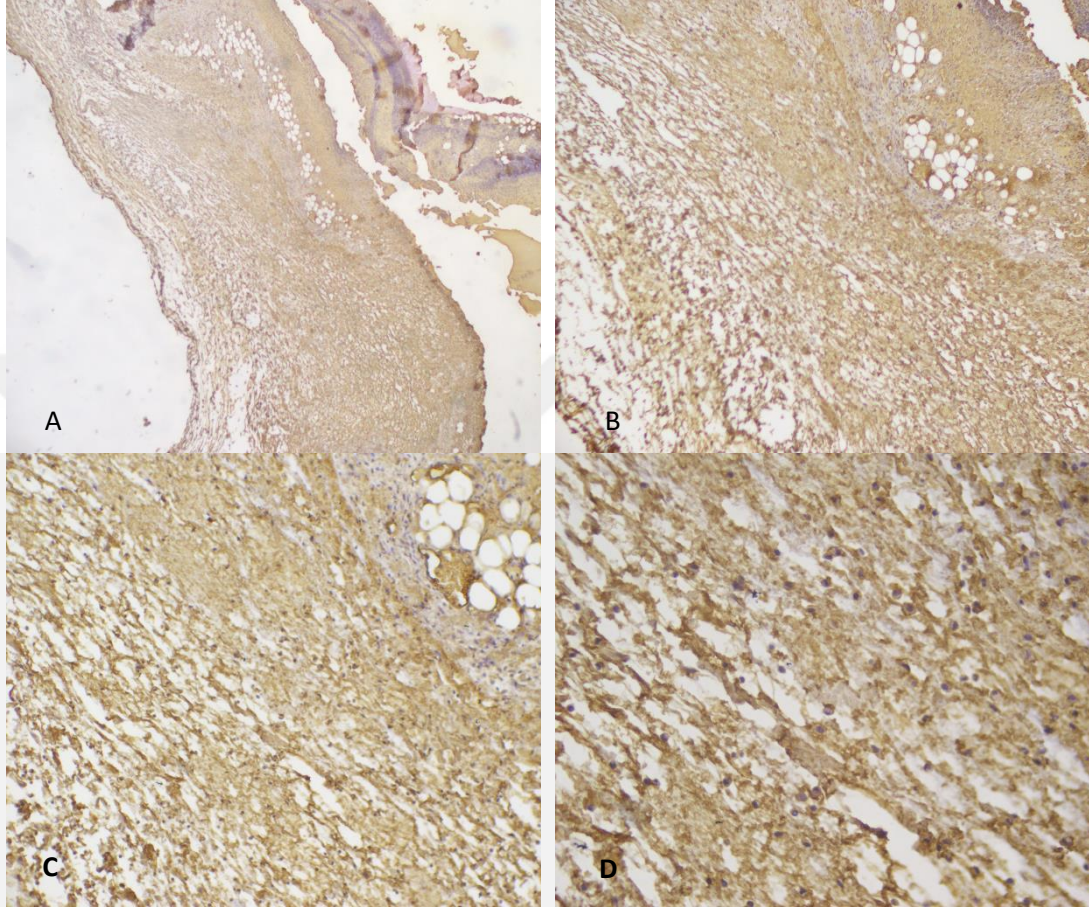


Şekil 4-30. Grup 2'nin 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

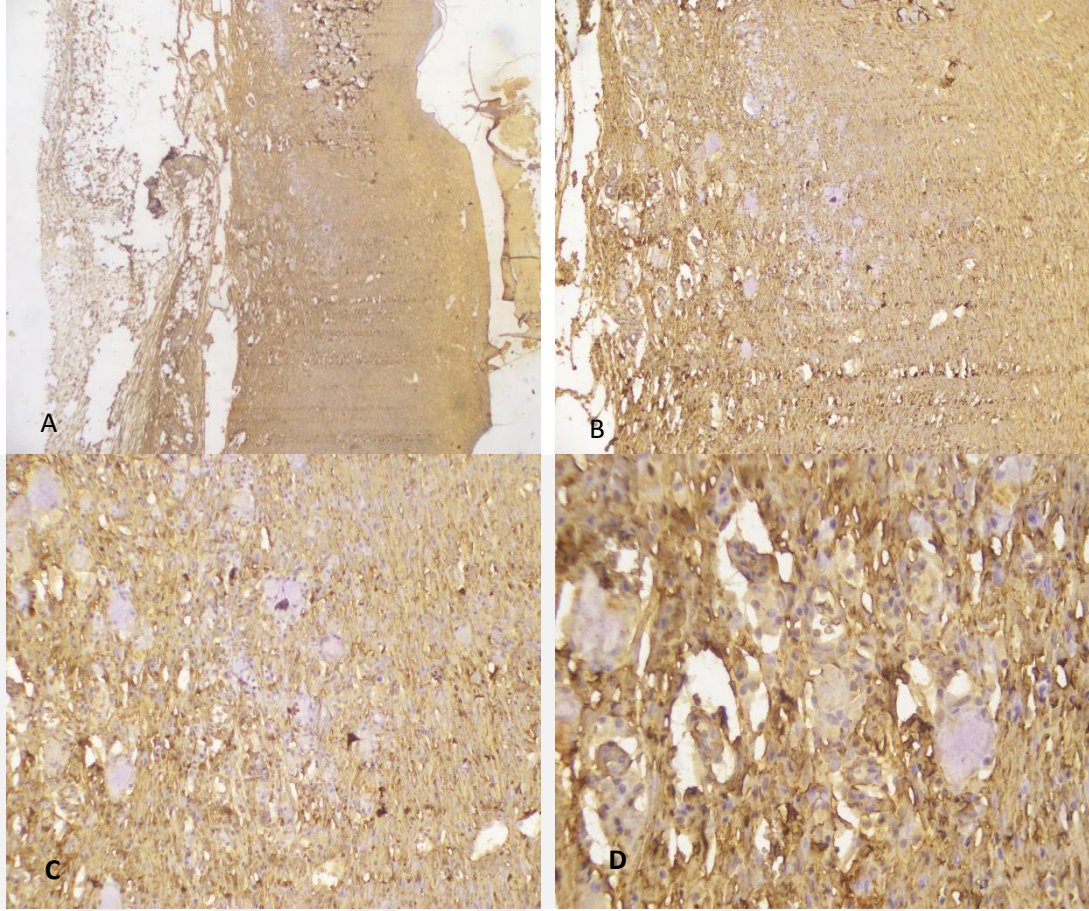


Şekil 4-31. Grup 2'nin 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 3'ün 3. ve 14. gündeki IL-6 IHC boyama görüntüsü izlenmektedir (Şekil 4-32) (Şekil 4-33).

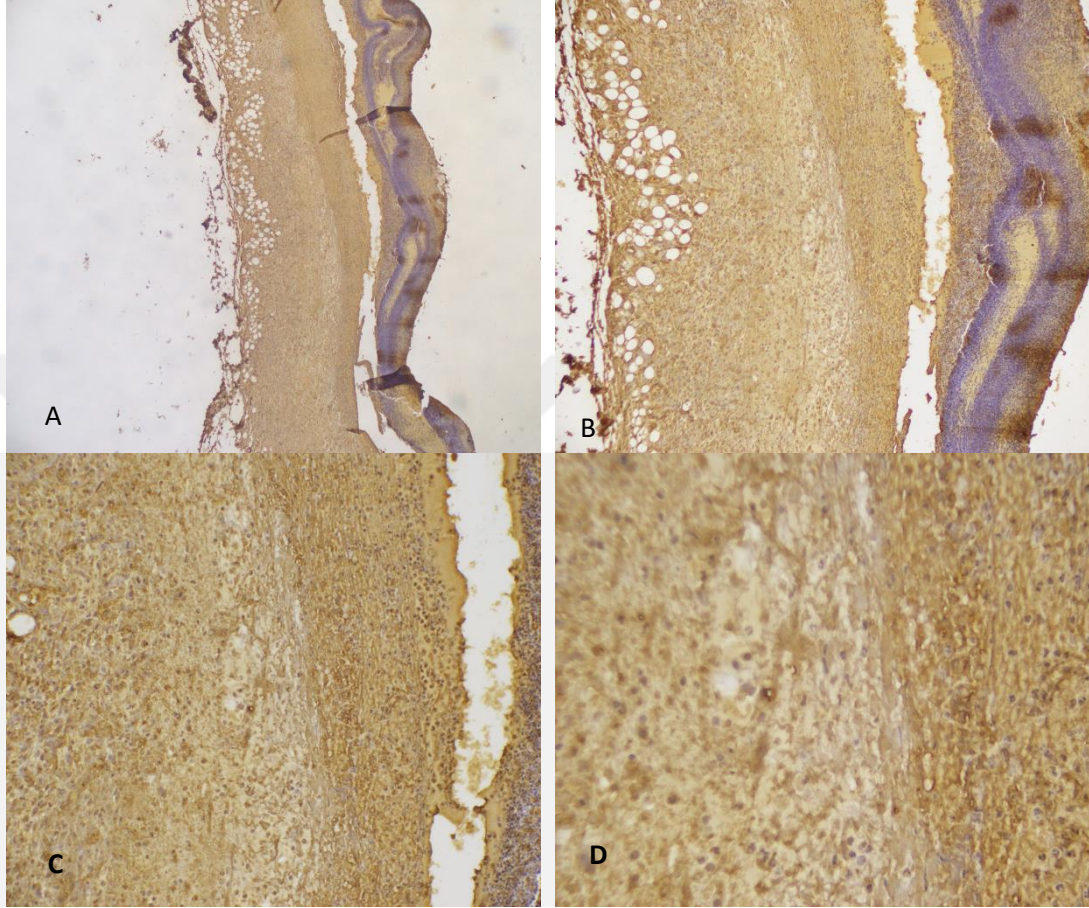


Şekil 4-32. Grup 3'ün 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

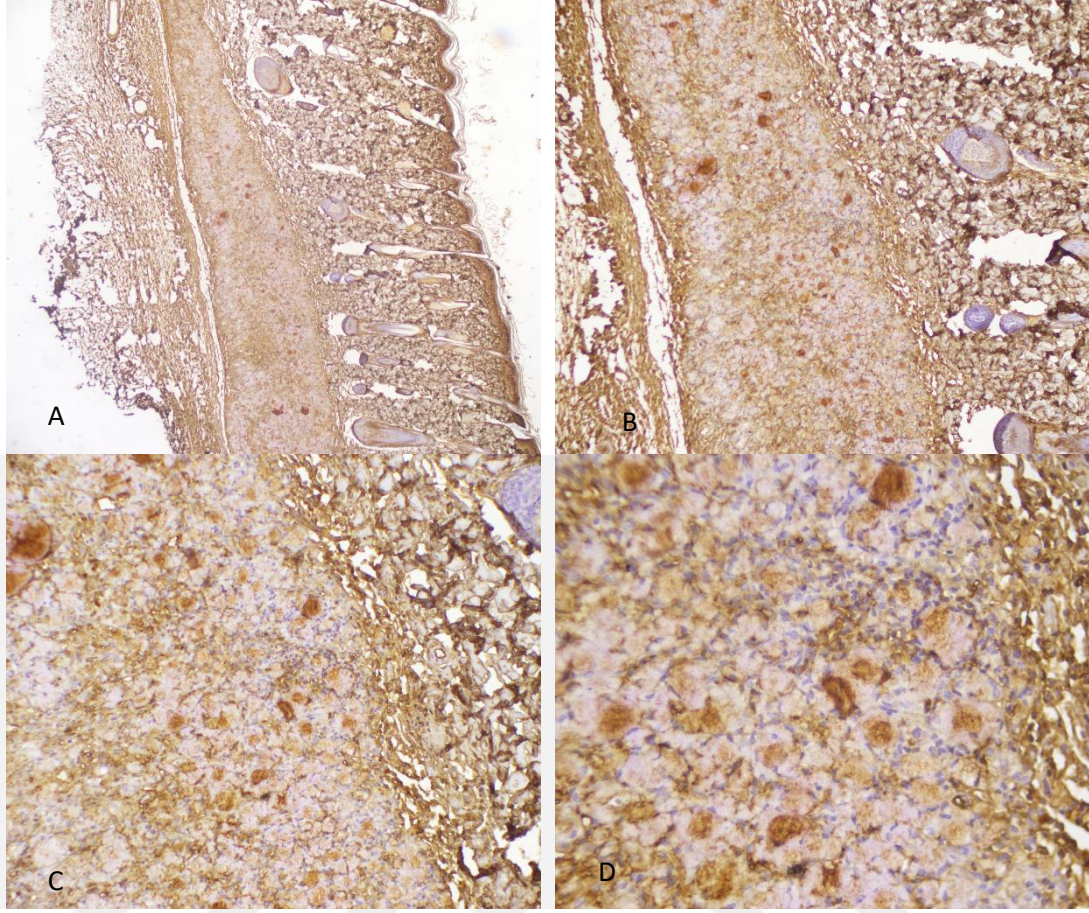


Şekil 4-33. Grup 3'ün 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 4'ün 3. ve 14. gündeki IL-6 IHC boyama görüntüsü izlenmektedir (Şekil 4-34) (Şekil 4-35).

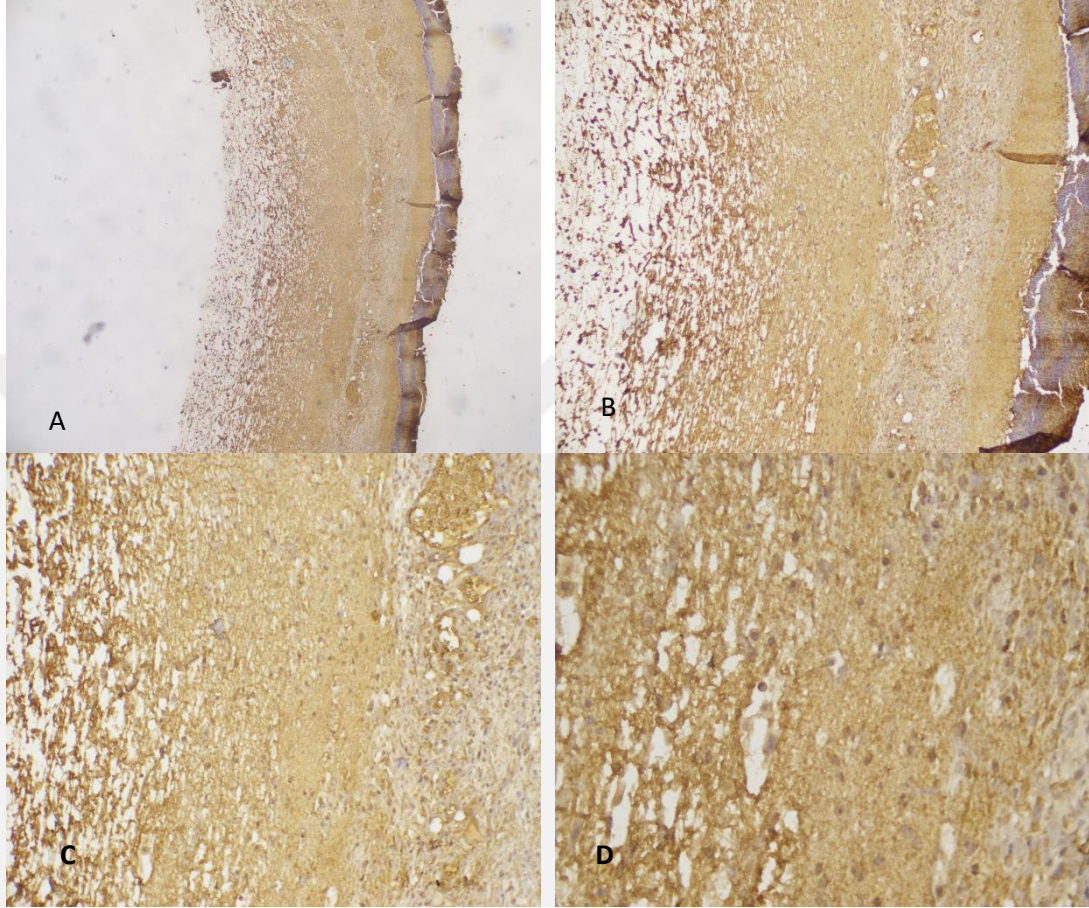


Şekil 4-34. Grup 4'ün 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

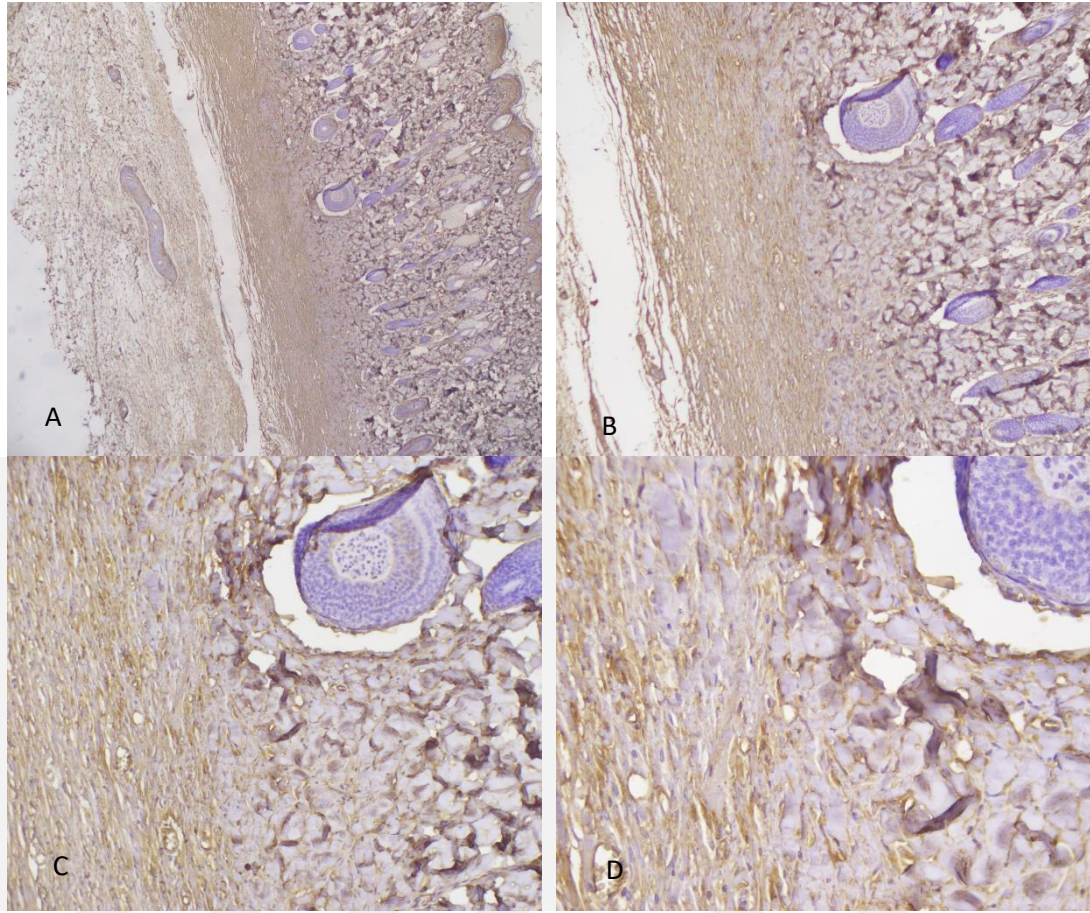


Şekil 4-35. Grup 4'ün 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Grup 5'in 3. ve 14. gündeki IL-6 IHC boyama görüntüsü izlenmektedir (Şekil 4-36) (Şekil 4-37).



Şekil 4-36. Grup 5'in 3. gün IL-6 IHC boyama mikrofotoğrafları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.



Şekil 4-37. Grup 5'in 14. gün IL-6 IHC boyama mikrofotografaları A) x4 büyütme B) x10 büyütme C) x20 büyütme D) x40 büyütme.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde IL-6 immün reaktivitesi anlamlı bulunurken ($p=0,040$), 14. günde fark anlamlı bulunmamıştır. Gruplar arası karşılaştırma için yapılan istatistiki analizlerde IL-6 için, 3. ve 14. günlerde fark anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4-9).

Tablo 4-9. IL-6 IHC H-skoru K-W testi.

	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	P
3.Gün IHC H-Skoru IL-6	G1-Kontrol	115,1±7,85	116,4 (110-120,2)	0,040*
	G2-Yara	140,45±12,97	143,9 (132-148,9)	
	G3-Jel Kontrol	124,25±31,26	118,5 (100,5-148)	
	G4-AD	92,85±18,33	87,3 (81,8-103,9)	
	G5-Fitokrem	96,1±18,72	97,5 (83,5-108,7)	
14.Gün IHC H-Skoru IL-6	G1-Kontrol	112,35±11,64	114,7 (104,8-119,9)	0,193
	G2-Yara	137,53±16,51	132,55 (125,9-149,15)	
	G3-Jel Kontrol	124,2±39,58	108,4 (102,1-146,3)	
	G4-AD	112,3±20,88	114,2 (98-126,6)	
	G5-Fitokrem	113,45±8,34	115,1 (107,7-119,2)	

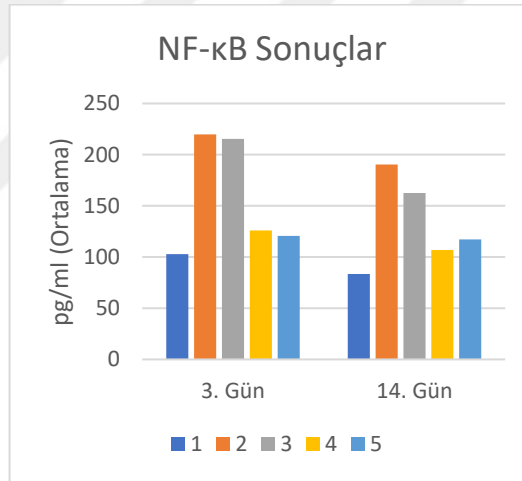
4.4. Biyokimyasal Bulgular

4.4.1.NF-κB Bulguları

NF-κB değeri 3. ve 14. günde; grup 1 ile kıyaslandığında en yüksek grup 2’de, en düşük grup 4 (AD grubu) ve 5’te (Fitokrem grubu) tespit edilmiştir (Tablo 4-10) (Şekil 4-38).

Tablo 4-10. NF-κB sonuçları.

NF-κB Sonuçlar pg/ml (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	102,74	83,29
2	219,63	190,36
3	215,50	162,51
4	126,02	106,81
5	120,62	117,23



Şekil 4-38. NF-κB sonuçları.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde ve 14. günde NF-κB değerindeki artış anlamlı bulunmuştur ($p=0,002$). NF-κB değerinin 3. günde gruplar arası karşılaştırmada, grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,008$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,013$) anlamlı bulunmuştur. 14. günde yine gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,001$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,041$) anlamlı bulunmuştur (Tablo 4-11).

Tablo 4-11. 3. ve 14. gündeki NF-κB değerleri K-W testi (a, b, c: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

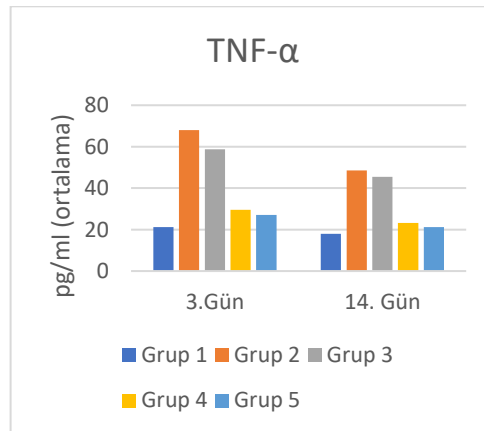
	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün NF-KB pg/mL	G1-Kontrol	102,74±8,81	100,69 (96,31-109,18) ^a	0,002*
	G2-Yara	219,64±17,28	218,1 (205,59-233,69) ^b	
	G3-Jel Kontrol	215,51±13,37	216,41 (205,46-225,56) ^c	
	G4-AD	126,02±3,1	126,66 (123,57-128,48)	
	G5Fitokrem	120,62±6,77	122,89 (115,92-125,32)	
14.Gün NF-KB Pg/mL	G1-Kontrol	83,29±4,41	84,5 (80,02-86,56) ^a	0,002*
	G2-Yara	190,37±16,27	185,21 (180,12-200,61) ^b	
	G3-Jel Kontrol	162,51±16,94	169,14 (153,06-171,96) ^c	
	G4-AD	106,81±10,71	108,77 (98,68-114,95)	
	G5-Fitokrem	117,24±13,42	111,99 (109,27-125,21)	

4.4.2. TNF-α Bulguları

TNF-α immün belirteci sonuçları 3. ve 14. günde; grup 1 ile kıyaslandığında en yüksek grup 2 ve 3'te, en düşük ise grup 4 ve 5'te çıkmıştır (Tablo 4-12) (Şekil 4-39).

Tablo 4-12. TNF-α sonuçları.

TNF-α Sonuçlar pg/ml (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	21,26	17,94
2	68,05	48,48
3	58,71	45,40
4	29,58	23,19
5	27,03	21,19



Şekil 4-39. TNF-α sonuçları.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,001$). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada, grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,001$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,041$) anlamlı bulunmuştur (Tablo 4-13).

Yapılan istatistiki analizlerde 14. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,003$). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,007$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,034$) anlamlı bulunmuştur (Tablo 4-13).

Tablo 4-13 . 3. ve 14. gündeki TNF- α değerleri K-W testi (a, b, c: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

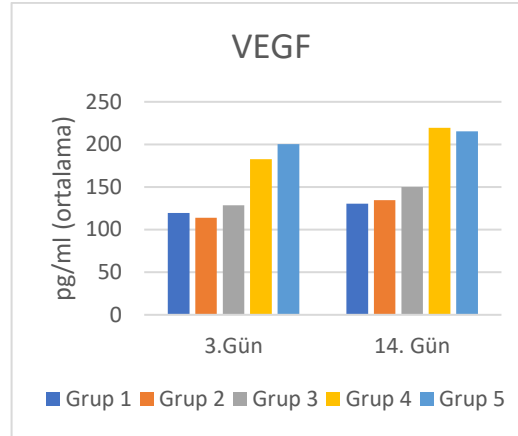
	Gruplar	Ort $\pm$ SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün TNF-A pg/mL	G1-Kontrol	21,26 $\pm$ 1,37	21,14 (20,36-22,17) ^a	0,001*
	G2-Yara	68,05 $\pm$ 5,7	66,73 (63,48-72,63) ^b	
	G3-Jel Kontrol	58,72 $\pm$ 3,03	57,21 (57,19-60,24) ^c	
	G4-AD	29,58 $\pm$ 2,38	28,93 (28,12-31,05)	
	G5-Fitokrem	27,03 $\pm$ 3,05	26,57 (24,54-29,52)	
14.Gün TNF-A pg/mL	G1-Kontrol	17,95 $\pm$ 2,14	17,86 (16,51-19,38) ^a	0,003*
	G2-Yara	48,49 $\pm$ 3,43	48,92 (45,76-51,22) ^b	
	G3-Jel Kontrol	45,4 $\pm$ 5,33	42,99 (42,29-48,51) ^c	
	G4-AD	23,2 $\pm$ 2,74	23,59 (20,89-25,51)	
	G5-Fitokrem	21,19 $\pm$ 2,1	20,82 (19,49-22,89)	

4.4.3. VEGF Bulguları

VEGF sonuçları 3. ve 14. günde; grup 1 ile kıyaslandığında VEGF sonuçları en yüksek grup 4 ve 5'te, en düşük grup 2 ve 3'te çıkmıştır (Tablo 4-14) (Şekil 4-40).

Tablo 4-14. VEGF sonuçları.

VEGF Sonuçlar pg/ml (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	119,64	130,36
2	113,96	134,69
3	128,63	150,13
4	182,76	219,47
5	200,20	215,22



Şekil 4-40. VEGF sonuçları.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,006$). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 5 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,028$) (Tablo 4-15).

Yapılan istatistiki analizlerde 14. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,004$). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada, grup 1 ile grup 4 arasındaki fark ($p=0,034$) ve grup 1 ile grup 5 arasındaki fark ($p=0,034$) anlamlı bulunmuştur (Tablo 4-15).

Tablo 4-15. 3. ve 14. gündeki VEGF değerleri K-W testi (a, b, c: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

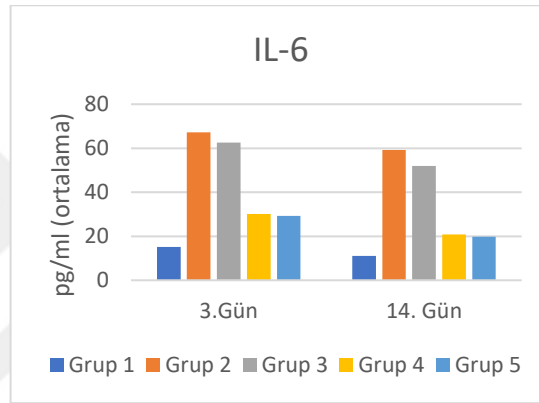
	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3. Gün VEGF pg/mL	G1-Kontrol	119,65±16,07	119,29 (106,13-133,16) ^a	0,006*
	G2-Yara	133,97±18,49	130,13 (119,88-148,05)	
	G3-Jel Kontrol	128,64±10,41	132,06 (121,13-136,14)	
	G4-AD	182,77±16,69	179,5 (170,87-194,67)	
	G5-Fitokrem	200,21±24,77	195,54 (180,18-220,24) ^b	
14. Gün VEGF pg/mL	G1-Kontrol	130,36±15,7	132,68 (120,75-139,97) ^a	0,004*
	G2-Yara	134,7±14,86	133,16 (122,1-147,29)	
	G3-Jel Kontrol	150,13±1,72	149,66 (148,97-151,3)	
	G4-AD	219,48±26,4	221,87 (202,47-236,48) ^b	
	G5-Fitokrem	215,22±12,21	215,07 (204,66-225,78) ^c	

4.4.4. IL-6 Bulguları

IL-6 sonuçları 3. ve 14. günde; grup 1 ile kıyaslandığında en yüksek grup 2 ve 3'te, en düşük grup 4 ve 5'te çıkmıştır (Tablo 4-16) (Şekil 4-41).

Tablo 4-16. IL-6 sonuçları.

IL-6 Sonuçlar pg/ml (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	15,18	11,10
2	67,19	59,26
3	62,59	52,01
4	30,11	20,84
5	29,32	19,86

**Şekil 4-41.** IL-6 sonuçları.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde ve 14. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,002$). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,007$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,010$) anlamlı bulunmuştur. 14. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 2 arasındaki fark ($p=0,002$) ve grup 1 ile grup 3 arasındaki fark ($p=0,034$) anlamlı bulunmuştur (Tablo 4-17).

Tablo 4-17. 3. ve 14. gün IL-6 değerleri K-W testi (a, b: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

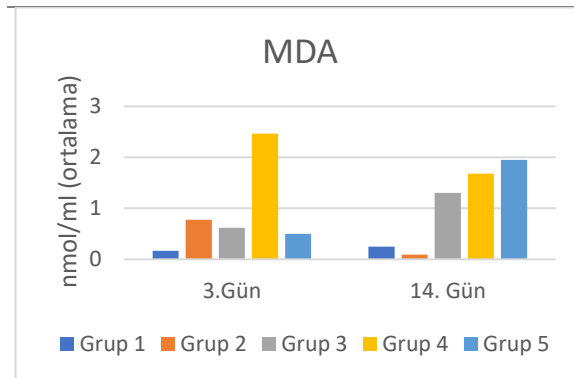
	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün IL-6 pg/mL	G1-Kontrol	15,18±0,68	15,04 (14,69-15,68) ^a	0,002*
	G2-Yara	67,2±7,44	65,87 (62,31-72,09) ^b	
	G3-Jel Kontrol	62,59±6,43	64,8 (58,02-67,17) ^c	
	G4-AD	30,12±2,36	30,03 (28,28-31,96)	
	G5-Fitokrem	29,33±2,21	30,16 (27,91-30,75)	
14.Gün IL-6 pg/ml	G1-Kontrol	11,11±0,59	11,05 (10,62-11,6) ^a	0,002*
	G2-Yara	59,26±3,34	59,99 (57,04-61,49) ^b	
	G3-Jel Kontrol	52,02±4,46	51,81 (49,29-54,75) ^c	
	G4-AD	20,84±2,18	21,77 (19,48-22,2)	
	G5-Fitokrem	19,87±3,65	20,79 (17,34-22,39)	

4.4.5. MDA Bulguları

MDA sonuçları 3. günde grup 1 ile kıyaslandığında en yüksek grup 4'te, en düşük grup 5'te çıkmıştır. 14. günde grup 1 ile kıyaslandığında MDA sonuçları en yüksek grup 5'te, en düşük grup 2'de çıkmıştır (Tablo 4-18) (Şekil 4-42).

Tablo 4-18. MDA sonuçları.

MDA Değerleri nmol/ml (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	0,1682	0,2509
2	0,7737	0,0897
3	0,6180	1,3037
4	2,4638	1,6810
5	0,4991	1,9504



Şekil 4-42. MDA sonuçları.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde fark anlamlı çıkmıştır ($p=0,029$). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada ise grup 1 ile grup 4 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,019$) (Tablo 4-19).

Yapılan istatistiki analizlerde 14. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,027$). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 2 ile grup 5 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,028$) (Tablo 4-19).

Tablo 4-19. 3. ve 14. gündeki MDA değerleri K-W testi (a, b: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

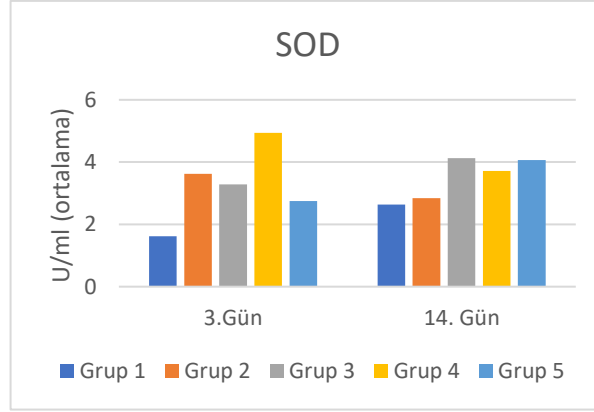
	Gruplar	Ort $\pm$ SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün MDA Sonuç	G1-Kontrol	0,17 $\pm$ 0,06	0,17 (0,12-0,22) ^a	0,029*
	G2-Yara	0,77 $\pm$ 0,7	0,71 (0,2-1,35)	
	G3-Jel Kontrol	0,62 $\pm$ 0,32	0,71 (0,41-0,82)	
	G4-AD	2,46 $\pm$ 0,23	2,5 (2,27-2,66) ^b	
	G5-Fitokrem	0,5 $\pm$ 0,46	0,5 (0,11-0,89)	
14.Gün MDA Sonuç	G1-Kontrol	0,25 $\pm$ 0,15	0,29 (0,14-0,36)	0,027*
	G2-Yara	0,09 $\pm$ 0,04	0,09 (0,06-0,12) ^a	
	G3-Jel Kontrol	1,3 $\pm$ 0,29	1,33 (1,11-1,5)	
	G4-AD	1,68 $\pm$ 1,81	1,69 (0,11-3,25)	
	G5-Fitokrem	1,95 $\pm$ 0,12	1,95 (1,88-2,02) ^b	

4.4.6. SOD Bulguları

SOD sonuçları 3. günde grup 1 ile kıyaslandığında en yüksek grup 4'te, en düşük grup 5'te çıkmıştır. 14. günde grup 1 ile kıyaslandığında SOD sonuçları en yüksek grup 3 ve 5'te, en düşük grup 2'de çıkmıştır (Tablo 4-20) (Şekil 4-43).

Tablo 4-20. SOD sonuçları.

SOD Değerleri U/ml (Ortalama)		
Grup	3. Gün	14. Gün
1	1,6181	2,6390
2	3,6243	2,8373
3	3,2812	4,1222
4	4,9348	3,7153
5	2,7467	4,0691



Şekil 4-43. SOD sonuçları.

Yapılan istatistiki analizlerde 3. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,007$). 3. günde gruplar arası karşılaştırmada grup 1 ile grup 4 arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,003$) (Tablo 4-21).

Yapılan istatistiki analizlerde 14. günde anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,043$). 14. günde gruplar arası karşılaştırmada gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4-21).

Tablo 4-21. 3. ve 14. gündeki SOD değerleri K-W testi (a, b, c: Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı temsil etmektedir (Dunn's testi)).

	Gruplar	Ort±SS	Medyan (Q1-Q3)	p
3.Gün SOD Sonuç	G1-Kontrol	1,62±0,3	1,57 (1,39-1,84) ^a	0,007*
	G2-Yara	3,62±0,77	3,47 (3,07-4,18)	
	G3-Jel Kontrol	3,28±0,49	3,34 (2,96-3,6)	
	G4-AD	4,93±0,23	4,83 (4,82-5,05) ^b	
	G5-Fitokrem	2,75±1	2,92 (1,96-3,53)	
14.Gün SOD Sonuç	G1-Kontrol	2,64±0,45	2,65 (2,29-2,98)	0,043*
	G2-Yara	2,84±0,75	2,97 (2,33-3,35)	
	G3-Jel Kontrol	4,12±0,5	4,05 (3,72-4,53)	
	G4-AD	3,72±1,85	3,92 (2,41-5,03)	
	G5-Fitokrem	4,07±0,5	3,93 (3,72-4,42)	

5.TARTIŞMA

Günümüzde yara iyileşmesinin önemi; artan ortalama yaşam beklentisi, kronik hastalıklar ve antibiyotik direnci yüzünden artmaktadır. Yara iyileşmesinin 4 evresinin herhangi birinde meydana gelebilecek problemler iyileşmeyi olumsuz etkileyerek istenmeyen birçok yan etkiye sebep olabilmektedir. Yaranın daha uygun, daha hızlı ve daha az yan etkiyle iyileşmesi gittikçe önem kazanmaktadır. *Arum dioscoridis* bitkisinin geleneksel olarak yara tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Biz de çalışmamızda sıçan yara dokusunda *Arum dioscoridis* bitkisinin iyileşme üzerine etkisini NF-κB yolağı üzerinden inceledik.

Bu çalışmada *Arum dioscoridis* bitkisinin özütü metanolla çıkarıldı. Elde edilen metanol özütünün önemli ölçüde antioksidan aktivite ($IC_{50} = 0,11$ mg/ml) ve fenolik madde ($99,48 \pm 0.54$ μ M GAE/mg özüt) içerdiği tespit edildi. Karahan ve ark. (84) metanol ve etanol gibi polar çözücülerin, *Arum dioscoridis* bitkisindeki değerli bileşiklerin ekstrakte edilmesinde etkili olduğunu vurgulamış ve bitkide bulunan bazı ana biyoaktif bileşikleri tanımlamıştır. Çalışmamızda kullandığımız *Arum dioscoridis* özütünde LC-MS/MS analizi sonucunda özellikle quinic asit ve cyranoside değerleri yüksek bulunmuştur. Genç ve ark. (85) yaptıkları çalışmada, quinic asidin yara iyileşmesinde fibroblastları aktive ettiklerini göstermiştir. Chen ve ark. (86) ise cyranoside (luteolin türevi) bileşiğinin; VEGF ekspresyonunu düzenlediğini, antienflamatuar etkilerinin olduğunu ve doku onarımını desteklediğini göstermişlerdir. Bu veriler ışığında LC-MS/MS analizi ile *Arum dioscoridis* bitki özütünde tespit ettiğimiz antienflamatuar ve antioksidan özelliğindeki bu fenolik bileşenler bu bitkiyi içeren hidrojelle tedavi edilen yaralarda potansiyel olarak yara iyileştirici etkiye sahip olabilir.

Yara alanı yüzdesi 0. günde grup 1’de %0, diğer gruplarda %100 kabul edildi ve 3, 7 ve 14. günlerde 0. güne göre kıyaslandı. Yara alan yüzde değerleri için 0, 3, 7 ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 0. günde grup 1 ile diğer gruplar arasında; 3. ve 7. günde grup 1 ile 5 arasında; 14. günde grup 1 ile 3 arasında yara alan yüzdesinin azalmasında anlamlı fark bulunmuştur. Çolak ve ark.

(87) çalışmalarında yanık yara yeri deneyinde kontrol grubunda hiçbir işlem yapmayarak deney gruplarıyla kıyaslamışlardır. Singer ve Clark (88) ise granülasyon dokusunun 4. günden sonra, yara kontraksiyonunun da 2. haftada başladığını belirtmiştir. Biz de grup 1'de (kontrol grubu) yara açılmaması ve derinin sağlıklı kalarak bazal değerlerini korumasının; granülasyonunu, yara kontraksiyonunu ve iyileşmesini tamamlayamayan diğer gruplarla kıyaslandığında, 0. ve 3. gündeki istatistiki farkları açıkladığını düşündük.

3. günde; grup 2, 3 ve 4'te yara alanı yüzdesi azalırken, grup 5'te (fitokrem grubu) yara alanı yüzdesinin arttığı gözlemlenmiştir. 7. günde yara alanı yüzdeleri bütün gruplarda azalırken, grup 5'te grup 1'e kıyasla anlamlı yüksek kalmaya devam etmiştir. Sharpe ve Martin (89) çalışmalarında özellikle erken aşamalarda tedavilerin yara kontraksiyonunu önemli ölçüde azalttığını belirtmiştir. Biz de çalışmamızda iyileştirici etkisi bilinen fitokremin yara yerinde erken aşamada yara kontraksiyonunu azalttığını ve yara alanında geçici genişlemeye sebep olduğunu düşündük.

14. gün sonunda yara alanı yüzdesi en az azalan grup 3 (kontrol jel grubu) olurken, yara alanı yüzdesi en fazla azalan grup 2 (yara grubu) olmuştur. İstatistiki olarak grup 1 ile grup 3 arasındaki fark anlamlı çıkmıştır. Cutting ve White (90) çalışmalarında nem kaynaklı maserasyonun yara iyileşmesini geciktirebileceğinden bahsetmiştir. Biz de grup 3'ün yara alan yüzdesi en az azalan grup olmasının bu anlamlı farka sebep olduğunu ve bu farkın hidrojelin yapısındaki nemden kaynaklı olduğunu düşündük. Sharpe ve Martin (89) çalışmalarında tedavinin yara kontraksiyonunu azalttığını, Chen ve ark. (91) insanda iyileşmenin reepitelizasyon temelli iken, kemirgenlerde iyileşmenin yara kontraksiyonu temelli olduğunu belirtmişlerdir. Winter (92) çalışmasında epitelizasyonun yarayı kaplayan kuru kabuk (scab) tarafından geciktirildiğini, kabuk oluşumu engellendiğinde ise epitelizasyon hızının arttığını belirtmiştir. Biz de çalışmamızda hiç tedavi vermediğimiz grup 2'de yara alanı yüzdesinin azalmasını; yaranın kuru kalması ve yara kontraksiyonunun artışına bağlı olduğunu düşündük. 14. gün sonunda grup 1 ile (grup 3 hariç) diğer gruplar arasındaki istatistiki farkın anlamlı olmamasını; bu grupların yara kapanma yüzdelerinin fazlalığı ve sağlıklı dokuyla farklarının azalması sayesinde olduğunu

düşündük. Yani bu gruplarda iyileşme yüksek olduğu için kontrol grubuyla farkları azalmıştı. Ayrıca yara yeri yüzdesindeki azalmanın yaranın tüm tabakalarında düzgün iyileşme ile doğru orantılı olamayabileceğini ve yara yeri iyileşmesinin tek kriteri sayılamayacağını düşündük.

Çalışmamızda HE boyalı doku kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesinde Van de Vyver ve ark. (26) çalışmalarında kullandığı parametreler kullanılmıştır. 3. günde, bütün HE boyamasında yara yeri iyileşme parametrelerinde, anlamlı fark bulunmuştur. Bunun sonucunda yapılan gruplar arası karşılaştırmada ise, 3. günde grup 1 ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Grup 2, 3, 4 ve 5'in ise kendi aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Singer ve Clark (88) çalışmalarında yara iyileşmesini erken evrelerinde esas amacın yara yerini nötrofillerden, yabancı partiküllerden ve bakterilerden temizlemek olduğunu ve keratinosit göçü için granülasyon dokusunun gerekli olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda ise 3. günde enflamatuar hücre infiltrasyonun fazla olduğunu ve yara iyileşmesinin enflamatuar fazında belirgin artış olduğunu izledik. Böylece keratinosit hücre göçünün hızlanmadığını, reepitelizasyonun tamamlanamadığını düşündük.

14. günde HE boyamada; reepitelizasyon, ETI, remodelling, SEI ve total iyileşme skoru parametrelerinde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada, remodelling ve SEI parametrelerinde grup 1 ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada total iyileşme skorunda grup 1 ile, grup 2 ve 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. Velnar ve ark. (22) çalışmalarında remodelling fazının 3. haftada başladığını belirtmiştir. Grup 1'in remodelling ve SEI parametrelerindeki diğer gruplarla olan anlamlı istatistiki farkının, henüz diğer gruplarda remodelling fazının başlamamış olmasıyla ilişkili olduğunu düşündük. Grup 1'in total iyileşme skorundaki anlamlı istatistiki farkının ise, grup 2 ve 3'ün remodelling fazına geçememelerine, yani iyileşmedeki gecikmelerine bağlı olduğunu düşündük. Grup 4 ve 5'te, reepitelizasyon tamamlanmış; kollajen, damar, kıl kökleri ve yağ hücrelerince zengin (panniculus carnosus hariç) yapıların oluştuğu gözlemlenmişken grup 2 ve 3'ün reepitelizasyonu eksik kalmış, kollajen, damar ve yağ hücrelerince zayıf yapılar oluştuğu gözlemlenmiş ve kıl kökü oluşumuna

rastlanmamıştır. Süntar ve ark. (93) çalışmalarında kullandıkları bitki ekstraktının fibroblast çoğalmasını ve kollajen sentezini arttırarak yara iyileşmesini hızlandırdığını belirtmiştir. Alkafafy ve ark. (94) çalışmalarında kullandıkları bitkiyle, reepitelizasyonun tamamlandığını ve yeni kıl köklerinin oluştuğunu belirtmişlerdir. Demir ve ark. (95) çalışmalarında kullandıkları bitkiyi fitokremle kıyaslamışlar ve anjiyogenezin arttığını belirtmişlerdir. Eskin ve ark. (96) çalışmalarında deney grubunda yağ hücre sayısının daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda grup 1'in remodelling ve SEI parametreleri hariç grup 4 ve 5 ile anlamsız istatistiki farkının bu gruptaki iyileşmenin kontrol grubuna yakın iyileşme göstermesine bağlı olduğunu düşündük. Çalışmamızda grup 4'ün grup 5'e benzer şekilde reepitelizasyonu; fibroblast, kıl kökü ve yağ hücre çoğalmasını uyarak ve kollajen sentezini arttırarak iyileşme gösterdiğini düşündük.

MT boyalı doku kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesinde Farahpour ve ark. (81) çalışmalarında kullandıkları parametreler kullanılmıştır. 3. Günde MT boyamada da ödem, kollajen, EK ve total iyileşme skoru parametrelerinde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 3. günde, ödem skorunda grup 1 ile grup 3 arasında; kollajen skorunda grup 1'in grup 2 ve 4 ile arasında; EK parametresinde grup 1 ile diğer gruplar arasında; total iyileşme skorunda grup 1 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. 14. günde MT boyamada ödem skorunda, kollajen skorunda ve total iyileşme skorunda anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada, 14. günde, ödem skorunda grup 3'ün, grup 1 ve 2 ile arasında; kollajen skorunda grup 1 ile grup 2 arasında; total iyileşme skorunda grup 1 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. Çalışmamızda 3. günde en çok iyileşme grup 5'te (Fitokrem grubu), en az iyileşme grup 3'te (kontrol jel grubu); 14. günde en çok iyileşme grup 4 (AD grubu) ve 5'te, en az iyileşme grup 3'te izlenmiştir. Kullandığımız *Arum dioscoridis* bitkisinin yara yeri iyileştirme etkisi kontrol grubu ile kıyaslandığında, yara merhemi olarak bilinen fitokrem bileşiğine yakın çıkmıştır. Velnar ve ark. (22) çalışmalarında proliferasyon fazının yaralanmadan birkaç gün sonra başladığını belirtmiştir. 3. günde grup 1'in diğer gruplarla anlamlı olan farkının diğer gruplarda proliferasyon fazının henüz başlamamasına bağladık. Cutting ve

White (90) çalışmalarında neme uzun süre maruz kalmayla oluşan maserasyonun yara iyileşmesini zorlaştırabileceğini söylemişlerdir. Velnar ve ark. (22) remodelling fazının 3. haftada başladığını belirtmişlerdir. 14. günde grup 3'ün ödem skorunda grup 1 ve 2 ile olan farkının kullanılan hidrojelin yapısındaki nemden ve remodelling fazına geçilemediğinden kaynaklandığını düşündük. Sidhu ve ark. (97) çalışmalarında Masson's trikrom boyası kullanarak yara iyileşmesinde kollajen birikimini göstermişlerdir. Guo ve ark. (98) çalışmalarında efektif olmayan dekontaminasyon ve uzamış enflamasyonda proteaz seviyesinin arttığını ve artan proteazın büyüme faktörlerini azalttığını belirtmiştir. 14. günde kollajen skorunda grup 1 ile 2 arasındaki anlamlı farkın yara yeri kuruluğu ve uzamış enflamasyondan kaynaklandığını ve kollajenin bu sebeple daha az olduğunu düşündük. Velnar ve ark. (22) proliferasyon fazının yaralanmadan birkaç gün sonra başladığını belirtmiştir. 14. gün epidermis kalınlığı değerinin gruplar arasında farklılık göstermeme sebebinin bütün grupların proliferasyon fazına çoktan girmiş olması ve reepitelizasyonlarını tamamlaması sayesinde olduğunu düşündük. Sakul ve ark. (99) çalışmalarında kullandıkları farklı *Arum* türünün yara iyileşmesinde etkili olduklarından bahsetmiştir. Biz de çalışmamızda 14. gün sonunda total iyileşme skorunda grup 1'in grup 4 ve 5 ile istatistiki farkının anlamsız olma sebebinin; bu grupların benzer şekilde kollajen, damar ve yağ hücresi miktarını arttırarak daha iyi bir iyileşme göstermeleri ve normal dokuya daha çok benzemeleri sonucu olduğunu düşündük.

Ram ve ark. (82) çalışmalarında IL-6'nın immün reaktivite değerlendirilmesi için doku kesitlerinde H-skoru kullanmışlardır. Bizim immün değerlendirmemizde 3. günde anlamlı fark çıkarken, 14. günde anlamsız çıkmıştır. Gruplar arası karşılaştırmada ise, gruplar arasında anlamlı fark çıkmamıştır. Çalışmamızda 3. ve 14. günlerde H-skoru grup 4 ve 5'te en düşük çıkarken grup 2'de en yüksek gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aulanni'am ve ark. (100) çalışmalarında IHC boyamasında IL-6 ekspresyonunun tedavi gruplarında daha düşük çıktığını belirtmişlerdir. Mateo ve ark. (101) ise, IL-6'nın yara sıvısında 6. saatte pik yaptığını 3. günde en düşük seviyeye geldiğini 5-10. günler arası tekrar yükseldiğini, sonra tekrar düştüğünü belirtmişlerdir ve sebebinin nötrofil ve diğer

polimorfonükleer hücreler olduğunu belirtmişlerdir. 3 ve 14. günlerdeki istatistiki anlamsız farkın sebebinin IL-6'nın yara iyileşmesindeki fizyolojik durumdan kaynaklı olduğunu düşündük. Ayrıca çalışmamızda grup 4'teki AD jel tedavisinin, grup 5'e benzer şekilde; IL-6 ekspresyonunu azaltarak, iyileşme üzerinde pozitif etkisi olduğunu düşündük.

Bu veriler neticesinde çalışmamızda HE, MT ve IHC boyalı doku kesitlerini histopatolojik olarak değerlendirdiğimizde, grup 4'e uyguladığımız *Arum dioscoridis*'li hidrojelini; IL-6 ekspresyonunu azaltarak antienflamatuar etki gösterdiği, hücre aktivasyonunu, kıl folikülü yapımını, anjiyogenezi ve kollajen sentezini arttırarak grup 2 ve 3'e göre daha iyi bir iyileşme sağladığını ve fitokremin iyileştirici etkisine yakın bir etki gösterdiği görülmektedir.

Çalışmamızda NF- κ B, TNF- α , VEGF ve IL-6 değerleri serumda ELISA yöntemiyle çalışıldı. NF- κ B değeri için 3. ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 3. ve 14. günde grup 1'in; grup 2 ve 3 ile arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmıştır. Grup 1'in; grup 4 ve 5 ile arasında ise fark istatistiki olarak anlamlı çıkmamıştır. Gupta ve ark. (43) çalışmalarında antioksidanlar, peptitler, mikrobiyal proteinler, polipeptidler vb. 700'den fazla maddenin NF- κ B inhibitörü olduğunu belirtmiştir. Ezzat ve ark. (102) ise; tedavi verilmeyen grupta tedavi verilene kıyasla daha yüksek NF- κ B değerlerinin çıktığını ve bunun sebebinin enflamasyonun baskılanamaması olduğunu belirtmiştir. Chen ve ark. (86) ise bizim de *Arum dioscoridis* bitki özütünde varlığını LC/MS-MS ile gösterdiğimiz fenolik bir fitokimyasal olan cyranoside (luteolin türevi) maddesinin antienflamatuar etkisinden bahsetmiştir. Hayden ve Ghosh (103) çalışmalarında yüksek NF- κ B aktivasyonunun, enflamasyon ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızda grup 2 ve 3'teki yüksek NF- κ B değerlerinin sebebinin devam eden enflamasyona bağlı olduğunu düşündük. Grup 4 ve 5'teki düşük NF- κ B değerinin ise, bu gruplardaki tedavinin antienflamatuar etkiyle NF- κ B'yi azaltarak dokuyu sağlıklı dokuya daha da yaklaştırmasına bağladık.

TNF- α değeri için 3. ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada ise 3. ve 14. günde grup 1'in; grup 2 ve 3 ile arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmıştır. Grup 1'in; grup 4 ve 5 ile arasında ise istatistiki olarak anlamlı fark çıkmamıştır. Nosenko ve ark. (104) çalışmalarında NF- κ B'nin TNF- α ve benzeri sitokinlerin üretimini uyardığını ve proenflamatuar sitokinlerin kronik olarak yükselmiş ekspresyonunun, iyileşmeyen cilt yaralarının karakteristiği olduğunu belirtmişlerdir. Ezzat ve ark. (102) çalışmalarında tedavi verilmeyen grupta tedavi verilene kıyasla daha yüksek TNF- α değerlerinin çıktığını bunun sebebinin tedavi verilmeyen grupta enflamasyonun baskılanamaması olduğunu belirtmiştir. Trengove ve ark. (105) çalışmalarında kronik bacak ülserlerinde, iyileşen ülserlere kıyasla belirgin şekilde TNF- α yüksekliği olduğunu belirtmişlerdir. Xu ve ark. (52) çalışmalarında iyileşmeyen diyabetik yaralarda TNF- α seviyelerinin normalin üç katı kadar olduğunu belirtmişlerdir. Werner ve Grose (106) çalışmalarında TNF-p55 reseptörü olmayan farelerde artmış anjiyogenez kollajen içeriği ve reepitelizasyon varken, yara iyileşmesinin de daha hızlı olduğunu belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızda grup 2 (Yara grubu) ve 3'teki (Kontrol jel grubu) artmış TNF- α seviyelerinin yara iyileşemesindeki gecikmeden ve artmış NF- κ B kaynaklı olduğunu düşündük.

VEGF değeri için 3. ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 3. ve 14. günde grup 1 ile grup 5 arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmıştır. Grup 1'in; grup 2, 3 ve 4 ile arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmamıştır. Grup 4 VEGF değerleri istatistiki olarak anlamsız çıksa da grup 5 değerlerine yakın bulunmuştur. Johnson ve Wilgus (107) çalışmalarında yetersiz VEGF düzeylerinin; iyileşmenin bozulmasına ve kronik yaraların gelişmesine katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir. Shams ve ark. (53) çalışmalarında dermal fibroblastlardaki artmış VEGF ekspresyonunun anjiyogenezi ve yara iyileşme fonksiyonunu arttırdığını belirtmişlerdir. Ezzat ve ark. (102) çalışmalarında tedavi verilen yara grubuna kıyasla tedavi verilmeyen gruptaki VEGF değerinin düşük olduğunu ve bunun anjiyogenezi başlatmak için gerekli olan büyüme faktörlerinin yetersiz üretimi sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızda grup 2 ve 3'ün VEGF seviyelerinin tedavi almadıkları için düşük bulunduğunu; grup 4 ve 5'in ise

aldıkları tedavilerle VEGF seviyelerinin yükselmesiyle anjiyogenezi arttırarak iyileşmeye katkı sağladığını düşündük.

IL-6 değeri için 3. ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 3. günde grup 1 ile 2 arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmıştır. Gruplar arası karşılaştırmada 14. günde grup 1'in; grup 2 ve grup 3 ile arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. Grup 1'in; grup 4 ve 5 ile arasında ise istatistiki olarak anlamlı fark çıkmamıştır. Ezzat ve ark. (102) çalışmalarında tedavi verilen yara grubuna kıyasla tedavi verilmeyen gruptaki IL-6 değerinin yüksek olduğunu bunun sebebinin enflamasyonun baskılanamaması olduğunu belirtmişlerdir. Trengove ve ark. (105) çalışmalarında kronik bacak ülserlerinde, iyileşen ülserlere kıyasla belirgin şekilde IL-6 yüksekliği olduğunu belirtmişlerdir. Pereira ve ark. (75) çalışmalarında IL-6'nın enflamasyonla ilgili birçok hastalıkta yüksek kaldığını ve tedavi verdikleri grupta IL-6 seviyelerinde düşüş olduğunu belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızda IL-6 seviyelerinin grup 2 ve 3'e kıyasla, grup 4 ve 5'te kontrol grubuna benzer şekilde düşük çıkma sebebinin verilen tedavilerin iyileşme üzerine olumlu etkisi olduğunu ayrıca kullandığımız *Arum dioscoridis* bitkisinin de bilinen bir tedavi ajanına benzer etki gösterdiğini gözlemledik.

MDA değeri için 3. ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 3. günde grup 1 ile grup 4 arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmıştır. Gruplar arası karşılaştırmada 14. günde grup 2 ile grup 5 arasında istatistiki olarak anlamlı fark çıkmıştır. Sen (108) çalışmasında respiratory burst yoluyla reaktif oksijen türevlerinin oluştuğunu belirtmiştir. Ayala ve ark. (109) çalışmalarında MDA'nın reaktif oksijen türevlerinin lipid peroksidasyonunun bir ürünü olduğunu belirtir. Biz de çalışmamızda grup 4 ve 5'te; reaktif oksijen türlerinin fazlaca lipid peroksidasyonuna uğrayıp azaltıldığı ve bunun sonucunda MDA seviyelerinin yüksek çıkmış olabileceği kanısına vardık.

SOD değeri için 3. ve 14. günlerde anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada 14. günde anlamlı fark bulunmazken, 3. günde grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark bulunmuştur. SOD bütün gruplarda kontrol grubuna göre

yüksek bulunmuştur. Salem ve ark. (110) çalışmalarında tedavi vermedikleri grupta SOD seviyelerinin düşük olduğunu ve SOD vb. antioksidanların hücre canlılığını arttırıp doku rejenerasyonunu teşvik ettiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda tedavi grupları olan grup 4 ve 5'teki yüksek SOD seviyelerinin, tedavinin sonucu olarak arttığına ve bu artışın yara yerinde antioksidan etkiyi arttırarak yara iyileşmesine katkı sağladığını düşündük.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız, *Arum dioscoridis* (AD) bitkisinin yara iyileşmesi üzerindeki etkisini hem makroskopik hem de hücresel-moleküler düzeyde kanıtlamıştır. Histopatolojik ve biyokimyasal sonuçlar, AD jeli uygulanan sıçanlardaki iyileşmenin, ticari bir yara merhemi olan Fitokreme oldukça yakın ve hatta bazı skorlamalarda (14. gün MT total iyileşme skoru gibi) Fitokrem ile birlikte en iyi sonucu gösterdiğini kanıtlamıştır.

14. gün sonunda AD jeli ve Fitokrem uygulanan yaralarda, kıl folikülü oluşumu, yoğun kollajen birikimi (Masson's Trikrom ile desteklenmiştir) ve yağ hücresi/damar sayısındaki artış gibi sağlıklı deri iyileşme belirtileri gözlemlenmiştir.

Antienflamatuar etki; NF- κ B, TNF- α ve IL-6 gibi proenflamatuar belirteçlerin azaltılmasıyla, anjiyogenez ise VEGF artışı üzerinden açıklanmıştır.

Yara iyileşmesinin remodelling fazı 3. haftada başlar. Çalışmanın 14. günde sonlanması, bu kritik fazın tam olarak değerlendirilmesini engellemiştir. Daha uzun süreli takip ve skar değerlendirmesi önem arz etmektedir.

AD ve Fitokrem gruplarında, yaranın kozmetik ve fonksiyonel sonuçlarını (skarlar sonuçlanıp sonuçlanmadığını, kollajen liflerinin düzenlenmesini, remodellingin tamamlanıp tamamlanmadığını) görmek için 21. ve 28. günlerde takip edilmeli ve özellikle panniculus carnosus oluşumu incelenmelidir.

Remodelling fazında, yara dokusundaki kollajen tip III'ün (erken evre kollajeni), kollajen tip I'e (olgun deri kollajeni) dönüşümü önemlidir. AD ve Fitokrem gruplarında Kollajen Tip I ve Tip III immünohistokimyasal boyamalarının yapılması, Tip I/Tip III oranı hesaplanarak iyileşen dokunun olgunluk ve yara iyileşme kalitesinin daha kesin değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Pawlina W, Ross MH. Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology. Lippincott Williams & Wilkins, 2018: s.488-525.
2. Takeo M, Lee W, Ito M. Wound healing and skin regeneration. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5(1):a023267.
3. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Deyrup AT. Robbins & Kumar basic pathology, e-book: Robbins & Kumar basic pathology, e-book. Elsevier Health Sciences, 2022: s.25-56.
4. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. Open Biol. 2020;10(9):200223.
5. Reinke J, Sorg H. Wound repair and regeneration. European surgical research. 2012;49(1):35-43.
6. Hatz R, Niedner R, Vanscheidt W, Westerhof W. Physiology of wound healing. Wound Healing and Wound Management: A Guide for Private Practice. Springer, 1994: s.1-16.
7. Ambrozova N, Ulrichova J, Galandakova A. Models for the study of skin wound healing. The role of Nrf2 and NF-kappaB. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2017;161(1):1-13.
8. Clark RA. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. I. Journal of the American academy of Dermatology. 1985;13(5):701-725.
9. Kierszenbaum AL, Tres L. Histology and Cell Biology: an introduction to pathology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2015: s.299-318.
10. Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. Wound healing in the 21st century. J Am Acad Dermatol. 2010;63(5):866-881.
11. Na J, Lee K, Na W, et al. Histone H3K27 Demethylase JMJD3 in Cooperation with NF-kappaB Regulates Keratinocyte Wound Healing. J Invest Dermatol. 2016;136(4):847-858.
12. Mirastschijski U, Impola U, Karsdal MA, Saarialho-Kere U, Agren MS. Matrix metalloproteinase inhibitor BB-3103 unlike the serine proteinase inhibitor aprotinin abrogates epidermal healing of human skin wounds ex vivo. J Invest Dermatol. 2002;118(1):55-64.
13. Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF-kappaB as the matchmaker. Nat Immunol. 2011;12(8):715-723.
14. Sokmen MF, Ispiroglu M, Gisi K, Bahar AY, Kurutas EB, Kantarceken B. Effects of Arum dioscoridis Extract on Hepatic Toxicity Caused by Thioacetamide in Rats. Turk J Gastroenterol. 2023;34(3):254-261.
15. Tümen G, Malyer H, Başer K, Öz Aydın S. Plants used in Anatolia for wound healing. Proceedings of the IVth international congress of ethnobotany (ICEB 2005). 2006:217-221.
16. Mescher AL. Junqueira's basic histology: text and atlas. 2024:370-394.
17. Eroschenko VP, Di Fiore MS. DiFiore's atlas of histology with functional correlations. Lippincott Williams & Wilkins, 2013: s.261-281.
18. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The developing human: clinically oriented embryology. Elsevier Brasil, 2008: s.437-454.
19. Sadler TW. Langman's medical embryology. Lippincott Williams & Wilkins, 2018: s.370-376.
20. Heng MC. Wound healing in adult skin: aiming for perfect regeneration. International journal of dermatology. 2011;50(9):1058-1066.
21. Kaltalıoğlu K. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü'nün Yara Dokusu Oksidatif Olayları Üzerine Etkisi. 2012, Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

22. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37(5):1528-1542.
23. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Advances in skin & wound care.* 2004;17(1):24-35.
24. Bitto A, Minutoli L, Altavilla D, et al. Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacological Research.* 2008;57(2):159-169.
25. Broughton GI, Janis JE, Attinger CE. Wound Healing: An Overview. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2006;117(7S):1e-S-32e-S.
26. van de Vyver M, Boodhoo K, Frazier T, et al. Histology Scoring System for Murine Cutaneous Wounds. *Stem Cells Dev.* 2021;30(23):1141-1152.
27. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29(3):153-162.
28. Ciğer S. Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri. *Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi Kitabı (Online).* 2017:20-25.
29. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(3):159-175.
30. RAf C. Mechanisms of cutaneous wound repair. *Dermatology in general medicine.* 1999:326-341.
31. Mahdavian Delavary B, van der Veer WM, van Egmond M, Niessen FB, Beelen RH. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology.* 2011;216(7):753-762.
32. Huggins B. Trauma physiology. *Nursing Clinics of North America.* 1990;25(1):1-10.
33. Shaw TJ, Martin P. Wound repair: a showcase for cell plasticity and migration. *Curr Opin Cell Biol.* 2016;42:29-37.
34. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts. *European surgical research.* 2017;58(1-2):81-94.
35. Tuderman L, Myllylä R, Kivirikko KI. Mechanism of the Prolyl Hydroxylase Reaction: 1. Role of Co-substrates. *European journal of biochemistry.* 1977;80(2):341-348.
36. Lindholm C, Searle R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. *International wound journal.* 2016;13:5-15.
37. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* 2007;25(1):9-18.
38. Li B, Wang JH-C. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: force generation and measurement. *Journal of tissue viability.* 2011;20(4):108-120.
39. Simon DA, Dix FP, McCollum CN. Management of venous leg ulcers. *BMJ.* 2004;328(7452):1358-1362.
40. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America.* 1997;77(3):509-528.
41. Yang F, Bai X, Dai X, Li Y. The biological processes during wound healing. *Regenerative medicine.* 2021;16(4):373-390.
42. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:225-260.
43. Gupta SC, Sundaram C, Reuter S, Aggarwal BB. Inhibiting NF-kappaB activation by small molecules as a therapeutic strategy. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1799(10-12):775-787.
44. Bonizzi G, Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* 2004;25(6):280-288.
45. Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(4):a000034.

46. May MJ, Ghosh S. Rel/NF-kappa B and I kappa B proteins: an overview. *Semin Cancer Biol.* 1997;8(2):63-73.
47. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF-κB signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy.* 2017;2(1):1-9.
48. Lacina L, Kolář M, Pfeiferová L, Gal P, Smetana Jr K. Wound healing: insights into autoimmunity, ageing, and cancer ecosystems through inflammation and IL-6 modulation. *Frontiers in Immunology.* 2024;15:1403570.
49. Avazi DO, Awasum AC, Hassan AZ, et al. Evaluation of levels of interleukin-6, interleukin-8 and some haematologic parameters of dogs with cutaneous wounds. *Cytokine.* 2019;113:128-138.
50. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration.* 2008;16(5):585-601.
51. Wen Y, Gu J, Li S-L, Reddy MA, Natarajan R, Nadler JL. Elevated glucose and diabetes promote interleukin-12 cytokine gene expression in mouse macrophages. *Endocrinology.* 2006;147(5):2518-2525.
52. Xu F, Zhang C, Graves DT. Abnormal cell responses and role of TNF-α in impaired diabetic wound healing. *BioMed research international.* 2013;2013(1):754802.
53. Shams F, Moravvej H, Hosseinzadeh S, et al. Overexpression of VEGF in dermal fibroblast cells accelerates the angiogenesis and wound healing function: in vitro and in vivo studies. *Scientific reports.* 2022;12(1):18529.
54. Yamaguchi M, Matsunaga S, Shibasaki M, Michelet B, Bour C, Gandon V. *Encyclopedia of reagents for organic synthesis.* John Wiley & Sons, Ltd, 2001.
55. Davey M, Stals E, Panis B, Keulemans J, Swennen R. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Analytical biochemistry.* 2005;347(2):201-207.
56. Xiao K, Wang S, Li G, Chen W, Chen B, Li X. Resveratrol promotes diabetic wound healing by inhibiting ferroptosis in vascular endothelial cells. *Burns.* 2024;50(9):107198.
57. Buddi R, Lin B, Atilano SR, Zorapapel NC, Kenney MC, Brown DJ. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2002;50(3):341-351.
58. Tiku ML, Narla H, Jain M, Yalamanchili P. Glucosamine prevents in vitro collagen degradation in chondrocytes by inhibiting advanced lipoxidation reactions and protein oxidation. *Arthritis research & therapy.* 2007;9(4):R76.
59. Jin X, Zhang W, Shan J, et al. Thermosensitive hydrogel loaded with nickel–copper bimetallic hollow nanospheres with SOD and CAT enzymatic-like activity promotes acute wound healing. *ACS Applied Materials & Interfaces.* 2022;14(45):50677-50691.
60. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 2011;283(2-3):65-87.
61. Chhabra S, Chhabra N, Kaur A, Gupta N. Wound healing concepts in clinical practice of OMFS. *Journal of maxillofacial and oral surgery.* 2017;16(4):403-423.
62. Rajgopal SK. *Manipal manual of surgery. Lower limb ischemia and popliteal aneurysm* CBS publication & distributors limited. 2008:82-83.
63. Espindola A, Buerki S, Bedalov M, Kuepfer P, Alvarez N. New insights into the phylogenetics and biogeography of Arum (Araceae): unravelling its evolutionary history. *Botanical journal of the linnean society.* 2010;163(1):14-32.
64. Boyce P. The genus Arum. *A Kew Magazine monograph.* 1993: s.113-119.

65. Değer SN. Arum dioscoridis bitkisi ekstraktlarının antimikrobiyal ve antiviral özelliklerinin incelenmesi. 2022, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
66. Linz J, Stökl J, Urru I, Krügel T, Stensmyr MC, Hansson BS. Molecular phylogeny of the genus *Arum* (Araceae) inferred from multi-locus sequence data and AFLPs. *Taxon*. 2010;59(2):405-415.
67. Yücel TB, Korkmaz B, Cebeci T, et al. Analysis of Volatile Constituent by Hydrodistillation and Solid-Phase Microextraction Techniques and Antimicrobial and Scolicidal Activities of Essential Oil and Soxhlet Extracts of *Ulva rigida* grown in Turkey. *Chemistry & Biodiversity*. 2023;20(9):e202300965.
68. Wang T, Jónsdóttir R, Ólafsdóttir G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food chemistry*. 2009;116(1):240-248.
69. Ayla S, Okur ME, Gunal MY, et al. Wound healing effects of methanol extract of *Laurocerasus officinalis* roem. *Biotech Histochem*. 2019;94(3):180-188.
70. Lopes AI, Pintado MM, Tavaría FK. Plant-based films and hydrogels for wound healing. *Microorganisms*. 2024;12(3):438.
71. Zhou Z, Zhang D, Ning X, et al. An antibacterial, antioxidant and hemostatic hydrogel accelerates infectious wound healing. *Journal of Nanobiotechnology*. 2025;23(1):49.
72. Tito A, Minale M, Riccio S, Grieco F, Colucci MG, Apone F. A *Triticum vulgare* Extract Exhibits Regenerating Activity During the Wound Healing Process. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2020;13:21-30.
73. Dorsett-Martin WA. Rat models of skin wound healing: a review. *Wound repair and regeneration*. 2004;12(6):591-599.
74. Demir D, Toygar I, Soylu E, et al. The Effect of *Lavandula stoechas* on Wound Healing in an Experimental Diabetes Model. *Cureus*. 2023;15(9):e45001.
75. Pereira Beserra F, Sergio Gushiken LF, Vieira AJ, et al. From Inflammation to Cutaneous Repair: Topical Application of Lupeol Improves Skin Wound Healing in Rats by Modulating the Cytokine Levels, NF-kappaB, Ki-67, Growth Factor Expression, and Distribution of Collagen Fibers. *Int J Mol Sci*. 2020;21(14).
76. Jiang XW, Qiao L, Liu L, et al. Dracorhodin Perchlorate Accelerates Cutaneous Wound Healing in Wistar Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017;2017:8950516.
77. Ananda N, Ariawan D, Juniantito V. Effects of the *Hydnophytum formicarum* plant extract on collagen density, angiogenesis, wound length, and re-epithelialization in wound healing: Experimental study on rats. *Dent Med Probl*. 2022;59(1):67-73.
78. Leite CDS, Bonafe GA, Pires OC, et al. Dipotassium Glycyrrhizinate Improves Skin Wound Healing by Modulating Inflammatory Process. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4).
79. Lee K, Lee B, Lee MH, et al. Effect of *Ampelopsis Radix* on wound healing in scalded rats. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:213.
80. Sakul AA, Okur ME, Ayla S, et al. Wound Healing Activity of *Arum Maculatum*. *Medeni Med J*. 2023;38(1):8-15.
81. Farahpour MR, Mirzakhani N, Doostmohammadi J, Ebrahimzadeh M. Hydroethanolic *Pistacia atlantica* hulls extract improved wound healing process; evidence for mast cells infiltration, angiogenesis and RNA stability. *Int J Surg*. 2015;17:88-98.
82. Ram S, Vizcarra P, Whalen P, et al. Pixelwise H-score: A novel digital image analysis-based metric to quantify membrane biomarker expression from immunohistochemistry images. *PLoS One*. 2021;16(9):e0245638.

83. Isomoto H, Mott JL, Kobayashi S, et al. Sustained IL-6/STAT-3 signaling in cholangiocarcinoma cells due to SOCS-3 epigenetic silencing. *Gastroenterology*. 2007;132(1):384-396.
84. Karahan F, Kulak M, Uurlu E, et al. Total phenolic content, ferric reducing and DPPH scavenging activity of *Arum dioscoridis*. *Natural product research*. 2015;29(17):1678-1683.
85. Genç S, Yeni Y, Çiçek B, Hacımüftüoğlu A. Wound healing of quinic acid in human dermal fibroblasts by regulating expression of FN1 and COL1A1 gene. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. 2022;11(4):63-69.
86. Chen LY, Cheng HL, Kuan YH, Liang TJ, Chao YY, Lin HC. Therapeutic Potential of Luteolin on Impaired Wound Healing in Streptozotocin-Induced Rats. *Biomedicines*. 2021;9(7).
87. Çolak ÇA, Doruk N, Aktaş S. N-3 Fatty Acid Supplementation After Burn Supports Wound Healing and Prevents Systemic Inflammation. An Experimental Study in Rats. *Akdeniz Tıp Dergisi*. 10(1):22-28.
88. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*. 1999;341(10):738-746.
89. Sharpe JR, Martin Y. Strategies demonstrating efficacy in reducing wound contraction in vivo. *Advances in wound care*. 2013;2(4):167-175.
90. Cutting KF, White RJ. Maceration of the skin and wound bed 1: its nature and causes. *Journal of wound care*. 2002;11(7):275-278.
91. Chen L, Mirza R, Kwon Y, DiPietro LA, Koh TJ. The murine excisional wound model: Contraction revisited. *Wound Repair and Regeneration*. 2015;23(6):874-877.
92. Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*. 1962;193(4812):293-294.
93. Süntar IP, Akkol EK, Yilmazer D, et al. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of ethnopharmacology*. 2010;127(2):468-477.
94. Alkafafy M, Montaser M, El-Shazly SA, Bazid S, Ahmed MM. Ethanolic extract of *sharah*, *Plectranthus aegyptiacus*, enhances healing of skin wound in rats. *Acta Histochemica*. 2014;116(4):627-638.
95. Demir MM, İpek V, Tutun H, Çınar H, Ayözger LEÖ. Effects of *salvia tomentosa* ointment on dermal wound healing in a rabbit model. *Journal of Research in Veterinary Medicine*. 2023;42(2):54-64.
96. Eskin SG, Koca YB, Ogut S. Is traditional herbal mix composition effective on wound healing? antique oil and wound healing. *Medical Science and Discovery*. 2021;8(1):29-38.
97. Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, et al. Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair and Regeneration*. 1998;6(2):167-177.
98. Guo Sa, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010;89(3):219-229.
99. Sakul AA, Okur ME, DAYLAN B, et al. Wound healing activity of *Arum maculatum*. *Medeniyet Medical Journal*. 2023;38(1):8.
100. Aulanni'am Aa, Ora KM, Ariandini NA, et al. Wound healing properties of *Gliricidia sepium* leaves from Indonesia and the Philippines in rats (*Rattus norvegicus*). *Veterinary World*. 2021;14(3):820.
101. Mateo RB, Reichner JS, Albina JE. Interleukin-6 activity in wounds. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1994;266(6):R1840-R1844.

102. Ezzat MI, Abdelhafez MM, Al-Mokaddem AK, Ezzat SM. Targeting TGF- β /VEGF/NF- κ B inflammatory pathway using the Polyphenols of *Echinacea purpurea* (L.) Moench to enhance wound healing in a rat model. *Inflammopharmacology*. 2025;1-14.
103. Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines. *Seminars in immunology*. 2014;26(3):253-266.
104. Nosenko M, Ambaryan S, Drutskaya M. Proinflammatory cytokines and skin wound healing in mice. *Molecular Biology*. 2019;53(5):653-664.
105. Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair and Regeneration*. 2000;8(1):13-25.
106. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews*. 2003;83(3):835-870.
107. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair. *Advances in wound care*. 2014;3(10):647-661.
108. Sen CK. The general case for redox control of wound repair. *Wound repair and regeneration*. 2003;11(6):431-438.
109. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014;2014(1):360438.
110. Salem A, Abdelhedi O, Taheur FB, et al. Novel garden cress-fish gelatin based ointment: Improvement of skin wound healing in rats through modulation of anti-inflammatory and antioxidant states. *Heliyon*. 2024;10(12).

