



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**DIYABETİK RATLARDA OLUŞTURULAN MADDİ  
KAYIPLI YARALARDA PROPOLİSİN İYİLEŞTİRİCİ  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Fatma GENÇTÜRK**

**Samsun  
Ocak- 2020**





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**DIYABETİK RATLARDA OLUŞTURULAN MADDİ  
KAYIPLI YARALARDA PROPOLİSİN İYİLEŞTİRİCİ  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Fatma GENÇTÜRK**

**Danışman  
Prof. Dr. Cevat NİSBET**

**Samsun  
Ocak- 2020**

**T.C.**  
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Fatma GENÇTÜRK tarafından Prof. Dr. Cevat NİSBET Danışmanlığında hazırlanan Diyabetik Ratlarda Oluşturulan Maddi Kayıplı Yaralarda propolisin İyileştirici Etkisinin Araştırılması başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından ..... /..... /..... tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : .....  
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : .....  
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : .....  
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : .....  
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : .....  
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

**ONAY**

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..... / ..... /.....

(İmza Boşluğu, 2 satır)  
**Unvanı Adı SOYADI**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Bu tezin başlangıcını oluşturan, gerekli bütün yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimim boyunca olumlu katkı ve eleştirilerinden her zaman faydalandığım OMÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Üyesi Sayın HocamProf. Dr. Cevat NİSBET'e, şükranlarımı sunarım.

Biyokimya eğitimim boyunca bana emeği geçen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocalarım Prof. Dr. Ali ERTEKİN, Prof. Dr. Gül YARIM, Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'ye, tez hazırlık aşamasında tasarlanan deney modeli için destek sağlayan ilgi, yardım ve tecrübelerini benden esirgemeyen ve sorunlarımı sabırla çözüme ulaştıran Doç Dr. H.Özlem NİSBET ve Prof. Dr. Yavuz GÜLBAHAR' a teşekkür ederim.

Tüm deneysel basamaklarda yanımda olarak benden hem fiziksel hem ruhsal desteğini esirgemeyen, iş yükümü hafifleten, deneyimleriyle beni rahatlatan, bilgi birikimlerinden faydalandığım Neda AMİRİ, Araş. Gör. Emine ALTIN, Araş. Gör. Ayris SALT GÖKÇEOĞLU' na, Deham çalışmalarım süresince Veteriner Hekim Mustafa ERMİŞ, Veteriner Sağ. Tek. Soner GEMİCİOĞLU ve S.Sinan BERK, Sercan İnce'ye katkı ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bana hayatın her aşamasında olduğu gibi uzmanlık eğitimimsirasında da desteğini esirgemeyen canım anneme, babama, kardeşlerime, eşim ve en zor ve sıkıntılı anlarımı bir gülüşüyle unutturan biricik oğlum Kağan GENÇTÜRK'e sonsuz sevgi dolu teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, PYO.VET.1904.18.018 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### DİYABETİK RATLARDA OLUŞTURULAN MADDİ KAYIPLI YARALARDA PROPOLİSİN İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Diyabet hastalarında yara kontraksiyon hızı normale göre yavaştır ve anormal reepitelizasyon ile granülasyon dokusu görülmektedir. Diyabetik deri yaralarının tedavisi üzerine çeşitli çalışmaların varlığına rağmen bu konu ile ilgili tartışmalar halen sürmektedir. Mevcut çalışmada Türkiye coğrafyasına ait hazırlanan propolis ve propolis - bal içerikli merhem in diyabetli yara rejenerasyonunda etkinliğini ve bölgedeki iyileşmeye olası katkısının araştırılması amaçlanmaktadır

**Materyal ve Metot:** Çalışma materyalini 48 adet wistar erkek rat oluşturdu. Streptozotosin ile diyabet oluşturulan 4 grup ve diyabet olmayan 1 grup olmak üzere 5 deney grubu oluşturuldu. Ratlarda sırt orta hatta 2,5 cm çapında yara oluşturuldu. Ratlardaki yaralara gün aşırı propolis, propolis+bal, madecassol, vazelin merhemi ve serum fizyolojik (SF) uygulanarak değişimler gözlemlendi. Çalışma sonunda ratlar sakrifiye edilerek kalpten alınan kan örnekleri biyokimyasal analizler, yara yüzeyinden alınan doku örnekleri histopatolojik incelemelerde ve ELISA testleri için kullanıldı.

**Bulgular:** Biyokimyasal testlerden Alkalen fosfataz (ALP), Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), Trigliserid, Kolesterol ve Glikoz ölçümleri bakımından serum fizyolojik grubu ile diyabetli gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi. ( $p<0,05$ ). Propolis grubunda Epidermal büyüme faktörü (EGF) ölçümü diğer gruplarla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. ( $p<0,05$ ). Propolis grubunda granülasyon dokusu, kollajen yoğunluğu ve epitelizasyon diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu.

**Sonuç:** Bu araştırmanın sonuçları propolis in diyabetik yaralarda etkili doğal bir materyal olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik yara; propolis; streptozotosin

Fatma GENÇTÜRK Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak-2020

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE WOUND HEALING PROPERTIES OF PROPOLIS IN DIABETIC RATS.

**Objective:** In diabetics, the rate of wound contraction is slower than normal, and re-epithelization and granulation tissue are abnormal. Despite the existence of various studies on the treatment of diabetic skin wounds, discussions on this subject still continue. In the present study, possible efficacy in diabetic wound healing and regeneration of propolis and propolis with additives of honey ointment prepared in geography of Turkey is intended to research.

**Material and Method:** The study material was composed of 48 wistar male rats. 5 experimental groups were created, including 4 groups are diabetes with streptozotosin and 1 group without diabetes. In the rats, 2,5 cm diameter wound was created in the midline of the back. Changes were observed by applying propolis, propolis honey, madecassol, vazelin ointment and saline (SF) to the wounds in the rats. At the end of the study, rats were sacrificed and blood samples taken from the heart were used for biochemical analysis, tissue samples taken from the wound surface were used for histopathological examinations and ELISA tests.

**Findings:** Among the biochemical tests, significant differences were observed between the saline and diabetic groups in terms of Alkaline phosphatase (ALP), High density lipoprotein (HDL), Triglyceride, Cholesterol and Glucose measurements ( $p<0.05$ ). Epidermal growth factor (EGF) measurement was compared with other groups, a statistically significant difference was found. ( $p<0.05$ ). In propolis group, granulation tissue, collagen density and epithelization were found significantly higher than other groups.

**Result:** The results of this study showed that propolis can be used as an effective natural material in diabetic wounds.

**Keywords:** Diabetic wound; propolis; streptozotosin

Fatma GENÇTÜRK Doctora Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, January-2020

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AST</b>	:Aspartat aminotransferaz
<b>ALT</b>	:Alanin aminotransferaz
<b>ALP</b>	:Alkalen fosfataz
<b>CK</b>	:Kreatinin kinaz
<b>CAPE</b>	: Kafeik asit feniletıl ester
<b>DM</b>	:Diabetes Mellitus
<b>ECM</b>	:Hücre dışı matris
<b>FGF</b>	:Fibroblast Büyüme faktörü
<b>PDGF</b>	:Platelet kaynaklıBüyüme faktörü
<b>VEGF</b>	:Vasküler Endotelıal Büyüme Faktörü
<b>EGF</b>	:Epidermal Büyüme Faktörü
<b>HDL</b>	:Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>SF</b>	:Serum Fizyolojik
<b>STZ</b>	:Streptozotosin
<b>TP</b>	:Total Protein



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1. Diabetes Mellitus .....	2
2.1.1. Diyabetin Tarihçesi .....	2
2.1.2. Diyabetin Sınıflandırılması .....	3
2.1.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları .....	5
2.2. Deri ve derinin yapısı .....	7
2.2.1. Epidermis .....	7
2.2.2. Dermis .....	8
2.2.3. Hipodermis .....	9
2.3. Yara Tanımı ve Çeşitleri .....	9
2.3.1. Akut Yaralar .....	10
2.3.2. Kronik Yaralar .....	10
2.4. Yara İyileşmesi .....	11
2.4.1. Hemostaz ve Enflamasyon Evresi .....	11
2.4.2. Proliferasyon Evresi .....	12
2.4.3. Matürasyon ve Remodelasyon Evresi .....	13
2.5. Yara İyileşme Tipleri .....	14
2.5.1. Primer İyileşme .....	14
2.5.2. Sekonder İyileşme .....	15
2.5.3. Tersiyer İyileşme (Gecikmiş primer iyileşme) .....	15
2.6. Propolis .....	16
2.6.1. Propolisin Fiziko-Kimyasal Özellikleri .....	16
2.6.2. Propolisin Biyolojik Özellikleri .....	19
2.7. Deneysel Diyabet ve Streptozotosin .....	21

<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	23
3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	23
3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar .....	23
3.3. Materyal Temini: .....	23
3.4. Propolis merheminin hazırlanması: .....	24
3.5. Streptozosinin (STZ) uygulamaya hazır hale getirilmesi .....	24
3.6. Diyabet Modelinin Oluşturulması .....	24
3.7. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	25
3.8. Ratlarda Yara Oluşturulması .....	26
3.9. Çalışma ve Kontrol Gruplarında Yarada Merhem uygulamaları.....	27
3.10. Sakrifikasyon Yöntemi .....	27
3.11. İncelenecek Parametreler .....	27
3.11.1. Histopatolojik İnceleme .....	28
3.11.2. Biyokimyasal İnceleme.....	28
3.11.3. Deri Materyalinin Elisa Analizleri İçin Hazırlanması .....	28
3.12. İstatistiksel Yöntem .....	29
<b>4. BULGULAR</b> .....	31
4.1. Klinik gözlem .....	31
4.2. Biyokimyasal Test Analizleri .....	34
4.2.1. STZ sonrası glikoz düzeylerinin ölçümleri.....	34
4.2.2. Kolesterol Düzeylerinin Ölçümleri.....	35
4.2.3. Kreatinin Kinaz (CK) düzeylerinin ölçümleri .....	35
4.2.4. Kreatinin Düzeylerinin Ölçümleri .....	36
4.2.5. HDL düzeylerinin ölçümleri .....	37
4.2.6. Total Protein (TP) düzeylerinin ölçümleri.....	37
4.2.7. Trigliserid Düzeylerinin Ölçümleri .....	38
4.2.8. ALP Düzeylerinin Ölçümleri.....	39
4.2.9. ALT Düzeylerinin Ölçümleri.....	39
4.2.10. AST Düzeylerinin Ölçümleri.....	40
4.3. Elisa Büyüme Faktörleri Sonuçları .....	42
4.4. Histolojik Bulgular .....	45

<b>5. TARTIŞMA</b> .....	51
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	57
<b>KAYNAKLAR</b> .....	58
<b>ÖZ GEÇMİŞ</b> .....	75



## 1. GİRİŞ

Günümüzde Diyabetes Mellitus (DM) gerek ülkemizde gerekse dünyada önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu hastalık akut ve kronik komplikasyonlara neden olmaktadır. Diyabetik ülserler ve yara iyileşmesindeki gecikmeler diyabetin sık görülen ve ciddi bir kronik komplikasyonudur. Diyabetik nöropati, perfüzyonun bozulmasına bağlı doku hipoksisi ve bununla birlikte yara enfeksiyonu, anormal hücrel aktiviteler, periferik vasküler hastalıklar diyabetik yara iyileşmesini engelleyen temel faktörlerdir. Gecikmiş yara iyileşmesi ise mortalite ve morbiditede artışa yol açmaktadır. Diyabetli hastalarda, dermatolojik bulguların varlığı net bir şekilde açıklanamamış olsa da (Duran ve ark., 2001) hastaların çoğunda görülen doku bozuklukları bakteriyel, fungal enfeksiyonlar ve diğer etkenlere bağlı olabileceği gibi, doğrudan diyabetin komplikasyonlarına bağlı olarak ortaya çıkmakta ve yara geç iyileşmektedir.

Diyabetik deri yaralarının tedavisi üzerine çeşitli çalışmaların varlığına rağmen bu konu ile ilgili tartışmalar halen sürmektedir. Diyabetli hastalarda yara iyileşmesini hızlandırmaya yönelik bir kompozisyona olan gereksinimin varlığı ve mevcut çözümlerin yetersizliği, ilgili alanda daha ileri araştırmaları zorunlu kılmaktadır. Dünyanın pek çok yerinde çeşitli bitkiler, diyabetik yara tedavisi için geleneksel yöntemlerle kullanılmakta, kullanılan bu geleneksel bitki tedavilerinin bir kısmı bilimsel çevrelerce dikkate alınmakta ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu alandaki çalışmaları desteklemektedir.

Bu tez çalışmasında streptozotosin ile oluşturulan diyabetik ratlarda meydana getirilen maddi kayıplı yara üzerine propolis merheminin tedavi edici etkinliğinin araştırılması ve meydana gelen değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda Propolis içerikli doğal materyalin kullanımı ile diyabetli hastalarda iyileşmeyen dermis yaralarının rejeneratif tedavisinde kullanılabilecek yeni materyalin klinik kullanımına destek vermeyi hedeflemiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) pankreasın langerhans adacıklarından salgılanan kan glikoz düzeyini ayarlayan insülin hormonunun eksikliği veya hiç olmaması sebebiyle meydana gelen, uzun dönemde dejeneratif komplikasyonlara yol açabilen kronik ve metabolik bir hastalıktır. İnsan yaşam kalitesini olumsuz etkileyen DM, dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülmektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), en az 366 milyon kişinin diyabet olduğunu ve bu sayının 2030 yılında yaklaşık 552 milyona ulaşabileceğini belirtmiştir (Wild ve ark., 2004). Türkiye’de ise yaklaşık 7,9 milyon insanın diyabet hastası olduğu bildirilmiştir (Whiting ve ark., 2011). Bu hastalığın dünyada ve ülkemizde prevalansı hızlı bir şekilde artmaktadır (Tao ve ark., 2015).

Diyabetin etiyolojisi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılmasına paralel olarak hastalığın sınıflandırılması sürekli yenilenmektedir. Diyabetin tüm tiplerinde temel özellik hiperglisemi olmakla birlikte, hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizma değişkenlik göstermektedir. Hastalığın gelişmesinde ana neden pankreasın beta-hücrelerinden, insülin salgılanma fonksiyonundaki bozukluktur. Diyabetin bazı formlarında mutlak insülin eksikliği veya bozuk insülin salgılanmasına neden olan genetik bir kusur varken (Tip I), diğer bazı tiplerinde insüline karşı bir direncin varlığı söz konusudur (Tip II), (Özata ve ark., 2006).

#### 2.1.1. Diyabetin Tarihçesi

Diyabetin geçmişi M.Ö. 1500’lü yıllara dayanmaktadır. Mısır’da yazılmış Ebers Papirüslerinde sık su içme ve sık idrara çıkmaktan bahsedilmiştir (Yenigün, 2001). M.Ö. 600’lü yıllara gelindiğinde Hipokrat, Galen ve Atreya’nın yazmış olduğu tıp kitabında ‘‘Madhumed’’ denilen bir hastalık günümüz diyabet tanımına çok benzemektedir. Ballı ya da tatlı idrarlı hastalık denilen bu durumda hastaların genellikle fazla kilolu olduğundan, çok su içtiğinden, çok idrara çıktığından, hızlı kilo kaybettiklerinden, idrarlarına böceklerin toplandığından ve aşırı zayıflayıp ağızlarının kokarak öldüklerinden bahsedilmiştir (Barnett ve Krall, 2008). Diyabet kelimesi ilk olarak M.Ö.150 yıllarında Kapadokyalı Aretaus tarafından kullanılmış, hastalığı çok su içme ve idrara çıkma olarak tarif etmiştir. İbn-i Sina ‘‘diyabetik gangreni’’ tanımlayarak diyabetin sinirleri bozabileceğini belirtmiştir. Diyabetle ilgili çok sayıda araştırma yapılmış ancak

1900'lü yıllarda insülinin keşfi ile patogenezi anlaşılabilmiştir. 1921 yılında Banting ve Best tarafından insülinin bulunması ile diyabet tedavi edilmeye başlanmıştır. Uzun süre hayvanlardan elde edilen insülin ile yapılan tedavinin, ileriki yıllarda insan insülini üretilerek etkinliği arttırılmıştır. Gelineen noktada diyabetin oluşumu, yarattığı yan etkiler, insülin salınımı ve etki fizyolojisine dönük ilaç tedavileri üzerine yapılan araştırmalar gelişerek devam etmektedir (Pickup ve Keen, 2002).

### **2.1.2. Diyabetin Sınıflandırılması**

Amerikan Diyabet Derneği, diyabeti Tip1,Tip2, gestasyonel ve farklı nedenlere bağlı spesifik diyabet olmak üzere dört gruba ayırmaktadır (Association 2017).

#### **Gestasyonel diyabet**

Gebelikte ortaya çıkan ve glikozun toleransındaki değişimlerle oluşan, gebelik sonrası sona eren diyabet olarak tanımlanmaktadır (Gjesing ve ark., 2017).

#### **Tip 1 Diabetes Mellitus (İnsüline bağımlı diyabet)**

İnsüline bağımlı diyabet, juvenil diyabet, çocukluk çağında başlayan diyabet veya Tip 1 diyabet olarak da adlandırılmaktadır. Pankreasın beta hücrelerindeki defekt sonucu insülin eksikliğinin oluşması, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukluğu ile karakterize edilen tipidir. Genlerin etkileşimi, çevresel risk faktörleri ve immunolojik faktörlerin bir araya gelmesi sonucu ortaya çıkmaktadır (Duggan ve ark., 2008). İnsülinin dışarıdan yerine konulması ile tedavi edilmektedir.

Tip I diyabetin nedeni tam olarak bilinmemekle beraber pankreas beta hücrelerinin defekti sonucu karbonhidrat metabolizması için önemli bir hormon olan insülinin üretilmemesidir. Belirtiler ani başlar ve semptomlar belirgindir. Ketoasidoza eğilim, kilo kaybına rağmen polifajinin görülmesi sözkonusudur. Tedavi insülin replasmanı ile sağlanır (Başkal,1997).

Tip 1 diyabet tanısı alan hastalarda pankreas beta adacık rezidülerinde insülinitis adı verilen kronik inflamatuvar mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu saptanmıştır. İmmün sistemde yer alan makrofajların, T ve B lenfositlerinin, beta hücrelerini antikor olarak algılayıp Tip 1 diyabet hastalığının oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (Hassan ve ark. 2012). İnsülitis gelişmesini takiben lenfositlerden salınan TNF- $\alpha$  ve interlökin-1 sitokinleri, nitrik oksit sentetaz aracılığıyla L-arjinin- nitrik oksit yolunun

uyarılmasına neden olur ve hücre içinde nitrik oksit yapımını hızlandırır (Morales ve ark., 2004).

Nitrik oksit sentezinin hızlanması, oksidatif fosforilasyonu ve glikolizi artırırken TCA siklüsünde kofaktör olarak demir kullanan bazı enzimleri inhibe etmekte ve DNA kırılmalarına sebep olarak hücre ölümüne ve otoimmün diyabete neden olmaktadır (Lowenstein ve ark., 1994).

İnsülinitisin temel belirteci adacık hücre otoantikorları, insülin otoantikorları, glutamik asit dekarboksilaz antikorları ve tirozinfosfotaza karşı otoantikorların varlığıdır. Bu bileşenler ayrıca diyabette immün hasarın belirteçleri olarak dolaşımda bulunurlar.

### **Tip 2 Diabetes Mellitus (İnsüline bağımlı olmayan diyabet)**

Organizmada insülin direncine bağlı olarak ortaya çıkan diyabet türüdür. Hücre membranında bulunan insülin reseptörlerinde gelişen insülin duyarlılığındaki azalmaya bağlı plazma insülin seviyesinde artışa neden olmaktadır. Diğer bir deyişle hücrenin insülin cevabı yeterli oluşmadığından vücut insülini etkili kullanamaz (Roderic, 2004). Bu duruma bağlı olarak glikoz kanda artarak hiperglisemiye yol açar (Feero ve ark. 2010).

Tip 2 diyabetin oluşumundan 3 faktör sorumlu tutulmaktadır. Bunlar insülin direnci, bozulmuş insülin salgılanması ve bozulmuş glikoz toleransıdır. Açlık döneminde karaciğerden fazla salınan glikoz gereksinimden fazla olduğu için hiperglisemiye sebep olur. Kanda glikoz artışını düzenlemek için beta hücreleri insülin üretmek üzere aşırı ve düzensiz çalışmaya başlar, gelişen hiperinsülinizm doku seviyesinde insülin direncine yol açar (Biol, 2003). İnsülin direncini hiperinsülinemi, obezite ve hipertansiyon takip etmektedir (Beck ve ark.1995).

İnsülin glikojenoliz ve glikoneogenezi baskılamakta, perifer dokularda glikoz kullanımını artırmakta, lipaz enzimini inhibe ederek de lipolizibaskılamaktadır (Guyton ve Hall, 2001).

Karaciğerde glikoz üretimi arttıkça kas ve yağ doku gibi perifer dokular tarafından glikozun alınması azalmaktadır. Böylece yağ metabolizması bozulmakta ve yağ asidi oksidasyonu hiperlipidemi ve ketosize neden olmaktadır (Eiselein ve ark., 2004).

## **Diğer Nedenlere Bağlı Spesifik Diyabet**

Tip1, tip 2 ve gebelik diyabeti dışında, bazı durumlar (ilaç kullanımı, kimyasal maddeler, ekzokrin pankreas hastalıkları, enfeksiyonlar, endokrin hastalıklar) da diyabete yol açabilir veya bazı nadir genetik sendromlara diyabet eşlik edebilir.

### **2.1.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

Diabetes Mellitus'un komplikasyonları akut ve kronik olmak üzere 2'ye ayrılır. Diyabetin akut komplikasyonları oldukça hızlı gelişir ve ciddi prognozla seyreder. Koma şeklinde ortaya çıkan bu tablo, hastada senkoptan tam bilinçsizliğe kadar değişik düzeylerde bilinç kaybı oluşturabilir.

DM tanısı almış ve uzun yıllar diyabetik olarak yaşayan bireylerde ise kronik komplikasyonların gelişme riski çok yüksektir. Bu komplikasyonlar diyabette morbidite ve mortalite artmasına neden olan en önemli faktörlerdir.

Diabetik ketoasidoz, ketotik koma, hipoglisemi ve hiperglisemi akut komplikasyonlardır. Kronik komplikasyonlar ise nöropati, retinopati, nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonlar; ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı ve diyabetik ayak gibi makrovasküler kronik komplikasyonlardır.

DM hastalarında hem makrovasküler hem de mikrovasküler komplikasyonların görülme sıklığı artmıştır. Diyabette artan ateroskleroz insidansı sonucunda kan akımı azalır ve dokulara yeterli oksijen taşınmaz. Bu durum yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Kapiller düzeydeki perivasküler membran kalınlaşması mikrobelerin dokuya ulaşmasını ve lökosit migrasyonunu daha da zorlaştırabilir (Ganchi ve Eriksson 2008; Greenhalgh, 2003).

Diyabette artan kan glikoz seviyesine bağlı olarak aldoz redüktaz enzimi aktifleşerek sorbitol yolunu (poliol yolunu) uyarmaktadır (Mahajan ve ark., 2003). Sorbitol yolunun aktif hale gelmesiyle glikoz; aldoz redüktaz enzimi aracılığıyla sorbitole, sorbitol; sorbitol dehidrogenaz enzimi aracılığıyla fruktoza dönüşmektedir.

Aldoz redüktaz enzimi NADPH kullandığından hücre içi NADPH azalır. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için de NADPH gereklidir (Jain ve ark., 2007). NADPH'ı enerji olarak kullanan sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanmasına yani antioksidan savunma mekanizmasının önemli bir parçası olan glutatyon metabolizmasının bozulmasına ve serbest oksijen radikallerinin oluşmasında artışa neden



olarak oksidatif strese yol açmaktadır (Nishikawa ve ark., 2000). Bu nedenle glikoz alımı için insüline ihtiyaç duymayan eritrosit, kornea ve sinir dokusunda meydana gelebilecek retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogenezinde sorbitolün rolü olduğu düşünülmektedir.

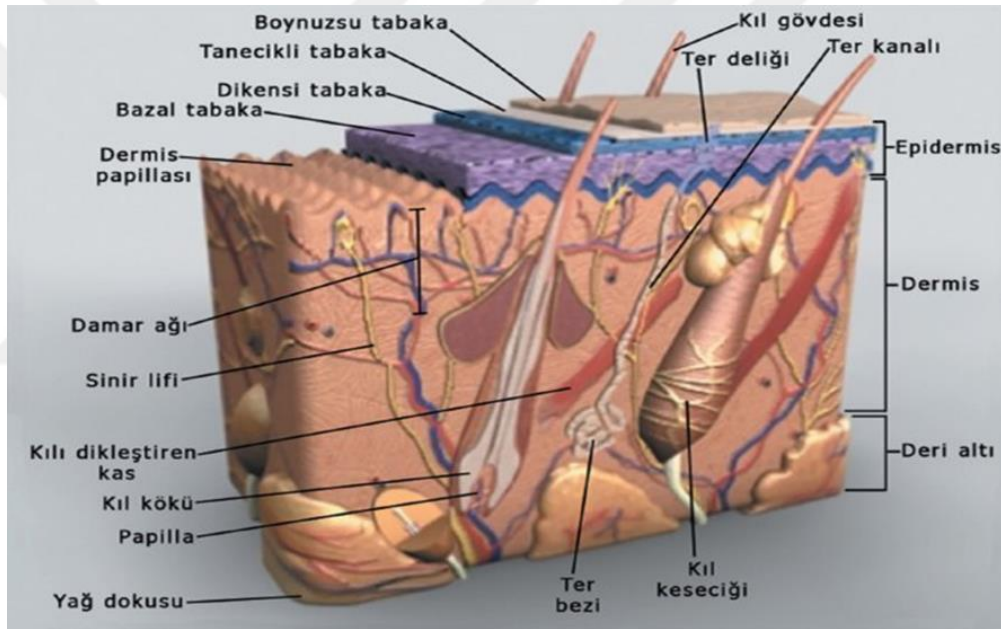
Proteinler artan glikoz düzeylerinde regüle olmayan bir glikozillenme ile non enzimatik olarak protein molekülüne bağlanır. Proteinlerin N-terminal amino asitlerine ve lizin amino asitlerine galaktoz, mannoz veya glikozun serbest karbonil gruplarının schiff bazı ile bağlanması non enzimatik glikozilasyon durumu şekillenir. Protein metabolizmasını etkileyen glikasyon, serbest radikallerin oluşumunu kolaylaştırır. Eritrosit membranları, hemoglobin, albümin, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) plazma yarılanma ömürleri yavaş olan proteinler olduğundan, diyabet hastalarında aşırı derecede glikasyona uğrarlar. Lens, kollajen, glomerül bazal membran, aorta, koroner arterler, femoral sinir proteinleri de sıklıkla glikasyona uğrayan dokulardır (Maritim ve ark., 2003) .

Diyabetik yara iyileşmesi süresinde ortaya çıkan ilk problem proliferasyonun geç başlaması ve uzun sürmesidir. Diyabetteki hipergliseminin, kapiler bazal membran geçirgenliğini bozduğu bilinmektedir (Greenhalgh, 2003). Başlangıç evre lökosit göçü membran kalınlaşması ve yetersiz vazodilatasyon sebebiyle sekteye uğrar (Kotil, 2006; King, 2001). Hızlanmış ateroskleroz ve nöropati nedeniyle diyabetik hastalarda enfeksiyon riski artmaktadır (Ganchi ve Eriksson 2008; Gantwerker ve Hom, 2012; Le ve ark., 2011). Bağışıklık fonksiyonunun bozulması uzun ve anormal iyileşme için zemin hazırlamaktadır (Gantwerker ve Hom, 2012). Diyabetli hastalar diğer hastaların aksine enfeksiyon geliştiğinde yara bölgesine gidecek kan akımını artıramadıkları için artan oksijen ihtiyacını karşılayamazlar (Ganchi ve Eriksson 2008; Francis-Goforth ve ark., 2010). Ayrıca deride çatlamaya eğilimin olması, bakterilerin kolonize olabileceği alanların artmasına neden olur. Glikoz seviyesinin düzensizliği enfeksiyon riskini arttıran bir faktördür. Hiperglisemi, bakterilerin yararlanacağı besin maddelerini arttırabilir ve canlının lokal savunmasını bozabilir. Hiperglisemik bir ortamda lökosit fonksiyonları da bozulmaktadır (Greenhalgh, 2003). Kötü kontrollü diyabetlilerden alınan nötrofillerle gerçekleştirilen çalışmalarda kemotaksis, bağlanma, fagositoz, diapedez ve hücre içi öldürme fonksiyonlarında bozukluklar olduğu bildirilmiştir (Ganchi ve Eriksson 2008;

Le ve ark., 2011; Mast, 1992). Sonuç itibariyle DM' de yara iyileşmesinde, ciddi komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır.

## 2.2. Deri ve derinin yapısı

Deri vücudumuzun iskelet sisteminden sonraki en geniş organıdır. Duyu sinirlerinin birçoğu deride sonlandığından ağrı, dokunma, basınç gibi çeşitli duyuları alır, salgı yapar, vücut ısısını düzenler, vücudu yaralanmalardan ve çeşitli organizmalardan koruyarak vücudun birinci savunma hattını oluşturur (Macri ve ark., 2007). İnsanda 1,2-2,2 metre karelik bir yüzey oluşturur. Deri birbirine sıkıca bağlı üç tabakadan meydana gelir; epidermis, mezoderm kökenli dermis, hipodermis veya subkutanöz tabakadan oluşur (Kierszenbaum, 2006).

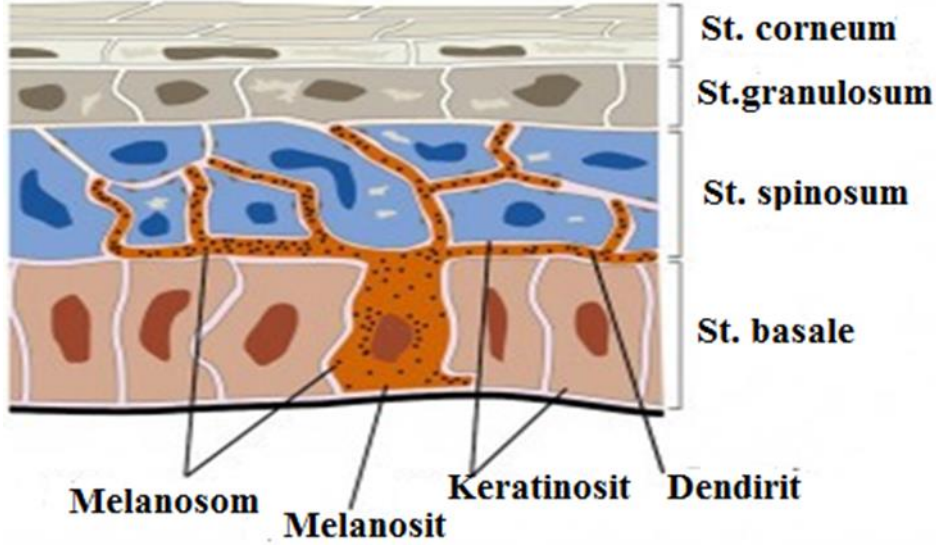


Şekil 1. Derinin yapısı(Kierszenbaum, 2006'dan )

### 2.2.1. Epidermis

Derinin en dış tabakasıdır ve çoğunlukla keratinosit olarak isimlendirdiğimiz hücrelerden oluşmaktadır. Damarsal yapılar içermez. Ayrıca epiderminin su içeriği kalınlığını değiştiren bir faktördür. Keratinositler derinin % 95 ini oluşturmaktadır ve bazal tabaka tüm keratinositlerin kaynağıdır. Yara iyileşmesindeki epidermal iyileşmeden primer olarak keratinositler sorumludur (Hom, 1998). Epidermiste keratinositler dışında melanosit, langerhans ve merkel hücreleri bulunmaktadır.

En alt yani dermis ile komşu katmanda keratinositler bölünerek üst katmanlara atılmaktadır. Alt katmanlarda canlı keratinositler en üst katmanlarda ölmekte ve deriden dökülerek atılmaktadır. Bu sürece keratinizasyon döngüsü-turnover denilmektedir. Normal bir insanda bu süreç 28 gündür. Keratinositler dermisten yukarı doğru 5 hücre tabakasından meydana gelir. Bunlar; stratumcorneum, lusidum, granulozum, spinosum ve bazal tabakalarıdır.



Şekil 2. Epidermin katmanları(Broughton ve ark., 2006)

### 2.2.2. Dermis

Dermiste hücre arası destek dokusu ve fibroblast hücreleri ile bunların arasında sinir, damar, lenfatik yapılar, ter ve yağ bezleri, tırnak ve kıl folikülleri yer almaktadır. Epidermis ile karşılaştırıldığında, çok daha az sayıda hücre ve çok daha fazla lif bulunmaktadır. Dermisin ana hücreleri fibroblastlardır ve yara iyileşme sürecinde hücreler arası iletişimin gerçekleşmesi için gerekli olan VEGF, TGF, FGF gibi büyüme faktörlerini salgırlar (Lerman ve ark., 2003). Dermisin hücre dışı matriks dokusundan sorumludur. Matriks yapısını kolajen, elastin ve retiküler fiberler oluşturmaktadır. Dermiste vücut savunma sisteminin parçası olan makrofajlar, mast hücreleri de bulunmaktadır. Dermiste duyu sinirleri olan reseptörlerde bulunmaktadır. Merkel ve Meissner cisimcikleri, Pacinian cisimcikleri (basınç duyusu, vücut ağırlığını başına anatomik alanlar ve genital bölgede daha yoğun olarak bulunmaktadır) ve Ruffini cisimcikleri (mekanik duyu) gibi. Dermiste kollajen derinin gerginliğini sağlamaktadır.

Elastin deriye elastikiyetini vermektedir. Bu ikisi dermisin fibriller destek dokusudur. Fibriller dışında proteoglikanlar, glikoproteinler, glikozaminoglikanlar, su ve hyaluronik asit diğer destek yapılarıdır. Glikozaminoglikanlar, proteinlerin proteoglikanlara bağlanmış formlarıdır. Proteinler kondrotin sülfat, dermatan sülfat, keratin sülfat, heparan sülfat ve heparindir. Bunlar hücrelerin birbirlerine tutunmasını, hücrelerin yer değiştirmesini, hücreler arası ilişkiyi düzenlemektedir (Broughton ve ark., 2006).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF): Yara iyileşmesinde endotelyal hücrelerin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyararak anjiyogenezi geliştirmektedir (Demir ve Seventekin, 2009).

Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF): Makrofajların, fibroblastların ve nötrofillerin kemotaksisini; fibroblast ve düz kas hücrelerinin kemotaksisini ve proliferasyonunu uyararak kollajenaz aktivitesini artırmaktadır (Kalay, 2011).

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF): Endotel hücre çoğalması, göç etmesi ve yeni kan damarı oluşumunun uyarılmasından sorumludur (Claus ve ark., 2004).

Endotelyal Büyüme Faktörü (EGF): Epidermal keratinositlerin hücre döngüsünün ilerlemesini ve farklılaşmasını sağlar (Jost ve ark., 2000, Safari ve ark., 2014).

### **2.2.3. Hipodermis**

Hipodermis veya derinin subkütanöz tabakası, derinin en alt katmanıdır. Vücuttaki lokalizasyona bağlı olarak değişen kalınlıklarda bir tabaka oluşturan, gevşek bağ dokusu ve liposit yağ hücrelerinden meydana gelir. Damar ve sinir yönünden çok zengindir. Isı kaybını engelleme, travmalara karşı koruma gibi görevler üstlenir (Kierszenbaum, 2006).

## **2.3. Yara Tanımı ve Çeşitleri**

Yara, cerrahi ya da travmatik nedenlerle canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasıdır. Doku travması sonucu oluşan yaralanmada, organizma kompleks ve koordineli şekilde seyreden, bir dizi yapılanma sürecine girerek iyileşmeyi sağlamaktadır (Kaltalıoğlu, 2012). Yaralar tiplerine ve etiyolojilerine göre akut ya da kronik yara olmak üzere ikiye ayrılır.

### **2.3.1. Akut Yaralar**

Geçici bir etkenin neden olduğu ve kabul edilebilir bir sürede iyileşen yaralardır (Velnar ve ark., 2009). Akut yara tipleri; açık yara ve kapalı yara şeklindedir.

#### **Açık Yaralar**

Açık yaralar yaralamaya sebep olan etkenlere göre sınıflandırılır. İnsizyon, laserasyon, abrazyon, delici yaralar, penetrasyon yaraları, ateşli silah yaraları, yanıklar açık yaralara örnek olarak verilebilir.

#### **Kapalı Yaralar**

Gözle görülür herhangi bir belirti göstermeyen kapalı yaralar; açık yaralardan daha tehlikeli, travmanın etkisi daha büyüktür ve üç temel başlıkta sınıflandırılırlar.

**Kontüzyon:** Künt bir travma sonucu subkutan dokularda hasar gelişmesidir.

**Hematom:** Subkutan dokularda damarlarda gelişen hasar sonucunda deri altında kan birikimidir.

**Ekimoz:** Herhangi bir travma sonrası deri altında olan kanamanın vücut tarafından metabolize edilmesiyle oluşan renk değişiklikleridir.

**Ezilme:** Dokulara ya çok büyük miktarda bir gücün kısa sürede, ya da daha az bir gücün uzun süre de uygulandığı durumlarda oluşur.

### **2.3.2. Kronik Yaralar**

İyileşmesi zaman alan, iyileşmeyen veya tekrarlayan yaralardır. Genellikle inflamatuvar evrede uzama olur. Akut yaralarda anabolik ve katabolik fazlarda tam bir denge varken, kronik yaralarda bu denge kaybolmuştur ve katabolizma ön plandadır (Robert, 2004).

Kronik yara tanısı, yaranın iyileşme eğilimi göstermemesi ile konur. Bir yaranın kronikleşerek iyileşmeyen yara haline gelmesinde, etyolojisinden bağımsız olarak, iki önemli neden vardır. Perfüzyonun bozulması ile buna bağlı doku hipoksisi ve bu durumun kolaylaştırdığı yara infeksiyonudur (Bitto ve ark., 2008).

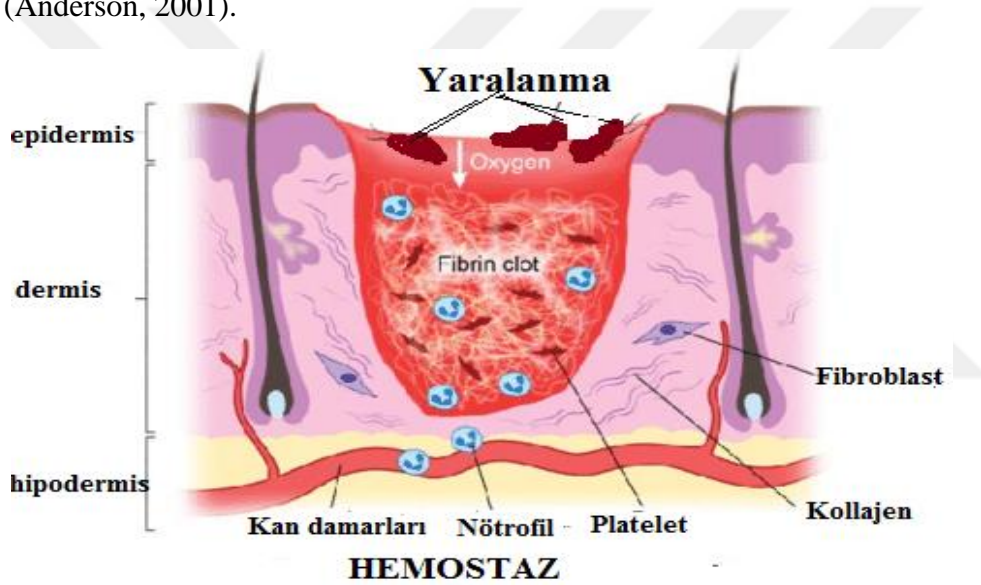
## 2.4. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, inflamatuvar hücreleri, fibroblastlar, keratinositler ve endotelial hücreleri gibi pek çok hücre tipinin hareketinin sağlandığı birçok enzim ve büyüme faktörlerini gerektiren ve sinyal yollarının ileri derecede birbiriyle ilişkilendirildiği karmaşık bir süreçtir (Blakytyn ve Jude, 2006). Dokularda meydana gelen yaraların iyileşme mekanizmaları bazı farklılıklar göstermesine rağmen, hepsinde ortak olan ve bilinen klasik özellikler mevcuttur. Yara iyileşmesinde genellikle vücudun bozulan bütünlüğünü skar (yara izi) olarak adlandırılan fonksiyonel olmayan fibrotik bir yapı ile sağlanır (Reimer ve ark., 2000; Geoffrey ve ark., 2008). Yara iyileşme süreci, iç içe geçmiş hemostaz-enflamasyon, proliferasyon, matürasyon-remodelasyon olmak üzere 3 evreye ayrılır.

### 2.4.1. Hemostaz ve Enflamasyon Evresi

Hemostaz evresinde (1-3 gün); damar hasarı sonucu kanama oluşunca refleks olarak vazokonstriksiyon olur (Nyugen ve ark., 2009). Yaralanmadan hemen sonra pıhtılaşma reaksiyonu başlar (Broughton ve ark., 2006). Bölgeye gelen trombositlerden ve zedelenmiş olan hücrelerden açığa çıkan pıhtılaşma faktörleri bir dizi reaksiyonlar sonucu kan hücreleri fibrin lifleri arasında tutulur ve damar duvarından açığa çıkan kollejenler liflere yapışır ve trombosit tıkaçı oluşturarak hemostazı sağlar. Oluşan pıhtı; fibrin, fibronektin, trombin, trombosit gibi kan proteinleri ile eritrosit ve lökosit gibi şekilli elementlerden oluşur. Pıhtıyı oluşturan bu faktörler sitokin ve büyüme faktörlerini salgırlar (Karasu ve Bakır, 2008; Broughton ve ark., 2006). Trombositlerin kollajenle temasında, kollajenin yapısında bulunan prolin ve hidrokisprolin aminoasitleri trombositleri aktive eder, aktive olan trombositler ise granüllerinde bulunan trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), transforme edici büyüme faktörü- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit faktör IV, fibronektin, serotonin, trombosit aktive edici faktör (PAF), adenzindifosfat, tromboksan A2, fibrinojen, VonWillebrand faktör ve trombozpondin gibi faktörler ile tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin-1 (IL-1) gibi sitokinleri salgırlar (Arslan, 2003; Chin ve ark., 2005). Dolaşımdan yaraya hücre kemotaksisi, sitokinlerin ve büyüme hormonlarının yerel olarak açığa çıkması ve hücre göçünün aktivasyonu olan enflamasyon sürecini başlatır. İlk 24 saat içinde yarada nötrofiller hâkim

olur ve inflamasyonun erken fazında baskın olan hücrelerdir. Nötrofillerin yara yüzeyindeki ana görevi, bakterilerin fagositozunu yapmak ve proteaz salınımıyla travmadan zarar gören hücre kalıntılarını yara bölgesinden temizlemektir (Gurtner ve Geoffrey, 2007; Joan ve ark., 2003; Paul ve ark., 2007). 24-48 saat sonra yarada hâkim olan hücreler makrofajlardır. Makrofajların yara iyileşmesindeki temel görevleri fagositoz ve antimikrobiyal etki, hücre proliferasyonu, matriks sentezi ve anjiogenezdir. Makrofajlar yara tamiri için gerekli olan tek inflamatuvar hücre tipidir. Makrofajların salgıladığı; proteazlar, kemotaktik faktörler, araşidonik asit metabolitleri, reaktif oksijen metabolitleri, kompleman bileşenleri, koagülasyon faktörleri, büyüme destekleyici faktörler ve sitokinler gibi moleküller yara iyileşmesinde kilit rol oynayan moleküllerdir (Anderson, 2001).

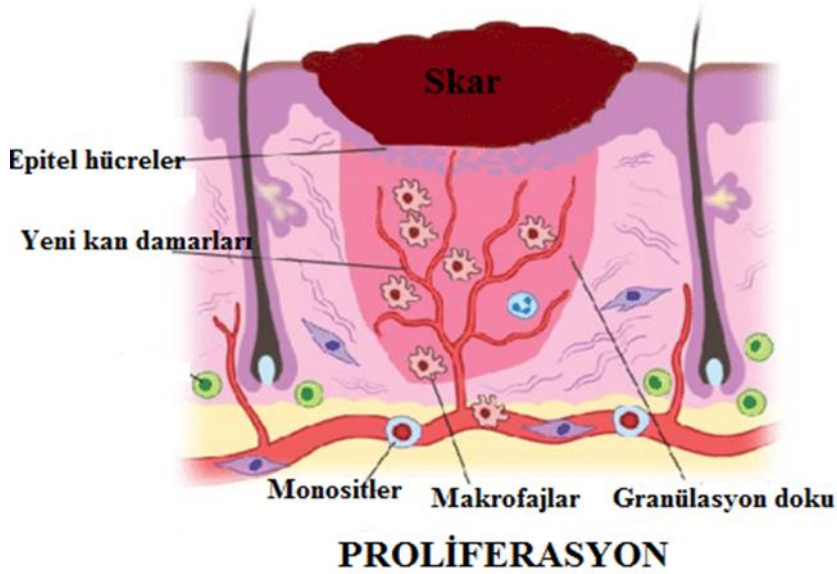


Şekil 3. Yara iyileşmesi. Hemostaz-enflamasyon fazı (Broughton ve ark., 2006)

#### 2.4.2. Proliferasyon Evresi

Proliferasyon evresi fibroblast göçü, kollajen sentezi, anjiyogenezis ve epitelizasyonu kapsamaktadır. Hücresel aktivite baskındır ve fibroblastlar en önemli hücre grubudur (Kurt, 2003). Fibroblastların iyileşme sürecindeki temel görevleri yara onarımını sağlamak, bağ dokusunun temel bileşenlerinden olan kollajen, elastin, retikülin liflerini sentezlemek ve proteoglikan üretmektir (Broughton ve ark., 2006). Fibroblastların proliferasyonundan, trombosit ve makrofajlardan salınan büyüme faktörleri ile sitokinler sorumludurlar. Fibroblastlar, hyaluronik asit, proteoglikan tip I ve tip III prokolajen gibi ekstraselüle matriks proteini sentezlemede görev alırlar (Velnar ve

ark., 2009). Fibroblastlar 2. haftada yara kontraksiyonunda görev almak üzere miyofibroblastlara dönüşürler (Leong ve Phillips, 2004). Myofibroblastlar yara kenarlarını bir araya çekerek yaranın boyutunu azaltmaya çalışırlar. (Myers, 2004). Yara iyileşmesinin 3. veya 5. günü arasında granülasyon dokusu oluşmaya başlar (Enoch ve Leaper, 2007). Granülasyon dokusunun gelişimi ile eş zamanlı olarak yara kontraksiyonu gerçekleşir (Broughton ve ark., 2006). Yara kontraksiyonu yara kapanmasının gerçekleşmesi amacıyla yara kenarlarının yara merkezine doğru hareketi olarak tanımlanmıştır (Guo ve Di Pietro, 2010). Granülasyon dokusunun gelişimi yeni kapiller damar oluşumu süreci olan anjiyogenezis ile karakterizedir. Anjiyogenezis sonrası yara bölgesinde kan akımı artar. Böylelikle inflamatuvar hücrelerin birbiri ile etkileşimi ve kan damarı endotelial bazal membranından geçişleri mümkün olur. Bu dönemde kollajen üreten fibroblastların yara kenarından yaraya göç etmeleri ve kollajenin sentezi ve birikimi gerçekleşir (Verderio ve ark., 2004). Oluşan kollajen sayesinde deri yeniden elastikiyetini ve direncini kazanmaktadır (Diegelmann ve Evans, 2004).



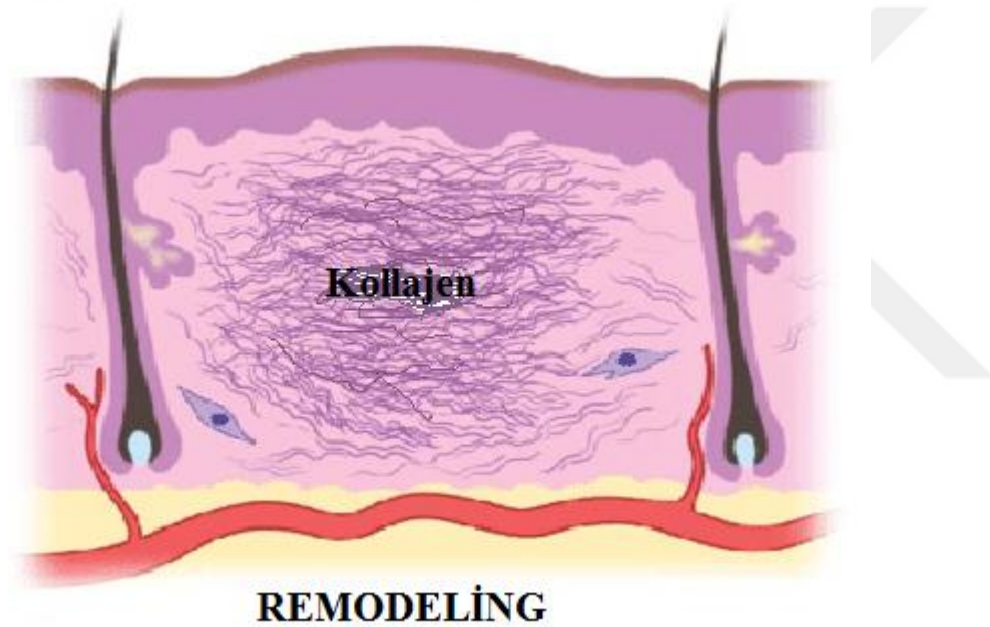
Şekil 4. Yara iyileşmesi. Proliferasyon fazı (Broughton ve ark., 2006)

#### 2.4.3. Matürasyon ve Remodelasyon Evresi

İyileşmenin 3. haftası olarak başlayan bu evre haftalar hatta aylarca sürebilir (Li ve ark., 2007). İnflamatuvar hücreler ortamdan ayrılmaya başlayarak büyüme faktörü salgılayan hücreler azalır ve iyileşen dokudaki kolajen içeriği, yaralanma sonrası 21.



günde maksimum düzeye ulaşır (Ramasastry, 2005; Shah ve ark., 2012). Kolajen moleküllerinin daha fazla kovalent olarak çapraz bağlanması olayı gerçekleşir. İyileşmekte olan yaranın metabolik ihtiyacı azaldığından yoğun kapiller ağı gerilemeye başlar. Kollajen moleküler çapraz bağlar ile skar dokusunun içerisine sabitleşir (Shetty ve Bertolami, 2004). Bu evrede, hücresel yoğunluğu ve damarlanması fazla olan granülasyon dokusunun yerini skar dokusu almaya başlar. İyileşmenin erken evresinde oluşan tip III kollajen yerini tip I kollajene bırakır. Yara dokusunun gerilim direnci giderek artar ve normal dokunun sahip olduğu orijinal direncin %80'ine ulaşabilir (Sood ve ark., 2012).



Şekil 5. Yara iyileşmesi. Matürasyon ve remodelasyon fazı (Broughton ve ark., 2006)

## 2.5. Yara İyileşme Tipleri

Onarım zamanlarına ve iyileşmede yönlendirilmelerine göre yara tiplerini primer iyileşme, sekonder iyileşme ve tersiyer iyileşme olarak gruplandırabilir.

### 2.5.1. Primer İyileşme

Yara kapanmasının en basit ve en hızlı tipi olan primer yara iyileşmesi, temiz ve düzgün kesilerek oluşturulan yara kenarlarının doku katmanları karşılıklı bir araya getirilerek en az skar dokusuyla komplikasyonsuz iyileşmesidir (Arslan, 2003). Yara

kenarları fiziksel olarak yapışkan bantlar, biyolojik doku yapıştırıcıları, dikiş ya da zımba (stapler) ile tutturularak yapıştırılır ve sadece onarılacak küçük bir defekt bırakılır (Myers, 2004). Sonuç olarak, vücut büyük bir granülasyon doku matriksi oluşturmak zorunda kalmaz ve onarım hızlanır. Yeni kan damarları ve keratinositler arasında azalan mesafe; migrasyonu ve en aza indirilmiş bakteriyel kontaminasyonu sağlar. Kapatılan yara boyunca arada kalan sınırlı boşluk fibrin ile dolar. Yara kontraksiyonu cerrahi insizyonlar gibi çizgisel yara boyunca en hızlıdır ve yara kapanması daha fazladır. 24-48 saatte epitel doku altta oluşan ince skar dokusunu örter. Primer yara iyileşmesinde yaraların yara gerilimi düşük ve damarlanması iyi olursa en iyi şekilde iyileşir. Cerrahi insizyonlara ek olarak kağıt kesikleri ve küçük kutanöz yaralarda primer iyileşmeyle iyileşir (Chen ve Davidson, 2005).

### **2.5.2. Sekonder İyileşme**

Ameliyat yaralarının iyileşmesi sekonder yara iyileşmesi ile olur. Yara alanını doldurmak için bir granülasyon doku matriksinin oluşması gereklidir (Myers, 2004). Granülasyon dokusu 2-3 hafta sonra yara kenarları hizasına gelince üzeri epitelize olur ve skar epiteli ile örtülür (Arslan, 2003). Sekonder yara iyileşmesinde yara kontraksiyonu defekt boyutunun azaltılmasında daha önemli bir rol oynar (Myers, 2004). Bu yaraların gerilme kuvveti daha düşüktür, travmaya daha az dayanıklıdır ve küçülme eğilimindedir (Nyugen ve ark., 2009). Fiziksel tedavi gerektiren yaraların büyük bir kısmı sekonder iyileşmeyle iyileşir (Shah ve ark., 2012). Ameliyat sonrası oluşan enfeksiyonlu yaralarda, iyileşmesi gecikmiş yaralarda ve bazı hayvan ısırıklarında uygulanabilir.

### **2.5.3. Tersiyer İyileşme (Gecikmiş primer iyileşme)**

Sekonder iyileşmeye bırakılan yaranın şartları uygun hale geldiğinde suture edilerek kapatılmasıdır. Bu tip iyileşme sonunda primer kapamada ulaşılan gerilme kuvvetine eşit değerler elde edilir (O'Dwyer, 2007).

## 2.6. Propolis

Propolis; bal arılarının, bitkilerin yaprak, çiçek, filiz, tohum, tomurcuk gibi herhangi bir bölgesinden topladıkları, özel reçine ve mumlu maddeleri tükürük enzimleriyle biyokimyasal olarak değişikliğe uğratarak oluşturduğu doğal bir arı ürünüdür (Antonio ve ark., 2005).

Propolisin, insanlar üzerindeki olumlu etkileri çok eski yıllardan beri bilinmekte ve halk arasında kullanımı eski çağlara dayanmaktadır. İlk olarak M.Ö. 79-23 yıllarında Roma'da büyük bir okul olan "PlinytheElder" da propolisin ağrı azaltıcı, yara iyileştirici aktiviteleri tanımlanmıştır. Propolis eski çağlarda Mısırlılar tarafından da bilinmekte ve bazı hastalıkların tedavi edilmesinde, ölümlerin mumyalaşmasında kullanılmaktaydı. Yunanlılar ve Romalılar, propolisi deri apselerinin tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanmışlardır. Yine Yunanlılar tarafından inflamatuvar hastalıklarda ve ateroskleroz tedavisinde doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (Castaldo ve Capasso, 2002). Hipokrat (460-377 M.Ö.) propolisin deri hastalıkları, ülser ve sindirim sistemini rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıldığını belirtmiştir. Afrika'da ise propolis ilaç olarak uzun zamandır kullanılmaktadır. 12. yüzyıla ait Avrupa kayıtlarında, propolisin ağız, boğaz enfeksiyonları ve diş sağlığı için kullanılan tıbbi preparasyonları tanımlanmıştır. Propolisin eski zamanlara dayanan diğer bir kullanım şekli vernik olarak kullanılmasıdır. İtalya'da 17. yy.'da Stradivari, propolisi telli enstrümanların cilalanmasında kullanmıştır.

### 2.6.1. Propolisin Fiziko-Kimyasal Özellikleri

Oda sıcaklığında yarı katı halde bulunur ve genellikle köknar, çam, ladin, gibi kozalaklı ağaçlardan elde edilmesine ilaveten, meşe, kavak, kestane gibi birçok otsu ve odunsu bitkiden de elde edilebilmektedir. Kovan iç yüzeyinin kaplanması, yarık ve çatlakların kapatılması, petek kenarlarının onarılması, çeşitli arı hastalıklarından koloninin korunmasında, ve hastalık etmenlerinin önlenmesinde, yaz sonunda çerçevelerin bağlanması, kovan deliğinin küçültülmesi, petek gözlerinin cilalanması gibi çeşitli amaçlarla arılar tarafından üretilmektedir (Kumazawa ve ark., 2004; Kutluca ve ark., 2008; Sforcin, 2007). Propolisin yapısı, içeriği, rengi gibi fiziksel özellikleri elde edildiği ağaca, çiçeğe, mevcut bitki örtüsüne ve iklim koşullarına göre değişiklik gösterebilmektedir (Silici ve Güçlü, 2010). 10°C'nin altında kırılgan, 15-25 °C arasında elastik yapıdadır. 30°-40°C'de yumuşak bir kıvam alırken 80°C'de kısmen

eriyeabilmektedir. ılıman iklimli bölgelerde propolis kahverengi, tropik alanlarda siyah, Küba bölgesinde üretilen propolisin ise menekşe rengine olduğu ve saydam propolisin bile elde edilebildiği coğrafik alanlar bulunduğu gözlemlenmiştir (Kutluca ve ark., 2006). Propolis' in kimyasal bileşimi, coğrafı ve bitkisel kökenlerine önemli ölçüde bağımlıdır. Propolisin içeriğinde 300'e yakın bileşik bulunduğu ve bu bileşiklerin başlıca flavonoidler, fenolik asitler, terpenoidler, steroidler ve amino asitler olduğu tespit edilmiştir (Bankova ve ark., 2000).

**Tablo 1.** Propoliste bulunan başlıca bileşenler (Korkmaz ve ark.'dan, 2002)

Bileşenler	Ana Maddeler	Miktar (%)
<b>Reçine</b>	Flavonoidler, Terpenler, Fenolik asitler ve esterler	% 45-55
<b>Mum ve yağ asitleri</b>	Arılardan veya bitkilerden mum, Bitkilerden çoklu doymamış yağ asitleri	% 25-35
<b>Esansiyel yağlar</b>	Uçucu bileşenler	% 10
<b>Polen</b>	Eser elementler Serbest amino asitler	% 5
<b>Organik bileşikler ve mineral maddeler</b>	Laktonlar Steroidler şekerler Kinonlar	% 5

Genellikle %10 esansiyel yağlar, % 25-35 mum ve yağ asitleri, % 45-55 reçine ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır (Burdock, 1998). Propoliste ayrıca değişik oranlarda mangan, çinko, bakır, nikel, kobalt, kalsiyum, fosfor, potasyum, kükürt, sodyum, klor, demir, magnezyum, molibden, selenyum minarelleri bulunmaktadır (Cantarelli ve ark., 2011). B1, B2, B6, C ve E vitamini ile nikotinik ve pantotenikasiti içeren propolis Özan (2006) serin, glikol, asparajin, glutamik asit, alanin, triptofan, fenilalanin, sistin, lizin, histidin, arginin, prolin, trionin gibi aminositleri de taşımaktadır (Bankova ve ark., 2000).

**Tablo 2.** Propoliste belirlenen bileşik grupları ve sayıları (Korkmaz ve ark., 2002).

Bileşikler	Tanımlanan Bileşik Sayısı
Flavanoidler	38
Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavononlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik Asit ve Türevleri	12
Alkoller, Ketonlar, Fenoller	8
Esterler	4
Asitler	8
Benzaldehit Türevleri	2
Sinamil ve Sinamik Asit ile türevleri	14
Heteroaromatik Bileşikler	12
Terpen ve Sekuterpen ve Türevler	7
Alifatik Hidrokarbonlar	6
Sekuterpen ve Triterpen Hidrokarbonlar	11
Steroller ve Steroid Hidrokarbonlar	6
Mineraller	22
Şeker	7
Aminoasitler	24

Propolis; krisin (antimikrobiyal), apigenin (antitümöral), kuersetin (antitümöral), galangin (antifungal), pinosebrin (antibakteriyel), artepillin C (antitümöral), ferulik asit (antiviral), kafeik asit (antioksidan), kafeik asit fenetil ester (antiinflamatuvar) ve kumarik asit (antitümöral ve antiülser) gibi fenolik bileşiklere sahiptir (Akbulut, 2014; Bankova ve ark., 2000; Banskota ve ark., 2001). İçerdiği flavonoidler, aromatik asitler, fenolik asitler ve esterlerinin farmakolojik aktiviteleri sayesinde biyolojik polimerlere bağlanma, ağır metal iyonlarına bağlanma, elektron taşınmasını hızlandırma ve serbest radikalleri tutma gibi aktivite gösterebilmektedirler (Silici ve Güçlü, 2010). Adenozintrifosfataz, süksinatdehidrogenaz, glikoz-6 fosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler de yapısında yer almaktadır (Yousef ve ark, 2010). Kafeik asit fenetil ester (CAPE); Avrupa, Asya ve Amerika propolisinde bulunan önemli bir bileşiktir (Omene ve ark., 2013). Reçineli yapıda olması fenolik bileşikleri ön plana çıkarmaktadır. Ağaç yapraklarının tomurcuklarından elde edilen reçineye balmumu ve bal arılarının tükürük enzimlerinden gelen glukosidaz enziminin etkisiyle yapısı değişkenlik

göstermektedir. Ham olarak tüketilmesi tavsiye edilmediğinden propolisin ekstraksiyonu yapılır. Bunun için yaygın olarak kullanılan yöntemler; evaporasyon, vakum distilasyon, membran konsantrasyon ve liyofilizasyondur (Mello ve ark., 2010). Dünyada en yaygın propolis ekstraksiyonunda solvent (çözücü) olarak etilalkol kullanılmaktadır. Bilimsel çalışmalarda kullanılan propolisin büyük çoğunluğu etil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen ürün ile yapılan çalışmalardır. Propolisin etanolik ekstraktı su ekstraktına göre daha fazla fenolik asit ve polar bileşik içermektedir (Pietta ve ark.,2002). Dünyada hem ticari hem de bilimsel amaçla tercih edilen propolisin özütü %98- %60 etil alkol ile hazırlanmaktadır. Propolisin %60'lık, %70'lik, %80 'lik olmak üzere farklı konsantrasyonlarda su ve etanol kullanılarak hazırlanan özütlerin HPLC ile kimyasal yapısının karşılaştırıldığı bir araştırmada %60 ve %80 etanol ekstraktı mikrobiyal gelişimi güçlü bir şekilde inhibe ederken %80 etanolik ekstrak en yüksek antioksidan aktiviteye sahip bulunmuş ve hyaluronidaz aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (Park ve Ikegaki, 1998). Propolisin tüm bu özellikleri 1960 yıllarında bilimadamlarının dikkatini çekmiş ve pekçok araştırmacı propolisin kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine çalışmalar yapmıştır. Propolis ile ilgili ilk çalışmalar Ghisalberti tarafından 1978 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmalardan 20 yıl sonra propolisin biyolojik aktivitesi ve kimyasal yapısına ait detaylı bilgiler ortaya konulmuştur. Propolis geniş bir biyolojik ve kimyasal aktivite yelpazesine sahiptir.

### **2.6.2. Propolisin Biyolojik Özellikleri**

Propolisin antimikrobiyal etkisinin hücre zarı geçirgenliğini artırması ve bakteri motilitesini inhibe etmesi sayesinde gerçekleştiği düşünülmektedir. Propolisin laboratuvar ortamında çeşitli bakteri suşlarına karşı etkili olduğu rapor edilmiştir (Marcucci, 1995). Ayrıca bakterinin iç membranının iyon geçirgenliğinin etkilenmesi sonucu membran potansiyelini bozarak bakterinin enerji ihtiyacını karşılamasını engelleyebilir (Sforcin, 2007). Antiviral aktivite özellikle flavonoid ve aromatik asit türevleriyle ilişkilendirilmiştir. Antiviral özellik gösterebildiği gibi propolisin antifungal ve antiparazitik etkinlik gösterdiğine dair veriler mevcuttur (Coşkun, 2006). Propolisin antitümöral etkisinin ortaya konulduğu çalışmalarda apoptoz indüksiyonu, hücre siklusunun aresti, matriks metalloproteinaz inhibisyonu ve anjiyogenezi engellemesi ile ilişkilendirilmiştir (Kutluca ve ark., 2006). Propolisin cerrahi müdahalelerde tıbbi mum

yerine, savaşlarda yara ve dokuların iyileştirilmesinde vazelinle karıştırılarak merhem olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Kartal ve ark., 2003). Propolis zeytinyağı ekstraktı ile ilgili yapılan klinik bir araştırmada ise bal- propolis zeytinyağı ekstraktı ve balmumunun topikal uygulamasının oral mukozit üzerine etkili olduğu kanıtlanmıştır (Abdulrahman ve ark. 2012). Propolis kronik yaralardan olan diyabetik yaralarda kullanımı son zamanlarda önem kazanmıştır. Propolisten üretilen merhemler diyabetik yara tedavisi için yeni antidiyabetik yara bileşiklerine, bir kaynak olarak araştırılmaktadır.

McLennan ve ark. (2008) sıçan modelinde propolis antienflamatuar etkinliği sayesinde diyabetik yara iyileşmesine olumlu yönde katkısı olduğunu göstermişlerdir. Jacob ve ark.(2015) iki farklı propolis çeşidinin bağdoku fibroblastları üzerine etkisini karşılaştırmıştır. Terapötik verimlilik, yara matriksindeki tip I ve tip II kollajenin ekspresyonun ve yıkımının kantitatif ve kalitatif olarak değerlendirilmesiyle doğrulanmıştır ve propolis reepitelizasyon için uygun bir biyokimyasal ortam hazırladığı sonucuna varılmıştır. Başka bir çalışmada ise tropikal propolis uygulamasının diyabetik yara iyileşmesinde transforme edici büyüme faktörü-beta/ SMAD sinyalizasyonunu arttırarak tip I kollajen ekspresyonunu ve depozisyonunu güçlendirdiği ve enflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (Hozzein ve ark., 2015). Yapılan bir klinik çalışmada diyabete sekonder gelişen ayak ülserlerinde topikal propolis kullanımının ülserasyon alanını küçülttüğu ve yara iyileşme sürecine olumlu katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Afkhamizadeh ve ark., 2018). Pek çok araştırma propolis dermatolojik tedavilerde etkili bir ajan olduğunu göstermektedir (Castaldo ve Capasso 2002; Marcucci, 1995;Banskota ve ark., 2001; Sosa ve ark., 2007).

Propolis antienflamatuar etkisine büyük oranda kafeik asit fenetil esterinin katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Rossi ve ark., 2002). Yine antioksidatif etkileri nedeniyle enflamasyonu azaltıcı etkisi olduğu düşünölmektedir (Banskota ve ark., 2001). Propolisin bir diğer önemli bileşeni sinamik asit ve türevleri gram pozitif (+) ve gram negatif (-) bakterilere karşı güçlü antibiyotik özellik göstererek yaraların iyileştirilmesinde olumlu sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur (Hepşen ve ark., 1996; Sforcin, 2007). Aynı şekilde göç etmiş olan hücrelerin yara bölgesinden geri çekilmesini engellediği için yangı evresinin uzamasına sebep olur (Jacob ve ark., 2015). Pek çok araştırma sonuçlarında propolis diyabetik yaraların iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir (Lotfy ve ark., 2006; McLennan ve ark., 2008; Kazancıoğlu ve ark., 2015).

Hozzein ve ark. (2015) diyabetik fare modelinde, propolis kullanımının hem yaranın kapanmasını hem de kollajen üretimini tedavi edilmemiş farelere kıyasla anlamlı derecede arttırdığını gösterdikleri çalışması mevcuttur. Propolis uygulaması, yara iyileşmesinin ve inflamatuvar sitokinlerin önemli düzenleyicileri olan MMP9 (matris metalloproteinaz 9) ve TGF- $\beta$  1 (transfer büyüme faktörü  $\beta$  1) seviyesini düşürdüğü rapor edilmiştir. Benzer çalışmalardan bal, arı sütü ve zeytinyağı-propolis özü karışımı içeren kremin diyabetik sıçan yaralarında uygulanmasının diyabetik ve diyabetik olmayan sıçanlarda yaraların iyileşmesini ve onarımını önemli ölçüde arttırdığı ortaya koyulmuştur (Rashidi ve ark., 2016). Yine diyabetik sıçanlarda, propolis, dermazin ve propolis-dermazinmerhem karışımı yanık yarası üzerinde uygulanarak tedavi etkisi ve aynı yarada bakteri koloni sayımı araştırılmıştır. Tedavi sonrası yanık yarası onarımı değerlendirilmiş, bakteri koloni sayımı yapılmıştır. Burada, propolis-dermazin karışımı ile tedavi edilen sıçanlarda, çalışılan tüm günlerde bakılan koloni sayısı tüm gruplara kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir (Ahmed ve ark., 2011).

## **2.7. Deneysel Diyabet ve Streptozotosin**

Diyabeti daha kapsamlı araştırmak için birçok bilimsel çalışma yapılmakta ve diyabetik hayvan modelleri sıklıkla tercih edilmektedir.

Deneysel çalışmalarda kullanılan çeşitli ilaçlar ve kimyasallar, diyabete neden olur. Streptozotosin ve Allokstan bu amaçla kullanılan diyabetojenik ajanlardır ve hücre yıkımı ile insanlardaki Tip I Diyabet'e benzer şekilde diyabet oluştururlar (Öztürk ve ark., 2002).

1960 yılında *Streptomyces achromogenes* kültüründen ekstre edilen bir glikoz analogu bulunmuştur (Takada ve ark.,2007). Kimyasal adı 2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüredio)-D-Glikopiranoz olan STZ, diyabetojenik özellikleri olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir Molekül ağırlığı 265 kDa'dır. Pankreasın beta hücrelerine GLUT2 aracılığıyla alınarak  $\beta$  hücrelerinin bloke olmasına sebep olmakta bu durumun sonucu olarak insülin sentezi ve sekresyonunu inhibe etmektedir (Szhudelski 2001; Kanter ve ark. 2006).

Streptozotosinin diyabette yara iyileşmesine daha az zarar verdiği ve erişkindeki diyabeti daha iyi karakterize ettiği bildirilmiştir (Greenwald ve ark.,1993). Farklı dozlarda ve farklı uygulamalarla değişik diyabet modelleri oluşturulabilmektedir (Vardı ve ark, 2003). STZ açık sarı renkte, suda ve alkolde çözünebilen bir maddedir. Ph 4,5'da



Çözünüp stabil kalmakta, bu pH'ın dışında parçalanmaktadır. Kan glikoz değerini en yüksek düzeye çıkaran STZ dozu 60-65 mg/kg'dır (Bolzan ve Bianchi, 2002).

Bazı literatür çalışmalarında 60 mg/kg streptozotosin kullanılırken (Sidhu ve ark., 1999), bir kısmında da 70 mg/kg streptozotosin intraperitoneal olarak uygulanmıştır (Chithra ve ark., 1998). Çalışmamızda 50 mg/kg dozda streptozotosinin 0.1 M sitratta pH 4,5 iken intraperitoneal olarak uygulanmasının ratları diyabetik yapmaya yettiği gözlemlendi ve çalışmamız bu dozda gerçekleştirildi.



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Streptozotosin ( $C_8H_{15}N_3O_7$ , Sigma- Aldrich). ELISA hazır kitler PDGF, EGF, FGF, VEGF büyüme faktörleri (Shanghai, Çin).  $Na_2HPO_4$  (Disodyum fosfat), NaCl, (Sodyum klorür),  $NaH_2PO_4$  (Monosodyum fosfat),  $C_6H_5Na_3O_7$  (Sodyum sitrat),  $C_6H_8O_7$  (Sitrik asit), Etil alkol, Vazelin, Madecassol ticari merhem, Devapen, Carprofen, Folmaldehit, Xylazine, Ketamine (Ketamin HCL, Ketalar, EWL Eczacıbaşı Warner Lambert İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. İstanbul), Eosin boya.

#### 3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Çalışmada gerekli olan tüm ekipmanlar fakültemizin Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında mevcut olup bunlardan vorteks, santrifüj, sıcak su banyosu, evaporatör, distile su cihazı, derin dondurucu ( $-20^{\circ}C$ ), otomatik pipetler, analitik terazi, pH metre, homojenizatör, edtalı tüpler, mikro ELISA cihazı, otoanalizör biyokimya cihazı (Biosistem A25, İspanya), eppendorf tüpler kullanılmıştır.

#### 3.3. Materyal Temini:

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Etik Kurulunun 15.06.2016 tarih ve 2016/436 karar numaralı izni ile, Üniversitemiz Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde (DEHAM) ağırlıkları 400- 500 gr arasında değişen toplam 48 adet erkek Wistar albino rat üzerinde gerçekleştirildi.

Hayvan materyali olan ratların birbirlerine zarar vermemeleri için ayrı ayrı standart kafeslerde (polietilen) tutuldu ve *ad libitum* olarak pellet sıçan yemi ile beslendi. Ratlar için ideal olan %60 rölatif nem oranına ve 20-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda barındırılarak merkezi havalandırma ile hava sirkülasyonu sağlandı. Doğal gece/gündüz döngüsü olan 12 saat gece/12 saat gündüz uygulaması yapıldı.

İlaç materyali olan Propolis, Doğu Anadolu bölgesinden kirliliğin ve kontaminasyonun olmadığı yörelerden temin edildi.  $-20^{\circ}C$  de dondurulmuş olan doğal propolis ürünü rendelendi. Rendelenen propolis değirmende toz haline getirildi. %65 etanolde çözdürülen propolis vortekslendikten sonra  $45^{\circ}C$  de çalkanarak 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda whatman 1 filtre kâğıdı içinden süzülerek elde edilen süspansiyon bir döner vakum evaporatörü kullanılarak çözücünün buharlaştırılması sağlandı ve takiben liyofilizasyona tabi tutuldu ve kuru maddenin ortaya çıkarılması sağlanmış oldu.

Bal örneğinin seçimi ise Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladığımız 70 bal numunesinin biyokimyasal analizler sonucu toplam fenolik asit, total flavonoik madde ve antioksidan düzeyi en yüksek olanlardan seçilmiştir ve çalışmada kullanılmıştır.

### **3.4. Propolis merheminin hazırlanması:**

**Propolis merheminin hazırlanması:** Hazırlanan 3 kısım propolis ekstraktı +2 kısım vazelin+1 kısım su karışımı hazırlandı (Han ve ark.,2005).

**Propolis+ bal merheminin hazırlanması:** Hazırlanan propolis ekstraktı 3 kısım +2 kısım bal+1 kısım vazelin karışımı hazırlandı (Santos ve ark.,2008).

### **3.5. Streptozosinin (STZ) uygulamaya hazır hale getirilmesi**

Streptozosin, 1 g'lık ambalajlar şeklinde temin edildi. Tampon çözeltisinde molekül ağırlığı 294,10 g/mol olan sodyum sitrat ve molekül ağırlığı 210,14 g/mol olan sitrik asit kullanıldı. 0,01 M, pH: 4,5 olan Sitrat tampon hazırlamak için 0,68 gr Sitrik asit monohidrat + 0,51 gr Sodyum sitrat tribasik 500 ml distile suda çözülerek, pH:4,5 olacak şekilde ayarlandı (Jaouhari ve ark., 2000; Ventura-Sobrevilla ve ark., 2011).

### **3.6. Diyabet Modelinin Oluşturulması**

Diyabet oluşturmak için 20 mM sodyum sitrat tamponu (pH: 4.5) içerisinde taze olarak hazırlanmış streptozotosin (STZ) çözeltisi 50 mg/kg olacak şekilde (tek doz) periton içi yolla ratlara enjekte edilerek diyabet oluşturuldu.

STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra ratların kuyruk venasından enjektör ile delme yöntemi kullanılarak bir damla kan ile glikoz düzeyi ölçülerek diabetes mellitus oluşumu kontrol edildi, Accu-check glukometre cihazı (Roche) ve accu-check nano kan stripleri (Roche) ile ratların kan glikoz seviyeleri ölçüldü (Freckmann ve ark., 2012). Kan glikoz düzeyleri 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edildi. Normal değer sınırları içerisinde olanlar ise çalışmadan çıkartıldı.



Şekil 6. Ratların kuyruktan alınan kan ile glikoz seviyelerinin ölçümü

### 3.7. Deney Gruplarının Oluşturulması

400-500 g ağırlığındaki 48 adet Wistar Albino erkek ratların dahil olduğu çalışmamızda bütün gruplarda yara oluşturulmuştur. DM'siz yara oluşturulan 9 rat (V. grup) ve diyabetli yaraya vazelin uygulanan 9 rat (IV. grup), hepsi DM'li propolis merhemi uygulanan 10 rat (I. grup), propolis+bal uygulanan 10 rat (II. grup), ve madecassol yara merhemi uygulanan 10 rat (III. grup) olmak üzere deney gruplarımız oluşturuldu. Gruplar aşağıda sınıflandırılmıştır.

#### Deney grupları:

**I. Deney grubu:** DM oluşturuldu ve yaraya hazırlanmış propolis merhemi uygulandı (10 rat)

**II. Deney grubu:** DM oluşturuldu ve yaraya bal + propolis merhemi uygulandı (10 rat)

**III. Deney grubu:** DM oluşturuldu ve yaraya Centella Asiatica içeren ticari merhem (madecassol pomad) uygulandı (10 rat).

**IV. Deney grubu:** DM ile beraber yara oluşturuldu ve sadece vazelin uygulayarak tedavi yapıldı (9 rat).

**V. Deney grubu:** DM oluşturulmadan yara oluşturuldu ve sadece serum fizyolojik ile tedavi yapıldı (9 rat).

**Tablo 3.** Deney gruplarındaki rat sayıları

I. DENEY GRUBU	II. DENEY GRUBU	III. DENEY GRUBU	IV. DENEY GRUBU	V. DENEY GRUBU
DM oluşturuldu+ Yara oluşturuldu+ propolis merhemi ile tedavi edildi (10 rat)	DM oluşturuldu+ Yara oluşturuldu+ propolis bal merhemi ile tedavi edildi (10 rat)	DM oluşturuldu+ Yara oluşturuldu+ madecassol merhemi ile tedavi edildi. (10 rat)	DM oluşturuldu+ Yara oluşturuldu + Vazelin ile tedavi edildi. (9 rat)	DM yok+ Yara oluşturuldu + Serum fizyolojik ile tedavi edildi. (9 rat)

### 3.8. Ratlarda Yara Oluşturulması

Ratlara 7mg/kg xylazine ve 40mg/kg ketamine (IP) enjekte edilerek sistemik anestezi altına alındı. Ratların anestezi uygulamasını takiben sırt tüyleri traş makinesi ile deriye hasar vermemeye özen gösterilerek tıraşlandı. Ratlar yüz üstü pozisyonda tespit edildi ve cerrahi alan temizliği yapıldı. Columna vertebralisin sırtta üst dorsal kısmında 2.5 cm x 2.5 cm boyutunda bisturi ile ensize edilerek yara iyileşme çalışmalarında kullanılan bir model olan (Galiano ve ark., 2004; Dorsett-Martin 2004) açık yara modeli oluşturuldu (Şekil 7).



**Şekil 7.** Anestezi sonrası yara oluşturulması

### **3.9. Çalışma ve Kontrol Gruplarında Yarada Merhem Uygulamaları**

Yara oluşumunu takiben merhemler tüm yara yüzeyini kapatacak şekilde uygulanarak gün aşırı tekrarlandı. Yara yüzeyleri serum fizyolojik ve sargı bezi ile temizlenerek kremler uygulandı. Postoperatif olarak ratlara ağrıyı engellemek için Carprofen (TOPKİM-Topkapı İlaç Premiks San. ve Tic. A.Ş.) 5mg/kg ağrı kesici ve Devapen (Deva Holding) antibiyotik 2 mg/kg IM 1 hafta boyunca uygulandı.

Operasyondan hemen sonra başlayıp sakrifiye edildikleri 21. güne kadar (günaşırı) yaralara ince bir tabaka halinde kremler sürüldü. Yara bölgeleri örtülmeden takip edildi. Yara bölgelerine gün aşırı birer kez propolis, propolis merhem, madecassol, vazelin ve serum fizyolojik uygulanan hayvan grupları 21 gün boyunca tedavi gördü. Her hafta gruplardan rastgele rat seçilerek kan glikoz seviyeleri ve ağırlıkları ölçüldü.

STZ verildikten birkaç gün sonra propolis grubundan 1 hayvan ölmüştür. Madecassol grubunda yara oluşumundan sonra 1 rat uyanamamıştır. Takip edilen günlerde diyabet, anestezi etkisi, yarada enfeksiyon ve aşırı kilo kaybı nedeni ile propolis grubunda n=8, propolis+bal grubu n=7, madecassol n=7, vazelin grubu n=6, SF grubu n=6 rat sayıları ile çalışma sonlandırılmıştır.

### **3.10. Sakrifikasyon Yöntemi**

Çalışma sonlandırılacağı gün biyokimyasal analizlerde kullanmak üzere kalbin punksiyonu ile intrakardiyak kan alımı yapıldı. İntraperitoneal sodyum pentobarbiton (40 mg /kg) enjeksiyonu ile ratlar sakrifiye edildi (Bayram ve ark., 2011). Alınan kan örnekleri santrifüj edildi ve çalışmada yapılacak olan biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -80° C'de saklandı. Patolojik analizler için kesi alanından insizyon hattını ortalayacak şekilde yaklaşık 1x1 cm'lik tam kat alınan doku örnekleri serum fizyoloji ile yıkanarak %10'luk tamponlu formaldehitte fikse edildi ve alkol serilerinden geçirilerek parafin bloklama işlemi yapıldı.

### **3.11. İncelenecek Parametreler**

İncelenecek parametreler arasında histopatolojik olarak dokuda enflamasyon, proliferasyon (fibroblast sayısı, kollajen miktarı), anjiogenez ve epitelizasyon değerleri ele alındı. Biyokimyasal testlerden; alınan kan numuneleri santrifüj edilerek serumda Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Alkalen fosfataz (ALP), Total Protein, Kreatinin kinaz (CK), Yüksek yoğunluklu lipoprotein HDL, Kreatinin,

Kolesterol, Trigliserid, Glikoz parametreleri otoanalizör cihazında (Biosistem A25, İspanya) spektrofotometrik olarak ölçüldü. Dokuda büyüme faktörleri için ELISA hazır kitler kullanıldı.

### **3.11.1. Histopatolojik İnceleme**

Yaralı alandan alınan doku örnekleri histolojik yöntemler kullanılarak takip edildi. %10'luk tamponlu formaldehit içinde fikse edildikten sonra, dokudaki suyu uzaklaştırmak amacıyla sıra ile %70, %90, %96, %100 alkol serilerinden geçirildi ve saydamlaştırma işlemi toluol ile yapıldı. Dokuların kesite hazırlanması için etüvde sıvı parafinde bekletildi sonra parafin blok içine gömüldü. Mikrotom ile 4 mikronluk seri kesitler alındı. Alınan kesitler 37<sup>0</sup>C'de bir gece bekletilerek dokuların lamlara yapışmaları sağlandı. Kesitler boyandı. Kesitler araştırma mikroskobunda inflamasyon, damar proliferasyonu, fibrozis ve yüzeyin kapanması parametreleri yönünden incelenerek kamerada fotoğraflandı.

### **3.11.2. Biyokimyasal İnceleme**

Çalışma sonunda ALP, AST, ALT, Kolesterol, HDL, Trigliserid, Kreatinin, Total Protein, Kreatinin kinaz ve Glikoz düzeyleri ölçümü yapılmıştır. Kalpten alınan kan örneklerinden santrifüj edilerek elde edilen serumda, biyokimya testleri çalışıldı.

### **3.11.3. Deri Materyalinin ELISA Analizleri İçin Hazırlanması**

Çalışmamızda SunRed Rat PlateletDerived Growth factor (PDGF, EGF, VEGF, FGF) düzeylerinin ölçümlerinde ELISA hazır kitleri kullanılmıştır.

### **Numunelerin hazırlanması ve ekstraksiyon**

Doku kültür örnekleri fosfat tamponunda çözdürülerek süpernatant kısmı alınmak üzere santrifüj edildi. Fosfat tamponu hazırlamak için; 2.898 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 8.1 gr NaCl, 0.192 gr NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartılarak bir miktar saf suda çözdürüldü. Manyetik karıştırıcıda çözününceye kadar karıştırıldı. Daha sonra 1000ml'ye tamamlanarak pH 7,4 'e ayarlandı. Dokular tek tek tartılarak ağırlıklarının 10 katı kadar fosfat tamponu ile muamele edilip homojenizatör ile dokuların parçalanması sağlandı. 3000 rpm 10 dk santrifüj edilen numunelerin süpernatant kısmı alınarak ELISA kit prosedürleri kullanımına hazır hale getirildi.

### **Test prosedürü**

Tetkikler ticari kitin önerdiği prosedüre uygun şekilde yapıldı. Öncelikle bütün ticari kit içeriği teste başlamadan 1 saat önce oda sıcaklığında (yaklaşık 24<sup>0</sup> C) tutuldu. Bu süre sonunda derin dondurucudan alınarak oda ısısına getirilmiş olan ependorf tüplerindeki supernatantlar alınıp, poşetinden çıkartılan ve işaretlenen mikropleytin her bir kuyucuğuna bir örnek olacak şekilde 40 µl duplicate olarak konuldu. Standart dilüsyon hazırlamak için 5 deney tüpüne 120 µl standart diluent ve 120 µl orijinal standart 5. Tüpe konarak diğer tüplerde dilue edilerek kullanıldı. Her kitin standart solüsyonu farklı olup test içeriğine göre dilüsyonları hazırlandı.

Pleytin boş kuyusuna (blank well) inkübasyondan önce boş bırakıldı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart ve Streptavidin-HRP 50 µl eklendi. Test kuyucuklarına ise 40 µl numune, 10 µl Biotin ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi.

Test pleytinin kapağı kapatılarak inkübatörde 1 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresi sonunda prosedürde önerildiği şekilde hazırlanan yıkama solüsyonu her kuyucuğa eşit miktarda ilave edilerek 5 kez yıkama yapıldı. Her bir yıkama aşamasında hafifçe çalkalanan pleyt içeriği boşaltıldı. Daha sonra pleyt bir kâğıt havlu üzerine ters çevrilerek bağlanmayan test materyalinin ortamdan uzaklaştırılması sağlandı.

Ardından, kromojen solüsyonu A ve B her bir göze 50µl ilave edildi. Test pleyti, karanlık ortamda 10 dakika süre ile tekrar inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresi sonunda, her bir göze 50µl stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyonun durdurulması sağlandı. ELISA okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda elde edilen OD değerleri kit prosedüründe bulunan formüle göre değerlendirilerek sonuçlar yorumlandı.

### **3.12. İstatistiksel Yöntem**

Çalışmanın istatistiksel analizleri R 3.1.2. paket programında yapılmıştır.

Çalışmada yer alan nicel değişkenlere ait tanımlayıcı ölçüler medyan, minimum ve maksimum değerleriyle gösterilmiştir. Değişkenlerin normal dağılımına uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Değişkenlerin 5 grup arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. İkili alt grup karşılaştırmalarında Bonferonni Düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Çalışmadaki tüm istatistiksel analizlerde  $p < 0,05$ 'in altındaki sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.



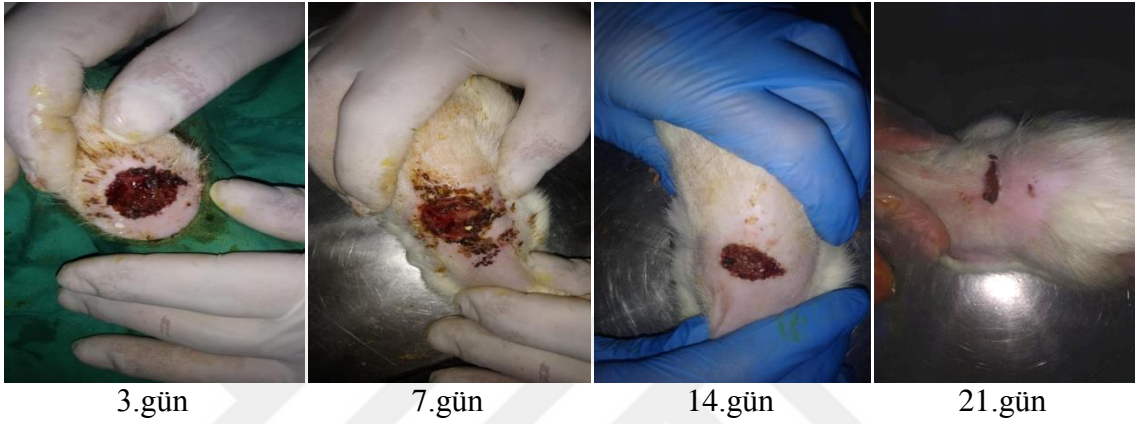
ELISA testleri için üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilirken, kategorik değişkenler sayı olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Tek yönlü Varyans analizi yapılmıştır. Varyans analizini takiben farklı grupları belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Gruplar ile Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede ise Kruskal Wallis testi yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.



## 4. BULGULAR

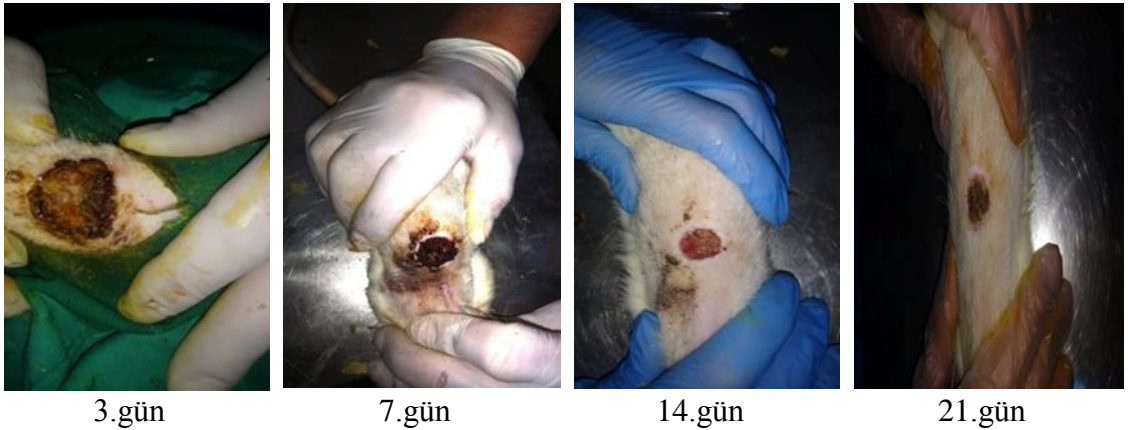
### 4.1. Klinik Gözlem:

Deneysel olarak yara oluşumunu takiben 48 saat sonrası tedavi başlatıldı. Uygulama 21 gün boyunca gūnaşırı tekrarlandı. Bu süreçte belirli aralıklarla ratların yara yüzeyindeki klinik değişimler fotoğraflarak gözlemlendi. Dięer taraftan ağırlık ölçümleri yapıldı.



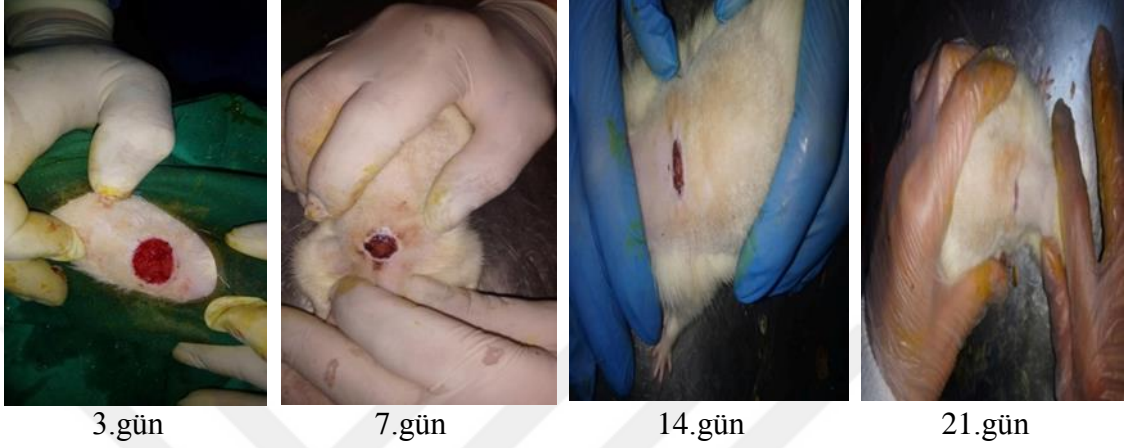
**Şekil 8a.** Birinci deney (propolis) grubunun yara bölgesinin, 3. 7. 14. ve 21.günlerdeki klinik gözlemler

Propolis merhemi uygulanan ratların kan-glikoz ölçümleri ilk günler 335- 480 mg/dl arasında ölçüldü. Yine aynı grup ratların vücut ağırlıkları başlangıçta 380-500 g iken 21. gün sonunda 300-400g'a kadar düştüğü gözlemlendi. Yara yüzeylerinde bazı ratlarda ödem gözlemlendi. Yarada kabuk dokusu oluşumu ve kabuk altı iyileşme olduğu gözlemlendi ve subakut yangı fark edildi.



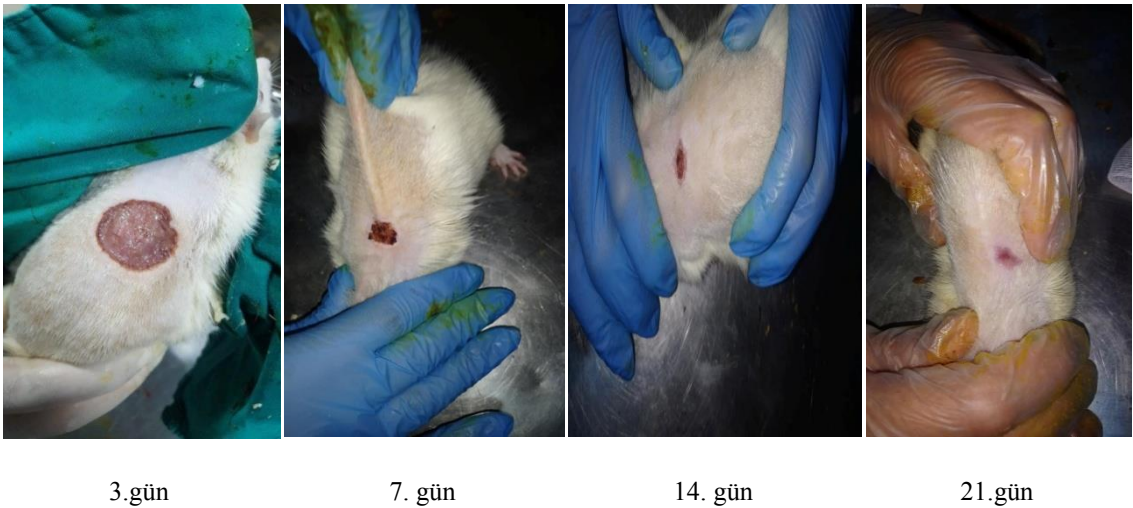
**Şekil 8b.** İkinci deney ( Propolis+bal) grubunun yara bölgesinin, 3. 7. 14. ve 21.günlerdeki klinik gözlemler

İkinci grup ratların kan-glikoz ölçümleri Stz enjeksiyonu ardından 322-534 mg/dl arasında değiştiği gözlemlendi. Aynı grup ratların vücut ağırlıkları başlangıçta 394-500g iken 21. gün sonunda 300-375g'a kadar azaldığı gözlemlendi. 7. gün sonrası yaradaki kabuk dokusu kaldırıldıktan sonra iyileşmenin arttığı gözlemlendi.



**Şekil 8c.** Üçüncü deney (madecassol) grubunun yara bölgesinin, 3. 7. 14. ve 21.günlerdeki klinik gözlem

Üçüncü uygulama grubundaki ratların kan-glikoz değerleri 390-590 mg/dl arasındaydı. Aynı grup hayvanların vücut ağırlıkları başlangıçta 354-490g iken 21. gün sonunda 300-320g'a kadar azaldığı gözlemlendi. Bu grupta yara iyileşmesinin dış bakışta daha iyi ve daha hızlı olduğu gözlemlendi. Yangının düşük düzeyde olduğu fark edildi.



**Şekil 8d.** Dördüncü deney (vazelin) grubunun yara bölgesinin, 3. 7. 14. ve 21. günlerdeki klinik gözlem

Yaraya vazelin merhemi uygulanan IV. gruptaki ratların kan-glikoz ölçümleri 260-425mg/dl arasında değiştiği gözlemlendi. Aynı grup üyelerin vücut ağırlıkları başlangıçta 380-490g iken 21. gün sonunda 290-390 g'a kadar azaldığı gözlemlendi. Yara iyileşmesinin dış bakışında daha hızlı olduğu gözlemlendi. Yangı minimal düzeyde olduğu fark edildi.



7. gün

14. gün

21. gün

**Şekil 8e.** Beşinci deney (serum fizyolojik) grubunun yara bölgesinin, 3. 7. 14. ve 21. günlerdeki klinik gözlem

Serum fizyolojik uygulanan V. grup ratların vücut ağırlıkları başlangıçta 250-425g iken 21. gün sonunda vücut ağırlıklarında değişiklik gözlemlenmedi. DM'siz sağlıklı grupta yara yüzeyinde herhangi bir topikal ajan kullanılmamasına rağmen yara iyileşmesi ve kıllanmanın gruplar içinde hızlı şekilde olduğu gözlemlenmiştir. Yarada enfeksiyon ve ödem oluşumu dikkati çekmemiştir. Yangı skoru çok düşük, iyileşme tamdır.

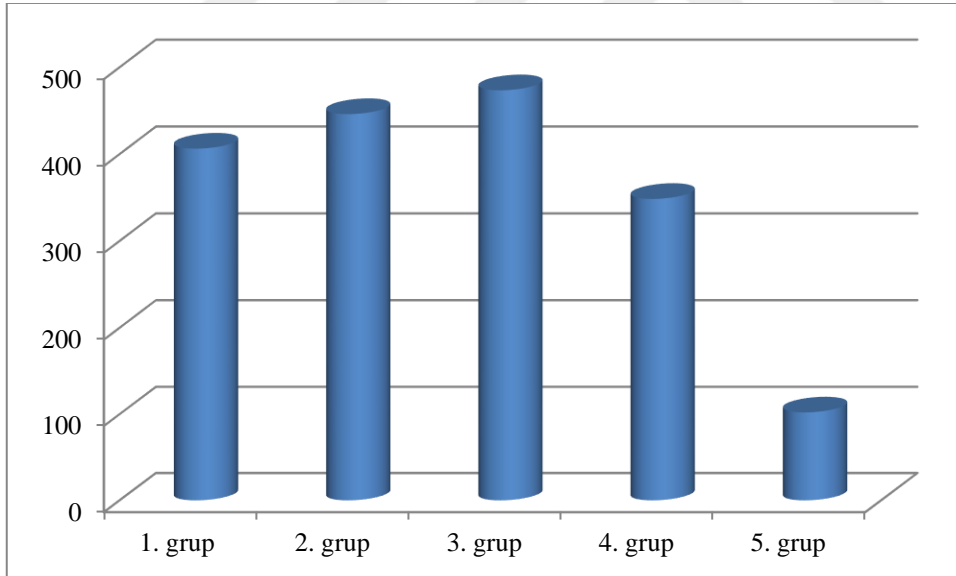
Çalışma süresince kilo kaybı, diyabet, yarada ödem ve enfeksiyon nedeniyle propolis grubunda n=8, propolis+bal grubu n=7, madecassol n=7, vazelin grubu n=6, SF grubu n=6 rat sayıları ile çalışma sonlandırılmıştır.

## 4.2. Biyokimyasal Test Analizleri

### 4.2.1. STZ Uygulama Sonrası Glikoz Düzeyinin Ölçümleri

Ratların diyabet olup olmadığını kontrol etmek amacıyla STZ uygulamasının 3. günü kuyruk venalarından lanset yardımıyla kanları alınarak Roche, Accu Check Glukometre cihazı ve stripleriyle kan glikoz ölçümleri yapılmıştır.

- I. Grup (propolis) glikoz ölçümleri: 400, 335, 400, 440, 455, 399, 400, 480, 400, 354.
- II. Grup (propolis+bal)grup glikoz ölçümleri: 534, 400,575, 500, 410, 500, 400, 400, 322, 420.
- III. Grup (madecassol) grup glikoz ölçümleri: 500, 591, 475, 452, 394, 500, 421, 450, 479.
- IV. Grup (vazelin) glikoz ölçümleri: 425, 250, 302, 368, 416, 349, 411, 264, 351.
- V. Grup (SF) glikoz ölçümleri:120, 105, 110, 98, 90, 87, 100, 105, 104.



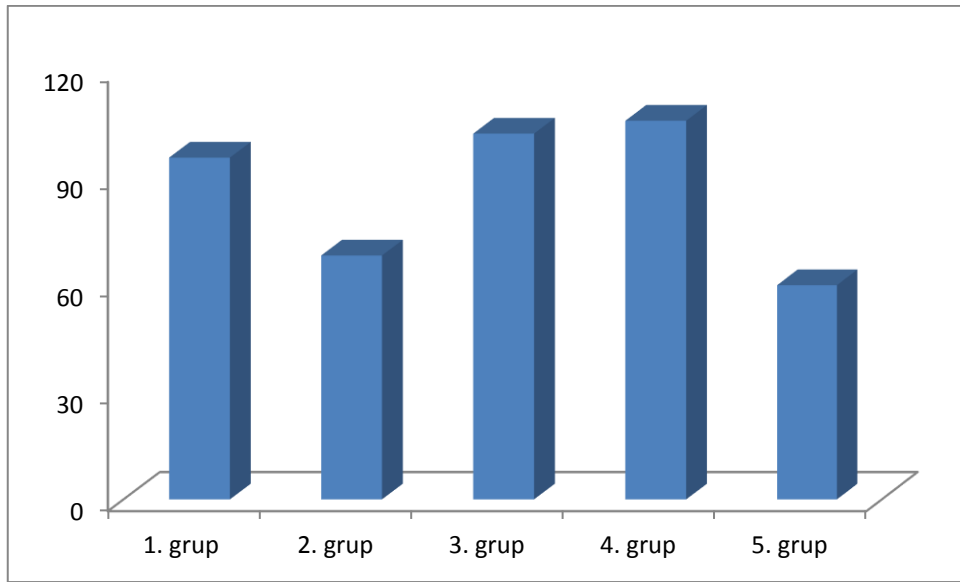
**Şekil 9.** Tüm gruplarda 3. gün glikoz ölçümlerinin karşılaştırılması

Tablodan yola çıkarak DM gruplarını oluşturan bütün ratların kan şeker düzeyleri >200 mg/dL olarak ölçülmüştür. DM olmayan V. deney grubunda glikoz 87-120 mg/dL aralığında değişmektedir.

STZ uygulamasından sonra diyabetik olan ratlarda çalışma süresince polidipsi, poliüri, polifaji, ağırlık kaybı gözlenmiştir. Diyabetli hayvanlarda gözlenen bu bulgular diyabetin klinik bulgularıyla uyumludur.

#### 4.2.2. Kolesterol (T-CHO) (mg/dL) Düzeylerinin Ölçümleri

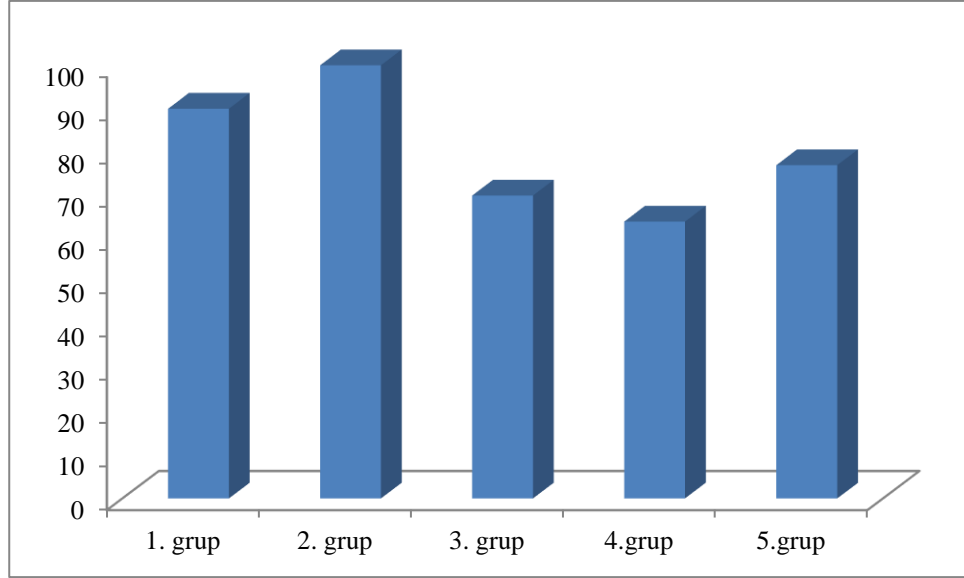
Kolesterol ölçümünde serum fizyolojik grubu kolesterol değerleri diğer gruplara göre daha düşük sonuçlanmıştır. Serum kolesterol değeri normal aralığı 50-120 mg/dL'dir. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $95,6 \pm 31,3$  mg/dL ikinci grupta  $68,3 \pm 18,5$  mg/dL üçüncü grupta  $102,3 \pm 27,4$  mg/dL dördüncü grupta  $105,9 \pm 19,7$  mg/dL beşinci grupta  $60,0 \pm 3,7$  mg/dL olarak ölçülmüştür.



Şekil 10. Tüm gruplarda kolesterol ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.3. Kreatinin Kinaz (CK) (U/L) düzeylerinin ölçümleri

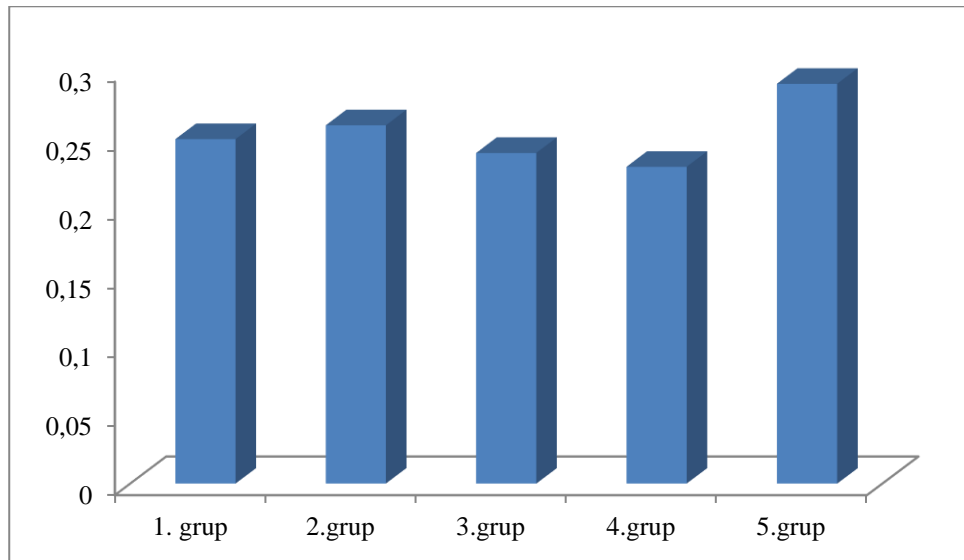
Kreatinin kinaz (CK) ölçümünde gruplar arasında değişkenlik gösteren olmamıştır. Doku bütünlüğünün bozulmasına eşlik eden yara modellerinde CK'nın yüksek olması muhtemeldir. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $90,29 \pm 44,5$  U/L ikinci grupta  $107,41 \pm 95,8$  U/L üçüncü grupta  $70,66 \pm 39,1$  U/L dördüncü grupta  $64,80 \pm 33,9$  U/L beşinci grupta  $77,58 \pm 38,9$  U/L olarak ölçülmüştür.



Şekil 11. Tüm gruplarda kreatinin kinaz ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.4. Kreatinin (CRE) (mg/dL) Düzeylerinin Ölçümleri

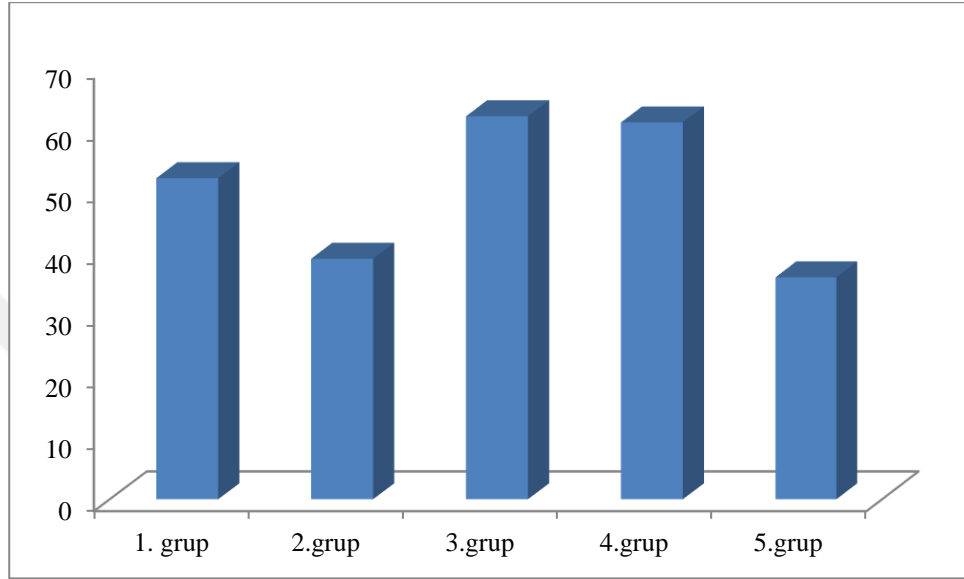
Kreatinin ölçümünde gruplar arasında değişkenlik izlenmemiştir. Çalışmamızda tüm gruplarda 0,2 ile 0,38 mg/dL değerler arasında bulundu. Gruplar kıyaslandığında kreatinin değerleri arasında önemli bir fark olmamıştır. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $0,25 \pm 0,05$  mg/dL, ikinci grupta  $0,26 \pm 0,07$  mg/dL üçüncü grupta  $0,24 \pm 0,07$  mg/dL, dördüncü grupta  $0,23 \pm 0,03$  mg/dL, beşinci grupta  $0,29 \pm 0,02$  mg/dl olarak ölçülmüştür.



Şekil 12. Tüm gruplarda kreatinin ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)(mg/dl) Düzeylerinin Ölçümleri

Çalışmamızda tüm gruplarda HDL ölçümleri 23-97 mg/dL olarak değişmektedir. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $52,4 \pm 13,6$  mg/dL ikinci grupta  $39,9 \pm 16,0$  mg/dL, üçüncü grupta  $62,0 \pm 17,2$  mg/dL, dördüncü grupta  $61,3 \pm 8,7$  mg/dL, beşinci grupta  $36,2 \pm 1,7$  mg/dL olarak ölçülmüştür.

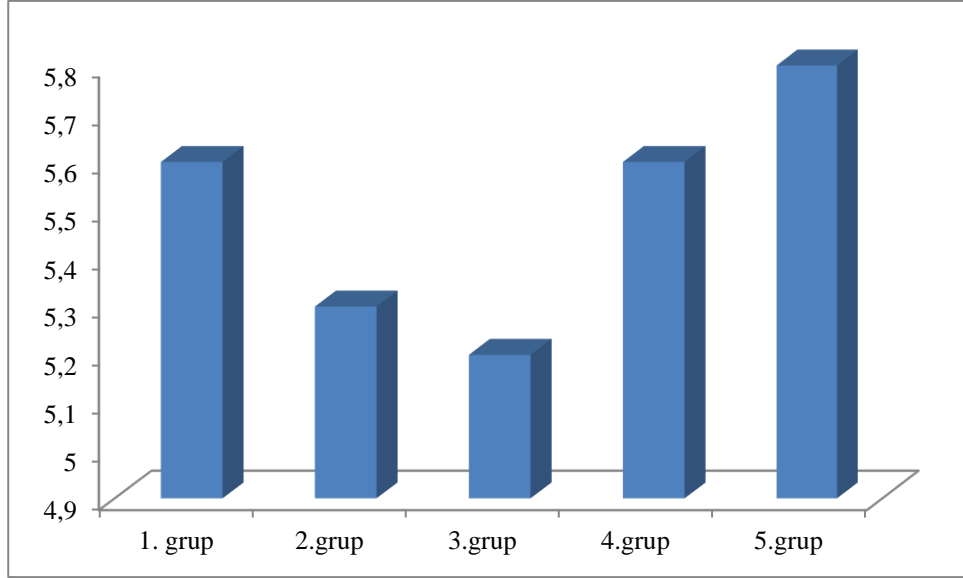


Şekil 13. Tüm gruplarda HDL ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.6. Total Protein (TP) (g/dl) Düzeylerinin Ölçümleri

Total protein(TP) ölçümünde gruplar arasında değişkenlik gösteren olmamıştır. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $5,69 \pm 0,4$  g/dL, ikinci grupta  $5,32 \pm 0,3$  g/dL, üçüncü grupta  $5,26 \pm 0,4$  g/dL, dördüncü grupta  $5,60 \pm 0,2$  g/dL, beşinci grupta  $5,80 \pm 0,3$  g/dL olarak ölçüldü.

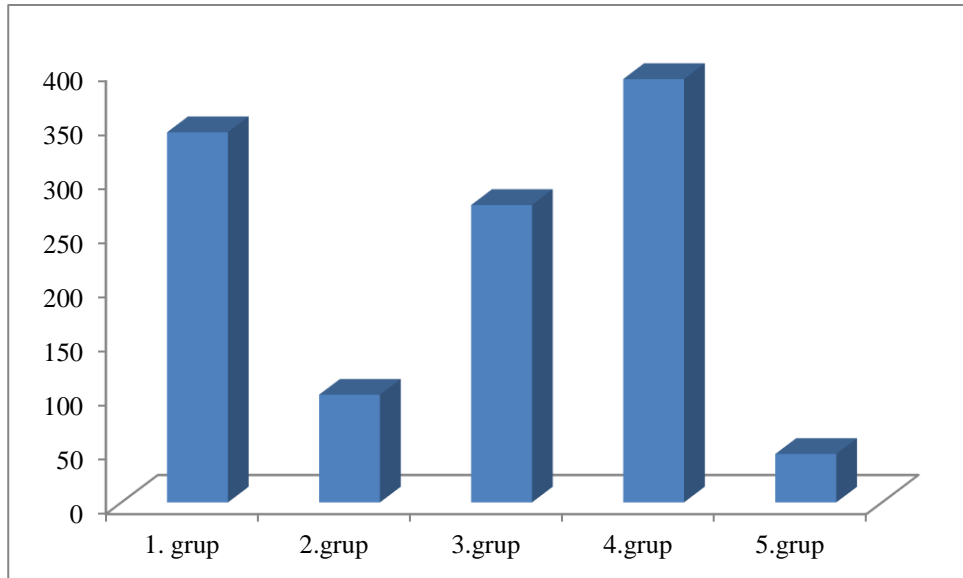




Şekil 14. Tüm gruplarda total protein ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.7. Trigliserid (TG)(mg/dL) Düzeylerinin Ölçümleri

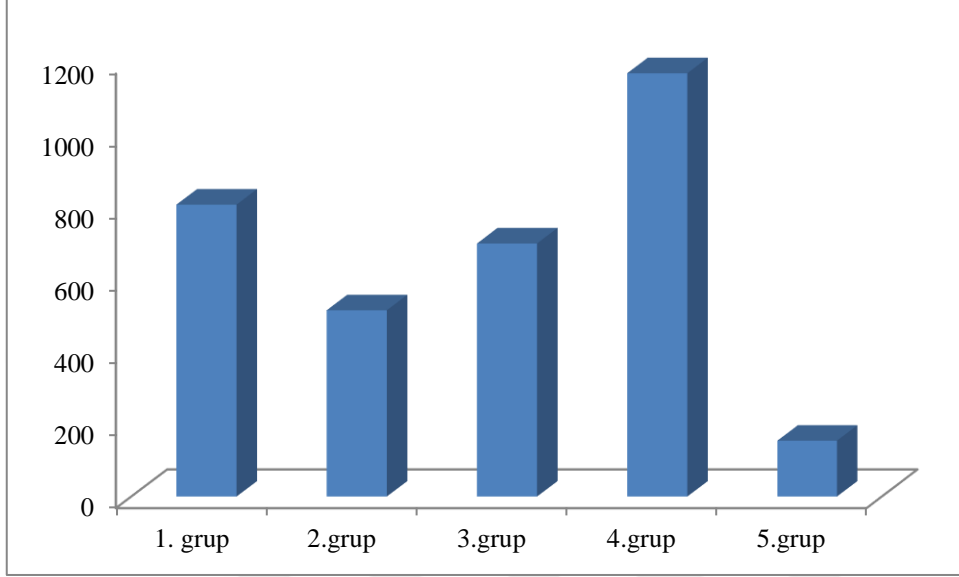
Trigliserid ölçümünde gruplar arasında değişkenlik gösteren V. grup düşük değerlerde sonuçlanmıştır. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $342,4 \pm 31,3$  mg/dL, ikinci grupta  $100,7 \pm 9,6$  mg/dL, üçüncü grupta  $275,1 \pm 24,4$  mg/dL, dördüncü grupta  $391,7 \pm 161,8$  mg/dL, beşinci grupta  $45,5 \pm 10,0$  mg/dL olarak ölçülmüştür.



Şekil 15. Tüm gruplarda trigliserid ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.8. Alkalen fosfataz (ALP) (IU/L) Düzeylerinin Ölçümleri

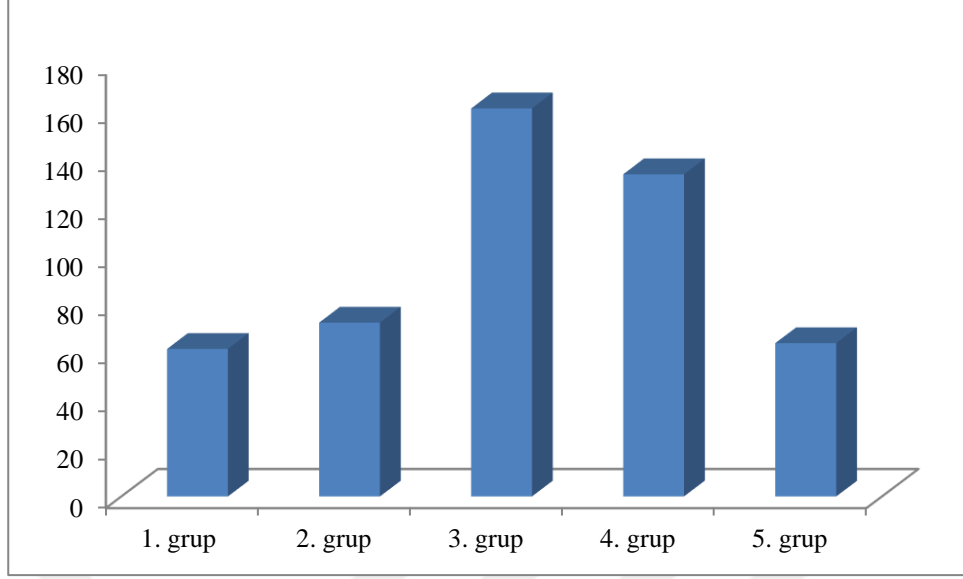
Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $807,4 \pm 550,1$  IU/L, ikinci grupta  $516,7 \pm 364$  IU/L, üçüncü grupta  $700,4 \pm 502,6$  IU/L, dördüncü grupta  $1169,2 \pm 551,3$  IU/L, beşinci grupta  $155,3 \pm 12,5$  IU/L olarak ölçülmüştür.



Şekil 16. Tüm gruplarda ALP ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.9. Alanin aminotransferaz (ALT) (IU/L) Düzeylerinin Ölçümleri

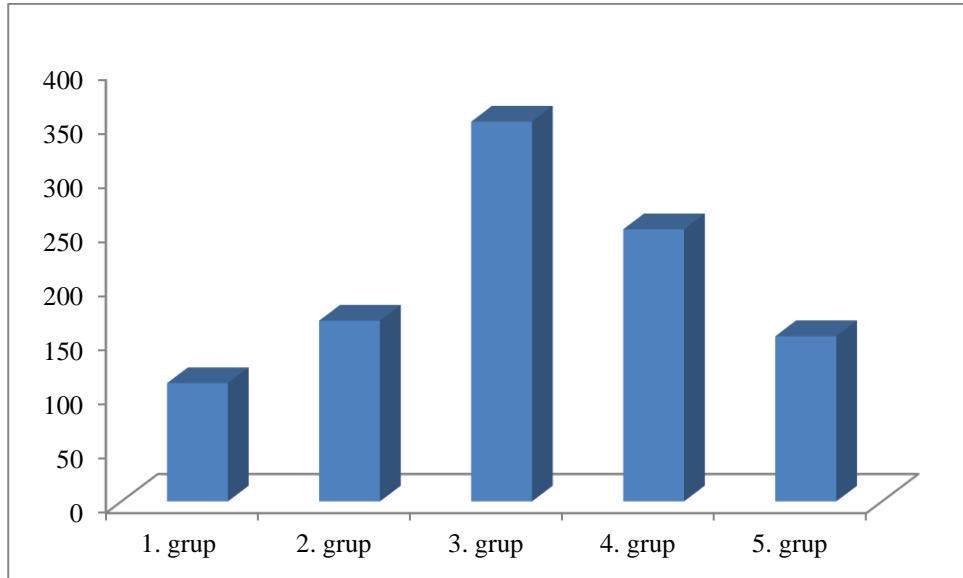
Alanin amino tranferaz (ALT) ölçümünde gruplar arasında değişkenlik gösteren grup yoktur. Gruplarda ortalama değerler; birinci grupta  $61,6 \pm 31,4$  IU/L ikinci grupta  $72,5 \pm 45,1$  IU/L üçüncü grupta  $161,3 \pm 22,9$  IU/L dördüncü grupta  $134,0 \pm 78,5$  IU/L beşinci grupta  $64,0 \pm 18,7$  IU/L olarak ölçülmüştür.



Şekil 17. Tüm gruplarda ALT ölçümlerinin karşılaştırılması

#### 4.2.10. Aspartat Aminotransferaz (AST) (IU/L) Düzeylerinin Ölçümleri

Aspartat Aminotransferaz ölçümünde gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmadı. Çalışmamızda ortalama değerler; birinci grupta  $109,8 \pm 45,4$  IU/L, ikinci grupta  $167,5 \pm 85,8$  IU/L üçüncü grupta  $350,9 \pm 51,6$  IU/L, dördüncü grupta  $251,7 \pm 180,9$  IU/L, beşinci grupta  $153,2 \pm 59,5$  IU/L olarak ölçüldü.



Şekil 18. Tüm gruplarda AST ölçümlerinin karşılaştırılması

**Tablo 4.** Kan serum düzeylerinde biyokimyasal testlerin ortalama değerleri. Ortalama  $\pm$  Std. Sapma. a,b: aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Parametre	Grup-1	Grup-2	Grup-3	Grup-4	Grup-5
ALP (IU/L)	807,4 $\pm$ 550,1 <sup>a</sup>	516,7 $\pm$ 364,0 <sup>a</sup>	700,4 $\pm$ 502,6 <sup>a</sup>	1169,2 $\pm$ 551,3 <sup>a</sup>	155,3 $\pm$ 12,5 <sup>b</sup>
ALT (IU/L)	61,6 $\pm$ 31,4	72,5 $\pm$ 45,1	161,3 $\pm$ 22,92	134,0 $\pm$ 78,5	64,0 $\pm$ 18,7
AST (IU/L)	109,8 $\pm$ 45,4	167,5 $\pm$ 85,8	350,9 $\pm$ 51,6	251,7 $\pm$ 180,9	153,2 $\pm$ 59,5
T-CHO (mg/dL)	95,6 $\pm$ 31,3 <sup>a</sup>	68,3 $\pm$ 18,5 <sup>a</sup>	102,3 $\pm$ 27,4 <sup>a</sup>	105,9 $\pm$ 19,7 <sup>a</sup>	60,0 $\pm$ 3,7 <sup>b</sup>
CK (IU/L)	90,29 $\pm$ 44,5	107,41 $\pm$ 95,8	70,6 $\pm$ 39,1	64,80 $\pm$ 33,9	77,58 $\pm$ 38,9
CRE(mg/dL)	0,255 $\pm$ 0,05	0,261 $\pm$ 0,07	0,240 $\pm$ 0,07	0,227 $\pm$ 0,03	0,295 $\pm$ 0,02
HDL(mg/dL)	52,4 $\pm$ 13,6 <sup>a</sup>	39,9 $\pm$ 16,0 <sup>a</sup>	62,0 $\pm$ 17,2 <sup>a</sup>	61,3 $\pm$ 8,7 <sup>a</sup>	36,2 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>
TP (g/dL)	56,9 $\pm$ 3,9	53,2 $\pm$ 3,3	52,6 $\pm$ 3,7	56,0 $\pm$ 2,3	58,0 $\pm$ 2,6
TG (mg/dL)	342,4 $\pm$ 313,2 <sup>a</sup>	100,7 $\pm$ 96,3 <sup>a</sup>	275,1 $\pm$ 24,4 <sup>a</sup>	391,7 $\pm$ 161,8 <sup>a</sup>	45,5 $\pm$ 10,0 <sup>b</sup>

1. Gruplar arasında ALP bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. V. grup ile IV grup arasında anlamlı derecede farklılık gözlemlendi. ( $p < 0,05$ ).
2. Gruplar arasında Alanin aminotransferaz bakımından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık görülmemektedir ( $p > 0,05$ ).
3. Gruplar arasında Aspartat aminotransferaz bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ( $p > 0,05$ ).
4. Gruplar arasında kolesterol bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup V ile III ve IV gruplar arasında istatistiksel olarak fark anlamlıdır ( $p < 0,05$ ).
5. Gruplar arasında CK bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ( $p > 0,05$ ).
6. Gruplar arasında kreatinin bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ( $p > 0,05$ ).
7. Gruplar arasında HDL bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. V. grup ile IV ve III grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ( $p < 0,05$ ).
8. Gruplar arasında Total protein bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ).

9. Gruplar arasında TG bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. V. grup, IV. ve I. grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ( $p<0,05$ ).

#### 4.3. ELISA Analiz Sonuçları

Yara iyileşmesinin hücre düzeyinde izlemek amacıyla yara bölgesinden alınan deri örneklerinden hazırlanan süspansyonlarından ELISA yöntemi ile Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) ve Endotelial Büyüme Faktörü (EGF) konsantrasyon düzey analizleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar ayrı ayrı gruplarda ve bütün olarak 5.,6., 7., 8., 9., 10. tablolarda gösterilmiştir.

**Tablo 5.** I. deney grubuna ait ELISA analiz sonuçları

Parametre	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
EGF	8	631,5288	369,88926	239,52	1435,80
PDGF	8	316,9338	132,61460	184,24	611,91
FGF	8	861,2563	251,89235	503,91	1157,00
VEGF	8	979,5063	138,08748	833,50	1271,80

**Tablo 6.** II. deney grubuna ait ELISA analiz sonuçları

Parametre	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
EGF	7	309,91	142,31	145,08	578,06
PDGF	7	354,37	138,11	162,99	623,74
VGF	7	706,45	236,35	394,07	987,83
VEGF	7	1135,79	218,63	726,10	1449,10

**Tablo 7.** III. deney grubuna ait ELISA analiz sonuçları

Parametre	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
EGF	7	268,3220	144,51305	2,78	394,02
PDGF	7	297,8517	132,24028	130,39	532,08
FGF	7	529,6771	289,56520	111,72	879,80
VEGF	7	1057,2286	324,87476	797,85	1631,20

**Tablo 8.** IV. deney grubuna ait ELISA analiz sonuçları

Parametre	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
-----------	---	------	----------------	---------	---------

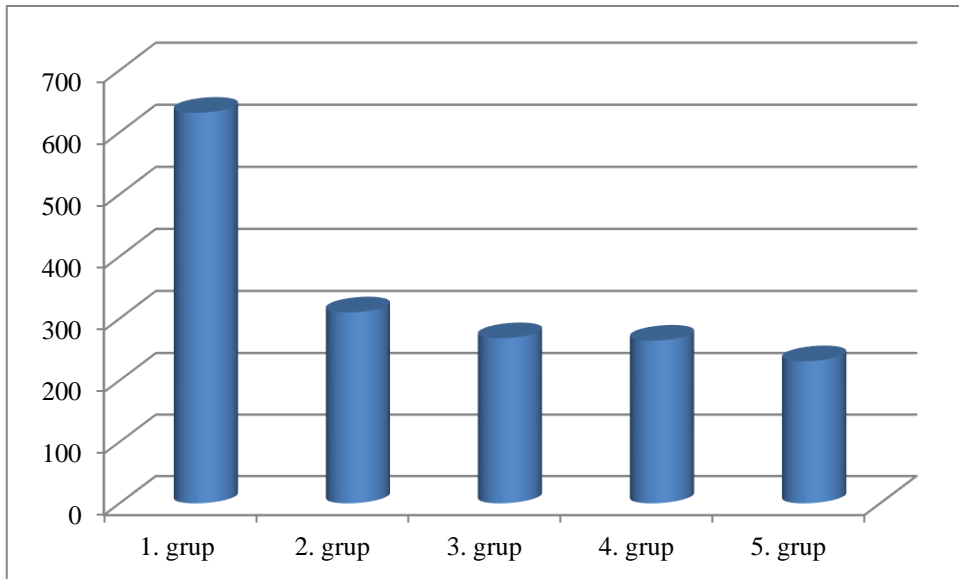
EGF	6	264,4160	60,54652	203,65	358,28
PDGF	6	420,6740	381,87201	140,97	1028,70
FGF	6	798,3500	410,46801	260,05	1310,30
VEGF	6	995,6400	122,94852	802,35	1130,35

**Tablo 9.** V. deney grubuna ait ELISA analiz sonuçları

Parametre	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
EGF	6	231,1467	133,56113	126,57	381,60
PDGF	6	253,5200	88,07773	147,39	369,83
FGF	6	647,0150	50,83466	604,03	712,20
VEGF	6	1337,8100	739,83354	607,10	2249,50

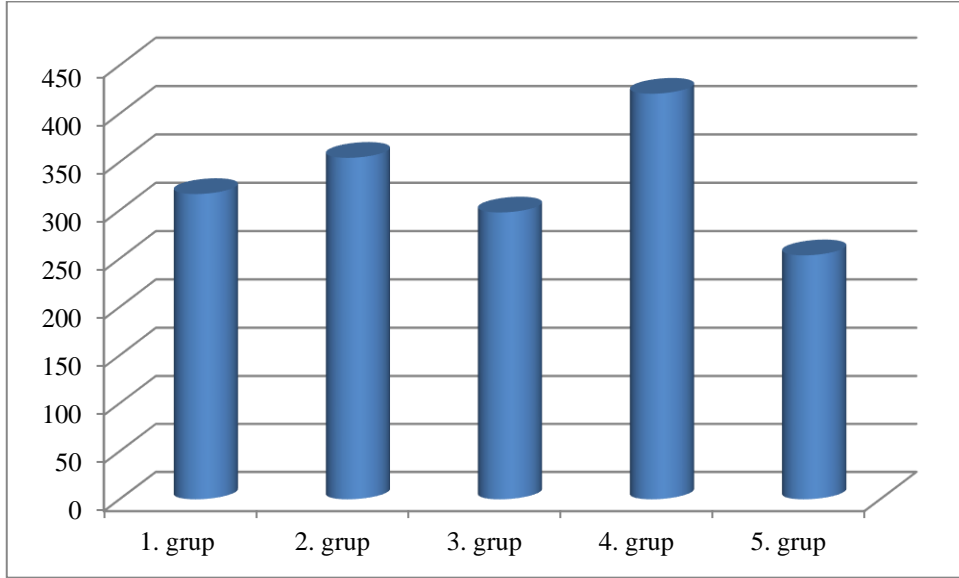
**Tablo 10.** Gruplar arası ortalama ELISA analiz sonuçları. a,b: aynı satırda farklı harfler istatistiksel farklılığı göstermektedir.

Parametre	Grup-1	Grup-2	Grup-3	Grup-4	Grup-5
EGF (pg/mL)	631,53 <sup>a</sup> ±76,6	309,91 <sup>b</sup> ±81,9	268,32 <sup>b</sup> ±81,8	264,42 <sup>b</sup> ±96,9	231,15 <sup>b</sup> ±125,1
PDGF (pg/mL)	316,93±69,7	354,37±74,5	297,85±74,5	420,67±88,1	253,52±98,5
FGF (pg/mL)	861,26±98,9	706,45±105,8	529,68±105,8	798,35±125,2	647,02±161,6
VEGF (pg/mL)	979,51±116,1	1135,79±124,1	1057,23±124,1	995,64±146,8	1337,81±164,1



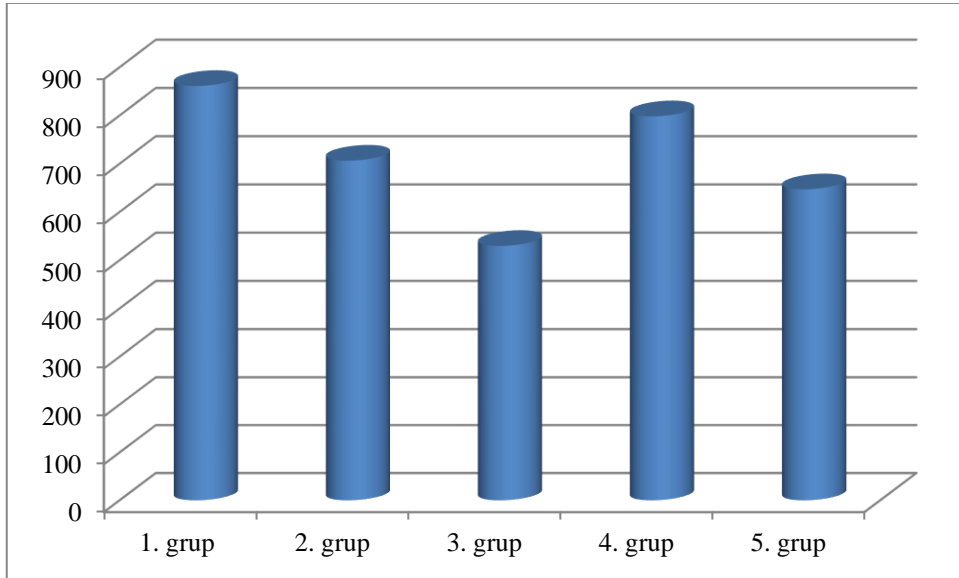
**Şekil 19.** Gruplar arası Epidermal Büyüme Faktörü (EGF ) analiz sonuçları

EGF parametresi açısından gruplar arasında önemli farklılık vardır ( $p < 0,05$ ) ve yapılan duncan testinde I. grup EGF ölçümleri diğer gruplardan istatistiki olarak fark gösterdiği tespit edildi.



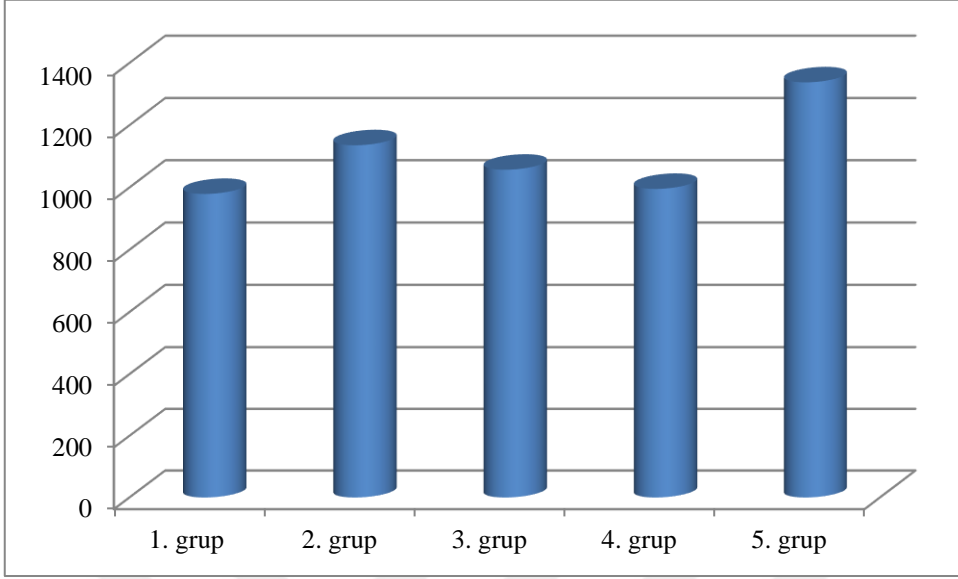
**Şekil 20.** Gruplar arası PDGF (Platelet kaynaklı büyüme faktörü) analiz sonuçları

PDGF parametresi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 21.** Gruplar arası FGF (Fibroblast büyüme faktörü) analiz sonuçları

FGF parametresi açısından gruplar arasında anlamlı farklılıklar yoktur ( $p>0,05$ ).



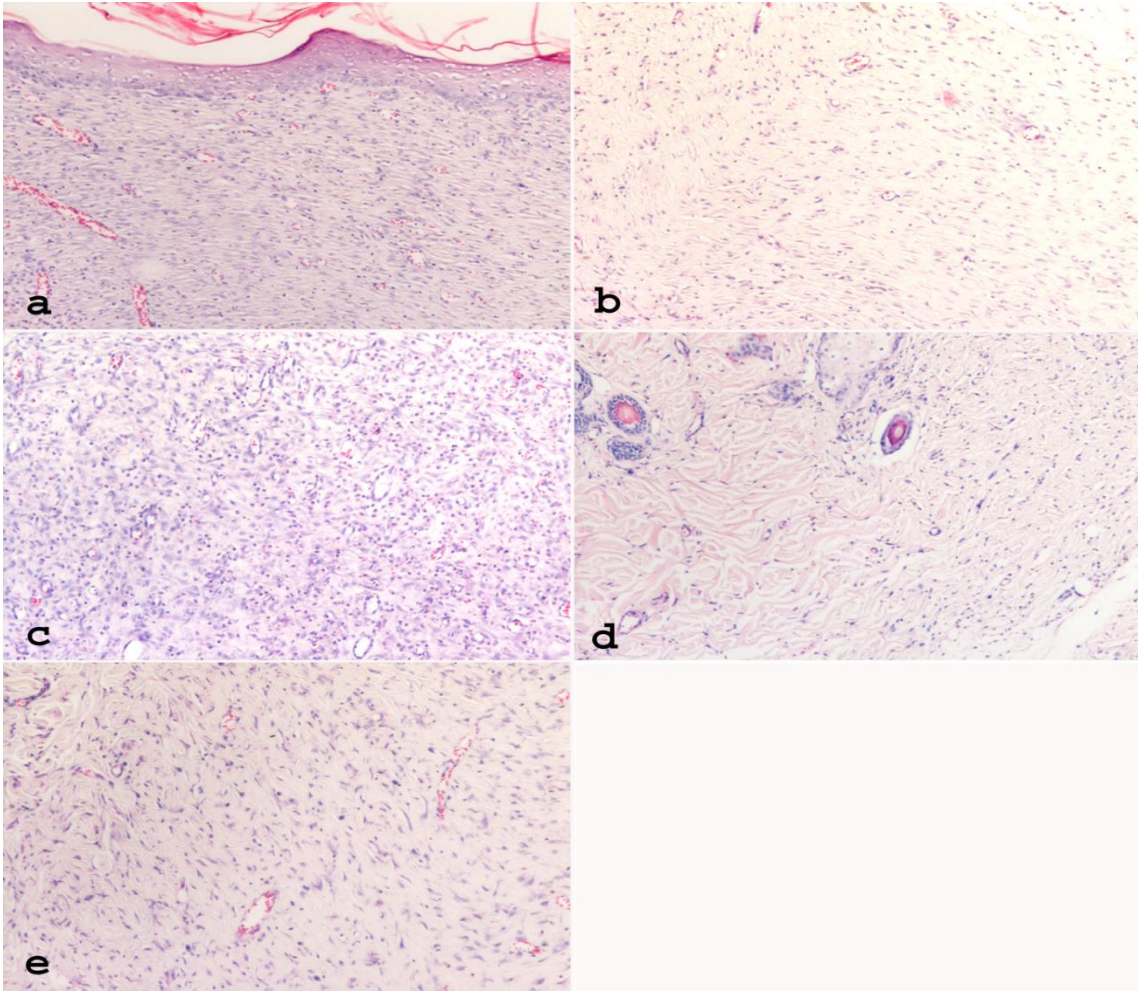
Şekil 22. Gruplar arası VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) analiz sonuçları

VEGF parametresi açısından gruplar arasında istatistiki farklılık yoktur ( $p>0,05$ ).

#### 4.4. Histolojik Bulgular

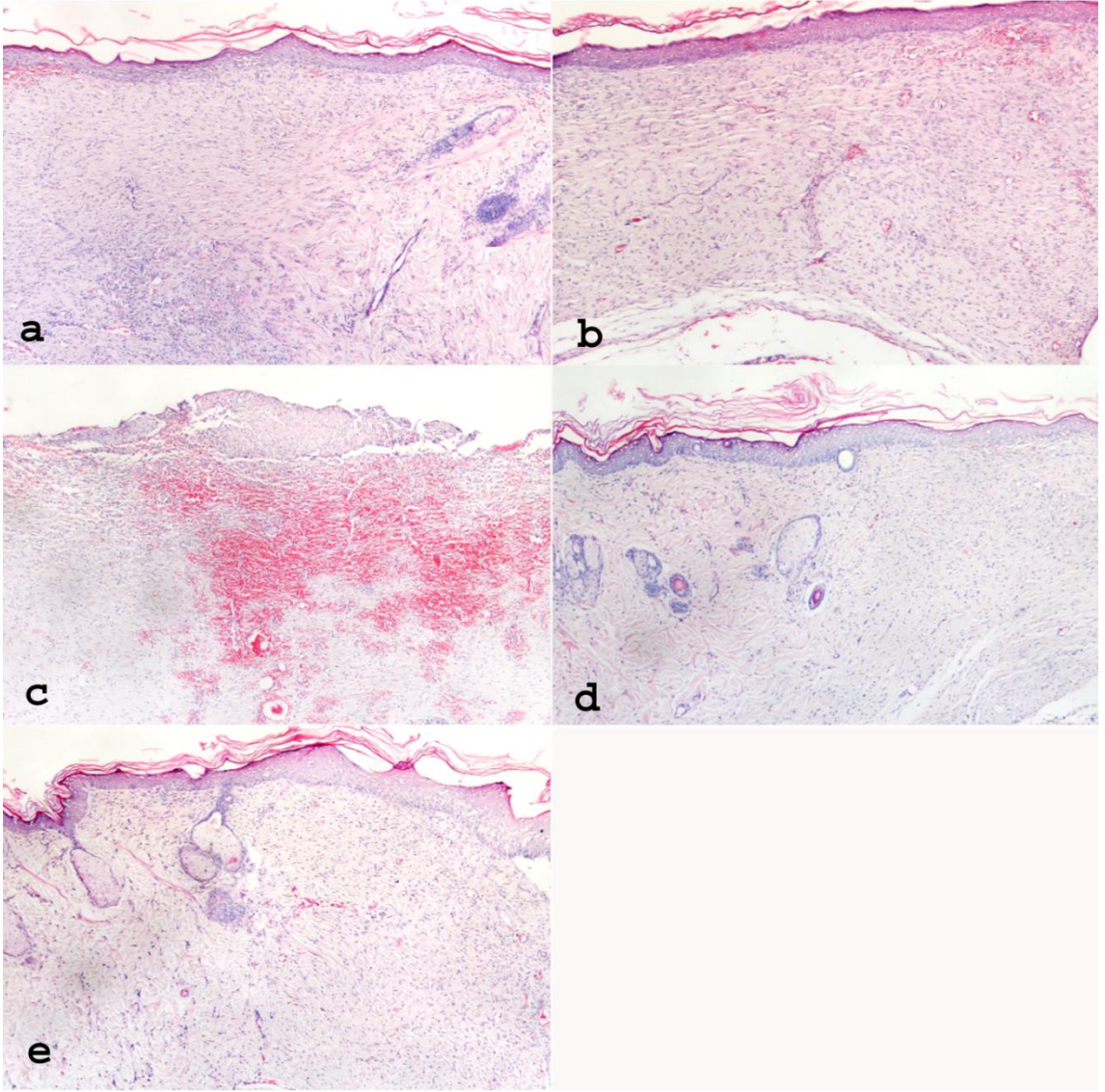
Gruplarda yara alanındaki damarlaşma, granül dokusu, kollajen yoğunluğu, yangısal hücreler ve epitelizasyon değerleri fotoğraflanarak karşılaştırıldı. Propolis grubunda epitelizasyonun diğer gruplara göre erken başladığı, kollajen yapımının da diğer gruplara kıyasla daha belirgin şekilde başladığı gözlemlendi. Granülasyonun tam kalınlıkta oluşması propolis grubunun diğer bir özelliğidir.





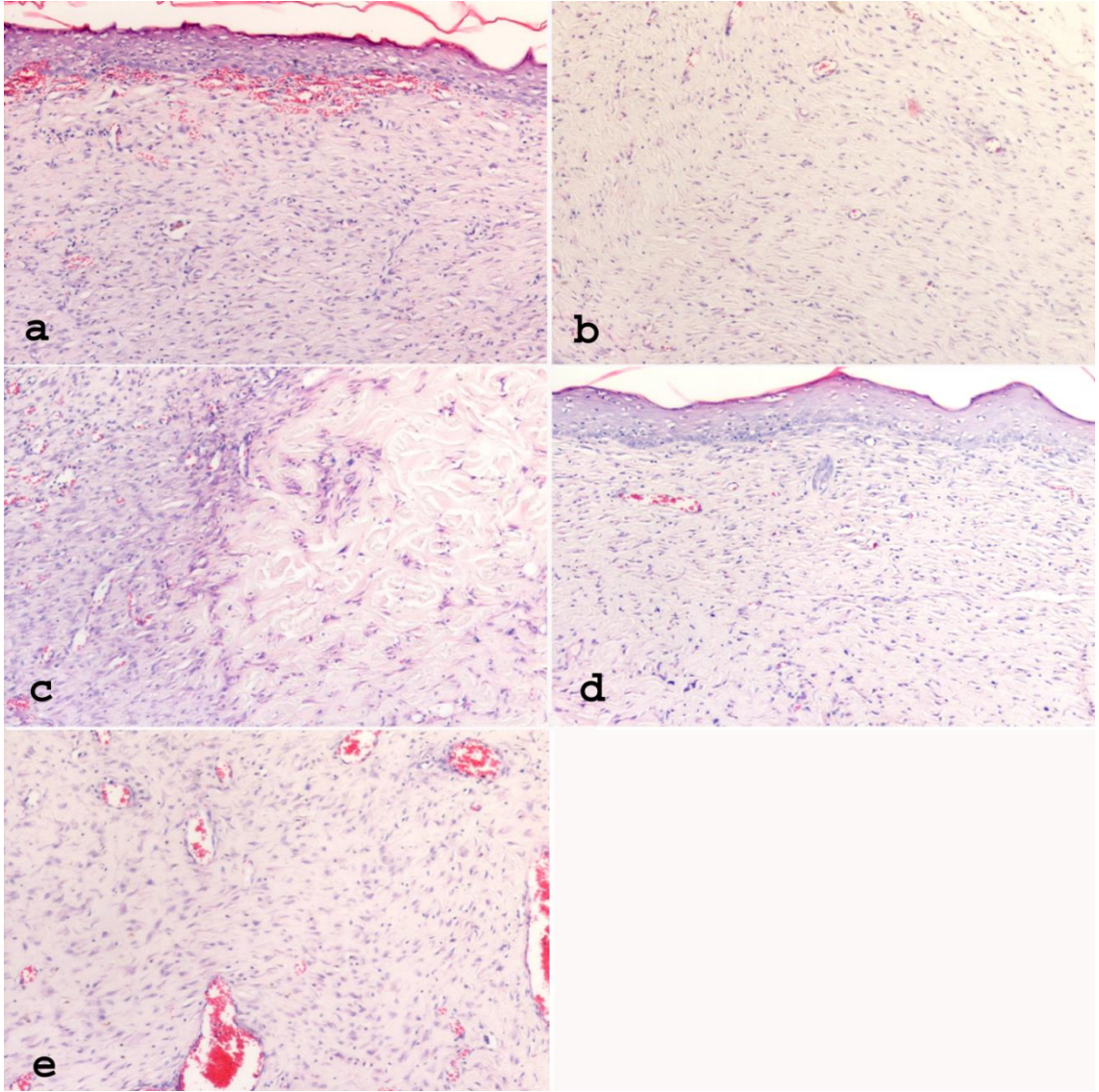
**Şekil 24.** Grupların damarlaşma yönünden histopatolojik olarak karşılaştırılması, **a:** propolis grubu **b:** propolis+bal grubu **c:** madecassol grubu **d:** vazelin grubu **e:** serum fizyolojik grubu.

Yeni damar oluşumu bakımından gruplar değerlendirildiğinde madecassol uygulanan grupta damarlaşmanın fazla olduğu (şekil c) vazelin uygulanan grupta ise damarlaşmanın az olduğu dikkati çekti (şekil d). Madecassol grubundan sonra damarlaşmanın fazla olduğu grup propolis grubu (şekil a) iken propolis+bal uygulanan grup (şekil b) ile serum fizyolojik (şekil e) uygulanan grupta belirgin farklılık gözlenmemiştir.



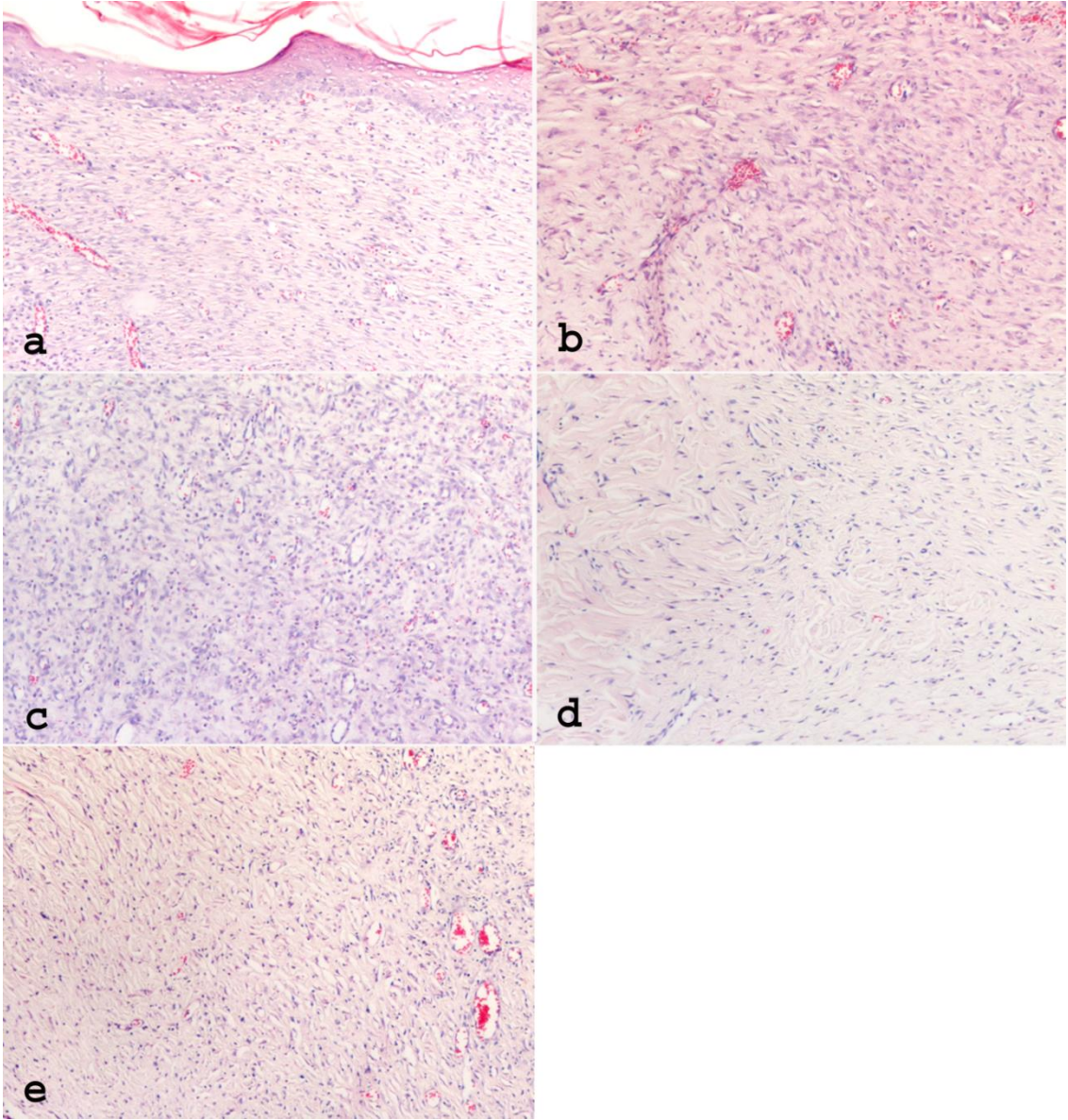
**Şekil 25.** Grupların epidermal rejenerasyon yönünden histopatolojik olarak karşılaştırılması, **a:** propolis grubu **b:** propolis+bal grubu **c:** madecassol grubu **d:** vazelin grubu **e:** serum fizyolojik grubu.

Yara iyileşmesinin önemli aşamalarından olan epidermal rejenerasyonun en iyi olduğu gruplar propolis (şekil a) ve vazelin grubu (şekil d) iken, epidermal rejenerasyonun şekillenmediği grup madecassol grubu (şekil c) olduğu dikkati çekti.



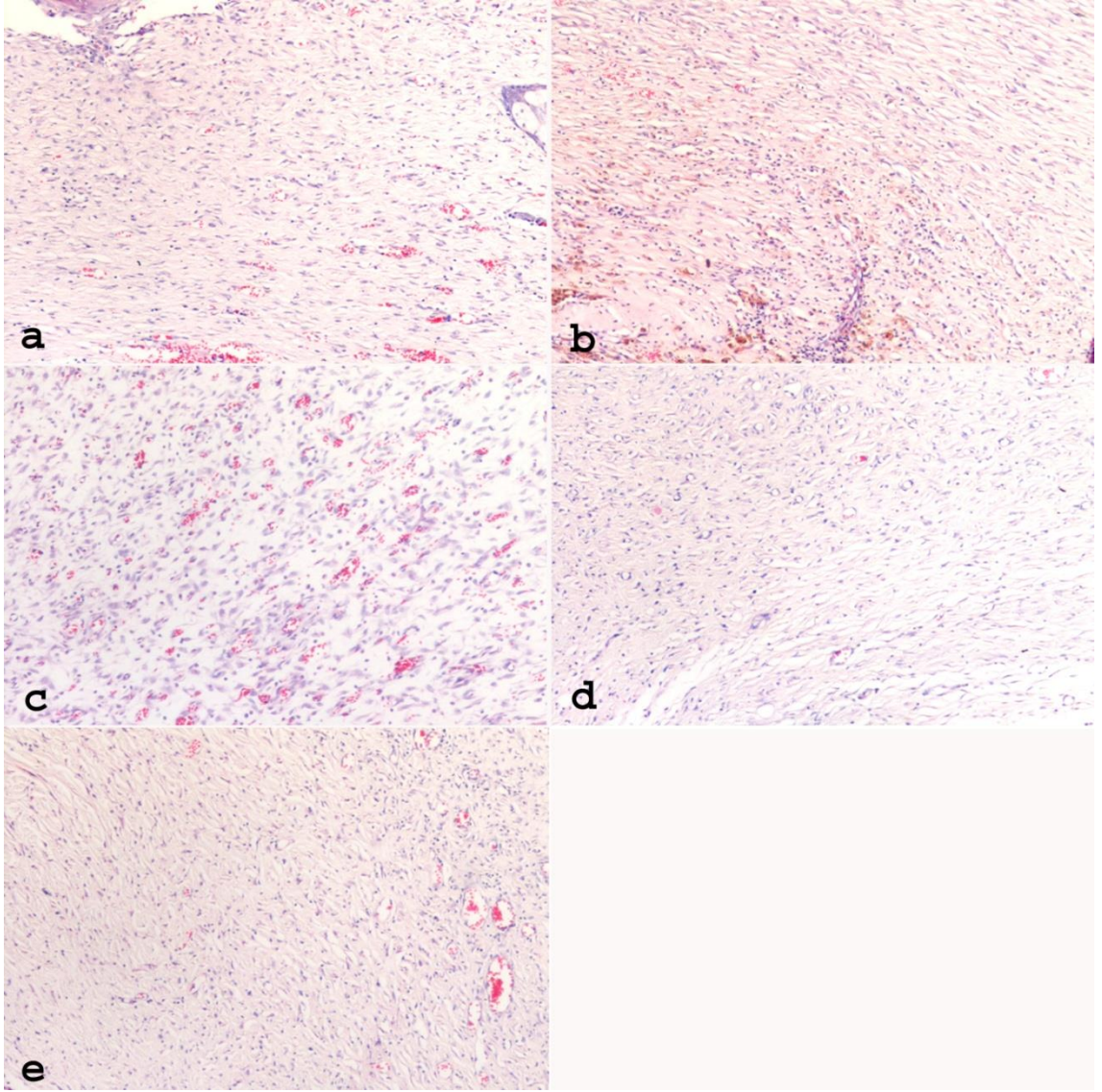
**Şekil 26.** Grupların granülasyon kalınlığı bakımından histopatolojik olarak karşılaştırılması, **a:** propolis grubu **b:** propolis+bal grubu **c:** madecassol grubu **d:** vazelin grubu **e:** serum fizyolojik grubu.

Granülasyon dokusu kalınlığı karşılaştırıldığında propolis grubunda (şekil a) granülasyon dokusu kalınlığının fazla olduğu dikkati çekti. Vazelin grubu (şekil d) uygulanan grupta ise granülasyon dokusu kalınlığının az olduğu fark edildi.



Şekil 27. Grupların kollajen sentezi bakımından histopatolojik olarak karşılaştırılması, **a:** propolis grubu **b:** propolis+bal grubu **c:** madecassol grubu **d:** vazelin grubu **e:** serum fizyolojik grubu.

Kollajen sentezi bakımından gruplar karşılaştırıldığında propolis grubunda kollajen sentezinin fazla olduğu, madecassol grubunda ise az olduğu fark edildi.



**Şekil 28.** Grupların yangısal hücre bakımından histopatolojik olarak karşılaştırılması, **a:** propolis grubu **b:** propolis+bal grubu **c:** madecassol grubu **d:** vazelin grubu **e:** serum fizyolojik grubu.

Yangı hücrelerinin varlığı bakımından gruplar karşılaştırıldığında madecassol grubunda yangının şiddetli olduğu, vazelin grubunda ise yangı şiddetinin az olduğu fark edildi.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma; propolisin yaygın olarak bilinen özelliklerine ek olarak diyabetik yaralarda topikal kullanım sonrası yara iyileşmesine etkisini araştırmak için gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle tez çalışmamızda prevalansı en yüksek metabolik hastalıklardan biri olan diyabet mellitus'un gecikmiş veya iyileşmeyen yara modellerinin tedavisi için propolis kullanımını araştırılmıştır.

Yara iyileşmesi birbirini takip eden hemostaz-enflamasyon, proliferasyon ve matürasyon-remodelasyon olmak üzere 3 temel süreç içerisinde gerçekleşir. Bu süreçlerin herhangi birinde oluşan bir aksaklık yara iyileşme sürecinde negatif etki yaratarak iyileşmenin sekteye uğramasına sebep olur.

Diyabetes mellitus (DM), kronik yara olgularında en sık görülen metabolik sorunlardan biridir. Diyabetes mellitus olgularında bozulan glisemik kontrol sistemi, vasküler yetmezlik, nöropati gibi bir çok mekanizma kronik yara oluşumunda rol oynar ve tedaviyi zorlaştırır (Tsourdi ve ark., 2013). Diyabetes mellitus'da kan glikoz düzeyinin yüksek seyretmesi lökosit fonksiyonunu bozarak nötrofil ve makrofajların yaraya yetersiz geçişine neden olmaktadır. Bu hücresel değişim yara iyileşme mekanizmalarını bozmakta ve diyabetik bireyleri yara enfeksiyonu riskine açık hale getirebilmektedir (Saltoğlu ve ark., 2015). Diğer taraftan diyabette anjiogenezis, doku ve hücrelerin adaptasyonunu sağlayan işlevlere sahip olan önemli proteinlerin fonksiyonunu bozarak tüm iyileşme süreçlerini etkileyen bir yalancı hipoksi oluşturmaktadır (Meloni ve ark; 2018). Bununla birlikte kollajen sentezi bozulmakta ve yaranın iyileşmesi ve kapanması gecikmektedir (Blakytny ve Jude, 2006). Diyabette sinir ve damar yapılarının bozulmasına bağlı olarak travma ve yaralanmalar sonucunda oluşan yaranın enfekte olması da diyabet yaraları oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

Günümüzde diyabetik yara iyileşmesine yardımcı pek çok bitkisel materyal kullanılmaktadır. Propolis bunlardan birisidir. Birçok araştırmacı çeşitli propolis türlerinin bileşimleri ve bu bileşiklerin kimyasal, biyolojik etkilerini, tıbbi özelliklerini araştırmışlardır (Bankova ve ark., 2000). Propolisin, polifenoller (flavonoidler, fenolik asit ve esterleri), terpenoidler, steroidler, aminoasitler, aromatik asitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içerdiği belirtilmiştir. Flavonoidler ve terpenler oldukça kuvvetli antioksidan ve antibakteriyel etkili bileşiklerdir (Basim ve ark.. 2006; Lotfy ve ark., 2006). Günümüzde propolis antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümör,

anti-diyabetik, immünomodülatör, anti-ülser ve yara iyileştirme özellikleri nedeniyle dünya çapında sağlık sektöründe kullanılmaktadır (Anjanette ve ark., 2011; Marcucci 1995; Parolia ve ark., 2010; Toreti ve ark., 2013). Bilimsel çalışmalarda propolisin anti-enflamatuar etkisinden bahsedilirken diyabetik yaralardaki etkisinin daha çok inflamasyonu arttırması ile gösterilmektedir (Azza ve Abd-el, 2009 ). Diyabetik yara iyileşmesinde mevcut olan inflamasyondaki gecikme, bölgede inflamatuvar hücre birikiminin azalması enflamasyon periyodunun uzamasına, dolayısıyla yara iyileşmesinin bozulmasına yol açmaktadır. Fakat propolisin inflamatuvar hücre birikimini, diyabetik yarada yükseltmesi, uzamış enflamasyon periyodunu kısaltmasına sebep olmaktadır (Paulino ve ark., 2006).

Propolisin sıçanlarda kolon anastomozunda iyileşmenin araştırıldığı bir çalışmada propolis grubunda fibroblast proliferasyonunun nötrofil hücrelerinin azalmasından kısa bir süre sonra başladığını gözlemlemiş ayrıca lenfositlerin bu grupta kontrol grubuna göre daha erken oluştuğunu bulmuşlardır (Kiliçoğlu ve ark., 2008). Bu, propolisin akut inflamasyonu azaltarak ve makrofaj ile T-lenfosit aktivitesini uyararak yara iyileşme sürecini hızlandırdığını göstermektedir. Günay ve ark. (2014) dış ekstraksiyon sonrası yaralarında fibroplazi ve epitelizasyon üzerindeki etkisini değerlendirmek için flavonoidler ve Kafeik asit fenilettil ester (CAPE) içeren propolis jeli kullanılmış ve fibroblast büyümesi üzerinde anlamlı bir etkisi olmamasına rağmen epitelizasyonun arttığını gözlemlemişlerdir. Bir başka çalışmada, yanık yaraları iyileşmesini enfeksiyondan korumak için oksijenin gerekli olduğunu ve oksijene bağlı redoks duyarlı sinyalizasyon işlemlerinin onarım kademesinde serbest radikalleri süpürmesinde, propolisin önemli bir rol oynadığını tespit etmişlerdir (Olczyk ve ark., 2013). Propolisin yara onarımı ve doku rejenerasyonu üzerindeki biyolojik aktiviteleri antimikrobiyal, anti-enflamatuar ve immünonodülatör özellikleri ile ilişkili olabilir (Castaldo ve Capasso, 2002). Çalışmamızda DM sonrası maddi kayıplı yaranın iyileşmesinde propolisin anti-enflamatuar ve immünonodülatör özellikleri ile ilişkili olduğu düşüncesindeyiz.

Diyabetik ratlardan elde edilen kan serumlarının biyokimyasal analizlerinden kolesterol ölçümü yapılan çalışmalardan bazılarında kolesterol düzeyinin azaldığı (De ve ark., 2016; Hamden ve ark., 2010), bazı çalışmalarda da, serum kolesterol seviyesinin arttığı bulunmuştur (Arikawe ve ark., 2012). Godin ve ark. deneysel diyabetik ratlarda

kolesterol ve trigliseridin belirgin olarak arttığını öne sürmüşlerdir (Godin ve ark., 1998).. Çalışmamızda trigliserid ve kolesterol değerleri V. gruba göre istatistiksel anlamda fark göstermiştir ( $p>0,05$ ). Kolesterol artışında stres faktörlerinin etkili olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Diğer taraftan hipertrigliseridemi ve diyabet, HDL kolesterol düzeyinin düşük olmasında etkili olan çevresel faktörler olarak bilinmektedir.

Diyabetli hastalarda serum amino transferazlarının yükselmesi sıklıkla gözlenmekte ve karaciğerde yağ infiltrasyonu sebep olarak gösterilmektedir (Miyake ve ark., 2003). Diyabette serum glikoz konsantrasyonu AST aktivitesi ile birlikte serum ALT düzeylerinde de önemli oranda yükselmektedir (Maritim ve ark., 2003). STZ ile deneysel diyabet oluşturulan araştırmalarda serum ALT seviyelerinin normal ratlara oranla diyabetli ratlarda yükselmiş olduğunu tespit etmişlerdir (Can ve ark., 2004; Ghaiti ve ark., 2004). AST ve ALT serum aktivitelerindeki artış karaciğerde meydana gelen hücresel hasarı ve karaciğer dokusundaki bozulmaları işaret etmektedir (Kusunkoi ve ark., 2004). İki enzimin birlikte artışı diyabette oluşabilecek muhtemel karaciğer yağlanması ve karaciğer harabiyetine ışık tutmaktadır. Çalışmamızda DM gruplarının ALT ve AST değerlerini normal sağlıklı gruba (V) karşılaştırdığımızda ALT ve AST ( $p>0,05$ ) düzeylerinde anlamlı bir farklılık olmadığını gözlemledik. Bunun sonucunda karaciğer dokularında nekrotik bir lezyon oluşmadığından bahsedebiliriz.

Dokuda hasar bulgularının ön planda bulunduğu deneysel yara modellerinde CK düzeylerinin anlamlı artışı doku yıkımına sebep olarak gösterilmektedir (Achauer ve ark., 2001). Artmış CK seviyesi en hassas ve güvenilir kas hasarı göstergesidir ve artış oranı kas hasarının boyutu ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir (Counselman ve ark., 2013). CK düzeyindeki belirgin artış, kas hasarını değerlendirmek için bu enzimin konsantrasyonundaki değişiklikler referans olarak kullanılmaktadır (Clarkson ve Hubal, 2002). Çalışmamızda serum CK değerlerinin gruplar arası farkın anlamlı olmaması yaranın kronik düzeyde olmayışı ile açıklanabilir ( $p>0,05$ ).

EGF, embriyogenezis, anjiyogenezis, doku ve vasküler sistemlerin onarımında büyük rol oynamaktadır (Konturec ve ark., 1995). Mitojenik bir polipeptid olan EGF, yara iyileşmesine enflamasyon fazının bitiminde etki etmeye başlamakta ve fibroblastik oluşumunu indüklediği ve bunun yanı sıra granülasyon dokusunun oluşumu ile epitelizeasyonu uyardığı, böylece yara iyileşmesi üzerine onarıcı ve hızlandırıcı etkilerinin olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (Baum ve Arpey, 2005; Losi ve ark., 2013;



Robson ve ark., 2001; Broughton ve ark., 2006). Yapılan başka bir çalışmada yara iyileşmesinde gümüş sülfadiazinin tek başına kullanımının yara iyileşmesine katkı sağlamadığı, EGF ile birlikte uygulandığında yara iyileşmesinde olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir (Lee ve ark., 2005). Çelebi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada EGF içeren poliakrilik asit jel formülasyonu hazırlanmış ve fare sırtında oluşturulan cilt kesilerinde uygulanmıştır. 7. ve 15. günlerde yapılan incelemeler sonucunda EGF-poliakrilik asit jel formülasyonunun uygulandığı yaralardaki gerilme kuvvetinin, EGF içeren serum fizyolojik uygulanan yaralara göre daha fazla olduğu görülmüştür (Çelebi ve ark., 2002). EGF'nin kronik yaralar üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, diabetes mellitus, romatoid artrit gibi çeşitli rahatsızlıklara bağlı olarak ortaya çıkan ülser yaralarında topikal olarak EGF içeren silvaden uygulanmış ve iyileşme üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Brown ve ark., 1989). Topikal olarak EGF uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği araştırmalarda EGF'nin epitelizasyonu uyardığı, yara iyileşmesinin erken safhalarında dermis oluşumunun üzerine kesin etkisinin olduğu ve kronik yaraların iyileşmesini uyardığı bildirilmiştir (Yeler ve ark., 1999). Farelerde korneal alkali yanıklarının iyileşmesinde EGF'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada EGF'nin çeşitli dozaj formları içinde yara bölgesine uygulanmasıyla kontrol grubuna göre yaralı bölgenin çapında anlamlı bir azalma meydana geldiği ifade edilmiştir (Gönül ve ark., 1995).

Çalışmamızda I. grup ratlarda ortalama EGF değeri  $631,53 \pm 76,6$  pg/mL iken V. grupta  $231,15 \pm 125,1$  pg/mL olarak ölçüldü. EGF'nin propolis merhemi uygulanan I. grupta diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek olması ( $p < 0,05$ ), propolisin yara iyileşmesi üzerinde onarıcı ve hızlandırıcı katkısının olduğu düşüncesini ortaya koymaktadır.

Propolisin içeriğindeki majör bileşenlerden olan kuersetin ve galangin vasıtasıyla özellikle kronik inflamasyonu ve çeşitli inflamasyon mediatörlerin salımını engelleyerek, trombosit agregasyonu ve ekazonoidlerin sentezini (prostaglandin ve lökotrienler) inhibe edip inflamasyonu önlemede yardımcı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Araujo ve ark., 2012).

Propolisin yara onarımı ve doku rejenerasyonu üzerindeki biyolojik aktiviteleri antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve immünonodülatör özellikleri ile ilişkili olabilir (Castaldo ve Capasso, 2002).

Diğer bulgular, propolisin yara matrisinin yeniden şekillenmesini uyararak yanmış doku onarımını hızlandırdığını, propolis uygulamasından sonra hücre dışı matris içeriğinde gözlenen değişikliklerin flavonoid bileşiklerinin lipit peroksidasyonunu azaltma ve nekrozu önleme kabiliyeti ile bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir (Olczyk ve ark., 2013). Yara iyileşme süreci epidermal hücrelerin, keratinositlerin göçünü ve çoğalmasını, fibroblast uyumunu ve hücre dışı matris (ECM) kasılmasını içerir. Propolis tedavisi, yara onarımının ilk aşaması sırasında ECM bileşenlerinde önemli artışları uyarır ve bunu takiben ECM moleküllerinde bir azalma olur. Propolisin bu biyolojik etkisinin, dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ekspresyonunu uyarma kabiliyeti ile ilişkili olduğu, hemostaz ve iltihaplanma gibi yara onarımının erken evrelerine katıldığı ortaya konmuştur (De Maura ve ark., 2011).

VEGF vasküler endotelial büyüme faktörü endotelial hücre büyümesi ve hücre migrasyonunun indüksiyonu ile ilişkilidir. İnsan akciğer fibroblastları üzerine yapılan bir çalışmada yüksek konsantrasyonlarda verilen VEGF'nin proliferasyonu hızlandırdığı düşük konsantrasyonlarda ise azalttığını belirtmişlerdir (Larsson ve ark., 2013). VEGF'nin invitro insan ve tavşan tenon fibroblastlarının çoğalmasını önemli ölçüde arttırdığı başka çalışmada gösterilmiştir (Li ve ark., 2009). Çalışmamızda gruplar arasında VEGF değerleri bakımından anlamlı farklılıklar yoktur. I. grup ratlarda ortalama VEGF değeri  $979,51 \pm 116,1$  iken, V. grupta  $1337,81 \pm 164,1$  olarak ölçülmüştür. Bu durum propolisin akuttan ziyade kronik yaralarda daha etkili olduğunu göstermektedir.

Diyabetik yara ve dirençli kronik yarası olan hastaların dahil edildiği bir çalışmada FGF faktörünün diyabetik yaralarda iyileşmenin hızlanmasını sağlamıştır (Uchi ve ark., 2009). Topikal olarak yaraya uygulanan rekombinant b-FGF'in yara iyileşme süresini ve hastanede yatış süresini kısalttığı gösterilmiştir (Fu ve ark., 1998).

Çalışmamızda gruplar arasında FGF değerleri bakımından gruplar arası kıyaslamada I. grup ratlarda ortalama FGF değeri artışı ( $861,26 \pm 98,9$ ) V. gruba ( $647,02 \pm 161,6$ ) kıyasla anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Çalışmalar EGF faktörünün kronik yaralarda daha etkili olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmada ise artış olmasına rağmen yara akut seyrettiği için kontrol gruba V. nazaran anlamlı bir artış göstermediğini düşündürüyor.

PDGF diğer büyüme faktörleriyle yara onarım basamaklarında ilk olarak nötrofilleri daha sonra da makrofajları, endotel hücreleri ve fibroblastları aktive ederek

yara bölgesine çeker (Broughton ve ark., 2006). Bir yandan kollajen, hiyalüronik asit ve fibronektin sentezini stimüle ederken diğer yandan kollajenaz aktivitesini artırır (Ekmekçi ve Bostancı, 2002).

Diyabetik ratlarda oluşturulan yarada kullanıldığında PDGF'nin yara iyileşmesinde kollajen birikimini artırdığı gösterilmiştir (Carter, 2003).

Park ve arkadaşları ürettikleri kollajen-hiyalüronik asit kompozit örtülerden antibiyotikle birlikte FGF ve PDGF taşıyanların, tek başına antibiyotik içerenlere göre yara iyileşmesinde çok daha başarılı olduğunu belirtmişlerdir (Park ve ark., 2004). Klinik çalışmalardaki zorluklara rağmen yara tedavisinde büyüme faktörlerinin kullanımının umut verici olduğu vurgulanmaktadır (Khan ve Davies, 2006).

Çalışmamızda gruplar arasında PDGF değerleri bakımından anlamlı farklılıklar yoktur ( $p>0,05$ ). I. grup ratlarda ortalama PDGF değeri  $316,93 \pm 69,7$  iken, V. grupta  $253,52 \pm 98,5$  olarak ölçülmüştür.

Çalışmamızda elde ettiğimiz histopatolojik sonuçlar, propolisin kollajen sentezini anlamlı derecede artırdığını göstermektedir. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında propolis grubunda kollajen sentezi anlamlı derecede yüksektir. Bazı araştırmalar, propolisin yeniden epitelizasyonu destekleyen uygun biyokimyasal ortama sahip olabileceğini gösteren kollajen tip I ve III ekspresyonu ve yara matriksindeki bozulmanın kantitatif ve kalitatif analizleri boyunca propolisin terapötik etkinliğini doğrulamaktadır (McLennan ve ark., 2008).

Granülasyon dokusu kalınlığı ve epidermal rejenerasyon şekillenmesi bakımından da propolis grubunun diğer gruplara göre yüksek olması histolojik çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgularla desteklenmektedir. Propolisin yara tedavisine uygulanmasının yara reepitelizasyonunu ve granülasyonunu hızlandırabileceğini göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada diabetes mellitusun deneysel modelinde oluşturulan maddi kayıplı yaralarda propolisden hazırlanan merhemın iyileştirici etkisi araştırıldı. Propolis merhemının bu etkinliği ticari preparat olan madecassol ile kıyaslandı. Kullanılan propolis merhemının diyabetli yara sağaltımında daha etkili sonuç verdiğini klinik gözlem, biyokimyasal ve histopatolojik verileri ile ortaya konuldu. Diyabetik yaralarda iyileşme sürecini hızlandırmak amacıyla topikal olarak propolis merhemının uygulanması sonucunda elde edilen araştırma bulgularının, yara tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayacağı kanısındayız.

Ülkemiz, biyo-çeşitlilik bakımından dünyanın sayılı ülkeleri arasındadır. Tüm Avrupa kıtasında on iki bin dolayında aromatik bitki türü bulunurken, bu sayının on bin dolaylarında bitki türü ülkemizde yetişmektedir. Bunlar içinde arıcılık yönünden önem arz eden birçok tür, doğal olarak yayılış göstermektedir. Dünyada bulunan ballı bitkilerin %70'i ülkemizde yetişmektedir. Bu nedenle ülkemiz oldukça zengin biyolojik kaynaklara sahip olduğu gibi arı ürünleri konusunda da büyük bir potansiyele sahiptir. Gen arı merkezleri arasında dünyada önemli bir yeri olan Türkiye, flora açısından da uygun mevsim ve topoğrafik yapıya sahiptir. Bu varlıkların toplum refahi ve halk sağlığı yönünde değerlendirilmesi ise strateji ve plan gerektirmektedir.

İlaç sektöründe Ar-Ge, üretim ve yönetim merkezi olan bir Türkiye vizyonu çerçevesinde: Türkiye İlaç Sektörü Strateji Belgesi ve Eylem Planı'nın genel amacı "Ülkemiz ilaç sanayini uluslararası rekabet gücüne sahip, dünya ihracatından daha fazla pay alan küresel bir oyuncu haline getirmek" şeklinde belirlenmiştir. İlaç sektöründe tedavi veya korunma amaçlı doğal ürünler, eskiden olduğu gibi bugün de yeni etken madde arayışı içindeki modern ilaç araştırmaları için kaynak olma özelliğini sürdürmektedir. Bu çerçevede, inovatif faaliyetler, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ilaç firmaları için önemli fırsatlar yaratmaktadır. Destekleyici ve tamamlayıcı tıp çerçevesinde apiterapik ve fitoterapik ürünlere yönelik araştırmaların desteklenmesi beşeri ve veteriner hekimlikte tedavi edici ve koruyucu olarak kullanılan katma değerli ilaç üretim fırsatlarını yakalayabileceği olası görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abdulrahman M, Elbarbary NS, Amin DA, Ebrahim RS. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil–propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized controlled pilot study. *Journal pediatric hematology and oncology* 2012; 29(3):285-292.
- Achauer B, Eriksson E, Guyuron B. Plastic surgery indications, operations and outcomes. In: McCauley R, Barret J, editors. *Electrical Injuries*. Newyork: Raven Pres 2001; 375-385.
- Afkhamizadeh M, Aboutorabi R, Ravari H, Fathi Najafi M, Ataei Azimi S, Javadian Langaroodi A ve ark. Topical propolis improves wound healing in patients with diabetic foot ulcer: a randomized controlled trial. *Nat Prod Res* 2018; 32:2096-99.
- Ahmed ET, Abo-Salem OM, Osman A. The influence of egyptian propolis on induced burn wound healing in diabetic rats; Antibacterial Mechanism. *Sci J Med Clin Trials*. 2011; 11(3): 21
- Akbulut K. Türk propolisinin sulu ekstraktının insan laringeal epidermoid karsinoma (HEp-2) hücre serilerinde hücre içi serbest kalsiyum ve hidrojen peroksit düzeylerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 2014.
- Anderson JM. "Biological responses to materials", *Annual review of materials research*, 2001; 31:81-110.
- Anjanette W, Gjertsen DDS, Stothz KA, Kathleen G, Neiva DDS. Effect of propolis on proliferation and apoptosis of periodontal ligament fibroblasts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2011; 112 (4):843-8.
- Antonio S, Érica WT, Giuseppina N, Dejair M. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2005; 2(1):33-38.

- Araujo MAR, Liberio SA, Guerra RNM, Ribeiro MNS, Nascimento RFR. Mechanisms of action underlying the anti- inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2012; 22(1):208-219.
- Arikawe AP, Oyerinde A, Olatunji-Bello II, Obika LF. Streptozotocin diabetes and insulin resistance impairment of spermatogenesis in adult rat testis: central vs. local mechanism. *Niger J Physiol Sci*. 2012; 27(2):171.
- Arslan MK. “Yara İyileşmesi ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler”, *Akut ve Kronik Yara Bakımı*, Kurt, N., Nobel Tıp Kitabevleri, 2003; 9-33.
- Association, AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40:11-24.
- Azza MM, Abd-El-Rahman. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. In *Fish & Shellfish Immunology*. 2009; 27 (3):454–459.
- Bankova VS, Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 2000; 31:3–15.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res*. 2001;15:561–571.
- Barnett DM, Krall LP. *Joslin’s Diabetes Mellitus*. Eds: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, Medikal Yayıncılık, İstanbul. 2008;1-6.
- Basim E, Basim H, Özcan M. Antibacterial activities of Turkish polen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*. 2006; 77:992-996.
- Başkal N. *Diabetes mellitus*. Klinik Endokrinoloji, Ankara, Antıp AS. Yayınları.1997.
- Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg*. 2005; 31:674-686.

- Bayram H, Deveci F, Dikensoy Ö, Kara V. Göğüs Hastalıklarında İn vivo ve İn vitro Araştırma Yöntemleri, Toraks Kitapları, 2011; 12:132.
- Beck-Nielsen H, Henriksen JE, Vaag A, Hother-Nielsen O. Pathophysiology of noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Diabetes Res Clin Pract* 28, 1995;1:13-25.
- Biröl L. Endokrin Sistemin Yapısı ve Fonksiyonları ve Değerlendirilmesi, İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı, 1. Baskı, İstanbul, Vehbi Koç Vakfı, SANERC Yayın. 2003; 2:673-725.
- Bitto A, Minutoli L, Altavilla D, Polito F, Fiumara T, Marini H, Galeano M, Calo M, Lo CP, Bonaiuto M, Migliorato A, Caputi AP and Squadrito F. Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacol Res.*2008; 57:159-169.
- Blakytyn R and Jude E. emolecularbiology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabetic Medicine* 2006; 23(6):594–608.
- Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res.* 2002; 512(2-3):121-34.
- Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview,.*Plast. Reconstr. Surg.* 2006; 117(7):1-32.
- Brown GL, Nanney LB, Griffen J. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *N. Engl. J. Med.* 1989; 321:76-79.
- Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 1998; 36: 347-363
- Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardağ R, Okyar A. Effect of aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in typeII diabetic rat models, *Biol. Pharm. Bull.* 2004; 27, 5:694-698.

- Cantarelli MA, Camina JM, Pettenati EM, Marchevsky EJ, Pellerano, RG. Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics. *LWT, Food Science and Technology*, 2011; 44:256-260.
- Carter CA. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*, 2003; 74:244-255.
- Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 2002; 73:1-6.
- Chen M, Davidson TM: Scar management: Prevention and treatment strategies. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;13:242-7.
- Chin GA, Diegelmann RF, Schultz GS. Cellular and molecular regulation of wound healing. In: Falabella AF, Kirsner RS. *Wound healing*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2005; 17-37.
- Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 1998; 59(3):195-201.
- Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil*, 2002; 81:52-69.
- Claus P, Werner S, Timmer M, Grothe C. Expression of the fibroblast growth factor-2 isoforms and the FGF receptor 1-4 transcripts in the rat model system of Parkinson's disease, *Neurosci. Lett*. 2004; 360(3):117-20.
- Coşkun Ö, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Research*, 2006; 51:117-123.
- Counselman L, Francis Lo, M, Bruce. Rhabdomyolysis. In Tintinalli JE, Gabor DK, J. Stephan Stapczynski. *Acil Tıp*. 5th. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013; 622-624.



- Çelebi N, Türkyılmaz A, Gönül B, Özoğul C. Effects of EGF microemulsion formulation on the healing of stress-induced gastric ulcers in rats. *J. Controlled Release*, 2002; 83:197–210.
- De Maura SA, Negri G, Salatino A, Lima LD, Dourado LP, Mendes JB, et al. Aqueous extract of brazilian green propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. *Evid Based Compl Alternative Med*. 2011; 748283.
- De A, Singh MF, Singh V, Ram V, Bisht S. Treatment effect of l- Norvaline on the sexual performance of male rats with streptozotocin induced diabetes. *Eur J Pharmacol*. 2016; 771:247-54.
- Demir A, Seventekin N. Kitin, Kitosan ve Genel Kullanım Alanları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2009; 3(2):92-103.
- Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience*, 2004; 9:283-289.
- Dorsett-Martin, WA. Rat models of skin wound healing: A review. *Wound Repair Regen*. 2004; 12:591-599.
- Duggan C, Watkins JB, Walker WA. *Nutrition in Pediatrics 4, Clinical application*, BC Decker Inc, Hamilton. 2008.
- Duran V, Gajinov Z, Vuckovic N, Matovic L, Matic M, Ivcov-Simic M, Pojacki M. Skin disorder in diabetic patients and pathohistological diagnostics. *Archive of Oncology*. 2001; 19(1):129-130.
- Eiselein L, Schwartz HJ, Rutledge JC. The challenge of typed I diabetes mellitus. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*. 2004; 45 (3):231-236.
- Ekmekçi P, Bostancı S. Yara iyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, 2002; 12, 114-120.
- Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *Surgery*, 2007; 26(2):31-37.

- Feero WG, Guttmacher AE, McCarthy MI: Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *New England Journal of Medicine*. 2010; 363:2339-2350.
- Francis-Goforth KN, Harken AH, Saba JD. “Normalization of Diabetic Wound Healing”, *Surgery*.2010; 147(3):446-449.
- Freckmann G, Schmid C, Baumstark A, et al. System accuracy evaluation of 43 blood glucose monitoring systems for self-monitoring of blood glucose according to DIN EN ISO 15197. *Journal of Diabetes Science and Technology* 2012; 6 (5): 1061-1075.
- Fu X, Shen Z, Chen Y, Xie J, Guo Z, Zhang M, et al. Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second-degree burns. *Lancet* 1998; 352(9141):1661-1664.
- Galiano RD, Teper OM, Pelo CR, et. all. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am. J. Pathol.* 2004; 164:1935–1947.
- Ganchi PA, Eriksson E. Diabetes Mellitus ve Yara İyileşmesi. *Joslin’s Diabetes Mellitus 14th*. Yumuk, V., İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2008;1133-44.
- Gantwerker EA, Hom DB. “Skin: Histology and Physiology of Wound Healing”, *Clin Plast Surg*. 2012; 39(1):85-97.
- Geoffrey CG, Sabine W, Yann B, et all. Wound repair and regeneration, *Nature*, 2008; 453:314-321.
- Ghalthi F, Elridi M, Adeghate E, Amiri HM. Biochemical effects of citrullus colocynthis in normal and diabetic rats, *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004; 1-7.
- Gjesing AP, Rui G, Lauenborg J, Have, CT, Hollensted M, Andersson E. High prevalence of diabetes-predisposing variants in mody genes among danish women with gestational diabetes mellitus *Journal of the Endocrine Society* 2017; 1(6): 681-690.

- Godin DV, Wohaieb SA, Garnett ME, Goumeniouk, AD. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes, *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998; 84:223-231.
- Gönül B, Erdoğan D, Özogul C, Koz C, Babül A, Çelebi N. Effect of EGF dosage forms on alkali burned corneal wound healing of mice”, *Burns*, 1995; 21(1) 7-10.
- Greenhalgh DG. Wound healing and diabetes mellitus. *Clinics in plastic surgery*. 2003; 30,37-45.
- Greenwald DP, Shumway MD, Lawrence S. Endogenous versus toxin-induced diabetes in rats: A Mechanical comparison of two skin wound-healing models. *Plastic Recon Surg*. 1993; 91(6):1087-1093.
- Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 2010; 89(3):219–229.
- Gurtner, Geoffrey C. Wound Healing: Normal And Abnormal. In: Charles H.Thorne, et al. *Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th Edition*. Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins, 2007; 15-22.
- Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*. Çavuşoğlu H (Çeviren). 10. Baskı, İstanbul: Tavash Matbaacılık, 2001.
- Günay A, Arpag OF, Atilgan S, Yaman F, Atalay Y, Acikan I. Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Des Devel Ther*. 2014; 8:2069–74.
- Hamden K, Jaouadi B, Carreau S, Aouidet A, El-Fazaa S, Gharbi N, Elfeki A. Potential protective effect on key steroidogenesis and metabolic enzymes and sperm abnormalities by fenugreek steroids in testis and epididymis of surviving diabetic rats. *Arch Physiol Biochem*. 2010; 116(3), 146-55.
- Han MC, Durmuş AS, Karabulut E, Yaman I. Effects of Turkish propolis and silver sulfadiazine on burn wound healing in rats. *Revue Med Vet*. 2005; 156(12), 624-627.

- Hassan GA, Sliem HA, Ellethy AT, Salama Mel S: Role of immune system modulation in prevention of type 1 diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab*, 2012; 16: 904-909.
- Hepşen İF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve Oftalmolojik kullanımları. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 1996; 3(4).
- Hom DB. Wound healing in relation to scarring. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 1998; 6:11.
- Hozzein WN, Badr G, Al Ghamdi AA, Sayed A, Al-Waili NS, Garraud O. Topical application of propolis enhances cutaneous wound healing by promoting TGF-beta/Smad-mediated collagen production in a streptozotocin-induced type I diabetic mouse model. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37: 940-54.
- Jacob A, Parolia A, Pau A, Davamani Amalraj F. The effects of Malaysian propolis and Brazilian red propolis on connective tissue fibroblasts in the wound healing process. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15: 294.
- Jain SK, Rains JL, Croad JL. Effect of chromium niacinate and chromium picolinate supplementation on lipid peroxidation, TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP, glycated hemoglobin, triglycerides, and cholesterol levels in blood of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radical Biology & Medicine* 2007; 43: 1124–1131.
- Jaouhari JT, Lazrek HB, Jana M. The hypoglycaemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycaemic rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 69:17-20.
- Joan L, Monaco W, Thomas Lawrence. Acute wound healing. *Clinics in plastic surgery*. 2003; 30(1):1-12.
- Jost M, Kari C, Rodeck U. The EGF receptor - an essential regulator of multiple epidermal functions. *Eur J Dermatol*. 2000; 10(7):505-510.

- Kalay Z. Topikal EGF Uygulamasının Dorsalateral Eksizyonel Yaralarda Oksidan Olaylara Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2011; 5-29.
- Kaltalıoğlu, K. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü'nün Yara Dokusu Oksidatif Olayları Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2012; 18-35.
- Kanter M, Uysal H, Karaca T, Ozdemir-Sagmangil H. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic-cell damage by melatonin in streptozotocininduced diabetic rats. *Archives Toxicology*, 2006; 80,362-369.
- Karasu A, Bakır B. Yara ve Yara İyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 2008; 14(1): 36-43.
- Kartal M, Yıldız S, Kaya S, Kurucu S, Topçu G. Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 86: 69-73.
- Kazancıoğlu HO, Bereket MC, Ezirganlı S, Aydın MS, Aksakallı S. Effects of caffeic acid phenethyl ester on wound healing in calvarial defects. *Acta Odontol Scand.* 2015; 73(1):21-27.
- Khan MN, Davies CG. Advances in the management of leg ulcers-The potential role of growth factors. *Int. Wound J.* 2006; 3, 113-120.
- Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş*, Palme Yayıncılık (Çeviri Editörü Ramazan Demir). 2006; 300-307.
- Kılıçoğlu SS, Kılıçoğlu B, Erdemli E. Ultrastructural view of colon anastomosis under propolis effect by transmission electron microscopy. *World J Gastroenterol.* 2008;14(30), 4763-4770.
- King L. Impaired wound healing in patients with diabetes. *Nursing Standart*, 2001; 15(38) 39-45.

- Konturec RC, Konturecs J, Brzozowski T, Ernst H. Epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha: role in protection and healing of gastric mucosal lesions, *Eur. J. Gastroenterot. Hepatol.* 1995; 7 (10) 933-937.
- Korkmaz A, Kumova U, Avcı BC, Ceyran, G. Önemli Bir Arı Ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2002; Mayıs.
- Kotil T. Deneysel diyabetli sıçanlarda yara iyileşmesinin histolojik ve ince yapı olarak incelenmesi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 2006;76.
- Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 2004; 84: 329–339.
- Kurt, N. Akut Ve Kronik Yara Bakımı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2003; 34-35.
- Kusunoki M, Tsutsumi K, Inove Y, Hara T, et all. Lipoprotein lipase activator no-1886 improves fatty liver caused by high-fat feeding in streptozotocin- induced diabetic rats, *Metabolism*. 2004; 53,2:260- 263.
- Kutluca S, Genç F, Korkmaz, A. Propolis, T.C. SAMSUN VALİLİĞİ İL TarımMüdürlüğü, Samsun, 2008.
- Larsson-Callerfelt A-K, Strombladh J, Andersson-Sjoland A, Hallgren O, Bjermer L, Lofdahl C-G, et al. Vascular endothelial growth factor synthesis in lung fibroblasts from healthy subjects and COPD patients and implications for vascular remodeling. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013; 187(A:2275).
- Le NN, Rose MB, Levinson H, Klitzman, B. Implant healing in experimental animal models of diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2011; 5(3):605-18.
- Lee ARC, Leem H, Jaegwan L, Park KC. Reversal of sulfadiadine-impaired wound healing by epidermal growth factor. *Biomaterials*. 2005; 26,4670-4676.
- Leong M, Phillips LG. Wound Healing. Townsend MC, Sabiston Textbook of Surgery, 17th Edition, Elsevier, USA 2004; 183-208.

- Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, et al. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast, *Am J Pathol.* 2003; 162(1):303–312.
- Li J, Chen J, Kirsner P. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology,* 2007; 25,9-18.
- Li Z, Van Bergen T, Van de Veire S, Van de Vel I, Moreau H, Dewerchin M, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor reduces scar formation after glaucoma filtration surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009; 50(11):5217–25.
- Losi P, Briganti E, Erico C, Lisella A, Sanguinetti E, Chiellini F, Soldani G. Fibrin-based scaffold incorporating VEGF and bFGF-loaded nanoparticles stimulates wound healing in diabetic mice, *Acta Biomaterial.* 2013; 13:1742-1761.
- Lotfy M, Badra G, Burham W, Alenzi FQ. Combined use of honey, bee propolis and myrrh in healing a deep, infected wound in a patient with diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci.* 2006; 63(4):171-3.
- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide. A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-237.
- Macri L, Silverstein D, Clark AFR. Growth factor binding to the pericellular matrix and its importance in tissue engineering, *Advanced Drug Delivery Reviews,* 2007; 59: 1366–1381.
- Mahajan S, Koranne RV, Sharma SK. Cutaneous manifestation of diabetes mellitus. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology,* 2003; 69 (2), 105-108.
- Marcucci MC. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26: 83-99.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: Review. *J. Biochem. Mol. Tox;* 2003; 17(1) 4 -38.

- Mast BA. "The Skin", Wound Healing Biochemical & Clinical Aspects, Cohen, I. K, Diegelmann RF, Lindblad WJ, WB. Saunders Company, Philadelphia, 1992; 344-55.
- McLennan SV, Bonner J, Milne S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Rep Reg.* 2008;16: 706-13
- Mello BCBS, Petrus, JCC, Hubinger MD. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *Journal of Food Engineering*, 2010; 96: 533-539.
- Meloni M, Izzo V, Giurato L, Uccioli L. A Complication of the complications: the complexity of pathogenesis and the role of co-morbidities in the diabetic foot syndrome front diabetes. Basel, Karger 2018; 26:19–32.
- Miyake Y, Eguchi H, Shinchi K, Oda T, Sasazuki S, Kono S. Glucose intolerance and serum aminotransferase activities in Japanese men, *Journal of Hepatology*, 2003; 38, 18–23.
- Morales AE, She JX, Schatz DA. Genetics of Type 1 Diabetes. In: Pescovitz O.H, Eugster E.A (eds). *Pediatric Endocrinology*. 1.edition. Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins. 2004; 403-410.
- Myers BA. *Wound Management: Principles and Practice* 1st ed, Prentice Hall, New Jersey, 2004; 9-36.
- Nelson *Textbook of Pediatrics*. 16th Ed, Philadelphia: WB Saunders Company, 2000; 1767-1787.
- Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int.* 2000; 58(77)26- 30.
- Nyugen DT, Orgill DP, Murphy GF. The pathophysiologic basis for wound healing and cutaneous regeneration. Woodhead Published. 2009;25-27.



- O'Dwyer, L. Wound closure options. Wound Management in Small Animal, Butterworth Heinemann: Elsevier, 2007; 71-97.
- Olczyk P, Wisowski G, Komosinska-Vassev K, Stojko J, Klimek K, Olczyk M, et al. Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. Evid Based Compl Alternative Med. 2013; 2013:423809.
- Omene C, Kalac M, Wu J, Marchi E, Frenkel K, O'Connor OA. Propolis and its Active Component, Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), Modulate breast cancer therapeutic targets via an epigenetically mediated mechanism of action. Journal Cancer Science Therapy, 2013; 5(10):334-342.
- Özan F. Propolisin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi, T.C. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Ana Bilim Dalı, 2006; Sivas.
- Özata M, Yöner, A. Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet. İstanbul Medikal Yayıncılık, 1. Baskı. 2006; 275-343.
- Öztürk H, Ceylan E, Kara M, Özgökçe F, Koyuncu M. *RheumRibes* (Uskun) Kökü Ekstresinin Sağlıklı ve Diyabetli Farelerdeki Hipoglisemik Etkisi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002.
- Park S-N, Kim JK, Suh H. Evaluation of antibiotic loaded collagen-hyaluronic acid matrix as a skin substitute. Biomaterials. 2004; 25,3689-3698.
- Park YK, Ikegaki M. Preparation of Water and Ethanolic Extracts of Propolis and Evaluation of the Preparations. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 1998; 62:2230-2232.
- Parolia A, Thomas MS, Kundabala M, Mohan M. Propolis and its potential uses in oral health. Int J Med Med Sci. 2010; 2(7):210-5.
- Paul J. Leahy, W. Thomas Lawrence. Biologic Enhancement of Wound Healing. ClinPlastic Surg 2007; 34(4): 659-671.

- Paulino N, Teixeira C, Martins R, Scremin A, Dirsch V.M. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a brazilian green propolis. *Planta Med.* 2006; 72 (10): 899-906.
- Pickup J, Keen H. Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes care.* 2002; 25: 593-598.
- Pietta PG, Gardana C, Pietta AM. Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*, 2002; 73: 7–20.
- Ramasasthy SS. Acute wounds. *Clinics in Plastic Surgery*, 2005; 32(2), 195- 208.
- Rashidi MK, Mirazi N, Hosseini A. Effect of topical mixture of honey, royal jelly and olive oil-propolis extract on skin wound healing in diabetic rats. *Wound Med.* 2016; 12: 6-9.
- Reimer K, Vogt PM, Broegmann B, et all. An innovative topical drug formulation for wound healing and infection treatment: in vivo and in vitro investigations of a providone- iodine liposome hydrogel, *Dermatology*, 2000; 201:235–241.
- Robert G. Growth factors and chronic wound healing: past, present, future. *Adv Skin Wound Care* 2004; 17:24-35.
- Robson MC, Steed DL, Franz MG. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg.* 2001; 38:72-140.
- Roderick E. The stepwise approach to the management of type 2 diabetes. *Diabet Res Clin Pract* 2004;65: 3-8.
- Rossi A, Longo R, Russo A, Borrelli F, Sautebin L. The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia.* 2002; 73:30-7.

- Safari M, Ghahari L, Zoroufchi MD. Effects of epidermal growth factor, platelet derived growth factor and growth hormone on cultured rat keratinocytes cells in vitro. Pak J Biol Sci. 2014; 7:931-936.
- Saltoğlu N, Kılıçoğlu Ö, Baktıroğlu S, Oşar Siva Z, Aktaş ř, Altındaş M.ve ark. Diyabetik ayak yarası ve infeksiyonunun tanısı, tedavisi ve önlenmesi: ulusal uzlaşı raporu. Klinik Dergisi 2015; 28(1):2-34.
- SantosVR, Gomes RT, Mesquita RA., Moura MD, Franęa EC, Aguiar EG. "Efficacy of brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis", Phytotherapy Research.2008; 22 (11), 1544–1547.
- Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. Journal of Ethnopharmacology, 2007; 113:1-14.
- Shah JM, Omar E, Pai DR, Sood S. Cellular events and biomarkers of wound healing. Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India, 2012; 45(2), 220-228.
- Shetty V, Bertolami CN. Wound Healing. In Peterson L. editor Principles of oral and maxillofacial surgery, Ontario, 2004.
- Sidhu GS, Mani H, Gaddipati JP et al. Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice. Wound Repair Regen. 1999;7(5):362-74.
- Silici S. Güçlü BK. Yumurtacı damızlık japon bildırcım (*Coturnix Coturnix Japonica*) rasyonlarına propolis ve kafeik asit katılmasının verim ve kuluğka performansı ile yumurta kalitesi ve bazı serum parametrelerine etkisi. Sağlık Bilimleri Dergisi, 2010; 19(2):140-150.
- Sood S, Mohd S, Yussof E, O. and Pai D. Cellular events and biomarkers of wound healing. Indian Journal of Plastic Surgery, 2012; 45(2):220–228.

- Sosa S, Bornancin A, Tubaro A, Loggia RD. Topical antiinflammatory activity of an innovative aqueous formulation of actichelated propolis vs two commercial propolis formulations. *Phytother Res.* 2007; 21:823-6.
- Szhudelsky T. The mechanism of alloksan and STZ action in beta cells of rat pancreas. *Physiological Research*, 2001; 50,536-46.
- Takada J, Machado M, Peres, S, Brito L, Borges-Silva C, Costa C. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. *Metabolism*, 2007; 56 (7), 977-84.
- Tao Z, Shi A, Zhao J. Epidemiological perspectives of diabetes. *Cell biochemistry and biophysics* 2015; 73:181-185.
- Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013:1–13.
- Tsourdi E, Barthel A, Rietzsch H, Reichel A, Bornstein SR. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus. *BioMed research international.* 2013; 2013:385641.
- Uchi H, Igarashi A, Urabe K, Koga T, Nakayama J, Kawamori R, et al. Clinical efficacy of basic fibroblast growth factor (bFGF) for diabetic ulcer. *Eur J Dermatol* 2009; 19(5): 461-8.
- Vardı N, Uçar M, Iraz M, Öztürk F. Deneysel diyabetin sıçan endokrin pankreasında oluşturduğu morfolojik değişiklikler. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 2003; 23:27-32.
- Velnar T, Bailey T, Smrkolj, V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of International Medical Research*, 2009; 37(5),1528-1542.
- Ventura-Sobrevilla J, Boone-Villa V, Aguilar C, Román-Ramos R, Vega-Avila E, CamposSepúlveda E, et al., editors. Effect of varying dose and administration of

streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. Proc West Pharmacol Soc; 2011; 54:5–9.

Verderio EAM, Johnson T, Griffin M. Tissue transglutaminase in normal and abnormal wound healing. Amino Acids, 2004; 26:387-404.

Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes research and clinical practice 2011; 94: 311-321.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes care 2004; 27:1047-1053.

Yeler H, Yücetaş Ş, Yılmaz D, Öztürk M, Arıcı S, Epidermal büyüme faktörünün dış çekim yarası üzerine etkisinin incelenmesi, C.Ü. Diş Hek. Fak. Der. 1999; 2(1):25-31.

Yenigün M. Diabetes Mellitus fizyopatolojisi. İçinde: Her yönüyle Diabetes Mellitus. Eds: Yenigün M, Altuntaş Y, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2001; 85- 129.

Yousef MI, Kamel KI, Hassan MS, El-Morsy AM. Protective role of propolis against reproductive toxicity of triphenyltin in male rabbits. Food Chem Toxicol, 2010; 48:1846–1852.

## ÖZ GEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Fatma GENÇTÜRK

**Doğum Yeri:** ELAZIĞ

**Doğum Tarihi:** 20.10.1982

**Medeni Hali:** Evli

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

**Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):** İlköğretim Elazığ Namık Kemal İlköğretim Okulu 1988-1993; Elazığ Mezre OrtaOkulu 1993-1996; Elazığ Mehmet Akif Ersoy Süper Lisesi 1996-1999; Lisans, Elazığ Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2003-2007; Yüksek Lisans Elazığ Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi 2007-2010; Doktora, Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Biyokimya Anabilim Dalı 2013-2020.

**Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:** 2017 tarihi itibarıyla Zonguldak Atatürk Devlet Hastanesinde Biyolog olarak çalışmaktayım.

**E-posta:**fatkirilmaz@hotmail.com