

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN YARA
MODELİNDE CİVANPERÇEMİ (*ACHILLEA MILLEFOLIUM*)
BİTKİSİNİN YARA İYİLEŞMESİ VE OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Sağlık Memuru Turgut AKYOL
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç Dr. Ahmet UYAR

VAN-2017

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN YARA
MODELİNDE CİVANPERÇEMİ (*ACHILLEA MILLEFOLIUM*)
BİTKİSİNİN YARA İYİLEŞMESİ VE OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Sağlık Memuru Turgut AKYOL
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç Dr. Ahmet UYAR

VAN-2017

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2016 (ID: 5217) nolu proje olarak desteklenmiştir.

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN YARA MODELİNDE
CİVANPERÇEMİ (*ACHILLEA MILLEFOLIUM*) BİTKİSİNİN YARA İYİLEŞMESİ
VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI.

Sağlık Memuru Turgut AKYOL
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
VETERİNER PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Zabit YENER
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Mehmet Salih KAYA
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ahmet UYAR
Üye- Danışman

TEZ KABUL TARİHİ

30/11/2017

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren, desteği, bilgisi ve tecrübelerini paylaşarak her konuda bana destek olan Patoloji Anabilimdalı başkanı Prof. Dr. Zabit YENER'e, tez konumu belirleyerek planlayan, deneylerin gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi aşamalarında bilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ahmet UYAR'a, çalışmalar sırasında desteğini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Turan YAMAN ve Araş. Gör. Ömer Faruk KELEŞ'e, birlikte çalıştığımız Yüksek Lisans Öğrencisi Erhan ESİM'e, bitkilerin toplanması aşamasında yardım eden Atıla TOPTAŐ'a projemize destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (YUBAP) Koordinatörlüğüne, Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Müdürü Doç. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN ve personeline, Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü personeline teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim anneme, babama, kardeşlerime ve sevgili eşim iğdem AKYOL'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Teşekkür	III
İçindekiler	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Şekiller Dizini	VII
Tablolar Dizini	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Yara İyileşmesi	2
2.1.1. Yara	2
2.1.2. İyileşme	2
2.1.3. Yara iyileşme tipleri	3
2.2. Yara İyileşme Evreleri	5
2.2.1. İnflamatuar evre	5
2.2.2. Proliferatif evre (Fibroblastik evre)	6
2.2.3. Maturasyon evre	7
2.3. Epitelizasyon	8
2.4. Yaraların Sınıflandırılması	9
2.4.1. Akut yara	10
2.4.2. Kronik yara	10
2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	10
2.6. Civanperçemi (<i>Achillea millefolium</i>)	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Deney Hayvanları	15

3.2. Bitki Numunelerinden Pomad Hazırlanması	15
3.3. Grupların Oluşturulması	15
3.4. Yara Oluşturulması ve Takibi	16
3.5. Biyokimyasal İnceleme	17
3.6. Histopatolojik İnceleme	17
3.7. İmmünohistokimyasal İnceleme	18
3.8. İstatiksel Analiz	18
4. BULGULAR	19
4.1. Makroskobik Bulgular	19
4.2. Histopatolojik Bulgular	21
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	24
4.4. Yara Boyutu.....	27
4.5. Biyokimyasal Bulgular.....	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
ÖZET	40
SUMMARY	41
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	48
EKLER	49
EK 1. Etik Kurul Onay belgesi	49
EK 2. Etik Kurul Kesin Sonuç Raporu	50
EK 3. Tez Orjinallik Raporu	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Derece
ALT	: Alaninaminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
Ca	: Kalsiyum
Cm	: Santimetre
CP	: Civanperçemi
Cre	: Kreatinin
Dk	: Dakika
DL	: Desilitre
Fe	: Demir
GAG	: Glikozaminoglikanlar
Gr	: Gram
HE	: Hemotoksilen-eosin
Kg	: Kilogram
Lt	: Litre
M	: Madecazol
Mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
ml	: Mililitre
Mm	: Millimetre
Mm2	: Millimetre Kare
Mmol	: Millimol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Anjiogenezis	7
Şekil 2.	Yara iyileşme evreleri.....	8
Şekil 3.	Civanperçemi (<i>Achillea millefolium</i>) bitkisinin genel görünümü.....	13
Şekil 4.	Yara oluşturulma öncesi ratın sırt derisinin tıraşlanmış ve dezenfekte edilmiş hali.....	16
Şekil 5.	Yara oluşturulmuş ratların postoperatif tedavi sonrası görünümü.....	17
Şekil 6.	Ratlarda eksizyonel yara oluşturulması ve yara boyutunun ölçülmesi.....	17
Şekil 7.	Kontrol grubu: Yara boyutunun7. gündeki morfolojik örünüğü.....	19
Şekil 8.	Madecazol grubu: Yara boyutunun7. gündeki morfolojik görünümü.....	19
Şekil 9.	Civanperçemi grubu: Yara boyutunun7. gündeki morfolojik görünümü...	20
Şekil 10.	Kontrol grubu: Yara boyutunun15. gündeki morfolojik görünümü.....	20
Şekil 11.	Madecazol grubu: Yara boyutunun15. gün deki morfolojik görünümü....	20
Şekil 12.	Civanperçemi grubu: Yara boyutunun15. gündeki morfolojik.....	20
Şekil 13.	Kontrol grubunda epidermis ve dermisin 7. günde ışık mikroskobik görünümü. H.E.....	21
Şekil 14.	Madecazol grubunda epidermis ve dermisin 7. günde ışık mikroskobik görünümü. H.E.....	22
Şekil 15.	Civanperçemi grubunda epidermis ve dermisin 7. günde ışık mikroskobik görünümü. H.E.....	22
Şekil 16.	Kontrol grubunda epidermis ve dermisin 15. günde ışık mikroskobik görünümü. H.E.....	23
Şekil 17.	Madecazol grubunda epidermis ve dermisin 15. günde ışık mikroskobik görünümü. H.E.....	23
Şekil 18.	Civanperçemi grubunda epidermis ve dermisin 15. günde ışık mikroskobik görünümü. H.E.....	24
Şekil 19.	Normal sağlam derinin epidrmis ve dermis katmanlarında güçlü GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.....	25

Şekil 20.	Kontrol grubu ratların yara bölgesi epidermis ve dermis katmanlarında orta derecede GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.....	26
Şekil 21.	Madecazol grubu ratların yara bölgesi epidermis ve dermisindeki katmanların da güçlü GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.....	26
Şekil 22.	Civanperçemi grubu ratların yara bölgesi epidermis ve dermisindeki katmanların da güçlü GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.....	27
Şekil 23.	Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre karşılaştırması.....	28
Şekil 24.	ALT (Alaninaminotransferaz) düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	30
Şekil 25.	AST (Aspartat aminotransferaz) düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	31
Şekil 26.	Mg (Magnezyum) düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	31
Şekil 27.	Fe (Demir) düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	31
Şekil 28.	K (Potasyum) düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	32
Şekil 29.	TP (Total Protein) düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	32
Şekil 30.	Ca (Kalsiyum) düzeyinin gruplara göre dağılımı	32
Şekil 31.	Kreatinin düzeyinin gruplara göre dağılımı	33

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Gruplara göre GPx1 immün reaktivitesinin gruplara göre dağılımı.....	25
Tablo 2.	Gruplara göre GPx1 immün reaktivitesiskor ortalamaları.....	25
Tablo 3.	Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre dağılımı.....	27
Tablo 4.	Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre dağılımı.....	28
Tablo 5.	Gruplara göre yara bölgesinden alınan dokulardaki lipid peroksidasyon ve antioksidan savunma sistemi düzeyleri.....	29
Tablo 6.	Gruplar arasındaki bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.....	30

1. GİRİŞ

Yara iyileşmesi, doğumdan sonraki en karmaşık biyolojik olaylardan biri olup farklı yapıdaki dokuların etkileşiminin bir sonucudur. Doku harabiyeti ile meydana gelen olaylarla başlayan yara iyileşmesi süreci, yangı, angiogenezis, fibroblast çoğalması, yara kapanması, epitelizasyon ve matriksin yeniden şekillenmesi gibi birçok hücrenel ve moleküler olayları içerir (Duarte ve ark., 2009; Jagetia ve ark., 2009).

Yara iyileşme sürecini kısaltma ve ideal skar oluşumunu sağlamada temel yaklaşım, bu süreçte rol oynayan başta inflamatuvar hücreleri, trombositleri ve mediyatörler olmak üzere, kollajen sentezini, anjiyogenezi ve hücre dışı matriks gibi etmenleri etkilemektir (Kapan ve ark. 2008; Özler ve ark. 2010). Yaralanma sonucunda, gerek yara bölgesinde, gerekse uzak doku ve organlarda yapı ve fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkabilir (Çavdar ve ark., 1997). Yaralanmalarda oluşan damar zedelenmeleri, damar duvarlarında enflamasyon ve pıhtılaşmayı başlatan mediyatör maddelerin kana salıverilmesini sağlar. Böylece yaralı dokunun iyileşme süreci başlamış olur (Sen ve Roy, 2008; Özkorkmaz ve Özay, 2009).

Eski zamanlardan beri yara tedavisinde hangi bitkinin kullanılacağı yaşanan bölgelerdeki insanların tecrübelerinden destek alarak kullanılmıştır. Bu tür anonimleşmiş bitkisel ilaçlar, özellikle kırsal bölgelerde sağlık hizmetine önemli katkıları olmuştur (Adetutu ve ark., 2011).

Bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan yara modelinde civanperçemi (*Achillea millefolium*) bitkisinin yara iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine etkisinin histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Organizmamız çevre ile devamlı ve karşılıklı bir etkileşim içindedir. Doku harabiyeti sonucu yaralanma gerçekleştiğinde, vücudumuzun sistemleri karmaşık ve birbirleri ile ilişkili bir seri yapılanma sürecine girer. Yara oluşumundan sonra başlayıp, bir süre sonra dokunun tekrar eski durumunu almasına kadar geçen süredeki tüm olaylar yara iyileşmesinin kapsamına girer (Agarwal ve ark., 2005).

Yara iyileşmesinin temelini, hücre büyümesi ve yenilenmesi, yani rejenerasyon oluşturur. Organizmada ölü hücrelerin yenilenmesi ve lokal zedelenmede onarım gücü yaşam için kritik önem taşır. Onarım belirgin iki durumu içerir. Bunlardan birincisi olan rejenerasyon; zedelenen hücrenin aynı tipte hücreler tarafından yenilenmesidir. İkincisi ise Reparasyon; kalıcı nedbe dokusunun oluşması durumunda bağ dokusunun zedelenen dokunun yerini almasıdır. Hem rejenerasyon hem de reparasyon, temelde hücre göçü, büyümesi ve farklılaşmasını içeren mekanizmalarla sağlanır (Forrester ve ark., 1973; Calvin, 1998).

2.1.1. Yara

Fiziksel, kimyasal, ısı, radyasyon ve cerrahi müdahalelere bağlı veya kendiliğinden gelişen doku bütünlüğünün bozulması, yara olarak tanımlanır. Diğer bir deyişle yara, yaralanma nedeniyle vücudun herhangi bir dokusunda meydana gelen anatomik, fizyolojik ve fonksiyonların işlevinin azalması ya da doku veya organların çeşitli etkenler tarafından tamamen veya kısmen fonksiyonlarının bozulmasına denir (Aydın ve ark. 2002).

2.1.2. İyileşme

İyileşme kısaca; ölmüş veya hasar görmüş hücrelerin yerine yeni hücre şekillenmesi işlemidir (Aydın ve ark., 2002). Meydana gelen hasar sonucu bazı dokular eski haline gelemediğinden dolayı kalan dokularda tam olarak bir iyileşme gerçekleşmeyebilir. Bu nedenle yara bölgesindeki gerçek dokunun yerini, bütünlüğünü

kısmen veya tamamen sağlayan ancak fonksiyonları aynen yerine getiremeyen bağ dokusu alır (Kamolz ve ark., 2004).

Yara iyileşmesi karmaşık fakat bir okadar da düzenli bir mekanizmalar zinciri olup şu olayları içerir:

- 1- Başlangıç hasarı nedeniyle oluşan akut yangısel yanıt
- 2- Hücre rejenerasyonu
- 3- Hücre migrasyonu ve çoğalması
- 4- Hücre dışı matriks proteinlerin sentezi
- 5- Doku fonksiyonlarının restorasyonu için parankimal elemanların modelasyonu
- 6- Yara direncinin kazanabilmesi için bağ dokusunu yeniden modelasyonu (Forrester ve ark., 1973; Calvin, 1998).

2.1.3. Yara iyileşme tipleri

I- Primer iyileşme

II- Sekonder iyileşme

II- Terisyer iyileşme (Gecikmiş primer iyileşme)

I -Primer iyileşme

Bakteriyel enfeksiyonun ve doku harabiyetinin az olduğu durumlarda yara kenarlarının direk yaklaştırılarak sütüre edilmesi ile kapanması sonucu meydana gelen iyileşmedir (Buttenschoen ve ark., 2001). Bu iyileşme tipinin geç primer kapanan formu da vardır. Primer iyileşmede hasara uğramış doku, kontaminasyonu engellemek için yara bir süre kapatılır (Heller ve ark., 2006). Kapanan yarada bakteriyel kontaminasyonun olmaması için daha sonra açık bırakılır. Açık bırakılan yarada oksijenizasyonun artması dokuya kan akışının hızlanması iyileşmeyi hızlandırır. 24 saat içerisinde ensizyon bölgesinde fibrin tıkaçı doğru nötrofil hareketi görülür. Yara kenarındaki epidermisin bazal katmanı mitozla çoğalarak kalınlaşmaya yol açar. Epitel hücreler 24-48 saat içinde yara kenarlarından göç ederek yüzeydeki kabuk altında kaynaşarak sürekli ince bir tabaka oluşturur (Forrester, 1973; Buttenschoen ve ark., 2001).

Üçüncü günde nötrofillerin yerini büyük ölçüde makrofajlar alır. Granülasyon dokusu yara mesafesini giderek azalır (Heller ve ark., 2006). Yara kenarlarında başlangıçta dikey olarak yönlendirilmiş kollajen lifler görülür. Böylece epitel hücre çoğalır ve epidermis örtücü tabakası kalınlaşmış olur (Kamolz ve ark., 2004).

Beşinci günde yara bölgesi granülasyon dokusuyla dolar ve anjiogenezis artar. Kollajen fibrillerde daha da artış meydana gelerek ensizyon hattından karşıya geçer. Epidermis normal doku kalınlığına ulaşır ve sonuçta yüzeydeki hücreler olgun epidermis yapısı kazanır (Buttenschoen ve ark., 2001; Kumar ve ark., 2004).

İkinci hafta süresince yara bölgesinde kollajen ve fibroblast artışı devam eder. Lokosit infiltrasyonu, ödem ve anjiogenezis büyük ölçüde kaybolur (Kumar ve ark., 2004). Bu sürede uzun bir süreç olan skar oluşumu başlar. Ensizyon skarlarında kollajen birikimi artar ve damarsal yapıların gerilemesi başlar (Kamolz ve ark., 2004).

Birinci ayın sonunda, epidermisle örtülü hücresel bağ dokusunun olduğu skar oluşmuş olur. Daha sonra yaranın tamamen kapandığı gözlenir (Buttenschoen ve ark., 2001).

II-Sekonder iyileşme

Sekonder iyileşme, granülasyon dokusunun yara bölgesine gelmesi, yara alanını doldurması, rejenerasyon ve reeptilasyonun gelişmesi ile meydana gelen iyileşmedir. Bu iyileşme; infarktüs, ülserleşme, apse oluşumu ve büyük doku kaybı olan yüzey yaraları gibi daha fazlaca hücre ve doku kaybının olduğu durumlarda meydana gelen onarım olayıdır. Hücre rejenerasyonu, yapı ve fonksiyonel olarak orijinal yapıyı tam anlamıyla sağlayamaz. Onarımı tamamlamak üzere fazla miktarda granülasyon dokusu yara kenarlarından yara alanına ilerler (Sayek ve Özmen, 2009).

Sekonder iyileşmenin primer iyileşmeden farkları:

- 1- Büyük doku defektlerinin olduğu sekonder iyileşme; başlangıçta uzaklaştırılması gereken daha fazla fibrin, nekrotik doku ve eksudat içerir. Sonuçta iltihabi ortam daha fazla olur (Brunicardi, 2000).

- 2- Daha fazla granülasyon dokusu oluşur. Büyük defektler, iç organ gibi derin dokularda oluşursa granülasyon dokusu ile içinde fagositik beyaz hücreler kapanmanın tam sorumluluğunu taşırlar (Sayek ve Özmen, 2009).
- 3- Büyük yüzey yaralarında görülen yara kontraksiyonu belki de primer iyileşmeyi sekonder iyileşmeden ayıran en iyi niteliktir. Büzüşme, fibroblastlardan farklılaşan ultrastrüktüel ve fonksiyonel birçok nitelikleri düz kas hücresiyle eş değer olan myofiblastlar tarafından sağlanır (Brunicardi, 2000; Sayek ve Özmen, 2009).

III-Tersiyer iyileşme (Gecikmiş primer iyileşme)

Sekonder iyileşmede olan yaranın tekrar eski hale geldiğinde sütüre edilerek kapatılmasıdır (Calvin, 1998).

2.2. Yara İyileşme Evreleri

Yara iyileşmesinin üç evresi belirlenmiştir.

- 1). İnflamatuvar evre
- 2). Proliferatif evre (Fibroblastik evre)
- 3). Maturasyon evresi (Remodeling evresi)

2.2.1. İnflamatuvar evre

Yaralanmanın başlangıcından itibaren 24-48 saat içinde bu evre sonlanır. Yara iyileşmesinin ilk basamağı olan akut inflamasyon, hemostazın sağlanması, mekanik, bakteriyel ve kimyasal etmenlere karşı yangısal cevabın meydana gelmesini sağlar. Kan damarları, bu sürecin en önemli elemanıdır. İlk önce bölgesel kanama başlar ve doku laserasyonunu takiben pıhtılaşma mekanizması harekete geçer (Sisco, 2003). Pıhtılaşma mekanizması, pıhtılaşmanın esas elemanı olan trombositlerce yönlendirilir. Bu evrede, trombositlerce başlangıç trombüsü oluşturulup mediyatörler ve gelişme faktörleri salgılanır. Bu mediatörler nötrofil ve makrofajlar için kemotektan görevi görürler. Yara

alanına gelen nötrofil ve makrofajlarca nekrotik doku ve bakteriler ortamdaki uzaklaştırılır (Westaby, 1986).

2.2.2. Proliferatif evre (Fibroblastik evre)

Yaralanmadan sonraki 24-72 saatleri arasında başlar ve ortalama 21 gün sürer. Bu dönemde ana hücreler fibroblast ve endotel hücrelerdir. Bu hücreler 72. saatte yara bölgesine doğru hareket ederler ve proliferatif evrenin başlangıç hareketini oluşturur. Proliferasyon evresi iki alt başlıkta incelenebilir:

I-. Fibroblast proliferasyonu

II-. Anjiogenezis

I-Fibroblastik proliferasyon

Yara çevresindeki doku hücrelerinden köken alan fibroblastlar bu evrede yara alanına geçmeye başlar. Fibroblastların yara yerine doğru hareket etmesi ve fonksiyonlarını yerine getirmesi yeterli oksijenizasyonla olur. Fibroblastlar, yara iyileşmesi için gerekli çok önemli maddeler olan glikozaminoglikan ve kollajen lifleri üretir.

1- Glikozaminoglikanlar (GAG)

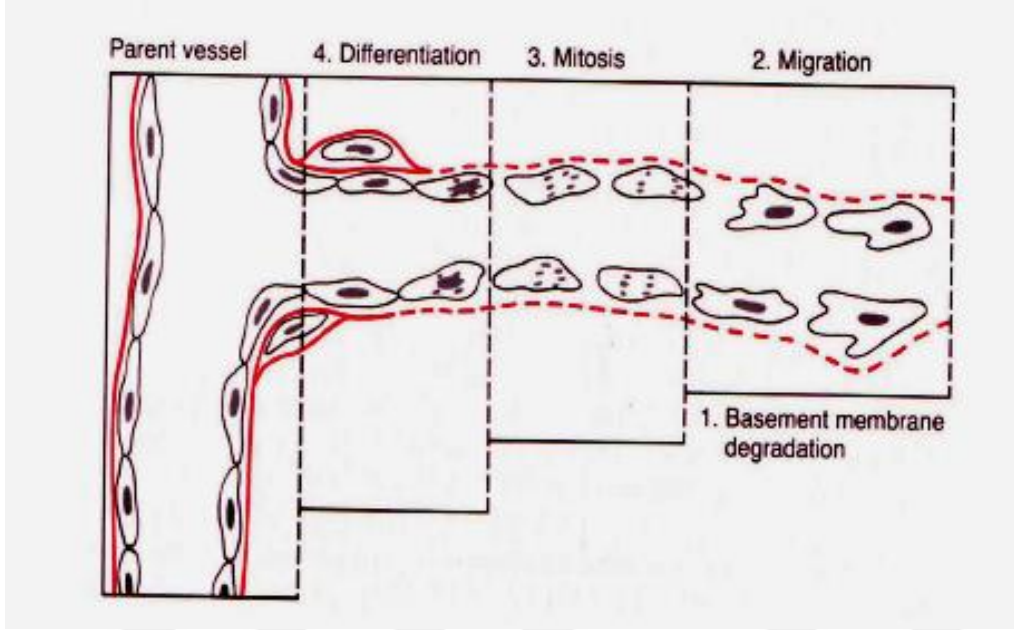
Yara alanında oluşan glikozaminoglikanlar ve kollajen liflerinin agregasyonu, kollajen lifleri ve hücrelerin organizasyonunun sağlanmasında, kollajen liflerinin oryantasyonu ve boyutlarının kontrolünde rol alır (Lazarus ve ark., 1994; Brunicardi, 2000).

2- Kollajen sentezi

Kollajen, bağ dokunun ana makromolekülü olup başta fibroblastlar olmak üzere pek çok hücreden sentez edilebilmektedir. Fibroblastlar, nedbe dokusu oluşumunda ve yumuşak doku zedelenmesinin iyileşmesinde başlıca ürün olan kollajeni oluşturarak yara iyileşmesini sağlarlar (Lazarus, 1994).

II-Anjiogenezis

Anjiogenezis; yaralanma sonrası 4. günde başlar. Makrofajlarca salınan ve endotel ve mezotel hücreleri için kemoatraktan moleküller olan anjiogenik faktörlerin stimülasyonu ile tetiklenir (Calvin, 1998).



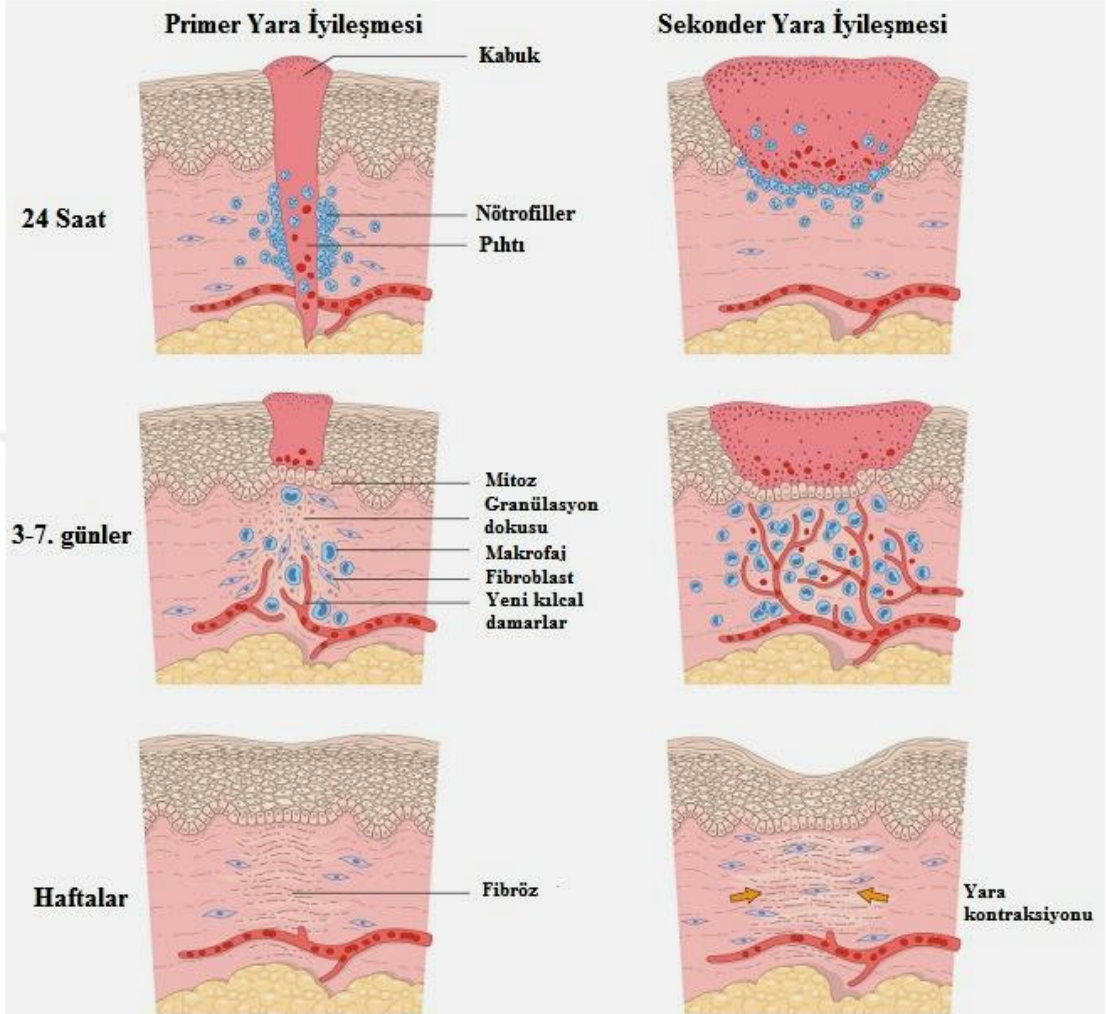
Şekil 1. Anjiogenezis (Calvin, 1998).

Endotel hücre proliferasyonu ile yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluşur. Yeni kapiller ağlar ve kapiller yataklar oluşumu, bu tomurcukların ilerleyip diğerleriyle aralarında yeni bağlantılar oluşturmasıyla şekillenir (Cromack, 1998).

2.2.3. Maturasyon evresi

Bu evrede, hem akut ve hem de kronik yangı hücrelerinde gittikçe bir azalma, anjiogeneziste sonlanma ve fibroplazi görülür. Maturasyon evresi, genellikle yaralanmadan sonraki iki ile üçüncü hafta arasında başlar, ortalama bir seneye kadar devam eder (Cromack, 1998). Maturasyon evresinde, interselüler matriks moleküllerinde görülen diğer birtakım değişiklikler de şekillenir. Hiyaluronik asit, kondroidin-4-sülfat gibi GAG ve proteoglikan miktarları dermiste bulunan normal düzeye iner, dokuların su içeriği kademeli olarak azalıp normale döner. Bu evrede

kollajende kalınlaşma ve yoğunlaşma, kan damarlarında giderek kaybolma görülür (Aydın ve ark., 2002; Yang, 2006).



Şekil 2. Yara iyileşme evreleri (Yang, 2006).

2.3. Epitelizasyon

Epitelin temel fonksiyonu, vücut yüzeyi ve çevre arasında bakteri, toksik madde, radyasyon gibi çeşitli etkenlere karşı bir bariyer oluşturmaktır. Ayrıca dış ortam ve vücut arasındaki sıvı-elektrolit ve diğer maddelerin geçişini ve dengesini sağlar. Ancak bu bariyer mutlak bir bariyer değildir. Patojen mikroorganizmalar, toksik maddeler ve iyonize radyasyon bu bariyeri geçerek vücut iç ortamına ulaşabilir. Epitelizasyon yaralanmadan sonraki birkaç saat içinde başlar. Epitel hücreleri trombositler ve makrofajlardan salgılanan gelişme faktörlerinin etkisiyle yara alanına doğru harekete

geçerler. İyi yakınlaştırılmış cerrahi ensizyonlarda 24-48 saat içinde epitelizasyon başlar (Bassett ve ark., 1977; Buttenschoen ve ark., 2001; Agarwal ve ark., 2005).

Epitelizasyon 4 basamakta gerçekleşir:

Mobilizasyon,

Migrasyon,

Mitozis,

Hücrel farklılaşma,

Yara iyileşmesinin epitelial bölümü hücrelerin mobilizasyonu ve migrasyonu ile başlar. Yara kenarına bitişik olan epitel hücreleri, genişleyip düzleşerek, komşu hücre ile bazal membrandan ayrılır, böylelikle mobilizasyon prosesi başlamış olur. Bu hücreler yassılaştıkça bitişikteki epitelial hücrelerinden uzaklaşma eğilimine girerler. Epitel hücreleri yara kenarında apiko-bazal polaritelerini kaybetmişlerdir, yara üzerinden serbest bazolateral kenarlarından psödopodlar uzatarak ilerlerler. Hücrelerin migrasyonu kontak inhibisyonun kaybı ile başlar. Kontak inhibisyonu ortadan kalkan hücre, yara boşluğuna doğru ilerler. Epitelial hücre akımı, hücreler karşılıklı gelinceye kadar devam eder ve kontak inhibisyonun yeniden oluşmasıyla migrasyon tamamlanır. Göç eden hücrelerde mitoz başlar. Sabit bazal hücreler tüm yara yüzeyine doğru proliferer olur. Hücre sayısının artışı yeni epitelial tabakayı kalınlaştırır. Reepitelizasyon sağlandıktan sonra, bazal tabakadan yüzeye doğru, stratum korneumun tekrar oluşması için farklılaşma başlar ve keratinosit hücreleri meydana gelir. Tüm bu prosesleri; yara alanının büyüklüğü, beslenme, kalan bazal hücrelerin sayısı ve çevre şartları gibi faktörler etkiler (Bassett ve ark., 1977; Buttenschoen ve ark., 2001; Agarwal ve ark., 2005; Cowan, 2005).

2.4. Yaraların Sınıflandırılması

Akut ve kronik yaralar olarak iki başlıkta incelenir.

2.4.1. Akut yara

Zamanında ve uygun şekilde onarım işleminin yapıp anatomik ve fonksiyonel bütünlüğün sağlandığı yaralardır. Akut yara iyileşmesinde birbirinden ayrı ancak iç içe geçmiş üç basamak bulunmaktadır (Yara alanında oluşan glikozaminoglikanlar, 1998).

I. İnflamasyon fazı: İki basamak olan bu evre dört gün kadar devam edebilir.

a) Hemostaz ve nötrofil fonksiyonlarının baskın olduğu erken dönem,

b) Makrofaj fonksiyonlarının baskın olduğu geç dönem.

II. Proliferasyon fazı: Granülasyon dokusu oluşumu ve epitelizasyonun tamamlandığı dönemdir. Genel itibariyle dördüncü günden sonra başlar ve yaklaşık bir ay sürer.

III. Olgunlaşma ve yeniden şekillenme fazı: Proliferasyon döneminin sonu olan birinci aydan sonra başlayıp yaranın tamamen kapanmasının ardından yıllarca devam edebilir (Forrester, 1973; Cromack ve ark., 1991).

2.4.2. Kronik yara

Geç iyileşen ya da hiç iyileşmeyen yaralar olarak adlandırılır. Kısaca bir yaranın üç ay gibi bir süre içinde tamamen iyileşmemiş olması ya da yara sonrası büyük izlerin olması o yaranın kronikleştiğinin bir işareti olarak ifade edilir. Diyabetik ayak yaraları, dekübitis yaraları, venöz ülserler, iskemik ülserler, çeşitli vaskülitlere bağlı yaralar bu kapsamda bulunmaktadır. Kronik yaralara; obezite, sigara, beslenme bozukluğu, ileri yaş, vitamin ve iz element eksikliği, malignite, kemoterapi ve ışın tedavisi, immunitiyi baskılayan ilaç kullanımı, steroid ve antikoagülan kullanımı gibi çok çeşitli faktörler neden olabilmektedir (Forrester, 1973; Cromack ve ark., 1991).

2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Düzenli yara iyileşmesi sırasında gelişen olayların değişmesine sebep olan bir kısmı belirli bir kısmı ise bilinmeyen çok sayıda etken rol oynar. Bunlar bazen onarım

olayının kalitesini ve yeterliliğini bozar (Cromack, 1991; Sisco ve ark., 2003). Bu faktörlerden sıklıkla karşılaşılanları şunlardır:

1) Yaş: Yaşın ilerlemesiyle birlikte yara kapanma hızlarında düşüş gözlenmektedir. İnflamatuvar yanıt yaşın ilerlemesiyle azalır ve yara iyileşme süresi uzar (Sisco ve ark., 2003).

2) Beslenme: Yara bölgesi, hızlı metabolik aktiviteden dolayı fazla miktarda besine ihtiyaç duyar. Protein, karbonhidrat, yağ ve vitamin yetersizliği ile buna bağlı olarak kilo kaybı yara iyileşmesini negatif etkiler (Cromack, 1991; Brunicardi, 2000; Sisco ve ark., 2003).

3) Çevre sıcaklığı: Yara iyileşmesi 30 °C' de artar. Yara gerilim direnci soğukta (12 °C' de) % 20 azalır (Sisco ve ark., 2003).

4) Sigara kullanımı: Nikotin sempatik sinir sistemine etki ederek vazokonstriksiyon ve kapiller kan akımında azalma ile distal hipoperfüzyon meydana getirdiğinden dolayı yara iyileşmesi gecikir (Brunicardi, 2000; Sisco ve ark., 2003).

5) Oksijen: İyileşme süresince yaranın normal dokulardan daha fazla oksijene ihtiyacı vardır. Oksijen, nötrofillerin bakteri fagositozunda, fibroblast ve epitel hücre proliferasyonunda ve kollajen sentezinde rol oynar. Yara bölgesindeki parsiyel oksijen basıncının direk olarak epitelyal hücre proliferasyon hızını etkilediği gösterilmiştir (Cromack, 1991; Çetingül, 1997; Sisco ve ark., 2003).

6) Hemoglobin-hematokrit: Dokuya oksijen taşıma ve doku oksijenizasyonunun sağlanmasında görevli ve dokunun beslenmesi için önemli faktörlerdir (Sisco ve ark., 2003; Sayek ve Özmen, 2009).

7) İmmunosupresyon: Kemoterapötik ilaçların sıkça kullanımı nedeniyle oluşan immunosupresif hastalarda nötrofil fonksiyonları bozulur. Dolaşımda nötrofil seviyesi düştüğü için yara yerine ulaşan sayıları da azalmış olur ve yara iyileşmesi yavaşlar (Cromack, 1991; Sayek ve Özmen, 2009).

8) Steroid ajanlar: Bu ajanların uzun süre kullanımı nedeniyle yara iyileşmesi baskılanır. Steroid ajanlar; makrofaj migrasyonu, nötrofil fonksiyonu, fibroblastların

kollajen sentezini inhibe ederek epitelizasyon ve anjiogenezisi geriletirler. Kronik steroid kullanan hastaların dermisi incelmış, kollajen düzeyleri ve yara iyileşme yeteneği azalmıştır (Sisco ve ark., 2003; Sayek ve Özmen, 2009).

9) Mekanik stres: Ciltteki anormal gerilim, iskemi, nekroz, dermis ruptürü ve kalıcı strese neden olabilir. Optimal mekanik stres altında, yara iyileşmesinin hızlandığı, skar dokusunun daha organize ve güçlü bir hale geldiği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Cromack, 1991; Sisco ve ark., 2003).

10) Enfeksiyon: Bakteriyel kontaminasyon doku oksijeninde azalmaya, kollajenolizisde artmaya, inflamatuvar evrenin uzamasına dolayısıyla epitelizasyon ve anjiogenezisde azalmaya neden olarak yara iyileşmesinde gecikmelere sebep olur (Cromack, 1991; Sisco ve ark., 2003).

Yara iyileşme sürecini kısaltma ve ideal skar oluşumunu sağlamada temel yaklaşım, bu süreçte rol oynayan başta inflamatuvar hücreler, trombositler ve mediyatörler olmak üzere, kollajen sentezini, anjiyogenez ve hücre dışı matriks gibi etmenleri etkilemektir (Kapan ve ark. 2008; Özler ve ark. 2010). Bu amaçla eski zamanlardan beri yara tedavisinde bitkisel ilaçlar kırsal bölgelerde sağlık hizmetine önemli katkılar sağlamıştır (Adetutu ve ark. 2011).

2.6. Civanperçemi (*Achillea millefolium*)

Asteraceae familyasından olan Civanperçemi (CP) (*Achillea millefolium*), yaklaşık bin yıldır halk hekimliğinde iyileştirici amacıyla kullanılan bitkilerden biridir (Lakshmi ve ark., 2011). *Achillea* türü truva savaşı sırasında yaralı askerleri iyileştirmek için *Achillea spp* bitkisini kullanan Yunan mitolojisinin önemli kahramanlarından biri olan *Achilles*'den almıştır (Barış ve ark., 2006). CP çok yıllık otsu bir bitki olup, dünyanın birçok yerinde görülmekle birlikte özellikle Asya, Avrupa ve Amerika kıtalarında haziran ve eylül ayları arasında yetişmektedir (Passalacqua ve ark., 2007; Vitalini ve ark., 2009). Kandil çiçeği, Akbaşı, Yaşlı adam, Biberi, Asker yarası, Binbir yaprak otu ve Barsama otu gibi yöresel değişik adlarla anılmaktadır (Nemeth ve ark., 2008). Türlerine göre bu bitkinin, yaprakları tüylü ve parçalı, çiçekleri; beyaz, fildişi beyazı, soluk sarı veya altın sarısı rengindedir. Güneşin fazla olduğu bölgelerde ve

azotça zengin topraklarda yetişmektedir (Nemeth ve Bernath, 2008). CP'nin yapısında yüzden fazla biyolojik aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir. Bitki, mavimtrak renginde, azulin, limonen, sinelol, bormeol, pinenler, seskiterenler gibi etken maddeler içeren uçucu yağa sahiptir. Çiçekli bitkilerden su buharı distilasyonu ile 100 gr bitkiden 0.1-0.4 lt uçucu yağ elde edilebildiği belirtilmiştir. Bitki genellikle çayırlarda, tarla ve yol kenarlarında kümeler halinde yetişir (Baytop, 1999; Anon, 1).



Şekil 3. Civanperçemi (*Achillea millefolium*) bitkisinin genel görünümü (Anon, 2).

Eski şifa kitaplarında civanperçemi; “tüm hastalıkların çaresi” olarak anılan değerli bir bitkidir. Hem bitki uzmanı hemde bir rahip olan Kneipp yazılarında civanperçemi için “arada sırada da olsa, hanımlar ona el atsalar dı pek çok hastalığı çekmemiş olurlardı” diye bu bitkinin önemini belirtmiştir (Anonim, 3). Bu bitki geleneksel olarak karaciğer, safra kesesi rahatsızlıklarında, menstürel düzensizliklerde, ateşin düşürülmesinde ve kardiyovasküler rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (Aljancic ve ark., 1999; Miraldi ve ark., 2001). Bitkiden hazırlanan pomadlar yara yüzeyine sürülerek antiseptik, antimikrobiyal, yara iyileştirici ve iltihap azaltmak amacıyla halk arasında kullanılmaktadır (Anonim, 3). Bitkiden hazırlanan çay; şiddetli soğuk algınlıkları, öksürük, grip, mide ülserleri, mide krampları, mide gazı gibi rahatsızlıklara karşı da kullanılarak terlemeyi arttırdığı, beyin ve sinir sisteminin işlevini hızlandırdığı, sinirleri kuvvetlendirdiği de belirtilmiştir. Rahim kanseri gibi çeşitli rahim rahatsızlıkları ve yumurtalık iltihaplarındada banyo tarzında kullanılması tavsiye edilmiştir (Anonim, 3).

Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarda bu bitki; karaciğer ve safra kesesi hastalıkları (Miraldi ve ark., 2001), gastrointestinal rahatsızlıklar (Benedek ve Kopp,

2007), menstrüel düzensizlikler (Newall ve ark., 1996), kanama durdurucu (Aljancic ve ark., 1999), Helikobakter pilori enfeksiyonu (Mahady ve ark., 2005) gibi hastalık tedavisi yanında anti-enflamatuvar (Benedek ve ark., 2007), ağrı kesici (Pires ve ark., 2009), antibakteriyel (Candan ve ark., 2003), anti paraziter (Murnigsih ve ark., 2005), antispazmotik ve hepatoprotektif (Yaeesh ve ark., 2006), kan basıncını düşürücü (Souza ve ark., 2011) ve Ca²⁺antagonisti (Yoshida ve ark., 1999) amaçlı da kullanılmıştır.

Halk arasında çeşitli rahatsızlıkları tedavi ettiği bilinmesine ve bitkinin genellikle toksikasyona yol açmadığı bildirilmesine rağmen (Kingsbury, 1964) alternatif tıp alanında kullanılan bütün bitkiler gibi CP'nin de bilinçsizce kullanılmaması tavsiye edilmiştir. Çünkü bazı bireylerde bu bitkinin ekstraktlarına karşı allerjik reaksiyonu geliştiği (Mathias ve ark., 1979), bu bitkiyle birlikte *Compositae* familyası üyesi bitkilerle birlikte kullanımda çarpaz reaksiyon verdiği rapor edilmiştir (Hausen, 1979). Ayrıca uygun süre ve dozlarda kullanılmamasına bağlı olarak dermatitise de yol açtığı bildirilmiştir (Philadelphia, 1928). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda çok yüksek dozlarda kullanımın herhangi bir ölüme neden olmadığı, ancak anormal sperm miktarında artış yaparak (Dalsenter ve ark., 2004) spermatogenezi bozduğu ve germ hücrelerinde nekrozlara sebep olduğu tespit edilmiştir (Montanari ve ark., 1998). Bu bitkinin ihtiva ettiği apigenin gibi bazı flavonoidlerin östrojenik aktivitesi olması sebebiyle, gıda takviyesi olarak alınması durumunda meme kanserini tetikleyebileceği bildirilmesine rağmen (van Meeuwen ve ark., 2007) dişi gebe sıçanlarla yapılan çalışmalarda herhangi bir uterotrofik göstermediği dolayısıyla maternal toksisiteye ait bulgu görülmediği belirtilmiştir (Boswell-Ruys ve ark., 2003; Dalsenter ve ark., 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada deney hayvanı olarak ortalama 150-250 gr ağırlığında Wistar-albino türü 24 adet rat kullanıldı. Ratlar Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izin (24.12.2015 tarih ve 2015/14 sayı) alındıktan sonra Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi Başkanlığından temin edildi. Deney süresince 12;12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırılması, 22±2 °C ısısı, % 45-50 nemi otomatik olarak ayarlanmış odalarda barındırılan ratlar, şehir şebeke suyu ve standart pellet yem ile beslendi

3.2. Bitki Numunelerinden Pomad Hazırlanması

Temmuz-Ağustos aylarında Van ili Erciş ilçesi Yukarıakçagedik Köyünden toplanarak gölgede kurutulan Civanperçemi bitkisinin çiçek kısımları öğütülerek toz haline getirdi. Toz haline gelen örnekten her ekstrasyon için 50 gr alınarak 500 ml metanol ile oda sıcaklığında 24 saat soxhlet cihazında ekstrasyona tabi tutuldu. Ekstrasyon sonrası vakumlu ortamda çözücüler uzaklaştırıldı. Ekstre 30 ml distile su ile karıştırılarak üzerine 80 gr gliserin ilave edilip tekrar karıştırılarak çok hafif alevde amyant üzerine konup karıştırılmaya devam edildi. Yarı şeffaf bir hal alıp ağırlığı 100 grama ininceye kadar ısıtıldı ve kutusuna konularak uygun şekilde etiketlenip kullanıncaya kadar uygun ortamda saklandı.

3.3. Grupların Oluşturulması

Ratlar her grupta sekizer adet olmak üzere üç gruba ayrıldı.

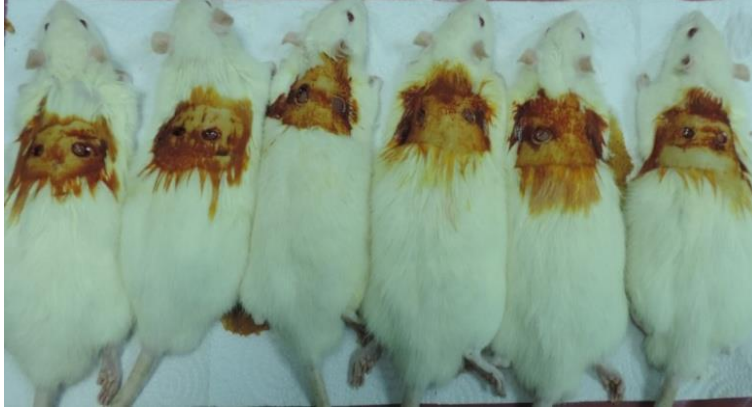
1. Kontrol (K) grubu: Bu gruptaki ratların yaraları sadece serum fizyolojik ile tedavi edildi.
2. Madecassol® (M) grubu: Pozitif kontrol amacıyla bu gruptaki ratların yaralarına Madecassol® (Bayer) pomad sürüldü.
3. Civanperçemi (CP) (Achillea millefolium) grubu: Bu gruptaki ratların yaralarına gliserinle hazırlanmış Civanperçemi pomadı uygulandı.

3.4. Yara Oluşturulması ve Takibi

Ratların dorsal interscapular b6lgelerinde oluşturulacak yaralar için 60 mg/kg Ketamine+10 mg/kg dozunda Xylazine ile anesteziyi sağlandı. Elektrikli tıraş makinesi ile yara oluşturulacak b6lgenin kılları temizlendi. Bu b6lge antiseptik solusyon ile silinerek antisepsisi sağlandıktan sonra 0.8 cm punch cihazı ile deride tam kat yara oluşturuldu. Yara b6lgesi 15 g6n boyunca, g6nde 1 defa lokal olarak pansuman edildi. 0, 4, 7, 12 ve 15. g6nlerde t6m grupların makroskobik resimleri çekildi ve yaraların izd6ř6mleri asetat kâğıdına çizilerek AutoCAD programı yardımıyla alan hesapları yapılarak yara iyileşmeleri takip edildi. Yara oluşumunu takiben, 7. ve 15. g6nlerde her gruptan 4'er adet rat, anestezi altında nekropsisi yapılarak yara b6lgelerinden histopatolojik incelemeler için yara b6lgesi doku 6rnekleri ve biyokimyasal incelemeler için kan 6rnekleri alındı.



şekil 4. Yara oluşturulma 6ncesi ratın sırt derisinin tıraşlanmış ve dezenfekte edilmiş hali.



Şekil 5. Yara oluşturulmuş ratların postoperatif tedavi sonrası görünümü.



Şekil 6. Ratlarda eksizyonel yara oluşturulması ve yara boyutunun ölçülmesi.

3.5. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimya testleri (ALT, AST, Total protein Kreatinin, Fe, K, Ca, Mg) için gerekli olan kan enjektörler yardımıyla ratların kalbinden alınarak biyokimya tüplerine aktarıldı. Tüpler dk/10000 devirde serumu ayrıştırılarak laboratuarda sonuçları analiz edildi. Ayrıca yara bölgesinden alınan deri doku örneğinde de oksidatif stres göstergesi olan Malondialdehid (MDA), Glutasyon (GSH) ve Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerine bakıldı.

3.6. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme için yara bölgesinden alınan deri dokusu örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 72 saat fikse edildi. Rutin takip işlemi kapsamında; doku örnekleri alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyonları; ksilol serilerinden

geçirilerek şeffaflandırılmaları sağlandı ve daha sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan mikrotomda (Leica RM 2135) 4µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H.E.) boyama tekniğine göre boyanarak araştırma mikroskobunda (Nikon 80i-DS-RI2) incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.7. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunohistokimyasal inceleme için 4 µm kalınlığında deri dokusundan alınan kesitler polilizin kaplı lamlara yerleştirildi. Alınan kesitler 1 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra iki ayrı ksilolde şeffaflaştırma, azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyonları sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Citrate buffer solüsyonu içinde oda sıcaklığında 20 dakika tutulan kesitler, endojen peroksidazı önlemek amacıyla % 3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 5 dk tutuldu. 3 defa 5'er dakika PBS ile yıkanan kesitlere anti-GPx1 (abcam-ab22604) primer antikoruna damlatılarak bir gece +4°C'de bekletildi. Sonraki gün PBS ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dk inkübasyona bırakıldı. Sekonder antikor damlatıldıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi kesitlerine kromojen madde olan 3,3'-Diaminobenzidine(DAB) damlatılarak görünür hale getirildi. Zemin boyaması Mayer's hematoksilen ile yapıldı. Dereceli alkollerde dehidratasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ksilol ile şeffaflaştırma yapılarak entellan ile kapatıldı. İmmunohistokimyasal boyama yoğunluğu değerlendirildi. GPx1 boyanma derecesi boyanma yoksa (-), zayıf boyanma (+1), orta boyanma (+2) ve güçlü boyanma (+3) olacak şekilde skorlandı. İmmunohistokimyasal olarak boyanan tüm preparatlar Nikon 80i-DS-RI2 araştırma mikroskobunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.8. İstatiksel Analiz

Biyokimyasal analiz sonuçları, ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) hazır program (spss) kullanarak standart metotlara göre yapıldı. Grup ortalamaları ve yara boyutları arasındaki fark Oneway ANOVA testine göre gerçekleştirildi.

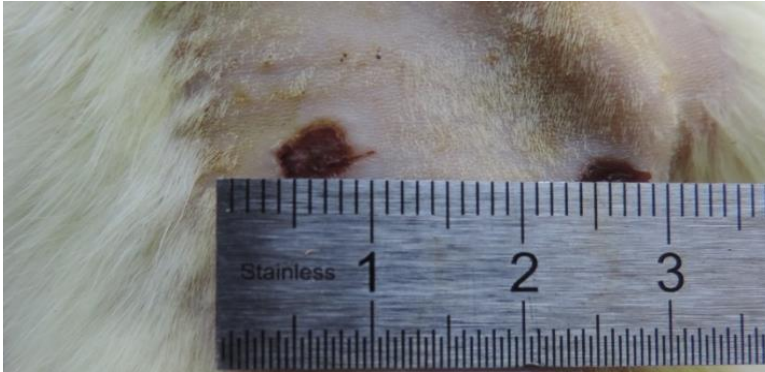
4. BULGULAR

4.1. Makroskobik Bulgular

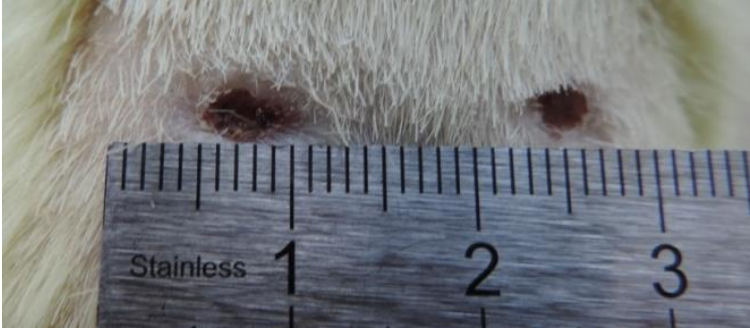
Çalışmanın 4 ve 7. gününde yapılan makroskobik incelemelerde K grubuna ait ratların yara bölgelerinde diğer tedavi gruplarına göre kısmen düzensiz bir kabuklanma ile yaranın değişik bölgelerinde eksudat gözlemlendi. CP ve M gruplarında kabuklanma daha düzenliydi. M grubuyla karşılaştırıldığında, CP grubunda kabuklanma daha düzenli bir görünüme sahip olup kabuklanma safhası hemen hemen tamamlanmıştı. 12. günde K grubundaki iyileşmenin CP ve M gruplarına göre yavaşlamaya başladığı gözlemlendi. K grubunda oluşan kabukta çatlaklar görüldü ve bu çatlaklar arasından seröz bir eksudatın dışarıya sızdığı tespit edildi. 15. günde CP grubunda yara iyileşmesinin büyük oranda sağlandığı ve yara izlerinin kaybolduğu gözlenirken, K grubundaki ratların yara bölgelerinde iyileşmenin biraz geciktiği, yara izlerinin tamamen kapanmadığı görüldü. Her üç grupta da enfeksiyona rastlanmadı.



Şekil 7. Kontrol grubu: Yara boyutunun 7. günde makroskobik görünümü.



Şekil 8. Madecazol grubu: Yara boyutunun 7. günde makroskobik görünümü.



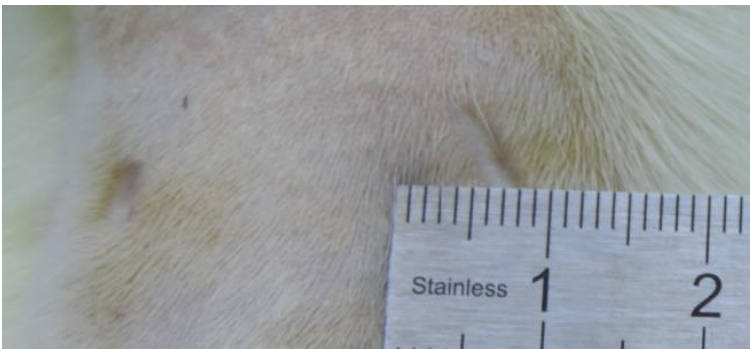
Şekil 9. Civanperçemi grubu: Yara boyutunun 7. günde makroskobik görünümü.



Şekil 10. Kontrol grubu: Yara boyutunun 15. günde makroskobik görünümü.



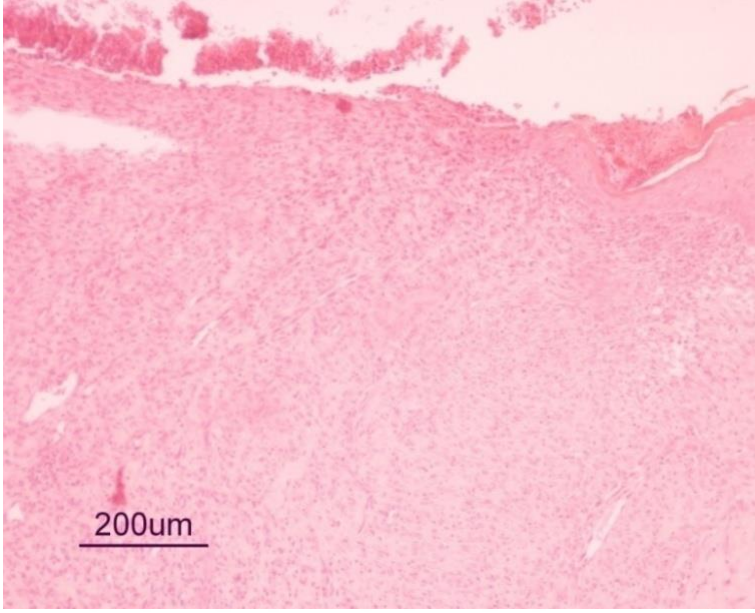
Şekil 11. Madecazol grubu: Yara boyutunun 15. günde makroskobik görünümü.



Şekil 12. Civanperçemi grubu: Yara boyutunun 15. günde makroskobik görünümü.

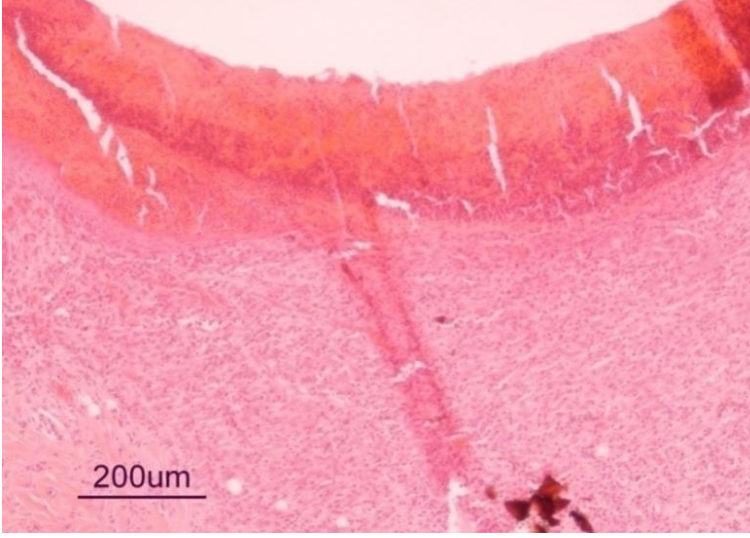
4.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol 7. Gün: Yara bölgesinde epitel rejenerasyonu hiç gelişmemiş ve anjiogenezis yetersizdi. Ensizyon bölgesinde yangısal hücrelerden zengin bir eksudatla birlikte gevşek bir bağ doku hücre proliferasyonu gözlemlendi. Yara bölgesinde ödem sekillenmişti (Şekil 13).



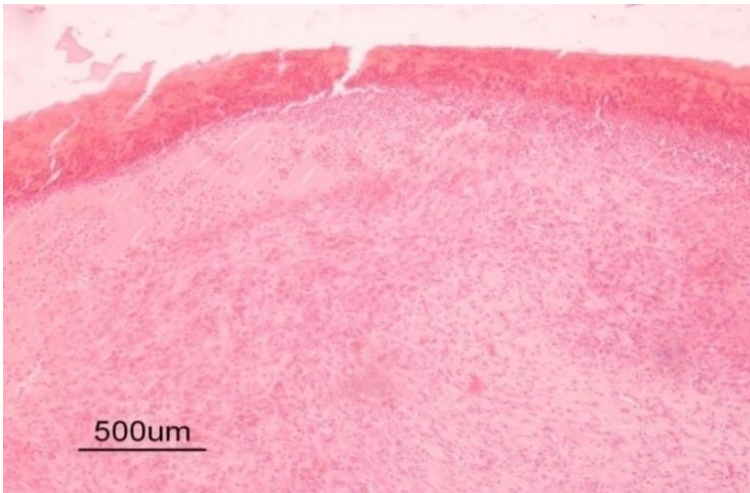
Şekil 13. Kontrol grubunda epidermis ve dermisin 7. günde mikroskopik görünümü. H.E.

Madecassol 7. Gün: Yara dokuları kesitlerinde kontrol grubuna göre epitelizasyonun belirgin olarak ilerlemiş olması dikkat çekti. Ensizyon bölgesindeki epidermiste epitel rejenerasyonu başlamıştı. Yara bölgesinde yaygın kapillar hiperemi ile birlikte dermis bölgesinde anjiogenezis ve çok sayıda mononükleer hücre içeren gevşek bağ doku proliferasyonu gözlemlendi (Şekil 14).



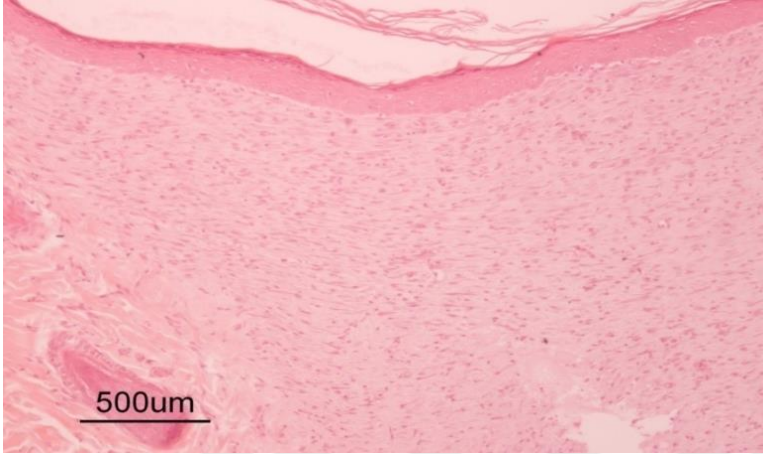
Şekil 14. Madecassol grubunda epidermis ve dermisen 7. günde mikroskopik görünümü. H.E.

Civanperçemi 7. Gün: Yara dokuları kesitlerinde epitelizasyonun kontrol grubuna göre belirgin ilerlemiş olması, Madecassol grubuna benzer bulgular olması dikkat çekti. Ensizyon alanının epidermis bölgesinde epitel rejenerasyonu yara kenarlarından başlamıştı. Yara bölgesinde kapillar hiperemi ve çok az sayıda epitel hücre aktivasyonu görüldü. Dermiste ise belirgin bir anjiogenezis ve bazı kapillar damarlarda hiperemiyle birlikte kısmen lenfoplazmasiter ve nötrofil lökositlerin oluşturduğu hücre infiltrasyonunu da içeren gevşek bağ doku proliferasyonu gözlemlendi (Şekil 15).



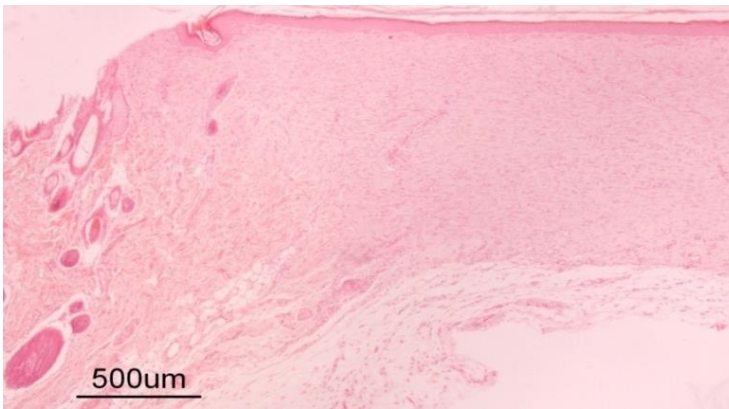
Şekil 15. Civanperçemi grubunda epidermis ve dermisen 7. günde mikroskopik görünümü. H.E.

Kontrol 15. Gün: Ensizyon bölgesindeki epidermiste rejenerasyonun tamamlanmış olduğu ancak yara bölgesinin içbükey görünümüne sahip olduğu, dermiste ise kapillar damar ve bağdoku proliferasyonu meydana geldiği gözlemlendi. Granülasyon dokusu içerisinde yaygın bir şekilde lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu vardı (Şekil 16).



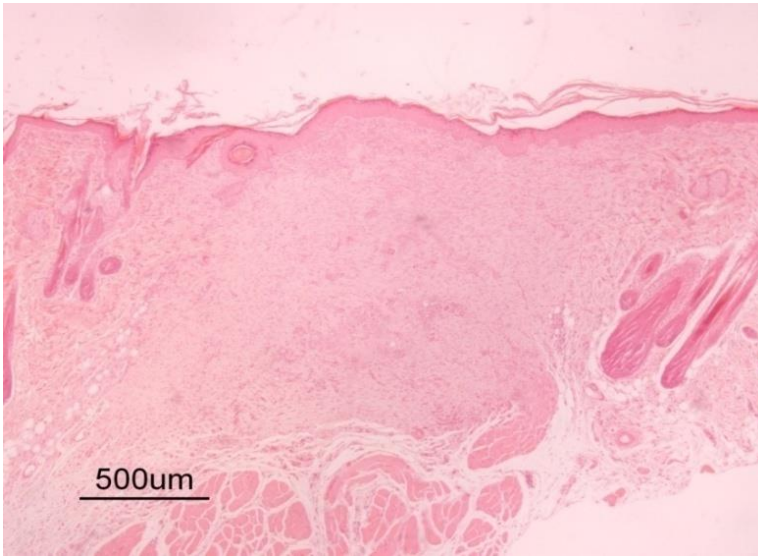
Şekil 16. Kontrol grubunda epidermis ve dermisen 15. günde mikroskopik görünümü. H.E.

Madecassol 15. Gün: Ensizyon bölgesinde epidermiste rejenerasyon tamamlanmış olup rejenerasyon epidermiste yara kenarları hemen hemen aynı seviyeye gelmiş, dermiste ise damarlardan ve yangı hücrelerinden fakir ancak olgun bağdoku hücrelerinden zengin doku proliferasyonu görüldü. Ödem kaybolmuştu. Granülasyon dokusu içerisinde tek tük lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu vardı (Şekil 17).



Şekil 17. Madecassol grubunda epidermis ve dermisen 15. günde mikroskopik görünümü. H.E

Civanperçemi 15. Gün: Ensizyon bölgesinde epidermiste rejenerasyon tamamlanmıştı. Bu rejenere doku fibrositlerden zengin fibroblast ve damar yapısı yönünden fakir olan sıkı bir bağ doku proliferasyonundan oluşmuştu. Stratum bazale belirgin olarak izlendi. Ayrıca rejenere epidermis girintili-çıkıntılı bir yüzeye sahip ve yara kenarlarıyla hemen hemen aynı seviyeye gelmişti. Dermiste ise damarlardan ve yangı hücrelerinden fakir ancak olgun bağdokudan zengin bir fibrozis görüldü. Epiderminin dermise doğru papiller uzantıları gözlemlendi. Granülasyon dokusu içerisinde tek tük lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu vardı. Ödem kaybolmuştu (Şekil 18).



Şekil 18. Civanperçemi grubunda epidermis ve dermisenin 15. günde mikroskopik görünümü. H.E.

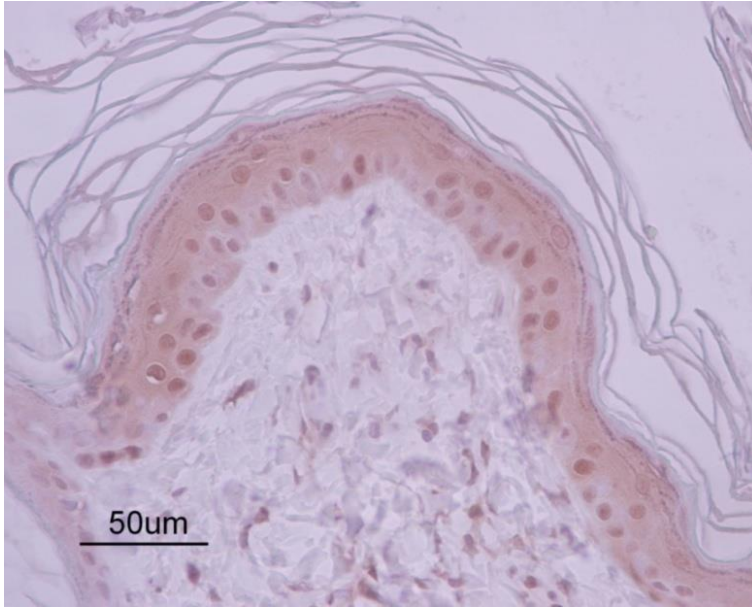
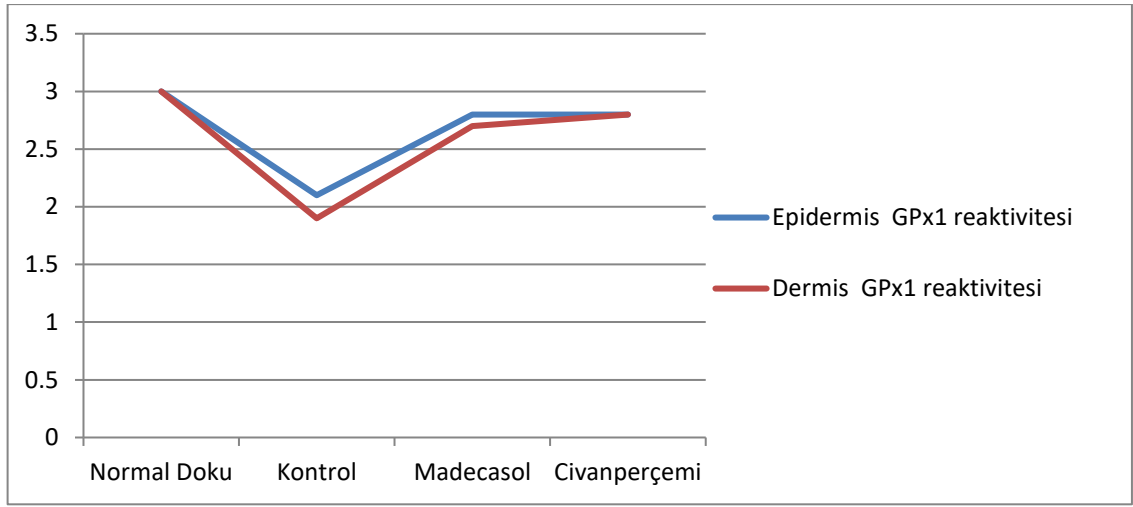
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

Deri dokusunun GPx1 primer antikoru ile immunohistokimyasal olarak yapılan incelemelerinde normal sağlam deriden alınan doku örneği ile Civanperçemi ve Madecazol uygulanan grupta epidermis ve dermis tabakasında (+3) düzeyinde güçlü immunreaktivite görülürken, kontrol grubunda (+2) düzeyde orta düzeyde GPx1 reaktivitesi gözlemlendi. Civanperçeminin oksidatif stres üzerine GPx1 immunreaktivitesinin gruplara göre boyanma dereceleri tablo 1, 2 ve şekil 19, 20, 21, 22’de sunulmuştur.

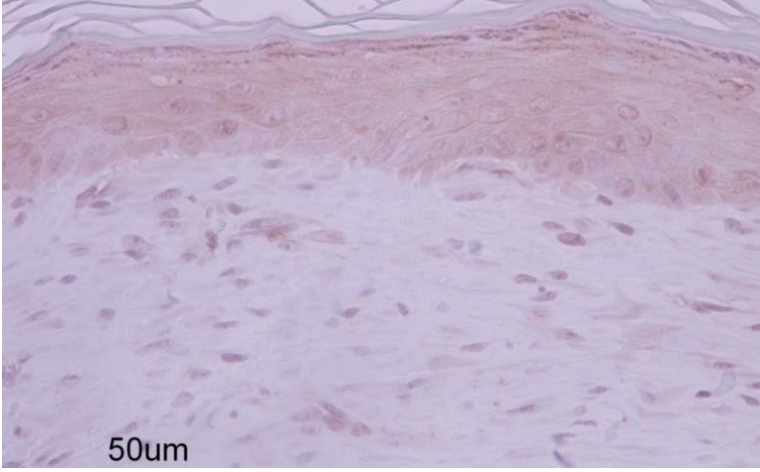
Tablo 1. Gruplara göre GPx1 immun reaktivitesinin gruplara göre dağılımı.

Parametreler	Normal Doku	Kontrol	Madecazol	Civanperçemi
Epidermis İmmunohistokimyasal GPx1 reaktivitesi	+3.0±0.1	+2.1±0.15	+2.8±0.16	+2.8±0.16
Dermis İmmunohistokimyasal GPx1 reaktivitesi	+3.0±0.16	+1.9±0.18	+2.7±0.13	+2.8±0.14

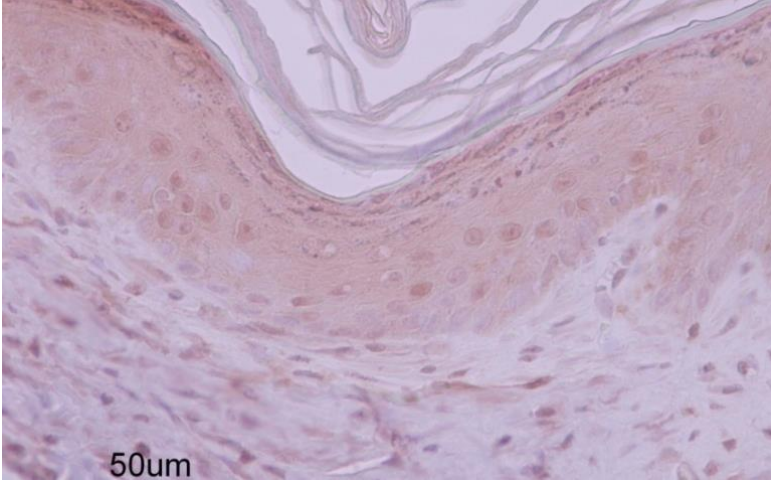
Tablo 2. Gruplara göre GPx1 immunreaktivitesi skor ortalamaları.



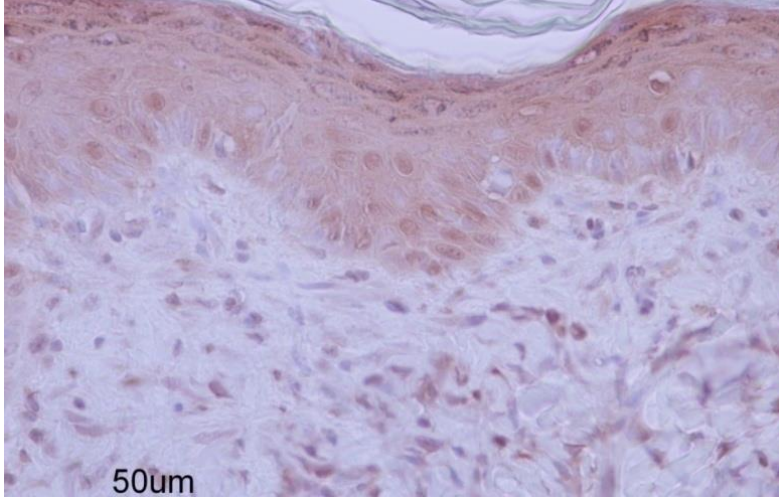
Şekil 19. Normal sağlam derinin epidermis ve dermiş katmanlarında güçlü GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.



Şekil 20. Kontrol grubu ratların yara bölgesi epidermis ve dermiş katmanlarında orta derecede GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.



Şekil 21. Madecazol grubu ratların yara bölgesi epidermis ve dermiş katmanlarında güçlü GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.



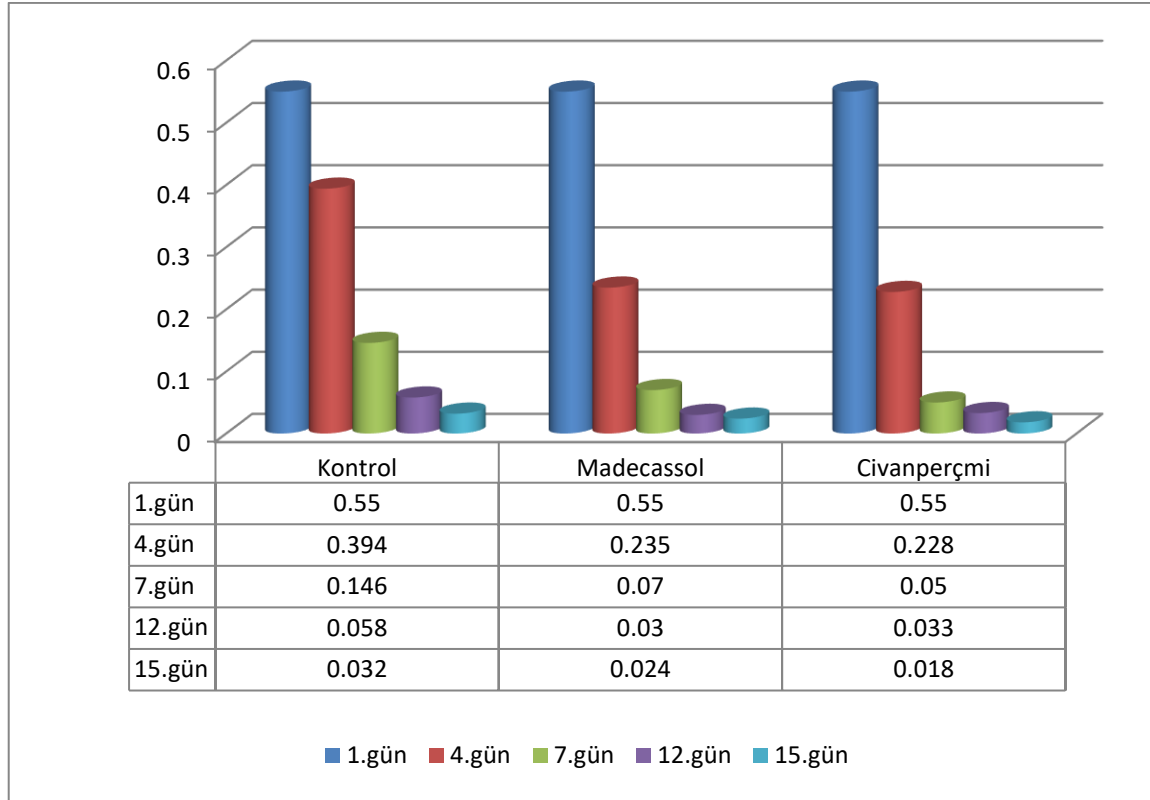
Şekil 22. Civanperçemi grubu ratların yara bölgesi epidermis ve dermiş katmanlarında güçlü GPx1 immunreaktivitesi. ABC-peroxidase.

4.4. Yara Boyutu

Tablo 3. Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre dağılımı.

Günler	Gruplar		
	Kontrol (n=8)	Madecazol (n=8)	Civanperçemi (n=8)
1.Gün	0,550±0,00	0,550±0,00	0,550±0,00
4.Gün	0,394±0,018	0,235±0,013a	0,228±0,008a
7.Gün	0,146±0,013	0,070±0,009a	0,050±0,002a
12.Gün	0,058±0,003	0,030±0,004a	0,033±0,001a
15.Gün	0,032±0,002	0,024±0,001a	0,018±0,001a

a: Kontrol grubuna göre fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



Şekil 23. Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre karşılaştırılması

Tablo 4. Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre dağılımı.

Gruplar															
	Kontrol (n=8)					Madecassol (n=8)					Civanperçmi(n=8)				
	G1	G4	G7	G12	G15	G1	G4	G7	G12	G15	G1	G4	G7	G12	G15
1	,550	,432	,167			,550	,256	,092			,550	,217	,055		
2	,550	,411	,192			,550	,256	,069			,550	,205	,045		
3	,550	,450	,112			,550	,270	,096			,550	,203	,052		

4	,550	,390	,138			,550	,260	,112			,550	,241	,053		
5	,550	,376	,156	,027	,024	,550	,212	,068	,034	,026	,550	,234	,054	,031	,021
6	,550	,343	,126	,054	,038	,550	,224	,045	,026	,022	,550	,265	,052	,033	,017
7	,550	,356	,121	,064	,035	,550	,190	,052	,031	,025	,550	,232	,046	,032	,017
8	,550	,320	,180	,080	,043	,550	,236	,130	,029	,032	,550	,224	,043	,037	,019

4.5. Biyokimyasal bulgular

Tablo 5. Gruplara göre yara bölgesinden alınan dokulardaki lipid peroksidasyon ve antioksidan savunma sistemi düzeyleri.

Testler	Gruplar		
	Kontrol X± SD	Madecazol X± SD	Civanperçemi X± SD
MDA	117,74±26,74	98,38±5,50 ^a	102,42±26,62 ^a
GSH	2,64±0,26	3,75±0,90 ^a	3,63±0,80 ^a
SOD	2208,68±12,61	2266,22±20,33 ^a	2245,62±22,81 ^a

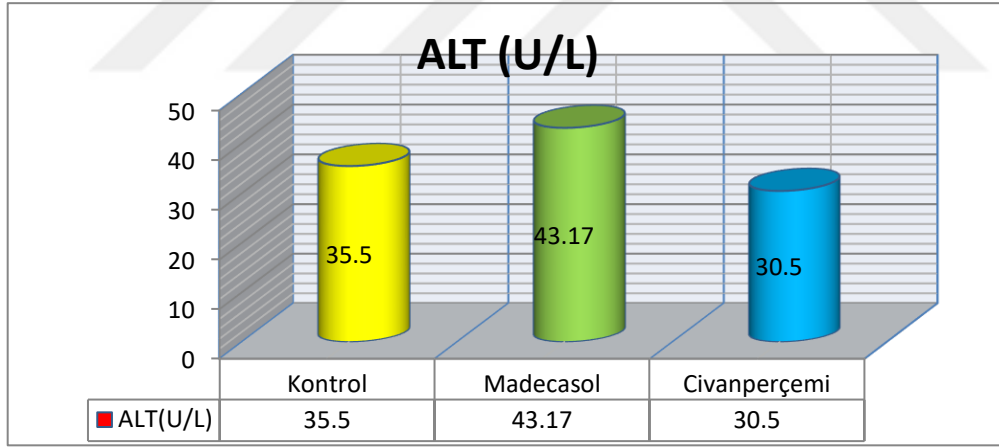
a: Kontrol grubuna göre fark istatistiksel açıdan anlamlıdır (p≤0.05).

Biyokimya testleri (ALT, AST, Total protein Kreatinin, Fe, K, Ca, Mg) için gerekli olan laboratuvar çalışmaları yapıldı gerekli analizler yapıldı, elde edilen bulgular tablo haline getirildi.

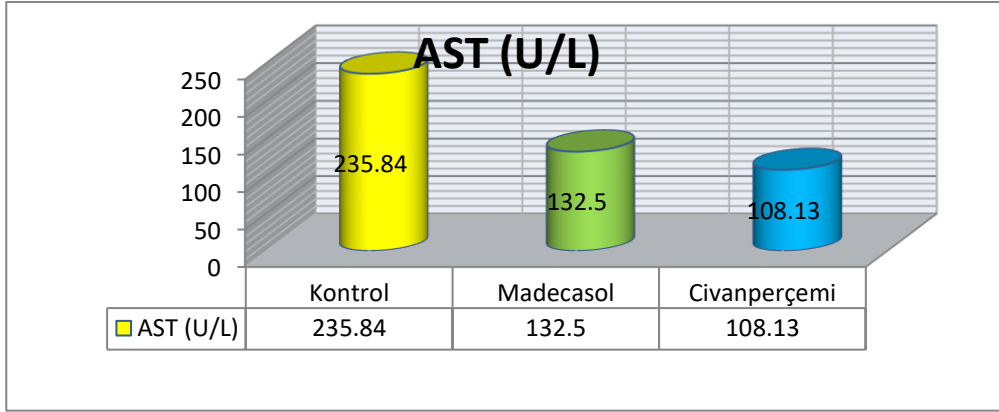
Tablo 6. Gruplar arasındaki bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.

Testler	Gruplar		
	Kontrol (n=8)	Madecazol (n=8)	Civanperçemi (n=8)
ALT	35,50±1,65	43,17±0,95a	30,50±3,34
AST	235,84±41,65a	132,50±13,92a	108,13±5,79a
Mg	2,74±0,17	2,91±0,22	2,22±0,07a
Fe	207,50±9,84	194,50±21,68	127,75±5,42a
K	5,67±0,25	5,72±0,22	5,29±0,17
TP	4,32±0,20	6,50±0,23a	5,83±0,12a
Ca	9,20±0,19	9,40±0,18	8,99±0,24
Cre	0,45±0,16	0,48±0,10	0,29±0,02a

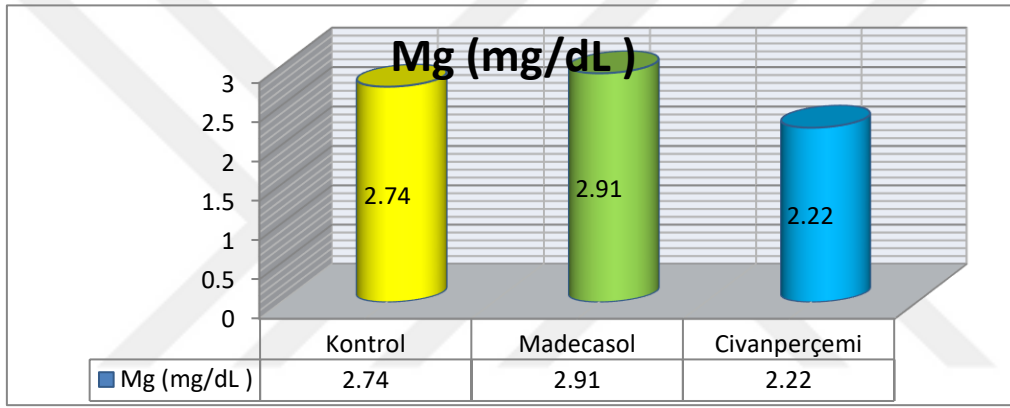
a: Kontrol grubuna göre fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



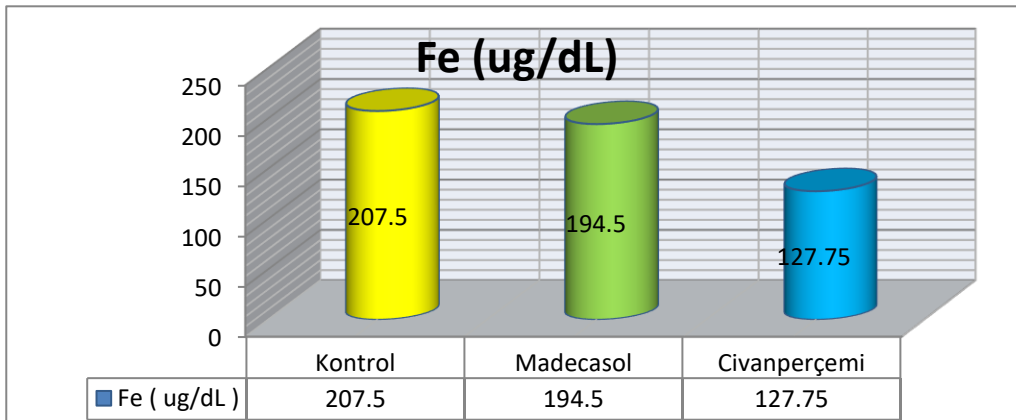
Şekil 24. ALT (Alanin aminotransferaz) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



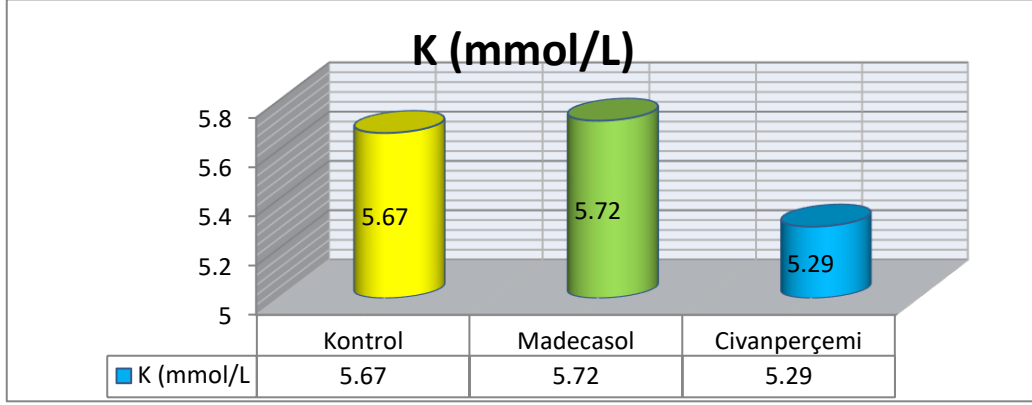
Şekil 25. AST (Aspartat aminotransferaz) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



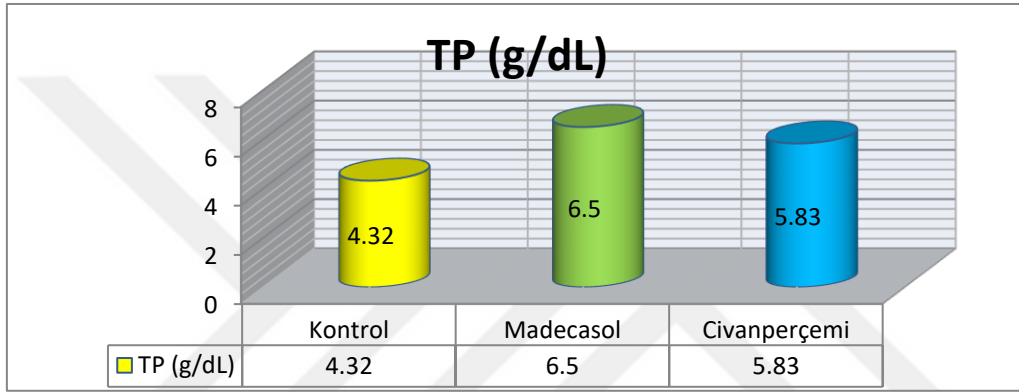
Şekil 26. Mg (Magnezyum) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



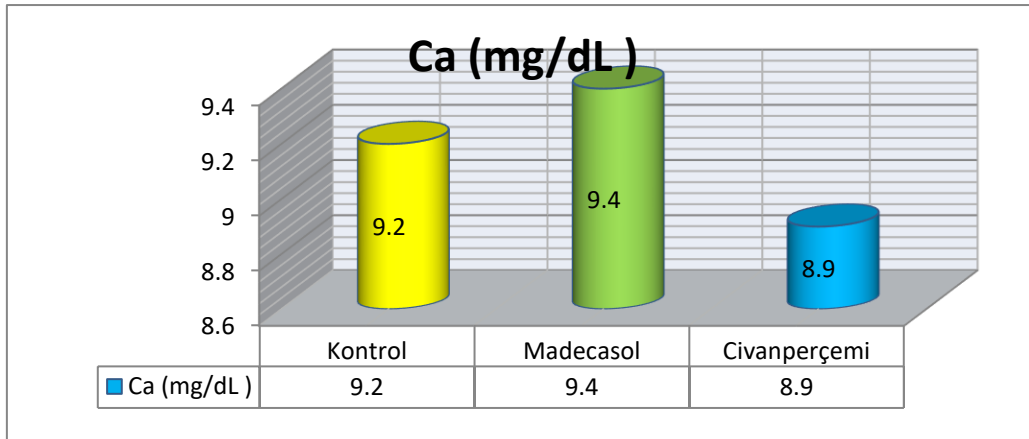
Şekil 27. Fe (Demir) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



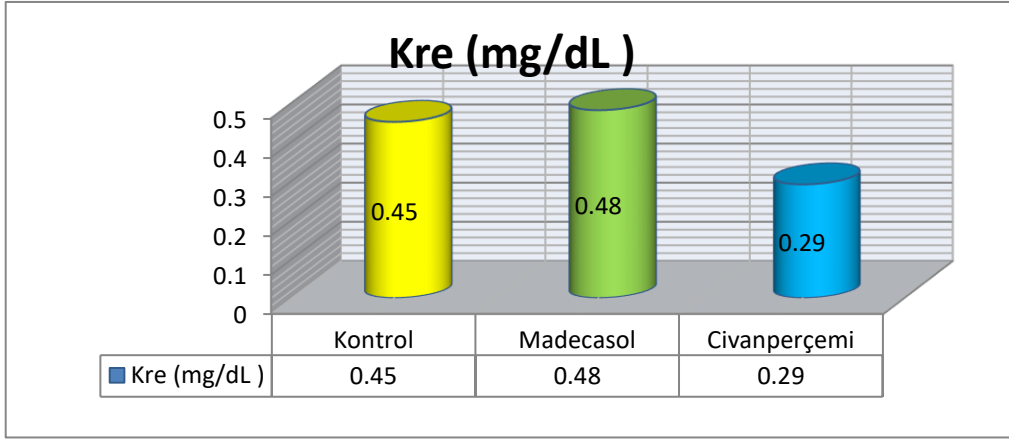
Şekil 28. K (Potasyum) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



Şekil 29. TP (Total protein) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



Şekil 30. Ca (Kalsiyum) düzeyinin gruplara göre dağılımı.



Şekil 31. Kre (Kreatinin) düzeyinin gruplara göre dağılımı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fiziksel, kimyasal, ısı, radyasyon ve cerrahi müdahalelere bağlı veya kendiliğinden gelişen doku bütünlüğünün bozulması yara olarak tanımlanır. Yara iyileşmesi ise, farklı yapıdaki dokuların çeşitli etkileşimi sonucu karışık biyolojik bir olaylar zinciridir (Jaquetia ve ark., 2007).

Doku hasarıyla birlikte birbirini takip eden olaylarla başlayan yara iyileşmesi, inflamasyon, damarsal oluşum, yara kapanması, epitelizasyon ve matriksin yeniden meydana gelmesini de kapsayan birçok hücresel olayı içerir (Jurjus ve ark., 2007; Duarte ve ark., 2009). Yara oluşuktan hemen sonra yangı hücreleri ile başlayan iyileşme süreci, yeni dokunun oluşması ve olgunlaşma evresi ile devam eder. Nötrofiller ve makrofajlar, inflamasyonun erken evresinde salgılanan kemotaktik faktörlerin etkisi ile dolaşımdan yara bölgesine gelir. Yara bölgesine gelen bu hücreler ve diğerlerinin katkısı ile kollajen sentezi ve kontraksiyon ile yara iyileşmesi gerçekleşir (Özler ve ark., 2010).

Tüm dünyada olduğu gibi piyasada, yara iyileşmesinde tedavi amaçlı kullanılmak üzere pansuman malzemeleri adı altında pek çok ürün bulunmaktadır. Fakat piyasada bulunan bu pansuman malzemelerinin temini ekonomik anlamda büyük bir yük getirmektedir. Yaraların tedavisindeki zorlukların üstesinden gelebilmek amacıyla, tedavi olanaklarını incelemek için deney hayvan modelleri geliştirilmiştir. Yara iyileşmesinde çeşitli mekanizmalarla etki eden pek çok alternatif ürünün bu amaçlı kullanılabileceği gösterilmiştir. Tıbbi bitkiler cilt hastalıkları ve özellikle kesik, yara, yanık gibi dermatolojik rahatsızlıkların tedavisi amacıyla eskiden beri kullanılmaktadır (Jain ve ark., 2006).

Ülkemizde birçok bitkinin halk arasında yara iyileştirici amacıyla yaygın olarak kullanıldığı yapılan etnobotanik çalışmalarda tespit edilmiştir. *Asteraceae*, *Boraginaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Hypericaceae*, *Liliaceae*, *Malvaceae*, *Pinaceae*, *Ranunculaceae* gibi pek çok familyaya ait bazı türler yara iyileştirici amaçla dünya genelinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Sezik ve ark., 1991; Koca ve ark., 2009) Yapılan bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan yara modelinde Civanperçemi (*Achillea millefolium*) bitkisinin yara iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine etkisinin histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak araştırılması amaçlandı.

Düzenli ve hızlı bir şekilde granülasyon dokusunun gelişimi yara iyileşmesi sürecinde önemli bir göstergedir (Kirsner ve Eaglsterin, 1993). Granülasyon dokusu gelişimi açık yara iyileşmesinde belirgin olup yaralanmadan sonraki 72-96 saatlerde başladığı tespit edilmiştir (Heinze ve Clem, 1998). Granülasyon dokusu; kollajen, fibronektin ve hyaluronik asidin hücre dışı matriks içine gömülmesi, angiogenezis ile fibroblast ve yangı hücrelerinin birleşiminden oluşur (Kirsner ve Eaglsterin, 1993; Calvin, 1998). Deneysel olarak yapılan çalışmalarda da insizyon yaralarının oluşumundan 3-4 gün sonra yara içindeki pıhtının fibrin ipliklerinin yara yüzeyine vertikal olarak yöneldiği, yaklaşık 6 gün sonra ise, insizyonel yara arasındaki kapıllarlar, fibroblastlar ve kollajen lifleri yara yüzeyine horizontal bir yapı olarak yara dudaklarını birbirine yaklaştırdığı gözlenmiştir (Swaim ve Henderson, 1990). Yapılan bu çalışmada ilk 4 günde tüm gruplarda yara kabuğunun yara kenarlarından ortaya doğru gelişmeye başladığı fakat hala geniş bir ülser bölgesinin olduğu, K grubuna göre M ve CP grubunda 7. günde bu açıklığın daha belirgin bir şekilde yara kabuğu ile kapatılmış ve yara alanının azalmış olduğu tespit edilmiştir. 15. günde ise M ve CP grubunda yara bölgesinde epitelizasyonun tamamen gelişip yara izlerinin neredeyse kaybolduğu ancak K grubunda epitelizasyonun büyük oranda gerçekleştiği görülmesine rağmen yara bölgesindeki yara izlerinin mevcut olduğu görüldü. CP grubunda K grubundan daha belirgin bir farkın gözlemlenmesi bu bitkinin M pomadı gibi yara iyileşmesinde etkin olduğunu düşündürmüştür.

Belirli bir kalınlığa ulaşmış yaraların örtü tabakasını dermis ve epidermis şekillendirir. Bu yaralarda iyileşme, hücre çoğalması, hücre göçü ve kollajen sentezi gibi oluşan dinamik birtakım olaylar tarafından şekillenir. Epidermis damarsız bir yapıdadır ve bu nedenle epitelizasyon ile iyileşir. Dermis katmanı ise yara bölgesinde granülasyon dokusu meydana gelmesi ve kollajen sentezi ile iyileşir (Calvin, 1998; Karasu ve Bakır, 2004). Yaralanmadan hemen sonra yangı hücreleri ile başlayan iyileşme süreci, farklı bir doku olarak kendini gösterir. İnflamasyonun erken döneminde kemotaktik faktörlerin salgılanmasıyla dolaşımdan bol miktarda nötrofil ve makrofaj yara bölgesine gelir. Yara bölgesine gelen bu hücreler ve diğerlerinin katkısı ile kollajen sentezi ve kontraksiyon ile yara kapanması gerçekleşir (Özler ve ark., 2010). Yara iyileşmesi, ekstrasellüler matriks komponentlerinin sentezi ve birikiminde anahtar rol oynayan Fibroplazia adı verilen fibroblastların proliferasyonunu kapsar (Theoret, 2004; Wilmink ve Weeren, 2004). Fibroplazia, kollajen üreten fibroblastların yara kenarından köken alarak yaraya göç

ederek prolifer olmaları, böylece kollajen üretilmesi ve kollajenin yara bölgesinde birikim süreci olarak tanımlanır ve yara bölgesinde granülasyon dokusunun oluşumu ile başlar (Rigler, 1997). Fibroblastlar onarım sürecinin temel etmeni olup dokuların yeniden yapılanması sürecinde kullanılan yapısal proteinlerin büyük bir bölümünün üretilmesinden sorumludurlar. (Karasu ve Bakır, 2004). Fibroblastlar, fibrin pıhtısı içindeki lifler ve yeni gelişen kapıllarlar boyunca stoplazmik uzantılar oluşturarak yaranın içine doğru hareket ederler (Hedlund, 2002; Swaim ve Henderson, 1990). Fibroblastların yaralanmadan sonra 4. günlerde görüldüğü (Regan ve Barbul, 1994; Hedlund, 2002), 7. günde pik seviyeye ulaştığı (Regan ve Barbul, 1994) ve 15–21. güne kadar da yarada aktif olarak kaldığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Stashak, 1991).

Epitelizasyon, yaralanma sonrası derinin yeniden bariyer özelliğini kazanması amacıyla epitel hücrelerinin göç ederek çoğalmasını, organize ve keratinize olmasını kapsayan bir süreçtir (Calvin, 1998). Bazal membranın hasar gördüğü tam kalınlıktaki açık yaralarda epitelizasyon için hücreler yalnızca yara kenarlarındaki sağlam epitel hücrelerinden köken alır (Calvin, 1998). Yaranın oluşmasından sonraki ilk birkaç dakikada meydana gelen pıhtı, epitelizasyona geçici bir engel teşkil eder (Engin, 2004). Epitelizasyon, serbest yara kenarları tarafından başlayarak ilerler ve başka bir yönden gelen hücrelerle karşılaşınca kadar bu ilerleme devam eder (Theoret, 2004). Yara kenarlarının dikiş ile karşı karşıya getirildiği durumlarda epitelizasyon çok kısa sürede başlar (Hedlund, 2002) ve 24–48 saat süre zarfında yaranın iki kenarı arasında periferden merkeze doğru tek katlı epitel hücrelerden oluşan bir köprü şekillenir. Bu köprü, dış tehlikelere karşı yaranın oluşturduğu ilk koruma engeli vazifesi görür (Regan ve Barbul, 1994). Yara kabuğu oluşmuşsa, epitelizasyon bu kabuğun altında şekillenmeye devam eder (Stashak, 1991). Epitelizasyon tamamlanması yaranın iyileşmiş olduğu kabul edilir. Yara iyileşmesi sürecinde son faz olan maturasyon evresidir. Bu faz, granülasyon dokusunun skar dokusuna dönüşümü (Theoret, 2004) ile ekstrasellüler matriksin olgunlaşmasını kapsayan yara iyileşme sürecinin en uzun dönemidir (Kirsner ve Eaglsterin, 1993; Rigler 1997). Maturasyon evresinde, yara bölgesinde fibroblast sayısında azalma, kollajen üretiminde dengeye ulaşma, epitelizasyonda tamamlanma (Stashak, 1991; Heinze ve Clem, 1998), yara renginde soluklaşma, yara gerilim direncinde artma, skar dokusunun hacminde azalma ve az hücreli ve damarlı yapıya sahip skar dokusunda oluşma görülür (Rigler, 1997; Heinze ve Clem, 1998). Yapılan bu

çalışmada denemenin 7. gününde kesilen ratların histopatolojik incelenmesinde tüm grupların yara alanında yangısal hücre ve fibroblast artışı gözlenirken, kollagenin henüz demetler halinde gelişmediği görülmüştür. Ayrıca M ve CP grubunda kontrol grubuna göre yara bölgesinde neovaskülarizasyonun fazla olduğu ve daha belirgin ve düzenli bir kabuk oluşumu gözlemlendi. 15 günlük deneme sonunda K grubunda epitelizasyonun şekillendiği görülmekle birlikte tedavi gruplarına göre vasküler yapının henüz kaybolmadığı, yara bölgesinde yangı hücreleriyle birlikte fibroblasttan zengin fibrosit ve kollagen ipliklerinden fakir gevşek bir bağ dokunun olduğu belirlendi. Tedavi gruplarında ise epitelizasyon tamamen şekillenmiş ve yara bölgesinde fibrosit ve kollagen ipliklerinden zengin, K grubuna göre daha olgun bir bağ doku olduğu görüldü. İyileşmenin orta derecede görüldüğü çalışma gruplarında da reepitelizasyonun kısmen tamamlandığı gözlemlendi. Bu sonuçlara göre Civanperçeminin yara bölgesinde Madecassol gibi fibroblastik aktiviteyi ve kollagen oluşumunu arttırdığı kanaatine varılmıştır.

Yara bölgesinde serbest radikallerin şekillenmesi ya da oksidanlar gibi etmenler, doku hasarına neden olarak iyileşme olayını bozabilmektedir. Bu etmenlerden hidroksil radikali ve O⁻ anyonu, kollagen yapısında bulunan hidroksiprolin ve prolini parçalayarak fibroblastların adezyon, proliferasyon ve canlılığını değiştirebilmektedir. Aynı zamanda hidrojen peroksit (H₂O₂) de hem keratinositlerin göçünü inhibe eder hem de epidermal büyüme faktörü (EGF) sinyal iletişimini engelleyerek fibroblastlarda önemli hasarlara neden olur (Yager ve ark., 2007). Yüksek düzeylerde oluşan ROT, sitotoksititeye sebep olacağı için yara iyileşmesini geciktirmektedir. Bu nedenle yaraların iyileşmesinde ROT'un elimine edilmesi gereklidir (Aksoy ve Özakpınar, 2014). Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemlerinden biri olan glutatyon peroksidaz (GPx; EC 1.11.1.9), indirgenmiş glutatyonu kullanarak H₂O₂ veya hidroperoksitlerin organik su veya alkollere indirgenmesini katalize eder (Herbette ve ark., 2007). Bu şekilde, lipid peroksidasyonunu önler ve böylece hücre zarlarını oksidatif hasardan korur (Czuczejko ve ark., 2003). Memelilerde antioksidan savunma sistemi için önemli bir komponent olan GPx, yara iyileşmesinin yangısal döneminde yoğun bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu sayede yoğun oksidatif stres durumlarda ROT ürünlerine karşı direnç oluşturarak keratonisitlerin proliferasyonunu uyarılmaktadır (Munz ve ark., 1997). Yapılan bir çalışmada (Steiling ve ark., 1999), yara dokusunda oksidatif stresle birlikte GPx düzeyinde de artış görüldüğü bildirilmiştir. CP bitkisinin içerdiği bileşiklerden biri olan

flavonoidler, glikolitik enzimleri veya protein sentezi gibi çeşitli metabolik ara yolları etkileyerek güçlü sitotoksik ve radikal süpürücü etkiler gösterdiği ve bu antioksidatif etkiyle serbest radikal hasarlarına karşı hücreleri korudukları gösterilmiştir (Gálvez ve ark., 2013). Yapılan bu çalışmada normal sağlam dokuya benzer şekilde yara bölgesine CP ve M uygulaması yapılmış dokuların GPx ile immunohistokimyasal olarak boyanmasında K grubuna göre immunreaktivitenin güçlü çıkması iyileşme sürecinde antioksidan enzim ekspresyonunun artan oksidatif strese uyumu olarak yorumlanmıştır.

Yara iyileşmesinin değerlendirmesinde yara alanının uzunluğu ve genişliğinin ölçülmesi de önemli bir değerlendirme etmenidir. (Flanagan, 1994; Grey ve ark., 2006). İyileşmiş yara durumunun saptanmasında, yaranın yüzey alanı ultrason, manyetik rezonans ya da stereofotometri gibi yöntemler kullanılarak ölçülebilmektedir. Klinik olarak ise, yara cetveli ile yapılan ölçümler ve yara boyutlarının asetat üzerine aktarılması tekniği sıklıkla kullanılmaktadır. Yara alanı ölçüm cetveli kullanılarak yapılan ölçümler düzensiz ve çok geniş olan yaralarda çok da güvenilir bir yöntem olmadığı bazı araştırmacılar (van Rijswijk ve Braden, 1999) tarafından bildirilmesine rağmen, bu yöntem bazı araştırmacılarca (Thomas ve Wsocki, 1990) en doğru yara ölçme yöntemi olarak görülmektedir. Bu yöntemde yaranın kenar hatları milimetre ya da santimetre karelik şeffaf bir asetat üzerine çizilir ve çizilen alan içerisinde kalan kareler ya manüel olarak sayılır ya da dijital planimetri kullanılarak yara alanı hesaplanabilmektedir (Güneş, 2007). Yapılan bu çalışmada yara iyileşmesinde önemli bir gösterge olan yara yüzey alanı değişimlerinin incelenmesinde M ve CP grupları değerlerinin K grubundan anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Tedavi maksadıyla topikal olarak kullanılan civanperçeminin belirgin olarak yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür. Bu sonuçlar, yapılan histolojik değerlendirmeler de Civanperçemi ile yapılan tedavide artmış kollajen sentezi ve epitelizasyonun izlenmesi bu bulguyu desteklemektedir.

Yaralanmalarda, serbest radikallerin artması nedeniyle oluşan lipit peroksidasyona bağlı olarak hem yara bölgesinde hem de uzak doku ve organlarda hasar ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelebilir (Çavdar ve ark., 1997). Bu durum oksidatif stres olarak bilinmektedir. Oksidatif stresin, yara iyileşmesi sırasında görülen tromboz oluşumunun kontrolünde oldukça büyük bir öneme sahip olduğu bildirilmektedir. Yaralanmalarda oluşan damar hasarı endotelde granüllerin redoksa duyarlı mekanizmaları vasıtasıyla

yangı ve pıhtılaşmayı başlatan mediyatör maddelerin kana verilmesini sağlar. Yaralı dokunun, oksidatif metabolizma aracılığıyla iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir (Sen ve Roy, 2008; Özkorkmaz ve Özay, 2009). Kan dolaşımı veya herhangi bir metabolik sorunu olmayan bir dokuda meydana gelebilecek yara, kendi aktif sürecinde kısa sürede iyileşir. Ancak kan akımındaki yetersizlik görülmesi, iskeminin derecesine bağlı olarak kronik yaraların oluşmasına sebep olabilir. Herhangi bir nedene bağlı iskemi oluşumu, dokuda hasara neden olan ROT'ları meydana getirir (Adamson ve ark., 1996; Mustoe, 2004). İskemi nedeniyle oluşan ROT'lar dokuda protein sentezinin azalmasına, lökosit hücre infiltrasyonunda ve metalloproteinaz seviyesinde artmaya sebep olmaktadır. İskem nedeniyle oluşan bu patolojik değişiklikler, bozulmuş ekstrasellüler matriks yapımını ve uzamış yangısal yanıt nedeni ile yara iyileşmesini normal seyrinden çıkarır (Saarialho-Kere, 1992). Yaralı dokunun oksijen ihtiyacı artmasına karşın, damarların hasar görmesi sonucu yarada hipoksi meydana gelir. Yaradaki hipoksi iyileşmeyi geciktirir. Yapılan bu çalışmada oksidatif stresin biyokimyasal olarak değerlendirmesinde, yara oluşturulduktan sonraki 15. günde K grubuna göre M ve CP verilen gruplarda antioksidanların istatistiki açıdan daha yüksek bulunması yara iyileşme sürecine olumlu katkıda bulunarak iyileşme sürecinin tamamlandığı şeklinde düşünülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre;

1- Civanperçemi bitkisinin kollajen sentezine katkıda bulunarak bağ doku oluşumunu arttırdığı ve epitelizasyonun tamamlanması için gerekli zamanı azaltarak yara iyileşmesini hızlandırdığı,

2- Fitokimyasal analizlerle bu bitkinin bileşenlerinin izole edilmesi ve yara iyileştirici etkiden hangi etken maddenin sorumlu olduğunun araştırılarak etki mekanizmasını anlamak için ileri düzeylerde çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu,

3- Civanperçemi bitkisinin klinik kullanımı için yeni ARGE çalışmaları kapsamında ilaç ve kozmetik imalatında değerlendirilmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır

ÖZET

Akyol T. Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Yara Modelinde Civanperçemi (*Achillea millefolium*) Bitkisinin Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji Anabilim Dalı Veteriner Programı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2017. Bu çalışmada Civanperçemi'nin (*Achillea millefolium*) (CP) ratlarda yara iyileşmesi üzerine histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal etkisi araştırıldı. Çalışmada 24 adet Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar; kontrol (K), CP ve Madecassol (M) grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki ratların sırt bölgesi derisinde anestezi altında 0,8 cm'lik punch cihazı ile tam kat yara oluşturuldu. CP grubu ratların yara bölgelerine CP ekstraktından elde edilen pomat uygulanırken, M grubu ratların yara bölgelerine ise ticari bir preparat olan madecassol kremi uygulandı. Denemenin 7. günü ile deneme sonu olan 15. günde anestezi altında kan ve deri doku örnekleri alındı. Histopatolojik incelemelerde, K grubu ile karşılaştırıldığında CP grubunda yangı ve ödemin azaldığı, epitelizasyon, fibroblastik aktivite ve kollajenizasyonda pozitif bir etki görüldü. İmmunohistokimyasal olarak CP grubunda Glutathione peroxidase 1 (GPx1) immunreaktivitesi K grubundan daha güçlü idi. Deri ve kan dokusunun biyokimyasal incelemelerinde K grubuna göre M ve CP grubunda antioksidan savunma sistemi enzim düzeyleri daha yüksek idi. Sonuç olarak CP'nin bağ doku oluşumunu arttırdığı ve epitelizasyonun tamamlanması için gerekli zamanı azaltarak yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Civanperçemi (*Achillea millefolium*), Rat, Yara İyileşmesi.

SUMMARY

Akyol T. A Histopathological and Biochemical Investigation of the Wound Healing and Oxidative Stress Effect on the Wound Model of the *Achillea millefolium* in Rats. Van Yuzuncu Yil University Institute of Health Science Department of Pathology Veterinary Programs MSc Thesis, Van, 2017.

The aim of current study is to evaluate of histopathological, immunohistochemical and biochemical effects of *Achillea millefolium* (Civanperçemi-CP) on the wound healing in the rats skin. In this study, 24 Wistar albino rats were divided to three groups, Control (K), Madecassol® (M) and *Achillea millefolium* (CP). A wound was created with a punch device under the anesthesia in the back region of the rats in all groups. *Achillea millefolium* and madecassol pomad have been administered to study groups per day and serum physiologic solution has been administered to K group locally as placebo. In order to evaluate by histopathological and immunohistochemical and biochemical on 7th and 15th days by taking the blood and skin tissue. Compared with the K group, the topical application of *Achillea millefolium* has a positive effect on epithelialization, fibroblastic activity and collagenization in the CP group with decreased inflammation and edema. As a result of immunohistochemical investigation, Glutathione peroxidase 1 (GPx1) immunoreactivity in the CP group was stronger than in the K group. Biochemical examination of skin and blood tissue revealed that fluctuated antioxidant defence system constituents levels were restored in CP and M groups. In conclusion, *Achillea millefolium* increased connective tissue formation and reduced the time needed to complete epithelization and was also found that wound healing was accelerated by this occasion.

Key words: *Achillea millefolium*, Rat, Wound healing.

KAYNAKLAR

- Adamson B, Schwarz D, Klugston P, Gilmont R, Perry L, Fisher J, Lindblad W, Rees R (1996). Oxidant stress: the role of the *glutathioneredox* cycle in skin preconditioning. *J Surg Res*, 62, 159-164.
- Adetutu A, Morgan W, Corcoran O (2011). Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 50-56.
- Agarwal J, Ogilvie M (2005). Vacuum-assisted closure for sternal wounds: a first-line therapeutic management approach, *Plast Reconstr Surg*, 116, 4, 1035-1040.
- Aksoy H, Özakpınar Ö (2014). Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18, 153-158.
- Aljancic I, Vajs V, Menkovic N, Karadzic I, Juranic N, Milosavljevic S, Macura S (1999). Flavones and sesquiterpene lactones from *Achillea atrata* subsp. *Multifida* antimicrobial activity. *J Nat Prod*, 62, 909-911.
- Anonim 1. www.agaclar.net/forum/tibbi-itiri-boyar-aromatik-bitkiler/2577.htm, 2016. Erişim tarihi: 03. 05. 2017.
- Anonim 2. www.web.iyte.edu.tr/~polatbulanik/sifali%20bitkiler/Civanpercemi.htm, 2016. Erişim tarihi: 03. 05. 2017.
- Anonim 3. www.saglikaktuel.com/bitki-ansiklopedisi-civan-percemi-nedir-faydaları-nel-rdir-1497.htm, 2016. Erişim tarihi: 03. 05.2017.
- Aydın S, Çağlıkülekcı M, Çolak T, Dirlik M, Öcal K, Akça T (2002). Washington Cerrahi El Kitabı Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bariş O, Gulluce M, Kılıc H, Ozbek T, Ozer H, Ozkan H, Sokmen M, Sahin F (2006). Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) *Turk J Biol*, 30, 65-73.
- Bassett B, Bennett P (1977). Introduction to the physical and physiological bases of hyperbaric therapy, "Hunt TK Davis JC (eds): *Hyperbaric Oxygen Therapy*" kitabında s, 11-24.
- Baytop T (1999). Türkiye' de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün) 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul, p. 294-296.
- Benedek B, Kopp B (2007). *Achillea millefolium* L. s. revisited, recent findings confirm the traditional use. *Wien Med Wochenschr*, 157, 312-314.
- Benedek B, Kopp B, Melzig M (2007). *Achillea millefolium* L. S Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *J Ethnopharmacol*, 113, 312-317.

- Boswell-Ruys C, Ritchie H, Brown-Woodman P (2003). Preliminary screening study of reproductive outcomes after exposure to yarrow in the pregnant rat. *Birth Defects Research Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 68, 416-420.
- Buttenschoen K, Fleischmann W, Haupt U, Kinzl L, Buttenschoen DC (2001). The influence of vacuum assisted closure on inflammatory tissue reactions in the postoperative course of ankle fractures. *Foot Ankle Surg*, 7, 3, 165-173.
- Calvin M, (1998). Cutaneous wound healing. *Wounds*, 10, 1, 12-32.
- Candan İ (2003). Medikal Tedavi. Cilt 1. Antıp Yayınları. Ankara, 361-365.
- Cowan K, Teague L, Sue SC, Mahoney JL (2005). Vacuum-assisted wound closure of deep sternal infections in high-risk patients after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*, 80, 6, 2205-2212.
- Cromack D, Pierce G, Mustoe T (1991). Dissecting mechanisms of action of TGF- α and PDGF mediated tissue repair using impaired and normal wound healing models, "Alan R (ed). Progressive Clinical Biological Research" kitabında s. 101-110 Liss Inc. New York.
- Czuczejko J, Zachara B, Staubach-Topczewska E, Halota W, Kedziora J (2003). Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim Pol*, 50, 1147-1154.
- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T (1997). Reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3, 92-95.
- Çetingül E (1997). Yara ve Yara Tedavisi Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir. s. 22-33.
- Dalsenter P, Cavalcanti A, Andrade A, Araújo S, Marques M (2004). Reproductive evaluation of aqueous crude extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in Wistar rats. *Reproductive Toxicology*, 18, 819-823.
- Duarte T, Cooke M, Jones G (2009). Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 46, 78-87.
- Flanagan M (1994). Wound care. Assessment criteria. *NursTimes*, 9, 15, 90, 45, 77.
- Forrester JC (1973). Mechanical biochemical and architectural features of surgical repair. *Adv Biol Med Phys*, 14, 1-3.
- Gálvez M, Cordero C, Lázaro M, Cortes F, Ayuso M (2003). Cytotoxic effect of *Plantago* spp. On cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 125-130.
- Grey J, Enoch S, Harding K (2006) Wound assessment. *BMJ*, 4, 332, 7536, 285-288.
- Güneş Ü (2007). Kronik yaraların değerlendirilmesi. *CÜ Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 11, 3, 38-44.

- Hausen B (1979). The sensitizing capacity of Compositae plants. Part 3. Test results and cross reactions in Compositae sensitive patients. *Dermatologica*, 159, 1-11.
- Hedlund C (2002). Surgery of the integumentary system. In: *Small Animal Surgery 2th Edition* Edited by Fossum TW pp, 134-137.
- Heinze C, Clem M (1988). Wound healing and tissue repair. In: *Textbook of Large Animal Surgery*. 2nd Ed Edited by Oehme, F.W. pp, 141-153.
- Heller L, Levin S, Butler C (2006). Management of abdominal wound dehiscence using vacuum assisted closure in patients with compromised healing. *Am J Surg*, 191, 2, 165-172.
- Herbette S, Roeckel-Drevet P, Drevet JR (2007). Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J*, 274, 2163–2180.
- Jagetia G, Rajanikant G, Rao M (2007). Ascorbic acid increases healing of excision wounds of mice whole body exposed to different doses of gamma-radiation. *Burns*, 33, 484–494
- Jain V, Prasad V, Pandey R (2006). Wound healing activity of *Desmodium gangeticum* in Different Wound Model *Journal of Plant Sciences*, 1, 3, 247-253.
- Jurjus A, Atiyeh B, Abdallah I, Jurjus R, Hayek S, Jaoude M, Gerges A, Tohme R (2007). Pharmacological modulation of wound healing in experimental burns. *Burns*, 33, 892-907.
- Kamolz L, Andel H, Haslik W, Winter W, Meissl G, Frey M (2004). Use of subatmospheric pressure therapy to prevent burn wound progression in human: first experiences. *Burns*, 30, 3, 253-258.
- Kapan M, Aslanmirza M, Karip A, Bozkurt Y, Evsen M, Sak E, Öngören A (2008). Lokal fenitoin ve üre uygulamasının yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. *Yeni Tıp Dergisi*, 25, 209-212.
- Karasu A, Bakır B (2004). Wound and Wound Healing. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14, 1, 36-43.
- Kingsbury J (1964). *Poisonous Plants of the United States and Canada*. Prentice-Hall Englewood Cliffs NJ.
- Kirsner R, Eaglsterin W (1993). The wound healing process, *Dermatol Clin*, 11, 4, 629-640
- Koca U, Süntar İP, Keleş H, Yeşilada E, Akkol EK (2009). İn Vivo Anti-inflammatory and Wound Healing Activities of *Centaurea İberica* Trev. ex Spreng. *Journal of Ethnopharmacology*, 126, 551-556.
- Kumar V, Cotran R, Robbins S (2004). Robbins Basic Pathology 7 TH. Ed. *Saunders Comp. Philadelphia*, 61-77.

- Lakshmi T, Geetha R, Roy A, Aravind S (2011). Yarrow (*Achillea Millefolium Linn*) A Herbal Medicinal Plant with Broad Therapeutic Use–A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 9.
- Lazarus G, Cooper D, Knighton D (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol*, 130, 4, 489-493.
- Mahady G, Pendland S, Stoia A, Hamill F, Fabricant D, Dietz B, Chadwick L (2005). In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytotherapy Research*, 19, 988–991.
- Mathias C, Maibach H, Mitchell C (1979). Plant dermatitis patch test results 1975-1978. Note on *Juniperus* extract. *Contact Dermatitis*, 5, 336.
- Miraldi E, Ferri S, Mostaghimi V (2001). Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). *J Ethnopharmacol*, 75, 77–87.
- Montanari T, Carvalho J, Dolder H (1998). Antispermatic effect of *Achillea millefolium* L in mice. *Contraception*, 58, 309–313.
- Munz B, Frank S, Hübner G, Olsen E, Werner (1997). A novel type of glutathione peroxidase: expression and regulation during wound repair. *Biochem J*, 326, 579-585.
- Murnigsih T, Subeki H, Matsuura K, Takahashi M, Yamasaki O, Yamato Y, Maede K, Katakura M, Suzuki S, Kobayashi C, Yoshihara T (2005). Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67, 829–831.
- Mustoe T (2004). Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *Am J Surg*, 187, 65–70.
- Nemeth E, Bernath J (2008). Biological activities of yarrow species (*Achillea spp*). *Current Pharmaceutical Design*, 14, 3151-3167.
- Newall C, Anderson L, Phillipson J (1996). Herbal Remedies, A Guide for Healthcare Professionals. *Pharmaceutical Press*, London.
- Özkorkmaz E, Özay Y (2009). Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2, 63-67.
- Özler M, Şimşek K, Topal T, Öter, Korkmaz A (2010). Pinealektomili ratlarda yara iyileşmesi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 52, 181-184.
- Passalacqua N, Guarrera P, Fine G (2007). Contributi onto the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia*, 78, 52-68.
- Pires J, Mendes F, Negri G, Duarte-Almeida J, Carlini E (2009). Anti nociceptive peripheral effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L, both plants known popularly by brand names of analgesic drugs. *Phytother Res*, 23, 212–219.

- Regan M, Barbul A (1994). The cellularbiology of wound healing. In: *Wound Healing*. Editedby Schlag G Redl H Vol:1 pp, 3-17 Springer-VerlagBerlin Heidelberg. Printed in Germany.
- Rigler D (1997). Inflammation and repair. In*Veterinary Pathology* 6nd Ed Edited by Jones T Hunt R King N pp, 150-157, Williams &Wilkins, Pennsylvania.
- Saarialho-Kere UK (1992). Patterns of matrixmetalloproteinase and TIMP expressionin chronic ulcers. *Arch Dermatol Res*, 290, 47-54.
- Sayek İ, Özmen M (2009). *Temel Cerrahi El Kitabı Güneş Tıp Kitabevleri*.
- Sen C, Roy S (2008). Redox signals in wound healing. *Biochimica etBiophysica Acta*, 1780, 1348–1361.
- Sezik E, Tabata M, Yeşilada E, Honda G, Goto K, Ikeshiro Y (1991). Traditional medicine in Turkey I. Folk medicine in Northeast Anatolia. *J Ethnopharmacol*, 35, 191-196.
- Engin, A. (2004). Yara iyileşmesi In: *Temel Cerrahi*. Edited by Sayek. 3. Baskı, pp, 266-277 Güneş Kitabevi Ankara.
- Sisco M, Mustoe T (2003). Animal models of ischemic wound healing: toward an approximation of human chronic cutaneous ulcers in the rabbit and rat, *Methods Mol Med*, 78, 55-65.
- Souza P, Gasparotto Jr. A, Crestania S, Stefanello M, Marques M, Silva-Santos J, Kassuyaa C (2011). Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asterace) in rats. *Phytomedicine*, 18 , 2011, 819–825.
- Stashak T (1991). Principles of wound healing.In: *Equine Wound Management*, pp, 1-15 Lea&Febiger Malvern Pennsylvania.
- Steiling H, Munz B, Werner S, Brauchle M (1999). Different types of ROSScavengingenzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res*, 247, 484-494.
- Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R (2005). In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species, The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 185–190.
- Swaim S, Henderson R (1990). Woundhealing. In: *Small Animal Wound Management*. pp, 1-8,Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania.
- Theoret C (2004). Update on wound repair, *Clin Tech Equine Pract*, 3, 110-122.
- Thomas A, Wysocki A (1990) The healing wound: acomparison of three clinically useful methods of measurement. *Decubitus*, 3, 1, 18, 20, 24-25.

- van Meeuwen JA, Korthagen N, de Jong PC, Piersma AH ve van den Berg M (2007). (Anti)estrogenic effects of phytochemicals on human primary mammary fibroblasts, MCF-7 cells and their co-culture. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221, 372-383.
- van Rijswijk L, Braden BJ (1999). Pressure ulcer patient and wound assessment: an AHCPR clinical practice guideline update. *Ostomy Wound Manage*, 45, 56-67 quiz 68-69.
- Vitalini S, Tome F, Fico G (2009). Traditional uses of medicinal plants in Valvestino (Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 106-116.
- Westaby S (1986). *Wound Care* William Heinmann Medical Book Ltd. London, P, 11-21.
- Wilmink J, Van P (2004). Differences in wound healing between horses and ponies: application of research results to the clinical approach of equine wounds, *Clin Tech Equine Pract*, 3, 123-133.
- Yaesh S, Jamal Q, Khan A, Gilani A (2006). Studies on hepatoprotective, anti-spasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. *Phytother Res*, 20, 546-551.
- Yager DR, Kulina RA, Gilman LA (2007). Wound fluids: a window into the wound environment? *Int J Low Extrem Wounds*, 6, 4, 262-272.
- Yang C, Chang D, Webb L (2006). Vacuum-assisted closure for fasciotomy wounds following compartment syndrome of the leg, *J Surg Ortop Adv*, 15, 1, 19-23

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Erciş/Van'da doğdu. İlköğrenimini kendi köyünde, orta öğrenimini Erciş'te ve lise öğrenimini yabancı dil ağırlıklı Erciş Lisesi Süper lise kısmında tamamladı. 2004 yılında kazandığı Kafkas Üniversitesi Kars Sağlık Yüksekokulundan 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl Erciş'te bir Tıp Merkezinde göreve başladı ve beraberinde Sağlık Meslek Lisesinde ders ücreti karşılığı derse girdi ve haftada bir gün akşam saatlerinde sürücü kursunda İlk ve Acil Yardım dersini verdi. 2009 yılında girmiş olduğu KPSS sınavıyla Muş Devlet Hastanesinde sözleşmeli olarak göreve başladı. 2010 yılında kısa dönem olarak İzmir'de askerlik görevini yerine getirdi. Askerde olduğu sıralarda Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine kadrolu olarak atandı. Askerlik hizmeti sonrası görevine başladı. Halen aynı hastanede görevine devam etmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.

EKLER

EK 1. Etik kurul başvuru onay belgesi.


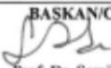
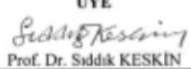
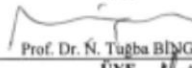

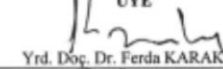


T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ	
Araştırmanın Adı	Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Yara Modelinde Civanperçemi (Achillea millefolium) Bitkisinin Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması
Araştırmanın Yürütücüsü	Yrd. Doç. Dr. Ahmet UYAR
Yardımcı Araştırmacılar	Yük. Lis. Öğr. Turgut AKYOL
Kurumu	Veteriner Fakültesi
Araştırmanın Tahmini Süresi	12 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Siçan 24 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	
Başvuru Tarihi	01.12.2015

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2015/14	Tarih:24.12.2015
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Yrd. Doç. Dr. Ahmet UYAR sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen tıpta uzmanlık projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği /oy çokluğu ile karar verildi.	
	1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deneysel hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ	
BASKAN Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYELER	
Prof. Dr. Duran BOLAT	Prof. Dr. Sıddık KESKİN
Prof. Dr. Fazıl SEN	Doç. Dr. Adnan FARÇA
Doç. Dr. Şenol GÜZEL	Doç. Dr. Nalan ÖZDAL
Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	Doç. Dr. Abdülbaki AKSAKAL
Yrd. Doç. Dr. Feriha KARAKUŞ	Yrd. Doç. Dr. Fatih KAZANCI
Vet. Hek. Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU
Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.

EK 2. Etik kurul kesin sonuç raporu.

		
T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ		
<i>YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY) ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE</i>		
Araştırmanın Adı	Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Yara Modelinde Civanperçemi (Achillea millefolium) Bitkisinin Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması.	
Title of the Research	A Histopathological and Biochemical Investigation of the Wound Healing and Oxidative Stress Effect on the Wound Model of the Achillea millefolium in Rats	
Araştırmacı(lar) Investigator(s)	Yürütücü / Chief investigator : Yrd. Doç. Dr. Ahmet UYAR Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s): Turgut AKYOL (Y. Lisans)	
Araştırmanın Başlama Tarihi / Research Starting Date:	15.07.2016	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / Research Completion Date:	01.03.2017	
Proje Süresi / Total Time of Project:	12 ay / Month	
Proje No / Project Number:	TYL-2016-5217	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available):	YYÜ BAP	
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding:	4995,50 (TL)	
Karar:	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27/04/2017 tarih ve 2017/04 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.	
Decision:	Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 27/04/2017 (decision number 2017/04).	
	BASKAN/CHAIR  Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. Fazıl ŞEN	 Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	Doç. Dr. Nalan ÖZDAL
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Yrd. Doç. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN	 Yrd. Doç. Dr. Özer ALKAN	 Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Yrd. Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR	Yrd. Doç. Dr. Oruc ALLAHVERDİYEYEV	 Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU
ÜYE		
Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET		

EK 3. Tez Orjinallik Raporu.

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU	
Tarih: 10/10/2017	
Tez Başlığı / Konusu: RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN YARA MODELİNDE CİVANPERÇEMİ (ACHILLEA MILLEFOLIUM) BİTKİSİNİN YARA İYİLEŞMESİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI.	
<p>Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 69.... sayfalık kısmına ilişkin, 25.09.2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turca....intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 18..... (Puank) dir.</p> <p>Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:</p> <ul style="list-style-type: none">- Kabul ve onay sayfası hariç,- Teşekkür hariç,- İçindekiler hariç,- Simge ve kısaltmalar hariç,- Gereç ve yöntemler hariç,- Kaynakça hariç,- Alıntılar hariç,- Tezden çıkan yayınlar hariç,- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) <p>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.</p> <p>Gereğini bilgilerinize arz ederim.</p> <p style="text-align: right;">Tarih ve İmza 19.10.2017 Turca</p>	
Adı Soyadı: Turgut AKYOL.....	
Öğrenci No: 119701009	
Anabilim Dalı: Patoloji Anabilimdalı (Veteriner).....	
Programı: Veteriner	
Statüsü: Y.Lisans <input checked="" type="checkbox"/> Doktora <input type="checkbox"/>	
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Yrd. Doç. Dr. Ahmet UTAH (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)