

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

***PLANTAGO LANCEOLATA* BİTKİSİNİN
YARA İYİLEŞTİRİCİ
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ecz. ESİN KURANEL
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökür Aktay**

Malatya-2012

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

***PLANTAGO LANCEOLATA* BİTKİSİNİN
YARA İYİLEŞTİRİCİ
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. ESİN KURANEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Göknur Aktay


**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2012/40 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA-2012

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

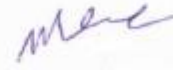
Bu çalışma jürimiz tarafından Farmakoloji Anabilim Dalı Farmakoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza



Jüri Başkanı, Danışman Prof. Dr. Göknuş AKTAY

Üye Prof. Dr. M. Hanifi EMRE



Üye Yrd. Doç. Dr. İsmet YILMAZ



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2012 tarih ve 2012/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sedat YILDIZ

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, sıçan sırtında oluşturulan doğrusal kesi yarası üzerinde *P.lanceolata* bitkisinin sulu ve metanollü özütlерinin etkisini değerlendirmektir. Bu amaçla, yara dokusunda TBARs, GSH, T-SH ve HP ile serum ve doku iz element (Zn^{+2} ve Cu^{+2}) düzeyleri incelenmiştir. *P.lanceolata* bitkisinin yara dokusunda oksidatif stresin göstergelerinden olan TBARs düzeylerini anlamlı düzeyde azalttığı, antioksidan moleküllerden GSH ve T-SH düzeylerinde artışa neden olduğu, bağ doku bileşeni olan kollajen sentezini ise yara dokusunda anlamlı düzeyde artırdığı bulunmuştur. Ayrıca, kollajen sentezinde ve yara iyileşme sürecinde önemli göstergeler olan doku Zn^{+2} ve Cu^{+2} düzeylerini de hiçbir tedavi uygulanmayan kontrol grubuna göre anlamlı derecede artırmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre; Halk tababetinde birçok hastalığın yanısıra yaraların tedavisinde kullanılan flavanoidler açısından zengin olan *P.lanceolata* bitkisinin güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu şekilde iyileşme sürecine olumlu bir katkıda bulunduğu söylenebilir. Ancak, mekanizmayı tam olarak aydınlatılabilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

P.lanceolata bitkisinin yara iyileştirici özelliğinin yanısıra kozmetikte de kullanılabileceği ve yeni ilaç geliştirme çalışmaları için gelecek vaat ettiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yara iyileşmesi, *Plantago lanceolata*, Glutasyon (GSH), Tiyobarbitürik asit reaktifleri (TBARs), Total tiyol grupları (T-SH), İz elementler (Zn^{+2} , Cu^{+2}), Hidroksiprolin.

ABSTRACT

INVESTIGATION THE WOUND HEALING PROPERTIES OF *PLANTAGO LANCEOLATA*

The purpose of this study is to appraise the effects of *P.lanceolata* plant's watery and methanolic extracts on the linear incision wound which has been formed at the back of rat. For this purpose, the levels of TBARs, GSH, T-SH and HP which are on the wounded tissue and also tissue trace elements (Zn^{+2} and Cu^{+2}) which are on the wounded tissue and serum have been analysed. It has been found out that *P.lanceolata* plant reduces significantly the levels of TBARs which is one of the indicators of oxidative stress on the wounded tissue, and it causes the rise of the levels of GSH and T-SH which are from antioxidant molecules also it increases significantly collagen synthesis which is component of connective tissue on the wounded tissue. Additionally, it increases significantly the levels of tissue Zn^{+2} and Cu^{+2} which are important indicators in the process of wound healing and collagen synthesis according to control group in which no treatment is applied.

According to the results of our study; it can be said that *P. lanceolata* plant which is used in the treatment of wounds in addition to many illnesses in traditional medicine and is rich in terms of flavanoids has a powerful antioxidant effect and so it has a positive assistance in healing process. But more advanced studies are needed to illuminate the mechanism accurately.

As a conclusion it can be said that, *P.lanceolata* plant not only has wound healing feature but also it can be used in cosmetics additionally it has an important place in new rising medicine studies.

Key Words: Wound healing, *Plantago lanceolata*, Glutation (GSH), Tiobarbituric acid reagents (TBARs), Total tiol grups (T-SH), Trace elements (Zn^{+2} , Cu^{+2}), Hidroksiprolin.

TEŞEKKÜR

Uzun mesailer harcayarak bana zaman ayıran ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim, sadece akademik konularda değil hayata bakış açısıyla da yetişmeme çok katkıları olan danışman hocam çok saygıdeğer Prof. Dr. Gökür AKTAY'a, teşekkür ederim.

Plantago lanceolata'nın özüt haline getirilerek deney hayvanlarına uygulanmasında ve hidroksprolin çalışmasında emeği geçen hocam Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Esra AKKOL'a,

Biyokimyasal çalışmalarım sırasında bilgi ve emeğiyle yanımda olan Biyolog Dr. Şule GÜRİSOY'a, biyokimyasal yöntemler ve grafik analizleri aşamalarında bilgi ve emeğiyle yanımda olan Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma görevlisi Dr. Ecz. Songül ÜNÜVAR'a, İstatistiksel analizlerimin değerlendirilmesinde görüşlerine başvurduğum Bioistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na,

Plantago lanceolata bitkisini toplama aşamasında katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Narin SADIKOĞLU ve Biyolog İsmet GÜRİHAN'a,

Tezimin bütün aşamalarında bana büyük manevi destek veren ve beni çalışmaya teşvik eden sevgili aileme teşekkür ederim.

Ecz. Esin KURANEL

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Yara.....	4
2.2. Yara İyileşme Süreci.....	5
2.3. Yara İyileşme Çeşitleri.....	7
2.3.1. Birincil Yara İyileşmesi.....	7
2.3.2. İkincil Yara İyileşmesi.....	8
2.3.3. Üçüncül Yara İyileşmesi (Gecikmiş Birincil Yara İyileşmesi).....	8
2.4. Yara İyileşme Evreleri.....	9
2.4.1. <i>Hemostaz</i>	11
2.4.2. Enflamasyon (Yangı).....	13
2.4.2.1. <i>Enflamatuvar Yanıt ve Sitokin Ekspresyonu</i>	14
2.4.3. <i>Çoğalma (Proliferasyon) ve Epitelizasyon</i>	14
2.4.4. <i>Yeniden Yapılanma ve İzin Olgunlaşması (Maturasyon, Remodeling)</i>	18
2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Etmenler.....	18
2.5.1. Radyasyon.....	19

2.5.2. Kortikosteroidler	19
2.5.3. Yaş	20
2.5.4. Diyabet	20
2.5.5. İlaçlar	20
2.5.6. Malnutrisyon.....	21
2.5.7. Beslenme Şekli	21
2.5.8. Su	22
2.5.9. Vitaminler.....	22
2.5.10. Mineraller	24
2.6. Yara ve Oksidatif Stres.....	25
2.7. <i>Plantago Lanceolata</i> ve Halk Tıbbında Kullanımı.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Gereçler	30
3.1.1. Kimyasal Maddeler	30
3.1.2. Malzeme ve Cihazlar	31
3.1.3. Deney Hayvanları	32
3.1.4. Bitki Materyali.....	32
3.2. Yöntemler	33
3.2.1. Deney Grupları	33
3.2.2. Sulu ve Metanollü Bitki Özütlelerinin Hazırlanması	34
3.2.3. Doğrusal Kesi (İnsizyon) Yara Oluşturma Modeli.....	35
3.2.4. Doku Lipit Peroksidasyon Tayini (TBARS)	39
3.2.5. Dokuda Glutatyon (GSH) Tayini.....	40
3.2.6. Dokuda Total Tiyol Gruplarının (T-SH) Tayini.....	42
3.2.7. Doku Hidroksipirolin (HP) Tayini.....	43
3.2.8. Doku ve Serum Çinko (Zn^{+2}) Tayini	44

3.2.9. Doku ve Serum Bakır (Cu^{+2}) Tayini.....	46
3.2.9.1. Dokuda Bakır (Cu^{+2}) Tayini.....	46
3.2.9.2. Serumda Bakır (Cu^{+2}) Tayini	47
3.2.10. İstatistiksel Analiz	48
4. BULGULAR	49
4.1. Doku TBARS, GSH, T-SH ve HP Düzeyleri	49
4.2. Doku ve Serum Zn^{+2} , Cu^{+2} Düzeyleri	52
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Derinin yapısı	4
Şekil 2.2. Derinin zedelenmesi ile yara iyileşme süreci başlar	5
Şekil 2.3. Makrofajların görevleri	13
Şekil 2.4. <i>Plantago lanceolata</i>	29
Şekil 3.1. Doku TBARS kalibrasyon grafiği	40
Şekil 3.2. Doku GSH kalibrasyon grafiği	42
Şekil 3.3. Doku T-SH kalibrasyon grafiği	43
Şekil 3.4. Serum ve doku Zn^{+2} kalibrasyon grafiği	45
Şekil 3.5. Doku Cu^{+2} kalibrasyon grafiği	47
Şekil 3.6. Serum Cu^{+2} kalibrasyon grafiği	48
Şekil 4.1. Doku TBARS (Tiyobarbitürik asit reaktifleri) değerleri	50
Şekil 4.2. Doku glutatyon (GSH) değerleri	51
Şekil 4.3. Doku total tiyol grupları (T-SH) değerleri	51
Şekil 4.4. Doku hidroksiprolin (HP) değerleri	52
Şekil 4.5. Serum çinko (Zn^{+2}) değerleri	54
Şekil 4.6. Doku çinko (Zn^{+2}) değerleri	54
Şekil 4.7. Serum bakır (Cu^{+2}) değerleri	55
Şekil 4.8. Doku bakır (Cu^{+2}) değerleri	55
Resim 2.1. <i>Plantago lanceolata</i>	29
Resim 3.1. Sıçan sırtında doğrusal kesi yarası oluşturulması	36
Resim 3.2. Sıçan sırtında doğrusal kesi yarası oluşturulmuş model	36
Resim 3.3. Doğrusal kesi yarasına dikiş atılması	37
Resim 3.4. Onuncu gün yara bölgesinin kesilerek alınması	37

Resim 3.5. Doğrusal kesi yarası oluşturulmuş sıçanların

10. günde yara iyileşme dereceleri

38

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Yara iyileşmesinin evreleri	10
Tablo 2.2. Yara iyileşmesinde hücre dışı elementler ve hücrelerin rolleri	12
Tablo 2.3. Yara iyileşmesindeki büyüme faktörleri ve işlevleri	17
Tablo 2.4. Yara iyileşmesini etkileyebilecek gıdalar	22
Tablo 4.1. Sıçanlardan alınan yara dokularında TBARS, GSH, T-SH ve HP düzeyleri	49
Tablo 4.2. Doku ve Serumda Zn^{+2} ve Cu^{+2} düzeyleri	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

EGF; Epidermal büyüme faktörü

bFGF; bazal Fibroblast büyüme faktörü

IFN'lar; İnterferonlar

IGF-1; İnsülin benzeri büyüme faktörü-1

IL-1; İnterlökin- 1

IL-6; İnterlökin- 6

KGF; Keratinosit büyüme faktörü

PDGF; Platelet dönüştürücü büyüme faktörü

TGF; Dönüştürücü büyüme faktörü

TNF- α ; Tümör nekroz faktör- alfa

vWF; von-Willebrand faktörü

ADP; Adenozin difostat

PGE₂; Prostoglandin E₂

NGF; Sinir büyüme faktörü

VEGF; Vasküler endotelyal büyüme faktörü

GAGs; sülfatlı Glikozaminoglikanlar

NF κ B; Hücre transkripsiyon faktörü

NO; Nitrik oksit

SOD; Süperoksit dismutaz

GPx; Glutatyon peroksidaz

Zn⁺²; Çinko

Cu⁺²; Bakır

Se⁺²; Selenyum

Mn⁺²; Manganez

GSH; Glutasyon

T-SH; Total tiyol grupları

TBARS; Tiyobarbitürik asit reaktif bileşenleri

HP; Hidroksiprolin

1. GİRİŞ

Tarih boyunca birçok bitkinin yara iyileştirici özelliğinden yararlanılmış olmakla birlikte yara tedavisinde hangi bitkinin kullanılacağı bölgeler ve kültürler arasında çeşitlilik göstermektedir. Geleneksel şifacılar, yara, ısırik, yanık, yaralanma gibi cilt rahatsızlıklarını tedavi etmek için bir dizi bitkiden ham bitki özleri hazırlamaktadır. Bu tür geleneksel bitkisel ilaçlar, kırsal topluluklarda sağlık hizmetinin sağlanmasına önemli katkıda bulunur (1).

Yara iyileşmesi, farklı yapıdaki dokuların etkileşiminin bir sonucu olarak doğumdan sonraki en karışık biyolojik olaylardan biridir. Doku hasarıyla birlikte zincirleme olaylarla başlayan yara iyileşmesi, yangı, damar oluşumu, fibroblast çoğalması, yara kapanması, epitelizasyon ve matriksin yeniden şekillenmesini de kapsayan birçok hücresel ve moleküler olayı içerir (2, 3, 4). Klinikte, yara iyileşme sürecini kısaltmak ve ideal skar oluşumunu sağlamak için temel yaklaşım, süreçte rolü olan enflamatuvar hücreleri, trombositleri, mediyatörleri, kollajen sentezini, anjiyogenezi ve hücre dışı matriks gibi etmenleri etkilemektir (5, 6).

Yaralanmalarda, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonun artmasına bağlı olarak yara bölgesinde ve uzak organlarda hasar ve işlev bozuklukları ortaya çıkabilir (7). Oksidatif stres olarak da bilinen bu durum, yara iyileşme sürecinde görülen kan pıhtılaşması ve tromboz oluşumunun kontrolünde önemlidir. Yaralanmalarda oluşan damar zedelenmeleri endotelde granüllerin redoksa duyarlı mekanizma aracılığıyla enflamasyon ve pıhtılaşmayı başlatan aracı ve öncü moleküllerin kana salıverilmesini sağlar. Yaralı dokunun, oksidatif metabolizma aracılığıyla iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir (8, 9).

Yara sıvısındaki başta çinko ve bakır olmak üzere birçok iz element iyileşme sürecinin temel inorganik biyokimyasına katkı sağlar ve iyileşmeyi hızlandırır (10).

Çinko ve bakır süperoksit radikallerinin süpürülmesinde yani oksidatif hasarın önlenmesinde de önemli rol oynarlar (11).

Geleneksel olarak kullanılan birçok bitki özünün venöz ülserlerde tedaviye yardımcı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu tip çalışmalar, bitki özlerinin standart tedaviye eklendiklerinde yara iyileşmesine katkıda bulunabileceklerini düşündürmektedir (12). Bazı *Plantago* türlerinin yaygın geleneksel kullanım ve modern tıbbi uygulamaları, astrenjan, kanamayı durdurucu, antimikrobiyal, ekşepkotoran, diüretik ve yatıştırıcı gibi çeşitli kayda değer iyileştirici özellikleri neticesindedir. Bundan başka, bazı çalışmalar *Plantago* türlerinin kanser hücre kültürlerinde sitotoksik etki, antienflamatuvar, bağışıklık düzenleyici, antioksidan, antispazmotik etki gibi oldukça önemli ve belirgin biyoaktiviteleri ortaya çıkardığını doğrulamaktadır (13). Halk tıbbında *P. lanceolata*'nın toprak üstü kısımları antienflamatuvar, antibakteriyel, idrar söktürücü ve antiastmatik olarak kullanılmaktadır. *P. lanceolata*'nın şarap ve bal ile karışımından elde edilen sıvının gut hastalığına iyi geldiği, haricen deri hastalıklarında (14) ve tümörler üzerinde sitotoksik etkisinin olduğu bildirilmiştir (15).

Plantago yaprakları farklı türleri olan 256 yıllık dünya çapında dağılım gösteren çok yıllık otlar ve çalılardan oluşur. Türkiye'de 2'si endemik olmak üzere 21 türü bulunmaktadır. *Plantago* türlerinin yaprakları ve tohumları, Fransa, İtalya, Güney Afrika, Türkiye gibi belli ülkelerde salata malzemesi veya çocuk maması olarak tüketilir. *P. major* ve *P. lanceolata* Türkiye'de en yaygın bulunan türlerdir ve *Plantago* türleri, Anadolu'da yara, abse ve akne tedavisinde haricen, diyabet, idrar yolu enfeksiyonları, kanser, soğuk algınlığı ve viral enfeksiyonların tedavisinde dahilen kullanılırlar. *Plantago* türlerinin antitümöral, antienflamatuvar, antifungal, antibakteriyel, analjezik, antispazmotik, antiviral ve karaciğeri koruyucu etkileri tanımlanmıştır (16, 17).

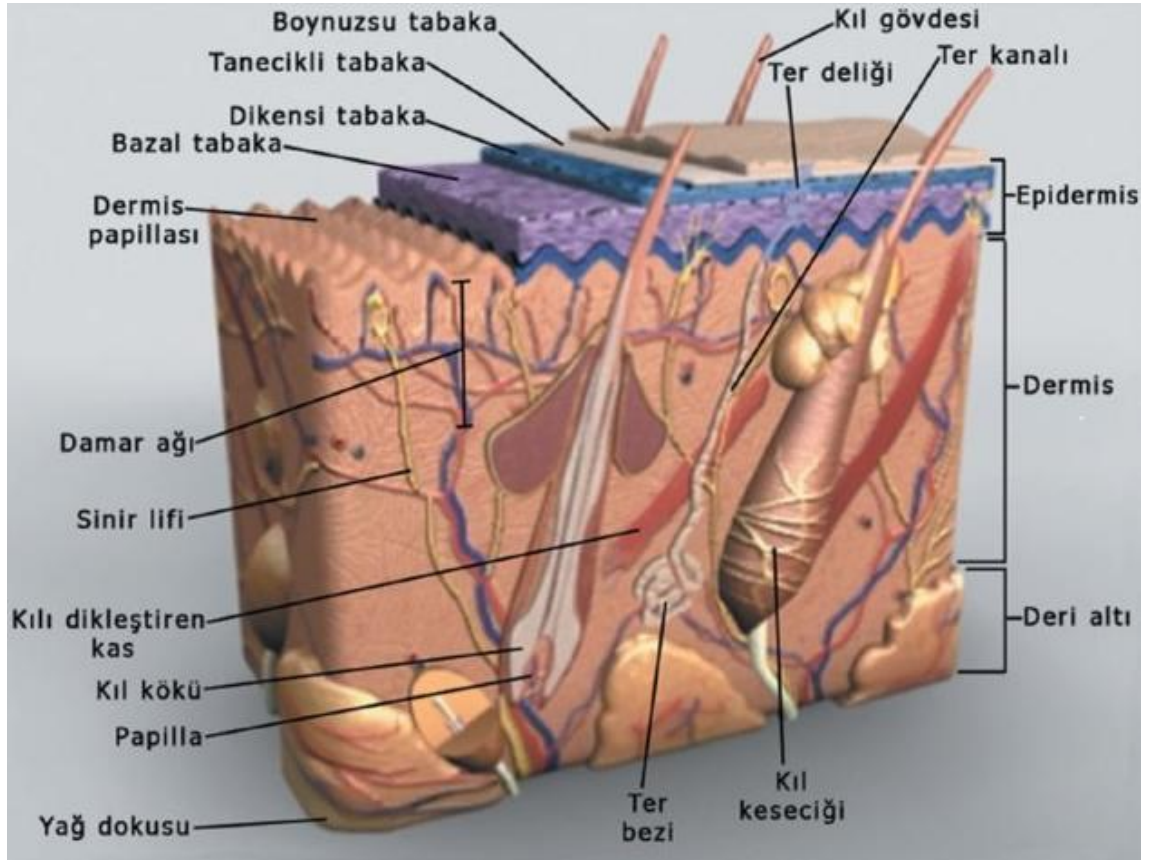
Bu çalışmada, halk tıbbında deri yaralarını iyileştirici özellikleri ve etki mekanizmaları henüz incelenmemiş olan *Plantaginaceae* ailesinin 275 türünden biri

olan *Plantago lanceolata*'nın (13), sıçanda oluşturulan doğrusal kesi (insizyon) yara modeli üzerinde oksidatif stres ve antioksidan savunmanın göstergelerinden olan glutatyon (GSH), total tiyol grupları (T-SH), tiyobarbitürik asit reaktif bileşenleri (TBARs); yara iyileşmesinde bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hidroksiprolin (HP) ile doku ve serum çinko (Zn^{+2}) ve bakır (Cu^{+2}) düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara

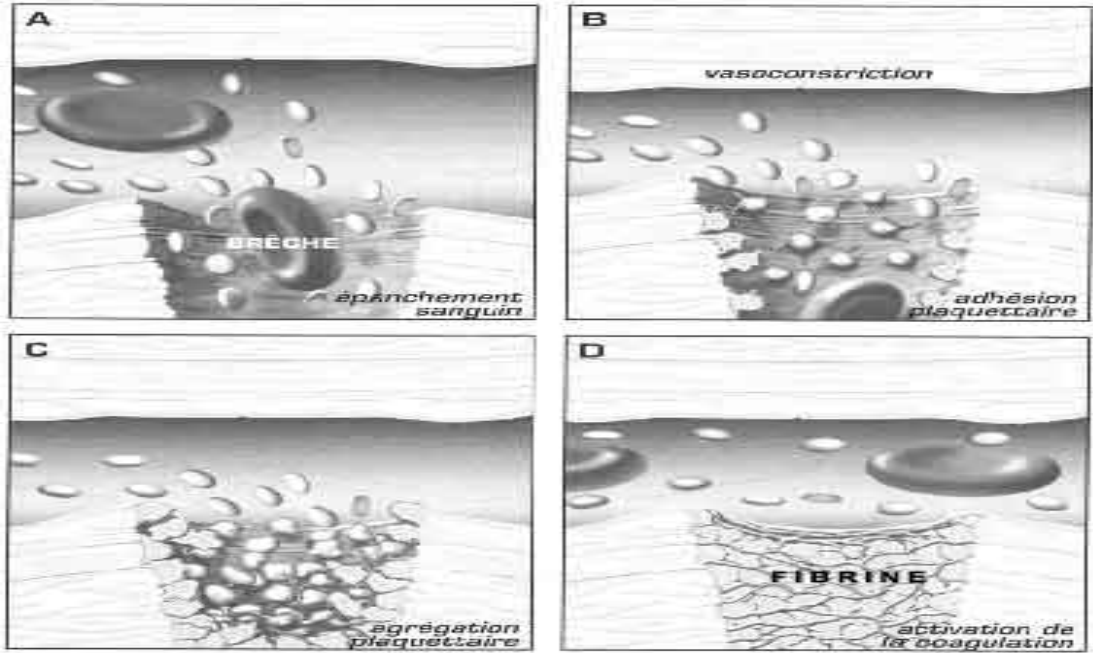
Yara; travma veya operasyonel yaralanmalar sonucu deride oluşan herhangi bir kesik, organ veya parçadır. Yaranın iyileşme süreci, vücudun zedelenen dokusuna yenilenme ve düzelme süreciyle fiziksel olarak yanıt vermesi olarak tanımlanabilir. Normal deride, derinin üst ve alt tabakası dış çevreden gelecek zedelenmelere karşı koruyucu dengeyi sağlayan bir yapıdan oluşur (Şekil 2.1) (18). Koruyucu bariyer yıkıldığında fizyolojik yara iyileşme süreci anında harekete geçer. Bu süreç, lokal ve sistemik faktörlere bağlı olan karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Yara iyileşmesi mekanizmasıyla ilgili farkındalık son on yıl içinde büyük oranda artmıştır. Yara iyileşme sürecindeki bozukluklar, deformasyon ve sakatlıkların en büyük nedenleri arasındadır (19, 20).



Şekil 2.1. Derinin yapısı (18)

2.2. Yara İyileşme Süreci

Yara iyileşmesi, farklı yapıdaki dokuların etkileşiminin bir sonucu olarak doğumdan sonraki en karmaşık biyolojik olaylardan biridir (4). Doku hasarıyla birlikte zincirleme olaylarla başlayan yara iyileşmesi, yangı, damar oluşumu, fibroblast çoğalması, yara kapanması, epitelizasyon ve matriksin yeniden şekillenmesini de kapsayan iyi organize edilmiş birçok hücresel ve moleküler olayı içerir (3, 20) (Şekil 2.2) (21). Hücre dışı bağ dokusu matriksinin temel kaynağı olan dermal fibroblastların da yara iyileşmesinde önemli rolleri vardır. Fibroblastlar, gen ekspresyon değişimine uygun olarak serum askorbik asit 2-fosfataz serum faktörleri ile sessiz fibroblastların mitojenik uyarılmasını artırır (2).



Şekil 2.2. Derinin zedelenmesi ile yara iyileşme süreci başlar (21).

Bir yarannın iyileştiğinin göstergeleri; birbirine bağlı dokuların tamir edilmesi ve yarannın kendini yenilemesi sayesinde tamamen yeniden epitel hale gelmesi, bunun sonucunda da normal anatomik yapısına dönmüş ve işlevine

herhangi bir drenaj veya desteğe ihtiyaç duymadan devam edebilen dokunun oluşmasıdır (20).

Vasküler doku yaralanmasına bağlı olarak refleks vazokonstriksiyonla damar dışı pıhtılaşma başlar. Doku faktörleri ve kalsiyum, faktör VII'yi aktive eder. Diğer pıhtılaşma mekanizmalarının da devreye girmesiyle vazokonstriksiyon ve pıhtı oluşumu gerçekleşir ve böylece daha fazla kan kaybı önlenmiş olur. İlk vazokonstriksiyondan sonra enflamasyonun bilindik belirtilerinden olan vasküler geçirgenlik artar. Vazodilatasyondan sonra prostasiklin, prostaglandin A, prostaglandin D, prostaglandin E (PGE) mediyatörleri tarafından **rubor (kızarıklık)** oluşturulur. Artmış vasküler geçirgenliğe bağlı oluşan **tümör (şişlik)**, vasküler endotelial boşlukların genişlemesiyle, plazma proteinleri ve akışkan sıvının hücrelerarası boşluğa geçmesiyle **dolor (acı)** oluşur. Bu durum aynı zamanda bölgesel ısı artışına ve mikroorganizmaların barınması için elverişsiz bir çevre oluşturulmasına yol açar. Periferel reseptörlere prostasiklin, PGE ve PGE2 tarafından iletilir. Bu evrede, akyuvarlar ve makrofajların bütün türleri tarafından mikrobiyal işgaline karşı bir bariyer oluşturulur. Acı hissi de vücudun yaralı bölgesinin fazla hareket ettirilmemesini sağladığı için önemlidir (22, 2).

Anjiogenezis, yeni kılcal oluşumların biyolojik bir mekanizmasıdır ve etkinleştirme, göç ve var olan venüllerden endotel kaynaklı hücrelerin türemesini kapsar. Anjiogenezis hipoksi, büyüme faktörleri, matriks bileşenleri ve metabolik etkinlikleri de içeren pek çok etkenden etkilenebilir. Endotel kaynaklı hücrelerin damar yapımı için etkinleşmesi, yaranın iyileşmesindeki epitelizasyon, hücrel matriks sentezi, fibroblast çoğalması ve enflamasyon gibi diğer biyolojik olayların düzenlenmesinde de önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (23).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), hem anjiogenezisde hem de vasküler geçirgenliğin artmasında endojen bir uyarıcıdır. Bu sürecin yeniden

damarlanmanın ortaya çıkması için gerekli olduğuna inanılır. Gelişen kan damarlarında ve reseptörlerinde bulunan VEGF, özellikle endotel hücrelerde bulunur. Doğrusal kesi yaralarına göre iskemik yaralarda VEGF daha yüksek miktarda bulunmaktadır (23).

Bazı yaralar zamanında ve istenilen sırada iyileşemeyebilirler, bu durum da yaralar kronik ve sürekli yönetim gerektiren, iyileşmeyen yaralar haline dönüşür. Büyük yaralarda süreçler birbiriyle örtüşen dört evreden oluşur; a) kanamanın durması, b) enflamasyon, c) çoğalma ve d) yeniden şekil almadır. Bunun aksine bazı yaralar zamanında ve düzenli bir şekilde iyileşemezler, bunlar kronik ve kalıcı yaraları oluşturabilirler. Kronik yaralarda, bu evrelerin bir veya birkaçındaki değişiklik yaranın yarım bir şekilde iyileşmesine neden olabilir çünkü sitokinler, büyüme faktörleri, proteazlar ve hücreiçi-hücre dışı etmenler yaranın iyileşmesinde farklı evrelerde önemli roller oynamaktadır. Ayrıca iyileşme sürecindeki düzensizlik, aşırı kollajen depolanması sonucu hipertrofik izler ve keloidlerde görüldüğü gibi anormal izlere de neden olabilir (20).

2.3. Yara İyileşme Çeşitleri

2.3.1. Birincil Yara İyileşmesi

Bu süreç kesiğin oluşmasının 12-24 saat ardından, yara uçlarının dikiş, doku yapışkanı, bantlar veya mekanik aletler gibi basit yöntemler kullanılarak birleştirilmesi sonucu başlar. Yaralanma, sadece merkezdeki epitel doku çeperinin bozulmasına ve ona bağlı birkaç epitel ve alt tabakadaki doku hücrelerinin ölmesine neden olur. Sonuçta epitelin yeniden yapılanması, fibrozise göre daha baskın çıkar. Ayrıca yaranın iyileşme sürecinde uygun bir denge olduğundan (buna hücre içi proliferasyon, kollajen metabolizması, matriks metalloproteinazı, hücre dışı matriksin yeniden yapılanması da dahildir) yaralar tamamen kapanana kadar hızla iyileşir. Bu

yaralar temiz, taze yaraların vaskülarize bölgelerinde oluşan, genelde en iyi biçimlendirilmiş yaralardır (19 ,20).

2.3.2. İkincil Yara İyileşmesi

İkincil yara iyileşmesi, derin ve yara dudaklarının birbirinden ayrı olduğu, granülasyon dokusuyla tabandan itibaren doldurulması gereken alanın bulunduğu, aşırı yumuşak doku kaybı yaşanan yaralarda görülür. Epitel hücrelerin tek başına yenilenmesi esas yapının yeniden kazanılması için yeterli değildir, bu yüzden yara kabuğundan kristalize olan dokudan bir içsel büyüme mevcuttur, bunun akabinde hücre dışı matriks hâlihazırdaki kollajenle biriktirilir. Bu açık ve tamamen kalın yaralar en nihayetinde bir sonraki yara birleşmesi ve epitalizasyonla kapanır. Örneğin, büyük miktarda derinin bozulması, derinin esas boyutunu altı hafta içerisinde %5-10 oranında azaltır. Fibroblast ve düz kas hücrelerindeki miyofibroblastlar bu tür iyileşmede kilit öneme sahiptir. Bu tür iyileşmeler yaralanmanın ardından üç gün içinde gerçekleşir ve on ile yirmi bir gün arasında da en yüksek seviyeye ulaşır. İkincil iyileşme, birincil iyileşmeden daha yavaştır ve aksaklıklara, işlevsel kısıtlamalara (özellikle eklemler üzerinde) neden olabilir (19, 20).

2.3.3. Üçüncül Yara İyileşmesi (Gecikmiş Birincil Yara İyileşmesi)

Üçüncül yara iyileşmesi, çok ağır kontamine yaralarda görülür. 3-4 günden sonra fagositik hücrelerin yaraya dahil olduğu görülür ve enflamatuvar hücreler bulaşan bakterileri yok eder. Yaranın uçları birkaç gün gecikmeyle de olsa bir araya getirilir. Kollajen metabolizması genellikle etkilenmez ve yara gerilme kuvvetini korur. İyileşme başladıktan 4-5 gün sonra temiz ve iyi vaskülarize olmuş görünür (19).

2.4. Yara İyileşme Evreleri

Yara iyileşmesinin biyolojik süreci 4 evreye ayrılabilir (24, 25) (Tablo 2.1);

1- Hemostaz

2- Enflamasyon (Yangı)

3- Proliferasyon (Çoğalma) ve epitelizasyon

4- Yeniden yapılanma ve izin olgunlaşması (Matürasyon, Remodeling)

Tablo 2.1. Yara iyileşmesinin evreleri (24, 25)

Evre	Zaman	Olaylar
1.Hemostaz evresi	Anında	Hemostazis Vazokonstriksiyon Platelet agregasyonu Kan pıhtılaşması
2.Enflamasyon (Yangı) evresi	Anında	Enflamasyon Vazodilatasyon Enflamatuvar hücrelerin göçü Fagositozis
3.Proliferasyon (Çoğalma) ve epitelizasyon evresi	Günler, haftalar	<i>Granülasyon</i> Fibroblastlar—kollajen (hasarlı bölgeleri dolduran ve yeni kılcallara şekil veren kollajen). <i>Kontraksiyon</i> Hasarlı yüzey alanını azaltmak için yara kenarları bir araya gelir. <i>Epitelizasyon</i> Nemli yüzey hücreleri yara başlangıç noktasından her yöne 3'er cm genişler.
4. Yeniden yapılanma ve izin olgunlaşma evresi	Haftalar, yıllar	Yaranın gerilim direncini artırmak için yeni kollajen üretilir. Skar dokusu asıl dokunun en fazla %80'i kadar sağlam olabilir.

2.4.1. Hemostaz

Yara iyileşmesi, doku bütünlüğünün travmatik olarak bozulduğu andan itibaren başlar. Bu duruma ilk fizyolojik yanıt **hemostaz**dır. Yara içindeki zedelenmiş endotelyum, içeriğindeki von-Willebrand faktörü (vWF)'nü ve doku tromboplastinini açığa çıkarır. vWF, plateletlerin endotel tabakası altı kollajenlere yapışmasını sağlar ve adenosin difostat (ADP) ve tromboksan A₂'yi aktive ederek plateletlerin agregasyonuna yol açar. Plateletlerdeki alfa granülleri, platelet dönüştürücü büyüme faktörü (PDGF)'nü ve dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β)'yı serbest bırakır. PDGF, fibroblastlar, nötrofiller ve monositler için kemotaktiktir ve TGF- β ile birlikte kollajen yapımının artmasına yol açar. Doku tromboplastini, fibrin üretimi ile koagülasyon yolaklarını aktive eder (19, 26).

Hemostatik evre, kendinden sonra başlayacak olan enflamatuvar evreye de etkilidir. Enflamasyon (yangı), vasküler geçirgenliğin artması ve prostaglandinlerle birlikte kemotaktik faktörlerin (kompleman, interlökin-1, TNF; Tümör nekroz faktör, TGF, bakteri yıkım ürünleri) salınması sonucu yaraya çeşitli hücreler göç eder. Bunlardan ilki nötrofillerdir. Daha sonra makrofaj ve lenfositler gelir. Ancak bu hücrelerin etkili olabilmesi için aktive olmaları gerekir. Özellikle makrofajların etkin çalışması önemlidir. Bu hücreler, hücre yıkım ürünlerini, bakterileri ve artıkları yok eder. Ayrıca, makrofajlar sitokinler aracılığı ile lenfositleri ve nitrik oksit aracılığı ile monosit, fibroblast ve endotel hücrelerini etkinleştirirler (27, 28). Yara iyileşmesinde hücre dışı elementler ve hücrelerin rolleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Yara iyileşmesinde hücre dışı elementler ve hücrelerin rolleri (20, 28)

Yara Elemanları	Yaralanmadan Sonra Görülme Zamanları	Yara İyileşmesinde En Önemli Etkileri
Trombositler	Hemen	Hemostaz, büyüme faktörlerinin (PDGF, TGF- β EGF ve TGF- α) ve proteolitik enzimlerin salınımı
Nötrofiller	6.saat, 24-48. saatte en çok	Yara debridmanı, bakteri ve yabancı cisimlerin temizlenmesi
Makrofajlar	3-5. günde en çok	Yara debridmanı, büyüme faktörlerinin (PDGF, TGF- β , TGF- α , FGF, IL-1, EGF, ve TNF- α) salınımı
Fibroblastlar	48-72. saat arası	Kollajen, proteoglikanlar ve elastin sentezi; büyüme faktörlerinin (TGF- β , PDGF, KGF, FGF, IGF-1 ve IFN'lar) salınımı; yara büzülmesi(kontraksiyonu); yaranın yeniden yapılanması
Keratinositler	Epidermal göç başlayınca	Mitoz bölünme ve göçle sekonder epidermal iyileşme; fibronektin sentezi; büyüme faktörlerinin (TGF- β , TGF- α , EGF) üretimi
Endotel hücreleri	48-72. saat arası	Fibronektin sentezi; büyüme faktörlerinin (PDGF, TGF- β , IGF-1) üretimi
Fibronektin	Erken	Hücre göçü için yapısal destek; kollajenin organizasyonu
Kollajen	Tip III: 2 gün sonra, Tip I: birkaç hafta sonra	Yapısal destek ve güç; hücreler arası etkileşimi düzenleme
Proteoglikanlar	2. haftada maksimum sentez	Kollajen sentezinin sürekliliği, hücreler arası etkileşimler, matriks komponenti
Hyaluronik asit	Erken; 4. günde en çok	Hücre hareketliliğinin artırılması

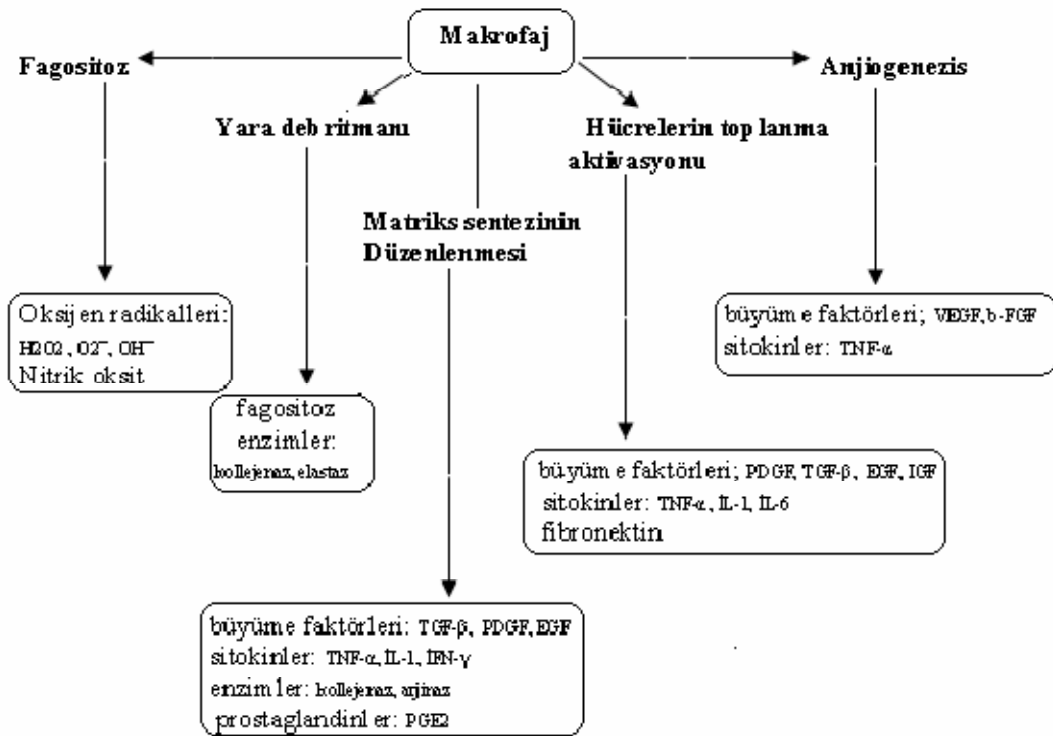
EGF; Epidermal büyüme faktörü, **FGF**; Fibroblast büyüme faktörü, **IFN'lar**; İnterferonlar, **IGF-1**; İnsülin benzeri büyüme faktörü-1, **IL-1**; İnterlökin-1, **KGF**; Keratinosit büyüme faktörü, **PDGF**; Platelet dönüştürücü büyüme faktörü, **TGF**; Dönüştürücü büyüme faktörü, **TNF- α** ; Tümör nekroz faktör- alfa.

2.4.2. Enflamasyon (Yangı)

Nötrofiller, yara bölgesine ilk gelen ve akut *enflamasyonu* başlatan lökositlerdir. Bu hücreler, bakterisidal ve fagositik özellikleri sayesinde, lokal bakteriyel kontaminasyonu ve enfeksiyon oluşumunu engelleyen immünolojik öneme sahiptirler. Ayrıca nötrofiller, elastaz, kollajenaz vb. proteazları salarak, hasarlı ve denatüre olmuş hücre dışı matris elemanlarını ortadan kaldırır ve ölü dokuların sıyrılmasını sağlarlar (29).

Trombosit ve nötrofillerden salınan TGF- β , monositler için en güçlü kemotaktik maddelerden biridir. Damar dolaşımındaki monositler, yara yerine geldiği zaman etkinleşerek makrofajlara dönüşürler, bakterilerin yok edilmesini ve yara yerinin sıyrılıp atılmasını sağlarlar. Makrofajların önemi, yara iyileşmesinde hücresel ve biyokimyasal olayları etkileyen birçok sitokin ve büyüme faktörü salgılamasından gelir (27, 30). Makrofajların görevleri Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.

Şekil 2.3. Makrofajların görevleri (28):



2.4.2.1. Enflamatuvar Yanıt ve Sitokin Ekspresyonu

İyileşmeye yanıt, normal dokunun zarar gördüğü andan itibaren başlar. Eğer doku deriyse onarım; yeniden yapılanma, granülasyon dokusunun oluşumu ve yaranın altındaki temel bağ dokuların yenilenmesini de içerir. Endotel daralma ve hücre iskeletinin yeniden yapılandırılması veya venüllerdeki endotel boşluklar tarafından oluşturulan çeşitli mekanizmalar aracılığıyla akut enflamasyon ve vasküler sızıntı ortaya çıkar. Enflamatuvar yanıt, enfeksiyonla mücadele için önemlidir. Çeşitli sitokinler ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-1alfa (IL-1 α), interlökin-6 (IL-6), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), platelet dönüştürücü büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), keratinosit büyüme faktörü (KGF), granülosit monosit koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve sinir büyüme faktörleri (NGF)'ni içeren çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir. Jurjus ve ark. (2007), tavşanda yanık tedavisine lokal olarak ilaç uygulamasının enflamatuvar hücrelerin dinamiğini değiştirdiğini göstermişler ve bu uygulamanın yara iyileşme sürecinde yeni bir yaklaşım olabileceğini belirtilmişlerdir (4).

2.4.3. Çoğalma (Proliferasyon) ve Epitelizasyon

Yara yaklaşık üç günlükken *çoğalma ve epitelizasyon* evresi başlar, yaralanmadan 2 veya 4 hafta sonraya kadar devam eder ve fibroblast yer değişimleri, hücre dışı matriksin depolanması ve dokunun granülize edilmesi ile karakterizedir (20). Fibroblastlar yaranın kenarında birikmeye başlar ve fibroblastlar ve epitelium için mitojenik olan PDGF ve TGF- β 'i serbest bırakır. Epitel hücrelerin hızla yayılması hücre dışı matriks üretimine sebep olur. Hücre dışı matriks proteoglikan, yapışkan glikoprotein ve kollajenlerden oluşur (19).

Fibroblastlar, yaranın iyileşme sürecinde granülasyon dokusunun gelişiminde tenaskin, fibronektin, metalloproteinazlar ile kollajen I ve III sentezinden sorumludurlar (30). Bir yandan kollajen sentezi olurken, diğer yandan da erken

geçici matriksdeki fibrin, fibronektin ve proteoglikanlar, serin proteazlar tarafından yıkılır. Fibroblastların yara bölgesine ulaşmasıyla, yaralanma sonrası 2-3. günde kollajen sentezi ve birikimi başlar ve 14. güne kadar devam eder. Kollajenler vücuttaki proteinler içerisinde en bol bulunanlardır. Tüm dokularda kuvvet ve düzen sağlarlar, böylece yara iyileşmesinde hayati bir görev edinirler. PDGF, bFGF, TGF- β , IL-1, TNF yara iyileşmesinin çoğalma ve yeniden yapılanma aşamalarında kollajen sentezini başlatırlar (20).

Granül dokunun oluşumu yaralanmadan sonraki 3-5 gün içerisinde gerçekleşir. Granül doku yumuşak, pembe ve kabarcıklı bir görünüme sahiptir ve çoğalmış fibroblastlar ile gevşek yapıdaki hücre dışı matriksinde bulunan kılcal damarları içerir. Granülasyon dokusunun oluşumu ile birlikte anjiogenez, yani yara alanındaki eski kan damarlarından yeni kan damarlarının yapılanması (neovaskülerizasyon) gerçekleşir. Kan damarlarının granül dokusunda yoğunlaşırken bıraktığı iz, kollajenin burada depolanması ile giderek azalır. Proteoglikanlar, sülfatlı glikozaminoglikanların (GAGs) bağlı olduğu protein çekirdekten oluşan makromoleküller olup yara iyileşmesinde önemli faktörlerdir. Hücre göç ve çoğalmasını, kollajen sentezini, kollajen ve fibril organizasyonunu ve kollajen yıkım oranını kontrol ederler (20, 24, 29).

Fibroblastların çoğalmasıyla birlikte 3-5 gün içinde anjiogenez başlar. Fibroblast ve epitelyal hücrelerin aktiviteleri oksijen ve beslenmeye bağlı olduğu için, oksijen ve besin anjiyogenez için zorunludur. Hasar görmüş kan damarlarından köken alan endotelyal hücrelerin kök hücreleri, hücre dışı matriksi yara alanına doğru iterek yeni kan damarlarının oluşumunu sağlar. Hipoksi, ileri anjiogeneze yol açan endotelyal hücreler için mitojenik olan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'nü devreye koyup monositleri uyarır (19). VEGF-A, büyük ölçüde yaralı dokudaki makrofajlar, kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilir, aynı zamanda anjiogenezin göstergesidir ve yaralanmadan sonra yeni damarların yapılanmasını uyarır (31). Yara iyileşmesindeki büyüme faktörleri ve işlevleri Tablo 2.3.'de gösterilmiştir.

IGF'leri, proinsülin benzeri tek zincirli polipeptidlerdir. İnsanda IGF-I ve IGF-II olmak üzere iki formu vardır. Doğumdan sonra IGF'ler, karaciğerde sentezlenirler ve hemen kan dolaşımına geçerler. Dolaşımdaki IGF'ler, endokrin etki gösterirken, lokal üretilenler otokrin ya da parakrin etki göstermektedirler. IGF ve birçok büyüme faktörü, yara iyileşmesinin farklı aşamalarında rol oynamaktadır. Erken yara iyileşmesinde EGF, FGF, PDGF, TGF- α , TGF- β gibi büyüme faktörlerinin etkisini göstermek için immünohistokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Akut ve kronik yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin etkileri üzerine yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, IGF-I'in, diabetik yara dokusunda normal yara dokusuna göre çok geç dönemlerde ortaya çıktığı ve bunun da diyabetteki yara iyileşmesinde gecikmeye yol açabilecek bir etken olabileceği düşünülmüştür (29, 32).

Açık yaradaki granülasyon dokusu şekillenirken, epitelyal hücreler yara ile çevre arasındaki bariyerden yeni dokuya göç eder ve yeniden yapılanma evresi gerçekleşir. İlk tanımlanan sitokin olan epidermal büyüme faktörü (EGF), epitel hücrelerinin göç ve çoğalmasını uyarır. TGF- β da epitel hücresinin göç ve çoğalması için güçlü bir uyarandır. Yara büzülmesi de kollajen sentezi gibi yaralanmadan 4-5 gün sonra başlar. En yüksek büzülme (maksimal kontraksiyon) 12-15 gün sürerken, yara açık kalırsa daha uzun süre de devam edebilir. Epitel örtüsünün korunması, termoregülasyon, sıvı dengesinin korunması, protein kaybının önlenmesi, bakteriyel enfeksiyon gelişiminin engellenmesi yönünden yaşamsal öneme sahiptir (19, 27). Yaranın epitelize edilmesi çoğalma evresinin son safhasını temsil eder (20).

Tablo 2.3. Yara iyileşmesindeki büyüme faktörleri ve işlevleri (20, 28).

Büyüme Faktörleri	Kaynak	Yara iyileşmesindeki işlevleri
PDGF	Trombositler, makrofajlar, endotel hücreleri, zedelenmiş hücreler	Kemotaksis, fibroblast proliferasyonu, kollajenaz üretimi
TGF-β	Makrofajlar, trombositler, nötrofiller, lenfositler, epitel ve endotel hücreleri, zedelenmiş hücreler	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis, kollajen metabolizması
EGF	Plazma, trombositler, makrofajlar, epitel hücreleri	Epitel hücre proliferasyonu, granülasyon dokusunun şekillenmesi
TGF-α	Aktive makrofajlar, trombositler, epitel hücreleri, zedelenmiş hücreler	Epitel hücre proliferasyonu, granülasyon dokusunun şekillenmesi
KGF	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
IL-1	Makrofajlar	Fibroblast proliferasyonu
FGF	Makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri	Fibroblast proliferasyonu, matriks depolanması, yara kontraksiyonu, angiogenez
TNF-α	Makrofajlar, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
IGF-1	Plazma, karaciğer, fibroblastlar	Kollajen ve proteoglikanların sentezi, fibroblast proliferasyonu
IFN'lar	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

2.4.4. Yeniden Yapılanma ve İzin Olgunlaşması (Maturasyon, Remodeling)

Yara iyileşmesinde birinci haftadan sonraki en son ve en uzun evre **yeniden yapılanma ve izin olgunlaşması**dır. Bu aşamanın en önemli özelliği yarada kollajen birikiminin olmasıdır. Yeni yarada bağ dokusunun ilk proteinleri fibrin ve fibronektindir. Daha sonra matriks yapımına yardımcı olacak glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar, fibrin ve fibronektinin yerini alır. Son olarak, yarada ağırlıkla bulunan kollajen yapımı başlar. Kollajen ilk önce ince fibriller şeklindedir, ancak kalınlıkları giderek artar ve gerilme çizgilerine göre organize olurlar. Yara izinin olgunlaşması uzun bir süreçtir (yaklaşık bir yıl). Yaranın mekanik gücü giderek artar ve üç ay sonra normal gerilme gücünün yaklaşık %80'ine ulaşır. Ancak hiçbir zaman normal derinin gücüne erişemez (5, 6). Kollajenin sürekli yapılandırılan ve yeniden bozulan bir yapısı vardır, bu durum ancak yaralanmadan 21 gün sonra dengeye kavuşur. TGF- β , PDGF ve bFGF'ün de içinde bulunduğu birçok sitokin tarafından etkilenen, fibroblast ve hücre dışı matriks arasındaki etkileşim sonucu yara küçülür (29, 20).

2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Etmenler

- 1- Radyasyon
- 2- Kortikosteroidler
- 3- Yaş
- 4- Diyabet
- 5- İlaçlar
- 6- Malnutrisyon
- 7- Beslenme şekli
- 8- Su
- 9- Vitaminler
- 10- Mineraller

2.5.1. Radyasyon

Yaralı dokunun iyonizan radyasyona maruz kalması, yaraya verilen normal tepkinin bozulmasına ve tedavi sürecinin uzamasına neden olur. İyonizan radyasyon, hücre çoğalmasını, granülasyon dokusunun olgunlaşmasını ve şekillenmesini, kollajen RNA'larının kopyalanmasını, kollajen üretimini ve yeniden damarlanmayı engeller. İyonize radyasyon, yaranın normal iyileşme sürecini etkileyerek geç iyileşen veya iyileşmeyen kronikleşmiş yaraların oluşumuna neden olur. İyonize radyasyon yara onarımındaki çok çeşitli hücresel ya da moleküler sistemlere doğrudan sitotoksik etkilidir ve yenilenen dokuda, serbest radikaller aracılığıyla dolaylı olarak hasara yol açar. Kollajen fibroblastlar tarafından üretilir ve iyileşme boyunca gerilme kuvveti sağlayarak yarayı tedavi eder. Büyük oranda kollajenden oluşan granülasyon dokusundaki hidrokspirolin içeriğinin radyasyona maruz bırakılmış deney hayvanlarında anlamlı şekilde azalmış olduğu saptanmıştır (2, 3).

2.5.2. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, enflamatuvar hücrelerin akışını engelleme yetenekleri sayesinde ödemi küçültmek, skar doku oluşumunu önlemek, kapiler geçirgenliği sınırlandırmak ve yara iyileşmesinin ilk bölümlerindeki kollajen sentezlerini engellemek amaçlarıyla klinikte sıklıkla kullanılırlar. Bununla birlikte, kortikosteroidlerin yara iyileşmesinde sağlığa zararlı etkilerinin bulunduğu da yaygın olarak kabul edilir. Steroid uygulamasıyla enflamasyon azalırken, steroidler kollajen sentezine ve yara kapanmasına sinerjistik zarar vermektedir. Kortikosteroidler; enzim sentezi ve etkinliğine, membran geçirgenliğine, taşıma süreçlerine hasar gelişim faktörlerinin tanımlanmalarını engelleyerek ve bağışıklık baskılayıcı etkileriyle de, yara bölgesinde makrofajlarca salınan sitokinleri engelleyerek etki ederler. Ayrıca kronik steroid uygulaması, glikolitik yolda yaptığı enzim değişikliği ile yara iyileşmesini bozar (19, 33, 34).

2.5.3. Yaş

Yaşlılarda hareketsiz yaşam, yemek hazırlama ve sindirimdeki zorluklar nedeniyle beslenme düzeyi yeterli olmayabilir. Bunun sonucunda gelişebilecek protein, C vitamini, tiamin, çinko ve magnezyum eksikliği yara iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır. Yara iyileşmesinin enflamasyon aşamasında yaşlılarda bazı yavaşlamalar olmaktadır. Bunlardan en önemlisi yaraya makrofaj ve lenfosit göçünde gecikme olmasıdır. İlerleyen yaşla birlikte, yaranın mekanik gücünden sorumlu olan kollajen sentezinin azaldığı belirtilmiştir. Sağlıklı yaşlılarda yapılan başka bir çalışmada kollajen sentezinde bir bozukluk olmadığı, ancak epitelizasyonun geciktiği vurgulanmıştır (12, 27).

2.5.4. Diyabet

Diyabetik ayak yaralarında tedavilerin çoğu, hafif ve orta şiddetteki yaralara etkilidir ve ampütasyon riskini azaltan yaklaşımlar yetersizdir. Diyabet hastalarında, derideki kan akışını azaltan ve yara iyileşmesini aksatan, sempatik sinir hasarının da bulunuyor olabileceği ve beta-adrenoseptörlerin diyabetik yara iyileşmesinde görevi olabileceği de düşünülmüştür. Diyabetik farelerde yaradaki zayıf damarlanma ve enflamatuvar sitokin TNF- α sentezinin artmış olduğu gösterilmiştir. Diyabetin hangi mekanizmayla derideki yara iyileşmesini geciktirdiği tam olarak anlaşılamamışsa da, mevcut çalışmalar, dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi büyüme faktörlerinin üretimindeki azalma (35, 36), kollajen sentezinde azalma, proteazların aşırı etkinleşmesi, enflamasyon yanıtın gecikmesi ve nitrik oksit sentezinin engellenmesi gibi durumların hepsinin diyabetteki yara iyileşmesinde gecikmelere neden olduklarını göstermektedir (37).

2.5.5. İlaçlar

Kullanılan bazı ilaçların yara iyileşmesini hızlandığı gösterilmiştir. Örneğin, Fenitoin (difenilhidantoin), antikonvülzan olarak kullanılan bir ilaç olup,

özellikle çocuklarda en sık gözlenen yan etkisi jinjival hiperplazidir. Fenitoinin bu yan etkisi, bağ dokunun büyümesini hızlandırarak yara iyileşmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür. Fenitoin fibroblast proliferasyonunu ve granülasyon dokusunu artırarak, kollajenaz aktivitesini azaltarak, glukokortikoid etkisini baskılayarak, bağ dokunun büyümesini hızlandırarak yara iyileşmesini artırabilmektedir. Sıçanlarda kesi yarası oluşturulmuş bir çalışmada, topikal olarak uygulanan fenitoinin ve ürenin yara iyileşmesi üzerine etkilerine bakılmıştır. Yine yapılan çalışmalarda fenitoinin diş çekimi sonrası diş etinin iyileşmesini ve yara gerilme gücünü de arttırdığı bildirilmiştir (6). Alkilleyici etmenler (örneğin siklofosamid, melfalan) gibi sitotoksik ilaçlar DNA sentezini bloke ederek yaranın iyileşmesini yavaşlatabilmektedirler (19).

2.5.6. Malnutrisyon

Beslenme bozukluğu, yaralanmalarda, kollajen sentezini bozarak yara iyileşmesini geciktirebilir. Bu nedenle, yetersiz beslenen bir hastanın cerrahi müdahale öncesi 7 ila 10 günlük bir diyetle alınması gerekir ve mümkün olduğu kadar enteral beslenme tercih edilir. Son zamanlarda büyük ölçüde arjinin, C ve E vitamini, Se^{+2} , Zn^{+2} gibi bağışıklık sistemini güçlendiren ve antioksidan özelliklere sahip besinlerle zenginleştirilmiş kişiye özel enteral bir diyetle desteklemenin morbidite ve hastanede yatma süresini kısalttığı gösterilmiştir (19, 30).

2.5.7. Beslenme Şekli

Kişinin beslenme alışkanlıkları ve besin içeriği yara iyileşmesi üzerinde etkilidir. Cilt yarası bulunan bazı hastalarda gıda eksikliği saptanmıştır ancak, beslemenin yara iyileşmesindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Çünkü, beslenmeye coğrafik, sosyoekonomik, ırksal faktörler ve sağlık durumu, yaş, cinsiyet gibi çok çeşitli faktörlerin de etkisi vardır. Ek olarak yetersiz gıda, kişinin eğitim ve bilgi düzeyi gibi diğer etmenler üzerinde de durulmalıdır. Yara iyileşmesini etkileyebilecek gıdalar Tablo 2.4'te gösterilmiştir (12, 22).

Tablo 2.4. Yara iyileşmesini etkileyebilecek gıdalar (12, 22).

A) Makro besinler
-Proteinler ve aminoasitler
-Karbonhidratlar
-Yağlar ve esansiyel yağ asitleri
B) Mikrobessinler
-Vitaminler: A,B kompleksi, C, E ve K
-Mineraller :bakır, demir, çinko

2.5.8. Su

Epidermal ve dermal hücrelerin sitoplazmik bir bileşenidir ve enzimatik onarım süreçlerinde epidermal hücrelerin şekil alması için ortam hazırlar. En uygun iyileşme için su dengesi çok önem taşır. Yeterli su alımı metal iyonları (örn. Zn^{+2} ve Ca^{+2}), sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından yürütülen kimyasal olayları kolaylaştırarak hücre bölünmesini ve göçünün düzenli olmasını sağlar. Su kaybı ise, epidermal zarara ve dermal nekrozise yol açar. Bu durum, yara iyileşmesini ve hastanın rahatlamasını geciktirir. Normal şartlar altında epidermal fosfolipidler deride suya karşı çatı görevi görür, su kaybını ve yabancı maddelerin geçişini en aza indirir. Oklüzit sargılar da yarada su kaybını en aza indirerek, yara bölgesinde bulunan enzimce zengin içeriğin deri dışına çıkmasını engellerler (12, 22).

2.5.9. Vitaminler

C vitamini; Fibroblastların olgunlaşması ve anjiogenezis için kollajen fiberler arasında çapraz bağların oluşmasında zorunludur (31). Kollajenin çapraz bağlı, dayanıklı üçlü heliks yapısının oluşumu için lizin ve pirolinin C vitamini tarafından hidroksillenmesi gerekmektedir. C vitamini, kollajen olgunlaşması ve seramid sentezinde rol alan prolin ve lizin'in hidroksilasyonunda kofaktör, serbest oksijen radikalleri için güçlü bir indirgeyici madde ve pek çok enzim için elektron

vericisidir. C vitamini aynı zamanda epidermal dokuda ve bağışık yanıtın oluşmasında, Fe^{+2} alımı ve metabolizması, Ca^{+2} metabolizması gibi metallerin metabolizmasına da katkıda bulunur (3, 12).

A Vitamini; Özellikle kronik yaralarda iyileşmenin enflamasyon evresinde önemlidir ve yara iyileşmesinde kortikosteroidlerle ortaya çıkan yara iyileşmesinin gecikmesinde azalmaya neden olmuştur. A vitamini, aynı zamanda, kollajenazı baskılayarak kollajen yıkımını önler ve epitelyum dokunun bütünlüğünü ve mukozal yüzeyleri korumada, fibroplezyada önemli görev üstlenmektedir. A vitamini eksikliği, kollajen sentezini ve yeniden yapılanmayı geciktirir. Kollajen, enfeksiyona duyulan hassasiyeti azaltır (12), hücre çoğalmasını destekler, sağlıklı deri devamlılığını ve kas gerginliğini sağlar, metabolizma hızını artırır, bağışıklık ve sinir sistemlerinin sağlıklı çalışmasını sağlar (22, 31).

B vitamini; Eksikliklerinin, yara iyileşme sürecini geciktirebildiği ve bazı deri hastalıklarına neden olabildiği bilinmektedir (12).

D Vitamini; Ca^{+2} alımı ve metabolizmasını kalsitonin ve paratiroid hormon salgılanmasını baskılamak suretiyle gerçekleştirir. Bu hormonlar kırık ve kemik şekillenmesinde, nöromusküler fonksiyonlarda ve bağışıklık sisteminde görev alırlar. D vitamini eksikliği çocuklarda raşitizm, yetişkinlerde östeomalazi ve osteoporoza yol açar. Yara iyileşmesinde D vitaminin rolü netlik kazanmamıştır (38, 39).

E Vitamini; Kronik yarası olan hastalarda E vitamini düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır. Kronik yaralarda iskemi, nekrotik doku ve mikrobiyal flora; serbest radikal oluşumunu artırarak enfeksiyona neden olurlar. E vitamininin, hayvanlarda kollajen sentezi ve yara iyileşmesine zarar verdiğini gösteren çalışmaların yanısıra yaralı sıçan derisinde ve bacak ülseri olan hastalarda iyileşmeyi artırdığını gösteren çelişkili bulgular da bulunmaktadır. Muhtemelen yağda çözünen bir vitamin olması nedeniyle doza bağlı olarak yararı değişebilmektedir (31).

K Vitamini; K vitamini yara iyileşmesinin hemostazis evresinde önemlidir. K vitamini eksikliğinde hemoraji gelişerek enfeksiyona zemin hazırlar (40).

2.5.10. Mineraller

Çinko; DNA ve RNA polimeraz, proteaz ve karbonik anhidrazlar dahil yara iyileşmesinde en az 70 esas enzim sisteminde önemli bir kofaktördür. Diğer tahmin edilen görevleri hücre zarı stabilizasyonu, karbonhidrat metabolizması ve vitaminlerin (özellikle A ve C vitaminleri) taşınmasıdır. Ayrıca, hepatik depolardan retinol taşınmasında görevli retinol bağlayıcı proteinlerin sentezi ve kollajen fiberleri arasındaki çapraz bağların oluşumu için çinko gerekmektedir (31).

Yara sıvısındaki iz elementler iyileşme sürecinin temel inorganik biyokimyasına katkı sağlar ve iyileşmeyi hızlandırır. Yara iyileşmesindeki biyokimyasal süreçler önemli ölçüde iz elementlere bağlıdır, örneğin Cu^{+2} , Zn^{+2} ve diğer metaller, kandan veya yara sıvısından yeni iyileşmekte olan dokuya geçer (10, 41).

Demir; yara iyileşmesinde ve bağışıklıkta, hemoglobin oluşumunda, oksijen taşınmasında, serbest radikallerin metabolizmasında, oksidasyon ve redüksiyon süreçlerinde, mitokondri solunumlarında, kollajen öncülerinin hidrosillenmesinde, elastin ve kollajen sentezinde önemlidir. Kollajen sentezinin esası olan pirolin ve lizin hidroliz enzimlerinin kofaktörüdür. Hemoglobinin bir parçası olan demir, yeniden şekillenen yara dokusuna oksijen taşınmasında önemli bir görev üstlenir (22, 42).

Kalsiyum; vücudun toplam mineral yoğunluğunun %99'unu oluşturur ve pekçok yumuşak dokuda düzenleyici ve kofaktör olarak görev alır. Epidermisdeki kalsiyum, bazal hücre çoğalmasını düzenler (12).

Bakır; kollajen sentezinde ve lizil oksidazın bir parçası olan yara iyileşmesinde kofaktör olan temel bir elementtir. Bakır ve çinko takviyesiyle yara elastikiyeti ve sağlamlığının arttığı tespit edilmiştir. Bakır eksikliği kollajen ve elastik doku oluşumunda hasara yol açar, bunun sonucunda yara iyileşmesi gecikir. Cu, Cu-süperoksit dismutaz (Cu-SOD)'ı oluşturarak bağışıklıkta ve nörolojik sistemde (dopamin sentezinde) yer alır. Kollajen, elastin ve çapraz bağlı kollajenin şekil almasında ve olgunlaşmasında (maturasyon) esansiyeldir. Cu- bağımlı bir enzim olan lizil oksidaz, neredeyse sadece bağ dokularında bulunur (42).

Selenyum; yara iyileşmesinde net rolünün ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır ancak, Se'un tıpkı Zn^{+2} gibi, alfa-2 makroglobuline bağlandığı bulunmuştur. Se^{+2} , hücreler içinde yaygın şekilde bulunan ve biyomembranları oksidatif hasara karşı koruyan antioksidan glutasyon peroksidaz (GPx) enziminin bütünleyici bir parçasıdır. Elektron transferi açısından önemli olup serbest radikal süpürücüsü gibi çalışır. Se, hücre transkripsiyon faktörü NFkB'nin aktivasyonunda yer alarak enflamatuvar tepkiyi kontrol altına alır (11, 42).

Manganez; yara iyileşmesinde Mn-süperoksit dismutaz (Mn-SOD) aracılığıyla mitokondriyel antioksidan savunmasında rol oynar ve mukopolisakkarit, glikoprotein sentezinde yer alan glikozil transferazları aktive eder. Normal skarlı ve keloid skarlı hastaların, skar dokularındaki Mn^{+2} miktarlarının farklı olmadığı bildirilmiştir (11, 42).

2.6. Yara ve Oksidatif Stres

Yaralanmadan hemen sonra ilk olarak, yara bölgesi etrafındaki kan akışı artarak beyaz kan hücreleri, antibakteriyel proteinler gibi ilk yardım unsurları yaralı bölgeye nüfuz eder. Serbest oksijen radikalleri, kan koagülasyonu ve trombozisin kontrolünde önemlidir. Ayrıca, vasküler zedelenmeler, endotel ekzositozunu tetikleyerek, redoksa duyarlı mekanizma aracılığıyla granüllerin enflamatuvar ve trombotik mediyatörlerinin kana salınmasını sağlar. Serbest oksijen radikalleri ve

radikal üreten NADPH oksidazlar, yeni damar oluşumunda sinyalizasyon molekülleri olarak önemli rol üstlenirler (8, 43).

Yaranın çevresi platelet fonksiyonunu düzenleyebilecek zenginlikte oksidan içerir. Trombositlerin kendisi de serbest oksijen radikali üretir ve yara kenarında beyaz kan hücreleri gibi diğer oksijen radikali üreten hücrelerle birlikte kümelenirler. Aktive olmuş plateletler doku faktörünün sentezini artırır, böylece serbest oksijen radikali üretimi ve vasküler düz kas hücrelerindeki NADPH oksidaz üretimi artar (7, 8).

Tüm klinik yaraların birtakım mikrobik risk taşıması beklenir. Bu risk, belirgin bir enfeksiyona neden olacak şekilde yüksek düzeyde olduğunda, oksijene daha fazla gereksinim duyulur (29). Ayrıca yaralı dokunun, oksidatif metabolizma aracılığıyla iyileşme sürecini hızlandırması gerekir ve bunun için de fazladan oksijene ihtiyaç duyar. Yaralı dokunun artan oksijen ihtiyacına karşın, damarların hasar görmesi nedeniyle yarada hipoksi meydana gelir. Yaradaki hipoksi iyileşmeyi kısıtlar, doku oksijenasyonu başarılı iyileşme sürecinin önemli bir göstergesidir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, oksijenin sadece yaraları dezenfekte etmesi ve iyileşmeyi hızlandırması için değil, aynı zamanda oksijene bağımlı redoksa-duyarlı sinyalizasyon sürecini oluşturarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (8, 9).

2.7. *Plantago Lanceolata* ve Halk Tıbbında Kullanımı

Geleneksel olarak kullanılan bitki ve bitki özleri gıda destekleri olarak kabul edilebilir. *Aesculus hippocastanum* (at kestanesi) özütü, *rutosid* özütü, *pycnogenol* (Fransız deniz çamı kabuğu) özütü gibi birçok bitki özünün venöz ülserlerde tedaviye yardımcı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu tip çalışmalar, bitki özlerinin standart tedaviye eklendiklerinde yara iyileşmesine katkıda bulunabileceklerini düşündürmektedir (1, 12).

Plantago lanceolata, “*Plantaginaceae*” ailesinden yuvarlak saplı, çok yıllık bir bitkidir. Halk tıbbında *Plantago lanceolata*’nın toprak üstü kısımları antienflamatuvar, antibakteriyel, idrar söktürücü ve antiastmatik olarak kullanılmaktadır. Bu sebeple pek çok yazar bu bitkinin halk arasında çok amaçlı kullanımını açıklayabilmek için *Plantago lanceolata* yapraklarının kimyasal bileşenleri üzerinde çalışmış ve birkaç aktif bileşen izole etmişlerdir. *Plantago lanceolata* laksatif ve diüretik etkili iridoitler (catalpol, aucubin, asperuloside) ve antienflamatuvar etkili flavonoidler (apigenin 7-O-glukosit, scutellarein) içerir (13, 17).

Plantago lanceolata’nın topraküstü kısımları, bronşiyal nezle ve farens (yutak)’in mukoz membranındaki inflamasyonun tedavisinde kullanılmıştır. Bu endikasyonda genelde 3-6g/gün kullanılır. İlgili bileşenler değerlendirilerek azaltılabilir ya da zenginleştirilebilir. Yeni bir klinik çalışma, *Plantago lanceolata* ekstresinin bronşiyolitik aktivitesini ortaya koydu (16, 44). Bundan başka, bazı çalışmalar *Plantago* türlerinin kanser hücre kültürlerinde sitotoksik etki, antienflamatuvar, bağışıklık düzenleyici, antioksidan, antispazmotik etki gibi oldukça önemli ve belirgin biyoaktiviteleri ortaya çıkardığını doğrulamaktadır. Ayrıca, bazı *Plantago* türleri beslenmede de kullanılmaktadır. Genelde taze olarak salata, çorba, meze ya da bitki çayı olarak tüketilirler. Bazı türlerin tohumları, pişirilebilir ve nişasta olarak kullanılabilir veya toz haline getirilerek ekmek ve kek yapımında un olarak eklenebilirler. Bazı eski çalışmalar, iyileştirici etkenlerin *Plantago* türlerinin biyolojik aktif bileşenlerinden kaynaklandığını gösterse de, *Plantago*’ların çoğunluğu şimdiye kadar fitokimyasal bileşenler ve biyolojik aktivite bakımından tanımlanamamıştır (13, 15, 16).

P. lanceolata’nın şarap ve bal ile olan karışımından elde edilen sıvının gut hastalığına iyi geldiğine dair raporlar bulunmaktadır. Ayrıca, bu bitkinin ezilen yaprakları tuzla karıştırılınca artritli kol üzerinde haricen bölgesel tedavi edici olarak da kullanılmaktadır (45). *P. lanceolata*’nın metanollü özütlerinde antioksidan, antienflamatuvar (COX-1 ve 12-LOX inhibisyon gücü) ve sitotoksik aktivitenin yanı sıra dikkate değer fenolik içerik bulunmuştur (13). Son yıllarda, bitkinin üst solunum

yolu ve ağız - boğaz hastalıkları tedavisinde kullanıldığı da gösterilmiştir. Haricen deri hastalıklarının tedavisinde de kullanıldığı bildirilmiştir (45). *P. lanceolata*'nın özütleri farelerde karragenan ile oluşturulan ödem üzerinde antiflojistik (iltihabı azaltıcı) etki göstermişlerdir (46, 47). Ayrıca, *P. lanceolata* özütünün, in vitro olarak nitrik oksit üretimini, deksametazon ve indometazinle kıyaslanabilecek kadar anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (13, 18). Yapraklarındaki polisakkaritler, makrofajları aktive ederek NO ve TNF- α üretimini stimüle ettiği için bağışıklık düzenleyici etkiye sahiptirler (48).



Resim 2.1. *Plantago lanceolata*



NARROWLEAF PLANTAIN
Plantago lanceolata L.
PLANTAIN FAMILY

Şekil 2.4. *Plantago lanceolata* (49)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kimyasal Maddeler

-% 0.9 İzotonik sodyum klorür solüsyonu.....	İ.E. ULAGAY
-Tiyobarbitürik asit (TBA).....	MERCK
-Sakkaroz.....	RIEDEL-DE HAEN
-Sodyum dodesil sülfat (SDS).....	MERCK
-Asetik asit.....	MERCK
-Sodyum hidroksit.....	J.T. BAKER
-Trikloro asetik asit (TCA).....	RIEDEL-DEHAEN
-1,1,3,3-tetra etoksi propan (TEP).....	DROGSAN
- Na ₂ EDTA.....	SİGMA
-Tris.....	SİGMA
-Hidroklorik asit.....	MERCK
-DTNB (Ellman's reaktifi)	SİGMA
-İndirgenmiş glutatyon (GSH).....	SİGMA-ALDRICH
-Absolü metanol.....	MERCK-BAKER
-Çinko atomik absorpsiyon stok standart çözeltisi.....	CUSTOM-GRADE STANDARD
-Bakır absorpsiyon stok standart çözeltisi.....	CUSTOM-GRADE STANDARD

-n-Hekzan.....	MERCK
-Madecassol® merhem.....	BAYER

3.1.2. Malzeme ve Cihazlar

-Sekiz lambalı, döteryum lambalı, bilgisayar kontrollü, çift oto örnekleyicili atomik absorpsiyon spektrofotometresi.....	PERKİN ELMER ANALYST 800
-Alevli atomlaştırıcı ve buna bağlı 160'lık atomik örnekleyici.....	PERKİN ELMER AS91
-Bilgi işlem ünitesi.....	TETRA
-Yazıcı.....	DELL
-Çinko ve bakır için oyuk katod lambalar.....	PERKİN EMLER, LUMİNA-LAMP
-Spektrofotometre.....	SHIMADZU-1240
-Manyetik karıştırıcı.....	ART SH-3
-Vorteks karıştırıcı.....	NÜVE NM-110
-Santrifüj cihazı.....	SİGMA 1-14
-Elektrikli hassas terazi.....	OHAUS NV-210
-Su banyosu.....	NÜVE BM-402
-Homojenizatör.....	HEİDOLPH-2021
-Etüv.....	NÜVE FN-120
-pH metre.....	HANNA-211
-Polipropilen (PVC) tüpler.....	SİGMA
-Değişik hacimde balonjojeler.....	PAYREX

-Otomatik pipet ve uçları.....	ACCUMAX
-Enjektörler.....	SET İNJECT
-Cam tüpler.....	KİMAX
-Rotavapor.....	BUCHİ
-Öğütücü.....	ATLAS

3.1.3. Deney Hayvanları

Deneylerde Saki Yenilli Deney Hayvanları Yetiştirme Laboratuvarı'ndan temin edilen 180-200g ağırlığında toplam 30 adet erkek Wistar Albino sıçanlar kullanıldı.

3.1.4. Bitki Materyali

Plantago lanceolata bitkisinin yaprakları İnönü Üniversitesi kampüsünden 14 Haziran 2011 tarihinde İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Narin Sadıkoğlu ve Biyolog İsmet Gürhan tarafından toplandı. İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda INUE-1328 numarasıyla kullanılıncaya kadar muhafaza edildi.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Deney Grupları

Deney hayvanlarının laboratuvar koşullarına uyum sağlaması için, deneye başlamadan önce üç gün beklendi. Bu bekleme süresince hayvanlar standart pellet yem ve su ile beslendiler, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması yapılan laboratuvarda oda sıcaklığında barındırıldılar. Deneylerde her grupta altı (6) hayvan kullanıldı. Tüm hayvanlara doğrusal kesi (insizyon) yara modeli uygulandı.

Grup I (Negatif kontrol); Hiçbir tedavi uygulanmadı.

Grup II (Pozitif kontrol, Sıvağ); Madecassol® pomadın bazı olan glikol stearat: 1,2 propilen glikol: sıvı parafin (3:6:1) uygulandı. Bu amaçla, 3g sıvı parafin, 9g glikol stearat, 18g 1,2 propilen glikol karıştırılarak 30g baz elde edildi ve bu gruptaki sıçanlara elde edilen 30g bazdan her bir hayvana 0.5g olacak şekilde 10 gün boyunca uygulandı.

Grup III (Sulu özüt); *Plantago lanceolata* bitkisinin %1 (a/a)'lik sulu özütünü içeren 0.5g baz merhem uygulandı. Bu amaçla, 2,97g sıvı parafin, 8,91g glikol stearat, 17,82g 1,2 propilen glikol karıştırılarak 29,7g baz elde edildi. Bu baza 0,3g (%1) sulu özüt ilave edilerek 30g merhem elde edildi. Bu gruptaki sıçanlara elde edilen 30g merhemden her bir hayvana 0.5g olacak şekilde 10 gün boyunca uygulandı.

Grup IV (Metanollü özüt); *Plantago lanceolata* bitkisinin %1 (a/a)'lik metanollü özütünü içeren 0.5 g baz merhem uygulandı. Bu amaçla, 2,97g sıvı parafin, 8,91g glikol stearat, 17,82g 1,2 propilen glikol karıştırılarak 29,7g baz elde edildi. Bu baza 0,3g (%1) metanollü özüt ilave edilerek 30g merhem elde edildi. Bu gruptaki sıçanlara elde edilen 30g merhemden her bir hayvana 0.5g olacak şekilde 10 gün boyunca uygulandı.

Grup V (Referans); % 1 *Centella asiatica* bitki özütü içeren Madecassol® pomad (bazı glikol sterarat:1,2 propilen glikol:sıvı parafin (3:6:1))’dan her bir hayvana 0.5g olacak şekilde 10 gün boyunca uygulandı.

3.2.2. Sulu ve Metanollü Bitki Özütlerinin Hazırlanması

-Kurutulan *Plantago lanceolata* yaprakları, öğütücü yardımıyla ince toz hâline getirildi.

-60 g ağırlığındaki *Plantago lanceolata* yaprak tozları, her erlende 30 g olacak şekilde ikiye bölündü ve birinin üzerine 1500 ml su, diğerinin üzerine 1500 ml metanol eklendi. Ağzıları parafinle sıkıca kapatılarak suda ve metanolde çözünebilen etken maddelerin çözücülere geçebilmesi için iki gün süreyle beklemeye bırakıldı.

-İki gün sonra, her iki erlendeki çözelti, huni ve pilili süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü. Üstte kalan çökelti ayrı erlenlere alınarak bir kez daha su ve metanolle muamele edildi ve çökeltilerdeki çözünen etken maddelerin daha fazla elde edilebilmesi için iki gün daha beklemeye bırakıldı.

-Süzgeç kağıdı yardımıyla süzülen çözeltilerden cam balonlara 20 cc alındı. Sadece su ile rotavaporda özüt elde edilmeye çalışıldığından yeteri kadar bileşiğin özüte alınabilmesi için sulu çözeltinin üzerine balondaki çözelti hacminin 1\3’ü kadar (7cc) n-butanol eklendi. Rotavaporda, n-butanol eklenmiş çözeltinin çözücüsü kalmayana kadar su ve n-butanolü uçuruldu. Rotavaporun su haznesinin ısısı 47 C°’ de ve rotasyon hızı, 2. kademede tutuldu. Metanollü çözelti ise, doğrudan rotavapora koyularak, çözücüsü (metanol) kalmayana kadar rotavaporda metanolünden kurtarıldı.

-İki gün beklemeye bırakılan çözeltilere de tekrar aynı ekstraksiyon işlemi uygulanarak, elde edilen sulu ve metanollü özütler kendi içlerinde birleştirildi. Özütler, ultrasound cihazında tutularak, cam balonların çeperlerine yapışmış olan kısımların da dibe çökmesi sağlandı.

-İçinde ekstre olan balonların ağırlıkları ve balonların daraları tartılıp aradaki fark alınarak özütlerin ağırlıkları bulundu.

3.2.3. Doğrusal Kesi (İnsizyon) Yara Oluşturma Modeli

-Sıçanlara intraperitoneal olarak 0.05cc Ksilazin (%2'lik Alfazyne[®]) ve 0.15cc Ketamin (%10'luk Ketazol[®]) kombinasyonu enjeksiyonu ile genel anestezi yapıldı.

-Sıçanların sırt kısımları tıraşlandı. Traşlı bölge %70'lik etanol ile dezenfekte edildi. Sırtın orta hattından 1,5 cm uzaklıkta bistüri ile tam cilt kalınlıklı iki adet 5 cm'lik çizgi şeklinde kesi yarası oluşturuldu. Cerrahi ipek iplikle eşit aralıklarla 2 adet dikiş atıldı.

-Onuncu gün dikişler alınarak hayvanlar intrakardiyak kan alımı ile öldürüldü.

-Alınan kan 3500g de santrifüj edilerek serumları ayrıldı.

-Yara oluşturulan bölgeler yara kenarlarının 2'şer cm uzağından cerrahi makasla kesilerek çıkartıldı. Serum ve doku örnekleri, analizler yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı.

-Yara dokularından biri TBARS, GSH, T-SH, HP düzeyleri, diğeri ise yara dokusundaki çinko (Zn^{+2}) ve bakır (Cu^{+2}) analizleri için ayrıldı.



Resim 3.1. Sıçan sırtında doğrusal kesi yarası oluşturulması



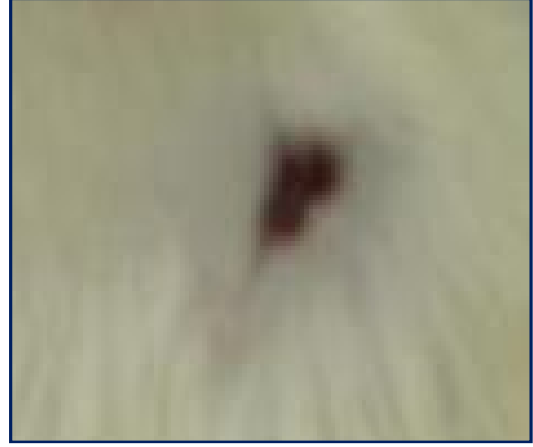
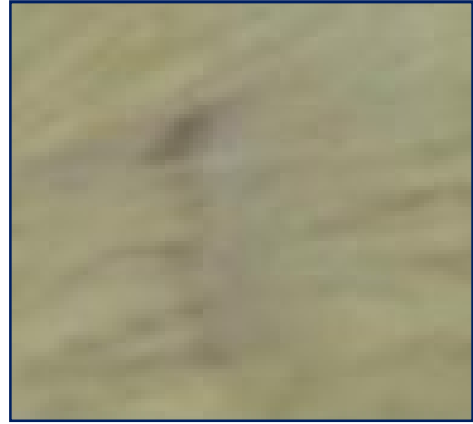
Resim 3.2. Sıçan sırtında doğrusal kesi yarası oluşturulmuş model



Resim 3.3. Doğrusal kesi yarasına dikiş atılması



Resim 3.4. Onuncu gün yara bölgesinin kesilerek alınması

**Kontrol****Sıvağ****Referans****Sulu Özüt****Metanollü Özüt**

Resim 3.5. Doğrusal kesi yarası oluşturulmuş sıçanların 10. günde yara iyileşme dereceleri

3.2.4. Doku Lipit Peroksidasyon Tayini (TBARS)

Yöntem seçimi; Ohkawa ve arkadaşları tarafından geliştirilen, Jamall ve Smith'in modifiye ettiği yöntem (50, 51) çalışıldı. Yöntem, doku homojenatında peroksidize lipitlerin yıkım ürünü olan ve tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS), TBA ile verdiği renkli ürünün 532 nm'de miktar tayini prensibine dayanmaktadır. TBA ile reaksiyona giren maddelerin %80-85'ini TBARS oluşturduğu için kimi araştırmacılar deneysel bulgularını TBARS cinsinden ifade etmekte ise de, son çalışmalarda TBA ile reaksiyona giren tüm maddeleri ifade eden TBARS kullanımının daha doğru olacağı bildirilmektedir. Dolayısıyla, sonuçlarımız TBARS (nmol/g yaş ağırlık) cinsinden verildi. Deneysel çalışma için;

-Çalışma esnasında derin dondurucudaki dokular alındı ve homojenizasyondan önce oda sıcaklığına getirildi.

-0.25 mol sakkaroz ile %10 a/h'lik doku homojenatları hazırlandı. Homojenat hazırlandıktan sonra sitozolik fraksiyonu ayırmak için 1000 g'de santrifüj edildi. Üstteki süpernatant alındı. 2000 g'de 4 C° 'de 30 dakika tekrar santrifüj edildi.

-Santrifüjden sonra deney tüplerine 0.2 ml süpernatant alındı ve üzerine; %8.1 a/h SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit (sodyum hidroksit ile pH 3.5'a ayarlı) ve 1.5 ml %0.8 a/h tiyobarbitürik asit çözeltisi eklendi.

-Son hacim distile su ile 4.0 ml'ye tamamlandı. Tüplerin ağzı sıkıca kapatılarak 95 C° 'ye ayarlı su banyosunda 60 dakika bekletildi. Bu süre sonunda tüpler musluk suyu altında soğutuldu ve reaksiyon durduruldu.

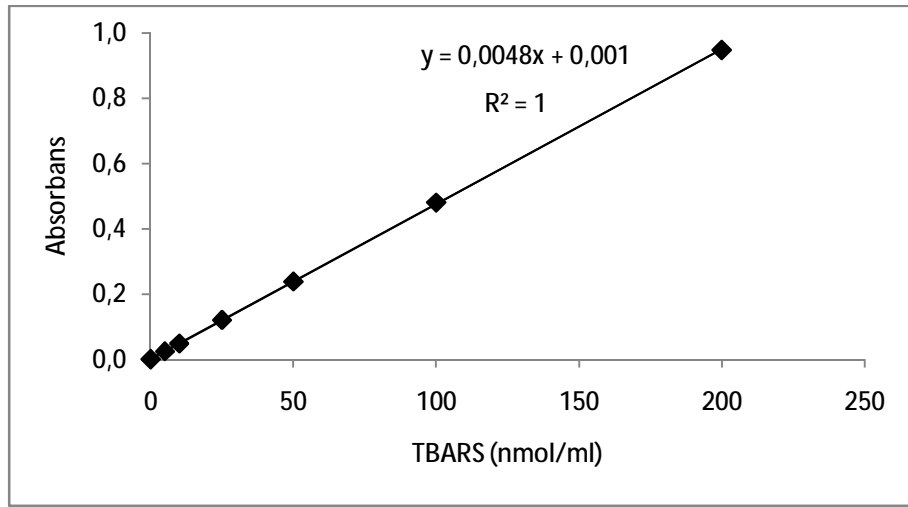
-Eşit hacimde, örnek ve %10 a/h TCA karıştırılıp 1000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.

-Her örnek için doku körü; örnek üzerine eşit hacimde distile su ilave edilerek hazırlandı.

-Santrifüj işlemi sonunda, tüpün üstündeki renkli ürünün 532 nm’de köre karşı absorbansları okundu.

-Standart çalışma için 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanıldı.

-Stok çözelti, 200 nmol/ml konsantrasyonda hazırlandı. Stok çözülden 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 nmol/ml konsantrasyonda standart çözeltiler hazırlandı. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak 1g. dokudaki TBARS konsantrasyonu hesaplandı ve nmol/g cinsinden ifade edildi (50, 51).



Şekil 3.1. Doku TBARS kalibrasyon grafiği

3.2.5. Dokuda Glutatyon (GSH) Tayini

Sedlak ve Lindsay tarafından geliştirilen yöntem (52) kullanıldı. Yöntem, Ellman’s reaktifi ile tiyol gruplarının reaksiyona girmesi sonucu oluşan nitromerkapto benzoik asitin 412 nm’de miktar tayini prensibine dayanmaktadır.

Glutasyon; glisin, glutamik asit ve sisteinden oluşan bir tripeptittir. Kandaki GSH'un neredeyse tamamı eritrositlerde bulunur. İlaçların hemolitik etkisine duyarlı bireylerde eritrositlerdeki GSH miktarı stabil değildir ve azalır. GSH tayini için değişik yöntemler geliştirilmiştir. Nitroprussid yöntemi birçok açıdan yetersiz görülmüştür.

Reaksiyon ısıya aşırı duyarlıdır. Nitroprussid çözeltisi stabil değildir (taze hazırlandığı andan itibaren aktivite kaybı başlar), GSH kolaylıkla oksidasyona uğradığı için GSH standart solüsyonu stabil değildir. Oysa Ellman's reaktifi, bis-p-nitrofenil disülfid (PNPD), GSH tayininde karşılaşılan bu zorlukların üstesinden gelebilmeyi sağlamıştır. Deneysel çalışma için;

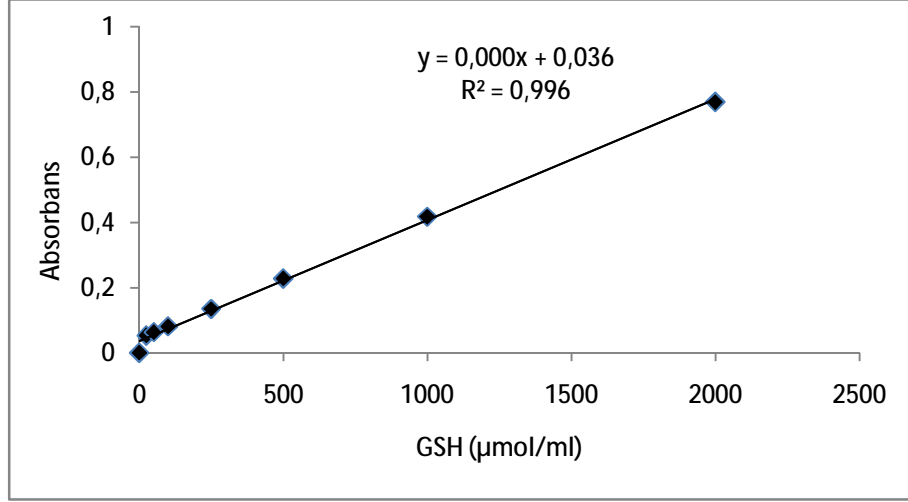
-Çalışma esnasında derin dondurucudaki dokular alındı ve homojenizasyondan önce oda sıcaklığına getirildi.

-Dokular 8.0 ml 0.02 M Na₂EDTA'da ve buz banyosu içinde homojenize edildi.

-Elde edilen homojenattan 5ml alındı ve üzerine; 4.0 ml distile su, 1.0 ml %50'lik TCA eklendi. 15 dakika 3000 g'de santrifüj edildi.

-Süpernatandan 2.0 ml alınıp üzerine 4.0 ml 0.4 M Tris tamponu (pH:8.9) eklendi. Okumadan hemen önce 0.1 ml DTNB (5,5'-Ditiyobis-(2-Nitrobenzoik Asit)) eklenip 5 dakika içinde 412 nm'de homojenatsız köre karşı absorbansları okundu.

-Standart çalışması için indirgenmiş glutasyon (GSH)' un 2×10^{-4} M'lık stok çözeltisinden 2, 1, 0.5 , 0.25, 0.125 $\times 10^{-4}$ M konsantrasyonda standart çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizildi ve doku konsantrasyonlarına geçildi. Sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ yaş ağırlık cinsinden verildi (52).



Şekil 3.2. Doku GSH kalibrasyon grafiği

3.2.6. Dokuda Total Tiyol Gruplarının (T-SH) Tayini

Yöntem seçimi; Sedlak ve Lindsay tarafından geliştirilen yöntem (52) kullanıldı. Yöntemin esası DTNB'nin serbest tiyol grupları tarafından yükseltgenip 2-nitro-5-merkaptobenzoik aside dönüşmesine dayanır. Bu bileşiğin renk şiddetine bağlı olarak tiyol gruplarının miktarı tespit edilir. Deneysel çalışma için;

-Homojenizasyondan önce dondurulmuş dokular oda sıcaklığında, küçük parçalara ayrıldı.

-Dokular 8.0 ml 0.02 M Na₂EDTA'da ve buz banyosu içinde homojenize edildi.

-0.5 ml homojenat üzerine, 1.5 ml 0.2 M Tris tamponu (pH: 8.2), 0.1 ml 0.01 M DTNB eklendi.

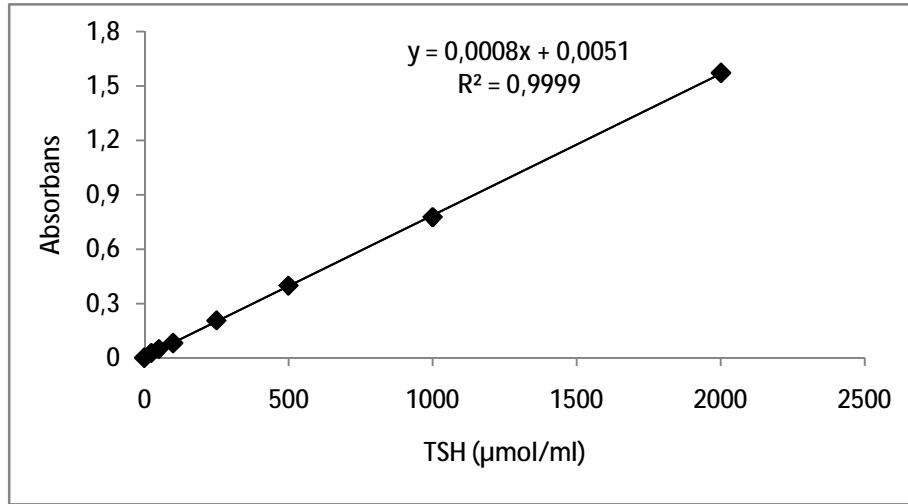
-Karışım üzerine 7.9 ml absölu metanol eklenerek hacim 10 ml'ye tamamlandı.

-30 dakika çalkalanıp, renk oluşması için 15 dakika beklendi.

-3000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. 412 nm'de absorbanları okundu.

-Okunan absorbanstan kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyon hesaplandı.

-Sonuç $\mu\text{mol/g}$ yaş ağırlık cinsinden ifade edildi (52).



Şekil 3.3. Doku T-SH kalibrasyon grafiği

3.2.7. Doku Hidroksiprolin (HP) Tayini

-Hidroksiprolin standartının ölçümü için 5mg hidroksiprolin 50ml 0.001 N HCl'de çözülerek hazırlanan stok çözeltisinden bir seri dilüsyon çözeltileri (0.5 $\mu\text{g/ml}$; 1 $\mu\text{g/ml}$; 1.5 $\mu\text{g/ml}$; 2 $\mu\text{g/ml}$ ve 2.5 $\mu\text{g/ml}$) hazırlandı.

-Her çözeltiliden 2 ml tüplere alındı.

-Diğer taraftan ölçümü yapılacak dokular tartıldı, ağız kapaklı pyrex tüplere konuldu.

-Üzerine 5ml 6N HCl ilave edildi.

-130°C'de 3 saat hidroliz edildi.

- İndikatör olarak birkaç damla %0.02'lik metil kırmızısı eklendi.
 - Çözeltinin rengi sarıya dönene kadar pH 6-7 arasında olana kadar 2.5N NaOH eklendi.
 - Hem standart hem de test çözeltilerinden 2 ml alındı.
 - 1ml taze hazırlanmış Kloramin T eklendi.
 - 20 dk oda ısısında bekletildi.
 - 1 ml perklorik asit eklendi.
 - 1 ml taze hazırlanmış 0.2g/ml *p*-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi eklendi.
 - Tabakalanma kayboluncaya kadar çalkalandı.
 - 60°C su banyosunda 20 dk bekletildi.
 - 5 dk musluk suyunda soğutuldu.
 - Çözeltilerin absorbanansı 557 nm'de ölçüldü.
 - Okunan absorbanstan kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyon hesaplandı.
- Sonuç $\mu\text{g}/\text{mg}$ yaş ağırlık cinsinden ifade edildi (53, 54).

3.2.8. Doku ve Serum Çinko (Zn^{+2}) Tayini

Dokuların analize hazırlanması:

- Doku numuneleri etüvde 100-105 C° 'de kurutularak sabit ağırlığa getirildi.
- Numunelerden 0.2 g civarında tam tartımlar alındı.
- Tüplere alınan numunelere 1'er ml konsantre nitrik asit eklendi ve etüvde bekletilerek katı doku parçaları, sıvı hale gelinceye kadar parçalanmaya tabi tutuldu.

Doku ve serum numuneleri:

-Alevli atomik absorpsiyon tekniği ile 0.05, 0.2, 0.3, 1.0 mg/L'lik çinko standart çözeltileri ile çizdirilen kalibrasyon grafiğine göre çalışıldı.

-Numunelerde distile deiyonize su ile uygun seyreltmeler yapıldı.

-Sonuçlar, mg/L cinsinden ifade edildi.

-Ölçümlerde cihaza ait parametreler aşağıdadır:

Slit genişliği.....0.7 nm

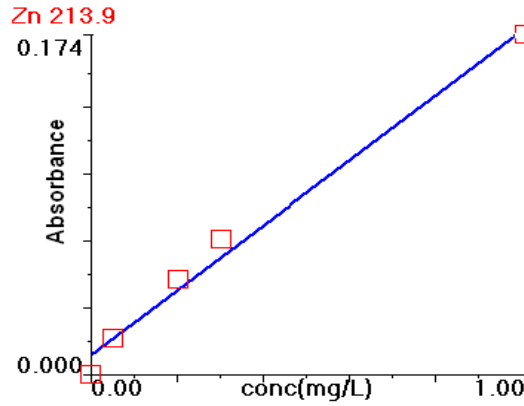
Slit yüksekliği.....Normal

Dalga boyu.....213.9 nm

Alev.....Hava-Asetilen

Tekrarlama.....3

Zemin düzeltme.....Uygulanmadı (55, 56, 57).



ID	Mean Signal (Abs)	Entered Conc. mg/L	Calculated Conc. mg/L	Standard Deviation	%RSD
Calib Blank 1	0.0000	0	-0.061	----	----
Calib Std 1	0.0186	0.05	0.050	----	----
Calib Std 2	0.0488	0.2	0.231	----	----
Calib Std 3	0.0688	0.3	0.351	----	----
Calib Std 4	0.1737	1.0	0.979	----	----
Correlation Coef.: 0.994131 Slope: 0.16715 Intercept: 0.01017					

Şekil 3.4. Serum ve doku Zn⁺² kalibrasyon grafiği

3.2.9. Doku ve Serum Bakır (Cu⁺²) Tayini

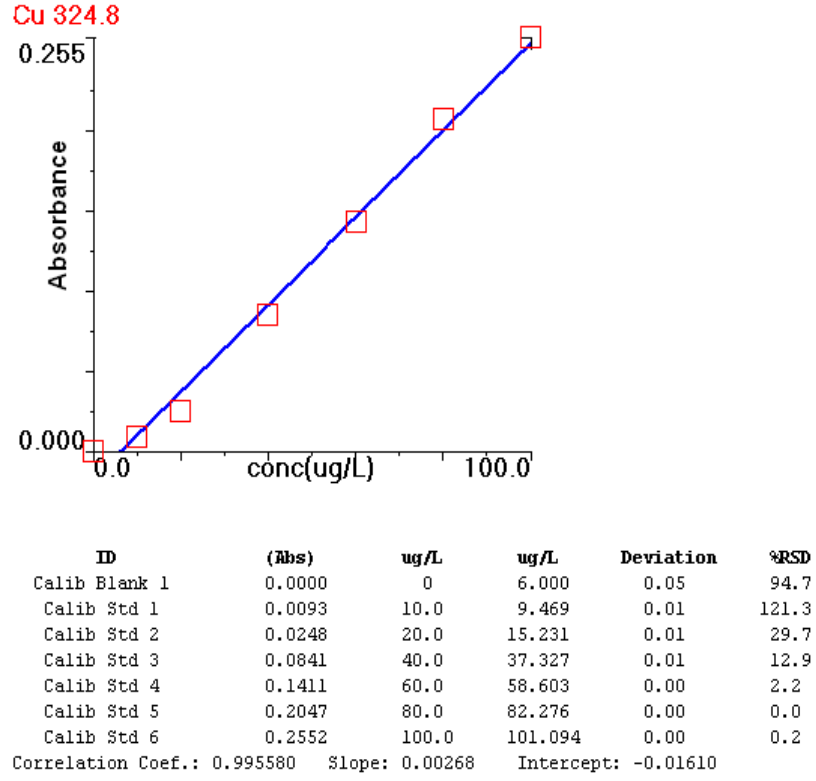
Dokuların analize hazırlanması:

- Doku numuneleri etüvde 100-105 C° 'de kurutularak sabit ağırlığa getirildi.
- Numunelerden 0.2 g civarında tam tartımlar alındı.
- Tüplere alınan numunelere 1'er ml konsantre nitrik asit eklendi ve etüvde bekletilerek dijestiyona tabi tutuldu.

3.2.9.1. Dokuda Bakır (Cu⁺²) Tayini

- Alevli atomik absorpsiyon tekniği ile 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 µg/L'lik bakır standart çözeltileri ile çizdirilen kalibrasyon grafiğine göre çalışıldı.
- Numunelerde distile deiyonize su ile uygun seyreltmeler yapıldı.
- Sonuçlar µg/L cinsinden ifade edildi.
- Ölçümlerde cihaza ait parametreler aşağıdadır:

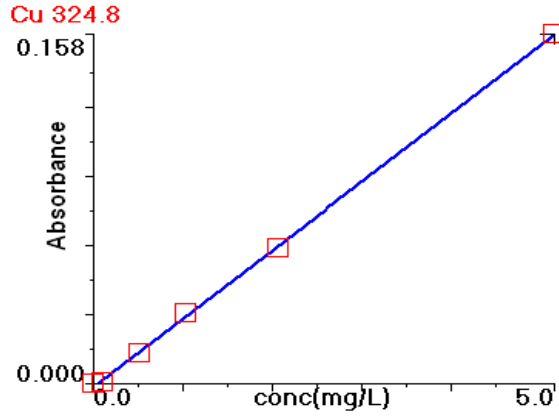
Slit genişliği.....	0.7 nm
Slit yüksekliği.....	Normal
Dalga boyu.....	324.8 nm
Alev.....	Hava-Asetilen
Tekrarlama.....	3
Zemin düzeltme.....	Uygulanmadı (55, 56).



Şekil 3.5. Doku Cu^{+2} kalibrasyon grafiği

3.2.9.2. Serumda Bakır (Cu^{+2}) Tayini

- Alevli atomik absorpsiyon tekniği ile 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/L'lik çinko standart çözeltileri ile çizdirilen kalibrasyon grafiğine göre çalışıldı.
- Numunelerde distile deiyonize su ile uygun seyreltmeler yapıldı.
- Sonuçlar, mg/L cinsinden ifade edildi (57).



ID	Mean Signal (Abs)	Conc. mg/L	Conc. mg/L	Standard Deviation	%RSD
Calib Blank 1	0.0000	0	0.044	0.00	10.6
Calib Std 1	0.0006	0.1	0.062	0.00	374.2
Calib Std 2	0.0135	0.5	0.469	0.00	3.4
Calib Std 3	0.0319	1.0	1.049	0.00	4.2
Calib Std 4	0.0611	2.0	1.968	0.00	0.6
Calib Std 5	0.1576	5.0	5.007	0.00	1.5

Correlation Coef.: 0.999781 Slope: 0.03176 Intercept: -0.00141

Şekil 3.6. Serum Cu⁺² kalibrasyon grafiği

3.2.10. İstatistiksel Analiz

Bulgular, bilgisayar ortamında INSTAT programı kullanılarak değerlendirildi. Araştırmamızda nicel verilere ilişkin değişkenler ortalama (Ort) ± standart sapma (SD) şeklinde ifade edildi. Her bir gruptaki değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediğini saptayan Shapiro-Wilk normallik testine istinaden, gruplar arasındaki farkın karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile *Student's Newman Keuls post hoc* testi uygulandı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Doku TBARS, GSH, T-SH ve HP Düzeyleri

Yara dokusunda TBARS, GSH, T-SH, HP düzeyleri Tablo 4.1 ve Şekil 4.1.-4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Sıçanlardan alınan yara dokularında gruplara göre TBARS, GSH, T-SH ve HP düzeyleri (Ort.±SD)

	TBARS	GSH	T-SH	HP
	nmol/g	µmol/g	µmol/g	µg/mg
Kontrol	215.9±13.2	4.7±0.8	9.7±0.8	12.7 ± 3.9
Sıvağ	198.3±9.1 [±]	4.9±1.0	8.9±0.6	14.1 ± 4.6
Sulu Özüt	161.5±9.7 ^{***}	7.0±0.9 ^{**}	11.9±0.9 ^{***}	44.3 ± 2.7 ^{***}
Metanollü Özüt	161.9±14.4 ^{***}	6.8±1.1 ^{**}	11.6±1.7 ^{***}	29.8 ± 4.2 ^{***}
Referans	142.4±7.2 ^{***}	5.2±0.4	8.7±0.8	55.1 ± 1.7 ^{***}

Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı, *: p< 0.05; **: p < 0.01; ***: p < 0.001.

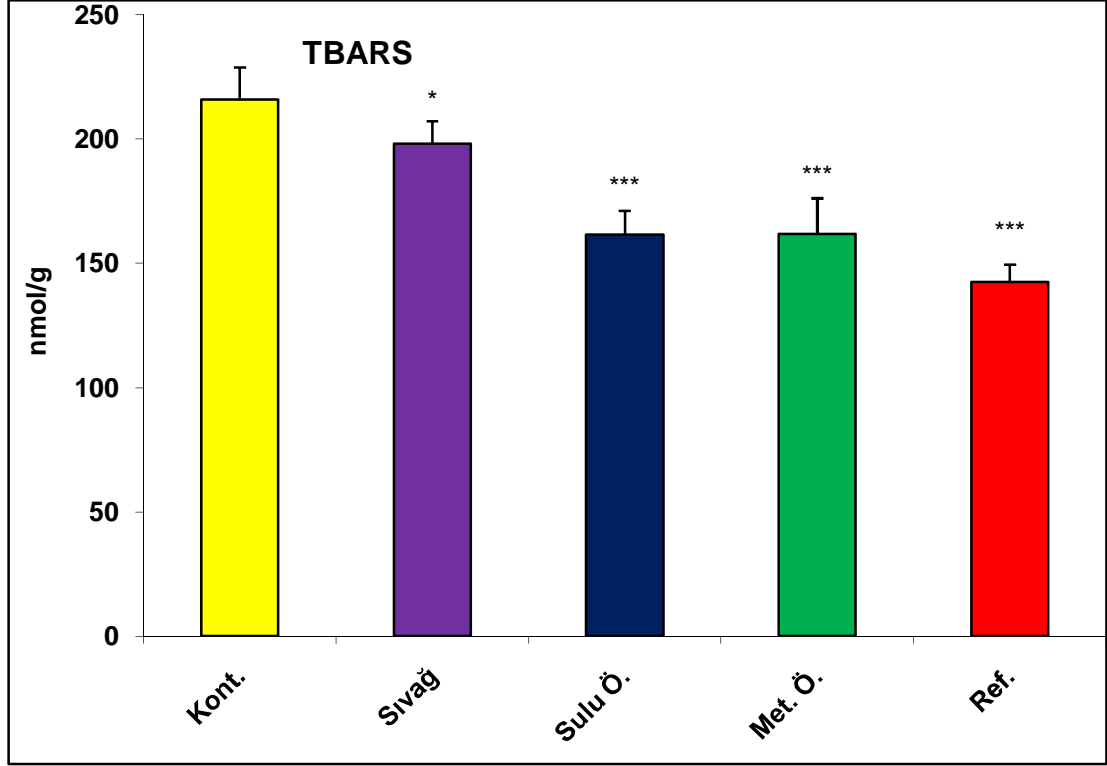
Sıvağa göre kıyaslandığında;

TBARS; sulu ve metanollü özütte son derece anlamlı düzeyde (p<0.001) azalış,

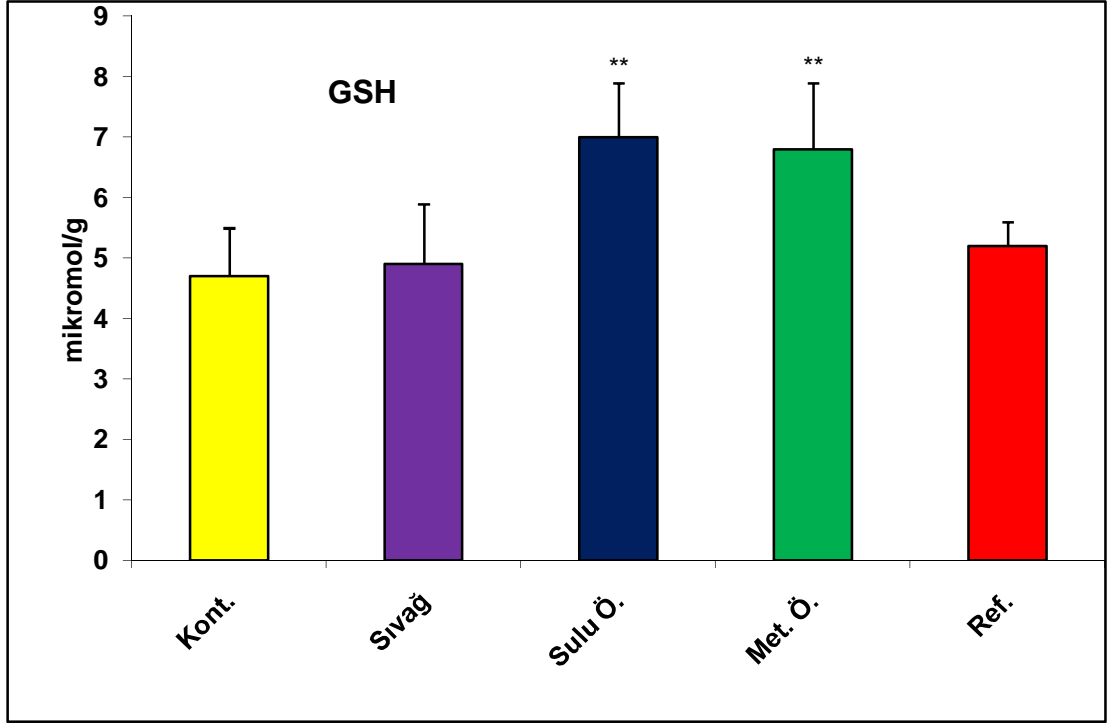
GSH; sulu ve metanollü özütte çok anlamlı (p<0.01) bir artış,

T-SH; sulu ve metanollü özütte son derece anlamlı düzeyde (p<0.001) artış,

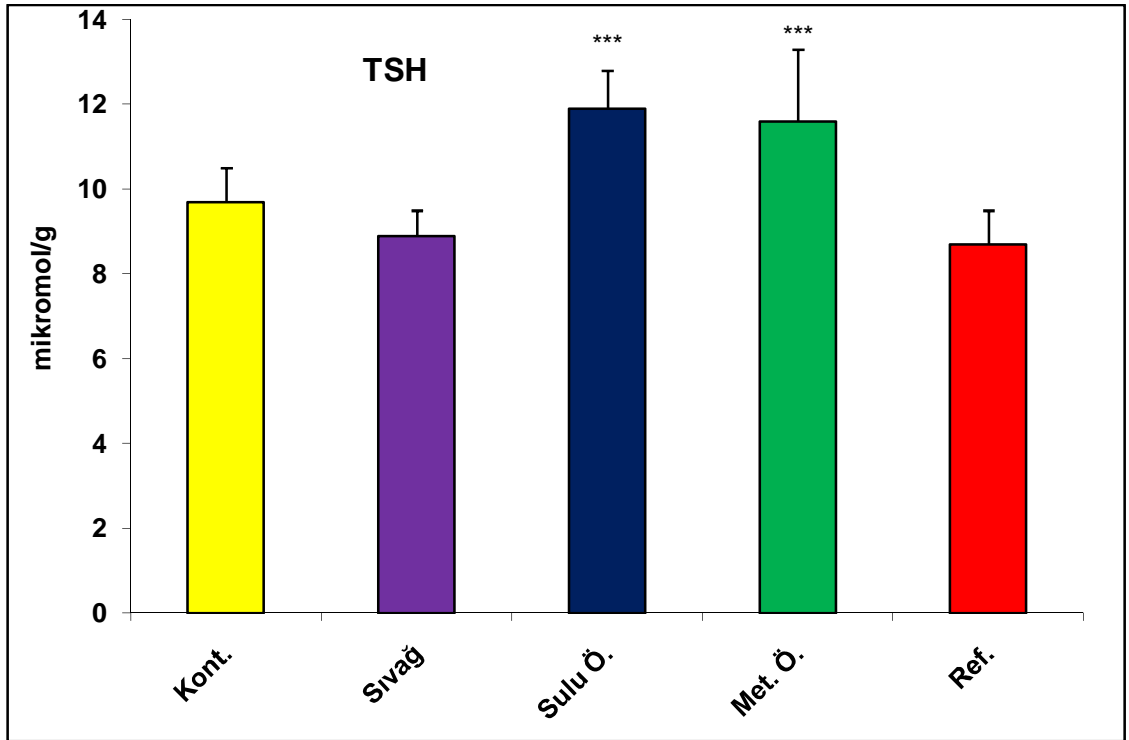
HP; sulu ve metanollü özütte son derece anlamlı düzeyde ($p < 0.001$) artış tespit edilmiştir.



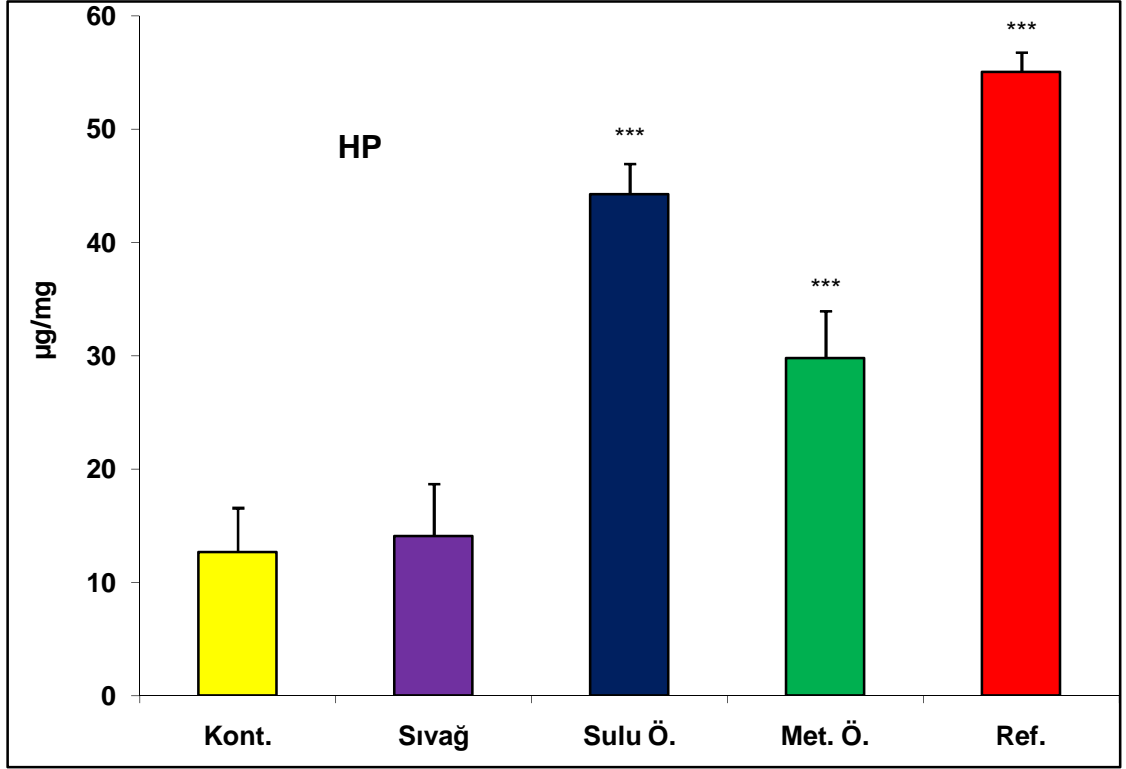
Şekil 4.1. Doku TBARS (Tiyobarbitürik asit reaktifleri) değerleri, *: $p < 0.05$; ***: $p < 0.001$. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı.



Şekil 4.2. Doku glutatyon (GSH) değerleri, ** : $p < 0.01$. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı.



Şekil 4.3. Doku total tiyol grupları (T-SH) değerleri, ***: $p < 0.001$. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı.



Şekil 4.4. Doku hidroksiprolin (HP) değerleri, ***: $p < 0.001$. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı.

4.2. Doku ve Serum Zn^{+2} , Cu^{+2} Düzeyleri

Doku ve serum Zn^{+2} , Cu^{+2} düzeyleri Tablo 4.2. ve Şekil 4.5.-4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Gruplara göre Doku ve Serumda Zn⁺² ve Cu⁺² düzeyleri (Ort. ± SD)

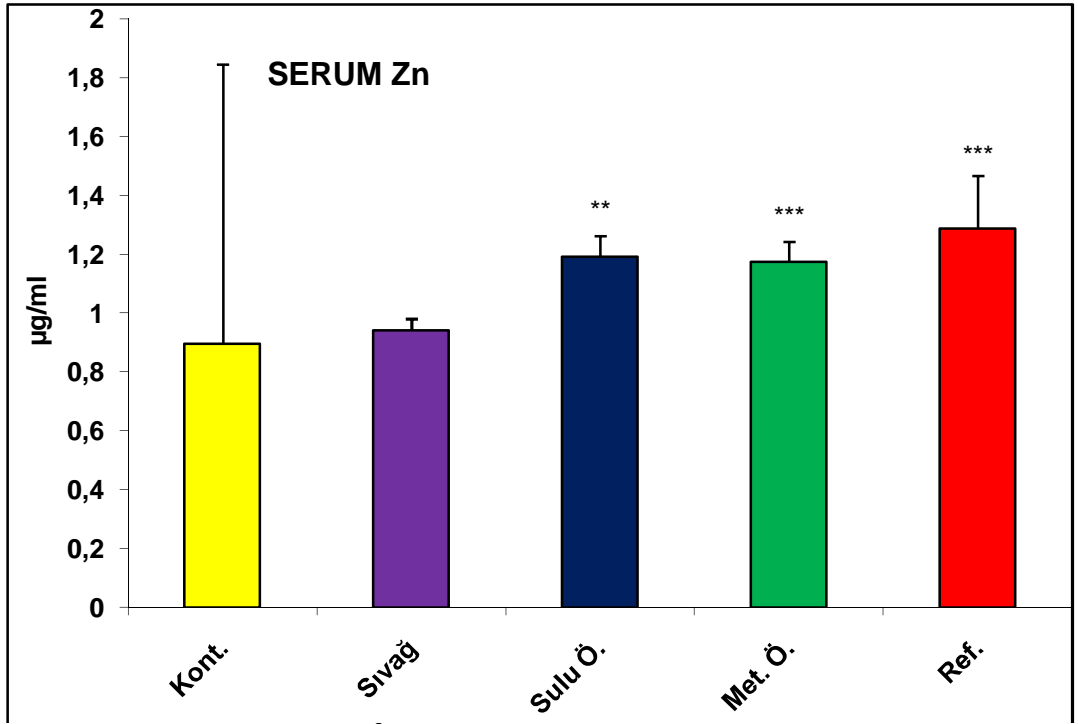
	Serum Zn ⁺¹ mg/L	Serum Cu ⁺¹ mg/L	Doku Zn ⁺¹ mg/L	Doku Cu ⁺¹ µg/L
Kontrol	0.897 ± 0.95	0.599 ± 0.05	6.096 ± 0.29	300.35 ± 15.0
Sıvağ	0.942 ± 0.04	0.628 ± 0.05	6.400 ± 0.26	291.18 ± 7.29
Sulu Özüt	1.193 ± 0.07**	0.415 ± 0.07***	5.999 ± 0.43	318.3 ± 13.35**
Metanollü Özüt	1.174 ± 0.07***	0.558 ± 0.05	6.842 ± 0.47	347.98 ± 11.43***
Referans	1.289 ± 0.18***	0.655 ± 0.08	6.656 ± 0.37	371.86 ± 9.19***

Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı, **: p < 0.01; ***: p < 0.001.

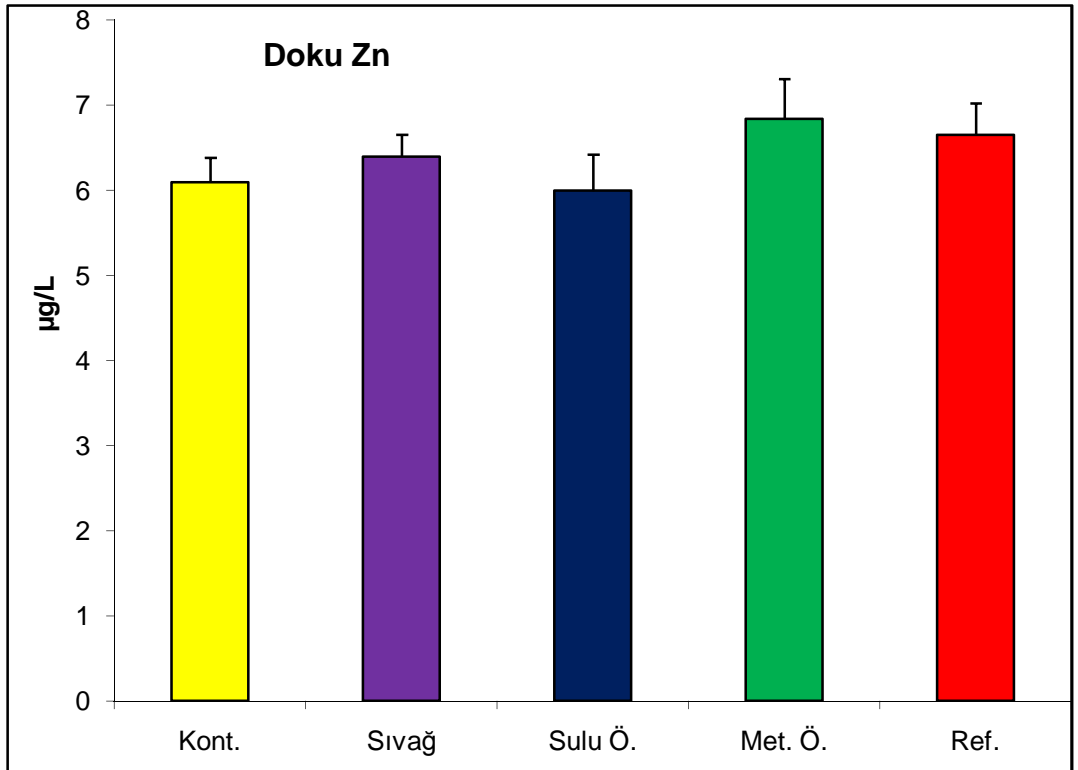
Sıvağa göre kıyaslandığında;

Zn⁺²; sulu ve metanollü özüt uygulanan grupların doku Zn⁺² düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, serum Zn⁺² düzeylerinde anlamlı derecede artma bulunmuştur (sırasıyla p<0.01, p<0.001).

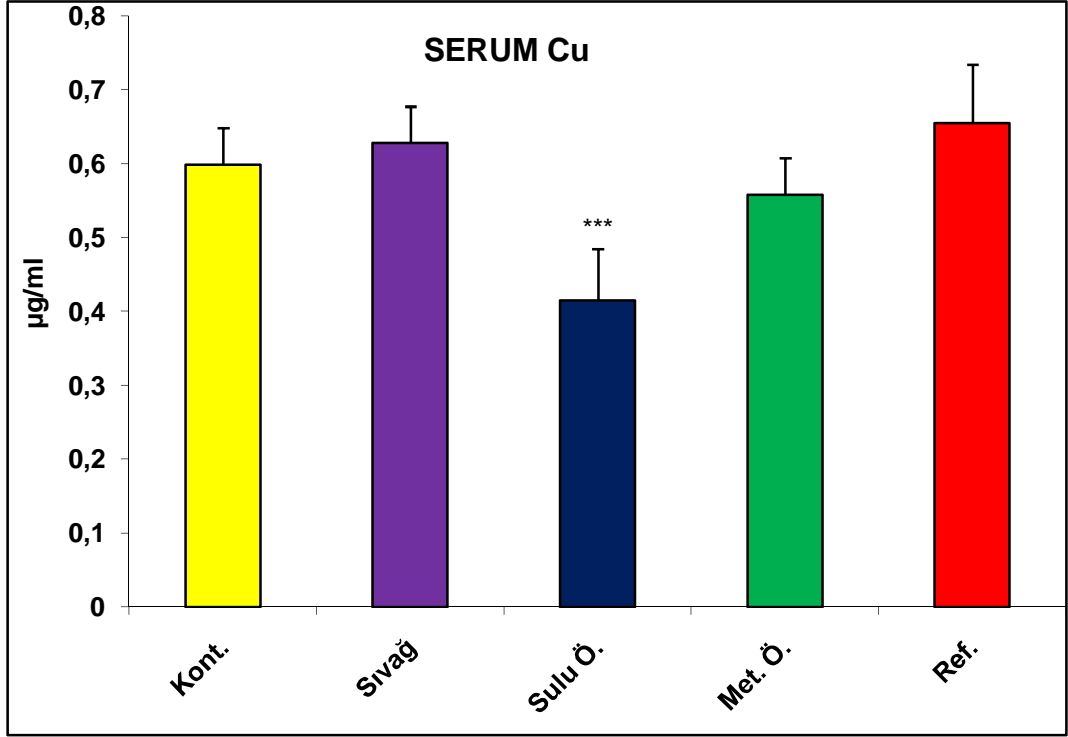
Cu⁺²; sulu ve metanollü özüt uygulanan grupların doku Cu⁺² düzeylerinde anlamlı derecede artma (sırasıyla p<0.01, p<0.001), serum Cu⁺² düzeylerinde ise sadece sulu özütün Cu⁺² düzeylerinde son derece anlamlı (p<0.001) azalma gözlenmiştir.



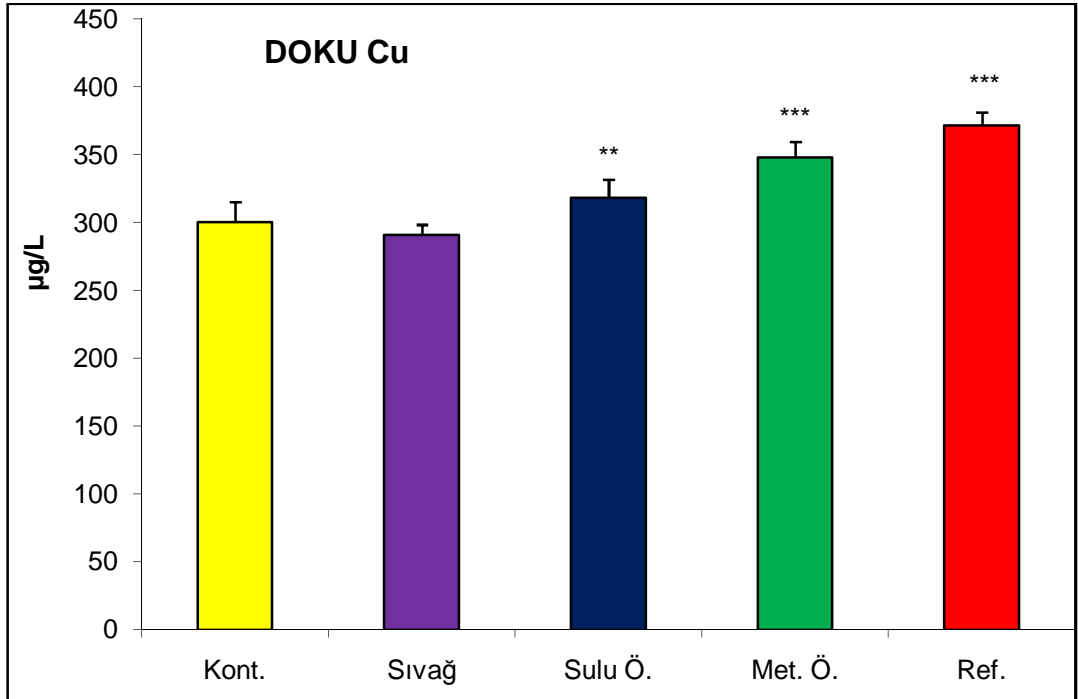
Şekil 4.5. Serum çinko (Zn^{+2}) değerleri. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı. ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$.



Şekil 4.6. Doku çinko (Zn^{+2}) değerleri. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı.



Şekil 4.7. Serum bakır (Cu^{+2}) değerleri. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı. ***: $p < 0.001$.



Şekil 4.8. Doku bakır (Cu^{+2}) değerleri. Sıvağ grubu, kontrol grubuna göre, test ve referans grupları sıvağ grubuyla karşılaştırıldı. ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$.

5. TARTIŞMA

Enflamasyon, kanser, iskemik rahatsızlıklar, demans gibi pek çok hastalığın patojenezinde serbest radikaller önemli rol oynamaktadır. İyonik ya da non-iyonik radyasyon, hava kirliliği, toksik gazlar, toksik kimyasallar ve birtakım toksinler insan vücudunda serbest radikal oluşumunun temel etmenleridir. Bu nedenle, kanser başta olmak üzere hastalıkların tedavisinde radikal süpürücüler olarak antioksidan kullanımı önümüzdeki yıllarda daha da önem kazanacaktır. Bununla birlikte, pro- ve anti- oksidanlar arasındaki dengesizliğin, başka bir deyişle oksidatif stresin hücre hasarına faydalı olabileceği de tartışılmaktadır (58).

Yara mikroorganizmaların üremesi için elverişli bir ortam olup, enfekte yaralar daha zor iyileşirler. Enfeksiyonu uzaklaştırma ve önleme, hızlı ve etkili yara iyileşmesinin önemli bir parçasıdır. Yara tedavisinde topikal antimikrobiyal maddeler olarak bitkilerin yara iyileşmesini artırdığı *in vivo* ve *in vitro* olarak gösterilmiştir (20). Diğer taraftan enfekte yaralarda, serbest oksijen türevlerinin düzeyi artar ve enfeksiyonla savaşan fagositik hücreleri kendisine çeker. Bu da serbest oksijen türevlerinin yara iyileşme sürecine katkıda bulunduğunu düşündürür (43).

Biyolojik serbest radikallerin, sadece hücre hasarında önemli rolleri olduğu yönündeki inanış son zamanlarda doğruluğunu giderek kaybetmektedir. Yaklaşık on yıl önce, biyolojik sistemlerde oksidanların aslında daima oksidatif hasarın tetikleyicileri olmadığı ve de H_2O_2 gibi oksidanların hücresel sinyalizasyonu harekete geçirebildikleri ve bu şekilde iyileşme sürecini hızlandırdıkları iddia edilmiştir (8).

Çalışmamızda, kesi yarasında yapılan oksidatif stres değerlendirmesinde, yara oluşturulduktan sonraki 10. günde, hiçbir madde uygulanmayan kontrol grubunda TBARs düzeyi yüksek, GSH ve T-SH düzeylerinin ise düşük bulunması (Tablo 4.1,

Şekil 4.1-4.4) yaranın iyileşme sürecini tamamlamadığını göstermektedir. Oysa, sulu ve metanollü özüt uygulanan gruplarının değerlerinin referans gruba yakın bulunması, iyileşme sürecinin tamamlandığını ortaya koymaktadır (Resim 3.5). Serbest radikallerin yara iyileşinceye kadar yara bölgesinde yüksek düzeyde olmasının, yara iyileşme sürecine olumlu katkıda bulunma ihtimalini (58) kuvvetlendirmektedir. Diğer taraftan, sulu ve metanollü fraksiyonların güçlü antioksidan etkiye sahip olduklarını da düşündürmektedir.

Bitkilerin gövde kabuğu, sap, tohum ve meyvelerinden başka yaprakları da bitkilerin tedavi amaçlı en sık kullanılan kısımlarıdır. Yara iyileştirici ve ağrı giderici amaçlarla halk arasında *Plantago* bitkisinin özellikle yaprakları örtü şeklinde kullanılmaktadır (59). Flavonoidler, *Plantago* bitkisinin içerdiği bileşiklerden en iyi tanımlanmış olanıdır. Flavonoidlerin güçlü antioksidan etkiye sahip oldukları, kanseri önlediği ya da gerilettiği ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Flavonoidler, serbest radikal süpürücü etkilerinin yanısıra glikolitik enzimler veya protein sentezi gibi çeşitli metabolik ara yolları etkileyerek de antioksidan ve antikanser etki gösterirler (13, 15). *P. Lanceolata*'nın sulu ve metanollü özütü ve izole edilen bileşenlerin güçlü sitotoksik ve radikal süpürücü etkiler gösterdiği, radikal süpürücü ve sitotoksik aktivitelerin fenolik bileşenlerden ileri geldiği, kanser hücrelerinin çoğalmasını önlemeye ek olarak, serbest radikal hasarlarına karşı hücreleri korudukları gösterilmiştir (13).

Çalışmamızda, güçlü antioksidan aktivite gözlenen *P. lanceolata*'nın sulu ve metanollü özütlerinin bu etkilerinin taşıdıkları flavanoidler ve fenolik bileşiklerden dolayı olabileceği kanaatine varılmıştır. Yarada enfeksiyon gelişmemesi de ayrıca antimikrobiyal aktivite olduğunu düşündürmektedir.

Deride fibroblast çoğalması doku tamirinde önemlidir ve fibroblastlar göç (migrasyon), çoğalma (proliferasyon), kapanma (kontraksiyon) ve kollajen üretiminde rol alırlar. Fibroblast hücre büyümesini uyarmak, in vitro yara

iyileşmesini denemek için faydalı bir modeldir (20). Bitkilerdeki flavonoidler, tanenler, saponinler ve terpenoidlerin fibroblastların büyümesini uyararak yara iyileştirici aktivite gösterdiği raporlanmıştır (1).

Yara bölgesinde toplanan kollajen miktarı, normal yaralanmamış deriye göre çok daha fazladır. Yara bölgesinde üretilen kollajen miktarının hızla azalmasına karşın hayvan modellerinde yapılan çalışmalar yaralanma sonrası 10. haftada bile yara dokusunun normal deriye göre daha fazla kollajen içerdiğini göstermiştir. İyileşmekte olan dokularda, başlangıçta Tip3 kollajen sentezlenir. Ancak, yerini hızlıca normal deride hakim olan Tip1 kollajene bırakır (14). Kollajen, bağ dokusunun temel yapısal proteini olmakla birlikte, iyileşmiş yarada yırtılma direncini sağlayan en önemli etmendir. Hayvan modellerinde hidrokspirolin içeriğiyle ölçülen kollajen düzeyi arttıkça, yırtılmaya karşı olan deri direnci de artmaktadır (30).

Kollajen akışında birçok büyüme faktörü görevli olmasına rağmen, bunlardan en etkili TGF- β 'dir. TGF- β , fibroblastlardan Tip1 kollajen yapımını aktive etmekle birlikte kollajenaz gen transkripsiyonunu baskılayarak, kollajenin yıkımını da engeller. Hidrokspirolin ve diğer bağ doku bileşenleri genellikle yara iyileşmesiyle ilgili diğer parametrelerle birlikte değerlendirilir. Yaralanmalarda, beslenme bozuklarında veya steroid uygulanması ve benzeri bağışıklık sistemini baskılayan durumlar sonucunda hidrokspirolin düzeylerinin azaldığı varsayılır (60).

Çalışmamızda, test gruplarının yara dokusunda HP düzeyi, hiçbir uygulama yapılmayan kontrol ve sıvağ grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek bulunması, yara iyileşme süreci tamamlanan gruplarda bağ dokunun güçlendiğini, kollajen sentezinin arttığını gösteren önemli bir bulgudur. Bununla birlikte, HP düzeylerinin yara iyileşmesiyle ilgili diğer parametrelerle her zaman paralellik göstermesinin gerekliliği de tartışılabilir (34).

İz elementler, hücrelerin biyofizyolojisinde, hücrelerin büyümesine ve yara iyileşmesi gibi çeşitli biyolojik süreçlerine katkıda bulunur. Bu elementler, kanda ve dokularda mikro miktarda bulunan inorganik maddelerdir. İz elementlerin artışının

bir takım hastalıklarda koruyucu, teşhis edici ve iyileştirici rol oynadığı görülmüştür. İz elementler, biyokimyasal reaksiyonlarda yer almak için proteinlerin, enzimlerin ve kompleks karbonhidratların yapısına katılır. İz elementler enzimlerle beraber örneğin, immün sistemin işlemesi ve korunması için gereklidir. Çinko ve bakır özellikle, yara iyileşmesinin yeniden şekillenme evresi boyunca metabolik ve biyokimyasal süreçlerde aktiftir (11, 42).

Çinko, nükleik asitlerin sentezinde ve hücre bölünmesinde esansiyel rol oynar. Çinko, epidermisin göç (migrasyon), çoğalma (proliferasyon) ve şekillenmesi (maturasyon) için, fibroblast çoğalması ve kolojen senteziyle kütanöz bütünlüğün sağlanması için gereklidir. Epidermiste Zn^{+2} ve Cu^{+2} keratin oluşum sürecine katkıda bulunurlar (61). İnsandaki toplam serum çinko içeriğinin yaklaşık %30 ila 40'ı, kollajenaz inhibitörü olan alfa-2 makroglobuline bağlıdır. Keloid skarlı hastalarda alfa-2 makroglobulin miktarının artmış olduğu bulundu, bu da kollajen yıkımının eksikliğine sebep olur; bunun sonucunda anormal skarlaşma görülebilir (62).

Çinko ve bakır, süperoksit radikallerin süpürülmesinde önemli rol oynar. Çinko ve bakır elementlerinin her ikisi de dokuların büyümesi ve gelişiminde yer alır. İz elementler, vücudun karışık mekanizmalarının doğru çalışması için esansiyeldir fakat konsantrasyonları, fizyolojik gereklilik miktarını aşarsa, nötrofillerin fagositik ve bakterisit işlevlerini inhibe edebilir (63).

Ciddi derecede yanık ve yarası olan hastalarda iz element eksikliği tanımlanmıştır. Özellikle bakır eksikliği, iz element eksiklikleri içinde en şiddetli olanıdır. Enflamatuvar yanıt sonucu bazı plazma iz element konsantrasyonları düşmektedir. Yerine koyma tedavisiyle iz elementlerin parenteral yolla takviyesinin yara iyileşme sürecini hızlandırdığı gözlenmiştir (42). Özellikle, şiddetli yanıklar sonrasında, yoğun ve uzun süren sistemik enflamatuvar yanıtın en belirgin özelliği dolaşımdaki demir, selenyum ve çinkonun azalması, bakır düzeyinin artmasıdır. Kas, deri, kemik gibi dokulardan çinko deposu boşalarak yoğun protein sentezi olan yara ve yanık dokularına taşınır. Yanık ve yaralanmalar oksidatif stresi ve dolayısıyla

metal taşıyan bir protein olan metallothionein sentezini tetikler. Bu durumun, yaralanmanın başlangıcında serum Zn^{+2} ve Fe^{+2} konsantrasyonunda ani bir düşüşe, Cu^{+2} ve Mn^{+2} konsantrasyonlarında ise artışa neden olduğu bildirilmiştir (11, 42).

Diğer taraftan, yanık hastalarında Cu^{+2} , Fe^{+2} , Mn^{+2} , Se^{+4} ve Zn^{+2} düzeylerinin eksikliği 1960'dan bu yana bilinmektedir. Biyokimyasal olarak plazma Cu^{+2} eksikliği ayırt edici durumdur: plazma konsantrasyonu haftalar boyunca düşük seviyede kalabilmektedir. Enflamasyona verilen normal tepki seruloplazmin (IL-1 ve IL-6 indüklü) ve Cu^{+2} plazma seviyelerinde bir artış durumudur. İz element düzeyindeki değişiklikler aynı zamanda yanık ve yaralardaki komplikasyonların ortaya çıkartılmasındaki potansiyellerinden dolayı önemlidir (64).

Derideki Zn^{+2} düzeyleri mitokondriyal aktiviteyle yakından ilgilidir. Kronik yaraya sahip hastalarda Zn^{+2} düzeylerinin düşük olduğu, akut yara iyileşmelerinde ise yara bölgesinde Zn^{+2} düzeyinin normal miktarının 15 katı kadar fazla olduğu gözlenmiştir. Çinko eksikliğinde hasarlı yara iyileşmesi, deride incelme, dermatit ve alopesi görülürken, fazlalığında ise yara iyileşme hızı artmaktadır (61, 63).

Bölgesel kullanılan çinko preparatlarının yara yatağında hafif antiseptik ve antienflamatuvar etki oluşturduğu, ayrıca, %1'lik çinko oksit kreminin reepitelizasyon hızını artırdığı gösterilmiştir. Çinko destekleriyle ilgili genel görüş, çinko yetersizliği olan hastalarda çinko desteklerinin faydalı olabileceği ancak hastada çinko yetersizliği yoksa faydalı olamayacağıdır (12, 22).

Keloid ve skar grubu hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, normal cilt ve skarlı dokuların anlamlı derecede yüksek Cu^{+2} seviyeleri ($P < 0.0001$), Cu^{+2} 'ın anormal skar oluşumunda rol oynadığını düşündürmektedir. Normal cilt ve skar dokularının Cu^{+2} içeriklerinin kıyaslanmasında, skarlarda daha düşük seviyede Cu^{+2} bulunduğu görülmüştür. Ayrıca, orta yaş gruplarına göre genç yaş gruplarında keloidin daha fazla olduğu ve genç yaş gruplarındaki keloidli hastaların bakır seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır (11).

Çalışmamızda, serum çinko düzeylerinin test ve referans grubunda yüksek olması ancak doku düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemesi, yaralı dokuya iz element göçünün başlamış olduğunu, çinko taşıyan metalloproteinlerin (metallotiyonein) sentezinde bir artış olduğunu ve yaralı dokuda bağ dokunun (kollajen) sentezi için katkıda bulunuyor olduğunu düşündürmüştür. Diğer taraftan, sadece sulu özütün serum bakır düzeylerinde aşırı düşme, buna karşın doku bakır düzeyinde aşırı artışa neden olması Bang ve ark.larının (11) bulgularıyla uyumlu olup yaralı dokuya Cu^{+2} transferinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Geleneksel Halk ilaçları arasında tıbbi bitkiler yaygın olarak kullanılmakta olup sağlık üzerindeki istenmeyen etkileri ve tıbbi kullanımları ile ilgili ayrıntılı bilimsel çalışmalar son derece azdır. Çalışmamızda kullandığımız *P. lanceolata* bitkisinin yaprakları her ne kadar halk arasında yara iyileştirici olarak örtü şeklinde kullanılmakta ise de bu tedavi şeklinin bilimsel olarak yararı tartışmalıdır ve bugüne kadar yara iyileştirici özelliğiyle ilgili herhangi bir çalışma yapılmamış olması, araştırma bulgularımız, bitkinin tıbbi kullanımına bilimsel bir ışık tutması ve yeni ilaç geliştirme çalışmaları açısından önemlidir.

Netice olarak bulgularımıza göre:

1- Oksidatif stres, hücresel hasarı başlatan bir süreç olmanın yanısıra yaralanmalarda görülen hücresel hasarın iyileşmesi sürecine de katkıda bulunan bir reaksiyon olabilir.

2- *P. lanceolata* bitkisinin sulu ve metanollü özütlerinin, çinko ve bakır dengesini sağlayarak kollajen sentezine katkıda bulunduğu söylenebilir. Çinko ve bakırın yara iyileşmesindeki önemini daha iyi anlayabilmek ve irdeleyebilmek için metal taşıyan enzim ve proteinlerin düzeylerinin de değerlendirilmesi gereklidir.

3- *P. lanceolata*'nın yara iyileştirici etkisine içerdiği antioksidan etkili fenolik bileşikler ve flavanoidlerin katkısının olduğu düşünülmüştür. Ancak, fitokimyasal bir analizle bitkinin bileşenlerinin izole edilmesi ve aktiviteden sorumlu etken maddenin araştırılması etki mekanizmasını anlamak için gereklidir. *P. lanceolata*'nın antioksidan etkisine ilaveten antimikrobiyal ve antiseptik özelliklerinin de yara iyileşmesine katkıda bulunabileceği düşünülmüştür.

4- *P. lanceolata*'nın klinik kullanımı için yeni ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında önemli olacağı ve özellikle kozmetik imalatında değerlendirilmesinin gerektiği kanaatine varılmıştır.

5- Halk tababetinde kullanılan bitki ve bitkisel materyallerin klinik önemleri olduğu yadsınamaz. Bu nedenle, bitkilerle ileri düzeylerde yapılan çalışmalar son derece önemlidir ve desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

- 1) Adetutu, A., Morgan, W. A. and Corcoran, O. (2011). Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 50-56 Erişim 24 Ağustos 2012, Science Direct.
- 2) Duarte, T. L., Cooke, M. S. and Jones, G. D. D. (2009). Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 46, 78– 87 Erişim 15 Temmuz 2012, Science Direct.
- 3) Jagetia, G. C., Rajanikant, G. K. and Rao, M. (2007). Ascorbic acid increases healing of excision wounds of mice whole body exposed to different doses of gama-radiation. *Burns*, 33, 484– 494 Erişim 16 Temmuz 2012, Science Direct.
- 4) **Jurjus, A., Atiyeh B.S., Abdallah I.M., Jurjus R.A., Hayek S.N., Jaoude M.A., Gerges A. and Tohme R.A. (2007).** Pharmacological modulation of wound healing in experimental burns. *Burns*, 33, 892-907 Erişim 16 Temmuz 2012, Science Direct.
- 5) Özler, M., Şimşek, K., Topal, T., Öter, Ş. ve Korkmaz, A. (2010). Pinealektomili ratlarda yara iyileşmesi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 52, 181-184 Erişim 14 Temmuz 2011, Science Direct.
- 6) Kapan, M., Aslanmirza, M. Y., Karip, A. B., Bozkurt, Y., Evsen, M. S., Sak, E. ve Öngören, A. U. (2008). Lokal fenitoin ve üre uygulamasının yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. *Yeni Tıp Dergisi*, 25, 209-212 Erişim 21 Haziran 2011, Science Direct.
- 7) Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T. (1997). Reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 3, 92-95. Erişim 20 Haziran 2012, http://tndt.org/pdf/pdf_TNDT_176.pdf.
- 8) Sen, C. K. and Roy, S. (2008). Redox signals in wound healing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1780, 1348–1361 Erişim 18 Mayıs 2012, Science Direct.

- 9) Özkorkmaz, E ve Özay, Y. (2009). Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2, 63-67 Erişim 18 Mayıs 2012, <http://www.nobel.gen.tr/Makaleler/Derleme-Issue%202-40-2011.pdf>.
- 10) Jones, P. W., Taylor, D. M. and Williams, D. R. (2000). Analysis and chemical speciation of copper and zinc in wound fluid. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 81, 1–10 Erişim 18 Mayıs 2012, Science Direct.
- 11) Bang, R. L., Bader, A. L., Sharma, P. N., Mattapallil, A. B., Behbehani, A. and Dashti, H. (2002). Trace elements content in serum, normal skin and scar tissues of keloid and normal scar patients. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 15, 57-66 Erişim 18 Mayıs 2012, Science Direct.
- 12) Brown, K. L. and Phillips, T. J. (2010). Nutrition and wound healing. *Clinics in Dermatology*, 28, 432–439 Erişim 18 Mayıs 2012, Science Direct.
- 13) Beara I.N., Lesjak M.M., Orcic D.Z., Simin N.D., Simin D.C., Bozin B.N. and Dukic N.M.M. (2012). Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. *Food Science and Technology*, 47, 64-70. Erişim 19 Mayıs 2012, Science Direct.
- 14) Oloumi, M. M., Vosough, D., Derakhshanfar, A. and Nematollahi, M. H. (2011). The healing potential of *Plantago lanceolata* ointment on collagenase-induced tendinitis in burros (*Equus asinus*). *Journal of Equine Veterinary Science*, 30, 1-5 Erişim 10 Temmuz 2012, Science Direct.
- 15) Gálvez, M., Cordero, C. M., Lázaro, M. L., Cortés, F., and Ayuso, M. J. (2003). Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 125-130 Erişim 18 Mayıs 2012, Science Direct.
- 16) Harput, U. S., Genc, Y. and Saracoglu, I. (2012). Cytotoxic and antioxidative activities of *Plantago lagopus* L. and characterization of its bioactive compounds.

- Food and Chemical Toxicology*, 50, 1554-1559 Erişim 10 Temmuz 2012, Science Direct.
- 17) Fons, F., Gargadennec, A., Gueiffier, A., Roussel, J. L. and Andary, C. (1998). Effects of cinnamic acid on polyphenol production in *Plantago lanceolata*. *Phytochemistry*, 49, 697-702 Erişim 12 Temmuz 2012, Science Direct.
- 18) [Erişim 10 Haziran 2012, http://www.saglikvediyet.info/deri-hastaliklarinin-siniflandirilmesi/](http://www.saglikvediyet.info/deri-hastaliklarinin-siniflandirilmesi/).
- 19) Nawaz, Z. and Bentley, G. (2010). Surgical incisions and principles of wound healing. *Surgery*, 29, 59-62. Erişim 14 Ağustos 2012, Science Direct.
- 20) Enoch, S. and Leaper, D. J. (2008). Basic science of wound healing. *Surgery*, 26, 31-37 Erişim 18 Mayıs 2012, Science Direct.
- 21) Erişim 12 Mayıs 2011, <http://trialx.com/curebyte/2011/07/06/wound-healing-photos-and-related-clinical-trials/>.
- 22) Wild, T., Rahbarnia, A., Kellner, M., Sobotka, L. and Eberlein, T. (2010). Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition*, 26, 862–866 Erişim 12 Nisan 2012, Science Direct.
- 23) Zhang, F., Lei, M. P., Oswald, T. M., Pang, Y., Blain, B., Cai, Z. W. and Lineaweaver, W. C. (2003). The effect of vascular endothelial growth factor on the healing of ischaemic skin wounds. *The British Association of Plastic Surgeons*, 56, 334–341 Erişim 10 Haziran 2012, Science Direct.
- 24) Gence, H. (2008). Fetal wound healing. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Surgical Sciences*, 61, 171-179 Erişim 11 Temmuz 2012, Science Direct.
- 25) Karasu, A. and Bakır, B. (2008). Wound and wound healing. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14, 36-43. Erişim 8 Mayıs 2012, http://vetcer.org/20081401_36_43.pdf.

- 26) **Engelmayer, J., Blezinger P. and Varadhachary A.M.D.** (2008). Talactoferrin stimulates wound healing with modulation of inflammation. *Jornal of Surgical Research*, 149, 278-286 Erişim 13 Haziran 2012, Science Direct.
- 27) Nursal, T. Z., Baykal, A. and Hamaloglu, E. (1999). Wound healing in the elderly: is there a difference? *Turkish Journal of Geriatrics*, 2, 29-32 Erişim 17 Nisan 2012, Science Direct.
- 28) Yüksel E. (2009). Sistemik meperidin uygulamasının ratlarda kütanöz yara iyileşmesi üzerinde etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Erişim 17 Mayıs 2011. <http://dekam.erciyes.edu.tr/2009.asp>.
- 29) Schreml, S., Szeimies, R. M., Prantl, L., Landthaler, M. and Babilas, P. (2009). Wound healing in the 21st century. *American Academy of Dermatology*, 10, 1-16 Erişim 13 Haziran 2012, Science Direct.
- 30) Alves, C. C., Torrinhas, R. S., Giorgi, R., Brentani, M. M., Logullo, A. F., Arias. V., Mauad, T., Silva, L. F. F. and Waitzberg, L. (2010). Short-term specialized enteral diet fails to attenuate malnutrition impairment of experimental open wound acute healing. *Nutrition*, 26, 873-879 Erişim 9 Mayıs 2012, Science Direct.
- 31) Blass, S. C., Goost, H., Tolba, R. H., Wagner, B. S., Kabir, K., Burger, C., Stehle, P. and Ellinger, S. (2012). Time to wound closure in trauma patients with disorders in wound healing is shortened by supplements containing antioxidant micronutrients and glutamine: A PRCT. *Clinical Nutrition*, 30, 1-7 Erişim 17 Nisan 2012, Science Direct.
- 32) Ömeroğlu, S., Cam, M., Erdogan, D., Görgün, M., Lortlar, N. and Dincer, S. (2003). Streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlardaki deri yaralarında, insülin benzeri büyüme faktörü-I'in lokalizasyonunun immünohistokimyasal gösterimi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 5, 5-8 Erişim 15 Ağustos 2012, <http://www.tipdergi.duzce.edu.tr/dosya/20031/2003-agustos-1.pdf>.

- 33) Talas, D. U., Nayci, A., Atis, S., Comelekoglu, U., Polat, A., Bagdatoglu, C. and Renda, N. (2003). The effects of corticosteroids and vitamin A on the healing of tracheal anastomoses. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 67, 109-116 Erişim 13 Mayıs 2012, Science Direct.
- 34) Akkus, A., Aydinuraz, K., Daphan, C., Saygun, O., Caglayan, O., Edremitlioglu, M. and Agalar, F. (2009). Effect of carnitine on cutaneous wound healing in immunosuppressed rats. *Journal of Surgical Research*, 155, 301–305 Erişim 12 Mart 2012, Science Direct.
- 35) Souza, B. R., Nascimento, A. P. and Costa, A. M. A. (2009). Propranolol improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 611, 77–84 Erişim 23 Ağustos 2012, Science Direct.
- 36) Qiu, Z., Kwon, A. H. and Kamiyama, Y. (2007). Effects of plasma fibronectin on the healing of full-thickness skin wounds in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Surgical Research*, 138, 64–70. Erişim 11 Mayıs 2012, Science Direct.
- 37) Tam, J. C. W., Lau, K. M., Liu, C. L., Hoto, M., Kwok, H. F., Lai, K. K., Lau, C. P., Ko, C. H., Leung, P. C., Fung, K. P. and Lau, C. B. S. (2011). The in vivo and in vitro diabetic wound healing effects of a 2-herb formula and its mechanisms of action. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 831- 838. Erişim 10 Eylül 2012, Science Direct.
- 38) Arab, A., Orakcı, V. ve Erbilen, M. (1994). Yara iyileşmesi. *Journal of Turgut Özal Medical Center* 1 (2), 160-166. Erişim 1 Nisan 2012, <http://medicine.inonu.edu.tr/tfdergi/index.php/public>.
- 39) Ataş, A., akmak, A. ve Soran, A. (2008). D vitamin metabolizması ve Rikets hastalığı. *Medical Journal of Bakırköy* 4 (1), 1-7, Erişim 12 Haziran 2012, <http://www.bakirkoytip.org/ozet.asp?ID=330>.
- 40) Türker, G. (2009). Sıçanlarda Er: yağ ile oluşturulmuş yarada bitki ekstratlerinin karışımı topikal hemostatik bir ajanın yara iyileşmesine etkisi. *Deri ve Zührevi*

Hastalıklar Tıpta Uzmanlık Tezi. Erişim 11 Haziran 2012, http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/deri_zuhrevi/dr_gamze_erfan_turker.pdf.

- 41) Donaldson, D. L., Smith, C. C. and Walker, M. S. (1988). Tissue zinc and copper levels in diabetic C57BL/KsJ (*db/db*) mice fed a zinc-deficient diet: lack of evidence for specific depletion of tissue zinc stores. *The Journal of Nutrition*, 118, 1502-1508 Erişim 10 Haziran 2012, Science Direct.
- 42) Berger, M. M. and Shenkin, A. (2007). Trace element requirements in critically ill burned patients. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21, 44–48 Erişim 24 Mart 2012, Science Direct.
- 43) Schafer, M. and Werner, S. (2008). Oxidative stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacological Research*, 58, 165 -171 Erişim 8 Mayıs 2012, Science Direct.
- 44) Fleer, H. and Verspohl, E.J. (2007). Antispasmodic activity of an extract from *Plantago lanceolata L.* and some isolated compounds. *Phytomedicine*, 14, 409–415. Erişim 1 Haziran 2012, Science Direct.
- 45) Jankovi, T., Zduni, G., Beara, I., Balog, K., Pljevljakusic, D., Stesevic, D. and Savikin, K. (2012). Comparative study of some polyphenols in *Plantago* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 42, 69-74. Erişim 9 Ağustos 2011, Science Direct.
- 46) Beara, I. N., Orcic, D. Z., Lesjak, M. M., Dukic, N. M., Pekovic, B. A. and Popovic, M. R. (2010). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry study of anti-inflammatory activity of Plantain (*Plantago L.*) species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52, 701-706 Erişim 12 Eylül 2012, Science Direct.
- 47) Darrow, K. and Bowers, M. D. (1997). Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata (Plantaginaceae)*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25, 1-11 Erişim 9 Ağustos 2011, Science Direct.

48) Biringaninea, G., Vrayb, B., Vercruyseb, V., Vanhaelen-Fastréa, R., Vanhaelena, M. and Dueza P. (2005). Polysaccharides extracted from the leaves of *Plantago palmata* Hook.f. induce nitric oxide and tumor necrosis factor- α production by interferon- γ -activated macrophages. *Nitric Oxide*, 12, 1-8. Erişim 18 Mayıs 2011, Science Direct.

49) Erişim 25 Eylül 2012,

http://www.google.com.tr/imgres?hl=tr&sa=X&biw=1366&bih=631&tbm=isch&prmd=imvns&tbnid=53kE83_Wgbsc5M:&imgrefurl=http://www.africamuseum.be/collections/external/prelude/view_plant%3Fpi%3D10120&docid=UPOdl8nTtK KxFM&imgurl=http://www.africamuseum.be/prelude/prelude

50) Jamall, I.S. and Smith, J. C. (1985). Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation in the rat heart: A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 80, 33-42 Erişim 14 Ağustos 2012, Science Direct.

51) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95, 351-358 Erişim 3 Mart 2011, Science Direct.

52) Sedlak, J. and Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry* 25, 192-205 Erişim 3 Mart 2011, Science Direct.

53) Woessner J. F. (1961). The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 93, 440-7 Erişim 9 Ağustos 2011, Science Direct.

54) Değim Z., Çelebi N., Sayan H., Babül A., Erdoğan D. and Take G. (2002). An investigation on skin wound healing in mice with a taurine-chitosan gel formulation. *Amino Acids*, 22, 187-98 Erişim 9 Ağustos 2011, Science Direct.

- 55) Friel, J. K. and Ngyuen, C. D. (1986). Dry and wet ashing techniques compared in analyses for zinc, copper, manganese and iron in hair. *Clinical Chemistry* 32, (5),739-742 Erişim 9 Eylül 2012, Science Direct.
- 56) Luterotti, S., Zanic-Grubisic, T. and Juretic, D. (1992). Rapid and simple method for the determination of copper, manganese and zinc in rat liver by direct Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Analyst* 117, 141-144 Erişim 12 Ağustos 2012, Science Direct.
- 57) Husain, K., Scott, B. R., Reddy, S. K. and Somani, S. M. (2001). Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol* 25, 89-97 Erişim 9 Nisan 2012, Science Direct.
- 58) Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M. and Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation and cancer: How are they linked?. *Free Radic Biol Med.*, 49 (11), 1603-1616 [Erişim 6 Eylül 2012](#), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2990475/>.
- 59) Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L.. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 1-21 Erişim 12 Mart 2012, Science Direct.
- 60) Ruszczak, Z. and Friess, W. (2003). Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews* 55, 1679-1698 [Erişim 6 Eylül 2012](#), <http://144.206.159.178/ft/18/595539/12296240.pdf>.
- 61) Johnson, F.O., Gilbreath, E.T., Ogden, L., Graham, T.C., Gorham, S. (2010). Reproductive and developmental toxicities of zinc supplemented rats. *Reproductive Toxicology*, 31,134-143 Erişim 15 Nisan 2012, Science Direct.
- 62) Walsh, W.J., Isaacson, H.R., Rehman, F., Hall, A. (1997). Elevated blood copper/zinc ratios in assaultive young males. *Physiology & Behavior*, 62, 327-329 Erişim 8 Mayıs 2012, Science Direct.
- 63) Stehbens, W.E. (2003). Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Experimental and Molecular Pathology*, 75, 265-276 Erişim 12 Mart 2012, Science Direct.

- 64) Mengheri, E., Vignolini, F., Gaetani, S. (1995). Zinc deficiency affects the expression of IL-2 but not of IL-2R in spleen lymphocytes of rats. *Nutrition Research*, 15 (4), 505–515 Erişim 12 Mart 2012, Science Direct.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Esin

Soyadı: Kuranel

Doğum Yeri ve Tarihi: Malatya, 23. 10. 1985

Eğitimi:

-Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2003-2007, Ankara)

-Malatya Anadolu Lisesi (1997-2003, Malatya)

Yabancı Dili: İngilizce

Katıldığı Bilimsel Etkinlikler:

-Türk Eczacılar Birliği meslek içi eğitim programı, “Enfeksiyon Hastalıkları” 17-19 Şubat 2012, Ankara.

-Türk Eczacılar Birliği, 10. Türkiye Eczacılık Kongresi, 30 Eylül- 3 Ekim 2010, Ankara.

- Türk Eczacılar Birliği meslek içi eğitim programı, “Adli Eczacılık” 19- 20 Aralık 2009, Malatya.

-Türk Eczacılar Birliği meslek içi eğitim programı, “Aşı, Aşı Yönetimi ve Soğuk Zincir” 21 Kasım 2009, Malatya.